

DIN EN 17204

ICS 13.060.70

Einsprüche bis 2018-02-01

Entwurf

**Wasserbeschaffenheit –
Anleitung zur Analyse von Mesozooplankton aus marinen und brackigen
Gewässern;
Deutsche und Englische Fassung prEN 17204:2017**

Water quality –

Guidance on analysis of mesozooplankton from marine and brackish water;

German and English version prEN 17204:2017

Qualité de l'eau –

Document d'orientation sur l'analyse du mésozooplancton dans les eaux marines et saumâtres;

Version allemande et anglaise prEN 17204:2017

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2017-12-01 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm 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, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 62 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17204:2017) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

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

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.

Bezeichnung des Verfahrens:

Anleitung zur Analyse von Mesozooplankton aus marinen und brackigen Gewässern:

Verfahren DIN EN 17204

Für die in diesem Dokument zitierten internationalen Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 5667-6:2014	siehe	DIN EN ISO 5667-6:2016-12
ISO 6107-5:2004	siehe	DIN ISO 6107-5:2017-11

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 DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW) und von der Wasserchemischen Gesellschaft — eine Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh) — gemeinsam erarbeitete Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung:

Anleitung zur Analyse von Mesozooplankton aus marinen und brackigen Gewässern.

Die als DIN-Normen veröffentlichten Deutschen Einheitsverfahren sind bei der Beuth Verlag GmbH einzeln oder zusammengefasst erhältlich. Außerdem werden die genormten Deutschen Einheitsverfahren in der Loseblattsammlung „Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung“ gemeinsam von der Beuth Verlag 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 Beuth Verlag GmbH, 10772 Berlin (Hausanschrift: Am DIN-Platz, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin), Auskunft.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 5667-6:2016-12, *Wasserbeschaffenheit — Probenahme — Teil 6: Anleitung zur Probenahme aus Fließgewässern (ISO 5667-6:2014); Deutsche Fassung EN ISO 5667-6:2016*

DIN ISO 6107-5:2017-11, *Wasserbeschaffenheit — Wörterbuch — Teil 5 (ISO 6107-5:2004); Text Deutsch, Englisch, Französisch und Russisch*

Wasserbeschaffenheit — Anleitung zur Analyse von Mesozooplankton aus marinen und brackigen Gewässern

Qualité de l'eau — Document d'orientation sur l'analyse du mésozooplancton dans les eaux marines et saumâtres

Water quality — Guidance on analysis of mesozooplankton from marine and brackish water

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm

Dokument-Untertyp:

Dokument-Stage: CEN-Umfrage

Dokument-Sprache: D

STD Version 2.8l

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Kurzbeschreibung	7
5 Geräte	7
6 Konservierungsmittel und andere Chemikalien	8
7 Durchführung	9
7.1 Herstellung von Proben und Teilproben	9
7.2 Bestimmung und Zählung der Arten	10
7.2.1 Allgemeines	10
7.2.2 Statistische Anforderungen an die Zählung	11
7.2.3 Berechnung der Abundanz	11
7.3 Bestimmung der Biomasse	12
7.3.1 Allgemeines	12
7.3.2 Kalibrierung des Okularmikrometers, Zählgitters und der Bildverarbeitungssoftware	12
7.3.3 Berechnung der Biomasse von Kohlenstoff basierend auf Längenmessungen	13
7.3.4 Berechnung der Biomasse basierend auf Umrechnungsfaktoren für Kohlenstoff	13
7.3.5 Berechnung der Biomasse basierend auf Standardgrößenklassen	14
7.3.6 Berechnung der Biomasse basierend auf einzelnen Massefaktoren	14
8 Berichterstattung	14
9 Qualitätssicherung	15
9.1 Allgemeines	15
9.2 Fotodokumentation	15
9.3 Vergleichssammlungen	16
9.4 Langzeitlagerung von Proben	16
Anhang A (informativ) Empfehlungen für Längenmessungen einiger ausgewählter Taxa und taxonomischen Gruppen von Zooplankton L [μm]	17
Anhang B (informativ) Koeffizienten a and b zur Berechnung der auf Längenmessungen basierenden Biomasse [11]	18
Anhang C (informativ) Umrechnungsfaktoren für die Biomasse [$\mu\text{g C/Ind.}$]	19
Anhang D (informativ) Einzelne Nassmassen ausgewählter Zooplankton-Taxa zur Bestimmung der Biomasse [7]	21
Anhang E (informativ) Beispiele für Vorrichtungen für die Herstellung von Proben	24
E.1 Zählkammern	24
E.1.1 Allgemeines	24
E.1.2 Zählkammer nach Bogorov	24
E.1.3 Zählrad nach Ward	24
E.1.4 Plankton-Röhrenkammer	25
E.1.5 Utermöhl-Kammer für die Sedimentation und Zählung	25

E.2	Probenteiler	26
	Literaturhinweise.....	27

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17204:2017) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Einleitung

Zooplankton-Abundanz und -Gemeinschaft stellen einen wichtigen Teil des pelagischen Nahrungsnetzes dar, da sie die Verbindung zwischen Primärherstellern und höheren trophischen Ebenen herstellen. Durch Veränderungen hinsichtlich der Biomasse, Art und Größe und Zusammensetzung von Phytoplankton werden die Gemeinschaft und Produktivität des Mesozooplanktons und umgekehrt verändert. Derartige Veränderungen beeinflussen möglicherweise Fischrekrutierung und Sedimentation (d. h. indirekte Beeinflussung der Sauerstoffkonzentrationen in Bodenwasser) [6].

Mesozooplankton setzt sich aus einer großen Anzahl von Arten innerhalb eines Gesamtlängenbereichs zwischen etwa 0,2 mm bis 20 mm zusammen. Die Hauptgruppen sind Rädertierchen (*Rotatoria*), Crustaceen-Holoplankton und meroplanktische Larven anderer Taxa, z. B. Stachelhäuter (Echinodermen), Muscheln und Crustaceen. Kleine Hydromedusen, Ctenophoren, Chaetognaten, Appendikularien, Doliolida, Fischeier und -larven werden auch als Bestandteil der mesoplanktischen Fauna in Meerwasser angesehen. Da die meisten Zooplankton-Arten kleiner als 0,2 mm sind, werden sie nicht als Bestandteil des Mesozooplanktons angesehen und daher werden Verfahren für die Probenahme und Zählung dieser Arten nicht in dieser Norm behandelt.

Probenahme, Konservierung und Lagerung von Mesozooplankton siehe prEN 17218¹⁾.

WARNUNG — Personen, die diese Europäische Norm anwenden, sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Dieses Dokument erhebt nicht den Anspruch, dass alle mit seiner Anwendung verbundenen Sicherheitsaspekte angesprochen werden. Es obliegt der Verantwortung des Anwenders, angemessene Sicherheits- und Gesundheitsschutzmaßnahmen zu treffen und sicherzustellen, dass diese im Einklang mit den jeweiligen nationalen und internationalen Bestimmungen sind.

1) prEN 17218 „Wasserbeschaffenheit — Anleitung für die Probenahme von Mesozooplankton aus marinen und Übergangsgewässern mittels Netzen“.

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm legt ein Verfahren für die Analyse von Mesozooplankton in Meer- und Brackwasser fest. Die Verfahren umfassen die Identifikation und Zählung von Zooplankton zur Schätzung der quantitativen Informationen zur Diversität, Abundanz und Biomasse hinsichtlich der räumlichen Verteilung und Langzeittrends für einen vorgegebenen Wasserkörper.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

prEN 17218¹⁾, *Wasserbeschaffenheit — Anleitung für die Probenahme von Mesozooplankton aus marinen und Übergangsgewässern mittels Netzen*

EN 14996, *Wasserbeschaffenheit — Anleitung zur Qualitätssicherung biologischer und ökologischer Untersuchungsverfahren in der aquatischen Umwelt*

EN ISO/IEC 17025, *Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Biomasse

Gesamtmasse (Einheit: g m^{-3} oder $\text{g Kohlenstoff m}^{-3}$) lebender organischer Materie innerhalb eines Taxons

3.2

Metazoen

mehrzellige Tiere, die sich aus Embryos entwickeln

3.3

Plankton

Organismen, die im Wasser treiben oder schweben, meist aus winzigen Pflanzen oder Tieren bestehend, aber auch größere Formen mit nur geringer Eigenbeweglichkeit einschließend

[QUELLE: ISO 6107-5:2004, Begriff 41]

3.4

Zooplankton

Tiere, im Plankton vorkommend

[QUELLE: ISO 6107-5:2004, Begriff 49]

3.5

Merozooplankton

Zooplankton, der im Plankton nur für einen Teil von dessen Lebenszyklus vorkommt, üblicherweise das Larvenstadium

3.6

Mesozooplankton

Zooplankton mit einer Größe von 0,2 mm bis 20 mm

3.7

Probenahmestation

eindeutig bestimmter Ort, an dem die Proben genommen werden

Anmerkung 1 zum Begriff: Eine Probenahmestation ist durch ihre geographische Lage (Längengrad, Breitengrad), Tiefe (relativ zum Seekartennull und normiert auf mittleres Niedrigwasser entsprechend den Angaben im Tidenkalender) und andere unveränderliche oder physikalische Bedingungen definiert. Die Station wird so genau wie unter den gegebenen Umständen möglich beschrieben. Bei wiederholter Anfahrt der Probenahmestation sollte im Zweifelsfall eine Orientierung an Landmarken und der Wassertiefe vorgenommen werden.

[QUELLE: EN ISO 16665:2013, Begriff 2.2.5]

3.8

Teilprobe

Anteil, der aus einer Probe entnommen wird und der als repräsentativ für diese Probe angesehen wird

[QUELLE: EN ISO 5667-6:2014, Begriff 3.13]

3.9

halbquantitative Analyse

Analyse der relativen Abundanz eines Taxons oder einer Gruppe von Organismen in einer Probe

3.10

quantitative Analyse

Analyse der absoluten Anzahl eines Taxons oder einer Gruppe von Organismen in einer Probe

4 Kurzbeschreibung

Die Bestimmung der Abundanz und Biomasse von Zooplankton in Proben von natürlichen Gemeinschaften basiert auf mikroskopischer Zählung und Messung von Individuen einer repräsentativen Probe, siehe Anhang A hinsichtlich Beispielen von Längenmessungen einiger ausgewählter Zooplankton-Taxa. Die Gesamtbiomasse jedes Taxons in der Probe wird durch Multiplikation der Abundanz mit festgelegten Umrechnungsfaktoren für die Länge und Masse (siehe Anhang B), mit artenspezifischen Umrechnungsfaktoren für Kohlenstoff (siehe Anhang C) oder artenspezifischen Umrechnungsfaktoren für die Masse bestimmt.

5 Geräte

Die folgenden Geräte sind für die Analyse von Zooplankton-Proben erforderlich.

5.1 Stereomikroskop, Objektiv: 1- bis 25-fache Vergrößerung, Okulare: 10-fache Vergrößerung, Beleuchtung: einfallendes Licht und Durchlicht, Kaltlichtquelle.

In einigen Fällen wird die Anwendung eines Hellfelds oder Umkehrmikroskops empfohlen, das mit einem Kondensor ausgestattet ist, der eine numerische Apertur von mindestens 0,5 und Planobjektive mit einer numerischen Apertur von mindestens 0,9 aufweist, mit dem eine Gesamtvergrößerung von mindestens dem 125-Fachen möglich ist. Die Mikroskope sollten ein Binokular, ein Hellfeld (zusätzlicher Phasenkontrast ist hilfreich) und Okulare mit 10- oder 12,5-facher Vergrößerung haben.

5.2 Kalibriertes Objektmikrometer.

5.3 Okularmikrometer.

5.4 Zählkammern, z. B. Bogorov-Zählkammern oder Mini-Bogorov-Zählkammern und bei Anwendung eines Umkehrmikroskops: Utermöhl-Kammer, siehe E.1 oder Petrischale mit markierten Feldern.

5.5 Ausrüstung zur Herstellung von Teilproben, Probenteiler, z. B. Tauchkolben-Probenpipette nach Hensen, Plankton-Teiler nach Folsom oder Plankton-Teiler nach Kott, siehe E.2.

5.6 Siebe, mit einer Maschenweite von etwa der Hälfte der Maschenweite des Sammelnetzes.

5.7 Mikrosonden, Mikropinzetten.

5.8 Dispenser.

5.9 Kühlschrank.

5.10 Zählvorrichtungen und/oder Bildverarbeitungssoftware.

5.11 Abzug, für das Arbeiten mit Formaldehyd.

6 Konservierungsmittel und andere Chemikalien

Die folgenden Konservierungsmittel sind für die Analyse von Zooplankton-Proben erforderlich:

6.1 4%ige Formaldehyd(CH₂O)lösung, 1 Teil 40%ige Formaldehydlösung und 9 Teile Wasser. Der Formaldehyd muss mit Natriumtetraborat (Borax, Na₂B₄O₃ · 10 H₂O) auf einen pH-Wert 8 bis zu einem pH-Wert 8,2 gepuffert werden.

ANMERKUNG Formaldehyd ist eine organische Verbindung, die in flüssiger Form vorliegt. Formalin ist eine im Handel verkaufte wässrige, gesättigte Formaldehydlösung mit einem Volumenanteil von etwa 40 % bzw. einem Massenanteil von etwa 37 %. Die genauen Inhaltsstoffe können je nach Hersteller jedoch leicht voneinander abweichen. Üblicherweise wird eine geringe Stabilisatormenge hinzugefügt, z. B. Methanol, um die Oxidation und Polymerisation zu begrenzen. Eine typische Formalinlösung in handelsüblicher Qualität kann einen Volumenanteil von 10 % bis 12 % Methanol enthalten.

WARNUNG — Vorsicht bei Formaldehyd-Dämpfen. Proben nicht in größerer Anzahl am Arbeitsplatz aufbewahren.

6.2 Ethanol, 96%ig oder 99%ig, C₂H₅OH.

6.3 Lugol'sche Lösung. Angesäuerte Lugol'sche Lösung: 100 g KI (Kaliumiodid) in 1 l destilliertem oder demineralisiertem Wasser auflösen; danach 50 g Iod (kristallin) hinzufügen, schütteln, bis es aufgelöst ist, und 100 ml Eisessig hinzufügen. Da diese Lösung nahezu gesättigt ist, sollte vor Gebrauch jeder Niederschlag durch Dekantieren der Lösung entfernt werden.

Kalkhaltige Strukturen von Organismen werden durch angesäuerte Lugol'sche Lösung beschädigt, deshalb sollten diese Organismen nicht in angesäuerter Lugol'scher Lösung konserviert werden. Angesäuerte Lugol'sche Lösung wird meistens für Protozooplankton und Mikrozooplankton angewendet, Mesozooplanktonproben werden üblicherweise mit Formaldehyd oder Ethanol fixiert.

Die folgenden Chemikalien können für die Analyse von Zooplankton-Proben nützlich sein:

6.4 Cetylalkohol, (CH₃(CH₂)₁₄CH₂OH) zur Verringerung der Oberflächenspannung (ein paar Tropfen je 100 ml).

6.5 Eosin Y, zum Einfärben von Tieren in Proben, die reich an Phytoplankton sind (ein paar Tropfen je 100 ml).

6.6 Sortierlösung, z. B. Sortierlösung nach Steedman; 0,5 % Propylenphenoxetol und 5%iges 1,2-Propandiol in destilliertem Wasser.

7 Durchführung

7.1 Herstellung von Proben und Teilproben

Hinsichtlich Probenahme und Lagerung von Zooplankton-Proben aus Seewasser siehe prEN 17218¹⁾, *Wasserbeschaffenheit — Anleitung für die Probenahme von Mesozooplankton aus marinen und Übergangsgewässern mittels Netzen*. Alle Proben sollten gelagert werden, bis die nachfolgende Bewertung abgeschlossen ist.

Zum Entfernen des Formaldehyds aus der Probe vor der mikroskopischen Untersuchung muss die Probe durch ein Sieb filtriert werden und mit filtriertem oder gesiebttem Leitungswasser gespült werden. Die Maschenweite der Siebe sollte beträchtlich geringer als die Maschenweite des für die Probenahme angewendeten Planktonnetzes sein. Alle Tätigkeiten müssen unter einem Dunstabzug stattfinden, um die Formaldehyddämpfe umzuleiten.

Das Formaldehyd muss in dem Probengefäß gesammelt und wiederverwendet werden, um die Zooplanktonorganismen nach Beendigung der mikroskopischen Untersuchung zu konservieren.

Der Zooplankton muss unter vorsichtigem Spülen des Siebs mit filtriertem Leitungswasser in ein Glasgefäß überführt und in Abhängigkeit von der Dichte der Organismen bis zu einem bestimmten Volumen aufgefüllt werden. Die gesamte Zooplanktonprobe muss in eine Zählkammer gefüllt bzw. geteilt werden, wenn Organismen in einer zu hohen Konzentration vorliegen. In Abhängigkeit von der Trennvorrichtung muss die Probe durch Sieben konzentriert oder erforderlichenfalls mit Leitungswasser verdünnt werden.

Vor dem Befüllen des Splitters muss das Volumen der Gesamtprobe in einem Glas- oder Kunststoff-Messzylinder gemessen werden. Die Menge ist im Protokoll aufzuzeichnen.

Wenn die Probe große Plankton-Klumpen enthält (z. B. durch gallertartige Organismen oder *Cercopagis*), sollten diese vorsichtig entfernt und auf ein sehr großes Netz gelegt werden. Der Klumpen muss sorgfältig mit Wasser oder Meerwasser gespült werden, während mit einer Pinzette daran gezogen wird, um eingeschlossene Organismen zu lösen, die vor dem Teilen oder der Analyse zurück zur Probe gegeben werden. Alle immer noch am Klumpen anhaftenden Organismen müssen gezählt und aufgezeichnet werden.

Zum Teilen der Probe in festgelegte Teilproben wird eine Tauchkolben-Probenpipette nach Hensen, ein Plankton-Teiler nach Folsom (teilt in zwei Teilproben) oder ein Plankton-Teiler nach Kott (teilt in 8 Teilproben) empfohlen, siehe E.2.

Der Teiler muss auf eine ebene Oberfläche platziert werden und die Stellschrauben werden so justiert, dass die Blase in der Libelle mittig angeordnet ist. Die Probe muss in die Kammer gegossen und so lange verdünnt werden, bis die Kammer zu 3/4 gefüllt ist.

Danach sollte die Probe intensiv vermischt werden, bis alle Organismen homogen im Probenvolumen verteilt sind. Ein paar Tropfen Spülmittel sollten hinzugefügt werden, um ein Vermischen der Cladoceren in der Probe zu ermöglichen. Die gemischte Probe sollte geteilt werden. Wenn die Probe noch zu dicht ist, kann das Verfahren kann mit einem aliquoten Anteil wiederholt werden. Ein bekannter aliquoter Anteil oder die gesamte Teilprobe sollte in die Zählkammern gefüllt werden.

Beim Arbeiten mit der Stempel-Pipette die Probe gut vermischen und sofort eine 1-ml-Teilprobe entnehmen. Sicherstellen, dass die Probenahmekammer keine Luftblasen oder großen Detriusklumpen enthält. Die Pipette in eine Zählkammer ausspülen.

Zur Zählung der Abundanz je Probe müssen die Teilprobenvolumen ebenfalls aufgezeichnet werden. Die Anzahl multipliziert mit dem Kehrwert der Teilung ist die geschätzte Anzahl von Organismen in der Probe.

ANMERKUNG 1 Eine nicht zufällige Verteilung in der Probe während der Entnahme der Teilprobe stellt die wichtigste Fehlerquelle dar.

ANMERKUNG 2 Der Plankton-Teiler nach Kott, der acht Teilproben erzeugt, ist hinsichtlich der Fehlergrenzen ein wenig besser, seine Handhabung ist jedoch zeitaufwendiger, während der Probenteiler nach Folsom Proben halbiert.

Die Zählkammern sollten unmittelbar nach Beendigung der Analyse mit Leitungswasser gesäubert werden, um ein Anhaften von getrockneten Organismen zu vermeiden.

Für die regelmäßige Zählung von größeren Zooplankton-Taxa sollte ein Stereomikroskop angewendet werden, das die Manipulation der Exemplare während der Bestimmung ermöglicht. Bei kleineren Organismen sollte ein Umkehrmikroskop angewendet werden. Bei speziellen Untersuchungen während der Bestimmung sollte ein Verbundmikroskop angewendet werden.

7.2 Bestimmung und Zählung der Arten

7.2.1 Allgemeines

Die Bestimmung und Zählung der Arten sind die Basis aller Analysen der Zooplankton-Gemeinschaft. In Abhängigkeit vom Untersuchungsziel müssen alle in der Probe auftretenden Taxa oder nur dominante Organismen und Gruppen bestimmt werden.

Wenn möglich, sollte die gesamte Probe analysiert werden. Mindestens 300 Individuen müssen gezählt werden. Wenn eine höhere Abundanz vorliegt, sollten repräsentative Proben analysiert werden.

Um Schätzwerte für die Dichte aller Taxa zu erhalten sollte ein hierarchisches Zählverfahren angewendet werden. Dieses Verfahren besteht darin, zuerst alle Exemplare (Adulte und Entwicklungsstadien) zu identifizieren und mindestens 100 Individuen der auftretenden dominierenden taxonomischen Gruppen zu zählen, mit Ausnahme von Nauplien und Rädertierchen. Wenn in einer Teilprobe diese Mindestanzahl nicht erreicht wird, müssen zusätzliche Teilproben gezählt werden. Die taxonomische(n) Grupp(en), die 100 Individuen in der (den) vorherigen Teilprobe(n) erreicht hat (haben), muss (müssen) in der (den) nächsten Teilprobe(n) nicht gezählt werden. Die Präzision der berechneten Abundanz für Organismen der ersten drei Gruppen, bei denen bis zu 100 Exemplare gezählt werden, ergibt 20 % [6]. Die Schätzung der Abundanz für anderen Gruppe („Rest“) wird nicht so genau sein [5].

Wenn möglich, sollten alle Individuen gezählt werden, um aufgrund des Teilens auftretende Heterogenitäten zu vermeiden. Während des Zählens sollte ein Absetzen aller Organismen auf den Grund sichergestellt werden. Es ist möglich, schwebende Mikrocrustaceen zu absinken zu lassen, indem sie vorsichtig mithilfe einer Mikrosonde nach unten gedrückt werden oder indem ein Tropfen verdünntes Laborreinigungsmittel (z. B. Cetylalkohol) hinzugefügt wird. Wenn eine Probe innerhalb von 2 Tagen nicht vollständig analysiert und archiviert werden kann, sollte die Probe im Kühlschrank aufbewahrt werden und Konservierungsmittel hinzugefügt werden, um die Zersetzung der Probe zu verhindern.

Die Abundanz von Nauplien und Tintinniden kann von der ersten Teilprobe semiquantitativ geschätzt werden. Für die quantitative Analyse von Makrozooplankton-Organismen und seltenen Arten, die von besonderem Interesse sind (z. B. eingeführte Arten) darf die gesamte Probe durchsucht werden.

ANMERKUNG 1 Obwohl sich Makrozooplankton, Nauplien, Rädertierchen und Tintinniden, genau wie viele Meroplanktonarten, außerhalb des Größenbereiches von Mesozooplankton befinden können, gibt es eine beträchtliche Anzahl von historischen Daten zu diesen Gruppen. Deshalb kann ihr Vorhandensein oder Fehlen in der Probe angegeben werden.

Die Fauna sollte mit der kleinstmöglichen taxonomischen Genauigkeit oder mit einer dem Untersuchungsziel angemessenen Genauigkeit bestimmt werden.

Copepoden sollten mindestens nach der Art, dem Entwicklungsstadium (Copepoditen CI-III und CIV-V, klassifiziert als jüngere und ältere Copepoditen) und Geschlecht (Adulte) klassifiziert werden; Nauplienstadien sollten nicht getrennt werden. Rädertierchen und Cladoceren müssen bis zur kleinstmöglichen taxonomischen Genauigkeit identifiziert werden; weiterhin sollten die Letztgenannten nach Geschlecht und die weiblichen Organismen als oviger oder nicht oviger klassifiziert werden.

ANMERKUNG 2 Die Abundanz von jüngeren Copepoditenstadien (CI-CIII) von Copepoden wird in der Regel durch die für das Sammeln von Mesozooplankton-Proben angewendeten Netze unterschätzt.

Die angewendete Nomenklatur sollte den jüngsten Ausgaben der allgemeinen Fauna-Werke und einer vereinbarten und regelmäßig aktualisierten Literaturliste oder relevanten Katalogen der Zooplankton-Fauna entsprechen. Zur Anwendung der korrekten Namen müssen die Regeln der Internationale Regeln für die Zoologische Nomenklatur [14] angewendet werden. Bezüglich Informationen zur Gültigkeit von taxonomischen Bezeichnungen müssen internationale Datenbanken, z. B. das World Register of Marine Species (WoRMS), das Integrated Taxonomic Information System (ITIS) [15] oder [16] herangezogen werden.

Es sollte auf Schlüssel und Anleitungen verwiesen werden, die sich auf das entsprechende geographische Gebiet beziehen; diese Verweisungen sollten vorzugsweise in der Arbeitssprache des Personals erfolgen. Es sollte darauf geachtet werden, die Beschreibung von Arten zu überprüfen und nicht nur mit den Abbildungen abzugleichen.

Die Liste aller durch Analytiker im Labor identifizierten Taxa sollte die Identifikationsmerkmale und entsprechenden Verweisungen in der Literatur für jedes Taxon enthalten. Von beobachteten Taxa sollten Zeichnungen oder digitale Fotos angefertigt werden, siehe 9.2. Eine Vergleichssammlung sollte durch Experten bestätigt werden, siehe 9.3. Taxa sollten niemals über das Level hinaus identifiziert werden, bei dem der Analytiker sich sicher ist.

7.2.2 Statistische Anforderungen an die Zählung

Mindestens 300 Individuen je dominantes Taxon sollten gezählt werden um sicherzustellen, dass die Standardabweichung des Zellvolumens oder der Zählheiten üblicherweise < 20 % beträgt.

Wenn die Anzahl oder die Zählheiten eines Taxons in der Probe nicht ausreichen, um die beschriebenen statistischen Mindestanforderungen zu erfüllen, müssen alle (wenige) Vorkommen dieses Taxons gezählt werden.

7.2.3 Berechnung der Abundanz

Die Abundanz (Anzahl von Individuen je Volumeneinheit) der Taxa oder taxonomischen Gruppen je m³ muss wie folgt berechnet werden:

$$\frac{Ind}{m^3} = N \frac{V_{total\ sample}}{V_{sub\ sample}} / V_{Net} \quad (1)$$

Dabei ist/sind

Ind die Individuen;

N die Anzahl der gezählten Individuen je Taxon;

V_{total sample} das Volumen der Gesamtprobe (ml);

V_{sub sample} das gezählte Volumen (Teilprobe) (ml);

V_{Net} das gesamte für die Probenahme entnommene Wasservolumen (m³).

7.3 Bestimmung der Biomasse

7.3.1 Allgemeines

Die Abundanz oder die Anzahl von Zähleinheiten der einzelnen Zooplankton-Taxa spiegelt nicht das wirkliche Verhältnis von einzelnen Taxa zur gesamten Biomasse einer Zooplankton-Gemeinschaft wider. Schätzungen der Biomasse enthalten sehr wichtige Informationen. Deshalb sollte die Biomasse von Zooplankton-Taxa bestimmt werden, insbesondere, weil Zooplankton ein wichtiges Verbindungsglied zu anderen trophischen Ebenen von Nahrungsnetzen ist.

Deshalb sollten parallel zur Bestimmung und zum Zählverfahren (siehe 7.1) die Biomasse und/oder die Kohlenstoffmasse für jedes Individuum geschätzt werden. Dies ermöglicht die Berechnung der Biomasse und/oder der Kohlenstoffmasse von verschiedenen taxonomischen Zooplanktongruppen bzw. der Gesamtprobe.

Im Idealfall sollte die Biomasse der einzelnen taxonomischen Einheiten für diese Einheiten gemessen werden. Wenn dies nicht möglich ist, muss die Biomasse basierend auf veröffentlichten Daten geschätzt werden. Die Biomasse eines Taxons muss durch Multiplikation der Biomasse der Individuen mit der Abundanz des Taxons berechnet werden. Die Gesamtbio­masse muss durch Summierung der verschiedenen einzelnen Biomassen des Taxons berechnet werden.

Wenn die Gleichung für die Kohlenstoffmasse/Länge zur Verfügung steht (siehe Anhang A), sollte die Berechnung der Kohlenstoffmasse auf Längenmessungen basieren (siehe 7.3.3), insbesondere in den Umgebungen, in denen Längen saisonbedingt (z. B. Copepoden) und aufgrund des Entwicklungsstadiums voneinander abweichen. Anderenfalls sollte die Berechnung auf durchschnittlichen Umrechnungsfaktoren für die Kohlenstoffmasse basieren (siehe 7.3.4).

7.3.2 Kalibrierung des Okularmikrometers, Zählgitters und der Bildverarbeitungssoftware

Die geforderten Maße zur Schätzung der Länge der Organismen werden mithilfe eines Okularmikrometers oder unter Anwendung einer Bildverarbeitungssoftware gemessen.

Vor der Messung müssen alle Systeme mit einem Objektmikrometer für jedes eingesetzte Mikroskop und alle bei Messungen eingesetzten relevanten Kombinationen von Objektiven, Vergrößerungen und Okularen kalibriert werden.

Die Skala handelsüblicher kalibrierter Okularmikrometer hat üblicherweise eine Länge von 1 mm (bzw. 2 mm), wobei jeder Millimeter in 100 gleiche Abschnitte unterteilt ist. Der Abstand zwischen den Teilstrichen beträgt demnach 10 µm. Durch die Überlagerung der Skala des Okularmikrometers an der Skala des Objektmikrometers oder den Zählfeldern des Zählgitters kann der Skalenwert (S) oder der Umrechnungsfaktor des Okularmikrometers für jede Vergrößerung wie folgt bestimmt werden:

$$S = \frac{n_{\text{obj}} \times 10 \text{ µm}}{n_{\text{sys}}} \quad (2)$$

Dabei ist

- S der Skalenwert (Umrechnungsfaktor) für das Okularmikrometer, in Mikrometer (µm);
- n_{obj} die Anzahl der Teilstriche des Objektmikrometers;
- n_{eye} die Anzahl der Teilstriche des Okularmikrometers oder die Anzahl der Zählfelder des Zählgitters im Okular.

Der Umrechnungsfaktor sollte auf bis zu zwei Dezimalstellen festgelegt werden. Die Abstände zwischen den Teilstrichen der Skala müssen für jedes verwendete Objektiv getrennt voneinander mit dem kalibrierten Objektmikrometer bestimmt werden.

Wenn eine Bildbestimmungssoftware angewendet wird, muss dieses Gerät mit dem kalibrierten Objektmikrometer entsprechend der Anleitung in der Bedienungsanleitung der Software getrennt für jedes Vergrößerungsverhältnis kalibriert werden.

7.3.3 Berechnung der Biomasse von Kohlenstoff basierend auf Längenmessungen

Wenn die Gleichung für die Kohlenstoffmasse/Länge zur Verfügung steht, sollte die Berechnung der Kohlenstoffmasse [$\mu\text{g C}/\text{Ind.}$] vorzugsweise auf Längenmessungen L [$\mu\text{m}/\text{Ind.}$] basieren. Die Gleichungen hinsichtlich des Zusammenhangs zwischen Länge und Masse von Kohlenstoff gilt für alle Taxa unabhängig von ihrem Entwicklungsstadium. Alle möglichen saisonalen oder regionalen umweltbezogenen Einflüsse, die einzelne Kohlenstoffmassen beeinflussen könnten, werden in diesen Gleichungen ebenfalls berücksichtigt.

Die Längen sollten mit einem Okularmikrometer oder mithilfe einer Bildverarbeitungssoftware gemessen werden. Vor dem Messen müssen beide Systeme mit einem Objektmikrometer für jedes Mikroskop gemessen werden, siehe 7.3.2. Dies gilt auch für die Objektive und Okulare.

Alle Längenmessungen müssen genormt werden, da die Längen-/Kohlenstoffverhältnisse auf einem festgelegten Messmodus basieren, siehe Anhang A. Die Messung der notwendigen Maße erfolgt, indem die zu messende Achse mit der Skala des Okularmikrometers zur Deckung gebracht werden muss.

Mindestens alle Individuen je dominante taxonomische Gruppe und je Probe müssen gemessen werden. Bei Längenmessungen von mit Formalin fixierten Proben müssen keine Schrumpffaktoren berücksichtigt werden [11].

Die einzelnen Biomassen sind wie folgt zu berechnen:

$$\text{Biomasse von Kohlenstoff} \cdot \left[\frac{\text{mgC}}{\text{Ind.}} \right] = a \cdot L^b \quad (3)$$

Dabei ist/sind

- Ind. die Individuen;
- L die Länge [μm];
- a der Koeffizient 1;
- b der Koeffizient 2.

Koeffizienten a und b siehe Anhang B.

7.3.4 Berechnung der Biomasse basierend auf Umrechnungsfaktoren für Kohlenstoff

Wenn Längenmessungen oder Beziehungen zwischen Länge und Kohlenstoffmasse nicht zur Verfügung stehen, sollten durchschnittliche Umrechnungsfaktoren für die Berechnung der einzelnen spezifischen Kohlenstoffmassen angewendet werden. Die Abundanz eines Taxons muss mit dem entsprechenden Umrechnungsfaktor multipliziert werden und dies ergibt die Kohlenstoffmassenkonzentration des Taxons [$\mu\text{g C}/\text{Ind.}$].

Die meisten Umrechnungsfaktoren stammen von Ergebnissen der schnellen Kryofixation [11]. Um die Vergleichbarkeit mit Daten sicherzustellen, die auf der schnellen Kryofixation basieren, müssen die Faktoren korrigiert werden, in dem sie mit 0,8 multipliziert werden [11]. Anhang B enthält Umrechnungsfaktoren für übliche Taxa und taxonomische Gruppen.

7.3.5 Berechnung der Biomasse basierend auf Standardgrößenklassen

Wenn ein entsprechender Faktor fehlt, sollte das Verfahren von Standardgrößenklassen [12] angewendet werden.

7.3.6 Berechnung der Biomasse basierend auf einzelnen Massenfaktoren

Biomasse basierend auf einzelnen Nassmassen:

- Biomasse kann unter Anwendung der in [7], siehe Anhang D, empfohlenen einzelnen Nassmassen geschätzt werden;
- Biomasse basierend auf einzelnen aschefreien Massen.

Es sollten die direkten Messwerte der aschefreien Trockenmasse (AFTM) einer halben Probe verwendet werden. Proben, die auf vorher gewogenen Glasfaserfiltern tiefgefroren wurden (-18 °C), sollten bei 60 °C in einem Wärmeschrank getrocknet (siehe [8], [9]) und bei 500 °C verascht werden.

8 Berichterstattung

Für die Datenberichterstattung sollten vereinbarte Datenformate angewendet werden.

Das Berichtsformular sollte mindestens die folgenden Daten enthalten:

- a) Anzahl der Proben;
- b) Name der Probenahmestation;
- c) Art des Probenahmeegeräts (bei Netzen sollte die Maschenweite angegeben werden);
- d) bei der Probenahme gesammelte Wassermenge;
- e) Probenahmetiefe (von - bis);
- f) Schleppgeschwindigkeit (m sec^{-1});
- g) Probenahmedatum;
- h) Probenvolumen, Teilprobenvolumen;
- i) Name der Person, die die Sammlung durchgeführt hat;
- j) Name der Person, die die Taxonomie durchgeführt hat;
- k) Name der Person, die die Zählung durchgeführt hat, wenn sie nicht der Person entspricht, die die Taxonomie durchgeführt hat;
- l) Auflistung von Taxa und taxonomischen Gruppen und deren Abundanzen [N/m^3] und Biomassen [$\mu\text{g C/Ind.}$].

9 Qualitätssicherung

9.1 Allgemeines

Das Qualitätssicherungs(QS)programm sollte sicherstellen, dass die Daten für den Anwendungszweck geeignet sind („fit for purpose“), für den sie gesammelt wurden. Die Ziele hinsichtlich der Sicherung der Qualität von biologischen und ökologischen Bewertungen werden in EN 14996 beschrieben. Vor Beginn der Untersuchungen sollten entsprechende, auf EN ISO/IEC 17025 basierende Qualitätssicherungsprogramme festgelegt werden.

Es ist besonders wichtig, dass entsprechende Ressourcen für diese Zwecke verwendet werden, wenn gemeinsame Studien mit mehreren Instituten durchzuführen sind, oder wenn die Daten zentral archiviert werden müssen. Es ist wichtig, dass bei der QS ebenfalls die Aussagekraft und die Versuchsanordnung enthalten sind. Deshalb müssen bei der QS so viele Schritte der Analysenkette wie möglich berücksichtigt werden, um den Beitrag jedes Schrittes zur Gesamtabweichung zu bestimmen. Das bedeutet, dass die Qualitätssicherungsverfahren alle Schritte der Zooplankton-Analyse abdecken muss, einschließlich der Probenahme, Lagerung von Proben, Analysenverfahren, Wartung und Handhabung der Geräte sowie eine lückenlose Dokumentation.

Wenn die Bestimmung der Arten, der Abundanz und die Schätzung der Biomasse durch unterschiedliches Personal im selben Institut durchgeführt werden müssen, müssen regelmäßig Vergleichsprüfungen innerhalb eines Labors durchgeführt werden. Die Präzision der einzelnen Bearbeiter sollte durch eine Anzahl von replizierten Teilproben einer Probe (künstliche Probe von einzelnen Arten) geprüft werden. Dies sollte regelmäßig erfolgen und durch Berechnung von Fehler- und Vertrauensgrenzen bewertet werden. Die Präzision innerhalb des Labors (wenn mehr als eine Person an der Analyse von Zooplankton beteiligt ist) sollte mithilfe der Analyse von replizierten Teilproben der gleichen Probe (künstliche Probe von einzelnen Arten) überprüft werden. Die Fehler- und dazugehörigen Vertrauensgrenzen werden beurteilt. Die genormte Qualitätslenkung für die Behandlung von Zooplankton-Proben im Labor umfasst die Neuzählung von mindestens 10 % der Proben. Neuzählungen müssen nach dem Zufallsprinzip ausgewählt und von einem anderen Techniker durchgeführt werden, der das ursprüngliche Verdünnungsvolumen verwendet. Die Abweichung sollte höchstens 10 % betragen. Gegenkontrollen auf nationaler und internationaler Ebene zwischen den einzelnen Probenahmeprogrammen werden empfohlen.

Es sollten die aktuellen Bezeichnungen und die gegenwärtig vorliegende taxonomische Literatur angewendet werden. Änderungen der angewendeten Namen und Literatur müssen aufgezeichnet werden. Zur korrekten Bezeichnung müssen internationale Datenbanken, wie z. B. WoRMS [13], ITIS [15] und [16] herangezogen werden.

Wenn Daten an einen gemeinsamen Datenpool geliefert werden, sollte der Datensammler an regelmäßig durchgeführten Qualitätslenkungsaudits teilnehmen, z. B. an Vergleichsprüfungen innerhalb eines Labors und dazugehörigen Taxonomie-Workshops, um einen externen Nachweis der Leistungsfähigkeit des Labors zu erbringen.

Das allgemeine Ziel besteht darin, die Qualität, Rückverfolgbarkeit und die vollständige Dokumentation von Proben von Anfang bis Ende, von der Probenahme, über den Proben transport, die Unterbringung in und Entnahme aus einem Probelager bis hin zur Probenbearbeitung, Berichterstattung und endgültigen Archivierung sicherzustellen.

9.2 Fotodokumentation

In bestimmten Fällen sollten die Proben mithilfe von Fotos mit einer Auflösung von mindestens 1 200 × 1 600 Pixel dokumentiert werden, die entsprechend archiviert werden können. Wenn möglich, sollten auf den Fotos vollständige Tiere sowie Einzelheiten zu sehen sein, die für die Bestimmung des Taxons oder des Entwicklungsstadiums von besonderem Interesse sind; deshalb sollte auf morphologische Eigenschaften der Exemplare geachtet werden, die sich deutlich voneinander unterscheiden sollten. Der vollständige Name (Gattung, Art, Autor und Jahr) der Organismen und ein Messstrahl sollten angegeben werden, wenn möglich.