

III-4.3.1

Probenahme und Analyse des Phytoplanktons in Seen und Flüssen zur ökologischen Bewertung gemäß der EU-WRRL

BRIGITTE NIXDORF, EBERHARD HOEHN, URSULA RIEDMÜLLER, UTE MISCHKE und ILKA SCHÖNFELDER

Inhalt

III-4.3.1 Probenahme und Analyse des Phytoplanktons in Seen und Flüssen zur ökologischen Bewertung gemäß der EU-WRRL

	Vorwort	3
1	Anforderungen an Probenahme in Seen zur ökologischen Bewertung der Phytoplankton-Biozönosen im Rahmen der EU-WRRL	3
1.1	Beprobung Phytoplankton in Seen	3
1.1.1	Probenahme und Beprobungsfrequenz	3
1.1.2	Zeitraum der Beprobungen und Analysenumfang	7
1.1.3	Entnahme und Konservierung der Phytoplanktonproben (Lugol-Proben)	7
2	Probenahmenvorschrift für Diatomeenproben	9
2.1	Probenahme von Diatomeen aus dem Pelagial	9
2.1.1	Variante 1: Anreicherung über Membranfiltration direkt nach der Probenahme	9
2.1.2	Variante 2: Anreicherung und Konservierung mit Formalin	9
2.2	Probenahme von Diatomeenresten im Profundalschlamm	9
3	Taxonomische Analyse und Utermöhl-Methode (Mikroskopie)	10
3.1	Geräteanforderungen	10
3.2	Probenvorbereitung	11
3.3	Anforderung an die mikroskopische Auswertung von Phytoplanktonproben	12
3.3.1	Erstellung einer Zählliste	12
3.3.2	Zählstrategie für die quantitative Auswertung	12
3.4	Bestimmung von Zellvolumina	13
3.5	Berechnung der Taxonbiovolumina	13
3.6	Präparate und Auswertung	13
3.6.1	Probenaufbereitung und Präparation der profundalen Diatomeen	14
3.6.2	Aufbereitung der pelagischen Diatomeenproben	14
3.6.3	Auszählung der Diatomeen	15
3.7	Auswertung der Phytoplanktonzählungen und Biovoluminabestimmung	16
4	Beprobung und mikroskopischen Auswertung des Phytoplanktons aus Fließgewässern zur ökologischen Bewertung im Rahmen der EU-WRRL	17
4.1	Einleitung	17
4.2	Beprobungsvorschrift Phytoplankton in Fließgewässern	17
4.2.1	Auswahl an Probestellen	17
4.2.2	Probenahme und Beprobungsfrequenz	18
4.2.3	Charakterisierung der Probestellen	19
4.2.4	Chemische und physikalische Kenndaten der Wasserproben	19
4.2.5	Entnahme und Konservierung der Phytoplanktonproben (-Lugolproben)	19
4.3	Taxonomische Analyse und Utermöhl-Verfahren (Mikroskopie) für die Bewertung von Fließgewässern	19
5	Zusammenfassung und Ausblick	20
6	Literatur	21
6.1	Zitierte Literatur	21
6.2	Vorschriften und Normen	23

III-4.3.1

Probenahme und Analyse des Phytoplanktons in Seen und Flüssen zur ökologischen Bewertung gemäß der EU-WRRL

BRIGITTE NIXDORF, EBERHARD HOEHN, URSULA RIEDMÜLLER, UTE MISCHKE UND ILKA SCHÖNFELDER

Vorwort

Die EU-Wasserrahmenrichtlinie (EU-WRRL 2000) beschäftigt Wasserforscher und Behörden in einer erfreulichen Weise: Erstmals werden ökologische und Gewässertyp bezogene Bewertungsverfahren im nationalen Rahmen entwickelt und auf europäischer Ebene angepasst. Seit 1999 sind die Autoren dieses Beitrages in Projekten zur Erstellung eines Bewertungsverfahrens für das Phytoplankton in natürlichen Seen und Flüssen eingebunden.

Für Deutschland existiert bislang keine einheitliche Vorgabe bzw. Normung hinsichtlich der Probenahme, Untersuchungsfrequenz, der quantitativen Erfassung und der taxonomischen Auflösung des Phytoplanktons. Eine gute Grundlage zur Vereinheitlichung solcher Vorgaben bildet die Technische Information Nr. 7 von HOEHN et al. (1998): „Erfassung und Bewertung von Planktonorganismen“ der Arbeitsgemeinschaft Trinkwassertalsperren e. V. (ATT) in Deutschland (ATT TI7).

Die Verfahrensentwicklung zur Bewertung und Probenahme und -aufbereitung in Seen begann mit einer umfassenden Literaturstudie zu Klassifizierungsverfahren von Seen (KNOPF et al. 2000) und Flüssen (NIXDORF et al. 2000) anhand des Phytoplanktons. Diese internationale Literaturrecherche ergab, dass zwar gute Ansätze aus anderen Ökoregionen Europas vorhanden sind, diese sich jedoch nicht einfach auf die naturräumlichen Verhältnisse in Deutschland übertragen lassen oder nicht den vielfältigen Anforderungen der EU-WRRL genügen. Folglich beauftragte die Länderarbeitsgemeinschaft Wasser die Autoren, ein WRRL-konformes Bewertungssystem zu entwickeln, das aus vorhandenen Überwachungsdaten gewonnen werden sollte. Allerdings machte die Zusammenführung dieser heterogenen Datenbestände deutlich (MISCHKE et al. 2004), wie dringend eine Vereinheitlichung der Probenahmen und der mikroskopischen Erfassung erfolgen muss, da die einzelnen Bundesländer hierfür bisher sehr unterschiedliche Strategien praktizierten. Im Abschlussbericht NIXDORF et al. (2005, 2006) und MISCHKE & BEHRENDT (2007) wurden im Ergebnis die ersten Vorschläge für ein multimetrisches Bewertungssystem mittels Phytoplankton sowie zu seiner einheitlichen methodischen Erfassung beschrieben.

In diesem Beitrag werden Anforderungen an die Probenahme, die Aufbereitung und Konservierung von Proben aus Seen und Flüssen (Kap. 2 und 4) und die mikroskopische Auswertung von Phytoplanktonproben nach einheitlichen Kriterien vorgestellt (Kap. 3).

Das vorgeschlagene Probenahmeverfahren fließt zugleich auch in die Entwicklung einer Europäischen Norm ein (CEN 2008a). Wir hoffen sehr, dass diese Zusammenfassung der Projektergebnisse als hilfreiche Anleitung zur Untersuchung und Bewertung unserer Gewässer anhand des Phytoplanktons dienen wird und sind für weitere Anregungen dankbar.

1 Anforderungen an Probenahme in Seen zur ökologischen Bewertung der Phytoplankton-Biozöten im Rahmen der EU-WRRL

1.1 Beprobung Phytoplankton in Seen

1.1.1 Probenahme und Beprobungsfrequenz

Die Seen werden nach ihren topographischen und morphometrischen Eigenschaften entsprechend der Vorgabe der LAWA (1999) an einer oder mehreren Messstellen beprobt. In der Praxis wird als Probenahmestelle in den meisten Gewässern die tiefste Stelle bevorzugt.

Die Probenahmefrequenz in Seen soll mindestens **6 x pro Jahr** in der Vegetationsperiode April bis Oktober betragen. Die Monate März und November können in Ausnahmefällen in den Beprobungszeitraum einbezogen werden (s. MISCHKE et al. 2008). Mindestens vier der Beprobungstermine müssen in der Zeit von Mai bis September liegen. Die Tiefenverteilung des Phytoplanktons ist in Seen sehr ungleich und in einem hohen Maß von der Lichtdurchdringung (euphotische Zone) und von der Temperaturschichtung abhängig. Es wird empfohlen, die Tiefenverteilung des Phytoplanktons anhand vorheriger Tiefenchlorophyllmessungen durch eine Fluoreszenzsonde (Angaben unter <http://www.tu-cottbus.de/fakultaet4/de/gewaesserschutz/infos/workshop.html>) zu ermitteln.

Die *Epilimniontiefe* (Z_{epi}) geschichteter Seen wird definiert als die erwärmte obere durchmischte Wassersäule mit relativ homogener Temperaturverteilung während der Sommersta-

gnation. Sie wird nach unten durch das Metalimnion (thermische Sprungschicht) begrenzt, dem Horizont mit der größten Temperatur bedingten vertikalen Dichteänderung in einem Standgewässer (Temperaturgradient $\geq 1^\circ/\text{m}$). Die durchlichtete Gewässerschicht, die *euphotische Zone* (Z_{eu}) errechnet sich vereinfachend aus der 2,5-fachen Sichttiefe (Bereich von 1,2–2,7-fach, REYNOLDS 1984). Sie ist in klaren Seen meist größer und in trüben Seen meist kleiner als die Epilimnionsschicht. Deshalb ist die Beprobung der euphotischen Zone in klaren Seen besser auf die vertikale Verteilung des Phytoplanktons angepasst als die Beprobung des Epilimnions. Bei der Messung der Sichttiefe (SCHWOERBEL 1994) sind störende Lichtreflexionen an der Wasseroberfläche zu vermeiden (EN ISO 7027: 1999). Bei Standorten mit größerer Höhe über der Wasseroberfläche (z. B. hohe Schiffsbordwand) hilft hier ein Sichtrohr (Secchiskop) oder Sichtkasten.

In Abhängigkeit vom Durchmischungs- und Durchlichtungsregime wird jeweils eine Mischprobe aus den folgenden Wasserschichten entnommen:

a) in *polymiktischen Seen* (z_{max} i.d.R. ≤ 10 m, in der Sommerphase liegt die Temperatur über Grund $> 8^\circ\text{C}$) aus der gesamten Wassersäule bis etwa 1 m über Grund, in tieferen Flachseen jedoch maximal bis in 6 m Tiefe, in 0,5–1 m Abständen. Dabei werden temporäre Einsichtungen bei windarmem Sommerwetter nicht berücksichtigt.

b) in *mono- oder dimiktischen Seen* (Z_{max} i.d.R. > 10 m) während der Vollzirkulation aus der durchmischten Schicht bis zur mittleren Tiefe des Sees, im norddeutschen Tiefland jedoch maximal nur bis in 10 m Tiefe. Für besonders tiefe Seen (z. B. Bayern, Baden-Württemberg) kann bei Vollzirkulation eine gesonderte Strategie zur Probenahme festgelegt bzw. beibehalten werden (0–20 m Beprobung bzw. euphotische Tiefe), bei Stagnation werden zwei Zustände für die Probenahme unterschieden (vgl. Abb. 1):

b1) in trüben Seen ($Z_{\text{eu}} < Z_{\text{epi}}$) wird bei Stagnation eine epilimnische Mischprobe entnommen.

b2) in klaren ($Z_{\text{eu}} > Z_{\text{epi}}$) Seen wird entweder eine Probe aus der euphotischen Zone (A) oder alternativ aus der epilimnischen Zone + metalimnisches Maximum (DCM = deep chlorophyll maximum) entnommen (B):

A) nur eine Mischprobe aus der gesamten euphotischen Zone oder

B) eine Epilimnion-Mischprobe sowie eine Mischprobe aus der darunter liegenden restlichen euphotischen Zone, die das Tiefenmaximum des Phytoplanktons (DCM) enthält. Gibt es im Tiefenprofil mehrere, gestaffelte Temperatursprünge, ist stets der tiefste und am meisten ausgeprägte als untere Grenze des Epilimnions maßgeblich (nicht gemeint ist hiermit jedoch ggf. die Grenze zum Monimolimnion in meromiktischen Seen). Die Abgrenzung des Epilimnions wird anhand des Wendepunktes des Temperaturkurvenverlaufes und nicht wie häufig definiert (z. B. DOKULIL et al. 2001) nach $1^\circ\text{C}/\text{m}$ Temperaturgradient vorgenommen.

Erläuterung: In klaren Seen kann das Phytoplankton unterhalb der Sprungschicht ein Maximum ausbilden, das mit einer epilimnischen Mischprobe nicht erfasst würde. Die Tiefenverteilung des Phytoplanktons kann anhand vorheriger Chlorophyllmessungen durch eine Fluoreszenzsonde ermittelt

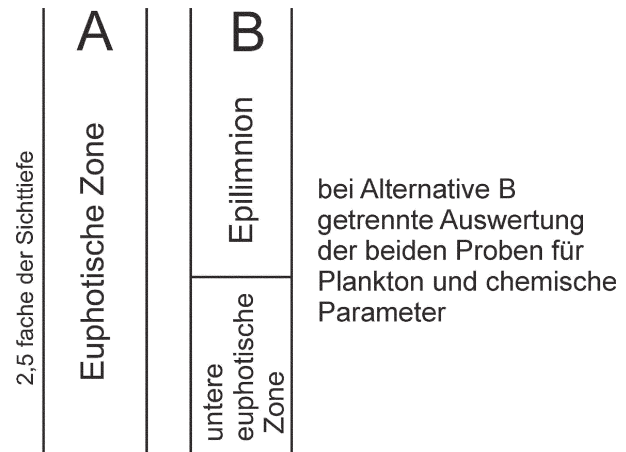


Abb. 1: Zwei Varianten der Beprobungsbereiche in „klaren“ ($Z_{\text{eu}} > Z_{\text{epi}}$) dimiktischen Seen während der Stagnationsphase

werden. In besonderen Fällen kann sich ein Tiefenchlorophyll a-Maximum (DCM) auch noch in größeren Tiefen als der 2,5-fachen Sichttiefe entwickeln, d. h. die euphotische Zone erstreckt sich bis in größere Tiefen. Vertikal wandernde Arten (z. B. *Planktothrix rubescens*) können sich in Tiefen mit extremem Schwachlicht einschichten. Diese DCM können z. B. mit einer Chlorophyll-Sonde erkannt werden, werden aber in der Routinebeprobung nach EU-WRRL nicht berücksichtigt.

Bei Schwefelwasserstoffbildung und Nährstofffreisetzungen im Hypolimnion ist wegen der Beeinflussungen (Anreicherungen) der chemischen Proben mit den freigesetzten Nährstoffen die epilimnische Mischprobe vorzuziehen oder die chemische Probenahme von der biologischen zu entkoppeln, d. h. chemische Probenahme aus dem Epilimnion; Phytoplanktonprobe aus der euphotischen Zone.

Es ist unbedingt zu beachten, dass die während der Stagnationsphasen auftretenden Sauerstoffmaxima unterhalb des Epilimnions mit erfasst werden. Andererseits darf die euphotische Probe nicht in das sauerstofffreie Hypolimnion hineinreichen. In der Phytoplanktonprobe können dadurch Artefakte auftreten, wie z. B. eine zu hohe Dichte an organischen Partikeln oder Schwefelbakterien, die die mikroskopische Bearbeitung behindern. In solchen Proben kann der Anteil schlecht erhaltener Planktonalgen hoch sein, wobei unklar ist, ob dies auf eine schlechte Fixierung zurückzuführen ist oder ob es zu einer Anreicherung bereits abgestorbener und in das obere Hypolimnion sedimentierter Planktonalgen in der Probe kommt. Die Fixierung solcher Proben kann möglicherweise auch durch einen hohen Gehalt an Schwefelwasserstoff (H_2S) beeinträchtigt sein. Die euphotische Zone sollte daher in Seen mit meta- oder hypolimnischen Sauerstoffmaxima nicht tiefer als einen Meter über das O_2 -Maximum hinaus beprobt werden, wenn in dieser Tiefe dann bereits kein Sauerstoff mehr gemessen wird. In Seen ohne ausgeprägtes Sauerstoffmaximum sollte die tiefste Probeentnahme auf jeden Fall 1 m über der sauerstofffreien Schicht enden.

Zu Variante B: Eine getrennte mikroskopische Auszählung und chemische Analytik dieser beiden Proben wird empfoh-

len, da damit eine Vermischung der Plankter aus dem Tiefen-chlorophyllmaximum (DCM) mit denen aus dem Epilimnion verhindert wird. Gleichzeitig wird damit eine LAWA-Trophie-Index konforme Auswertung ermöglicht, da für diese das Epilimnion gefordert ist (LAWA 1999). Zur Reduzierung des Arbeitsaufwandes für die mikroskopische Analyse ist eine Tiefen gewichtete Vermischung der beiden Proben für das Bewertungsverfahren mittels Phytoplankton zulässig (entspricht dann Variante A).

Die Probenahme erfolgt unter Verwendung herkömmlicher Schöpfertypen (Friedinger- oder Van-Dorn-Fallschöpfer, Limnos-Schöpfer). Ruttner-Schöpfer sind wegen Einströmbehinderungen aufgrund der horizontalen Deckelstellung nicht für die Schöpfprobenahme geeignet. Volumengewichtete Mischproben sind wegen der Berücksichtigung der morphometrisch bedingten Volumenanteile innerhalb der einzelnen Tiefenlamellen einer Mischprobe aus gleichen Tiefenanteilen vorzuziehen, aber in der wasserwirtschaftlichen Routine oft nicht zu realisieren. Deshalb wird folgende Verfahrensweise des Mischprobenansatzes vorgeschlagen: Polymiktische Flachseen und Epilimnia mit geringerer Tiefe in dimiktischen Seen mit Ausdehnungen bis in ca. 5 m, maximal 6 m Wassertiefe werden in 0,5–1 m Schritten beprobt. Tiefe Seen können während der Vollzirkulation in Abhängigkeit von der Tiefe in 0,5–2 m-Intervallen beprobt wer-

den, wobei äquidistante Abstände eingehalten werden müssen. Bei nicht äquidistanten Proben-Abständen müssen die Aliquotvolumen entsprechend gewichtet werden, was immer gewisse Fehler mit sich bringen kann.

Die entnommenen Proben aus den einzelnen Tiefenstufen werden in einem Gefäß (Kanister, Eimer) gesammelt. Zuvor muss die Gesamtmenge aller Proben, die als Mischproben über diesen Tiefenbereich abgefüllt werden sollen, bekannt sein.

Wir empfehlen eine Mindestentnahme von 2 L für Chlorophyll, 1 L Lebendprobe bzw. für Diatomeenpräparation, 250 mL Phytoplankton mit Lugol'scher Lösung fixiert, 2 L Nährstoffproben = 5,25 L Gesamtmenge. Dazu sollte eine Reserve und Spülwasser in der gleichen Größenordnung eingerechnet werden, so dass mindestens 10 L Probewasser entnommen werden. Dieses Sammelgefäß soll möglichst im Schatten stehen oder abgedeckt werden. Durch vorsichtiges, gleichmäßiges Umrühren (Empfehlung ca. 2 min) wird die Mischprobe in dem Gefäß homogenisiert, um eine gleichmäßige Verteilung der Algensuspension zu gewährleisten. Die biologischen (Phytoplankton, Chlorophyll-a) und chemischen (Nährstoff-) Proben werden anschließend mit einem Messbecher in die einzelnen Probegefäße gefüllt. Es empfiehlt sich, die Probemenge großzügig zu kalkulieren und das „Restwasser“ für unvorhergesehene Störfälle in das Labor zu transportieren.

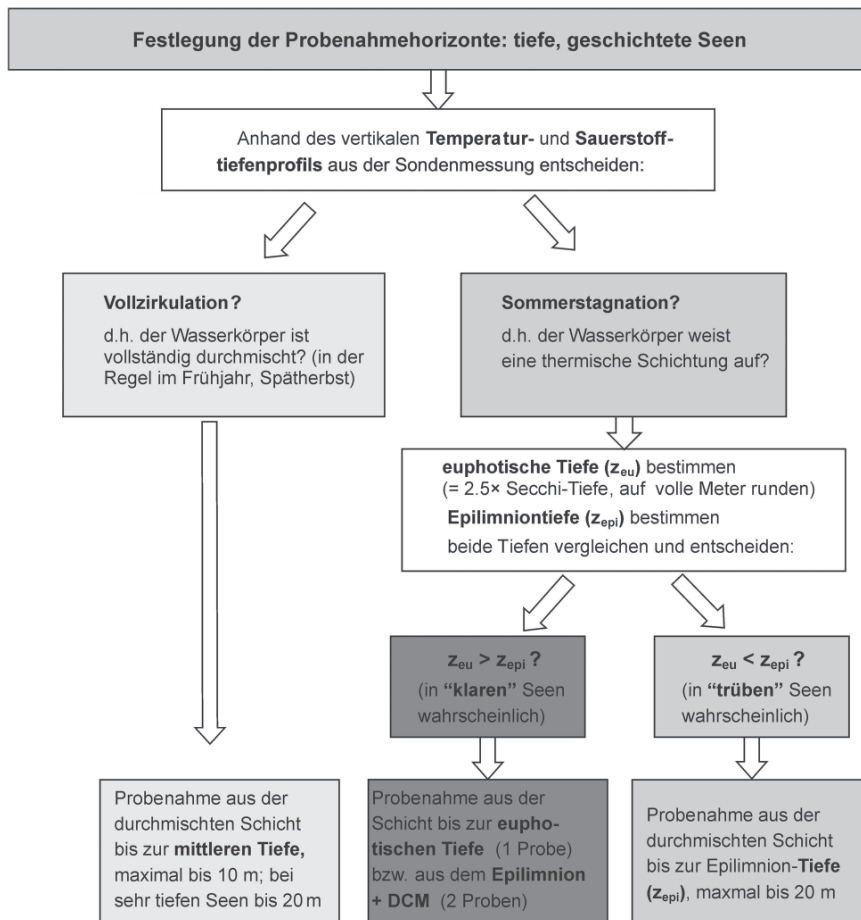


Abb. 2: Probenahmeschema für tiefe, geschichtete Seen

Als optimale Methode wird die Misch-Probenahme mit einem integrierenden bzw. summierenden Schöpfer empfohlen, weil damit die Mischprobe stufenlos genommen und somit lückenlos und zeitsparend erzeugt wird. Folgende Integrationsschöpfer werden häufig verwendet:

- *Summenschöpfer System UWITEC*: Der von Fa. UWITEC (Mondsee, Österreich) entwickelte Summenschöpfer arbeitet nach dem Kolbenhubprinzip. 5 L Probenmenge werden mit einem Kolben in den Schöpfer gesaugt. Der Kolben wird über Zahnräder entsprechend der abgewickelten Kettenlänge (= Absenktiefe) bewegt. Es sind 20 m (250 mL/m) oder 10 m (500 mL/m) als Arbeitstiefe möglich. Der Schöpfer kann auch hypolimnische Mischproben bilden.
- *Summenschöpfer System Schröder*: Der Wasserschöpfer (nach SCHRÖDER 1969) dient der lückenlosen Entnahme von vertikalen Sammelproben von der Oberfläche bis zu Tiefen von maximal 21 m. Der Sammler besteht aus einem unten offenen und oben geschlossenen Zylinder aus organischem Glas. In diesem Zylinder befindet sich ein Hohlkörper von hyperbolischer Trichterform, der am Zylinderdach befestigt ist. Beim langsamen Eintauchen des Gerätes dringt Wasser in den Zylinder und durch ein geöffnetes Ventil in den Trichter ein. Durch die hyperbolische Trichterform erfolgt das Eindringen proportional zur Tiefe. Die eingeschlossene Luft wird ebenso in Abhängigkeit von der Tiefe komprimiert. Beim raschen Herausziehen schließt das vorbeiströmende Wasser das Ventil. Das in den Trichter eingedrungene Wasser bleibt zurück. Die im Trichter und Zylinder komprimierte Luft drückt das in den Zylinder eingedrungene Wasser heraus und strömt zum Teil selbst aus. Der Zylinder wird wegen seines Auftriebes in ein Metallgestell eingebaut. Die zulässige Sinkgeschwindigkeit: ist < 1 m/s. Das Entnahmenvolumen beträgt 40 mL/m. Der Schöpfer wurde früher bei der Firma Züllig (Schweiz) hergestellt.
- *Summenschöpfer System Hydrobios*: Fa. Hydro-Bios hat einen sog. „intelligenten Wasserschöpfer“ entwickelt, der

als integrierender Wasserschöpfer einzusetzen ist. Dieser arbeitet mit dem Kolbenprinzip und hat 5 L Volumen, mit einer elektronischen Steuerung, welche die Einsatzmöglichkeiten wesentlich erweitert. Die Elektronik wurde als Ableger aus den ozeanographischen Geräten von Hydro-Bios entwickelt und ist dort seit vielen Jahren dauerhaft im Einsatz. Es kann in einem Einsatz ein integrierendes Profil bis 100 m Wassertiefe gefahren werden, es können frei wählbare Anfangs- und Endtiefen eingestellt werden, aus denen dann jeweils das ganze Volumen als Probe zur Verfügung steht. Der Schöpfer muss dabei langsam abgesenkt werden. Die gewünschte Probentiefe wird vor dem Einsatz über ein wasserdichtes Handheld eingegeben und der Schöpfer ins Wasser gelassen. Die Elektronik steuert die Probenahme druckabhängig, damit immer das gleiche Volumen über die Wassersäule aufgenommen wird. Dadurch wird die Probenahme aus verschiedenen Tiefen sehr einfach und muss evtl. auch nicht zusammengemischt werden. Falls dauerhaft mehr oder weniger als 5 L Probenvolumen gewünscht sind, kann der Schöpfer auch mit anderem Volumen hergestellt werden.

- *Rohrschöpfer System Pauli*: Von Pauli (Limnol. Inst. Univ. Konstanz) entwickelter Wasserschöpfer zur Gewinnung einer Mischprobe der kompletten Wassersäule. Längen in 1 m oder 2 m. Man arbeitet sich in 1 m- bzw. 2 m-Stufen von oben nach unten durch die Wassersäule und sammelt die kompletten Schöpferinhalte auf dem Boot in einem größeren Sammelgefäß (20–40 L). Zwei Vollgummibälle verschließen das Rohr, indem sie durch ein Zuggummi auf die Rohrenden gepresst werden. Die Gummibälle werden herausgezogen und auf eine Spannvorrichtung gehängt, die in der entsprechenden Tiefe durch ein Fallgewicht ausgelöst wird. Schöpferinhalt je nach Länge und Durchmesser des Rohres ca. 1,7–3,5 L. Es gibt keine kommerziellen Hersteller, Einzelanfertigungen werden auf Anfrage bei Julius Pietruske, Institut für Seenforschung Langenargen, realisiert.

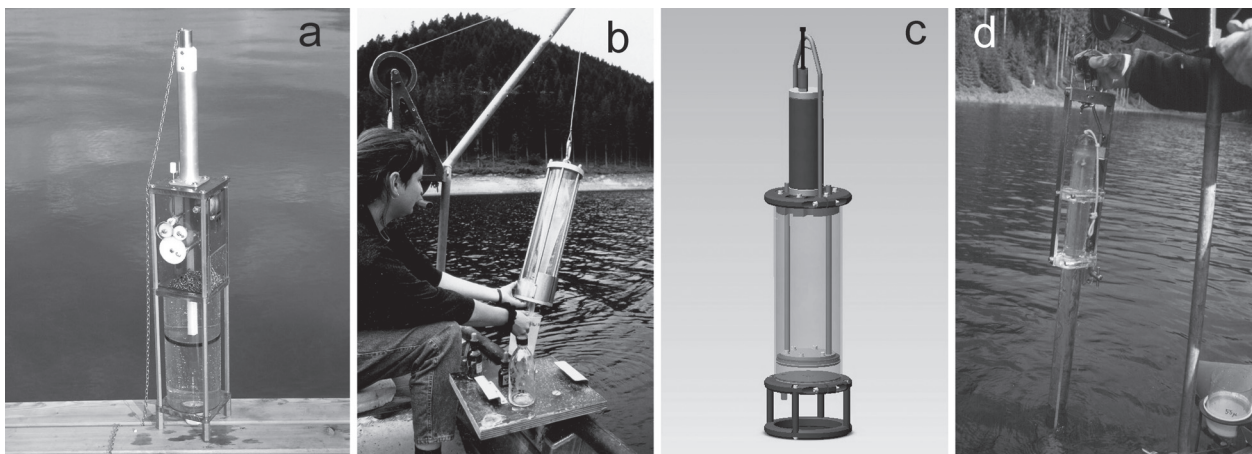


Abb. 3: Entnahme integrierter Wasserproben: a. Summenschöpfer UWITEC (Mondsee, Österreich, www.uwitec.at) Foto: R. Niederreiter; b. Summenschöpfer System Schröder, Foto: B. Rapp; c. Summenschöpfer Hydro-Bios (HYDRO-BIOS GmbH, Kiel-Holtenau, Deutschland, www.hydrobios.de), Foto: J. v. Borries & U. Fischer; d. Rohrschöpfer (nach Pauli), Foto: S. Schmidt-Halewicz

Probenahmen mit Stechrohren und Schläuchen mit Pumpen sollten wegen der schlechten Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit anderen Methoden nicht durchgeführt werden.

1.1.2 Zeitraum der Beprobungen und Analysenumfang

Da das Phytoplankton hinsichtlich Artenzusammensetzung und Dichte kurzfristig stark schwanken kann und in vielen Seen die hinsichtlich Störungsfaktoren empfindlichste Lebensgemeinschaft darstellt, sollte es nach Möglichkeit zumindest im ersten Bewirtschaftungszeitraum mehrere Jahre (möglichst 3–5 Jahre hintereinander) untersucht werden. Damit kann eine Einschätzung über die Schwankungsbreite dieses Parameters vorgenommen und somit eine größere Sicherheit hinsichtlich der Bewertung und zukünftiger Entwicklungstrends erzielt werden.

Zusammen mit dem Phytoplankton müssen chemische und physikalische Parameter erfasst werden, um die Phytoplanktonergebnisse auf der Basis von Kausalanalysen interpretieren zu können (s. Tab. 1).

In der Regel sollten vor Ort Temperatur, Sauerstoffhaushalt (Konzentration und Sättigung), pH-Werte, Leitfähigkeiten und das Redoxpotenzial im Vertikalprofil gemessen werden. Es sollten stets anerkannte aktuelle DIN-/EN-/ISO-Normen Anwendung finden. Die Angabegenauigkeit (signifikante Stellenzahl) richtet sich nach den entsprechenden Vorgaben in den entsprechenden Methodennormen. Werden Messmethoden verwendet, deren Bestimmungsgrenzen oberhalb der in der Tabelle angegebenen Werte liegen, dürfen diese nur verwendet werden, solange die damit alle erzielten Messergebnisse deutlich oberhalb deren jeweiligen spezifischen Bestimmungsgrenze liegen. Werden mit unempfindlicheren Messmethoden Werte unterhalb deren Bestimmungsgrenze gefunden, müssen empfindlichere Methoden gewählt werden. Insbesondere bei nährstoffarmen sowie ionenarmen Gewässern ist stets die empfindlichste Methode zu verwenden.

Für H_2S erfolgt die Vor-Ort-Analytik aus der Wasserprobe 0,5 m über dem Seeboden. Dabei sollte ein Reagenziensatz zur Vor-Ort-Bestimmung mit einem Messbereich von 0,1–5,0 mg/L eingesetzt werden, z. B. ein Microquant Reagenziensatz (Merck 1.14777.0001). Bei höheren Schwefelwasserstoffkonzentrationen sind die Wasserproben vor der Bestimmung mit destilliertem Wasser zu verdünnen (z. B. 1:2) und die Konzentration entsprechend zu berechnen. Bei Anoxie im Hypolimnion ist zumindest der qualitative Nachweis der H_2S -Konzentration erforderlich. Dies erfolgt durch die Wahrnehmung eines Geruchs wie „faule Eier“. Der olfaktorische Sinn des Menschen (Nase) hat eine niedrigere Nachweisgrenze für Schwefelwasserstoff als die meisten chemischen Analyseverfahren.

Nährstoffe, hier vor allem die Konzentrationen der gelösten anorganischen sowie die Gesamtkomponenten des Phosphors, Stickstoffs und Siliziums sind aus den Unterproben der Mischungsansätze (epilimnische oder euphotische bzw. Mischprobe bis zur mittleren Tiefe des Sees) zu analysieren und entsprechend der standardisierten Methoden zu erfassen. Die chemischen Analysen können ggf. auch konventio-

nell als (genügend hoch aufgelöstes) Tiefenprofil erhoben werden, sofern damit zugleich die Untergrenze des Epilimnions bzw. der euphotischen Tiefe genau erfasst wird. Die Bestimmung von Chlorophyll-a muss jedoch immer aus derselben Mischprobe wie für das Phytoplankton erfolgen (Tab. 1). Es sollte sichergestellt sein, dass die Proben möglichst noch am selben Tag im chemischen Labor eingehen und die Analysen spätestens am Morgen des nächsten Tages beginnen. Die Filtration (Chlorophyll, Nährstoffe) sollten noch am besten am Tag der Probenahme durchgeführt werden.

Bei eutrophen dimiktischen Gewässern ist für die trophische Einschätzung der Seen die Kenntnis der hypolimnischen Phosphor-, Ammonium- und Schwefelwasserstoffkonzentrationen von großer Bedeutung. In geschichteten Seen sollten deshalb zumindest möglichst am Ende der Stagnation vertikale Nährstoffprofile bestimmt werden, da die Intensität der P-Freisetzung trophierelevante Stoffumsetzungen widerspiegelt. Als Alternative können auch Proben während der Sommerstagnation bei jeder Probenahme 0,5–1 m Proben über Grund genommen werden. Die „kleinste“ Lösung ist die Entnahme einer über Grund-Probe am Ende der Sommerstagnation, um Angaben zur maximalen Konzentrationsanreicherung von Nährstoffen zu erhalten.

1.1.3 Entnahme und Konservierung der Phytoplanktonproben (Lugol-Proben)

Die Mischproben aus der Beprobung der einzelnen Tiefenstufen bzw. aus dem Summschöpfer werden sanft gemischt (Rühren). Dabei ist darauf zu achten, dass jedes Umfüllen der Wasserprobe in Messbecher und jedes Umschütten den pH-Wert der Probe verändern kann. Dies kann zum Zerplatzen der unfixierten Zellen und zum Auseinanderfallen der Kolonien von Flagellaten und anderen sensiblen Arten führen. Der Inhalt des Summschöpfers muss vor der Probenabfüllung vollständig in ein Gefäß gegeben werden, damit mögliche Schichtungen der Probe im Schöpfer beseitigt werden. Mit einem Messbecher wird eine Teilprobe aus der gut durchmischten Gesamtprobe entnommen und eine Teilmenge des Messbecherinhaltes zur Spülung verworfen. Die Phytoplanktonproben werden in Enghals-Klarglasflaschen nur bis 1–2 cm unterhalb der Öffnung bzw. zu 80–90 % gefüllt, um die spätere Homogenisierung der Probe zu ermöglichen. Ein Überfüllen der Flaschen führt dazu, dass die Probe zur Teilprobenentnahme nicht homogen suspendiert (aufgeschüttelt) werden kann.

Die Entnahme und Abfüllung von Phytoplanktonproben aus der Mischprobe erfolgt aus eu- bis hypertrophen Seen in 100 mL Klarglasflaschen, und bei oligo- bis eutrophen Seen in 250 mL Klarglasflaschen.

In sehr klaren Gewässern mit einer Sichttiefe über 10 m müssen 500 mL der Mischprobe entnommen werden. Die Probe wird in der Glasflasche mit einer alkalischen Lugol'schen Lösung mit Na-Acetat fixiert (mod. nach UTERMÖHL 1958). Generell gilt bei der Abfüllung der Phytoplanktonproben: Im Zweifelsfall eher größere Volumina fixieren!

Herstellung von Lugol'scher Lösung: 10 g Kaliumjodid werden in 20 mL Wasser gelöst und dazu 5 g Jod (doppelt subli-

Tab. 1: Physikalisch-chemische und biologische Parameter bei der Probenahme des Phytoplanktons in Seen

Parameter	Probstellen: tiefste Stelle im See	Methode	Bestimmungsgrenzen
Temperatur, O ₂ (Pflichtparameter)	Sondenmessung: in m-Stufen bis 20 m, unterhalb 20 m: 2–5 m-Stufen möglich	Tiefen-Sonden	0-35°C; 0,0 mg/L
Sichttiefe (Pflichtparameter)		Secchi-Scheibe	mind. 15 cm, max 20 m
Lichtklima: Attenuation	In Flachseen in 0,5–1 m-Stufen In tiefen Seen in m-Stufen bis ca. 3* SD	Photonenflussdichte mit sphärischem Quantensensor	
pH-Wert, Leitfähigkeit	Tiefensonden oder auch aus Schöpferproben möglich, im Epi- und Metalimnion in m-Stufen, unterhalb Metalimnion 2–5 m-Stufen möglich	Elektrometrie	pH 3-12.; 5 µS/cm
Redoxpotential	Tiefensonden oder auch aus Schöpferproben möglich, im Epi- und Metalimnion und an der Grenze zur Anoxie in m-Stufen, unterhalb der chemischen Sprungsschicht 2–5 m-Stufen	Elektrometrie	
o-PO ₄ -P	epilimnische/euphotische Mischproben lt. Probenahme, Hypolimnion, über Grund	Photometrie	2 µg/L
Gesamt-P (Pflichtparameter)		Photometrie	5 µg/L
NH ₄ ⁺ -N		Photometrie	5 µg/L
NO ₂ ⁻ -N		Photometrie	2 µg/L
NO ₃ ⁻ -N		IC/Photometrie	0,02 mg/L
H ₂ S	Hypolimnion, über Grund	Qualitativer Nachweis (Geruchsprobe/Bleiacetat- papier), quantitativer Nachweis mit Schnelltest	0,1 mg/l
Gesamt-N (Kjeldahl-N)	epilimnische/euphotische Mischproben lt. Probenahme, Hypolimnion, über Grund	Aufschluss unter Rückfluss- kühlung NH ₄ , Photometrie	0,05 mg/L
SiO ₂ -Si	epilimnische/euphotische Mischproben lt. Probenahme, Hypolimnion, über Grund	ICP / AES	0,05 mg/L
Ca	epilimnische/euphotische Mischproben lt. Probenahme, Hypolimnion, über Grund	ICP / AES	0,5 mg/L
Mg	epilimnische/euphotische Mischproben lt. Probenahme, Hypolimnion, über Grund	ICP / AES	0,5 mg/L
Säurekapazität pH 4,3	epilimnische/euphotische Mischproben lt. Probenahme, Hypolimnion, über Grund	Titrimetrie	0,05 mmol/L
Chlorophyll-a (Pflichtparameter)	epilimnische/euphotische Mischproben lt. Probenahme	Photometrie	0,1 µg/L
Phytoplankton (Pflichtparameter)	epilimnische/euphotische Mischproben lt. Probenahme	Utermöhl: ATT TI7 und Spezi- fikationen in dieser Arbeit	-
Diatomeenanalyse (Pflichtparameter)	epilimnische/euphotische Mischproben lt. Probe- nahme, regelmäßig. Aus dem Profundalsediment, einmalig	diese Arbeit	-

miert) hinzugefügt. Nach gänzlicher Lösung erfolgt die weitere Zugabe von 50 mL Wasser und 5 g Natriumazetat und Aufbewahrung in 100 mL-Enghalsfläschchen aus Neutralglas mit einem eingeschliffenen, gut passenden Glasstopfen oder Augentropfenpipettenfläschchen aus der Apotheke. Die im Chemikalienhandel vertriebene Lugol'sche Lösung z. B. von MERCK/VWR ist hierfür nicht geeignet, da diese eine zu geringe Konzentration aufweist, wodurch die Probe zu sehr verdünnt würde.

Es werden auf 240 mL Probe zunächst 8–10 Tropfen (ca. 0,5 mL) der konzentrierten Lugol'schen Lösung als Fixierungsmittel zugegeben und die verschlossene Flasche sanft zur Vermischung geschwenkt bis sich eine cognacfarbene Fixierung ergibt. Falls die Färbung dann noch zu hell ist, müssen ggf. noch einige Tropfen zugegeben werden. Eine cognacfarbene Fixierung ist die Zielgröße und nicht eine bestimmte Tropfenanzahl. Die mit Lugol fixierten Proben dürfen beim Transport nicht in direkter Sonne stehen und sich nicht erwärmen.

Hinweis zur Probenaufbewahrung: Die mit Lugol fixierten Phytoplanktonproben sollen in den Enghals-Glasflaschen (4°C, frostfrei) und im Dunkeln nicht länger als sechs Monate bis zur Auswertung aufbewahrt werden (s. EN 15204). Der nach EN 15204 vorgesehene Zusatz von Formaldehyd für längere Lagerzeiten kann aus Gründen des deutschen Arbeitsschutzes nicht empfohlen werden. Die Proben sollten möglichst erschütterungsfrei gelagert werden. Die Flaschen sollten wegen der Gefahr undichter Verschlüsse sowie Verringerung der Diffusion von Jod durch den Kunststoffdeckel aufrecht lagern. Wegen der Jod-Diffusion durch die Wände, sowie dem damit verbundenen Verlust der Durchsichtigkeit der Flaschen dürfen keine Kunststoffflaschen verwendet werden.

Flaschen aus Klarglas sollten genommen werden, um bei Lagerung die Färbung bzw. Entfärbung der Probe kontrollieren zu können. Bei Entfärbung müssen die Proben nachfixiert werden. Vorsicht, nicht zu stark nachfixieren (cognacfarben).

Für eine optimale taxonomische Bestimmung kann es nützlich sein, eine Lebendprobe (mind. 500 mL, kühl und dunkel halten!) zur späteren Anreicherung in Utermöhlkammern zu entnehmen, wenn diese spätestens am Tag nach der Probenahme vom mikroskopischen Bearbeiter analysiert werden kann. Die Entnahme einer Netzprobe (20–30 µm) als Lebendprobe wird ebenfalls empfohlen, wenn diese spätestens am Tag nach der Probenahme mikroskopisch ausgewertet werden kann. Lugol-fixierte Netzproben (10 µm) sollten für das Erkennen von Entwicklungsstadien entnommen werden, da hierdurch seltenere Formen angereichert werden.

2 Probenahmenvorschrift für Diatomeenproben

2.1 Probenahme von Diatomeen aus dem Pelagial

2.1.1 Variante 1: Anreicherung über Membranfiltration direkt nach der Probenahme

Für die Analyse der pelagischen Diatomeen wird eine Filtration vor Ort bzw. anschließend im Labor vorgenommen.

Dazu werden bei Sichttiefen unter 2 m 500 mL und bei Sichttiefen über 2 m 1000 mL aus der integrierten Probe filtriert. Sollte der Filter schon bei geringeren Probenvolumina verstopfen, so ist dieses geringere Volumen ausreichend, sofern sich bereits ein deutlicher brauner oder grün-brauner Belag auf dem Filter gebildet hat. Sind dies aber weniger als 400 mL, sollte die Probe auf zwei oder mehr Filter verteilt werden. Das filtrierte Volumen ist zu protokollieren. Für die Filtrationen können Membranfilter, Celluloseacetatfilter oder Cellulosenitratfilter verwendet werden. Die Filter sollten einen Porendurchmesser $\leq 2 \mu\text{m}$ haben. Die Filter werden in beschrifteten Petrischalen trocken gelagert (nicht im Kühlschrank). Bei der späteren Präparation werden diese Filter im Becherglas zuerst mit H_2O_2 behandelt, wobei sich dabei die Algenbeläge vom Filter ablösen. Anschließend erfolgt der Aufschluss mit KMnO_4 und HCl (vgl. Kap. 3.5.2)

2.1.2 Variante 2: Anreicherung und Konservierung mit Formalin

Alternativ werden bei Sichttiefen unter 2 m 500 mL, bei Sichttiefen über 2 m 1000 mL Probe ins Labor gebracht und dort in Klarglasflaschen zur Sedimentation mindestens 32 h (maximal 48 h) kühl, dunkel und erschütterungsfrei (aufrecht) aufbewahrt. Danach ist die Flasche nur noch vorsichtig zu bewegen, um das Sediment nicht mehr aufzuwirbeln. Anschließend wird der Überstand vorsichtig abgesaugt (dazu eine Pasteurpipette über einen Silikonschlauch anschließen). Das Pipettenende ist dabei immer kurz unter den Flüssigkeitsspiegel zu halten und mit dessen Absinken flüssigkeitszuführen. Das nach diesem Vorsedimentationsprinzip (s. ATT T17) auf 50–100 mL eingeeengte Probenkonzentrat wird anschließend mit Formalin (5 % Endkonzentration) fixiert. Diese fixierten Proben können dann bis zur Präparation der Diatomeen ca. 1 Jahr gelagert werden.

Wenn eine Lebendprobe genommen wurde, kann von diesem Material sofort anschließend unfixiert der Aufschluss (s. Kap. 3.5.2) durchgeführt werden, wodurch der Einsatz von Formalin entfällt (Arbeitsschutz).

2.2 Probenahme von Diatomeenresten im Profundalschlamm

Die Schalen der im Freiwasser, am Gewässergrund und auf Makrophyten wachsenden Diatomeen bilden wesentliche Bestandteile der sich am Seegrund bildenden Sedimente. Die Murde an der tiefsten Stelle eines Sees enthält eine zumeist gut zeitlich geordnete Abfolge der Diatomeenflora des Sees. Eine Probe aus dem obersten Zentimeter des Profundalschlammes von der tiefsten Stelle eines dimiktischen Sees enthält durchschnittlich ca. 80 % planktischer und ca. 20 % benthischer Formen. In polymiktischen Seen kann der Anteil benthischer Formen überwiegen.

Aus der Zusammensetzung der Diatomeenreste von Profundalproben lassen sich Rückschlüsse auf die mittleren Nährstoffkonzentrationen im Pelagial und im Benthos des Sees und damit auf die Trophie des Untersuchungsgewässers zie-

hen. Für die Untersuchung der Diatomeen im Profundalschlamm genügen ca. 10 mL halbflüssigen Materials (sog. Präsediments) von der Sedimentoberfläche. Der oberste Zentimeter integriert in etwa die Diatomeen der letzten 3 (2–6) Jahre. Insofern sollten Probenahmen aus allen Jahreszeiten zu gleichen Ergebnissen führen und der Zeitpunkt der Probenahme während der Saison kann beliebig gewählt werden. Es wird trotzdem empfohlen, die Probenahme im Spätherbst nach der letzten Phytoplanktonbeprobung durchzuführen, um eine bessere Vergleichbarkeit zu den pelagischen Diatomeen des jeweiligen Untersuchungsjahres zu erzielen.

Die Probenahme erfolgt von einem Boot aus, das über der tiefsten Stelle des Sees verankert wird. Sehr gut geeignet zur Entnahme von Profundalproben sind Röhrensammler. Diese bestehen aus einem möglichst durchsichtigen Kunststoffrohr (Polyethylenterephthalat („Makrolon“), PVC oder Plexiglas), das auf mindestens 20–30 cm Länge senkrecht ins Sediment eingedrückt wird. Der Durchmesser des Rohrs sollte mindestens 4 cm betragen, damit ein möglichst großer Zentralbereich des Sedimentkerns ungestört bleibt und nicht durch Wandreibung beeinflusst wird. Entscheidend ist, dass das Kunststoffrohr vor dem Herausziehen aus dem Sediment verschlossen wird. Bei Sedimentstechern mit langen Rohren und lediglich oberseitigem Verschluss, wie sie in Flachseen zum Einsatz kommen können, ist es hilfreich, das Rohr bis in die stärker verfestigte Mudde zu drücken. Diese bildet einen relativ festen Pfropfen am Boden des Rohrs und verhindert in Verbindung mit dem hydraulischen Dichtschluss der Oberkante das Herausrutschen des Sedimentkurzkerns. Die Eintauchtiefe des Rohrs in das Sediment sollte jedoch nur soweit reichen, dass ein Wasserüberstand von mindestens 3 cm über dem frischen Präsediment immer im Rohr verbleibt. Bei beschwerten Fallrohren (z. B. UWITEC-Corer der Fa. Niederreiter, Mondsee oder Piston-Corer), wie sie gewöhnlich in tiefen Seen zum Einsatz kommen, ist zusätzlich ein unterer Verschlussmechanismus wichtig, damit der Sedimentkurzkern ungestört ins Boot gebracht werden kann. Eckman-Birge-Greifer sind für diese Beprobung grundsätzlich nicht geeignet.

Entnommen wird eine Menge von ca. 10 mL frischen halbflüssigen Grundschlamm vom Zentrum der obersten Zentimeterlamelle des Bohrkerns, wozu am besten ein Sedimentkernteiler von UWITEC verwendet wird, der das feine Abtrennen der obersten Lage (1 cm) ermöglicht. Notfalls kann ein Esslöffel aus Edelstahl zur Probenentnahme verwendet werden. Die Sedimentoberfläche darf im Corer nicht direkt an der Oberkante des Rohrs anstehen. Zur Probenentnahme muss dann die Oberkante des Sedimentkerns mit einem entsprechenden Stempel mit größter Vorsicht langsam von unten bis zur Rohroberkante empor gedrückt werden.

Nur die ca. 10 mL der halbflüssigen Probe werden ohne zusätzliches Wasser in einen in jedem Drogeriefachgeschäft erhältlichen Polyethylen-Gefrierbeutel mit einem Fassungsvermögen von ca. 1 Liter gefüllt. Dieser wird nach dem Einfüllen der Probe fest zugeknötet, wobei möglichst wenig Luft eingeschlossen bleiben sollte. Der verknötete Beutel wird in einen zweiten gleich großen Gefrierbeutel gegeben. Bevor

dieser ebenfalls verknötet wird, wird ein ca. 5 x 8 cm großes Etikett aus stabilem weißem Laserdruckerpapier mit Bleistift (Härtegrad B) beschriftet und zwischen die beiden Beuteltümpel so platziert, dass es von außen möglichst lesbar ist. Auf dem Etikett notiert werden sollten der Name des Sees mit dem nächstgelegenen größeren Ort, die Probenahmetiefe, das Probenahmedatum und möglichst auch der Name des Sammlers, in der Form des nachstehenden Beispiels:

Scharmützelsee (BB)
Profundalschlamm aus 29 m Tiefe
12.03.2008
leg. I. Henschke, BTU Gew.Schutz

Die Proben sollten kühl (< 10 °C) und stoßfrei in einem stabilen, innen glatten oder gepolsterten Gefäß transportiert werden. So können weit über 20 Beutel mit Proben zusammen in einem Behälter transportiert werden, die sich gegenseitig stabilisieren und schützen.

Die doppelt eingetüteten, verknöteten Proben werden samt eingeschlossenem Etikett im Gefrierschrank aufbewahrt und sind darin praktisch unbegrenzt haltbar. Vor der Aufbereitung sollten sie möglichst nicht aufgetaut werden. Am zweckmäßigsten ist es, nach Entfernung der Gefrierbeutelhülle den gefrorenen Schlammwürfel direkt in das für die Probenaufbereitung vorgesehene Becherglas zu geben, in dem später der saure Aufschluss erfolgen soll.

3 Taxonomische Analyse und Utermöhl-Methode (Mikroskopie)

Für das Bewertungsverfahren wird eine quantitative Bestimmung des Phytoplanktons in Sedimentationskammern mit Diametralzählung (auch Transekt- oder Streifenzählung genannt) nach der Utermöhl-Methode (UTERMÖHL 1958) an einem inversen Mikroskop gefordert (s. EN 15204).

3.1 Geräteanforderungen

Die mikroskopische Ausrüstung sollte mindestens folgenden Umfang haben:

- Umkehrmikroskop (s. EN 15204) mit Objektträgertisch zur Aufnahme von Sedimentationszählkammern mit einem Durchmesser von 25–27 mm
- Fototubus mit Ausgang für Foto- bzw. Video- oder Digitalkamera
- 10- bis 12,5-fach Okulare mit einem Zählfeld oder einem verstellbaren Zählstreifen sowie mit einer feinen Messskala mit 200 Einheiten (Messokular)
- Objektive: 10-fach Phaco NA 0,25; 20- oder 25-fach Phaco, NA 0,45; 40-fach Phaco, NA 0,65 und/oder Interferenz (DIC); 100-fach Phaco, NA 1,25.
- Kondensor mit NA mindestens 0,5 und 7 mm Arbeits-

abstand (größer als die Bauhöhe der Zählkammer) für Phaco-Objektive (auch für Objektiv 100 x)

- Runde Utermöhl-Sedimentationszählkammern mit austauschbarem Glasboden mit einer Dicke 0,16 bis 0,2 mm (z. B. Hydrobios, Verbundkammern (ehem. Zeiss-Oberkochen + Jena, heute Thalheim Spezial Optik) oder vergleichbare Fabrikate mit einem Durchmesser 25–27 mm). Kleinere Kammerdurchmesser als 25 mm sind nicht zulässig, da dadurch das maximal mögliche Sedimentier-volumen der Röhren begrenzt wird und das Verhältnis von der Kammerfläche zur ausgezählten Diametralstreifenfläche ungünstiger wird. Falls das Kammervolumen werksmäßig nicht angegeben ist, müssen der Kammerdurchmesser und die Kammerhöhe (mit eingebautem Bodenglas!) auf 0,01 mm mit einer genauen Präzisions-schieblehre ermittelt werden. Die Kombination verschiedener Fabrikate darf nur erfolgen, wenn Kammer- und Röhrendurchmesser genau gleich sind. Das sich damit ergebende Sedimentationsvolumen muss dann neu berechnet werden. Für kombinierte Röhrenkammern z. B. von Hydrobios gilt das auf den Röhren angegebene Volumen nur in Verbindung mit der entsprechenden Hydrobios-Plattenkammer.
- Gläser zur Abdeckung der Kammer (42 mm x 42 mm und 1,2 mm dick) und runde Deckscheiben (Durchmesser 33 mm, 3 mm dick) zur Abdeckung der Sedimentationsröhren
- Runde Kammer- bzw. Röhrenaufsätze mit kalibrierten Volumen von 10 mL, 25 mL und 50 mL (Kombinationsvolumen s.o.)

3.2 Probenvorbereitung

Die Probenvorbereitung dient der erforderlichen Anreicherung der fixierten Originalprobe in einer Zählkammer, um eine ausreichende Anzahl von Zellen auf der festgelegten Zählfläche der Kammer bei optischer Vergrößerung am Umkehrmikroskop zu erhalten. Die runden Kammeraufsätze werden nach dem Sedimentationsvorgang (4 Stunden pro cm Röhrenhöhe, s. auch Tab. 2) von der darunter liegenden Zählkammer abgeschoben.

100 mL-Röhren sind wegen der unvollständigen Sedimentation ungeeignet und dürfen allenfalls für Großalgen verwendet werden (HOEHN et al. 1998).

Da die Zellkonzentration in Abhängigkeit von der Taxazusammensetzung, dem Gewässertyp und der Saison sehr stark schwanken kann, sind Orientierungswerte zur Auswahl des

benötigten Absetzvolumens hilfreich. Die Chlorophyll-a-Konzentration der Probe ist als Biomasseindikator des Phytoplanktons dazu am besten geeignet, und muss deshalb dem biologischen Bearbeiter vor der mikroskopischen Analyse übergeben werden. Die ATT TI7 (HOEHN et al. 1998) bietet dazu folgenden Vorschlag zur Orientierung (Tab. 3).

Tab. 3: Wahl der Kammeraufsatzvolumina in Abhängigkeit von der Chlorophyll-a-Konzentration

Chlorophyll a-Konzentration	Kammeraufsatzvolumen
0–0,5 µg/l	2 x 50 mL-Kammeraufsatz
0,5–2 µg/l	50 mL-Kammeraufsatz
2–5 µg/l	25 mL-Kammeraufsatz
5–10 µg/l	10 mL-Kammeraufsatz
> 10 µg/l	Probe verdünnen

Setzt man bei hohen Algendichten nur das Zählkammervolumen unverdünnt ohne Röhrenaufsatz an, muss die Gleichverteilung der Partikel geprüft werden, da diese durch Zusammenballung von Organismenfäden erheblich gestört sein kann. Deshalb ist für Proben, in denen fädige Algenarten (z. B. Oscillatoriales; *Aulacoseira*) häufig sind, eine Verdünnung der Probe erforderlich. Es hat sich für eine bessere Gleichverteilung bewährt, die Probe vorab in einem Messzylinder mit Gummistopfen definiert zu verdünnen (z. B. 1 Teil Probe auf 19 Teile entgastes Wasser, zur Entgasung das Wasser abkochen oder mit Ultraschall behandeln, Leitungswasser verwendbar – jedoch nicht destilliertes Wasser, da die Zellen sonst wegen des osmotischen Druckes zerplatzen). Die verdünnte, vorsichtig durch Umschwenken homogenisierte Probe wird danach wieder in einem 10 mL-Röhrenaufsatz zur Sedimentation angesetzt.

Cyanobakterien, z. B. *Planktothrix*, können zur Flotation (Auftrieb) neigen, wodurch bei der Utermöhl-Zählung Minderbefunde entstehen. Durch eine kurze Ultraschallbehandlung (ca. 20 sec) werden die Gasvakuolen der Zellen aufgebrochen ohne dass bereits andere Zellen zerstört werden, wodurch ein hoher Anteil aller Fäden sedimentiert. Oft reicht aber auch aus, diese Lugol-fixierten Proben vor der Bearbeitung längere Zeit zu lagern (4 Wochen), da mit der Jod-Einlagerung die Organismen schwerer werden.

Eine Aufkonzentrierung der Probe durch Zentrifugation ist für die quantitative Bestimmung nicht zu empfehlen, da es zu Verlusten durch Wandeffekte und zum Zerplatzen fragiler Algenzellen führt. Hierfür eignet sich besser das Verfahren der Vorsedimentation (ATT TI7).

Die Hinweise zur Probenvorbereitung, insbesondere des Füllens der Kammern (Temperaturangleichung aller verwendeten Materialien und Proben etc.) und der Überprüfung der Partikelgleichverteilung in den abgesetzten Kammern aus dem EN 15204 sowie ATT TI7 müssen beachtet werden.

Tab. 2: Absetzzeit der Lugol-fixierten Proben

Kammervolumen	Höhe der Kammer	Absetzzeit
mL	cm	Std.
2	1	4
10	2	8
25	4,5	18
50	9,5	38

3.3 Anforderung an die mikroskopische Auswertung von Phytoplanktonproben

3.3.1 Erstellung einer Zählliste

Vorab wird eine erweiterbare Taxaliste erstellt, in der die möglichen vorkommenden bzw. dominanten Arten bereits enthalten sind. Auch sollten darin die Bezeichnungen und ID-Nummern der harmonisierten Taxaliste zum Phytoplankton Deutschlands integriert sein. Zu verwendende Bestimmungsliteratur findet sich in MAUCH et al. (2003).

Die taxonomische Differenzierung soll nach dem in der Taxaliste enthaltenen Mindestbestimmbarkeitsniveau erfolgen (MISCHKE & KUSBER 2006), wobei darin noch unterschiedliche Bestimmungstiefen innerhalb einer Gattung angeboten werden. Um den Bestimmungsaufwand zu begrenzen, wird das höchste Bestimmungsniveau, i.d.R. die Artbestimmung, mindestens für alle biomassedominanten Taxa (Definition s.w.u.) gefordert, da diese bei der Bewertungsberechnung durch ihren hohen Dominanzwert ausschlaggebend sind. Für die subdominanten Taxa kann auch das Gattungsniveau verwendet werden, sofern in dieser Gattung keine einzelne Art als Indikatorart für das Bewertungsverfahren ausgewiesen wurde (s. diesbezügliche Spalten in der harmonisierten Taxaliste). Diese Gattungen sind durch die Spalte „Ungeeignetes Bestimmungsniveau“ ausdrücklich als unzulässig gekennzeichnet. Die Zählliste sollte zusätzlich Größenklassen für solche Taxa enthalten, deren Zelldimensionen stark variieren können (z. B. *Peridinium cinctum*; s. Ausweisung in der Taxaliste), um die Berechnung des Biovolumens zu erleichtern. Für das Bewertungsverfahren werden Taxa herangezogen, die unter definierten Bedingungen der UTERMÖHL-Methode (Mindestzählfläche und -objektzahl) quantitativ erfasst d. h. ausgezählt wurden. Insofern ergibt sich keine vollständige Bestandsaufnahme aller Taxa, da immer nur ein bestimmter Flächenbereich einer Zählkammer durchmustert wird (PADISAK et al. 1999).

Hinweise für die Bestimmungsliteratur:

Mit der harmonisierten Taxaliste des Phytoplanktons (HTL; MISCHKE & KUSBER 2009) wird jedem Taxon ein aktuelles und akzeptiertes Bestimmungswerk zugeordnet, mit dem es bestimmt werden sollte (s. Kürzel in Spalte „ID-Werk, Seite“ in der HTL und Arbeitsblatt „Bestimmungswerke“). Wenn der akzeptierte Name des Taxons in der HTL abweichend, weil aktueller als in dem Bestimmungswerk ist, dann wird der im Bestimmungswerk geführte Name in der HTL-Spalte „Detail Bestimmungswerk“ nochmals ausdrücklich genannt und zusätzlich in der Synonymeliste geführt und die Umbenennung erläutert (s. Kusber 2009). Zu nomenklatorischen Fragen kann man sich auf der Internetplattform „algaterra“ informieren (s. KUSBER 2009).

Als Standardbestimmungswerke werden in der harmonisierten Taxaliste (seit Version 11.09.2006) die zu verwendenden Bücher und Veröffentlichungen zu den einzelnen Algenordnungen in der Liste „Bestimmungswerke“ aufgeführt. Grundsätzlich ist die Nomenklatur und Systematik in der harmonisierten Taxaliste mit der „Taxaliste der Gewässerorganismen Deutschlands – zur Kodierung biologischer Befunde“ (MAUCH et al. 2003) und aktuelle Download-Versio-

nen bis Mai 2009) abgeglichen. Eine Kodierung allein nach der DV-Liste nach MAUCH et al. (2003) für eine spätere automatisierte Auswertung der Ergebnisse ist jedoch nur möglich, wenn die Codierung der harmonisierten Taxaliste (Taxon_ID) auf diese Befundliste übertragen wird, da dort sehr viel mehr Taxa geführt werden.

Die harmonisierte Taxaliste wird ergänzt durch eine Liste von häufigen synonymen Bezeichnungen (s. Arbeitsblatt „Synonyme“ KUSBER 2009), die durchsucht werden kann, wenn gesuchte Taxonnamen in der Hauptliste zu fehlen scheinen.

Da das Bewertungsverfahren auch eine Bewertung auf dem Niveau von Algenklassen und Ordnungen durchführt, ist eine allgemein akzeptierte Systematik des Phytoplanktons notwendig, um alle Taxa für die Berechnungen einheitlich zu gruppieren. Die harmonisierte Taxaliste enthält eine Liste des verwendeten System (s. Arbeitsblatt „Systematik“) sowie die taxaspezifische Zuordnung aller Taxa in der Hauptliste (s. Spalten im Arbeitsblatt „harmonisierte Taxaliste“). Demzufolge werden z. B. die Volvocales den Chlorophyceae zugeordnet.

3.3.2 Zählstrategie für die quantitative Auswertung

Die Zählstrategie soll sowohl kleinzellige als auch großzellige Arten mit ähnlicher statistischer Nachweisgrenze sicher erfassen und den Zählaufwand möglichst klein halten und dennoch die Zählung innerhalb der statistischen Fehlerbreite von 20 % halten (vgl. ROTT et al. 2007). Um die erforderlichen Indikatorarttaxa sicher zu erfassen, sollen als Minimum 10 Taxa mit einer vorgegebenen Stichprobe (Objektzahl und Zählfläche) ausgezählt werden, die den Hauptteil des Gesamtbiovolumens stellen (ca. 90 %). Jede biomassedominante Art stellt in der Regel mehr als 4 % am Gesamtbiovolumen. Nach diesen Anforderungen ist die Zählstrategie in Anlehnung an die ATT TI7 und den Anforderungen der WRRL so zu wählen, dass

- mindestens 400 Objekte insgesamt gezählt werden,
- mindestens 15–20 Arten erfasst werden, womit i.d.R. die biomassedominanten Taxa gefunden werden. In eutrophen Gewässern kommen meist immer mindestens 20 bis 30 Arten vor. Bei sehr artenarmen Planktonbiozöosen in ultraoligotrophen Seen können auch z. T. weniger Arten zu finden sein, jedoch sollen auch hier mindestens 10 Taxa erfasst werden,
- die Auszählung bei zwei verschiedenen mikroskopischen Vergrößerungen erfolgt: a) bei ca. 400-facher Vergrößerung für Arten mit kleinen Zellen mit mindestens 60 Zellen je Art bei den (nach der Zählzahl) dominanten Arten auf einer kleinen Kammerfläche (zwei Zählstreifen) und b) bei ca. 200-facher Vergrößerung auf einer großen Kammerfläche (halbe bis gesamte Kammer) für Kolonien (z. B. *Fragilaria crotonensis*) und große Panzerflagellaten (z. B. *Ceratium*) mit mindestens 20 Zellen je dominanter Art (nach der Zählzahl) erfolgt,
- die Zählung der biomassedominanten Taxa mit einem weiten Größenspektrum in Größenklassen erfolgt: Für Phytoplanktonarten, deren Individuen erheblich in der Zellgröße variieren, sollen Größenklassen ihrer größten

Zelldimension (z. B. Durchmesser oder Zelllänge) im Zählprotokoll gebildet werden und die Individuen den Größenklassen bereits bei der Zählung nach Zellgröße durch die Verwendung der Messskala im Okular zugeordnet werden. Die Zellzahl und das Biovolumen der Größenklassen eines Taxons werden im Endergebnis aufsummiert und nur einer Taxon-Kennnummer zugeordnet (Ausnahme Centrales, *Cryptomonas*),

- die Artbestimmung der Diatomeen anhand von extra angefertigten Schalenpräparaten vorgenommen wird: Viele Diatomeenarten können in der Sedimentationskammer nicht sicher bestimmt werden. Deshalb sollte der Anteil der Arten in einem Diatomeenschalenpräparat als relativer Anteil an einer Größenklasse bestimmt und anschließend dem Zählergebnis der gleichen Größenklasse proportional zugeordnet werden,
- das Biovolumen anhand von Standardzellvolumina berechnet wird: Das Taxon-Biovolumen ergibt sich aus der Multiplikation des mittleren Zellvolumens und der Zellhäufigkeit. Das Gesamtbiovolumen stellt die Summe aller Taxa-Biovolumina pro Liter Probe dar (ohne heterotrophe Flagellaten).

Die Bestimmung der Zellhäufigkeiten erfolgt grundsätzlich auf der Basis von Einzelzellen. Dazu sind bei fädigen und bei sehr größenvariablen Formen besondere Zählstrategien erforderlich:

Fädige Taxa werden in Einheiten (z. B. 10 µm lange Stücke oder in µm Fadenlänge) gezählt (PADISAK et al. 1999). Zur Berechnung werden die Einzellängen der Trichome (Fadenstücke) aufsummiert. Dann muss die Zelllänge von mindestens 20 Zellen bestimmt werden. Aus der Fadengesamtsumme wird durch Division mit der mittleren Zelllänge die Anzahl an Einzelzellen errechnet.

Zählkategorien in Größenklassen werden für größenvariable Taxa gebildet (Beispiel „*Cryptomonas*“ oder „centrale Diatomeen“). Diese Taxa sind in der Mindestbestimmbarkeitsliste extra ausgewiesen. Es ist für die einzelnen Größenklassen wie für die wenig größenvariablen Taxa erlaubt, Standardbiovolumina für das Zellvolumen zu verwenden, die aus eigenen Vermessungen oder aus der Literatur entnommen sind. Werden die größenvariablen Taxa hingegen nicht in Größenklassen ausgezählt, ist immer die Ermittlung des mittleren Zellvolumens durch die Vermessung von mindestens 20 Zellen je Taxon erforderlich.

Die Zellzahl (Zellen/mL) ermittelt sich für jedes Taxon (ZZ_x) nach der Formel (ATT T17):

$$ZZ_x \text{ (n/mL)} = \text{Anzahl ausgezählter Zellen} \times \text{Gesamtfläche der Kammer [n} \times \text{mm}^2\text{]} / \text{absedimentiertes Probenvolumen} \times \text{ausgezählte Kammerfläche [mL} \times \text{mm}^2\text{]}$$

Neben den mindestens 10 dominanten Taxa werden auch alle weiteren, auf der festgelegten Zählfläche ermittelten Taxa im Ergebnisprotokoll mit einer Zellzahl berechnet, auch wenn die Anzahl der ausgezählten Zellen dieser selteneren Taxa unterhalb von 20 liegt.

3.4 Bestimmung von Zellvolumina

Die Bestimmung des artspezifischen Zellvolumens eines Taxons, das sog. Verdrängungsvolumen, basiert auf der be-

kannten Formel-Berechnung eines geometrischen Körpers, welcher der Zellform der Art möglichst ähnlich ist. Eine umfangreiche Formelsammlung und eine Beschreibung der Vorgehensweise finden sich in ROTT (1981), ATT T17 (HOEHN et al. 1998) sowie in dem CEN-Entwurf „Biovolumen“ (CEN 2008b). In ATT T17 sind einige Formeln falsch, diese sind in CEN (2008b) korrigiert. Durch Vermessung der Dimensionsachsen von mindestens 20 Zellen der gleichen Art, der Berechnung des Zellvolumens jeder einzelnen vermessenen Zelle und einer Medianwertbildung über alle vermessenen Zellen ergibt sich das selbst ermittelte Standardzellvolumen (MBV) für ein Taxon. Dieser Standardwert kann auch für weitere Termine verwendet werden.

Eine Überprüfung von verwendeten Standardzellvolumina (d. h. Ergänzung von neuen Messungen und damit eine neue Medianwertberechnung) ist immer dann nötig, wenn ein Taxon über 50 % das Gesamtbiovolumens bildet sowie bei allen größenvariablen Taxa. Für Letztere wird eine Zählung in Größenklassen empfohlen, wodurch eine Änderung der mittleren Zellgröße durch die unterschiedliche Zuordnung zu den Größenklassen bereits bei der Zählung erfasst wird. Für die Größenklassen kann wiederum ein Standardbiovolumen für das Klassenmittel berechnet und für alle Termine eingesetzt werden.

Die Standardvolumina für nicht sehr größenvariable Taxa können auch aus Literaturangaben von ähnlichen Gewässertypen entnommen werden (s. GEISLER & KIES 2003, HOEHN et al. 1998, KRIENITZ 1990, POHLMANN & FRIEDRICH 2001, PADISAK et al. 1999). Dies ist vor allem dann zulässig, wenn bei seltenen Arten keine ausreichende Anzahl von Messungen gewährleistet ist.

3.5 Berechnung der Taxonbiovolumina

Zur Berechnung der Taxonbiovolumina (Biovolumen aller Zellen einer Art in der Probe) wird die ermittelte Zellzahl mit dem Standardzellvolumen (MBV in µm³) oder mit dem selbst ermittelten, mittleren Zellvolumen eines Taxons multipliziert. Taxonbiovolumen [mm³/L] = Zellzahl [n/mL] × MBV [µm³] / 1.000.000.

Folgende mathematische Zusammenhänge werden dabei zum allgemeinen Verständnis aufgeführt (s. Kasten Folgende Seite):

3.6 Präparate und Auswertung

Die Diatomeen sind eine wichtige Phytoplanktongruppe in Seen. Ihre Artenzusammensetzung hat einen hohen Indikationswert, besonders für oligotrophe bis schwach eutrophe Systeme. Da viele Arten Lugol-fixiert in den Sedimentationskammern nicht bestimmt werden können, müssen dazu Diatomeenschalenpräparate angefertigt werden. Das Diatomeenpräparat dient zum einen zur Bestimmung des relativen Anteils der Diatomeen (insb. der solitären, centrischen) an den bei der Utermöhl-Zählung gebildeten Größenklassen und zum anderen zur Dokumentation der Bestimmung der planktischen (insb. pennaten) Formen, die bereits bei der Zählung in der

$\mu\text{m}^3/\text{Ind.} \cdot \text{Ind.}/\text{ml} = \mu\text{m}^3/\text{ml}$	
wenn dabei gelten muss:	
1 mm ³	= 1 mm * 1 mm * 1 mm = 1.000 μm * 1.000 μm * 1.000 μm = 1.000.000.000 $\mu\text{m}^3 = 10^9 \mu\text{m}^3$
1 $\mu\text{m}^3/\text{ml}$	= (1/1.000.000.000) mm ³ / (1/1.000) l = $10^{-9}/10^{-3}$ mm ³ /l = (1/1.000.000) mm ³ /l = 10^{-6} mm ³ /l
1.000.000 $\mu\text{m}^3/\text{ml}$	= 1 mm ³ /l
$\Rightarrow 10^6 \mu\text{m}^3/\text{ml}$	= 1 mm ³ /l
<i>Herleitung der Beziehung von Biomasse zu Biovolumen:</i>	
bei Annahme Dichte der Organismen wie Wasser = 1,0 g/cm ³ (Lohmann 1906/1908):	
1 g = 1 cm ³	= 1 ml = (10 mm * 10 mm * 10 mm) = 1.000 mm ³
(1/1.000) g	= 1 mg = 1 mm ³ = (1/1.000) ml = 1 μl
1.000 μg	= 1 mm ³
1 μg	= (1/1000) mm ³ = (1/1.000) μl
1 μg	= ((1.000 μm * 1.000 μm * 1.000 μm) / 1.000) = 1.000.000 μm^3
\Rightarrow Biomassen- und Biovolumen-Angaben:	
$\Rightarrow 1 \mu\text{g}/\text{l}$	= 1 mm ³ /m ³
$\Rightarrow 1 \text{mg}/\text{l}$	= 1 cm ³ /m ³ = 1 mm ³ /l

Berechnung der
Taxonbiovolumina

Utermöhl-Sedimentationskammer direkt erfasst und bestimmt wurden (z. B. *Fragilaria ulna* var. *acus*).

3.6.1 Probenaufbereitung und Präparation der profundalen Diatomeen

Die Präparation der Diatomeenschalen erfolgt in Anlehnung an KRAMMER & LANGE-BERTALOT (1986 1991) und BATTARBEE (1986) durch einen heißen Sedimentaufschluss mit Salzsäure und Wasserstoffperoxid (SCHÖNFELDER 1997). Das Material wird anschließend gewaschen und zentrifugiert, eine gut durchmischte, verdünnte Suspension auf Deckgläschen gleichmäßig verteilt, im Muffelofen bei 450°C getrocknet und auf Objektträgern in Naphrax (Brechungsindex n. D. 1,69) eingebettet. Für die Auszählung und Bestimmung werden von jeder Probe zwei Streupräparate angefertigt.

Die mikroskopische Auswertung erfolgt mit einem Durchlichtmikroskop mit Phasenkontrast oder differenziellem Interferenzkontrast (Nomarski DIC) bei einer Endvergrößerung von 12,5 x 63 fach bzw. 12,5 x 100 fach und numerischen Aperturen der Kondensoren und Objektive von 1,40. Es werden zufällig gewählte, aber sich nicht kreuzende Transekte ausgezählt. Routinemäßig werden in jeder Probe mindestens 400 Diatomeenobjekte gezählt. Eine anschließende Durchmusterung jedes Präparates dient dem Nachweis weiterer Taxa, die aufgrund ihrer Seltenheit in der Routinezählung nicht gefunden werden können.

Für die Determinationen werden das Bestimmungswerk von KRAMMER & LANGE-BERTALOT (1986 1991) sowie Monographien und Artneubeschreibungen der Bibliotheca Diatomologica und Iconographia Diatomologica (LANGE-BERTALOT

1993; LANGE-BERTALOT & METZELTIN 1996) sowie relevante Einzelveröffentlichungen (z. B. CASPER et al. 1992, KLEE & STEINBERG 1987, SCHEFFLER et al. 2003, SCHEFFLER et al. 2005) verwendet.

3.6.2 Aufbereitung der pelagischen Diatomeenproben

Als Einbettungsmittel wird Naphrax verwendet, da nur dieses Material den erforderlichen hohen Brechungsindex aufweist. Das gebrauchsfertige Harz ist in Toluol gelöst. Es wird in Deutschland nicht vertrieben. Der Bezug ist nur ohne Toluolzusatz über den Mikroskopiehandel in Großbritannien möglich (z. B. www.brunelmicroscopes.co.uk). Im Labor muss dann Toluol unter leichter Erwärmung (40°C) zugemischt werden. Wegen der Giftigkeit von Toluol müssen beim Arbeiten mit diesem Material die entsprechenden Arbeitsschutzbestimmungen (Abzug!) eingehalten werden. Nach der Aushärtung des Harzes ist das Toluol verdampft, wodurch die weitere Benutzung ohne Abzug bei der Mikroskopie möglich wird.

Variante 1: Anreicherung über Membranfiltration direkt nach der Probenahme

Falls direkt im Gelände oder im Labor eine Anreicherung auf Filter(n) erzeugt wurde, werden diese Filter zur Präparation im Becherglas zuerst mit H₂O₂ behandelt, wobei sich die Algenbeläge vom Filter ablösen und anschließend nach dem Aufschlussverfahren weiterbehandelt (Diatomeen-Präparation nach VAN DER WERFF 1955). Die Proben werden durch Zentrifugation aufkonzentriert und mehrmals gewaschen.

Variante 2: Anreicherung und Konservierung mit Formalin

1000 mL Probe (aus der Mischprobe) werden nach dem Vordimentationsprinzip (s. ATT T17) auf ca. 50 mL angereichert und in kleine Flaschen (50–100 mL) überführt und mit Formalin (Endkonzentration 5 %) fixiert. Die Anreicherung sofort nach der Probenahme im Dunklen und kühl ansetzen. Von dieser fixierten Anreicherung kann dann später entsprechend dem Ergebnis der Diatomeen in der Utermöhlzählung nach ausgiebigem Schütteln ein Aliquot zur Präparation entnommen werden.

Die Proben aus beiden Varianten werden in Wasserstoffperoxid und mit Kaliumpermanganat als Farbkontrolle für das Vorhandensein von organischen Resten bis zur Entfärbung aufgekocht (s. KLEE & STEINBERG 1987).

Bei Verzicht auf die Zugabe von $K_2Cr_2O_7$ oder $KMnO_4$ aus Gründen des Arbeitsschutzes muss man jedoch damit rechnen, dass in den Präparaten noch organische Reste bleiben, welche eine korrekte Bestimmung behindern. Die Schalen werden in Naphrax als Streupräparat auf Objektträgern bei ca. 120–150°C eingebettet.

Aufbereitung von Diatomeenproben nach der Wasserstoffperoxid-Methode von Van der Werff (1955)

Material und Geräte: hohe 250 mL-Bechergläser, 30 %iges H_2O_2 , temperaturregulierbare Heizplatte ($\pm 5^\circ C$), Kaliumdichromat, HCl-Konz., Tischzentrifuge + Zentrifugengläser, Schraubdeckelgläser.

Durchführung: Frische oder fixierte Diatomeenproben (ca. 25 mL) werden in hohe 250 mL Bechergläser überführt und mit H_2O auf ca. 50 mL aufgefüllt. Etwa 50 mL H_2O_2 (Verhältnis 1 Teilprobe +1 Teil H_2O_2 konz.) werden zugegeben und die Proben mindestens über Nacht stehen gelassen. Auf einer Heizplatte werden die Suspensionen zuerst 30 min bei 80°C erwärmt, danach 3,5 4 Stunden bei 100°C. Die Temperaturangaben bezeichnen die Einstellung der Heizplatte, nicht die Temperatur der Flüssigkeiten in den Bechergläsern! Droht die Flüssigkeit einzukochen, so muss mit H_2O verdünnt werden. Ca. alle 30 min sollten die Bechergläser für ein gleichmäßiges Abfließen der Reaktion kurz geschwenkt werden. Nach Beendigung des Kochvorgangs gibt man, noch auf der Heizplatte, pro Probe ca. eine Spatelspitze $KMnO_4$ oder $K_2Cr_2O_7$ zur vollständigen Oxidation zu. Hierbei empfiehlt sich diese Zugabe sehr langsam, d. h. körnchenweise durchzuführen, da heftige Reaktionen entstehen können. Droht eine Probe überzukochen muss sie vorübergehend von der Heizplatte entfernt werden. Nach der hierbei vor sich gehenden, beendeten Farbreaktion nimmt man die Bechergläser von der Heizplatte, versetzt die Suspensionen mit etwas H_2O -dest und dann mit einigen Tropfen HCl; eine weitere Farbreaktion kann stattfinden. Jetzt werden die Proben nochmals kurz erwärmt und dann endgültig zum Abkühlen beiseite gestellt. Das organische Material ist auf diese Art und Weise fast vollständig entfernt worden. Der Inhalt der Bechergläser wird nun ca. 15 min bei 2000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und noch dreimal mit H_2O -dest gewaschen und zentrifugiert. Der Überstand wird verworfen, die abgesunkenen Diatomeenschalen in ein Schraubdeckelglas überführt. Abfälle mit $K_2Cr_2O_7$ müssen als Chemikalienabfälle (Chromate) entsorgt werden.

Herstellen der Objektträger-Präparate nach Klee & Steinberg (1987) und BAFU (2006)

Material und Geräte: Heizplatte, Mikropipette, Naphrax (Vorsicht enthält Toluol), Objektträger, Runde Deckgläser (18 mm Ø).

Durchführung: Gewaschenes Material verdünnen bis es leicht milchtrüb aussieht. Ggf. mehrere Verdünnungsstufen ansetzen. Ca. 300 µl (Mikropipette auf gut entfettetes (durch erhitzten) Deckgläschen (18 mm Ø) zügig auftropfen und über Nacht ggf. mehrere Tage (mind. 12–24 h) eintrocknen lassen. Wenn auf dunklem Untergrund der weißliche Belag nicht mehr glänzt, sind die Deckgläschen fertig. 1–2 Tropfen Naphrax auf einen Objektträger geben und diesen auf einer Heizplatte bei ca. 150°C kurz erhitzen (Toluol entweicht). Bei starker Blasenbildung Hitze verringern. Deckglas mit einer feinen Pinzette mit den Algen nach unten auf den Naphrax-Tropfen und auf eine kühle Unterlage legen. Kleine Luftblasen durch vorsichtiges Andrücken entfernen. Vor Gebrauch 12 h abkühlen lassen.

3.6.3 Auszählung der Diatomeen

Die Diatomeenanalyse für Pelagialproben ist lediglich als ein Hilfsmittel zu verstehen, um für die quantitativen Diatomeen-Daten aus der Utermöhlzählung mit Hilfe eines Präparates eine verbesserte taxonomische Tiefe zu erzielen (s. Tab. 4). Darin unterscheidet sich die hier beschriebene Diatomeenanalyse für Pelagialproben grundlegend von der des Phytobenthos, in der alle Diatomeentaxa erfasst und auf der Ebene der relativen Häufigkeit der Schalen ausgewertet werden. Im Schalenpräparat müssen die Diatomeen innerhalb der Größen- und Formenklassen wie bei der Utermöhlzählung hinsichtlich Art und relativem Anteil spezifiziert werden, sofern sie nicht leicht bestimmbare Arten sind, die im Utermöhl-Mikroskop bestimmt werden können (s. dazu in MISCHKE & KUSBER 2009; allgemeines Mindestbestimmbarkeitsniveau). Die Bearbeitung der Diatomeenpräparate und der Utermöhl-Proben sollte nach Möglichkeit im selben Labor erfolgen, da nur so gewährleistet ist, dass die taxonomische Zuordnung von Größen- und Formenklassen bzw. Sammeltaxa in der erforderlichen engen Absprache der Bearbeiter untereinander durchgeführt werden kann. Das Ergebnis der Utermöhlzählung muss vor der mikroskopischen Bearbeitung des Diatomeenpräparats vorliegen (s. Tab. 3).

Die Diatomeenzellen werden als Objekte gezählt. Unter diesen sind i.d.R. Zellen zu verstehen, die jeweils aus zwei Schalenhälften bestehen. Eine Unterscheidung, ob es sich bei einem Objekt um eine einzelne Schalenhälfte oder um beide (noch) zusammenhängende Schalenhälften einer Zelle handelt, ist im Lichtmikroskop auch bei einer hoch auflösenden Objektivvergrößerung bei pelagischen Diatomeen meist nur schwer möglich. Bei dem relativ sanften Aufschlussverfahren nach VAN DER WERFF (1955) trennen sich die Schalenhälften i.d.R. nur in geringerem Anteil. Im Routinebetrieb der Diatomeenausählung ist der Grad dieser Aufschluss bedingten Schalenauftrennung jeweils für die einzelnen Arten nicht feststellbar. Es wird daher vereinfacht davon ausgegangen,

dass in den jeweiligen Größen- und Formenklassen dieser Auftrennungsgrad für alle darin erfassten Diatomeenarten gleich ist. Unter dieser Annahme ist es für die spätere Übertragung der relativen Häufigkeiten auf die Daten der Utermöhlzählung unerheblich, ob ein Objekt als jeweils zwei Schalenhälften (gemäß EN 14407, Kap. 7c bzw. BAFU 2006) oder als eine Zelle erfasst wird.

Die Auswertung von mindestens 200 Objekten erfolgt an einem Lichtmikroskop bei 1000-facher Vergrößerung (Objektiv 100 x, Ölimmersion). Bei der Übertragung der Daten von der Zählung des Diatomeen-Präparates auf die quantitativen Daten der Utermöhlzählung werden zu den mindestens 200 Counts nicht die Diatomeen mitgerechnet, die bereits in der Utermöhlkammer leicht zu erkennen sind (z. B. *Asterionella formosa*, *Fragilaria crotonensis* etc.), sondern nur die, für deren Taxonomie eine Präparation erforderlich ist (insb. Centrales vgl. Tab. 4). Die Diatomeen-Arten, die keine Präparation erfordern, sind in der harmonisierten Taxaliste gekennzeichnet. Bei Massenentwicklungen von solchen in der Utermöhlkammer sicher erkennbaren Diatomeen-Arten, sind die Taxa, deren Bestimmung ein Präparat erfordert, dann häufig nur selten vertreten. Es können von diesen dann meist keine 200 Objekte gefunden werden. Um solche Proben noch rationell bearbeiten zu können, bricht man in diesen Fällen die Zählung nach 2 Std. (reine Durchmusterungszeit) ab, auch wenn dann nur deutlich unter 200 dieser Objekte erfasst wurden.

Solitäre Centrales müssen immer im Präparat bestimmt und gezählt werden. Pennate Formen werden – sofern sie nicht bereits in der Utermöhlzählung bestimmt werden können (s. Tab. 4) – nur dann näher bestimmt und gezählt, wenn diese Taxa mehr als 4 % des Biovolumens ausmachen.

Diese Regelung erfordert die Biomasseberechnung für alle Taxa einschließlich der Diatomeen als Grundlage für die Bestimmung der 4 % Vorgabe vor der Auswertung der Glühpräparate.

Tab. 4: Bearbeitungstiefe von bestimmten Diatomeentaxa bzw. -gruppen bei der Auszählung der planktischen Diatomeenpräparate

Gruppe/Taxa	Bearbeitungsmodus in der Diatomeenanalyse
Centrales:	
<i>Cyclotella</i> , <i>Stephanodiscus</i> , <i>Cyclostephanos</i> und weitere Gattungen	bestimmen und zählen
<i>Aulacoseira</i>	nur bestimmen; bei mehreren <i>Aulacoseira</i> Arten diese bestimmen und alle <i>Aulacoseira</i> -Arten zählen
Pennales:	
<i>Asterionella formosa</i>	nicht zählen; nur Vermerk über Vorkommen
<i>Tabellaria flocculosa</i>	nicht zählen; nur Vermerk über Vorkommen
<i>Fragilaria</i>	die <i>Fragilaria</i> -Arten bestimmen und zählen, die nicht in der Utermöhl-Probe erkennbar sind

Auch bei Proben aus Stagnationsphasen können mitunter 200 Objekte nicht erreicht werden. Mit einem Ansatz der entsprechenden Konzentration würden in diesen Fällen zugleich störende mineralische Partikel angereichert, die die mikroskopische Erfassung der Diatomeen unmöglich machen. Die Auszählung erfolgt in den gleichen Größenklassen wie die quantitative Auszählung in den Utermöhl-Kammern am Umkehrmikroskop. Da Schalen der Centrales kleiner 5 µm im Durchmesser infolge ihrer geringen Größe und dünnem Kieselskelett häufig nur schwer bestimmbar sind, wird diese Größenklasse nicht nach Arten aufgeschlüsselt. Nachdem die relative Artenzusammensetzung in den Schalenpräparaten ermittelt ist, wird das Ergebnis der taxonomischen Zusammensetzung auf die quantitativen Ergebnisse der Utermöhl-Zählung aus den gleichen Größenklassen übertragen. Im Endprotokoll werden die Größenklassen durch die Artbiovolumina ersetzt (vgl. Tab. 5).

Aus Tab. 5 wird ersichtlich, dass es für das (quantitative) Endergebnis nicht wichtig ist, im Präparat solche Diatomeenarten zu bestimmen, deren Größen- bzw. Formenklassen bei der Utermöhlzählung nicht gefunden wurde, da diese durch Übertragung auf die Utermöhlzählung nicht quantifiziert werden können.

3.7 Auswertung der Phytoplanktonzählungen und Biovoluminabestimmung

Die Auswertung der Zählungen kann in einer dafür vorbereiteten Datei eines Tabellenkalkulationsprogramms (Excel) erfolgen, sofern die dort verwendeten Zählkategorien den vorgegebenen Taxa und Größenklassen entsprechen. Andernfalls müssen weitere Zählkategorien mit eigens bestimmten mittleren Zellvolumina angefügt werden. Ziel ist eine Taxa-Befundliste, die der Formatvorlage für das accessbasierte Auswertungstools PhytoSee entspricht (s.a. MISCHKE 2008).

Kodierung der Befunde:

Die Auswertung der Zählergebnisse (Biodaten) mittels Indikatorlisten erfordert die Kodierung der Arten und weiterer Taxa nach der harmonisierten Taxaliste Phytoplankton (MISCHKE & KUSBER 2009). Eine automatisierte Berechnung ist nur möglich, wenn jeder Zählkategorie eine aus der harmonisierten Taxonliste vorgegebene Taxon-Identitätsnummer zugeordnet wird. Damit erhält jedes Zählergebnis die Zuordnung zum Mindestbestimmbarkeitsniveau und den Verbreitungswerten der Indikatorarten und -gruppen, sowie eine DV-Nummer der Taxaliste der Gewässerorganismen Deutschlands (MAUCH et al. 2003, Stand Internet Version März 2009).

Werden Zählkategorien gewählt, die auf dem Mindestbestimmbarkeitsniveau beruhen, wie z. B. *Aulacoseira granulata*, stellen sie ein Aggregat mehrerer untergeordneter Taxa mit eigenen ID-Nummern dar. In diesem Fall wird für die Zählkategorie eine der möglichen ID-Nummern verwendet und die der ähnlichsten Kategorie die ID 78 für *Aulacoseira granulata* eingesetzt. Weicht der selbst ermittelte Taxonname von dem unter dieser gewählten ID in der Taxonliste aufgeführten Taxanamen ab, wird dieser in einer Zusatz-

Tab. 5: Fallunterscheidungen zur Übertragung auf die quantitativen Daten

Diatomeen-Gruppe	Utermöhl-Zählung	Diatomeenpräpate-Zählung	Auswertung
Centrales	gefunden (in Größenklasse)	gefunden in der selben Größenklasse und bestimmt	Diatomeenergebnis auf Utermöhl-Daten übertragen
Centrales	nicht gefunden	gefunden und bestimmt	keine Auswertung, da nicht quantifizierbar
Centrales	gefunden (in Größenklasse)	nicht gefunden	„diverse Centrales“ dieser Größenklasse
Pennales	gefunden (Größen- und Formenklasse)	gefunden in der selben Größen- und Formenklasse und bestimmt	Diatomeenergebnis auf Utermöhl-Daten übertragen
Pennales	nicht gefunden	gefunden und bestimmt	keine Auswertung, da nicht quantifizierbar
Pennales	gefunden (Größen- und Formenklasse bzw. <i>Gattung</i>)	nicht gefunden	„diverse Pennales“ bzw. „ <i>Gattung</i> sp.“ dieser Größen- und Formenklasse

spalte „Taxonanmerk“ eingetragen wie in der Formatvorlage zum Auswertungsprogramm vorgesehen. Die Aufsummierung aller Taxa, die zu einem Indikatortaxon gruppiert sind, erfolgt in einem späteren Schritt mit der Auswertungssoftware automatisch über die Tabelle „Indikat_PTISI“.

Als Zwischenergebnis der Datenvorbereitung erhält man eine Liste mit den Spalten: Messort; Datum; Taxon-ID oder DV-Nr; Taxonname; mittleres Zellvolumen; Zellzahl (Zellen/mL); Zählkategorie und spezifisches Biovolumen. Jeder Kombination aus Messort und Datum muss eine eindeutige numerische Probennummer zugeordnet werden (s. laufende Nr. im PhytoSee-Programm).

Zur automatischen Index- und Bewertungsberechnung mittels des Auswertungsprogramms PhytoSee müssen die Daten vorbereitet werden: Sie müssen der Formatvorlage in der Datei *Formatvorlage_PhytoSee_Auswertungsprogramm_5_09.xls* entsprechen (s. MISCHKE et al. 2009a). Die Auswertungssoftware PhytoSee 4.0 (MISCHKE et al. 2009a) berechnet die für das Bewertungsverfahren erforderlichen Mittelwerte aus den chemischen und biologischen Eingangsdaten. Die Berechnung folgt der Verfahrensbeschreibung für Seen mittels Phytoplankton (MISCHKE et al. 2008) mit Modifikation für die Bewertung der Flusseen in MISCHKE et al. (2009b) und für künstliche und stark veränderte Gewässer sowie den Seen der Mittelgebirge vorläufig nach HOEHN et al. (2009). Die Bewertung kann sich im Detail durch Ergebnisse aus laufenden Forschungsprojekten der LAWA (2009–2011) noch verändern. Es wird ggf. dann eine aktualisierte Auswertungsprogrammversion zur Verfügung gestellt.

Die aktuelle Version des Programms PhytoSee.mdb, die Anleitung mit Formatvorgaben in Excel und die harmonisierte Taxaliste stehen kostenlos zum Download auf folgender Internetseite im Downloadbereich zur Verfügung: <http://www.igb-berlin.de/abt2/mitarbeiter/mischke>.

4 Beprobung und mikroskopischen Auswertung des Phytoplanktons aus Fließgewässern zur ökologischen Bewertung im Rahmen der EU-WRRL

4.1 Einleitung

Mit dem Handbuch zum Bewertungsverfahren von Fließgewässern mittels Phytoplankton (MISCHKE & BEHRENDT 2007) wurde erstmals eine einheitliche Vorgabe hinsichtlich der Auswahl der Probenstellen, Probenahmefrequenz, der mikroskopischen Auswertungsstrategie und der erforderlichen Bestimmungstiefe zur Umsetzung der EU-Wasserrahmenrichtlinie in Deutschland gemacht. Diese Vorschrift wird im Folgenden aufgeführt, gekürzt um solche Abschnitte, die mit der Vorschrift für die stehenden Gewässer identisch sind.

4.2 Beprobungsvorschrift Phytoplankton in Fließgewässern

4.2.1 Auswahl an Probestellen

Die Probenahme des Phytoplanktons ist nur in ausgewählten Fließgewässertypen nötig. Eine Beprobung von Bächen und kleinen Flüssen mit einem Einzugsgebiet kleiner als 1.000 km² ist in der Regel nicht erforderlich.

Durch Ableitung der Neigung zur Phytoplanktonbildung im Referenzzustand wurden solche Gewässertypen zur Bewertung ausgewählt, die auch natürlicherweise Plankton führen. Weitere Rahmenbedingungen, die für die Biomassebildung und taxonomische Zusammensetzung des Phytoplanktons in den ausgewählten Gewässertypen relevant sind, sind in den Steckbriefen zu den Fließgewässertypen und deren Anhang (POTTGIESSER & SOMMERHÄUSER 2008) sowie in den Kurzdarstellungen Phytoplankton (MISCHKE 2009) als Interpretationshilfe dargestellt.

Es wird mit Hilfe der Chlorophyll-a-Konzentration als Hilfsgröße zur Erfassung der biologischen Kenngröße Phytoplanktonbiomasse ein Wert von mehr als 20 µg/L Chloro-

phyll-a im Saisonmittel (April Oktober) als Kriterium für eine Beprobung des Phytoplanktons vorgeschlagen. Messstellen an bewertungsrelevanten Fließgewässertypen sollten auch bei Unterschreitung von 20 µg/L mindestens in einem Untersuchungsjahr hinsichtlich Phytoplankton beprobt werden.

Das Bewertungssystem beruht auf der Auswertung von Phytoplankton an wenigen Probenstellen am Mittel- (Typ 15, 17 9. 2, 10, 23, s. Tab. 6) und Unterlauf der Flüsse (Typ 20, 22.3, 23).

Künstlich erweiterte und befestigte Fließgewässerabschnitte (Hafenbecken; Schleusen; Orte direkt vor und nach Stautufen etc.) sind als Probenstellen für das Phytoplankton ungeeignet, da sich die Fließgeschwindigkeit an diesen Orten erheblich verändert und deshalb zu Einschichtungen oder Sedimentation des Phytoplanktons führen kann. Erweiterungen der Flussbreite auf mehr als das Doppelte und Vertiefungen des Gewässers um mehr als ein Drittel werden als kritisch eingeschätzt. Beprobungen von Brücken sind zulässig, sofern die strömungszugewandte Seite der Brücke gewählt wird. Bei Bogenbrücken ist es sinnvoll, eine Mischprobe aus allen Brückensegmenten in der Strommitte herzustellen.

4.2.2 Probenahme und Beprobungsfrequenz

Zwischen einzelnen Jahren können die zufälligen Schwankungen, die von den Witterungsbedingungen und den hydrologischen Gegebenheiten verursacht werden, sehr groß sein. Daher erlauben nach LAWA-UAK „Planktonführende Fließgewässer“ (2002) die Werte einzelner Jahre keine Aus-

sagen über den Zustand eines Gewässers. Der LAWA-UAK (2002) empfiehlt Auswerteziträume von 3–5 Jahren als sinnvoll und praktikabel. Die über diesen Zeitraum ermittelten Bewertungsergebnisse indizieren den ökologischen Zustand mit höherer Sicherheit.

Für jedes Untersuchungsjahr ist möglichst eine monatliche Beprobung des Phytoplanktons inklusive einer Chlorophyll-a-Messung im Zeitraum von April bis Oktober durchzuführen, so dass als Minimum 6 Termine in die biologische Bewertung eingehen. Eine 14-tägige Beprobung wird für die Chlorophyll-a-Bestimmung und für die Nährstoffbestimmung empfohlen. Weiterhin wird empfohlen, diese 14-tägigen Beprobungen ebenfalls mit einer Phytoplanktonprobenahme zu verbinden, um die taxonomische Zusammensetzung zu erfassen. Es ist zur Reduktion der Probenzahl erlaubt, eine monatliche Mischprobe aus mehreren fixierten Einzelproben eines Monats (14-tägig oder wöchentlich) vor der mikroskopischen Analyse herzustellen, da die saisonale Dynamik der Zusammensetzung des Phytoplanktons nicht in das Bewertungsverfahren eingeht. Mischproben von größeren Zeiträumen sind nicht erlaubt.

Die Wasserproben werden mit einem Ruttner- oder einem Van-Dorn-Fallschöpfer oder anderen Probenahmeschöpfen, die die Entnahme aus der Tiefe plusminus 50 cm mit Mittelpunkt in 0,5 m Wassertiefe zulassen, in der Regel aus einer Wassertiefe von 0,5 m in der Strommitte entnommen. In langsam-fließenden Fließgewässern kann es zu vertikalen Einschichtungen des Phytoplanktons im Wasserkörper kommen. Bei sichtbaren Aufrahmungen (z. B. durch *Microcystis*) und einer Sichttiefe unter 1 m wird eine zweite Probe von der Gewässeroberfläche genommen und mit der 0,5 m

Tab 6: Bewertungsrelevante Fließgewässertypen von planktonführenden Fließgewässern mit den definierten Sub-Typen (FG-Typ) für die Phytoplanktonbewertung

FG-Typ	Name des Fließgewässertyps	Kriterium für Subtyp Phytoplanktonbewertung	Biomassebildung je TP-Einheit
15.1+17.1	Sand-, lehm- und kiesgeprägte Tieflandflüsse mit kleinem EZG	EZG 1000–5000 km ²	niedrig
15.2+17.2	Sand-, lehm- und kiesgeprägte Tieflandflüsse mit großem EZG	EZG > 5000 km ²	hoch
20.1	Sandgeprägte Ströme des Tieflandes mit großer Abflusspende	> 10 L/s/km ² (Q/EZG)	niedrig
20.2	Sandgeprägte Ströme des Tieflandes mit kleiner Abflusspende	< 10 L/s/km ² (Q/EZG)	sehr hoch
9.2	Große Flüsse des Mittelgebirges		hoch
10.1	Kiesgeprägte Ströme des Mittelgebirges mit großer Abflusspende	> 10 L/s/km ² (Q/EZG)	niedrig
10.2	Kiesgeprägte Ströme des Mittelgebirges mit kleiner Abflusspende	< 10 L/s/km ² (Q/EZG)	sehr hoch
23	Rückstau- bzw. brackwasserbeeinflusste Ostseezuflüsse	EZG > 500 km ²	sehr hoch

Probe zu einer Mischprobe vereint. Die Phytoplanktonprobe und die Wasserprobe zur Chlorophyll-a-Analyse müssen aus der gleichen Schöpfprobe stammen.

4.2.3 Charakterisierung der Probenstellen

Morphologische und hydrologische Kenndaten der Probenstellen

Die Probenstellen müssen hinsichtlich ihrer Morphometrie und Hydrologie durch folgende Parameter charakterisiert werden:

- Abfluss (m^3/s),
- Einzugsgebietsgröße (km^2),
- Wassertiefe bei Normalabfluss (m),
- Flussbreite bei Normalabfluss (m),
- Flusskilometer gemessen ab der Quelle (km) (empfohlen),
- Hoch- und Rechtswerte der Probenstelle (empfohlen),
- Hohe Ufervegetation vorhanden – wenn ja, geschätzte Beschattung der Gewässeroberfläche zu $< 50\%$ oder $> 50\%$ (empfohlen Gewässerkartierung).

Gewässertypisierung

Die Zuordnung der Probenstellen zu einem Fließgewässertyp soll gemäß der Karte „Biozönotisch begründete Fließgewässertypen in der BRD“ (POTTGIESSER & SOMMERHÄUSER 2004) erfolgen und kann von dieser durch weitere Detailkenntnisse der Bundesländer über die Probenstelle begründet davon abweichen. Zusätzlich ist die Kenntnis des mittleren Normalabflusses ($MQ\ m^3/s$) sowie die Einzugsgebietsgröße (km^2) für die Bewertung sowie für die Zuordnung zu den Phytoplankton spezifischen Subtypen erforderlich. Die Abflussspende (HD) errechnet sich aus dem Abfluss, $MQ\ (L/s)$ dividiert durch die Einzugsgebietsgröße (EZG, km^2). Eine Bewertung mittels Phytoplankton ist nur für die bewertungsrelevanten Fließgewässertypen (s. Tab. 6) zur Umsetzung der europäischen Wasserrahmenrichtlinie erforderlich. Die Subtypenunterteilung innerhalb der Bewertung mittels Phytoplankton sieht die in Tab. 6 davon abweichende Subtypen und Kriterien dafür vor. Da die Gewässer der Typen 15.1 und 17.1 mit Einzugsgebieten zwischen 100 und 1000 km^2 natürlicherweise nicht planktonführend sind, werden diese durch eine Untergrenze von 1000 km^2 ausgeschlossen.

Gewässerabschnitte von nicht bewertungsrelevanten Gewässertypen, wie von kleinen Bächen und Flüssen, können bei hydromorphologischer (Aufstau, Teiche etc.) und struktureller Degradation (fehlende natürliche Uferbeschattung) ebenfalls planktonführend sein. Sie können testweise dem ähnlichsten bewertungsrelevanten Gewässertyp zugeordnet werden, um eine Bewertung durchzuführen. Die Beurteilung, ob damit ein plausibles Ergebnis erreicht wird, liegt dann jedoch außerhalb des durch das vorliegende Verfahren definierten Rahmens und seiner Gültigkeit.

4.2.4 Chemische und physikalische Kenndaten der Wasserproben

Zusammen mit dem Phytoplankton müssen für das Bewertungsverfahren folgende chemische und physikalische Parameter des Wassers erfasst werden:

- Bestimmung der Chloridkonzentration nach DIN,
- Photometrische Bestimmung der Chlorophyll-a-Konzentration nach DIN,
- Chlorophyll-a-Bestimmung aus der Mischprobe für die Phytoplanktonanalyse.

Gemeinsam mit Chlorophyll-a ist die Extinktion 436 nm Ersatzgröße für die nach WRRL geforderte Beurteilung der algenbürtig beeinträchtigten Sichttiefe.

Es werden folgende, weitere Messgrößen zur Interpretation empfohlen:

- Bestimmung der Gesamtphosphor-Konzentration nach DIN,
- Photometrische Bestimmung der Extinktion bei 436 nm nach DIN (Messung der unfiltrierten Probe ergibt „scheinbare Färbung“ und Messung der filtrierten Probe ergibt „tatsächliche Färbung“. Beide Messungen sollen durchgeführt werden.),
- Sichttiefe mit Secchi-Scheibe (bei Grundsicht Gewässertiefe notieren),
- Wassertemperatur, Gesamthärte, Säurekapazität,
- Bestimmung des gelösten Phosphors – SRP-Konzentration nach DIN,
- Trübungswert mit Sonde, falls keine Extinktion bei 436 nm bestimmt werden kann,
- Bestimmung der Gesamtstickstoff-Konzentration nach DIN,
- Photometrische Bestimmung der gelösten Silizium-Konzentration nach DIN.

4.2.5 Entnahme und Konservierung der Phytoplanktonproben (-Lugolproben)

Es erfolgt die Entnahme einer Probe aus der 0,5 m Probe oder aus der Mischprobe.

Es gelten hinsichtlich der Probenflaschen, -fixierung und -aufbewahrung die gleichen qualitätssichernden Anforderungen wie für das Phytoplankton aus Seen (Details s. Kap. 2.2.3). Es sollten immer klare Enghals-Glasflaschen mit Schraubverschluss und zur Fixierung eine Lugol'sche Lösung verwendet werden (s. EN 15204). Von einer Lagerung länger als sechs Monate bis zur mikroskopischen Auswertung wird dringend abgeraten, da es zu Zersetzungsprozessen trotz Fixierung kommen kann.

4.3 Taxonomische Analyse und Utermöhl-Verfahren (Mikroskopie) für die Bewertung von Fließgewässern

Für das Bewertungsverfahren PhytoFluss ist eine quantitative Bestimmung des Phytoplanktons in Sedimentationskammern mit Diametralzählung nach der UTERMÖHL-Methode (UTERMÖHL 1958 und EN 15204) an einem inversen Mikroskop erforderlich.

Nach Lagerung der Probe wird diese auf ihre sachgerechte Fixierung mit Lugol'scher Lösung überprüft: Falls die Proben nicht mehr cognac-farbig, sondern entfärbt sind, muss dies protokolliert und eine Meldung an den Verantwortlichen der Probenlagerung und den Bearbeiter der Phytoplanktonanalytik erfolgen. Entfärbte Proben können Zersetzungsprozesse aufweisen, die unsystematisch das Gesamtbiovolumen reduzieren.

Die Geräteanforderungen, die Probenvorbereitung, die mikroskopische Zählstrategie und Erstellung einer Zählliste, die Hinweise für die Bestimmungsliteratur, für die Bestimmung von Zellvolumina und Berechnung von Taxabiovolume sowie die Kodierung der Taxa sind mit den Anforderungen für das Seenverfahren identisch (s. Kap. 3.3).

Vom Seenverfahren weicht das Fließgewässerverfahren Phytoplankton lediglich in zwei Punkten ab:

Verfahrensspezifische Mindestbestimmungstiefe: Die verfahrensspezifische Bestimmungstiefe verlangt für das Fließgewässerverfahren in weniger Fällen die Artbestimmung als in Seen, häufiger ist die Bestimmung auf Gattungsniveau ausreichend. In der harmonisierten Taxaliste ist die Mindestbestimmungstiefe für jedes Taxon aufgeführt (s. Anhang in MISCHKE & BEHRENDT 2007) und wird auch in den überarbeiteten digitalen Fassungen der Taxaliste nochmals gesondert ausgewiesen (s. MISCHKE & KUSBER 2009).

Auswertung: Für die automatisierte Auswertung der Phytoplanktonbefunde ist zwar die Kodierung mittels der gleichen Taxaliste wie für Seen erforderlich (s. MISCHKE & KUSBER 2009), es wird als Auswertungsprogramm jedoch das Access-basierte Programm PhytoFluss genutzt (BÖHMER & MISCHKE, 2008, 2009, passend zur Taxaliste mit Stand Mai 2009). Die Phytoplanktonbefunde müssen für das Auswertungsprogramm einer Formatvorlage entsprechen, wie sie in der Excel Datei:

Informationen_zur_Software_PhytoFluss_mit_Eingabeformat.xls zur Verfügung steht.

Zur automatischen Index- und Bewertungsberechnung werden die so vorbereiteten Daten in die Datenbank PhytoFluss.mdb importiert. Diese, als Auswertungssoftware vorbereitete Datenbank berechnet die für das Bewertungsverfahren erforderlichen Saisonmittel aus den chemischen und biologischen Eingangsdaten und gibt die Bewertungsergebnisse als eine Excel- Exportdatei aus.

Das Programm PhytoFluss.mdb, die Anleitung mit Formatvorgaben in Excel und die harmonisierte Taxaliste stehen kostenlos zum Download auf folgender Internetseite zur Verfügung: <http://www.igb-berlin.de/abt2/mitarbeiter/mischke>.

5 Zusammenfassung und Ausblick

In diesem Beitrag sind die Ergebnisse zehnjähriger gemeinsamer Projektarbeiten im Rahmen der Implementierung der EU-Wasserrahmenrichtlinie zur Bewertung von Seen und Flüssen anhand der Qualitätskomponente „Phytoplankton“ eingeflossen. Ziel der eigentlichen Arbeiten war die Erstellung von Bewertungsverfahren, die in MISCHKE & NIXDORF (2008), HOEHN et al. (2009), BEHRENDT & MISCHKE (2007) veröffentlicht sind. Als wesentliche Voraussetzung für eine

Bewertung hat sich jedoch die Notwendigkeit einer vergleichbaren Beprobung der Gewässer und der Aufbereitung und Auswertung der Proben erwiesen. Wesentliche Änderungen zu den bislang bestehenden vielgestaltigen Probenahmeverfahren sind:

- Mindestens 6 Probenahmen in der Vegetationsperiode von April bis Oktober werden vorgeschrieben.
- Die Entnahme von Mischproben anstelle von punktuellen Proben von stehenden Gewässern aus distinkten Tiefen wird für alle durchmischten Gewässerschichten vorgegeben. Das betrifft in flachen polymiktischen Seen den gesamten Wasserkörper, unabhängig davon, ob sich temporäre vertikale Schichtungen einstellen können. In mono- und dimiktischen Seen werden während der Vollzirkulationsphasen Mischproben mindestens bis zur mittleren Tiefe des Sees entnommen. Während der Sommerstagnation wird in trüben geschichteten Seen das Epilimnion und in klaren Seen die euphotische Zone beprobt.
- Als wichtigste Neuerung werden künftig bei allen Beprobungen die biologischen und chemischen Unterproben aus einer Mischprobe entnommen (Ausnahme bei Ausbildung von Tiefenchlorophyllmaxima (DCM = deep chlorophyll maximum) oder Durchführung von chemischen Tiefenprofilen).
- Eine ausführliche Anleitung zur Entnahme von Diatomeenproben aus dem Profundal wurde vorgestellt.
- Die quantitative taxonomische Analyse der Phytoplanktonproben nach dem Utermöhl-Verfahren ist in allen Schritten nachvollziehbar beschrieben worden, ebenso die Auswerteprozedur, die eine einheitliche Auswertung zum ökologischen Zustand der Gewässer erlaubt.
- Die Erfordernisse (Kodierung, Taxanamen) und das zu erreichende Niveau bei der taxonomischen Bestimmung aller Phytoplanktontaxa, und zusätzlich bei der Auswertung der Diatomeen aus dem Profundal und dem Pelagial sind ausführlich beschrieben worden.
- Daneben sind auch hinweise und Links zu wichtigen und aktuellen Ergebnissen der planktonrelevanten Beprobung und taxonomischen Auswertung gegeben worden.
- Ziel der vorliegenden Erhebung war die Vereinheitlichung der Probenahme und -auswertung für die Bewertung von Seen und Flüssen anhand des Phytoplanktons. Im Rahmen dieser Studien fanden eine Vielzahl von Diskussionen und mehrere Workshops zur Probenahme statt, die zu einer gemeinsamen Probenahmestrategie führten. Dabei konnten nicht alle limnologisch relevanten Probleme bzw. Fragen gelöst werden. Das betrifft z. B. die Quantifizierung der Tiefen-Chlorophyll-Maxima in klaren und tiefen Seen. Da dieser produktionsrelevante Prozess in der Bewertung auch keine Berücksichtigung fand, ist die hier dargelegte Strategie als ein Kompromiss zur groben Erfassung der DCM zu werten.
- Die saisonalen Schwankungen und Ausprägungen in der Phytoplanktonbiomasse (Frühjahrs- und Herbstmaxima, winterliche Biomasseentwicklung) können mit dieser Probenahmeverfahren ebenso wenig in zeitlicher und räumlicher Auflösung ausreichend erfasst werden, wie die Erscheinungen von Phytoplanktonblüten (Cyanobakterien).

- Welche Rolle das Picophytoplankton für die trophische Einschätzung unserer Gewässer spielt, muss mit dem bisherigen Verfahren ebenso unbeantwortet bleiben wie die Rückkopplungen mit dem Zooplankton, das es als eigenständiger Parameter keine Berücksichtigung in der WRRL fand, obwohl viel versprechende Ansätze existieren (DENEKE 2008, GROßE et al. 1998).
- Diese Defizite betreffen jedoch in erster Linie die Bewertung der Gewässer. Grundlage für ein solches objektives Verfahren ist in jedem Fall eine nach einheitlichen Prinzipien gestaltete Probenahme und Aufbereitung der Proben. Wir hoffen, mit dieser Verfahrensanleitung eine Verbesserung und Optimierung der Probenahme und -auswertung von Phytoplanktonproben in Seen und Flüssen erreicht zu haben.
- Die hier vorgestellten Vorschriften für Probenahme und für die mikroskopische Auswertung basieren auf NIXDORF et al. (2008) und MISCHKE & BEHRENDT (2007) zur Erhebung der Überwachungsdaten für die Bewertungsverfahren Phytoplankton zur Umsetzung der EU-Wasserrahmenrichtlinie in stehenden Gewässern (MISCHKE et al. 2008, HOEHN et al. 2009). Sie wurden in einem Praxistest der Bundesländer getestet und von der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser allgemein akzeptiert. Während bereits einige Elemente Eingang in europäische Normen gefunden haben, wie das Utermöhl-Verfahren zur quantitativen Erfassung des Phytoplanktons (EN 15204), steht eine europäische Normung der Probenahme und der Biovolumenbestimmung sowie die Bereitstellung einer operativen europäischen Taxaliste noch aus. Falls diese für die Unterstützung der EU-Wasserrahmenrichtlinie geplanten Normen inhaltlich von der hier vorliegenden deutschen Vorschrift abweichen, wird es zukünftig erforderlich sein, durch Modifikation dieser Vorschriften zu einer Harmonisierung zu kommen.

Danksagung

Die vorgestellten Konzepte und Ergebnisse wurden zu großen Teilen im Rahmen zweier Projekte (LAWA/DVWK „Leitbildbezogenes Bewertungsverfahren für Phytoplankton in Seen“ OK 5.90 und LAWA-Projekt „Bundesweiter Praxistest Bewertungsverfahren Phytoplankton in natürlichen Seen zur Umsetzung der WRRL“ O 5.05) erarbeitet. Folgende Einrichtungen haben neben den Erfahrungen der Institute den Autoren ihre Erfahrungen mit der Probenahmeverfahren innerhalb des „Praxistest Phytoplankton Seen“ übermittelt: das Bayerische Landesamt für Umwelt, Landesanstalt für Umwelt, Messungen und Naturschutz Baden-Württemberg (LUBW), Niedersächsisches Landesamt für Ökologie, Umweltministerium Mecklenburg-Vorpommern, Landesumweltamt Brandenburg, Landesamt für Natur und Umwelt Schleswig-Holstein, Landesamt für Umwelt, Wasserwirtschaft und Gewerbeaufsicht Rheinland-Pfalz, Landesamt für Natur- Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen, Landesbetrieb für Hochwasserschutz und Wasserwirtschaft Sachsen Anhalt – Fachgebiet Ökologie mit StAU Magdeburg, die Berliner Senatsverwaltung für

Gesundheit, Umwelt und Verbraucherschutz Berlin, Brandenburg Technische Universität Cottbus/Bad Saarow. Die Daten wurden durch zahlreiche Labore und Institute ermittelt, die hier nicht alle namentlich genannt werden können. Wir bedanken uns vor allem bei den Kolleginnen und Kollegen, die uns in zahlreichen Diskussionen inhaltliche Hilfestellungen gegeben haben. Das betrifft insbesondere alle Mitglieder des LAWA-Unterarbeitskreises „Ökologische Bewertung von Seen und Interkalibrierung Seen“ sowie deren Mitarbeitern bzw. Unterauftragnehmern, u. a. Frau Dr. Bahnwart, Herrn Dr. Täuscher und Herrn Dr. Arp, die uns im Praxistest Daten und hilfreiche und kritische Anmerkungen übermittelt haben.

Bei der Entwicklung der Vorschrift zum Phytoplankton in Fließgewässern gilt allen Mitgliedern des Unterarbeitskreises der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser „Biologische Bewertung Fließgewässer und Interkalibrierung nach EU-WRRL“, und Experten besonderer Dank, namentlich Annette Holm, Eva Bellack, Klaus Roch, Folker Fischer, Mechthild Banning, Martina Jährling, Kerstin Jenemann, Antje Köhler, Monika Schmidt, Barbara Guhl, Jörg Schönfelder, Marina Carstens, Martin Dittrich, Hartmut Vobis, Susanne Wanner und Klaus Wendling, die die LAWA-Projekte (O 6.03, O 3.05) in vielfältiger Weise sehr kooperativ und freundlich unterstützt haben.

Den zahlreichen und sehr kooperativen Experten und Anwendern in Deutschland möchten wir zusätzlich ausdrücklich für die konstruktiven Hinweise danken. Sie haben alle wesentlich zu dem vorliegenden Beprobungs- und Auswertungsvorschriften Phytoplankton beigetragen.

Frau Beate Müller vom Lehrstuhl Gewässerschutz der BTU Cottbus sei ganz herzlich gedankt bei der Verwaltung der Projekte und ihrem Einsatz bei der Erstellung der Berichte und Manuskripte, die wesentlich zum nötigen „Feinschliff“ beigetragen haben.

6 Literatur

6.1 Zitierte Literatur

- BAFU (SCHWEIZER BUNDESAMT FÜR UMWELT) (2006): Kieselalgen Stufe F (flächendeckend). Methoden zur Untersuchung und Beurteilung der Fließgewässer. Bern, 30.03.2006
- BATTARBEE, R. W. (1986): Diatom analysis. In: Berglund, B. E. (ed.): Handbook of holocene palaeoecology and palaeohydrology. – John Wiley & Sons, Chichester, New York, Toronto, Singapore, 527–569
- BÖHMER, J.; MISCHKE, U. (2008): Auswertungssoftware Version PhytoFluss 2.0 mit Information zur Software PhytoFluss mit Eingabeformat zum deutschen Bewertungsverfahren von Fließgewässern mittels Phytoplankton modifiziert nach Mischke & Behrendt 2007 zur Umsetzung der EU-Wasserrahmenrichtlinie. (PhytoFluss_Vers2_0 download zip-file): Internet-Veröffentlichung am 01.04.2008 unter <http://igb-berlin.de/abt2/mitarbeiter/mischke> im Download-Bereich
- BÖHMER, J.; MISCHKE, U. (2009): Auswertungssoftware Version PhytoFluss 2.1 aktualisiert für die Taxaliste Phytoplankton (HTL_Mai_09) mit Anleitung und Eingabeformat zum deutschen Bewertungsverfahren von Fließgewässern mittels Phytoplankton modifiziert nach Mischke & Behrendt 2007 zur

- Umsetzung der EU-Wasserrahmenrichtlinie. (PhytoFluss_Vers2_1 download zip-file) Internet-Veröffentlichung am 29.06.2009 unter: <http://igb-berlin.de/abt2/mitarbeiter/mischke> im Download-Bereich
- CASPER, J.; SCHEFFLER, W.; AUGSTEN, K. (1992): *Stephanodiscus neoastraea* Hakansson et Hickel (Bacillariophyta, Centrales) in norddeutschen Seen und Flüssen. Arch. Protistenkd. 142, 192–206
- DENEKE, R., 2008: Möglichkeiten und Grenzen der Indikation ökologischer Zustände von Seen mithilfe des Zooplanktons. Deutsche Gesellschaft für Limnologie. Erweiterte Zusammenfassungen der Tagung in Münster 2007, Eigenverlag der DGL, Werder : 373–377
- DOKULLI, M.; HAMM, A.; KOHL, J.-G. (2001): Ökologie und Schutz von Seen. – 499 S. UTB, Wien
- EUROPÄISCHE UNION (2000): 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. Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften L 327 vom 22. Dezember 2000. – EG WRRL
- GEIßLER, U.; KIES, L. (2003): Artendiversität und Veränderungen in der Algenflora zweier städtischer Ballungsgebiete Deutschlands Berlin und Hamburg (Diversity and dynamics of the freshwater algal flora in two urban areas of Germany Berlin and Hamburg). – 777 S. Nova Hedwigia Beihefte 126 .J. Cramer in der Gebr. Borntraeger Verlagsbuchhandlung. Berlin, Stuttgart
- GROßE, N.; CLASEN, J.; HOEHN, E.; HORN, W.; KETELAARS, H.; MÜLLER, U.; SCHARF, W.; WILLMITZER, H.; BENNDORF, J. (1998): Der Einfluss des Fischbestandes auf die Zooplanktonbesiedlung und die Wassergüte. Das Gas- und Wasserfach 15, Special Talsperren, 30–35
- HOEHN, E.; RIEDMÜLLER, U.; ECKERT, B.; TWORECK, A.; D. LEßMANN (2009): Abschlussbericht zum LAWA-Projekt Ökologische Bewertung von künstlichen und erheblich veränderten Seen sowie Mittelgebirgsseen anhand der biologischen Komponente Phytoplankton nach den Anforderungen der EU-Wasserrahmenrichtlinie – Bewertungsmodul für Mittelgebirgsseen und Verfahrensanpassungen für Baggerseen, pH-neutrale Tagebauseen, Talsperren und Sondertypen im Tiefland – Projekt-Nr. O 3.06, 1–99
- KLEE, R.; STEINBERG, C. (1987): Kieselalgen bayerischer Gewässer. Informationsberichte Bayer. Landesamt für Wasserwirtschaft 4/87 (LoseblattsammLung). ISSN 0176 4217
- KNOPF, K.; HOEHN, E.; MISCHKE, U.; NIXDORF, B. (2000): Klassifizierungsverfahren von Seen anhand des Phytoplanktons. Teil I der Literaturstudie über „Ökologische Gewässerwertung – Phytoplankton“ im Auftrag der ATV/DVWK und LAWA-AG „Stehende Gewässer“, 100 S
- KRAMMER, K.; LANGE-BERTALOT, H. (1986 1991): Süßwasserflora von Mitteleuropa, Bacillariophyceae. 2/1: Naviculaceae, 1 876; 2/2: Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae, 1–596; 2/3: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae, 1–576; 2/4: Achnantheaceae, 1–437; Gustav Fischer, Stuttgart
- KRIENITZ, L. (1990): Coccale Grünalgen der mittleren Elbe. Limnologia 21(1), 165–231
- KUSBER, W.-H. (2009): Synonyme- Liste für das Monitoring und als Ergänzung zur harmonisierten Taxaliste des Phytoplanktons. Stand Juni 2009 – Kostenloser download der aktuellen Version: <http://www.algaterra.org/synonymie.htm>
- LANGE-BERTALOT, H.; METZELTIN, D. (1996): Indikatoren der Oligotrophie. Iconographia Diatomologica 2, Koeltz Scientific Books, Koenigstein, 1–390
- LANGE-BERTALOT, H. (1993): 85 neue Taxa und über 100 weitere neu definierte Taxa ergänzend zur Süßwasserflora von Mitteleuropa. Bibliotheca Diatomologica, 27, J. Cramer / Gebr. Borntraeger, Berlin, Stuttgart, 1–456
- LAWA (Länderarbeitsgemeinschaft Wasser) (1999): Gewässerbewertung – Stehende Gewässer. Vorläufige Richtlinie für eine Erstbewertung von natürlich entstandenen Seen nach trophischen Kriterien, 74 S. – Kulturbuchverlag, Berlin
- LOHMANN, H. (1906/1908): Untersuchungen zur Feststellung des vollständigen Gehaltes des Meeres an Plankton. – Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen Abt. Kiel 9, 192 194 und 10, 131–370
- MAUCH, E.; SCHMEDTJE, U.; MAETZE, A.; FISCHER, F. (2003): Taxaliste der Gewässerorganismen Deutschland. – Informationsberichte Heft 1/03. Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft. München. 388. Kostenloser download unter: http://www.bayern.de/lfw/technik/gkd/lmn/fliessgewaesser_seen/taxa/
- MISCHKE, U.; BÖHMER, J. & RIEDMÜLLER, U. (2009a): Software PhytoSee Version 4.0. Auswertungssoftware zur Berechnung des Phyto-See-Index (PSI) nach Mischke et al. (2009) und Hoehn et al. (2008) für die Bewertung von natürlichen Seen, AWB und HMWB gemäß der EG- Wasserrahmenrichtlinie mit Anleitung zur Verwendung und Vorgaben für die Eingangsdaten „Formatvorlage_PhytoSee_Auswertungsprogramm_5_09.xls“. Internet-Veröffentlichung am 20.05.2009 unter: <http://www.igb-berlin.de/abt2/mitarbeiter/mischke> im Download-Bereich
- MISCHKE U.; RIEDMÜLLER, U.; HOEHN, E. (2009b): Abschlußbericht zum Feinabstimmungsprojekt zum deutschen Bewertungsverfahren für Phytoplankton in Seen zur Umsetzung der EU-Wasserrahmenrichtlinie; LAWA O 9.08 06.05.2009 IGB Berlin. 79 S.
- MISCHKE, U. (2009): Kurzdarstellungen Phytoplankton – Anhang zum UBA Forschungsvorhaben: Weiterentwicklung biologischer Untersuchungsverfahren zur kohärenten Umsetzung der EG-Wasserrahmenrichtlinie. Internet-Veröffentlichung am 30.06.2009 unter <http://www.igb-berlin.de/abt2/mitarbeiter/mischke> im Download-Bereich
- MISCHKE, U. (2008): Anleitung zur Verwendung des Bewertungsprogramms „PhytoSee“. – In: Mischke U. & B. Nixdorf (Hrsg.) ISBN 978 3 940471 06 2 Aktuelle Reihe 01/2008 (Gewässerreport 10), Eigenverlag BTU Cottbus; 185–201
- MISCHKE, U.; NIXDORF, B.; HOEHN, E.; RIEDMÜLLER, U. (2004): Routineauswertungen des Phytoplanktons: Möglichkeiten und Grenzen ihrer Nutzung für die Bewertung nach der EU-WRRL. Tagungsberichte der Jahrestagungen der DGL, Jahrestagung 2003 in Köln. 2004, 80–84
- MISCHKE, U.; BEHRENDT, H. (2007): Handbuch zum Bewertungsverfahren von Fließgewässern mittels Phytoplankton zur Umsetzung der EU-Wasserrahmenrichtlinie in Deutschland. – 88 S. ISBN 978 3 89998 105 6. WeißenseeVerlag, Berlin
- MISCHKE, U.; KUSBER, W.-H. (2006): Harmonisierte Taxaliste des Phytoplanktons für die Bewertung von Seen und Flüssen nach EU-WRRL. <http://unio.igb-berlin.de/abt2/mitarbeiter/mischke/> (11.09.2006)
- MISCHKE, U.; KUSBER, W.-H. (2009): Die harmonisierte Taxaliste des Phytoplanktons für Seen und Flüsse in Deutschland. Excel Datei. Liste zur Kodierung des Phytoplanktons für die EG-WRRL und die Anwendung des Auswertungsprogrammes PhytoSee 4.0 mit ausführlichen Anmerkungen. Internet-Veröffentlichung am 18.06.2009 unter <http://www.igb-berlin.de/abt2/mitarbeiter/mischke> im Download-Bereich
- MISCHKE, U.; RIEDMÜLLER, U.; HOEHN, E.; NIXDORF, B. (2008): Praxistest zur Bewertung von Seen anhand des Phytoplanktons gemäß EU-WRRL. Endbericht zum LAWA-Projekt (O 5.05). – In: Mischke, U. & B. Nixdorf (Hrsg.) ISBN 978 3 940471 06 2 Aktuelle Reihe 01/2008 (Gewässerreport 10), Eigenverlag BTU Cottbus; 7–115
- NIXDORF, B.; RIEDMÜLLER, U.; MISCHKE, U.; HOEHN, E. (2000): Klassifizierungsverfahren für Fließgewässer anhand des Phytoplank-

- tons. Teil II der Literaturstudie über „Ökologische Gewässerwertung – Phytoplankton“ im Auftrag der ATV/DVWK und LAWA-AG „Stehende Gewässer“, 61 S.
- NIXDORF, B.; MISCHKE, U.; HOEHN, E.; RIEDMÜLLER, U. (2005): Leitbildorientierte Bewertung von Seen anhand der Teilkomponente Phytoplankton im Rahmen der Umsetzung der EU-Wasser-rahmenrichtlinie. – 18.08.2005, Im Auftrag der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA), 187 S. und Anhänge mit Probenahmevorschrift
- NIXDORF, B.; MISCHKE, U.; HOEHN, E.; RIEDMÜLLER, U. (2006): Überarbeitete Fassung des Berichtes: Leitbildorientierte Bewertung von Seen anhand der Teilkomponente Phytoplankton im Rahmen der Umsetzung der EU-Wasser-rahmenrichtlinie, 190 S. Nur Internet-Version: <http://www.tu-cottbus.de/fakultaet4/de/gewaesserschutz/downloads/projekte.html>
- NIXDORF, B.; HOEHN, E.; RIEDMÜLLER, U.; MISCHKE, U.; SCHÖNFELDER, I.; BAHNWARD, M. (2008): Anforderungen an Probenahme und Analyse der Phytoplanktonbiozönosen in Seen zur ökologischen Bewertung gemäß der EU-WRRL. – In: Mischke, U. & B. Nixdorf (Hrsg.), Gewässerreport (Nr. 10), BTUC-AR 2/2008, Eigenverlag BTU Cottbus, 147–184
- PADISÁK, J.; KRIENITZ, L.; SCHEFFLER, W. (1999): Phytoplankton. S. 35–53. – In: Tümpling v., W. & Friedrich, G.: Biologische Gewässeruntersuchung. Methoden der biologischen Wasseruntersuchung. – 2. Gustav Fischer, Jena
- POHLMANN, M.; FRIEDRICH, G. (2001): Bestimmung der Phytoplanktonvolumina – Methodik und Ergebnisse am Beispiel Niederrhein. – *Limnologica* 31, 229–238
- POTTGIESSER, T.; SOMMERHÄUSER, M. (2004): Fließgewässertypologie Deutschlands: Die Gewässertypen und ihre Steckbriefe als Beitrag zur Umsetzung der EU-Wasser-rahmenrichtlinie. – In: Steinberg, C.; Calmano, W.; R.-D. Wilken & H. Klapper (Hrsg.): Handbuch der Limnologie. 19. Erg.Lfg. 7/04. VIII 2.1: 1–16 + Anhang
- POTTGIESSER, T.; SOMMERHÄUSER, M. (2008): Aktualisierung der Steckbriefe der bundesdeutschen Fließgewässertypen (Teil A) und Ergänzung der bundesdeutschen Fließgewässertypen um typspezifische Rahmenbedingungen und Bewertungsverfahren aller Qualitätselemente (Teil B; 99_Anhang_gesamt_April2008.pdf). Internet-Veröffentlichung unter Bundes-, Länder-, Informations- und Kommunikationsplattform Wasserblick (April 2008): <http://www.wasserblick.net/servlet/is/18727/?lang=de&highlight=steckbriefe>
- REYNOLDS, C. S. (1984): The ecology of freshwater phytoplankton. 384 S. Cambridge University Press, Cambridge
- ROTT, E. (1981): Some results from phytoplankton counting intercalibrations. – Schweiz, Z. Hydrol. 43(1), 34–62
- ROTT, E.; SALMASO, N.; HOEHN, E. (2007): Quality control of Utermöhl based phytoplankton biovolume estimates – an easy task or an Gordian knot. – *Hydrobiologia* 578, 141–146
- SCHEFFLER, W.; HOUK, V.; KLEE, R. (2003): Morphology, morphological variability and ultrastructure of *Cyclotella delicatula* Hustedt (Bacillariophyceae) from Hustedt material. – *Diatom Research* 18, 107–121
- SCHEFFLER, W.; NICKLISCH, A.; SCHÖNFELDER, I. (2005): Beiträge zur Morphologie, Ökologie und Biologie der planktischen Diatomee *Cyclotella comensis* Grunow. Untersuchungen an historischem und rezentem Material. – *Diatom Research* 20: 171–200
- SCHÖNFELDER, I. (1997): Eine Phosphor-Diatomeen-Relation für alkalische Seen und Flüsse Brandenburgs und ihre Anwendung für die paläolimnologische Analyse von Auensedimenten der unteren Havel. – *Diss. Bot.* 283, 1–148
- SCHRÖDER, R. (1969): Ein summierender Wasserschöpfer. – *Arch. Hydrobiol.* 66, 241–243
- SCHWOERBEL, J. (1994): Methoden der Hydrobiologie Süßwasserbiologie. – 4. Aufl., 368 S. UTB 979, Gustav Fischer
- TÜMPLING V., W.; FRIEDRICH, G. (1999): Biologische Gewässeruntersuchung. Methoden der biologischen Wasseruntersuchung. 2. Auflage, 550 S., Gustav Fischer, Jena
- UTERMÖHL, H. (1958): Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. – *Mitt. Int. Ver. theor. angew. Limnol.* 9, 1–38
- VAN DER WERFF, A. (1955): A new method of concentrating and cleaning diatoms and other organisms. *Proc. Int. Assoc. theor. appl. Limnology* 13, 276–277

6.2 Vorschriften und Normen

- CEN (2008a): Draft proposal for „Water quality Guidance on quantitative and qualitative sampling of phytoplankton from inland waters“. N118 – DIN, Berlin, 17 S.
- CEN (2008b): Draft proposal for „Water quality – Phytoplankton biovolume determination by microscopy measurement of cell dimensions“. N116 – DIN, Berlin, 88 S.
- EN 14407: 2004: Wasserbeschaffenheit – Anleitung zur Bestimmung, Zählung und Interpretation benthischer Kieselalgen in Fließgewässern. – DIN, Beuth-Verlag, Berlin, August 2004, 12 S.
- EN 15204: 2006: Wasserbeschaffenheit – Anleitung für die Zählung von Phytoplankton mittels der Umkehrmikroskopie (Utermöhl-Technik). – DIN, Beuth-Verlag, Berlin, Dezember 2006. 46 S. EN (2006): **Bestellung:** <http://www.beuth.de/langanzeige/DIN+EN+15204/de/456B2518BB1FE481315A42825DB4DA2F4/88755296.html&limitationtype=&searchaccesskey=main>
- EN ISO 7027: 1999: Wasserbeschaffenheit – Bestimmung der Trübung. – DIN, Beuth-Verlag, Berlin, April 2000, 12 S.
- HOEHN, E.; CLASEN, J.; SCHARF, W.; KETELAARS, H.A.M.; NIENHÜSER, A.E.; HORN, H.; KERSKEN, H.; EWIG, B. (1998): Erfassung und Bewertung von Planktonorganismen. – ATT Technische Informationen 7, R. Oldenbourg Verlag München, Siegburg. 151 S. **Bestellung:** ISBN 3 486 26369 2, eine CD mit Planktonartenlisten (ca. 1.500 Arten) mit Biovolumina und Größenangaben sowie 100 ausgewählte Mikrofotografien aus Laboren der ATT liegt bei (HTML und EXCEL 5.0 für Betriebssystem Windows 3.11 oder höher), Adresse: Arbeitsgemeinschaft Trinkwassertalsperren e.V., c/o Aggervverband, Sonnenstr. 40D-51645 Gummersbach

