

PRODUS deelproject 3 sublitorale  
natuurwaarden:

Invloed van aantal monsters per locatie en totaal  
aantal locaties op de 'power' om een verschil in  
het aantal unieke soorten te vinden

H.W.G. Meesters, F.E. Fey-Hofstede

Rapport 09.001



Institute for Marine Resources and Ecosystem Studies

Wageningen **IMARES**

Vestiging Texel

Opdrachtgever: LNV, Directie Kennis  
Als onderdeel van PRODUS dp 3, ter ondersteuning van offerte 2009

Publicatiedatum: 12-01-2009

Rapportnummer 09.001

- Wageningen **IMARES** levert kennis die nodig is voor het duurzaam beschermen, oogsten en ruimte gebruik van zee- en zilte kustgebieden (Marine Living Resource Management).
- Wageningen **IMARES** is daarin de kennispartner voor overheden, bedrijfsleven en maatschappelijke organisaties voor wie marine living resources van belang zijn.
- Wageningen **IMARES** doet daarvoor strategisch en toegepast ecologisch onderzoek in perspectief van ecologische en economische ontwikkelingen.

© 2007 Wageningen **IMARES**



Wageningen IMARES is een samenwerkingsverband tussen Wageningen UR en TNO. Wij zijn geregistreerd in het Handelsregister Amsterdam nr. 34135929, BTW nr. NL 811383696B04.



A\_4\_3\_1-V5

De Directie van Wageningen IMARES is niet aansprakelijk voor gevolgschade, noch voor schade welke voortvloeit uit toepassingen van de resultaten van werkzaamheden of andere gegevens verkregen van Wageningen IMARES; opdrachtgever vrijwaart Wageningen IMARES van aanspraken van derden in verband met deze toepassing.

Dit rapport is vervaardigd op verzoek van de opdrachtgever hierboven aangegeven en is zijn eigendom. Niets uit dit rapport mag weergegeven en/of gepubliceerd worden, gefotokopieerd of op enige andere manier gebruikt worden zonder schriftelijke toestemming van de opdrachtgever.

# Inhoudsopgave

Inhoudsopgave .....	3
Samenvatting .....	4
1 Inleiding .....	5
2 Kennisvraag .....	5
3 Materiaal en Methoden .....	5
3.1 Aantal soorten bij toenemend aantal monsters .....	6
3.2 Effect van locatie- en monsteraantal op het onderscheidend vermogen .....	6
3.3 Effect van subsampling.....	7
4 Resultaten .....	8
4.1 Aantal soorten bij toenemend aantal monsters .....	8
4.2 Effect van het aantal locaties en het aantal monsters per locatie.....	10
4.3 Effect van subsampling.....	11
5 Discussie en conclusies.....	13
6 Referenties.....	14
7 Kwaliteitsborging .....	16
Bijlage A. Species-Area curves.....	17

## Samenvatting

In het PRODUS onderzoek naar de effecten van sublitorale mosselzaadvisserij in de westelijke Waddenzee (dp3) wordt op verschillende locaties gekeken naar de diversiteit op een stuk mosselbank waarvan een deel bevestigd wordt en een ander deel onbevestigd blijft. Om met grote zekerheid te kunnen constateren dat er geen effect is, is het nodig dat onderzocht hoeveel locaties er minimaal onderzocht moeten worden en hoeveel monsters er per locatie genomen zouden moeten worden.

Via simulaties op basis van reeds verzamelde gegevens is onderzocht wat het effect op het onderscheidend vermogen ('power') van de te gebruiken statistische test is bij 1) variatie in het aantal locaties dat bemonsterd wordt en 2) variatie van het aantal monsters per locatie. In het algemeen wordt gestreefd naar een power van minimaal 80%, hetgeen inhoudt dat de kans dat terecht geconcludeerd dat er geen effect is 0,8 is.

Uit het onderzoek blijkt dat het effect van het aantal locaties groot is. Vijftien tot twintig of meer locaties wordt aanbevolen met minimaal 12 monsters per locatie. Het bij elkaar gooien van monsters en uitzoeken van slechts een gedeelte om kosten te besparen ('subsampling') wordt niet aangeraden omdat het onderscheidend vermogen ernstig afneemt, zeker wanneer slechts een hoeveelheid van 1 monster wordt uitgezocht. Wordt de helft van de bij elkaar genomen verzameling van monsters uitgezocht, dan zouden er meer dan 15 monsters per locatie genomen moeten worden. Aangezien bij subsampling ook een aantal aannames gedaan zijn en op veel van de reeds bemonsterde locaties 12 monsters genomen zijn, lijkt het vasthouden aan 12 monsters per locatie en deze helemaal uitzoeken de beste optie te zijn om met voldoende onderscheidend vermogen in de toekomst een eenduidige conclusie te trekken over de effecten van de sublitorale mosselzaadvisserij op de diversiteit in de westelijke Waddenzee.

# 1 Inleiding

In Fey et al. (2008) wordt een tussenrapportage gegeven over de onderzoeksresultaten naar de effecten van sublitorale mosselzaadvijverij in de westelijke Waddenzee tot en met 2007. In dit rapport zijn analyses uitgevoerd gericht op de statistische betrouwbaarheid van de uitkomsten van het onderzoek tot dat moment. Tevens is er een actualisatie van de power analyse uitgevoerd, in vergelijking met de power analyse die tevoren is gedaan (Ens et al. 2007) en die leidde tot de aanbeveling om 40 onderzoeksvakken in te stellen. In Fey et al. (2008) bleek dat de power om een verschil te ontdekken in het aantal soorten hoger was dan eerder berekend, omdat de grootte van het effect van bevissing groter was dan waar men bij de eerdere berekeningen vanuit was gegaan.

Er resteerden echter nog een aantal vragen, met name over de effecten op het vinden van een verschil tussen beviste en onbeviste delen als het aantal locaties toeneemt of als er meer of minder monsters per vak genomen zouden worden. Het bemonsteren van meerdere experimentele vakken zal in het algemeen leiden tot een robuster resultaat. Hetzelfde geldt voor het aantal te nemen monsters per locatie. Echter aangezien er ook een duidelijk prijskaartje aan hangt, is het noodzakelijk om te kijken naar de optimale combinatie van locaties en monsters per locatie. Niet op de laatste plaats omdat men er zeker van wil zijn dat, indien er geen significant effect gevonden wordt, dit niet veroorzaakt wordt door een te laag aantal onderzoekslocaties en/of bodemonsters per locatie.

In dit rapport wordt verslag gedaan van de resultaten van een simulatiestudie om bovenstaande vragen te beantwoorden.

## 2 Kennisvraag

Wat is het effect van het aantal locaties, het aantal monsters per locatie en het uitzoeken van slechts een deel van de monsters ('subsampling') op het onderscheidend vermogen, de 'power', van een statistische test om een verschil te vinden in het aantal soorten tussen beviste en niet beviste delen van sublitorale mosselzaadbanken.

Bovenstaande vraag is opgesplitst in verschillende onderdelen:

1. Wat is het effect van het totaal aantal monsters op het aantal soorten dat gevonden wordt?
2. Wat is het effect van het aantal locaties en het aantal monsters per locatie als alle monsters uitgezocht worden.
3. Wat is het effect van subsampling: het uitzoeken van slechts een deel van het totale monster ervan uitgaande dat het monster homogeen gemengd is.

## 3 Materiaal en Methoden

Centraal in de gebruikte methoden staat het begrip 'bootstrapping' waarbij bestaande gegevens gebruikt worden om informatie te genereren over de eigenschappen van een bepaalde statistische test variabele. In dit geval is gebruik gemaakt van de bestaande monstergegevens uit het monsterprogramma van PRODUS dp 3. Dit zijn gegevens van soorten en aantallen individuen per soort in beviste en niet-beviste vakken op bekende mosselzaadbanken. De gegevens zijn verzameld voordat het mosselzaad opgevist werd (T0) en na het vissen (T1). De uiteindelijke test om te bepalen of er een verschil tussen beviste en onbeviste gebieden bestaat is een eenzijdige gepaarde t-toets tussen de verschillen tussen gesloten en open vakken tussen T1 en T0. De gedachte hierachter is dat er tussen het open en gesloten vak op een mossel(zaad)bank een verschil kan bestaan voordat er echt gevist wordt (op T0), maar dat het (veronderstelde) effect van bevissen zal zijn dat het verschil tussen onbevist en bevist groter zal zijn na (T1) het opvissen van het mosselzaad (dit is de alternatieve hypothese). De power, het onderscheidend vermogen, van deze test kan eenvoudig berekend worden (Fey et al. 2008). Het onderscheidend vermogen is de complementaire kans van de kans op een fout van de tweede soort (type II-fout), onterecht concluderen dat er geen effect is. De power van een test is de kans op termijn om een effect te ontdekken als het inderdaad bestaat. In gewoon Nederlands kan men stellen dat de power gelijk staat aan de kans dat we geen fout gemaakt hebben in onze conclusie en dat we een effect gevonden zouden hebben als het bestaat. Praktisch gezien, is het dus een maat voor het vertrouwen dat we hebben in de conclusie van geen significant effect. In het algemeen dient men te streven naar een zo groot mogelijke power, maar de power is ook

gerelateerd aan de kans op een Type I fout en dat is de kans dat we concluderen dat er een verschil is terwijl het in werkelijkheid niet bestaat. Als statistisch dogma is gekozen om een kans van 5% te accepteren voor Type I fouten. We accepteren dus dat als we 100 keer een test doen, we gemiddeld 5 keer concluderen dat er een verschil is terwijl het in feite niet bestaat. Het gevolg van dit dogma is dat voor de power van een test meestal gekozen wordt voor 0,8. Dit omdat het anders niet meer praktisch is in verband met het sterk toenemen van de kosten omdat de power onder andere afhangt van het aantal monsters. De power hangt verder af van de variatie van de betreffende variabele tussen de monsters en de grootte van het verschil dat men wil kunnen detecteren. Binnen de statistische wereld zijn er 'revolutionairen' die van mening zijn dat het dogma van 5% losgelaten moet worden en dat men moet streven naar een zo klein mogelijke kans op een Type I fout samen met een zo groot mogelijk power (zie bv. Mapstone, 1995). Er zijn goede argumenten hiervoor, zeker met betrekking tot impact studies, want de gevolgen van een Type II fout, onterecht concluderen dat er geen effect is, kan leiden tot irreversibele schade aan het milieu. Een Type I fout daarentegen, leidt tot het niet doorgaan van een activiteit waarvan men foutief dacht dat die een negatief effect zou hebben. Een Type I fout heeft daarom geen negatieve (mogelijk irreversibele) effecten op het milieu. Bovendien zou met het streven naar een zo groot mogelijke power duidelijk gekozen worden voor het 'voorzorgsprincipe'.

### 3.1 Aantal soorten bij toenemend aantal monsters

Met betrekking tot de eerste vraag, het aantal soorten op een locatie bij toenemend aantal monsters, is per locatie onderzocht hoeveel soorten er in verschillende combinaties van monsters gevonden kunnen worden. Het is algemeen bekend dat het aantal soorten dat men vindt in monsters uit een bepaald gebied toeneemt naarmate men meer monsters neemt. Deze relatie leidt tot een zogenoemde 'species-area' curve die gebruikt kan worden om in te schatten hoeveel monsters men nodig zou hebben om een goed idee te hebben over het totaal aantal soorten dat in een gebied aanwezig is. Deze vraag was vooral van belang omdat niet alle locaties met dezelfde dichtheid bemonsterd zijn. Op sommige plaats-tijdstip combinaties zijn 12 monsters genomen, op andere 20. Voor elke locatie-vak-tijdstip combinatie is onderzocht hoeveel soorten er gemiddeld gevonden worden bij verschillende aantallen monsters. Uit het totaal aantal monsters per locatie-tijdstip combinatie is 1000 keer een willekeurig aantal monsters getrokken (met teruglegging) ter grootte van 2 tot het maximum aantal monsters. Bij elke trekking is het aantal soorten bepaald. De uitkomsten zijn daarna geplotted, samen met een non-lineaire regressie.

### 3.2 Effect van locatie- en monsteraantal op het onderscheidend vermogen

Om deze vraag te beantwoorden is in eerste instantie ervan uitgegaan dat alle genomen monsters helemaal uitgezocht worden. Hierbij zijn de monsters van Gat van Stompe en Stompe Zuid gebruikt. Dit zijn in totaal 160 monsters, 20 monsters voor elke combinatie van locatie, tijdstip en vaktype (gesloten of open voor de visserij). Dit brengt een bepaalde mate van onzekerheid met zich mee omdat er niet automatisch vanuit kan worden gegaan dat de 2 gebieden representatief zijn voor alle locaties. Om deze onzekerheid op te vangen zijn een aantal aanpassingen gemaakt in de simulaties. Uit de 2 locaties wordt bij elke simulatie steeds een willekeurige combinatie samengesteld van 5, 10, 15 of 20 'stations' waarbij elk station een even grote kans heeft om gekozen te worden. Dit wordt voor elke monstergrootte (3 tot 20 monsters per locatie) 1000 keer gedaan en elke keer wordt het aantal monsters willekeurig samengesteld uit de 20 monsters die per station-tijdstip-open/gesloten bekend zijn. Elke keer wordt dan per station het verschil in het aantal soorten tussen het gesloten en open vak bepaald en daarna het verschil tussen T1 en T0 van de verschillende stations. Met behulp van het gemiddelde verschil, de standaard deviatie van het verschil en het aantal stations kan dan de power bepaald worden (Fey et al. 2008).

Dit betekent bijvoorbeeld voor 5 onderzoekslocaties dat er duizend keer een simulatie gedaan wordt waarbij een verzameling van 5 stations gekozen wordt uit Gat van Stompe en Stompe Zuid. Een mogelijke uitkomst is bijvoorbeeld 3 keer Gat van Stompe en 2 keer Stompe Zuid. Voor elke combinatie van tijdstip en vaktype wordt nu uit de juiste verzameling monsters de benodigde hoeveelheid monsters getrokken (met teruglegging) waarbij elk monster een even grote kans heeft om getrokken te worden; in totaal 3 keer met de monsters van Gat van Stompe en 2 keer met de monsters van Stompe Zuid. Voor elk 'station' wordt het verschil in aantal soorten tussen het gesloten en het open gebied bepaald en als de vijf stations geweest zijn, wordt het verschil tussen T1 en T0 bepaald en de power berekend. Dit wordt nog 999 keer herhaald waarbij elke keer een nieuwe combinatie van stations genomen wordt.

### 3.3 Effect van subsampling

Door meer monsters per plot te nemen krijgt men een betere schatting, maar het betekent ook meer tijd om de monsters uit te zoeken. Een strategie waarvoor gekozen kan worden is 'subsampling', waarbij de happen eerst op een hoop gegooid worden en vervolgens slechts een deelmonster onderzocht wordt om de totale werklust per plot te beperken. Zoals reeds gesteld in Ens et al. 2007 is ervaring met het nemen van deelmonsters van macrobenthische monsters beperkt. Carey & Keough (2002) stellen dat in de 114 publicaties over benthos van zachte substraten, gepubliceerd tussen 1961 en 1998, slechts in 7 gevallen een deelmonster genomen werd. Hun studie onderzocht de mogelijkheden om via een proces van samenvoegen van happen gevolgd door het nemen van deelmonsters zowel de kosten van monitoring te reduceren als het statistische onderscheidingsvermogen te verhogen. Monsters werden al gesplitst in het veld, dus vóór het zeven en sorteren. Dat vereist dat de monsters goed gemengd worden en de aanwezige dieren goed over het totale monster verdeeld worden. Voor een aantal organismen ligt daar een groot probleem, zoals bijv. voor amfipoden. Een waarschijnlijk betere benadering is beschreven door Anonymous (2002) waarbij de monsters eerst in groottefracties worden opgesplitst en de te gebruiken maaswijdte afhankelijk is van de organismen. Hoe kleiner (en vaak abundantier) de soort, hoe kleiner de subfractie. Grote dieren worden allemaal geteld en van kleinere zeer abundante dieren wordt een fractie geteld. Welke de beste methode is, hangt af van het type en de hoeveelheid materiaal (zie ook Callaway et al. 2007). Bij het Noordzee benthos onderzoek van het NIOZ wordt ook gebruik gemaakt van de methode van Anonymous (2002).

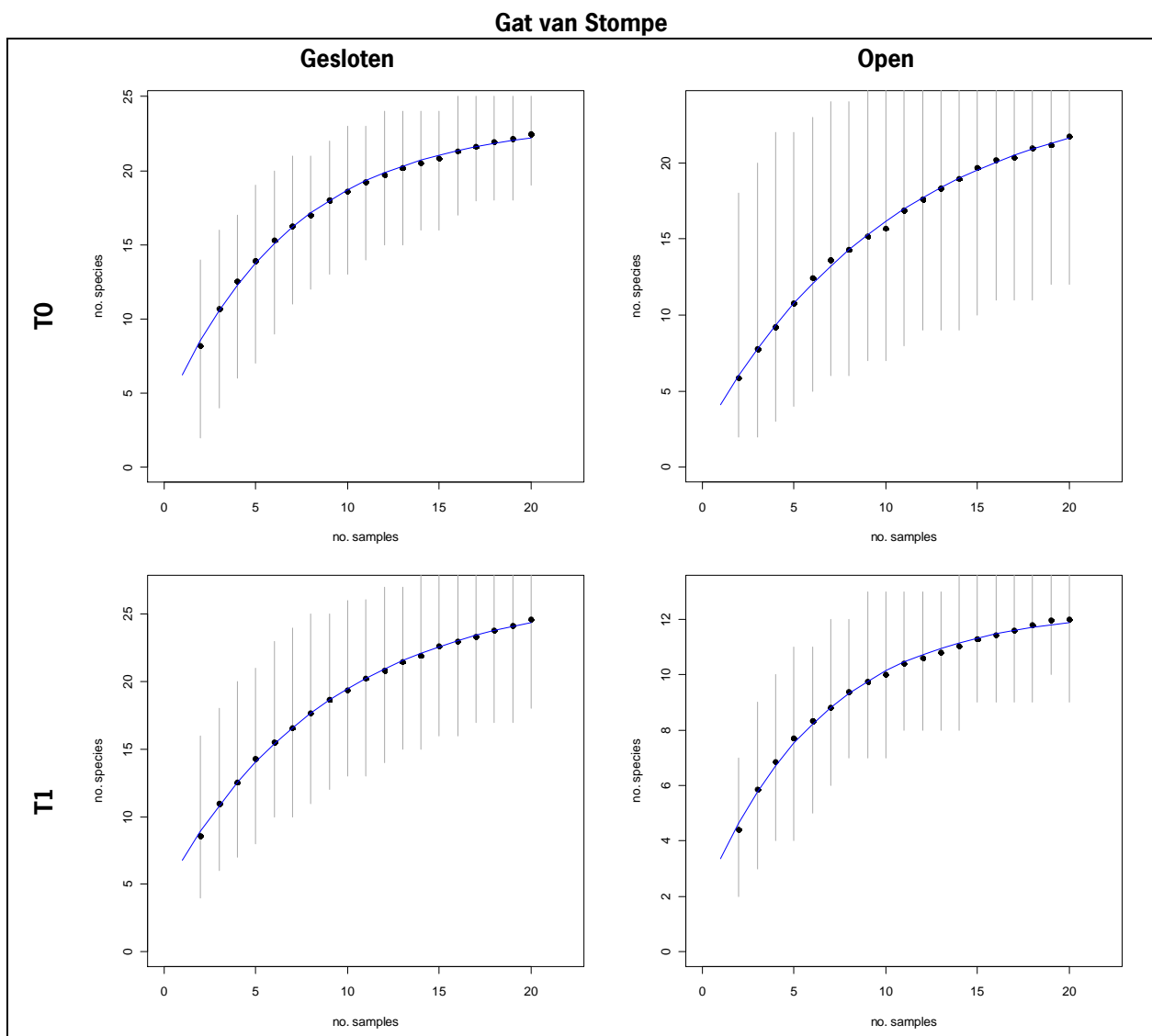
De 3<sup>e</sup> vraag is onderzocht met een procedure vergelijkbaar met de vorige vraag. Het verschil nu is echter dat rekening gehouden wordt met het aantal individuen per soort. Aan de hand van het totaal aantal individuen in een groep monsters wordt bepaald wat de kans van elke soort is om getrokken te worden als een kleiner volume van het monster wordt uitgezocht, waarbij we aannemen dat de verzameling van monsters homogeen gemengd is. Hierbij wordt dus de procedure zoals door Carey en Keough (2002) gevolgd en niet die van Anonymous (2002). Door middel van de aantalsverhoudingen van de verschillende soorten in het totale monster wordt dan een random trekking gedaan, rekening houdend met de kansen van de verschillende soorten. Daarna wordt een bepaald deel van het monster (van het totaal aantal individuen) genomen en daarvoor wordt dan het aantal soorten bepaald. De rest van de procedure volgt dezelfde werkwijze als beschreven in de vorige paragraaf.

## 4 Resultaten

### 4.1 Aantal soorten bij toenemend aantal monsters

De enige locaties met 20 monsters in beide vakken op beide tijdstippen zijn Gat van Stompe en Stompe Zuid. Deze twee locaties worden hieronder getoond. Grafieken voor de andere locaties zijn in de [bijlage](#) opgenomen.

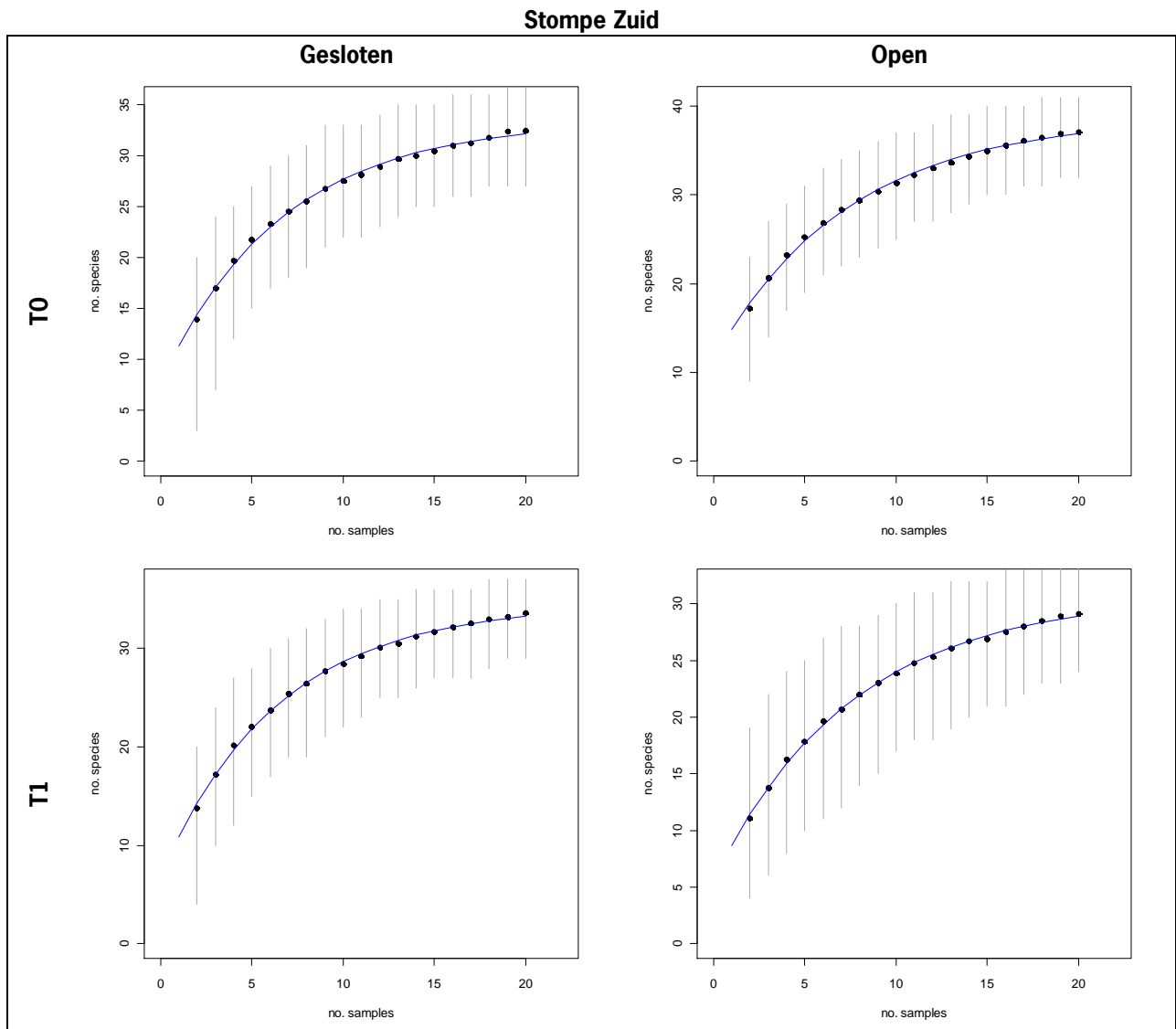
De verschillende species-area curves worden zeer goed gefit door het non-lineaire model (zie hieronder en in de bijlage). Het is duidelijk dat in veel gevallen het maximum aantal soorten nog niet bereikt wordt met 20 monsters. Opvallend is dat de hoogte van de curve in het voor visserij open gebied op T1 (na bevissing) vaak een stuk lager ligt dan de curve op T0 en met name het verschil tussen gesloten en open op T1 is vaak groter dan op T0. Dit is in overeenstemming met de resultaten uit Fey et al. (2008) waaruit bleek dat de bevissing op korte termijn geleid heeft tot een uitdunning van het aantal soorten per monster.



*Fig. 1. Species-area curves voor Gat van Stompe. Elk punt is het gemiddelde van 1000 simulaties. Verticale lijnen zijn 95% betrouwbaarheidsintervallen. De curve is het resultaat van een non-lineaire regressie. N.B. verschillende Y-assen.*



Bij het Gat van Stompe is het opvallend dat er voor de bevissing een verschil bestaat tussen het gesloten en het te bevissen vak. Niet alleen ligt het aantal soorten in het open vak lager, maar ook is de spreiding tussen de monsters er beduidend groter. Na de bevissing ( T1) ligt de curve in het beviste vak lager, een effect dat niet aanwezig is in het onbeviste vak, maar ook lijkt de spreiding afgenomen. Er lijkt in het vak met andere woorden een zekere mate van homogenisatie opgetreden. Opvallend is verder dat de spreiding in het gesloten vak iets groter lijkt geworden. Mogelijk is dit het gevolg van seizoenseffecten.



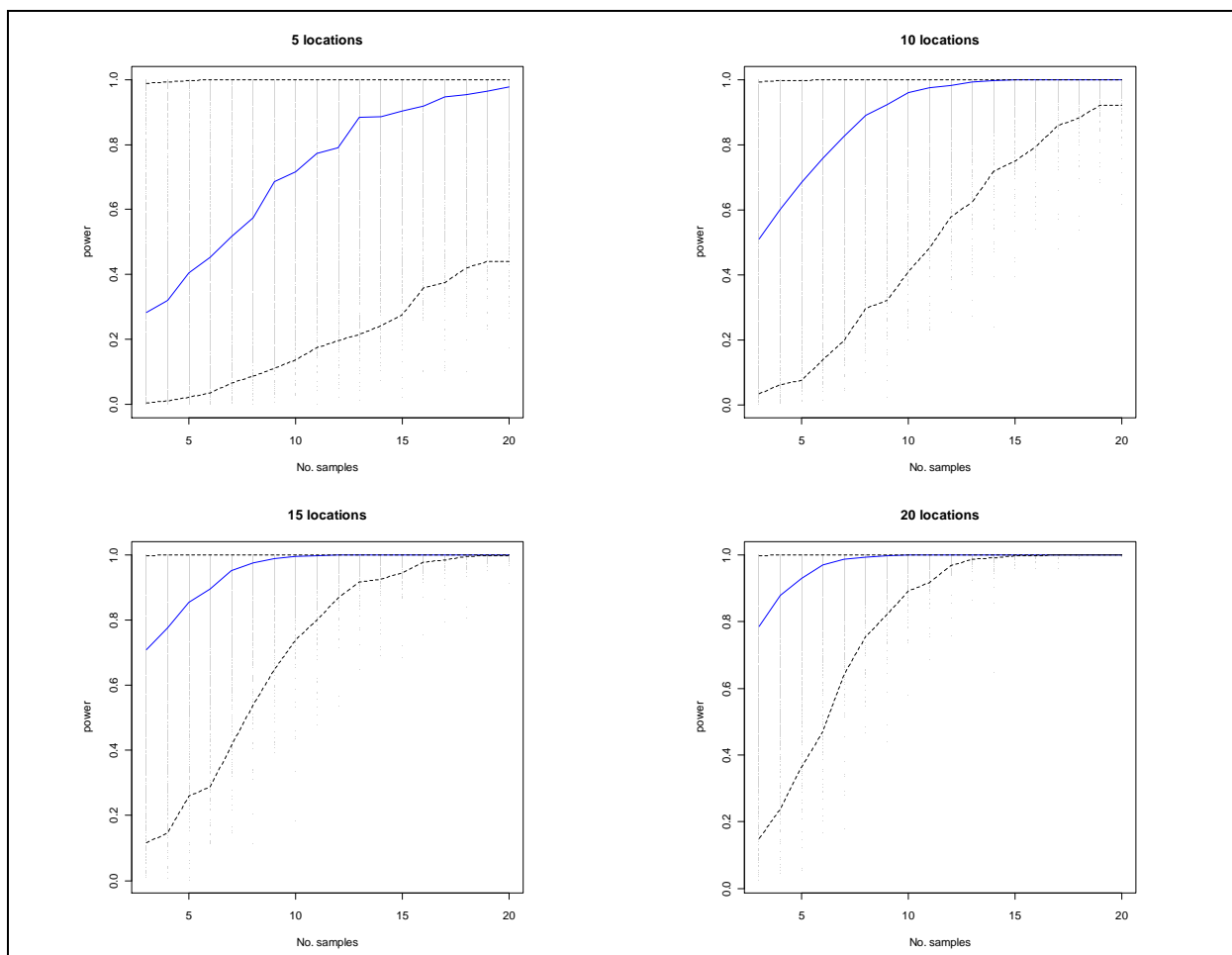
*Fig. 2. Species-area curves voor Stompe Zuid. Elk punt is het gemiddelde van 1000 simulaties. Verticale lijnen zijn 95% betrouwbaarheidsintervallen. De curve is het resultaat van een non-lineaire regressie. N.B. verschillende Y-assen.*

Bij Stompe Zuid lijkt op T0 het aantal soorten bij 20 monsters iets hoger in het vak dat bevist gaat worden. Op T1 is dit verschil omgekeerd en zijn er meer soorten in het gesloten vak.

Gat van Stompe en Stompe Zuid zijn de enige locaties met 20 monsters op elke tijdstip-vaktype combinatie (totaal dus 160 monsters). Omdat we de effecten wilden onderzoeken tot een aantal van 20 monsters per locatie, zijn in de rest van het onderzoek de monsters van deze 2 locaties genomen als verzameling van monsters om mee te simuleren.

## 4.2 Effect van het aantal locaties en het aantal monsters per locatie

In onderstaande grafieken wordt het effect van verschillende aantallen onderzoeksgebieden (locaties) en verschillende aantallen monsters per locatie weergegeven. In verband met het eerder beschreven belang van de power van de test is vooral de ondergrens van het 95% betrouwbaarheidsinterval van belang. De uiteindelijke test die binnen het onderzoeksprogramma gedaan zal worden om te onderzoeken of er een effect is van het bevissen van sublitorale mosselbanken slechts 1 grijs punt in onderstaande grafieken (per grafiek zijn 18.000 simulaties gedaan). Duidelijk is te zien hoe dit interval kleiner wordt bij meer locaties en meer monsters per locatie. Naarmate het aantal locaties toeneemt, wordt de 80% ondergrens van de power al bij lagere aantallen monsters per locatie bereikt (uitgaande van het verschil zoals in de huidige data gevonden is). Bij 20 locaties kan men stellen dat vanaf 10 monsters per locatie met voldoende power in meer dan 95% van de gevallen getest kan worden of er een verschil tussen het beviste en onbeviste gebied bestaat. Aangezien de power niet hoger dan 1 kan worden wordt de bovengrens van het 95% betrouwbaarheidsinterval op deze waarde begrensd.



*Fig. 3. Power (doorgetrokken lijn is mediaan van 1000 simulaties per monsteraantal) van een gepaarde eenzijdige t-test bij verschillende aantallen locaties en verschillende aantallen monsters per locatie. De grijze lijnen zijn in feite stippen, dus zijn de individuele uitkomsten van elke simulatie. De stippelijnen geven de onder- en bovengrens aan van het 95% betrouwbaarheidsinterval aan.*

### 4.3 Effect van subsampling

Hieronder wordt het effect van subsampling weergegeven. Allereerst is onderzocht wat het effect is van het uitzoeken van de grootte van 1 monster, ongeacht het aantal monsters dat genomen is. Aangenomen is dat de monsters eerst homogeen gemengd worden waarna het  $1/(\text{aantal monsters})$  gedeelte is uitgezocht. Dit heeft tot gevolg dat er tussen 50-65% minder soorten gevonden worden. Uit de figuren hieronder blijkt dat de benodigde power eigenlijk niet gehaald wordt op deze manier.

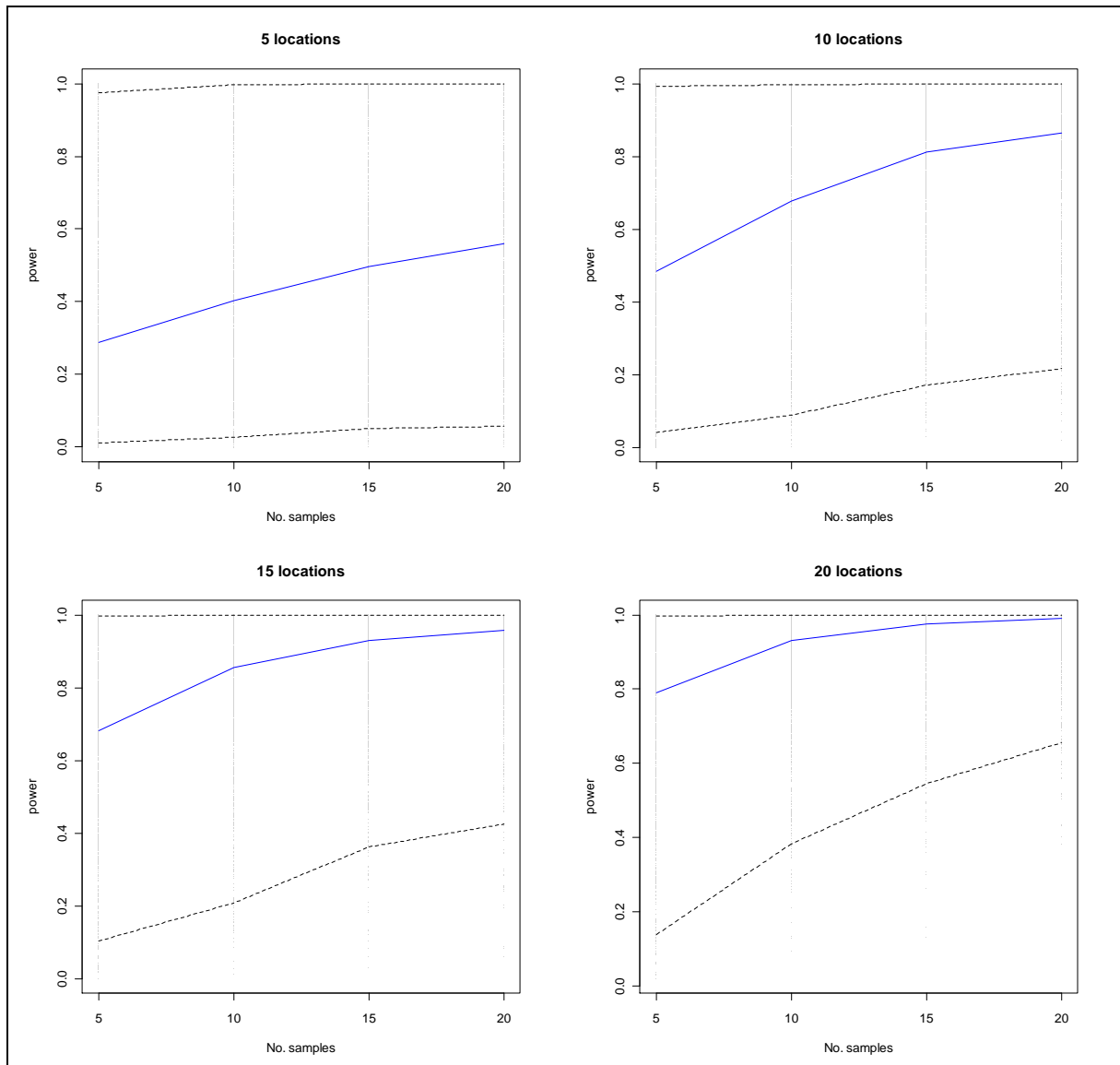


Fig. 4. Power (doorgetrokken lijn is mediaan van 1000 simulaties per monsteraantal) van een gepaarde eenzijdige t-test bij verschillende aantallen locaties en verschillende aantallen monsters per locatie waarbij slechts de grootte van 1 monster is uitgezocht. De grijze lijnen bestaan uit stippen die de individuele uitkomsten weergeven. De stippelijnen geven de onder- en bovengrens aan van het 95% betrouwbaarheidsinterval aan. In verband met de benodigde rekentijd is hier alleen gekeken naar 5, 10, 15 en 20 monsters per locatie.

Hierna is onderzocht in hoeverre het mogelijk is om minder dan de totale verzameling aan monsters te onderzoeken, maar nu niet door middel van een subsample ter grootte van 1 monster, maar ter grootte van de helft van de totale groep samengevoegde monsters. Gemiddeld wordt er 20-30% minder soorten gevonden, in plaats van 50-65%. Uiteraard is de power hoger en thans kan volstaan worden met 15 locaties met 20 monsters elk of 20 locaties met elk 15 monsters.

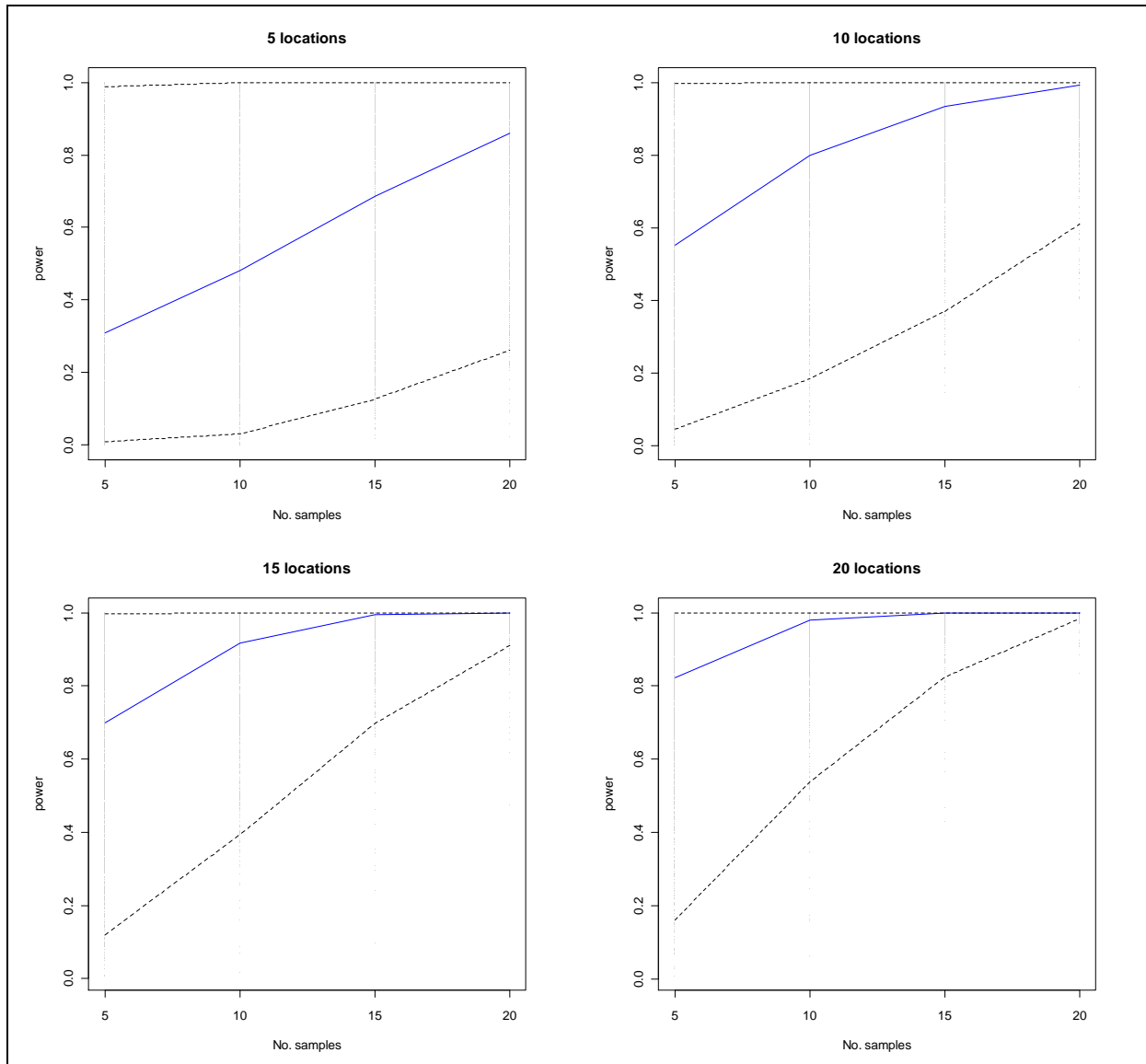


Fig. 5. Power (mediaan) van een gepaarde eenzijdige t-test bij verschillende aantallen locaties en verschillende aantallen monsters per locatie waarbij slechts de grootte van de helft van alle monsters is uitgezocht. De grijze lijnen bestaan uit stippen die de individuele uitkomsten weergeven. De stippellijnen geven de onder- en bovengrens aan van het 95% betrouwbaarheidsinterval. In verband met de benodigde rekentijd is hier alleen gekeken naar 5, 10, 15 en 20 monsters per locatie.

## 5 Discussie en conclusies

De species-area curves laten zien dat bij de meeste locaties het maximum aantal soorten nog niet gehaald is. Dat betekent dat indien men locaties vergelijkt die met verschillende aantallen box-cores bemonsterd zijn men in feite appels met peren vergelijkt (of ten minste de inhoud van x kleine appels met x grote appels). Zeker indien dit binnen een onderzoeksgebied verschilt, want dan kan elk mogelijk effect in het totaal aantal soorten gemaskeerd worden door het verschil in monsteraantal. Verschilt het aantal tussen locaties dan kan dit effect meevallen, maar toch blijft het effect op de einduitkomst onduidelijk. Het mogelijk effect wordt getoetst als het absolute verschil in soorten tussen elk open en gesloten vak op T1 versus T0. Bij minder monsters zullen in eerste instantie de wat zeldzamere soorten gemist worden en men kan zich afvragen of niet juist deze soorten vooral te lijden hebben van bodemberoering door de visserij. Dit betekent dat het mogelijk effect (reeds aangetoond in Fey et al. 2008) waarschijnlijk niet procentueel is en dus ook bij ongelijke aantallen monsters per onderzoeksgebied een vergelijking tussen T1 en T0 niet legitiem is.

Bij het onderzoek naar de effecten van verschillende aantallen onderzoeksgebieden en verschillende aantallen monsters per onderzoeksgebied is gebruik gemaakt van de monsters die afkomstig zijn uit 2 gebieden; totaal waren dit 160 monsters. Per combinatie van vaktype (open en gesloten) en tijdstip (T0 en T1) waren er echter maar 20 monsters om mee te 'bootstrappen'. Dit brengt een bepaalde mate van onzekerheid met zich mee omdat niet automatisch ervan uit kan worden gegaan dat de 2 gebieden representatief zijn voor alle locaties. Om deze onzekerheid op te vangen zijn een aantal aanpassingen gemaakt in de simulaties (zie [Materiaal en Methoden](#)). Op basis van deze aanpassingen en door het feit dat de uitkomst van de simulaties ook overeenkomt met het resultaat in Fey et al. (2008) kan geconcludeerd worden dat de resultaten representatief zijn voor de onderhavige kennisvraag.

Uit het resultaten van de simulaties blijkt dat het effect van het aantal locaties op de power van de test groot is en belangrijker dan het aantal monsters. Bij 10 of meer proefgebieden ligt de power gemiddeld al snel rond de 80%, hoewel de ondergrens van het 95% betrouwbaarheidsinterval bij 10 gebieden nog zeer breed is. Bij 15 en 20 gebieden wordt de spreiding in de powerberekeningen al veel beter (i.e. kleiner). Bij vijftien proefgebieden ligt de ondergrens al bij 11 monsters per locatie op rond de 80%. Bij 20 locaties en meer dan 10 monsters bestaat nog maar een zeer kleine kans dat de power onder de 80% komt. Aangezien het binnen de mogelijkheden van het programma ligt om meer dan 15 proefgebieden te onderzoeken kunnen we uitgaan van een voorspelde power zoals berekend in *Fig. 3*.

Het nemen van meerdere monsters die bij elkaar gevoegd worden waarna slechts een vast deel wordt uitgezocht, subsampling, heeft ernstige consequenties voor het onderscheidend vermogen van de daaropvolgende test (zie *Fig. 4*). Een aantal minder abundante soorten wordt nu niet gevonden en men kan zich afvragen of niet juist deze soorten gevoelig zijn voor mogelijk effecten van bevissing? Voor een studie naar effecten op biodiversiteit is het ongewenst dat men de minder abundante soorten mist. De veel voorkomende soorten die nu nog gevonden worden, zijn misschien opportunistische soorten die mogelijk juist ongevoelig zijn voor verstoring. Hierdoor krijgt men ook geen goed beeld van de effecten op de gehele gemeenschap. Men zou minstens de helft moeten uitzoeken om een redelijk powerniveau te halen en de daarmee gekoppelde (mogelijke) tijdswinst lijkt niet in verhouding te staan tot de toegenomen onzekerheid. Bovendien is bij de simulaties ervan uit gegaan dat de monsters homogeen gemengd worden wat in de praktijk lastig uitvoerbaar kan zijn omdat bij heel goed mengen soorten zonder een hard skelet makkelijk vormalen kunnen worden. Een andere procedure voor het uitzoeken van monsters waarbij subsampling gebeurt in relatie tot de (geschatte) dichtheid of biomassa van de betreffende soorten in het monster (Anonymous 2002, Callaway et al. 2007) is hier niet verder onderzocht. Dit zou wel meer tijd vergen dan het uitzoeken van een vaste subfractie, maar minder dan het uitzoeken van alle monsters. Voordeel is dat men dan ook de minder abundante soorten zal aantreffen, maar de kans dat door het mengen individuen beschadigd worden en niet meer te determineren zullen zijn, blijft aanwezig.

Concluderend is de beste optie om tenminste 15 of meer proefgebieden te onderzoeken met minimaal 12 monsters per locatie die volledig uitgezocht dienen te worden. Het bij elkaar gooien van monsters en uitzoeken van slechts een gedeelte om kosten te besparen wordt niet aangeraden omdat het onderscheidend vermogen ernstig afneemt en er een risico op complicaties is.

## 6 Referenties

- Anonymous (2002) Revised guidance for sample sorting and subsampling protocols for EEM benthic invertebrate community surveys. National Environmental Effects Monitoring Office, National Water Research Institute, Environment Canada.
- Callaway, R., Robinson, L., Greenstreet, S., Reiss, H., Fraser, H., Kröncke, I., Craeymeersch, J., de Boois, I., Robertson, M., Lancaster, J. & Goffin, A., 2007. Methodology for the combined sampling of marine groundfish and benthic invertebrate communities. Fisheries Research Services, Aberdeen, UK. Collaborative Report No 11/07. 23 pp.
- Carey, J. & Keough, M. J. (2002) Compositing and subsampling to reduce costs and improve power in benthic infaunal monitoring programs. *Estuaries*, 25, 1053A1061.
- Ens, B.J., J.A. Craeymeersch, F.E. Fey, H.J.L. Heessen, A.C. Smaal, A.G. Brinkman, R. Dekker, J. van der Meer, M.R. van Stralen (2007). Sublitorale natuurwaarden in de Waddenzee: een overzicht van bestaande kennis en een beschrijving van een onderzoekopzet voor een studie naar het effect van mosselzaadvisserij en mosselkweek op sublitorale natuurwaarden. IMARES rapport C077/07.
- Fey, F., B. Brinkman, J. Craeymeersch, H. Heessen en E. Meesters (Wageningen IMARES); M. van Stralen (MarinX); R. Dekker (NIOZ) (2008). PRODUS dp 3: effecten van sublitorale mosselzaadvisserij in de Westelijke Waddenzee: situatie in eerste en tweede jaar van sluiting onderzoekvakken (2006-2007). Wageningen IMARES rapport C013/08.
- Mapstone, B.D. (1995). Scalable decision rules for environmental-impact studies - effect size, type-I, and type-II errors. *Ecol. Appl.* 5: 401-410.

# Verantwoording

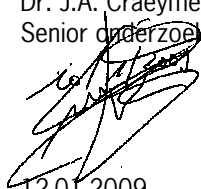
Rapport 09.001  
Projectnummer: 439.62101.16

Dit rapport is met grote zorgvuldigheid tot stand gekomen. De wetenschappelijke kwaliteit is intern getoetst door een collega-onderzoeker en het betreffende afdelingshoofd van Wageningen IMARES.

Akkoord: Dr. J.A. Craeymeersch  
Senior onderzoeker

Handtekening:

Datum: 12-01-2009



Akkoord: drs. F.C. Groenendijk  
Afdelingshoofd Ecologie

Handtekening:

Datum: 13 januari 2009

Aantal exemplaren: 10  
Aantal pagina's: 25  
Aantal tabellen: -  
Aantal figuren: 5  
Aantal bijlagen: 1

## 7 Kwaliteitsborging

IMARES beschikt over een ISO 9001:2000 gecertificeerd kwaliteitsmanagement systeem (certificaatnummer: 08602-2004-AQ-ROT-RvA). Dit certificaat is geldig tot 15 december 2009. De organisatie is gecertificeerd sinds 27 februari 2001. De certificering is uitgevoerd door DNV Certification B.V. Het laatste controlebezoek vond plaats op 23-25 april 2008. Daarnaast beschikt het chemisch laboratorium van de afdeling Milieu over een NEN-EN-ISO/IEC 17025:2000 accreditatie voor testlaboratoria met nummer L097. Deze accreditatie is geldig tot 27 maart 2009 en is voor het eerst verleend op 27 maart 1997; deze accreditatie is verleend door de Raad voor Accreditatie. Het laatste controlebezoek heeft plaatsgevonden op 12 juni 2007.



## Bijlage A. Species-Area curves

Weergegeven in elke grafiek het gemiddeld aantal soorten dat gevonden wordt bij verschillende aantallen monsters per combinatie van vaktype (gesloten voor visserij en open voor visserij) en tijdstip (T0, voor bevissing; T1, na bevissing). Er zijn nooit meer monsters in simulaties genomen dan er in werkelijkheid per plek zijn genomen.

