

DIN EN 13946



ICS 13.060.70

Entwurf

Einsprüche bis 2024-10-02
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN 13946:2014-07

**Wasserbeschaffenheit –
Anleitung zur Probenahme und Probenaufbereitung von benthischen
Kieselalgen aus Fließgewässern und Seen;
Deutsche und Englische Fassung prEN 13946:2024**

Water quality –

Guidance standard for the routine sampling and preparation of benthic diatoms from rivers and lakes;

German and English version prEN 13946:2024

Qualité de l'eau –

Guide pour l'échantillonnage en routine et le prétraitement des diatomées benthiques de rivières et de plans d'eau;

Version allemande et anglaise prEN 13946:2024

Anwendungswarnvermerk

Dieser Entwurf mit Erscheinungsdatum 2024-08-02 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil das beabsichtigte Dokument von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an naw@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW), 10772 Berlin oder Am DIN-Platz, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin.

Es wird gebeten, mit den Kommentaren zu diesem Entwurf jegliche relevanten Patentrechte, die bekannt sind, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 42 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Nationales Vorwort

Das Dokument prEN 13946:2024 wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Arbeitskreis NA 119-01-03-05-06 AK „Biologisch-ökologische Gewässeruntersuchung“ des Arbeitsausschusses NA 119-01-03 AA „Wasseruntersuchung“ im Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN.

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Bezeichnung des Verfahrens:

Anleitung zur Probenahme und Probenaufbereitung von benthischen Kieselalgen aus Fließgewässern und Seen (M 13):

Verfahren DIN EN 13946 — M 13

Diese Norm wurde für die Anwendung im Rahmen der Umsetzung der Richtlinie 2000/60/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 23. Oktober 2000 zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik* entwickelt.

Es ist erforderlich, bei den Untersuchungen nach dieser Norm Fachleute oder Facheinrichtungen einzuschalten und bestehende Sicherheitsvorschriften zu beachten.

Bei Anwendung der Norm ist im Einzelfall je nach Aufgabenstellung zu prüfen, ob und inwieweit die Festlegung von zusätzlichen Randbedingungen erforderlich ist.

Die vorliegende Norm enthält das vom Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN und von der Wasserchemischen Gesellschaft – eine Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker – gemeinsam erarbeitete Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung:

Anleitung zur Probenahme und Probenaufbereitung von
benthischen Kieselalgen aus Fließgewässern und Seen (M 13).

Die als DIN-Normen veröffentlichten Deutschen Einheitsverfahren sind bei der DIN Media GmbH einzeln oder zusammengefasst erhältlich. Außerdem werden die genormten Deutschen Einheitsverfahren in der Loseblatt-

* Nachgewiesen in der DITR-Datenbank der DIN Software GmbH, zu beziehen bei: DIN Media GmbH, 10772 Berlin.

sammlung „Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung“ gemeinsam von der DIN Media GmbH und der Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA publiziert.

Normen oder Norm-Entwürfe mit dem Gruppentitel „*Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung*“ sind in folgende Gebiete (Haupttitel) aufgeteilt:

Allgemeine Angaben (Gruppe A)

Sensorische Verfahren (Gruppe B)

Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C)

Anionen (Gruppe D)

Kationen (Gruppe E)

Gemeinsam erfassbare Stoffgruppen (Gruppe F)

Gasförmige Bestandteile (Gruppe G)

Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H)

Mikrobiologische Verfahren (Gruppe K)

Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L)

Biologisch-ökologische Gewässeruntersuchung (Gruppe M)

Einzelkomponenten (Gruppe P)

Schlamm und Sedimente (Gruppe S)

Suborganismische Testverfahren (Gruppe T)

Über die bisher erschienenen Teile dieser Normen gibt die Geschäftsstelle des Normenausschusses Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Telefon 030 2601-2448, oder die DIN Media GmbH, 10772 Berlin (Hausanschrift: Am DIN-Platz, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin), Auskunft.

Änderungen

Gegenüber DIN EN 13946:2014-07 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) für Probenahme und -aufbereitung wurden Konservierungsverfahren für eDNA-Proben aufgenommen;
- b) Norm wurde redaktionell überarbeitet.

– Leerseite –

August 2024

prEN 13946

**Wasserbeschaffenheit – Anleitung zur Probenahme und Probenaufbereitung von
benthischen Kieselalgen aus Fließgewässern und Seen**

Water quality – Guidance standard for the routine sampling and preparation of benthic diatoms from rivers and lakes

Qualité de l'eau – Guide pour l'échantillonnage en routine et le prétraitement des diatomées benthiques de rivières et de plans d'eau

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
Einleitung	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen	5
3 Begriffe	5
4 Grundlage des Verfahrens	6
5 Ausrüstung	6
5.1 Feldprobenahme	6
5.2 Laborausrüstung	7
6 Reagenzien	7
6.1 Allgemeines	7
6.2 Konservierungsmittel	7
6.3 Reagenzien zur Reinigung von Diatomeen für die Lichtmikroskopie	8
6.4 Reagenzien zur Anfertigung von Dauerpräparaten	9
7 Probenahmeverfahren	9
7.1 Substratwahl	9
7.2 Auswahl der Probenahmestelle	9
7.3 Probenahmetechniken	9
7.3.1 Bewegliche, natürliche Hartsubstrate	9
7.3.2 Verfahren zur Beprobung vertikaler, künstlicher Oberflächen <i>in situ</i>	11
7.3.3 Verwendung von künstlichen Substraten	11
7.3.4 Probenahme von submersen Makrophyten und Makroalgen	11
7.3.5 Probenahme von emersen Makrophyten	12
7.4 Aufbereitung vor der mikroskopischen Untersuchung	12
7.4.1 Konservierung und vorbereitende Laborbehandlung vor der lichtmikroskopischen Analyse	12
7.4.2 Konservierung von Proben vor der Analyse mithilfe molekularer Verfahren	12
7.4.3 Verfahren zur Reinigung von Diatomeen für die Lichtmikroskopie	13
7.4.4 Anfertigung von Dauerpräparaten für die Lichtmikroskopie	13
Anhang A (informativ) Verfahren zur Reinigung von Diatomeen zur mikroskopischen Untersuchung	15
A.1 Allgemeines	15
A.2 Verfahren 1: Heißes Wasserstoffperoxid	15
A.2.1 Gerät	15
A.2.2 Reagenzien	15
A.2.3 Verfahren	16
A.3 Verfahren 2: Kaltes Wasserstoffperoxid	16
A.3.1 Gerät und Reagenzien	16
A.3.2 Verfahren	16
A.4 Verfahren 3: Heißes Wasserstoffperoxid mit Kaliumdichromat	16
A.4.1 Gerät	16
A.4.2 Reagenzien	17
A.4.3 Verfahren	17
A.5 Verfahren 4: Kalte Säurebehandlung (Permanganat-Verfahren) zur Reinigung	17
A.5.1 Gerät	17
A.5.2 Reagenzien	17
A.6 Verfahren	18
Literaturhinweise	19

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 13946:2024) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN 13946:2014 ersetzen.

Dieses Dokument (prEN 13946:2024) beinhaltet die folgenden wesentlichen technischen Änderungen im Vergleich zu EN 13946:2014:

- Das Verfahren wurde angepasst, um die für nachfolgende molekulare Verfahren gewonnenen Proben zu verarbeiten, indem zusätzliche Lösemittel und Anforderungen hinzugefügt wurden, um eine Kontamination der Proben zu vermeiden.

Einleitung

WARNUNG — Anwender dieses Dokuments sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Dieses Dokument gibt nicht vor, alle unter Umständen mit der Anwendung des Verfahrens verbundenen Sicherheitsaspekte anzusprechen. Es liegt in der Verantwortung des Arbeitgebers, angemessene Sicherheits- und Schutzmaßnahmen zu treffen und sicherzustellen, dass diese mit nationalen Festlegungen übereinstimmen.

Diatomeen (Kieselalgen) sind ein wichtiger Bestandteil aquatischer Ökosysteme und werden in der Wasser-güteüberwachung als Hilfsmittel verwendet, wobei das primäre Ziel entweder die Ermittlung des ökologi-schen Zustands oder die Auswirkungen von spezifischen Komponenten auf die Wasserbeschaffenheit (z. B. Eutrophierung, Versauerung) ist. Das Verfahren eignet sich für Bewertungen, die in der Wasserrahmenricht-linie (2000/60/EG) und der Richtlinie über die Behandlung von kommunalem Abwasser (91/271/EWG) in Ergänzung zu anderen EU-Richtlinien und internationalen Vereinbarungen gefordert werden. Dieses Doku-ment umfasst Aspekte der Probenahme und Präparation, die zur Beurteilung der Wasserbeschaffenheit und des ökologischen Zustands mittels benthischer Diatomeen zu beachten sind. Diese Anleitungen führen zu Pro-ben, die geeignet sind, die relativen Häufigkeiten der vorhandenen Taxa benthischer Diatomeen mithilfe von Lichtmikroskopie oder molekularen Verfahren zu quantifizieren. Zur Bestimmung der absoluten Anzahl der Taxa oder des Frischgewichts je Flächeneinheit sind Verfahrensmodifikationen nötig, die nicht im Anwen-dungsbereich dieses Dokuments liegen.

Die Verwendung von Diatomeen als Indikatoren der Wasserbeschaffenheit von Fließgewässern und Seen ist in Europa und darüber hinaus weit verbreitet. Die Methodik beruht auf Beobachtungen, dass alle Diatomeenar-ten verschiedene Präferenzen gegenüber bestimmten Umweltfaktoren wie Nährstoffangebot, Belastung durch organische Schadstoffe und Acidität haben. Belastete Gewässer werden eine erhöhte Abundanz jener Arten fördern, deren Optima mit dem Grad der jeweiligen Belastung korrespondieren. Umgekehrt sind bestimmte Arten intolerant gegenüber erhöhten Werten einer oder mehrerer Belastungsgrößen, während andere über einen weiten Bereich unterschiedlicher Wasserbeschaffenheiten vorkommen können.

Verfahren, bei denen Diatomeen zur Überwachung der Wasserbeschaffenheit genutzt werden, wurden in meh-reren europäischen Ländern entwickelt (neuere Arbeiten sind in den Literaturhinweisen [1] bis [4] zusam-mengefasst). Die Verfahren zur Auswertung der erhobenen Daten variieren, Probenahme und Präparation sind jedoch ähnlich [5], [6]. In den letzten Jahren wurden molekulare Verfahren, wie das Metabarcoding, so weit ent-wickelt, dass sie für Routineanwendungen [7], [8] geeignet sind, und die Änderungen der für dieses Konzept geeigneten Verfahren wurden in diese Überarbeitung der Norm aufgenommen.

Im Sinne der präzisen Verwendung, für die diese Norm formuliert wurde, ist das wechselseitige Einverständnis von Auftraggebern und Anwendern zu jeglicher notwendigen Abweichung oder optionalen Detailvorgehens-weise vor der Anwendung erforderlich.

Alle numerischen Werte in diesem Dokument sind Näherungswerte.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Verfahren zur Probenahme und Laborpräparation benthischer Diatomeen zur Überwachung des ökologischen Zustands und der Wasserbeschaffenheit fest. Die beschriebenen Probenahme- und Präparationsverfahren können für spätere Untersuchungen mit Lichtmikroskopie oder molekularen Verfahren verwendet werden. Daten, die nach diesem Verfahren erhoben werden, sind zur Erzeugung Indizes, die auf der relativen Häufigkeit der Taxa basieren, geeignet.

Die Analyse mit molekularen Verfahren fällt nicht in den Anwendungsbereich dieses Dokuments.

2 Normative Verweisungen

Es gibt keine normativen Verweisungen in diesem Dokument.

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: verfügbar unter <https://www.electropedia.org/>

3.1

benthische Diatomeen

Diatomeen (Kieselalgen), die bevorzugt auf natürlichen oder künstlichen Substraten leben und in der Regel nicht frei in der Wassersäule schweben

3.2

Felsblock

Stein mit einem Durchmesser > 256 mm

3.3

Geröll

Steine mit einem Durchmesser > 64 mm und ≤ 256 mm

3.4

ökologischer Zustand

Maßstab für die Struktur und Funktionalität aquatischer Lebensgemeinschaften

3.5

euphotische Zone

Teil des Wasserkörpers, in dem ausreichend Licht zur Photosynthese vorhanden ist

3.6

Frustel

verkieselte Zellwand der Diatomeen, die aus zwei Valven, verbunden durch zwei oder mehrere Gürtelbänder, besteht

3.7

Habitat

spezifischer Lebensraum, in dem ein Organismus lebt

3.8

künstliche Substrate

künstliches Substrat

durch den Anwender in einen Fluss oder in einen See speziell zur Besiedlung durch Diatomeen eingebrachtes Substrat

3.9

Metabarcoding

Bestimmung (und Quantifizierung) vieler Arten aus einer Einzelprobe auf der Grundlage von Sequenzen aus einer kurzen DNA-/RNA-Region

3.10

molekulares Verfahren

Verfahren, bei dem molekulargenetische Technologien verwendet werden, um die Eigenschaften biologischer Proben zu erforschen

3.11

Kies

Steine mit einem Durchmesser > 16 mm und ≤ 64 mm

3.12

Schnelle

flacher Teil eines Fließgewässers mit rascher Strömung und üblicherweise mit Auflandungen

3.13

Substrat

natürliches oder künstliches Material, von dem benthische Diatomeen gesammelt werden

3.14

Taxon

Taxa (Pl)

taxonomische Einheit, z. B. Familie, Gattung oder Art

3.15

Valve

struktureller Bestandteil der Frustel (3.6) von Diatomeen

4 Grundlage des Verfahrens

Benthische Diatomeen von submersen harten Oberflächen oder submersen Makrophyten aus Flüssen, Strömen oder litoralen Bereichen von Seen werden beprobt, um repräsentative Sammlungen der in Bezug auf den ökologischen Zustand und die Wasserbeschaffenheit indikativen Diatomeengesellschaften zu erhalten. Die Proben werden unter Verwendung von starken Oxidationsmitteln gereinigt, um die Diatomeen für die Bestimmung und Zählung vorzubereiten, oder für die Analyse mit molekularen Verfahren konserviert.

Die Daten aus den mikroskopischen oder molekularen Analysenverfahren dieser Proben sind für die Ermittlung von Wasserbeschaffenheitsindizes, die auf Diatomeen basieren, geeignet (siehe Literaturhinweise [1], [2] und [3]).

5 Ausrüstung

5.1 Feldprobenahme

Geräte und Ausstattung, die zur Entfernung von Biofilmen von Oberflächen verwendet werden, müssen frei von jeglicher Verunreinigung sein, die Diatomeen oder DNA-Spuren von anderen Proben mit sich bringen könnten. Es muss nicht für jeden Standort eine neue Zahnbürste verwendet werden, nach ihrem Gebrauch wird aber ein strenges Reinigungsverfahren empfohlen, um eine Kreuzkontamination zu vermeiden [9], [10]. Zahnbürs-

ten können durch Abspülen und Reiben gereinigt werden, um grobe Verunreinigungen zu entfernen. Wenn die Proben für das Metabarcoding verwendet werden, sollten stärkere Reinigungsmittel (z. B. eine 10 %ige Bleichlösung für 10 min) verwendet werden, bevor sie gründlich abgespült und getrocknet werden.

5.1.1 Sicherheitsausrüstung, geeignet für die Arbeit am Wasser.

5.1.2 Watstiefel

5.1.3 Zahnbürste mit harten Borsten (oder anderes vergleichbares Gerät) oder **Messer** (oder andere geeignete Klinge).

5.1.4 Kunststoffschaale (etwa 30 cm × 20 cm oder größer).

5.1.5 Probenflasche mit fest schließendem Deckel.

5.1.6 Wasserfester Markierungsstift oder andere Hilfsmittel zur Probenbeschriftung.

Die Beschriftungen sollten wasserfest sein.

5.1.7 Pfahlkratzer mit feinmaschigem Netz und langem Stiel, wenn vertikal exponierte Hartsubstrate beprobt werden müssen.

5.1.8 Kiste oder Eimer mit Glasboden („Aquascope“/„Hydroscope“).

Unter bestimmten Umständen hilfreich beim Auffinden geeigneter Substrate.

5.2 Laborausrüstung

Siehe Anhang A.

ANMERKUNG Dieses Dokument enthält nur Laborverfahren für die Lichtmikroskopie.

6 Reagenzien

6.1 Allgemeines

Reagenzien, die bei der Präparation der Frusteln eingesetzt werden, müssen nicht analytisch hochrein, sollten aber von einer für den Aufbereitungsprozess angemessenen Qualität sein.

6.2 Konservierungsmittel

Diese sind erforderlich, um die Zellteilung der Diatomeen und den Abbau organischer Stoffe oder, im Falle von Proben, die für die Analyse durch Metabarcoding gesammelt wurden, den Abbau ihrer DNA zu stoppen. Konservierungsmittel sind nicht erforderlich, wenn die Probe innerhalb weniger Stunden nach der Entnahme für die Lichtmikroskopie weiterbearbeitet wird und Schritte unternommen werden, um die Zellteilung so gering wie möglich zu halten (z. B. Lagerung an kühlem, dunklem Ort). Lugol'sche Lösung kann für Kurzzeitzlagerung vor der lichtmikroskopischen Analyse verwendet werden, ist jedoch für eine Langzeitzlagerung nicht geeignet, da Probleme durch Sublimierung auftreten können. Gepuffertes Formaldehyd oder Ethanol sind für die Langzeitzlagerung geeignet. Proben für die Lichtmikroskopie dürfen auch eingefroren werden.

Lugol'sche Lösung und Formaldehyd können nicht für das Metabarcoding verwendet werden, da sie die Umwelt-DNA nicht angemessen konservieren [11]. Für die Konservierung und Aufbewahrung von Proben für die Analyse mit Hilfe von Metabarcoding [12] wird Ethanol oder ein Nukleinsäurekonservierungsmittel empfohlen. Die Proben dürfen auch sofort nach der Rückkehr vom Feld eingefroren werden (als zentrifugierte Pellets).

6.2.1 Gepufferte 4 %ige (Mindestvolumenanteil) Formaldehydlösung (HCHO)

Eine Formaldehyd-Stammlösung ist in einer auf pH-Wert 7 gepufferten Lösung auf 4 % zu verdünnen. Geeignete Puffer beinhalten HEPES (N-2-Hydroxymethylpiperazin-N-2'-Sulfonsäure), Borat und Hexamethylentetramin.

Es wird in der Probe eine resultierende Lösung von 1 % bis 4 % (Volumenanteil) empfohlen (die benötigte Menge hängt vom Gehalt an organischer Substanz ab).

ANMERKUNG Der Puffer ist notwendig, um Auflösungen der Kieselsäurefrusteln zu vermeiden. Dies ist nur in stark alkalischen Wässern nötig, da Diatomeen sich in stark alkalischen Wässern (auf)lösen.

6.2.2 Lugol'sche Lösung

2 g Kaliumiodid und 1 g Iodkristalle sind in 300 ml destilliertem oder entmineralisiertem Wasser zu lösen. Die fertige Flüssigkeit sollte von dunkelbrauner Farbe sein. Sie sollte in einem luftdicht schließenden und lichtundurchlässigen Behälter aufbewahrt werden, um die Sublimierung so gering wie möglich zu halten.

Je 100 ml Probe sind ein Tropfen bis fünf Tropfen der Lugol'schen Lösung bis zur endgültigen „strohgelben“ Färbung zu pipettieren. Weitere Tropfen können erforderlich sein, wenn die Probe reich an organischer Substanz ist.

6.2.3 Ethanol (C₂H₅OH)

Zur mittelfristigen Lagerung für die Lichtmikroskopie wird eine Endkonzentration von 20 % Volumenanteil empfohlen.

Zur Lagerung für molekulare Verfahren wird eine Endkonzentration von mindestens 70 % Volumenanteil empfohlen.

Es hat sich gezeigt, dass Ethanol mit 70 % Volumenanteil für die Lagerung von bis zu einem Jahr vor der Analyse mit molekularen Verfahren geeignet ist [12]. Bei längerfristiger Lagerung können höhere Konzentrationen angemessen sein. Zu diesem Zweck sollte Ethanol von molekularer Qualität verwendet werden.

6.2.4 Salzsäure (HCl)

Salzsäure mit einem Volumenanteil von 10 % kann ebenfalls zur mittelfristigen Lagerung für die Lichtmikroskopie verwendet werden. Durch die Säurezugabe lösen sich die Diatomeen von ihren Substraten, und Eisen- sowie Kalziumkomplexe werden gelöst.

6.2.5 Einfrieren

Für die Konservierung und Aufbewahrung von Proben, die für die Analyse mit molekularen Verfahren bestimmt sind, wird das sofortige Einfrieren auf –20 °C oder darunter empfohlen.

6.2.6 Sonstige Konservierungsmittel für Metabarcoding

Nukleinsäurekonservierungsmittel eignen sich für die Lagerung von Proben für die Analyse mit molekularen Verfahren. Beispielsweise kann eine Mischung aus 3,5 M Ammoniumsulfat, 17 mM Natriumcitrat und 13 mM Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) (im Handel als „RNAlater“ erhältlich) verwendet werden, sofern die Probe sofort nach der Rückkehr ins Labor eingefroren wird.

6.3 Reagenzien zur Reinigung von Diatomeen für die Lichtmikroskopie

Siehe Anhang A.

6.4 Reagenzien zur Anfertigung von Dauerpräparaten

Ein Einbettungsmittel für Diatomeen mit einem Brechungsindex $> 1,6$ ist erforderlich (z. B. Naphrax).

7 Probenahmeverfahren

7.1 Substratwahl

Diatomeen können auf den meisten submersen Substraten gefunden werden; die Zusammensetzung der Gesellschaften variiert in Abhängigkeit vom ausgewählten Substrat. Idealerweise sollte innerhalb einer Untersuchung an allen Probestellen ein einheitliches Substrat verwendet werden.

Bereiche der Fließgewässersohle oder litorale Bereiche in Seen mit natürlich vorkommenden, beweglichen Hartsubstraten (große Kieselsteine, Geröll und Felsblöcke) werden, soweit vorhanden, empfohlen. Wenn solche natürlichen Hartsubstrate nicht vorkommen, ist es möglich, vertikale Oberflächen von Bauteilen wie Ufermauern oder Brückenpfeiler zu beproben (so lange diese nicht aus Holz sind). Andere künstliche Hartsubstrate wie zum Beispiel Ziegelsteine dürfen ebenso beprobt werden, wenn sie lange genug im Flussbett oder im Seelitoral exponiert waren, um die vollständige Anpassung der Kieselalgenesellschaften an die Umweltbedingungen sicherzustellen. Als Expositionsdauer wird eine Zeitspanne von mindestens vier Wochen vor der Probenahme empfohlen, jedoch hängt die Dauer von den Umgebungsbedingungen ab.

Diatomeenproben dürfen auch von submersen Makrophyten genommen werden. Wenn möglich, sollten vergleichende Untersuchungen aus Fließgewässern oder Seen auf Proben beruhen, die von der gleichen Makrophytenart (oder einer Gruppe morphologisch nahe verwandter Arten) gesammelt wurden.

In einigen Wasserkörpern sind andere Substrate (z. B. Sand, Schluff) charakteristisch. Diese können auch beprobt werden, jedoch existiert kein allgemein akzeptiertes Probenahmeverfahren. Anwender sollten die Fachliteratur zurate ziehen und vorbereitende Experimente durchführen, bevor sie sich für eine Verfahrensweise entscheiden. Zusätzlich sollte die Exposition künstlicher Substrate innerhalb der euphotischen Zone erwogen werden.

7.2 Auswahl der Probenahmestelle

Für die Probenahme sollte ein Fluss- oder Seeuferabschnitt mit geeigneten Substraten ausgewählt werden. Im Allgemeinen sollte dieser Abschnitt mindestens 10 m lang sein. In Abhängigkeit der physischen Einheitlichkeit und der Verfügbarkeit von Substraten am Ort der Probenahme können größere Längen erforderlich sein. In Fließgewässern sind Schnellen zu bevorzugen, da diese in der Regel eine große Vielfalt natürlicher Hartsubstrate aufweisen (6.1), aber sonstige Fließ- und Gleitstrecken sind auch geeignet.

Wenn der Zweck die Bestimmung des Gesamtzustands eines Sees ist (anstatt die Lokalisierung von Belastungsschwerpunkten), dann sollten Probenahmestellen in Seen ausreichend entfernt von einmündenden Fließgewässern oder offensichtlichen anthropogenen Einflüssen und in Bereichen lokalisiert sein, in denen freier Wasseraustausch mit dem Hauptbecken möglich ist (umschlossene Buchten sollten vermieden werden).

Eine detaillierte Beschreibung der Probenahmestelle (Lage, Breite, Tiefe, Substrattyp, Deckungsgrad durch Makrophyten in Prozent, Beschattung usw.) ist im Rahmen der ersten Beprobung einer Probenahmestelle erforderlich. Eine photographische Aufnahme wird empfohlen. Diese Beschreibung dient als Hilfe zur Dateninterpretation und um zukünftigen Probennehmern das Auffinden der Probenahmestelle zu erleichtern. An nachfolgenden Terminen können die Anmerkungen auf die wesentlichen Veränderungen, die seit der letzten Probenahme erfolgten, sowie alle Veränderungen im Probenahmeprotokoll beschränkt werden.

7.3 Probenahmetechniken

7.3.1 Bewegliche, natürliche Hartsubstrate

Im Allgemeinen ist Geröll das bevorzugte Substrat für die Probenahme, da hier sowohl Substratstabilität (erlaubt die Entwicklung von Diatomeengesellschaften) als auch Handhabbarkeit gegeben sind. Kies und