ILNAS-EN 16695:2015 - Preview only Copy via ILNAS e-Shop

ILNAS

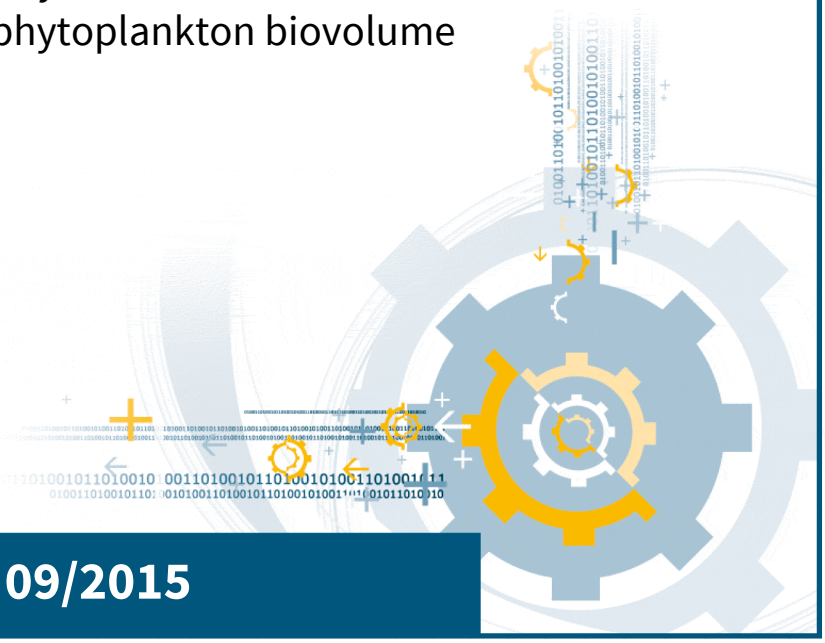
Institut luxembourgeois de la normalisation
de l'accréditation, de la sécurité et qualité
des produits et services

ILNAS-EN 16695:2015

Wasserbeschaffenheit - Anleitung zur Abschätzung des Phytoplankton-Biovolumens

Qualité de l'eau - Lignes directrices pour l'estimation du biovolume des microalgues

Water quality - Guidance on the estimation of phytoplankton biovolume



09/2015

Nationales Vorwort

Diese Europäische Norm EN 16695:2015 wurde als luxemburgische Norm ILNAS-EN 16695:2015 übernommen.

Alle interessierten Personen, welche Mitglied einer luxemburgischen Organisation sind, können sich kostenlos an der Entwicklung von luxemburgischen (ILNAS), europäischen (CEN, CENELEC) und internationalen (ISO, IEC) Normen beteiligen:

- Inhalt der Normen beeinflussen und mitgestalten
- Künftige Entwicklungen vorhersehen
- An Sitzungen der technischen Komitees teilnehmen

https://portail-qualite.public.lu/fr/normes-normalisation/participer-normalisation.html

ILNAS-EN 16695:2015 - Preview only Copy via ILNAS e-Shop

DIESES WERK IST URHEBERRECHTLICH GESCHÜTZT
Kein Teil dieser Veröffentlichung darf ohne schriftliche Einwilligung weder vervielfältigt noch in sonstiger Weise genutzt werden - sei es elektronisch, mechanisch, durch Fotokopien oder auf andere Art!

ILNAS-EN 16695:2015

EUROPÄISCHE NORM
EUROPEAN STANDARD
NORME EUROPÉENNE

SCHLUSS-ENTWURF
FprEN 16695

April 2015

ICS 13.060.70

Deutsche Fassung

Wasserbeschaffenheit - Anleitung zur Abschätzung des Phytoplankton-Biovolumens

Water quality - Guidance on the estimation of microalgal biovolume

Qualité de l'eau - Lignes directrices pour l'estimation du biovolume des microalgues

Dieser Europäische Norm-Entwurf wird den CEN-Mitgliedern zur formellen Abstimmung vorgelegt. Er wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 230 erstellt.

Wenn aus diesem Norm-Entwurf eine Europäische Norm wird, sind die CEN-Mitglieder gehalten, die CEN-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist.

Dieser Europäische Norm-Entwurf wurde vom CEN in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch) erstellt. Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum des CEN-CENELEC mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, der ehemaligen jugoslawischen Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, der Schweiz, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.

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

Warnvermerk : Dieses Schriftstück hat noch nicht den Status einer Europäischen Norm. Es wird zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt. Es kann sich noch ohne Ankündigung ändern und darf nicht als Europäischen Norm in Bezug genommen werden.

ILNAS-EN 16695:2015 - Preview only Copy via ILNAS e-Shop

EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Avenue Marnix 17, B-1000 Brüssel

© 2015 CEN Alle Rechte der Verwertung, gleich in welcher Form und in welchem Verfahren, sind weltweit den nationalen Mitgliedern von CEN vorbehalten.

Inhalt

Seite

Vorwort 3

Einleitung 4

1 Anwendungsbereich 5

2 Normative Verweisungen 5

3 Begriffe 5

4 Grundlage des Verfahrens 6

5 Geräte und Konservierungsmittel 7

6 Durchführung 7
6.1 Probenahme und Probenvorbereitung 7
6.2 Kalibrierung des Okularmikrometers, Zählgitters und der Bildverarbeitungssoftware 7
6.3 Statistische Anforderungen für die Berechnungen 8
6.4 Messungen 10
6.4.1 Allgemeines 10
6.4.2 Größenklassen basierend auf repräsentativen Vermessungen 10
6.4.3 Behandlung der „versteckten Dimensionen“ 11
6.4.4 Vermessung fadenförmiger Taxa 11
6.4.5 Vermessung und Zählung Kolonie- bzw. Zönobium-bildender Taxa 12
6.4.6 Vermessung komplexer geometrischer Körper 13
6.5 Berechnung des Biovolumens 13
6.6 Biovolumen-Biomasse-Relation 14
6.7 Untersuchungsbericht 14

7 Qualitätssicherung 15

Anhang A (informativ) Auflistung geometrischer Formen 16

Anhang B (informativ) Statistische Verfahrenskenndaten 24

Anhang C (informativ) Berechnung des Kohlenstoffgehalts 29

Anhang D (informativ) Alphabetische Taxaliste mit den vorgeschlagenen geometrischen Körpern und Faktoren für die nicht-sichtbaren Dimensionen 32

Anhang E (informativ) Beispiel: Gattungs-spezifische Anweisung zur Vermessung notweniger Dimensionen 89

Literaturhinweise 92

ILNAS-EN 16695:2015 - Preview only Copy via ILNAS e-Shop

Vorwort

Dieses Dokument (FprEN 16695:2015) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur formellen Abstimmung vorgelegt.

Dieses Dokument wurde unter einem Mandat erarbeitet, das die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelszone dem CEN erteilt haben, und unterstützt grundlegende Anforderungen der Wasserrahmenrichtlinie (2000/60/EG) (WRRL) und der Richtlinie zu Umweltqualitätsnormen (Richtlinie 2008/105/EG).

ILNAS-EN 16695:2015 - Preview only Copy via ILNAS e-Shop

Einleitung

Die Abundanz (Häufigkeit) oder Anzahl von Zähleinheiten einzelner Phytoplankton-Taxa spiegelt nicht notwendigerweise den tatsächlichen Anteil einzelner Taxa an der gesamten Biomasse einer Phytoplanktongemeinschaft wider. Wenige große Zellen/Zähleinheiten können weit mehr Biomasse in das System einbringen als viele kleine. Deshalb sind Abundanzdaten alleine oftmals kein ideales Maß für die Größe einer Population. Abschätzungen der Biomasse dagegen liefern sehr wichtige Informationen für ökologische Untersuchungen, Bewertungssysteme und Ökosystemmodelle. Deshalb ist es erforderlich, die Biomasse von Phytoplanktontaxa zu bestimmen, insbesondere weil das Phytoplankton die Energie in Form von Kohlenstoff für andere trophische Ebenen (Trophiestufen) in den Nahrungsnetzen liefert. Es ist nicht möglich, den Kohlenstoffgehalt in natürlichen Phytoplanktonproben auf taxonomischer Ebene direkt zu messen, das Biovolumen der Phytoplanktontaxa ist daher ein geeignetes Maß zur Bestimmung der Biomasse eines Ökosystems entsprechend der taxonomischen Zusammensetzung. Weder die Analyse der Teilchengröße mittels Laseranalyse noch Durchflusszytometrie, Partikel Zähler oder die chemische Analyse der Chlorophyll-a-Konzentration sowie des Gesamtkohlenstoffgehaltes ermöglichen Angaben auf taxonomischer Ebene. Eine Abschätzung des Kohlenstoffgehalts auf Basis des Biovolumens ist jedoch unter Verwendung von Umrechnungsfaktoren möglich (siehe Anhang C).

Darüber hinaus bietet das Biovolumen eine genaue Grundlage zur Beurteilung von Gefährdungen durch Algen und Cyanobakterien, die schädliche oder toxische Stoffwechselprodukte enthalten (können), und wird in Kombination mit Zellzahlen oder der Chlorophyll-a-Konzentration in WHO Richtlinien und einer Reihe von nationalen Vorschriften zur Risikobewertung (Gefährdungsabschätzung) verwendet.

Bisher wurden in verschiedenen nationalen und internationalen Überwachungsprogrammen unterschiedliche Leitlinien zur Abschätzung des Biovolumens von Mikroalgen angewendet (z. B. [1], [2], [3], [4]). Das Hauptziel des vorliegenden Dokuments besteht in der Normung des Verfahrens zur Bestimmung des Phytoplankton-Biovolumens, um eine Vergleichbarkeit von Daten zu erreichen. Deshalb wird die Abschätzung des Biovolumens in Phytoplanktonproben mittels Sedimentationskammern (nach Utermöhl) unter Anwendung eines Umkehrmikroskops ausführlich beschrieben.

Diese Norm kann auch für die Auswertung von Bildern, die mit Mikroskop- oder Durchflusszytometrie-Kameras aufgenommen wurden, verwendet werden. Die Verwendung eines Standardkatalogs, der geometrische Grundformen und einige zusammengesetzte Formen enthält, wird empfohlen. Natürlich spiegelt eine derartige Standardliste nicht die Vielfalt aller natürlich vorkommenden Formen wider und entspricht nicht den exakten Werten für das Biovolumen von jedem Taxon. Es wird immer ein Kompromiss zwischen der Genauigkeit und der Wirtschaftlichkeit sein. Jedoch verbessert die Verwendung abgestimmter geometrischer Formen und die Anwendung der entsprechenden Gleichungen die Vergleichbarkeit von Phytoplanktondaten und ist ein entscheidender Schritt in Richtung der Umsetzung von Qualitätssicherungsmaßnahmen bei der Phytoplanktonanalyse.

ILNAS-EN 16695:2015 - Preview only Copy via ILNAS e-Shop

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm legt ein Verfahren zur Abschätzung des Biovolumens von marinen und limnischen Phytoplankton-Taxa unter Anwendung der Umkehrmikroskopie (Utermöhl-Technik) nach EN 15204 fest, und berücksichtigt dabei einige heterotrophe Protisten (< 100 µm), die bei Routineauswertungen von Zooplankton nicht mit angerechnet werden und bentische Mikroalgen, die in pelagischen Wasserproben gefunden werden können.

Diese Europäische Norm beschreibt die erforderlichen Verfahren zur Messung der Zelldimensionen und zur Berechnung des Volumens von Zellen oder Zähleinheiten zur Abschätzung des Biovolumens in Phytoplanktonproben. Um Fehler zu vermeiden, werden harmonisierte geometrische Formen verwendet.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

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

EN 15204, *Wasserbeschaffenheit — Anleitung für die Zählung von Phytoplankton mittels der Umkehrmikroskopie (Utermöhl-Technik)*

EN 15972, *Wasserbeschaffenheit — Anleitung für die quantitative und qualitative Untersuchung von marinem Phytoplankton*

EN 16698, *Wasserbeschaffenheit — Anleitung für die quantitative und qualitative Probenahme von Phytoplankton aus Binnengewässern*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1
Biomasse
Gesamtmasse lebender organischer Materie innerhalb eines Systems oder Taxons

3.2
Biovolumen
Gesamtvolumen der (lebenden) Organismen innerhalb eines Systems oder Taxons

Anmerkung 1 zum Begriff: Das Biovolumen wird üblicherweise in Kubikmillimetern je Liter (mm^3/l) angegeben.

3.3
Zellvolumen
Volumen einer Zähleinheit
Gesamtvolumen einer Einzelzelle oder einer Zähleinheit

Anmerkung 1 zum Begriff: Das Zellvolumen oder das Volumen einer Zähleinheit enthält die Zellwand (sofern vorhanden), mit Ausnahme von Lorica und/oder Schleimhüllen sowie Zelloberflächenstrukturen, wie z. B. Stacheln, Seta (Zellfortsätze) und Schuppen.

Anmerkung 2 zum Begriff: Das Zellvolumen oder das Volumen einer Zähleinheit wird üblicherweise in Kubikmikrometern (μm^3) angegeben.

ILNAS-EN 16695:2015 - Preview only Copy via ILNAS e-Shop

4 Grundlage des Verfahrens

Grundsätzlich basiert die Abschätzung des gesamten oder Taxon-spezifischen Biovolumens von Phytoplanktonproben natürlicher Gemeinschaften oder Kulturen auf der Vermessung einer repräsentativen Anzahl von Individuen. Durch Multiplikation des Durchschnitts- oder Medianwerts des Zellvolumens oder Volumens der Zähleinheit mit der Abundanz (Häufigkeit) wird schließlich das jeweilige Biovolumen der in der Probe vorkommenden Taxa bestimmt.

Drei Vorgehensweisen sind dabei zulässig:

1) **Abschätzung durch repräsentative Messung:** Eine repräsentative Anzahl von Individuen (meist einzelne Zellen) oder Zähleinheiten aller aufgezeichneten oder dominierenden Taxa wird in jeder Probe oder einer festgelegten Anzahl von Proben innerhalb einer vergleichbaren Probenserie vermessen. Die Daten werden zur Berechnung des Durchschnitts oder Medianwerts des Zellvolumens oder Volumens der Zähleinheit unter Verwendung der Volumenformel der festgelegten Form verwendet.

2) **Abschätzung mittels Größenklassen, die auf repräsentativen Messungen beruhen:** Für Taxa, die in ihrer Größe stark variieren können (z. B. verschiedene Diatomeen, unterschiedliche Stadien im Lebenszyklus) werden zunächst sinnvolle Größenklassen bestimmt, denen die Individuen schließlich zugeordnet werden. Grundlage für die Definition der Größenklassen sind Messungen in der gleichen Weise, wie unter 1) beschrieben.

3) **Abschätzung mittels Standardvolumina, die auf repräsentativen Messungen beruhen:** Ein sinnvolles Standardvolumen für die Zelle oder Zähleinheit wird für jedes Taxon einmalig festgelegt. Diese Standardwerte werden durch repräsentative Vermessungen und über die Formeln der zugeordneten geometrischen Körper wie unter 1) beschrieben berechnet.

Bei allen Vorgehensweisen muss jedem Taxon eine geometrische Form zugewiesen werden, um das Zellvolumen oder Volumen der Zähleinheit zu berechnen. Deshalb sind zur Harmonisierung der Vorgehensweisen für alle Taxa die geometrischen Formen festgelegt (siehe Anhang D). Die Formen wurden so gewählt, dass die zugehörigen Taxa-Körper so genau wie möglich dargestellt werden und effektive Messungen mit geringem Aufwand möglich sind (d. h. so wenige Dimensionen wie möglich: üblicherweise sind nur zwei erforderlich). Siebzehn verschiedene geometrische Körper werden verwendet (Anhang A enthält die Liste der geometrischen Köper). Falls es nicht möglich ist, die tatsächliche Körperform eines Taxons mit einem geometrishen Grundkörper zu beschreiben, werden zusammengesetzte Körper (z. B. Kegel mit Halbkugel) verwendet. Wenn die tatsächliche Geometrie von Taxa nicht genau zur zugewiesenen Form passt, wird ein geometrischer Korrekturfaktor bei der Berechnung des Zellvolumens oder Volumens der Zähleinheit verwendet

Taxalisten, in denen die bevorzugten geometrischen Formen aufgeführt sind, wurden bereits auf der Grundlage spezifischer taxonomischer Ebenen oder für bestimmte Gebiete veröffentlicht (siehe z. B. [1], [3], [4]). Dieses Dokument stellt harmonisierte geometrische Formen für Phytoplanktonorganismen zur Verfügung, die in europäischen Meeres, Brackwasser- und Süßwassersystemen verbreitet sind. Anhang D enthält eine alphabetische Liste für Gattungen mit den zugeordneten geometrischen Körpern. Wenn es abweichende Geometrien für Arten, Unterarten, Formen oder Varietäten innerhalb einer Gattung gibt, sind diese zusätzlich aufgelistet.

ILNAS-EN 16695:2015 - Preview only Copy via ILNAS e-Shop

5 Geräte und Konservierungsmittel

Die folgenden Geräte werden für die Analyse des Biovolumens von Phytoplanktonproben benötigt.

5.1 Inverses Mikroskop ausgestattet mit einem Kondensor mit einer numerischer Apertur (NA) von wenigstens 0,5 und Plan-Objektiven mit einer NA von 0,9 oder besser, die mindestens eine Gesamtvergrößerung zwischen 63× und 400× erlauben. Das Mikroskop sollte über ein Binokular verfügen, Hellfeldbeleuchtung (zusätzlich ist Phasenkontrastbeleuchtung nützlich) ermöglichen und 10× oder 12,5× Okulare aufweisen.

ANMERKUNG Obwohl die Umkehrmikroskopie das empfohlene Verfahren zur Analyse von Phytoplankton ist, können in einigen Fällen auch konventionelle Lichtmikroskope eingesetzt werden.

5.2 Kalibriertes Objektmikrometer.

5.3 Okularmikrometer.

5.4 Zählgitter.

5.5 Sedimentationskammern nach EN 15204.

5.6 Bildverarbeitungssoftware, falls verfügbar.

5.7 Probenflaschen nach EN 15204.

5.8 Konvervierungsmittel, angesäuerte und/oder alkalische Lugol‘sche Lösung nach EN 15204.

6 Durchführung

6.1 Probenahme und Probenvorbereitung

Die Probenahme und Bestimmung der Phytoplanktonabundanz und -zusammensetzung ist eine Voraussetzung zur Berechnung des Biovolumens einer Phytoplanktonprobe. Die Probenahme muss für Süßwasserproben nach EN 16698 und für marine Proben nach EN 15972 durchgeführt werden. Für die Zählung und Bestimmung der Arten siehe EN 15204.

Die Dimensionen, die zur Abschätzung des Biovolumens der Phytoplanktontaxa notwendig sind, werden in Sedimentationskammern bestimmt, die in derselben Weise vorzubereiten sind wie für die Zählung und Artbestimmung (siehe EN 15204). Zur Vermessung wird ein Umkehrmikroskop mit einem Okularmikrometer oder einer Bildverarbeitungssoftware verwendet.

Für bestimmte wissenschaftliche Zwecke können die Messungen auch mit konventionellen (nicht-inversen) Lichtmikroskopen durchgeführt werden.

6.2 Kalibrierung des Okularmikrometers, Zählgitters und der Bildverarbeitungssoftware

Die benötigten Dimensionen zur Berechnung des Volumens von Zellen oder Zähleinheiten werden mit Hilfe eines Okularmikrometers oder einer Bildverarbeitungssoftware gemessen. Für die Zuordnung zu Größenklassen kann auch ein kalibriertes Zählgitter verwendet werden.

Vor der Messung müssen alle Systeme mit einem kalibrierten Objektmikrometer für jedes eingesetzte Mikroskop, Objektiv und Okular kalibriert werden.

ILNAS-EN 16695:2015 - Preview only Copy via ILNAS e-Shop