

Anhang I

Auszug aus dem Entwurf des Kapitel „Probenahme“ im „Leitfaden der Zooplanktonanalyse“ (Deneke&Maier in Vorber.)

Probenahme

Planung der Probenahme

Zur Vorbereitung der Probenahme sind die erforderlichen Genehmigungen einzuholen, das betrifft ggf. auch die Benutzung spezieller Zugangswege zum Gewässer. Das verantwortliche Probenahmepersonal muss benannt und bezüglich der relevanten Sicherheitsbestimmungen sowie der fachgerechten Benutzung der Geräte und Durchführung der Methodenanweisungen regelmäßig geschult werden. Diese Schulungen sind zu dokumentieren.

Sofern mehrere Seen an einem Tag beprobt werden, sollten die Proben, um Kontaminationen zu vermeiden, in arten- und individuenarmen, oligotrophen Seen vor den Proben in arten- und individuenreichen, eutrophen Seen genommen werden. Sicherer ist es, wenn sehr unterschiedliche Seentypen nicht am selben Tag beprobt werden. Falls das nicht möglich ist, ist auf gründliche Reinigung der Entnahmegерäte besonders zu achten (siehe auch ‚Wartung der Probenahmegeräte‘). Eine gute Alternative wäre in solchen Fällen separate Probenahmegeräte zu benutzen. Dies gilt zumindest wenn Netze im Einsatz sind.

Auswahl der Probenstationen

Die Auswahl der Probenstationen richtet sich generell nach dem Vorgehen beim Phytoplankton, da eine parallele Probenahme (gleicher Ort, gleiche Zeit) für die Interpretation der Ergebnisse erforderlich ist. Das bedeutet in den meisten Fällen mindestens eine Beprobung bei maximaler Tiefe (Z_{\max}) sowie zusätzliche Probenstationen in begründeten Fällen, z. B. in größeren Seen mit mehreren Seenbecken. Die Ergebnisse einer Steg-Probenahme sind beim Zooplankton nicht auf die Verhältnisse im Freiwasser übertragbar.

Probenahme-Protokoll

Neben den allgemeinen Angaben zur Probenahme (z.B. Wetter, etc.) sollten speziell für das Zooplankton relevante Angaben festgehalten werden. Dazu gehören die Uhrzeit der Probenahme, mögliche Abweichungen vom üblichen methodischen Vorgehen, sowie insbesondere die Angaben, die zur Berechnung des Probenvolumens notwendig sind (siehe Kennzeichnung der Probenflaschen). Bei Verwendung von Schöpfnern sollte zusätzlich das Modell, das Volumen, die Anzahl der Schöpfproben sowie die Schöpftiefen angegeben werden. Bei Netzproben müssen ebenfalls das Modell (die Netzgeometrie) und falls Schichtproben genommen werden, die einzelnen Netzzugintervalle genannt werden..

(Musterprotokoll siehe DIN EN 15110, Anhang B)

Kennzeichnung der Probenflaschen

Die Probenahmeflaschen sind vor der Probenahme eindeutig so zu beschriften, dass eine Verwechslung ausgeschlossen werden kann. Dazu gehören insbesondere folgende Angaben:

- **Eindeutige Probennummer,**
- **Datum,**

- **Seename und Seenummer,**
- **Name und Nummer der Probenstelle,**
- **Entnahmegerät und Maschenweite**
- **Probenvolumen und Probenahmetiefe**
bzw. Angaben, anhand derer das Probenvolumen berechnet werden kann
(z.B. Gesamt-Netzzuglänge; Durchmesser der Netzöffnung), s. a. Probenahme-Protokoll

Eine Serienbrief-Hauptdokument als Vorlage für Etiketten befindet sich in der Anlage.

Diese Angaben müssen den Bearbeitern der Zooplankton-Proben in Form einer EXCEL-Datei zusammen mit den Proben übergeben werden. Es wird davon abgeraten ausschließlich kryptische Nummern- oder Zahlencodes zur Kennzeichnung zu verwenden, da bei Verlust des Schlüssels keine Zuordnung mehr erfolgen kann; das gilt insbesondere für Rückstellproben. Außerdem wird dadurch die Sortierung im Labor unnötig erschwert.

Es wird empfohlen für die fixierten Zooplankton-Proben mindestens 250 ml große Weithals-PE-Flaschen zu verwenden. Für unvorhergesehene Korrekturen sollte zur Probenahme stets ein wasserfester Marker mitgeführt werden.

Zeitraum und Häufigkeit der Probenahmen

In Anlehnung an das Phytoplankton (Nixdorf et al., 2008) sollten mindestens 6 Probenahmen im Zeitraum April bis Oktober durchgeführt werden, wobei von monatlichen Probenahme-Intervallen ausgegangen wird. Aus besonderem Anlass sind aber auch andere Zeiträume sinnvoll. So wird für ein Monitoring unter Berücksichtigung der Klimaveränderungen ein Zeitraum von mindestens März bis November empfohlen. Andererseits können sich kurze, orientierende Untersuchungen auf die drei Sommermonate Juli bis September beschränken.

Probenahme im Tagesverlauf

Generell ist es vorteilhaft für die Vergleichbarkeit der Ergebnisse die einzelnen Seen im Rahmen eines längerfristigen Programms immer ungefähr zur gleichen Tageszeit zu beproben. Die Probenahme sollte immer zeitgleich oder direkt im Anschluss an die Phytoplankton-Probenahme erfolgen.

Probenahmetiefe in Seen > 10 m Tiefe

Im Unterschied zum Phytoplankton wird für alle Seen ein konstantes Zooplankton-Probenahmeprofil mit festgelegter maximaler Entnahmetiefe empfohlen. Durch die Vertikalwanderung des Zooplanktons lässt sich seine genaue Aufenthaltstiefe nur schwer vorhersagen. Es gibt deshalb kein ausreichend sicheres Kriterium das Probenahmeprofil der aktuellen Vertikalverteilung des Zooplanktons anzupassen. Um die mittlere Zooplanktondichte langfristig vergleichen zu können, sollte einmalig in Anpassung an die Seemorphologie die Länge des Probenahmeprofils festgelegt werden. Im Hinblick auf Langzeitmonitoring sollte die Länge des Entnahmeprofils auch bei eventuellen Trophieänderungen grundsätzlich beibehalten werden. Die maximale Entnahmetiefe endet 1 m über Grund bzw. bei 40 m. Das maximale Probenahmeprofil umfasst folglich 0 bis 40 m und entspricht ungefähr der maximalen vertikalen Wanderungsamplitude des Zooplanktons (Wetzel 1983).

Auswahl und Anwendung der Probenahmegeräte

Bei der Auswahl der Probenahmegeräte spielen in erster Linie der Seetyp und in zweiter Linie die aus Kostengründen geforderte Begrenzung des Zeitaufwands die entscheidende Rolle. Bei

der Probenahme ist eine gute Verankerung des Bootes erforderlich, um ein Abdriften und damit eine Verzerrung des Entnahmeprofils zu vermeiden. Es werden für die Zooplankton-Probenahme zwei unterschiedliche Gerätetypen empfohlen:

1. Vertikalschöpfer

Bauart: Transparent (Plexiglas) mit im geöffneten Zustand vertikal stehenden Verschlussdeckeln („Ausstecherschöpfer“) mit einem Volumen von 5 Liter (ggf. auch 2 Liter), z.B. Modell/Prinzip UWITEC, LIMNOS. Sogenannte Summenschöpfer sind ausdrücklich nicht für das Zooplankton geeignet; von Pumpfängen wird abgeraten.

Einsatzgebiet: Polymiktische und geschichtete Seen bis zu einer maximalen Tiefe von 10 m.

Anwendung: Es wird immer die gesamte Wassersäule bis ca. 1 m über Grund beprobt. Dabei sollten die vertikalen Probenahmeintervalle und/oder die Anzahl der Schöpfungen pro Tiefenstufe so gewählt werden, dass ein gesamtes Probenvolumen von 30 Liter nicht unterschritten wird. Dazu würden z. B. bei einem 10 m tiefen See mit einem 5 L-Schöpfer 1 m-Abstände reichen, während bei einem sehr flachen See 0,5 m Abstände notwendig wären. Mit einem 2 L-Schöpfer sind entsprechend andere Kombinationen zu wählen. Vertikale Probenahmeabstände von mehr als 1 m werden nicht empfohlen. Die einzelnen Schöpfproben werden an Bord durch Filtration über eine 55 µm Netzgaze zu einer integrierten Mischprobe vereinigt. Dazu eignet sich z.B. die Kombination aus einem (dem Schöpfervolumen angepassten) Plastikgefäß und einem eingehängten kleinen Netzbecher oder Planktonnetz.

2. Planktonnetze:

Bauart: Netze aus Nylon mit Aufsatzkegel (und gegebenenfalls mit Schließmechanismus; siehe unten), Öffnungsweite: ≥ 10 cm, Maschenweite: 55 µm, Netzbeutellänge: ≥ 1 m, Zuggeschwindigkeit: 0,5 – 1,0 m/s.

Einsatzgebiet: Mono- und dimiktische Seen mit einer maximalen Tiefe >10 m.

Anwendung: In oligotrophen Seen sind wg. der geringen Zooplankton-Abundanzen mindestens 2 Vertikalzüge erforderlich. In eutrophen Seen sollte das Zooplankton dagegen wg. Verstopfungsgefahr der Netze in mindestens 2 aneinandergrenzenden Stufen entnommen werden, die anschließend an Bord zu einer integrierten Mischprobe vereinigt werden. Die Auswahl der Stufen kann in Anlehnung an das Phytoplankton (Nixdorf et al., 2008) erfolgen: Die 1. Stufe reicht von der untersten Tiefe des Probennahmeprofils bis zur Untergrenze des Epilimnions (Z_{epi}), die 2. Stufe von Z_{epi} bis zur Seeoberfläche.

Fixierung und Konservierung der Proben

An Bord sollte die integrierte Mischprobe zur Betäubung des Zooplanktons 10 Minuten mit CO₂ (Mineralwasser - medium) versetzt und anschließend mit einer Zucker-Formol Lösung (Endkonzentration jeweils ca. 4 %!) fixiert werden. Dazu kann eine entsprechend höherkonzentrierte Ausgangslösung verwendet werden. Falls das filtrierte Probenvolumen in den Probenflaschen zu groß ist, muss ggf. im Labor (unterm Abzug!) nachfixiert werden.

Wartung der Probenahmegeräte

Die Probenahmegeräte müssen im Labor regelmäßig auf ihre einwandfreie Funktion geprüft werden, d.h. Schöpfer z.B. auf die Dichtigkeit des Schließmechanismus, Netze auf die Unversehrtheit der Netzgaze. Die Wartung und Säuberung der Probenahmegeräte ist aber nicht nur zur Funktions- und Werterhaltung erforderlich, sondern dient auch zur Verhinderung der Kontamination der Proben mit fremden Arten.

Während der Probenahme ist insbesondere bei Netzzügen nach jeder Entnahme (auch wenn Schichtproben entnommen werden) eine gründliche Spülung mit Leitungswasser erforderlich. Dabei kann durch mehrmaliges Auf- und Abbewegen des Netzes an der Seeoberfläche schon eine Vorspülung vorgenommen werden. Nach der Beendigung der Probenahme an einem See

ist eine besonders gründliche Spülung durchzuführen. Am Ende eines Probenahmetages sind die Geräte im Labor vor dem Trocknen gründlich mit demineralisiertem Wasser zu spülen.

Entwurf für Empfehlungen zur Erstellung eines Leistungsverzeichnis

Leistungsverzeichnis

Untersuchungsgegenstand ‚Zooplankton‘

Im Mittelpunkt der Untersuchung steht das Metazooplankton, d.h. die Rotatoria (auch: Rotifera, Rädertiere) sowie verschiedene Gruppen der Crustacea (Krebse), insbesondere die Cladocera (Blattfußkrebse) und die Copepoda (Ruderfußkrebse) mit den Gruppen Calanoida und Cyclopoida. Für andere Gruppen, wie Protozoa (z.B. Ciliaten) und unter ‚Sonstige‘ erfasste Taxa, ist die Probenahme und/oder die Fixierung nicht geeignet; ihre Abundanz kann als zusätzliche Information – aber nicht streng quantitativ - im Ergebnissteil berücksichtigt werden. Unter der Kategorie „Sonstige“ sind folgende Gruppen von Bedeutung: Die Dreikantmuschel *Dreissena polymorpha* als effizienter benthischer Filtrierer mit seinem planktischen Larvenstadium und vor allem die großen invertebraten Räuber (*Chaoborus*, Wassermilben (Acari)). Weiterhin können ggf. große Ciliaten ($>>100\ \mu\text{m}$), *Tintinnopsis* spp. (Urnettierchen) sowie litorale/benthale Taxa (z.B. Ostracoda) mit geringer taxonomischer Auflösung einbezogen werden.

Probenbehandlung

Die zu bearbeitende Probe wird über einen kleinen Netzbecher (Maschenweite \leq der Maschenweite des Fangnetzes; z.B. $\leq 55\ \mu\text{m}$) dekantiert, um die Fixierlösung (Formol-Rohrzucker) zu entfernen. Anschließend wird die Probe in einem definierten Wasservolumen suspendiert. Aus diesem Volumen werden Subproben / Aliquote mit einer Pipette entnommen und in Zählkammern (z. B. Röhrenkammern, Sedgewick Rafter Kammern) abgefüllt. Die Größe des Suspensionsvolumens richtet sich nach der Zooplanktondichte in der Probe und den verwendeten Zählkammern. Falls nötig kann dieser Verdünnungsschritt wiederholt werden. Die Suspensionsbehälter / -Kolben müssen vor der Entnahme der Subproben mehrfach umgeschwenkt werden, um eine möglichst homogene Verteilung der Zooplankter zu gewährleisten. Bei der Abfüllung der Kammern ist so rasch wie möglich zu verfahren, da große Zooplankter (Daphnien, große Copepoden!) rasch sedimentieren. Die Öffnung der Pipetten-Spitze muss so groß sein (z.B. umgekehrte Glaspipette), dass große Zooplankter (z.B. große Daphnien) diese passieren können. Bei Verwendung von Röhrenkammern sind die Standzeiten (Sedimentationszeiten für kleine Zooplankter) zu beachten; diese betragen ca. 20 – 30 Min. für 1 cm Kammerhöhe.

Taxonomie

Die Bestimmung des Zooplanktons soll bei 100-400facher Vergrößerung am Durchlicht-Mikroskop vorgenommen werden. Dazu ist die als Standard definierte, aktuelle Bestimmungsliteratur (s. Anhang) zu verwenden. Die Bestimmungstiefe für die einzelnen Gruppen des Zooplanktons richtet sich nach der Mindestbestimmbarkeitsliste (s. Anhang). Rotatorien sollen soweit möglich auf Artbasis erfasst werden. Ausnahmen stellen einige durch die Fixierung stark deformierte Taxa, wie z. B. *Synchaeta* sowie einige schwer zu bestimmende Taxa (z. B. *Polyarthra*, *Collotheca*) dar, die auf Gattungsbasis zu bestimmen sind. Für Cladoceren und Copepoden erfassen die Bestimmungsschlüssel generell nur die Adult-Stadien. Bei den Cladoceren ist aber trotzdem eine Artbestimmung der Juvenilen möglich, sofern es sich um reine Morphen handelt. Intermediäre Morphen / „Hybride“ innerhalb der Gattungen *Daphnia* und (*Eu*) *Bosmina* sind soweit möglich zuzuordnen und fotografisch zu dokumentieren. Bei Copepoden sind die Adulten auf Artbasis zu bestimmen. Juvenile Copepoden (Nauplien, Copepodide) sind mindestens nach Calanoiden und

Cyclopoiden zu trennen. Die Taxa werden nach den Vorgaben der neuesten Ausgabe der „Taxaliste der Gewässerorganismen Deutschlands“ kodiert.

Zählung und Abbruchkriterium

Die Zählung der Rotatorien sollte bei ca. 100facher Vergrößerung am Durchlichtmikroskop und die Crustaceen bei ca. 50facher erfolgen. Es sollen mindestens 100 Individuen der aspektbestimmenden / dominanten Rotatorien und mindestens 100 Individuen der dominanten Crustaceen (ohne Copepoden Nauplien) ausgezählt werden. Alternativ können auch mindestens 400 Zooplankton-Individuen (ebenfalls ohne Copepoden-Nauplien) ausgezählt werden. Es empfiehlt sich mindestens 2 Parallelkammern auszuwerten. Die Zooplankter sollen in Größenklassen ($\leq 300 \mu\text{m}$) erfasst werden. Bei der Erfassung der Copepoden-Copepodide empfiehlt es sich wg. der Größenunterschiede 2 Untergruppen zu bilden: „kleine Copepodide“ (Gattungen: *Mesocyclops*, *Thermocyclops*, *Acanthocyclops*, *Diacyclops*) und „große Copepodide“ (Gattung: *Cyclops*, *Megacyclops*). Alternativ können Copepoden-Copepodide nach Stadien getrennt erfasst werden. Es sollte stets die Gesamtprobe auf das Vorkommen großer, seltener Taxa, wie insbesondere *Leptodora*, *Bythotrephes*, *Chaoborus*, gegebenenfalls bzw. soweit in den Kammern nur schwach vertreten auch auf *Eurytemora*, *Daphnia*, *Cyclops* überprüft werden.

Auswertung

Gegenstand der Analyse sind die Diversität, Abundanz, Biomasse, Größenstruktur und Saisonalität des Zooplanktons. Die Charakterisierung des Zooplanktons eines Sees soll anhand eines „Steckbriefes“ erfolgen (Vorlage s. Anhang). Der Steckbrief soll knapp gehalten sein und 2 – 3 Seiten nicht überschreiten. Im jeweiligen Steckbrief ist die Zahl der nachgewiesenen Taxa, die mittlere Abundanz sowie die mittlere Biomasse über den Untersuchungszeitraum (bezogen auf die taxonomischen Großgruppen – Rotatorien, Cladoceren, Copepoden) zu nennen. Zusätzlich sollte die mittlere Dominanz der aspektbestimmenden Taxa (Taxa, die mindestens 10 % Anteile an der jeweiligen Großgruppe erreichen) beschrieben sein. Weiterhin sollte die Biomasse prozentual nach taxonomischen und funktionellen Gruppen aufgetrennt werden (% Anteil der Rotatorien, Anteil der Cladoceren, Anteil der calanoiden und Anteil der cyclopoiden Copepoden am gesamten Zooplankton). Textlich sollte auf die Größenstruktur des Zooplanktons (z.B. als mittlere Cladocerenmasse) eingegangen werden. Graphisch sollte die saisonale Dynamik der Biomasse sowie der Größenstruktur des Zooplanktons dargestellt werden. Die saisonale Abfolge der dominanten Taxa soll ebenfalls beschrieben werden. Ein Vergleich mit dem PEG Modell sollte – soweit möglich - durchgeführt werden. Sofern Angaben zum Phytoplankton zur Verfügung stehen ist eine Verrechnung mit den Zooplanktondaten wünschenswert. Eine kurze Klassifizierung und ggf. Bewertung des Sees (z. B. durch Biomassenvergleich mit TGL 27885/01 – 1982 oder durch Wertung der Größenstruktur) soll den Steckbrief abschließen.

Empfehlungen zum Datenübergabeformat für Zooplankton-Analysen			
Stand:	Juli 2010		Bearbeiter: Dr. Rainer Deneke
<p>Die Daten in der folgenden Tabelle (rote Registerfarbe) sind absichtlich so formatiert, dass alle Informationen in einer Tabelle enthalten sind! Dadurch werden natürlich viele Informationen wiederholt, was später in der Zooplankton-Datenbank aber bereinigt wird. Alternativ können die Probandaten aber auch getrennt von den quantitativen Daten in einer eigenen Tabelle (grüne Registerfarbe, 1. Tabelle) einmal aufgeführt werden. Dazu müssen die Proben- und Analyseergebnisse aber mit einer eindeutigen Probennummer verbunden sein!</p>			
Registerfarben	Erklärung		
	Erläuterungen zu den Formatvorlagen		
	Zooplankton-Daten in 1 Tabelle zusammengefasst		
	Zooplankton-Daten in 2 Tabellen: Probandaten		
	Zooplankton-Daten in 2 Tabellen: quantitative Ergebnisse		
Felderfarben	notwendige Angaben		
	optionale Angaben soweit erforderlich		
	wünschenswerte zusätzliche methodische Angaben		
Datenformate ACCESS			
text	alphanumerische Zeichen bzw. string		
datum	langes Datumsformat		
integer	Ganzzahlen		
double	Fliehkommazahlen doppelter Genauigkeit		
Ja/Nein	logisches Format; nur JA / NEIN oder WAHR / FALSCH möglich		
Zusammenfassung der Datenfelder:			
Parameter	Erläuterung	Maßeinheit; Datenforma	Kommentar
Bundesland	auftraggebendes Bundesland	text	
Auftraggeber	Name der Firma/Institution	text	
Auftragnehmer	Name der Firma/Institution	text	
Bearbeiter	Bearbeiter des Auftragnehmers	text	
Proben_Nr	eindeutige Probennummer des Auftraggebers	text	WICHTIG !
See_ID	LAWA-Seen_ID	text	WICHTIG !
See_Name	Seename oder Stationsname	text	
Messstellen_ID	Messstellen-ID	text	WICHTIG !
Messstellen_Name	Seename oder Stationsname	text	
Datum	Probenahmedatum	dd.mm.yyyy; datum	
Jahr		integer	
Monat		integer	
Zoo_Meth	Probenahmemethode: Schöpfer (S) oder Netz (N)	S/N; text	
Probenintervall	Angabe der/des Probenintervalle/s	Meter; text	
Maschenweite	Maschenweite	µm; integer	
Fixierung	Angaben zur Fixierungsmethode	text	
P_Vol	gesamtes <i>in situ</i> filtriertes Probenvolumen	Liter; double	
MBL_ID	eindeutige alphanumerische Kennzeichnung der Zählkategorie lt. MBL	text	
DV_Nummer	DV_Nummer nach Liste	integer	WICHTIG !
Tax_Name_DV	Taxonname nach DV-Liste	text	
Tax_Name_Original	Taxon Name n. Protokoll des Bearbeiters	text	
CF	Angabe, ob "c.f." im Taxon benutzt wurde	JA / NEIN	
GKB	Größenklassenbreite in µm, z.B. 100, oder Standardabweichung bei Einzelmessung	µm; integer	
GBM	Größenklassenmitte in µm, z.B. 350, oder Mittelwert bei Einzelmessung	µm; integer	WICHTIG !
Stadium	ggf. spezielle Angaben zur Zählkategorie	text	WICHTIG !
AnzInd	Anzahl gezählter Tiere	integer	
Zvol	ausgezähltes Probenvolumen	ml; double	
VerdFak	Verdünnungsfaktor der Subprobe = Verhältnis Zvol / kalibriertes Probenvolumen	double	
Abundanz	mittlere Zooplankton-Dichte im Probenintervall	Ind/L; double	WICHTIG !
TM_mg_L	mittlere Trockenmasse im Probenintervall	mg/L; double	WICHTIG !
Bivol_mm3_L	mittleres Biovolumen im Probenintervall	mm3/L; double	WICHTIG !
Standard_BM	JA: Biomasse NUR durch Standardfaktoren aus Abundanz berechnet, NEIN: Biomasse mithilfe v. Größenklassen oder Vermessung	JA / NEIN	WICHTIG !
Anmerkungen	z.B. zu unsicheren Bestimmungen, besonders falls "CF"=JA		text

In der EXCEL-Datei werden auf den folgenden Tabellen die einzelnen Felder zum Füllen mit Daten zur Verfügung gestellt