

# Effekter af pyrethroidet lambda-cyhalothrin på biologisk struktur, funktion og rekolonisering i vandløb

Peter Wiberg-Larsen

Danmarks Miljøundersøgelser  
Aarhus Universitet

Ulrik Nørum

Biologisk Institut  
Syddansk Universitet

Miljøstyrelsen vil, når lejligheden gives, offentliggøre rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, finansieret af Miljøstyrelsens undersøgelsesbevilling.

Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter.

Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

# Indhold

|                                                                                                                                                |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>FORORD</b>                                                                                                                                  | <b>5</b>  |
| <b>SAMMENFATNING</b>                                                                                                                           | <b>7</b>  |
| BAGGRUND OG FORMÅL                                                                                                                             | 7         |
| UNDERSØGELSEN                                                                                                                                  | 7         |
| HOVEDKONKLUSIONER                                                                                                                              | 8         |
| PROJEKTRESULTATER                                                                                                                              | 9         |
| <b>SUMMARY</b>                                                                                                                                 | <b>11</b> |
| BACKGROUND AND AIM                                                                                                                             | 11        |
| THE STUDY                                                                                                                                      | 11        |
| MAIN CONCLUSIONS                                                                                                                               | 12        |
| RESULTS FROM THE PROJECT                                                                                                                       | 13        |
| <b>1 INDLEDNING</b>                                                                                                                            | <b>15</b> |
| 1.1 BAGGRUND OG NUVÆRENDE VIDENSGRUNDLAG                                                                                                       | 15        |
| 1.2 FORMÅL                                                                                                                                     | 17        |
| 1.3 PROJEKTETS OVERORDNEDE STRUKTUR                                                                                                            | 17        |
| 1.4 BAGGRUND, FORMÅL OG HYPOTESER FOR PROJEKTETS<br>DELELEMENTER                                                                               | 19        |
| 1.4.1 <i>Betydning af økosystemstruktur og –funktion for rekolonisering<br/>                efter påvirkning med pyrethroid</i>                | 19        |
| 1.4.2 <i>Pyrethroiders påvirkning af smådyrs mobilitet, deres evne til<br/>                restituering, samt af substrat- og fødekvalitet</i> | 21        |
| 1.4.3 <i>Langdistance-kolonisering i naturen</i>                                                                                               | 21        |
| <b>2 METODER</b>                                                                                                                               | <b>23</b> |
| 2.1 BETYDNING AF ØKOSYSTEMSTRUKTUR OG –FUNKTION FOR<br>REKOLONISERING EFTER PYRETHROIDPÅVIRKNING                                               | 23        |
| 2.1.1 <i>Pyrethroideffekter på diversitet, rekolonisering og stofomsætning<br/>                i naturlige vandløb</i>                         | 23        |
| 2.1.2 <i>Rekolonisering af og stofomsætning i modelvandløb efter<br/>                pyrethroidpåvirkning</i>                                  | 28        |
| 2.2 PYRETHROIDEFFEKT PÅ SMÅDYRS MOBILITET, EVNE TIL<br>RESTITUERING, SAMT SUBSTRAT- OG FØDEKVALITET                                            | 32        |
| 2.2.1 <i>Stofomsætning hos forsøgspopulationer af smådyr i små<br/>                strømrender efter pyrethroidpåvirkning</i>                  | 33        |
| 2.2.2 <i>Restitueringssevne hos <i>Gammarus pulex</i> (pilotforsøg)</i>                                                                        | 35        |
| 2.2.3 <i>Restitueringssevne og fødesøgning hos udvalgte iturivere</i>                                                                          | 36        |
| 2.2.4 <i>Overlevelse og fødesøgning hos græsseren <i>Heptagenia sulphurea</i></i>                                                              | 38        |
| 2.3 LANGDISTANCE-KOLONISERING HOS SMÅDYR I FYNKE<br>VANDLØB                                                                                    | 40        |
| 2.4 STATISTISKE METODER                                                                                                                        | 42        |
| 2.4.1 <i>Betydning af økosystemstruktur og –funktion for rekolonisering<br/>                efter pyrethroidpåvirkning</i>                     | 42        |
| 2.4.2 <i>Pyrethroideffekt på smådyrs mobilitet, evne til restituering,<br/>                samt substrat- og fødekvalitet</i>                  | 43        |
| 2.4.3 <i>Langdistance-kolonisering hos smådyr i fynske vandløb</i>                                                                             | 45        |
| 2.5 KVANTIFICERING AF LAMBDA-CYHALOTHRIN                                                                                                       | 45        |
| 2.5.1 <i>Forbehandling af vandprøver</i>                                                                                                       | 45        |

|          |                                                                                                                            |            |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 2.5.2    | <i>Fastfaseekstraktion</i>                                                                                                 | 45         |
| 2.5.3    | <i>LC-MS analyse</i>                                                                                                       | 45         |
| 2.5.4    | <i>Lambda-cyhalothrin-koncentrationer</i>                                                                                  | 46         |
| <b>3</b> | <b>RESULTATER</b>                                                                                                          | <b>47</b>  |
| 3.1      | BETYDNING AF ØKOSYSTEMSTRUKTUR OG – FUNKTION FOR REKOLONISERING EFTER PYRETHROIDPÅVIRKNING                                 | 47         |
| 3.1.1    | <i>Pyrethroideffekter på diversitet, rekolonisering og stofomsætning i naturlige vandløb</i>                               | 47         |
| 3.1.2    | <i>Rekolonisering af og stofomsætning i modelvandløb efter pyrethroidpåvirkning</i>                                        | 60         |
| 3.2      | PYRETHROIDEFFEKT PÅ SMÅDYRS MOBILITET, EVNE TIL RESTITUERING, SAMT SUBSTRAT- OG FØDEKVALITET                               | 68         |
| 3.2.1    | <i>Stofomsætning hos forsøgspopulationer i små strømrrender efter pyrethroidpåvirkning</i>                                 | 68         |
| 3.2.2    | <i>Restitueringssevne hos Gammarus pulex (pilotforsøg)</i>                                                                 | 70         |
| 3.2.3    | <i>Restitueringssevne og fødesøgning hos udvalgte iturivere</i>                                                            | 74         |
| 3.2.4    | <i>Overlevelse og fødesøgning hos græsseren Heptagenia sulphurea</i>                                                       | 83         |
| 3.3      | LANGDISTANCE-KOLONISERING HOS SMÅDYR I FYNESKE VANDLØB                                                                     | 84         |
| 3.3.1    | <i>Udvikling i udbredelse</i>                                                                                              | 84         |
| 3.3.2    | <i>Kolonisering af ”nye” vandsystemer</i>                                                                                  | 88         |
| <b>4</b> | <b>DISKUSSION</b>                                                                                                          | <b>91</b>  |
| 4.1      | EFFEKTER AF PULSPÅVIRKNINGER MED PYRETHROID PÅ MAKROINVERTEBRATSAMFUNDSS STRUKTUR, FUNKTION OG MULIGHED FOR REKOLONISERING | 91         |
| 4.1.1    | <i>Kunstige substrater i naturlige vandløb</i>                                                                             | 91         |
| 4.1.2    | <i>Kunstige substrater i Stavis Å</i>                                                                                      | 94         |
| 4.1.3    | <i>Kunstige vandløb</i>                                                                                                    | 96         |
| 4.2      | PYRETHROIDEFFEKT PÅ SMÅDYRS MOBILITET, EVNE TIL RESTITUERING, SAMT SUBSTRAT- OG FØDEKVALITET                               | 100        |
| 4.3      | OVER-LAND SPREDNING OG KOLONISERING HOS VANDLØBSMAKROINVERTEBRATER                                                         | 103        |
| 4.4      | SAMMENFATNING AF PROJEKTETS DELEMENTER: DE OPSTILLEDE HYPOTESER OM REKOLONISERING                                          | 106        |
| <b>5</b> | <b>KONKLUSIONER</b>                                                                                                        | <b>113</b> |
| <b>6</b> | <b>PESPEKTIVERING</b>                                                                                                      | <b>115</b> |
| <b>7</b> | <b>REFERENCER</b>                                                                                                          | <b>119</b> |
|          | <b>BILAG A</b>                                                                                                             | <b>141</b> |
|          | <b>BILAG B</b>                                                                                                             | <b>147</b> |
|          | <b>BILAG C</b>                                                                                                             | <b>151</b> |
|          | <b>BILAG D</b>                                                                                                             | <b>153</b> |
|          | LANG-DISTANCE SPREDNING OG KOLONISERING HOS MAKROINVERTEBRATER I VANDLØB OG SØER/DAMME – ET REVIEW                         | 153        |
| 1.       | <i>Spredning og kolonisering – definitioner, omfang og betydning</i>                                                       | 153        |
| 2.       | <i>Vandinsekternes livscyklus og aktive spredning over land</i>                                                            | 154        |
| 3.       | <i>Passiv spredning over land</i>                                                                                          | 160        |
| 4.       | <i>Studier af kolonisering af vandløb og søer</i>                                                                          | 162        |

# Forord

Denne rapport er resultatet af undersøgelser, som i perioden april 2006 – marts 2009 er blevet gennemført af medarbejdere ved hhv. Aarhus Universitet (Danmarks Miljøundersøgelser, Afd. for Ferskvandsøkologi), Syddansk Universitet (Biologisk Institut) og Fyns Amt (Natur- & Vandmiljøafdelingen). I forbindelse med Kommunalreformen, hvor de danske amter blev nedlagt, blev Fyns Amts andel af projektet dog overført til DMU. Projektet er blevet finansieret via midler fra Miljøstyrelsens Program for Bekæmpelsesmiddelforskning (MST j. nr. 669-00048 (DMU), 669-00049 (SDU)), men begge institutioner har bidraget til undersøgelseernes gennemførelse via en væsentlig grad af egenfinansiering.

Projektledelsen blev fra starten varetaget af Nikolai Friberg, DMU, der imidlertid fratrådte sin stilling i september 2006. I gennem resten af projektet har Ulrik Nørum, SDU, fungeret som projektets leder.

Projektet har haft deltagelse af en lang række personer. Det videnskabelige personale har omfattet:

Ulrik Nørum (SDU)  
Peter Wiberg-Larsen (FANV 2006, DMU 2007-2009)  
Frank Landkildehus (DMU)  
John Bøhme Dybkjær (DMU, oktober 2006-januar 2007)  
Nikolai Friberg (DMU, april-september 2006)  
Morten Lauge Pedersen (DMU, april-september 2006)

Derudover har følgende medarbejdere ved SDU og DMU ydet teknisk bistand ved projektets gennemførelse:

Bente Frost Jacobsen (SDU: kvantificering af lambda-cyhalothrin i vandprøver)  
Johnny Nielsen (DMU: feltforsøg, bearbejdelse af makroinvertebratprøver m.v.)  
Dorthe Nedergaard (DMU: feltforsøg, klorofyl-a analyser)  
Uffe Mensberg (DMU: feltforsøg)  
Henrik Stenholt (DMU: feltforsøg)  
Tommy Silberg (DMU: feltforsøg)  
Ane Keldgaard (DMU: GIS analyser)  
Lilian Mex-Jørgensen (DMU: litteratursøgning)  
Carsten Brian Nielsen (DMU: elektronikarbejde)  
Erling Pedersen (DMU: opbygning af strømrrender og anden teknisk bistand)  
Anne-Dorthe Willumsen (DMU: tilsyn med strømrrender i Lemming).

Endelig har der været tilknyttet studerende til projektet, enten direkte aflønnet eller via specialer og bachelorprojekter:

Brian Olsen (SDU: udsortering af størstedelen af makroinvertebratprøverne, forberedelse og bistand ved feltarbejde)  
Jakob Martin Pedersen (SDU: specialeprojekt)  
Kim Høxbro Larsen (SDU: bachelorprojekt).

Michael Schmidt (SDU: bachelorprojekt)

Derudover udførte entreprenør Claus Sørensen anlægsarbejderne i forbindelse med etablering af strømrønderne i Lemming.

MiljøcenterOdense (v/Jan Mørch Sørensen) stillede velvilligt data for vandstand og vandtemperatur fra Stavis Å til vores rådighed.

Endelig og ikke mindst havde undersøgelsen i sin helhed ikke kunnet gennemføres uden de mange og lange tidsserier af makroinvertebratdata fra fynske vandløb, som skyldes en indsats fra følgende faste og midlertidigt ansatte medarbejdere ved det tidligere Fyns Amt: Niels B. Adamsen, Jette S. Hansen, Lars Johnsen, Lars Juhler, Jørn Knudsen, Frank G. Larsen, Kristiina Mardi og Claus Rasmussen. Tom Rugaard gjorde data tilgængelige via udvikling af database med tilhørende udtræksfaciliteter.

Projektet er under sit forløb blevet understøttet af en følgegruppe med følgende sammensætning: Jørn Kirkegaard (Miljøstyrelsen, fmd.), Hans Jørgen Albrechtsen (Danmarks Tekniske Universitet), Anders Baun (Danmarks Tekniske Universitet), Walter Brüschi (GEUS), Niels-Martin Frost (DuPont Danmark ApS), Dean Jacobsen (Københavns Universitet), Jørgen Jakobsen (tidl. forskningschef DJF, Forskningscenter Flakkebjerg), Niels Henrik Spliid (DJF, Aarhus Universitet), Jens Carl Streibig (Københavns Universitet), Mikkel Aaman Sørensen (Miljøstyrelsen), og Hans Roust Thysen (Dansk Landbrugsrådgivning). Blandt disse har Mikkel Aaman Sørensen, Dean Jacobsen, Jørgen Jakobsen, Niels-Martin Frost og Niels Henrik Spliid kommenteret udkast til rapporten og bidraget til forbedringer af denne.

# Sammenfatning

## Baggrund og formål

Pesticider tilføres i varierende antal og mængder til vandmiljøet, både i forbindelse med almindelig jordbrugsdrift (marksprøjtning) og i form af fx rengøring af sprøjteudstyr. Der er således fundet et stort antal forskellige pesticider, primært fungicider og herbicider, i danske vandløb. Der også fundet en række insekticider, bl.a. pyrethroider, som er de mest anvendte stoffer inden for denne gruppe. Pyrethroiderne er typisk meget svært vandopløselige og bindes derfor let til fx jordpartikler. Det er primært på denne form, at de tilføres vandmiljøet. Til gengæld er de effektive bekæmpelsesmidler med stor giftvirkning i selv relativt små doser og koncentrationer. Der er derfor god grund til at fokusere på deres mulige effekter i fx vandløb. Tidligere projekter under Miljøstyrelsens Pesticidforsknings Program har givet en del viden om stoffernes virkninger på dødelighed, aktivitet, fødeomsætning og formering hos udvalgte smådyr, som lever i vandløb. Undersøgelserne har imidlertid primært været udført under laboratorieforhold, og der mangler derfor især viden om effekter på naturlige samfund af smådyr. I særdeleshed mangler der viden om, hvor hurtigt disse samfund og deres rolle i omsætningen af organisk stof genskabes efter kortvarige påvirkninger med pyrethroid, samt om forurening af dyrenes føde yderligere forlænger denne proces. Formålet med nærværende undersøgelse er at søge at udfylde netop dette videnshul.

## Undersøgelsen

Der blev udført en række undersøgelser af effekten af et udvalgt pyrethroid, lambda-cyhalothrin, på smådyr i vandløb. Undersøgelserne blev udført på en varierende rumlig og tidslig skala, men omfattede i alle tilfælde effekter af en pulseksponering med stoffet over 90 min, enten af smådyrene selv eller deres føde.

Således blev overlevelse og evne til restitution, bevægelsesadfærd, og fødeomsætning undersøgt hos en række smådyr (tangloppen *Gammarus pulex*, døgnfluen *Heptagenia sulphurea*, og vårfluerne *Chaetopteryx villosa* og *Sericostoma personatum*) under laboratorieforhold i tanke/arenaer og små strømrrender (2 m lange tagrender af plastic) – over et tidsrum på 1-2 uger. Der blev i forsøgene anvendt nominelle koncentrationer af pyrethroid på 0,005-5,0  $\mu\text{g l}^{-1}$ .

På en større rumlig og tidslig skala blev akutte effekter på hele samfund af smådyr, herunder deres evne til omsætning af organisk stof, samt evne til rekolonisering, undersøgt i store strømrrender over 30 dage. Disse kunstige vandløb var 12 m lange, 0,6 m brede og forsynet med stryg- og høl områder med hhv. sten/grus og fint grus/sand. Renderne blev søgt ensartet podet med en naturlig sammensætning af smådyr fra den nærliggende Lemming Å. Der blev kun eksponeret ved to nominelle koncentrationer (0 og 5  $\mu\text{g l}^{-1}$ ).

Derudover blev effekter på smådyr i kunstige substrater undersøgt i hhv. 9 midtjyske vandløb (fordelt på tre størrelseskategorier) samt ét fynsk vandløb, alle udvalgt som relativt uforurened og fysisk upåvirkede. I de jyske vandløb blev udlagte gruskopper, som var koloniseret med alger og smådyr, og pakker af visne bøgeblade, som var koloniseret med mikroorganismer og smådyr, eksponeret med hhv. nominelt 0, 0,5 og 5,0  $\mu\text{g l}^{-1}$  pyrethroid i tanke uden for vandløbene, og genudlagt i vandløbene. Herefter blev den akutte effekt, rekolonisering og stofomsætningen af hhv. alger og blade undersøgt over 30 dage. Kun smådyrsfaunaen fra 3 af de 9 vandløb blev undersøgt, fordi forsøgsdesignet var utilstrækkeligt (vandgennemstrømningen i tankene var så lille, at selv dyrene i kontroltanken blev negativt påvirket heraf) og resultaterne er derfor af beskeden værdi i relation til en vurdering af effekten af pyrethroid. I det fynske vandløb blev der udlagt bladpakker, der enten var behandlet med pyrethroid i en nominel koncentration på 5,0  $\mu\text{g l}^{-1}$  eller ubehandlede. Derefter blev koloniseringen (med smådyr) og omsætningen af bladene fulgt over 30 dage.

Endelig blev der foretaget en undersøgelse af smådyrenes potentiale for spredning og kolonisering på en langt større tidslig og rumlig skala. Herved blev analyseret data fra årlige undersøgelser på ca. 900 stationer i fynske vandløb over en 20-årig periode. Tidsserien var særlig egnet, idet mange rentvandskrævende arter i starten af perioden kun forekom ganske enkelte steder pga. tidligere udbredt dårlig vandkvalitet, og fordi vandkvaliteten fra omkring 1990 var blevet så god pga. forbedret spildevandsrensning og stop for ulovlige landbrugsudledninger, at smådyrene kunne udfolde deres sprednings- og koloniseringspotentiale. Data gjorde det således muligt at følge kolonisering over land via voksne vandinsekter fra ét vandsystem til et andet.

## Hovedkonklusioner

Koncentrationer i størrelsesordenen 5,0  $\mu\text{g l}^{-1}$  vil slå langt størstedelen af smådyrene (primært insekter og krebsdyr) ihjel, og omsætningen af organisk stof vil efterfølgende være væsentlig nedsat. Koncentrationer i størrelsesordenen 0,5  $\mu\text{g l}^{-1}$  vil også medføre øget dødelighed hos insekter og krebsdyr, ligesom de overlevende individer vil være mindre aktive og deres omsætning af organisk stof efterfølgende nedsat. Koncentrationer i denne størrelsesorden må forventes at forekomme i mindre vandløb i forbindelse med afstrømning fra nysprøjtede marker efter større regnhændelser. Desuden vil koncentrationer i størrelsesordenen 5,0  $\mu\text{g l}^{-1}$  yderligere forurene smådyrenes levesteder og fødeemner i en sådan grad, at det bidrager til at gøre disse mindre attraktive for smådyrene. Det vil medvirke til at bremse stofomsætningen og forsinke rekoloniseringen af den berørte vandløbsstrækning.

Ud fra vores undersøgelser og andre studier kan det konkluderes, at mulighederne for rekolonisering normalt vil være relativt gode, hvis en forurening med fx et pyrethroid udrydder selv store dele af smådyrsfaunaen på en delstrækning af et vandløb. Hvis der således ikke er tale om den absolut øvre ende af vandløbet, vil rekoloniseringen således kunne ske fra primært opstrøms beliggende strækninger via bl.a. transport ved strømmens hjælp (drift). Hurtigst vil rekoloniseringen foregå om sommeren og det tidlige efterår, hvor mange vandløbsinsekter lægger deres æg, men selv da kan fuldstændig genopretning tage op til 1-2 år. Er der derimod tale om, at den berørte strækning huser en lokal forekomst af sjældne arter, eller arter, som ikke findes andre steder inden for det pågældende vandløbssystem, skal

rekolonisering ske fra andre vandsystemer. Afhængigt af afstanden til disse, gunstige vejrforhold under de voksne insekters flyveperioder, og en vis portion held, kan rekoloniseringen tage år eller årtier.

## Projektræsultater

Undersøgelserne, som blev udført under velkontrollerede forhold i laboratorietanke, små strømrrender, samt kunstige og naturlige vandløb sandsynliggjorde, at en kortvarig puls af pyrethroid i størrelsesordenen  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  ikke blot skaber dramatiske ændringer i artssammensætningen i vandløb, men også må formodes at kontaminere potentielle fødekilder som dødt bladmateriale og bundlevende alger. Derved hæmmes aktiviteten hos de smådyr, som udnytter denne føde, ligesom nedbrydningen af de døde blade reduceres og algevæksten øges. Også koncentrationer, som var omkring 10-1000 gange lavere, havde effekter på udvalgte forsøgsdyr. Det er derfor sandsynligt, at der ved sådanne koncentrationer også kan forventes ændringer i artssammensætningen i naturlige vandløb. Derimod tyder vores undersøgelser ikke på, at kontaminering alene af potentielle fødeemner ved sådanne relativt ”lave” koncentrationer har nogen væsentlig indflydelse på smådyrenes stofomsætning og trivsel.

Resultaterne af undersøgelserne er sammenstillet i følgende tabel.

| Pulspåvirkning med. lambda-cyhalothrin | Øget dødelighed hos:                                                                                                                                     | Inden for 2 uger efter pulseksponering                                 |                                                         |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
|                                        |                                                                                                                                                          | Reduceret aktivitet hos:                                               | Reduceret fødeomsætning hos:                            |
| 0,05 mikrogram/l                       | Ingen ved laboratorieforsøg med tanglopper og vårfluer                                                                                                   | Ingen ved laboratorieforsøg med tanglopper og vårfluer                 | Ingen ved laboratorieforsøg med tanglopper og vårfluer  |
| 0,5 mikrogram/l                        | Tanglopper og vårfluer ved laboratorieforsøg (små strømrrender, tanke)                                                                                   | Tanglopper og vårfluer ved laboratorieforsøg (små strømrrender, tanke) | Tanglopper, døgnfluer og vårfluer ved laboratorieforsøg |
| 5,0 mikrogram/l                        | Tanglopper og vårfluer (næsten 100%) ved laboratorieforsøg, samt hos samfund af mange arter i kunstige vandløb                                           | Tanglopper og vårfluer ved laboratorieforsøg                           | Tanglopper, døgnfluer og vårfluer ved laboratorieforsøg |
| Via bladføde - 5,0 mikrogram/l         | Tanglopper og vårfluer ved laboratorieforsøg, samt nedsat hyppighed af tang-lopper og nedsat biodiversitet af smådyr i bladpakker i et naturligt vandløb | Tanglopper og vårfluer ved laboratorieforsøg                           | Tanglopper og vårfluer ved laboratorieforsøg            |
| Via algeføde - 5,0 mikrogram/l         | Døgnfluer ved laboratorieforsøg                                                                                                                          |                                                                        | Døgnfluer ved laboratorieforsøg                         |

Forsøgene viste entydigt, at smådyrene meget hurtigt koloniserer vandløbsbunden, når de kun skal overvinde meget små afstande (cm), men at der kan gå mere end 30 dage, når der er tale om strækninger på adskillige meter. Vores undersøgelser gav dog kun i ringe grad mulighed for at beskrive spredning og kolonisering over større afstande inden for det enkelte vandløbssystem. Således havde vi ingen mulighed for at belyse vigtige sprednings- og koloniseringsveje som svømning eller kravlen i opstrøms retning eller hos voksne vandinsekter opstrømsflugt hos ægbærende hunner.

Ligeledes tillod forsøgene ikke en vurdering af, hvor langt og hvor hurtigt rekolonisering i nedstrøms retning kan ske ved eksempelvis drift. Disse måder at sprede sig på er imidlertid velkendte og vel undersøgte, ligesom der findes flere studier af, hvor langt individer er i stand til at transporteres via drift.

Til gengæld kunne det påvises, at der hos mange vandløbsinsekter forekommer væsentlig over-land kolonisering fra ét vandsystem til et andet, endda over afstande af 8-16 km eller endnu længere. Hos flere arter af slørvinger, døgnfluer og vårfluer fandtes – ikke overraskende - en positiv sammenhæng mellem den afstand, over hvilken arterne koloniserede, og den tid det tog før koloniseringen fandt sted. Der var også tegn på, at koloniseringen i et vist omfang afhænger af vejrforholdene under arternes flyvetid, mens der ikke kunne eftervises nogen effekt af landskabets udseende.

# Summary

## Background and aim

Pesticides are transported to the aquatic environment in varying number and amounts. The main sources are runoff from sprayed fields, spray drift and point sources such as runoff from sites where spraying equipment is being cleaned. A considerable number of different pesticides, primarily herbicides and fungicides, have been found in Danish streams. Insecticides, including pyrethroids which are the most important group, have also been found on several occasions. Pyrethroids are relatively insoluble in water and may easily adsorb to surfaces of different minerals and organic matter. Consequently, they will adhere to soil particles and can be transported in this form to the aquatic environment by runoff. However, even in relatively small amounts, they are extremely toxic and efficient against target pest insects as well as many non-target invertebrates. Therefore there is every reason to focus on these substances and their effects in e.g. streams. Previous projects carried out under The Danish Environmental Protection Agency's "Pesticides Research Programme" have provided a considerable amount of information on the effects of pyrethroids on mortality, activity, feeding rate and reproduction of selected stream macroinvertebrates. However, most of this research was done in the laboratory. Therefore there is a great need for studies of the effects of transient pulses of pyrethroids on natural assemblages of macroinvertebrates, especially how fast these assemblages and their function in the turnover of organic matter are re-established, and whether pyrethroid contamination of the habitats and food of the macroinvertebrates may prolong the process of re-establishment. The aim of the present study is to fill this gap in our knowledge if possible.

## The study

We carried out a number of experiments on the effects of a selected pyrethroid, lambda-cyhalothrin, on stream macroinvertebrates. These experiments were performed on varying scales of space and time. However, in all cases a pulse exposure of 90 minutes was used, either exposing the macroinvertebrates themselves or their habitat and food.

In laboratory tanks and small artificial streams (2 metres long plastic gutters) survival, recovery, mobility, and feeding rate were studied over a period of one to two weeks in four species of macroinvertebrates: the crustacean *Gammarus pulex*, the mayfly *Heptagenia sulphurea*, and the caddisflies *Chaetopteryx villosa* and *Sericostoma personatum*. Nominal concentrations of 0.005-5.0 µg l<sup>-1</sup> were used.

On a larger scale the acute effects on macroinvertebrate assemblages, including their ability to process organic matter and to recolonize, were studied in six large artificial stream channels for a period of 30 days. Each of these channels were 12 metres long (width 0.6 metres), fed with 4-5 litres s<sup>-1</sup>, and equipped with riffle and pool sequences containing stones/coarse gravel

and fine gravel/sand, respectively. We also added mesh bags with conditioned beech leaves. The channels were uniformly stocked with natural macroinvertebrate assemblages from the nearby stream that also fed them. The downstream halves of three of the six channels were exposed to  $5.0 \mu\text{g l}^{-1}$  of lambda-cyhalothrin, whereas the remaining channels acted as controls.

Furthermore, effects of lambda-cyhalothrin on macroinvertebrate assemblages in artificial substrates were studied in nine Mid-Jutland streams (including three size classes) and one Funen stream, all being relatively unaffected by human activities. In the Mid-Jutland streams colonized gravel boxes and leaf packs were exposed to 0, 0.5 and  $5.0 \mu\text{g l}^{-1}$  in special tanks out of the streams and afterwards reintroduced to these. Hereafter, recolonization and turnover of organic matter (benthic algae and leaf loss) was followed over a period of 30 days. Only macroinvertebrate data from three of the streams were analysed, as they seemed of relatively little informative value due to an inappropriate experimental design (the current velocity in the tanks was so low that it affected the macroinvertebrates even in the control experiments). Instead, we made an additional experiment introducing beech leaf packs that were either treated with  $5.0 \mu\text{g l}^{-1}$  or untreated. The colonization and weight loss of these packs were then studied for a period of 60 days.

Finally, we carried out a study of the dispersal and colonization potential of stream macroinvertebrates on a much larger scale in time and space. Thus, we analysed data from yearly monitoring of approximately 900 stream sites in Funen over a period of 20 years. This time series was especially suitable as many pollution sensitive species only occurred very locally at the beginning of this period due to the previously poor water quality. The water quality improved considerably after about 1990 due to better treatment of waste water and a stop for illegal discharges of silage juice and liquid manure from husbandries. This made it possible to study the dispersal of macroinvertebrates and their recolonization of physically suitable stream habitats, including their over-land colonization from one stream catchment to another.

## Main conclusions

Lambda-cyhalothrin concentrations of  $5.0 \mu\text{g l}^{-1}$  may kill the majority of stream macroinvertebrates (mostly crustaceans and insects), and the breakdown of dead organic matter and grazing of benthic algae is thereby markedly reduced. Concentrations of  $0.5 \mu\text{g l}^{-1}$  may increase mortality among crustaceans and insects, and the surviving individuals may be less active and their processing of food is reduced. Concentrations in this order of magnitude are likely to occur in small streams due to leaching from newly sprayed fields following heavy rain incidents. Moreover, contamination of habitats and food (benthic algae, beech leaves) due to a pulse of  $0.5 \mu\text{g l}^{-1}$  induced increased mortality or made the food less attractive. This may reduce decomposition of organic matter and delay macroinvertebrate recolonization of an impacted stream reach.

From the present studies, supported by previous studies, it may be concluded that the macroinvertebrate community may be successfully re-established following pulse contamination with a pyrethroid that affects a stream reach. If the stream reach in question is not located at the most upstream part of the respective stream system, recolonization will primarily take place from upstream reaches by so-called drift. The recolonization will be especially fast

during summer and early autumn where many stream insects deposit their eggs, but even then complete reestablishment may take one to two years. If, however, the insecticide affected reach did contain species that, due to their rareness or very local distribution, were not present elsewhere in the respective catchment, recolonization must occur over land from streams in other catchments. Dependent on the distance to the nearest populations of the species, favourable whether conditions during the flight periods of the adults, and successful reproduction when finally reaching a new habitat, recolonization may take years, decades or even longer.

## Results from the project

The experiments that were carried out under controlled conditions in laboratory tanks, small stream mesocosms, and in artificial as well as natural streams rendered probable that a pyrethroid pulse of a magnitude of  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  not only dramatically changed the macroinvertebrate assemblages. It also contaminated potential habitats and food sources like beech leaves and benthic algae, thereby increasing mortality, activity and feeding rates. Even pulse exposure at concentrations 10-1000-fold lower may have effects (increased mortality, reduced activity, or hyperactivity) on some macroinvertebrate species under laboratory conditions. It is therefore possible that some effects may also be expected in natural streams at these concentrations. However, it seems unlikely that contamination of habitats and food alone will affect the macroinvertebrate assemblages and their turnover of organic matter.

| Pulse concentration of lambda-cyhalothrin            | Increased mortality                                                                                                                                              | Within 2 weeks after pulse exposure                                                       |                                                                                                        |
|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                      |                                                                                                                                                                  | Reduced activity                                                                          | Reduced consumption of food                                                                            |
| $0.05 \mu\text{g l}^{-1}$                            | None in laboratory studies with freshwater shrimps and case-bearing caddisflies                                                                                  | None in laboratory studies with freshwater shrimps and case-bearing caddisflies           | None in laboratory studies with freshwater shrimps and case-bearing caddisflies                        |
| $0.5 \mu\text{g l}^{-1}$                             | Freshwater shrimps and case-bearing caddisflies in laboratory tanks and stream microcosms                                                                        | Freshwater shrimps and case-bearing caddisflies in laboratory tanks and stream microcosms | Freshwater shrimps, mayflies and case-bearing caddisflies in laboratory tanks and/or stream microcosms |
| $5.0 \mu\text{g l}^{-1}$                             | Freshwater shrimps and case-bearing caddisflies (almost 100%) in laboratory studies, and in macroinvertebrate assemblages in artificial streams                  | Freshwater shrimps and case-bearing caddisflies in laboratory studies                     | Freshwater shrimps, mayflies and case-bearing caddisflies in laboratory studies                        |
| Contaminated beech leaves - $5,0 \mu\text{g l}^{-1}$ | Freshwater shrimps and case-bearing caddisflies in laboratory studies, and reduced macroinvertebrate abundance and biodiversity in leaf packs in natural streams | Freshwater shrimps and case-bearing caddisflies in laboratory studies                     | Freshwater shrimps and case-bearing caddisflies in laboratory studies                                  |
| Contaminated algae - $5,0 \mu\text{g l}^{-1}$        | Mayflies in laboratory studies                                                                                                                                   |                                                                                           | Mayflies in laboratory studies                                                                         |

The results from the laboratory and field experiments are summarized in the table.

The experiments in natural streams clearly showed that macroinvertebrates colonized artificial substrates very fast (i.e. within a few days), as they only had to overcome small distances. However, recolonization of pesticide contaminated artificial stream reaches of several metres was not at all complete after 30 days, and may take considerably longer time. Our study did not permit conclusions on recolonization over larger distances within stream systems and to identify important dispersal and colonization routes. However it is well known that dispersal may occur as passive drift, active swimming or crawling, as well as downstream and upstream flight of females carrying eggs, all these being of importance.

On the other hand, the study of monitoring data from Funen streams clearly demonstrated that the adults of many stream insects were able to colonize over land from one stream to another, often crossing catchment boundaries. Recolonization could take place over a distance of 8 – 16 km for several species of stoneflies, mayflies and caddisflies, although there were examples of even longer dispersal distances. Several species showed a positive relationship between the distance over which they colonized and the time until colonization was successful. We also found evidence that weather condition during the flight period of insects influenced the dispersal and colonization. However, it was not possible to show any effect of landscape structure on over land colonization.

# 1 Indledning

## 1.1 Baggrund og nuværende vidensgrundlag

Brug af pesticider på dyrkede arealer fører til, at en del af disse stoffer havner i ferskvandsøkosystemer som vandløb og søer (Mathiassen et al. 1995, Felding et al. 1997, Schulz & Liess 1999a, b). Der er således i Danmark i de senere år påvist mindst 44 forskellige pesticider i vandløb (Bøgestrand et al. 2003). De højeste koncentrationer findes typisk i forbindelse med større nedbørshændelser og forekommer som pulse (Styczen et al. 2003). Tilførslerne vurderes – på lerede jorder - i høj grad at skyldes transport via makroporer og dræn (Kronvang et al. 2003b), om end der kan forekomme en betydende overfladisk afstrømning af pesticider, hvor terræner skråner kraftigt ned mod vandløbene (Felding et al. 1997). Stofpulsene kan dog også skyldes afstrømning fra vaskepladser (Bay & Hansen 2001) eller vinddrift under sprøjtning. Effekterne af disse pesticider på de enkelte organismer, den biologiske struktur og funktionen af de biologiske elementer i vandområderne er imidlertid endnu ufuldstændigt kendt (se fx Schulz 2004).

For de fleste pesticider gælder, at de koncentrationer, som maksimalt er fundet i vandområderne, ikke kan forventes at være akut dødelig for organismerne. Nyere udenlandske studier har imidlertid vist, at pulse af visse insekticider, især pyrethroiderne, ved almindelig landbrugsdrift kan føre til effekter på populations- og økosystemniveau i vandløb (Schulz & Liess 1999b). En af disse effekter er, at visse smådyr føres med strømmen og eventuelt helt forsvinder fra den belastede strækning (Schulz & Liess 1999b). Dette fænomen kaldes for drift. Drift forekommer i mindre målestof under normale omstændigheder, dvs. uden indvirkning af toksiske stoffer eller andre forstyrrelser, men forøges markant under indvirkning af forstyrrelser (katastrofedrift). Traditionelle metoder til vurdering af pesticiders toksicitet i akvatiske systemer har hidtil bygget primært på studier af dødelighed hos udvalgte organismer, som under laboratorieforhold udsættes for konstante eksponeringskoncentrationer over givne tidsrum. Disse tidsrum (24, 48 eller 96 timer) er dog ofte væsentlig længere end den relativt korte tid (få timer), som pulsene i mindre vandløb typisk kan strække sig over (Styczen et al. 2003).

I tre tidligere pesticidforskningsprojekter, finansieret af Miljøstyrelsen, er vist, hvorledes smådyr fra både vandløb og søer/vandhuller kan påvirkes ved kortvarige, ikke-dødelige pyrethroidpulse. Ferskvandstangloppen *Gammarus pulex*, som er det mest talrige smådyr i danske vandløb, drifter således allerede ved en koncentration på ca. 0,0002 µg l<sup>-1</sup> for esfenvalerat (Nørum & Bjerregaard 2003, Møhlenberg et al. 2004) og 0,001 µg l<sup>-1</sup> for lambda-cyhalothrin (Lauridsen & Friberg 2005). Heckmann & Friberg (2005) fandt ligeledes, at en række vandløbssmådyr øgede deres drift signifikant ved koncentrationer af lambda-cyhalothrin fra 0,05 µg l<sup>-1</sup> og opefter i mesokosmos-render placeret i et vandløb. Derudover er det vist, at *G. pulex*'s parringsadfærd hæmmes ved koncentrationer af lambda-cyhalothrin på 0,2 µg l<sup>-1</sup> (Heckmann et al. 2005). Undersøgelser fra Tyskland tyder endvidere på, at forvandlingen fra larver over pupper til voksne dyr hos visse vandinsekter også

påvirkes ved sådanne lave koncentrationer af pyrethroider (Schulz 1997). Til sammenligning er der i vandløb i Århus Amt fundet koncentrationer på op til  $0,66 \mu\text{g l}^{-1}$ , og i fynske vandløb op til  $0,2 \mu\text{g l}^{-1}$ , af pyrethroidet esfenvalerat (Wiberg-Larsen et al. 1997, Wiggers 1999). I Århus Amt blev esfenvalerat fundet i 30% af alle udtagne vandprøver, og i 20% af alle prøverne oversteg koncentrationen  $0,1 \mu\text{g l}^{-1}$  (Wiggers 1999). I en undersøgelse af pesticid-indholdet i sedimenter fra 30 danske vandløb blev pyrethroiderne alfa-cypermethrin, deltamethrin, esfenvalerat og lambda-cyhalothrin detekteret med fundprocenter op til 6,7% for lambda-cyhalothrin (Kronvang et al. 2003a). Da pyrethroiderne ikke er en del af det nationale overvågningsprogram (NOVANA), mangler der generelt viden om de, i danske vandløb, forekommende pyrethroidkoncentrationer.

I Danmark er pyrethroiderne den vigtigste gruppe af insekticider, idet 82% af de i 2007 insekticidbehandlede arealer blev sprøjtet med netop denne stofgruppe (Miljøstyrelsen, 2008). Samtidig er disse stoffer særdeles potente med en effektiv virkning i de vægtmæssigt relativt små mængder, som anvendes. De arealmæssigt tre vigtigste enkeltstoffer var alpha-cypermethrin (36%), tau-fluvalinat (25%) og lambda-cyhalothrin (14%) (Miljøstyrelsen 2008). Alle de undersøgte pyrethroider påvirker *G. pulex* ved stort set de samme koncentrationer og på samme måde (Nørum et al., 2006). Af denne grund er det i nærværende projekt vurderet rimeligt at anvende lambda-cyhalothrin som model-pyrethroid, fordi projektgruppen har stor erfaring med anvendelsen af netop dette pyrethroid i forbindelse med såvel effektstudier som kvantificering af stoffet i vand (se fx Møhlenberg et al. 2004, Nørum et al. 2006).

Pyrethroider er tungt opløselige i vand, men til gengæld meget fedtopløselige, og bindes derfor hurtigt og stærkt til overflader af organisk og mineralsk stof; de har således stor affinitet i forhold til mineraler som kvarts, corundum (alluminiumoxid), kaolinit og montmorillonit, ligesom de også bindes stærkt til fx glasoverflader (Hand et al. 2001, Oudou & Hansen 2002). Derfor forsvinder stofferne hurtigt fra vandfasen, og de er således vanskelige at måle ved traditionelle vandkemiske undersøgelser (Hill 1989, Hand et al. 2001). Blandt pyrethroiderne har lambda-cyhalothrin ( $\log K_{ow} = 7$ ) den stærkeste bindingsevne (Oudou & Hansen 2002). Den stærke evne til at bindes til organisk og mineralsk materiale betyder, at stofferne i stort omfang vil tilføres vandløbene bundet til partikler (Ghadiri & Rose 1991).

Begrænsningen ved tidligere gennemførte forsøg med effekter af pesticider på vandløbenes smådyr er, at de er udført over forholdsvis kort tid og under forsimplede forhold, enten i laboratoriet eller i mikro-/mesokosmos opstillinger (Nørum & Bjerregaard 2003, Møhlenberg et al. 2004, Heckmann & Friberg 2005, Lauridsen & Friberg 2005), der gør ekstrapolering til økosystemniveau vanskelig. For at kunne vurdere mulige effekter af pyrethroider på populations- og økosystemniveau er det derfor nødvendigt at gennemføre studier af smådyrenes artsafhængige evne til at rekolonisere vandløbene, samt af egnetheden af disse dyrs mikro-levesteder, i tiden efter en pulseksposering med stofferne. Således har Liess & Von der Ohe (2005) fundet, at tætheden af pesticidfølsomme arter er højere i vandløb, som lejlighedsvis påvirkes af pesticider, hvis der findes upåvirkede strækninger opstrøms, hvorfra de mest pesticidfølsomme arter kan indvandre igen. I den forbindelse er det væsentligt også at undersøge den indvandring, som skyldes 'lang-distance' spredning fra andre hydrologisk adskilte vandområder. Egentlige fuldskalaforsøg i naturlige systemer kan dog reelt være næsten umulige at udføre, da det vil være ekstremt ressourcekrævende at indfri de statistiske krav om gentagelse af forsøgene (pga. den store variation i naturlige miljøer). Det kan samtidig synes

etisk uacceptabelt at udsætte et større antal vandløbsstrækninger for direkte tilførsel af høje koncentrationer af pesticider, blot for at opnå den ønskede viden.

## 1.2 Formål

Dette projekts formål er at vurdere, hvilke effekter pulseksponeringer med pyrethroider har på vandløbsøkosystemers struktur og funktion, herunder hvor hurtigt disse egenskaber genskabes. Der er i særlig grad fokuseret på makroinvertebrater (smådyr), som har en central rolle i vandløbs stofomsætning, idet de dels udnytter (omsætter) forskellige typer af organisk stof, dels fungerer som føde for fx fisk. Ikke blot er det formålet at kvantificere smådyrenes evne til at rekolonisere, men også i hvor høj grad forurening af smådyrenes føde og levesteder indvirker på denne rekolonisering.

Der er i forbindelse med projektet opstillet følgende overordnede hypoteser:

- Forskellige smådyrs evne til at rekolonisere vandløb, efter at de har været udsat for pulse af pyrethroider, kan rangordnes ud fra målinger af dyrenes mobilitet (evne til at bevæge sig), evne til at komme sig, spredningsevne, samt samlede potentiale for rekolonisering (der også omfatter deres hyppighed og formeringsevne).
- Rekoloniseringen afhænger desuden af, om - og i givet fald hvor længe - levestedet påvirkes af disse pulse.

Det er i øvrigt forventet, at såfremt det er muligt at kvantificere et artsafhængigt potentiale for rekolonisering, og hvis påvirkningen af smådyrenes levested ligeledes kan kvantificeres, vil det være muligt at forudsige pyrethroiders virkning på populationer af smådyr, samt på disses funktion i vandløbsøkosystemerne.

Hypoteserne er søgt testet ved gennemførelse af en række integrerede undersøgelser, hver med delmål, som samlet bidrager til projektets overordnede formål.

## 1.3 Projektets overordnede struktur

Projektet kombinerer delstudier med forskellig grad af manipulerbarhed og kompleksitet på en varierende tidslig og rumlig skala (se figur 1.3.1). Der er således gennemført simple og kontrollerede forsøg under laboratorieforhold, hhv. i små beholdere eller strømrrender, hvorved udvalgte smådyr er blevet udsat for pulse af pyrethroid. Herved er centrale biologiske karakteristika af betydning for arternes evne til at rekolonisere, dvs. primært deres mobilitet og evne til at komme sig (restituering), blevet kvantificeret. Desuden er det undersøgt, hvor hurtigt et pulseksponeret levested og den tilhørende føde igen bliver egnet for forsøgsdyrene. Lignende forsøg på en større rumlig og tidslig skala er supplerende udført på kunstigt etablerede samfund af smådyr i en række så vidt muligt ens strømrrender, for at opnå en større grad af naturlignende forhold. Her er ikke blot undersøgt den aktuelle effekt på smådyrssamfundet og dets evne til at komme sig, men også af samfundets evne til at omsætte organisk stof. Endelig er der udført undersøgelser af betydningen af pulseksponering på smådyrssamfundenes sammensætning, evne til omsætning af organisk stof og evne til rekolonisering i naturlige

vandløb, hvor det er langt vanskeligere at kontrollere forsøgsbetingelserne i forhold til andre betydende miljøfaktorer. Laboratorieforsøgene leverer således resultater, der kan understøtte/belyse de resultater, som opnås ved feltstudierne og forsøgene i de kunstige vandløb.

Laboratoriestudierne og forsøgene i kunstige og naturlige vandløb har inden for de givne tekniske og tidsmæssige rammer kun mulighed for at beskrive rekoloniseringen på strækningsniveau og helt lokalt niveau. Rekolonisering som skyldes indvandring af smådyr fra fjernere liggende levesteder – såkaldt lang-distance kolonisering – er således søgt belyst på anden vis. Til dette formål er foretaget en analyse af tidsserier af overvågningsdata for smådyr fra fynske vandløb, hvor der over en lang årrække er foregået en spredning af arter. Sammen med data fra litteraturen søges herved belyst, i hvor stort omfang pesticidpåvirkede vandløbsstrækninger kan rekoloniseres via smådyrenes lang-distance spredning (se fx Malmquist, 2002). Litteraturstudiet søger desuden at drage paralleller til spredningsforholdene hos smådyr, som lever i småsøer og damme.



Figur 1.3.1. Oversigt over udførte forsøg.

I samtlige laboratorie- og feltforsøg blev der tilført pyrethroid i pulse af 90 min. Denne pulsvarighed er blevet anvendt i tidligere og sammenlignelige undersøgelser (Nørum & Bjerregaard 2003, Møhlenberg et al. 2004, Nørum et al. 2006), bl.a. på baggrund af vurderinger af varigheden af pulse under naturlige forhold i relativt små vandløb, fx i forbindelse med tilførsel af pesticider efter kraftige nedbørshændelser (se Styczen et al. 2003). Dertil kommer, at tidsrummet har en forsøgsmæssigt praktisk længde.

Som nævnt betyder det valgte modelpyrethroids evne til at binde sig stærkt til diverse stofoverflader og faste partikler, at de reelle stofkoncentrationer, som forsøgsdyrene og samfundene af smådyr udsættes for i de udførte forsøg under laboratorie-, semi-naturlige og naturlige forhold, kan være mindre end planlagt. Derfor er der i muligt omfang foretaget målinger af de reelle koncentrationer i forbindelse med doseringen af modelpyrethroidet for derved at kunne beskrive de realistiske koncentrations-respons-sammenhænge ved de forskellige forsøg.

Projektet bygger på 3 tidligere gennemførte projekter om pesticiders effekter på smådyr i vandløb (Nørum & Bjerregaard 2003, Møhlenberg et al. 2004, Nørum et al. 2006). Disse undersøgelser var koncentreret om de effekter, som et udsnit af pesticider har hos udvalgte smådyr i form af: dødelighed, ændrede bevægelsesmønstre (herunder drift), ændret reproduktion, ændret omsætning af organisk stof, samt ændrede relationer mellem rovdyr og byttedyr. Det foreliggende projekt inddrager nogle af de tidligere anvendte metoder (videosporing i små arenaer, brug af små strømrrender), men fokuserer som noget nyt på rekolonisering af vandløb, efter at disse er blevet påvirket kortvarigt af et særligt effektivt virkende pyrethroid. Desuden er der fokuseret mere målrettet end tidligere på at afdække effekter på biologisk struktur, samt stofomsætning og fødetilgængelighed. Endelig er det – ligeledes som noget helt nyt – forsøgt belyst, hvilken betydning et vandløbs biodiversitet har for pesticiders effekt på rekolonisering og stofomsætning.

Feltstudierne og undersøgelserne i de store strømrrender er udført af DMU (Silkeborg) og SDU (Biologisk Institut), mens laboratorieforsøgene er udført ved SDU. Litteratur- og analyser af tidsserier af overvågningsdata er udført af DMU.

## 1.4 Baggrund, formål og hypoteser for projektets delelementer

### 1.4.1 Betydning af økosystemstruktur og – funktion for rekolonisering efter påvirkning med pyrethroid

Delfprojektet bestod af 3 separate forsøg. Det første forsøg foregik i 9 naturlige vandløb i fuld skala, hvor forskellige faktorer – ud over pyrethroid-påvirkningen - indvirkede, uden at det er muligt direkte at adskille dem fra hinanden. Under disse feltforsøg blev det vurderet uetisk at påvirke hele vandløbstrækninger med høje koncentrationer af pesticid (det er iflg. Miljøbeskyttelsesloven som udgangspunkt ulovligt, om end det teoretisk er muligt at opnå dispensation). Derfor valgtes i stedet den fremgangsmåde først at lade kunstige substrater kolonisere med smådyr i forsøgsvandløbene, dernæst at optage de koloniserede substrater og eksponere dem for pesticid i en forsøgsrende, for derefter at lægge dem tilbage i forsøgsvandløbet. Som supplement hertil blev der under kontrollerede forhold gennemført forsøg med pyrethroidpåvirkning af semi-naturlige samfund af smådyr i store strømrrender. Her var det muligt væsentligt at reducere den naturlige variation, som findes i naturlige vandløb, ligesom det var muligt at tilsætte pyrethroid direkte til vandfasen og dermed påvirke hele systemet.

Hvis en pyrethroidtilførsel (eller tilførsel af kemisk stof med lignende giftvirkning) fx rammer en begrænset strækning af et vandløb og derved fjerner bestemte arter af smådyr, vil disse arter primært genindvandre via drift fra opstrøms upåvirkede strækninger. I sådanne tilfælde er rekolonisering bl.a. afhængig af den lokale artspulje (dvs. hvilke arter der er ”til rådighed”).

Overordnet set er både artspulje og stofomsætning i et givet vandløb afhængig af dets størrelse (se fx Vannote et al. 1980, Wiberg-Larsen et al. 2000), hvor det er vist at øget biodiversitet kan øge stofomsætningen (Cardinale et al. 2003). Store vandløb rummer et større areal og flere habitater, hvilket teoretisk set også betyder et større antal arter og individer – og dermed større biodiversitet – end tilfældet er i mindre vandløb. Det er dog også påvist, at den regionale artspulje kan spille en vis rolle for det enkelte vandløbs biodiversitet. Nogle arter findes således kun i bestemte geografiske områder, hvilket kunne have betydning, hvis de udvalgte undersøgelseslokaliteter var blevet udvalgt fra forskellige dele af landet.

De aktuelle feltforsøg i naturlige vandløb omfattede derfor en række lokaliteter beliggende inden for samme "region". Her blev undersøgt tre størrelser vandløb: Små vandløb (med oplandsareal 1–10 km<sup>2</sup>); mellemstore vandløb (med oplandsareal 10–50 km<sup>2</sup>) og store vandløb (med oplandsareal 50–100 km<sup>2</sup>). Rationalet bag inddelingen i størrelser er som nævnt, at potentialet for rekolonisering teoretisk burde øges med vandløbets størrelse, fordi biodiversiteten øges med stigende vandløbsstørrelse (Brönmark et al. 1984). De mindst diverse systemer er samtidigt teoretisk set mest følsomme for forstyrrelser f.eks. i form af pesticidbelastning (Tilman 2000). Det er bl.a. disse sammenhænges betydning for smådyrenes rekolonisering efter en påvirkning med pesticid, som feltforsøgene skulle belyse. Derudover skulle de belyse, hvilken betydning ændringerne i smådyrssamfundene har på omsætningen af organisk stof. Der blev herved fokuseret på omsætningen af både mikroalger og døde blade, der udnyttedes af hhv. "græssere" og "iturivere" blandt smådyrene. Mikroalger optræder især om foråret (fx Kjeldsen et al. 1996), hvor der også foregår sprøjtning med pyrethroider. Det er således i kontrollerede eksperimenter fundet, at algebiomassen om foråret var højere på sten, hvorfra de græssende smådyr var fjernet ved hjælp af et insekticid, end på ubehandlede sten (Kjeldsen 1996). Lignende opblomstring af mikroalger på sten og øvrig bund er observeret i fynske vandløb, hvor krebsdyr og vandinsekter blev elimineret i forbindelse med punktudledninger af pyrethroider, ligesom der blev fundet sammenhæng mellem masseforekomst af trådalger og pesticidforårsaget eliminering af græssende smådyr (Wiberg-Larsen et al. 1997).

Der blev udført både forårsforsøg med fokus på disse mikroalger og deres græssere, og efterårs-/vinterforsøg med fokus på omsætning af døde blade og de tilhørende iturivere. Især i mange små bække er netop døde blade hovedfødekilden for smådyrene og driver så at sige fødekæderne (Friberg 1997). Omsætningen af dødt organisk stof har i øvrigt tidligere vist sig at være en følsom effektparameter (Møhlenberg et al. 2004).

Som supplement til disse forsøg blev der i ét mellemstort fynsk vandløb udført forsøg med kolonisering og omsætning af bladpakker, hvoraf halvdelen inden udlægning i vandløbet var blevet kortvarigt eksponeret for pyrethroid. Formålet med dette forsøg var – med udgangspunkt i et større prøveantal og mere optimalt kontrollerede forsøgsomstændigheder end ved ovennævnte feltforsøg – at belyse pyrethroidets indvirkning på bladenes fødeværdi.

Under forsøget i de store strømrrender blev det undersøgt, hvorledes smådyrssamfundet påvirkedes akut (bl.a. i form af katastrofedrift) i forbindelse med en kortvarig eksponering med pyrethroid, samt hvordan indvandringen af smådyr herefter foregik. Sideløbende hermed blev omsætningen af døde blade i renderne undersøgt for derved at opnå en

beskrivelse af den indirekte effekt af påvirkningen med pyrethroid. Forsøget blev gennemført om efteråret, hvor tilførslen af døde blade fra træer primært finder sted.

Delprojektets overordnede formål var således at belyse, hvorledes pulseksponering med miljørealistiske koncentrationer af pyrethroid påvirkede smådyrenes: (1) drift og hyppighed, (2) rekolonisering inden for relativt kort tidsrum af berørte habitater og strækninger, samt om denne rekolonisering var betinget af forskel i vandløbsstørrelse, (3) stofomsætning i form af græsning på alger eller nedbrydning af døde blade. Desuden var det formålet at klarlægge, om og i givet fald hvor længe, pesticidet påvirkede artssammensætningen og dyrenes funktion via ændringer af substrat- og fødeforhold.

Der blev opstillet følgende hypoteser:

- Pyrethroider påvirker smådyrenes nøglerolle i omsætningen af organisk stof i vandløb.
- Pyrethroider forurener substrater og visse fødeemner, hvilket hæmmer smådyrenes evne til genindvandring
- Smådyrs potentiale for rekolonisering og dermed hastigheden af deres genindvandring øges med stigende vandløbsstørrelse

#### 1.4.2 Pyrethroiders påvirkning af smådyrs mobilitet, deres evne til restitution, samt af substrat- og fødekvalitet

Delprojektets formål var at kvantificere smådyrenes mobilitet før, under og efter en påvirkning med pyrethroid, samt at vurdere hvor hurtigt de er i stand til at komme sig. Desuden var formålet at klarlægge smådyrenes reaktion over for pyrethroidforurenede levesteder og føde (fx bladmateriale eller periferytiske alger) under kontrollerede betingelser i laboratoriet for at vurdere, hvor længe levestedets egnethed vil være påvirket. Med forsøgene blev søgt tilvejebragt data, der kunne understøtte/belyse resultaterne fra undersøgelserne i naturlige og kunstige vandløb.

I forsøgene i de små strømrander blev der alene fokuseret på omsætningen af døde blade, efter at udvalgte iturivere blandt smådyrene var blevet udsat for en kortvarig påvirkning med pyrethroid.

Der blev opstillet følgende hypoteser:

- Pyrethroider hæmmer eller øger smådyrenes mobilitet afhængigt af graden af påvirkning.
- Smådyr kan efter en påvirkning med pyrethroid – afhængigt af denne påvirknings omfang - genvinde deres naturlige adfærd.
- Smådyr undgår i en periode pyrethroidforurenede substrater eller føde.

#### 1.4.3 Langdistance-kolonisering i naturen

Genetablering af smådyrsfaunaen i et vandområde efter en "katastrofe" er i høj grad afhængig af den lokale artspulje, dvs. af de arter, som inden for det samme vandsystem har overlevet katastrofen. Det kan imidlertid ske, at katastrofen rammer de dele af vandsystemet, hvor bestemte arter har deres eneste lokale forekomst. Disse arter vil derfor kun kunne indvandre fra andre vandsystemer, og denne indvandring må nødvendigvis ske over land (for voksne insekters vedkommende via spredning af ægbærende hunner).

Succesen af denne lang-distance spredning afhænger af, om dyrene reelt kan overvinde den aktuelle afstand til det katastroferamte vandløb, og om de i givet fald formår at danne en ny bestand i dette.

Ud fra eksisterende data, i dette tilfælde data fra fynske vandløb, der repræsenterer en geografisk og tidslig skala, der langt overgår et normalt projekts rammer, er det undersøgt over hvilke afstande dyrene er i stand til at indvandre over land fra et vandløbssystem til et andet. Formålet er primært at klarlægge sammenhængen mellem koloniseringsafstand og den tid, som koloniseringen tager. Resultaterne fra de fynske vandløb anvendes til at perspektivere resultaterne fra forsøgene med rekolonisering på lokalt niveau og inden for en relativt kort tidshorisont i forhold til en langt større rumlig og tidslig skala.

Der blev opstillet følgende hypoteser:

- Det tager længere tid at kolonisere, jo større afstand koloniseringen skal ske over.
- Sammenhængen mellem afstand og tid er artsspecifik og afhænger af arternes biologi.
- Hastigheden af rekoloniseringen øges, jo større bestandene er i de vandløb, hvorfra indvandring sker, og jo mere udbredte arterne er.

## 2 Metoder

### 2.1 Betydning af økosystemstruktur og –funktion for rekolonisering efter pyrethroidpåvirkning

#### 2.1.1 Pyrethroideffekter på diversitet, rekolonisering og stofomsætning i naturlige vandløb

Der blev udvalgt 3 forsøgsvandløb inden for hver af størrelseskategorierne: Små, mellemstore og store vandløb (Tabel 2.1). Samtlige vandløb er beliggende i Gudenå-systemet, der er Danmarks største vandløbssystem. I hvert vandløb blev til forsøgene udvalgt en strækning, der ikke eller kun i ganske svag grad er påvirket af menneskelig aktivitet. Strækningerne er således dels relativt uregulerede, dels – i forhold til deres størrelse – i besiddelse af en meget artsrig smådyrsfauna med forekomst af flere arter, som vides at kræve stort set uforurenat vand. Faunaen i disse vandløb har været konstant artsrig gennem en årrække, hvilket indikerer, at der ikke i væsentligt omfang er forekommet periodevis tilførsler af pesticider. Der er derfor ikke foretaget nogen undersøgelse af en mulig baggrundsbelastning med pesticider i forbindelse med feltforsøgene. Langs samtlige undersøgte lokaliteter i de 9 vandløb forekom trævækst i den ripariske (brednære) zone, men ikke som tæt skyggende bevoksning. Kun Sdr. Vinge Bæk kunne karakteriseres som et egentligt skovvandløb.

Tabel 2.1. Oversigt over vandløb i Guden Å systemet, hvori projektets feltforsøg foregik. Angivet UTM koordinater (ED50).

| <b>Små:</b><br>Oplandsareal 1–10 km <sup>2</sup>                    | <b>Mellemstore:</b><br>Oplandsareal 10–50 km <sup>2</sup>      | <b>Store:</b><br>Oplandsareal 50–100 km <sup>2</sup>                  |
|---------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| <i>Hagenstrup Møllebæk</i><br>v. Bølmesbakke<br>(6249004N, 548258E) | <i>Bjergskov Bæk</i><br>v. Vådelandsbro<br>(6208977N, 549412E) | <i>Matstrup Å</i><br>v. Stidsmølle<br>(6297898N, 535611E)             |
| <i>Bisballe Bæk</i><br>v. Bisballe<br>(6246941N, 520574E)           | <i>Tjærbæk</i><br>v. Åbro<br>(6249320N, 553468E)               | <i>Borre Å</i><br>v. Møllebro<br>(6241043N, 542563E)                  |
| <i>Sdr. Vinge Bæk</i><br>v. Østerskov<br>(6251390N, 548951E)        | <i>Voel Bæk</i><br>v. Sminge<br>(6229394N, 542039E)            | <i>Tange Å</i> , 1,2 km SSØ for<br>Rødkjærsbro<br>(6244396N, 532443E) |

De samme vandløb blev anvendt til feltundersøgelser både forår- og efterår 2006.

Under forårs- og efterårsforsøget blev der på hver af de 9 vandløbsstrækninger udlagt en række kunstige substrater i et tilfældigt mønster:

- Forår: Groft grus (kornstørrelse 16–32 mm) blev udlagt i mærkede cirkulære plastkopper fastgjort til en jernkæde (Figur 2.1.1). Kopperne, der hver havde et areal på 95 cm<sup>2</sup> (diameter 110 mm, højde 35 mm), blev udlagt i vandløbene primo til medio maj 2006. Her blev de konditioneret, dvs. koloniseret med alger og dyr, inden de efter ca. 28 dage blev anvendt

i de egentlige forsøg.

- Efterår: Bladpakker - hver bestående af ca. 2 g visne bøgeblade - omgivet af et plastiknet med maskevidde 5 mm og fastgjort med plaststrip til en stump plastikrør. Gennem de enkelte bladpakkers plastrør var stukket et metalrør, der i hver ende var fastgjort til en jernkæde (Figur 2.1.2). Bladene blev indledningsvis indsamlet direkte fra skovbunden, tørret ved 60 °C i 1-2 døgn og afvejet. Dernæst blev de afvejede blade placeret i separate bølter til opblødning ét døgn, inden de blev anbragt i plastiknettene (bladpakker). Disse bladpakker blev nummereret og udlagt i forsøgsvandløbene i perioden 7.-21. november 2006. Her blev de konditioneret (dvs. koloniseret med mikroorganismer) og koloniseret med smådyr, indtil de efter ca. 20-22 dage blev anvendt i de egentlige forsøg. Tørre bøgeblade, der anbringes i vand, vil tabe 1,2-1,8% af deres vægt som opløst organisk stof (Iversen & Madsen 1977). Dette tab blev ikke indregnet i vores forsøg, idet det skønnedes betydningsløst i forhold til tab i form af fysisk nedbrydning af bladene.

Begge typer substrater blev placeret på steder med stryg-karakter for at mindske risikoen for tilsanding. Jernkæderne blev fastholdt af et jernanker og desuden af jernpløkke.



Figur 2.1.1. Kunstige substrater, her gruskopper (plasticbeholdere indeholdende groft grus), udlagt i Hagenstrup Møllebæk. De enkelte gruskopper var individuelt mærket og fastgjort til jernkæde med plaststrips.

Forsøgene med hhv. groft grus og bladpakker som kunstige substrater blev udført efter samme princip. Figur 2.1.3 viser en principskitse for forsøgene. De kunstige substrater fra hvert vandløb - i alt 96 (+ 12 ekstra til evt. erstatning af substrater, som måtte gå tabt under forsøget) - blev individuelt mærket i forhold til deres placering langs kæden. Tre-fire uger efter udlægning, hvor det formodedes at substraterne var blevet tilstrækkelig koloniseret med dyr fra det pågældende vandløb, blev substraterne indsamlet. Under selve optagningen af substraterne blev hvert substrat hurtigt (og nede i



Figur 2.1.2. Kunstige substrater, her bladpakker (groftmasket plasticnet indeholdende 2 g bøgeblade), udlagt i Hagenstrup Møllebæk. De enkelte bladpakker var individuelt mærket og fastgjort til jernrør forbundet af jernkæder.

selve vandløbet) anbragt i en netpose med maskevidden  $500\ \mu\text{m}$  for at forhindre tab af dyr. Fra hver lokalitet blev 6 substrater straks konserveret i 96% ethanol, mens de øvrige blev eksponeret i 90 min. i tre transportable forsøgsrender (Figur 2.1.4). Disse forsøgsrender var 60 cm brede, 2 m lange og 20 cm høje og blev under eksponeringen tilført vand fra det lokale vandløb, svarende til ca.  $2\frac{1}{2}\ \text{l min}^{-1}$ . Vandet blev ved hjælp af en dykpumpe pumpet op i 3 tanke, hver indeholdende  $1\ \text{m}^3$ , hvorfra vandet blev ledt til de 3 render. Vandhastigheden gennem forsøgsrenderne var således væsentligt under  $1\ \text{cm s}^{-1}$ . 30 (+4 ekstra) substrater blev eksponeret i rent vandløbsvand (kontrolprøver), mens de resterende  $2 \times 30$  (+2 x 4 ekstra) substrater blev eksponeret i vandløbsvand tilsat lambda-cyhalothrin i nominelle koncentrationer på hhv.  $0,5\ \mu\text{g l}^{-1}$  (lav) og  $5,0\ \mu\text{g l}^{-1}$  (høj). I flere tilfælde var der op til 15 min.'s transporttid fra vandløbet til stedet, hvor der blev eksponeret. Efter endt eksponering blev 6 substrater fra hver forsøgsrende (i alt 18 prøver) udtaget af de net, som de var placeret i, og hhv. selve grussubstratet og netposens indhold konserveret i 96% ethanol hver for sig. De resterende prøver blev genudlagt i vandløbet på den position, som de oprindeligt havde. Substraterne blev udtaget af netposerne umiddelbart før placeringen i vandløbet. Netposernes indhold blev individuelt konserveret i 96% ethanol. Netposerne havde således til formål at opsamle de dyr, som måtte have forladt substratet under optagningen fra vandløbet, eksponeringen i forsøgsrenderne og for flertallets vedkommende også under genudlægningen. Der blev herefter indsamlet  $3 \times 6$  substrater fra vandløbet (6 for hver behandling under eksponeringen) på hhv. dag 1, 7, 15 og 30 efter eksponeringen. Disse substrater blev direkte konserveret i 96% ethanol (uden opsamling af de dyr, som måtte undslippe under håndteringen). Efterfølgende blev dyrene fra substrat- og netprøverne udsorteret, bestemt til lavest mulige taxonomiske niveau (se Boks 2.1) og optalt i laboratoriet, ligesom der er bestemt hhv. klorofyl-a indhold på grusmaterialet og tørvægt af bladpakkerne.



Figur 2.1.3. Der blev udlagt kunstige substrater (SUB) ved forsøgets start (dag  $\pm 30 \rightarrow 20$ ). På dag 0 blev alle substraterne taget op (se beskrivelse i tekst) og eksponeret i 90 min. for 0 (kontrol), 0,5 eller 5  $\mu\text{g}$  lambda-cyhalothrin  $\text{l}^{-1}$ , inden de blev lagt tilbage i åen. Der blev indsamlet substrater (SUB) dag 0 (før og efter eksponeringen), 1, 7, 15 og 30. Ved forsøget start og efter 1 og 30 dage blev der ved "kick-sampling" indsamlet semi-kvantitative prøver (SEMI) af smådyrssamfundet fra den naturlige vandløbsbund. På dag 1 og 30 blev der udtaget driftprøver (DRIFT) for at kvantificere koloniseringen via drift. Forsøgsforløbet var identisk for undersøgelsen i foråret og i efteråret.

### Boks 2.1 Taksonomi & bestemmelsesniveau for makroinvertebrater

Ved klassifikation af dyr og planter anvendes et system, opfundet af svenskeren Carl von Linné. Systemet bygger grundlæggende på arter, hver defineret ved et entydigt latinsk navn. Dette består af et slægtsnavn (skrevet med stort) og et efterfølgende artsnavn skrevet med lille (fx vårfluen *Agapetus ochripes*). Arterne er således samlet i en overordnet taksonomisk enhed, slægten. Én til flere slægter (Fx vårflueslægten *Agapetus*), flere slægter i familier (fx for *Agapetus*' vedkommende i familien Glossosomatidae), én til flere familier i ordener (fx ordenen Trichoptera = vårfluer), én til flere ordener i klasser (fx ordenen Insecta) osv. Hver af disse enheder (arter, slægter, familier, ordener osv.) betegnes en taksonomisk enhed, et "taxon". I flertal er betegnelsen "taxa", hvilken er brugt igennem denne rapport.

Der blev anvendt samme niveau ved identifikation af makroinvertebraterne i feltforsøgene og forsøgene i de store strømrønder. Således blev fimreorme, igler, krebsdyr, døgnfluer, slørvinger, vårfluer, dovenfluer, biller og snegle som hovedregel identificeret til art (evt. slægt, familie for små individers vedkommende), mens børsteorme, rundorme, vandmider, kvægmyg, dansemyg, og andre grupper af tovinger som hovedregel kun blev identificeret til familie eller underfamilie. Denne forskel i identifikationsniveau blev valgt ud fra en afvejning af et ønskeligt detaljeringsniveau og resurshensyn; således er eksempelvis identifikation af dansemyg til art eller slægt særdeles tidskrævende.

Klorofyl-a blev målt spektrofotometrisk direkte på ethanolekstraktet af de fikserede grusprober (Dansk Standard 1986), og koncentrationen angivet som  $\mu\text{g l}^{-1}$  som et mål for algebiomassen på substratet.



Figur 2.1.4. De kunstige substrater (her gruskopper) blev efter en indledende koloniseringsperiode taget op af det enkelte forsøgsvandløb og (bortset fra 6 såkaldte før-prøver) fordelt tilfældigt i tre forsøgsrender. Mens den ene rende fungerede som kontrol og fik tilført alm vand, fik de to øvrige tilført vand med tilsat lambda-cyhalothrin i koncentrationer på hhv. 0,5 og 5,0  $\mu\text{g l}^{-1}$ . Denne eksponering varede 90 min., hvorefter substraterne (bortset fra 6 fra hver rende, der straks blev konserveret) blev genudlagt i vandløbet. På billedet ses nærbillede af kontrolrenden. Hver gruskopper anbragt i et net til opsamling af smådyr, som måtte forlade substratet før, under og efter eksponeringen. Der pumpes vand op i plastbeholderen, hvorfra det løber til forsøgsrenden, der har afløb i den fjerneste ende.

De enkelte substraters placering i vandløbene var både i forhold til behandling og tidspunkt for optagning gjort tilfældig.

Samtidig med udlægningen af substraterne samt på dag 1 og 30 blev der på hver lokalitet udtaget en semi-kvantitativ sparkeprøve (ketcher med netpose med maskevidde 500  $\mu\text{m}$ ) til en overordnet karakteristisk af artssammensætningen af smådyrsfaunaen.

Endelig blev der på dag 1 og 30 indsamlet prøver af driftende smådyr fra selve vandløbet. Der blev i hvert tilfælde anvendt 3 driftnet (med maskevidde 500  $\mu\text{m}$ ) opsat i en 3-timers periode umiddelbart efter solnedgang.

I Stavis Å på Fyn blev der udført et supplerende forsøg med kolonisering og omsætning af pyrethroid-eksponerede blade. Der blev herved anvendt samme type bladpakker, som ved de oven for beskrevne forsøg. Her blev imidlertid udlagt i alt 50 (+10 ekstra) ueksponerede bladpakker og 50 (+10 ekstra) pyrethroideksponerede bladpakker. Der blev anvendt bøgeblade, som indledningsvist blev tørret i 2 døgn ved 105 °C, hvorefter der blev afvejet portioner af ca. 2 g, der blev konditioneret i 7 døgn i beluftet åvand (for at undgå anaerobe forhold). Herefter blev halvdelen af portionerne eksponeret i 90 min. i vand med 5,0  $\mu\text{g lambda-cyhalothrin l}^{-1}$ , inden samtlige portioner blev placeret i netposerne. Netposerne blev udlagt 4. december 2007. Herefter blev der på dag 3, 7, 15, 30 og 60 efter udlægningen indsamlet hhv. 10 pyrethroid-eksponerede bladpakker og 10 kontrolbladpakker. Disse blev udvalgt stratificeret tilfældigt. Bladpakkerne blev optaget som ved feltforsøgene i de jyske vandløb, konserveret i 96% ethanol og smådyrene fraserteret, identificeret og optalt, mens bladmaterialet i pakken blev tørret og vejlet. Forsøget blev udført på en ureguleret strækning af Stavis Å, hvor denne

passerer gennem Langesø Skov. Vandløbet har her en god miljøkvalitet uden tegn på påvirkninger af hverken spildevand eller pesticider. Bladpakkerne blev udlagt på et stryg på samme måde som ved feltforsøgene i de jyske vandløb. Data for vandføring og vandtemperatur i vandløbet under forsøget blev indhentet fra Miljøcenter Odenses automatiske målestation, beliggende ca. 7 km nedstrøms for forsøgsstrækningen.

### 2.1.2 Rekolonisering af og stofomsætning i modelvandløb efter pyrethroidpåvirkning

I dette forsøg blev det i kunstige vandløb undersøgt, hvorledes indvandringen af smådyr foregår, efter at disse vandløb var blevet påvirket ved tilførsel af pyrethroid. Samtidig blev sammenhængen mellem tilstedeværelsen af smådyr og stofomsætningen undersøgt for at opnå en beskrivelse af den indirekte effekt af pyrethroidpåvirkningen. Forsøget blev gennemført i efteråret 2007.

Der blev indledningsvis opbygget i alt 6 forsøgsrender, hver med en længde på 12 m og en brede på 0,60 m (Figur 2.1.5-2.1.6). Renderne blev opbygget med en bund af metalplade og 30 cm høje sider af akrylplast. Hver rende var placeret på et stativ af træ (hvilende på en række fliser på et underlag af stabilgrus) og havde en hældning på 5‰. Hver rende blev forsynet med bundsubstrat af forskellige fraktioner af sten, grus og sand, som blev fordelt efter samme princip. I hver rende blev der således lavet i alt 5 stryg, hvoraf det ene var placeret midtvejs og derved opdelte renden i en opstrøms og en nedstrøms del. I hver af de to halvdele var der således placeret to stryg. Den midterste del af hvert stryg bestod af marksten op til ca. 15 cm i diameter og såvel ca. 0,6 m opstrøms og ca. 0,6 m nedstrøms for disse af småsten og groft grus i kortstørrelserne 48-96, 24-48 og 12-24 mm. Forholdet mellem de 3 kornstørrelser var 1:4:4. Imellem strygene var der områder med dybere vand (høller), i alt 6 høl-sektioner, hvor bunden blev opbygget af finere fraktioner med kornstørrelserne 6-12, 3-6 og 1-3 mm i forholdet 1:1:0,5. Tykkelsen af bundsubstratet varierede fra ca. 5-6 cm i høl-sektionerne til 10-20 cm i strygene (højest ved stenene).



Figur 2.1.5. Oversigt over de 6 forsøgsrender (kunstige vandløb) i Lemming. Hver rende er 12 m lang, anbragt på bukke af træ, og har en hældning på 5 ‰.



Figur 2.1.6. Afløbsenden af én af de 6 forsøgsrender i Lemming. Ud fra vandspejlshøjden i det skarpkantede V-overfald kan vandføringen gennem renden beregnes.

Solindstrålingen til renderne blev dæmpet ved hjælp af en dug af hvidt stof fastgjort til træstativerne. Derved reduceredes lysindfaldet med ca. 66%. Formålet var at forhindre opvarmning af vandet og mindske uhæmmet opvækst af bundlevende trådalger.

Renderne blev kontinuert tilført vand fra den nærliggende Lemming Å. Via to rør blev åvandet naturligt ledt ind i et mindre bassin, hvori var placeret en aksialpumpe med en maksimal ydelse på ca.  $45 \text{ l s}^{-1}$ . Vandet blev fra bassinet

pumpet ca. 2 m op i et pumpetårn, opbygget af brøndringe med en diameter på 120 cm. Herfra blev vandet ført videre via naturligt fald i tætte pvc-rør til endnu en brønd placeret umiddelbart nær ved renderne. Herfra blev vandet, stadig via naturligt fald, fordelt via 6 pvc-rør til hver sin rende. I indløbsenden af hver rende var anbragt en fordelerkasse af metal, således at indløbsvandet blev nogenlunde jævnt fordelt. Vanddybden i renderne (over substratet) varierede mellem 2-3 cm over toppen af strygene til ca. 20 cm i høl-sektionerne. Det resulterede i en variation i den gennemsnitlige vandhastighed gennem tværsnittet af renderne på 3-30 cm s<sup>-1</sup>. Udløbsenden af hver rende var forsynet med et 60° skarpt overfald til bestemmelse af vandføringen igennem renden (Figur 2.1.6). Vandstrålen ud gennem overfaldet var ”luftet” (dvs. havde frit fald), således at vandføringen ved måling af vandspejlets højde i overfaldet og standardformel kunne beregnes. Afløbsvandet fra hver rende blev via to samlebrønde og udløb ledt tilbage i Lemming Å, kun ca. 10-15 m nedstrøms for indvindingsstedet. Der blev indhentet tilladelse til indvindingen fra Silkeborg Kommune (jf. Vandforsyningsloven).

Funktionen af aksialpumpen blev overvåget med en telefonisk alarm, og der var mulighed for med kort varsel at tilslutte en reservepumpe (dog med mindre ydelse).

Den 28. august 2007 var renderne færdigt opbyggede og blev tilført åvand som beskrevet ovenfor.

Den 19. september 2007 blev der i hver rende udlagt i alt 30 (+ 1-2 ekstra) bladpakker af samme type og med samme indledende behandling som under feltforsøgene i de 9 midtjyske vandløb (se afsnit 2.1.1). Der blev placeret 5 bladpakker i hver af de 6 høl-sektioner. Bladpakkerne havde derefter i løbet af 10 dage mulighed for at blive konditioneret (koloniseret med mikroorganismer).

Den 28. september 2007 blev renderne koloniseret med smådyr fra Lemming Å. Dette foregik ved indsamling af sparkeprøver over en ca. 100 m strækning jf. metode angivet i Miljøstyrelsen (1998). Der blev kun taget prøver i områder med karakter af stryg. Der blev startet nedstrøms fra, idet første prøve blev anbragt i en spand mærket nr.1, anden prøve i en spand mærket nr. 2, og så videre indtil 6. prøve, som blev placeret i spand nr. 6. Herefter blev 7. prøve anbragt i spand nr. 1, 8. prøve i spand nr. 2 osv., indtil der i alt var 5 prøver i hver af de 6 spande. Formålet med den valgte procedure var at sikre en ensartet artssammensætning af smådyr i hver spand. Antallet af prøver skulle endvidere sikre en naturlig individtæthed i renderne. Podningen med dyr foregik ved, at dyrene i spand nr. 1 blev tilført opstrøms i rende 1, dyrene i spand nr. 2 tilført rende 2 osv.

Frem til den 29. oktober (dvs. i løbet af 31 dage) havde smådyrene mulighed for at fordele sig i renderne og bl.a. kolonisere de udlagte bladpakker. Den 30. oktober blev den nedstrøms halvdel (6 m strækning) af renderne nr. 1, 2 og 4 (efter tilfældig udvælgelse) eksponeret i 90 min. med en nominel koncentration af lambda-cyhalothrin på 5,0 µg l<sup>-1</sup>. De øvrige render blev ikke eksponeret og fungerede således som kontrolrender. Under eksponeringen blev der ved hjælp af en pumpe (Ole Dich Instrumentmakers ApS, Danmark, Type 110AC R40 G38 CH10A) doseret med en stamopløsning af pesticidet, som blev fordelt i hele en rendens bredde via en ”10-huls diffuser”. Ved et indledende forsøg var det ved hjælp af farvestof kontrolleret, at det doserede stof inden for ca. ½ m ”strækning” blev effektivt opblandet i hele rendens



Figur 2.1.7. Ved brug af grønt farvestof er her vist, hvorledes der over en 90 min's periode blev doseret lambda-cyhalothrin i en koncentration på  $5,0 \mu\text{g l}^{-1}$  til den nedre halvdel af tre af de 6 forsøgsrender i Lemming. Det ses, at farvestoffet opblandes effektivt allerede få cm nedstrøms for doseringsstedet.

vandføring (Fig. 2.1.7). Efter 60 minutters eksponering blev der udtaget vandprøver til bestemmelse af de aktuelle koncentrationer af lambda-cyhalothrin.

Under og 30 min. efter eksponeringen blev det pesticidholdige vand opsamlet i et til formålet indrettet opsamlingsbassin for at forhindre kontaminering af Lemming Å.

Vandtemperaturen i hhv. Lemming Å og rende 4 blev målt kontinuert ved hjælp af temperaturlogger.

Sammensætningen af smådyr i renderne blev undersøgt ved indsamling af prøver fra hhv. strygene og høllerne. Fra strygene blev indsamlet prøver fra bunden ved hjælp af en såkaldt Surber-sampler med et areal på 200 cm<sup>2</sup>. Ved prøvetagningen blev samleren presset ned i bunden og substratet inden for rammen hvirvlet op ved brug af en 3-grenet håndkultivator (normalt anvendt til håndlugning i haven). Det ophvirvlede materiale blev derved skyllet ind i og opsamlet i samlerens netpose (maskevidde 500 µm). Indholdet af netposen blev konserveret i 96% ethanol og dyrene frasorteret, identificeret og optalt. Der blev indsamlet Surberprøver hhv. dagen før (dag -1) og 7 og 30 dage efter eksponeringen med pyrethroid. I hver halvdel (længde 6 m) af en rende blev på disse tidspunkter indsamlet i alt 5 prøver således: Hvert område med stryg blev nedstrøms for "stentærsklen" inddelt i 4 x 4 felter (hvert felt svarende til størrelsen af en "Surber-sampler"), hvilket i alt gav 36 potentielle prøvefelter i den opstrøms halvdel og 48 potentielle prøvefelter i nedstrøms halvdel af renden. Blandt disse potentielle prøvefelter blev ved den enkelte prøvetagning stratificeret tilfældigt udvalgt 2 x 5 prøver pr. rende, i alt 60 prøver for samtlige render. Derved blev, eftersom der aldrig blev taget prøver på en tidligere anvendt udtagningsposition, 30-40% af det potentielle prøvetagningsareal og 8% af det samlede rendeareal berørt af prøvetagningen.

Fra høllerne blev der indsamlet bladpakker på samme tidspunkter som Surber prøverne. Og i dette tilfælde blev der på den enkelte prøvetagningsdag - og i hver rendehalvdel – indsamlet 5 bladpakker udvalgt stratificeret tilfældigt. Prøverne blev behandlet på samme måde som prøverne fra feltforsøgene (se afsnit 2.1.1).

Tilførslen ("drift") af smådyr via det indpumpede åvand blev undersøgt i tre perioder (over 3 timer den 29. oktober, over 8,75 dagtimer den 14. november, og 15 nattetimer den 14.-15. november), idet dyrene blev opsamlet i net (maskevidde 500 µm), som filtrerede alt det indstrømmende vand. Der blev målt i tre tilfældigt udvalgte render (3, 4 og 6). Derudover blev transporten af dyr ud af samtlige 6 render målt under behandlingen med pyrethroid (1,5 timer) samt over 2 timer derefter, idet alt det udstrømmende vand blev filtreret gennem net (maskevidde 500 µm) placeret i afløbet fra renderne. Dyrene opsamlet i nettene blev konserveret i 96% ethanol, udsorteret, identificeret og optalt.

## 2.2 Pyrethroideffekt på smådyrs mobilitet, evne til restitution, samt substrat- og fødekvalitet

I tidligere MST-projekter er 12 små strømrrender i Lemming blevet anvendt primært til kortvarige studier (typisk af 1-2 dages varighed) af driftsadfærd hos pyrethroideksponerede invertebrater (Møhlenberg *et al.*, 2004; Nørum *et al.*, 2006). I nærværende projekt var der planlagt forsøg i disse render. Forsøgene skulle løbe over en 7-dages periode i foråret 2007 og omfatte en række forsøg med krebsdyret *Gammarus pulex*, samt vårfluerne *Chaetopteryx villosa* og *Sericostoma personatum*. Forsøgene måtte imidlertid opgives pga. problemer med vandkvalitet, uanset om grundvand eller åvand blev anvendt. Således førte anvendelse af åvand til hurtig opvækst af trådformede alger, der tilstoppede det i rendeafløbene anbragte finmaskede net, som skulle forhindre forsøgsdyrene i at undslippe. Resultat var, at vandet løb ud over kanterne af renderne og en stor del af forsøgsdyrene undslap. Anvendelsen af grundvand førte til kraftige udfældninger af okker efter få dage, hvilket påvirkede forsøgsdyrenes almentilstand betydeligt.

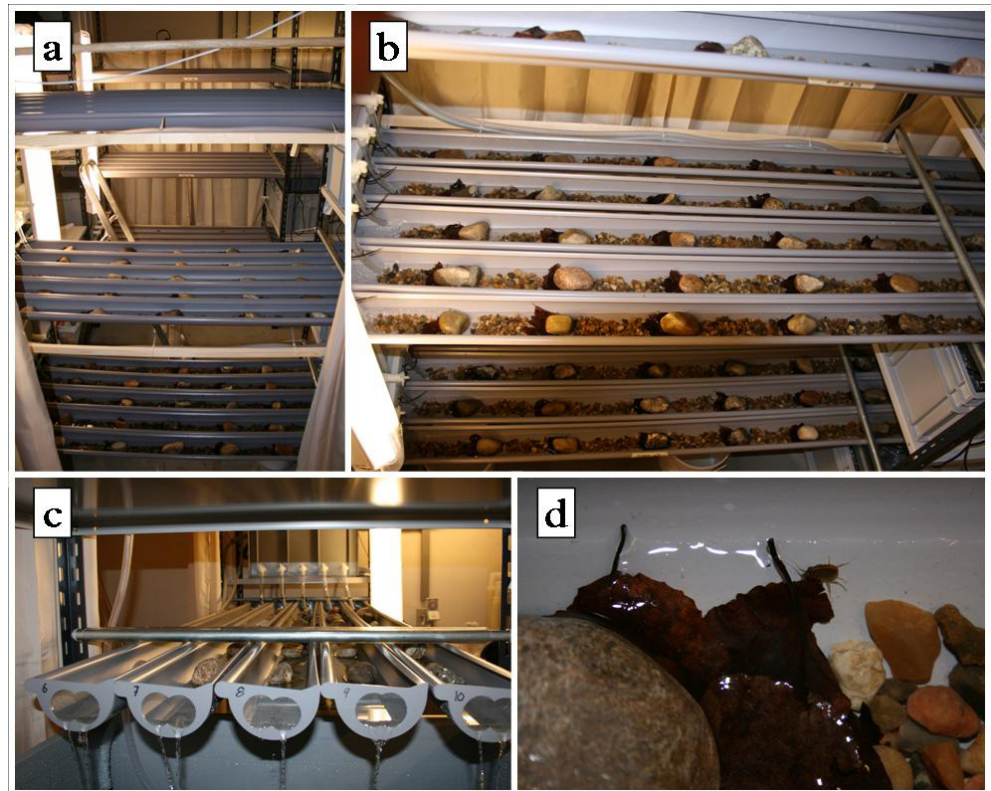
I stedet blev et system af små strømrender opbygget i sommeren 2007 i laboratoriet ved SDU. Dette forbedrede system bestod af 30 render (6 grupper med  $n=5$ ), mod de oprindeligt planlagte 12 (3 grupper med  $n=4$ ) i Lemming, hvilket muliggjorde en væsentlig udvidelse af de planlagte forsøg. Mens det således oprindeligt kun var meningen at undersøge pyrethroid-eksponerede dyrs omsætning af ukontamineret bladmateriale, kunne derved også ueksponerede dyrs omsætning af pyrethroid-kontamineret bladmateriale kvantificeres. Forsøg blev gennemført med *G. pulex* og *S. personatum*. Forsøgsdesignet i disse undersøgelser, der gennemførtes med små forsøgspopulationer, svarede dermed til designet i videosporings-forsøgene (beskrevet nedenfor), der foregik på individniveau, hvorved muligheden for at dokumentere betydningen af dyrenes interaktioner blev forøget.

En række forsøg blev gennemført for at kvantificere invertebraters mobilitet før, under og efter en pyrethroidpuls, ligesom dyrenes evne til at komme sig (restitueringsvevnen) blev bestemt. I disse forsøg blev dyrenes bevægelsesadfærd registreret ved hjælp af videosporingssystemet, EthoVision Pro (Noldus Information Technology, Holland). Videosporingsmetodikken er tidligere beskrevet i Nørum & Bjerregaard (2003) og Nørum et al. (2006). Som beskrevet for forsøgene med stofomsætningen hos forsøgspopulationerne i de små strømrender blev såvel pyrethroid-eksponerede dyrs omsætning af ukontamineret bladmateriale, som ueksponerede dyrs omsætning af pyrethroid-kontamineret bladmateriale, bestemt. Indledningsvist blev et pilotforsøg med *G. pulex* gennemført med henblik på at fastlægge forsøgsdesignet til de efterfølgende studier. Forsøg blev derefter gennemført med fire ituriverne: krebsdyret *G. pulex*, slørvingen *Leuctra nigra*, og vårfluerne *S. personatum* og *C. villosa*. For at supplere de oprindeligt planlagte studier af iturivere, der omsætter bladmateriale, blev effekten af pyrethroider på gruppen af græssere, der omsætter mikroalger, undersøgt i et forsøg med døgnfluen *Heptagenia sulphurea*.

Alle forsøgene blev udført ved 14-15 °C med en døgnrytme med 12 timers lys og 12 timers mørke. Til forsøgene med *G. pulex*, *L. nigra*, *S. personatum* og *C. villosa* blev kunstigt ferskvand anvendt, mens forsøget med *H. sulphurea* blev udført med åvand fra indsamlingsstedet i Sallinge Å. Det kunstige ferskvand bestod af omvendt osmose vand (ASTM Type 4) tilsat følgende salte (OECD 2004):  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ : 294 mg l<sup>-1</sup>,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 123,25 mg l<sup>-1</sup>,  $\text{NaHCO}_3$ : 64,75 mg l<sup>-1</sup>, KCl: 5,75 mg l<sup>-1</sup>. De anvendte forsøgsdyr blev akklimatiseret til forsøgsbetingelserne i mindst 2 dage inden forsøgsstart. I alle forsøgene blev fødematerialet (blade og mikroalger) skyllet grundigt efter endt eksponering for at sikre at alt løst adsorberet lambda-cyhalothrin blev fjernet, hvilket ville være tilfældet efter en kortvarig pulseksponering i et naturligt vandløb. Først derefter blev føden givet til dyrene.

### 2.2.1 Stofomsætning hos forsøgspopulationer af smådyr i små strømrender efter pyrethroidpåvirkning

Forsøgsopstillingen bestod af to reolsystemer, hver med tre lag à 5 render (Figur 2.2.1a). I hvert lag delte renderne vand, således at vandet blev ledt til de fem render fra et fælles fødekar via fem justerbare haner. Vandføringen i den enkelte rende var 1,5 l min<sup>-1</sup>, strømhastigheden i gennemsnit ca. 4 cm s<sup>-1</sup>, og vanddybden over substratet 1-2 cm. Ved udløbsenden af hver rende løb vandet gennem et fintmasket net (maskevidde: 1 mm), der tilbageholdt dyrene, ned i et opsamlingskar (Figur 2.2.1c), hvorfra vandet ved hjælp af en akvariepumpe (Eheim, cirkulationspumpe 1046-21) blev pumpet retur til fødekarret. Til fem render i et lag blev 100 l kunstigt ferskvand anvendt.



Figur 2.2.1. De små strømrender: a) Reolsystemer. b) Render med småsten, samt større sten med konditionerede bøgeblade udlagt under opstrømsenden. c) Udløbsenden med fintmasket net, der tilbageholder dyrene. d) En ferskvandstangloppes *G. pulex*, der æder bladmateriale.

Inden forsøget blev en større mængde visne bøgeblade tørret i to døgn ved 105 °C. Portioner af tørrede blade blev afvejet; til *G. pulex* og *S. personatum* blev hhv. 50 blade (4-5 g tørvægt) og 30 blade (2,5-3 g tørvægt) anvendt pr. rende. Bladportionerne blev konditioneret separat i 800 ml beluftet åvand i 7 dage ved 25 °C og konstant belysning med en 60 W glødepære.

I hver rende (længde: 2 m) blev 0,5 l grus (med kornstørrelserne 6-12 mm) fordelt, og seks større sten (diameter: 5-10 cm) blev placeret med ca. 25 cm afstand. De konditionerede bøgeblade blev udlagt under den opstrøms ende af disse større sten (Figur 2.2.1b), således at bladene var tilgængelige for dyrene i renden (Figur 2.2.1d).

Det var oprindeligt hensigten at undersøge betydningen af interaktioner mellem forskellige arter af smådyr, når blandede populationer af disse blev udsat for modelpyrethroidet. Imidlertid viste de opgivne forsøg i de små render i Lemming (se overfor) ret tydeligt, at de udvalgte forsøgsdyr (*G. pulex* og vårfluerne *C. villosa* og *S. personatum*) blev påvirket i samme omfang ved 0,5 og 5 µg lambda-cyhalothrin l<sup>-1</sup>. Da det derfor vurderes lidet sandsynligt, at der ville forekomme væsentlige interaktioner mellem arterne, blev det besluttet kun at foretage forsøg med arterne hver for sig, samt kun at anvende den ene af de to vårfluearter (ikke mindst fordi det på det pågældende tidspunkt ikke var muligt at fremskaffe tilstrækkeligt med egnede forsøgsdyr af *C. villosa*). Til gengæld blev det besluttet at øge forsøgsperioden fra 7 til 14 dage for bedre at vurdere, om forsøgsdyrene var i stand til at komme sig.

Tre forsøg blev gennemført, heraf to med *G. pulex* (indsamlet i Lindved Å) og et med *S. personatum* (indsamlet i Rold Kilde). I det første forsøg med *G. pulex* var der en stor andel af små individer med mindre omsætningsrater tilfølgende. Forsøget blev derfor gentaget med større individer, og kun resultaterne for dette andet forsøg er medtaget i nærværende rapport. I alt 30 forsøgspopulationer à enten 50 *G. pulex* eller 15 *S. personatum* blev anvendt i forsøgene, hvor 6 behandlinger blev undersøgt:

- en kontrolgruppe med ueksponerede dyr, tilbudt ukontaminerede bøgeblade
- tre grupper med dyr, der var blevet pulseksponeret i 90 min for henholdsvis 0,05, 0,5 og 5 µg lambda-cyhalothrin l<sup>-1</sup>, og derefter tilbudt ukontaminerede bøgeblade
- to grupper med ueksponerede dyr, der blev tilbudt bøgeblade, der forinden havde været eksponeret for henholdsvis 0,5 og 5 µg lambda-cyhalothrin l<sup>-1</sup> i 90 minutter.

Ved hver behandling var n=5 (dvs. 5 "ens" render).

Forsøgspopulationerne blev hver for sig akklimatiseret natten over i bægre i 800 ml beluftet, ukontamineret, kunstigt ferskvand, mens de konditionerede blade blot umiddelbart inden eksponeringen blev overført til bægre med 800 ml beluftet, ukontamineret kunstigt ferskvand. Ved eksponeringens start blev de ønskede mængder lambda-cyhalothrin opløst i 80 µl ethanol og tilsat bægrene. Kontrol-populationer og -blade fik blot tilsat 80 µl ethanol. Beluftningen sikrede en hurtig opblanding. Den anvendte koncentration af ethanol på 0,1 % overstiger således ikke den vejledende grænse for opløsningsmidler (OECD 2000). Efter 90 minutters eksponering blev dyrene hældt gennem en te-si, og bladene gennem en større sigte, og skyllet grundigt tre på hinanden følgende gange i ukontamineret vand, hvorefter de blev overført til 800 ml beluftet, ukontamineret, kunstigt ferskvand. Dagen efter blev dyr og blade overført til de små strømrrender. Forsøget blev afsluttet efter 14 dage, og for *G. pulex* blev dyrenes overlevelse bestemt. For *S. personatum* blev antallet af aktive individer blandt de genfundne dyr registreret. Aktivitetsniveauet hos *S. personatum* blev bedømt visuelt. Det var ikke muligt at afgøre, hvorvidt inaktive dyr var døde, da de naturligt kan trække sig ind i deres huse. Det tilbageværende bladmateriale blev indsamlet, tørret i to døgn ved 106 °C, og vejlet, således at omsætningen af bladmaterialet kunne bestemmes. Restitueringsperiodens varighed blev valgt på baggrund af et pilotforsøg med *G. pulex*, se afsnit 2.2.2.

Endvidere blev et forsøg uden dyr, men med ueksponerede, konditionerede blade, gennemført for at bestemme bladenes vægttab i renderne, forårsaget af fysiske påvirkninger ved håndtering af bladene og det strømmende vand.

### 2.2.2 Restitueringssevne hos *Gammarus pulex* (pilotforsøg)

Forsøget blev gennemført i efteråret 2006 med henblik på at fastlægge forsøgsdesignet til efterfølgende studier af lambda-cyhalothrins effekt på smådyrs mobilitet og restitutionsevne. De indsamlede *G. pulex* (fra Lindved Å, Fyn) blev akklimatiseret natten over i glaspetriskåle (diameter: 9 cm) indeholdende 80 ml kunstigt ferskvand. Baggrundsadfærden hos fire grupper à 24 *G. pulex* blev registreret ved videosporing i 30 min i ukontamineret, kunstigt ferskvand. Dernæst blev videosporingen midlertidigt afbrudt, og

lambda-cyhalothrin, opløst i ethanol + vand (20 ml), blev tilført tre grupper til nominelle koncentrationer på henholdsvis 0,01, 0,1 og 1  $\mu\text{g l}^{-1}$ . Kontrolgruppen fik tilført en tilsvarende mængde ethanol + vand. Det anvendte volumen på 20 ml vurderedes tilstrækkeligt til at sikre fuldstændig opblanding i petriskålene. Tilsætningen af væsken blev foretaget længst muligt fra dyrets position, og videosporingen blev genoptaget 2 minutter efter afbrydelsen. Dernæst blev kontrolgruppens og de eksponerede gruppers adfærd fulgt i endnu 90 minutter. Herefter blev videosporingen afbrudt, og alle 96 *G. pulex* blev overført til te-sier og skyllet skånsomt, men grundigt, i tre kar indeholdende ukontamineret, kunstigt ferskvand. Efterfølgende blev dyrene overført til rene, nummererede petriskåle indeholdende 100 ml ukontamineret vand, hvilket muliggjorde, at de enkelte individers adfærd kunne følges i indtil tre uger efter endt eksponering. Bevægelsesadfærden blev registreret på dag 1, 2, 3, 6, 9, 14 og 20 efter endt eksponering ved at videospore dyrene i 60 min. Dødeligheden blev ligeledes registreret på videosporningsdagene med henblik på at kortlægge overlevelsen.

### 2.2.3 Restitueringssevne og fødesøgning hos udvalgte iturivere

Fire forsøg med iturivere, henholdsvis *L. nigra* (indsamlet i et unavngivet skovvandløb i Velling Skov), *G. pulex* (indsamlet i Lindved Å, Fyn), *S. personatum* (indsamlet i Rold Kilde) og *C. villosa* (indsamlet i Travnskov Bæk, Fyn), blev gennemført i 2007. For hver art blev 7 behandlinger undersøgt, med  $n=14-15$  individer i hver gruppe. Individerne blev holdt fuldstændigt adskilt i separate plastarenaer. Hos *L. nigra* var der imidlertid stor dødelighed samtidig med, at det blev observeret, at den individuelle omsætningsrate af bladmateriale var for lille til at kunne bestemmes med tilstrækkelig præcision. I nærværende rapport er kun resultater for *G. pulex*, *S. personatum* og *C. villosa* derfor medtaget.

De 7 behandlinger var:

- en kontrolgruppe med ueksponerede dyr ( $n=15$ ), tilbudt ukontaminerede, konditionerede bøgeblade
- fire grupper med dyr ( $n=14$ ), der blev pulseksponeret i 90 min for henholdsvis 0,005, 0,05, 0,5 og 5  $\mu\text{g lambda-cyhalothrin l}^{-1}$ , og derefter tilbudt ukontaminerede, konditionerede bøgeblade
- to grupper med ueksponerede dyr ( $n=14$ ), der blev tilbudt konditionerede bøgeblade, der forinden havde været eksponeret for henholdsvis 0,5 og 5  $\mu\text{g lambda-cyhalothrin l}^{-1}$  i 90 minutter.

Inden forsøget blev en større mængde visne bøgeblade tørret i to døgn ved 105 °C. Herefter blev bladene konditioneret i beluftet åvand i 7 dage ved 25 °C. Midt i konditionerings-perioden blev disse blade klippet i fire stykker. Dette skete for at sikre dyrene et varieret fødeudbud, idet hvert individ blev tilbudt fire mindre bladstykker, som ikke stammede fra samme konditionerede blad.

Dagen inden eksponeringen blev dyrene overført til individuelle plastarenaer indeholdende 70 ml kunstigt ferskvand, og der blev taget billeder af dyrene til senere bestemmelse af størrelse (*G. pulex*: kropslængde, *S. personatum* og *C. villosa*: længde af hus) ved hjælp af ImageJ (National Institute of Health). Dyrene blev derefter akklimatiseret natten over.

På eksponeringsdagen (dag 0) blev dyrenes baggrundsadfærd i ukontamineret vand indledningsvis registreret over 60 min. Herefter blev videosporingen

midlertidigt afbrudt, og lambda-cyhalothrin, opløst først i ethanol og dernæst i kunstigt ferskvand til et samlet volumen på 10 ml, blev tilsat. Kontrolgruppen fik tilsat en tilsvarende mængde ethanol opløst i vand. Det anvendte volumen på 10 ml sikrede en fuldstændigt opblanding af vandet i arenaen. Den anvendte koncentration af ethanol på 0,1 % overstiger ikke den vejledende grænse for opløsningsmidler (OECD 2000). Tilsætningen blev foretaget længst muligt fra dyrenes position i petriskålene, og videosporingen blev genoptaget 2 min. efter afbrydelsen. Dyrenes bevægelsesadfærd blev herefter fulgt over 90 min, hvorefter videosporingen blev afbrudt. Dyrene blev forsigtigt hældt gennem en te-si og forsigtigt, men grundigt, skyllet tre på hinanden følgende gange i kunstigt ferskvand, hvorefter dyrene blev overført til nye arenaer med ukontamineret, kunstigt ferskvand. Dyrene opholdt sig i disse arenaer under resten af forsøget, og vandet blev fornyet efter behov. I forsøgene, hvor kun bladene blev kontamineret med pesticid, blev bladstykkerne eksponeret i 1-liters plastakvarier i beluftet, kunstigt ferskvand tilsat lambda-cyhalothrin opløst i ethanol, mens kontrolbladstykkerne kun fik tilsat ethanol (slutkoncentration af ethanol = 0,1 %). Efter endt eksponering blev bladstykkerne skyllet tre på hinanden følgende gange i baljer med hanevand, hvorefter de blev overført til beluftet, ukontamineret, kunstigt ferskvand, inden de dagen efter (dag 1) blev givet til dyrene (Figur 2.2.2). Den samlede vådvægt af de fire bladstykker givet til hvert dyr blev bestemt.



Figur 2.2.2. Den eksperimentelle enhed: plast-arena indeholdende ét individ af *S. personatum* og 4 konditionerede bladstykker.

Dyrenes fødesøgning blev fulgt over en 14-dages restituerings-periode efter endt eksponering. For *G. pulex* blev dyrenes overlevelse bestemt dagligt i perioden, og døde dyr blev fjernet. For *C. villosa* og *S. personatum* blev antallet af aktive individer registreret dagligt. Aktivitetsniveauet hos vårfluerne blev bedømt visuelt, idet det var ikke muligt at afgøre, hvorvidt inaktive dyr var døde, da de naturligt kan trække sig ind i deres huse.

På dag 1, 2, 4, 7, 10 og 14 blev bladstykkerne vejet (vådvægt), og dyrenes bevægelsesadfærd i en 60 min periode blev registreret. Restitueringsperiodens varighed blev valgt på baggrund af pilotforsøget med *G. pulex* (se afsnit 2.2.1).

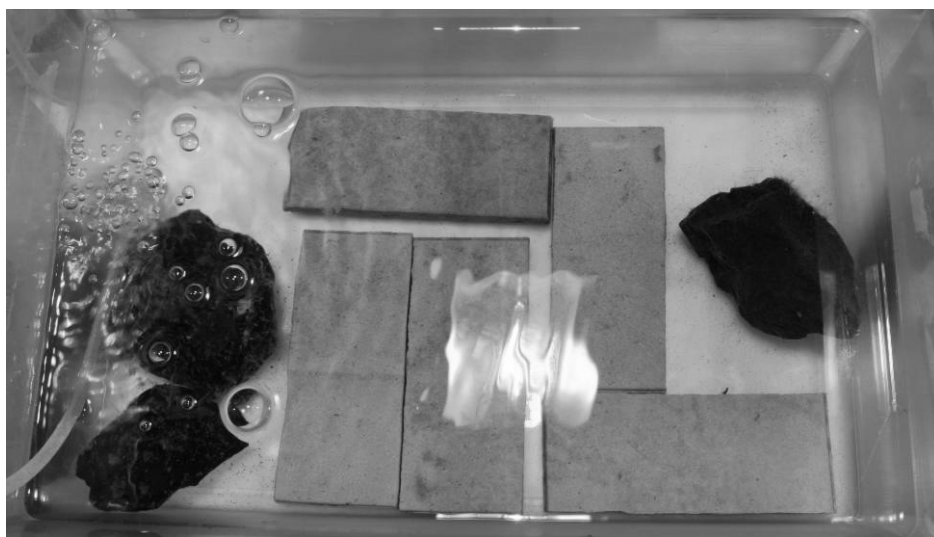
Sideløbende med forsøgene blev baggrundsvægttabet af bladene bestemt i arenaer uden dyr, idet 7 arenaer med ukontaminerede blade, 7 arenaer med

blade eksponeret for  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$  og 7 arenaer med blade eksponeret for  $5,0 \mu\text{g l}^{-1}$  blev behandlet efter samme procedure som angivet for forsøgene med dyr.

#### 2.2.4 Overlevelse og fødesøgning hos græsseren *Heptagenia sulphurea*

Effekten af lambda-cyhalothrin på døgnfluen *Heptagenia sulphurea* (indsamlet i Sallinge Å, Fyn), der lever af at græsse mikroalger på sten, blev undersøgt i et forsøg, der designmæssigt adskilte sig fra forsøgene med ituriverne. Fokus var således udelukkende på overlevelse og fødeomsætning, idet dyrenes bevægelsesadfærd og restituering blev ikke kvantificeret. I dette forsøg bestod føden af algefilm på fliser. Som i forsøgene med iturivere blev såvel pyrethroid-eksponerede dyrs græsning af ukontaminerede mikroalger, som ueksponerede dyrs græsning af pyrethroid-kontaminerede mikroalger undersøgt.

De anvendte fliser havde en ru overflade for at sikre, at mikroalgerne kunne fæstne sig ligesom på naturlige sten. Fliserne blev tilpasset i størrelse og havde et gennemsnitligt areal på  $54 \text{ cm}^2$ . Inden forsøgets start blev fliserne konditioneret i 18 dage sammen med algebegroede sten og åvand hentet i Sallinge Å. Konditioneringen foregik i 10-liters akvarier, hver indeholdende 4-5 fliser og 3-5 algebegroede sten i 8 l beluftet åvand, ved  $14-15^\circ\text{C}$ , og under en vækstlampe med en døgnrytme med 12 timers lys og 12 timers mørke (Figur 2.2.3). I konditioneringsperioden blev fliserne to gange ugentligt flyttet rundt mellem akvarierne. Dette skete for at sikre ensartede betingelser for mikroalgerne, da f.eks. lysintensiteten kunne tænkes at variere mellem akvarierne i forsøgsopstillingen. Fordampningen fra akvarierne nødvendiggjorde, at der flere gange blev tilført ekstra åvand.



Figur 2.2.3. Konditionering af fliser (gennemsnitligt areal på  $54 \text{ cm}^2$ ) foregik over 18 dage i 10-liters akvarier, hver indeholdende 4-5 fliser og 3-5 algebegroede sten i 8 l beluftet åvand, ved  $14-15^\circ\text{C}$ , under en vækstlampe med en døgnrytme med 12 timers lys og 12 timers mørke.

Den eksperimentelle enhed under selve forsøget var et 1-liters plast-akvarium indeholdende 1 konditioneret flise med eller uden 11 individer af *H. sulphurea* (Figur 2.2.4). Der blev således anvendt en relativt høj – men ikke unaturlig høj – tæthed af forsøgsdyr. I alt blev 660 *H. sulphurea* og 74 fliser anvendt. 74 akvarier blev delt op i 8 behandlingsgrupper:

- en kontrolgruppe med 10 akvarier (n=10), hver med 11 ueksponerede dyr og én ukontamineret, algebegroet flise
- tre grupper à 10 akvarier (n=10), hver med 11 dyr, der var blevet pulseksponeret i 90 min for henholdsvis 0,05, 0,5 og 5 µg lambda-cyhalothrin l<sup>-1</sup>, og derefter tilbudt én ukontamineret, algebegroet flise
- to grupper à 10 akvarier (n=10), hver med 11 ueksponerede dyr, der blev tilbudt én algebegroet flise, der forinden havde været eksponeret for enten 0,5 og 5 µg lambda-cyhalothrin l<sup>-1</sup> i 90 minutter
- to grupper à 7 akvarier (n=7), hver med én algebegroet flise, men uden dyr. I den ene gruppe var fliserne ukontaminerede, mens de i den anden gruppe havde været eksponeret for 5 µg lambda-cyhalothrin l<sup>-1</sup> i 90 minutter. Dette blev gjort for at undersøge, hvorvidt lambda-cyhalothrin kunne påvirke algevæksten.

Flisernes størrelse var tilpasset 1-liters akvarierne således, at de dækkede ca. ¾ dele af bunden. Dyrene havde dermed mulighed for at fjerne sig fra fliserne.



Figur 2.2.4. Den eksperimentelle enhed: 1-liters plast-akvarium indeholdende 1 konditioneret flise og 11 *H. sulphurea*.

Dagen inden eksponeringen blev de 660 individer af *H. sulphurea* fordelt i 60 eksponeringsakvarier indeholdende 200 ml åvand, og akklimatiseret natten over. Dyrene blev fordelt tilfældigt, og der var ingen tydelig forskel i størrelsesfordelingen mellem grupperne. Fliserne blev eksponeret i 500 ml åvand. Såvel eksponeringen af dyrene som mikroalgerne på fliserne blev således gennemført i åvand og ikke i kunstigt ferskvand, som i forsøgene med de øvrige arter. Dette blev gjort for at mindske risikoen for at ødelægge mikroalgefilmen på fliserne. Eksponeringen af fliserne blev gennemført umiddelbart inden eksponeringen af dyrene. Pulseksponeringens varighed var 90 min, og ved eksponeringens start blev de ønskede mængder lambda-cyhalothrin opløst i ethanol tilsat bægrene. Kontrolpopulationer og -fliser fik blot tilsat ethanol. Grundig omrøring sikrede en hurtig opblanding. Den anvendte koncentration af ethanol på 0,1 % oversteg ikke den vejledende grænse for opløsningsmidler (OECD 2000). Efter endt eksponering blev fliserne skyllet 3 på hinanden følgende gange i baljer med åvand, hvorefter de blev overført til forsøgsakvarierne. Døgnfluerne blev forsigtigt hældt op i en te-si og meget forsigtigt, men grundigt, skyllet tre på hinanden følgende gange ved neddykning i beholdere med åvand, hvorefter dyrene forsigtigt blev overført til forsøgsakvarierne med fliserne. Alle akvarier fik tilført 500 ml åvand, hentet fra Sallinge å, og hvert akvarium blev beluftet grundigt via luftsten. Døde dyr og skiftede huder blev dagligt fjernet fra flisernes overflade for at forhindre øget algevækst som følge af næringsstoffrigivelse fra forrådnende animalsk materiale.

Forsøget blev afsluttet efter 7 dage, og dyrenes overlevelse blev bestemt. Fliserne blev overført til rene 1-liters akvarier, hvor de blev lagt på papirclips med oversiden nedad. Herefter blev 50 ml ethanol tilsat, hvilket var nok til at dække fliserne, og akvarierne blev placeret i mørke plastikposer til ekstraktion i 6 timer ved stuetemperatur. Efter ekstraktionen blev fliserne fjernet, og volumen af den tilbageværende klorofylholdige ethanol blev bestemt. Fordampningen af ethanol i akvarierne var ikke ensartet, og ethanol blev tilsat, således at alle ekstrakter havde et totalvolumen på 50 ml. Herefter blev en prøve fra hvert ekstrakt overført til et Eppendorfrør, centrifugeret ved 3000 rpm i 5 min, og overført til kuvetter, således at absorbansen kunne måles spektrofotometrisk. Prøverne blev målt ved 750 nm og ved klorofyl a's absorptionsmaksimum ved 665 nm. Klorofyl a indholdet i ekstrakterne blev bestemt ud fra differencen mellem absorbanserne ved 665 og 750 nm, idet ethanol blev anvendt som reference (Dansk Standard 1986). Den arealspecifikke mængde af klorofyl a, bestemt som  $\text{mg m}^{-2}$ , blev anvendt som mål for algebiomassen på fliserne.

### 2.3 Langdistance-kolonisering hos smådyr i fynske vandløb

I denne del af projektet blev data fra fynske vandløb analyseret "biogeografisk" (jf. Nathan et al., 2003). Disse vandløb repræsenterer således fuldskala "forsøgsmønstre", der er velegnede til at følge langdistance-spredning og kolonisering hos vandløbenes smådyr over tid. Således var disse vandløb gennem det meste af perioden 1955-1985 udsat for betydende forureninger i form af dels mange udledninger af urensset eller meget utilstrækkeligt rensset spildevand fra bysamfund, mejerier og slagterier, dels periodiske, men oftest meget kraftige (og i øvrigt ulovlige) udledninger af ajle, møddingsvand og ensilagesaft fra landbrugsejendomme. Det betød, at der kun ganske få steder - og kun i enkelte vandsystemer - fandtes stort set upåvirkede samfund af smådyr med forekomst af udprægede rentvandskrævende arter. Efter den nævnte periode blev vandkvaliteten imidlertid afgørende forbedret ved udbygning af de kommunale renseanlæg og effektivt stop for landbrugets ulovlige udledninger. Den afgørende forbedring (målt som lavt indhold af  $\text{BOD}_5$  og ammonium) slog i de større vandløb igennem omkring 1990 (Fyns Amt 2003); scenen var derfor sat for en mulig genindvandring til et stort antal vandløb og vandløbssystemer

Fyns Amt har siden midten af 1980'erne og frem til og med 2006 (hvor amterne blev nedlagt) årligt undersøgt faunaen ved de samme ca. 900 vandløbsstationer. Data herfra repræsenterer en - på landplan helt unik - 21 år lang tidsserie. Disse data er lagret i en database indeholdende mere end 19.000 prøver. Det giver mulighed for nøje at følge indvandringen af visse arter af rentvandskrævende smådyr til vandløbssystemer, hvorfra de ikke førhen var kendt, men hvor vandkvaliteten var blevet afgørende forbedret.

Beregning af enkelte arters koloniseringsafstande over land og den tid, det tog, før koloniseringen fandt sted, bygger imidlertid på nogle antagelser og forudsætninger. Først og fremmest skal der være en rimelig sikkerhed for, at hvis en art blev fundet inden for et givet vandsystem, hvori den ikke tidligere var registreret, var der tale om reel indvandring. Der skal altså være sikkerhed for, at arten ikke allerede findes inden for det pågældende vandsystem, hvor den i givet fald har levet ubemærket af undersøgelserne. Det udelukker langt de fleste arter, som er knyttet til de mindste vandløb og kilder, fordi disse habitater ikke var tilstrækkelig dækket af det anvendte net af

moniteringsstationer. Det betyder, at kandidater for analysen af spredning mellem vandsystemer skal søges blandt de arter, som er knyttet til mellemstore og store vandløb, og som ikke findes i de små bække og kilder. Disse større vandløb vurderes desuden at være tilstrækkelig dækket af nettet af overvågningsstationer. Det forudsættes endvidere, at kolonisering af et "nyt vandløbssystem" er sket fra det nærmest beliggende kendte levested. Denne antagelse er givetvis ikke altid rigtig, hvilket betyder, at arternes spredningsevne i det mindste ikke overvurderes. Endelig kræves nogle tidlige antagelser. Generelt betragtes de større vandløb vandkvalitetsmæssigt som egnede levesteder fra 1990, hvor disse vandløbs  $BOD_5$  indhold (som gennemsnit) nåede under  $2 \text{ mg l}^{-1}$  (Fyns Amt 2003). Det betyder, at hvis en art for første gang optræder i et vandsystem i fx 1996, og hvis det forudsættes, at den er kommet fra en lokalitet, hvor den har levet siden fx 1980 (og formodentligt lang tid tidligere), sættes "nulpunktet" for beregning af koloniseringstiden til 1990. Derudover er der i specifikke tilfælde sat "nulpunkt" ved tidspunktet for udbygning af et specifikt offentligt renseanlæg (eller afskæring af spildevandet), hvorved vandkvaliteten er blevet tilstrækkelig forbedret til, at indvandrende arter kan overleve. Hvis spredning derimod er foregået mellem to vandsystemer, der begge først har fået en bestand af arten efter 1990, foretages der ingen korrektion af "nulpunktet". Grænsen på  $2 \text{ mg } BOD_5 \text{ l}^{-1}$  for tilstedeværelse eller fravær af de udvalgte arter af smådyr er i øvrigt primært baseret på resultater, som er publiceret af (Friberg et al. 2009).

Koloniseringsafstanden mellem to lokaliteter er beregnet ved den korteste afstand ved brug af GIS. Herudover er spredningsretningen kategoriseret som hhv. vestlig (V), nordlig (N), østlig (Ø) eller sydlig (S) (samt som NV, NØ, SØ og SV). Endelig er ved brug af GIS beregnet, hvor stor en del af koloniseringsafstanden, der er dækket af hhv. skov, bymæssig bebyggelse, eller landbrugsland (dvs. resten).

Supplerende blev den generelle udvikling i udbredelsen af udvalgte smådyr analyseret. En overvejende del af denne udvikling skyldes spredning/kolonisering inden for det enkelte vandsystem, bl.a. via nedstrøms drift eller opstrøms vandring. Det forventes imidlertid, at mønsteret i udvikling også kan give et vist fingerpeg af omfanget af spredning over land mellem vandsystemer. Til at belyse dette er valgt 20 forskellige taxa af smådyr (dvs. arter/slægter eller mere overordnede grupper, se boks 2.1), der alle er relativt talrigt forekommende i de fynske vandløb, og som alle *a priori* kan betragtes som relativt rentvandskrævende. De kan derfor betragtes som indikatorer for forbedret vandkvalitet. Fire taxa er ikke-insekter, der ved egen hjælp udelukkende kan spredes inden for det samme vandløbssystem. En enkelt taxa – ferskvandssvampe – kan alene ved egen hjælp spredes i nedstrøms retning. Blandt insekterne (4 døgnfluearter, 2 slørvingerarter, 2 billearter, og 8 vårfluetaxa) er samtlige taxa i stand til at spredes over land – dvs. mellem vandsystemer – på et eller andet tidspunkt under deres voksenstadium.

Til støtte for de fundne koloniseringsafstande ud fra data fra de fynske vandløb blev der foretaget sammenstillinger af danske og udenlandske data fra fangst af voksne insekter i lysfælder og Malaisefælder (sidstnævnte er et slags telt af fintmasket net, hvori insekterne fanges uden først at blive tiltrukket, således som det er tilfældet med lysfælder). Ud fra disse data kunne der ofte beregnes afstande til nærmeste kendte larveforekomst (se fx Wiberg-Larsen & Karsholt 1999). Desuden er der foretaget et omfattende litteratursøgning efter relevante oplysninger om lang-distance spredning hos ferskvandssmådyr – og

de faktorer som påvirker deres spredning - ikke bare fra vandløb, men også fra søer og damme. Det samlede resultatet af dette litteratur review er præsenteret i Bilag 4.

## 2.4 Statistiske Metoder

### 2.4.1 Betydning af økosystemstruktur og -funktion for rekolonisering efter pyrethroidpåvirkning

*Vægttab fra bladpakker og klorofylkoncentrationer i gruskopper i de 9 midtjyske vandløb* blev evalueret ved to-vejs ANOVA, med eksponeringskoncentration og tid efter eksponering som de to faktorer. I en separat en-vejs ANOVA blev bladvægttabet og klorofylkoncentration i prøver udtaget umiddelbart inden eksponeringen (Før-prøver, dag 0) sammenlignet med prøver fra de tre eksponeringsgrupper udtaget umiddelbart efter eksponeringen (dag 0). Det blev gjort for at evaluere betydningen af selve håndteringen. De samlede resultater for vægttab fra bladpakkerne blev endvidere evalueret ved ANCOVA, med eksponeringskoncentration som kategorisk faktor og tid efter eksponering som kontinuert kovariat, med henblik på at sammenligne de lineære regressionsligninger for vægttabet over tid. I de tilfælde, hvor *post hoc* multiple parvise sammenligninger blev foretaget, blev Bonferroni-korrektion anvendt.

*Vægttab fra bladpakker i de store strømrander i Lemming* blev evalueret ved tre-vejs ANOVA, med eksponeringskoncentration, tid efter eksponering og strømrandsesektion (opstrøms/nedstrøms) som de tre faktorer. Resultaterne blev desuden evalueret ved ANCOVA, med strømrandsesektion (kontrol-opstrøms, kontrol-nedstrøms, eksponeret-opstrøms og eksponeret-nedstrøms) som kategorisk faktor og tid efter eksponering som kontinuert kovariat, med henblik på at sammenligne de lineære regressionsligninger for vægttabet over tid. I de tilfælde, hvor *post hoc* multiple parvise sammenligninger blev foretaget, blev Bonferroni-korrektion anvendt.

*Smådyrsfauna i bladpakker og surberprøver i de store strømrander i Lemming:* Supplerende tre-vejs ANOVA'er blev udført for det totale antal taxa og det totale antal individer i såvel bladpakker som surberprøver med eksponeringskoncentration, tid efter eksponering og strømrandsesektion (opstrøms/nedstrøms) som de tre faktorer. Data for det totale antal individer i surberprøverne blev log-transformerede ( $x' = \log(x+1)$ ) for at opfylde krav om normalitet og varianshomogenitet. En sekventiel Bonferroni-korrektion (Bonferroni-Holm) blev anvendt til *a priori* multiple parvise sammenligninger.

*Vægttab fra, og hyppighed af Gammarus pulex i, bladpakker fra Stavis Å:* Resultater for vægttab i bladpakkerne fra Stavis Å blev evalueret ved to-vejs ANOVA, med eksponeringskoncentration og tid efter eksponering som de to faktorer. Resultaterne blev desuden evalueret ved ANCOVA, med eksponeringskoncentration som kategorisk faktor og tid efter eksponering som kontinuert kovariat. Data for antallet af *Gammarus pulex* i bladpakkerne blev evalueret ved to-vejs ANOVA med eksponeringskoncentration og tid efter eksponering som faktorer. En sekventiel Bonferroni-korrektion (Bonferroni-Holm) blev anvendt til *a priori* multiple parvise sammenligninger.

Alle de ovenfor nævnte statistiske tests blev udført ved hjælp af SAS® (version 9.1 for Windows, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), og i alle tilfælde blev et signifikansniveau på  $\alpha=0,05$  anvendt.

*Forskelle i taxonsammensætning mellem prøverne fra hhv. de midtjyske vandløb, de store render i Lemming og Stavis Å* blev analyseret ved brug af såkaldt MultiDimensionel Scaling af similariteter. Princippet er, at der for alle parvise kombinationer af prøverne beregnes et similaritetsindeks. For de kvantitative prøver blev typisk anvendt Bray-Curtis similaritetsindeks. De mange beregnede indeks-værdier ordineres derefter i et multidimensionelt rum ved en form for regression. De to bedst forklarende regressioner, der er de to første akser i et n-dimensionelt koordinatsystem, blev afbildet. Der beregnes en såkaldt stressværdi for ordinationen, der udtrykker, hvor godt de to akser beskriver den samlede variation i indeksværdierne. Stressværdien skal her være så lille så mulig. I selve ordinationen er de enkelte prøver placeret således, at de som ligner hinanden mest, ligger tættest ved hinanden, mens meget forskellige prøver ligger langt fra hinanden. Inden der blev beregnet similariteter, blev data  $\log(x+1)$  transformeret for at "nedvægte" dominerende taxa (således at mindre individrige taxa fik relativt større betydning end uden transformeringen). Statistisk signifikante forskelle mellem prøverne i de udførte ordinationer blev analyseret ved brug ANOSIM. Kun p-værdier  $< 0,05$  blev betragtet som signifikante. Prøver blev vurderet som klart adskilte, hvis den beregnede statistiske værdi R var  $>0,75$ , for vel adskilte, hvis R var  $>0,50$ , og knapt adskilte for  $R>0,25$ . Til beregningerne og analyserne blev anvendt PRIMER version 5 (PRIMER-E 2000). Metoden er i øvrigt nærmere beskrevet af Clarke & Warwick (1994) og Clarke & Gorley (2001).

*Forskelle i tab af smådyr fra hhv. ubehandlede og behandlede substrater under eksponeringen mv. af disse* blev analyseret med t-test efter log-transformering af data ( $x'=\log(x+1)$ ) for at opfylde krav om normalitet og varianshomogenitet. Testene blev udført med programmet XLSTAT, version 5.1, Addinsoft. Der blev i alle tilfælde anvendt et signifikansniveau på  $\alpha=0,05$ .

#### *Øvrige tests:*

Der blev derudover udført en række mere simple tests, fx af forskelle i artssammensætning mellem sparkeprøver og driftprøver. Disse blev typisk udført non-parametrisk og med programmet XLSTAT, version 5.1, Addinsoft. Der blev i alle tilfælde anvendt et signifikansniveau på  $\alpha=0,05$ .

#### 2.4.2 Pyrethroideffekt på smådyrs mobilitet, evne til restitution, samt substrat- og fødekvalitet

*Raterne for omsætning af blade i de små strømrrender* blev evalueret ved en-vejs ANOVA efterfulgt af *post hoc* multiple parvise sammenligninger med Bonferroni-korrektion. Et signifikansniveau på  $\alpha=0,05$  blev anvendt.

#### *Pilotforsøg - Restitueringssevne hos Gammarus pulex:*

Bevægelsesadfærden på forsøgets første dag (dag 0, kontrol- og eksponeringsperioden) blev evalueret med to-vejs repeated measures ANOVA. Kontrolperioden og eksponeringsperioden blev analyseret separat for at sammenligne henholdsvis gruppers baggrundsadfærd og eventuelle adfærdsændringer under eksponering. Grupperne blev efterfølgende sammenlignet parvis med repeated measures ANOVA. Videosporingsdata fra tre grupper (kontrolgruppen samt grupperne eksponeret for  $0,01$  og  $0,1 \mu\text{g l}^{-1}$ ) restitutioneringsperiode blev sammen med data fra kontrolperioden på dag 0 evalueret med en to-vejs ANOVA efterfulgt af en Bonferroni-korrigeret Fisher's Least Significant Difference (LSD) test. Repeated measures blev ikke anvendt, da der, som forventet, blev observeret en koncentrationsafhængig

dødelighed under restitutionen. Dette var særlig markant for gruppen eksponeret for  $1 \mu\text{g l}^{-1}$ . For denne gruppe var det kun muligt at opnå videosporingsdata for dag 0 og 1 for et tilstrækkeligt stort antal individer, da der herefter kun var få overlevende. Derfor blev endnu en to-vejs ANOVA efterfulgt af en Bonferroni-korrigeret Fisher's Least Significant Difference (LSD) test anvendt til at sammenligne de fire grupper på disse to dage. Ved afvigelse fra normalitet og varianshomogenitet blev data transformeret, enten logaritmisk ( $x'=\log(x+1)$ ) eller ved en kvadratrods transformation ( $X'=(X+\frac{3}{8})^{\frac{1}{2}}$ ), for at opfylde disse krav (Zar 1984). ANOVA-analyserne blev foretaget ved hjælp af SAS (version 9.1 for Windows, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Overlevelseskurverne fra restitueringsperioden blev fittet ved nonlinear regressionanalyse. Et antal regressionsligninger blev evalueret, og det bedste fit blev opnået med ligningen  $y=ae^{-bt} + ce^{-dt}$ . I alle tilfælde blev signifikante regressioner opnået. Regressionsanalysen blev udført med Sigmaplot (version 7.101, SPSS Inc., Chicago, USA). I alle statistiske analyser blev et signifikansniveau på  $\alpha=0,05$  anvendt.

#### *Restitueringssevne og fødesøgning hos udvalgte iturivere:*

Data for bevægelsesadfærd blev i alle tilfælde log-transformeret ( $x'=\log(x+1)$ ) for at opfylde krav om normalitet og varianshomogenitet (Zar, 1984). Data fra eksponeringsdagen blev analyseret ved hjælp af to-vejs repeated measures ANOVA. Her blev de fire grupper sammenlignet dels i kontrolperioden, for at sammenligne baggrundsadfærden, og dels i eksponeringsperioden, for at evaluere eventuelle adfærdsændringer under eksponering. Ved en signifikant interaktion mellem faktorerne tid og behandling blev der lavet parvise sammenligninger af grupperne, ved hjælp af Bonferroni-korrigerede to-vejs repeated measures ANOVA'er. Restitueringsadfærden blev, sammen med data fra kontrolperioden på dag 0, analyseret ved hjælp af to-vejs ANOVA efterfulgt af en Bonferroni-korrigeret Fisher's Least Significant Difference (LSD) test. Repeated measures blev ikke anvendt, da der, som forventet, blev observeret en koncentrationsafhængig dødelighed/inaktivering under restitutionen. For *G. pulex* og *S. personatum* var der ikke data for alle grupper til alle tidspunkter, og ANOVA-analysen blev derfor udført på et reduceret datasæt. Raterne for omsætningen af bladmateriale hos de tre arter blev log-transformeret ( $x'=\log(x+1)$ ) for at opfylde krav om normalitet og varianshomogenitet (Zar, 1984). Data blev evalueret ved to-vejs repeated measures ANOVA efterfulgt af en Bonferroni-korrigeret Fisher's Least Significant Difference (LSD) test. Rater for massetabene i grupperne af blade uden dyr blev evalueret ved en 1-vejs ANOVA. Størrelsen af de anvendte individer blev sammenlignet ved hjælp af en-vejs ANOVA. Alle statistiske tests blev udført v.h.j.a SAS® (version 9.1 for Windows, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), og i alle tilfælde blev et signifikansniveau på  $\alpha=0,05$  anvendt.

#### *Overlevelse og fødesøgning hos græsseren Heptagenia sulphurea:*

Data for algebiomasse blev analyseret ved 1-vejs ANOVA efterfulgt af en Bonferroni-korrigeret Fisher's LSD (Least Significant Differences) test, idet data blev log-transformeret ( $x'=\log(x+1)$ ) for at opfylde krav om normalitet og varianshomogenitet (Zar, 1984). For algebiomassen blev det *a priori* besluttet kun at lave parvise sammenligninger i forhold til henholdsvis kontrolgruppen og gruppen af ukontaminerede fliser uden dyr. Overlevelsesdata kunne ikke transformeres med henblik på opfyldelse af krav om normalitet og varianshomogenitet, og blev derfor analyseret ved en non-parametrisk 1-vejs ANOVA, Kruskal-Wallis test, efterfulgt af Bonferroni-korrigerede parvise Mann-Whitney tests. Her var det *a priori* besluttet kun at

lave parvise sammenligninger i forhold til kontrolgruppen. Alle statistiske tests blev udført v.h.j.a SAS<sup>®</sup> (version 9.1 for Windows, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), og i alle tilfælde blev et signifikansniveau på  $\alpha=0,05$  anvendt.

#### 2.4.3 Langdistance-kolonisering hos smådyr i fynske vandløb

Den tidlige udvikling i udbredelsen af udvalgte makroinvertebrater blev søgt beskrevet ved hhv. lineær eller eksponentiel kurvefit. Disse kurver samt sammenhænge mellem koloniserede afstande og tiden medgået til kolonisering blev evalueret v.h.j.a. programmet XLSTAT, version 5.1, Addinsoft. Der blev i alle tilfælde anvendt et signifikansniveau på  $\alpha=0,05$ .

### 2.5 Kvantificering af lambda-cyhalothrin

For at opnå realistiske koncentrations-respons-sammenhænge mellem pyrethroidkoncentration og indvirkning på bevægelses- og driftadfærd er de reelle koncentrationer af lambda-cyhalothrin blevet bestemt i såvel laboratorie- som strømrændeeksponeringssystemerne. Metoden er udviklet i et tidligere pesticidforskningsprojekt (Nørum et al. 2006). Metodens princip er baseret på fastfaseekstraktion af pesticidkontamineret ferskvand efterfulgt af opkoncentrering ved inddampning, samt kvantificering ved omvendt fase HPLC-MS. Metoden er baseret på vandprøver med et volumen på 100-1000 ml.

#### 2.5.1 Forbehandling af vandprøver

Umiddelbart efter opsamling af afmålt vandprøve indeholdende lambda-cyhalothrin tilsættes en kendt mængde intern standard (esfenvalerat).

#### 2.5.2 Fastfaseekstraktion

Ekstraktion af lambda-cyhalothrin fra vandprøven foretages på en C18-søjle (Sep Pak Vac, 6 cc, 1 g, C18 cartridges, fra Waters). Søjlen konditioneres med 5 ml methanol og vaskes med 5 ml Milli-Q vand. Prøven påsættes søjlen ved 20 kPa vacuum, svarende til ca. 3 ml/min. Dernæst vaskes søjlen med 5 ml Milli-Q vand og tørres i 1-2 minutter ved 30-40 kPa vacuum. Pesticidet elueres med 4 ml methanol. Eluatet inddampes efterfølgende til tørhed under luftstrøm og genopløses i 0,300 ml 75% methanol.

#### 2.5.3 LC-MS analyse

Det anvendte Hewlett Packard LC-MSD-system består af en HP Series 1100 HPLC (solvent degasser, binær pumpe, autosampler og termostatteret kolonneafdeling) og et G1946A MSD quadropole massespektrometer udstyret med electrospray ionisation (ESI) i positiv mode. Til kvantificeringen anvendes en HPLC-kolonne (C18, 150×2,1 mm, Phenomenex fra Subware) med forkolonne af samme materiale. Der anvendes et væskeflow på 0,4 ml/min, en injection af 50 µl prøve, og en kolonnetemperatur på 25 °C. Følgende LC solventer blev brugt: Eluent A: 10 mM ammoniumacetat:methanol, 990:10 (v:v). Eluent B: 10 mM ammoniumacetat:methanol, 10:90 (v:v). Der elueres med følgende gradient (Tid,% B): (0 min, 75%); (3 min, 100%); (14 min, 100%); (14,1 min, 75%); postrun-tid: 6 min, 25% B. Massespektrometer-opsætning: Mode: ESI positiv (SIM: m/z 467 for lambda-cyhalothrin). Der benyttes intern standardisering med esfenvalerat (SIM: m/z 437). Drying gas temperature: 350 °C. Drying

gas flow: 10 l/min. Nebulizer pressure: 30 psig. Capillary voltage: 3500 V. Fragmentor: 50 V. Standardkurven beregnes ud fra standarderne: 0,7; 3,5; 35,0; 70,0 og 350 ng/ml injiceret standard. Lambda-cyhalothrin og esfenvalerat elueres efter henholdsvis 7,4 min og 8,0 min.

#### 2.5.4 Lambda-cyhalothrin-koncentrationer

Nominelle og aktuelle koncentrationer af lambda-cyhalothrin i de udførte forsøg er angivet i tabel 2.2. Den gennemsnitlige genfinding var henholdsvis 53, 35, 31 og 32% i forsøgene i naturlige vandløb, store strømrrender, små strømrrender og de øvrige laboratorieforsøg. Et tab af stof fra vandfasen var forventelig bl.a. på grund af adsorption til forsøgssopstillingerne, hvilket skyldes lambda-cyhalothrins fysisk-kemiske egenskaber. Ved eksponering af bladene observeredes en yderligere reduktion i genfindingen, der i gennemsnit var 21% ved  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$  og blot 6% ved  $5 \mu\text{g l}^{-1}$ . Dette viser, at en stor andel af pyrethroidet blev adsorberet til bladmaterialet, hvilket var hensigten med eksponeringen af føden. I resultatafsnittet angives de nominelle koncentrationer i tekst, tabeller og figurer.

Tabel 2.2. Nominelle og aktuelle koncentrationer i udførte forsøg. Da genfindingen af lambda-cyhalothrin i forsøg af samme type var meget ens, er gennemsnit  $\pm$  sem angivet. Eksponeringen af blade til de forskellige forsøg blev foretaget efter samme protokol, og disse data er præsenteret samlet.

| Forsøg                | Antal vandprøver | Lambda-cyhalothrin-konc. ( $\mu\text{g/l}$ ) |                           |
|-----------------------|------------------|----------------------------------------------|---------------------------|
|                       |                  | Nominel                                      | Aktuel<br>(gns $\pm$ SEM) |
| Naturlige vandløb     | 12               | 0                                            | id                        |
|                       | 20               | 0,5                                          | $0,296 \pm 0,043$         |
|                       | 20               | 5                                            | $2,34 \pm 0,24$           |
| Store strømrrender    | 3                | 0                                            | id                        |
|                       | 6                | 5                                            | $1,76 \pm 0,09$           |
| Små strømrrender      | 3                | 0                                            | id                        |
|                       | 2                | 0,05                                         | $0,018 \pm 0,007$         |
|                       | 4                | 0,5                                          | $0,140 \pm 0,028$         |
|                       | 4                | 5                                            | $1,51 \pm 0,36$           |
| Adfærd i laboratoriet | 3                | 0                                            | id                        |
|                       | 3                | 0,005                                        | id                        |
|                       | 2                | 0,05                                         | $0,026 \pm 0,010$         |
|                       | 3                | 0,5                                          | $0,103 \pm 0,012$         |
|                       | 3                | 5                                            | $1,11 \pm 0,10$           |
| Eksponering af blade  | 4                | 0                                            | id                        |
|                       | 5                | 0,5                                          | $0,107 \pm 0,026$         |
|                       | 5                | 5                                            | $0,278 \pm 0,045$         |

id: ikke detekteret

## 3 Resultater

### 3.1 Betydning af økosystemstruktur og – funktion for rekolonisering efter pyrethroidpåvirkning

#### 3.1.1 Pyrethroideffekter på diversitet, rekolonisering og stofomsætning i naturlige vandløb

##### Midtjyske vandløb

Der blev kun bearbejdet faunaprøver fra 3 af de i alt 9 undersøgte vandløb: Hagenstrup Møllebæk (lille vandløb), Bjergskov Bæk (mellemstort vandløb) og Mattrup Å (stort vandløb). Dette blev besluttet efter aftale med følgegruppen, idet det dels viste sig, at forsøgsdesignet i forbindelse med eksponeringen af de kunstige substrater ikke var hensigtsmæssig og udbyttet af denne del af undersøgelserne derfor relativt begrænset (se diskussionen), dels viste sig, at resurseforbruget ved behandling af prøverne langt oversteg, hvad der oprindeligt var planlagt.

Antallet af taxa (arter, slægter eller mere overordnede grupper) i de udlagte kunstige substrater varierede fra 24-29 i det mindste vandløb, Hagenstrup Møllebæk, til 48-51 i det største vandløb, Mattrup Å (Tabel 3.1.1). Ligeledes var antallet af arter/slægter af døgnfluer (Ephemeroptera), slørvinger (Plecoptera) og vårfluer (Trichoptera), de såkaldte EPT taxa, mindst i Hagenstrup Møllebæk (11) og størst i Mattrup Å (19-24). Der var tilsyneladende ingen væsentlig forskel i diversiteten (antal af taxa, antal EPT taxa) mellem gruskopper og bladpakker. Til gengæld var den relative (kvantitative) sammensætning væsentlig forskellig mellem gruskopper og bladpakker.

Tabel 3.1.1. Taksonomisk "rigdom" (antal taxa), individantal i samtlige prøver tilsammen (gruskopper, bladpakker), og overordnet taksonomisk fordeling (%) af smådyr på kunstige substrater i tre forsøgsvandløb af forskellig størrelse: Hagenstrup Møllebæk (lille vandløb), Bjergskov Bæk (mellemstort vandløb) og Mattrup Å (stort vandløb). EPT taxa omfatter arter/slægter af hhv. Ephemeroptera (døgnfluer), Plecoptera (slørvinger) og Trichoptera (vårfluer).

|                            | Hagenstrup Møllebæk |       | Bjergskov Bæk |       | Mattrup Å |       |
|----------------------------|---------------------|-------|---------------|-------|-----------|-------|
|                            | Grus                | Blade | Grus          | Blade | Grus      | Blade |
| Antal taxa                 | 24                  | 26    | 45            | 43    | 51        | 48    |
| Antal EPT taxa             | 11                  | 11    | 19            | 21    | 19        | 24    |
| Antal individer, i alt     | 18 946              | 5212  | 9655          | 8600  | 15 318    | 4783  |
| Gns. antal individer/prøve | 197                 | 54    | 101           | 90    | 160       | 48    |
| <i>Gammarus pulex</i> (%)  | 10,4                | 48,1  | 5,3           | 0,6   | 4,5       | 11,5  |
| Ephemeroptera (%)          | 14,3                | 8,3   | 12,4          | 0,5   | 32,9      | 10,1  |
| Plecoptera (%)             | 0,2                 | 0,9   | 15,5          | 27,7  | 5,2       | 17,7  |
| Simuliidae (%)             | 46,6                | 2,4   | 4,2           | 2,5   | 29,4      | 16,8  |
| Orthocladinae (%)          | 26,6                | 20,7  | 44,1          | 52,6  | 15,6      | 26,3  |

Relativt få af de fundne taxa dominerede antalsmæssigt i de kunstige substrater. Således udgjorde de 5 mest dominerende taxa 77-97% af det samlede antal individer (hvilket i øvrigt også var tilfældet i sparkeprøverne). Overordnet set – dvs. for samtlige tre vandløb - var dansemyg af underfamilien Orthocladiinae mest dominerende, idet de udgjorde 16-53% af det samlede individantal i de tre vandløb, uanset om der var tale om gruskopper eller bladpakker. *Gammarus pulex* var meget talrige i bladpakkerne og kvægmyg (Simuliidae) meget talrige i gruskopperne i Hagenstrup Møllebæk, mens både døgnfluer og kvægmyg var meget talrige i gruskopperne i Mattrup Å. Slørvinger var desuden meget talrige i gruskopperne og bladpakkerne i Bjergskov Møllebæk, ikke bare mht. individer, men også hvad angik antallet af taxa.

De dyr, som koloniserede hhv. gruskopper og bladpakker, udgjorde naturligvis et udsnit af den tilstedeværende fauna, som blev forsøgt karakteriseret ved de udtagne sparkeprøver (Bilag A1-3). For samtlige tre vandløb og substrattyper var antallet af taxa mindre i de puljede kunstige substrater end i de puljede sparkeprøver (Wilcoxon signed-rank test,  $P < 0,05$ ,  $N=6$ ), mens der ikke var signifikant forskel for EPT taxa. For de enkelte taxa var der markante kvantitative forskelle. I de fleste tilfælde udgjorde fx

*G. pulex* en mindre andel af faunaen i de kunstige substrater, uanset om der var tale om gruskopper eller bladpakker, mens Orthocladiinae generelt var væsentlig mere talrige i de kunstige substrater end i sparkeprøverne. Derudover var *Baetis rhodani* mindre talrige i bladpakkerne end i sparkeprøverne i to af de 3 vandløb, mens *Heptagenia sulphurea* var mindre talrig i bladpakkerne end i sparkeprøverne i Mattrup Å. Modsat var *Leuctra* spp. hyppigere i gruskopperne end i sparkeprøverne i Bjergskov Bæk.

Tæthederne af dyr i de kunstige substrater var i gennemsnit 10 630-20 770? individer  $m^{-2}$  for gruskopperne og 48-90 individer bladpakke<sup>-1</sup> for bladpakkerne.

Generelt var der signifikant færre taxa og EPT taxa i de puljede driftprøver sammenlignet med de puljede sparkeprøver (Wilcoxon signed-rank test,  $P < 0,05$ ,  $N=6$ ). Flere taxa forekom med nogenlunde samme relative hyppighed i driftprøverne og sparkeprøverne: *G. pulex* (undtagen i Bjergskov Bæk), *Brachyptera risi*, *B. rhodani*, Simuliidae (undtagen i Mattrup Å) ( $\chi^2$  test,  $P > 0,05$ ). Derimod var Orthocladiinae (undtagen i Mattrup Å) og Tanytarsini typisk langt hyppigere i driftprøverne end i sparkeprøverne, mens fx *Dugesia gonocephala*, *Oligochaeta*, *H. sulphurea*, *Ephemera danica*, *Leuctra* spp., *Limnius volckmari* og *Rhyacophila* spp. var langt sjældnere (eller slet ikke fundet) i driftprøverne end i sparkeprøverne ( $\chi^2$  test,  $P < 0,05$ ).

Sammensætningen af smådyrsfaunaen var med hensyn til fødefunktionelle grupper væsentlig forskellig i de tre vandløb (Tabel 3.1.2). Bedømt ud fra sparkeprøverne var andelen af iturivere og detritusædere størst i Hagenstrup Møllebæk og mindst i Mattrup Å, mens andelen af græssere og rovdyr var mindst i Hagenstrup Møllebæk og størst i Mattrup Å. Andelen af filtratorer var størst i Mattrup Å.

Dette billede kunne kun delvist genfindes i de udlagte substrater, primært fordi der generelt var markant forskel på andelen af de fødefunktionelle grupper mellem hhv. gruskopper og bladpakker. Således var andelen af græssere i to af de tre vandløb højest i gruskopperne, mens der var flere

Tabel 3.1.2. Sammensætningen (%) af fødefunktionelle grupper af smådyr i forsøgsvandløb af forskellig størrelse, hhv. i sparkeprøver og udlagte kunstige substrater (gruskopper, bladpakker).

|               | Hagenstrup Møllebæk |      |       | Bjergskov Bæk |      |       | Matstrup Å |      |       |
|---------------|---------------------|------|-------|---------------|------|-------|------------|------|-------|
|               | Spark               | Grus | Blade | Spark         | Grus | Blade | Spark      | Grus | Blade |
| Græssere      | 18,0                | 40,9 | 8,4   | 34,0          | 58,9 | 53,6  | 38,4       | 33,6 | 44,4  |
| Detritusædere | 12,3                | 1,1  | 9,2   | 6,7           | 15,1 | 31,2  | 3,4        | 7,2  | 6,1   |
| Filtratorer   | 13,4                | 46,6 | 2,4   | 8,0           | 4,2  | 2,5   | 21,5       | 29,4 | 16,8  |
| Iturivere     | 54,7                | 10,6 | 50,7  | 45,4          | 20,6 | 9,3   | 29,1       | 9,7  | 21,1  |
| Rovdyr        | 1,6                 | 0,8  | 8,6   | 5,8           | 1,3  | 2,8   | 7,5        | 1,7  | 11,7  |

iturivere i bladpakkerne end i gruskopperne (undtagen i Bjergskov Bæk). Der var dog en bemærkelsesværdig stor andel af "græssere" på bladpakkerne i både Bjergskov Bæk og Matstrup Å, bl.a. pga. tilstedeværelsen af et stort antal Orthoclaadiinae. Disse er dog ikke nødvendigvis alle græssere, men kan også være detritusædere.

Under selve optagningen, eksponeringen og genudlægningen af de kunstige substrater forlod et relativt stort antal dyr substraterne uanset om de var blevet eksponeret for lambda-cyhalothrin eller ej, og uanset koncentrationen af dette stof under eksponeringen. Disse dyr blev som beskrevet under afsnit 2.1.1 opsamlet i netposer, som substraterne blev anbragt i før, under og efter eksponeringen. Der blev for samtlige mulige parvise kombinationer af den kvantitative artssammensætning i disse netprøver beregnet Bray-Curtis similaritet (lighed). En analyse af disse similariteter viste, at der for nogle substrater og vandløb (Hagenstrup Møllebæk, bladpakker; Matstrup Å, begge substrattyper) var tendens til forskel mellem kontrolsubstraterne og de pesticidbehandlede substrater (Global R= 0,11-0,18, P<0,05). For nogle taxa var der altså forskel i antallet af individer, som forlod hhv. de pesticideksponerede og ueksponerede substrater (Tabel 3.1.3-3.1.8). For gruskoppernes vedkommende forlod således signifikant flere *G. pulex* de pesticideksponerede (både ved 0,5 og 5,0 µg l<sup>-1</sup>) sammenlignet med kontrollerne i både Hagenstrup Møllebæk og Matstrup Å, mens flere kvægmyg og orthoclaadiinae forlod gruskopperne eksponeret ved 5,0 µg l<sup>-1</sup> i Matstrup Å. I bladpakkerne (ved begge pesticidkoncentrationer) forekom en lignende adfærd hos kvægmyg i Hagenstrup Møllebæk, men ikke i Matstrup Å, mens flere orthoclaadiinae forlod de pesticidbehandlede gruskopper og bladpakker sammenlignet med kontrolsubstraterne i både Bjergskov Bæk og Matstrup Å.

Tabel 3.1.3. Hagenstrup Møllebæk. Tab af smådyr fra gruskopper (kunstige substrater) under 90 min's eksponering for lambda-cyhalothrin. K: Ueksponerede gruskopper – L: gruskopper eksponeret for 0,5 µg l<sup>-1</sup> – H: gruskopper eksponeret for 5,0 µg l<sup>-1</sup>. Angivet middelværdier og P-værdier for t-test mellem behandlinger (NS: ikke signifikant, dvs. P>0,05). Data er kun vist for de mest almindelige taxa.

|                       | Antal individer/net |      |      | P-værdi |         |      | N  |
|-----------------------|---------------------|------|------|---------|---------|------|----|
|                       | K                   | L    | H    | K/L     | K/H     | L/H  |    |
| <i>Gammarus pulex</i> | 5,8                 | 10,2 | 14,6 | 0,003   | <0,0001 | 0,03 | 29 |
| <i>Baetis rhodani</i> | 3,5                 | 2,8  | 2,5  | NS      | NS      | NS   | 29 |
| Simuliidae            | 6,6                 | 6,2  | 6,9  | NS      | NS      | NS   | 29 |
| Orthoclaadiinae       | 4,5                 | 7,0  | 6,3  | NS      | NS      | NS   | 29 |

Tabel 3.1.4. Hagenstrup Møllebæk. Tab af smådyr fra bladpakker (kunstige substrater) under 90 min's eksponering for lambda-cyhalothrin. K: Ueksponerede bladpakker – L: bladpakker eksponeret for  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$  – H: bladpakker eksponeret for  $5,0 \mu\text{g l}^{-1}$ . Angivet middelværdier og P-værdier for t-test mellem behandlinger (NS: ikke signifikant, dvs.  $P>0,05$ ). Data er kun vist for de mest almindelige taxa.

|                       | Antal individer/net |      |      | P-værdi |        |     | N  |
|-----------------------|---------------------|------|------|---------|--------|-----|----|
|                       | K                   | L    | H    | K/L     | K/H    | L/H |    |
| <i>Gammarus pulex</i> | 24,3                | 27,7 | 26,3 | NS      | NS     | NS  | 34 |
| <i>Baetis rhodani</i> | 2,4                 | 4,4  | 4,7  | 0,02    | 0,003  | NS  | 34 |
| Simuliidae            | 0,4                 | 1,9  | 1,3  | 0,02    | <0,001 | NS  | 34 |
| Orthocladiinae        | 1,1                 | 0,9  | 1,4  | NS      | NS     | NS  | 34 |

Tabel 3.1.5. Bjergskov Bæk. Tab af smådyr fra gruskopper (kunstige substrater) under 90 min's eksponering for lambda-cyhalothrin. K: Ueksponerede bladpakker – L: bladpakker eksponeret for  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$  – H: bladpakker eksponeret for  $5,0 \mu\text{g l}^{-1}$ . Angivet middelværdier og P-værdier for t-test mellem behandlinger (NS: ikke signifikant, dvs.  $P>0,05$ ). Data er kun vist for de mest almindelige taxa.

|                       | Antal individer/net |      |      | P-værdi |        |     | N  |
|-----------------------|---------------------|------|------|---------|--------|-----|----|
|                       | K                   | L    | H    | K/L     | K/H    | L/H |    |
| <i>Gammarus pulex</i> | 4,1                 | 4,4  | 5,8  | NS      | NS     | NS  | 30 |
| <i>Baetis spp.</i>    | 9,2                 | 7,9  | 7,4  | NS      | NS     | NS  | 30 |
| <i>Leuctra spp.</i>   | 9,7                 | 7,8  | 10,2 | NS      | NS     | NS  | 30 |
| Simuliidae            | 6,4                 | 3,9  | 3,6  | NS      | NS     | NS  | 30 |
| Orthocladiinae        | 6,5                 | 10,4 | 11,1 | 0,008   | <0,001 | NS  | 30 |

Tabel 3.1.6. Bjergskov Bæk. Tab af smådyr fra bladpakker (kunstige substrater) under 90 min's eksponering for lambda-cyhalothrin. K: Ueksponerede bladpakker – L: bladpakker eksponeret for  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$  – H: bladpakker eksponeret for  $5,0 \mu\text{g l}^{-1}$ . Angivet middelværdier og P-værdier for t-test mellem behandlinger (NS: ikke signifikant, dvs.  $P>0,05$ ). Data er kun vist for de mest almindelige taxa.

|                         | Antal individer/net |      |      | P-værdi |        |       | N  |
|-------------------------|---------------------|------|------|---------|--------|-------|----|
|                         | K                   | L    | H    | K/L     | K/H    | L/H   |    |
| <i>Brachyptera risi</i> | 29,2                | 22,3 | 27,7 | NS      | NS     | NS    | 34 |
| <i>Leuctra spp.</i>     | 5,8                 | 6,0  | 8,4  | NS      | 0,02   | 0,02  | 34 |
| <i>Nemoura spp.</i>     | 1,6                 | 1,6  | 3,0  | NS      | 0,004  | 0,005 | 34 |
| Simuliidae              | 1,8                 | 1,8  | 2,7  | NS      | NS     | NS    | 34 |
| Orthocladiinae          | 3,8                 | 4,1  | 6,5  | NS      | <0,001 | 0,002 | 34 |

Derimod var der ingen forskel i tabet af *G. pulex* fra bladpakker mellem de tre behandlinger i både Hagenstrup Møllebæk og Matstrup Å. Til gengæld var tabet af visse slørvinger størst fra de pesticidbehandlede bladpakker (begge koncentrationer) i Bjergskov Bæk (*Leuctra* og *Nemoura*) og Matstrup Å (*Leuctra*).

Analyserne af ændringerne i taxon sammensætningen før og i tiden efter eksponeringen af hhv. gruskopper og bladpakker, hvorved lighederne mellem de enkelte prøver blev "ordineret" i et to-dimensionelt rum ved MultiDimensional Scaling, viste en meget stor variation selv mellem prøver

Tabel 3.1.7. Matstrup Å. Tab af smådyr fra gruskopper (kunstige substrater) under 90 min's eksponering for lambda-cyhalothrin. K: Ueksponerede gruskopper – L: gruskopper eksponeret for  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$  – H: gruskopper eksponeret for  $5,0 \mu\text{g l}^{-1}$ . Angivet middelværdier og P-værdier for t-test mellem behandlinger (NS: ikke signifikant, dvs.  $P>0,05$ ). Data er kun vist for de mest almindelige taxa.

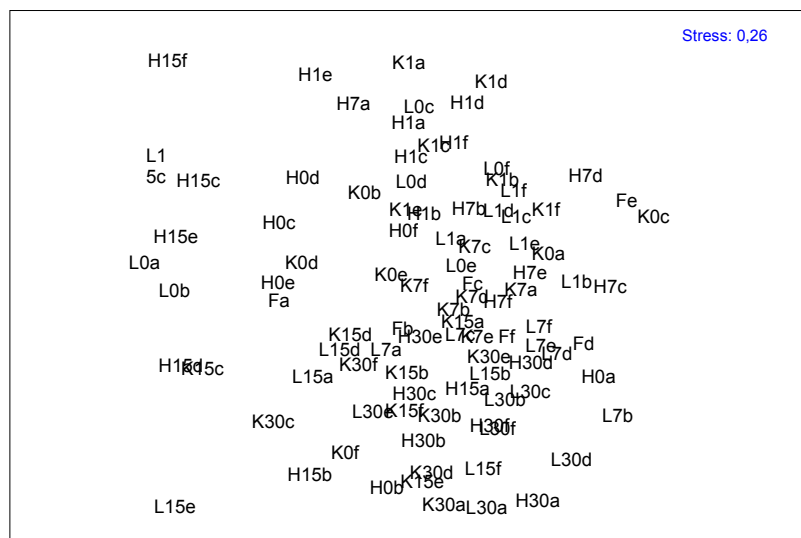
|                       | Antal individer/net |      |      | P-værdi |         |       | N  |
|-----------------------|---------------------|------|------|---------|---------|-------|----|
|                       | K                   | L    | H    | K/L     | K/H     | L/H   |    |
| <i>Gammarus pulex</i> | 2,1                 | 9,2  | 12,1 | 0,015   | <0,0001 | NS    | 30 |
| <i>Baetis rhodani</i> | 18,7                | 25,2 | 20,1 | 0,01    | NS      | NS    | 30 |
| <i>Leuctra spp.</i>   | 2,7                 | 4,9  | 6,8  | 0,001   | 0,0002  | NS    | 30 |
| Simuliidae            | 60,3                | 66,3 | 37,2 | NS      | 0,02    | 0,006 | 30 |
| Orthocladiinae        | 4,8                 | 6,6  | 7,4  | NS      | 0,02    | NS    | 30 |

Tabel 3.1.8. Matstrup Å. Tab af smådyr fra bladpakker (kunstige substrater) under 90 min's eksponering for lambda-cyhalothrin. K: Ueksponerede bladpakker – L: bladpakker eksponeret for  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$  – H: bladpakker eksponeret for  $5,0 \mu\text{g l}^{-1}$ . Angivet middelværdier og P-værdier for t-test mellem behandlinger (NS: ikke signifikant, dvs.  $P>0,05$ ). Data er kun vist for de mest almindelige taxa.

|                             | Antal individer/net |      |      | P-værdi |       |        | N  |
|-----------------------------|---------------------|------|------|---------|-------|--------|----|
|                             | K                   | L    | H    | K/L     | K/H   | L/H    |    |
| <i>Gammarus pulex</i>       | 9,1                 | 10,0 | 12,1 | NS      | NS    | NS     | 30 |
| <i>Baetis rhodani</i>       | 6,2                 | 6,2  | 6,1  | NS      | NS    | NS     | 30 |
| <i>Heptagenia sulphurea</i> | 2,8                 | 4,2  | 4,4  | 0,025   | 0,029 | NS     | 30 |
| Simuliidae                  | 12,8                | 12,1 | 14,2 | NS      | NS    | NS     | 30 |
| Orthocladiinae              | 1,1                 | 0,8  | 2,1  | NS      | 0,002 | 0,0002 | 30 |

fra samme dag og behandling. Desuden var ordinationen i det todimensionelle rum langt fra optimal (stress faktor > 0,2). Det var således generelt vanskeligt at erkende noget karakteristisk mønster, som måtte være betinget af, om smådyrene i substraterne blev udsat for pyrethroid eller ej (se eksempel fra Bjergskov Bæk, Figur 3.1.1). Der blev imidlertid testet for sådanne forskelle og for en udvikling i faunasammensætningen over tid. I halvdelen af tilfældene (af i alt seks: tre vandløb hver med hhv. gruskopper og bladpakker) ændrede faunasammensætningen sig klart under eksponeringen, dvs. fra "før"-prøverne til "dag 0" prøverne ( $R>0,5$ ,  $P<0,05$ ). Der var imidlertid ingen forskel i dette "respons" uanset om der blev eksponeret med ingen, lav eller høj pyrethroidkoncentration ( $R<<0,25$ ,  $P>0,05$ ). I en 1/3 af tilfældene ændrede faunasammensætningen sig imidlertid slet ikke under eksponeringen ( $P>0,05$ ). I løbet af rekoloniseringsperioden (dag 1-ca.30) fandtes for samtlige tre vandløb og for begge substrattyper generelt ingen signifikant forskel i faunasammensætningen imellem substrater, der havde fået ingen, lav eller høj pyrethroidkoncentration under eksponeringen ( $R<<0,25$ ,  $P>0,5$ ).

Imidlertid var der for enkelte taxa forskel i hyppighed mellem substrater, som havde fået ingen eller høj pyrethroidkoncentration, men kun på dag 1 efter eksponeringen (Tabel 3.1.9). Sådanne forskelle blev dog ikke fundet konsekvent; således sås en effekt for *G. pulex* i samtlige tre vandløb, men ikke for samme type substrat, ligesom effekten hos Orthocladiinae kun var signifikant i to af vandløbene. På denne baggrund kunne der heller ikke generelt forventes nogen betydende effekt af pesticidbehandlingerne på



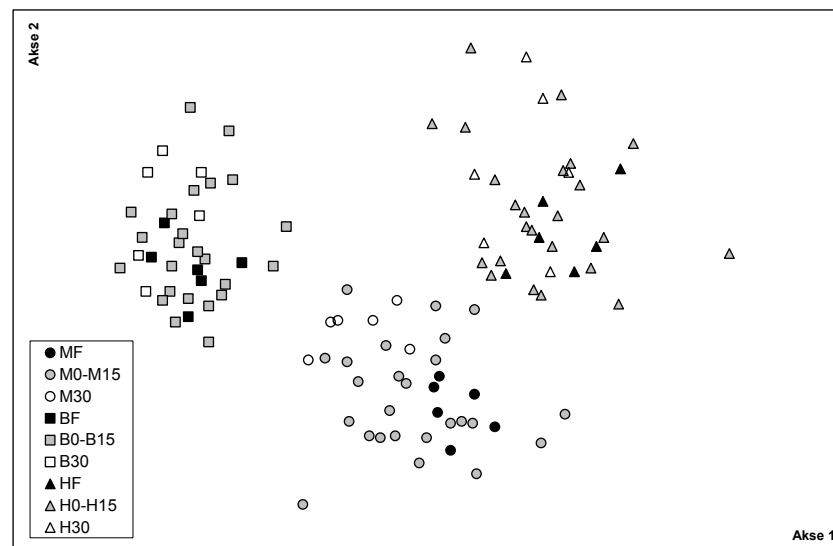
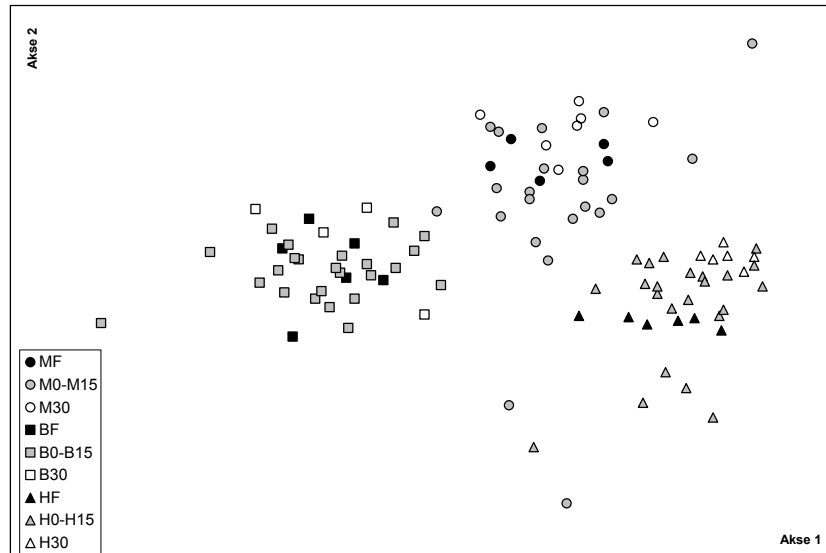
Figur. 3.1.1. Udviklingen i faunasammensætningen illustreret ved såkaldt MultiDimensional Scaling (MDS) i bladpakker fra Bjergskov Bæk, efteråret 2006, hhv. før (F) og efter eksponering af bladpakkerne med pyrethroidet lambda-cyhalothrin: K – kontrolbladpakker der ikke blev eksponeret; L – bladpakker eksponeret for 0,5 µg l<sup>-1</sup> pyrethroid; H – bladpakker eksponeret for 5,0 µg l<sup>-1</sup> pyrethroid. Tallene (0, 1, 7, 15 og 30) angiver prøver indsamlet hhv. umiddelbart efter eksponering (0) og 1, 7, 15 og 30 dage efter eksponering. Desuden er replikate prøver (dvs. med samme behandling og indsamlingstidspunkt) kodet med a, b, c, d, e og f. Lighedene (beregnet som Bray-Curtis similarity) mellem alle parvise kombinationer af prøver er "ordineret" i et 2-dimensionelt rum ved den multidimensionelle skalering. Prøver, som ligger tæt ved hinanden, ligner hinanden meget mht. faunasammensætning; fjernt liggende prøver er modsat meget forskellige.

Tabel 3.1.9. Tre vandløb: Test for forskelle i hyppighed af dominerende taxa på dag 1 efter eksponering mellem substrater, som blev eksponeret for hhv. ingen eller høj pyrethroid-koncentration. Der blev testet for signifikante forskelle (P<0,05) ved hjælp af Mann-Whitney U-test. Signifikante forskelle: +; ikke signifikante forskelle: NS; taxa forekommer ikke: -.

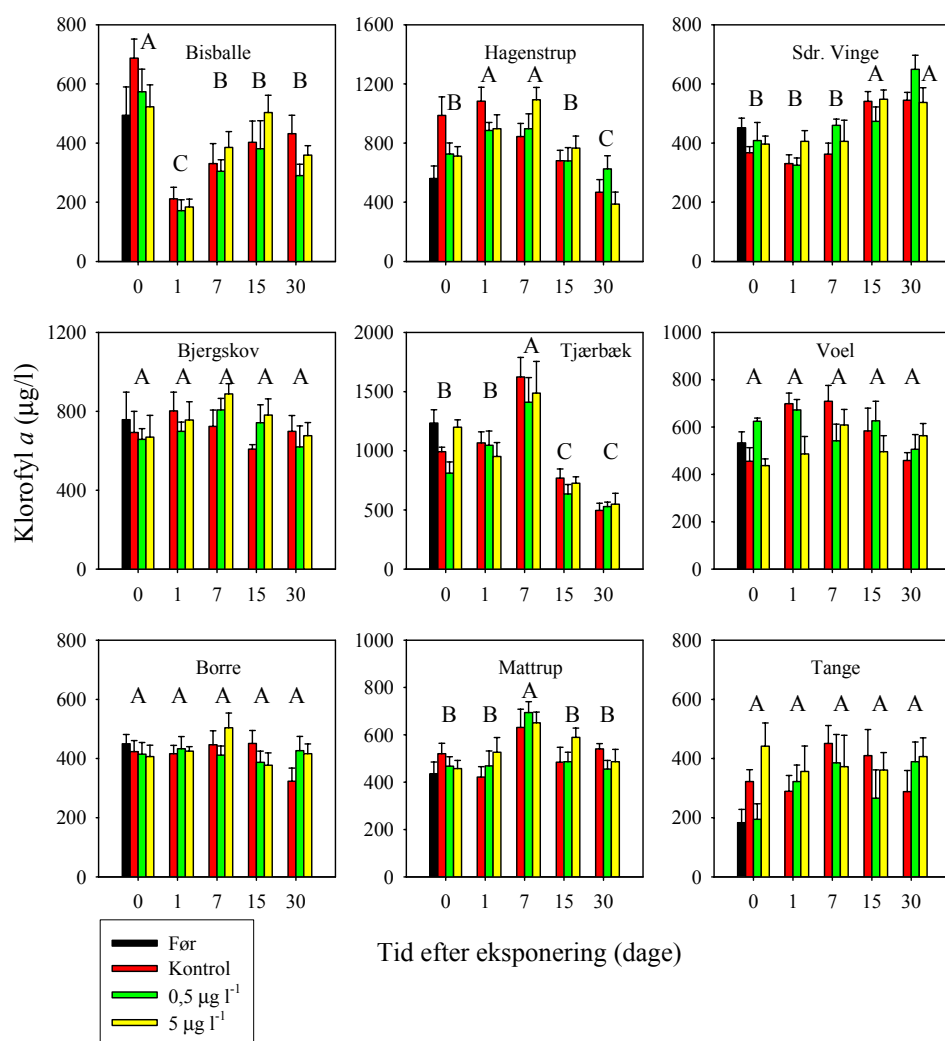
|                     |            | <i>Gamma-rus pulex</i> | <i>Baetis rhodani</i> | <i>Brachyptera risi</i> | <i>Leuctra spp.</i> | Simuliidae | <i>Dicranota spp.</i> | Orthocladiinae |
|---------------------|------------|------------------------|-----------------------|-------------------------|---------------------|------------|-----------------------|----------------|
| Hagenstrup Møllebæk | Gruskopper | +                      | NS                    | -                       | -                   | +          | NS                    | +              |
|                     | Bladpakker | NS                     | NS                    | -                       | NS                  | NS         | NS                    | +              |
| Bjergskov Bæk       | Gruskopper | +                      | NS                    | NS                      | NS                  | NS         | +                     | NS             |
|                     | Bladpakker | NS                     | NS                    | +                       | NS                  | NS         | NS                    | NS             |
| Matstrup Å          | Gruskopper | NS                     | NS                    | -                       | NS                  | NS         | NS                    | NS             |
|                     | Bladpakker | +                      | NS                    | -                       | NS                  | NS         | NS                    | +              |

stofomsætningen (målt som hhv. klorofyl-a biomasse og bladvægttab) hos de fødefunktionelle grupper.

Smådyrsfaunaen i såvel ubehandlede som pyrethroid-behandlede substrater udviklede sig mere eller mindre markant gennem de ca. 30 dage efter eksponeringen. Generelt kom faunasammensætningen dog ikke til at ligne den før eksponeringen ( $R > 0,5$ ,  $P < 0,05$ ); kun hvad angår bladpakkerne i Hagenstrup Møllebæk var faunasammensætningen på dag 30 ikke signifikant forskellig fra den i de tilsvarende før-prøver ( $P > 0,5$ ). Udviklingen i faunasammensætningen for de tre vandløb er vist grafisk (MDS-ordination af Bray-Curtis similariteter) for de ubehandlede substrater (Figur 3.1.2). Der var



Figur 3.1.2. Udvikling i faunasammensætningen i kunstige substrater (ØVERST: gruskopper; NEDERST: bladpakker) i 3 vandløb hhv. før og 0-30 dage efter kontrolbehandlingen (se teksten) i forsøgsrender gennem 90 min. Hvert punkt repræsenterer én substratprøve. M: Mattstrup Å, B: Bjergskov Bæk, H: Hagenstrup Møllebæk. F: Før eksponering; 0-15: = til 15 dage efter eksponering; 30: 30 dage efter eksponering. Lighederne (beregnet som Bray-Curtis similarity) mellem alle parvise kombinationer af prøverne er "ordineret" i et 2-dimensionelt rum ved den multidimensionelle skalering (MDS). Prøver som ligger tæt ved hinanden ligner hinanden meget mht. faunasammensætning; fjernt liggende prøver er modsat meget forskellige.



Figur 3.1.3. Klorofyl-a koncentrationer i gruskopper udlagt i vandløb 28 dage før eksponeringsdagen (dag 0), hvor en 90 min eksponering for 0, 0,5 eller 5 µg lambda-cyhalothrin l<sup>-1</sup> blev foretaget i transportable strømrrender, inden gruskopperne blev lagt tilbage i åerne. Gruskopper blev indsamlet umiddelbart inden eksponeringen samt 1, 7, 15 og 30 dage efter eksponeringen, og klorofylkoncentrationen blev registreret. Ingen effekt af eksponering blev observeret. Klorofyl-a koncentrationerne på indsamlingsdage med forskellige bogstaver er signifikant forskellige. (Gennemsnit±SEM, n=6).

tilsyneladende ingen væsentlig forskel mellem de tre vandløb med hensyn til den måde og hastighed, hvorpå faunaen udviklede sig efter eksponeringen. Klorofyl-a biomasserne i de udlagte gruskopper i de 9 undersøgte vandløb varierede mellem ca. 200 og 1600 µg l<sup>-1</sup> (Figur 3.1.3). De højeste værdier blev fundet i Tjærbæk, men generelt var niveauet i flertallet af vandløb omkring 400-600 µg l<sup>-1</sup>.

I de fleste tilfælde var der ingen tydelig udvikling i algebiomasserne over tid; i enkelte vandløb hhv. steg eller faldt biomassen over tid. Samlet set var der imidlertid på intet tidspunkt signifikant forskel i biomassen på ubehandlede og pyrethroidbehandlede substrater.

Det var kun muligt at analysere bladvægttab fra 6 af de 9 vandløb, idet data fra de resterende måtte kasseres pga. tekniske fejl og mangler. I de 6 vandløb tabte de udlagte blade 25-40% af deres oprindelige vægt i løbet af forsøgsperioden. Tabet var tilsyneladende nogenlunde jævnt fordelt gennem perioden efter eksponeringen i forsøgsrenderne. Der var en signifikant tidslig udvikling, men ingen overordnet effekt af eksponering med lambda-cyhalothrin eller interaktion mellem eksponering og tid, hverken ved 0,5 eller 5,0  $\mu\text{g l}^{-1}$  (Figur 3.1.4).

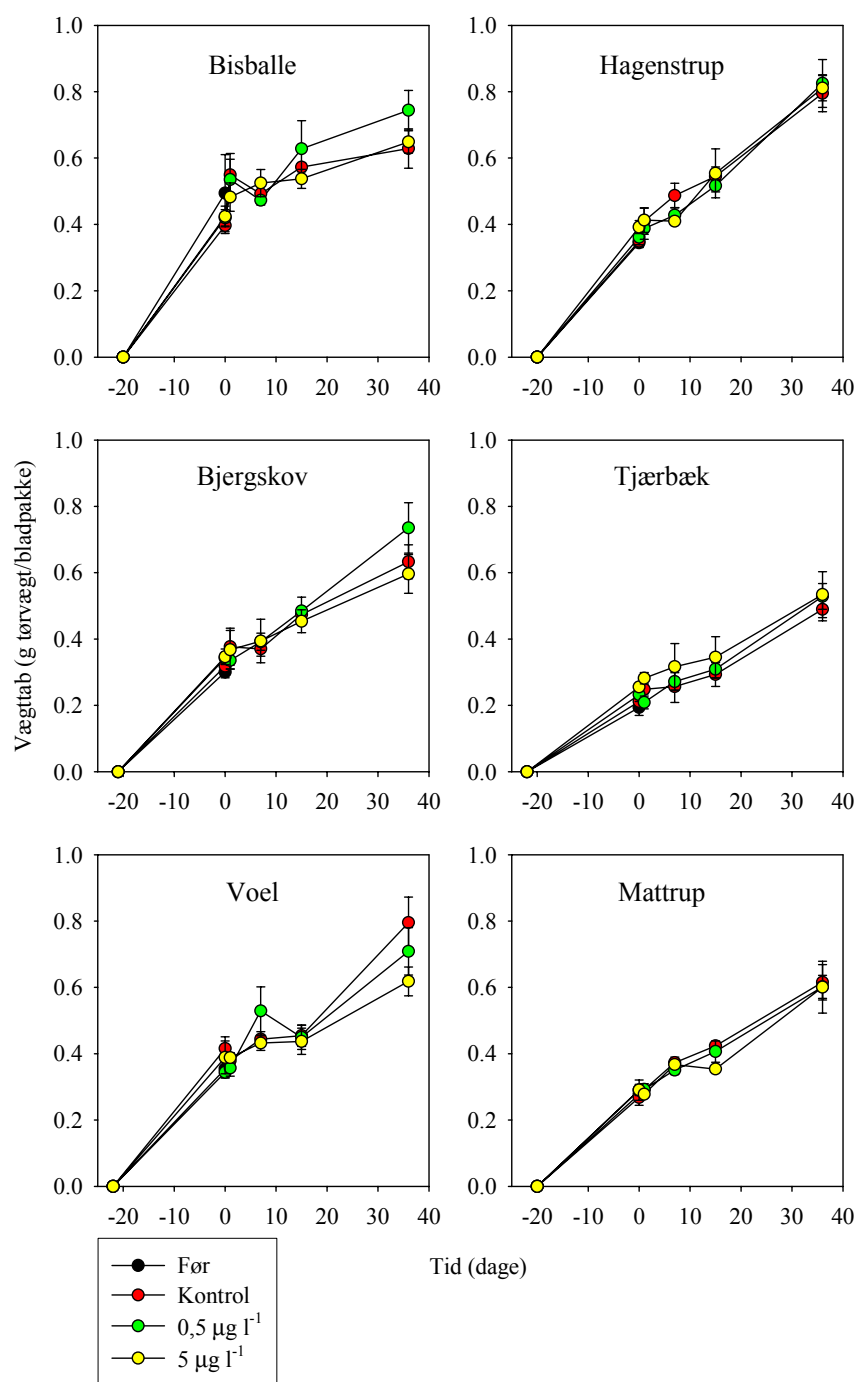


Fig. 3.1.4. Vægttab fra pakker af bøgeblade udlagt i vandløb 20-22 dage før eksponeringsdagen (dag 0), hvor en 90 min eksponering for 0, 0,5 eller 5  $\mu\text{g lambda-cyhalothrin l}^{-1}$  blev foretaget i transportable strømrrender, inden bladpakkerne blev lagt tilbage i åerne. Bladpakker blev indsamlet umiddelbart inden eksponeringen samt 1, 7, 15 og 36 dage efter eksponeringen, og vægttabet blev registreret. (Gennemsnit  $\pm$  SEM, n=6).

Derudover viste en sammenligning af de lineære regressioner for vægttabet i de tre grupper i perioden fra dag 0 til dag 36, at de havde såvel samme hældning (=omsætningsrate) som skæringspunkt (Tabel 3.1.10).

Tabel 3.1.10. Lineære regressioner for vægttabet fra udlagte bladpakker i perioden fra dag 0 til dag 36 i 6 midtjyske vandløb. (Estimat $\pm$ SE)

| Vandløb    | Omsætningsrate (=hældning)<br>(g bladpakke <sup>-1</sup> dag <sup>-1</sup> ) | Skæringspunkt (g) |
|------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| Bisballe   | 0,006 $\pm$ 0,001                                                            | 0,466 $\pm$ 0,016 |
| Hagenstrup | 0,012 $\pm$ 0,001                                                            | 0,370 $\pm$ 0,013 |
| Bjergskov  | 0,009 $\pm$ 0,001                                                            | 0,388 $\pm$ 0,015 |
| Tjærbæk    | 0,008 $\pm$ 0,001                                                            | 0,228 $\pm$ 0,013 |
| Voel       | 0,009 $\pm$ 0,001                                                            | 0,372 $\pm$ 0,016 |
| Mattrup    | 0,009 $\pm$ 0,001                                                            | 0,282 $\pm$ 0,010 |

### Stavis Å: kolonisering af udlagte ubehandlede og pyrethroidbehandlede bladpakker

Vandføringen (og vandstanden) i Stavis Å var høj, da bladpakkerne blev udlagt, og steg derefter kraftigt igennem de efterfølgende 7-8 dage. Herefter faldt vandføringen jævnt til et "normalt" vinterniveau frem til dag 30, hvorefter den igen steg i forbindelse med 2 nedbørshændelser frem til dag 60. Stigningerne i vandføring var dog ikke så kraftige som omkring dag 7-8.

Vandtemperaturen igennem forsøgsperioden varierede mellem 0,9 og 6,3 °C med en middelværdi på 4,6 °C. I 75% af tiden var vandtemperaturen over 3,7 °C og de laveste værdier forekom omkring dag 30.

Der blev i alt fundet 51 forskellige taxa af smådyr i de udlagte bladpakker (Bilag 3B). Antallet af taxa i den enkelte bladpakke varierede mellem 5 og 22. Samlet set udgjorde 5 taxa hele 88,3% af samtlige individer; den helt dominerende art var *G. pulex*, der alene udgjorde 46,2%. Samlet set udgjorde taxa, der lever som iturivere, hele 45% af det samlede antal individer; næsten samtlige af disse var dog *G. pulex*. Dominerende var også detritusædere, som udgjorde mindst 28% af samtlige individer (afhængigt af hvordan visse taxa kategoriseres til fødefunktionel gruppe). Blandt disse udgjorde tre *Hydropsyche*-arter (netspindende vårfluer) en væsentlig andel (12,5%).

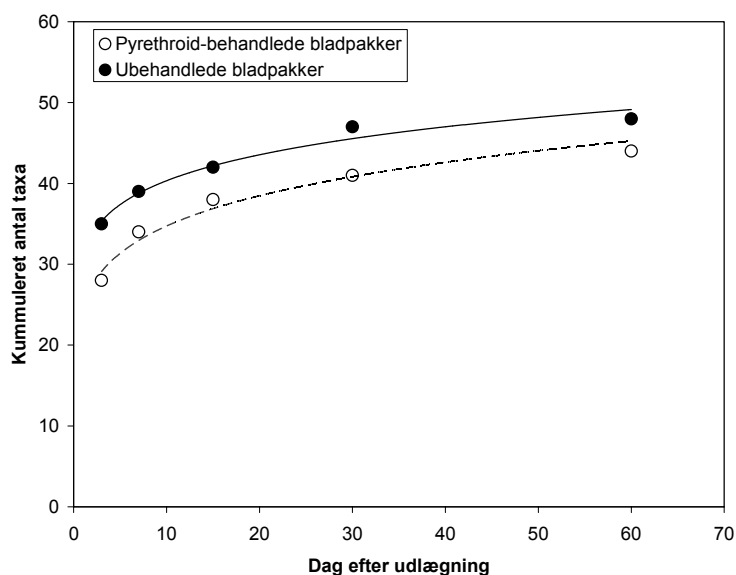
Individantallet varierede mellem 20 og 475 bladpakke<sup>-1</sup> (median- og middelværdi hhv. 125 og 139 individer bladpakke<sup>-1</sup>); heraf udgjorde alene *G. pulex* op til 255 individer bladpakke<sup>-1</sup> og som median- og middelværdi hhv. 45 og 64 individer bladpakke<sup>-1</sup>.

Koloniseringen af bladpakkerne foregik meget hurtigt (Figur 3.1.5). Allerede dag 3 blev ca. 68 og 73% af det samlede antal taxa fundet i hhv. de behandlede og ubehandlede bladpakker. Omkring halvdelen af de hurtigst koloniserende taxa bevæger sig typisk ved "glidning", "kravlen", men kan optræde i drift, mens de øvrige typisk svømmer og optræder hyppigt i drift.

Gennem koloniseringsperioden på 60 dage var der ikke signifikant forskel på antallet af taxa eller antallet af EPT taxa i hhv. ubehandlede og

pyrethroidbehandlede bladpakker (Mann-Whitney U-test,  $P > 0,05$ ). Derimod forøgedes antallet af taxa og EPT taxa igennem perioden, primært mellem dag 15 og 30 ( $P < 0,001$ ).

Der var på dag 3, 7 og 15 ingen signifikant forskel mellem antallet af individer (eller antallet af individer af EPT taxa) i hhv. ubehandlede og pyrethroidbehandlede bladpakker (Mann-Whitney U-test,  $P > 0,05$ ), men på dag 30 og 60 var der signifikant færre individer i de ubehandlede end i de behandlede bladpakker ( $P < 0,05$ ). For både de ubehandlede og pyrethroidbehandlede bladpakker øgedes antallet af individer (og antallet af EPT individer) gennem tiden, primært fra dag 15 til 30 (Mann-Whitney U-test,  $P < 0,001$ ).



Figur 3.1.5. Kumulerede antal taxa af smådyr fundet i udlagte hhv. pyrethroidbehandlede og ubehandlede bladpakker i Stavis Å. Antallene er de samlede for 10 replikate bladpakker for hver dag efter udlægning.

Der var en ikke ubetydelig udskiftning af taxa gennem koloniseringsperioden (Tabel 3.1.11). Denne udskiftning var samlet set væsentlig større i de pyrethroideksponerede bladpakker end i de ubehandlede bladpakker, men aftog gennem perioden. Derimod var udskiftningen af taxa i de ubehandlede bladpakker stort set uændret over tiden.

Tabel 3.1.11. Udskiftningen af taxa i hhv. pyrethroidbehandlede og ubehandlede bladpakker (taxon turnover, T) mellem de enkelte prøvetagningstidspunkter efter udlægningen af bladpakkerne. T blev beregnet efter Brewin et al. (2000) som  $(G+L)/(S_1+S_2) \times 100$ , hvor G og L er antallet af taxa som hhv. kommer til eller forsvinder mellem to indsamlingstidspunkter, og  $S_1$  og  $S_2$  er antallet af taxa på indsamlingstidspunkterne. Beregningerne blev foretaget på puljede prøver fra de enkelte prøvetagningstidspunkter.

| % taxon udskiftning (T) i: | Ubehandlede bladpakker | Pyrethroid eksponerede bladpakker |
|----------------------------|------------------------|-----------------------------------|
| Dag 3-7                    | 13.8                   | 39.1                              |
| Dag 7-15                   | 13.8                   | 31.9                              |
| Dag 15-30                  | 16.4                   | 19.4                              |
| Dag 30-60                  | 12.3                   | 20.0                              |

Biodiversiteten (Tabel 3.1.12) målt som hhv. Simpsons Dominans Indeks og Evenness ( $E_{\text{Pilot}}$ ) var signifikant større i de ubehandlede bladpakker sammenlignet med de tilsvarende pyrethroid-behandlede på dag 30 og 60, og desuden øgedes biodiversiteten i de eksponerede bladpakker fra dag 30 til 60 (Mann-Whitney U-test,  $P < 0,05$ ).

Tabel 3.1.12. Biodiversitetsmål for smådyrsfaunaen i udlagte hhv. pyrethroidbehandlede og ubehandlede bladpakker i Stavis Å. Angivet middelværdier (for  $N=10$ ). For værdier i "kursiv" er der statistisk signifikant forskel mellem pyrethroidbehandlede og ubehandlede bladpakker (Mann-Whitney U-test,  $P < 0,05$ ).

| Dag | Simpsons Dominans Indeks |                        | Evenness Indeks (Pilot) |                        |
|-----|--------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|
|     | Eksponerede bladpakker   | Ubehandlede bladpakker | Eksponerede bladpakker  | Ubehandlede bladpakker |
| 3   | 3,92                     | 3,43                   | 0,46                    | 0,40                   |
| 7   | 4,39                     | 4,92                   | 0,45                    | 0,47                   |
| 15  | 4,6                      | 4,56                   | 0,45                    | 0,47                   |
| 30  | <i>3,61</i>              | <i>2,70</i>            | <i>0,43</i>             | <i>0,36</i>            |
| 60  | <i>4,86</i>              | <i>3,59</i>            | <i>0,49</i>             | <i>0,44</i>            |

Ændringerne i taxon sammensætning efter udlægningen blev undersøgt ved MDS ordinerings af ligheder (Bray-Curtis similariteter) mellem de enkelte prøver ved anvendelse af MultiDimensional Scaling (Figur 3.1.6). Ordinationen på de to bedst forklarende akser var absolut tilfredsstillende (stress faktor: 0,1), dvs. gav en troværdig beskrivelse. En statistisk analyse viste, at der – for såvel de pyrethroidbehandlede (E) som ubehandlede bladpakker (K) - var en markant udvikling i sammensætningen af taxa fra dag

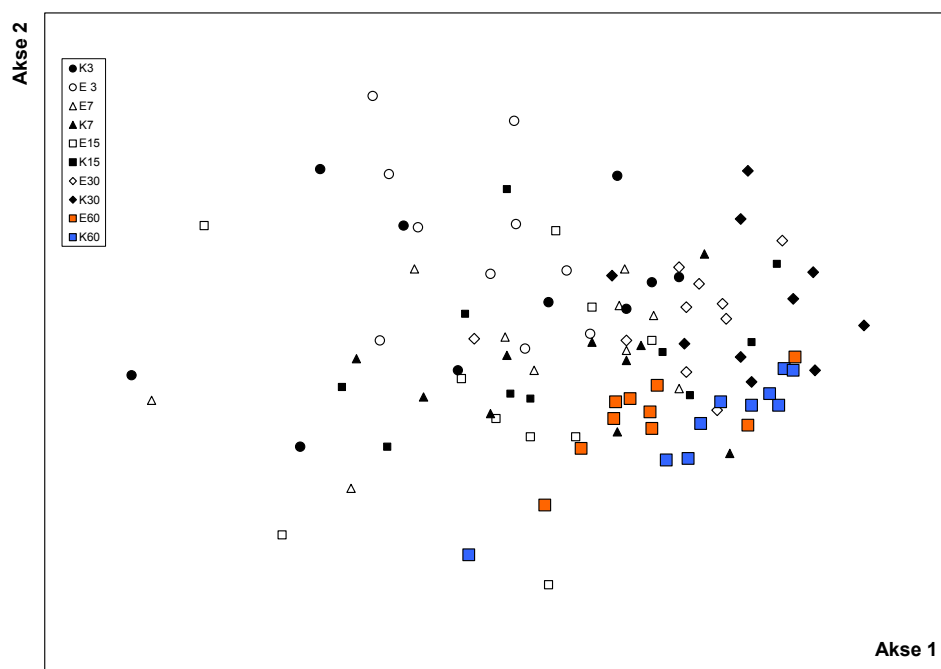


Fig. 3.1.6. Multidimensionel skalering af ligheder mellem smådyrsfaunaens sammensætning i hhv. pyrethroid-behandlede (E) og ubehandlede (K) bladpakker udlagt i Stavis Å. Bladpakkerne blev undersøgt efter hhv. 3, 7, 15, 30 og 60 dage efter udlægningen (fx er kontrolprøver udtaget dag 30 således kodet K30).

3 til 60 ( $R_E=0,46$ ;  $R_K=0,58$ ;  $P=0,001$ ), hvilket også fremgår af figuren, hvor prøverne som repræsenterer dag 30 og 60 ligger relativt pænt samlet til højre; prøverne fra disse dage er desuden ret klart indbyrdes adskilt. Derimod var variationen i taxon sammensætning i prøverne fra hhv. dag 3, 7 og 15 meget stor (dvs. at de var meget forskellige). På dagene 3, 7 og 15 var der således ingen forskel i taxon sammensætning mellem de behandlede og ubehandlede prøver ( $P>0,4$ ). Derimod var de behandlede og ubehandlede prøver knapt adskilte ( $R=0,24$ ;  $P=0,003$ ) på dag 30 og relativt vel adskilte på dag 60 ( $R=0,30$ ;  $P=0,001$ ).

Bladpakkernes helt dominerende art, *G. pulex*, koloniserede hurtigt (Figur 3.1.7), men forøgede først sin hyppighed signifikant efter dag 15 i såvel de ubehandlede som behandlede bladpakker ( $P<0,05$ ). I de behandlede bladpakker var hyppigheden desuden signifikant mindre end i de ubehandlede bladpakker på dag 30 og dag 60 ( $P<0,05$ ).

For de to næst-hyppigste taxa i bladpakkerne, *Hydropsyche* spp. (der omfattede arterne *H. angustipennis*, *H. siltalai* og *H. saxonica*) og Chironomini (der omfattede flere slægter/arter af dansemyg) var der på intet tidspunkt under hele koloniseringsforløbet forskel i hyppigheden mellem ubehandlede og behandlede bladpakker (data ikke vist). Til gengæld øgedes hyppigheden af begge taxa gennem hele koloniseringsperioden.

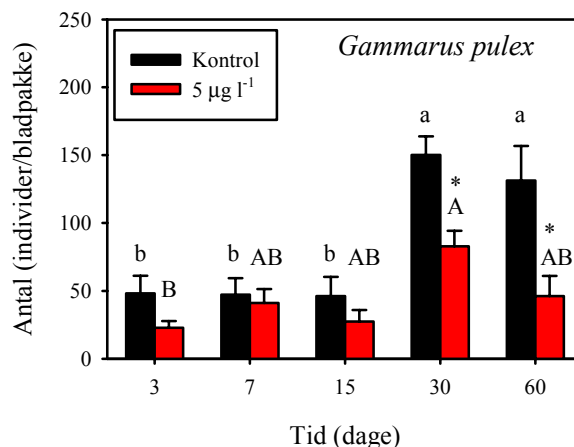


Fig. 3.1.7. Antallet af *Gammarus pulex* i bladpakkerne fra Stavis Å. Inden udlægning var de eksponerede blade blevet udsat for en 90 min eksponering for 5 µg lambda-cyhalothrin l<sup>-1</sup>. Bogstaver (små for kontrolgruppen og store for den eksponerede gruppe) angiver forskellene mellem de forskellige prøvetagningsdage inden for samme gruppe, således at tidspunkter, der ingen bogstaver har tilfælles, er signifikant forskellige. En asterisk angiver en signifikant forskel mellem kontrolgruppen og den eksponerede gruppe på den givne dag. (Gennemsnit±SEM, n=10).

Bladene i de udlagte bladpakker blev nedbrudt igennem den 60 dages forsøgsperiode (Figur 3.1.8). ANOVA-analysen viste, at der var en signifikant tidlig udvikling i vægttabet i hhv. ubehandlede som behandlede bladpakker, og at vægttabet for de ubehandlede bladpakker generelt lå højere end det for de behandlede bladpakker. I alt tabte behandlede og ubehandlede bladpakker i gennemsnit hhv. 10% og 15% af deres vægt. Der blev dog ikke fundet nogen interaktion mellem eksponeringsgrad og tid. ANCOVA-analysen viste endvidere, at de to grupper havde samme omsætningsrate (=hældning) i perioden fra dag 3 til dag 60 (Tabel 3.1.13).

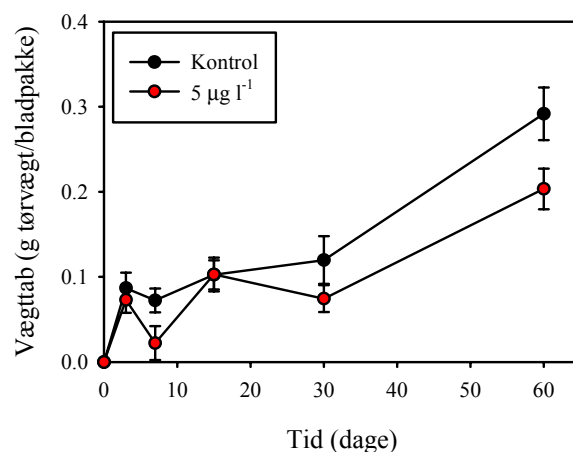


Fig. 3.1.8. Vægttab fra pakker af såvel ueksponerede som eksponerede bøgeblade udlagt i Stavis Å (dag 0). Inden udlægning var de eksponerede blade blevet udsat for en 90 min eksponering for 5 µg lambda-cyhalothrin l<sup>-1</sup>. Bladpakker blev indsamlet efter 3, 7, 15, 30 og 60 dage, og vægttabet blev registreret. (Gennemsnit±SEM, n=10).

Tabel 3.1.13. Lineære regressioner for vægttabet fra bladpakker i perioden fra dag 3 til dag 60. Kontrolgruppen og den eksponerede gruppe havde samme omsætningsrate, mens skæringerne var signifikant forskellige. (Estimat±SE).

| Gruppe                             | Fælles omsætningsrate (=hældning)<br>(g bladpakke <sup>-1</sup> dag <sup>-1</sup> ) | Skæringspunkt (g)           |
|------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| Kontrol                            | 0,0031±0,0003                                                                       | 0,0630± 0,0127 <sup>A</sup> |
| Eksponeret (5 µg l <sup>-1</sup> ) |                                                                                     | 0,0235± 0,0141 <sup>B</sup> |

### 3.1.2 Rekolonisering af og stofomsætning i modelvandløb efter pyrethroidpåvirkning

Vandføringen igennem de seks render tilsammen ændrede sig ikke væsentlig gennem forsøgsperioden. Som helhed varierede vandføringen i renderne mellem 2,4 og 5,9 l s<sup>-1</sup>. Middelvandføringen for de seks render varierede mellem 4,1 og 5,0 l s<sup>-1</sup>, hvor to af de pesticideksponerede render og én af kontrolrenderne havde signifikant mindre vandføring end de øvrige. I forhold til gennemsnittet af vandføringen for de seks render afveg middelvandføringen i de enkelte render dog kun fra -9 til + 11%.

Der forekom to kortvarige pumpestop under forsøget: 4. oktober (ca. 1 døgn varighed) og 16. november (3 timers varighed). Ingen af disse uregelmæssigheder, hvor vandføringen naturligvis faldt til nul, førte dog til udtørring af renderne. Pumpestoppet 16. november blev først fuldt udbedret 21. november, idet der i den mellem liggende periode blev anvendt en pumpe med mindre kapacitet. Vandføringen var således kun 1/3 af "normalen" i denne periode.

På trods af den etablerede beskygning af strømrrenderne forekom der en betydelig opvækst af trådalger, som voksede på en del af de større sten, men som især stedvis dannede tætte bevoksninger i høl-sektionerne. Opvæksten var især stor i den første tid efter, at der blev sat vand på renderne. En del af disse alger blev fjernet manuelt, og det var under den ”kritiske” del af forsøget (fra umiddelbart før til 30 dage efter behandlingen af tre af renderne med pyrethroid) muligt at undgå væsentlige gener i forbindelse med udtagningen af bundprøver.

Vandtemperaturen i Lemming Å og rende 3 var i perioden 5. oktober – 29. november, hvor forsøgene i renderne blev udført, hhv. 3,5-10,4 °C og 1,6-10,8 °C. Afvigelsen mellem Lemming Å og rende 4 (der repræsenterede samtlige 6 render) var i gennemsnit < 0,1 °C. De største afvigelser (max. 3,5 °C lavere i rende 4 end i Lemming Å) forekom i forbindelse med driftsforstyrrelser, hvor aksialpumpen var kortvarigt ude af drift (hhv. 11. oktober og 16. november).

På sten/grusbunden domineredes smådyrsfaunaen af (efter betydning) Tanytarsini (gruppe af dansemyg), Tubificidae (børsteorme), døgnfluen *B. rhodani* og *G. pulex*, der tilsammen udgjorde 91% af det samlede individantal for alle render og prøvetagninger tilsammen (Tabel 3.1.14). I alt blev der fundet 41 taxa, heraf 13 EPT taxa (bilag 3C). De samlede tætheder af smådyr varierede mellem 350 og 34 800 individer m<sup>-2</sup> med en median- og middelværdi på hhv. 6300 og 7100 individer m<sup>-2</sup>.

Tabel 3.1.14. Hyppighed af de dominerende taxa af smådyr i Lemming Bæk og Lemming strømrrenderne (angivet som middelværdier). Prøverne fra Lemming Bæk er udtaget ca. 2 km nedstrøms for det sted, hvorfra ”podematerialet” til Lemming renderne blev udtaget. Tætheden af individer i sparkeprøverne er med tilnærmelse omregnet pr. m<sup>2</sup> (1 sparkeprøve 0,78 m<sup>2</sup>).

| Taxa                  | Lemming Bæk     |                       | Strømrrenderne i Lemming |                       |            |                          |
|-----------------------|-----------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------|------------|--------------------------|
|                       | April 2004-2005 |                       | Surber-prøver            |                       | Bladpakker |                          |
|                       | %               | Antal m <sup>-2</sup> | %                        | Antal m <sup>-2</sup> | %          | Antal/<br>blad-<br>pakke |
| Tubificidae           | 1,1             | 18                    | 22,6                     | 1608                  | 26,3       | 53                       |
| <i>Gammarus pulex</i> | 53,9            | 845                   | 13,1                     | 930                   | 7,1        | 15                       |
| <i>Baetis rhodani</i> | 22,0            | 355                   | 21,3                     | 1511                  | 1,6        | 3                        |
| <i>Elmis aenea</i>    | 1,6             | 27                    | 0,3                      | 21                    | 0,6        | 1                        |
| Limnephilidae         | 2,3             | 36                    | 0,04                     | 3                     | 0,1        | 0,2                      |
| Chironomidae          | 4,8             | 79                    | 39,3                     | 2793                  | 55,2       | 112                      |
| Simuliidae            | 6,5             | 104                   | 0,1                      | 5                     | 0,01       | 0,01                     |

I bladpakkerne domineredes faunaen tilsvarende af (efter betydning) Tanytarsini, Tubificidae, Orthocladiinae, *G. pulex*, *Prodiamesa olivacea* (dansemyg) og Chironomini (dansemyg), der tilsammen udgjorde 87% af det samlede individantal for alle render og prøvetagninger tilsammen (Tabel 3.1.14). I alt forekom der 53 forskellige taxa, heraf 17 EPT taxa.

Den kvalitative faunasammensætning i strømrrenderne havde relativt stor lighed med den i Lemming Bæk, hvor der i alt blev fundet mindst 35 taxa. I alt 60% af taxa var således fælles for strømrrenderne og vandløbet. Derimod var der betydelige kvantitative forskelle (Tabel 3.1.14). Således var

Tubificidae og Chironomidae langt mere talrige, *B. rhodani* noget mere talrig, og Simuliidae væsentlig mindre talrige i strømrrenderne (alene bedømt ud fra Surber-prøverne) end i vandløbet. Til gengæld optrådte *G. pulex*, *Elmis aenea* og Limnephilidae med omtrent samme hyppighed i vandløbet og strømrrenderne.

Der blev i alt fundet 17 forskellige taxa i indløbet til renderne (Tabel 3.1.15). Driften målt som totalt antal individer pr. tidsenhed var signifikant større om natten end om dagen (Mann-Whitney U-test,  $P=0,01$ ), ligesom der forekom flest taxa i driften om natten.

Tabel 3.1.15. Samlet tilførsel (drift) af smådyr via pumpevandet til 3 (nr. 3, 4 og 6) af de i alt 6 strømrrender. Angivet gennemsnitlig antal individer/time.

| Taxa                           | 29. okt. | 14.nov (dag) | 14-15.nov (nat) |
|--------------------------------|----------|--------------|-----------------|
| <i>Eiseniella tetraedra</i>    |          |              | 0,2             |
| Hydracarina                    | 5,0      | 0,1          |                 |
| <i>Gammarus pulex</i>          | 5,7      | 5,4          | 50,0            |
| <i>Baetis rhodani</i>          | 13,0     | 18,1         | 25,3            |
| <i>Nemoura avicularis</i>      |          |              | 0,1             |
| <i>Leuctra hippopus</i>        | 0,3      | 0,1          | 0,5             |
| Dytiscidae, indet.             |          |              | 0,1             |
| <i>Elmis aenea</i>             |          |              | 0,2             |
| <i>Rhyacophila fasciata</i>    | 0,3      | 0,0          | 0,1             |
| <i>Lype reducta</i>            |          | 0,1          |                 |
| <i>Potamophylax latipennis</i> |          |              | 0,1             |
| Limnephilidae, indet.          |          | 0,5          | 0,3             |
| Simuliidae                     | 0,3      |              |                 |
| Tanypodinae                    | 0,3      |              |                 |
| Orthocladiinae                 | 4,7      | 0,7          | 0,3             |
| Tanytarsini                    | 0,3      |              | 0,1             |
| <i>Radix balthica</i>          |          | 0,1          | 0,1             |
| Total antal individer          | 30,0     | 24,9         | 77,3            |
| Total antal taxa               | 9        | 8            | 13              |

Under og efter eksponeringen med lambda-cyhalothrin af de nedre halvdele af 3 af renderne målt der langt større drift ad af disse render end ud af kontrolrenderne (Mann-Whitney U-test,  $P=0,025$ ). Således var denne såkaldte "katastrofedrift" i de behandlede render i gennemsnit mere end 100 gange større end baggrundsdriften i kontrolrenderne (Tabel 3.1.16). Katastrofedriften aftog signifikant i perioden (2 timer) umiddelbart efter behandlingen ( $P=0,025$ ), men var da stadig væsentlig (7 gange) større end baggrundsdriften ( $P=0,025$ ), udtrykt ved driften i kontrolrenderne, som ikke var forskellig under og efter eksponeringen. Stort set samtlige tilstedeværende taxa udviste forhøjet eller stærkt forhøjet katastrofedrift, og antallet af taxa i katastrofedriften (i alt 30 taxa) var langt større end i driften i kontrolrenderne (i alt 9 taxa). Nogle taxa udviste dog markant større respons i katastrofedriften i forhold til deres hyppighed i renderne. Således udgjorde *G. pulex* og *B. rhodani* hhv. 67 og 16% i driften, mens de fx kun udgjorde hhv. 13 og 21% i surberprøverne. Modsat udgjorde dansemyg kun 3% af driften, mens de udgjorde 39% i surberprøverne.

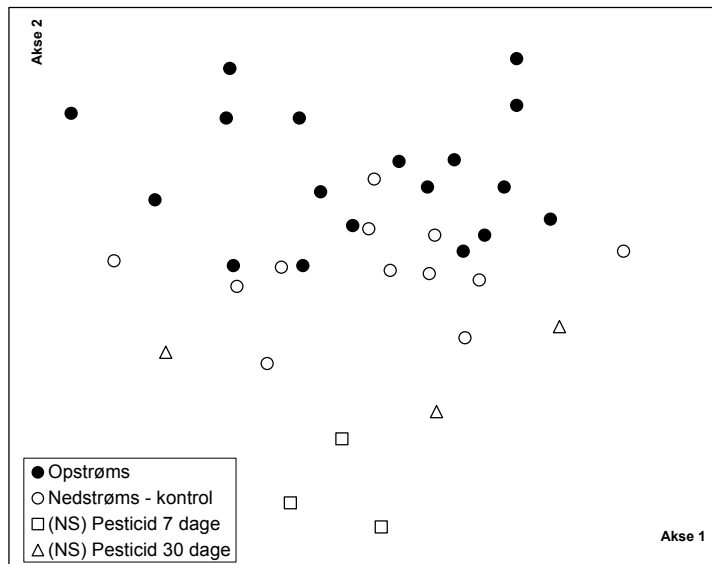
Det kunne skønsmæssigt beregnes, at pyrethroidbehandlingen medførte et tab (via katastrofedrift) af individer af *G. pulex* og *B. rhodani* fra de berørte rendearealer på hhv. 24-100 og 6-11%.

Behandlingen med pyrethroid medførte en markant ændring i den kvantitative sammensætning af taxa i de berørte render. Dette gjaldt både for faunaen på grus og i bladpakkerne. For grusprøverne (Figur 3.1.9) var taxon sammensætningen i de behandlede dele af renderne således 7 dage efter

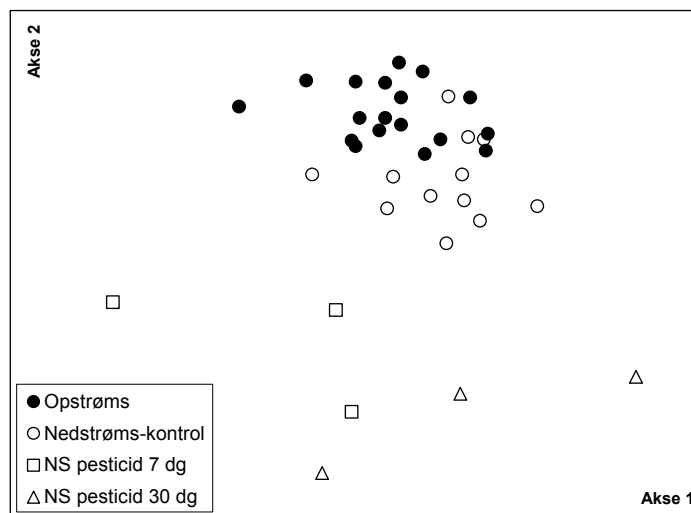
Tabel 3.1.16. Drift ud af de 6 strømrrender under (1½ time) og efter (2 timer) behandling af 3 af renderne med lambda-cyhalothrin (5,0 µg l<sup>-1</sup>). For kontrolrenderne 3, 5 & 6 angivet gennemsnitlig antal.

| Taxa                               | Pyrethroid behandlede render |      |      |                   |     |    | Kontrolrender |        |
|------------------------------------|------------------------------|------|------|-------------------|-----|----|---------------|--------|
|                                    | Under eksponering            |      |      | Efter eksponering |     |    | U.e.          | E.e.   |
|                                    | R1                           | R2   | R4   | R1                | R2  | R4 | R3,5,6        | R3,5,6 |
| <i>Polycelis</i>                   | 1                            |      |      |                   |     |    |               |        |
| <i>Oligochaeta</i>                 |                              |      |      |                   | 1   |    | 0,3           |        |
| <i>Hydracarina</i>                 | 18                           | 115  | 61   | 14                | 22  | 11 | 2             | 2      |
| <i>Gammarus pulex</i>              | 298                          | 1713 | 765  | 22                | 11  | 7  | 4             | 4      |
| <i>Baetis rhodani</i>              | 44                           | 387  | 222  | 5                 | 22  | 4  | 1             | 2      |
| <i>Paraleptophlebia submargin.</i> |                              |      | 1    |                   |     |    |               |        |
| <i>Brachyptera risi</i>            |                              |      | 1    |                   |     |    |               |        |
| <i>Taeniopteryx nebulosa</i>       | 1                            | 2    | 2    |                   |     |    |               |        |
| <i>Nemoura avicularis</i>          | 2                            | 6    | 4    | 2                 | 4   | 2  |               |        |
| <i>Nemoura sp.</i>                 | 2                            | 17   | 4    |                   | 1   |    |               |        |
| <i>Leuctra hippopus</i>            | 12                           | 64   | 15   | 4                 | 14  |    |               |        |
| <i>Pyrrhosoma nymphula</i>         | 2                            | 1    |      | 1                 | 3   |    |               |        |
| <i>Sialis lutaria</i>              |                              |      |      | 2                 | 1   |    |               |        |
| <i>Platambus maculatus</i>         | 9                            | 1    | 3    | 3                 |     |    |               |        |
| <i>Ilybius</i>                     | 7                            | 7    | 2    |                   | 1   |    |               |        |
| <i>Haliphus</i>                    |                              |      |      |                   |     |    |               | 1      |
| <i>Hydraena gracilis</i>           |                              | 2    | 2    |                   |     |    |               |        |
| <i>Elmis aenea</i>                 |                              | 10   |      |                   | 2   | 5  |               |        |
| <i>Rhyacophila fasciata</i>        |                              | 2    | 4    |                   |     |    |               |        |
| <i>Ecclisopteryx dalecarlica</i>   |                              |      |      |                   | 1   |    |               |        |
| <i>Potamophylax latipennis</i>     | 1                            | 1    |      |                   |     |    |               |        |
| Limnephilidae, indet.              |                              |      | 4    |                   |     | 1  |               | 0,3    |
| Simuliidae                         |                              |      |      |                   |     | 1  |               |        |
| <i>Dicranota</i>                   |                              | 3    |      | 1                 | 12  | 3  |               |        |
| Tipulidae                          |                              | 1    |      |                   | 13  |    |               |        |
| Tanypodinae                        | 1                            | 8    | 2    | 9                 | 21  |    |               |        |
| Orthocladinae                      | 5                            | 6    | 10   | 9                 |     | 7  | 0,3           | 1      |
| Tanytarsini                        | 2                            | 7    | 1    | 38                | 2   | 10 | 0,3           | 1      |
| <i>Chironomus</i>                  |                              | 1    |      |                   | 2   |    |               |        |
| Chironomini                        |                              | 2    | 2    |                   |     |    |               |        |
| Chironomidae, pupae                | 1                            | 9    | 3    | 3                 |     | 3  | 3             | 4      |
| <i>Radix balthica</i>              |                              | 1    |      |                   |     |    |               |        |
| Total antal individer              | 405                          | 2366 | 1108 | 113               | 133 | 54 | 11            | 14     |
| Total antal taxa                   | 15                           | 24   | 19   | 13                | 17  | 11 | 5             | 7      |

behandlingen klart forskellig fra sammensætningen af taxa i de tilsvarende ubehandlede kontrolrenders nedstrøms dele (ANOSIM:  $R=0,48$ ,  $P<0,005$ ), og klart forskellig fra samtlige renders opstrøms dele ( $R=0,61$ ,  $P<0,005$ ). Denne forskel var også til stede – om end mindre tydelig – 30 dage efter behandlingen ( $R=0,26_{NS}/0,35_{OS}$ ,  $P<0,005$ ). For bladpakkerne (Fig. 3.1.10) var taxon sammensætningen i de behandlede dele af bladpakkerne renderne 7 dage efter behandlingen klart forskellig (om end med lidt overlapning) fra sammensætningen af taxa i de tilsvarende ubehandlede kontrolrenders nedstrøms dele ( $R=0,25$ ,  $P<0,005$ ), og klart forskellig fra samtlige renders opstrøms dele ( $R=0,58$ ,  $P<0,005$ ). Denne forskel var også til stede – og endda endnu mere tydelig – 30 dage efter behandlingen ( $R=0,39_{NS}/0,73_{OS}$ ,  $P<0,005$ ).



Figur 3.1.9. Multidimensionel skalering af kvantitative ligheder (Bray-Curtis similaritet) mellem smådyrsfaunaens sammensætning på GRUSBUND ved strømrendeforsøgene i Lemming, hvor de nedre halvdele af 3 ud af 6 render blev behandlet med lambda-cyhalothrin i en koncentration på  $5,0 \mu\text{g l}^{-1}$  over 90 min. I afbildningen er prøver (N=5) fra hver samme rende, opstrøms- (OS) og nedstrøms (NS) rendehalvdel, og tidspunkt puljet for overskuelighedens skyld; ANOSIM tests (se teksten) er dog foretaget på samtlige prøver. "Nedstrøms-kontrol" henviser til de ubehandlede kontrolrenders nedre halvdele; (NS) pesticid 7 dage/30 dage henviser til de pesticidbehandlede renders nedre halvdele efter hhv. 7 og 30 dage.



Figur 3.1.10. Multidimensionel skalering af kvantitative ligheder (Bray-Curtis similaritet) mellem smådyrsfaunaens sammensætning i BLADPAKKER ved strømrendeforsøgene i Lemming, hvor de nedre halvdele af 3 ud af 6 render blev behandlet med lambda-cyhalothrin i en koncentration på  $5,0 \mu\text{g l}^{-1}$  over 90 min. I afbildningen er prøver (N=5) fra hver samme rende, opstrøms- (OS) og nedstrøms (NS) rendehalvdel, og tidspunkt puljet for overskuelighedens skyld; ANOSIM tests (se teksten) er dog foretaget på samtlige prøver. "Nedstrøms-kontrol" henviser til de ubehandlede kontrolrenders nedre halvdele; (NS) pesticid 7 dage/30 dage henviser til de pesticidbehandlede renders nedre halvdele efter hhv. 7 og 30 dage.

Generelt var antallet af taxa på sten/grusbund (surber-prøver) noget forskelligt mellem de ubehandlede (gennemsnitligt 9,3 taxa) og de pyrethroid-behandlede render (gennemsnitligt 8,2 taxa) ( $P < 0,05$ ), mens der hverken blev observeret en tidlig udvikling eller en forskel på opstrøms- og nedstrømssektionerne i hverken ubehandlede eller behandlede render (Figur 3.1.11). Derimod blev for det totale individantal fundet en interaktion mellem eksponering med pyrethroid og tid, idet individantallet i de behandlede render var lavere end i kontrolrenderne, men kun på dag 7. Endvidere blev der ikke overraskende observeret en interaktion mellem eksponering med pyrethroid og strømrendesektion ( $P < 0,05$ ), idet individantallet nedstrøms i de behandlede render var lavere end i såvel opstrømssektionerne i de behandlede render som i både de opstrøms og nedstrøms dele af kontrolrenderne. Der var ingen forskelle mellem opstrømssektionerne i de behandlede render og begge sektioner i kontrolrenderne (Figur 3.1.11). For de øvrige udvalgte arter/taxa blev der pga. den store variabilitet indenfor replikate prøver ikke udført statistisk analyse, og for de fleste af disse arter/taxa var der ingen tydelige tendenser. Dog var antallet af *G. pulex* på dag 30 reduceret markant nedstrøms i de behandlede render (Figur 3.1.11).

I bladpakkerne (Figur 3.1.12) var såvel antallet af taxa som det totale antal individer nedstrøms signifikant lavere end opstrøms i de pyrethroid-behandlede render på såvel dag 7 som dag 30, mens der ingen forskelle blev fundet i de ubehandlede kontrolrender. På dag 30 var det totale antal taxa og det totale antal individer i de nedstrøms dele af de behandlede render således henholdsvis 51% og 37% målt i forhold til opstrømssektionerne. For de øvrige udvalgte taxa blev der som følge af den store variabilitet mellem replikate prøver ikke udført statistiske analyser, men der kunne trods dette observeres en række kvalitative ændringer. For visse taxa var tendensen som beskrevet ovenfor, hvilket var tydeligst ved forsøgets afslutning på dag 30, hvor Ostracoda, *G. pulex*, Orthocladinae, Tanytarsini og det totale antal EPT individer var reduceret i de behandlede dele af renderne. Oligochaeta var derimod tilsyneladende upåvirkede (Figur 3.1.12).



Par af *Gammarus pulex* – et af de almindeligste dyr i danske vandløb, i forsøgsrenderne i Lemming, og anvendt i projektets forskellige laboratorieforsøg.

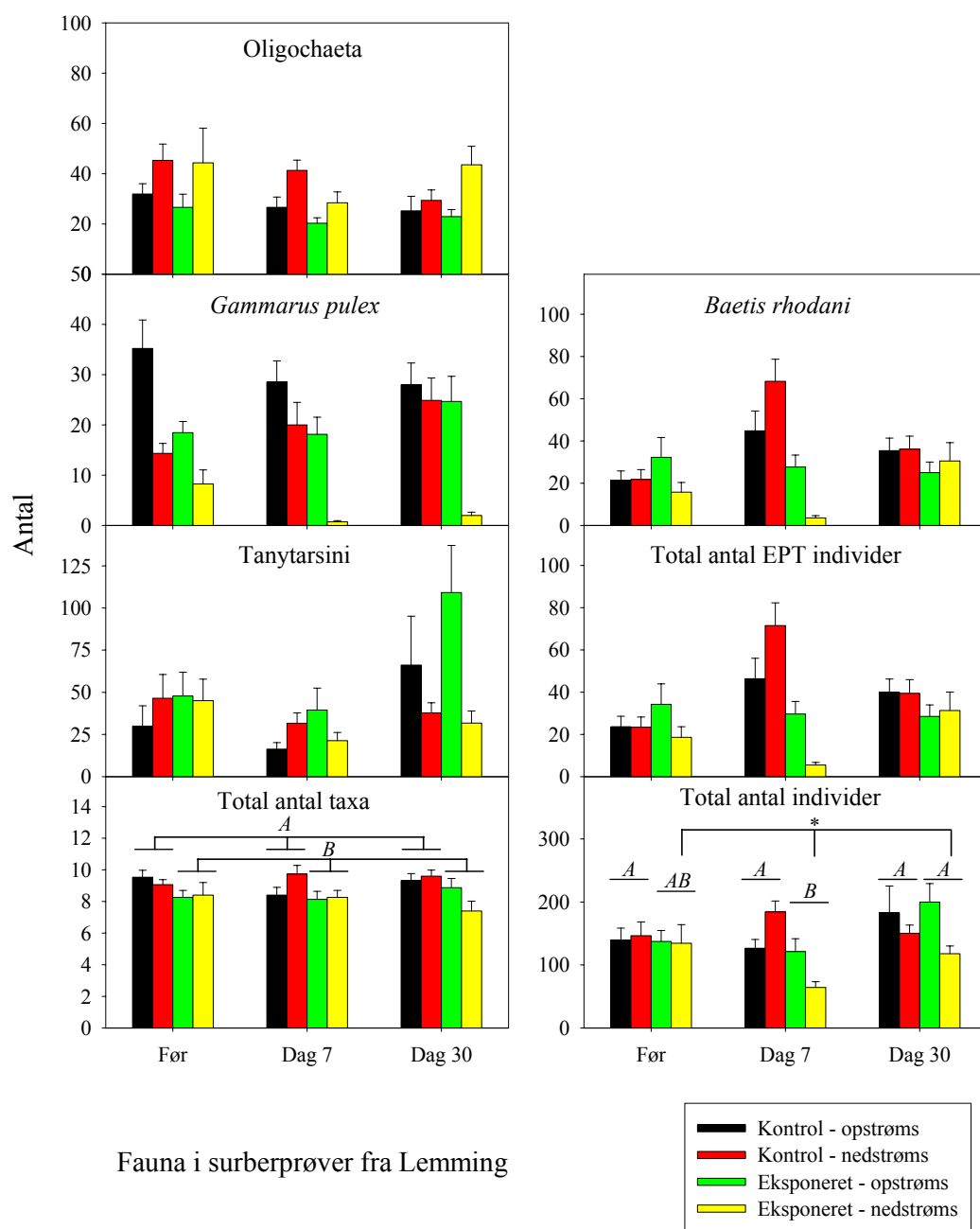


Fig. 3.1.11. Fauna i surberprøverne fra de store strømrender i Lemming. Det totale antal taxa, det totale antal individer, samt individtallet for udvalgte arter/taxa forekommende i mindst 75% (=135 prøver) af prøverne med et samlet individtal i alle prøver på mindst 1000 individer. Eksponerede render blev på dag 0 udsat for en 90 min.'s eksponering for 5 µg lambda-cyhalothrin l<sup>-1</sup>. Statistisk analyse blev kun udført for det totale antal taxa og det totale antal individer. For antal taxa angiver bogstaverne, at de eksponerede render generelt var signifikant forskellige fra kontrolrenderne. For det totale individantal angiver bogstaverne forskelle mellem kontrolrender og eksponerede render gennem forsøget, således at render, der ingen bogstaver har tilfælles, er signifikant forskellige. Asterisken angiver, at nedstrømssektionerne i de eksponerede render generelt var signifikant lavere end såvel opstrømssektionerne i de eksponerede render som begge sektioner i kontrolrenderne. (Gennemsnit±SEM, n=15).

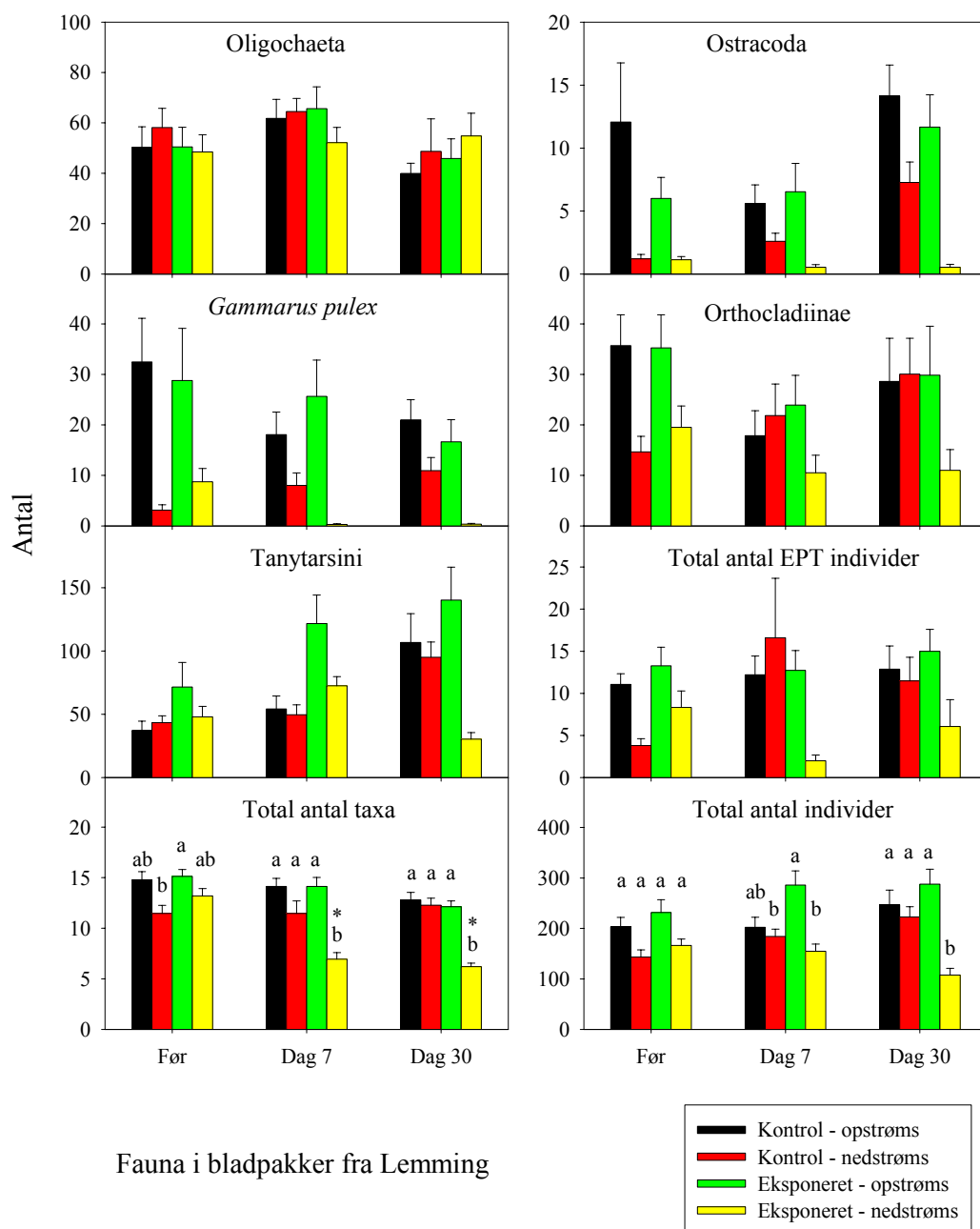


Fig. 3.1.12. Fauna i bladpakkerne fra de store strømrender i Lemming. Det totale antal taxa, det totale antal individer, samt individantallet for udvalgte arter/taxa forekommende i mindst 75% (=135 prøver) af prøverne med et samlet individantal i alle prøver på mindst 1000 individer. Eksponerede render blev på dag 0 udsat for en 90 min eksponering for 5 µg lambda-cyhalothrin l<sup>-1</sup>. Statistisk analyse blev kun udført for det totale antal taxa og det totale antal individer. Bogstaver angiver forskellene mellem de fire sektioner inden for samme prøvetagningsdag, således at sektioner, der ingen bogstaver har tilfælles, er signifikant forskellige. En asterisk angiver en signifikant forskel i forhold til Før-prøverne (dag 0) fra samme sektion. (Gennemsnit±SEM, n=15).

Vægttabet i bladpakkerne i såvel de opstrøms som nedstrøms dele af henholdsvis kontrolrender og pyrethroid-behandlede viste en signifikant tidlig udvikling, samtidig med at de eksponerede render overordnet set viste lidt større vægttab end kontrolrenderne (Figur 3.1.13). Det samlede vægttab var af størrelsesordenen 27-28%. Der blev imidlertid hverken fundet overordnede

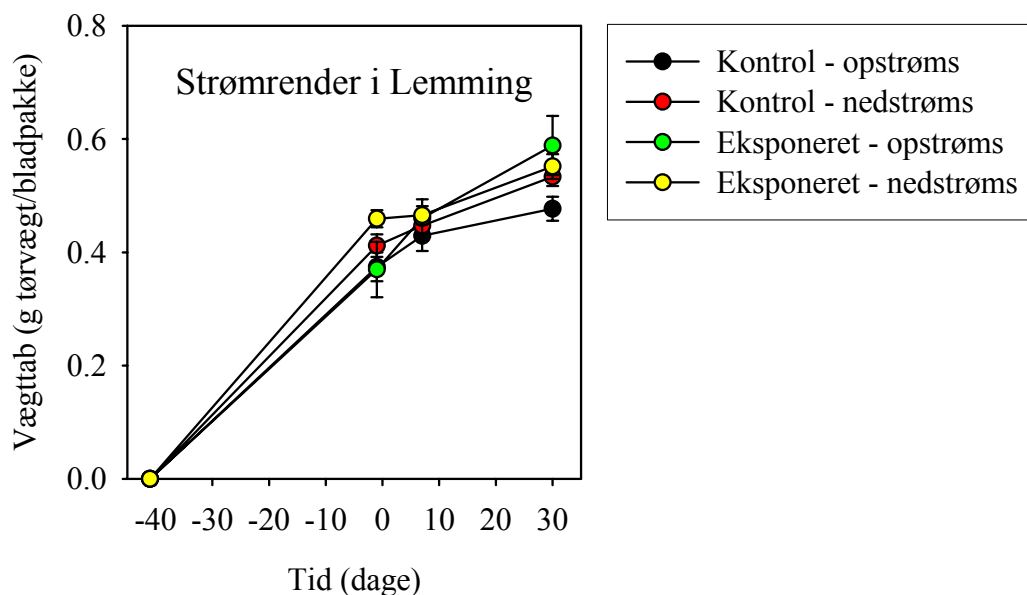


Fig. 3.1.13. Vægttab fra pakker af bøgeblade udlagt i de store strømrønder i Lemming 41 dage før eksponeringsdagen (dag 0), hvor en 90 min eksponering for 0 eller 5  $\mu\text{g}$  lambda-cyhalothrin  $\text{l}^{-1}$  blev foretaget. Bladpakker blev indsamlet dagen inden eksponering, samt 7 og 30 dage efter eksponering, og vægttabet blev registreret. (Gennemsnit  $\pm$  SEM,  $n=15$ ).

forskelle mellem opstrøms og nedstrøms dele eller interaktioner mellem de tre faktorer, tid, behandling og sektion (opstrøms/nedstrøms). Disse resultater understøttes af en ANCOVA-analyse (Tabel 3.1.17), hvoraf det fremgår, at de fire sektioner havde samme omsætningsrate (=hældning) i perioden fra dag -1 til dag 30.

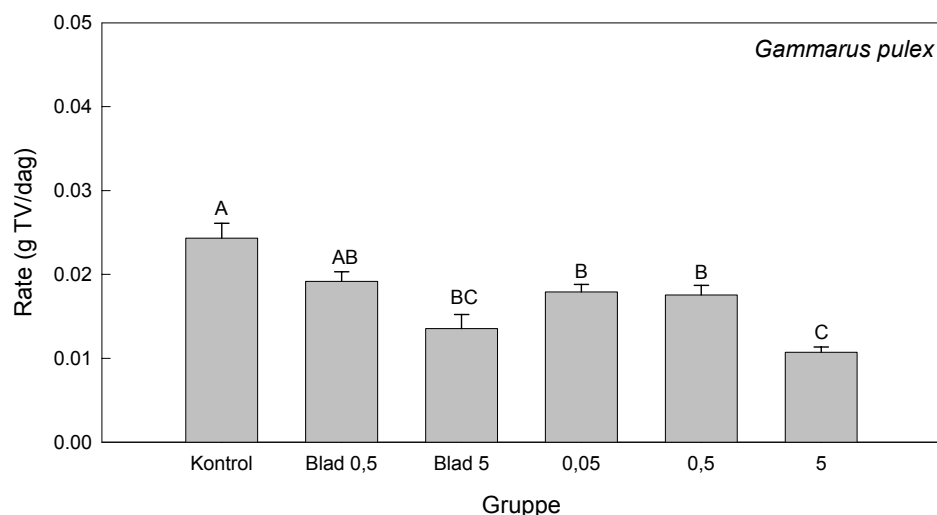
Tabel 3.1.17. Lineære regressioner for vægttabet fra bladpakker i perioden fra dag -1 til dag 30. De fire sektioner havde samme omsætningsrate. Skæringer, der ingen bogstaver har tilfælles, er signifikant forskellige. (Estimat  $\pm$  SE)

| Sektion                | Fælles omsætningsrate<br>(=hældning) ( $\text{g bladpakke}^{-1} \text{dag}^{-1}$ ) | Skæringspunkt (g)                 |
|------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| Kontrol – opstrøms     | 0,0042 $\pm$ 0,0006                                                                | 0,3762 $\pm$ 0,0184 <sup>A</sup>  |
| Kontrol – nedstrøms    |                                                                                    | 0,4135 $\pm$ 0,0236 <sup>AB</sup> |
| Eksponeret – opstrøms  |                                                                                    | 0,4223 $\pm$ 0,0236 <sup>AB</sup> |
| Eksponeret – nedstrøms |                                                                                    | 0,4416 $\pm$ 0,0236 <sup>B</sup>  |

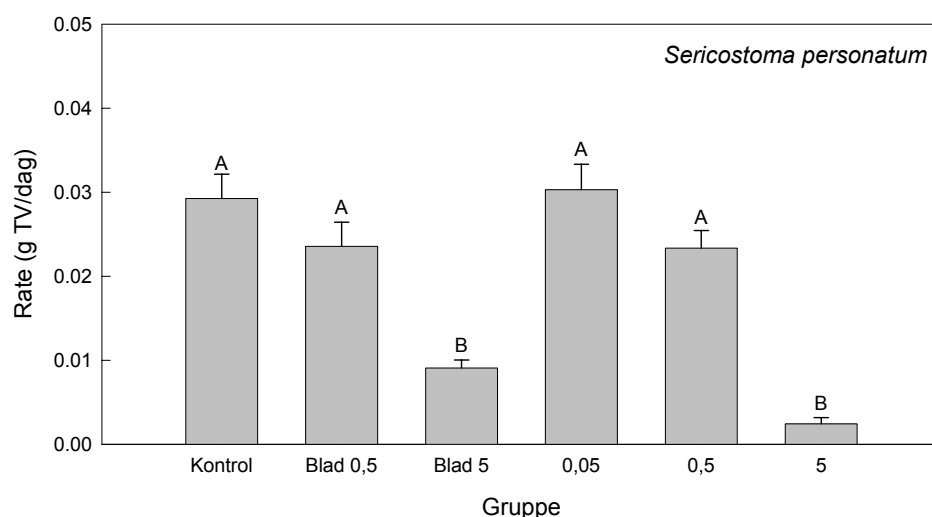
## 3.2 Pyrethroideffekt på smådyrs mobilitet, evne til restituering, samt substrat- og fødekvalitet

### 3.2.1 Stofomsætning hos forsøgspopulationer i små strømrønder efter pyrethroidpåvirkning

*G. pulex*'s omsætning af blade i de små strømrønder blev påvirket af en forudgående eksponering med lambda-cyhalothrin, uanset om eksponeringen skete via vandet eller via bladene (Figur 3.2.1). I alle tre grupper, hvor dyrene forinden var pulseksponeret for henholdsvis 0,05, 0,5 og 5  $\mu\text{g}$   $\text{l}^{-1}$ , faldt omsætningsraten, idet faldet var mest markant ved 5  $\mu\text{g}$   $\text{l}^{-1}$ . I grupperne, hvor



Figur 3.2.1. Bladomsætningsrater (g tørvægt/dag/rende) for *G. pulex* i de små strømrender. Grupper, der ingen bogstaver har tilfælles, er signifikant forskellige. (Gennemsnit±SEM, n=5 render)



Figur 3.2.2. Bladomsætningsrater (g tørvægt/dag/rende) for *S. personatum* i de små strømrender. Grupper, der ingen bogstaver har tilfælles, er signifikant forskellige. (Gennemsnit±SEM, n=5 render)

Ueksponerede dyr fik tilbudt blade, der forinden var blevet pulseksponeret, var der en koncentrationsafhængig reduktion af omsætningsraten, idet blade eksponeret for  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  medførte en reduktion af samme størrelse som en direkte eksponering af dyrene for  $5 \mu\text{g l}^{-1}$ .

Hos *S. personatum* blev omsætningsraterne for blade tilsvarende markant reduceret ved  $5 \mu\text{g l}^{-1}$ , uanset om eksponeringen skete via vandet eller via føden (Figur 3.2.2). Ved forsøgets afslutning var der ingen overlevende *G. pulex* i gruppen, hvor dyrene havde været eksponeret for  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  (Tabel 3.2.1). I gruppen, hvor dyrene havde været eksponeret for  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$ , var overlevelsen på 61,6%, mens den i de øvrige grupper lå mellem 80-85%. Alle overlevende individer var aktive, på nær to inaktive i gruppen, hvor bladene var eksponeret for  $5 \mu\text{g l}^{-1}$ .

Tabel 3.2.1. Overlevelse og aktivitet for *G. pulex* i de små render ved forsøgets afslutning. (Gennemsnit $\pm$ SEM, n=5 render)

| Gruppe                        | Overlevelse (%) | Andel af aktive blandt overlevende individer (%) |
|-------------------------------|-----------------|--------------------------------------------------|
| Kontrol                       | 84,0 $\pm$ 1,1  | 100 $\pm$ 0                                      |
| Blad 0,5 $\mu\text{g l}^{-1}$ | 84,8 $\pm$ 1,4  | 100 $\pm$ 0                                      |
| Blad 5,0 $\mu\text{g l}^{-1}$ | 80,0 $\pm$ 2,3  | 99,0 $\pm$ 1,0                                   |
| 0,05 $\mu\text{g l}^{-1}$     | 83,6 $\pm$ 1,5  | 100 $\pm$ 0                                      |
| 0,5 $\mu\text{g l}^{-1}$      | 61,6 $\pm$ 2,4  | 100 $\pm$ 0                                      |
| 5,0 $\mu\text{g l}^{-1}$      | 0               | 0                                                |

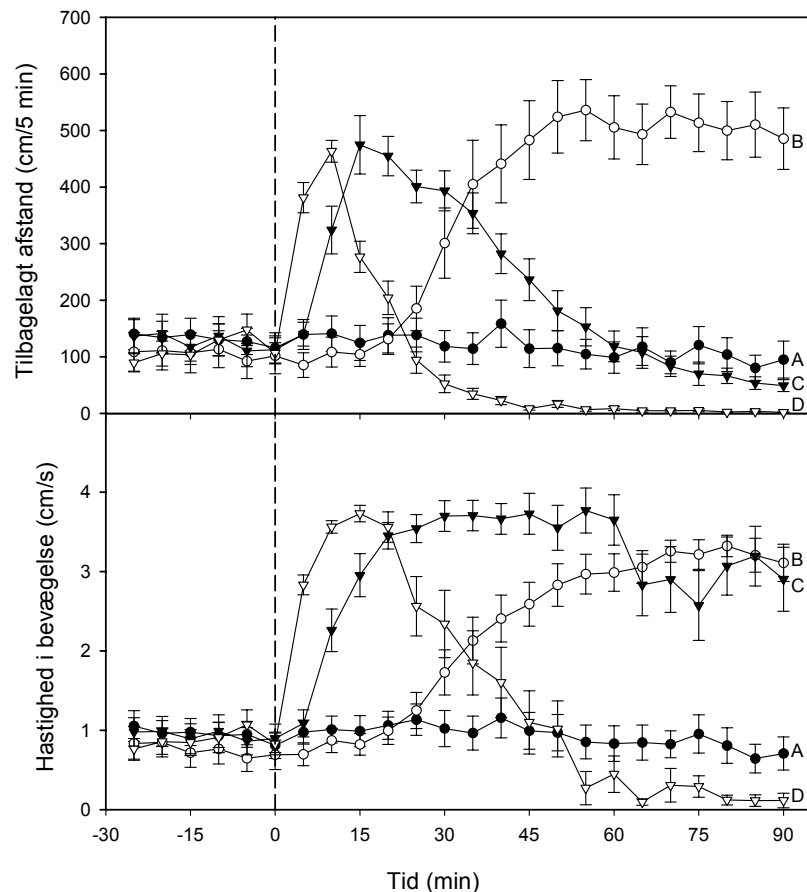
Hos *S. personatum* var genfindingen ved forsøgets afslutning generelt højere end hos *G. pulex* (Tabel 3.2.2). Genfindingen var overordnet set højest i kontrolgruppen og de to grupper, hvor bladene havde været eksponeret for hhv. 0,5 og 5  $\mu\text{g l}^{-1}$ . Effekten på andelen af aktive individer, blandt de som var genfundet, var mere markant. Alle kontroldyrene var aktive, mens der var en koncentrationsafhængig reduktion i andel af aktive, uanset om det var dyrene eller bladmaterialet, der havde været eksponeret. Aktiviteten i gruppen, hvor dyrene havde været eksponeret for 5  $\mu\text{g l}^{-1}$ , skyldes alene et enkelt individ. De samme tendenser kan observeres for andelen af genfundne dyr, der har forladt deres hus, hvor der især var en markant effekt på dyrene, der blev eksponeret for 5  $\mu\text{g l}^{-1}$ .

Tabel 3.2.2. Genfinding og aktivitet for *S. personatum* i de små render ved forsøgets afslutning. (Gennemsnit $\pm$ SEM, n=5 render)

| Gruppe                         | Genfinding (%) | Andel af aktive blandt genfundne individer (%) | Andel af genfundne individer ude af hus (%) |
|--------------------------------|----------------|------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Kontrol                        | 96,0 $\pm$ 1,6 | 100 $\pm$ 0                                    | 0 $\pm$ 0                                   |
| Blade 0,5 $\mu\text{g l}^{-1}$ | 96,0 $\pm$ 2,5 | 96,9 $\pm$ 3,1                                 | 0 $\pm$ 0                                   |
| Blade 5,0 $\mu\text{g l}^{-1}$ | 94,6 $\pm$ 4,0 | 83,7 $\pm$ 4,8                                 | 4,0 $\pm$ 2,7                               |
| 0,05 $\mu\text{g l}^{-1}$      | 91,9 $\pm$ 2,5 | 95,4 $\pm$ 3,1                                 | 1,5 $\pm$ 1,5                               |
| 0,5 $\mu\text{g l}^{-1}$       | 86,7 $\pm$ 3,0 | 79,2 $\pm$ 6,5                                 | 9,8 $\pm$ 6,1                               |
| 5,0 $\mu\text{g l}^{-1}$       | 87,8 $\pm$ 2,5 | 1,4 $\pm$ 1,4                                  | 32,5 $\pm$ 4,9                              |

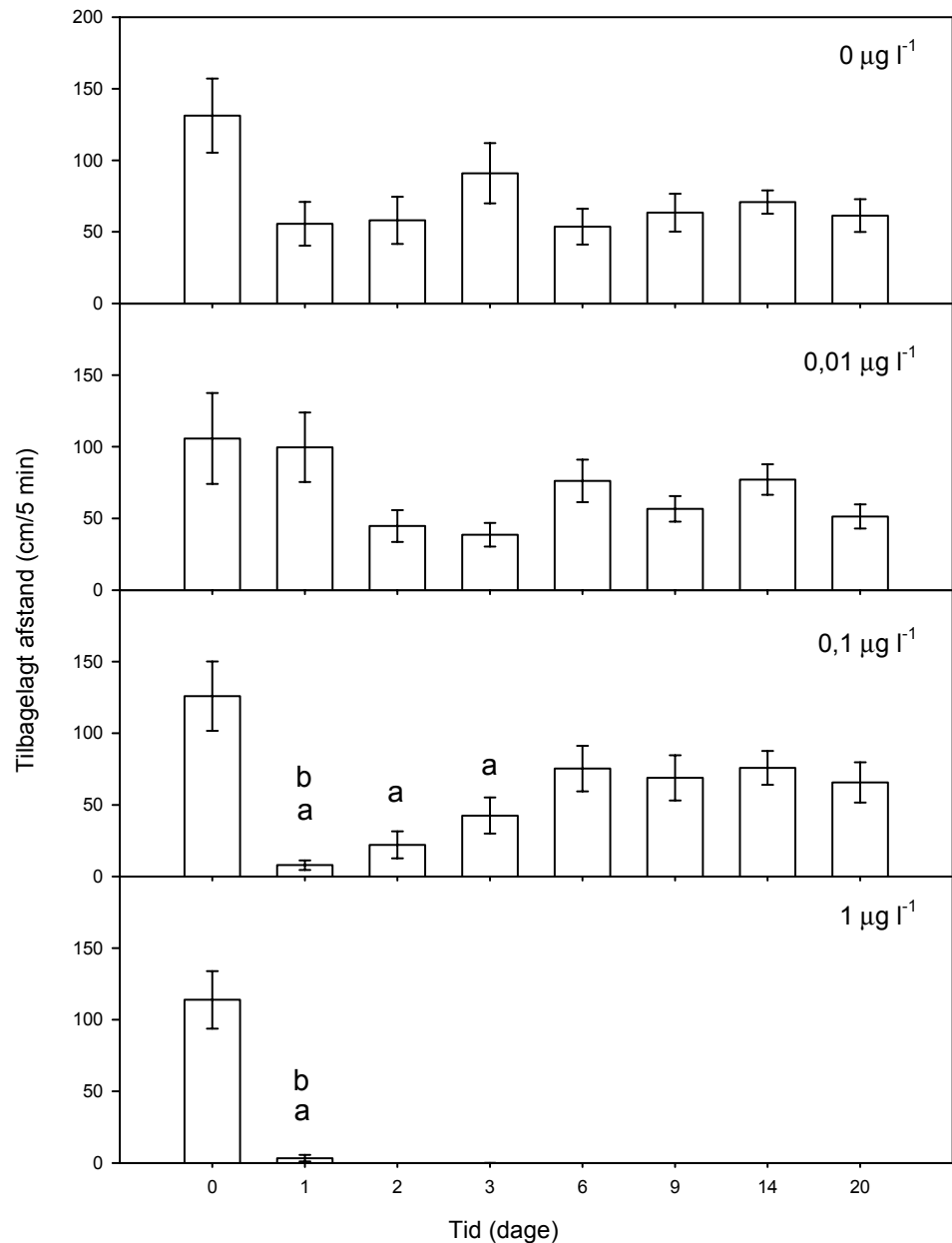
### 3.2.2 Restitueringssevne hos *Gammarus pulex* (pilotforsøg)

Mens adfærden hos en kontrolgruppe af *G. pulex* var konstant gennem kontrol- og eksponeringsperioden på dag 0, var der en markant effekt af pulseksponering med lambda-cyhalothrin på den tilbagelagte afstand og hastighed i bevægelsen hos forsøgsdyrene (Figur 3.2.3). Der var således en markant forøget aktivitet, såkaldt hyperaktivitet, ved 0,01  $\mu\text{g l}^{-1}$ . Ved 0,1  $\mu\text{g l}^{-1}$  observeredes et bifasisk adfærdsrespons, hvor hyperaktiviteten ikke kunne opretholdes, og blev efterfulgt af en gradvis reduktion i aktivitetsniveauet. Ved 1  $\mu\text{g l}^{-1}$  observeredes immobilisering efter ca. 45 minutters eksponering.

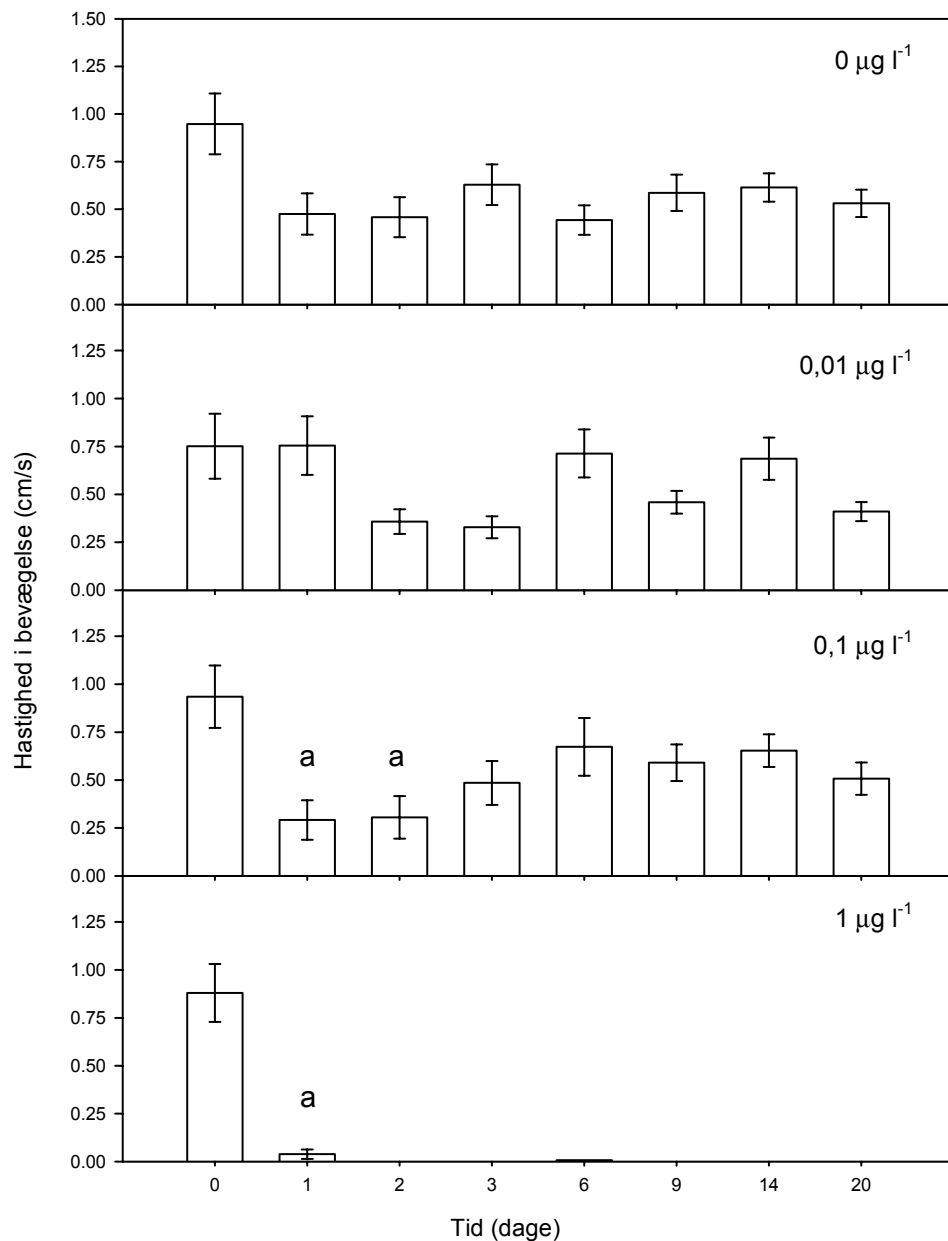


Figur 3.2.3. Effekt af lambda-cyhalothrin på tilbagelagt afstand og hastighed i bevægelse hos *G. pulex*. Baggrundsadfærden for *G. pulex* i ukontamineret vand blev registreret i 30 min, og adfærden i pyrethroid-kontamineret vand dernæst fulgt i yderligere 90 min. Lukkede cirkler: kontrolgruppe; åbne cirkler:  $0,01 \mu\text{g l}^{-1}$ ; lukkede trekanter:  $0,1 \mu\text{g l}^{-1}$ ; åbne trekanter:  $1 \mu\text{g l}^{-1}$ . (Gennemsnit  $\pm$  SEM,  $n=24$ ). A, B, C og D angiver, at alle grupperne havde signifikant forskellige kurver for løb under eksponeringen. Der var ingen forskelle i kontrolperioden.

Under den efterfølgende 20 dages restitueringsperiode var der i kontrolgruppen en tendens (men ikke signifikant) til fald i aktiviteten fra dag 0 til dag 1, hvorefter gruppens aktivitetsniveau forblev konstant (Figur 3.2.4 - 3.2.5); bemærk at dag 0 angiver adfærden i kontrolperioden på eksponeringsdagen svarende til gennemsnittet af de 30 min i figur 3.2.3. Gruppen eksponeret for  $0,01 \mu\text{g l}^{-1}$  havde generelt samme forløb i aktiviteten som kontrolgruppen, dog med en tendens til et højere aktivitetsniveau ved sammenligning med kontrolgruppen på dag 1. Denne tendens var dog ikke signifikant. Ved  $0,1 \mu\text{g l}^{-1}$  registreredes et reduceret aktivitetsniveau i forhold til kontrolgruppen på dag 1, 2 og 3, mens der ingen forskel var fra dag 6 og resten af perioden. Ved  $1 \mu\text{g l}^{-1}$  var aktivitetsniveauet meget lavt dag 1, og de fleste individer døde inden for de første to dage.

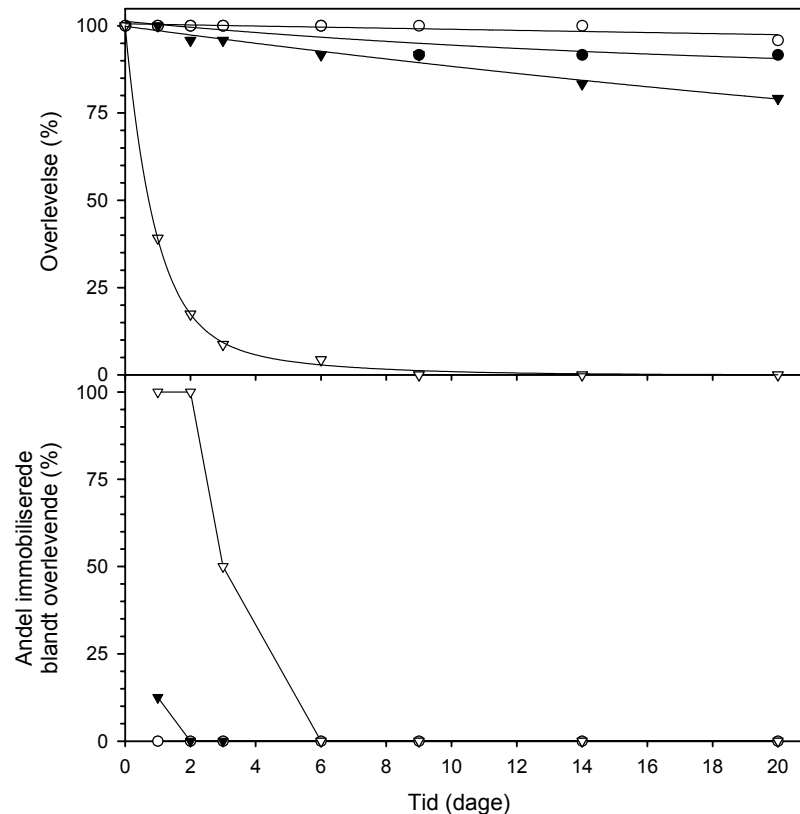


Figur 3.2.4 Tilbagelagt afstand hos *G. pulex* gennem en 20-dages restitueringsperiode i ukontamineret vand efter endt eksponering for lambda-cyhalothrin. a) Signifikant forskel i forhold til gruppens aktivitetsniveau dag 0. b) Signifikant forskel i forhold til kontrolgruppens aktivitetsniveau på samme dag. (Gennemsnit  $\pm$  SEM, n(dag 0)=24, se Fig. 3.2.6 for overlevelsen i restitueringsperioden).



Figur 3.2.5. Hastighed i bevægelse hos *G. pulex* gennem en 20-dages restitueringsperiode i ukontamineret vand efter endt eksponering for lambda-cyhalothrin. a) Signifikant forskel i forhold til gruppens aktivitetsniveau dag 0. (Gennemsnit  $\pm$  SEM,  $n(\text{dag } 0)=24$ , se Fig. 3.2.6 for overlevelsen i restitueringsperioden).

Hvad angår overlevelsen og andelen af immobiliserede individer blandt de overlevende i løbet af den 20 dage lange restitueringsperiode (fig. 3.2.6) var der ingen forskel på overlevelsen ( $>90\%$ ) i kontrolgruppen og gruppen eksponeret for  $0,01 \mu\text{g l}^{-1}$ , mens der var en tendens til forøget dødelighed i gruppen eksponeret for  $0,1 \mu\text{g l}^{-1}$ , hvor overlevelsen efter 20 dage var  $79\%$ . Ved  $1 \mu\text{g l}^{-1}$  var der en markant dødelighed i de første dage efter endt eksponering, og på dag 6 var der kun ét individ i live. Der blev ikke observeret immobiliserede individer ved 0 eller  $0,01 \mu\text{g l}^{-1}$ , og kun tre individer var immobiliserede på dag 1 efter eksponering for  $0,1 \mu\text{g l}^{-1}$ . Ved  $1 \mu\text{g l}^{-1}$  forblev individerne typisk immobile, indtil de døde.

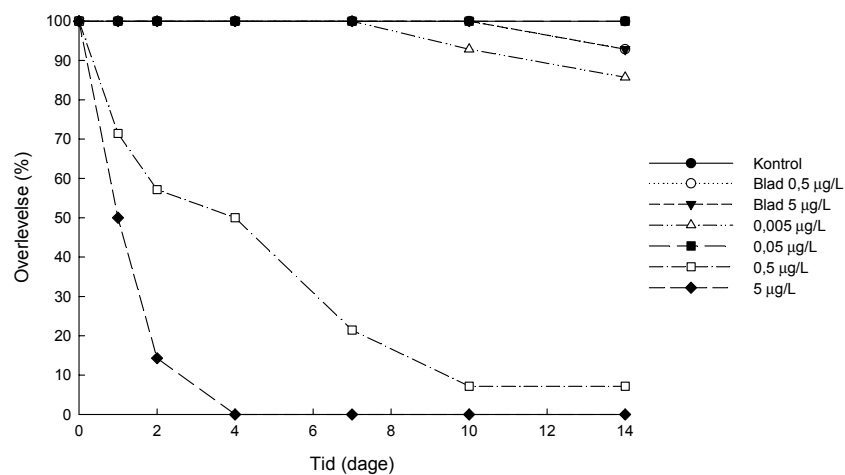


Figur 3.2.6. Overlevelse og andel af immobiliserede individer blandt overlevende *G. pulex* gennem en 20-dages restitueringsperiode i ukontamineret vand efter endt eksponering for lambda-cyhalothrin. Lukkede cirkler: kontrolgruppe; åbne cirkler: 0,01 µg l<sup>-1</sup>; lukkede trekanter: 0,1 µg l<sup>-1</sup>; åbne trekanter: 1 µg l<sup>-1</sup>. (n(dag 0)=24).

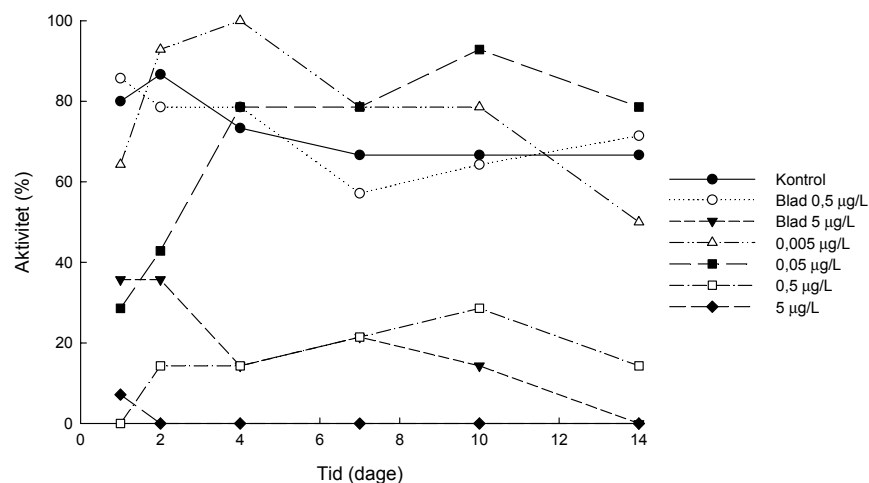
Samlet set vist pilotforsøget, at påvirkningen af bevægelsesadfærden og overlevelsen var mest markant i den første uge efter endt eksponering. Der er for *G. pulex*'s vedkommende ingen ændringer i de målte parametre efter dag 6. I de efterfølgende studier af lambda-cyhalothrins effekt på smådyrs mobilitet og restitueringssevne er også andre arter af invertebrater, der kan have et anderledes restitueringsforløb, blevet anvendt. På baggrund af ovenstående pilotforsøg blev det besluttet at anvende et forsøgsdesign med samme pulseksposering af 90 minutters varighed efterfulgt af en 14-dages restitueringsperiode.

### 3.2.3 Restitueringssevne og fødesøgning hos udvalgte iturivere

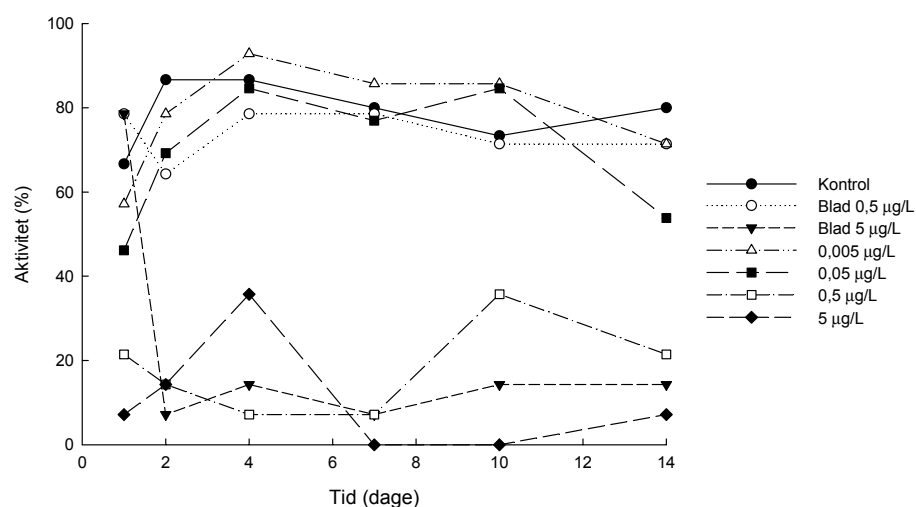
Overlevelsen hos *G. pulex* og andelen af synligt aktive individer hos *S. personatum* og *C. villosa* i løbet af restitueringsperioden er vist på hhv. figur 3.2.7-3.2.9. Hos *G. pulex* var dødeligheden markant for grupperne eksponeret for 0,5, og især 5 µg l<sup>-1</sup>. Hos begge vårfluearter var andelen af aktive individer markant lavere i grupperne eksponeret for 0,5 og 5 µg l<sup>-1</sup>, samt i gruppen der blev tilbudt blade eksponeret for 5 µg l<sup>-1</sup>. For ingen af de tre arter var der signifikante forskelle på størrelsen af dyrene i de enkelte grupper (data ikke vist).



Figur 3.2.7. Overlevelse for *G. pulex* (n = 14-15) efter pulseksposering for lambda-cyhalothrin i forskellige vandige koncentrationer eller udsat for lambda-cyhalothrin pulseksposerede bølgeblade.

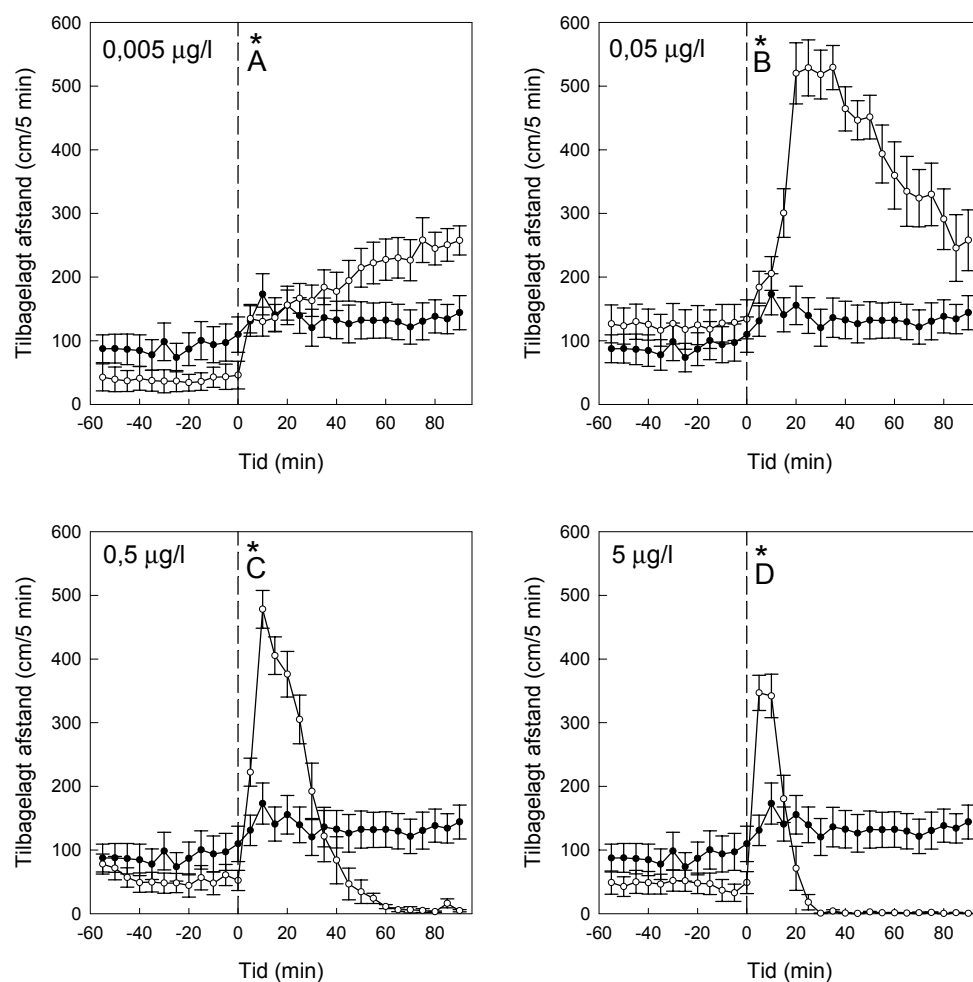


Figur 3.2.8. Andel af synligt aktive individer hos *S. personatum* (n = 14-15).

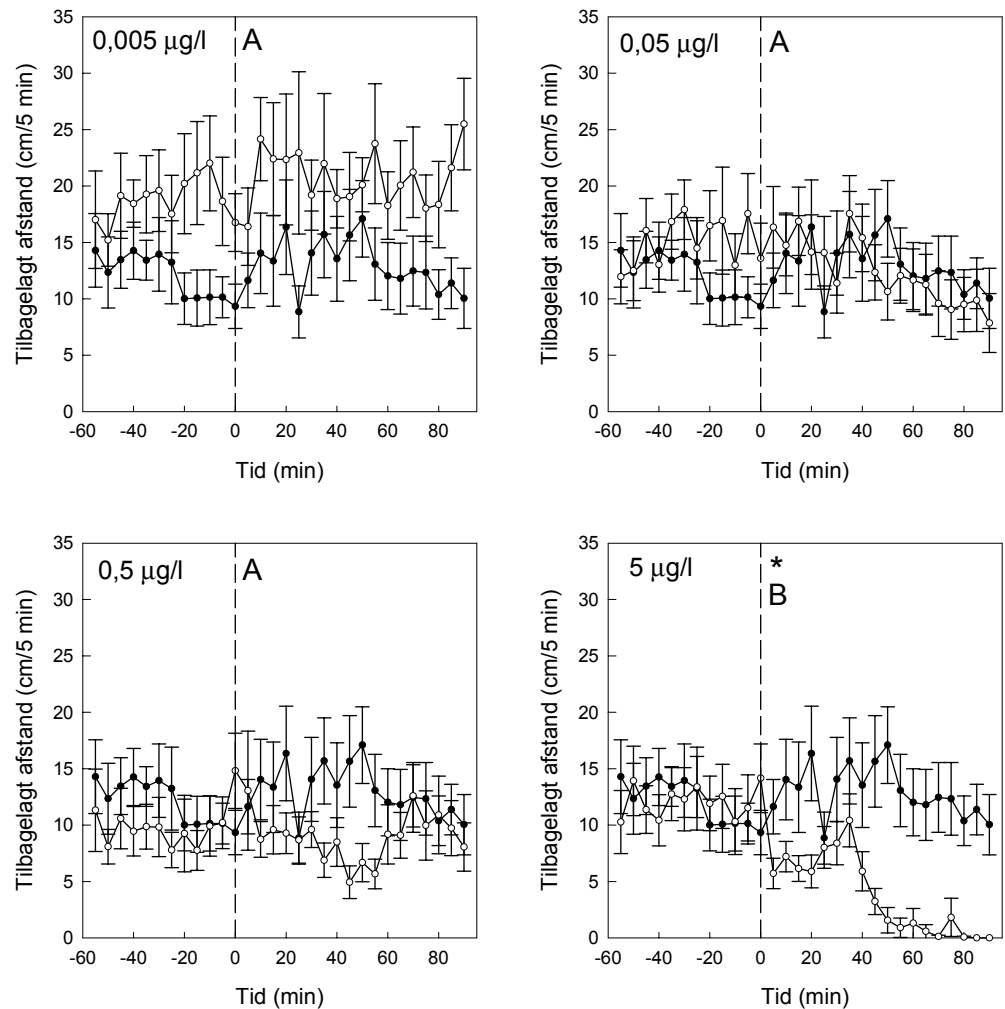


Figur 3.2.9. Andel af synligt aktive individer hos *C. villosa*. (n=14-15)

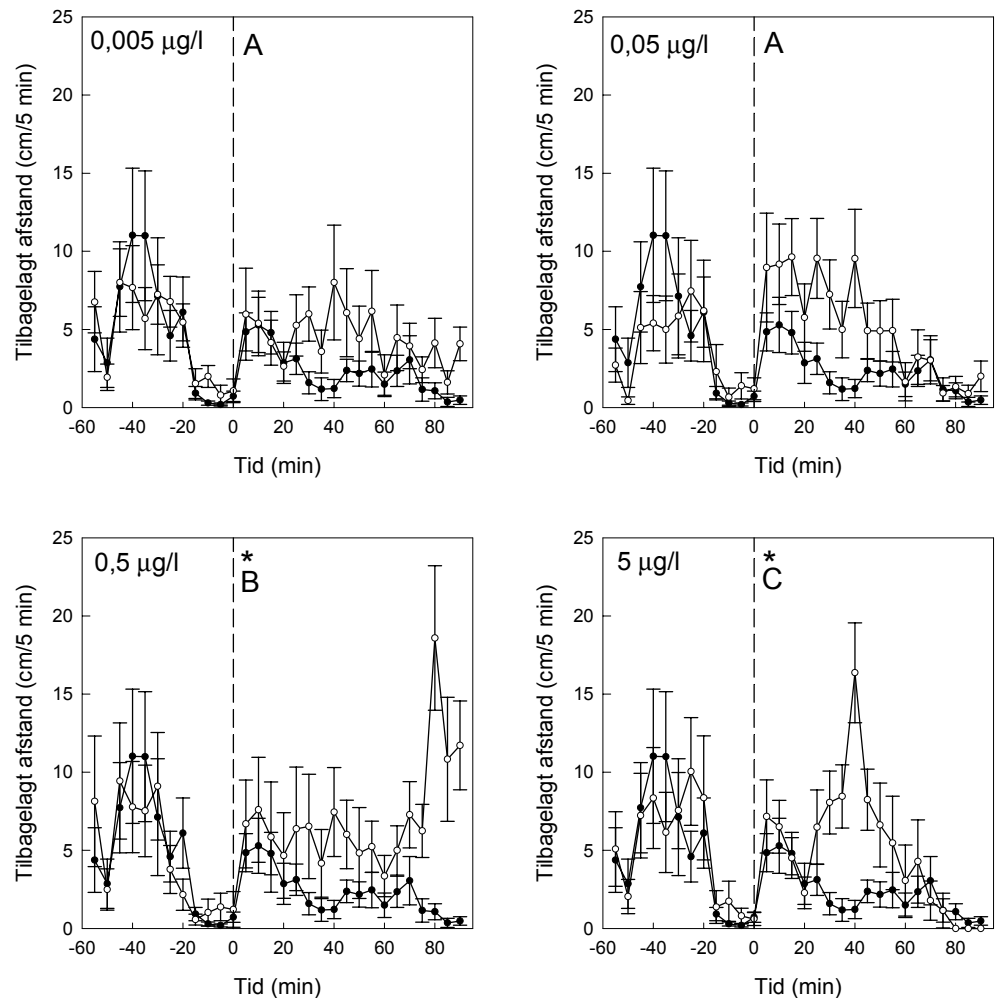
Bevægelsesadfærden før og under den 90 minutter lange eksponeringsperiode hos henholdsvis *G. pulex*, *S. personatum* og *C. villosa* er vist på figur 3.2.10-3.2.12. Hos *G. pulex* observeres hyperaktivitet allerede ved lave koncentrationer ( $\geq 0,005 \mu\text{g l}^{-1}$ ), hvilken ved højere koncentrationer ( $\geq 0,5 \mu\text{g l}^{-1}$ ) blev efterfulgt af immobilisering. For *S. personatum* var den eneste markante effekt en immobilisering ved  $5 \mu\text{g l}^{-1}$ . Bevægelsesadfærden hos *C. villosa* var meget variabel i løbet af observationsperioden. Ved  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$  observeres hyperaktivitet, der ved  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  blev efterfulgt af immobilisering.



Figur 3.2.10. Tilbagelagt afstand hos *G. pulex* eksponeret for lambda-cyhalothrin. Stiplede linier angiver eksponeringens påbegyndelse. Lukkede symboler: kontrolgruppen (n=15). Åbne symboler: eksponerede grupper (n=14). Asterisk angiver en signifikant forskel mellem den eksponerede gruppe og kontrolgruppen. Bogstaver angiver forskelle mellem de eksponerede grupper, idet grupper der ingen bogstaver har tilfælles er signifikant forskellige. (Gennemsnit  $\pm$  SEM).

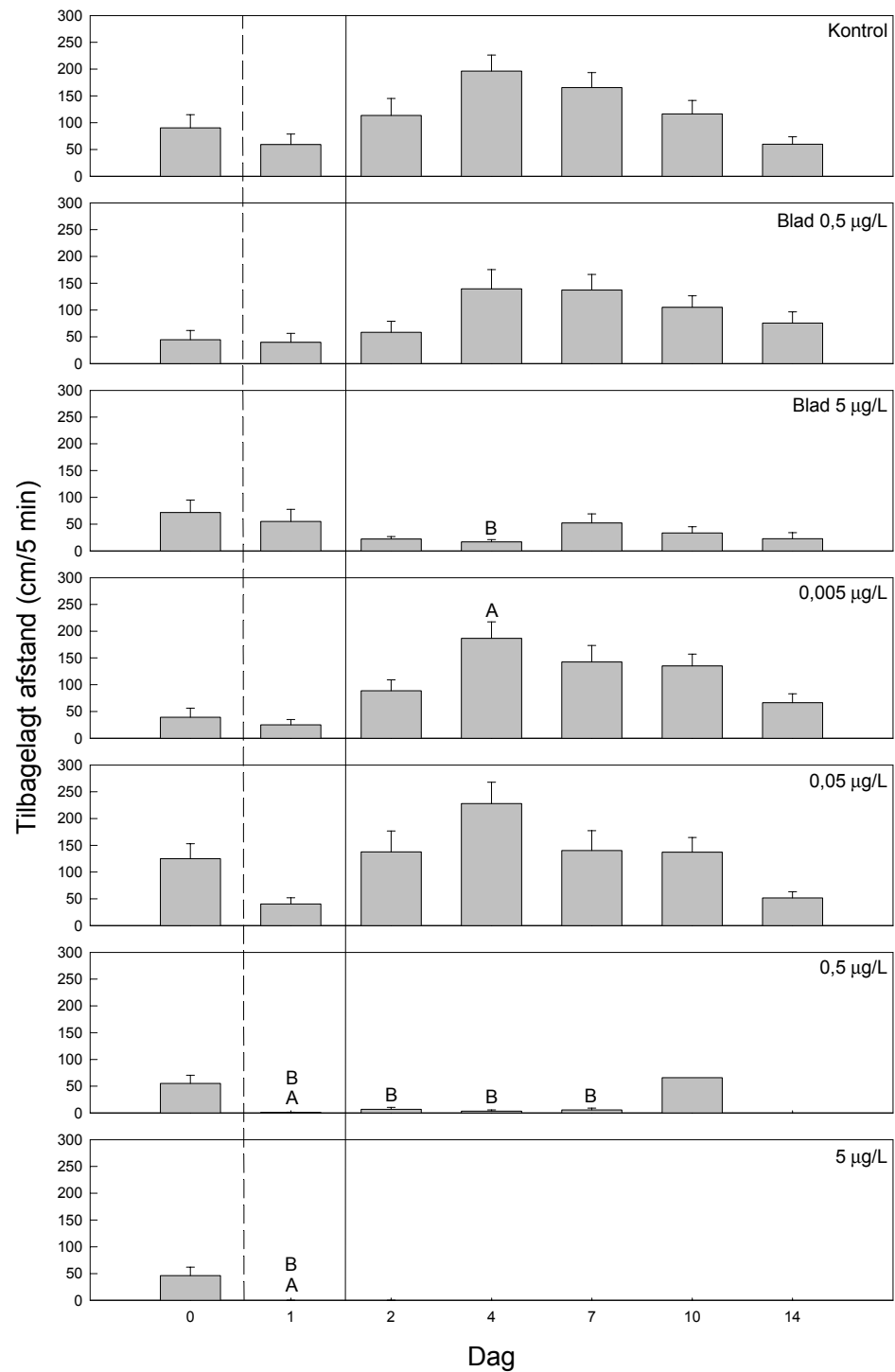


Figur 3.2.11. Tilbagelagt afstand hos *S. personatum* eksponeret for lambda-cyhalothrin. Stiplede linjer angiver eksponeringens påbegyndelse. Lukkede symboler: kontrolgruppen (n=15). Åbne symboler: eksponerede grupper (n=14). Asterisk angiver en signifikant forskel mellem den eksponerede gruppe og kontrolgruppen. Bogstaver angiver forskelle mellem de eksponerede grupper, idet grupper der ingen bogstaver har tilfælles er signifikant forskellige. (Gennemsnit±SEM).

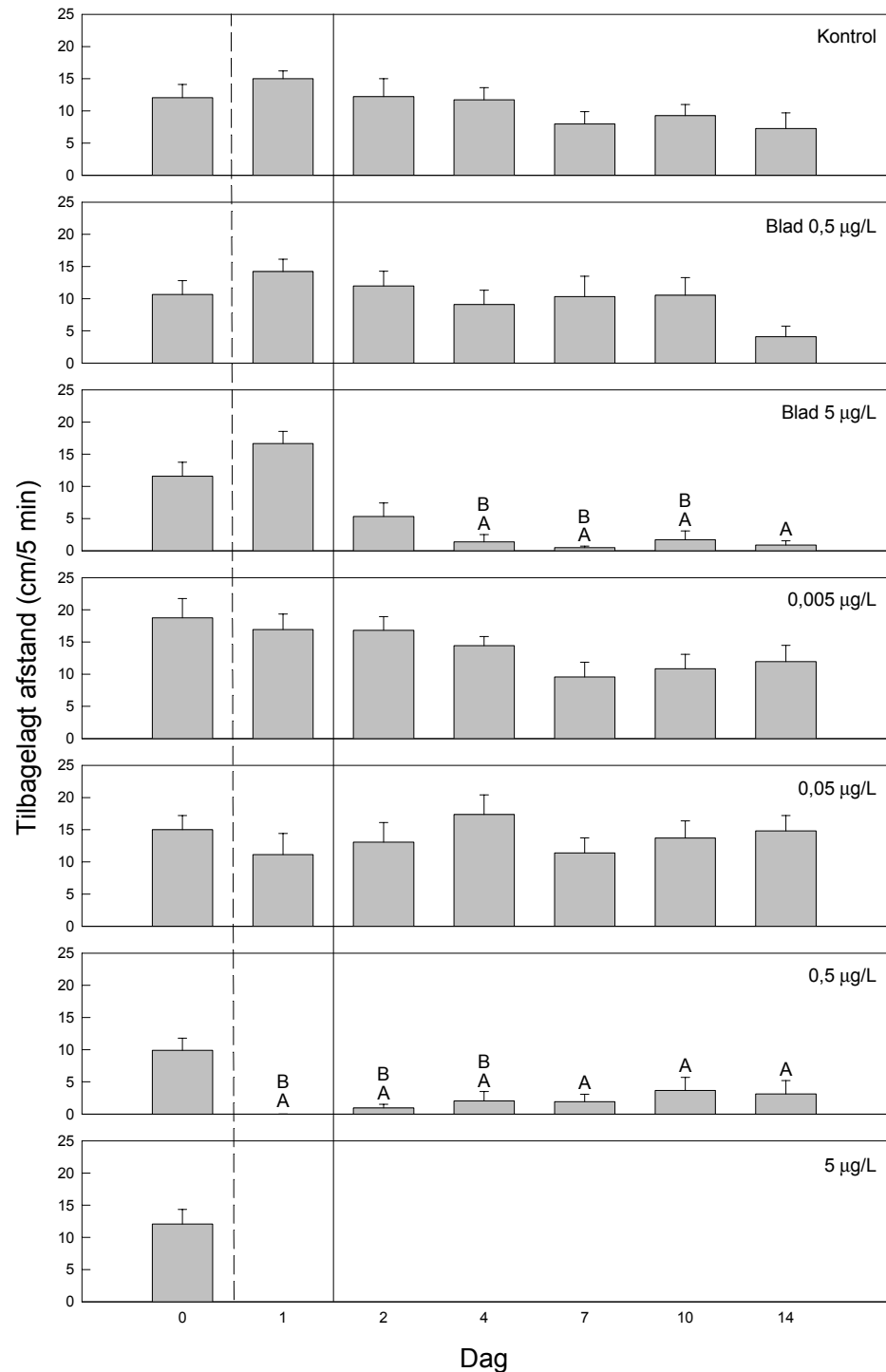


Figur 3.2.12. Tilbagelagt afstand hos *C. villosa* eksponeret for lambda-cyhalothrin. Stiplede linjer angiver eksponeringens påbegyndelse. Lukkede symboler: kontrolgruppen (n=15). Åbne symboler: eksponerede grupper (n=13-14). Asterisk angiver en signifikant forskel mellem den eksponerede gruppe og kontrolgruppen. Bogstaver angiver forskelle mellem de eksponerede grupper, idet grupper der ingen bogstaver har tilfælles er signifikant forskellige. (Gennemsnit±SEM).

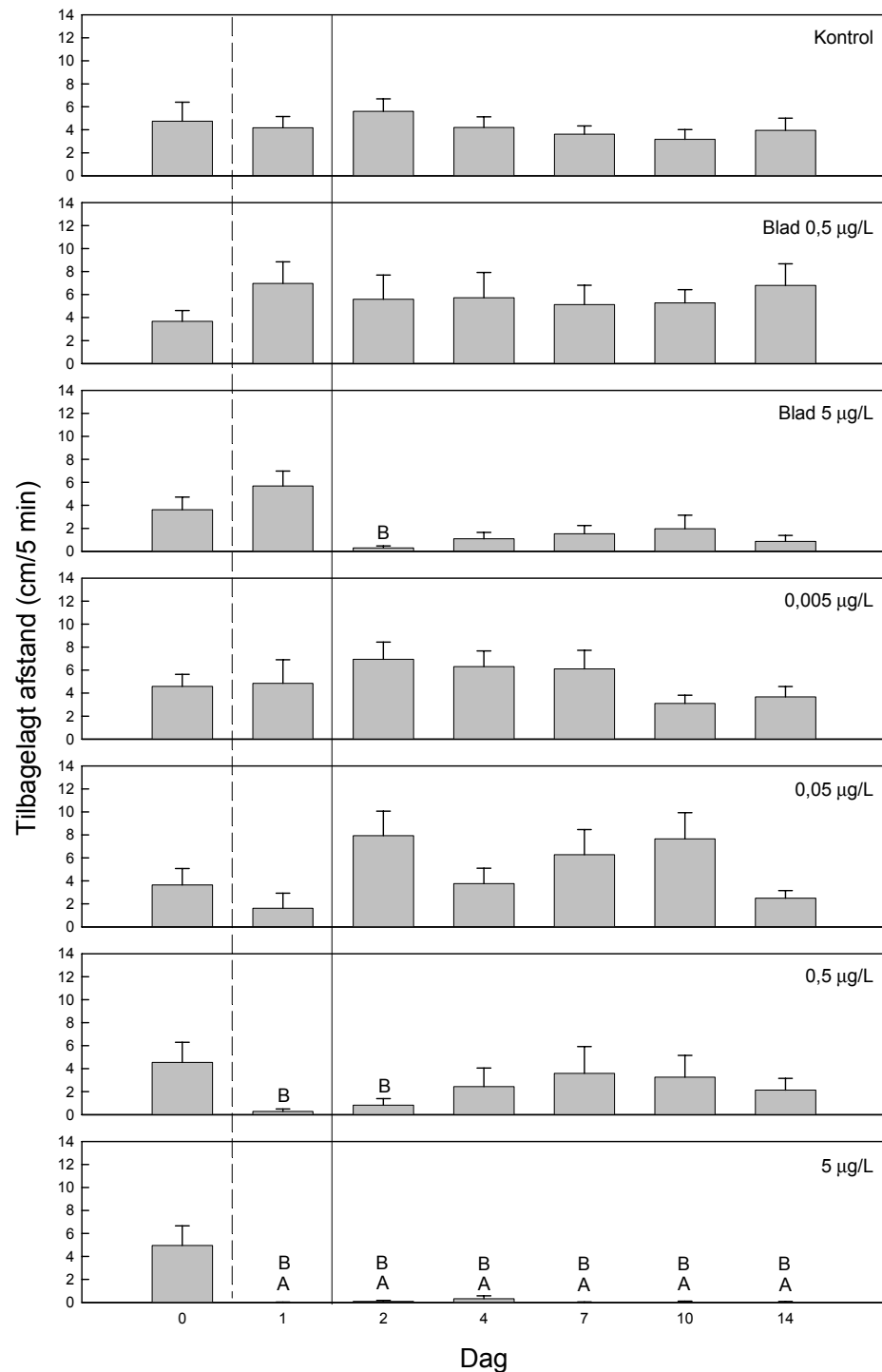
Hvad angår bevægelsesadfærden i løbet af restitueringsperioden var aktivitetsniveauet hos *G. pulex* markant lavere for grupperne eksponeret for 0,5 og 5 µg l<sup>-1</sup>, hvor også dødeligheden var høj (se også figur 3.2.7), samt forbigående reduceret i gruppen der blev tilbudt blade eksponeret for 5 µg l<sup>-1</sup> (Figur 3.2.13). Hos begge vårfluer var der (næsten) ingen aktivitet i gruppen eksponeret for 5 µg l<sup>-1</sup>, mens aktivitetsniveauet var markant reduceret ved 0,5 µg l<sup>-1</sup>, dog kun forbigående for *C. villosa* (Figur 3.2.14-3.2.15). Resultaterne fra grupperne, der blev tilbudt blade eksponeret for 5 µg l<sup>-1</sup>, indikerer, at aktivitetsniveauet var reduceret for begge vårfluearter.



Figur 3.2.13. Restituering hos *G. pulex*. Aktivitet i dagene efter eksponering givet som gennemsnitlig tilbagelagt afstand pr. 5 minutters interval i en 60 minutters periode. Stiplet linie angiver eksponering for lambda-cyhalothrin. Fuldt optrukket linie angiver tildeling af føde. A angiver aktivitetsniveau signifikant forskelligt fra gruppens egen kontrolperiode (dag 0). B angiver aktivitetsniveau signifikant forskelligt fra kontrolgruppe på samme dag. (Gennemsnit±SEM, n=14-15).

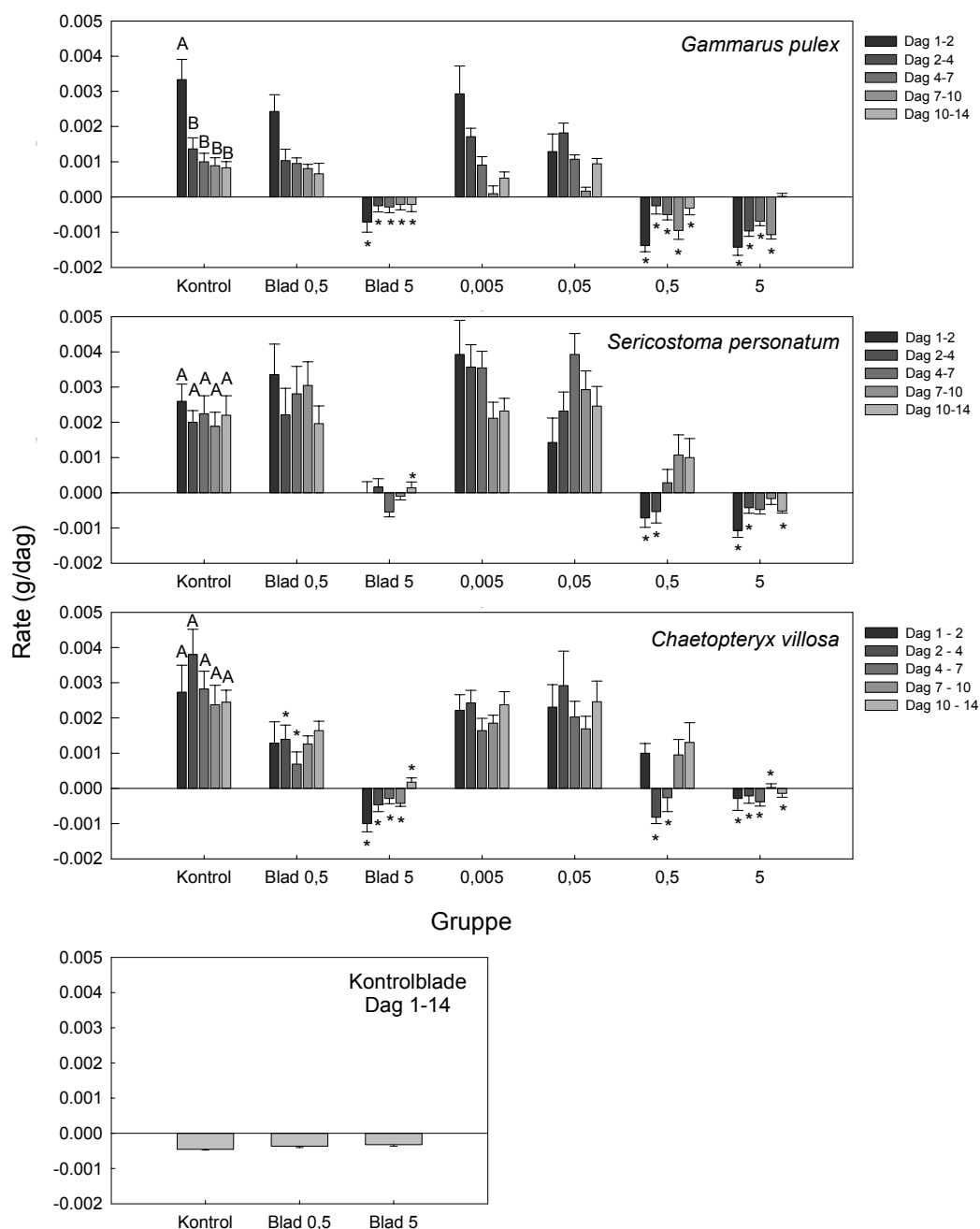


Figur 3.2.14. Restituering hos *S. personatum*. Aktivitet i dagene efter eksponering givet som gennemsnitlig tilbagelagt afstand pr. 5 minutters interval i en 60 minutters periode. Stiplet linie angiver eksponering for lambda-cyhalothrin. Fuldt optrukket linie angiver tildeling af føde. A angiver aktivitetsniveau signifikant forskelligt fra gruppens egen kontrolperiode (dag 0). B angiver aktivitetsniveau signifikant forskelligt fra kontrolgruppe på samme dag. (Gennemsnit±SEM, n=14-15).



Figur 3.2.15. Restituering hos *C. viillosa*. Aktivitet i dagene efter eksponering givet som gennemsnitlig tilbagelagt afstand pr. 5 minutters interval i en 60 minutters periode. Stiplet linie angiver eksponering for lambda-cyhalothrin. Fuldt optrukket linie angiver tildeling af føde. A angiver aktivitetsniveau signifikant forskelligt fra gruppens egen kontrolperiode (dag 0). B angiver aktivitetsniveau signifikant forskelligt fra kontrolgruppe på samme dag. (Gennemsnit±SEM, n=13-15).

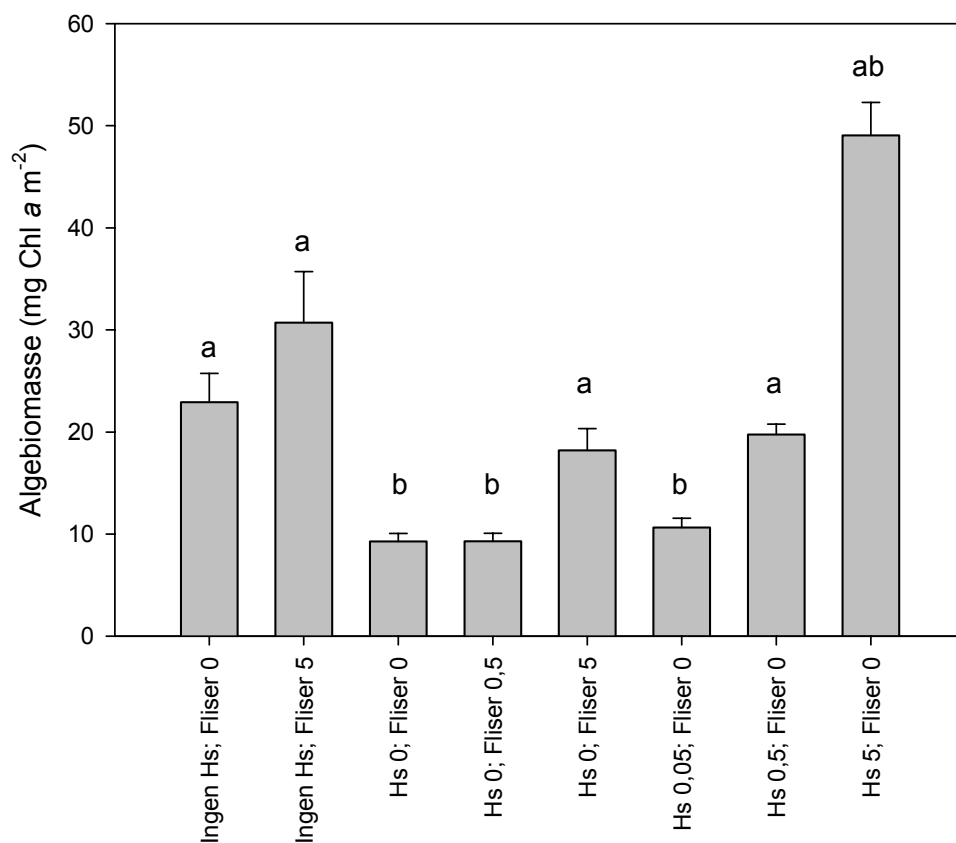
Generelt var omsætningsraterne hos de tre arter markant reduceret i gruppen eksponeret for  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  og i gruppen, der blev tilbudt blade, som var eksponeret for  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  (Figur 3.2.16). Blandt grupperne eksponeret for  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$  var især *G. pulex* markant påvirket, mens raterne hos de to vårfluer kun forbigående var reduceret. Hos *C. villosa* var der endvidere en forbigående reduktion i gruppen, der blev tilbudt blade eksponeret for  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$ .



Figur 3.2.16. Bladomsætningsrater (g tørvægt/dag/individ) for de tre arter af vandløbsinvertebrater samt kontrolblade uden dyr. Asterisk angiver signifikant forskellig mellem den eksponerede gruppe og kontrolgruppen på samme dag. Bogstaver angiver signifikante forskelle på indenfor kontrolgruppen, idet perioder, der ingen bogstaver har tilfælles, er signifikant forskellige. (Gennemsnit  $\pm$  SEM,  $n=13-15$ ).

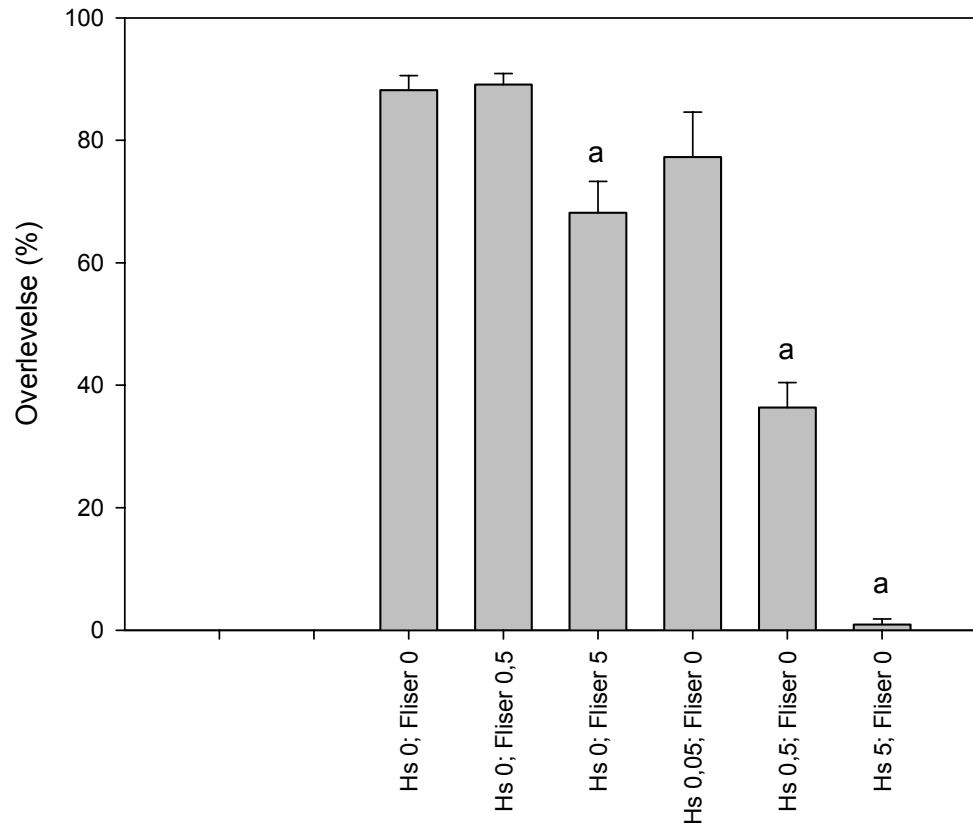
### 3.2.4 Overlevelse og fødesøgning hos græsseren *Heptagenia sulphurea*

Algebiomassen på ukontaminerede fliser uden dyr (Ingen Hs; Fliser 0) var ved afslutningen af forsøgene, som foregik over 7 dage, ikke signifikant forskellig fra algebiomassen på fliserne eksponerede for  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  (Ingen Hs; Fliser 5), men den var signifikant højere end algebiomassen i kontrolgruppen (Hs 0; Fliser 0) (Figur 3.2.17). Algebiomassen på ukontaminerede fliser uden dyr (Ingen Hs; Fliser 0) afveg ligeledes ikke signifikant fra biomasserne i gruppen med fliser eksponeret for  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  (Hs 0; Fliser 5) og gruppen med *H. sulphurea* eksponeret for  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$  (Hs 0,5; Fliser 0). Hverken i gruppen med fliser eksponeret for  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$  (Hs 0; Fliser 0,5) eller i gruppen med *H. sulphurea* eksponeret for  $0,05 \mu\text{g l}^{-1}$  (Hs 0,05; Fliser 0) var algebiomassen signifikant forskellig fra biomassen i kontrolgruppen (Hs 0; Fliser 0). Algebiomassen var signifikant højere i gruppen med fliser eksponeret for  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  (Hs 0; Fliser 5) samt i grupperne med *H. sulphurea* eksponeret for  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$  (Hs 0,5; Fliser 0) og  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  (Hs 5; Fliser 0) end i kontrolgruppen (Hs 0; Fliser 0). Algebiomassen i gruppen med *H. sulphurea* eksponeret for  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  (Hs 5; Fliser 0) var desuden signifikant højere end på ukontaminerede fliser uden dyr (Ingen Hs; Fliser 0).



Figur 3.2.17. Algebiomasse (mg Chl a m<sup>-2</sup>) på fliser i 8 forskellige grupper en uge efter pulseksponering for lambda-cyhalothrin. Signifikante forskelle i algebiomasse mellem grupperne er angivet med bogstaver: a) angiver en signifikant forskel i forhold til kontrolgruppen (Hs 0; Fliser 0), mens b) angiver en signifikant forskel i forhold til ukontaminerede fliser uden dyr (Ingen Hs; Fliser 0). Gennemsnit ± SEM, generelt n=10, dog kun n=7 i de to grupper af fliser uden dyr (Ingen Hs; Fliser 0 og Ingen Hs; Fliser 5).

I kontrolgruppen (Hs 0; Fliser 0) var overlevelsen af *H. sulphurea* 88% (Figur 3.2.18). Der var et signifikant fald i antal overlevende i gruppen med fliser eksponeret for  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  (Hs 0; Fliser 5), samt i grupperne med dyr eksponeret for 0,5 og  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  (Hs 0,5; Fliser 0 og Hs 5; Fliser 0). Overlevelsen i grupperne som var udsat for fliser eksponeret for  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$  (Hs 0; Fliser 0,5) eller som blev eksponeret direkte for  $0,05 \mu\text{g l}^{-1}$  (Hs 0,05; Fliser 0) var ikke signifikant forskellig fra kontrolgruppen (Hs 0; Fliser 0). I gruppen med dyr eksponeret for  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  (Hs 5; Fliser 0) var der kun ét overlevende individ tilbage ved forsøgets slutning.



Figur 3.2.18 Overlevelse for *Heptagenia sulphurea* (%) i 6 forskellige grupper en uge efter pulseksponering for lambda-cyhalothrin. a) angiver en signifikant forskel i forhold til kontrolgruppen (Hs 0; Fliser 0). Gennemsnit  $\pm$  SEM, n=10.

### 3.3 Langdistance-kolonisering hos smådyr i fynske vandløb

#### 3.3.1 Udvikling i udbredelse

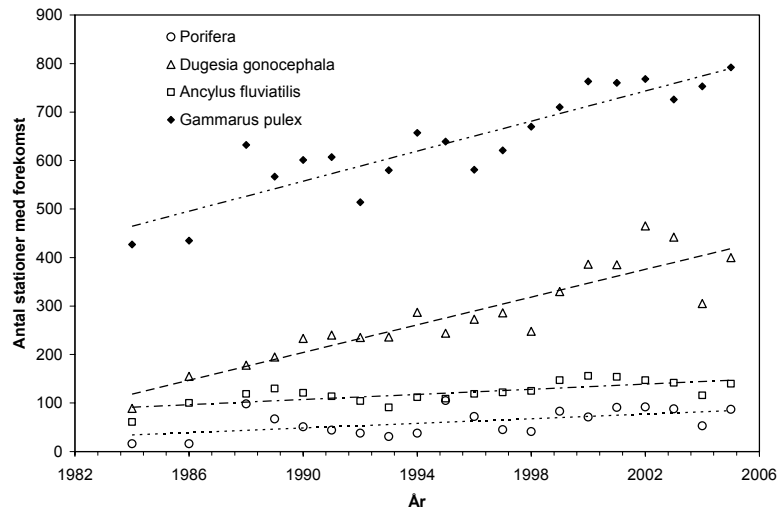
Udviklingen i udbredelsen af 20 forskellige taxa (dvs. arter/slægter eller mere overordnede grupper) af smådyr i små til store fynske vandløb er afbildet i figur 3.3.1-3.3.5. For samtlige taxa, der vurderes at kræve rent vand med lavt indhold af let omsætteligt organisk stof, var der tale om en ”støt stigende” udbredelse gennem den undersøgte periode (Tabel 3.3.1). Stigningen for perioden 1991-2006 var i samtlige tilfælde signifikant til stærkt signifikant. Data fulgte (eller kunne beskrives ved) enten en lineær (antal lokaliteter =  $\alpha \cdot \text{år} + b$ , hvor  $\alpha$  er kurvens hældning) eller en eksponentialfunktion (antal lokaliteter =  $b \cdot e^{z \cdot \text{år}}$ , hvor  $z$  er kurvens stigningstakt). Således blev udviklingen bedst beskrevet for en lineær funktion for samtlige ”ikke-insekter” og for

insekttaxa som *Ephemerella ignita*, *Paraleptophlebia submarginata*, *Isoperla grammatica*, *Elmis aenea*, *Limnius volckmari*, *Hydropsyche* spp., *Lype* spp., *Tinodes pallidulus* og Sericostomatidae. Hos insekttaxa som *Ephemera danica*, *Heptagenia sulphurea*, *Leuctra* spp. (primært *L. fusca*), *Rhyacophila fasciata*, *Agapetus* spp. (primært *A. ochripes*), og Goeridae blev udviklingen derimod bedre beskrevet ved en eksponentiel funktion.

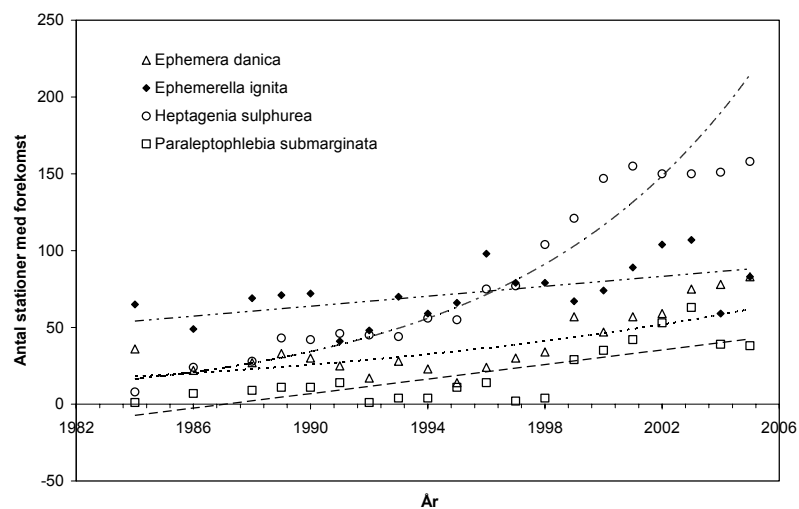
Stigningstakten varierede betydeligt fra taxa til taxa. Hos "ikke-insekterne" var den ( $\alpha$ ) væsentlig større hos fimreormen *Dugesia gonocephala* og *G. pulex* end hos Porifera (ferskvandssvampe) og huesneglen *Ancylus fluviatilis* (Tabel 3.3.1). Hos insekttaxa med "lineært udbredelsesmønster" varierede  $\alpha$  betydeligt - fra 0,7 (*Isoperla grammatica*) til 15,5 (*Elmis aenea*), mens stigningstakten ( $z$ ) hos taxa med "eksponentielt udbredelsesmønster" varierede fra 0,07 (Goeridae) til 0,15 (*Leuctra* spp.).

Tabel 3.3.1. Statistisk analyse af den tidslige udvikling i udbredelsen af udvalgte makroinvertebrater i fynske vandløb 1991-2006 (N=15). Data er testet med regressionsanalyse efter en lineær (antal lokaliteter =  $\alpha$  år + b) eller eksponentiel model (antal lokaliteter =  $b e^{z \cdot \text{år}}$ ). Samtlige relationer er statistisk signifikante (\* P< 0,05; \*\* P<0,001; \*\*\* P<0,0001).

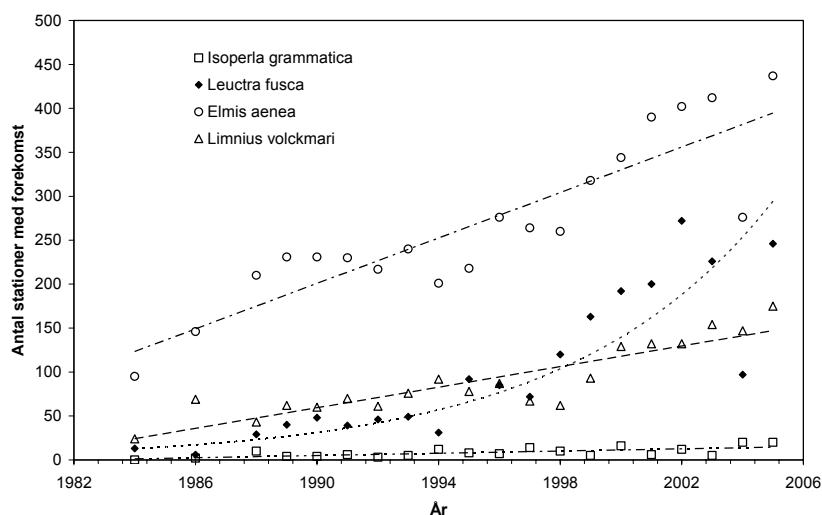
| Art/slægt/familie                    | Bedste model (N=15)   | r <sup>2</sup> | Beregnet forøgelse (%) i udbredelse over 15 år |
|--------------------------------------|-----------------------|----------------|------------------------------------------------|
| Porifera                             | Lineær (=3,1)         | 0,35*          | 110                                            |
| <i>Dugesia gonocephala</i>           | Lineær (=15,9)        | 0,71***        | 110                                            |
| <i>Ancylus fluviatilis</i>           | Lineær (=3,1)         | 0,54**         | 47                                             |
| <i>Gammarus pulex</i>                | Lineær (=19,3)        | 0,81***        | 52                                             |
| <i>Ephemera danica</i>               | Eksponentiel (z=0,11) | 0,82***        | 370                                            |
| <i>Ephemerella ignita</i>            | Lineær (=2,9)         | 0,45*          | 70                                             |
| <i>Heptagenia sulphurea</i>          | Eksponentiel (z=0,10) | 0,88***        | 310                                            |
| <i>Paraleptophlebia submarginata</i> | Lineær (=2,8)         | 0,55**         | 250                                            |
| <i>Isoperla grammatica</i>           | Lineær (=0,72)        | 0,35*          | 160                                            |
| <i>Leuctra</i> spp.                  | Eksponentiel (z=0,15) | 0,87***        | 690                                            |
| <i>Elmis aenea</i>                   | Lineær (=15,5)        | 0,76***        | 120                                            |
| <i>Limnius volckmari</i>             | Lineær (=7,8)         | 0,82***        | 220                                            |
| <i>Rhyacophila fasciata</i>          | Eksponentiel (z=0,12) | 0,66***        | 460                                            |
| <i>Agapetus</i> spp.                 | Eksponentiel (z=0,11) | 0,96***        | 390                                            |
| <i>Hydropsyche</i> spp.              | Lineær (=4,3)         | 0,40**         | 25                                             |
| <i>Lype</i> spp.                     | Lineær (=7,2)         | 0,80***        | 1200                                           |
| <i>Tinodes pallidulus</i>            | Lineær (=4,6)         | 0,37*          | 80                                             |
| <i>Lepidostoma hirtum</i>            | Lineær (=1,1)         | 0,76***        | 810                                            |
| Goeridae                             | Eksponentiel (z=0,07) | 0,84***        | 180                                            |
| Sericostomatidae                     | Lineær (=7,5)         | 0,92***        | 620                                            |



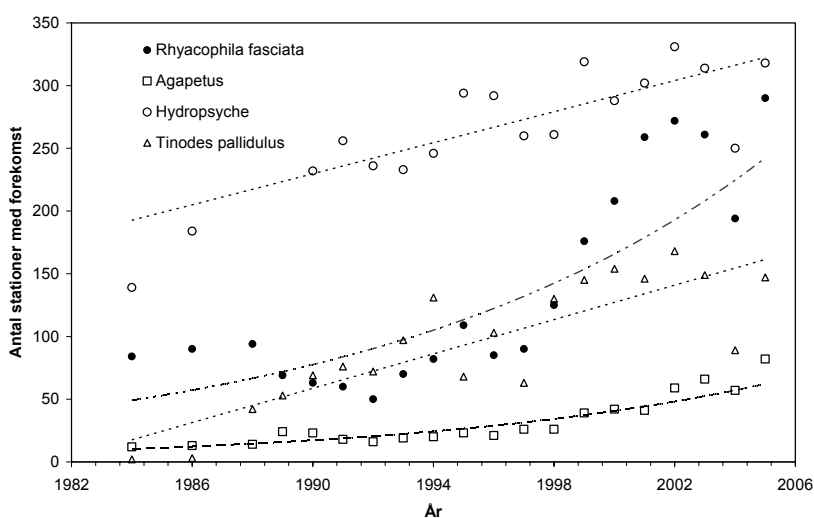
Figur 3.3.1. Udviklingen i udbredelse af udvalgte makroinvertebrater – her ikke-insekter – i fynske vandløb 1984-2005. Der er undersøgt stort set samme antal stationer igennem hele perioden.



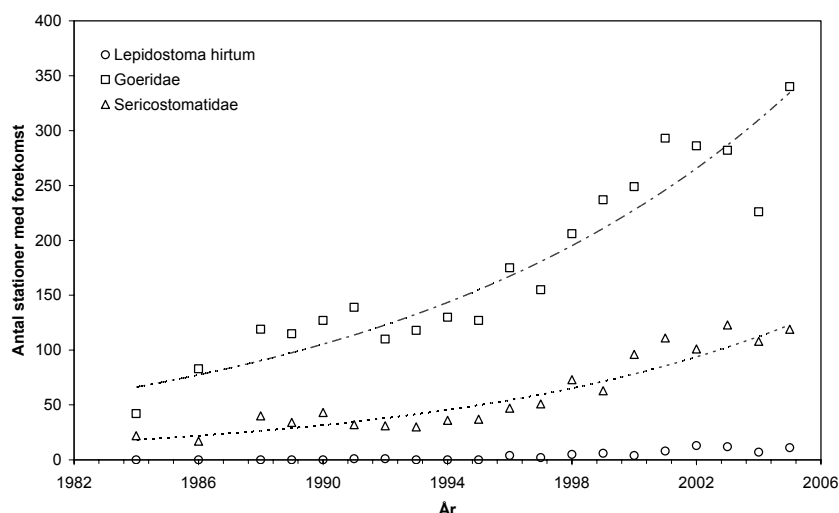
Figur 3.3.2. Udviklingen i udbredelse af udvalgte makroinvertebrater – her døgnfluer – i fynske vandløb 1984-2005. Der er undersøgt stort set samme antal stationer igennem hele perioden.



Figur 3.3.3. Udviklingen i udbredelse af udvalgte makroinvertebrater – her slørvinger (*Isoperla grammatica*, *Leuctra fusca*) og biller (*Elmia aenea*, *Limnius volckmari*) – i fynske vandløb 1984-2005. Der er undersøgt stort set samme antal stationer igennem hele perioden.



Figur 3.3.4. Udviklingen i udbredelse af udvalgte makroinvertebrater – her 4 taxa af vårfluer – i fynske vandløb 1984-2005. Der er undersøgt stort set samme antal stationer igennem hele perioden. *Agapetus* omfatter hver to arter med forskellig udbredelse, mens *Hydropsyche* omfatter 4 arter også med forskellig udbredelse og habitatkrav.



Figur 3.3.5. Udviklingen i udbredelse af udvalgte makroinvertebrater – her 3 taxa af vårfluer – i fynske vandløb 1984-2005. Der er undersøgt stort set samme antal stationer igennem hele perioden. Sericostomatidae omfatter i praksis stort set udelukkende *Sericostoma personatum*, mens Goeridae omfatter 4 arter med forskellig udbredelse og habitatkrav.

For taxa, for hvilke stigningen blev bedst beskrevet ved en eksponentiel funktion, var forøgelsen i udbredelse (%) gennem perioden på 15 år signifikant større end for taxa bedst beskrevet ved en lineær funktion (Mann-Whitney U-test,  $P=0.006$ ). Forøgelsen i udbredelse var relativt lille hos ikke-insekter (50-110%), mens visse insekter forøgede deres udbredelse med flere hundrede procent (Tabel 3.3.1).

### 3.3.2 Kolonisering af "nye" vandsystemer

De undersøgte taxa af vandinsekter var i stand til at kolonisere "nye" vandsystemer, der lå relativt langt fra nærmeste kendte levested. Både median og maksimum spredningsafstande varierede imidlertid betydeligt mellem de enkelte arter/grupper (tabel 3.3.2), hhv. 2,4-8,8 km og 3,7-19,1 km. Forskellene mellem de enkelte arter/grupper var dog kun i relativt få tilfælde signifikante. Således var koloniseringspotentialet klart mindre hos *Agapetus fuscipes* end hos *P. submarginata*, *I. grammica*, *L. fusca* og den nærtstående *A. ochripes*, mens *P. submarginata* var i stand til at sprede sig længere end *H. sulphurea* og *Silo spp.* (Mann-Whitney U-test,  $P<0,05$ ).

Betragtes hele datamaterialet under ét, var der en klar overvægt af koloniseringer i nordlige retning ( $\chi^2$ -test,  $P<0,0001$ ). Til gengæld var koloniseringsafstandene i vestlig retning større end for de i hhv. sydlig, nordlig og østlig retning (Mann-Whitney U-test,  $P<0,05$ ) (Tabel 3.3.3).

Der var ingen signifikant sammenhæng mellem den koloniserede afstand og andelen af hhv. bymæssig bebyggelse, skov eller "åbent land" langs den "rute", langs hvilken koloniseringen fandt sted ( $P>0,05$ ).

Der blev fundet en signifikant positiv sammenhæng mellem koloniseringsafstand og medgået tid til koloniseringen for det samlede sæt af data ( $r_s=0,22$ ;  $P=0,012$ ;  $N=131$ ). Der var dog betydelige forskelle mellem de enkelte arter/grupper. Således skulle *A. fuscipes* bruge relativt mange år for at

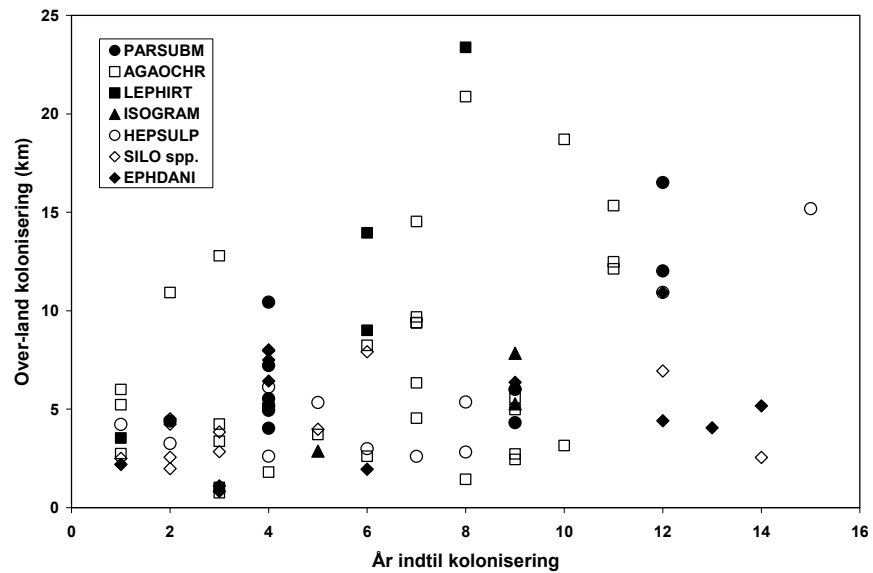
Tabel 3.3.2. Statistisk analyse af forskelle i koloniseringsafstande mellem taxa af vandinsekter i fynske vandløb i perioden 1980-2006. Forskelle i koloniseringsafstande mellem de enkelte arter/grupper er testet med Mann-Whitney's U-test. Signifikante forskelle (P-værdier <0,05) er markeret med fed & kursiv; N = antallet af observationer. Slørvinger: *Isoperla grammatica* (ISO), *Leuctra fusca* (LEU); døgnfluer: *Ephemera danica* (EPH), *Heptagenia sulphurea* (HEP), *Paraleptophlebia submarginata* (PAR); vårfluer: *Agapetus fuscipes* (AGAF), *Agapetus ochripes* (AGAO), *Lepidostoma hirtum* (LEP), *Silo pallipes+nigricornis* (SILO).

| Taxa | P-værdier |             |              |             |             |             |      |      |     | Koloniseringsafstand (km) |       | N  |
|------|-----------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|------|------|-----|---------------------------|-------|----|
|      | EPH       | HEP         | PAR          | LEU         | ISO         | AGAF        | AGAO | LEP  | SIL | Median                    | Maks. |    |
| EPH  |           |             |              |             |             |             |      |      |     | 5                         | 11,4  | 12 |
| HEP  | 0,77      |             |              |             |             |             |      |      |     | 3,7                       | 14,5  | 12 |
| PAR  | 0,14      | <b>0,02</b> |              |             |             |             |      |      |     | 6,1                       | 16,5  | 11 |
| LEU  | 0,38      | 0,50        | 0,12         |             |             |             |      |      |     | 4,8                       | 13,3  | 40 |
| ISO  | 0,72      | 0,54        | 0,19         | 0,74        |             |             |      |      |     | 4,4                       | 7,7   | 4  |
| AGAF | 0,10      | <b>0,06</b> | <b>0,004</b> | <b>0,03</b> | <b>0,04</b> |             |      |      |     | 2,4                       | 3,7   | 4  |
| AGAO | 0,40      | 0,32        | 0,21         | 0,45        | 0,62        | <b>0,03</b> |      |      |     | 4,9                       | 18,7  | 29 |
| LEP  | 0,27      | 0,53        | 0,91         | 0,45        | 0,54        | 0,14        | 0,75 |      |     | 8,8                       | 19,1  | 5  |
| SILO | 0,69      | 0,77        | <b>0,01</b>  | 0,17        | 0,36        | <b>0,08</b> | 0,15 | 0,34 |     | 3,7                       | 7,1   | 12 |

Tabel 3.3.3. Statistisk analyse af forskelle i koloniseringsretninger for vandinsekter i fynske vandløb i perioden 1980-2006. Forskelle i koloniseringsretning er testet med Chi<sup>2</sup>-test, forskelle i afstande med Mann-Whitney U-test. Signifikante forskelle (P-værdier <0,05) er markeret med forkortelsen for den pågældende retning (S, V, N, Ø).

|                      | Sydlig retning (S) | Vestlig retning (V)  | Nordlig retning (N) | Østlig retning (Ø) |
|----------------------|--------------------|----------------------|---------------------|--------------------|
| Antal koloniseringer | 25                 | 28                   | 51 <sup>S,V,Ø</sup> | 27                 |
| Median afstand (km)  | 4,4                | 7,2 <sup>S,N,Ø</sup> | 4,2                 | 4,1                |

kolonisere vandsystemer, som kun lå i relativt kort afstand fra "udgangspunktet", mens der hos *L. fusca* ikke var nogen signifikant sammenhæng mellem koloniseringsafstand og medgået tid til koloniseringen ( $r_s = -0,05$ ;  $P = 0,75$ ;  $N = 40$ ). Udelukkes disse to arter fra analysen fås en væsentlig stærkere sammenhæng mellem koloniseringsafstand og medgået tid til koloniseringen ( $r_s = 0,40$ ;  $P < 0,0001$ ;  $N = 85$ ), se figur 3.3.6.



Figur 3.3.6. Sammenhæng mellem kolonisationsafstand (dvs. afstand fra koloniseret lokalitet til nærmeste kendte population) og den tid der forløb, før koloniseringen fandt sted, for 8 forskellige taxa af vandsløbsinsekter i fynske vandløb i perioden 1980-2006. Slørvinger: *Isoperla grammatica* (ISOGRAM); døgnfluer: *Ephemera danica* (EPHDANI), *Heptagenia sulphurea* (HEPSULP), *Paraleptophlebia submarginata* (PARSUBM); vårfluer: *Agapetis ochripes* (AGAOCHR), *Lepidostoma hirtum* (LEPHIRT), *Silo pallipes+nigricornis* (SILO spp.)

## 4 Diskussion

### 4.1 Effekter af pulspåvirkninger med pyrethroid på makroinvertebratsamfunds struktur, funktion og mulighed for rekolonisering

#### 4.1.1 Kunstige substrater i naturlige vandløb

Forsøgene i de midtjyske vandløb viste ingen entydige effekter på smådyrene i udlagte kunstige substrater i forbindelse med en 90 min's pulseksponering med to forskellige koncentrationer af pyrethroidet lambda-cyhalothrin. I de tre af i alt 9 vandløb, hvorfra data blev bearbejdet, var der kun for enkelte taxa (*G. pulex* og enkelte slørvinger) tegn på, at flere individer forlod de pyrethroidbehandlede substrater end de ubehandlede under selve eksponeringen i forsøgsrenderne. Responset for de pågældende taxa var imidlertid ikke konsekvent for samtlige tre vandløb eller for begge typer af substrater (hhv. gruskopper og bladpakker) i det enkelte vandløb. Dertil kom, at den efterfølgende rekolonisering af de genudlagte substrater foregik med samme hastighed og tilsyneladende på samme måde, hvad enten substraterne havde været udsat for pyrethroid eller ej. Kun på dag 1 efter eksponeringen sås for den høje koncentration af lambda-cyhalothrin ( $5,0 \mu\text{g l}^{-1}$ ) en signifikant reduktion i individantallet af *G. pulex* i samtlige tre vandløb og for Orthocladinae i to af vandløbene, men dog ikke for begge substrattyper samtidig.

Der kunne kun påvises en begrænset effekt af selv den høje pyrethroidkoncentration under selve eksponeringen på trods af, at denne koncentration med sikkerhed må have haft dødelig effekt på insekter og krebsdyr i de kunstige substrater (se fx Nørum et al. 2006, Van Wijngaarden et al. 2005, samt nærværende laboratorieforsøg). Det var således muligt at iagttage en direkte effekt? på adskillige af smådyrenes adfærd i de pesticidbehandlede forsøgsrender. Forklaringen på den tilsyneladende skjulte effekt er uden tvivl smådyrenes udprægede krav til en passende høj strømhastighed. De kunstige substrater var således udlagt på stryg og derfor i høj grad koloniseret af taxa, som kræver en relativt stor strømhastighed for at kunne optage tilstrækkelige mængder ilt hen over deres kropsoverflade. Mens strømhastigheden i vandløbene således var af størrelsesordenen  $25\text{-}50 \text{ cm s}^{-1}$ , var den i forsøgsrenderne væsentlig under  $1 \text{ cm s}^{-1}$ , hvilket må have stresset de fleste smådyr så meget, at de også forlod substraterne i kontrolrenden. Dertil kommer, at mange dyr må formodes at have forladt substraterne under transporten til og fra forsøgsrenderne. Forsøgsdesignet må således betragtes som uegnet til det ønskede formål.

Derimod kunne der have været en effekt på smådyrene af pyrethroidbehandlingen under selv rekoloniseringsperioden som følge af en kontaminering af de kunstige substrater med lambda-cyhalothrin. Dette stof bindes således meget stærkt til bl.a. organisk stof (Hand et al. 2001). Sagt med andre ord: de pyrethroidbehandlede blade og algebegroede gruskopper kunne forventeligt have været ikke-attraktive som føde eller direkte giftige for de smådyr, som var iturivere eller græssere. Vi var imidlertid ikke i stand til at

påvise en sådan effekt, sådan som det ellers var tilfældet ved vores laboratorieforsøg, herunder de små strømrønder, og ved bladpakke forsøgene i Stavisk (se senere).

For bladpakkernes vedkommende er én mulig forklaring, at disse var pakket så tæt, at kun de yderste blade reelt kom i væsentlig kontakt med pyrethroidet under eksponeringen (yderligere fremmet af den ringe vandhastighed) og derved blev kontamineret (via adsorption).

Under alle omstændigheder kunne der heller ikke i nogen af de 6 vandløb (hvorfra data var anvendelige) påvises signifikante forskelle i nedbrydningshastigheden mellem ubehandlede og pyrethroidbehandlede blade. Sådanne forskelle ville i givet fald have været forårsaget af effekter på de smådyr (iturivere), som omsatte bladene. Tilstedeværende iturivere vil normalt udnytte bladene som føde, ikke bare som skjulested (Dobson et al. 1992). Og de vil klart foretrække konditionerede blade frem for ikke-konditionerede (fx Iversen 1973, 1974, 1975, Madsen 1974). I vores forsøg burde bladene allerede på tidspunktet for eksponeringen have været tilstrækkeligt konditionerede (se Iversen 1973). Eftersom det i flere studier er vist, at væggtab af fx bøgeblade er positivt korreleret med antallet af *G. pulex* (og andre iturivere) (Iversen 1975, Maltby et al. 2002, Dangles et al. 2004) er det naturligvis afgørende, om tætheden af iturivere var så stor, at de reelt var i stand til at fjerne en væsentlig del af bladene. Denne tæthed og taxonsammensætningen af iturivere varierede mellem de tre undersøgte vandløb (fra 28 individer bladpakke<sup>-1</sup> i Hagenstrup Møllebæk til 8,3-10,5 individer bladpakke<sup>-1</sup> i de to andre vandløb). For *G. pulex*, som regnes for en af de vigtigste iturivere, varierede tætheden mellem 0,5 til 26 individer bladpakke<sup>-1</sup>. Uanset tvivl om, hvorvidt de "teoretiske" iturivere også er iturivere i praksis (Tachet et al. 1987, Graca 2001), var tætheden af iturivere i de tre vandløb væsentlig mindre end i fx Stavisk Å, hvor de i gennemsnit forekom 64 individer bladpakke<sup>-1</sup> (og helt op til 225 individer bladpakke<sup>-1</sup>). På den anden side burde alene tætheden af *G. pulex* i to af vandløbene være nok til at forklare de fundne nedbrydningsrater på 6-12 mg bladpakke<sup>-1</sup> dag<sup>-1</sup>, idet det under laboratoriebetinger er målt, at én voksen *G. pulex* kan omsætte 0,5-1 mg elmeblade(tv) dag<sup>-1</sup> (Sutcliffe et al. 1981, se også afsnit 3.2.2), også selvom elmeblade omsættes hurtigere end bøgeblade. Imidlertid var nedbrydningen af bladmaterialet stort set konstant over tid i de undersøgte vandløb, ligesom nedbrydningsraten var relativt lille og kun varierede lidt fra vandløb til vandløb. Konstant nedbrydning af bladmateriale over tid er fundet ved andre studier (Braioni et al. 2001, Webster et al. 2001), mens det mest normale er en eksponentielt aftagende nedbrydning (fx Rowe et al. 1996, Dangles et al. 2004, Benfield 2006). Det skyldes bl.a., at de mest eftertragtede dele af bladene bliver spist først; sideløbende med denne proces aftager biomassen og diversiteten af ituriverne (se fx Dobson 1994). Vores tre undersøgte vandløb viste ingen sådan aftagende biodiversitet. Det understøtter den hypotese, at ituriverne ikke spiste af bladene i større omfang – heller ikke de ubehandlede. En mulig årsag er de relativt lave temperaturer, som forekom under forsøgene, idet fx *G. pulex*'s fødeoptagelse er stærkt positivt korreleret med temperaturen (Maltby et al. 2002). Der kan således i stedet have været tale om nedbrydning, som snarere skyldes strømmens påvirkning evt. i kombination med mikrobiel nedbrydning (se fx Benfield et al. 1977). Bladene var således placeret på lavvandede stryg, hvor strømhastigheden var relativt stor og det fysiske slid på bladene derfor betydeligt. Dette understøttes af Bird & Kaushik (1992), der fandt samme nedbrydningshastighed for blade i et landbrugsvandløb som i et skovvandløb,

og hvor nedbrydningen i først nævnte havde mekaniske årsager, mens den i sidstnævnte skyldtes iturivere. Det er imidlertid vanskeligt at se bort fra iturivernes betydning, selvom deres aktivitet var begrænset af relativt lave temperaturer, ikke mindst fordi undersøgelser i midtjyske skovvandløb synes at vise, at iturivere i udstrakt grad er fødebegrænsede (Friberg 1996), hvilket ikke burde være tilfældet i vores forsøg - snarere tværtimod (udbudet af blade var uden tvivl meget stort, sammenlignet med forholdene på den omgivende vandløbsbund). En anden mulighed er, at ituriverne (primært *G. pulex*) udnyttede andre og mere attraktive fødekilder (fx elleblade, alger, andre smådyr - se fx Friberg & Jacobsen 1994, Carvalho & Graça 2007), og blot brugte bladpakkerne som refugier. Det er således påvist, at *G. pulex* både kan græsse alger, spise fint detritus og endda fungere som rovdyr (Moore 1975, Sutcliffe et al. 1981, Kelly et al. 2002).

Selvom vi således ikke kunne påvise "funktionelle effekter" af pesticider på smådyrenes stofomsætning i kunstige substrater i naturlige vandløb, er det tidligere vist, at tilførsel af insekticider (i relativt høje koncentrationer) til vandløbsstrækninger kunne reducere tætheden af smådyr så meget, at nedbrydningen af blade blev reduceret med 50-74% (Cuffney et al. 1990, Wallace et al. 1995). Sådanne effekter blev påvist i vores forsøg i både små strømrrender og laboratorietanke.

Vi fandt heller ingen "funktionelle effekter" i form af reduceret græsning for de bentiske algers vedkommende. Det kan muligvis forklares ved, at strømmen bortsled de "kontaminerede" alger i takt med, at ny ukontaminerede alger voksede frem. Det er også muligt, at dyrene kun i mindre omfang fouragerede på gruskopperne, men snarere uden for disse, og blot brugt dem som midlertidigt opholdsted henset til den meget korte afstand mellem substrat og omgivende vandløbsbund (se fx Giller & Cambell 1989). Det er endvidere muligt, at algevæksten på det naturlige substrat har været mere attraktiv end den på gruskopperne. I det hele taget er koloniseringen af sådanne kunstige substrater meget dynamisk, hvor der fx er en stor udskiftning af arter inden for de første 10 dage (Minshall & Petersen 1985).

Generelt viste vores undersøgelser dog, at koloniseringen af de kunstige substrater foregik meget hurtigt. Dette er også vist i andre undersøgelser, hvor smådyrene indfandt sig allerede – og endda i naturlige tætheder - inden for de første 24 timer (Wise & Molles 1979, Ciborowski & Clifford 1984, Lake & Doeg 1985, Pearson & Jones 1987, Boulton et al. 1988, Doeg et al. 1989b). Egentlige samfund af smådyr kan endvidere stabiliseres allerede efter 3-10 dage (Bournaud et al. 1978, Minshall & Petersen 1985). Nogle af de koloniserende taxa i vores vandløb (fx *G. pulex*, *B. risi*, *B. rhodani* og Simuliidae) koloniserede formodentlig via drift, idet de var dominerende i driftprøverne. Dette er ikke overraskende, idet andre studier har vist, at netop *Gammarus*, døgnfluer, slørvinger, kvægmyg, visse vårfluer og dansemyg er vigtige grupper i drift (fx Bournaud et al. 1978, Brittain & Eikeland 1988, Wallace et al. 1991), og at en meget væsentlig del (40-80% på individniveau) af koloniseringen af vandløbsbunden foregår ved drift (fx Williams & Hynes 1976, Townsend & Hildrew 1976, Bournaud et al. 1978, Pearson & Jones 1987). Desuden fandt Townsend & Hildrew (1976), at i gennemsnit 2,6% af de bundlevende smådyr kunne skifte position hver dag som følge af drift, idet denne andel dog kan øges meget voldsomt under situationer, hvor fx vandføringen øges ekstremt (McLay 1968).

Andre koloniseringsveje som fx vandringer i op- eller nedstrøms retning eller vinkelret på vandløbet kan dog være næsten ligeså betydende som drift (Bishop & Hynes 1969, Williams & More 1982, Elliott 1971, 2003, Pearson & Jones 1987). Dette fremgik også af vores forsøg, idet mange taxa koloniserede udmærket uden overhovedet eller i det mindste meget sjældent at forekomme i driftprøverne. Henset til at de kunstige substrater var relativt små, var kontaktfladen med den omgivende vandløbsbund meget stor. Det er således sandsynligt, at netop indvandring fra de nærmeste omgivelser har haft stor betydning og bidraget til den meget hurtige kolonisering (se fx modelbetragtninger i Englund & Hambäck 2004). Uanset at koloniseringen således var hurtig, udviklede smådyrsfaunaen i såvel ubehandlede som pyrethroid-behandlede substrater sig mere eller mindre markant gennem de 30 dage efter eksponeringen. Generelt kom faunasammensætningen dog ikke til at ligne den før eksponeringen. Dette er ikke overraskende, idet Winterbottom et al. (1997) gennem en periode af 26 uger fandt en meget dynamisk kolonisering (med konstante ændringer i dyrenes mikrofordeling) af bokse med grus/sten med næsten det samme areal som vores (se også Minshall & Petersen 1985).

Den meget hurtige kolonisering – som formodes primært at være sket fra de nære omgivelser – er uden tvivl en stærkt medvirkende forklaring på, at vi ikke havde nogen mulighed for at underbygge hypotesen om, at koloniseringen ville afhænge af vandløbets størrelse og dermed størrelsen af det opstrøms beliggende vandløbsareal, hvorfra en væsentlig del af koloniseringen teoretisk kunne ske. Derimod fandt vi den forventede positive sammenhæng mellem vandløbets størrelse og antallet af taxa (og antallet af EPT taxa). Sammenhængen blev fundet for såvel begge de kunstige substrater som sparkeprøverne. En sandsynlig forklaring på denne sammenhæng er formodentlig, at antallet af forskellige habitater øges med stigende vandløbsstørrelse (se fx Friberg & Jacobsen 1997, Wiberg-Larsen et al. 2000). Dette kan umiddelbart forklare sammenhængen for sparkeprøvernes vedkommende, der på baggrund af indsamlingsmetoden dækkede et bredt udsnit af habitater (Miljøstyrelsen 1998). Men det er straks vanskeligere at forklare sammenhængen for de ensartede kunstige substrater. Forklaringen kan dog være den samme, nemlig at den store Mattrup Å rummer et større antal habitater end den mindre Hagenstrup Møllebæk, og at artsrigdommen på de kunstige substrater blot afspejler den generelle habitatrigdom via de indvandrende arter herfra, også selvom de kunstige substrater på et givet tidspunkt blot indeholdt et ”udsnit” af de tilstedeværende taxa.

#### 4.1.2 Kunstige substrater i Stavis Å

I Stavis Å forsøget, hvor der blev udlagt hhv. pyrethroidbehandlede og ubehandlede bladpakker, blev disse – ligesom bladpakkerne i de midtjyske vandløb - meget hurtigt koloniseret. Allerede efter 3 dage var langt størstedelen af de potentielle taxa tilstede. For adskillige af disse taxa, som sjældent optræder i drift (fimreorme, igler, klobiller, visse af vårfluerne, muslinger) skete koloniseringen uden tvivl fra de nære omgivelser (se Brittain & Eikeland 1988), ligesom det formodentlig var tilfældet for bladpakkerne i de midtjyske vandløb. Til gengæld koloniserede fx *G. pulex*, *B. rhodani* og *Hydropsyche*-arterne formodentlig i stort omfang via drift (Brittain & Eikeland 1988), ligesom disse taxa naturligvis il? at svømme eller kravle, og derved også kan være kommet fra de nærmeste omgivelser. Uanset koloniseringsmåde er det bemærkelsesværdigt, at den potentielle mobilitet tilsyneladende ikke havde indflydelse på koloniseringshastigheden. Således indvandrede forventet ”langsomme” taxa som klobiller (*E. aenea* og *L. volckmari*) og vårfluen *A.*

*ochripes* med samme hastighed som hurtigt svømmende/kravlende *G. pulex* og *B. rhodani*.

Sammensætningen af taxa i bladpakkerne udviklede sig – uanset om bladpakkerne var blevet behandlet med pyrethroid eller ej - gennem hele forsøgsperioden. Således øgedes biodiversiteten målt som Simpsons Dominans Indeks, Evenness, antal taxa, antal EPT taxa, samlet individantal og antal individer af EPT taxa. Også antallet af den dominerende ituriver, *G. pulex* forøgedes gennem tiden. Ligeledes reduceredes den meget betydelige variation mellem replikate bladpakker med tiden, hvilket umiddelbart kan forklares med en tiltagende fødeværdi af bladene, der kun havde ligget i åvand i én uge forud for udlægningen. Det er således veldokumenteret, at kolonisering af blade med specielt mikrosvampe, der nedbryder stofferne i bladene, bidrager til at øge deres fødeværdi (Suberkropp et al. 1983, Arsuffi & Suberkropp 1988, Barlöcher 1992, Graca & Ferreira 1995). Denne såkaldte konditionering af bladene (Golladay et al. 1985) gør dem blødere og dermed mere tilgængelige (Suberkropp et al. 1983, Graca et al. 1993b), ligesom svampene selv direkte er et vigtigt fødeemne, idet deres indhold af essentielt vigtige kvælstofforbindelser er væsentlig højere end i bladmaterialet (Slansky & Scriber 1985). Iturivernes betydning for omsætningen af bladene er således primært at nedbryde dem fysisk, hvorved der produceres finere partikler (bl.a. som fækalier), som efterfølgende nedbrydes af mikrosvampe, hvorved hele nedbrydningsprocessen accelereres (Graca 2001). Det er endvidere påvist, at hvis der alene er ukonditionerede blade til rådighed for ituriverne, reduceres disses vækst (Graca et al. 1993b, Lawson et al. 1984), overlevelse (Bueler 1984) og formering (Graca et al. 1993b). Eftersom iturivere er i stand til at ”vurdere” bladene fødeværdi (se fx Arsuffi & Superkropp 1989, Superkropp 1992, Graca et al. 1993a), har disse og andre taxa i starten formodentlig blot brugt bladpakkerne som simpelt opholds- og skjulested, muligvis fremmet af de meget store afstrømninger, der må have medført en voldsom forøgelse af driften (se fx (Brittain & Eikeland 1988)).

Det er derfor forståeligt, at der inden for de første to uger ikke kunne påvises tydelige forskelle i biodiversitet, artssammensætning og stofomsætning mellem lambda-cyhalothrin behandlede og ubehandlede bladpakker. Kun den langt større udskiftning af arter (arts turnover) i de behandlede blade sammenlignet med de ubehandlede kan fortolkes som en pesticideffekt. Umiddelbart var det forventet, at virkningen på smådyrene af de behandlede blade ville være størst umiddelbart efter udlægningen for derefter at aftage med tiden (i takt med afskylning og nedbrydning af pyrethroidet). Vores laboratorieforsøg viste således en markant reduktion i omsætningen af blade under tilstedeværelsen af iturivere som *G. pulex* og vårfluerne *S. personatum* og *C. villosa*, når bladene var blevet behandlet med samme koncentration som de udlagte blade, ligesom Lauridsen et al. (2006) fandt reduceret bladoomsætning hos *G. pulex* og *S. personatum*, når bladene var blevet behandlet med  $1,5 \mu\text{g l}^{-1}$  af lambda-cyhalothrin. Ligeledes var fysiske aktivitet hos ituriverne i vores laboratorieforsøg markant nedsat. I Stavis Å var der først en påviselig effekt af pyrethroidbehandlingen på dag 30 og 60, hvilken kom til udtryk ved et lavere individantal, lavere antal individer af EPT taxa, færre *G. pulex*, lavere Simpson's D og Evenness, og generelt ændret artssammensætning. Selvom pyrethroider som allerede nævnt bindes stærkt til organisk stof, er det alligevel bemærkelsesværdigt, at de selv efter 2 måneder i stærkt strømmende vand syntes at påvirke smådyrene i de behandlede blade. Muligvis var nedbrydningen af lambda-cyhalothrin reduceret pga. årstidens lave temperatur og reducerede lysindstråling.

De nævnte forskelle i artssammensætning mellem behandlede og ubehandlede bladpakker afspejledes imidlertid ikke entydigt ved en relativt mindre nedbrydning af de behandlede blade. Ganske vist var nedbrydningen generelt mindre i de behandlede blade, men den daglige omsætning var ens for ubehandlede og behandlede blade. Dette er bemærkelsesværdigt, eftersom det er påvist ved laboratorieforsøg og forsøg i små strømrrender, at pyrethroid-kontaminerede blade hæmmer ituriveres omsætning af blade (fx Møhlenberg et al. 2004, Lauridsen et al. 2006, nærværende undersøgelse). Effekten skyldes derfor muligvis, at de behandlede blade var mindre attraktive snarere end direkte giftige. Møhlenberg et al. (2004) og Lauridsen et al. (2006) fandt således, at *G. pulex*'s og *S. personatum*'s omsætning af pyrethroidbehandlede elleblade (eksponerede i 1-7 dage ved op til 1,5-2 µg esfenvalerat l<sup>-1</sup>) blev kraftigt reduceret, uden at der samtidig forekom øget dødelighed. Forklaringen på den manglende entydige effekt i Stavis Å er derfor muligvis, at ituriverne generelt kun i meget ringe omfang spiste de tilbudte blade, uanset om de var behandlede eller ej. Dette understøttes af, at antallet af iturivere var langt større, men det daglige vægttab af bladene samtidig mindre, i Stavis Å end i fx de tre midtjyske vandløb. Ligesom i de midtjyske vandløb burde antallet af iturivere have været mere end tilstrækkelige til en langt hurtigere omsætning af bladene. Det er også muligt, at især *G. pulex* i Stavis Å udnyttede andre fødekilder (fx mere næringsrige elleblade fra den omkringstående skov), eller simpelthen ikke omsatte så meget føde pga. af de lave temperaturer. Således fandt Maltby et al (2002), at *G. pulex*'s omsætning af elleblade i en række engelske vandløb var stærkt positivt korreleret med temperaturen. Benyttes relationen i Maltby et al. (2002) ville *G. pulex*'s omsætning kun være ca. 20% ved middeltemperaturen under forsøget i Stavis Å sammenlignet med omsætningen ved 15 °C, som forekommer i dette vandløb om sommeren (Wiberg-Larsen, upublicerede data). Dertil kommer, at der ved temperaturer nær frysepunktet kan ske en hurtig fysisk nedbrydning af blade? (Irons et al. 1994), ligesom fysisk nedbrydning generelt - evt. i kombination med mikrobiel omsætning - kan have stor betydning sammenlignet med den nedbrydning, som skyldes ituriverne (Benfield et al. 1977).

#### 4.1.3 Kunstige vandløb

Brug af mesokosmos til eksperimentelle studier har fået stigende bevågenhed med henblik på at kunne gengive forholdene i naturlige vandløb, og for kontrolleret at kunne manipulere fysiske, kemiske og biologiske forhold med gentagelser (se fx Ladle et al. 1980, Culp et al. 2000, Petersen & Englund 2005, Harris et al. 2007). Således lykkedes det Harris et al. (2007) at etablere 12 udendørs render af lignende dimensioner og udformning som vores, og som kunne replikeres fysisk-kemisk såvel som biologisk. Ligesom i vores tilfælde anvendtes vandløbsvand til at føde renderne, dog uden pumpning. Sidstnævnte er en åbenlys teknisk fordel, hvilket vores problemer med at sikre en pålidelig indpumpning af vand over tid viser. Desuden er brug af pumper til de aktuelle vandmængder naturligvis relativt udgiftstung. Dertil kommer, at det uden pumpning er langt lettere at kolonisere renderne via drift mv. fra "fødevandløbet" end at skulle pøde dem.

Selvom der formodentlig blev foretaget en vellykket podning af renderne med dyr fra Lemming Å, kom taxonsammensætningen i renderne ikke helt til at ligne den, som var til stede i dette vandløb. Renderne havde således en stor dominans af Oligochaeta (børsteorme af familien Tubificidae) og Tanytarsini (undergruppe af dansemyg). Begge grupper er knyttet til og tilpasset livet i de

slammede habitater, som opstod i renderne, bl.a. hjulpet på vej af opvækst af trådformede alger, som bidrog til at "holde på" slammet. Således dannede *Cladophora* bevoksninger på stenene, mens ikke mindst *Vaucheria* groede i tykke "kager" på slamaflejringer langs rendernes sider. Forekomsten af både slam og Tubificidae kan formentlig forklares med, at der kort efter, at der blev tilført vand til renderne, også blev tilført en del slam fra pumpebassinet. Aksialpumpen var således i starten placeret så tæt ved bunden af dette, at den sugede slam med op – og selvfølgelig også de dyr, som var heri. Bl.a. blev der tilført adskillige mere eller mindre beskadigede eksemplarer af den store mosesnegl *Lymnea stagnalis*, som i øvrigt ikke er knyttet til selve Lemming Å. De mange Tanytarsini i renderne kunne også stamme fra pumpebassinet. Mere sandsynligt er dog, at de skyldes kolonisering via voksne hunners æglægning. Gruppen var således repræsenteret ved slægten *Micropsectra*, som har flere generationer om året, hvoraf den seneste kan flyve i september-oktober (Lindgaard-Petersen 1972). Hypotesen om en luftbåren kolonisering støttes af, at der i samme periode sås kolonisering af samme dansemyg i nogle lavvandede pytter på arealet ved siden af renderne. Chironomider, bl.a. *Micropsectra*, er i øvrigt kendt som meget hurtige luftbårne kolonisorer (se fx Ladle et al. 1980, Gray & Fischer 1981, Molles 1985, Whiles & Wallace 1992).

Manglen på vanddybde i pumpebassinet var i øvrigt medvirkende årsag til, at der opstod driftsforstyrrelser for pumpen og deraf følgende ophør af vandføring eller i det mindste kortvarigt reduceret vandføring. Dette problem blev dog udbedret ved uddybning af pumpebassinet. Intet tyder dog på, at det havde væsentlig indflydelse på forsøget.

Selvom Oligochaeta, Tanytarsini (*Micropsectra*) og til en vis grad også Orthocladiinae således syntes "overrepræsenterede" i renderne i forhold til Lemming Å, kan disse taxa faktisk udgøre en betragtelig del af den samlede smådyrsfauna i danske vandløb. Således fandt Friberg (1996) tætheder på op til 3300, 2400 og 1400 individer  $m^{-2}$  for de tre taxa i en række midtjyske skovbække, hvilke er større tætheder end i renderne. For *G. pulex*, som sammen med *B. rhodani* også var blandt de dominerende taxa i renderne, var de opnåede tætheder (i middel ca. 930 individer  $m^{-2}$ ) af samme størrelsesorden (1000-2500 individer  $m^{-2}$ ), som i midtjyske skovbække (Friberg 1996). Tæthederne af samtlige smådyr i renderne, der i middel var 7100 individer  $m^{-2}$ , men som lokalt nåede næsten 35 000 individer  $m^{-2}$ , var derfor ikke overraskende af samme størrelsesorden som fundet i en række danske vandløb. Således fandt Kristensen (2004) i gennemsnit 8800 individer  $m^{-2}$  i 21 naturlige, genslyngede eller regulerede jyske vandløb, Neergaard (2008) i gennemsnit 14 000 individer  $m^{-2}$  (variation 5000-35 000) i tre midt- og østjyske vandløb, og Friberg (1996) 6300-14 000 individer  $m^{-2}$  i fire midtjyske skovvandløb. Endelig er det værd at nævne, at Harris et al. (2007) i deres sammenlignelige strømrrender opnåede en taxonsammensætning og individtætheder ikke særlig ulig vores. Samtidig opnåede de en taxonrigdom på 87% af den i "fødevandløbet", noget mere end i vores tilfælde. Det er imidlertid også værd at fremhæve, at artssammensætningen i deres render ændrede sig signifikant igennem undersøgelsesperioden på 2 år.

Mens vores render blev koloniseret via "podning", indpumpning af slam og vand, samt æglæggende insekter (Tanytarsini), og de render, som blev benyttet af Harris et al. (2007), blev koloniseret via fødevandløbet, skete koloniseringen i en kunstig rende, hvor vandet blev recirkuleret og hvor der derfor ingen kontakt var med andre vandområder, næsten alene ved

æglæggende insekter (Ladle et al. 1980). Til trods for dette var det i den recirkulerede rende muligt i løbet af ét år at opnå en yderst divers insektfauna, som også omfattede enkelte ikke-insekter. Tæthederne nåede samlet op på ca. 70 000 individer  $m^{-2}$ , primært forskellige dansemyg.

Samlet set er det vores vurdering, at det lykkedes at skabe et relativt naturligt og biologisk varieret samfund af smådyr i renderne, som var egnet som mål for de planlagte effektstudier. Der var således ikke tale om unormalt store eller unormalt små tætheder af de enkelte taxa. Dette er væsentligt, idet det – i hvert fald i mikrokosmosstudier – er vist, at ”overbefolkning” hos vårfluen *Limnephilus lunatus* kunne sløre de toksiske effekter af pyrethroidet fenvalerat (Liess 2002).

Der var overordnet set mindre forskelle i antallet af taxa og individer mellem de seks render. De var altså ikke ens, men forskellene blev dog klart overskygget af de ændringer, som behandlingen med pyrethroid medførte.

For bl.a. *G. pulex* var der umiddelbart før eksponeringen en markant gradient i tætheder på langs af renderne. I kontrolrenderne blev denne forskel udlignet i løbet af forsøgsperioden. Dette antyder, at fordelingen på langs i renderne for flere arter ikke var forløbet til ende på eksponeringstidspunktet. *G. pulex* drifter som allerede omtalt i betydeligt omfang, idet sammenhængen mellem driftafstand og vandhastighed bedst kan beskrives af en potensfunktion, mens driftsraten påvirkes positivt af både vandhastigheden og individtætheden (Elliott 2002a,b). Hverken vandhastigheden eller tætheden af *G. pulex* i vores render var dog relativt stor, hvilket ifølge data fra Elliott (2002a,b) skulle medføre driftafstande på omkring 1 m og en relativt lille driftsrate. Dette synes at stemme udmærket overens med, at vi målte små driftstab under ”normale” omstændigheder, såvel i dag- som i nattetimerne, og at disse drifttab blev ”afbalanceret” via tilførsel af individer i det indpumpede vand. Imidlertid er *G. pulex* kendt for at udvise en adfærd med udpræget opstrømsvandring (Elliott 1971, Söderström 1987), der i betydeligt omfang kompenserer for nedstrøms drift og nedstrøms vandringer. Vandringen opstrøms må således i væsentlig omfang formodes at have oversteget både drift og nedstrøms vandring.

Selvom driftraten hos *G. pulex* kan være positivt relateret til tætheden af individer (Elliott 2002b), er dette ikke nødvendigvis tilfældet for andre arter. Således fandt Humphries (2002), at driftsraten hos *B. rhodani* var uafhængig af individtætheden. Der blev således ikke fundet nogen tydelig gradient i fordelingen af *B. rhodani* ned gennem kontrolrenderne, hvilket tyder på en ”balance” mellem drift/nedstrøms vandring og opstrømsvandring.

Behandlingen med lambda-cyhalothrin af de nedre halvdele af tre af renderne medførte en voldsom katastrofedrift. Under og to timer efter behandlingen forsvandt der således 157-757 individer af smådyr  $m^{-2}$  vandløbsbund. Det kunne direkte observeres, hvorledes de lammede dyr – især *G. pulex* og *B. rhodani* – primært inden for de første ca. 30 min drev med strømmen. Tilsvarende fandt Lauridsen & Friberg (2005), at 100% af *G. pulex* og ca. 75% af *B. rhodani* i løbet af 3-4 timer driftede inaktive ud af små forsøgsrender efter en 60 min’s dosering med  $1,0 \mu g l^{-1}$  af lambda-cyhalothrin. I vores render var også mere fåtallige taxa repræsenteret i katastrofedriften. Næppe alle påvirkede individer forlod renderne, og en stor del af disse døde formodentlig efterfølgende. I laboratorietests overlevede således ingen *G. pulex* en 90 min’s eksponering med  $1,0 \mu g l^{-1}$  af lambda-cyhalothrin (Nørum et al.

2006, denne undersøgelse afsnit 3.2.2), ligesom arten blev ”udryddet” i et grøfteøkosystem som blev ”forurennet” med samme stof til en koncentration på  $0,25 \mu\text{g l}^{-1}$  (Van Wijngaarden et al. 2006). Derimod overlevede en stor del af fx chironomiderne helt åbenbart behandlingen, idet de var underrepræsenteret i katastrofedriften og blev fundet i stort antal på dag 7 efter behandlingen. Nogle arter/slægter (bl.a. *Chironomus riparius* og *Procladius olivaceus*, som også forekom og overlevede i vores render) påvirkes først af pyrethroider i koncentrationer i intervallet  $2-10 \mu\text{g l}^{-1}$  (Ali & Morris 1992, Møhlenberg et al. 2004, Forbes & Cold 2005). Dertil kommer, at specielt Tanytarsini muligvis sad godt beskyttet i deres slamrør, der dels havde mulighed for at binde pyrethroidet, dels måske kunne forhindre eksponering af størstedelen af larvernes krop. Således fandt Forbes & Cold (2005) større overlevelse hos *C. riparius*, hvis disse befandt sig i deres slamrør i sedimentet under eksponeringen for pyrethroid, end hvis de blev eksponeret uden sediment.

Formålet med behandlingen med den relativt høje koncentration af lambda-cyhalothrin, nemlig at påvirke smådyrssamfundet i markant grad, blev således i hvert fald delvist opfyldt. Behandling med lavere koncentrationer ( $>0,01-0,02 \mu\text{g l}^{-1}$ ) af pyrethroid ville også have ført til forøget drift med et lignende forløb, men driften ville have været forhøjet over betydelig længere tid (op til 22-48 timer) hos *G. pulex* og *B. rhodani* (Rasmussen & Friberg 2005, Beketov & Liess 2008), ligesom en stor del af smådyrene ville have overlevet.

Feltundersøgelser, hvor hele vandløbsstrækninger eller dele deraf, blev behandlet med insekticid, har vist lignende katastrofedrift og omfattende strukturelle ændringer i smådyrssamfundene. Eksempelvis driftede  $> 6600$  individer af smådyr  $\text{m}^{-2}$  vandløbsbund i forbindelse med gentagne (i alt 12 med 3 måneders mellemrum) sprøjtninger med methoxychlor af et lille nordamerikansk vandløb i dets fulde udstrækning (Wallace et al. 1989). Allerede ved den første sprøjtning forsvandt 75% af insekterne (og 72% af deres biomasse), ligesom flere taxa forsvandt fuldstændig, mens ikke-insekter syntes relativt upåvirkede (Wallace et al. 1989, 1991, Whiles & Wallace 1992). Markante effekter på drift af 30 min's pulse med lambda-cyhalothrin hos især *G. pulex*, forskellige døgnfluer, *Leuctra* spp. og kvægmyg er desuden blevet påvist ved koncentrationer i intervallet  $0,1-10,0 \mu\text{g l}^{-1}$ , mens strukturelle effekter (i form af ændret artssammensætning) kun forekom ved  $5,0$  og  $10,0 \mu\text{g l}^{-1}$  (Heckmann & Friberg 2005).

Selvom det, pga. en meget betydelig variabilitet, var vanskeligt statistisk at tolke ændringerne i smådyrssamfundene som følge af pyrethroidbehandlingen, medførte behandlingen med pyrethroid både markante kvalitative og kvantitative effekter. Der forekom således markante fald i antallet af taxa, antallet af individer, antallet af EPT individer, Ostracoda, *G. pulex*, Orthocladinae (herunder også hos Tanytarsini), og disse markante ændringer var fortsat tydelige på dag 30 efter behandlingen. For *G. pulex* var dette ikke en delvis effekt af, at der fra starten var en markant større tæthed i de opstrøms dele af renderne, da denne forskel, som tidligere nævnt, blev udlignet i kontrolrenderne under forsøget. Enkelte taxa som fx Oligochaeta var dog tilsyneladende helt upåvirkede af behandlingen. Det betød, at der inden for det undersøgte tidsrum ikke foregik en komplet rekolonisering, endda langt fra. Kun et enkelt taxon, *B. rhodani*, var i stand til fuldt ud at rekolonisere inden for perioden, hvilket uden tvivl skyldes dens betydelige mobilitet, bl.a. via drift (Humphries 2002), ligesom den formodentlig heller ikke har været påvirket af evt. pyrethroidkontaminering af dens algeføde. Heckmann & Friberg (2005) fandt en væsentlig hurtigere

rekolonisering – inden for ca 2 uger – efter en tilsvarende behandling med lambda-cyhalothrin, der dog kun omfattede en mindre del af et naturligt vandløb. Rekoloniseringsmulighederne var således her væsentlig mere optimale end i vores forsøg, som til gengæld var væsentlig mere realistiske.

Trods disse markante ændringer i taxonsammensætning som følge af pyrethroidbehandlingen, bl.a. i form af reduceret antal af den dominerende ituriver *G. pulex*, var der overraskende nok ingen tydelig effekt på omsætningen af blade. Disse blev således omsat med samme hastighed uanset antallet af *G. pulex*. Endvidere var denne omsætning (på dagsbasis) af samme størrelse som ved forsøgene i Stavis Å, hvor tætheden af *G. pulex* var mindst dobbelt så stor. Tilsyneladende spiste denne art kun i ringe grad bladene i de ubehandlede dele af renderne, muligvis pga. af et stort antal potentielle og fomedentlig let tilgængelige byttedyr (Oligochaeta, Tanytarsini). Det understøtter, at vægttabet af bladene såvel som i de undersøgte naturlige vandløb snarere skyldtes mekanisk påvirkning fra strømmen end ituriver-aktivitet.

#### 4.2 Pyrethroideffekt på smådyrs mobilitet, evne til restituering, samt substrat- og fødekvalitet

Resultaterne fra laboratoriestudierne supplerer de forsøg, der er udført på større rumlig skala, og sandsynliggør, at miljørealistiske pyrethroidkoncentrationer må forventes at kunne påvirke invertebratsamfundene i naturlige vandløb. Projektet dokumenterer således, at kortvarige pyrethroidpulse har såvel akut effekt på dyrenes bevægelsesadfærd, som længerevarende virkning på deres overlevelse, bevægelsesadfærd og fødesøgning i tiden efter pulsbelastningens ophør. Samtidig viser de udførte forsøg, at kvaliteten af dyrenes levested påvirkes, idet pyrethroidkontamineret føde i en periode helt undgås af dyrene.

Hos *G. pulex* blev der fundet et akut, bifasisk adfærdsrespons, hvor den hyperaktivitet, der blev registreret efter få minutter ved lave lambda-cyhalothrin-koncentrationer ( $\geq 0,005 \mu\text{g l}^{-1}$ ), blev afløst af immobilisering ved højere koncentrationer ( $\geq 0,5 \mu\text{g l}^{-1}$ ). Disse ændringer var observerbare under den kun 90 min lange pulseksponering, og dette hurtige respons stemte nøje overens med observationerne af markant forhøjet og aktiv drift/nedstrøms svømmeadfærd, hos *G. pulex* umiddelbart efter eksponeringens påbegyndelse i store kunstige vandløb (Lemming). For vårfluerne *S. personatum* og *C. villosa* var den mest markante effekt på bevægelsesadfærden en immobilisering ved  $5 \mu\text{g l}^{-1}$ , selvom *C. villosa* udviste kortvarig hyperaktivitet ved  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$ . Vårfluer som disse forekommer typisk ikke i drift, med mindre der er tale om markant forhøjet vandføring (Elliott 1969, Brittain & Eikeland 1988), hvilket skyldes en kombination af dyrenes begrænsede spredningsadfærd i larvestadiet, for *S. personatum* også graveadfærd (Rennerich & Schuhmacher 1984), og evne til at holde fast i substratet (Waringer 1989). Den observerede immobilisering vurderes imidlertid at reducere såvel graveadfærd som fastholdelsesevne og dermed evt. at kunne føre til øget drift.

Det akutte adfærdsrespons hos *G. pulex* var således meget koncentrationsafhængigt, med gradvise ændring i tidspunktet for påbegyndelsen af såvel hyperaktivitet som immobilisering med stigende koncentration. Restitueringsforsøgene med *G. pulex* viste derimod en mere brat overgang fra fuld restituering (dvs. fuld tilbagevenden til den adfærd som dyrene havde før de blev udsat for pyrethroid) til manglende restituering efterfulgt af mortalitet.

Denne bratte overgang blev observeret netop ved den koncentration, ved hvilken fuld immobilisering indtrådte under den 90 min lange eksponeringsperiode. Ved  $0,1 \mu\text{g l}^{-1}$  blev bevægelsesadfærden således reduceret markant hen mod slutningen af eksponeringsperioden, uden at dyrene blev immobiliserede, ligesom dødeligheden efter endt eksponering ikke var højere hos kontroldyr, der ikke blev udsat for pyrethroid. Desuden var de eksponerede dyrs bevægelsesadfærd fuldstændig restitueret 6 dage efter endt eksponering. Ved  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$  blev alle individer derimod immobiliseret efter ca. 60 min eksponering. Ligeledes døde 93% af individerne i løbet af de første 10 dage efter endt eksponering uden at have vist tegn på restitution af bevægelsesadfærden. Samme bratte overgang med hensyn til restitutionsevne blev observeret for *S. personatum* og *C. villosa*, hvor immobilisering under eksponering og manglende restitution blev fundet ved pulseksponering for  $5 \mu\text{g l}^{-1}$ . For disse vårfluer var det imidlertid svært at fastslå dødelighed præcist i løbet af forsøget, fordi dyrene simpelthen trak sig ind i deres huse, hvor de syntes helt passive. Tilsvarende adfærd er tidligere blevet observeret under pyrethroideksponering hos *S. personatum* (Møhlenberg et al. 2004). Derimod blev der i tidligere forsøg med måling af bevægelsesadfærd hos denne art ikke fundet tydelige adfærdsændringer ved eksponering for samme stof ved en koncentration på  $10 \mu\text{g l}^{-1}$  (Nørum et al. 2006). Forklaringen er formodentlig, at *S. personatum* dels generelt bevæger sig meget lidt, dels meget variabelt, hvilket kan være vanskeligt at registrere ved den anvendte videosporing. I nærværende forsøg var adfærden hos *C. villosa* ligeledes særdeles variabel og vanskelig at kvantificere.

Omsætningen af blade hos *G. pulex*, *S. personatum* og *C. villosa* blev i restitutionstudiet reduceret markant ved pulseksponering af dyrene for  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  pyrethroid, hvilket naturligvis skyldtes den allerede nævnte forhøjede dødelighed. Ved eksponering for  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$  blev omsætningen hos *G. pulex* ligeledes påvirket markant, igen primært som følge af dødelighed, mens omsætningen hos de to vårfluer tilsyneladende kun blev reduceret forbigående. Omsætningsraten hos *G. pulex* er tidligere blevet anvendt som et mål for eksponering for toksiske forbindelser (Maltby et al 1990a, b, Mathiesen et al 1995, Maltby et al. 2002), men nærværende undersøgelser antyder, at bevægelsesadfærd hos *G. pulex* er en mere følsom parameter end fødesøgningsadfærd og stofomsætning.

Pulseksponering af *H. sulphurea* for  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$  pyrethroid medførte et fuldstændigt ophør af dyrenes græsning af mikroalger i en 7-dages restitutionperiode, selvom hele 36% af individerne i denne gruppe ved forsøgets afslutning var i live. Ved  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  var der til gengæld en akut, høj dødelighed, hvor kun ét individ ud af 110 var levende ved forsøgets afslutning. Der var således i realiteten ingen græsning på algerne. Det medførte ikke overraskende en forøgelse af algevæksten, der imidlertid var større, end hvad der kan tilskrives den manglende græsning. Forklaringen er uden tvivl, at selvom samtlige døde dyr blev fjernet dagen efter eksponeringen, var der allerede sket en næringsstoffrigivelse fra disse, hvilket øgede algernes vækst. Faktisk kunne der observeres særlig kraftig algevækst umiddelbart rundt om de døde individer. Som tidligere nævnt var hovedsigtet med dette forsøg at undersøge effekter på overlevelse, fødesøgning og bevægelsesadfærd, og dyrenes evne til restitution blev derfor ikke søgt kvantificeret kontinuert. Tidligere studier har dog påvist hyperaktivitet i videosporingssystemer og forøget drift i små strømrønder hos *H. sulphurea* ved  $0,1 \mu\text{g l}^{-1}$ , mens immobilisering i videosporingssystemet blev observeret ved  $10 \mu\text{g l}^{-1}$  (Nørum et al. 2006).

Vi undersøgte også betydningen af pulskontaminering med pyrethroid af forsøgsdyrenes levested og føde. Resultaterne for de fire nævnte arter var meget konsistente, idet et *G. pulex*, *S. personatum* og *C. villosa* fuldstændigt holdt op med at spise blade og *H. sulphurea* ophørte med at græsse mikroalger, når blade og alger forud var blevet eksponeret for  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  af pyrethroidet. Derudover var omsætningen af blade hos *C. villosa* lidt reduceret, og det kun forbigående, når bladene var eksponeret for  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$ . Præeksponering af fødematerialet for  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  førte desuden til et mindre fald i overlevelsen hos *H. sulphurea*, ligesom vårfluerne havde et reduceret aktivitetsniveau. Samlet set kunne dette dog slet ikke forklare det totale ophør af fødesøgning: Der er således ingen tvivl om, at kontamineret føde aktivt fravælges i hvert fald for en tid (i nærværende forsøg mindst 14 og 7 dage for hhv. ituriverne og græsseren), hvis pulsbelastningen er tilstrækkelig høj. Som tidligere nævnt fandt Lauridsen et al. (2006) lignende effekter af lambda-cyhalothrin på iturivere, mens Kjeldsen (1996) observerede en forøgelse af algebiomassen på sten, som var blevet behandlet med pyrethroidet permethrin, fordi antallet af potentielle græssere derved blev reduceret.

Sammenlignes vores resultater fra arenaerne i videosporingssystemet med resultaterne fra de små strømrrender observeres for såvel *G. pulex* som *S. personatum*, at forsøgsbetingelserne, sandsynligvis primært det strømmende vand og interaktioner mellem forsøgspopulationernes individer, havde indflydelse på dyrenes overlevelse og aktivitet. Hos *G. pulex*, der havde været udsat for  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$ , var overlevelsen således 62% i strømrrenderne mod kun 7% i videosporingssystemet. Tilsvarende blev observeret hos *S. personatum* eksponeret for  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$ , hvor 79% af de genfundne individer var aktive ved strømrrendeforsøgets afslutning mod kun 14% i videosporingsforsøget. Dette skyldes sandsynligvis en positiv effekt af det strømmende vand. Denne forskel skal yderligere ses i det lys, at overlevelsen hos kontrolgruppen af *G. pulex* kun var 84% i strømrrenderne mod 100% i videosporingssystemet, hvilket sandsynligvis skyldes kannibalistisk adfærd (fx Macneil et al. 1997). Således gik der flere dyr sammen i renderne, mens de i arenaerne blev testet enkeltvis.

Til gengæld var *G. pulex*'s omsætning af blade signifikant reduceret i strømrrenderne allerede ved  $0,05 \mu\text{g l}^{-1}$ , mens en signifikant reduktion først blev fundet ved  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$  i videosporingsforsøget. Imidlertid var effekten ved  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$  mere markant i videosporingssystemet end i strømrrenderne. For *S. personatum* var der derimod en forbigående påvirkning af omsætningsraten ved  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$ , mens dette ikke var tilfældet i strømrrenderne. Fælles for begge arter i begge forsøg var dog de klare effekter på bladoomsætningen af en eksponering af  $5 \mu\text{g l}^{-1}$ , uanset om det var dyrene eller deres føde, der blev eksponeret.

Hos *S. personatum* eksponeret for  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  havde 32,5% af de genfundne individer ved strømrrendeforsøgets afslutning forladt deres huse. Denne adfærd blev imidlertid allerede observeret under selve eksponeringen i såvel de små strømrrender med *S. personatum*, som ved videosporingsforsøget med begge vårfluearter, hvor et antal individer forlod deres huse eller stak en del af kroppen ud af bagenden af huset. En sådan adfærd er tidligere observeret hos vårfluen *Limnephilus lunatus* i en feltundersøgelse af driftadfærd i forbindelse med en pulspåvirkning med insekticidet ethyl-parathion, hvor mange driftende individer havde forladt deres huse (Schulz & Liess 1999). Vårfluer, der har forladt deres huse må forventes at have en væsentligt forhøjet dødelighed, primært som følge af en øget prædationsrisiko.

Sammenfattende viser vores forsøg klart, at en høj, men miljørealistisk, pulsbelastning af en vandløbsstrækning med pyrethroid må forventes at have øjeblikkelige og markante effekter på en række vandløbsinvertebrater, idet en forøget drift og dødelighed vil reducere populationstætheden. Rekoloniseringen af sådanne belastede strækninger afhænger selvfølgelig af dyrenes spredningsevne, men laboratoriestudierne indikerer, at kontamineringen af levestedet yderligere kan forsinke processen.

#### 4.3 Over-land spredning og kolonisering hos vandløbsmakroinvertebrater

Forsøgene i laboratorietanke og –arenaer, små strømrrender, store strømrrender og naturlige vandløb var af relativt kort varighed. Således blev rekolonisering efter pulsvirkning med lambda-cyhalothrin kun fulgt over en periode på 1 måned. For derfor at opnå indsigt i, hvordan kolonisering foregår over et større tidsrum, samt over en større rumlig skala, herunder især spredning over land fra ét vandløbssystem til et andet, blev der analyseret data fra langtids monitoring af fynske vandløb. Resultaterne heraf er diskuteret og perspektiveret i det følgende.

En række studier har vist, at der foregår en spredning af voksne insekter bort fra det vandløb, i hvilket de er vokset op. Spredningen følger typisk et negativt eksponentielt forløb, hvor kun en meget lille del når så langt væk, at de potentielt kan kolonisere et nabovandløb (Petersen et al. 1999, Briers et al. 2002, Winterbourn 2005, Wiberg-Larsen 2006). Langt den største del af individerne forbliver således inden for en op til 20-30 m bred zone langs vandløbet (Sode & Wiberg-Larsen 1993, Collier & Smith 1998, Petersen et al. 2004). Udseendet af den brednære zone – fx om der er tale om tæt træbevoksning – har uden tvivl betydning for spredningen gennem sin betydning for mikroklima (Jackson 1988, Chen et al. 1993, Collier & Smith 2000), fødeudbud (Sweeny, 1993; Smith & Collier, 2000), og prædationsrisiko (Briers et al. 2004a). Dertil kommer, at insekter (fx en del slørvinger og vårfluer), som optager føde som voksne og lever relativt længe, har potentielt større mulighed for spredning end arter som ikke søger føde (døgnfluer og visse slørvinger). Efter en kortere eller længere periode, hvor æggene er modnet, og efter endt og vellykket parring er det naturligvis vitalt, at hunnerne finder et egnet sted at lægge deres æg. Det er især i denne fase, at spredning er særlig interessant og vigtig. Egne og andre studier har vist et potentiale for spredning på væsentlig under 1 km hos visse arter af slørvinger og vårfluer (Ulfstrand 1969, Mendl & Müller 1974, Briers et al. 2004b) til op mod 20 km hos andre arter af vandinsekter (vandnymfer, døgnfluer, vårfluer) (Kureck & Fontes 1996, Kovats et al. 1996, Stettmer 1996, Purse et al. 2003, egne data i tabel 1, bilag D). Der synes desuden at være tendens til, at arter fra større vandløb spredes længere end arter fra små vandløb.

Forskellige voksne vandinsekter er ikke lige dygtige flyvere. Der er stor forskel på de ægte guldsmedes overlegne manøvre dygtighed og den klodsede flugt hos slørvinger og dovenfluer. Døgnfluer er heller ikke fremragende aktive flyvere, men deres store sejlformede vinger med mange folder synes til gengæld ideelle til passiv transport med vinden – se senere (Smith & Collier 2006). Trods disse generelle forskelle mellem insektgrupper, kan der være betydelige forskelle flyveevne og dermed spredningskapacitet inden for den enkelte gruppe. Hos en række svenske vårfluer fandt Hoffsten (2004) således en aerodynamisk betinget sammenhæng mellem morfologiske karakteristika

(fx forholdet mellem vingearreal og kropsvægt, eller relativ vægt af thorax) og udbredelse, der kan opfattes som et udtryk for deres spredningsevne. Blandt de vårfluearter, som indgik i det fynske studie, var *Agapetus ochripes* tilsyneladende langt bedre til at sprede sig end den nærtstående *A. fuscipes*. Dette kan muligvis forklares ved, at *A. ochripes* havde et 40% større vingearreal og en 32% større løfteevne (vingearreal/kropsmasse) end *A. fuscipes* (Wiberg-Larsen, submitted). Tilsvarende synes der at være en vis positiv sammenhæng mellem vingelængde og spredningsevne hos døgnfluer og dansemyg – men ikke hos slørvinger (McLachlan 1985; Delettre 1988; Corkum 1987; Malmqvist 2000).

Spredning fører ikke nødvendigvis til kolonisering. Dels når kun et fåtal af hunnerne frem til et egnet vandløb, dels er det ikke givet at de afsatte æg fører til etablering af en ny population. Teoretisk set skal der formodentlig kun få æg-bærende hunner til for at grundlægge en ny bestand (Bunn & Hughes 1997), idet de enkelte arters frugtbarhed er relativt stor. Hunner af forskellige slørvinger, døgnfluer, dovenfluer og vårfluer lægger således hhv. 50-1500 (Khoo 1968; Bengtsson 1984; Elliott 1984, 1986, 1987; Thierno de Figueroa & Derka 2003), 500-8300 (Degrange 1960; Wright et al. 1981; referencer i Humpesch & Elliott 1984, tabel 6), 600-1100 (Kaiser 1961) og 60-750 æg (Wiberg-Larsen, upubliceret review), mens fx visse dansemyg lægger op til 3000 æg (Armitage 1995). Trods denne relativt store frugtbarhed, er det dog rimeligt at antage, at både antallet af populationer og disses størrelse må have en positiv indflydelse på sandsynligheden for vellykket lang distance spredning til ”ny” habitater.

Vores analyse viste ret entydigt, at vandløbsinsekter i betydeligt omfang var i stand til at kolonisere over land mellem de enkelte vandløbssystemer endda over afstande på op til 20 km. Der var dog typisk tale om maksimum afstande i størrelsesordenen 8-16 km. Medianerne af de koloniserede afstande var dog noget mindre (3-9 km). De fynske undersøgelser viste desuden – når data fra en række sammenlignelige arter blev puljet – en signifikant positiv sammenhæng mellem koloniseret afstand og den tid det tog, indtil koloniseringen fandt sted. Dermed var vi stand til at understøtte en af vores hypoteser. Dette er ikke umiddelbart overraskende, fordi chancen for succesfuld kolonisering må forventes at aftage med afstanden til nærmeste udgangspopulation. En enkelt art, slørvingen *L. fusca* viste imidlertid ingen sådan relation mellem koloniseret afstand og tid. Det tyder på, at den er en særlig effektiv spredder, hvilket bekræftes af dens – i sammenligning med andre slørvinger – usædvanlig store geografiske udbredelse (Zwick 2004). Forskellen i sprednings- og koloniseringsevne mellem *L. fusca* og flere af andre de undersøgte arter, og i den tilsyneladende morfologisk betingede spredningsevne hos de to nærtstående *Agapetus*-arter, understøtter til dels hypotesen om, at denne evne er ”artsspecifik og afhænger af arternes biologi”. Dertil kommer, at specielt den eksponentielle øgning i antallet af findesteder for flere af de undersøgte arter – alle vandinsekter – støtter den sidste hypotese, nemlig at ”hastigheden af rekoloniseringen øges, jo større bestandene er i de vandløb, hvorfra indvandring sker, og jo mere udbredt arterne er”. En nøjere analyse af det detaljerede forløb af de enkelte arters rekoloniseringshistorie peger således på en accelererende spredning, bl.a. i forbindelse med opbygning af store bestande på de nykoloniserede vandløbsstrækninger, hvorfra videre spredning kunne ske.

De relativt få andre studier, som kan kaste lys over det faktiske omfang af kolonisering over land, viser, at visse insekter (fx blandt myg, døgnfluer,

slørvinger og biller) kan overvinde afstande på fra 1 til 5 og måske endda op til 20-25 km inden for et tidsrum af 2-5 år (Fuchs & Statzer 1990, Malmqvist et al. 1991, Masters et al. 2007). Andre arter er dog ikke nær så gode kolonisatorer. Set over et længere tidsperspektiv viser genetiske populationsundersøgelser, at bestande af visse vårfluer regelmæssigt udveksler gener over afstande på op til 10-20 km (Myers et al. 2001, Wilcock et al. 2001, 2003, 2007).

Vejrforholdene har betydning for vandløbsinsekternes flyveaktivitet og dermed spredning. Flyveaktiviteten hos voksne slørvinger, skøjteløbere og vårfluer øges således med stigende lufttemperatur (Landin & Vepsäläinen 1977, Waringer 1991, Wiberg-Larsen 1996, Smith et al. 2002, Briers et al. 2003), mens for høj vindhastighed hæmmer flyvningen hos døgnfluer og slørvinger (Savolainen 1978, Briers et al. 2003). Men selvom vandinsekter via deres evne til at flyve har et potentiale for aktiv spredning, betyder det ikke, at de ikke også er udsat for passiv spredning. Dette kan bedst illustreres ved, at et aktivt flyvende insekt kan blive fanget af vinden og stort set passivt blive ført af sted over længere afstande, end det ville have været muligt ved dets egen aktive flyvning. Briers et al. 2004 fandt således tegn på, at land-distance spredning hos slørvinger fremmes af den fremherskende vindretning under dyrenes flyveperiode, ligesom det er observeret, at hunner af *L. fusca* på lune stille dage i september-oktober foretog opstigende flyvninger, hvor de let kan tænkes at blive ført langt omkring af pludselige opvinde (Wiberg-Larsen, P., egne observationer). Ligeledes benytter fx dansemyg sig formodentlig af stærke opvinde (Delettre 1988; Armitage 1995). Det betyder, at variationer i vind og temperatur under de voksnes flyveperiode kan resultere i varierende grad af spredning mellem lokaliteter (Briers et al., 2003). I det fynske case study blev der fundet en overvægt af over-land koloniseringer i nordlig retning. Dette kan muligvis forklares ved, at de fleste af de involverede arter har flyvetid maj-juni, hvor varme vinde fra syd er mere sandsynlige end i resten af året (Nielsen & Cappelen 2001). I resten af året dominerer til gengæld vestlige vinde, men der sås ingen tegn på en tilsvarende overvægt af koloniseringer i østlig retning. Det er heller ikke at forvente, fordi disse kølige og kraftige vinde ikke formodes at fremme spredning med vinden, simpelthen fordi insekterne undgår at flyve. Derimod blev der fundet længere koloniserede afstande i vestlig retning, hvilket muligvis hænger sammen med tørre og varme vinde fra øst, som ofte optræder i maj/juni. Medvinds spredning, som igangsættes af varmfronter, er bl.a. velkendt blandt migrerende sommerfugle (Mikkola 1986); der er på vore breddegrader netop typisk tale om sydlige til sydøstlige vinde, som kan sprede sommerfuglene med hastigheder på op til 220-350 km/nat. Fund af to *Hydropsyche*-arter (vårfluer) i en lysfælde på sydspidsen af Falster – mere end 100 km fra deres nærmeste kendte levesteder – tyder på en lignende spredning (Wiberg-Larsen, upubliceret).

Den (aktive og adfærdsmæssige) spredning over land synes at påvirkes af strukturelle elementer i landskabet (Jonsen & Taylor 2000; Bohonak & Jenkins 2003). Artssammensætningen af voksne dansemyg ændredes således med bredden og kvaliteten af levende hegn, ligesom der forekom større spredning bort fra vandløb, hvis der forekom skov eller stor tæthed af levende hegn, end hvis omgivelserne var mere åbne (Delettre & Morvan, 2000). Muligvis fungerer skov og hegn som gode hvilesteder; nærmere ved vandløbet kan der desuden være tale om en funktion som egnede "sværmningsmarkører". Busk- og trævegetation kan dog hæmme spredning, fx hos vandnymfen *C. mercuriale* (Purse et al. 2003), ligesom Pither & Taylor (1998) fandt, at en anden

vandnymfe, *Calopteryx maculata*, bevægede sig hurtigere igennem græsland end gennem skov. Nogle arter foretrækker altså skov – andre ikke (Smith & Collier 2006). Svensson (1994) og Winterbourn et al. (2007) fandt således, at nogle voksne vårfluer foretrak at opholde sig i skov, mens andre arter både forekom her og på græsland; der var desuden tegn på, at dale kunne fungere som vigtige spredningskorridorer (Winterbourn et al. 2007). I det fynske case study var koloniseringerne af vandløb tilsyneladende ikke påvirket af, om de foregik gennem skov eller åbent land. Det kan muligvis forklares ved, at det fynske landskab generelt er stærkt domineret af landbrugsdrift, der omfatter 2/3 af arealudnyttelsen, ligesom den relativt beskedne andel af skov typisk kun omfatter mange små og spredte arealer. Der var således ingen reel gradient at vurdere eventuelle forskelle ud fra. Ligeledes var der ingen sammenhæng mellem forekomsten af bymæssig bebyggelse og koloniseringerne. Dette er umiddelbart overraskende, fordi disse kunstige strukturer i landskabet umiddelbart burde udgøre ugæstfrie miljøer for voksne vandinsekter. Således angiver Wilcock et al. (2007), at byer kan udgøre barrierer for spredning af vårfluen *Plectrocnemia conspersa*. Modsat fandt Wiberg-Larsen & Karsholt (1999) tegn på, at byer kan have en positiv virkning på flyveaktiviteten hos vårfluer. Byer har generelt et varmere klima end det omgivende land på grund af den varmestråling, som bygninger og befæstede arealer opsamler (Lysgaard, 1969). Således vil byerne være relativt varmere om natten, hvor mange vårfluer er særlig aktivt flyvende, hvortil kommer, at lyset fra byerne kan tænkes at tiltrække natflyvende insekter.

Spredning af vandløbsdyr over land kan potentielt også foregå ved hjælp af andre dyr. Forskellige vandfugle vides således at kunne sprede en række vandlevende invertebrater eller deres æg (Figuerola & Green 2002, Green & Figuerola 2005) enten fasthæftet til fuglenes fjerdragt eller fødder (Segerstråle 1954, cit. i Figuerola & Green 2002, Rees 1965; ref. i Bilton et al. 2001), eller via ophold i deres tarmsystem (Figuerola & Green 2002, Charalambidou et al. 2003, Green & Figuerola 2005, Green et al. 2008). Denne spredning er dog formodentlig relativt betydningsløs i vandløb, fordi disse generelt kun huser relativt få vandtilknyttede fugle, men meget vigtig i søer og damme, som i perioder tiltrækker meget store antal vandfugle.

Menneskeskabt spredning kan have væsentlig betydning, også i vandløb, fx via officielle fiskeudsætninger, tømning af hobbyakvarier, eller udsætning af agnfisk efter endt lystfiskeri (se fx Havel & Shurin 2004). I Danmark er *Gammarus pulex* bevidst (for at gavne ørredbestandene) blevet udsat af sportsfiskere i flere nordjyske vandløb, hvor den ikke forekom naturligt (Kaiser 1958), ligesom den pludselige optræden (i 1991) af vårfluen *Lepidostoma hirtum* i Odense Å formodentlig skyldes udsætning – formodentlig sammen med fisken Grundling, som før den tid ikke var kendt hverken fra dette vandløb eller Fyn i det hele taget. Endelig er der eksempler på, at hunner af slørvingen *L. fusca* er fløjet eller kravlet ind gennem åbentstående bilvinduer eller døre, hvilket giver store muligheder for lang distance spredning (Wiberg-Larsen, P. & Skriver, J., upubliceret). Det kan medvirke til at forklare, hvorfor specielt denne art har vist sig særlig effektiv til at spredes og kolonisere ny vandsystemer.

#### 4.4 Sammenfatning af projektets delelementer: de opstillede hypoteser om rekolonisering

Vores forsøg i naturlige vandløb og store strømrrender understøttede ikke hypotesen om, at ”pyrethroider påvirker smådyrenes nøglerolle i omsætningen

af organisk stof i vandløb”. Der kunne således ikke påvises nogen målbar reduktion i omsætningen af blade eller i græsningen af algebiomasse. Dette var derimod tilfældet ved vores laboratorieforsøg, ligesom andre laboratoriestudier har vist pesticideffekter på iturivere og deres omsætning af blade (Maltby et al. 2002). Dertil kommer, at undersøgelser, hvor hele vandløbsstrækninger blev behandlet med insekticid, har vist, at omsætningen af døde blade påvirkes gennem en reduktion i antallet af iturivere (Cuffney et al. 1990, Wallace et al. 1995). Undersøgelser fra vandløb i Finland, Frankrig og Tyskland har ligeledes vist en entydig positiv sammenhæng mellem omsætning af elleblade og andelen af pesticidfølsomme arter (som et mål for pesticidpåvirkningen), til hvilke omkring 2/3 af de tilstedeværende iturivere kunne henregnes (Schäfer et al. 2007).

Vi var heller ikke i stand til i naturlige og kunstige vandløb at påvise en indirekte effekt på smådyrenes omsætning af organisk stof gennem en kontaminering af deres føde (blade eller alger). Dette er også overraskende, idet sådanne effekter kunne påvises ved vores forsøg i små strømrrender og i laboratorietanke. Således blev tre udvalgte ituriveres omsætning af pyrethroid-behandlede blade væsentlig reduceret, ligesom græsseren *H. sulphurea* ikke blot græssede mindre, men også havde øget dødelighed, på kontamineret algefilm. Andre studier har vist lignende effekter under kontrollerede laboratorieforhold. Således fandt Friesen et al. (1983) høj dødelighed hos den i sedimentet nedgravede døgnflue *Hexagenia rigida* (som meget ligner de danske arter af *Ephemera*), når dens sediment blev forurenet med pyrethroid i koncentrationer, som vurderedes at være realistiske i forbindelse med rutinesprøjtning fra luften af både vandløb og nærliggende landområder. Endvidere byggede vårfluen *Brachycentrus americanus* mindre stærke transportable huse end ellers, når dens byggemateriale var behandlet med esfenvalerat, hvilket teoretisk øgede risikoen for at blive spist af rovdyr (Johnson et al. 2008). Dette understøtter hypotesen om, at ”pyrethroider kan forurene substrater og visse fødeemner”, hvilket vil have indflydelse på smådyrenes trivsel, stofomsætning og dermed strukturen i vandløbsøkosystemer. Imidlertid er det tilsyneladende vanskeligt at eftervise dette under mere naturlige forhold end i laboratorieforsøg, i det mindste ved de forsøg, som vi foretog. Påvisning af signifikante effekter kræver således utvivlsomt, at hele strækninger af vandløb behandles.

Det er derfor ikke overraskende, at det heller ikke var muligt at understøtte hypoteserne om, at pyrethroidpåvirkning af substrat og føde ”hæmmer smådyrenes evne til genindvandring”, og at ”rekoloniseringen afhænger af hvor længe levestedet påvirkes”. Dette skyldes ikke, at en sådan effekt af pyrethroider reelt ikke findes (og endda er sandsynlig), men at vores forsøg ikke var passende designede til at påvise dette. Det var således ikke hensigtsmæssigt at udlægge pyrethroidbehandlede kunstige substrater, som dels formodentlig ikke var blevet tilstrækkeligt behandlet med pesticidet (om end dette ikke blev eftervist ved kemiske målinger), dels havde en meget begrænset udstrækning, i naturlige vandløb, hvor koloniseringen med smådyr fra og den efterfølgende udveksling med den omgivende vandløbsbund var så hurtig, at den let kunne maskere mulige effekter på dyrene. Forsøgene i de kunstige strømrrender, hvor større samlede vandløbsarealer blev behandlet med pyrethroid, viste at smådyrene ikke i fuldt omfang kunne rekolonisere inden for 30 dage. Imidlertid var det vanskeligt at afgøre, om denne manglende rekolonisering skyldtes, at processen simpelthen naturligt foregår så langsomt, eller om den hæmmes af en kontaminering af substrater og fødeemner på den berørte strækning. En af vanskelighederne ved brugen af de

kunstige vandløb var bl.a., at det inden for den måned lange koloniseringsperiode inden pyrethroidbehandlingen ikke var lykkedes at skabe et helt ensartet samfund af smådyr, men at der stadig var en gradient i artssammensætning på langs af strømrrenderne. Således var der tegn på generelle ændringer i artssammensætningen i kontrolrrenderne i løbet af forsøget. Dertil kommer, at variationen mellem replikate prøver var endog meget stor, hvorfor det var vanskeligt at foretage statistiske analyser. Endelig manglede der et supplerende forsøg, der kunne belyse, hvor hurtigt rekoloniseringen af en ”tom” - men ubehandlet strømrrende – finder sted. Det var desværre ikke muligt at foretage et sådant forsøg med det begrænsede antal strømrrender, som var til rådighed i Lemming. Det er vores konklusion, at forsøg, som virkelig kunne bekræfte eller afkræfte de opstillede hypoteser, skulle have været foretaget i fuld skala i naturlige vandløb (hvor det desværre er vanskeligt at gentage), eller i kunstige vandløb af en betydelig større længde end tilfældet var i vores forsøg, og med en meget længere forudgående koloniseringsperiode (formodentlig 1-2 år). Eksempelvis har det tilsyneladende i andre studier taget så lang tid at skabe ”varierede og naturlige” samfund af smådyr i strømrrender, hvad enten koloniseringen skulle foregå ved drift via et ”fødevandløb” eller via æglæggende insekthunner (Ladle et al. 1980, Harris et al. 2007, Beketov et al. 2008).

Under alle omstændigheder må tilførsel af pyrethroider til vandløb formodes at føre til kontaminering af sedimenter med højt organisk indhold. Således fandt Kronvang et al. (2003a) ved en undersøgelse af 30 danske vandløb i alt fire forskellige pyrethroider, hvoraf lambda-cyhalothrin var det hyppigst forekommende, i de øvre 1-2 cm af nyligt afsat fint sediment og detritus. Der blev også fundet adskillige fungicider og herbicider. Yderligere påviste Friberg et al. (2003) på de samme lokaliteter en negativ sammenhæng mellem antallet af *G. pulex* og pesticidindholdet i sedimentet, mens der var en positiv sammenhæng mellem dette og antallet af børsteorme og igler. Pesticider – og specielt pyrethroiderne – har derfor potentiale til at ændre smådyrssamfundene i naturlige vandløb.

Det var som tidligere nævnt ikke muligt med det valgte forsøgsdesign i de naturlige vandløb at understøtte hypotesen om, at ”smådyrs potentiale for rekolonisering og dermed hastigheden af deres genindvandring øges med stigende vandløbsstørrelse”. Således foregik koloniseringen af de små kunstige substrater sandsynligvis primært fra den nærmeste vandløbsbund, hvorved der ikke kunne forventes nogen afhængighed af koloniseringen fra fjernere opstrøms beliggende vandløbsstrækninger.

Det var heller ikke muligt generelt at rangordne de enkelte organismer efter deres evne til at rekolonisere. På de udlagte kunstige substrater foregik koloniseringen ekstremt hurtigt, selv for taxa, som bevæger sig langsomt. Dette skyldes naturligvis de kunstige substraters ringe udstrækning og den deraf følgende meget korte afstand til naturlig vandløbsbund, hvorfra kolonisering kan ske. På lidt større skala (dvs. få meter korte strækninger i de kunstige vandløb) var det dog tydeligt, at *B. rhodani* var langt hurtigere til at kolonisere via drift eller svømning end samtlige øvrige taxa. Dette var ingen overraskelse, idet Baetidae og især *Baetis* selv på verdensbasis er blandt de hurtigste kolonisatorer uanset, om det er på udlagte substrater, forstyrrede strækninger eller hele vandløb (Ulfstrand et al. 1974, Hynes 1975, Gore 1979, Gray & Fisher 1981, Minshall et al. 1983, Lake & Doeg 1985, Boulton et al. 1988, Parker 1989, Lamberti et al. 1991). Andre hurtige kolonisatorer er Chironomidae (McElravy et al. 1989), fx Orthocladiinae (Gray & Fisher

1981, Sagar 1986, Doeg et al. 1989a, Parker 1989), samt filtratorer som Simuliidae og Hydropsychidae. Iturivere – bortset fra ferskvandstanglopper *G. pulex* - er derimod ofte langsommere til at kolonisere end detritusædere og græssere (Gray & Fisher 1981, Gore 1982, Minshall et al. 1983, Boulton et al. 1988, Doeg et al. 1989a, Lamberti 1991).

Vi foretog undersøgelser af rekoloniseringen hhv. om sommeren og det sene efterår. Uanset at disse undersøgelser blev foretaget på forskellige substrattyper, og derfor ikke umiddelbart kan sammenlignes, var koloniseringen i begge tilfælde meget hurtig. I andre situationer, hvor hele vandløbsstrækninger skal rekoloniseres efter en given dramatisk påvirkning, vil denne rekolonisering foregå hurtigst om sommeren og det tidlige efterår (Shaw & Minshall 1980, Williams 1980, Doeg et al. 1989a). Dels vil der ske drift fra opstrøms områder, som så at sige kan være blevet "overbefolket" som følge af nylig æglægning og larveklækning, dels vil der foregå æglægning direkte på substraterne på den påvirkede strækning. Desuden vil dyrene udvise større fysisk aktivitet ved relativt høj temperatur. Hvis koloniseringen især kræver æglæggende hunner, er den naturligvis modsat lav uden for de tidspunkter, hvor dyrene ikke formerer sig. Arter med særlig lang formeringssæson, fx med mange generationer om året, vil generelt have de bedste muligheder for at rekolonisere.

Vores forsøg i kunstige vandløb viste, at 30 dage ikke var tilstrækkeligt til at sikre fuldstændig rekolonisering af korte vandløbsstrækninger om efteråret. En undersøgelse i sammenlignelige strømrander viste, at arter med kort livscyklus (multivoltine) kom sig efter 10 uger, mens længere levende arter ikke genvandt tidligere hyppigheder før efter omkring 7 måneder (Beketov et al. 2008). Andre udenlandske undersøgelser tyder på, at det formodentlig tager op mod 1-2 år efter akutte forureninger, bl.a. i forbindelse med afstrømningshændelser efter sprøjtning af landbrugsarealer med insekticider (fx Pontasch & Brusven 1988, Liess & Schulz 1999), hvilket støttes af en række eksempler fra fynske vandløb (Wiberg-Larsen et al. 1997). Desuden viser undersøgelser i sidstnævnte vandløb, at smådyrsfaunaen på strækninger, som udtørres i særligt nedbørsfattige år, er 2 år om at retableres (Windolf et al. 2001). Udtørring kan under sådanne omstændigheder sidestilles med betydende pesticidpåvirkninger, idet størstedelen af smådyrsfaunaen i begge tilfælde udryddes, ligesom begge påvirkninger typisk vil indtræffe om sommeren.

Helt overordnet vil rekolonisering således foregå langt hurtigere, hvis forstyrrelsen er lokal, end hvis der er tale om en mere udbredt katastrofe. Er opstrøms strækninger og sidetilløb upåvirkede, kan kolonisering således ske hurtigt via overlevende larver/nymfer og æglæggende voksne. Og særlig hurtigt vil det ske, hvis arternes reproduktionsperiode er sammenfaldende med rekoloniseringsperioden.

Skal rekolonisering (af sjældne arter eller arter med meget lokal udbredelse) nødvendigvis ske over land efter en insekticidpåvirkning af et vandløb eller en sø/dam, kan tidshorisonten for denne proces være kortere eller længere. For vandløbenes vedkommende vil der, afhængigt af afstanden til nærmeste populationer samt disses antal og størrelse, være tale om en tidshorisont på år til årtier. For søers og dammes vedkommende, hvor mange arter – både almindeligt udbredte og sjældne - må formodes at blive berørt af pesticidpåvirkningen, vil en stor del blandt de almindelige arter formodentlig kunne rekolonisere relativt hurtigt, dvs. indenfor for 1 år (se Bilag D). Samlet

set vil fuld rekolonisering dog formodentlig tage noget længere tid end det er tilfældet i vandløbene på grund af de sidstnævntes kontinuitet, hvor det vil være sjældent, at et helt vandløbssystem samtidig påvirkes dramatisk af pesticider. Til gengæld må det trods alt betragtes som sjældent, at en sø/dam tilføres så store mængder insekticid (ved at hele eller store dele af vandfladen sprøjtes), at det får dramatiske følger (se fx Samsøe-Petersen et al. 2000).

Samlet set var det ikke muligt at fuldt ud at understøtte projektets hovedhypotese, nemlig at ”forskellige smådyrs evne til at rekolonisere vandløb, efter at de har været udsat for pulse af pyrethroider, kan rangordnes ud fra målinger af dyrenes mobilitet (evne til at bevæge sig), evne til at komme sig, spredningsevne, samt samlede potentiale for rekolonisering (der også omfatter deres hyppighed og formeringsevne)”. Det skyldes ikke mindst, at projektet – på trods af at være særdeles omfattende – fx ikke indeholdt direkte målinger af mobilitet i naturen og kun for enkelte arter af evnen til at komme sig. Trods dette var det alligevel muligt at bekræfte, at arternes evne til at rekolonisere i et vist omfang kan rangordnes, men at dette skal ske i forhold til både en rumlig og tidslig skala. Hvor det drejer sig om kolonisering af ganske små områder (fx udlagte kunstige substrater som gruskopper eller bladpakker) er koloniseringen meget hurtig (få dage) og tilsyneladende relativt uafhængig af de enkelte arters mobilitet. Selv langsomt kravlende/glidende arter indfandt sig stort set ligeså hurtigt som langt mere mobile arter, der både kan svømme med stor fart eller optræder hyppigt i drift, hvilket primært skyldes de meget korte afstande til nærmeste koloniseringskilde (den upåvirkede vandløbsbund). Hvor det drejede sig om kolonisering af en egentlig – om end kunstig – vandløbsstrækning på få meters længde, var en meget mobil art – døgnfluen *B. rhodani* – tilsyneladende de øvrige taxa langt overlegen inden for en tidsramme af 30 dage. Endelig var der tydelige forskelle i rekoloniseringsevnen på en skala, der omfattede fynske vandløb generelt og en tidshorisont på ca. 20 år. Her viste arter med begrænset mobilitet (ferskvandssvampe, fimreorme, huesnegl) en langsommere rekoloniseringsevne end fx den mere mobile *G. pulex*, og markant langsommere rekoloniseringsevne end de fleste vandinsekter, som både kan spredes som larver i selve vandløbene og via deres voksne stadium via luften. Der var også indikationer på, at forskelle i mobilitet (morfologisk betinget flyvekapacitet) kunne forklare forskelle i rekoloniseringspotentiale, selvom en række forskellige insektarter tilsyneladende havde en relativt ens rekoloniseringsevne over land, som formodentlig i høj grad var afhængig af antallet af delpopulationer og disses størrelse – og samtidig af muligheden for gunstige vind- og vejrforhold og ikke mindst en vis portion ”held”.

Ud fra vores undersøgelser og andre studier er det muligt at konkludere, at mulighederne for rekolonisering normalt være gode, hvis en forurening med fx et pyrethroid udrydder selv store dele af smådyrsfaunaen på en delstrækning af et vandløb. Hvis der således ikke er tale om den absolut øvre ende af vandløbet, vil rekoloniseringen således kunne ske fra primært opstrøms beliggende strækninger, idet der også kan være muligheder for indvandring via tilløb og fra nedstrøms beliggende strækninger. Det er dog afgørende, hvornår på året forureningen finder sted, idet rekoloniseringen vil foregå hurtigst om sommeren og i det tidlige efterår (Shaw & Minshall 1980, Doeg et al. 1989a) som følge af drift fra ”overfyldte” æglægningsteder, direkte æglægning og større fysisk aktivitet hos de enkelte dyr (Mckay 1992). Alligevel tyder nogle ”cases” fra bl.a. fynske vandløb på, at forgiftninger under sådanne ”gunstige” omstændigheder først helt genoprettes efter 1-2 år (Pontasch & Bruswen 1988, Wiberg-Larsen et al. 1997). Der kan derudover

være menneskeskabte forhold, som hæmmer spredning på langs ad et vandløb. Således kan fx rørlagte vandløb under veje udgøre en hindring for spredning af voksne insekter, disses juvenile stadier og helt akvatiske taxa (se Kjeldsen 1993, Vaughan 2002, Blakely et al. 2006).

Det kan imidlertid ske, at den berørte strækning for visse arter reelt er det eneste levested inden for det pågældende vandløbssystem. Fx kan der være tale om en meget lokal forekomst af sjældne arter, ligesom mange arter naturligt er knyttet til bestemte størrelser af vandløbsstrækninger, og således ikke naturligt findes opstrøms, hvor vandløbene er mindre og har en anden og i øvrigt mindre artsrig faunasammensætning. I sådanne tilfælde vil rekolonisering skulle ske over land fra andre vandløbssystemer. Og det vil kunne tage lang tid afhængigt af afstand til nærmeste populationer, disses populationers antal og størrelse, arternes biologi, vejrforhold, mulige "vektorer" (fx vandfugle) og tilfældigheder. Situationen er stort set den samme, hvis én, flere eller alle arter i en sø, der ikke er vandigt forbundet med andre vandområder, udslettes ved en pyrethroidtilførsel. Trods de mange betydende faktorer kan der dog opstilles forsigtige prognoser for, hvor hurtigt rekolonisering kan finde sted. I værste tilfælde kan der være tale om år, årtier eller endnu længere tid.



## 5 Konklusioner

Pyrethroider som fx lambda-cyhalothrin har en række øjeblikkelige såvel som mere langsigtede effekter på den biologiske mangfoldighed og struktur i vandløb, selv hvis disse stoffer kun tilføres kortvarigt:

- Koncentrationer i størrelsesordenen 5,0 mikrogram/l vil slå langt størstedelen af smådyrene (primært insekter og krebsdyr) ihjel, og omsætningen af organisk stof vil efterfølgende være væsentlig nedsat.
- Koncentrationer i størrelsesordenen 0,5 mikrogram/l vil også medføre øget dødelighed hos insekter og krebsdyr, ligesom de overlevende individer vil være mindre aktive og deres omsætning af organisk stof efterfølgende nedsat. Koncentrationer i netop denne størrelsesorden må forventes at forekomme i mindre vandløb i forbindelse med afstrømning fra nysprøjtede marker efter større regnhændelser.
- Koncentrationer i størrelsesordenen 5,0 mikrogram/l vil yderligere forurene smådyrenes fødeemner i en sådan grad, at det bidrager til at gøre føden mindre attraktiv for smådyrene. Det vil medvirke til at bremse stofomsætningen og forsinke rekoloniseringen af den berørte vandløbsstrækning.
- Genskabelsen af den oprindelige biodiversitet, biologiske struktur og stofomsætning vil i heldigste fald stadig tage væsentlig over 1-2 måneder, også selvom genindvandring er mulig fra opstrøms uberørte strækninger. Afhængigt af dyrenes måde at bevæge sig på, vil nogle arter være væsentlig hurtigere kolonisatorer end andre.
- Hvis sjældne arter eller arter med meget lokale forekomster udryddes ved en pyrethroidforurening inden for et helt vandløbssystem, vil genindvandringen skulle ske fra andre vandløbssystemer. Normalt vil kun insekter med et flyvende voksent stadium have mulighed for dette. I værste fald kan det dog tage flere år eller årtier, hvis afstanden til nærmeste bestande er stor.
- Genindvandringen via voksne insekter vil gå hurtigere, jo mere udbredte disse er, og jo kortere afstanden til nabobestandene er.

Desuden har projektet bekræftet, at fremtidige undersøgelser af pesticiders effekter bør omfatte naturlige samfund af smådyr som supplement til laboratorieundersøgelser. Det er således vanskeligt at eftergøre den naturlige kompleksitet i laboratoriet og forsøg i naturlige vandløb vil derfor kunne bidrage betydeligt til vurderingen af pesticiders skadevirkninger i naturen. Projektet peger på betydningen af gentagne pulse med relativt lave koncentrationer af pyrethroider på vandløbenes smådyrssamfund som et vigtigt fremtidigt forskningsområde.



## 6 Pespektivering

Pyrethroider må ud fra den foreliggende viden, bl.a. opnået gennem nærværende undersøgelser, betragtes som potentielt problematiske pesticider i danske vandløb. Stofgruppen omfatter samlet set de mest benyttede insekticider, og selvom de anvendte mængder er langt mindre, end hvad der anvendes af mange herbicider og fungicider, har de effekter på smådyrene i selv relativt lave koncentrationer af de rene stoffer. Dertil kommer, at de i praksis anvendte formuleringer af pyrethroiderne øger disse stoffers toksicitet, ligesom pyrethroiderne ofte anvendes i blandinger med fx fungicider, hvilket ligeledes kan øge deres giftighed (Nørgaard 2008). Til sammenligning er fungicider som fenpropimorph og propiconazol og herbicider som glyphosat, dichlorprop, hexazinon, ioxynil, isoproturon, MCPA, mechlorprop, metribuzin, pendimethalin og terbuthylazin fundet i maksimumkoncentrationer i intervallet 0,05-9,7 µg l<sup>-1</sup> i danske vandløb i forbindelse med overvågningsprogrammerne NOVA og NOVANA, mens LC50 værdierne for krebsdyret *Daphnia magna* (i tests over 48 timer) for de pågældende stoffer er fra 500 til >10<sup>6</sup> gange højere, ligesom NOEC værdierne (No Observed Effect Concentration – forsigtigt sat til en faktor 100 lavere) vil være 5-10 000 gange højere (Tomlin 1997). Pyrethroiderne bindes som tidligere nævnt meget let til partikler af forskellig art, og vil bl.a. derfor relativt vanskeligt kunne måles i vandløbsvand i forbindelse med traditionelle monitoringsprogrammer. Trods dette blev ét af stofferne (esfenvalerat) fundet i over 30% af prøverne ved en undersøgelse af tre små østjyske vandløb, som afvander landbrugsoplande (Wiggers 1999). I ca. 20% af prøverne var koncentrationerne endda >0,1 µg l<sup>-1</sup>, hvor der må forventes væsentlig effekt på smådyrs overlevelse og adfærd. Dertil kommer, at disse relativt høje værdier alle blev målt i forbindelse med større afstrømningshændelser i maj-juni. Det er derfor overvejende sandsynligt, at der har været tale om afstrømning fra sprøjtede marker via dræn - eller i visse tilfælde overfladisk afstrømning - i forbindelse med kraftige regnskyl, snarere end afløb fra vaskepladser. Men selvom pyrethroiderne i sådanne tilfælde primært vil blive tilført vandløbene bundet til partikler, har stofferne også på denne form effekt på vandløbs smådyrene i form af fx øget drift, nedsat overlevelse, og ændret artssammensætning (Schulz & Liess 2001, Friberg et al. 2003). Dertil kommer formodentlig stadig i et vist omfang ulovlige udledninger i forbindelse med fx rengøring af sprøjteudstyr på steder, hvorfra der er direkte afløb til vandløb (se fx Baym & Hansen 2001). Uanset kilderne til stoffernes forekomst i vandløbene er spørgsmålet imidlertid, i hvor høj grad stofferne og deres effekter kan erkendes i forbindelse med den nuværende overvågning og de anvendte monitoringsmetoder.

Vandrammedirektivet fastsætter helt overordnet, at der skal opnås mindst ”god økologisk tilstand” i vandområderne i EU’s medlemslande ved udgangen af 2015. Den økologiske tilstand i fx et vandløb skal bedømmes ud fra biologiske kvalitetselementer, der omfatter bl.a. smådyr (makroinvertebrater), bundlevende alger og højere planter, samt fisk. Det betyder mere præcist, at der for hvert af disse biologiske kvalitetselementer skal udarbejdes indices eller lignende målestokke for den økologiske kvalitet, fx i form af indices. Men inden dette er muligt, opstilles der vandløbstyper (fx små eller store vandløb, landlands- eller bjergvandløb, grundvandsfødte vandløb eller vandløb i moræneområder osv). For hver enkelt type defineres derefter en såkaldt

referencetilstand, dvs den tilstand som vandløbet ville have, hvis det ikke eller kun i meget svagt grad var påvirket af menneskelige aktiviteter. Når referencetilstanden er fastlagt, er næste skridt at definere den økologiske kvalitet som afvigelsen fra referencetilstanden. Den økologiske kvalitet inddeles således i 5 tilstandsklasser: høj, god, moderat, ringe og dårlig.

I Danmark anvendes for tiden alene ét biologisk kvalitetselement, nemlig smådyr, og kun ét indeks: Dansk Vandløbs Fauna Indeks (DVFI). Dette indeks (se Miljøstyrelsen 1998) er blevet interkallibreret med andre lignende smådyrsindices fra andre lande i EU (The Commission of the European Communities 2008). Men uanset dette er det på sin plads at fremhæve, at indekset hverken er forankret i en typologi eller referencetilstand (hvilket ikke er overraskende, fordi indekset blev udviklet for næsten 30 år siden). Desuden opfylder indekset ikke direktivets krav om, at sammensætningen af smådyrene bl.a. skal beskrives kvantitativt.

DVFI beskriver den samlede miljøkvalitet (forurening med organisk stof, fysisk vandløbskvalitet, toksisk virkende stoffer mv.) i såkaldte faunaklasser på en skala fra 1 (dårligst) til 7 (bedst). Imidlertid kan det være et problem, at de nævnte faktorer indbyrdes betydning ikke kan aflæses ud fra faunaklassen. Dertil kommer, at indeksets manglende evne til at beskrive kvantitative ændringer i smådyrssamfundene medfører, at det vil have vanskeligt ved at afspejle effekter af fx pyrethroider, som i højere grad vil reducere antallet af individer af en følsom art snarere end helt at eliminere denne. Det er således uden betydning for at opnå faunaklasse 5 i en given indsamlet prøve, om en række taxa, som karakteriserer gode miljøforhold, optræder med 2 eller 20 individer. Det er også uden betydning for beregning af faunaklassen, om den meget pyrethroid-følsomme *G. pulex* optræder med 10 eller 500 individer i prøven. Der skal således være tale om meget kraftige og mere permanente påvirkninger, såfremt disse kan aflæses i faunaklassen. Mere end 20 års monitoring af fynske vandløb viser således eksempler på, at pyrethroidudledninger fra væksthushavene har medført markante kvantitative ændringer i taxonsammensætningen uden at dette blev udtrykt ved ændringer i faunaklassen. Det er derfor vores vurdering, at DVFI ikke egner sig til at dokumentere effekter af pesticider i danske vandløb.

Der er derfor behov for andre indices, som opfylder dette behov. På europæisk plan findes der allerede potentielt egnede indices (Neumann et al. 2003a,b, Liess & von der Ohe 2005). Særligt velegnet er muligvis det tyske indeks, SPEAR (SPECies At Risk), som bygger dels på de enkelte taxas følsomhed overfor pesticider, dels deres biologiske karakteristika som reproduktionsperiode og mobilitet (Liess & von der Ohe 2005). Ved at fokusere på disse biologiske karakteristika er det forsøgt at gøre indekset uafhængigt af andre betydende miljøfaktorer som fx organisk forurening og fysiske forhold. Indekset har især vist sig velegnet til at afspejle effekter forbundet med sprøjtninger mod markskadedyr i maj-juni, ligesom det synes at have potentiale som et fælles europæisk indeks i forbindelse med implementering af Vandrammedirektivet (Von der Ohe et al. 2007). DMU vil i forbindelse med projektet RISKPOINT teste indekset på data indsamlet i forbindelse med NOVANA. I den forbindelse er det væsentligt at fremhæve, at de pågældende prøver er bearbejdet på et langt mere detaljeret niveau (fuld udsortering, detaljeret identifikation af de enkelte taxa, optælling af disse), end hvad der kræves for at kunne beregne faunaklassen efter DVFI (se Pedersen et al. 2007). Det betyder modsat, at indekset ikke umiddelbart vil kunne bruges i

forbindelse med gængse DVFI-prøver indsamlet efter anvisningerne i Miljøstyrelsen (1998).

Det kan dog vise sig at være et problem med netop NOVANA data, at disse er indsamlet i perioden februar-april. Det er således 10-11 måneder efter seneste vigtige sprøjteperiode, hvorved de mulige effekter af pesticider i vidt omfang kan være maskeret pga. efterfølgende rekolonisering.

SPEAR har vist sig meget effektiv til at beskrive effekter af pesticider i bl.a. tyske vandløb (Liess & von der Ohe 2005, Schäfer et al. 2007, Liess et al. 2008), muligvis fordi påvirkningen er relativt omfattende. Det er således muligt, at koncentrationerne i de tyske vandløb er højere end de, som normalt forekommer i danske vandløb. I givet fald skal det være muligt at påvise effekter af fx pyrethroider i intervallet 0,1-0,5 µg l<sup>-1</sup> i danske vandløb.

Hidtidige studier af effekter af pyrethroider på smådyr under Miljøstyrelsens Pesticidforskningsprogram har fokuseret på effekten af pulse med forskellige koncentrationer af pyrethroider. Derimod mangler der viden om betydningen af gentagne pulse. Her vil det være relevant specielt at fokusere på de koncentrationer, som ikke har overvejende lethale effekter, men derimod sublethale effekter. De pågældende koncentrationer vil formodentlig netop være de, som må forventes i vandløbene i forbindelse med sprøjtning af marker og efterfølgende udvaskning i forbindelse med regn (0,1-0,5 µg l<sup>-1</sup>).

Endelig vanskeliggøres vurderingen af pyrethroidernes potentielle skadevirkninger af den begrænsede viden om de koncentrationer, som forekommer i vandløbene i forbindelse med den normale brug af stofferne. Udvasningen i forbindelse med kraftige regnhændelser efter udbringning af pyrethroiderne er her et centralt punkt i vurderingen af risikoen for, at stofferne ender i vandløbene. Hvis det således ikke regner, eller højst regner meget svagt, i den periode, hvor der typisk sprøjtes mod skadevoldende insekter, vil der næppe udvaskes væsentlige mængder pyrethroid, hvis nogen overhovedet. Med fremtidens ændrede klima vil der kunne forventes mere nedbør om vinteren, men mindre nedbør forår og sommer (Christensen et al. 2006). Afstrømningen vil være forøget om vinteren og frem til juli måned, hvorefter afstrømningen frem til november vil blive væsentlig mindre end tidligere (Sand-Jensen et al. 2006). Det må betyde, at markdrænene ofte vil føre vand i den periode, hvor der primært sprøjtes med pyrethroider. Men selvom nedbørsmængden forventes at aftage om sommeren, vil der hyppigere optræde meget kraftige regnskyl (Christensen et al. 2006). Det betyder, at hvis drænene samtidig fører vand, vil der være stor risiko for transport af pyrethroider til vandløbene. De kraftige regnbyger kan endvidere føre til overfladisk afstrømning af pyrethroider, hvor terrænet skråner kraftigt mod vandløbene. Med de relativt uforudsigelige ekstremssituationer må det imidlertid anses for vanskeligt at beregne risikoen for forurening af vandløbene med pyrethroider.

Der skal ikke mindst derfor peges på behovet for flere og bedre målinger af koncentrationen af pyrethroider i vandløb i forbindelse med kraftige regnhændelser efter nysprøjtning af marker. Dette emne har hidtil ikke været medtaget i nationale overvågningsprogrammer (NOVA, NOVANA), men er et oplagt område i forbindelse med fremtidige revisioner af disse programmer. Målingerne bør ikke alene fokusere på den relativt lille mængde stof, som må forventes at forekomme opløst, men også på den væsentlige partikelbundne fraktion. I tilknytning hertil er der desuden et betydeligt behov for at

sammenkæde denne stoftilførsel med mulige og sandsynlige effekter på vandløbenes smådyrsfauna, herunder ændringer i biodiversitet og dyrenes rolle i omsætningen af organisk stof. Tyske undersøgelser har allerede påvist, at partikelbundne pyrethroider har negative effekter på smådyrssamfundene i vandløb (Schulz & Liess 2001).

## 7 Referencer

Ali, A. & Morris, C. (1992) Management of non-biting midges. Technical Bulletin 4, University of Florida, 16 pp.

Arsuffi, T.L. & Suberkropp, K. (1988) Effects of fungal mycelia and enzymatically degraded leaves on feeding and performance of caddisfly (Trichoptera) larvae. J.N. Am. Benthol. Soc. 7: 205-211.

Arsuffi, T.L. & Suberkropp, K. (1989) Selective feeding by shredders on leaf-colonizing stream fungi: comparison of macroinvertebrate taxa. Oecologia 79: 30-37.

Askew, R.R. (1988) The dragonflies of Europe. Harley Books, 291 pp.

Barlöcher, F. (ed.) (1992) The ecology of aquatic hyphomycetes. Springer-verlag, Berlin, 225 pp.

Bay, H. & Hansen, H. P. B. (2001) Gårdspladser og vaskepladser forurener grundvandet med pesticider. VANDteknik nr. 1, 12-17.

Beer-Stiller, A. & Zwick, P. (1995) Biometric studies of some stoneflies and a mayfly (Plecoptera and Ephemeroptera). Hydrobiologia 299: 169-178.

Beketov, M. & Liess, M. (2008) Potential of 11 pesticides to initiate downstream drift of stream macroinvertebrates. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 55: 247-253.

Beketov, M.A., Schäfer, R.B., Marwitz, A., Paschke, A. & Liess, M. (2008) Long-term stream invertebrate community alterations induced by the insecticide thiacloprid: Effect concentrations and recovery dynamics. Science of the Total Environment 405: 96-108.

Benfield, E.F. (2006) Decomposition of leaf material. Pp. 711-720 i: Hauer, F.R. & Lamberti, G.A. (red.) Methods in Stream Ecology, 2.ed. Elsevier, Academic Press.

Benfield, E.F., Jones, D.S. & Patterson, M.F. (1977) Leaf pack processing in a pastureland stream. Oikos 29: 99-103.

Bennett, C. (2007) A seven year study of the life cycle of the mayfly *Ephemera danica*. Freshwater Forum 27: 3-14.

Bengtsson, J. (1984) Autecological studies of *Nemoura cinerea* (Tetz.) (Plecoptera). Archiv für Hydrobiologie 100: 299-309.

Bilton, D.T., Freeland, J.R. & Okamura, B. (2001) Dispersal in freshwater invertebrates. Annual Review of Ecological Systematics 32: 159-181.

- Bird, G.A. & Kaushik, N.K. (1992) Invertebrate colonization and processing of maple leaf litter in a forested and an agricultural reach of a stream. *Hydrobiologia* 234: 65-77.
- Bishop, J.E. & Hynes, H.B.N. (1969) Upstream movements of the benthic invertebrates in the Speed River, Ontario. *J. Fish. Res. Bd. Canada* 26: 279-298.
- Blakely, T.J., Harding, J.S., McIntosh, A.R. & Winterbourn, M.J. (2006) Barriers to the recovery of aquatic insect communities in urban streams. *Freshwater Biology* 51: 1634-1645.
- Bohonak, A.J. & Jenkins, D.G. (2003) Ecological and evolutionary significance of dispersal by freshwater invertebrates. *Ecology Letters* 6: 783-796.
- Boulton, A.J., Spangaro, G.M. & Lake, P.S. (1988) Macroinvertebrate distribution and recolonization on stones subjected to varying degrees of disturbance – and experimental approach. *Archiv für Hydrobiologie* 113: 551-576.
- Bournaud, M., Chavanon, G. Tachet, H. (1978) Structure et fonctionnement des écosystèmes du Haut-Rhône français. 5. Colonisation par les macroinvertébrés de substrats artificiels suspendus en pleine eau ou posés sur le fond. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 20: 1485-1493.
- Braioni, M.G., Gumiero, B. & Salmoiraghi, G. (2001) Leaf bags and natural leaf packs: two approaches to evaluate river functional characteristics. *Internat. Rev. Hydrobiol.* 86: 439-451.
- Brewin, P.A., Buckton, S.T. & Ormerod, S.J. (2000) The seasonal dynamics and persistence of stream macroinvertebrates in Nepal: do monsoon floods represent disturbance? *Freshwater Biology* 44: 581-594.
- Briers, R.A., Cariss, H.M. & Gee, J.H.R. (2003) Flight activity of adult stoneflies in relation to weather. *Ecological Entomology* 28: 31-40.
- Briers, R.A. & Gee, J.H.R. (2004) Riparian forestry management and adult stream insects. *Hydrology and Earth System Sciences* 8: 545-549.
- Briers, R.A., Cariss, H.M. & Gee, J.H.R. (2002) Dispersal of adult stoneflies (Plecoptera) from upland streams draining catchments with contrasting land-use. *Archiv für Hydrobiologie* 155: 627-644.
- Briers, R.A., Gee, J.H.R., Cariss, H.M. & Geoghegan, R. (2004) Inter-population dispersal by adult stoneflies detected by stable isotope enrichment. *Freshwater Biology* 49: 425-431.
- Brittain, J.E. & Eikeland, T.J. (1988) Invertebrate drift – A review. *Hydrobiologia* 166: 77-93.
- Brönmark, C., Hermann, J. Malmquist, B., Otto, C. & Sjöström, P. (1984) Animal community structure as a function of stream size. *Hydrobiologia* 112: 73-79.

- Bunn, S.E. & Hughes, J.M. (1997) Dispersal and recruitment in streams: Evidence from genetic studies. *Journal of the North American Benthological Society* 16: 338-346.
- Bøgestrand, J. (red.) (2003) Vandløb 2002, NOVA 2003. Danmarks Miljøundersøgelser. Faglig rapport fra DMU, nr. 470.
- Cáceres, C.E. & Soluk, D.A. (2002) Blowing in the wind: a field test of overland dispersal and colonization by aquatic invertebrates. *Oecologia* 131: 402-408.
- Cardinale B.J., Palmer M.A. & Collins S.L. (2002) Species diversity enhances ecosystem functioning through interspecific facilitation. *Nature* 415: 426-429.
- Carvalho, E.M. & Graça, M.A.S. (2007) A laboratory study on feeding plasticity of the shredder *Sericostoma vittatum* Rambur (Sericostomatidae). *Hydrobiologia* 575: 353-359.
- Caudill, C.C. (2003) Measuring dispersal in a metapopulation using stable isotope enrichment: high rates of sex-biased dispersal between patches in a mayfly metapopulation. *Oikos* 101: 624-630.
- Cedergreen, N., Streibig, J.C. & Spliid, N.H. (2004) Pesticiders påvirkning af planter og alger i vandmiljøet. Bekæmpelsesmiddelforskning fra Miljøstyrelsen Nr. 89, 82 pp.
- Charalambidou, I., Santamaria, L. & Figuerola, J. (2003) How far can the freshwater bryozoan *Cristatella mucedo* disperse in duck guts? *Archiv für Hydrobiologie* 157: 547-554.
- Chen, J.Q., Franklin, J.F. & Spies, T.A. (1993) Contrasting microclimates among clear-cut, edge, and interior of old-growth Douglas fir forest. *Agr. Forest Meteorol.* 63: 219-237.
- Chergui, H. & Pattee, E. (1991) An experimental study of the breakdown of submerged leaves by hyphomycetes and invertebrates in Morocco. *Freshwater Biology* 26: 97-110.
- Chiborowski, J.J.H. & Clifford, H.F. (1984) Short-term colonization patterns of lotic macroinvertebrates. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 41: 1626-1633.
- Christensen, J.H., Christensen, O.B., Guldberg, A. & Stendel, M. (2006) Modeller for klimaets udvikling. Kapitel 4 (pp. 40-54) i: Søndergaard, M., Kronvang, B., Pejrup, M. & Sand-Jensen, K. (eds.) Vand og vejr om 100 år. Klimaforandringer og det danske vandmiljø. Hovedland.
- Clarke, K.R. & Warwick, R.M. (1994) Change in marine communities: A approach to statistical analysis and interpretation. Plymouth Marine Laboratory, 144 pp.
- Clarke, K.R. & Gorley, R.N. (2001) PRIMER version 5. User Manual/Tutorial. PRIMER-E Ltd. Plymouth Marine Laboratory, U.K., 91 pp.

- Cohen, G.M. & Shurin, J.B. (2003) Scale-dependence and mechanisms of dispersal in freshwater zooplankton. *Oikos* 103: 603-617.
- Collier K.J. & Smith, B.J. (1998) Dispersal of adult caddisflies (Trichoptera) into forests alongside three New Zealand streams. *Hydrobiologia* 361: 53-65.
- The Commission of the European Communities (2008) Commission decision of 30 October 2008 establishing, pursuant to Directive 2000/60/EC of the European Parliament and the Council, the values of the Member State monitoring system classifications as a result of the intercalibration exercise. Document C(2008) 6016 - 2008/915/EC.
- Conrad, K.F., Willson, K.H., Harvey, I.F., Thomas, C.J. & Sherratt, T.N. (1999) Dispersal characteristics of seven odonate species in an agricultural landscape. *Ecography* 22: 524-531.
- Corkum, L.D. (1987) Patterns in mayfly (Ephemeroptera) wing length: adaptation to dispersal? *Canadian Entomologist* 119: 783-790.
- Crichton, M.I. (1957) The structure and function of the mouth parts of adult caddisflies (Trichoptera). *Phil. Trans. R. Soc. London (B)* 241: 45-91.
- Crichton, M.I. (1960) Observations on the longevity and dispersal of adult Limnephilidae (Trichoptera). *Proc. XIth int. Congr. Ent. (Vienna)* 1: 366-371.
- Csabai, Z., Boda, P., Bernath, B., Kriska, G. & Horvath, G. (2006) A 'polarisation sun-dial' dictates the optimal time of day for dispersal by flying aquatic insects. *Freshwater Biology* 51: 1341-1350.
- Cuffney, T.F., Wallace, J.B. & Lugthart, G.J. (1990) Experimental evidence quantifying the role of benthic invertebrates in organic matter dynamics of headwater streams. *Freshwater Biology* 23: 281-300.
- Culp, J.M., Lowell, R.B. & Cash, K.J. (2000) Integrating mesocosm experiments with field and laboratory studies to generate weight-of-evidence risk assessments for large rivers. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19: 1167-1173.
- Dangles, O., Gessner, M.O., Guerold, F. & Cauvet, E. (2004) Impacts of stream acidification on litter breakdown: implications for assessing ecosystem functioning. *Journal of Applied Ecology* 41: 365-378.
- Dansk Standard (1986) Vandundersøgelse – klorofyl a – spektrometrisk måling i ethanolekstrakt. DS 2201, 6 s.
- Darwin, C. (1859) The origin of species by means of natural selection. John Murray, London
- Davy-Bowker, J. (2002) A mark and recapture study of water beetles (Coleoptera: Dytiscidae) in a group of semi-permanent and temporary ponds. *Aquatic Ecology* 36: 435-446.

- Degrange, C. (1960) Recherches sur la reproduction des Éphemeroptères. Travail du Laboratoire d'hydrobiologie et de pisciculture de l'Université Grenoble 50/51: 7-193.
- Delettre, Y.R. (1988) Chironomid wing length, dispersal ability and habitat predictability. *Holarctic Ecology* 11: 166-170.
- Delettre, Y.R. & Morvan, N. (2000) Dispersal of adult aquatic Chironomidae (Diptera) in agricultural landscapes. *Freshwater Biology* 44: 399-411.
- Dobson, M. (1994) Microhabitat as a determinant of diversity: stream invertebrates colonizing leaf packs. *Freshwater Biology* 32: 565-572.
- Dobson, M., Hildrew, A.G., Ibbotson, A. & Garthwaite, J. (1992) Enhancing litter retention in streams: do altered hydraulics and habitat area confound field experiments? *Freshwater Biology* 28: 71-79.
- Doeg, T.J., Lake, P.S. & Marchant, R. (1989a) Colonization of experimentally disturbed patches by stream macroinvertebrates in the Acheron River, Victoria. *Aust. J. Ecol.* 14: 207-220.
- Doeg, T.J., Marchant, R., Douglas, M. & Lake, P.S. (1989b) Experimental colonization of sand gravel and stones by macroinvertebrates in the Acheron River, southeastern Australia. *Freshwater Biology* 22: 57-64.
- Elbersen-Van der Straten, J.W.H. & Higler, L.W.G. (2002) Dispersie en migratie van aquatische insecten in stillstaande en stromende wateren. Alterra-rapport 572, Research Instituut voor de Groene Ruimte, Wageningen, 40 pp.
- Elliott, J. M. (1969) Life history and biology of *Sericostoma personatum* Spence (Trichoptera). *Oikos* 20: 110-118.
- Elliott, J.M. (1971) Upstream movements of benthic invertebrates in a Lake District stream. *J. anim. Ecol.* 40: 235-252.
- Elliott, J.M. (1984) Hatching time and growth of *Nemurella pictetii* (Plecoptera: Nemouridae) in the laboratory and a Lake District stream. *Freshwater Biology* 14: 491-499.
- Elliott, J.M. (1986) The effect of temperature on the egg incubation period of *Capnia bifrons* (Plecoptera: Capniidae) from Windermere (English Lake District). *Holarctic Ecology* 9: 113-116.
- Elliott, J.M. (1987) Egg hatching and resource partitioning in stoneflies: the six British *Leuctra* spp. (Plecoptera: Leuctridae). *Journal of Animal Ecology* 56: 415-426.
- Elliott, J.M. (2002a) A continuous study of the total drift of freshwater shrimps, *Gammarus pulex*, in a small stony stream in the English Lake District. *Freshwater Biology* 47: 75-86.
- Elliott, J.M. (2002b) The drift distances and time spent in the drift by freshwater shrimps, *Gammarus pulex*, in a small stony stream, and their implications for the interpretation of downstream dispersal. *Freshwater Biology* 47: 1403-1417.

- Elliott, J.M. (2003) A comparative study of the dispersal of 10 species of stream invertebrates. *Freshwater Biology* 48: 1652-1668.
- Enders, G. & Wagner, R. (1996) Mortality of *Apatania fimbriata* (Insecta: Trichoptera) during embryonic, larval and adult life stages. *Freshwater Biology* 36: 93-104.
- Englund, G. & Hambäck, P.A. (2004) Scale-dependence of movement rates in stream invertebrates *Oikos* 105: 31-40.
- Felding, G., Mogensen, B.B., Sørensen, J.B. & Hansen, A.C. (1997) Surface run-off of pesticides from farmland to streams and lakes. *Bekæmpelsesmiddelforskning fra Miljøstyrelsen*, nr. 29. 76 s.
- Figuerola, J. & Green, A.J. (2002) Dispersal of aquatic organisms by waterbirds: a review of past research and priorities for future studies. *Freshwater Biology* 47: 483-494.
- Forbes, V.E. & Cold, S. (2005) Effects of the pyrethroid esfenvalerate on life-cycle traits and population dynamics of *Chironomus riparius* – importance of exposure scenario. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24: 78-86.
- Friberg, N. (1996) Biological structure of forest streams and effects of afforestation. PhD thesis, National Environmental Research Institute & University of Copenhagen, Freshwater Biological Laboratory. Ministry of Environment and Energy, National Environmental Research Institute, 115 pp.
- Friberg, N. (1997) Benthic invertebrate communities in six Danish forest streams. *Ecography* 20: 19-28.
- Friberg, N. & Jacobsen, D. (1994) Feeding plasticity of two detritivore-shredders. *Freshwater Biology* 32: 133-142.
- Friberg, N., Lindstrøm, M., Kronvang, B. & Larsen, S.E. (2003) Macroinvertebrate/sediment relationships along a pesticide gradient in Danish streams. *Hydrobiologia* 494: 103-110.
- Friberg, N., Skriver, J., Larsen, S.E., Pedersen, M.L. & Buffagni, A. (2009) Stream macroinvertebrate response to gradients in organic pollution and eutrophication. *Freshwater Biology* (in press).
- Friesen, M.K., Galloway, T.D. & Flannagan, J.F. (1983) Toxicity of the insecticide permethrin in water and sediment to nymphs of the burrowing mayfly *Hexagenia rigida* (Ephemeroptera: Ephemeridae). *The Canadian Entomologist* 115: 1007-1014.
- Fryer, G. (1985) Crustacean diversity in relation to the size of water bodies: some facts and problems. *Freshwater Biology* 15: 347-361.
- Fuchs, U. & Statzner, B. (1990) Time scales for the recovery potential of river communities after restoration: lessons to be learned from smaller streams. *Regulated Rivers: Research & Management* 5: 77-87.

Fyns Amt (2003) Vandløbenes miljøtilstand 2002. Fyns Amt, Natur- og Vandmiljøafdelingen.

Gessner, M.O. & Schwoerbel, J. (1991) Fungal biomass associated with decaying leaf litter in a stream. *Oecologia* 87: 602-603.

Gessner, M.O., Chauvet, E. & Dobson, M. (1999) A perspective on leaf litter breakdown in streams. *Oikos* 85: 377-384.

Ghadiri, H. & Rose, C.W. (1991) Sorbed chemical transport in overland flow: 1. A nutrient and pesticide enrichment mechanism. *Journal of Environmental Quality* 20: 628-634.

Giller, P.S. & Cambell, R.N.B. (1989) Colonization patterns of mayfly nymphs (Ephemeroptera) on implanted substrate trays of different size. *Hydrobiologia* 178: 59-71.

Golladay, S.W., Webster, J.R. & Benfield, E.F. (1985) Factors affecting food utilisation by a leaf shredding aquatic insect: leaf species and conditioning time. *Holarctic Ecology* 6: 157-162.

Gore, J.A. (1979) Patterns of initial benthic recolonization of a reclaimed coal strip-mined river channel. *Canadian Journal of Zoology* 57: 2429-2439.

Gore, J.A. (1982) Benthic invertebrate colonization: source distance effects on community composition. *Hydrobiologia* 94: 183-193.

Graça, M.A.S. (2001) The role of macroinvertebrates on leaf litter decomposition in streams – a review. *Internat. Rev. Hydrobiol.* 86: 383-393.

Graça, M.A.S., Maltby, L. & Calow, P. (1993a) Importance of fungi in diet of *Gammarus pulex* and *Asellus aquaticus*. I. Feeding strategies. *Oecologia* 93: 139-144.

Graça, M.A.S., Maltby, L. & Calow, P. (1993b) Importance of fungi in diet of *Gammarus pulex* and *Asellus aquaticus*. II. Effects on growth, reproduction and physiology. *Oecologia* 96: 304-309.

Graça, M.A.S. & Ferreira, R. (1995) The ability of selected aquatic hyphomycetes and terrestrial fungi to decompose leaves in freshwater. *Sydowia* 47: 167-179.

Gray, L.J. & Fisher, S.G. (1981) Postflood recolonization pathways of macroinvertebrates in a lowland Sonoran desert stream. *American Midland Naturalist* 106: 249-257.

Green, A.J. & Figuerola, J. (2005) Recent advances in the study of long-distance dispersal of aquatic invertebrates via birds. *Diversity and Distributions* 11: 149-156.

Green, A.J. & Sánchez, M.I. (2006) Passive internal dispersal of insect larvae by migratory birds. *Biology Letters* 2: 55-57.

- Green, A.J., Jenkins, K.M., Bell, D., Morris, P.J. & Kingsford, R.T. (2008) The potential role of waterbirds in dispersing invertebrates and plants in arid Australia. *Freshwater Biology* 53: 380-392.
- Griffith, M.B., Barrows, E.M. & Perry, S.A. (1998) Lateral dispersal of adult aquatic insects (Plecoptera, Trichoptera) following emergence from headwater streams in forested Appalachian catchments. *Annals of the Entomological Society of America* 91: 195-201.
- Gäde, G., Šimek, P. & Marco, H.G. (2007) Water scorpions (Heperoptera, Nepidae) and giant water bugs (Heteroptera, Belostomatidae): Sources of new members of the adipokinetic hormone/red pigment-concentration hormone family. *Peptides* 28: 1359-1367.
- Hand, L.H., Kuet, S.F., Lane, M.C.G., Maund, S.J., Warinton, J.S. & Hill, J.R. (2001) Influences of aquatic plants on the fate of the pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin in aquatic environments. *Environ. Toxicol. Chem.* 20: 1740-1745.
- Harris, R.M.L., Armitage, P.D., Milner, A.M. & Ledger, M.E. (2007) Replicability of physiochemistry and macroinvertebrate assemblages in stream mesocosms: implications for experimental research. *Freshwater Biology* 52: 2434-2443.
- Harrison, S.C. & Harris, I.T. (2002) The effects of bankside management on chalk stream invertebrate communities. *Freshwater Biology* 47: 2233-2245.
- Havel, J.E. & Shurin, J.B. (2004) Mechanisms, effects, and scales of dispersal in freshwater zooplankton. *Limnology and Oceanography* 49: 1229-1238.
- Heckmann, L.-H. & Friberg, N. (2005) Macroinvertebrate community response to pulse exposure with the insecticide lambda-cyhalothrin using in-stream mesocosms. *Environ. Toxicol. Chem.* 24: 582-590.
- Heckmann, L.-H., Friberg, N. & Ravn, H.W. (2005). Relationship between biochemical biomarkers and pre-copulatory behaviour and mortality in *Gammarus pulex* following pulse-exposure to lambda-cyhalothrin. *Pest Management Science* 61: 627-635.
- Hill, I.R. (1989) Aquatic organisms and pyrethroids. *Pesticide Science* 27: 429-465.
- Hof, C., Brändle, M. & Brandl, R. (2006) Lentic odonates have larger and more northern ranges than lotic species. *Journal of Biogeography* (J. Biogeogr.) 33: 63-70.
- Hoffrichter, O. (1973) On the role of traffic as possible means of dispersal in chironomids. *Chironomus* 1 (12/13): 102-104.
- Hoffsten, P.-O. (2004) Site-occupancy in relation to flight-morphology in caddisflies. *Freshwater Biology* 49: 810-817.
- Hughes, J.M. (2007) Constraints on recovery: using molecular methods to study connectivity of aquatic biota in rivers and streams. *Freshwater Biology* 52: 616-631.

- Humfries, S. (2002) Dispersal in drift-prone macroinvertebrates: a case for density-independence. *Freshwater Biology* 47: 921-929.
- Humpesch, U.H. & Elliott, J.M. (1984) Zur Ökologie adulter Ephemeropteren Östereichs. *Archiv für Hydrobiologie* 101: 179-207.
- Irons, J.G., Oswood, M.W., Stout, R.J. & Pringle, C.M. (1994) Latitudinal patterns in leaf litter breakdown: is temperature really important? *Freshwater Biology* 32: 401-411.
- Iversen, T.M. (1973) Decomposition of autumn-shed beech leaves in a springbrook and its significance for the fauna. *Archiv für Hydrobiologie* 72: 305-312.
- Iversen, T.M. (1974) Ingestion and growth in *Sericostoma personatum* (Trichoptera) in relation to the nitrogen content of ingested leaves. *Oikos* 25: 278-282.
- Iversen, T.M. (1975) Disappearance of autumn shed beech leaves placed in bags in small streams. *Verh. Internat. Verein. Limnol* 19: 1687-1692.
- Iversen, T.M. & Madsen, B.L. (1977) Allochthonous organic matter in streams. Pp. 17-20 i: Hunding, C.(red.) Danish limnology – Review and perspectives. *Folia Limnologica scandinavica* 17. OAB Press, Odense.
- Jackson, J.K. (1988) Diel emergence, swarming and longevity of selected adult aquatic insects from a Sonoran desert stream. *Amer. Midland Naturalist* 119: 344-352.
- Jackson, J.K. & Fisher, S.G. (1986) Secondary production, emergence, and export of aquatic insects of a Sonaran desert stream. *Ecology* 67: 629-638.
- Jackson, J.K. & Resh, V.H. (1989) Distribution and abundance of adult aquatic insects in the forest adjacent to a Northern California stream. *Environmental Entomology* 18: 278-283.
- Jacobsen, D. & Friberg, N. (1997) Macroinvertebrate communities in Danish streams: the effect of riparian forest cover. Pp. 208-222, i: Sand-Jensen, K. & Pedersen, O. (red.) *Freshwater Biology. Priorities and development in Danish research*. G.E.C. Gad, Copenhagen.
- Jensen, C.F. & Jensen, F. (1984) Faunainteresser i danske vandløb. Naturhistorisk Museum Aarhus & Fredningsstyrelsen, Miljøministeriet, 180 pp.
- Johnson, C.G. (1969) Migration and dispersal of insects by flight. Methuen & Co ltd, London, 763 pp.
- Johnson, K.R., Jepson, P.C. & Jenkins, J.J. (2008) Esfenvalerate-induced case-abandonment in the larvae of the caddisfly (*Brachycentrus americanus*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 27: 397-403.

- Jonsen, I. & Taylor, P.D. (2000) *Calopteryx* damselfly dispersions arising from multiscale responses to landscape structure. Conservation Ecology 4, 18 pp. (<http://www.consecol.org/vol4/iss2/art4/>)
- Kaiser, E.W. (1961) Studier over de danske *Sialis*-arter II (Megaloptera). Biologien hos *S. fuliginosa* Pict. og *S. nigripes* Ed. Pict. Flora og Fauna 67: 74-96.
- Kelly, D.W., Dick, J.T.A. & Montgomery, W.I. (2002) The functional role of *Gammarus* (Crustacea, Amphipoda): shredders, predators, or both? Hydrobiologia 485: 199-203.
- Khoo, S.G. (1968) Experimental studies on diapause in stoneflies III. Eggs of *Brachyptera risi* (Morton). Proc. R. ent. Soc. London (A) 43: 141-146.
- Kjeldsen, K. (1996) Regulation of algal biomass in a small lowland stream: field experiments on the role of invertebrate grazing, phosphorus and irradiance. Freshwater Biology 36: 535-546.
- Kjeldsen, K., Iversen, T.M., Thorup, J. & Lund-Thomsen, P. (1999) Three-year study of benthic algal spring bloom development in a small, Danish lowland stream. Hydrobiologia 335: 183-192.
- Kjeldsen, L. (1993) Spærringer for smådyr ved vandløb. Vand & Miljø 10: 52-55.
- Kovats, Z.E., Ciborowski, J.J.H. & Corkum, L.D. (1996) Inland dispersal of adult insects. Freshwater Biology 36: 265-276.
- Kriska, G., Horváth, G. & Androkovics, S. (1998) Why do mayflies lay their eggs *en masse* on dry asphalt roads? Water-imitating polarized light reflected from asphalt attracts Ephemeroptera. The Journal of Experimental Biology 201: 2273-2286.
- Kristensen, K.K. (2004) Vandløbsrestaurering – en sammenligning af makroinvertebrat-samfund og fysiske forhold i genslyngede, udrettede og naturligt slyngede vandløb. Specialrapport i biologi. Afd. for Zoofysiologi, Biologisk Institut, Aarhus Universitet & Afd. for Ferskvandsøkologi, Danmarks Miljøundersøgelser, 124 pp.
- Kronvang, B., Laubel, A., Larsen, S.E. & Friberg, N. (2003a) Pesticides and heavy metals in Danish streambed sediment. Hydrobiologia 494: 93-101.
- Kronvang, B., Iversen, H.L., Vejrup, K., Mogensen, B.B., Hansen, A.-M. & Hansen, L.B. (2003b) Pesticides in streams and subsurface drainage water within two arable catchments in Denmark: Pesticide application, concentration, transport and fate. Pesticides Research 69, Danish Environmental Protection Agency, 141 pp.
- Kureck, A. & Fontes R.J. (1996) The life cycle and emergence of *Ephoron virgo*, a large potamal mayfly that has returned to the River Rhine. Archiv für Hydrobiologie, Supplement 113: 319-323.
- Kuusela, K. & Huusko, A. (1996) Post-emergence migration of stoneflies (Plecoptera) into the nearby forest. Ecological Entomology 21: 171-177.

- Ladle, M., Welton, J.S. & Bass, J.A.B. (1980) Invertebrate colonisation of the gravel substratum of an experimental recirculating channel. *Holarctic Ecology* 3: 116-123.
- Lake, P.S. & Doeg, T.J. (1985) Macroinvertebrate colonization of stones in two upland southern Australian streams. *Hydrobiologia* 126: 199-212.
- Lamberti, G.A., Gregory, S.V., Ashkenas, L.R., Wildman, R.C. & Moore, K.M.S. (1991) Stream ecosystem recovery following a catastrophic debris flow. *Canadian J. Fish. Aquat. Sci.* 48: 196-208.
- Landin, J. (1980) Habitats, life histories, migration and dispersal by flight of two water-beetles *Helophorus brevipalpis* and *H. strigifrons* (Hydrophilidae). *Holarctic Ecology* 3: 190-201.
- Landin, J. & Vepsäläinen, K. (1977) Spring dispersal flights of pond-skaters *Gerris* spp. (Heteroptera). *Oikos* 29: 156-160.
- Larsen, M.R. (1999) Spredning af voksne vårfluer (Trichoptera) og døgnfluer (Ephemeroptera) i tre forskellige vegetationstyper. Specialrapport, Ferskvandsbiologisk Laboratorium, Københavns Universitet, 65 pp.
- Lassen, H.H. (1975) The diversity of freshwater snails in view of the equilibrium theory of island biogeography. *Oecologia* 19: 1-8.
- Lassen, H.H. (1978) The migration potential of freshwater snails exemplified by the dispersal of *Potamopyrgus jenkinsi*. *Natura Jutlandica* 20: 237-242.
- Lawson, D.L., Klug, M.J. & Merrit, R.W. (1984) The influence of the physical, chemical, and microbiological characteristics of decomposing leaves on the growth of the detritivore *Tipula abdominalis* (Diptera: Tipulidae). *Canadian Journal of Zoology* 62: 2339-2343.
- Lauridsen, R.B. & Friberg, N. (2005) Stream macroinvertebrate drift response to pulse exposure of the synthetic pyrethroid lambda-cyhalothrin. *Environmental Toxicology* 20(5): 513-521.
- Lauridsen, R.B., Kronvang, B. & Friberg, N. (2006) Occurrence of sediment-bound pyrethroids in Danish streams and their impact on ecosystem function. *Water, Air, and Soil Pollution: Focus* 6: 423-432.
- Liess, M. (2002) Population response to toxicants is altered by intraspecific interaction. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21: 138-142.
- Liess, M. & Schulz, R. (1999) Linking insecticide contamination and population response in an agricultural stream. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18: 1948-1955.
- Liess, M. & Von der Ohe, P.C. (2005) Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams. *Environ. Toxicol. Chem.* 24: 954-965.
- Liess, M., R. Schulz, M. H.-D. Liess, B. Rother & R. Kreuzig (1999) Determination of insecticide contamination in agricultural headwater streams. *Water Research* 33: 239-247.

- Liess, M., Schäfer, R.B. & Schriever, C.A. (2008) The footprint of pesticide stress in communities – Species traits reveal community effects of toxicants. *Science of the Total Environment* 406: 484-490.
- Lindegaard-Petersen, C. (1972) An ecological investigation of the Chironomidae (Diptera) from a Danish lowland stream (Linding Å). *Archiv für Hydrobiologie* 69: 465-507.
- Louette, G. & de Meester, L. (2005) High dispersal capacity of cladoceran zooplankton in newly founded communities. *Ecology* 86: 353-359.
- Lysgaard, L. (1969) Vejr og klima. Pp. 11-134 i: Nørrevang, A. & Meyer, T.J. (red.) *Danmarks Natur*, bd. 2, Politikens Forlag, København.
- Macneil, C., Dick, J. T. & Elwood, R. W. (1997) The trophic ecology of freshwater *Gammarus* spp. (Crustacea: Amphipoda): Problems and perspectives concerning the functional feeding group concept. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 72: 349-364.
- Madsen, B.L. (1974) A note on the food of *Amphinemura sulcicollis* (Plecoptera). *Hydrobiologia* 74: 39-47.
- Malicky, H. (1987) Anflugdistanz und Fallenfangbarkeit von Köcherfliegen (Trichoptera) bei Lichtfallen. *Jber. Biol. Stn. Lunz* 10: 140-157.
- Malmqvist, B. (2000) How does wing length relate to distribution patterns of stoneflies (Plecoptera) and mayflies (Ephemeroptera)? *Biological Conservation* 93: 271-276.
- Malmqvist B. (2002) Aquatic invertebrates in riverine landscapes. *Freshwater Biology* 47: 679-694.
- Malmqvist, B., Meisch, C. & Nilsson, A.N. (1997) Distribution patterns of freshwater Ostracoda (Crustacea) in the Canary Islands with regards to habitat use and biogeography. *Hydrobiologia* 347: 159-170.
- Malmqvist, B., Rundle, S., Brönmark, C. & Erlandsson, A. (1991) Invertebrate colonization of a new, man-made stream in southern Sweden. *Freshwater Biology* 26: 307-324.
- Maltby, L., Naylor, C. & Calow, P. (1990a) Effect of stress on a freshwater benthic detritivore - scope for growth in *Gammarus pulex*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 19: 285-291.
- Maltby, L., Naylor, C. & Calow, P. (1990b) Field deployment of a scope for growth assay involving *Gammarus pulex*, a freshwater benthic invertebrate. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 19: 292-300.
- Maltby, L., Clayton, S.A., Wood, R.M. & McLoughlin, N. (2002) Evaluation of the *Gammarus pulex* in situ feeding system assay as a biomonitor of water quality: robustness responsiveness and relevance. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21: 361-368.

- Maquire, B. (1963) The passive dispersal of small aquatic organisms and their colonization of isolated bodies of water. *Ecological Monographs* 33: 161-185.
- Masters, Z., Petersen, I., Hildrew, A.G. & Ormerod, S.J. (2007) Insect dispersal does not limit the biological recovery of streams from acidification. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 17: 375-383.
- Matthiessen, P., D. Sheahan, Harrison, R., Kirby, M., Rycroft, R., Turnbull, A., Volkner, C. & Williams, R. (1995) Use of a *Gammarus pulex* bioassay to measure the effects of transient carbofuran runoff from farmland. *Ecotoxicol. Environ. Safety* 30: 111-119.
- McCauley, S.L. (2006) The effects of dispersal and recruitment limitation on community structure of odonates in artificial ponds. *Ecography* 29: 585-595.
- McElravy, E.P., Lamberti, G.A. & Resh, V.H. (1989) Year to year variation in the aquatic macroinvertebrate fauna of a northern California stream. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 8: 51-63.
- McLachlan, A. (1985) The relationship between habitat predictability and wing length in midges (Chironomidae). *Oikos* 44: 391-397.
- McLay, C. (1968) A study of drift in the Kakanui River, New Zealand. *Aust. J. mar. Freshwat. Res.* 19: 139-149.
- Mikkola, K. (1986) Direction of insect migrations in relation to the wind. Pp. 152-171, i: Danthanarayana, W. (ed.) *Insect Flight – Dispersal and migration*, Springer-Verlag.
- Miljøstyrelsen (1998) Biologisk bedømmelse af vandløbskvalitet. Vejledning fra Miljøstyrelsen 5/1998.
- Miljøstyrelsen (2008) Bekæmpelsesmiddelstatistik 2007. Orientering fra Miljøstyrelsen, nr. 4, 2008, 53 pp.
- Minshall, G.W. & Petersen, R.C. (1985) Towards a theory of macroinvertebrate community structure in stream ecosystems. *Archiv für Hydrobiologie* 104: 49-76.
- Minshall, G.W., Andrews, D.A. & Manuel-Faler, C.Y. (1983) Application of island biogeographic theory to streams: macroinvertebrate recolonization of the Teton River, Idaho. Pp. 279-297 i: Barnes, J.R. & Minshall, G.W. (red.) *Stream Ecology: application and testing of general ecological theory*. Plenum, New York.
- Molles, M.C. (1985) Recovery of a stream invertebrate community from a flash flood in Tesuque Creek, New Mexico. *Southwestern Naturalist* 30: 279-287.
- Moore, J.W. (1975) The role of algae in the diet of *Asellus aquaticus* L. and *Gammarus pulex* L. *Journal of Animal Ecology* 44: 719-729.

- Myers, M.J., Sperling, F.A.H. & Resh, V.H. (2001) Dispersal of two species of Trichoptera from desert springs: Conservation implications for isolated vs connected populations. *Journal of Insect Conservation* 5: 207-215.
- Møhlenberg, F., Schlüter, L., Gustavson, K., Andersen, T.T., Forbes, V., Cold, A., Friberg, N., Larsen, S.E. & Lauridsen, R.B. (2004) Effekter af bekæmpelsesmidler på flora og fauna i vandløb. Bekæmpelsesmiddelforskning fra Miljøstyrelsen nr. 82, 134 pp.
- Nathan, R., Perry, G., Cronin, J.T., Strand, A.E. & Cain, M.L. (2003) Methods for estimating long-distance dispersal. *Oikos* 103: 261-273.
- Nathan, R., Sapi, N., Trakhtenbrot, A., Katul, G.G., Bohrer, G., Otte, M., Avissar, R., Soons, M.B., Horn, H.S., Wikelski, M. & Levin, S.A. (2005) Long-distance biological transport processes through the air: can nature's complexity be unfolded in silico? *Diversity and Distributions* 11: 131-137.
- Neergaard, R.S. (2008) Fordelingen af makroinvertebrater langs en størrelsesgradient i tre vandløbstyper. Specialrapport i biologi. Afd. for Plantebiologi, Biologisk Institut, Aarhus Universitet & Afd. for Ferskvandsøkologi, Danmarks Miljøundersøgelser, 92 pp.
- Neumann, M., Liess, M. & Schulz, R. (2003a) An expert system to estimate the pesticide contamination of small streams using benthic macroinvertebrates as bioindicators. Part 1. The database of LIMPACT. *Ecological Indicators* 2: 379-389.
- Neumann, M., Liess, M. & Schulz, R. (2003b) An expert system to estimate the pesticide contamination of small streams using benthic macroinvertebrates as bioindicators. Part II. The knowledge base of LIMPACT. *Ecological Indicators* 2: 391-401.
- Nørgaard, K.B. (2008) Do EBI-fungicides synergise the effect of the pyrethroid insecticide alpha-cypermethrin on *Daphnia magna*? MS Thesis, Department of Agriculture and Ecology, Faculty of Life Sciences, University of Copenhagen, pp. 13-27.
- Nørum, U. & P. Bjerregaard, (2003) Ferskvandsinvertebraters bevægelsesadfærd som biomarkør for pesticideksponering og -effekt. Bekæmpelsesmiddelforskning fra Miljøstyrelsen nr. 75, 66 s.
- Nørum U., Bjerregaard P., Friberg N. & Larsen S.E. (2006) Effekter af pulseksponering med pyrethroider på vandløbsinvertebrater - med særlig fokus på lambda-cyhalothrin. Bekæmpelsesmiddelforskning fra Miljøstyrelsen nr. 102, 100 s.
- Nehring, S. (2005) International shipping – a risk for aquatic biodiversity in Germany. I: Nentwig, W. et al. (eds.) *Biological Invasions – From ecology to control*. NEOBIO 6: 125-143.
- Nielsen, O.F. (1998) *De danske guldsmede*. Apollo Books, 280 pp.
- Nielsen, N.W. & Cappelen, J. (2001) Danmarks klima i det 20. århundrede. *Vejret* 88: 35-53.

OECD (2000) Guidance document on aquatic toxicity testing of difficult substances and mixtures. OECD Environment Health and Safety Publications – Series on Testing and Assessment No. 23.

OECD (2004) OECD guideline for testing of chemicals 202: *Daphnia sp.*, acute immobilisation test, 12 pp.

Oudou, H.C. & Hansen, H.C.B. (2002) Sorption of lambda-cyhalothrin, cypermethrin, deltamethrin and fenvalerate to quartz, corundum, kaolinite and montmorillonite. *Chemosphere* 49: 1285-1294.

Parker, M.S. (1989) Effects of substrate composition on detritus accumulation and macroinvertebrate distribution in a southern Nevada deserts stream. *Southwestern Naturalist* 34: 181-187.

Pearson, R.G. & Jones, N.V. (1987) Short-term movements of chalk-stream invertebrates. *Freshwater Biology* 18: 559-568.

Pedersen, M.L., Baattrup-Pedersen, A. & Wiberg-Larsen, P. (2007) Økologisk overvågning i vandløb og på vandløbsnære arealer under NOVANA 2004-2009. Teknisk anvisning fra DMU nr. 21, 4. udgave, 146 pp.

Petersen, I., Winterbottom, J.H., Orton, S., Friberg, N., Hildrew, A.G., Spiers, D.C. & Gurney, W.S.C. (1999) Emergence and lateral dispersal of adult Plecoptera and Trichoptera from Broadstone Stream, U.K. *Freshwater Biology* 42: 401-416.

Petersen, I., Masters, Z., Hildrew, A.G. & Ormerod, S.J. (2004) Dispersal of aquatic insects in catchments of differing land use. *Journal of Applied Ecology* 41: 934-950.

Petersen, I., Masters, Z., Ormerod, S.J. & Hildrew, A.G. (2006) Sex ratio and maturity indicate the local dispersal and mortality of adult stoneflies. *Freshwater Biology* 51: 1543-1551.

Petersen, J.P. & Englund, G. (2005) Dimensional approaches to designing better experimental ecosystems: a practitioner's guide with examples. *Oecologia* 145: 216-224.

Pither, J. & Taylor, P.D. (1998) An experimental assessment of landscape connectivity. *Oikos* 83: 166-174.

Pontasch, K.W. & Bruswen, M.A. (1987) Periphyton responds to a gasoline spill in Wolf Lodge Creek, Idaho. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44: 1669-1673.

PRIMER-E (2000) PRIMER 5 for Windows. Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research. [Http://www.primer-ed.com](http://www.primer-ed.com).

Purse, B.V., Hopkins, G.W., Day, K.J. & Thompson, D.J. (2003) Dispersal characteristics and management of a rare damselfly. *Journal of Applied Ecology* 40: 716-728.

Rasmussen, J.J., Friberg, N. & Larsen, S.E. (2008) Impact of lambda-cyhalothrin on a macroinvertebrate assemblage in outdoor experimental

channels: Implications for ecosystem functioning. *Aquatic Toxicology* 90: 228-234.

Rees, W.J. (1965) The aerial dispersal of Mollusca. *Proceedings of the malacological Society of London* 36: 269-282.

Rennerich, J. & Schuhmacher, H. (1984) Some aspects of the case-building behaviour of the burrowing caddis-larvae of *Sericostoma personatum* Kirby & Spence 1826. I: Morse, J.C. (ed.). *Proceedings of the Fourth International Symposium on Trichoptera*. Dr. W. Junk Publishers, Haag.

Ribera, I. & Vogler, A.P. (2000) Habitat type as a determinant of species range sizes: the example of lotic-lentic differences in aquatic Coleoptera. *Biological Journal of the Linnean Society* 71: 33-52.

Ribera, I., Foster, G.N. & Vogler, A.P. (2003) Does habitat use explains large scale species richness patterns of aquatic beetles in Europe? *Ecography* 26: 145-152.

Rowe, J.M., Meegan, S.K., Engstrom, E.S., Perry, S.A. & Perry, W.B. (1996) Comparison of leaf processing rates under different temperature regimes in three headwater streams. *Freshwater Biology* 36: 277-288.

Rundle, S.D., Bilton, D.T., Abbott, J.C. & Foggo, A. (2007) Range size in North American *Enallagma* damselflies correlates with wing size. *Freshwater Biology* 52: 471-477.

Sagar, P.M. (1986) The effects of floods on the invertebrate fauna of a large, unstable braided river. *N. Z. J. Mar. Freshwater Res.* 20: 37-46.

Samsøe-Petersen, L., Gustavson, K., Madsen, T., Mogensen, B.B., Lassen, P. & Larsen, J. (2000) De udsatte vandhuller. *Naturens Verden*, Særnummer om pesticider: 16-18.

Sand-Jensen, K., Thodsen, H., Kronvang, B., Pedersen, N.L., Andersen, H.E. & Hansen, K.M. (2006) Klimaforandrings betydning i vandløbene. Kapitel 5 (pp. 55-73) i: Søndergaard, M., Kronvang, B., Pejrup, M. & Sand-Jensen, K. (eds.) *Vand og vej om 100 år. Klimaforandringer og det danske vandmiljø*. Hovedland.

Savolainen, E. (1978) Swarming in Ephemeroptera: the mechanism of swarming and the effects of illumination and weather. *Annales Zoologica Fennici* 15: 17-52.

Schulz, R. (1997) *Aquatische Ökotoxikologie von Insektiziden*. Ecomed, Angewandter Umweltschutz, 167 pp.

Schulz, R. (2004) Field studies on exposure, effects, and risk mitigation of aquatic nonpoint-source insecticide pollution: A review. *Journal of Environmental Quality* 33: 419-448.

Schulz, R., M. Liess (1999a) Validity and ecological relevance of an active in situ bioassay using *Gammarus pulex* and *Limnephilus lunatus*. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 2243-2250.

- Schulz, R. & M. Liess (1999b) A field study of the effects of agriculturally derived insecticide input on stream macroinvertebrate dynamics. *Aquat. Toxicol.* 46: 155-176.
- Schulz, R. & Liess, M. (2001) Runoff simulation with particle-bound fenvalerate in multispecies stream microcosms: importance of biological interactions. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20: 757-762.
- Schäfer, R.B., Caquet, T., Siimes, K., Mueller, R., Lagadic, L. & Liess, M. (2007) Effects of pesticides on community structure and ecosystem functions in agricultural streams of three biogeographical regions in Europe. *Science of the Total Environment* 382: 272-285.
- Shaw, D.W. & Minshall, G.W. (1980) Colonization of an introduced substrate by stream macroinvertebrates. *Oikos* 34: 259-271.
- Slansky, F. & Scriber, M. (1985) Food consumption and utilisation. Pp. 86-163 i: Kerkut, G.A. & Gilbert, L.I. (eds.) *Comprehensive insect physiology*, vol 4. Pergamon Press, Oxford.
- Smith, B.J. & Collier, K.J. (2000) Interactions of adult stoneflies (Plecoptera) with riparian zones II. Diet. *Aquatic Insects* 22: 285-296.
- Smith, B. & Collier, K. (2006) Going over the top: tracking aquatic insect flight paths. *Water & Atmosphere* 14: 20-21.
- Smith, B.J., Collier, K.J. & Halliday, N.J. (2002) Composition and flight periodicity of adult caddisflies in New Zealand hill-country catchments of contrasting land use. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 36: 863-878.
- Sode, A. & Wiberg-Larsen, P. (1993) Dispersal of adult Trichoptera at a Danish forest brook. *Freshwater Biology* 30: 439-446.
- Stevens, L.E., Polhemus, J.T., Durfee, R.S. & Olson, C.A. (2007) Large mixed-species dispersal flights of predatory and scavenging aquatic Heteroptera and Coleoptera, Northern Arizona, USA. *Western North American Naturalist* 67 (4): 587-592.
- Stettmer, C. (1996) Colonisation and dispersal patterns of banded (*Calopteryx splendens*) and beautiful demoiselles (*C. virgo*) (Odonata: Calopterygidae) in south-east German streams. *European Journal of Entomology* 93: 579-593.
- brook. *Freshwater Biology* 30: 439-446.
- Styczen M., Wiberg-Larsen, P. & Aagaard, A. (2003) Tag pulsen på pesticiderne i vandmiljøet. *Vand & Jord* 10: 84-87.
- Suberkropp, K. (1992) Interactions with invertebrates. Pp. 118-134 i: Barlöcher, F. (ed.) *The Ecology of aquatic hyphomycetes*. Springer-Verlag, Berlin.
- Suberkropp, K., Arsuffi, T.L. & Anderson, J.P. (1983) Comparison of degradative ability, enzymatic activity, and palability of aquatic hyphomycetes grown on leaf litter. *Appl. Envir. Microbiol.* 46: 237-244.

- Suberkropp, K. & Wallace, J.B. (1992) Aquatic hyphomycetes in insecticide-treated and untreated streams. *J.N. Am. Benthol. Soc.* 11: 176-171.
- Sutcliffe, D.W., Carrick, T.R. & Willoughby, L.R. (1981) Effects of diet, body size, age and temperature on growth rates in the amphipod *Gammarus pulex*. *Freshwater Biology* 11: 183-214.
- Sweeney, B.W. (1993) Factors influencing life-history patterns of aquatic insects. Pp. 56-100 i: Resh, V.H. & Rosenberg, D.M. (red.) *The Ecology of Aquatic Insects*. Praeger Scientific, New York, UAS.
- Svensson, B.W. (1974) Population movements of adult Trichoptera at a South Swedish stream. *Oikos* 25: 157-175.
- Tachet, H., Bournaud, M. & Richoux, P. (1987) Introduction à l'étude des macroinvertébrés des eaux douces (systématique élémentaire et aperçu écologique). Université Lyon, France, 155 pp
- Tierno de Figueroa, J.M. & Derka, T. (2003) Egg description of *Isoptena serricornis* (Plecoptera: Chloroperlidae). *Entomological Problems* 33: 55-57.
- Tilman, D. (2000) Causes, consequences and ethics of biodiversity. *Nature* 405: 208-211.
- Tomlin, C.D.S. (1997) *The Pesticide Manual*. 11<sup>th</sup> ed. British Crop Protection Council, 1606 pp.
- Townsend, C.R. & Hildrew, A.G. (1976) Field experiments on the drifting, colonization and continuous redistribution of stream benthos. *J. Anim. Ecol.* 45: 759-772.
- Tronstad, L.M., Tronstad, B.P. & Benke, A.C. (2007) Aerial colonization and growth: rapid invertebrate responses to aquatic temporary habitats in a river floodplain. *Journal of the North American Benthological Society* 26: 460-471.
- Ulfstrand, S., Nilsson, L.M. & Stergar, A. (1974) Composition and diversity of benthic species collectives colonizing implanted substrates in a South Swedish stream. *Entomologica scandinavica* 5: 115-122.
- Van de Meutter, F., Stoks, R. & De Meester, L. (2006) Lotic dispersal of lentic macroinvertebrates. *Ecography* 29: 223-230.
- Vannote, R.L., Minshall, G.W., Cummins, K.W., Sedell, J.R. & Cushing, C.E. (1980) The river continuum concept. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 37: 130-137.
- Van Wijngaarden, R.P.A., Brock, T.C.M. & van den Brink, P.J. (2005) Threshold levels for effects of insecticides in freshwater ecosystems: a review. *Ecotoxicology* 14: 355-380.
- Van Wijngaarden, R.P.A., Brock, T.C.M., van den Brink, P.J., Gylstra, R. & Maund, S.J. (2006) Ecological effects of spring and late summer applications

of lambda-cyhalothrin on freshwater microcosms. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 50: 220-239.

Vaughan, D.M. (2002) Potential impact of road-stream crossings (culverts) on the upstream passage of aquatic macroinvertebrates. United States Forest Service Report, San Dimas Technology and Development Center, 15 pp.

Von der Ohe, P.C., Prüss, A., Schäfer, R.B., Liess, M., de Deckere, E. & Brack, W. (2007) Water quality indices across Europe – a comparison of the good ecological status of five river basins. Journal of Environmental Monitoring 9: 970-978.

Wallace, J.B., Lughart, G.J., Cuffney, T.F. & Schurr, G.A. (1989) The impact of repeated insecticidal treatments on drift and benthos of a headwater stream. Hydrobiologia 179: 135-147.

Wallace, J.B., Huryn, A.D. & Lughart, G.J. (1991) Colonization of a headwater stream during three years of seasonal insecticidal applications. Hydrobiologia 211: 65-76.

Wallace, J.B., Whiles, M.R., Eggert, S., Cuffney, T.F., Lughart, G.J. & Chung, K. (1995) Longterm dynamics of coarse particulate organic matter in three Appalachian Mountain streams. J.N. Am. Benthol. Soc. 14: 217-232.

Waringer, J. A. (1989) Resistance of a cased caddis larva to accidental entry into the drift - the contribution of active and passive elements. Freshwater Biology 21: 411-420.

Webster, J.R., Benfield, E.F., Hutchens, J.J., Tank, J.L., Golladay, S.W. & Adams, J.C. (2001) Do leaf breakdown rates actually measure leaf disappearance from streams? Internat. Rev. Hydrobiol. 86: 417-427.

Werneke, U. & Zwick, P. (1992) Mortality of the terrestrial adult and aquatic nymphal life stages of *Baetis vernus* and *Baetis rhodani* in the Breitenbach, Germany (Insecta: Ephemeroptera). Freshwater Biology 28: 249-255.

Whiles, M.R. & Wallace, J.B. (1992) First-year benthic recovery of a headwater stream following a 3-year insecticide-induced disturbance. Freshwater Biology 28: 81-91.

Wiberg-Larsen, P. (1999) Macroinvertebrate biodiversity in restored freshwater habitats - the importance of dispersal. Pp. 39-45 i: Friberg, N. & J.D. Carl (red.): Biodiversity in benthic ecology. Proceedings from Nordic Benthological Meeting in Silkeborg, Denmark, 13-14 November 1997.

Wiberg-Larsen, P. (2004): Danish Trichoptera – species diversity, biological traits, and adult dispersal. PhD thesis, University of Copenhagen & Fyn County, 220 pp.

Wiberg-Larsen, P. (2006) The terrestrial life of stream-dwelling insects. Pp. 75-81 i: Sand-Jensen, K., Friberg, N. & Murphy, J. (red.) Running Waters – Historical development and restoration of lowland Danish streams. National Environmental Research Institute, Ministry of Environment, Denmark, 159 pp.

- Wiberg-Larsen, P. (2008) Overall distributional patterns of European Trichoptera. *Ferrantia* 55: 139-150.
- Wiberg-Larsen, P. (submitted) Over-land colonization by aquatic insects: evidence from long-term monitoring in Danish streams. *Freshwater Biology*.
- Wiberg-Larsen, P., N. B. Adamsen, J. Knudsen, F. G. Larsen (1991) Sprøjtegifte truer fynske vandløb. *Vand og Miljø*, 7: 371-374.
- Wiberg-Larsen, P. & Karsholt, O. (1999) The traffic of adult Trichoptera above the city of Copenhagen (Denmark). *Ent. Meddr.* 67: 123-136.
- Wiberg-Larsen, P., Pedersen, S.E., Tornbjerg, N.H., Sode, A., Muus, K. & Wehrs, M. (1997) De fynske vandløb. VANDMILJØovervågning. Tema: Ferskvand. Fyns Amt, Natur- og Vandmiljøafdelingen, 210 pp.
- Wiberg-Larsen, P., Brodersen, K.P., Birkholm, S., Grøn, P.N. & Skriver J. (2000) Species richness and assemblage structure of Trichoptera in Danish streams. *Freshwater Biology* 43: 633-647.
- Wiggers, L. (1999) Pesticider i vandløb, kilder og søer i Århus Amt. Teknisk rapport fra Natur og Miljøkontoret, Århus Amt.
- Wilcock, H.R., Hildrew, A.G. & Nichols, R.A. (2001) Genetic differentiation of a European caddisfly: past and present gene flow among fragmented larval habitats. *Molecular Biology* 10: 1821-1834.
- Wilcock, H.R., Nichols, R.A. & Hildrew, A.G. (2003) Genetic population structure and neighbourhood population size estimates of the caddisfly *Plectrocnemia conspersa*. *Freshwater Biology* 48: 1813-1824.
- Wilcock, H.R., Bruford, M.W., Nichols, R.A. & Hildrew, A.G. (2007) Landscape, habitat characteristics and the genetic population structure of two caddisflies. *Freshwater Biology* 52: 1907-1929.
- Wilcox, C. (2001) Habitat size and isolation affect colonization of seasonal wetlands by predatory aquatic insects. *Israel Journal of Zoology* 47: 459-475.
- Williams, D.D. & Hynes, H.B.N. (1976) The recolonization mechanisms of stream benthos. *Oikos* 27: 265-272.
- Williams, D.D. (1980) Temporal patterns in recolonization of stream benthos. *Archiv für Hydrobiologie* 90: 56-74.
- Williams, D.D. & Moore, K.A. (1982) The effect of environmental factors on the activity of *Gammarus pseudolimnaeus* (Amohipoda). *Hydrobiologia* 96: 137-147.
- Williams, D.D. & Feltmate, B.W. (1992). *Aquatic insects*. CAB International, UK.
- Windolf, J., Sode, A., Wiberg-Larsen, P., Hansen, A.M., Brendstrup, H., Tornbjerg, H. & Fuglsang, A. (2001) Vandløb 2000 – Vandkvalitet og stoftransport, vandløbenes biologiske tilstand, forureningskilder.

VANDMILJØovervågning. Fyns Amt, Natur- og Vandmiljøafdelingen, 152 pp.

Winterbourn, M.J. (2005) Dispersal, feeding and parasitism of adult stoneflies (Plecoptera) at a New Zealand forest stream. *Aquatic Insects* 27: 155-166.

Winterbottom, J.H., Orton, S.E. & Hildrew, A.G. (1997) Field experiments on the mobility of benthic invertebrates in a southern English stream. *Freshwater Biology* 38: 37-47.

Winterbourn, M.J., Chadderton, W.L., Entrekin, S.A., Tank, J.L. & Harding, J.S. (2007) Distribution and dispersal of adult stream insects in a heterogeneous montane environment. *Fundamentals and Applied Limnology. Archiv für Hydrobiologie* 168: 127-135.

Wise, D.H. & Molles, M.C. (1979) Colonization of artificial substrates by stream insects: influence of substrate size and diversity. *Hydrobiologia* 65: 69-74.

Wright, J.F., Hiley, P.D. & Berrie, A.D. (1981) A 9-year study of the life cycle of *Ephemera danica* Müll. (Ephemeridae: Ephemeroptera) in the River Lambourn, England. *Ecological Entomology* 6: 321-331.

Zar, J.H. (1984) Biostatistical analysis. Prentice Hall, New Jersey, 2<sup>nd</sup> edition.



A.1 – Hagenstrup Møllebæk: Sammenligning mellem taxon sammensætning i sparkeprøver, driftprøver og kunstige udlagte substrater (sidstnævnte omfatter kun prøver før eksponering med lambda-cyhalothrin og kontrolprøver).

|                                  | Juni-juli 2006          |           |                        | November 2006           |           |                        |
|----------------------------------|-------------------------|-----------|------------------------|-------------------------|-----------|------------------------|
|                                  | Sparke-<br>prøve<br>(%) | Drift (%) | Grus-<br>kopper<br>(%) | Sparke-<br>prøve<br>(%) | Drift (%) | Blad-<br>pakker<br>(%) |
| <i>Dugesia gonocephala</i>       | 0.8                     |           | 0.6                    | 1.1                     |           | 4.2                    |
| Oligochaeta                      | 0.2                     |           |                        | 0.1                     |           | 0.3                    |
| Ostracoda                        |                         | 0.4       | 0.5                    | 0.1                     |           | 4.4                    |
| Hydracarina                      |                         |           | 1.0                    |                         |           | 1.5                    |
| <i>Asellus aquaticus</i>         |                         |           |                        | 0.3                     |           |                        |
| <i>Gammarus pulex</i>            | 49.0                    | 39.1      | 25.6                   | 56.7                    | 63.4      | 50.6                   |
| <i>Amphinemura standfussi</i>    | 1.6                     |           | 2.6                    |                         |           |                        |
| <i>Nemoura cinerea</i>           |                         | 0.6       | 0.5                    | 0.6                     |           | 0.2                    |
| <i>Nemurella picteti</i>         | 0.2                     | 0.2       |                        | 0.1                     |           | 0.3                    |
| <i>Leuctra hippopus</i>          |                         |           |                        |                         |           | 0.1                    |
| <i>Leuctra nigra</i>             |                         |           |                        |                         |           | 0.2                    |
| <i>Baetis rhodani</i>            | 16.3                    | 9.3       | 16.4                   | 17.0                    | 8.1       | 8.8                    |
| <i>Elodes sp.</i>                |                         | 0.2       |                        | 0.2                     |           |                        |
| Dytiscidae                       |                         | 0.4       |                        |                         |           |                        |
| <i>Anacaena globulus</i>         |                         | 0.4       |                        |                         |           |                        |
| <i>Haliplus sp.</i>              |                         | 0.9       |                        |                         |           |                        |
| Hydrophilidae                    | 0.2                     |           |                        |                         |           |                        |
| <i>Rhyacophila fasciata</i>      | 1.6                     | 0.5       | 0.9                    | 0.5                     | 0.4       | 1.5                    |
| <i>Plectrocnemia conspersa</i>   |                         |           |                        | 0.1                     |           | 0.5                    |
| <i>Silo pallipes</i>             |                         |           |                        | 0.1                     |           | 0.1                    |
| <i>Ecclisopteryx dalecarlica</i> |                         |           |                        |                         |           | 0.05                   |
| <i>Potamophylax latipennis</i>   | 0.3                     |           |                        | 0.1                     |           |                        |
| Limnephilidae                    |                         |           |                        | 0.6                     | 0.9       | 0.1                    |
| <i>Sericostoma personatum</i>    | 0.8                     |           | 0.2                    | 0.2                     |           | 2.9                    |
| <i>Dicranota sp.</i>             | 2.4                     | 0.4       |                        | 3.7                     | 2.1       | 1.4                    |
| Tipulidae                        |                         |           |                        |                         |           | 0.05                   |
| <i>Dixa maculata</i>             | 2.8                     | 2.8       |                        | 11.5                    | 1.7       | 0.1                    |
| <i>Thaumalea sp.</i>             |                         |           |                        | 0.1                     |           |                        |
| Psychodidae                      |                         | 0.2       |                        | 0.1                     |           | 0.05                   |
| Simuliidae                       | 24.5                    | 13.0      | 3.8                    | 5.7                     | 12.3      | 2.1                    |
| Tanypodinae                      |                         | 0.9       |                        |                         | 0.4       | 0.5                    |
| Orthocladiinae                   | 1.1                     | 28.9      | 22.0                   | 1.1                     | 10.6      | 19.6                   |
| Tanytarsini                      | 0.8                     | 2.3       |                        |                         |           |                        |
| <i>Radix baltica</i>             | 0.8                     |           |                        | 0.1                     |           |                        |
| Antal taxa                       | 16                      | 17        | 11                     | 22                      | 9         | 23                     |
| Antal individer                  | 1225                    | 654       | 621                    | 1764                    | 235       | 2004                   |

A.2 – Bjergskov Bæk: Sammenligning mellem taxon sammensætning i sparkeprøver, driftprøver og kunstige udlagte substrater (sidstnævnte omfatter kun prøver før eksponering med lambda-cyhalothrin og kontrolprøver).

| Taxa                               | Maj-juni                 |           |                        | Nov-jan                  |           |                        |
|------------------------------------|--------------------------|-----------|------------------------|--------------------------|-----------|------------------------|
|                                    | Sparke-<br>prøver<br>(%) | Drift (%) | Grus-<br>kopper<br>(%) | Sparke-<br>prøver<br>(%) | Drift (%) | Blad-<br>pakker<br>(%) |
| <i>Dugesia gonocephala</i>         | 0.1                      |           |                        | 0.3                      |           | 0.2                    |
| Oligochaeta                        | 0.4                      |           | 0.4                    |                          |           | 8.5                    |
| <i>Eiseniella tetraedra</i>        | 0.2                      |           | 0.1                    | 0.2                      |           |                        |
| <i>Glossiphonia complanata</i>     |                          |           | 0.03                   |                          |           |                        |
| Hydracarina                        |                          |           |                        |                          |           | 0.2                    |
| <i>Asellus aquaticus</i>           |                          |           | 0.03                   |                          |           | 0.03                   |
| <i>Gammarus pulex</i>              | 14.8                     | 3.5       | 5.3                    | 5.5                      | 0.7       | 0.5                    |
| <i>Baetis rhodani</i>              | 18.8                     | 30.1      | 11.4                   | 4.6                      | 7.9       | 0.2                    |
| <i>Centroptilum luteolum</i>       | 0.1                      |           |                        | 0.1                      |           |                        |
| <i>Paraleptophlebia submargin.</i> |                          |           |                        | 0.1                      |           | 0.03                   |
| <i>Ephemera danica</i>             | 1.9                      |           | 0.1                    | 1.5                      |           |                        |
| <i>Amphinemura standfussi</i>      | 1.8                      |           | 0.6                    | 0.04                     |           | 0.2                    |
| <i>Capnia bifrons</i>              |                          |           |                        |                          |           | 0.1                    |
| <i>Brachyptera risi</i>            | 3.4                      |           |                        | 41.5                     | 28.5      | 21.0                   |
| <i>Protonemura hrabei</i>          |                          |           | 0.03                   |                          |           |                        |
| <i>Nemoura cinerea</i>             | 1.4                      | 0.9       |                        | 4.6                      |           | 0.2                    |
| <i>Nemoura flexuosa</i>            |                          |           |                        | 0.1                      |           | 0.03                   |
| <i>Nemoura sp.</i>                 |                          |           | 0.2                    | 0.8                      |           | 0.7                    |
| <i>Isoperla grammatica</i>         | 0.8                      |           | 0.1                    | 7.0                      |           | 0.6                    |
| <i>Leuctra spp.</i>                | 2.3                      | 3.5       | 16.7                   | 6.6                      | 2.0       | 6.8                    |
| <i>Taeniopteryx nebulosa</i>       |                          |           |                        | 0.2                      |           |                        |
| <i>Oreodytes sanmarki</i>          | 0.5                      | 0.9       |                        |                          | 0.7       |                        |
| Dytiscidae, indet                  |                          |           | 0.1                    |                          |           |                        |
| <i>Hydraena gracilis</i>           | 0.2                      |           | 0.1                    | 0.5                      |           | 0.3                    |
| <i>Anacaena globulus</i>           |                          | 0.9       |                        |                          |           |                        |
| <i>Elodes minuta gr</i>            |                          |           |                        | 0.04                     |           | 0.1                    |
| <i>Elmis aenea</i>                 | 0.2                      |           | 0.1                    | 0.04                     |           |                        |
| <i>Limnius volckmari</i>           | 26.7                     | 0.9       | 3.7                    | 2.6                      |           | 0.1                    |
| <i>Rhyacophila spp.</i>            | 0.8                      |           | 0.3                    | 0.6                      |           | 1.0                    |
| <i>Agapetus ochripes</i>           | 0.5                      |           |                        | 0.5                      |           | 0.1                    |
| <i>Hydropsyche siltalai</i>        | 0.1                      |           | 0.1                    | 0.4                      |           | 1.0                    |
| <i>Plectrocnemia conspersa</i>     |                          |           |                        |                          |           | 0.03                   |
| <i>Silo pallipes</i>               | 0.4                      |           | 0.1                    | 0.2                      |           | 0.1                    |
| <i>Ecclisopteryx dalecarlica</i>   |                          |           | 0.0                    |                          |           |                        |
| <i>Halesus radiatus</i>            | 0.3                      |           |                        |                          |           |                        |
| <i>Potamophylax cingulatus</i>     | 0.1                      |           | 0.03                   | 0.04                     |           |                        |
| <i>Potamophylax latipennis</i>     | 0.1                      |           |                        |                          |           |                        |
| <i>Glyphotaelius pellucidus</i>    |                          |           |                        | 0.04                     |           |                        |
| Limnephilidae                      | 0.7                      |           |                        | 0.6                      | 3.3       | 0.1                    |
| <i>Sericostoma personatum</i>      | 1.0                      |           | 1.2                    | 1.1                      |           | 0.6                    |
| <i>Dicranota sp.</i>               | 3.3                      |           | 8.6                    | 0.9                      |           | 0.8                    |
| <i>Eleophila</i>                   | 0.5                      |           | 0.03                   | 0.3                      |           |                        |
| Eriopterinae                       |                          |           |                        | 0.04                     |           |                        |
| Hexatominæ                         |                          |           |                        | 0.2                      |           |                        |
| Tipulidae                          |                          |           |                        | 0.04                     |           | 0.03                   |
| <i>Ptychoptra</i>                  | 0.1                      |           | 0.03                   | 0.1                      |           |                        |

|                                 |      |      |      |      |      |      |
|---------------------------------|------|------|------|------|------|------|
| Simuliidae                      | 0.5  | 3.5  | 3.0  | 13.3 | 6.6  | 2.0  |
| Heleinae                        |      |      |      | 0.04 |      |      |
| <i>Dixa maculata</i>            | 0.1  |      |      |      |      |      |
| Psychodidae                     | 0.1  | 0.9  |      | 0.2  |      | 0.4  |
| Tanypodinae                     |      |      |      | 0.1  | 0.7  |      |
| <i>Prodiamesa olivacea</i>      |      |      |      | 0.2  | 0.7  |      |
| Orthoclaadiinae                 | 15.6 | 48.7 | 43.8 | 3.5  | 32.5 | 52.0 |
| Chironomini                     | 0.1  |      | 0.1  | 0.04 |      |      |
| Tanytarsini                     | 0.4  | 6.2  | 1.2  | 0.04 | 16.6 | 1.8  |
| Empedidae                       |      |      | 0.2  |      |      |      |
| <i>Potamopyrgus antipodarum</i> |      |      | 0.3  |      |      |      |
| <i>Ancylus fluviatilis</i>      | 0.6  |      | 1.9  | 0.7  |      | 0.03 |
| <i>Physa fontinalis</i>         |      |      |      | 0.04 |      |      |
| <i>Lymnea palustris</i>         | 0.1  |      |      |      |      |      |
| <i>Lymnea truncatula</i>        | 0.4  |      |      | 0.2  |      |      |
| <i>Pisidium sp.</i>             | 0.7  |      | 0.2  | 0.5  |      | 0.1  |
| Antal taxa                      | 38   | 11   | 33   | 45   | 11   | 33   |
| Antal individer                 | 1684 | 113  | 3703 | 2357 | 151  | 3243 |

A.3 – Matstrup Å v/Stidsmølle: Sammenligning mellem taxon sammensætning i sparkeprøver, driftprøver og kunstige udlagte substrater (sidstnævnte omfatter kun prøver før eksponering med lambda-cyhalothrin og kontrolprøver).

| Taxa                                | Maj-juli                 |           |                        | Nov-jan                  |           |                        |
|-------------------------------------|--------------------------|-----------|------------------------|--------------------------|-----------|------------------------|
|                                     | Sparke-<br>prøver<br>(%) | Drift (%) | Grus-<br>kopper<br>(%) | Sparke-<br>prøver<br>(%) | Drift (%) | Blad-<br>pakker<br>(%) |
| <i>Hydra</i>                        |                          |           | 0.1                    |                          |           | 0.05                   |
| Nematoda                            |                          |           | 3.4                    |                          |           |                        |
| <i>Dugesia gonocephala</i>          | 0.8                      |           | 0.1                    | 1.1                      |           | 1.0                    |
| <i>Polycelis</i>                    |                          |           |                        |                          |           | 0.05                   |
| <i>Eiseniella tetraedra</i>         | 0.03                     |           |                        |                          |           | 0.05                   |
| Oligochaeta                         | 1.0                      | 0.6       | 0.2                    | 0.6                      | 1.1       | 0.9                    |
| <i>Glossiphonia complanata</i>      | 0.03                     |           | 0.02                   | 0.03                     |           |                        |
| <i>Helobdella stagnalis</i>         | 0.01                     |           |                        |                          |           |                        |
| <i>Erpobdella octoculata</i>        | 0.03                     |           | 0.1                    | 0.03                     |           |                        |
| Hydracarina                         | 0.1                      |           | 0.1                    |                          |           | 0.8                    |
| <i>Asellus aquaticus</i>            | 0.1                      | 1.3       | 0.03                   | 0.2                      | 1.1       | 0.3                    |
| <i>Gammarus pulex</i>               | 23.3                     | 19.2      | 4.3                    | 24.2                     | 17.7      | 12.0                   |
| <i>Brachyptera risi</i>             | 0.1                      |           |                        | 0.03                     | 0.5       | 2.4                    |
| <i>Taeniopteryx nebulosa</i>        | 0.01                     |           |                        | 0.1                      | 0.5       | 0.1                    |
| <i>Amphinemura sulcicollis?</i>     | 0.03                     |           |                        |                          |           |                        |
| <i>Nemoura spp.</i>                 | 0.04                     |           |                        | 0.1                      |           | 1.6                    |
| <i>Leuctra hippopus</i>             |                          |           |                        |                          |           | 4.6                    |
| <i>Leuctra fusca/digitata</i>       | 5.7                      |           | 5.2                    |                          |           |                        |
| <i>Isoperla grammatica</i>          | 0.01                     |           |                        | 0.3                      |           | 0.9                    |
| <i>Perlodes microcephalus</i>       |                          |           |                        | 0.1                      |           |                        |
| <i>Baetis rhodani</i>               | 26.5                     | 19.2      | 31.6                   | 10.8                     | 17.7      | 9.7                    |
| <i>Ephemera danica</i>              |                          |           |                        | 0.3                      |           | 0.2                    |
| <i>Ephemerella ignita</i>           | 1.0                      |           | 0.5                    |                          |           |                        |
| <i>Heptagenia sulphurea</i>         | 0.7                      | 1.9       | 0.5                    | 22.5                     | 2.7       | 9.0                    |
| <i>Paraleptophlebia submargi.</i>   | 0.04                     | 1.3       |                        | 0.03                     | 1.6       | 0.1                    |
| <i>Orectocheilus villosus</i>       |                          |           |                        |                          |           | 0.05                   |
| <i>Oreodytes sanmarki</i>           | 0.01                     |           |                        |                          |           |                        |
| Dytiscidae                          | 0.01                     |           |                        |                          |           |                        |
| <i>Elodes minuta gr.</i>            |                          |           |                        | 0.03                     |           |                        |
| <i>Elmis aenea</i>                  | 0.7                      | 0.6       | 0.4                    | 1.8                      | 0.5       | 0.4                    |
| <i>Limnius volckmari</i>            | 0.4                      |           | 0.2                    | 0.4                      |           | 0.1                    |
| <i>Hydraena gracilis</i>            | 0.01                     |           |                        | 0.1                      |           | 0.05                   |
| <i>Rhyacophila nubila</i>           | 0.6                      | 0.6       | 0.4                    | 0.6                      | 0.5       | 2.7                    |
| <i>Agapetus ochripes</i>            | 0.3                      |           |                        | 0.1                      |           | 0.05                   |
| <i>Hydropsyche angustipennis</i>    |                          |           |                        |                          |           | 0.1                    |
| <i>Hydropsyche siltalai</i>         | 1.0                      | 14.1      | 0.4                    | 11.2                     | 11.8      | 5.9                    |
| <i>Hydropsyche pellucidula</i>      | 0.01                     |           |                        | 4.3                      |           |                        |
| <i>Hydropsyche spp.</i>             | 0.1                      |           | 0.2                    |                          |           |                        |
| <i>Plectrocnemia conspersa</i>      | 0.01                     | 0.6       |                        |                          | 0.5       | 0.1                    |
| <i>Polycentropus flavomaculatus</i> |                          |           |                        |                          |           |                        |
| <i>Lasiocephala basalis</i>         |                          |           |                        | 0.2                      |           | 0.2                    |
| <i>Silo pallipes</i>                | 0.2                      |           | 0.1                    | 0.7                      |           |                        |
| <i>Halesus digitatus</i>            | 0.01                     |           |                        |                          |           |                        |
| <i>Halesus radiatus</i>             | 0.01                     |           |                        |                          |           |                        |
| <i>Halesus spp.</i>                 | 0.03                     |           |                        |                          |           |                        |
| <i>Potamophylax latipennis</i>      | 0.1                      |           |                        |                          |           |                        |

|                               |      |      |      |      |      |      |
|-------------------------------|------|------|------|------|------|------|
| Limnephilidae, indet          | 0.2  |      |      | 0.1  | 0.5  |      |
| <i>Odontocerum albicorne</i>  | 0.1  |      |      | 0.1  |      |      |
| <i>Sericostoma personatum</i> | 0.8  |      | 0.1  | 1.1  |      | 0.4  |
| <i>Athripsodes albifrons</i>  | 0.01 |      | 0.03 |      |      |      |
| Dixidae                       | 0.6  |      |      |      |      |      |
| Bezzia                        |      |      | 0.03 |      |      |      |
| Simuliidae                    | 23.3 | 38.5 | 33.3 | 17.3 | 37.1 | 16.1 |
| <i>Ptychoptera</i>            |      |      |      | 0.03 |      |      |
| <i>Eleophila</i>              | 0.04 |      |      | 0.1  |      |      |
| <i>Dicranota</i>              | 1.1  |      | 2.5  | 0.4  | 1.6  |      |
| Tipulidae                     |      |      |      | 0.03 |      |      |
| Tanypodinae                   | 0.1  | 0.6  |      | 0.1  | 1.1  | 0.3  |
| Orthoclaadiinae               | 9.4  | 0.6  | 13.8 | 0.2  | 2.2  | 25.8 |
| Chironomini                   | 0.5  |      | 1.9  | 0.03 |      | 0.3  |
| Tanytarsini                   | 0.5  |      | 0.3  |      | 0.5  | 2.7  |
| Empedidae                     | 0.2  |      | 0.1  | 0.1  |      |      |
| <i>Atherix ibis</i>           |      |      | 0.1  | 0.1  |      | 0.6  |
| Muscidae                      |      |      |      | 0.03 |      |      |
| <i>Pisidium</i>               | 0.04 |      | 0.03 | 0.03 |      |      |
| <i>Sphaerium corneum</i>      | 0.04 | 0.6  | 0.1  | 0.03 | 0.5  |      |
| <i>Ancylus fluviatilis</i>    |      |      | 0.03 | 0.1  |      | 0.1  |
| <i>Acroloxus lacustris</i>    |      |      |      |      |      | 0.05 |
| Antal taxa                    | 50   | 14   | 32   | 42   | 19   | 36   |
| Antal individer               | 6862 | 156  | 5848 | 2892 | 186  | 2076 |



B.1. Taxon sammensætningen af smådyr på grusbund i 6 store strømrender, Lemming: 3 kontrolrender og 3 render, hvis nedstrøms halvdele blev behandlet med en 90 min puls med lambda-cyhalothrin (5,0 µg l<sup>-1</sup>). Tallene angiver gennemsnitligt antal individer pr. Surberprøve (N=5).

| Taxa                                 | Opstrøms dele (alle 6 render) | Nedstrøms ubehandlede dele (kontrolrender) | Nedstrøms behandlede dele - dag 7 | Nedstrøms behandlede dele - dag 30 |
|--------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| <i>Dugesia gonocephala</i>           | 0.1                           | 0.0                                        | 0.0                               | 0.0                                |
| <i>Polycelis</i> sp.                 | 0.1                           | 0.0                                        | 0.0                               | 0.0                                |
| Oligochaeta                          | 127.9                         | 200.4                                      | 142.0                             | 217.7                              |
| <i>Glossophonia complanata</i>       | 0.1                           | 0.0                                        | 0.0                               | 0.3                                |
| Hydracarina                          | 4.2                           | 7.5                                        | 1.7                               | 2.7                                |
| <i>Gammarus pulex</i>                | 127.5                         | 84.3                                       | 3.7                               | 10.0                               |
| <i>Baetis rhodani</i>                | 155.5                         | 177.4                                      | 18.0                              | 152.7                              |
| <i>Paraleptophlebia submarginata</i> | 0.3                           | 0.4                                        | 0.7                               | 0.3                                |
| <i>Brachyptera risi</i>              | 0.0                           | 0.3                                        | 0.0                               | 0.7                                |
| <i>Leuctra hippopus</i>              | 9.5                           | 10.2                                       | 6.3                               | 1.7                                |
| <i>Amphinemura</i> sp.               | 0.2                           | 0.0                                        | 0.0                               | 0.0                                |
| <i>Nemoura avicularis</i>            | 0.1                           | 0.3                                        | 0.0                               | 0.3                                |
| <i>Nemoura</i> sp.                   | 1.7                           | 1.5                                        | 0.0                               | 0.3                                |
| <i>Calopteryx virgo</i>              | 0.0                           | 0.1                                        | 0.0                               | 0.0                                |
| <i>Brychius elevatus</i>             | 0.1                           | 0.0                                        | 0.0                               | 0.0                                |
| <i>Haliphus</i> sp.                  | 0.4                           | 0.0                                        | 0.0                               | 0.0                                |
| <i>Elmis aenea</i>                   | 2.0                           | 3.1                                        | 1.0                               | 0.3                                |
| <i>Elodes pseudominuta</i> gr.       | 0.0                           | 0.1                                        | 0.0                               | 0.0                                |
| <i>Hydraena gracilis</i>             | 0.1                           | 0.0                                        | 0.0                               | 0.0                                |
| <i>Sialis fuliginosa</i>             | 0.1                           | 0.0                                        | 0.0                               | 0.0                                |
| <i>Rhyacophila fasciata</i>          | 0.1                           | 0.0                                        | 0.0                               | 0.0                                |
| <i>Plectrocnemia conspersa</i>       | 0.9                           | 0.8                                        | 2.0                               | 0.0                                |
| <i>Silo pallipes</i>                 | 0.1                           | 0.2                                        | 0.7                               | 0.0                                |
| <i>Ecclisopteryx dalecarlica</i>     | 0.0                           | 0.1                                        | 0.0                               | 0.0                                |
| <i>Potamophylax latipennis</i>       | 0.1                           | 0.1                                        | 0.0                               | 0.0                                |
| Limnephilidae                        | 0.3                           | 0.2                                        | 0.0                               | 0.3                                |
| <i>Ptychoptera</i> sp.               | 0.0                           | 0.0                                        | 0.0                               | 0.0                                |
| <i>Dicranota</i> sp.                 | 5.8                           | 5.3                                        | 1.0                               | 0.7                                |
| <i>Eleophila</i> sp.                 | 0.0                           | 0.1                                        | 0.0                               | 0.0                                |
| Tipulidae                            | 0.0                           | 0.0                                        | 0.3                               | 0.3                                |
| Simuliidae                           | 0.1                           | 0.6                                        | 1.0                               | 1.7                                |
| Tanypodinae                          | 13.5                          | 13.3                                       | 6.3                               | 1.3                                |
| <i>Prodiamesa olivacea</i>           | 21.8                          | 21.3                                       | 6.7                               | 9.0                                |
| Orthocladiinae                       | 22.2                          | 31.4                                       | 14.0                              | 25.7                               |
| Chironomini                          | 3.2                           | 8.3                                        | 7.7                               | 2.7                                |
| Tanytarsini                          | 257.5                         | 201.5                                      | 107.7                             | 158.7                              |
| Heleinae                             | 0.1                           | 0.0                                        | 0.0                               | 0.0                                |
| Empedidae                            | 0.1                           | 0.2                                        | 0.0                               | 0.3                                |
| <i>Bithynia leachi</i>               | 0.1                           | 0.0                                        | 0.0                               | 0.0                                |
| <i>Lymnea palustris</i>              | 0.1                           | 0.1                                        | 0.0                               | 0.3                                |
| <i>Radix balthica</i>                | 0.2                           | 0.3                                        | 0.0                               | 1.3                                |
| <i>Pisidium</i> sp.                  | 0.1                           | 0.0                                        | 0.0                               | 0.0                                |

B.2. Taxon sammensætningen af smådyr i bladpakker i 6 store strømrender, Lemming: 3 kontrolrender og 3 render, hvis nedstrøms halvdele blev behandlet med en 90 min puls med lambda-cyhalothrin ( $5,0 \mu\text{g l}^{-1}$ ). Tallene angiver gennemsnitligt antal individer pr. bladpakke (N=5).

| Taxa                                           | Ubehandlede<br>render -<br>opstrøms | Ubehandlede<br>render -<br>nedstrøms | NS<br>behandlede<br>render - dag<br>7 | NS<br>behandlede<br>render - dag<br>30 |
|------------------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|
| <i>Dugesia gonocephala</i>                     | 0.6                                 | 0.1                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| Oligochaeta                                    | 261.7                               | 274.8                                | 260.7                                 | 274.0                                  |
| <i>Eiseniella tetraedra</i>                    | 0.3                                 | 0.2                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| <i>Glossophonia complanata</i>                 | 1.9                                 | 0.0                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| Hydracarina                                    | 9.5                                 | 19.9                                 | 1.0                                   | 1.3                                    |
| Ostracoda                                      | 46.7                                | 15.3                                 | 2.7                                   | 2.7                                    |
| <i>Gammarus pulex</i>                          | 118.9                               | 38.5                                 | 1.3                                   | 1.7                                    |
| <i>Baetis rhodani</i>                          | 9.2                                 | 25.3                                 | 4.3                                   | 29.0                                   |
| <i>Paraleptophlebia</i><br><i>submarginata</i> | 1.7                                 | 1.8                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| <i>Taeniopteryx nebulosa</i>                   | 0.2                                 | 0.3                                  | 0.3                                   | 0.3                                    |
| <i>Leuctra hippopus</i>                        | 33.2                                | 11.0                                 | 1.7                                   | 0.3                                    |
| <i>Leuctra sp.</i>                             | 9.4                                 | 4.0                                  | 0.3                                   | 0.0                                    |
| <i>Amphinemura sp.</i>                         | 0.0                                 | 0.1                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| <i>Nemoura avicularis</i>                      | 2.1                                 | 2.7                                  | 0.7                                   | 0.0                                    |
| <i>Nemoura sp.</i>                             | 1.8                                 | 1.1                                  | 0.3                                   | 0.0                                    |
| <i>Isoperla gramatica</i>                      | 0.0                                 | 0.1                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| <i>Calopteryx virgo</i>                        | 0.1                                 | 0.0                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| <i>Pyrrhosoma nymphula</i>                     | 0.0                                 | 0.1                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| Dytiscidae                                     | 0.7                                 | 0.3                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| <i>Halipplus sp.</i>                           | 0.6                                 | 0.2                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| <i>Elmis aenea</i>                             | 8.5                                 | 5.8                                  | 0.0                                   | 1.7                                    |
| <i>Elodes pseudominuta gr.</i>                 | 0.1                                 | 0.0                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| <i>Sialis lutaria</i>                          | 0.4                                 | 0.1                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| <i>Rhyacophila fasciata</i>                    | 0.0                                 | 0.1                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| <i>Rhyacophila nubila</i>                      | 0.3                                 | 0.2                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| <i>Rhyacophila spp.</i>                        | 0.2                                 | 0.3                                  | 0.0                                   | 0.3                                    |
| <i>Plectrocnemia conspersa</i>                 | 4.3                                 | 3.0                                  | 2.0                                   | 0.3                                    |
| <i>Lype reducta</i>                            | 0.1                                 | 0.0                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| <i>Silo pallipes</i>                           | 0.2                                 | 0.0                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| <i>Potamophylax latipennis</i>                 | 0.3                                 | 0.1                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| Limnephilidae                                  | 1.1                                 | 0.4                                  | 0.3                                   | 0.0                                    |
| <i>Sericostoma personatum</i>                  | 0.2                                 | 0.0                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| <i>Dicranota sp.</i>                           | 6.3                                 | 7.1                                  | 1.0                                   | 1.0                                    |
| <i>Eleophila sp.</i>                           | 0.1                                 | 0.1                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| Eriopterinae                                   | 0.0                                 | 0.1                                  | 0.0                                   | 0.0                                    |
| Tipulidae                                      | 0.2                                 | 0.0                                  | 0.3                                   | 0.3                                    |
| Simuliidae                                     | 0.0                                 | 0.1                                  | 0.3                                   | 0.0                                    |
| Tanypodinae                                    | 22.5                                | 13.5                                 | 12.3                                  | 2.3                                    |
| <i>Prodiamesa olivacea</i>                     | 42.3                                | 20.3                                 | 40.3                                  | 7.7                                    |
| Orthocladinae                                  | 142.7                               | 107.7                                | 52.7                                  | 55.0                                   |
| Chironomini                                    | 30.8                                | 34.8                                 | 22.3                                  | 4.7                                    |
| Tanytarsini                                    | 443.0                               | 295.1                                | 362.3                                 | 152.0                                  |
| Chironomidae, pupper                           | 2.5                                 | 4.3                                  | 0.7                                   | 0.7                                    |
| <i>Chironomus sp.</i>                          | 0.9                                 | 0.0                                  | 1.7                                   | 0.0                                    |
| Psychodidae                                    | 0.0                                 | 0.0                                  | 0.3                                   | 0.0                                    |

|                                 |     |     |     |     |
|---------------------------------|-----|-----|-----|-----|
| <i>Bezzia sp.</i>               | 0.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| Heleinae                        | 0.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| Empedidae                       | 0.4 | 0.6 | 1.0 | 0.3 |
| <i>Potamopyrgus antipodarum</i> | 0.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| <i>Ancylus fluviatilis</i>      | 0.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| <i>Lymnea stagnalis</i>         | 0.0 | 5.3 | 0.0 | 0.7 |
| <i>Lymnea palustris</i>         | 0.4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| <i>Radix balthica</i>           | 7.2 | 1.7 | 2.7 | 1.0 |
| <i>Pisidium sp.</i>             | 0.6 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |

---



Taxon sammensætningen af smådyr i bladpakker udlagt i Stavis Å på dag 0. Halvdelen af de udlagte bladpakker var forud for udlægningen behandlet med lambda-cyhalothrin ( $5,0 \mu\text{g l}^{-1}$ ) i en periode på 90 min.; den øvrige halvdel af bladpakkerne var ubehandlede (kontroller). De udlagte prøver blev indsamlet efter hhv. 3, 7, 15, 30 og 60 dage. Tallene angiver gennemsnitligt antal individer pr. bladpakke (N=10).

| Taxa                                 | Behandlede bladpakker, dag: |      |      |      |      | Ubehandlede bladpakker, dag: |      |      |       |       |
|--------------------------------------|-----------------------------|------|------|------|------|------------------------------|------|------|-------|-------|
|                                      | 3                           | 7    | 15   | 30   | 60   | 3                            | 7    | 15   | 30    | 60    |
| <i>Hydra sp.</i>                     | 0.0                         | 0.0  | 0.1  | 0.0  | 0.1  | 0.1                          | 0.0  | 0.1  | 0.3   | 0.0   |
| <i>Dendrocoelum lacteum</i>          | 0.0                         | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 0.1                          | 0.0  | 0.0  | 0.0   | 0.0   |
| <i>Dugesia gonocephala</i>           | 1.2                         | 1.1  | 0.5  | 1.5  | 2.6  | 0.4                          | 0.6  | 1.9  | 1.6   | 2.8   |
| <i>Polycelis felina</i>              | 0.0                         | 0.2  | 0.2  | 0.4  | 0.2  | 0.1                          | 0.1  | 0.2  | 0.3   | 0.2   |
| <i>Eiseniella tetraedra</i>          | 0.0                         | 0.2  | 0.1  | 0.1  | 0.5  | 0.1                          | 0.1  | 0.1  | 0.1   | 0.2   |
| Oligochaeta                          | 0.1                         | 0.3  | 0.1  | 0.1  | 0.1  | 0.2                          | 0.0  | 0.1  | 0.1   | 0.2   |
| <i>Erpobdella octoculata</i>         | 0.2                         | 0.1  | 0.3  | 0.6  | 0.9  | 0.0                          | 0.1  | 0.2  | 0.3   | 0.6   |
| <i>Glossiphonia complanata</i>       | 0.0                         | 0.6  | 0.5  | 1.0  | 0.8  | 0.4                          | 0.5  | 0.7  | 0.6   | 1.2   |
| <i>Helobdella stagnalis</i>          | 0.0                         | 0.0  | 0.1  | 0.3  | 0.0  | 0.0                          | 0.1  | 0.1  | 0.1   | 0.1   |
| Hydracarina                          | 0.1                         | 0.0  | 0.1  | 0.5  | 0.0  | 0.0                          | 0.0  | 0.2  | 0.1   | 0.5   |
| Ostracoda                            | 0.0                         | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 0.0                          | 0.0  | 0.1  | 0.0   | 0.0   |
| <i>Asellus aquaticus</i>             | 0.3                         | 0.2  | 0.3  | 0.6  | 0.4  | 0.2                          | 0.4  | 0.3  | 0.8   | 0.1   |
| <i>Gammarus pulex</i>                | 22.8                        | 41.1 | 25.8 | 82.8 | 46.2 | 48.3                         | 47.2 | 46.1 | 150.3 | 131.2 |
| <i>Nemoura cinerea</i>               | 1.4                         | 2.6  | 0.4  | 1.6  | 0.4  | 2.3                          | 1.7  | 1.0  | 2.3   | 0.7   |
| <i>Leuctra fusca</i>                 | 0.2                         | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 0.1  | 0.1                          | 0.1  | 0.2  | 0.2   | 2.0   |
| <i>Taeniopteryx nebulosa</i>         | 0.0                         | 0.0  | 0.0  | 0.1  | 0.0  | 0.0                          | 0.0  | 0.0  | 0.0   | 0.0   |
| <i>Ephemera danica</i>               | 0.1                         | 0.0  | 0.0  | 0.1  | 0.1  | 0.0                          | 0.2  | 0.0  | 0.0   | 0.0   |
| <i>Baetis rhodani</i>                | 0.0                         | 0.1  | 0.1  | 1.1  | 1.0  | 0.1                          | 0.1  | 0.4  | 1.6   | 1.7   |
| <i>Caenis luctuosa</i>               | 0.0                         | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 0.0                          | 0.0  | 0.0  | 0.1   | 0.0   |
| <i>Heptagenia sulphurea</i>          | 0.0                         | 0.0  | 0.0  | 0.1  | 0.0  | 0.0                          | 0.0  | 0.0  | 0.1   | 0.1   |
| <i>Paraleptophlebia submarginata</i> | 0.0                         | 0.0  | 0.2  | 0.4  | 0.0  | 0.1                          | 0.0  | 0.0  | 0.6   | 0.0   |
| <i>Orectochilus villosus</i>         | 0.0                         | 0.1  | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 0.1                          | 0.4  | 0.2  | 0.5   | 1.8   |
| Dytiscidae                           | 0.0                         | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 0.0                          | 0.0  | 0.0  | 0.1   | 0.0   |
| <i>Elmis aenea</i>                   | 0.1                         | 0.1  | 0.4  | 0.0  | 0.7  | 0.7                          | 0.4  | 0.4  | 0.9   | 1.4   |
| <i>Limnius volckmari</i>             | 0.0                         | 0.5  | 0.9  | 0.4  | 0.9  | 0.3                          | 0.9  | 0.5  | 0.0   | 0.7   |
| <i>Oulimnius tuberculatus</i>        | 0.0                         | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 0.0                          | 0.0  | 0.0  | 0.1   | 0.0   |
| <i>Hydraena gracilis</i>             | 0.0                         | 0.0  | 0.0  | 0.1  | 0.4  | 0.1                          | 0.2  | 0.2  | 0.3   | 0.3   |
| <i>Elodes pseudominuta</i>           | 0.2                         | 0.0  | 0.0  | 0.3  | 0.2  | 0.0                          | 0.1  | 0.0  | 0.2   | 0.3   |
| <i>Rhyacophila fasciata</i>          | 0.7                         | 0.2  | 0.3  | 0.3  | 1.1  | 0.3                          | 0.8  | 0.4  | 1.8   | 0.8   |
| <i>Agapetus ochripes</i>             | 0.9                         | 2.9  | 1.5  | 0.0  | 1.8  | 1.5                          | 4.1  | 1.4  | 0.4   | 1.7   |
| <i>Hydropsyche angustipennis</i>     | 4.2                         | 10.3 | 7.3  | 16.4 | 16.0 | 4.7                          | 10.4 | 8.8  | 13.1  | 15.9  |
| <i>Hydropsyche saxonica</i>          | 0.6                         | 1.1  | 1.5  | 1.2  | 1.4  | 0.4                          | 1.2  | 2.3  | 0.5   | 0.5   |
| <i>Hydropsyche siltalai</i>          | 1.2                         | 5.4  | 2.6  | 6.9  | 10.6 | 3.3                          | 4.3  | 4.4  | 4.0   | 10.0  |
| <i>Silo pallipes</i>                 | 0.2                         | 0.2  | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 0.1                          | 0.2  | 0.1  | 0.1   | 0.2   |
| <i>Glyptotendipes pallidus</i>       | 0.0                         | 0.0  | 0.1  | 0.0  | 0.0  | 0.0                          | 0.0  | 0.0  | 0.0   | 0.0   |
| <i>Potamophylax latipennis</i>       | 0.0                         | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 0.1  | 0.0                          | 0.0  | 0.0  | 0.1   | 0.0   |
| Limnephilidae                        | 0.1                         | 0.3  | 0.0  | 0.1  | 0.1  | 0.3                          | 0.0  | 0.2  | 0.3   | 0.3   |
| Simuliidae                           | 0.9                         | 0.6  | 0.9  | 3.6  | 0.4  | 1.7                          | 1.5  | 0.4  | 2.0   | 0.1   |
| Heleinae                             | 0.0                         | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 0.0                          | 0.0  | 0.1  | 0.0   | 0.0   |
| Tanyptodinae                         | 0.2                         | 0.0  | 0.2  | 0.5  | 0.0  | 0.4                          | 0.9  | 0.8  | 2.0   | 1.9   |
| Orthocladinae                        | 2.0                         | 1.5  | 1.9  | 7.2  | 6.0  | 1.9                          | 2.2  | 4.0  | 12.3  | 11.7  |
| Chironomini                          | 13.8                        | 25.0 | 19.5 | 42.6 | 45.8 | 13.3                         | 24.7 | 21.2 | 46.6  | 48.0  |
| Tanytarsini                          | 3.6                         | 5.6  | 3.3  | 6.7  | 12.4 | 4.0                          | 5.6  | 4.9  | 13.6  | 14.7  |

|                            |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|----------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| <i>Dicranota sp.</i>       | 0.4 | 0.6 | 0.3 | 0.5 | 1.1 | 0.2 | 0.6 | 0.8 | 0.5 | 0.5 |
| Tipulidae                  | 0.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| Empedidae                  | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.1 |
| <i>Ancylus fluviatilis</i> | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.1 | 0.0 | 0.2 | 0.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| <i>Bithynia leachi</i>     | 0.1 | 0.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| <i>Lymnea glabra</i>       | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| <i>Pisidium sp.</i>        | 0.6 | 1.4 | 1.9 | 1.4 | 3.8 | 0.9 | 1.8 | 2.2 | 2.0 | 4.2 |
| <i>Sphaerium corneum</i>   | 0.3 | 0.4 | 0.0 | 0.3 | 0.9 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.0 | 0.3 |

## Lang-distance spredning og kolonisering hos makroinvertebrater i vandløb og søer/damme – et review

Ferske vandområder, hvad enten der er tale om forskellige typer vandløb eller søer og damme, kan betragtes som ”øer i et hav af landjord”. Inden for de enkelte vandområder er der som udgangspunkt gode muligheder for at de organismer kan spredes frit, og hvis vandløb og søer er direkte forbundet i et ”netværk”, er der fx realistisk mulighed for spredning gennem vandmediet fra en sø til en anden (Van de Meutter et al. 2006). Derimod udgør spredning fra det ene vandløbssystem til det andet eller fra sø til sø en stor udfordring, hvis den alene skal foregå over et for de fleste vandorganismer ugæstfrit landmiljø (Bilton et al. 2001).

I det følgende har vi foretaget et litteratur review over ”state of the art” til støtte for diskussionen i afsnit 4 af de fynske data for lang-distance spredning og kolonisering i vandløb. Der er tale om et meget omfattende review, hvor vi fokuserer på de mekanismer og faktorer, som har betydning for makroinvertebraters spredning over land fra vandområde til vandområde. Herved har vi imidlertid ikke alene holdt os til forholdene i vandløb, men også inddraget ligheder og forskelle i de spredningsbiologiske forhold strømmende eller stillestående vande (dvs. søer og damme).

### 1. Spredning og kolonisering – definitioner, omfang og betydning

Det er nødvendigt indledningsvist at holde sig en række grundlæggende spredningsbiologiske definitioner af begreberne populationer, metapopulationer, spredning og kolonisering for øje (se Boks 1). Ellers kan det være vanskeligt at tolke de undersøgelser, som har søgt at afdække planters og dyrs evne til spredning og kolonisering. Spredning af et individ er således ikke nødvendigvis det samme som, at det pågældende individ formår at kolonisere et nyt habitat og dermed kan medvirke til at etablere en ny population – eller udveksle arvemateriale med allerede tilstedeværende artsfæller i en nabopopulation.

#### **Boks 1 Grundlæggende spredningsbiologiske definitioner (delvist efter Bohonak & Jenkins 2003)**

- Population: Gruppe af individer der interagerer og parrer sig inden for et givet rum.
- Spredning: Indviders bevægelser på tværs af populationsgrænser.
- Kolonisation: Etablering af ny population via én-flere individer.
- Metapopulationer: Grupper af populationer, som (1) er rumligt adskilt, (2) kan variere i størrelse, demografi og bærekapacitet, (3) kan være genstand for mulig udryddelse eller rekolonisering, og (4) interagerer via spredning og udveksling af arvemateriale.
- Lang-distance spredning/kolonisering: Spredning eller kolonisering over land – ofte på tværs af vandskel.

For det enkelte individ (og den population og art som den tilhører) er der fordele og ulemper ved at bevæge sig fra et levested til et andet. Fordelene tæller muligheden for at undgå indavl på det oprindelige levested (Bilton et al.

2001), og at finde et levested, hvor forholdene er mere gunstige (med bedre fødemuligheder, færre fjender, sygdomme, parasitter osv.). Desuden kan spredningen være livsnødvendig, hvor risikoen for, at den oprindelige population ødelægges eller forsvinder, er stor. Der kan eksempelvis være tale om pludselig naturlig tørlægning af et ellers permanent vandførende levested, eller via menneskets indgriben, at et levested helt ødelægges ved forurening – fx med pesticider. Ulemperne omfatter naturligvis risikoen for, at individet dør under spredningen, eller at det ny levested er dårligere end det oprindelige. Over længere tidsrum er omfanget af spredning og deraf følgende udveksling af gener med individer og population essentiel i evolutionen. Stor spredningsevne vil modvirke skabelsen af ny arter, mens ringe spredningsevne kan føre til det modsatte gennem ”differentiering” (Bilton et al. 2001). I samme proces indebærer spredning naturligvis muligheden for tilpasning til skiftende miljøforhold, fx i forbindelse med klimaforandringer. På kort sigt kan spredning afhjælpe de ”skader”, som skyldes humane påvirkninger, ikke mindst effekter af pesticider.

I reglen vil kun en relativt mindre del (”overskuddet”) af en population deltage i spredning over større afstande. Og spredning af disse ”overskydende” individer skyldes til en vis grad tilfældigheder. Bl.a. dette stokastiske element og menneskets indgriben gør, at lang-distance spredning er vanskelig at kvantificere (Nathan et al. 2003).

Vandlevende organismer, herunder makroinvertebrater, kan groft sagt enten spredes aktivt eller passivt mellem de enkelte vandområder. Aktiv spredning er stort set alene kendt for vandinsekter, som har et voksent vinget stadium. Der synes dog at være eksempler på, at fx flodkrebs kan forlade deres ”hjem” for over land at søge til et nyt levested. Passiv spredning kan derimod enten ske via andre dyr eller via vind og vand, fx i form af transport af et livsstadie, som er i stand til at tåle udtørring.

## **2. Vandinsekternes livscyklus og aktive spredning over land**

Som allerede nævnt er aktiv spredning hos makroinvertebrater i ferskvand stort set alene forbeholdt vandinsekterne (Bilton et al. 2001). Alle vandinsekter har et ungdomsstadium i vandet og et voksent stadium, der enten er rent terrestrisk eller i hvert fald delvist terrestrisk. Døgnfluer, slørvinger, guldsmede og vandnymfer og vandtæger er eksempler vandinsekter med såkaldt ufuldstændig forvandling, hvor det vandlevende ”nymfestadium” afløses af det voksne stadium, som har mange lighedspunkter med nymfestadiet. Mere avancerede insektgrupper har fuldstændig forvandling, hvor det vandlevende larvestadium afløses af et puppestadium, hvor larven forvandles til det helt anderledes opbyggede voksne insekt. Puppestadiet gennemføres hos fx de fleste vårfluer, myg og fluer i vand og resultatet, det voksne insekt, er udelukkende landlevende. Hos netvinger, dovenfluer og biller gennemføres puppestadiet derimod på land, og det voksne insekt er enten helt landlevende eller vender tilbage til vandet, således som det er tilfældet hos de fleste vandbiller.

Selvom vandinsekter således har et potentiale for aktiv spredning, betyder det ikke, at de ikke også kan spredes passivt. Dette kan bedst illustreres ved, at et aktivt flyvende insekt kan blive ”fanget” af vinden og stort set passivt blive ført af sted over længere afstande, end det ville have været muligt ved dets

egen aktive flyvning. Adskillelsen af aktiv og passiv spredning bliver således vanskelig og ”kunstig”, hvilket tydeligt vil fremgå af de følgende afsnit.

Hovedopgaven for de voksne vandinsekter er formering, mens nymfe- og larvestadiet primært er et vækststadium. Der foregår dog en fødeoptagelse hos en del voksne vandinsekter – ikke kun for at levere energi til deres fysiske udfoldelser – men for nogle også med henblik på at opbygge deres æg. Voksne guldsmede, en del slørvinger (Beer-Stiller & Zwick 1995), vandtæger, en del vårfluer (Crichton 1957) og visse grupper af myg (Armitage 1995) og fluer søger føde, mens fødesøgning slet ikke forekommer hos fx døgnfluer (der slet ikke har noget tarmsystem) og en del slørvinger og vårfluer. Forskelle i evne til fødeoptagelse kan have stor betydning for de voksne insekters spredning. Arter med fødeoptagelse lever typisk længere end de, som ikke tager føde til sig. Og med stigende levetid som voksen øges teoretisk set også muligheden for spredning. Til gengæld vil risikoen for at dø – fx på grund af prædation – også formodes at stige.

Ud over en mulig fødesøgning er de voksnes vigtigste aktiviteter således parring og hos hunnerne æglægning. Sammenføringen af de to køn med henblik på parring foregår på vidt forskellig vis. Nogle grupper hanner danner sværme (døgnfluer, dansemyg, visse vårfluer) i luften – ofte i forbindelse med bestemte strukturer (”markører” så som træer og buske) i landskabet – hvilket har til formål at tiltrække hunnerne. Hanner af guldsmede opretholder territorier, som afpatruljeres for mulige parringsvillige hunner (eller konkurrerende hanner). Hos fx en del vårfluer udsender hunnerne såkaldte feromoner, som hannerne opfanger og lader sig lede af. Og hos slørvinger og en del vårfluer anvender kønnene ”lokkende” bankesignaler, idet bagkroppen (som er forsynet med særlige tap-lignende udvækster) slås mod fx en gren.

Efter en kortere eller længere periode, hvor æggene er modnet, og efter endt og vellykket parring er det naturligvis vitalt, at hunnerne finder et egnet sted at lægge deres æg. Det er især i denne fase, at spredning er særlig interessant og vigtig.

### ***Den ripariske zone***

En efterhånden lang række undersøgelser (primært udført i helt små, såkaldte 1. ordens vandløb) af vandløbsinsekters laterale spredning bort fra deres ”barndoms vandløb” peger entydigt på, at langt den største del af populationerne er knyttet til en såkaldt riparisk (brednær) zone på 20-30 m (Collier & Smith 1998; Petersen et al. 2004). Typisk kan den laterale spredning beskrives ved en negativ eksponentiel funktion (se fx Petersen et al. 1999; Briers et al. 2002; Winterbourn 2005; Wiberg-Larsen 2006). Hos en række arter af slørvinger, bl.a. *L. fusca*, *L. hippopus*, *L. nigra*, *Brachyptera risi*, og *Isoperla grammatica*, spredte 90% af bestandene sig således mindre end 50-60 m (og hos nogle arter endda endnu kortere) fra de pågældende vandløb, og kun enkelte blev fundet op til ca. 75 m herfra (Kuusela & Huusko 1996; Petersen et al. 1999; Briers et al. 2002; Petersen et al. 2004). Tilsvarende spredte kun en mindre del (< 10%) af bestandene af flere arter af døgnfluer (fx *Seratonella ignita*), slørvinger og vårfluer (*Agapetus fuscipes*, *Rhyacophila fasciata*, *Silo spp.* og *Sericostoma personatum*) sig mere end få meter fra de undersøgte vandløb (Sode & Wiberg-Larsen 1993; Petersen et al. 2004; Winterbourn 2005; Wiberg-Larsen 2006). Griffith et al. (1998) fandt supplerende, at de maksimale spredningsafstande hos et stort antal slørvinger

og vårfluer var mindre end halvdelen af median afstanden mellem 1. ordens nabovandløb, hvilket fik forfatterne til at konkludere, at lateral spredning mellem små vandløb er sjælden hos mange arter.

Den ripariske korridor kan, ud over at være det sted, hvor parring og fødesøgning finder sted, også betragtes som "hovedvejen" for de voksne insekters spredning (Petersen et al. 2004). Udseendet af den ripariske zone må derfor forventes at have stor betydning, ikke mindst fordi dødeligheden hos mange voksne vandinsekter synes at være meget høj, dvs. er ca. 90% (Jackson & Fisher 1986, Werneke & Zwick 1992; Enders & Wagner 1996), om end en væsentlig lavere dødelighed på 29% er beregnet for slørvingen *Leuctra nigra* (Petersen et al. 2006). Tæt skov skaber et relativt køligt klima med høj luftfugtighed, hvilket øger overlevelsen for mange arter (Jackson 1988; Chen et al. 1993; Collier & Smith 2000). Men tæt vegetation kan også hæmme spredningen hos dansemyg, døgnfluer og vårfluer (Larsen 1999; Delettre & Morvan 2000), mens dette tilsyneladende ikke er tilfældet hos visse arter af slørvinger og andre vårfluer (Petersen et al. 1999; Briers et al. 2002; Petersen et al. 2004). Tæt vegetation kan desuden direkte og indirekte betyde større fødeudbud for slørvinger og vårfluer (Sweeny 1993; Smith & Collier 2000), men samtidig gavne potentielle prædatorer som fx edderkopper og småfugle (Briers et al. 2004a). Den ripariske korridors udsendende kan således have betydning for de voksne insekters laterale spredningsmuligheder.

### ***Spredning ud over den ripariske zone***

Trods en indiskutabel nær tilknytning til den ripariske zone i små vandløb påviste Briers et al. (2004b) imidlertid ved <sup>15</sup>N-mærkning, at 0,1-0,2% af voksne af slørvingen *Leuctra inermis* havde spredt sig til nabovandløb beliggende 800-1100 m borte. Dette støttes af andre undersøgelser, hvor eksempelvis slørvingerne *L. fusca* og *Amphinemura standfussi* blev fundet 800-1600 m (Mendl & Müller 1974; Wiberg-Larsen, egne observationer) og *Isoperla grammatica* i "betydelig afstand" fra nærmeste vandløb (Ulfstrand 1969). Ligeledes kunne 1-11% af bestande af vandnymfen *Coenagrion mercuriale* formodentlig sprede sig til vandløb beliggende inden for en afstand af 300 m, måske endda 1-3 km (Purse et al. 2003), mens en tilsvarende lille del af bestande af vandnymferne *Calopteryx splendens* og *C. virgo* kunne sprede sig op til 4 km over 24 timer (Stettmer 1996).

Caudill (2003) fandt, at hunnerne af døgnfluen *Callibaetis* sp. i stort omfang spredte sig mellem damme beliggende 125 m fra hinanden, således at bestandene i disse udgjorde en metapopulation (se Boks 1). Denne form for spredning synes at være essentiel, fordi arten lever i ustabile (udtørrende) habitater. Lignende forhold synes at gælde for en række vandnymfer og ægte guldsmede, hos hvilke der blev fundet overraskende store spredningsrater og udveksling af individer mellem damme, selvom kun ca. 1% af individerne nåede damme, som lå 400-500 m borte (Conrad et al. 1999).

Den laterale spredning foregår muligvis over væsentlig større afstande hos insekter knyttet til større vandløb. Kovats et al. (1996) fandt således, at selvom antallet af vårfluer og døgnfluer aftog med mere end eksponentiel hastighed fra hhv. Detroit River og Lake St. Clair, varierede den gennemsnitlige laterale spredningsafstand fra 650 til 1845 m, og en lille del (1%) af de voksne spredtes lateralt op til 5 km. Særlig interessant er, at hunnerne spredte sig længere væk end hannerne. Disse resultater stemmer

fint overens med, at Wiberg-Larsen (submitted) fandt hunner af forskellige arter af vandløbslevende vårfluer i lysfælder placeret op til 8-9 km fra nærmeste habitat (større vandløb), ligesom hunner af døgnfluen *Epheron virgo*, som er knyttet til store europæiske floder, er fundet op til 20 km fra disse (Kureck & Fontes 1996).

I tabel 1 er givet en oversigt over dokumenterede spredningsafstande for udvalgte grupper af vandinsekter.

Tabel 1. Oversigt over dokumenterede spredningsafstande for forskellige vandinsekter (typisk ved fangst i lysfælder m.v.). Oversigten omfatter både arter fra vandløb og søer/damme.

| Orden m.v. | Familier, slægter/arter                                                                                                                                                                                                     | Maksimal spredningsafstande (km) | Reference                                |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------------|
| Slørvinge  | <i>Leuctra fusca</i>                                                                                                                                                                                                        | 1,65                             | Wiberg-Larsen (submitted)                |
| Vandtæger  | Veliidae, Gerridae, Hydrometridae, Mesoveliidae                                                                                                                                                                             | 0,07                             | Elbersen-Van der Straten & Higler (2002) |
|            | <i>Gerris</i> -arter                                                                                                                                                                                                        | 0,3-0,6                          | Landin & Vepsäläinen (1977)              |
|            | <i>Notonecta</i> -arter.                                                                                                                                                                                                    | 8                                | Elbersen-Van der Straten & Higler (2002) |
| Vårfluer   | <i>Limnephilus flavicornis</i> , <i>L. lunatus</i> , <i>L. auricula</i> , <i>Glyptotaelius pellucidus</i> , <i>Anabolia nervosa</i> , <i>Agraylea sexmaculata</i> , <i>Hydroptila sparsa</i> , <i>Oxyethira flavicornis</i> | 3                                | Crichton (1960)                          |
|            | <i>Micropterna</i> , <i>Mystacides</i> , <i>Oecetis</i> , <i>Hydropsyche contubernalis</i> , <i>H. pellucidula</i>                                                                                                          | 3-5                              | Malicky (1987)                           |
|            | <i>Agraylea multipunctata</i> , <i>Phryganea grandis</i> , <i>Mystacides azureus</i> , <i>Athripsodes aterrimus</i>                                                                                                         | 0,8                              | Malicky (1987)                           |
|            | <i>Hydropsyche</i> -arter                                                                                                                                                                                                   | 1-8                              | Wiberg-Larsen (submitted)                |
|            | <i>H. sparsa</i> , <i>Polycentropus</i> -arter, <i>Goera pilosa</i> , <i>Mystacides azureus</i> , <i>Brachycentrus maculatus</i> , <i>Halesus radiatus</i>                                                                  | 3-8                              | Wiberg-Larsen (submitted)                |
|            | <i>Lepidostoma hirtum</i>                                                                                                                                                                                                   | 7-11                             | Wiberg-Larsen (submitted)                |
|            | <i>Chaetopteryx villosa</i>                                                                                                                                                                                                 | 0,1                              | Wiberg-Larsen (submitted)                |
| Myg        | <i>Culicoides</i> -arter                                                                                                                                                                                                    | 0,08-3                           | Elbersen-Van der Straten & Higler (2002) |
|            | Culicidae                                                                                                                                                                                                                   | 0,03 - >100                      | Johnson (1969)                           |
|            | Simuliidae                                                                                                                                                                                                                  | 10 - > 100                       | Johnson (1969)                           |

Blandt insekter, som lever i damme, foretager visse guldsmede, vandtæger og vandbiller periodevis (fx i stille og klart vejr) egentlige masseflyvninger, der

kan involvere hundrede tusinder af individer (Askew 1988; Stephens et al. 2007). Særlig mange vandtæger er fysiologisk tilpasset sådanne lang-distance flyvninger via særlig mobilisering af oplagret energi (Gäde et al. 2007). Hos centraleuropæiske guldsmede foregår der i den tidlige sommer egentlige ”træk” mod nord (Askew 1988), hvilket har medført indvandring af ny arter i Danmark (se fx Nielsen 1998).

### ***Vejrets betydning for spredningen***

Vejrforholdene må antages at have stor betydning for de voksne vandinsekters sprednings. Flyveaktiviteten hos voksne slørvinger øges således med stigende lufttemperatur, mens vindhastigheden indvirker negativt (Briers et al. 2003). Ligeledes hæmmes sværmeningen hos døgnfluer ved vindhastigheder > 1,5-2 m/s (Savolainen 1978). Briers et al. (2004) fandt imidlertid indikationer på, at lang-distance spredning hos slørvinger fremmes af den fremherskede vindretning under dyrenes flyveperiode; for selvom stærk vind hæmmer flyvning, kan de som alligevel gør forsøget, drage fordel af vinden i form af en mere passiv transport. Lignende forhold gælder inden for andre insektgrupper, fx dansemyg, der formodentlig kan benytte sig af stærke ”opvinde” (Delettre 1988; Armitage 1995). Det betyder imidlertid, at variationer i vind og temperatur under de voksnes flyveperiode kan resultere i varierende grad af spredning mellem lokaliteter (Briers et al., 2003).

Medvinds spredning, som igangsættes af varmfronter, er bl.a. velkendt blandt migrerende sommerfugle (Mikkola 1986); der er på vore breddegrader netop typisk tale om sydlige til sydøstlige vinde, som kan sprede sommerfuglene med hastigheder på op til 220-350 km/nat. Fund af to *Hydropsyche*-arter (vårfluer) i en lysfælde på sydspidsen af Falster – mere end 100 km fra nærmeste kendte levesteder – tyder på en lignende spredning (Wiberg-Larsen, upubliceret). Blandt vandlevende insekter er kun guldsmede i stand til at flyve mod vinden og lade sig lede af den (Mikkola 1986).

Forholdene omkring vejrforholds betydning for spredningen er dog mere komplicerede, idet vejrforholdene inden for det enkelte døgn har betydning. Mange vandinsekter er således kun aktive på bestemte tider af døgnet. Eksempelvis flyver vandlevende tæger og biller morgen, eftermiddag eller aften, hvor solen står lavt, hvilket betyder en maksimal refleksion af lys og lettere genkendelse af fx vandflader (Csabai et al. 2006). Andre arter (bl.a. mange vårfluer) er derimod udpræget nataktive.

Flyveaktiviteten hos slørvinger (bl.a. *L. fusca*), skøjteløbere og vårfluer er primært afhængig af lufttemperaturen – jo højere temperatur, des større aktivitet (Landin & Vepsäläinen 1977; Waringer 1991; Wiberg-Larsen 1996; Smith et al. 2002; Briers et al. 2003). *L. fusca* har flyvetid i september-november. Det er ved flere lejligheder observeret, at hunner på lune stille dage foretog opstigende flyvninger (Wiberg-Larsen, P., egne observationer), hvor de let kan tænkes at blive ført langt omkring af pludselige opvinde. For selvom vinden måske hæmmer insekternes trang til at flyve, kan en pludselig tiltagende vind, når de først er i luften, nemt tænkes at kunne føre dem langt omkring.

### ***Morfologisk betingede forskelle i spredningsevne***

Forskellige voksne vandinsekter er ikke lige dygtige flyvere. Der er eksempelvis markant forskel på de ægte guldsmedes brillante flugt (de kan stå helt stille i luften for øjeblikket efter at flyve lynhurtigt frem og gribe et bytte)

og fx slørvinger og dovenfluer, der virker klodsede og umanøvredygtige i luften. Døgnfluer er heller ikke fremragende aktive flyvere, men deres store sejlformede vinger med mange folder synes til gengæld ideelle til at fange vinden; bliver de således fanget af vinden kan de bæres passivt bort over store afstande (Smith & Collier 2006). Ikke blot er der betydelige forskelle i flyveevne mellem insektgrupperne. Der er også betydelige forskelle i evnen til at flyve og dermed i spredningskapaciteten inden for den enkelte gruppe. Hos en række svenske vårfluer fandt Hoffsten (2004) således en aerodynamisk betinget sammenhæng mellem morfologiske karakteristika (fx forholdet mellem vingearreal og kropsvægt, eller den relative vægt af thorax) og udbredelse, der kan opfattes som et udtryk for deres spredningsevne. Især mellemstore arter som *Rhyacophila nubila*, *Sericostoma personatum* og *Lepidostoma hirtum* havde en særlig stor spredningsevne. Blandt de vårfluearter, som indgik i det fynske studie, var *Agapetus ochripes* tilsyneladende langt bedre til at sprede sig end den nærtstående *A. fuscipes*. Dette kan muligvis forklares ved, at *A. ochripes* havde et 40% større vingearreal og en 32% større løfteevne (vingearreal/kropsmasse) end *A. fuscipes* (Wiberg-Larsen, submitted). Tilsvarende synes der at være en vis positiv sammenhæng mellem vingelængde og spredningsevne hos døgnfluer og dansemyg – men ikke hos slørvinger (McLachlan 1985; Delettre 1988; Corkum 1987; Malmqvist 2000).

#### **Har faktorer i landskabet betydning for spredningen?**

Den (aktive og adfærdsmæssige) spredning over land synes at påvirkes af strukturelle elementer i landskabet (Jonsen & Taylor 2000; Bohonak & Jenkins 2003). Artssammensætningen af voksne dansemyg ændredes således med bredden og kvaliteten af levende hegn, ligesom der forekom større spredning bort fra vandløb, hvis der forekom skov eller stor tæthed af levende hegn, end hvis omgivelserne var mere "åbne" (Delettre & Morvan, 2000). Muligvis fungerer skov og hegn som gode hvilesteder eller "filtre"; nærmere ved vandløbet kan der desuden være tale om en funktion som egnede "sværningsmarkører". Busk- og trævegetation kan dog hæmme spredning, fx hos vandnymfen *C. mercuriale* (Purse et al. 2003), ligesom Pither & Taylor (1998) fandt, at en anden vandnymfe, *Calopteryx maculata*, bevægede sig hurtigere igennem græsland end gennem skov. Nogle arter foretrækker altså skov – andre ikke (Smith & Collier 2006). Svensson (1994) og Winterbourn et al. (2007) fandt således, at nogle voksne vårfluer foretrak at opholde sig i skov, mens andre arter både forekom her og på græsland; der var desuden tegn på, at dale kunne fungere som vigtige spredningskorridorer (Winterbourn et al. 2007). Inden for skov fandt Jackson & Resh (1989) tegn på, at døgnfluer og vårfluer, som foretrak at færdes nær trætoppene (i 8 m's højde), spredte sig længere bort fra vandløb end arter, der færdedes nærmere jorden. En mulig forklaring kunne være, at individer i trætop niveau lettere føres af sted med vinden.

Menneskeskabte og dermed kunstige strukturer i landskabet påvirker formodentlig de voksne vandinsekters spredning. Således angiver Wilcock et al. (2007), at byer kan udgøre barrierer for spredning af vårfluen *Plectrocnemia conspersa*. Imidlertid fandt Wiberg-Larsen & Karsholt (1999) et stort antal arter og individer af vårfluer i en lysfælde placeret i 17,5 m's højde inde midt i København, hvilket umiddelbart antyder, at byer også kan have en positiv virkning. Byer er således generelt varmere (med 1-5 °C højere minimum temperaturer) end det omgivende land på grund af den varmestråling, som bygninger og befæstede arealer opsamler (Lysgaard

1969), ikke mindst om natten, hvor mange vårfluer er særlig aktivt flyvende. Dertil kommer, at lyset fra byerne kan tænkes at tiltrække de natflyvende insekter.

Der er også sandsynligt, at havområder fungerer som vanskeligt passable barrierer for en aktiv spredning (se fx Wilcock et al. 2007). Fund af voksne vandinsekter på fyrskibe samt forekomster på øer, som ikke tidligere har været forbundet med fastland, viser ganske vist, at mange vandinsekter er i stand til at krydse havområder. Der er imidlertid oftest tale om arter, som er kendt som særlig gode flyvere og kolonisatorer. Imidlertid byder havområder ikke på eventuelle ”trædesten”, som ville kunne lette spredningen, og vil derfor over korte tidsrum formodentlig betyde en uoverstigelig hindring for lang distance spredning hos i hvert fald mange voksne vandløbsinsekter.

### 3. Passiv spredning over land

Allerede Charles Darwin (1859) påviste vandfugles betydning for spredning af visse vandplanter og -dyr. Men passiv spredning kan også ske med andre dyr – herunder mennesket – ligesom vand og vejr kan sprede visse vandorganismer. Imidlertid har passiv spredning været en lidt overset faktor, ofte baseret på relativt få data, som yderligere har været af ”anekdotisk” art. Dertil kommer, at passiv spredning ofte vil være baseret på ”tilfældigheder”, hvor fx vindspredning må formodes at afsætte langt flest af de spredte vandlevende organismer på tørt land, hvor de naturligvis går til grunde.

#### ***Vind- og vandspredning***

Vind og regn kan effektivt sprede især meget små vandlevende organismer (fx hvilestadier hos krebsdyr) (se fx Maquire 1963). Her viser modelberegninger, at organiserede turbulente vindstrømme kan opstå i lysninger i skov, og at disse strømme dels kan opsamle, dels afsætte vindspredte vandlevende invertebrater i forbindelse med damme, som måtte findes i eller udgøre sådanne lysninger (Nathan et al. 2005). Dertil kommer naturligvis, at kraftige storme er i stand til at løfte langt større og tungere organismer, som desuden vil kunne transporteres over store afstande (Rees 1965). Der skulle således være beskrevet mindst 70 eksempler på ”regn af fisk” – endda langt tilbage i historien (1500 tallet).

#### ***Spredning med andre dyr***

Trækkende vandfugle kan sprede vandlevende invertebrater (og planter - fx i form af frø), idet disse transporteres enten eksternt eller internt (Green & Figuerola 2005). Hvileæg af Cladocera (krebsdyr), mosdyrs statoblaster og vandplantefrø har ofte diverse udvækster, som synes særlig velegnede til at hæfte sig til vandfuglenes fjerdragt (Figuerola & Green 2002; Green & Figuerola 2005), men der findes også eksempler på, at både æg og unge individer af snegle og muslinger (*Sphaerium*, *Anodonta*, *Unio*) kan transporteres på fødderne af vandfugle (Rees 1965; referencer i Bilton et al. 2001). Ligeledes angives tangloppen *Gammarus lacustris* at kunne holde sig fast i fugles fjerdragt i op til 2 timer (Segerstråle 1954, cit. i Figuerola & Green 2002). En formodentlig langt vigtigere spredningsmåde er via vandfuglenes fækalier (Figuerola & Green 2002; Charalambidou et al. 2003; Green & Figuerola 2005). Vandfugle spiser således formeringsorganer fra et stort antal vandlevende organismer (fx plantefrø, krebsdyrhvileæg, statoblaster). Og mange plantefrø, oosporer af kransnålalger, sporer af planteplankton, krebsdyræg og endda snegleæg kan overleve turen igennem

fordøjelsessystemet, især hvis de er mindre end 2 mm. Små frø med hård skal overlever bedst. Men også en væsentlig del af individer (5-75%) af forskellige invertebrater (ciliater, muslingekrebs og hjuldyr) kan klare turen gennem tarmsystemet hos især blishøns (Green et al. 2008). Desuden var en del larver af dansemyggen *Chironomus salinarius* i stand til at overleve passagen gennem tarmen hos Stor Kobbersnepe (Green & Sánchez 2006). Spredning via spiste formeringsorganer eller individer afhænger dog af, hvor længe de er i fuglens tarm, og hvor langt fuglene flyver under denne periode. Tarmopholdet varierer med karakteren af den spiste føde (5-72 timer) og eftersom vandfugle flyver med hastigheder på 50-80 km/time, kan spredning teoretisk set foregå over afstande på væsentlig over 300 km (Charalambidou et al. 2003).

Også andre dyr end fugle kan – i hvert fald teoretisk - fungere som vektorer for spredning af vandlevende smådyr. Der er således eksempler på spredning af tanglopper via bævere og moskusrotter og af ferejer via salamandre (se tabel 1 og referencer i Havel & Shurin 2004). Det er endvidere dokumenteret, at store vandbiller og vandtæger kan transportere æg eller små individer af snegle og muslinger fæstnet til deres ben eller krop (Kew 1893 cit. i Bilton et al. 2001; Rees 1965; Bilton et al. 2001; Havel & Shurin 2004). Disse vandbiller og vandtæger flyver gerne fra vandhul til vandhul (se senere).

### **Spredning med mennesker**

Menneskeskabt spredning af vandlevende invertebrater kan foregå på utallige måder: via officielle fiskeudsætninger, tømning af hobbyakvarier, udsætning af agnfisk efter endt lystfiskeri, ballastvand (fx vandremuslingen *Dreissena polymorpha* i Nordamerika), fasthæftning til lystbåde, og via nygravede kanaler (Claudi & Leach 2000; tabel 1 og referencer i Havel & Shurin 2004). I Danmark er *Gammarus pulex* bevidst (for at gavne ørredbestandene) blevet udsat af sportsfiskere i flere nordjyske vandløb, hvor den ikke forekom naturligt (Kaiser 1958), ligesom den pludselige optræden (i 1991) af vårfluen *Lepidostoma hirtum* i Odense Å formodentlig skyldes udsætning – formodentlig sammen med fisken Grundling, som før den tid ikke var kendt hverken fra dette vandløb eller Fyn i det hele taget (Wiberg-Larsen, upublicerede data).

Voksne insekter kan også spredes via transportmidler. Hoffrichter (1973) omtaler således et tilfælde, hvor individer af *Chironomus salinarius* blev transporteret i togvogne fra Venedig til Hamburg. Ligeledes er der flere eksempler på, at hunner af slørvingen *L. fusca* er fløjet eller kravlet ind gennem åbentstående bilvinduer eller -døre, hvilket giver store muligheder for lang distance spredning (Wiberg-Larsen, P. & Skriver, J., upubliceret). Det kan medvirke til at forklare, hvorfor specielt denne art har vist sig særlig effektiv til at spredes og kolonisere ny vandsystemer.

Det er også værd at nævne, at anlæggelsen af kunstige kanaler mellem Europas naturlige vandsystemer har muliggjort spredning af et stort antal fremmede arter, hvoraf nogle har vist sig udpræget invasive (fx *Dreissena polymorpha*, *Dikerogammarus villosus*) (Nehring 2005). *D. villosus* har således spredt sig meget hurtigt (inden for 10 år fra Donau til Oder) og udkonkurrerer indfødte arter. Spredningen via kanalerne fremmes af skibstrafikken, idet flere arter transporteres passivt med (fasthæftet til) skibene.

#### 4. Studier af kolonisering af vandløb og søer

##### ***Bliver spredning til kolonisering? Hvor mange æglæggende hunner skal der til?***

Teoretisk set skal der formodentlig kun få æg-bærende hunner til for at grundlægge en ny bestand (Bunn & Hughes 1997). Hunner af forskellige slørvinger, døgnfluer, dovenfluer og vårfluer lægger således hhv. 50-1500 (Khoo 1968; Bengtsson 1984; Elliott 1984, 1986, 1987; Thierno de Figueroa & Derka 2003), 500-8300 (Degrange 1960; Wright et al. 1981; se referencer i Humpesch & Elliott 1984, tabel 6), 600-1100 (Kaiser 1961) og 60-750 æg (Wiberg-Larsen, upublikeret review), mens fx visse dansemyg lægger op til 3000 æg (Armitage 1995). Dette vidner i det store hele om en relativt stor frugtbarhed. Trods dette er det dog rimeligt at antage, at både antallet af populationer og disses størrelse må have en positiv indflydelse på sandsynligheden for vellykket lang distance spredning til "ny" habitater. Hvad det første forhold angår, viste de fynske undersøgelser (denne rapport) rent faktisk for flere arter (som koloniserede over land), at koloniseringen af ny vandløbslokaliteter foregik med eksponentiel hastighed, svarende til at jo flere lokaliteter der blev koloniseret, des hurtigere foregik den efterfølgende kolonisering. Denne udvikling kan naturligvis ikke fortsætte i det "uendelige", idet hastigheden efterhånden vil aftage betydeligt, efterhånden som antallet af egnede habitater er blevet besat.

##### ***Vandløb***

De fynske undersøgelser påviste, at en række arter kan kolonisere over land over afstande på op til ca. 20 km, idet der dog i de fleste tilfælde var tale om maksimale afstande i størrelsesordenen 8-16 km. Medianerne af de koloniserede afstande var dog noget mindre (3-9 km). De fynske undersøgelser viste desuden – når data fra en række sammenlignelige arter blev puljet – en signifikant positiv sammenhæng mellem koloniseret afstand og den tid det tog, indtil koloniseringen fandt sted. Dermed var vi stand til at understøtte en af vores hypoteser. Dette er ikke umiddelbart overraskende, fordi chancen for succesfuld kolonisering må forventes at aftage med afstand til nærmeste "kildepopulation". En enkelt art, slørvingen *L. fusca* viste imidlertid ingen sådan relation mellem koloniseret afstand og tid. Det tyder på, at den er en særlig effektiv spredner, hvilket bekræftes af dens – i sammenligning med andre slørvinger – usædvanlig store geografiske udbredelse (Zwick 2004). Desuden profiterer den – som tidligere nævnt – muligvis af passiv transport med fx biler. Forskellen i sprednings- og koloniseringsevne mellem *L. fusca* og flere af de andre undersøgte arter, og i den tilsyneladende morfologisk betingede spredningsevne hos de to nærtstående *Agapetus*-arter, understøtter til dels hypotesen om, at denne evne er "artsspecifik og afhænger af arternes biologi". Dertil kommer, at specielt den eksponentielle øgning i antallet af findesteder for flere af de undersøgte arter – alle vandinsekter – støtter den sidste hypotese, nemlig at "hastigheden af rekoloniseringen øges, jo større bestandene er i de vandløb, hvorfra indvandring sker, og jo mere udbredt arterne er". En nøjere analyse af det detaljerede forløb af de enkelte arters "rekoloniseringshistorie" peger således på en accelererende spredning, bl.a. i forbindelse med opbygning af store bestande på de nykoloniserede vandløbsstrækninger, hvorfra videre spredning kunne ske.

Der er relativt få andre studier, som beskriver kolonisering af isolerede vandløbsstrækninger, og hvor koloniseringen nødvendigvis må være sket over land fra nabovandsystemer.

I et helt nyt vandløb i Sydsverige, som blev anlagt imellem to søer med henblik på sportsfiskeri, og som således ikke havde direkte forbindelse til andre vandløb, blev koloniseringen undersøgt over 2 år efter anlæggelsen (Malmqvist et al. 1991). De tidligste kolonisatorer var chironomider, visse døgnfluer og slørvinger, mens biller, guldsmede og vårfluer ankom senere. Der udvikledes hurtigt et typisk partikel filtrerende samfund i den øvre del – primært kolonisatorer fra de nærliggende sø afløb – men filtratorer var også betydende i resten af vandløbet. Græssere indfandt sig senere, efterhånden som algebiofilm blev udviklet. Senere kom rovdyr og sedimentædere, mens iturivere var sjældne selv efter 1,5 år. Kolonisationen blev særlig hurtig, fordi ”åbningen” af vandløbet faldt sammen med flyveperioden for kvægmyggene og *B. rhodani* – og fordi de nærliggende vandløb i høj grad lignede det ny. Omkring halvdelen af kolonisatorerne stammede således fra en række vandløb, beliggende 1-3 km fra det kunstige vandløb.

I Sydtyskland formåede klobillerne *Elmis maugetti* og *Limnius volckmari* - på trods af en afstand på 20-25 km til nærmeste ”uberørte” vandløb - inden for 5 år at kolonisere et restaureret vandløb, som før restaureringen stort var uden en egentlig vandløbsfauna (Fuchs & Statzner 1990). Derimod var udfordringen for stor for mange andre typiske vandløbsarter. Der er tale om en ganske imponerende afstand, som de pågældende arter skulle have ”klaret”. Det kan dog ikke afvises, at arterne kan have forekommet i nærmere beliggende, måske ikke uberørte, men alligevel egnede habitater. Forudsætningerne for pågældende studie er således ikke særligt godt beskrevet.

En spredning over afstande på op til 5 km – muligvis via ”trædesten” - som kan føre voksne insekter fra et vandsystem til et andet, er ligeledes dokumenteret for små walisiske vandløb (Masters et al. 2007).

Mangler der sådanne direkte undersøgelser af kolonisering/rekolonisering, foreligger der til gengæld efterhånden en række genetiske studier af populationer inden for større og mindre geografiske områder. Disse studier kan være vanskelige at tolke, men samlet set kaster de lys over spredningsbiologiske forhold, specielt hvad angår spredning set over et langt tidsperspektiv. Eksempelvis konkluderede Hughes (2007) ud fra et studie af de genetiske forhold hos smådyr og fisk i australske vandløb, at spredning på tværs af afstrømningsområder er betydningsløs – undtagen for insekter med et flyvende voksent stadium. Endvidere viste Myers et al. (2001), at vårfluen *Lepidostoma ojanum*, der lever i nordamerikanske kilder, kunne spredes og kolonisere over afstande op til 10 km, men ikke over 25 km. Til sammenligning var en anden vårflue, *Hesperophylax designatus*, en langt bedre spredder, og populationerne i de enkelte kilder udgjorde således en metapopulation over et stort geografisk område. Den i Danmark meget udbredte vårflue *Plectrocnemia conspersa* kan indenfor få generationer udveksle gener (arvemateriale) mellem lokaliteter, der ligger inden for en indbyrdes afstand af 20 km, mens det vil ske langt sjældnere over en skala på 20-500 km (Wilcock et al. 2001, 2003, 2007). Modsat synes den nærtstående *Polycentropus flavomaculatus*, som lever i større og formodentlig mere stabile

vandløb, at have en mere begrænset sprednings- og koloniseringsevne (Wilcock et al. 2007).

De nævnte udenlandske undersøgelser bekræfter alt i alt de afstande, over hvilke der konkret er dokumenteret kolonisering/rekolonisering i de fynske vandløb.

### **Søer og damme**

Planktonorganismer kan være hurtige og effektive kolonisatorer i damme, især over korte afstande. Således var dyreplankton meget hurtige (dage til uger) kolonisatorer i kunstige damme, som blev anlagt 5-60 m fra nogle fiskeløse damme, hvorfra kolonisering kunne finde sted (Cohen & Shurin 2003). Tilsvarende fandt Louette & de Meester (2005) i gennemsnit 4,2 arter af planktoniske Cladocera (daphnier) i 25 nygravede damme inden for de første 15 måneder efter anlæggelsen. I alt blev der fundet 20 forskellige arter, svarende til 40% af samlede artsrigdom om sommeren i vel etablerede vandområder, som lå inden for 3 km fra de ny damme. Muligheden for indvandring synes at afhænge af afstanden til nærmeste population, selv inden for en afstand af 3 km (Louette & de Meester 2005), om end Havel & Shurin (2004) vurderede, at kolonisering inden for afstande < 10 km normalt er hurtig, og at afstand til "kilden" først får betydning ved afstande over 20 km. Evnen til kolonisering varierer imidlertid hos forskellige arter af dyreplankton (Cáceres & Soluk 2002). Således indvandrede 26 arter af dyreplankton til ny anlagte damme inden for 2 år, idet nogle dog indvandrede allerede efter få uger, og mens hele 13 taxa, som fandtes i nogle nærliggende damme, ikke indvandrede overhovedet. Spredning af zooplankton kan foregå på forskellig måde, idet vind og nedbør muligvis har større betydning end dyrespredning (Cáceres & Soluk 2002; Cohen & Shurin 2003).

Ikke-planktoniske krebsdyr som fx visse chydorider synes modsat de planktoniske at være dårlige til at kolonisere ny levesteder, muligvis fordi de afsætter deres æg på faste substrater (Fryer 1985), hvorimod muslingekrebs med deres meget små æg, der nemt kan spredes med vind (eller fugle), let koloniserer (Malmqvist 1997). Mere overraskende er måske, at vandbænkebidderen *Asellus aquaticus* tilsyneladende er god til at spredes og kolonisere damme (Fryer 1985). Også mange snegle er, selvom de spredes passivt (primært med fugle – se tidligere), effektive kolonisatorer med en indvandringsrate på ca. 1 art/år i kunstige damme; det gælder således eksempelvis *Radix baltica*, *Gyraulus albus*, *G. crista*, *Hipppeutis complanatus* og *Physa fontinalis* (Lassen 1975). Ligeledes har den levendefødende *Potamopyrgus antipodarum*, som er en invasiv art med oprindeligt hjemsted på New Zealand, et stort koloniseringspotentiale (Lassen 1978).

Wilcox (2001) fandt, at vandkalve og rygsvømmere var meget hurtige til at kolonisere kunstige vandhuller og var talrige allerede efter 1 uge. Koloniseringen aftog med afstanden til nærmeste levested. Vandkalve var hurtigere til at kolonisere end rygsvømmere. Egne observationer i et typisk fynsk landbrugsområde viser tilsvarende, at visse vandkalve (*Agabus* spp.) inden for få dage "koloniserer" vandtrug til heste (Wiberg-Larsen, upubliceret).

Kolonisering af små udtørrende damme synes at være særlig hurtig og primært ske fra luften. Tronstad et al. (2007) fandt således, at døgnfluer, guldsmede, vandtæger, vandkalve, glasmyg og dansemyg om sommeren var i

stand til at etablere sig – og hurtigt vokse op - i de midlertidige vandområder, som dannedes i uregulerede store vandløbs floddale. Yderligere kunne mikroskopisk små krebsdyr og rundorme etablere sig året rundt. Der foregår desuden en sæsonbetinget kolonisering af udtørrende damme; fx migrerer vandkalve, vandkærer, skøjteløbere og bugsvømmere fra permanente til de udtørrende damme for at yngle i det tidsrum, hvor sidst nævnte er vandfyldte om foråret (Landin1980; Davy-Bowker 2002; Wiberg-Larsen, upubliceret).

Analysen af udbredelsen af guldsmede/vandnymfer, vandbiller og vårfluer tyder endelig på, at arter fra stillestående vand har en større sprednings- og koloniseringsevne end arter fra strømmende vand (Ribera & Vogler 2000; Ribera et al. 2003; Hof et al., 2006; Wiberg-Larsen, 2008;). Dette hænger utvivlsomt sammen med, at vandløb generelt kan opfattes som økologisk mere stabile end stillestående vandområder, hvor især småsøer og vandhuller over tid er i større risiko for at forsvinde.

Forskelle i spredningsevne – selv hos organismegrupper som må regnes for gode spredere (eksempelvis guldsmede) – betyder imidlertid, at damme som ligger relativt isolerede koloniseres langsommere og opnår mindre artsrigdom (McCauley 2006). Spredningsevnen hos nærtstående arter kan (som tidligere nævnt i dette review) være afhængig af vingelængden. Således var *Enallagma* vandnymfer med store vinger i forhold til deres kropsvægt mere udbredte end mere småvingede arter (Rundle et al. 2007).

