

Handbuch zur Qualitätssicherung des Untersuchungsverfahrens „Phytoplankton zur Bestimmung des Phyto-See-Index“

Stand 16.12.2014

erstellt durch Ute Mischke (IGB)

Abschlussbericht im Teilprojekt „QS-Handbuch“ im Rahmen des LAWA Projektes O 8.10

Entwurf zur Abstimmung im LAWA Expertenkreis Seen im Jahr 2014

Elektronische Beilage zum Auswertungsprogramm PhytoSee ab Version 6.0



Inhalt

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Aufgaben des QS-Handbuchs „Phytoplankton zur Bestimmung des Phyto-See-Index“ | 4 |
| 1.1 | Zweck des QS-Handbuchs zum Phyto-See-Index | 4 |
| 1.2 | Bedeutung des QS-Handbuchs im Rahmen der gesamten Qualitätssicherung | 5 |
| 2 | Allgemeine Verfahrensschritte | 7 |
| 2.1 | Auswahl des Seetyps, Probenahme, die Probenkonservierung und –lagerung..... | 8 |
| 2.1.1 | Literatur zur Verfahrensbeschreibung Phyto-See-Index | 10 |
| 2.1.2 | Literatur zu den deutschen Seetypen und zu Leistungsverzeichnissen | 10 |
| 2.1.3 | Literatur zur verfahrensspezifischen Probenahme in Seen und Planung für die zu messenden Begleitparameter | 11 |
| 2.1.4 | Übergeordnete Normen zur Probenahme in Seen..... | 11 |
| 2.2 | Mikroskopische Zählung von Phytoplankton mittels der Umkehrmikroskopie (Utermöhl-Technik) | 11 |
| 2.2.1 | Literatur zur verfahrensspezifischen mikroskopischen Auswertung | 12 |
| 2.2.2 | Allgemeine Literatur zur mikroskopischen Auswertung des Phytoplanktons und zur Fehlerabschätzung..... | 13 |
| 2.3 | Taxaliste des Phytoplanktons, Bestimmungsliteratur und verfahrensspezifisches Bestimmungsniveau..... | 13 |
| 2.3.1 | Literatur zur Bestimmung und Kodierung der Taxa..... | 15 |
| 2.4 | Präparation und Auszählung der Diatomeen..... | 15 |
| 2.5 | Bestimmung des Biovolumens des Phytoplanktons | 16 |
| 2.5.1 | Literatur zur Diatomeenpräparation und zur Bestimmung des Biovolumens des Phytoplanktons..... | 17 |
| 2.6 | Bestimmung des Chlorophyll a-Gehaltes..... | 17 |
| 2.6.1 | Normen zur Bestimmung des Chlorophyll-a Gehaltes | 18 |
| 2.6.2 | Literatur zur Bewertung des Chlorophyll-a Gehaltes in Seen | 18 |
| 2.7 | Berechnung des Phyto-See-Index mit dem Auswertungsprogramm | 18 |
| 2.7.1 | Programme und Dokumente zum Auswertungsprogramm PhytoSee | 20 |
| 3 | Übergreifende Anforderungen zur Qualitätssicherung: Protokolle, Archive und Fehlerprüfung..... | 20 |
| 3.1 | Protokollierung der Metadaten..... | 20 |
| 3.2 | Fotodokumentation wichtiger Phytoplanktonarten in Bilderarchiven | 21 |
| 3.3 | Angaben zur Messunsicherheit und Checkliste zur Fehlerabschätzung | 21 |
| 3.3.1 | Checkliste zur Fehlerabschätzung bei der Phytoplanktonerfassung und für den resultierenden Phyto-See-Index | 23 |
| 3.3.2 | Plausibilitätsprüfung des Bewertungsergebnisses (Phyto-See-Index)..... | 26 |

| | | |
|-------|---|----|
| 3.3.3 | Plausibilitätsprüfung durch Vergleich mit dem Trophie-Index nach LAWA 1999 und 2013..... | 27 |
| 3.3.4 | Literatur zur Plausibilitätsprüfung der Phytoplankton-Analyse und des Bewertungsergebnisses Phyto-See-Index | 27 |
| 4 | Annex 1: Indikatorarten, deren Dokumentation besonders empfohlen wird..... | 29 |
| 4.1 | Annex 2: Feldprotokoll und Checkliste zur Probenahmeprobereitung..... | 30 |
| 4.2 | Annex 3: Zählprotokoll mit den Komponenten Probencharakterisierung, Zählliste und Zellvolumenbestimmung | 32 |

1 Aufgaben des QS-Handbuchs „Phytoplankton zur Bestimmung des Phyto-See-Index“

Das biologische Untersuchungsverfahren „Phytoplankton zur Bestimmung des Phyto-See-Index“ dient der Umsetzung der europäischen Wasserrahmenrichtlinie zur ökologischen Bewertung von Seen in den wasserwirtschaftlichen Behörden und Umweltämtern in Deutschland. Das genannte Verfahren ist Teil des Rahmenkonzeptionspapiers der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA-AO RaKon 2014 Teil B¹) und wird Bestandteil der Oberflächengewässerverordnung (Aktualisierung der OGewV 2011). Mit dem Handbuch soll die Qualitätssicherung des Verfahrens verbessert werden.

Gemäß der „Anleitung zur Qualitätssicherung biologischer und ökologischer Untersuchungsverfahren in der aquatischen Umwelt“ (DIN EN 14996: 2006 (D)) umfasst die Qualitätssicherung folgende Punkte, wozu jeweils konkrete Beispiele aus den verfügbaren Verfahrensvorschriften zur Analyse des Phytoplanktons für ein besseres Verständnis hier vorab in Kursivschrift erwähnt werden:

- die Planung der Untersuchung und Probenahme, *die zum Beispiel für das Phytoplankton eine mindestens 6malige Beprobung eines Gewässers pro Untersuchungsjahr vorsieht (s. NIXDORF et al. 2010).*
- die Fehlerabschätzung bei Probenahme, Probenvorbereitung sowie Auswertung *die zum Beispiel für das Phytoplankton durch eine wiederholte Beprobung und mehrfache Auswertung der gleichen Probe vorgenommen werden kann (HOEHN et al. 1998; THACKERAY et al. 2013).*
- das Anlegen von Referenz-Sammlungen *wie zum Beispiel Fotografien mit Abbildungsmaßstab für Phytoplanktonarten und ggf. Diatomeen-Schalenpräparate*
- Durchführungsmerkmale *wie zum Beispiel die vorgegebene Zählstrategie für häufige und seltene und für größenvariable Arten bei der mikroskopischen Auswertung des Phytoplanktons in NIXDORF et al. (2010).*
- Probenbehandlung und Entnahme von Unterproben *für Phytoplankton gemäß den Ausführungen in NIXDORF et al. (2010) mit Anlegen von Metadaten zur Dokumentation (Zählprotokoll, Fixierungstechnik, Stichprobengröße etc.).*
- Festlegungen zur Taxonomie, Bestimmung und Nomenklatur *wie zum Beispiel das verfahrensspezifische Mindestbestimmungsniveau in der harmonisierten Taxaliste Phytoplankton.*
- Validierung von Ergebnissen durch Prüfung der Zuverlässigkeit der Daten *möglichst durch eine unabhängige Person (s.a. Checkliste und Bestimmung der Messunsicherheit) und durch die Teilnahme an Laborvergleichsuntersuchungen (EQAT Ringtests s. MEYBOHM et al. 2011).*
- Bewertung und Protokollierung mit Angabe der Basisdaten *wie zum Beispiel im Exportdatenblatt „Taxa_Rohliste“ des PhytoSee-Auswertungstools*
- Schulung durch Fachleute *wie zum Beispiel durch Teilnahme an Bestimmungskursen*

1.1 Zweck des QS-Handbuchs zum Phyto-See-Index

Das vorgelegte Handbuch dient zur Qualitätssicherung des Untersuchungsverfahrens der biologischen Gruppe „Phytoplankton“ bei der Bestimmung des Phyto-See-Index.

¹ LAWA-AO RaKon (2014): Rahmenkonzeptionen zur Aufstellung von Monitoringprogrammen und zur Bewertung des Zustands von Oberflächengewässern - Teil B: Bewertungsgrundlagen und Methodenbeschreibungen – Arbeitspapiere I –III – verabschiedet im Ständigen Ausschuss Oberirdische Gewässer und Küstengewässer (LAWA-AO) der Bund/Länder-Arbeitsgemeinschaft Wasser. <http://www.wasserblick.net/servlet/is/142684/> besucht am 21.07.2014

Für das Untersuchungsverfahren „Phytoplankton zur Bestimmung des Phyto-See-Index“ nennt das vorliegende Handbuch alle erforderlichen, allgemeinen Verfahrensschritte. Das vorliegende verfahrensspezifische Qualitätssicherung-Handbuch ist ein Baustein innerhalb eines umfassenderen Qualitätssicherungssystems (s. Kapitel 1.2).

Als allgemeine Verfahrensschritte umfasst das Untersuchungsverfahren „Phytoplankton zur Bestimmung des Phyto-See-Index“ die Probenahme, die Probenlagerung und –konservierung, die mikroskopische Auswertung nach dem Utermöhl-Verfahren mit Verwendung einer operativen Taxaliste, die Bestimmung des Biovolumens des Phytoplankton, die Chlorophyll a-Konzentration, die Protokollierung der Metadaten und der Taxa in Bilderarchiven und die Berechnung des Phyto-See-Index mit dem Auswertungsprogramm „PhytoSee*.mdb“.

Das vorliegende Handbuch nennt die für die allgemeinen Verfahrensschritte mitgeltenden Unterlagen, die teils Normen, teils Arbeitsanleitungen sind, und listet gesondert die dokumentationspflichtigen Arbeitsschritte und bietet dafür Musterblätter.

Die Fehlerabschätzung für die einzelnen Verfahrensschritte sowie für die Gesamtbewertung ist bei biologischen Untersuchungsverfahren oft nur qualitativ möglich (s. EN 14996:2006) und kann für das vorliegende Verfahren durch die Überprüfung einer in diesem Handbuch vorgeschlagenen „Checkliste zur Fehlerüberprüfung“ erfolgen.

Da zur Umsetzung der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie eine Meldung der Ergebnisse an die EU erfolgen muss, kommt der Qualitätssicherung des Untersuchungsverfahrens „Phytoplankton bei der Bestimmung des Phyto-See-Index“ eine besondere Bedeutung zu. Es können etwa aufgrund der ermittelten Bewertungsklasse rechtliche Konsequenzen aufgrund daraus entstehender Kosten sowie eine Hinterfragung der Öffentlichkeit entstehen. Denn bei der Ermittlung einer ökologischen Zustandsklasse von schlechter als „gut“ besteht Handlungsbedarf zur Verbesserung des Zustandes eines Sees.

Das QS-Handbuch ist kein Ersatz für das „Handbuch Phyto-See-Index - Verfahrensbeschreibung für die Bewertung von Seen“, welches bisher als elektronische Beilage zum aktuellen Bewertungsprogramm PhytoSee 5.1 im Entwurf wie folgt vorhanden ist:

MISCHKE, U., RIEDMÜLLER U., HOEHN E., NIXDORF B. (2013) Entwurf zum Handbuch Phyto-See-Index - Verfahrensbeschreibung für die Bewertung von Seen - Aktualisierung der bisher gültigen Version Mischke et al. (2008) gemäß den Ergebnissen der Projekte des Länderfinanzierungsprogrammes O 3.06, O 7.08, O 9.08, O 9.09, O 4.10 -Stand 2013. Elektronische Beilage zum aktuellen Bewertungsprogramm PhytoSee 5.1

Eine gedruckte Veröffentlichung der Verfahrensbeschreibung des Phyto-See-Index ist in Vorbereitung.

1.2 Bedeutung des QS-Handbuchs im Rahmen der gesamten Qualitätssicherung

Ein Handbuch zur Qualitätssicherung sollte Bestandteil der internen Qualitätssicherungsmaßnahmen sein.

Den Ausführungen des DGL-Arbeitskreises „Qualitätssicherung“ folgend, sind die Grundlagen für die Einrichtung eines Qualitätssicherungssystems in In der DIN EN ISO/IEC 17025 sind die Grundsätze für die Einrichtung von Qualitätssicherungssystemen in Laboratorien festgeschrieben. Die Handlungsanweisung zur Qualitätssicherung des Untersuchungsverfahrens „Phytoplankton zur Bestimmung des Phyto-See-Index“ sollte im Rahmen der Etablierung der Qualitätssicherungssysteme durch limnologisch tätige Personen und Einrichtungen fester Bestandteil des zu erarbeitenden Qualitätsmanagement-Handbuchs bzw. der Dokumentationen der eingesetzten Untersuchungsverfahren, z. B. in Form von Standardarbeitsanweisungen sein. folgende Bereiche parallel zu entwickeln:

die **interne Qualitätssicherung** innerhalb des Laboratoriums und

die **externe Qualitätssicherung** zwischen Laboratorien auf nationaler und internationaler Ebene.

Zu den **internen Qualitätssicherungsmaßnahmen** zählen eine Reihe von Maßnahmen die von jeder limnologisch tätigen Person/Einrichtung durchgeführt werden müssen, so wie es auch im Rahmen der Akkreditierung von Laboratorien gefordert wird:

Erarbeitung eines Qualitätsmanagement-Handbuchs,

Dokumentation der eingesetzten Untersuchungsverfahren in Form von Standardarbeitsanweisungen (SOPs),

Anlage von Vergleichs- und Belegsammlungen,

Qualifikation und regelmäßige Schulung des Personals bezüglich sämtlicher Verfahrensschritte (z.B. Taxonomie, Untersuchungsmethoden),

Verfügbarkeit der Bestimmungsliteratur zur Bearbeitung der einzelnen biologischen Gruppen auf dem jeweils gültigen, anerkannten Stand der Wissenschaft,

Validierung/Verifizierung der eingesetzten Untersuchungsmethoden zur Ermittlung der Verfahrenskenndaten (z. B. Ermittlung der Messunsicherheit bei der Biovolumen-bestimmung).

Zu den **externen Qualitätssicherungsmaßnahmen** gehören z.B.:

die regelmäßige Teilnahme an Schulungen und Workshops,

die regelmäßige Teilnahme an nationalen und internationalen Laborvergleichen bzw. Ringversuchen.

Eine Möglichkeit der externen Qualitätssicherung kann die stichprobenartige Überprüfung der Feld-, Labor- und Bestimmungsergebnisse durch eine externe Stelle sein. Dies kann beispielsweise durch die dokumentierte Nachbestimmung der Belegsammlung eines Auftrages erfolgen.

Dabei sind Vorgaben folgender relevanter Normen zugrunde gelegt worden:

- DIN EN ISO 5667-1 (2007-04): Wasserbeschaffenheit – Probenahme - Teil 1: Anleitung zur Erstellung von Probenahmeprogrammen und Probenahmetechniken
- DIN EN ISO 5667-3 (2013-03): Wasserbeschaffenheit – Probenahme - Teil 3: Konservierung und Handhabung von Wasserproben
- DIN ISO 5667-14 (2013-09): Wasserbeschaffenheit - Probenahme - Teil 14: Richtlinie zur Qualitätssicherung bei der Entnahme und Handhabung von Wasserproben
- DIN EN ISO 7027 (2000-04): Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Trübung
- DIN EN 14407 (2014-07): Wasserbeschaffenheit - Anleitung zur Bestimmung und Zählung von benthischen Kieselalgen in Fließgewässern und Seen
- DIN EN 14996 (2006-08): Wasserbeschaffenheit - Anleitung zur Qualitätssicherung biologischer und ökologischer Untersuchungsverfahren in der aquatischen Umwelt“.
- DIN EN 15204 (2006-12): Wasserbeschaffenheit – Anleitung für die Zählung von Phytoplankton mittels der Umkehrmikroskopie (Utermöhl-Technik)
- DIN EN 16101 (2012-12): Wasserbeschaffenheit - Anleitung für Vergleichsprüfungen zwischen Laboratorien für ökologische Untersuchungen
- DIN EN 16164 (2013-05): Wasserbeschaffenheit – Anleitung zur Gestaltung und Auswahl von taxonomischen Bestimmungsschlüsseln
- DIN EN 16493 (2014-11): Wasserbeschaffenheit – Anforderungen an die Nomenklatur für Aufzeichnungen über Biodiversitätsdaten, taxonomische Checklisten und Bestimmungsschlüssel

- DIN EN 16695 (Entwurf 2014-02): Wasserbeschaffenheit – Anleitung zur Abschätzung des Phytoplankton-Biovolumens
- DIN EN 16698 (Entwurf 2014-02): Wasserbeschaffenheit – Anleitung für die quantitative und qualitative Probenahme von Phytoplankton aus Binnengewässern
- DIN 38404-4 (1976-12): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C); Bestimmung der Temperatur (C 4)
- DIN 38412-16 (1985-12): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung – Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L) – Teil 16: Bestimmung des Chlorophyll-a-Gehaltes von Oberflächenwasser (L 16)

Weitere Hinweise sind den „Empfehlungen zu Grundlagen einheitlicher Qualitätsanforderungen limnologisch tätiger Büros und Laboratorien“ des DGL-Arbeitskreis „Qualitätssicherung“ (12.09.2007) zu entnehmen.

- DGL-ARBEITSKREIS „QUALITÄTSSICHERUNG“ (12.09.2007): „Empfehlungen zu Grundlagen einheitlicher Qualitätsanforderungen limnologisch tätiger Büros und Laboratorien“.

2 Allgemeine Verfahrensschritte

Das gesamte Untersuchungsverfahren „Phytoplankton zur Bestimmung des Phyto-See-Index“, von der Probenahme bis zur Index-Berechnung, ist für natürliche Seen nach den Kapiteln des Buchs „Bewertung von Seen mittels Phytoplankton zur Umsetzung der EU-Wasserrahmenrichtlinie“ (MISCHKE & NIXDORF 2008) unter Berücksichtigung der aufgeführten Aktualisierungen durchzuführen.

Aufgrund der Erweiterung des Phyto-See-Index für künstliche und erhebliche veränderte Gewässer wie Talsperren und Baggerseen, der Überarbeitung der Taxaliste und der Bewertungsgrenzen, und aufgrund der Weiterentwicklung des Untersuchungsverfahrens auf nationaler und internationaler Ebene sind zu dem Verfahrensstand nach MISCHKE & NIXDORF (2008) Ergänzungen und Hinweise erfolgt, die in dem Entwurf zum Handbuch „Phyto-See-Index“ (MISCHKE et al. 2013), welches dem aktuellen Verfahrensstand entspricht, enthalten sind².

Die Grundlagen für die allgemeinen Verfahrensschritte werden in den folgenden Kapiteln gemeinsam mit den Ergänzungen und Hinweisen benannt:

- 2.1) Auswahl des Seetyps, Probenahme und die Probenkonservierung und –lagerung
- 2.2) Die mikroskopische Bestimmung der quantitativen und qualitativen Artzusammensetzung des Phytoplanktons nach dem Utermöhl-Verfahren
- 2.3) Verwendung einer kommentierten, operativen Taxaliste² zur taxonomischen Kodierung, zur Ausweisung der zu verwendenden Bestimmungsliteratur und des verfahrensspezifischen Bestimmungsniveaus
- 2.4) Präparation und Auszählung der Diatomeen
- 2.5) Die Bestimmung des Biovolumens des Phytoplankton
- 2.6) Die Bestimmung der Chlorophyll a-Konzentration
- 2.7) Die Berechnung des Phyto-See-Index mit dem Auswertungsprogramm PhytoSee_*.mdb²

Die Berechnung des Phyto-See-Index ist in einer englischsprachigen Fassung dokumentiert (MISCHKE et al. 2008).

² Der Anwendung des Phyto-See-Index erfordert aufgrund potentiell notwendiger, weiterer Überarbeitungen auch in der Zukunft, dass der Anwender prüft, welche Version der harmonisierten Taxaliste des Phytoplanktons (HTL) und welches Auswertungsprogramm namens PhytoSee_*.mdb aktuell gilt und zu verwenden ist.

2.1 Auswahl des Seetyps, Probenahme, die Probenkonservierung und –lagerung

Der Anwendungsbereich des Phyto-See-Index erstreckt sich auf größere natürliche, künstliche und stark veränderte Standgewässer: Die für Deutschland an die EU meldepflichtigen Seen haben eine Seefläche größer als 50 ha, während innerhalb der Bundesländer die Anwendung des Phyto-See-Index bis zu einer Seefläche von größer als etwa 10 ha erfolgt.

Die Planung der Untersuchung an einem See sollte unter Berücksichtigung des erforderlichen Zeitaufwandes und Geräteanforderungen für die Probenahme bis zur Bestimmung des Untersuchungsziels, hier des Phyto-See-Index, erfolgen (s. DGL 2012) und bereits eine Berücksichtigung aller potentiellen Fehlerquellen vornehmen (s. Kapitel 2.1), die durch die Anfertigung von Protokollen überprüfbar werden.

Im Untersuchungsverfahren „Phytoplankton zur Bestimmung des Phyto-See-Index“ wird beginnend von der Probenahme im See bis zur Bestimmung des Phyto-See-Index nach der Zuordnung des untersuchten Sees zu einem der 14 deutschen Seetypen unterschieden. Die deutschen Seetypen sind in Steckbriefen dokumentiert (RIEDMÜLLER et al. 2013), die alle Kriterien zur Zuordnung enthalten. Die Steckbriefe der deutschen Seentypen ergänzen die Typisierung nach MATHES et al. (2010) und modifizieren die Seetypnamen in einer nun einheitlichen Fassung (s. a. LAWA-AO 2014, Arbeitspapier I in Teil B).

Das sommerliche thermische Durchmischungsregime im See ist ein wichtiges Kriterium für die Auswahl der Beprobungstiefe und für die Zuordnung zu dem nationalen Gewässertyp. Es werden die Schichtungstypen „polymiktisch“ und „geschichtet“ in den Steckbriefen der deutschen Gewässertypen unterschieden (RIEDMÜLLER et al. 2013). Nach MATHES et al. (2010) wird empfohlen, einen See als geschichtet einzuordnen, wenn die thermische Schichtung an der tiefsten Stelle des Sees für mindestens 3 Monate stabil bleibt. Die Abgrenzung des Epilimnions (Z_{epi}) wird anhand des Wendepunktes des Temperaturkurvenverlaufes vorgenommen und nicht wie häufig definiert nach dem 1 °C/m Temperaturgradient.

Für die Probenahme und die Aufbereitung und Konservierung von Proben des Phytoplanktons aus Seen und Fließgewässern für das Untersuchungsverfahren „Phytoplankton zur Bestimmung des Phyto-See-Index“ sind die Anleitung und die verfahrensspezifischen Anforderungen nach NIXDORF et al. (2010) in allen Punkten zu beachten. Zusätzlich gelten die Anforderungen an die Probelagerung für die Chlorophyll a-Bestimmung nach DIN 38412-16 (u.a. strengster Schutz vor Lichteinwirkung) und nach DIN EN 15204 (u.a. Aufbewahrung von Lugol-fixierten Proben nicht länger als 6 Monate).

Die Seen werden nach ihren topographischen und morphometrischen Eigenschaften entsprechend der Vorgabe der LAWA (1999) an einer oder mehreren Messstellen beprobt. Als Probenahmestelle soll die tiefste Stelle des Sees ermittelt werden.

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. Mindestens vier der Beprobungstermine müssen in der Zeit von Mai bis September liegen.

Neben der Ermittlung der Tiefe des Epilimnions (Z_{epi}) mittels einer Temperatursonde oder eines Thermometers aus Proben eines Tiefenprofils (DIN 38404-4) ist für die Probenahme des Phytoplankton in Seen das Durchlichtungsregime wichtig. Die durchlichtete Gewässerschicht, die euphotische Zone (Z_{eu}) errechnet sich vereinfachend aus der 2,5-fachen Sichttiefe. Die Sichttiefe wird mit einer Secchi-Scheibe bestimmt (DIN EN ISO 7027) unter Verwendung eines Sichtrohrs (Secchiskops) oder Sichtkastens.

In Abhängigkeit vom Durchmischungs- und Durchlichtungsregime wird jeweils eine Mischprobe aus den folgenden Wasserschichten entnommen (Details s. NIXDORF et al. 2010):

a) in polymiktischen Seen (deutsche Seetypen 1, 6, 11, 12, 14) 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 thermisch geschichteten Seen (deutsche Seetypen 2, 3, 4, 5, 7, 9, 10, 13) während der Vollzirkulation aus der durchmischten Schicht bis zur mittleren Tiefe des Sees, im norddeutschen Tiefland jedoch maximal nur bis in 10 m Tiefe, nach prEN 16698 maximal 20 m. 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 thermischer Schichtung (Stagnation) werden zwei Zustände für die Probenahme unterschieden:

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

b2) in klaren ($Z_{eu} > Z_{epi}$) Seen wird bei Stagnation 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.

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. Diese DCM werden in der Routinebeprobung nach EU-WRRL nicht berücksichtigt.

Die Probenahme kann unter Verwendung herkömmlicher Schöpfertypen (Friedinger- oder Van-Dorn-Fallschöpfer, Limnos-Schöpfer) erfolgen. Es wird nach den Anweisungen von NIXDORF et al. (2010) eine Mischprobe hergestellt. Als optimale Methode wird die Misch-Probenahme mit einem integrierenden bzw. summierenden Schöpfer empfohlen.

Die Entnahme von Unterproben aus der Mischprobe muss in geeignete Probeflaschen (Glas, Enghals, klar) erfolgen, an denen ein wasserfestes und haltbares Etikett zur Beschriftung der Probe angebracht werden kann. Die Beschriftung sollte neben den Angaben zum Namen der Beprobungsstelle, Beprobungsdatum, der Entnahmetiefe, Probenfixierungsmittel (z.B. Lugol'sche Lösung), bereits eine im leitenden Labor zuvor vergebene möglichst numerische Probenummer enthalten.

Aus der Mischprobe soll neben der Phytoplanktonprobe auch die Probe für die Chlorophyll a-Bestimmung entnommen werden. Für die optionale Herstellung von Präparaten für Diatomeen aus dem Pelagial werden zusätzlich 0,5 bis 1 Liter aus der Mischprobe entnommen.

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 bereits vor Ort mit Na-Acetat fixiert (in Nixdorf et al. 2010 mod. nach UTERMÖHL 1958).

Phytoplanktonproben: 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.

Diatomeenprobe aus dem Pelagial: Die Herstellung von Schalenpräparaten für Diatomeen aus dem Pelagial wird besonders für klare Seen ($Z_{eu} > Z_{epi}$) empfohlen. Die Probenahmenvorschrift von Diatomeen aus dem Pelagial (NIXDORF et al. 2010) sieht vor, dass bei Sichttiefen unter 2 m 500 mL, bei Sichttiefen über 2 m 1000 mL Probe ins Labor gebracht und dort in Klarglasflaschen zur Sedimentation für 32 h–48 h aufbewahrt werden, zur weiteren Einengung der Probe (s. Vorsedimentation nach HOEHN et al. 1998), oder die Probe wird auf einem Filter (Membran-Cellulosenitratfilter) mit einem Porendurchmesser $\leq 2 \mu\text{m}$ filtriert.

Diatomeenprobe aus dem Profundal: Für die Herstellung von Schalenpräparaten für Diatomeen aus dem Profundal, die besonders für Klarwasserseen des Tieflandes empfohlen wird, wird 1x pro Jahr, vorzugsweise im Spätherbst, eine Profundalschlammprobe entnommen (NIXDORF et al. 2010). Die Probenahme von Diatomeenresten im Profundalschlamm erfolgt von einem Boot aus über der tiefsten Stelle des Sees mit einem Röhrensammler. Entnommen wird eine Menge von ca. 10 mL frischen halbflüssigen Grundschlamm vom Zentrum der obersten Zentimeterlamelle des Bohrkerns, der in einer etikettierten Plastiktüte tiefgefroren aufbewahrt wird.

Es muss ein Feldprotokoll angefertigt werden, welches nach Nixdorf et al. (2010) mindestens folgende Angaben enthalten muss:

Seename; Beprobungsdatum; Beprobungstiefe; Seetyp; Probenummer; Name des Probenehmers; Tiefe des Sees an Probestelle; GPS-Koordinaten der Probenstelle; Gemessene Sichttiefe; Messwerte der Tiefenprofilmessungen (meist 0,5 oder 1 m Stufen) für Wassertemperatur, gelöster Sauerstoff und Sauerstoffsättigung.

Weitere Parameter und Informationen werden in NIXDORF et al. (2010) empfohlen, um die Untersuchungsergebnisse des Phyto-See-Index zu prüfen und limnologisch zu interpretieren:

Wünschenswerte Vorabinformationen zum See: Karte des Sees und Lage des Zugangs für ein Boot; Zuordnung zu einem Seetyp (mindestens sommerlich geschichtet oder polymiktisch; maximale Tiefe des Sees; Trophiestufe aus Voruntersuchung; Tiefenchlorophyll –Maxima bekannt; Notiz über besondere Wettersituation

Zusätzliche Tiefenprofilmessungen (meist 0,5 oder 1 m Stufen) sollten mit geeigneten in situ-Sonden für die folgenden Parameter gemessen werden: Sauerstoff, Sauerstoffsättigung, Elektrische Leitfähigkeit, Redoxpotential, Fluoreszenzmessung Chlorophyll a, pH-Wert.

Ein Muster für ein Feldprotokoll zur Probenahme findet sich in Annex II, welches auf dem Vorschlag im AQS-Merkblatt P8/5 „Probenahme in Seen“ (AQS-MERKBLÄTTER FÜR DIE WASSER-, ABWASSER- UND SCHLAMMUNTERSUCHUNG, 2014) beruht.

2.1.1 Literatur zur Verfahrensbeschreibung Phyto-See-Index

- LAWA-AO (2014): **RaKon III – Arbeitspapier III: Untersuchungsverfahren für biologische Qualitätskomponenten** LAWA-Arbeitsprogramm Flussgebietsbewirtschaftung Produktdatenblatt 2.2.2 Stand 22.8.2012 In: Rahmenkonzeptionen zur Aufstellung von Monitoringprogrammen und zur Bewertung des Zustands von Oberflächengewässern - Teil B: Bewertungsgrundlagen und Methodenbeschreibungen - . <http://www.wasserblick.net/servlet/is/142684/> besucht am 21.07.2014
- MISCHKE, U., RIEDMÜLLER U., HOEHN E., NIXDORF B. (2013): Entwurf zum Handbuch Phyto-See-Index - Verfahrensbeschreibung für die Bewertung von Seen - Aktualisierung der bisher gültigen Version Mischke et al. (2008) gemäß den Ergebnissen der Projekte des Länderfinanzierungsprogrammes O 3.06, O 7.08, O 9.08, O 9.09, O 4.10 -Stand 2013. Elektronische Beilage zum aktuellen Bewertungsprogramm PhytoSee 5.1

2.1.2 Literatur zu den deutschen Seetypen und zu Leistungsverzeichnissen

- DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR LIMNOLOGIE E.V. (DGL) (2012): „Leistungsverzeichnis für Limnologie: LVLim; Gewässerökologische Untersuchungen 2. überarb. Auflage, Hardeggen: Eigenverlag der DGL, 78 S.
- LAWA-AO (2014): **Arbeitspapier I - Gewässertypen und Referenzbedingungen** (Stand 17.10.2013) In: Rahmenkonzeptionen zur Aufstellung von Monitoringprogrammen und zur Bewertung des Zustands von Oberflächengewässern - Teil B: Bewertungsgrundlagen und Methodenbeschreibungen - verabschiedet im Ständigen Ausschuss Oberirdische Gewässer und Küstengewässer (LAWA-AO) der Bund/Länder-Arbeitsgemeinschaft Wasser.
- MATHES, J., PLAMBECK, G. & SCHAUMBURG, J. (2002): Das Typisierungssystem für stehende Gewässer in Deutschland mit Wasserflächen ab 0,5 km² zur Umsetzung der Wasserrahmenrichtlinie. In: Nixdorf, B. &

Deneke, R. (Hrsg.), Ansätze und Probleme bei der Umsetzung der EU-Wasserrahmenrichtlinie. Aktuelle Reihe BTU Cottbus, Sonderband: 15-24.

- RIEDMÜLLER, U., MISCHKE, U., POTTGIEßER, T., BÖHMER, J., DENEKE, R., RITTERBUSCH, D., STELZER, D. & HOEHN, E. (2013): Steckbriefe der deutschen Seetypen. – Begleittext und Steckbriefe 85pp. Download: <https://www.umweltbundesamt.de/themen/wasser/seen>

2.1.3 Literatur zur verfahrensspezifischen Probenahme in Seen und Planung für die zu messenden Begleitparameter

- Nixdorf, B., Hoehn, E., Riedmüller, U., Mischke U. & I. Schönfelder (2010): III-4.3.1 Probenahme und Analyse des Phytoplanktons in Seen und Flüssen zur ökologischen Bewertung gemäß der EU-WRRL. In: Handbuch Angewandte Limnologie – 27. Erg.Lfg. 2/10 1. S. 1- 24
- DIN EN ISO 7027 (2000-04): Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Trübung
- DIN 38404-4:1976-12 Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C); Bestimmung der Temperatur (C 4)
- Hoehn, E., Clasen, J., Scharf, W., Ketelaars, H.A.M.; Nienhüser, A.E., Horn, H., Kerksen, H., Ewig, B. (1998): Erfassung und Bewertung von Planktonorganismen. – ATT Technische Informationen 7, R. Oldenbourg Verlag München. Siegburg. 151 S.
- DIN EN 14996 (2006): Anleitung zur Qualitätssicherung biologischer und ökologischer Untersuchungsverfahren in der aquatischen Umwelt“ M 42 in DEV 68. Lieferung 2007.
- DIN EN 16698 (Entwurf 2014-02): Wasserbeschaffenheit — Anleitung für die quantitative und qualitative Probenahme von Phytoplankton aus Binnengewässern.

2.1.4 Übergeordnete Normen zur Probenahme in Seen

- AQS-Merkblätter für die Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung (2014): AQS-Merkblatt P8/5 „Probenahme in Seen“ Stand Mai 2014. AQS 19.Lfg. XII/13; Hrsg.: Bund/Länder-Arbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA). Erich Schmidt Verlag. ISBN 978 3 503 03197 9.
- DIN EN ISO 5667-1 (2007-04): Wasserbeschaffenheit - Probenahme - Teil 1: Anleitung zur Erstellung von Probenahmeprogrammen und Probenahmetechniken
- DIN EN ISO 5667-3 (2013-03): Wasserbeschaffenheit - Probenahme - Teil 3: Anleitung zur Konservierung und Handhabung von Wasserproben
- DIN ISO 5667-14 (2013-09): Wasserbeschaffenheit - Probenahme - Teil 14: Richtlinie zur Qualitätssicherung bei der Entnahme und Handhabung von Wasserproben

2.2 Mikroskopische Zählung von Phytoplankton mittels der Umkehrmikroskopie (Utermöhl-Technik)

Für das Untersuchungsverfahren „Phytoplankton zur Bestimmung des Phyto-See-Index“ wird eine quantitative Bestimmung des Phytoplanktons in Sedimentationskammern mit Diametralzählung (auch Transekt- oder Streifenzählung genannt) nach der Utermöhl-Methode an einem inversen Mikroskop gefordert (DIN EN 15204). Zusätzlich werden die Herstellung eines Diatomeenpräparates und die mikroskopische Bestimmung der Diatomeenarten sowie ihres relativen Anteils besonders für oligotrophe bis schwach eutrophe Seen empfohlen.

Unter Berücksichtigung und Spezifizierung der DIN EN 15204 sind die Geräteanforderungen, die Anleitung zur Probearbeitung und die Anforderungen an die mikroskopische Auswertung nach der Utermöhl-Methode in NIXDORF et al. (2010) beschrieben. Die dort beschriebenen spezifischen Anforderungen an die Erstellung einer Zählliste, an die Bestimmungsliteratur und an die anzuwendende Zählstrategie für die mikroskopische Auswertung sind zu befolgen.

Es muss ein Zählprotokoll angefertigt werden, welches die Bereiche „Probencharakterisierung“, „Zählfaktoren“, „Zählliste“ und „Zellvolumen“ umfasst (s. Muster in Annex II) und muss nach NIXDORF et al. (2010) mindestens folgende Angaben enthalten:

Seename, Beprobungsdatum, Datum der Zählung, Beprobungstiefe, Seetyp; Probenummer; Name des Bearbeiters; Chlorophyll a-Gehalt der Probe (zur Abschätzung des angepassten Probenvolumens für die Sedimentationskammer); Vermerk zur visuellen Kontrolle der Probe auf Entfärbung und Störungen in der Probe; Zählliste der qualitativ in der Probe häufigen Taxa (s. Kap. 2.3) und ihre Zuordnung zu einer Objektiv-Vergrößerung; Spalte zu Zähleinheit [Einzelzelle; Fadenstück; Kolonie]; Spalte für Größenklasse; Spalte mit Standardbiovolumen eintragen; Spalte für Zelldimension Länge, Breite; Höhe; Spalte für Anzahl gezählter Objekte.

Ein Muster für ein Zählprotokoll befindet sich im Annex II.

Nach Nixdorf et al. (2010) werden neben den mindestens 10 dominanten Taxa 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, und damit statistisch weniger gesichert ist.

Die Anleitung zur Herstellung eines Diatomeenpräparates und die Auswertungsstrategie für die mikroskopische Bestimmung der Diatomeenarten sowie ihres relativen Anteils findet sich in Nixdorf et al. (2010) getrennt für Proben aus dem Pelagial (Freiwasser) und für Proben vom Profundal (Seesediment hier: an der tiefsten Stelle im See).

Die Mindestanforderungen an die Zählfläche sind:

Halbe oder ganze Kammerzählung bei ca. 200facher Vergrößerung

2-4 Transekte bei ca. 400facher Vergrößerung

Die Mindestanforderungen an die erfasste Objektzahl sind:

Insgesamt mindestens 400 Objekte (*Anmerkung: Es ist nicht vorgesehen, die Zählung bei Erreichung von 400 Objekten abzubrechen, sondern die geforderte Zählfläche komplett auszuzählen*)

Die Mindestanforderungen für eine ausreichende Zählgenauigkeit sind:

Mindestens 60 Zellen je Art häufigen (meist kleinzelligen) Taxa bei der 400fachen Vergrößerung

Mindestens 20 Zellen je Art bei den häufigen Taxa bei der 200fachen Vergrößerung

Durch die Auszählung sollten im Gesamtergebnis mindestens 15-20 Taxa mit ausreichender Zählgenauigkeit je Probe erfasst sein (s. Checkliste Fehlerabschätzung Kap. 3.3). Sind die Mindestanforderungen unterschritten, dann sollte die ausgezählte Zählfläche vergrößert werden und falls dies zu einer weiterhin zu geringen Objektzahl führt, muss erneut eine Kammerzählung mit einem größerem Absetzvolumen erfolgen, welches zur Sedimentation aus der Probenflasche erneut angesetzt wurde.

2.2.1 Literatur zur verfahrensspezifischen mikroskopischen Auswertung

- DIN EN 15204 (2006-12): Wasserbeschaffenheit - Anleitung für die Zählung von Phytoplankton mittels der Umkehrmikroskopie (Utermöhl-Technik)
- NIXDORF, B., HOEHN, E., RIEDMÜLLER, U., MISCHKE U. & I. SCHÖNFELDER (2010): III-4.3.1 Probenahme und Analyse des Phytoplanktons in Seen und Flüssen zur ökologischen Bewertung gemäß der EU-WRRL. In: Handbuch Angewandte Limnologie – 27. Erg.Lfg. 2/10 1. S. 1- 24

2.2.2 Allgemeine Literatur zur mikroskopischen Auswertung des Phytoplanktons und zur Fehlerabschätzung

- HOEHN, E., CLASEN, J., SCHARF, W., KETELAARS, H.A.M.;NIENHÜSER, A.E., HORN, H., KERKSEN, H., EWIG, B. (1998): Erfassung und Bewertung von Planktonorganismen. – ATT Technische Informationen 7, R. Oldenbourg Verlag München. Siegburg. 151 S.
- MEYBOHM A., TRÜBSBACH J., HEGEWALD T. (2011): EQAT Ringtest Phytoplankton 2011, Abschlussbericht Mai 2012 Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen (LTV) in Kooperation mit der Arbeitsgemeinschaft Trinkwassertalsperren (ATT e.V.) Download: http://www.planktonforum.eu/uploads/media/EQAT_Phytoplankton_Abschlussbericht_2011.pdf
- THACKERAY, S. J., P. NÖGES, M. J. DUNBAR, B. J. DUDLEY, B. SKJELBRED, G. MORABITO, L. CARVALHO, G. PHILLIPS, U. MISCHKE, J. CATALAN, C. DE HOYOS, C. LAPLACE, M. AUSTONI, B. M. PADEDDA, K. MAILEHT, A. PASZTALENIĆ, M. JÄRVINEN, A. LYCHE SOLHEIM & R.T. CLARKE (2013): Quantifying uncertainties in biologically-based water quality assessment: A pan-European analysis of lake phytoplankton community metrics. Ecological Indicators 29: 34–47

2.3 Taxaliste des Phytoplanktons, Bestimmungsliteratur und verfahrensspezifisches Bestimmungsniveau

Für das Untersuchungsverfahren „Phytoplankton zur Bestimmung des Phyto-See-Index“ ist eine Zählliste zu erstellen, indem vor der Auszählung als Mindestanforderung die 15 häufigsten Taxa sowie die seltenen Indikatorarten (s. Annex 1) möglichst bis zur Art und mindestens bis zum verfahrensspezifischen Bestimmungsniveau bestimmt werden. Es sollten je Probe Zeichnungen sowie Photographien angefertigt werden (s. Kap. 3.2). Die Bestimmung vieler pelagischen Diatomeen ist nur auf Basis von schalenpräparaten möglich (s.w.u. und Kap. 2.4).

Nach NIXDORF et al. (2010) werden für das Bewertungsverfahren 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 und die Anzahl an erfassten Arten mit dem Zählaufwand bei Phytoplanktonproben steigt (PADISÁK et al. 1999).

Für die taxonomische Kodierung der Taxabefunde ist eine operative Taxaliste, die sogenannte harmonisierte Taxaliste des Phytoplanktons (HTL mit Stand Mai 2009; MISCHKE & KUSBER 2009) zu verwenden. Diese Taxaliste liegt sowohl als Excel-Tabelle, als auch in gedruckter, jedoch veralteter Fassung in Mischke & Nixdorf (2008) vor. Die HTL-Kodierung ist Bestandteil des zum Verfahren gehörenden Bewertungstools „PhytoSee“, und gewährleistet die richtige Zuordnung aller Indikatortaxa.

In der Fachliteratur sind mehrere Bestimmungswerke zu gleichen Algengruppen verfügbar (s. MAUCH et al. 2003), welche auf unterschiedliche Untersuchungsmethoden (zum Beispiel „Epoche vor Elektronenmikroskopie“ oder „Epoche vor genetischer Analyse“) beruhen.

Die zur Determination und Taxonomie des Phytoplanktons zu verwendende Literatur ist mit Blick auf das Untersuchungsverfahren „Phytoplankton zur Bestimmung des Phyto-See-Index“ deshalb festgelegt. Eine Liste der empfohlenen Bestimmungswerke ist Bestandteil der HTL. Benutzt man andere dazu konkurrierende Bestimmungswerke, ist nicht gesichert, dass man mit dem Bestimmungsschlüssel zur gleichen Artbeschreibung, Artnamen oder Gruppenzuordnung gelangt, wie in der HTL gelistet. Der Anwender anderer Bestimmungswerke hat dies dann zu überprüfen und die Gleichwertigkeit sicherzustellen.

Generell ist die Taxonomie nicht statisch, sondern erfährt mit dem wissenschaftlichen Fortschritt ständig einhergehende Revisionen, die, lange bevor sie Eingang in Bestimmungswerke finden, zuerst in Fachzeitschriften veröffentlicht werden. Demgegenüber sollte die Revision von operativen Taxalisten nur in größeren zeitlichen Abständen (ca. alle 5 Jahre) erfolgen, um ihre Anwendung und Kompatibilität für normierte biologische Untersuchungs- und Bewertungsverfahren sicherzustellen. Die Anwendung des

Phyto-See-Index erfordert deshalb in der Zukunft, dass der Anwender prüft, ob es eine neue Version der harmonisierten Taxaliste des Phytoplanktons (HTL) zur Verfügung steht.

Mit der harmonisierten Taxaliste (HTL) wird jedem Taxon ein Bestimmungswerk zugeordnet, mit dem es bestimmt werden sollte. Als Zusatzinformation ist eine Synonymeliste bereitgestellt. Als Standardbestimmungswerke werden die zu verwendenden Bücher und Veröffentlichungen zu den einzelnen Algenordnungen innerhalb der Excel-Datei der harmonisierten Taxaliste gelistet.

Alternativ kann die nationale „Taxaliste der Gewässerorganismen Deutschlands – zur Kodierung biologischer Befunde“ (MAUCH et al. 2003) mit dem sogenannten DV-Code verwendet werden, allerdings muss für die Berechnung des Phyto-See-Index die DV-kodierten Daten mittels einer vordefinierten Übersetzungstabelle auf die HTL-Kodierung übertragen werden (s. Anfügehilfe im Programm PhytoSee ab Version 5.0). Die Übertragung ist aus zweierlei Gründen nötig: a) da der DV-Code eine größere Anzahl an Taxa und solche mit Unterarten aus dem Lebensraum Plankton und Phytobenthos enthält, die vielfach für den Phyto-See-Index wieder auf Artniveau zusammengefasst werden müssen, und b) da die Nomenklatur der Arten in der DV-Liste in häufigeren Abständen aktualisiert wird, wodurch andere Taxonnamen verwendet werden, als im Phyto-See-Index, für die über 300 Indikatortaxa vordefiniert sind. Grundsätzlich ist die Nomenklatur und Systematik in der harmonisierten Taxaliste mit der „Taxaliste der Gewässerorganismen Deutschlands“ (MAUCH et al. 2003) mit dem Stand von März 2009 abgeglichen.

Da das Bewertungsverfahren „Phyto-See-Index“ auch eine Bewertung auf dem Niveau von Algenklassen und Ordnungen durchführt, ist eine definierte Systematik des Phytoplanktons notwendig, um alle Taxa für die Berechnungen einheitlich zu gruppieren. Die HTL enthält eine Übersicht über das verwendete System (s. Arbeitsblatt „Systematik“) sowie die taxaspezifische Zuordnung aller Taxa zu den Gruppen „Algenklasse“, „Algenordnung“ und „Gattung“ in der Hauptliste.

Das durch den biologischen Bearbeiter erreichte Bestimmungsniveau für Phytoplanktonanalysen ist von dem Zeitaufwand je Probe, von der Probenkonservierung sowie von seiner Qualifikation und Erfahrung abhängig. Deshalb ist es bei biologischen Untersuchungen notwendig, das für das Untersuchungsverfahren notwendige Bestimmungsniveau zu definieren. Innerhalb der Taxaliste der HTL wird in der Spalte "Mindestbestimmungstiefe für die Bewertung stehender Gewässer aller Regionen" das für das Untersuchungsverfahren „Phytoplankton zur Bestimmung des Phyto-See-Index“ erforderliche taxonomische Bestimmungsniveau für jedes der über 1500 aufgelisteten Taxa vorgegeben. Die Mindestbestimmungstiefe ist mit Ausnahme einiger Diatomeen und der empfindlichen Formen wie Flagellaten so ausgewählt, dass dies durch erfahrene Bearbeiter anhand der sichtbaren Merkmale in Lugol-fixierten Proben möglich ist. Für eine optimale taxonomische Bestimmung einiger Flagellaten (z.B. Chrysophyceae) ist eine Lebendprobe erforderlich, die spätestens am Tag nach der Probenahme vom mikroskopischen Bearbeiter analysiert wird (s. NIXDORF et al. 2010).

Die verfahrensspezifische Mindestbestimmungstiefe sollte zumindest für alle biomassedominanten Arten (Arten mit mehr als 4%-Anteil am Gesamtbiovolumen der Probe), sowie für die in einer zusätzlichen Spalte der HTL hervorgehobenen Indikatortaxa des Phyto-See-Index eingehalten werden. Im Fall der Diatomeenarten ist die Erreichung der Mindestbestimmungstiefe eine Kann-Bestimmung, wie im Folgenden ausgeführt wird:

Die für die Algengruppe „Diatomeen“ ausgewiesene Mindestbestimmungstiefe ist mit dem Utermöhl-Verfahren nur für einige Arten mit sehr charakteristischen Merkmalen wie z.B. *Asterionella formosa* hinsichtlich der in Lugol-fixierten Proben sichtbaren Merkmale erreichbar, sodass die anderen Diatomeen in Größenklassen und gruppiert in Taxa mit geringer Auflösung z.B. „Centrische Diatomeen“ oder „Unbestimmte pennate Diatomeen“ zugeordnet und gezählt werden sollen; für die Artbestimmung der meisten anderen pelagischen Diatomeen ist eine zusätzliche Präparation ihrer Kieselshalen erforderlich (s. Kapitel 2.4).

Zur Reduktion des Zeitaufwandes ist die Bewertung mit dem Phyto-See-Index so kalibriert, dass sie auch ohne die Erfassung der Diatomeenarten anhand eines Zusatzpräparats erfolgen kann, sofern mindestens 4 Indikatortaxa aus anderen Algengruppen je Probe im Jahresmittel quantitativ ermittelt wurden.

Diese Mindestanforderung wird ohne die Artbestimmung anhand eines Diatomeenpräparates für einige oligotrophe bis schwach eutrophe Seen unterschritten, sodass für Seen mit geringer Trophie, die häufig, jedoch keinesfalls immer von centrischen Diatomeen dominiert sind, die Anfertigung von zusätzlichen Diatomeenpräparaten empfohlen wird. Die spätere mikroskopische Analyse der Präparate dient entweder dazu, um den Index „Di-Prof“ aus einer Profundalprobe für Tieflandseen zu bestimmen oder für jede Pelagialprobe, um mehr Indikatorarten des Metrik PTSI innerhalb des regulären Phyto-See-Index zu erfassen.

2.3.1 Literatur zur Bestimmung und Kodierung der Taxa

- 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.lfu.bayern.de/wasser/gewaesserqualitaet_fluesse/qualitaetssicherung/index.htm
- MISCHKE, U. & W.-H. KUSBER (2009 und ff.): 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 und der folgenden Versionen mit ausführlichen Anmerkungen. Stand 2009/05/20
- NIXDORF, B., HOEHN, E., RIEDMÜLLER, U., MISCHKE U. & I. SCHÖNFELDER (2010): III-4.3.1 Probenahme und Analyse des Phytoplanktons in Seen und Flüssen zur ökologischen Bewertung gemäß der EU-WRRL. In: Handbuch Angewandte Limnologie – 27. Erg.Lfg. 2/10 1. S. 1- 24
- PADISÁK, J.; KRIENITZ, L.; SCHEFFLER, W. (1999): Phytoplankton. S. 35–53. – In: Tümping v., W. & Friedrich, G.: Biologische Gewässeruntersuchung. Methoden der biologischen Wasseruntersuchung. – 2. Gustav Fischer, Jena

Buchreihen für Bestimmungswerke in Deutschland

- SÜßWASSERFLORA VON MITTELEUROPA Bd 1 – 19, begr. V. A. Pascher, Hrsg. V. Ettl, H.; Gerloff, J.; Heynig, H.; Mollenhauer, D., Büdel, B., Gärtner, G., Krienitz, L., Schagerl, M., Gustav Fischer Verlag Jena/Spektrum Akademischer Verlag GmbH Heidelberg Berlin
- HUBER-PESTALOZZI, G.: Die Binnengewässer, Das Phytoplankton des Süßwassers, Bd. XVI, Teil 1 – 6, E. Schweizerbartsche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- MAUCH, E.; SCHMEDTJE, U.; MAETZE, A.; FISCHER, F. (2003): Ausführliche Liste kommentierter Bestimmungsliteratur – In: Mauch et al. 2003 Taxaliste der Gewässerorganismen Deutschland. – Informationsberichte Heft 1/03. Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft. München. 388. Kostenloser download unter: http://www.lfu.bayern.de/wasser/gewaesserqualitaet_fluesse/qualitaetssicherung/index.htm

2.4 Präparation und Auszählung der Diatomeen

Die Bestimmungstiefe der Diatomeen (Algenklasse „Bacillariophyceae“, wozu die Pennales und Centrales gehören) ist im Utermöhl-Verfahren stark eingeschränkt, da viele Merkmale der Diatomeen-Schalen in Lugol-fixierten Proben sowie unter den Lichtbedingungen von Absetzkammern nicht erkennbar sind. In der Analysevorschrift von NIXDORF et al. (2010) ist ausgeführt, dass die solitären Centrales im Utermöhl-Verfahren nur in Größenklassen gezählt werden sollen, und einige Pennales aufgrund ihrer Kolonie- und Schalenform bestimmt werden können. Die für das Verfahren „Phytoplankton zur Bestimmung des Phyto-See-Index“ erforderliche Bestimmungstiefe aller Diatomeentaxa wird mit dem Utermöhl-Verfahren nicht erreicht, sondern es ist dafür die Anfertigung und Auswertung von Präparaten der Diatomeenschalen erforderlich.

Die Probenaufbereitung und die Präparation der **profunden Diatomeen** ist gemäß der Anleitung in Nixdorf et al. 2010 in Kapitel 3.6.1 durchzuführen. Das Analyseergebnis wird für die Bewertungskenngröße „DiProf“ nach SCHÖNFELDER (2006) genutzt, die ein fakultativer Bestandteil des „Phyto-See-Index“ für Tieflandseen (Seetyp 10, 11, 12, 13, 14) ist. Aus der Profunalprobe werden nur die pelagischen Diatomeen analysiert. Für die Ermittlung des DiProf sind 48 Indikatortaxa trophisch eingestuft (MISCHKE et al. 2008), welche das Mindestbestimmungsniveau für diesen Verfahrensbestandteil bestimmen. Es ist zu beachten, dass seitdem taxonomische Revisionen dieser Taxa in der DV-Liste nach Mauch et al. (2003) durchgeführt wurden.

Die Probenaufbereitung und Präparation der **pelagischen Diatomeen** ist nach NIXDORF et al. (2010) durchzuführen. Das Analyseergebnis wird für die Bestimmung der Artzusammensetzung und der Taxabiovolumina der Centrales als Bestandteil des „Phyto-See-Index“ genutzt.

Die Auszählung der Präparate der Diatomeen ist nach NIXDORF et al. (2010) durchzuführen.

In Abweichung zur EN 14407 (Kap. 7c) wird ein Objekt als eine Zelle erfasst und nicht jeweils zwei Schalenhälften, da in NIXDORF et al. (2010) vereinfacht davon ausgegangen wird, dass in den jeweiligen Größen- und Formenklassen der Auftrennungsgrad für alle darin erfassten Diatomeenarten gleich, und damit für die spätere Übertragung der relativen Häufigkeiten auf die Daten der Utermöhlzählung unerheblich ist.

2.5 Bestimmung des Biovolumens des Phytoplanktons

Die Grundlage für die Bestimmung des Biovolumens ist die Zählung der einzelnen Arten und ggf. Zählkategorien wie die Größenklasse. Unter Berücksichtigung und Spezifizierung der DIN EN 15204 sind die verfahrensspezifischen Geräteanforderungen, die Anleitung zur Probevorbereitung und die Anforderungen an die mikroskopische Auswertung bei der Erstellung einer Zählliste, an die Bestimmungsliteratur und der je nach Formeltyp (z.B. fädige Algen) und Häufigkeit und Größe anzuwendende Zählstrategie für die Bestimmung der Zellzahl nach der Utermöhl-Methode in Nixdorf et al. (2010) beschrieben. Die darauf folgende spezifische Anleitung zur Bestimmung der Zellvolumina und Berechnung der Taxonbiovolumina ist zu befolgen.

Der Norm-Entwurf für eine Anleitung zur Abschätzung des Phytoplankton-Biovolumens (DIN EN 16695: 2014-02) ist zur Abstimmung veröffentlicht und enthält die dafür erforderliche Sammlung von 43 Formeln verschiedener geometrischer Körper für die Berechnung des Biovolumens. Mit der Fertigstellung der EN-Norm 16695) wird zusätzlich eine Liste aller Phytoplankton-Taxa mit Zuordnung einer Formel oder einer Formelkombination mitgeliefert. Die Ausführungen in der DIN EN 16695: 2014-02 stehen in keinem Arbeitsschritt im Widerspruch zur nationalen Anleitung (NIXDORF et al. 2010) und enthalten die in NIXDORF et al. (2010) erwähnten berichtigten geometrischen Formeln.

Nach DIN EN 16695 wird ein Kalibrierfaktor für das Okularmikrometer durch ein externes Objektmikrometer bestimmt, indem die Skala des Okularmikrometers über die Skala des Objektmikrometers gelegt wird. Die Skala von handelsüblichen genormten Objektmikrometern hat eine Länge von 1 mm und ist in 100 gleiche Teile mit einem Abstand von 10 µm unterteilt. Der Kalibrierfaktor sollte auf bis zu zwei Dezimalstellen festgelegt werden. Die Abstände zwischen den Teilstrichen der Skala müssen getrennt für jedes Objektiv mit dem genormten Objektmikrometer bestimmt werden.

Für das Untersuchungsverfahren „Phytoplankton zur Bestimmung des Phyto-See-Index“ werden in Nixdorf et al. 2010 von diesem Normentwurf (PREN 16695:2014-02) folgende Spezifikationen festgelegt, die hier nochmals hervorgehoben werden:

- Es wird auch in Kolonien die Zählung und Vermessung von Einzelzellen empfohlen. In der prEN 16695:2014-02 wird die Möglichkeit offen gelassen, das Biovolumen auch für ganze Kolonien zu berechnen. „...bei einigen koloniebildenden Arten, bei denen die einzelnen Zellen kaum unterschieden werden können oder die sehr komplexe Umrisse aufweisen, kann es jedoch angebracht sein, eine

geometrische Form auf der Grundlage der Form der gesamten Kolonie zuzuweisen.“ Die prEN 16695:2014-02 weist für die wenigen Taxa, für die dies zutrifft, im Anhang C gesondert hin.

- Einteilung der Taxa in größenvariable und wenig größenvariable Taxa: Wenn Taxa eine große Variabilität in ihrer Zellgröße aufweisen, werden die mittleren Zellvolumina je Größenklasse bestimmt und verwendet. Wenn die Zellen direkt beim Zählen den Größenklassen zugeordnet werden, müssen sämtliche Individuen beim Zählen mindestens so genau gemessen werden, dass ihre Zelldimension den Wertebereichen der vorab definierten Größenklassen zugeordnet werden kann. Beim Zählen direkt in Größenklassen ist keine getrennte Ermittlung der Maße jedes Objekts notwendig. Wenn ein Taxon wenig größenvariabel ist, darf ein zuvor selbst bestimmtes Zellbiovolumen einer anderen Probe oder ein Wert aus der Literatur genutzt werden.
- Die Ermittlung des mittleren Zellvolumens erfolgt aus der Vermessung von mindestens 20 Zellen je Taxon und Medianwertbildung (nicht Mittelwert!), welches dann bei wenig größenvariablen Taxa und für Größenklassen auch als Standardzellvolumina verwendet werden kann
- Es besteht die Notwendigkeit zur Überprüfung von verwendeten Standardzellvolumina, wenn ein Taxon über 50% des Gesamtbiovolumens bildet.

2.5.1 Literatur zur Diatomeenpräparation und zur Bestimmung des Biovolumens des Phytoplanktons

- DIN EN 15204 (2006-12): Wasserbeschaffenheit - Anleitung für die Zählung von Phytoplankton mittels der Umkehrmikroskopie (Utermöhl-Technik)
- DIN EN 16695 (2014-02): Wasserbeschaffenheit — Anleitung zur Abschätzung des Phytoplankton-Biovolumens – Entwurf- .
- DIN EN 14407(2014-07): Wasserbeschaffenheit – Anleitung zur Bestimmung, Zählung und Interpretation benthischer Kieselalgen in Fließgewässern.
- MAUCH, E.; SCHMIEDTJE, 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.lfu.bayern.de/wasser/gewaesserqualitaet_fluesse/qualitaetssicherung/index.htm
- MISCHKE, U. & W.-H. KUSBER (2009 und ff.): 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 und der folgenden Versionen mit ausführlichen Anmerkungen. Stand 2009/05/20
- NIXDORF, B., HOEHN, E., RIEDMÜLLER, U., MISCHKE U. & I. SCHÖNFELDER (2010): III-4.3.1 Probenahme und Analyse des Phytoplanktons in Seen und Flüssen zur ökologischen Bewertung gemäß der EU-WRRL. In: Handbuch Angewandte Limnologie – 27. Erg.Lfg. 2/10 1. S. 1- 24
- SCHÖNFELDER, I. (2006): Anpassung des Bewertungsmoduls Diatomeenindex DI-PROF auf die Subtypen der Seen in Schleswig-Holstein. Im Auftrag des Landesamtes für Natur und Umwelt des Landes Schleswig-Holstein. Bericht Dezember 2006, 41 S.

2.6 **Bestimmung des Chlorophyll a-Gehaltes**

Die Bestimmung des Chlorophyll-a Gehaltes ist erforderlicher und bewertungsrelevanter Bestandteil des Untersuchungsverfahrens „Phytoplankton zur Bestimmung des Phyto-See-Index“ (s. NIXDORF et. al. 2010; MISCHKE et al. 2008, 2013).

Es werden in NIXDORF et al. (2010; s. Tabelle 1) weitere physikalisch-chemische Parameter gelistet, die bei der Probenahme des Phytoplanktons in Seen berücksichtigt werden sollten, und die für die Interpretation der Ergebnisse des Phytoplanktons erforderlich sind. Neben dem Chlorophyll a-Gehalt werden als Pflichtparameter die Messung der Sichttiefe mit einer Secchi-Scheibe sowie die Bestimmung des Gesamtphosphor-Gehaltes ausgewiesen. Chlorophyll a wird neben den Parametern Sichttiefe und Gesamtphosphor zur Bestimmung des LAWA-Trophie-Index genutzt, sowie zur Plausibilisierung der

ermittelten Phyto-See-Index-Werte. Der bisher gültige LAWA-Trophie-Index nach LAWA (1999) wurde durch die Überarbeitung nach LAWA 2013 (RIEDMÜLLER et al. 2013) durch einen Beschluss der LAWA-AO in 2014 abgelöst.

Die Bestimmung des Chlorophyll-a Gehaltes erfolgt nach DIN 3812-16. Werden andere Verfahren als das photometrische angewandt (HPLC u.a.), dann muss das Labor für eine ausreichend große Stichprobe einen Gleichwertigkeitsnachweis vorlegen. Der Chlorophyll-a Gehaltes muss immer aus derselben Mischprobe wie für das Phytoplankton bestimmt werden (s. NIXDORF et al. 2010). 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 am besten noch am Tag der Probenahme durchgeführt werden.

Die Bewertung mit dem Phyto-See-Index war bisher so kalibriert, dass sie auch ohne die Erfassung des Chlorophyll-a Gehaltes erfolgen kann. Gemäß der Entscheidung der EUROPÄISCHE KOMMISSION (2008) sind jedoch Grenzwerte für den Mittelwert aus den Chlorophyll a-Konzentrationen für die europäischen Seetypen (IC-Typen) einzuhalten, um den sehr guten oder guten ökologischen Zustand eines Sees auszuweisen. Demnach wird die Bestimmung und Bewertung der Chlorophyll a-Konzentration ein obligater Pflichtparameter. Daran muss die aktuelle Verfahrensanleitung zum Phyto-See-Index gegenüber der bisherigen Praxis (MISCHKE et al. 2008) angepasst werden.

2.6.1 Normen zur Bestimmung des Chlorophyll-a Gehaltes

- DIN 38412-16 (1985-12): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L); Bestimmung des Chlorophyll-a-Gehaltes von Oberflächenwasser (L 16)
- ISO 10260 (1992-07): Wasserbeschaffenheit; Bestimmung von biochemischen Parametern; Photometrische Bestimmung der Chlorophyll-a-Konzentration

2.6.2 Literatur zur Bewertung des Chlorophyll-a Gehaltes in Seen

- EUROPÄISCHE KOMMISSION (2008): Entscheidung 2008/915/EG der Kommission vom 30. Oktober 2008 zur Festlegung der Werte für die Einstufungen des Überwachungssystems des jeweiligen Mitgliedstaats als Ergebnis der Interkalibrierung gemäß der Richtlinie 2000/60/ EG des Europäischen Parlaments und des Rates, 2008. Aktenzeichen K(2008) 6016).
- LAWA (Länderarbeitsgemeinschaft Wasser) (1999): Gewässerbewertung – Stehende Gewässer. Vorläufige Richtlinie für eine Erstbewertung von natürlich entstandenen Seen nach trophischen Kriterien. ISBN 3-88961-225-3, Kulturbuchverlag, Berlin, 74 S.
- RIEDMÜLLER, U., HOEHN E., MISCHKE, U. (2013): Trophie-Klassifizierung von Seen - Handbuch Trophie-Index nach LAWA 2013 (10.05.2013). Internes LAWA-EK Papier Freiburg, Berlin. 33 S.

2.7 Berechnung des Phyto-See-Index mit dem Auswertungsprogramm

Die Berechnung des Phyto-See-Index sollte mit dem Auswertungsprogramm PhytoSee_*.mdb und jeweils mit der aktuellsten Programmversion erfolgen.

Zum Zeitpunkt der Erstellung dieses QS-Handbuches ist die Version "PhytoSee_5_1_2_Januar_2014.mdb" aktuell, doch es sind weitere Aktualisierungen (Updates) in Arbeit. Die aktuelle Version des Programms PhytoSee.mdb, die Anleitung mit Formatvorgaben in Excel und die harmonisierte Taxaliste (HTL s. Kapitel 2.3) stehen kostenlos zum Download auf folgender Internetseite im Downloadbereich zur Verfügung: Unter Rubrik Bewertungsdatenbanken : <http://www.igb-berlin.de/datenbanken.html>

Es ist seitens der Bund/Ländergemeinschaft Wasser (LAWA) geplant, eine Internetplattform zur Veröffentlichung aller WRRL relevanten Verfahren und deren Auswertungssoftware zu erstellen

(Pottgiesser 2014). Aus Sicht der Qualitätssicherung und zur Vermeidung von Konfusionen über die Versionen der Verfahren ist dies notwendig.

Die Verwendung des Auswertungsprogramms PhytoSee garantiert eine einfache und verfahrensgemäße Berechnung des Phyto-See-Index. Die ausführliche Beschreibung und Anwendungsanweisung des Auswertungsprogrammes PhytoSee befindet sich im Kapitel 4 des Entwurfs zum Handbuch Phyto-See-Index (Mischke et al. 2013; bisher nur elektronisch verfügbar).

Die jeweils aktuelle Version des Programmes PhytoSee steht zum kostenlosen Download in einer ZIP-Datei gemeinsam mit mehreren Begleitdokumenten in elektronischer Form bereit. Die Nutzungsrechte für die Anwender ist zum nicht kommerziellen Gebrauch offen (Ausschluss des Weiterverkauf oder der unzulässigen Umprogrammierung) zur Verfügung.

Der beigelegte jeweilige Begleitbrief zur Programmversion dient zur kurzen Übersicht über die erfolgten bewertungsrelevanten und anwendungsverbessernden Änderungen gegenüber der Vorgängerversion.

Die Systemvoraussetzungen zur Ausführung des Programmes sind folgende: Als Software-Plattform dient Microsoft-Access in einer 32bit-Version mit den verwendbaren Versionen 2003 bis 2010. Die Erfassungsdaten müssen tabellarisch, kodiert und digital vorliegen (im Microsoft-Excel Format). Das Programm PhytoSee*.mdb muss in extrahierter Form als Datenbank in einem Ordner vorliegen und geöffnet werden.

Die für den Phyto-See-Index benötigten Eingangsdaten müssen vorbereitet werden: Sie müssen in ihrer Anordnung, Kodierung und Format einer dem Programm beigelegten Formatvorlage entsprechen, die eine Excel-Datei mit Tabellen in mehreren Arbeitsblättern umfasst. Die für die Berechnung erforderlichen Pflichtfelder sind explizit hervorgehoben. Eine Kurzanleitung zum Datenimport nach PhytoSee befindet sich in der Formatvorlage und eine ausführliche Anwendungsanweisung im Handbuch zum Phyto-See-Index in Kapitel 4. Die Aktualisierungen der Programmversionen in PhytoSee sind so angelegt, dass die bereits vorbereiteten Eingangsdaten sich in gleicher Weise an eine neue Version anfügen, wie in der Vorgängerversion. Damit wird eine Neuberechnung mit einer aktualisierten Version erleichtert. Ausgenommen ist davon nur der seltene Fall, dass für die neue Version neue Pflichtfelder definiert wurden, die dann immer in Feldern der letzten Spalte der Importtabellen angefügt werden. Neue Pflichtfelder wurden seit Version PhytoSee 3.0 nicht definiert.

Die Auswertungssoftware PhytoSee (MISCHKE et al. 2013 und folgende) berechnet nach dem Import die für das Bewertungsverfahren erforderlichen Mittelwerte aus den chemischen und biologischen Eingangsdaten. Die Ergebnisse für den Phyto-See-Index werden wahlweise pro See, Messstelle und pro Untersuchungsjahr angezeigt und in einer Exportdatei ausgegeben.

Zum Verständnis und ggf. zur Überprüfung aller Berechnungsschritte

- A) stehen mit dem Handbuch für den Phyto-See-Index eine Schritt-für-Schritt-Anleitung aller verfahrensrelevanten Berechnungen zur Verfügung (ab Version PhytoSee 5.0 in Mischke et al. 2013). Die Dokumentation aller Berechnungsschritte macht es möglich, die Berechnung des Phyto-See-Index auch in einem Kalkulationsprogramm wie MS-Excel durchzuführen,
- B) werden auf mehreren Arbeitsblättern der PhytoSee-Exportdatei im Excel-Format jeweils die Rohdaten gelistet und die Zwischenergebnisse zu den Einzelkenngrößen ausgegeben.

Langfristig ist seitens der LAWA geplant, die Kodierung aller Gewässerorganismen Deutschlands auf den DV-Code umzustellen (MAUCH et al. 2003 und dessen digitale Aktualisierungen). Als Übergangslösung stellt das Auswertungsprogramm „PhytoSee“ ab der Version 5 eine Übersetzungsfunktion aller in der „Taxaliste der Gewässerorganismen Deutschlands (Taxaliste in Excelformat– Sept 2011; Mauch et al. 2003) aufgeführten Arten des Phytoplanktons und des Phytobenthos zu einem der Taxa der HTL Mai 2009 zur Verfügung. Die Bedienung dieser Übersetzungshilfe ist in der Anleitung erklärt.

2.7.1 Programme und Dokumente zum Auswertungsprogramm PhytoSee

- 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.lfu.bayern.de/wasser/gewaesserqualitaet_fluesse/qualitaetssicherung/index.htm
- MISCHKE, U. & W.-H. KUSBER (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 und der folgenden Versionen mit ausführlichen Anmerkungen. Stand 2009/05/20
- MISCHKE, U., J. BÖHMER, U. RIEDMÜLLER & E. HOEHN (15.02.2013): "Software PhytoSee Version 5.0. Auswertungsoftware zur Berechnung des Phyto-See-Index (PSI) für die Bewertung von natürlichen Seen und HMWB und AWB -Seen gemäß der EG- Wasserrahmenrichtlinie".
- MISCHKE, U., RIEDMÜLLER U., HOEHN E., NIXDORF B. (2013) Entwurf zum Handbuch Phyto-See-Index - Verfahrensbeschreibung für die Bewertung von Seen - Aktualisierung der bisher gültigen Version Mischke et al. (2008) gemäß den Ergebnissen der Projekte des Länderfinanzierungsprogrammes O 3.06, O 7.08, O 9.08, O 9.09, O 4.10 -Stand 2013. Elektronische Beilage zum aktuellen Bewertungsprogramm PhytoSee 5.1
- POTTGIESSER 2014: Biologische Bewertungsverfahren Fließgewässer und Seen für die Wasserrahmenrichtlinie - Konzeption für eine Veröffentlichung Bericht zum LAWA Projekt O2.12. www.laenderfinanzierungsprogramm.de

3 Übergreifende Anforderungen zur Qualitätssicherung: Protokolle, Archive und Fehlerprüfung

Die Anfertigung von aussagekräftigen Protokollen, das Anlegen von Bildarchiven (Zeichnungen, Photographien) sowie die Fehlerabschätzung sind Aufgaben, die allen Verfahrensschritten gemeinsam sind und damit übergreifende Anforderung bezüglich der Qualitätssicherung sind.

3.1 Protokollierung der Metadaten

Zu jeder Probe sollten verfahrensrelevante Begleitinformationen zur Dokumentation und zur späteren Überprüfung von Fehlern oder Unstimmigkeiten in einem Protokoll oder in verschiedenen Protokollen, wie „Feldprotokoll“, „Protokoll zur Probenkonservierung“, „Zählprotokoll“ etc. für die allgemeinen Verfahrensschritte ausgefüllt und in der Untersuchungsstelle aufbewahrt werden.

In den Protokollen der Metadaten sind mindestens folgende Angaben festzuhalten:

Ort der Ablage aller folgenden Protokolle: Pfad für digitalen Ordner und ausgedruckt (empfohlen)

Feldprotokoll Details wie im Muster in Anhang II ausgeführt

Feldprotokoll mit Probennummer erstellt (ja/nein)

Protokoll zur Probenkonservierung wie im Muster Anhang II ausgeführt

Parallelprobenflasche abgefüllt: ja/nein

mit welcher Lugol-Lösung? Nach Nixdorf et al. 2010 / anders

Ort der Lagerung Temperaturkontrolle ja/nein/Datum des Prüftages/°C

Färbungskontrolle (monatlich) Datum des Prüftages/Nachfixiert?/keine Kontrolle

Zusatz-Schalenpräparate:

angefertigt für DiProf/ angefertigt für pelagische Diatomeenproben/nein

Ort des Objektträgerpräparatekastens

Zählprotokoll (wie in Muster Anhang II ausgeführt)

Probennummer

Datum der Probenauswertung

Ort der Ablage des Zählprotokolls

Anzahl der gezählten Objekte / Gesamtfläche der Kammer / absedimentiertes Probenvolumen /
ausgezählte Kammerfläche

3.2 Fotodokumentation wichtiger Phytoplanktonarten in Bilderarchiven

Das Anlegen von Bildarchiven von indikativen und dominanten Phytoplanktonarten ist ein wichtiger Bestandteil der Dokumentation im Rahmen der Qualitätssicherung. Die Mikrophotographien dienen der internen Schulung sowie des Nachweises von Auffälligkeiten in der Probe sowie der wichtigsten Indikatorarten für Prüfzwecke.

Grundsätzlich wird empfohlen, für folgende Algentaxa einer Probe Mikrophotographien anzulegen:

- 1) Ein Übersichtsfoto der Zählkammer bei geringer optischer Vergrößerung. Dies ist besonders wichtig, wenn Störfaktoren wie aufräumende Blaualgenkolonien, Kalzitpartikel, Partikel aus Sedimentaufwirbelungen oder eine Verpilzung der Probe durch Hyphenfäden vorhanden sind.
- 2) Für alle biomassedominanten Taxa, wenn sie mehr als 50% der Gesamtbiomasse ausmachen; dies ist besonders erforderlich für die Gruppe Cyanobacteria (Blaualgen) für die als Badegewässer genutzten Gewässer
- 3) Für Indikatorarten des Phyto-See-Index; empfohlen für solche Taxa, die selten in der Probe sind, aber einen besonders geringen Trophieankerwert haben (< 1,2; s. Liste in Annex 1; Tabelle 1),
- 4) oder deren Artbiovolumen $>1\text{mm}^3/\text{L}$ (entspricht Abundanzklasse >5)

Als Metadaten müssen zur jedem Foto mindestens eine eindeutige Probennummer und der Vergrößerungsmaßstab verfügbar sein. Im Regelfall wird ein Mikromaßstab in das Foto durch Einblendung integriert, der der verwendeten optischen Vergrößerung (z.B. 200x) entspricht. Der Mikromaßstab wird in digitalen Bilderfassungssystemen durch eine Kalibrierung der Pixelzahl je $10\mu\text{m}$ durch Objektanmessung der Teilstriche der Skala eines handelsüblichen genormten Objektmikrometers geeicht.

Die modernen digitalen Bilderfassungssysteme ermöglichen neben der Einblendung eines Maßstabes eine zusätzliche Einblendung einer Beschriftung, z.B. der Probennummer und des dargestellten Taxonnamens. Wurde keine Probennummer vergeben, muss der Seename und das Beprobungsdatum und die Probenahmetiefe archiviert werden.

Der optische Fokus für die Zellansicht sollte so gewählt sein, dass die wichtigsten morphologischen Bestimmungsmerkmale sichtbar sind. Ist dies mit einer Fokusebene nicht ausreichend möglich, sollten mehrere Fotos zur gleichen Art ggf. in einer Bildtafel angelegt werden oder zusätzlich ein Video aufgezeichnet werden, welches alle Fokusebenen der Zelle aufnimmt (s. Komponente 3 bei EQAT Ringtests) oder der Quick Full Focus genutzt werden.

3.3 Angaben zur Messunsicherheit und Checkliste zur Fehlerabschätzung

Die allgemeine Vorgehensweise zur Bestimmung der Unsicherheit besteht in der Spezifizierung der Messgröße, der Identifizierung von Ursachen für Unsicherheiten entweder durch Experimente oder Modellrechnungen sowie die Berechnung der kombinierten Unsicherheit (DIN EN 14996:2006).

Alternativ kann eine vollständige Wiederholung ($n > 3$) des gesamten Verfahrens, beginnend mit Probenahme bis zur Datenermittlung zur Abschätzung der Messunsicherheit erwogen werden.

Unsicherheiten bei biologischen Verfahren sind manchmal qualitativer Art und daher schwer mit anderen Unsicherheiten in einer kombinierten Unsicherheit zusammenzufassen. In vielen Fällen ist eine gute Abschätzung des Fehlers ausreichend (s. DIN EN 14996:2006).

Als zu spezifizierende Messgrößen können für das vorliegende Verfahren die Messresultate der folgenden Verfahrensschritte genannt werden:

- Probennahme- bzw. Feldprotokoll
- Zellzahl pro Liter von mindestens 20 Arten einer Probe
- Biovolumenwert in mm^3 pro Liter von mindestens 20 Arten einer Probe
- Phyto-See-Index (s. Kapitel 3.4)

Zur Bestimmung der Unsicherheit der Messgröße „Artbestimmung, Zählung und Biovolumenbestimmung durch Anwendung des Utermöhl-Verfahrens“ wird

- labor-intern eine wiederholte Auszählung von Unterproben der gleichen Probe mit $n > 3$ durch den gleichen Bearbeiter mindestens einmal pro Jahr empfohlen, wobei dies für mindestens 3 verschiedenartige Proben (z.B. Frühjahrsprobe, Sommerprobe, oligotropher und eutropher See) erfolgen sollte, um den Effekt verschiedener Partikelgrößen und -konzentrationen abzudecken.
- die Teilnahme an Ringtests für das Utermöhl-Verfahren sowie für die Chlorophyll a-Bestimmung möglichst im jährlichen aber mindestens 3-4 jährigen Abstand empfohlen. Geeignete Ringtests werden u.a. durch External Quality Assessment Trials Phytoplankton (EQAT; <http://www.planktonforum.eu>) und durch SYKE angeboten (http://www.syke.fi/en-us/Services/Proficiency_tests_for_laboratories/Proficiency_test_reports).

Für das vorliegende Verfahren wird zur Fehlerabschätzung eine „Checkliste zur Fehlerüberprüfung“ vorgeschlagen, die für die einzelnen Verfahrensschritte chronologisch mögliche Fehlerquellen aufführt.

Es werden jeweils Prüfgrößen mit einem Schwellenwert oder einer Bedingung vorgeschlagen, die innerhalb der Verfahrensschritte erfüllt sein sollten. Dazu gehören auch die aus der DIN EN 15204 bekannten statistischen Fehlerabschätzungen. Zur Reduzierung der Messunsicherheit wird eine Maßnahme bei Nichterfüllung vorgeschlagen und Sonderbedingungen genannt, die zu einer Abweichung von der Prüfgröße führen können. Die meisten der Prüfgrößen sind bereits in den verfahrensrelevanten Normen und Anleitungen als Prüfgröße genannt (Hinweis auf Norm/Anleitung in der letzten Spalte der nachfolgenden Tabelle) und die Nichterfüllung der Prüfgröße kann als Konsequenz die Messunsicherheit derart erhöhen, dass eine Wiederholung der Analyse erforderlich ist. Diese Fälle sind fett hervorgehoben.

3.3.1 Checkliste zur Fehlerabschätzung bei der Phytoplanktonerfassung und für den resultierenden Phyto-See-Index

Feld „Normhinweis“: Kürzel für relevante Norm oder Verfahrensbeschreibung: EN 14996 = NORM; AQS-Merkblatt P8/5; RIED_2013 = Riedmüller et al. 2013; Nix_2010 = Nixdorf et al. 2010; DIN EN 15204 = NORM; HTL_2009: Mischke & Kusber 2009; MI_2008 = Mischke et al. 2008; MI_2013 = Mischke et al. 2013; DV-Liste = Mauch et al. 2003; DIN EN prEN 16695:2013 = NORM; Deneke_2014 = Deneke et al. 2014 für PhytoLoss-Modul; DIN 38412-16 (1985-12) = Chlorophyll a-Bestimmung

| Verfahrensschritt | Prüfgröße | Erfüllt: ja/nein | Wenn „nein“: Maßnahme | Sonderfälle (Beispiele) | „Normhinweis“ |
|---------------------------|---|------------------|--|--|------------------------|
| Planung | Festlegung des Untersuchungsziels | | Entscheidung, ob das Analyseergebnis neben dem Phyto-See-Index auch für andere Ziele genutzt werden soll, dann sind ggf. weitere Parameter Pflichtparameter | Trophie-Index nach LAWA; Rote Liste Arten; Bewirtschaftung von z.B. Trinkwassertalsperren etc. | DIN EN 14996 |
| Planung | Ermittlung Seetyp | | Benötigte Werte für die Typisierung bestimmen und einem Seetyp zuordnen | Kleinsee <5ha; anhaltende Baggernutzung etc. | RIED_2013 |
| Planung | >5 Beprobungen und Analysen pro Jahr | | Bei 4-5 Proben ist nur eine unsichere Bewertung möglich; entscheiden, ob trotzdem eine mikroskopische Analyse erfolgen soll | wenn <4 Proben, dann gar keine Bewertung mit Phyto-See-Index möglich und entscheiden, ob trotzdem Analyse erfolgen soll – Ziel klären | Nix_2010 |
| Probenahme | Feldprotokoll vorhanden | | Protokoll soweit wie möglich nachträglich aus dem Gedächtnis ausfüllen (Sichttiefenwert!!; Temperatur-, pH und O ₂ -Profil aus Sondenmessgerät auslesen) | Wenn keine Angaben zur Schichtungstiefe und zur Sichttiefe, dann ungeeignete Probenahme | DIN EN 14996; Nix_2010 |
| Probenahme | Boot; Befahrungsgenehmigung; Geräteliste (Schöpfer, Sonden etc.) und Kühltaschen vorhanden s. Tabelle 2 in Annex 2: Muster für eine Checkliste für die Probenahme | | Keine nachträgliche Maßnahme möglich: Eine Beprobung vom Ufer oder Steg aus ist unzulässig; ungekühlte und nicht abgedunkelte Proben und nicht für die weitere Analyse geeignet (insbesondere für Chlorophyll a) | | AQS-Merkblatt P8/5 |
| Probenaufbewahrung | Probefarbe = cognacfarbend | | Nachfixieren mit Lugol'scher Lösung bei schwach gefärbten Proben | Wenn komplett entfärbt „Teilerzersetzung der Probe möglich!“ , und wenn Probe älter als 6 Monate – Probe zur Analyse ungeeignet! | Nix_2010 |
| Probenvorbereitung | Luftdicht schließende Glasflaschen | | Probe hinsichtlich Auslaufen bei Probenhomogenisierung und hinsichtlich Zersetzung optisch überprüfen (Pilzfäden etc.) | Nach Verlust eines Teils des Probenvolumens von einer nicht homogenisierten Probe ist keine weitere Analyse möglich , da nicht mehr quantitativ homogen (Vermerk) | DIN EN 15204 |
| Probenvorbereitung | Gleichverteilung in Absetzkammer | | Probe erneut ansetzen | | DIN EN 15204 |
| Zählprotokoll | Wurde ein Zählprotokoll angefertigt | | Vermerk; Zählprotokoll erforderlich | Handgeschriebene Zähllisten sind akzeptabel wenn sie alle Pflichtinformationen enthalten; Digital erzeugte Zählprotokolle | DIN EN 14996 |

| Verfahrens-schritt | Prüfgröße | Erfüllt: ja/nein | Wenn „nein“: Maßnahme | Sonderfälle (Beispiele) | „Norm-hinweis“ |
|---------------------------------------|--|------------------|---|--|-------------------------------|
| | | | | müssen in Kopie gespeichert werden und ein Papierausdruck wird empfohlen | |
| Zählprotokoll | Festlegung der Zählstrategie | | Anleitung wie in Nixdorf et al. 2010 befolgen; Mindestens 2 verschiedene Vergrößerungen nutzen | Dominanz fädiger Blaualgen; sehr große coccale Kolonien, Picoplankton u.a. | Nix_2010; DIN EN 16695 |
| Zählprotokoll | Optische mikroskopische Kontrolle der Probe weist nicht auf Störungen wie Flocken etc. hin | | Vermerk anfertigen, Zählstrategie anpassen und Probe nochmals in Absetzkammer zur Sedimentation ansetzen (ggf. kleineres Probenvolumen und mehr Fläche zählen; ggf. vorherige Ultraschallbehandlung für Blaualgenkolonien; ggf. zuvor Probenflasche kurz auf Tisch aufklappen um Gasvesikel auszutreiben) | Aufrahmende Flocken können durch Öl- oder Gas-Vesikeln haltige Algen verursacht sein; sehr viel Detritus kann Zählung stören | Nix_2010 |
| Zählprotokoll Prüfung Abundanz | Anzahl gezählter Objekte insgesamt > 400 für Vertrauensgrenze 95% | | Vermerk; Mehr Fläche oder weitere Probe mit mehr Probenvolumen zählen | Extrem saure Tagebauseen; Störung durch anorganische Partikel | Nix_2010, DIN EN 15204 |
| Zählprotokoll Prüfung Abundanz | Gezählte Zellen (n) für jedes dominante Taxon >20 bei etwa 200facher bzw. bei 400facher Vergrößerung >60 insgesamt erfüllt für >9 Taxa | | Vermerk; Mehr Fläche oder weitere Probe mit mehr Probenvolumen zählen, bis Schwellenwerte erfüllt sind | Bei Einzelprobe kann eine Unterschreitung des Prüfwertes auftreten, aber keinesfalls für die gesamte Probenreihe des Untersuchungsjahres akzeptabel; mehr Fläche auszählen | Nix_2010 |
| Zählprotokoll | Anzahl von 15-20 gezählten Taxa erreicht?* | | Vermerk und mehr Fläche oder weitere Absetzprobe aus mehr Probenvolumen zählen; Wenn ultra-oligo-tropher See, dann 10 Taxa ggf. ausreichend**, doch dann immer zusätzlich Diatomeenpräparat für weitere Arten auswerten und auf Größenklassen der centrischen Diatomeen übertragen | Sonderfall: artenarme Planktonbiozönosen aus stark sauren Seen oder kalkarmen Seen | Nix_2010 |
| Zählprotokoll | Zählung bei mindestens 2 Vergrößerungen | | Probe bei einer weiteren geeigneten Vergrößerung zählen | Dominieren sehr kleine Zellen (<10µm), dann kann auch eine Felderzählung (N>50) bei maximaler Vergrößerung angemessen sein | Nix_2010 |
| Zählprotokoll | Mindestbestimmungstiefe laut HTL erreicht für alle Taxa, die jeweils mehr als >5% des Gesamtbiovolumens ausmachen | | Wenn überwiegend unbestimmte Taxa (>30%), dann Probe erneut auszählen lassen und Vermerk | Prüfen, ob im See Sonderbedingungen vorliegen, die nicht durch einen nationalen Seetyp abgedeckt sind (Versauerung, org. Belastung; dystroph etc.) | HTL_2009; Nix_2010; RIED_2013 |
| Zählprotokoll | Fotos der dominanten Arten | | Überprüfung der Bestimmung anhand Lugol-Probe (Alter <1Jahr) | | |
| Zählprotokoll | Fotos bei Auftreten von besonders sensitiven Indikator taxa | | Phyto-See-Indexwert plausibel; sonst Überprüfung der Bestimmung anhand Lugol-Probe (Alter <1Jahr) | | s. Annex 1 |

| Verfahrens-schritt | Prüfgröße | Erfüllt: ja/nein | Wenn „nein“: Maßnahme | Sonderfälle (Beispiele) | „Norm-hinweis“ |
|-------------------------|---|------------------|---|---|----------------------------------|
| Zählprotokoll | Neue Art, die nicht in der HTL zu finden ist | | Zuordnung zum nächst-höherem, in der HTL vorhandenen taxonomischen Niveau (z.B. Gattung) und Originalname unter „Taxonanmerk“; Bitte in der DV-Liste suchen, Artnamen in Checkliste der Algenflora der Bundesländer suchen | Neues Taxon, bitte zur Überprüfung melden an DV-Liste (LfU Bayern) und an HTL Autoren | |
| Prüfung Abundanz | Die berechnete Gesamtzellzahl pro Milliliter (Z/ml) sollte im Bereich 20 bis maximal 10 Millionen liegen | | Wenn <20 Z/ml, dann zur Überprüfung größeres Probenvolumen ansetzen und optische Prüfung hinsichtlich aufwachsender Algen durchführen | wenn >10 Mio. prüfen, ob <i>Microcystis</i> -Kolonien dominieren (>70%); dann Schätzung der Koloniegroße mit erneuter Zählung überprüfen, die an einer Unterprobe durchgeführt wurde, die zuvor mit Ultraschall behandelt wurde | Nix_2010 |
| Biovolumen | Bestimmung der Zelldimensionen: Die Längen (µm) der Skalenteile des Okularmikrometers sind bei den angewendeten Vergrößerungen im Protokoll dokumentiert | | Kalibrierfaktor für das Okularmikrometer durch ein externes Objektmikrometer überprüfen bzw. ermitteln | | DIN EN 16695 (Entwurf); Nix_2010 |
| Biovolumen | Zellvolumen: Größenvariable Arten mit angepassten Zellvolumina berücksichtigt? | | Größenvariable Arten in Größenklassen zählen oder je Art mind. 20 Zellen vermessen; Überprüfen der Relation Gesamtbiovolumen zu Chlorophyll a siehe letzter Punkt | Wurde z.B. im Fall von Cryptomonas-Arten oder Centrales bereits in Größenklassen gezählt, ist eine „angepasste Bestimmung“ des Zellvolumens nach prEN 16695 erfolgt, da für jede Größenklasse ein spezielles Zellvolumen ermittelt werden kann | Nix_2010; DIN EN 16695 (Entwurf) |
| Biovolumen | Zellvolumen: Geometrischer Körper je Taxon in Übereinstimmung mit Anhang A und C der prEN 16695 | | Im Anhang A der DIN EN 16695 (Entwurf) werden geprüfte Berechnungsformeln und die dazu erforderlichen Körpermaße zur Bestimmung der wichtigsten Geoformen gelistet | Umfangreiche Taxaliste mariner und Süßwasserarten des Phytoplanktons mit Geoform-Zuordnung in Anhang C in prEN 16695 | DIN EN 16695 (Entwurf) |
| Biovolumen | Verhältnis Gesamtbiovolumen(BV) zu Chlorophyll a-Gehalt (Chl_a) im Bereich 0,7 und 0,11; [$>1,5 - < 9 \mu\text{g Chl}_a / 1\text{mm}^3 \text{BV}^{***}$]; sonst Vermerk | | Vermerk: BV/Chl_a Verhältnis nicht plausibel ^{***} ; wenn 0,7 Unterschätzung von BV wahrscheinlich; Bei BV/Chl_a >1 ist eine Überschätzung des BVs wahrscheinlich; In beiden Fällen durch Vergleich Chl_a-Wert mit Sichttiefenmessung plausibilisieren (Minderbefund von Chl_a?) | Vereinzelt können Einzelproben ein ungewöhnliches BV/Chl_a-Verhältnis aufweisen (Klarwasserstadium; mixotrophe Arten, Algenblüten großvolumiger Flagellaten etc.). Dies sollte jedoch keinesfalls für die gesamte Serie an Proben eines Untersuchungs-jahrs auftreten: wenn ja: „ Phyto-See-Index unsicher “ | *** |
| Phyto-See-Index | Tool PhytoSee gibt einen Bewertungswert für einen See aus | | Kein Ausgabe-Wert: Prüfen, - ob mehr als 3 Proben pro Jahr zwischen März-Nov, - ob See-Subtyp richtig zugeordnet ist, - ob Seenummer und Probennummer homogen in den Eingangstabellen vergeben sind | | MI_2013 |

| Verfahrensschritt | Prüfgröße | Erfüllt: ja/nein | Wenn „nein“: Maßnahme | Sonderfälle (Beispiele) | „Normhinweis“ |
|------------------------|---|------------------|--|--|-----------------------------------|
| Phyto-See-Index | Mehr als 4 Indikatorarten im Mittel des Jahres pro Probe | | < 5 Indikator taxa: Die Kenngröße PTSI gibt keine gültige Bewertung aus, und damit wird der Phyto-See-Indexwert ungültig | Saure Tagebauseen – pH-Wert <6; dann den See zu dem entsprechen den Seetyp mit Suffix „s“ zuordnen, wodurch statt PTSI der Diversitätsmetrik berücksichtigt wird | MI_2008 |
| Phyto-See-Index | Chlorophyll a (Chl_a) zu Gesamtphosphor (TP) entspricht Erwartung nach Trophie-Index nach LAWA; Berechnung mittels Access-Auswertetool "Trophie-Index Seen nach LAWA" | | Zu wenig Chlorophyll a im Saisonmittel: See wird „zu gut“ mit PSI bewertet; Plausibilitätsprüfung mittels Chl_a-Vergleich zu Sichttiefenmessung und zu Gesamtbiovolumen (Minderbefund?); Sonderfälle prüfen; Mögliche Ursachen für eine Unterbestimmung (Minderbefund) von Chlorophyll a prüfen*** (kein Lichtschutz bei Probenahme und Analyseprozess etc.) | Tiefenchlorophyll-Maxima?; Makrophyten-Dominanz; hohes Grazing durch Zooplankton; hoher Gehalt an Huminstoffe; geringe Wasserverweilzeit bei Flach- und Flusseen (Typ 11 und 12) | RIED_2013 ; Deneke et al. 2014 |
| Phyto-See-Index | Chlorophyll a zu Gesamtphosphor (TP) entspricht Erwartung nach Trophie-Index nach LAWA; s.o. | | Sehr viel Chlorophyll a im Saisonmittel: See wird mit PSI in einer schlechteren Zustandsklasse als erwartet bewertet; Langzeitdaten und Sonderfälle prüfen); | Keine oder wenig Makrophyten in Kombination mit geringem Fraßdruck durch das Zooplankton; sehr lange Wasserverweilzeit (Typ 11 und 12); Erosionseintrag? - Häufige Starkniederschläge im Sommer bei geschichteten Seen (Typ 10 und 13) | RIED_2013 ; Deneke et al. 2014 |

* seit 2008 wurden in den 6355 erfassten Proben im Durchschnitt $24,7 \pm 11,47$ Taxa je Probe erfasst

** Seit dem Jahr 2008 wurden in 486 Proben aus ultraoligotrophen Seen (TP <8µg/L) im Durchschnitt $23,3 \pm 9,34$ Taxa je Probe erfasst, also nur wenig unter dem Wert aller Proben, sodass die Ausnahmeregel für ultraoligotrophe Seen nicht mehr begründbar ist. Überwiegend werden in der wasserwirtschaftlichen Praxis seit 2008 regelmäßig zusätzlich Präparate für die Bestimmung von Diatomeenarten aus oligotrophen Seen angefertigt und analysiert, wodurch die erfasste Artenzahl gegenüber der Utermöhl-Methode stark erhöht wurde.

*** Erfahrungswert nach Riedmüller in Mischke et al. 2010 (LAWA O9.09 Kapitel 3.9): Die Relation Gesamtbiovolumen zu Chlorophyll a-Gehalt war in 2800 ausgewerteten Saisonmittelwerten zu über 50% im Bereich 0,24 – 0,68 (MW 0,34). Extreme Relationen mit Werten > 0,7 oder <0,11 traten **äußerst selten** auf und wurden als nicht plausibel gewertet werden.

3.3.2 Plausibilitätsprüfung des Bewertungsergebnisses (Phyto-See-Index)

In diesem Kapitel werden allgemeine Hinweise für Fehlerquellen bei Nichtberechnung und eine Überprüfung bei scheinbar unplausiblen Index-Werten des Phyto-See-Index gegeben. Durch Vergleiche mit anderen verwandten oder rechtsgültigen Bewertungskriterien kann eine Plausibilitätsprüfung des für einen See ermittelten Phyto-See-Index erfolgen.

- Plausibilitätsprüfung durch Vergleich mit dem Trophie-Index nach LAWA 1999 und 2013.
- Plausibilitätsprüfung durch Vergleich mit dem EU- Interkalibrierungsergebnissen für die IC-Seetypen
- Plausibilitätsprüfung durch Vergleich mit den in der EU vereinbarten Referenzbedingungen für die IC-Seetypen (Wolfram et al. 2009, Poikane et al. 2010; EUROPÄISCHE KOMMISSION (2008))
- Plausibilitätsprüfung durch Vergleich mit der externen Belastung (Vollenweider-Modell (OECD), Regionalmodell, Landnutzungsdaten)

Generell sollen erfahrungsgemäß vorab vor Anwendung der Checkliste zur Fehlerprüfung für scheinbar nicht plausible Ergebnisse des Phyto-See-Index zuerst die Punkte der folgenden Liste geprüft werden:

I) Überprüfung auf Fehler in den Einheiten für Biovolumen und Chlorophyll a und Gesamtphosphor

II) Überprüfung der Zuordnung zum See-Subtyp wie für das Phytoplankton erforderlich (s. Kapitel 2.1). Liegt ein Sondertyp vor (z.B. Kleinsee <20ha; Marschenseen; kalkarme Tieflandseen, Moorsee), prüfen welche Sondertypen mit einem vorhandenen See-Subtyp bewertet werden könnten. Im Feld „Gewässerart_Sondertyp“ unbedingt den Sondertyp vermerken. Bei Sondertypen ist die eingeschränkte Gültigkeit des Bewertungsverfahrens Phyto-See-Index zu beachten.

III) Störungen im Nahrungsnetz – Ein Hinweis auf ein gestörtes planktisches Nahrungsnetz kann durch das ab Version PhytoSee 6.0 zur Verfügung stehende Verfahren „PhytoLoss“ anhand der Berücksichtigung der Analyse-Daten des Zooplanktons ermittelt werden (Deneke et al. 2014; Deneke et al. in prep. PhytoLoss-Verfahrensanleitung).

Das PhytoLoss-Verfahren dient der Ermittlung wichtiger biologischer Größen, der Grazing-Effektstärke sowie der Größe des Zooplanktons in Kombination mit dem fressbaren Anteil des Phytoplanktons. Es werden damit besondere Systemzustände im planktischen Nahrungsnetz identifiziert.

IV) Makrophytenverödung oder sehr ausgeprägte Bedeckung mit Makrophyten im See

3.3.3 Plausibilitätsprüfung durch Vergleich mit dem Trophie-Index nach LAWA 1999 und 2013.

Zur Bestimmung des Trophie-Index nach LAWA wird die Chlorophyll a -Konzentration neben den Parametern Sichttiefe und Gesamtphosphor (Saisonmittelwert und Frühjahrs- bzw. Zirkulationswert) genutzt. Der Trophie-Index nach LAWA kann zur Plausibilisierung des ermittelten Phyto-See-Index-Wertes herangezogen werden. Weichen die Index-Werte stark voneinander ab, so ist dies überwiegend in der Bewertung der taxonomischen Zusammensetzung des Phytoplanktons durch die Kenngrößen PTSI und Algenklassen-Metrik und die Nicht-Bewertung der Sichttiefe und der Gesamtphosphorkonzentration im Phyto-See-Index begründet.

Der bisher gültige Trophie-Index nach LAWA (1999) wird voraussichtlich gemäß seiner Überarbeitung nach LAWA 2013 (Riedmüller et al. 2013) durch einen Beschluss der LAWA-AO in 2014 abgelöst.

3.3.4 Literatur zur Plausibilitätsprüfung der Phytoplankton-Analyse und des Bewertungsergebnisses Phyto-See-Index

- AQS-Merkblätter für die Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung (2014): AQS-Merkblatt P8/5 „Probenahme in Seen“ Stand Mai 2014. AQS 19.Lfg. XII/13; Hrsg.: Bund/Länder-Arbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA). Erich Schmidt Verlag. ISBN 978 3 503 03197 9.
- DENEKE, R., MAIER G., MISCHKE U. (2014): PhytoLoss-Verfahren: Berücksichtigung des Zooplanktons in der Seebewertung nach EU-WRRL durch die Ermittlung der Grazing-Effektstärke und anderer Indizes. Elektronische Veröffentlichung als Beilage zum Bewertungstool PhytoSee 6.0 ZIP-Datei Download: <http://www.igb-berlin.de/datenbanken.html>
- DIN 38412-16 (1985-12): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L); Bestimmung des Chlorophyll-a-Gehaltes von Oberflächenwasser (L 16)
- DIN EN 14996 (2006-08): Anleitung zur Qualitätssicherung biologischer und ökologischer Untersuchungsverfahren in der aquatischen Umwelt“ M 42 in DEV 68.Lieferung 2007.
- DIN EN 15204 (2006-12): Wasserbeschaffenheit - Anleitung für die Zählung von Phytoplankton mittels der Umkehrmikroskopie (Utermöhl-Technik)
- DIN EN 16695 (2014-02): Wasserbeschaffenheit — Anleitung zur Abschätzung des Phytoplankton-Biovolumens – Entwurf- .
- EUROPÄISCHE KOMMISSION (2008): Entscheidung 2008/915/EG der Kommission vom 30. Oktober 2008 zur Festlegung der Werte für die Einstufungen des Überwachungssystems des jeweiligen Mitgliedstaats als Ergebnis der Interkalibrierung gemäß der Richtlinie 2000/60/ EG des Europäischen Parlaments und des Rates, 2008. Aktenzeichen K(2008) 6016).

- LAWA (Länderarbeitsgemeinschaft Wasser) (1999): Gewässerbewertung – Stehende Gewässer. Vorläufige Richtlinie für eine Erstbewertung von natürlich entstandenen Seen nach trophischen Kriterien. ISBN 3-88961-225-3, Kulturbuchverlag, Berlin, 74 S.
- LAWA (Länderarbeitsgemeinschaft Wasser) (2001): Gewässerbewertung - Stehende Gewässer. Vorläufige Richtlinie für die Trophieklassifikation von Talsperren. Kulturbuchverlag, Berlin. 43 S.
- LAWA (Länderarbeitsgemeinschaft Wasser) (2003): Gewässerbewertung - Stehende Gewässer. Vorläufige Richtlinie für eine Erstbewertung von Baggerseen nach trophischen Kriterien. Kulturbuchverlag, Berlin. 27 S.
- LAWA-AO (16.06.2014): Rahmenkonzeptionen zur Aufstellung von Monitoringprogrammen und zur Bewertung des Zustands von Oberflächengewässern - Teil B: Bewertungsgrundlagen und Methodenbeschreibungen Arbeitspapiere - Arbeitspapier I - Gewässertypen und Referenzbedingungen (Stand 17.10.2013) verabschiedet im Ständigen Ausschuss Oberirdische Gewässer und Küstengewässer (LAWA-AO) der Bund/Länder-Arbeitsgemeinschaft Wasser. <http://www.wasserblick.net/servlet/is/142684/> besucht am 21.07.2014
- MAUCH, E.; SCHMEDITZ, 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.lfu.bayern.de/wasser/gewaesserqualitaet_fluesse/qualitaetssicherung/index.htm
- MISCHKE, U. & W.-H. KUSBER (2009 und ff.): 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 und der folgenden Versionen mit ausführlichen Anmerkungen. Stand 2009/05/20
- MISCHKE, U., RIEDMÜLLER U., HOEHN E., NIXDORF B. (2013) Entwurf zum Handbuch Phyto-See-Index - Verfahrensbeschreibung für die Bewertung von Seen - Aktualisierung der bisher gültigen Version Mischke et al. (2008) gemäß den Ergebnissen der Projekte des Länderfinanzierungsprogrammes O 3.06, O 7.08, O 9.08, O 9.09, O 4.10 -Stand 2013. Elektronische Beilage zum Bewertungsprogramm PhytoSee 6.0
- RIEDMÜLLER, U., HOEHN E., MISCHKE, U. (2013): Trophie-Klassifizierung von Seen - Handbuch Trophie-Index nach LAWA 2013 (10.05.2013). LAWA-EK Papier zur Vorlage als Produktblatt im LAWA-AO; Freiburg, Berlin. 33 S.

4 Annex 1: Indikatorarten, deren Dokumentation besonders empfohlen wird

Tabelle 1 in Annex 1: Liste der 90 Indikatorarten im Phyto-See-Index mit sehr geringen Trophieoptima (TAW <1,2) sortiert nach Algenklasse und Taxanamen, auf die bei der qualitativen Bestimmung besonders zu achten ist, und für die eine Fotodokumentation empfohlen wird

| Bacillariophyceae | Chlorophyceae | Chrysophyceae |
|--|---------------------------------------|---|
| <i>Amphora ovalis</i> | <i>Botryococcus braunii</i> | <i>Bitrichia</i> |
| <i>Cocconeis placentula</i> | <i>Carteria</i> | <i>Bitrichia chodatii</i> |
| <i>Cyclotella bodanica</i> | <i>Chlorogonium</i> | <i>Chromulina</i> |
| <i>Cyclotella comensis</i> | <i>Coenocystis planctonica</i> | <i>Chrysamoeba</i> |
| <i>Cyclotella comensis</i> Typ <i>pseudocomensis</i> | <i>Crucigeniella pulchra</i> | <i>Chrysolykos planctonicus</i> |
| <i>Cyclotella costei</i> | <i>Crucigeniella rectangularis</i> | <i>Chrysolykos skujae</i> |
| <i>Cyclotella delicatula</i> | <i>Dictyosphaerium tetrachotomum</i> | <i>Dinobryon bavaricum</i> |
| <i>Cyclotella distinguenda</i> var. <i>unipunctata</i> | <i>Quadrigula pfitzeri</i> | <i>Dinobryon crenulatum</i> |
| <i>Cyclotella krammeri</i> | <i>Scenedesmus bicaudatus</i> | <i>Dinobryon cylindricum</i> |
| <i>Cyclotella kuetzingiana</i> | <i>Scenedesmus costato-granulatus</i> | <i>Dinobryon divergens</i> |
| <i>Cyclotella ocellata</i> | <i>Tetrachlorella alternans</i> | <i>Dinobryon sertularia</i> |
| <i>Cyclotella tripartita</i> | <i>Willea irregularis</i> | <i>Dinobryon sociale</i> |
| <i>Cymatopleura solea</i> | <i>Willea wilhelmii</i> | <i>Dinobryon sociale</i> var. <i>stipitatum</i> |
| <i>Diatoma mesodon</i> | | <i>Dinobryon suecicum</i> |
| <i>Diatoma vulgare</i> | Cyanobacteria | <i>Epipyxis tubulosa</i> |
| <i>Discostella glomerata</i> | <i>Aphanothece clathrata</i> | <i>Kephyrion rubri-claustri</i> |
| <i>Discostella stelligera</i> | <i>Chroococcus limneticus</i> | <i>Kephyrion tubiforme</i> |
| <i>Fragilaria cyclopum</i> | <i>Chroococcus minutus</i> | <i>Pseudokephyron hyalinum</i> |
| <i>Fragilaria danica</i> | <i>Chroococcus turgidus</i> | <i>Pseudokephyron pseudospirale</i> |
| <i>Fragilaria tenera</i> | <i>Coelosphaerium kuetzingianum</i> | <i>Pseudopedinella erkensis</i> |
| <i>Gyrosigma acuminatum</i> | <i>Radiocystis geminata</i> | <i>Spiniferomonas cornuta</i> |
| <i>Nitzschia palea</i> | <i>Snowella</i> | <i>Stichogloea doederleinii</i> |
| <i>Nitzschia sigmoidea</i> | <i>Synechococcus cedrorum</i> | <i>Uroglena</i> |
| <i>Rhizosolenia eriensis</i> | | Ulvophyceae |
| <i>Stephanocostis chantaica</i> | Dinophyceae | <i>Gloeotila pelagica</i> |
| <i>Stephanodiscus alpinus</i> | <i>Ceratium cornutum</i> | <i>Planctonema lauterbornii</i> |
| <i>Stephanodiscus binderanus</i> | <i>Gymnodinium cnecoides</i> | Haptophyceae |
| <i>Tabellaria fenestrata</i> | <i>Gymnodinium lantzschii</i> | <i>Chrysochromulina parva</i> |
| <i>Tabellaria flocculosa</i> | <i>Gymnodinium uberrimum</i> | Prasinophyceae |
| Conjugatophyceae | <i>Peridinium umbonatum</i> -Komplex | <i>Tetraselmis cordiformis</i> |
| <i>Cosmarium bioculatum</i> | <i>Peridinium willei</i> | Xanthophyceae |
| <i>Staurostrum tetracerum</i> | <i>Woloszynskia ordinata</i> | <i>Trachydiscus sexangularis</i> |

4.1 Annex 2: Feldprotokoll und Checkliste zur Probenahmenvorbereitung

Muster für ein Feldprotokoll

Das Muster für das Feldprotokoll und die Checkliste entstammen dem Entwurf zum AQS-Merkblatt P8/5 „Probenahme in Seen“ Stand Mai 2014. (Seitenzahl je nach Bedarf – z.B. in Abhängigkeit von Seetiefe – erweiterbar)

Tabelle 1 in Annex 2: Muster für ein Feldprotokoll

| Feldprotokoll | | | | | Datum: | | |
|--|------------|-------------------------------|---------------------------|-----------------------|--|-------|---------------|
| See-Nr./-Name: | | | | | Uhrzeit: | | |
| Messpkt.-Nr./-Name: | | | | | Seefläche [ha]: | | |
| Bewölkung [Achtel]: | | Chemieprobe: | | | Zooplankton - Schöpfungsvolumen [l] | | |
| Windstärke [Beaufort]: | | Oberflächen-/Tiefenprobe [m]: | | | | | |
| Windrichtung: | | Mischprobentiefe [m]: | | | | | |
| Optischer Eindruck (Wasser): | | Tiefenschritte Mischpr. [m]: | | | | | |
| | | Tiefe euphot. Zone [m]: | | | Probenehmer: | | |
| Sichttiefe [m]: | | Tiefe epilimn. Zone [m]: | | | | | |
| Sichttiefe bis Grund: ja / nein | | Nährstoffprofil: ja / nein | | | | | |
| Tiefe an der Probestelle [m]: | | | | | | | |
| Protokollabschnitt "Sondenmesswerte der Tiefenprofilmessung" * | | | | | | | |
| Tiefe [m] | Temp. [°C] | O ₂ -Konz. [mg/l] | O ₂ -Sätt. [%] | Leitfähigkeit [µS/cm] | pH | Redox | Verschiedenes |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| Bemerkungen: | | | | | | | |
| * Bei Geräten mit digitaler Aufzeichnung der Messwerte wird zusätzlich die schriftliche Aufzeichnung der | | | | | | | |
| Werte zusätzlich zur Sicherung empfohlen! | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |

Tabelle 2 in Annex 2: Muster für eine Checkliste für die Probenahme

| | | Datum | Datum | Datum | Datum | Datum |
|---|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Reinigung | | | | | | |
| Schöpfer sauber | ja | | | | | |
| Netze sauber | ja | | | | | |
| | | | | | | |
| Ladezustand | | | | | | |
| z.B. Schöpfer (IWS II) | 98% | | | | | |
| Handgerät (Sondenhandgeräte, Schöpferhangeräte) | 8,7V | | | | | |
| Multiparametersonden | 68% | | | | | |
| Luftdruckmessgeräte / Multiparametermessgeräte | 70% | | | | | |
| Akkus/Batterie für GPS | voll | | | | | |
| Akkus für die Kamera | voll | | | | | |
| Handy | voll | | | | | |
| Akkus für Echolot | voll | | | | | |
| Optional Akku vom Rechner | voll | | | | | |
| Optional Batterie für E-Motor | voll | | | | | |
| | | | | | | |
| sonstiges | | | | | | |
| Schreibtest der Stifte | ok | | | | | |
| Besitzer informiert | ja | | | | | |
| Pächter informiert | ja | | | | | |
| Absprache Labor/Flaschentransport | ja | | | | | |
| Probenahmebox zusammengestellt | ja | | | | | |
| Protokolle | ja | | | | | |
| Kontrolle der Fahrzeuge/Bootsanhänger | ja | | | | | |
| | | | | | | |
| Optional Treibstoff für Motor | ja | | | | | |
| | voll | | | | | |
| | | | | | | |
| Unterschrift: | | | | | | |

4.2 Annex 3: Zählprotokoll mit den Komponenten Probencharakterisierung, Zählliste und Zellvolumenbestimmung

| Muster für ein Zählprotokoll | | | |
|---|---|---|---|
| Probencharakterisierung | | Probennummer: | |
| Seename | Beprobungsdatum | Datum der Zählung | Beprobungstiefe |
| Seetyp | Chlorophyll a-Gehalt in µg/L | Optische Kontrolle der Probe | |
| | | Entfärbung? Störungen in der Probenmatrix? | |
| | Bearbeiter | | |
| | | | |
| | | | |
| Zählfaktoren | | angesetztes Probenvolumen in ml: | |
| Kammerzählung | Transektzählung | Felderzählung | |
| Vergrößerung K z.B. 200x | Vergrößerung T z.B. 400x | Vergrößerung F z.B. 640x | Vorbehandlung? z.B. Ultraschall |
| Fläche gesamte Kammer in mm ² | Fläche ein Transekt in mm ² | Fläche 1 Feld in mm ² | Verdünnung mit entgastem Wasser z.B. 1:5 |
| Ausgezählte Zählfläche für K in mm ² | Ausgezählte Zählfläche für T in mm ² | Ausgezählte Zählfläche für F in mm ² | |
| Faktor Ind/ml für K | Faktor Ind/ml für B | Faktor Ind/ml für F | |

| Zählliste | | | | Probennummer: | | | |
|--------------------------|-------------------|-------------|---------------|---------------|-------------------------|------------------------|----------------|
| Vergrößerung K | 1/2 K | | | | | | |
| Taxaname | HTL_ID oder DV_ID | Zähleinheit | Größen-klasse | Geo-körper | Zellvol mm ³ | Zellvol neu ermittelt? | Anzahl gezählt |
| Asterionella formosa | | EZ | L 60-80µm | Q | 1120 | nein | 48 |
| Aulacosira granulata | | T (L 100µm) | B 6-8µm | Zy | 549,7789 | nein | 5,5 |
| Ceratium hirundinella | | EZ | nein | ? | 24000 | nein | 2 |
| Microcystis | | EZ | nein | k | 8,5 | nein | 190000 |
| Fragilaria ulna | | EZ | nein | Q | 1100 | nein | 5 |
| | | | | | | | |
| Vergrößerung T | 2 T | | | | | | |
| Taxaname | | Zähleinheit | Größen-klasse | Geo-körper | Zellvol mm ³ | Zellvol neu ermittelt? | Anzahl gezählt |
| Mallomonas akrokomos | | EZ | nein | D | | s.u. | 12 |
| Kirchneriella contorta | | T | nein | SP | | nein | |
| Woronichinia naegeliania | | EZ | nein | k | | nein | |
| Scenedesmus acuminatus | | EZ | nein | D | 8,5 | nein | |
| Tribonema | | T (L 10µm) | B 3-4µm | Zy | 27,4889 | | |
| Vergrößerung F | 50 F | | | | | | |
| Taxaname | | Zähleinheit | Größen-klasse | Geo-körper | Zellvol mm ³ | Zellvol neu ermittelt? | Anzahl gezählt |
| Aphanothece clathrata | | EZ | 1 | D | 1,723 | nein | 255 |
| Monoraphidium circinale | | EZ | 1 | SP | | nein | 34 |
| | | | | | | | |

Beispiel für ein Zählprotokoll – Komponente „Zellvolumenbestimmung“

| Protokoll zu Bestimmung Zellvolumen | | | | | Probennummer: | | | |
|--|--------|--|--------|------|---------------|--------------|------------|-------------|
| Vergrößerung | 400x | Zuordnung und Berechnung Geokörper nach prEN 16695 | | | | | | |
| Taxaname | Objekt | Länge | Breite | Höhe | smalle Breite | Geo-körper 1 | Mehr-fach? | Zellvol mm³ |
| Asterionella formosa | 1 | 70 | 4 | 3,5 | | Quader | 1 | 980 |
| Asterionella formosa | 2 | 70 | 4 | 4 | | Quader | 1 | 1120 |
| Asterionella formosa | 3 | 70 | 4,2 | 4 | | Quader | 1 | 1176 |
| Asterionella formosa | 4 | 70 | 4 | 4 | | Quader | 1 | 1120 |
| Asterionella formosa | 5 | 70 | 4 | 3,5 | | Quader | 1 | 980 |
| Asterionella formosa | 6 | 85 | 4 | 4 | | Quader | 1 | 1360 |
| Asterionella formosa | 7 | 85 | 4 | 4 | | Quader | 1 | 1360 |
| Asterionella formosa | 8 | 80 | 4 | 4 | | Quader | 1 | 1280 |
| Asterionella formosa | 9 | 80 | 4 | 4 | | Quader | 1 | 1280 |
| Asterionella formosa | 10 | 70 | 4 | 3,5 | | Quader | 1 | 980 |
| Asterionella formosa | 11 | 70 | 4 | 3,5 | | Quader | 1 | 980 |
| Asterionella formosa | 12 | 70 | 4 | 3,5 | | Quader | 1 | 980 |
| Asterionella formosa | 13 | 70 | 4 | 3,5 | | Quader | 1 | 980 |
| Asterionella formosa | 14 | 75 | 4 | 4 | | Quader | 1 | 1200 |
| Asterionella formosa | 15 | 75 | 4 | 4 | | Quader | 1 | 1200 |
| Asterionella formosa | 16 | 75 | 4 | 4 | | Quader | 1 | 1200 |
| Asterionella formosa | 17 | 75 | 4 | 4 | | Quader | 1 | 1200 |
| Asterionella formosa | 18 | 75 | 4 | 4 | | Quader | 1 | 1200 |
| Asterionella formosa | 19 | 60 | 4 | 4 | | Quader | 1 | 960 |
| Asterionella formosa | 20 | 60 | 4 | 4 | | Quader | 1 | 960 |
| Asterionella formosa | | | | | | Quader | Median: | 1148 |
| Sonderform KombiGeo | | | | | | | | 1422,8894 |
| Bestimmung Teilgeokomponente zu Zellvolumen Kombiniertes Geokörper | | | | | | | | |
| Taxaname | Objekt | Länge | Breite | Höhe | smalle Breite | Geo-körper 2 | Mehr-fach? | Zellvol mm³ |
| Ceratium Arme | 1 | | 5 | 35 | 5 | Elliptisch | 2 | 229,07446 |
| Ceratium Arme | 2 | | 5 | 35 | 5 | Cuboid | 2 | 229,07446 |
| Ceratium Arme | 3 | | 6 | 45 | 5 | Cuboid | 2 | 353,42917 |
| Ceratium Arme | 4 | | 6 | 35 | 5 | Cuboid | 2 | 274,88936 |
| Ceratium Arme | 5 | | 6 | 35 | 5 | Cuboid | 2 | 274,88936 |
| Ceratium Arme | 6 | | 6 | 55 | 5 | Cuboid | 2 | 431,96899 |
| Ceratium Arme | 7 | | 6 | 35 | 5 | Cuboid | 2 | 274,88936 |
| Ceratium Arme | 8 | | 5 | 35 | 4 | Cuboid | 2 | 183,25957 |
| Ceratium Arme | 9 | | 5 | 35 | 5 | Cuboid | 2 | 229,07446 |
| Ceratium Arme | 10 | | 6 | 40 | 5 | Cuboid | 2 | 314,15927 |
| Ceratium Arme | 11 | | 6 | 35 | 5 | Cuboid | 2 | 274,88936 |
| Ceratium Arme | 12 | | 5 | 35 | 5 | Cuboid | 2 | 229,07446 |
| Ceratium Arme | 13 | | 5 | 35 | 5 | Cuboid | 2 | 229,07446 |
| Ceratium Arme | 14 | | 6 | 30 | 5 | Cuboid | 2 | 235,61945 |
| Ceratium Arme | 15 | | 6 | 35 | 5 | Cuboid | 2 | 274,88936 |
| Ceratium Arme | 16 | | 6 | 30 | 5 | Cuboid | 2 | 235,61945 |
| Ceratium Arme | 17 | | 6 | 35 | 5 | Cuboid | 2 | 274,88936 |
| Ceratium Arme | 18 | | 6 | 38 | 5 | Cuboid | 2 | 298,4513 |
| Ceratium Arme | 19 | | 6 | 35 | 5 | Cuboid | 2 | 274,88936 |
| Ceratium Arme | 20 | | 6 | 35 | 5 | Cuboid | 2 | 274,88936 |
| Ceratium Arme | | | | | | Cuboid | Median: | 274,88936 |