



Titel: <b>Planteplankton – oparbejdning af prøver</b>			
Dokumenttype: Teknisk anvisning	TA. nr.: S14	Version: 2	Oprettet: 9.6.2011
Forfattere: Liselotte Sander Johansson Martin Søndergaard Fagdatacenter for Ferskvand Institut for Bioscience	Gyldig fra: 01.03.2012		
	Sider: 33		
	Sidst ændret: 17.03.2017		
TA henvisninger <a href="https://ecos.au.dk/forskningraadgivning/fagdatacentre/ferskvand">https://ecos.au.dk/forskningraadgivning/fagdatacentre/ferskvand</a>	TA S02 – Planteplankton prøvetagning i søer DT03 – Datateknisk Anvisning Fytoplankton og Zooplankton		

## 0 Indhold

1 Indledning .....	2
2 Metode .....	3
2.1 Opbevaring og efterfiksering af prøver .....	3
2.2 Udstyr .....	3
2.3 Procedure .....	3
2.3.1 Artsbestemmelse.....	3
2.3.2 Prøvetælling i omvendt mikroskop.....	5
2.3.3 Antal individer, der skal tælles og måles.....	9
2.3.4 Omregning fra tælleletal til koncentration .....	11
2.3.5 Biomasseberegning.....	11
2.3.6 Måling af GALD-værdier.....	12
2.4 Vedligehold af instrumenter.....	12
3 Databehandling .....	13
3.1 Dataindberetning.....	13
4 Kvalitetssikring.....	14
5 Referencer.....	15
6 Bilag.....	16
Bilag 6.1 Bestemmelseslitteratur til planteplankton.....	17
Bilag 6.2 Ultralydsbehandling af algekolonier .....	24
Bilag 6.3 Udregning af algekoncentration .....	25
Bilag 6.4a Volumenberegning af planteplankton .....	26
Bilag 6.4b Formler for beregning af volumen .....	28
Bilag 6.5 Artsbestemmelse af thekate furealger ved farvning med Calcofluor .....	29
Bilag 6.6 Liste over planteplanktonarter, der i planktonindekset figurerer som indikatorarter.....	30
Bilag 6.7 Oversigt over algeklasser fundet i danske søer.....	31
Gruppe .....	31
7 Oversigt over versionsændringer.....	32

## 1 Indledning

Oparbejdning af planteplanktonprøver har til formål at tilvejebringe sammenlignelige opgørelser af planteplanktonets artssammensætning, individuel og biomasse. Opgørelsen skal foretages til det laveste **sikre** taksonomiske niveau.

Der skelnes mellem to niveauer (niveau 1 og niveau 2) af oparbejdningen som primært adskiller sig ved antallet af individer (celler/kolonier/tråde), der skal tælles og måles i den enkelte prøve.

For beskrivelse af prøvetagningsprocedure for planteplankton, se TAS02 på følgende link:

<https://ecos.au.dk/forskningraadgivning/fagdatacentre/ferskvand>

Metoderne, der er beskrevet i denne anvisning, bygger på Olrik (1991). Kirsten Olrik, Miljøbiologisk Laboratorium og Maria Temponeras, Planktontax Økolab har bidraget med betydelig hjælp i forbindelse med udarbejdelse af version 2 af denne tekniske anvisning.

## 2 Metode

### 2.1 Opbevaring og efterfiksering af prøver

Planteplanktonprøverne skal opbevares i tætte glasflasker med lille munding. Plasticflasker skal undgås, da de ikke er damptætte, og konserveringsmidlet derfor damper af.

Prøverne skal opbevares mørkt og ikke over 18°C. Prøverne skal helst bearbejdes, inden der er gået to år. Hvis prøverne står længe (>ét år) eller er en smule utætte, er efterfiksering nødvendig. Netprøver med meget materiale skal næsten altid efterfikseres efter få måneder.

### 2.2 Udstyr

- Omvendt lysmikroskop med fasekonstrast
- Retvendt lysmikroskop (evt. med epifluorescens udstyr)
- Planktontællekamre (50 ml; 25 ml; 10 ml; 5 ml; 2,5-3 ml; 1 ml; 0,1/0,125 ml)
- Ultralydhomogenisator (20 kHz)
- Digitalt måleudstyr eller måleokular
- Tælleokular med tællenet (5 x 5 eller 10 x 10)
- Tælleure

### 2.3 Procedure

#### 2.3.1 Artsbestemmelse

For at foretage en kvalitativ og kvantitativ planteplanktonopgørelse kræves et grundigt artskenndskab og adgang til kvalificeret bestemmelseslitteratur (se bilag 6.1). Den kvalitative opgørelse (artslisten) laves ved gennemsyn af den sedimenterede, jodfikserede prøve i omvendt mikroskop. Ved niveau 1 oparbejdning suppleres med gennemsyn af en repræsentativ del af netprøven i retvendt mikroskop for identifikation af arter, der eventuelt ikke forekommer i den sedimenterede prøve (se dog afsnit 2.3.3).

Som udgangspunkt bestemmes der til så detaljeret et taksonomisk niveau som muligt, men aldrig højere end laveste sikre niveau. Derved opnås det højeste informationsniveau. Det er ikke altid muligt på grundlag af lys- og fasekontrastmikroskopi at foretage en sikker artsbestemmelse. Her skal man være forsigtig med at påføre et artsnavn, hvis man ikke er helt sikker; men i stedet benytte slægtsnavnet og størrelsesgruppe (se nedenfor). I tabel 14.1 er der angivet den forventet opnåelige bestemmelsesgrad for en række planteplanktongrupper.

OBS – taksonomien er under stadig revision og der kan forekomme navneskift indenfor de enkelte taksonomiske niveauer. Det tilstræbes at fastholde grupperingen (dvs. opdeling i blågrønner, grønner osv.), som traditionelt har været anvendt i den danske overvågning. I bilag 6.7 findes en oversigt over de planteplanktonklasser, der hidtil er fundet i søovervågningen i

Danmark og deres tilhørsforhold til de grupper (blågrønalger, grønalger osv.), der traditionelt er anvendt i Danmark.

**Tabel 14.1** Generel angivelse af den opnåelige bestemmelsesgrad ved almindelig lysmikroskopi indenfor de almindeligste planteplanktongrupper. I bilag 6.7 findes en oversigt over, hvilke klasser, der hører under de enkelte grupper.

Gruppe	Bestemmelsesgrad
Gulalger	De fleste slægter og nogle arter, især inden for kolonidannende <i>Dinobryon</i> -arter kan bestemmes.
Rekylalger	<i>Rhodomonas lacustris</i> bestemmes til art. <i>Cryptomonas</i> -lignende i øvrigt: hvis størrelsen >15 µm, <i>Cryptomonas</i> sp. hvis størrelsen <15 µm, Cryptomonader, opdelt efter størrelse
Blågrønalger	De fleste kan henføres til slægt og en del til art.
Furealger	Visse arter kan bestemmes ret let, men mange thekate arter kan kun bestemmes vha. deres plademønstre, hvilket er vanskeligt på lugol-fikserede prøver. Disse kan evt. identificeres i netprøver, hvor cellernes celluloseplader kan farves med Calcofluor (Olrik m.fl, 1998) og undersøges i epifluorescensmikroskop (se bilag 6.5).
Kiselalger	Kiselalger bestemmes efter deres skalstruktur. For at se den bedst muligt i tællekammeret, skal der anvendes fasekontrast. Nogle slægter og få arter kan bestemmes, men ofte er det kun muligt at bestemme små centriske arter til ordensniveau i størrelsesgruppe. De pennate kiselalger er lettere at slægtsbestemme med størrelsesgruppe; mens artsbestemmelsen som regel kræver specialpræparat.
Grønalger	En del arter og de fleste slægter kan bestemmes. Nogle små arter ("Grønne kugler" – se Blomqvist og Herlitz, 1998, bilag 6.1) er en undtagelse. <i>Scenedesmus</i> arter kan som minimum henføres til grupperne angivet i Huber-Pestalozzi (bilag 6.1).

Hvis man er i tvivl om en art, skal den opføres som slægt, fx *Oocystis*.

I de tilfælde, hvor det ikke kan lade sig gøre at identificere en algeart, skal de ubestemte arter grupperes under slægtsnavnet i en række standardiserede størrelsesgrupper (tabel 14.2).

**Tabel 14.2** Standardiserede størrelsesinddelinger af planteplankton. Alle mål er angivet i  $\mu\text{m}$

Størrelsesklasser:	0-2, 2-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30, 30-40, 40-50, 50-60
Kiselalger varierer i størrelse efter alder indenfor samme art. Derfor bruges en lidt grovere størrelsesinddeling:	<10, 10-20, 20-30, 30-50, 50-100, >100
Rekylalger opdeles i størrelsesklasserne:	2-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30, 30-40, 40-50, 50-60 <i>Rhodomonas</i> : 2-5, 5-10, 10-15 <i>Cryptomonas</i> : 15-20, 20-30, 30-40

Af hensyn til sammenligneligheden og evt. senere artsbestemmelse er det vigtigt at notere, hvilke bestemmelsesværker, der har været anvendt ved klassifikationen (se bilag 6.1). Der er dog ikke afsat plads til denne oplysning i STOQ, så det må gøres på tælleskemaet eller lign.

Alle godkendte taksonomiske betegnelser fremgår af Stancode liste nr. 1067. Findes der nye arter, familier osv., som ikke fremgår af kodelisten, eller anvendes der ny navngivning, skal følgende procedure anvendes: Der sendes anmodning til Standatsekretariatet ved DCE (<http://dce.au.dk/overvaagning/standat/>) om tildeling af foreløbigt kode-nummer. Anmodningen skal indeholde følgende oplysninger:

- latinsk navn (slægt, art)
- author(er)
- bestemmelsesværk
- klasse
- geometrisk formel
- ernæringsbiologi (autotrof, heterotrof, mixotrof)

DCE sikrer, at nomenklaturen er korrekt og arten/slægten er valid, inden tildeling af Stancode kodenummer. Efter tildeling af kodenummer, kan arten oprettes i fagdatabasen STOQ ved henvendelse til Danmarks Miljøportal.

### 2.3.2 Prøvetælling i omvendt mikroskop

Den kvantitative opgørelse udføres vha. omvendt mikroskopi på de jodfikserede prøver, hvor alle organeller er farvet gulbrune af jodopløsningen.

#### Opsætning af prøver til tælling og sedimentationsprocedure

Til en kvantitativ opgørelse, sedimenteres prøven i et planktontællekammer og den tælles i et omvendt mikroskop (*Utermöhl, 1958*).

Prøverne skal have stuetemperatur, før de sættes op til sedimentation.



Prøverne vendes roligt (undgå beskadigelser af tråd- og koloniformer) ca. 20-30 gange, før de hældes op.

Sedimentationskamrene skal stå på en vandret flade (kontrolleret med vaterpas), der ikke påvirkes af vibrationer. Kamrene må ikke udsættes for temperatursvingninger eller direkte sollys.

Det anbefales, at prøverne hældes op i flere kammerstørrelser samtidig, da prøvens sammensætning og koncentration ikke på forhånd er kendt. Normalt 10 ml, 5 ml, 2,5-3 ml og evt. 0,1-0,125 ml (se nedenfor). Ved prøver fra næringsfattige, lavalkaliske søer med lav planktontæthed kan det være nødvendigt at anvende 50 ml kamre. Kanten af kamre med løs overdel, der kan skubbes af efter sedimentationen, skal fedtes let ind med vaseline for at prøven ikke skal sive ud.

Oftest må de største former tælles i 10 (50) ml kammer med 10x objektiv, mindre former i 10 eller 5 ml kammer med 25-32x objektiv og helt små former i 3 eller 0,1 ml kammer (se nedenfor).

Minimumstider for sedimentation er angivet i tabel 14.3.

**Tabel 14.3** Sedimentationstid for ferskvandsplanteplankton ved forskellig tællekammervolumen.

<b>Kammervolumen ml</b>	<b>Ferskvand timer</b>
0,1-0,125	1
2,5-3	3
5	6
10	8
50	24

### **Kolonidannende blågrønalger**

Hvis biomassen af de kolonidannende arter/slægter skønnes at udgøre mere end 1/3 af den samlede biomasse, anvendes ultralydshomogenisering af kolonierne/garnnøgleformede tråde i form af en ultralydsstav. Nogle arter mister deres karakteristika ved ultralydsbehandlingen. Derfor er det vigtigt at artsbestemmelse, opmåling (så vidt muligt) og fastlæggelse af GALD foretages i den ubehandlede, sedimenterede prøve *før* ultralydsbehandlingen. Bilag 6.2 indeholder en udførlig beskrivelse af fremgangsmåde og opmærksomhedspunkter ved ultralydsbehandling af blågrønalgekolonier. Dette skal læses inden ultralydsbehandling påbegyndes.

Hvis biomassen af de svært tællelige blågrønalger skønnes at udgøre mindre end 1/3 af den samlede biomasse, behøver man ikke at anvende ultralydsbehandling. I stedet skal kolonierne inddeles i et passende antal delkolonier, hvis diameter svarer til koloniens "dybde". Herefter udregnes biomassen af delkolonien som en kugle. Antallet af delkolonier optælles. Artens



samlede biomasse udregnes som summen af delkoloniernes volumen. Husk at måle GALD-værdi på de store kolonier.

Cellerne i (del)kolonierne kan være mere eller mindre tætpakkede. For at gøre biomasseberegningerne sammenlignelige, anvendes der derfor en reduktionsfaktor, der tager højde for afstanden mellem cellerne i kolonien. Denne faktor varierer fra materiale til materiale; fra 0,1 til 0,75, men overstiger kun i sjældne tilfælde 0,5. Ved anvendelse af optælling i delkolonier med reduktionsfaktor i stedet for ultralydsbehandling, er der større mulighed for at bevare biomasseopgørelsen på de forskellige arter (se bilag 6.2). Især ved forekomst af potentielt toksiske arter blandet med ikke-toksiske slægtninge er det en fordel. Vurderingen af reduktionsfaktoren påfører dog biomasseberegningen en stor usikkerhed.

### Tælleprocedure

Det undersøges, hvilke arter/slægter der kvalitativt er de vigtigste i prøven. Arter som indgår i beregning af planteplanktonindekset (blågrønalger, gulalger og de arter/slægter, der figurerer som indikatorarter i Søndergaard m.fl. 2013, se bilag 6.6) eller andre arter/grupper som, afhængig af søtyperen giver vigtige informationer om søens økologi, regnes som "kvalitativt vigtige". Disse arter kan være fåtallige især i rene søer, men skal altid opgøres uanset tælleletal. Det er også vigtigt at medtage arter, som kun skal registreres som "observeret". Se også afsnit 2.3.3.

De talte arters/slægters volumen skal tilsammen skønnes at udgøre mindst 90% af det totale volumen. Dog skal der altid tages hensyn til de kvalitativt vigtige arter – se ovenfor og afsnit 2.3.3. Kun de arter, der kan tælles med en rimelig sikkerhed tælles separat. Visse arter, der ikke kan artsbestemmes, samles i slægter ved tællingen, f. eks. *Scenedesmus*, andre i størrelsesgrupper indenfor deres gruppe, f. eks. *Chlorococcales* < 5µm.

Arterne kan være uens fordelt i kammeret. De store arter ligger ofte tættest langs kanten af kammeret og de små arter tættest omkring centrum. Ved tællingen skal der derfor kompenseres for den uens fordeling ved at tælle enten hele kammerbunden eller diagonaler. De større arter (>20 µm) tælles ved 100x forstørrelse ved gennemsyn af enten hele kammerbunden, 1/2 kammerbund eller 1-6 diagonaler. Mellemstore arter tælles i 1-6 diagonaler ved 250-400x forstørrelse. Ofte må man ned i en mindre kammerstørrelse for at kunne tælle de små arter. De tælles ved 400-630x forstørrelse ved gennemsyn af 1-6 diagonaler eller en række synsfelter fordelt jævnt over en diagonal.

Er prøven meget tæt af små former, tælles et antal mindre delfelter, stadig således at der opnås en repræsentativ fordeling på tværs af kammeret.

Ved tælling af de mindste alger (<2 µm) ved høj forstørrelse, er der risiko for, at der ligger celler i flere lag, uden at man ser det, fordi den store forstørrelse begrænser højden af fokusplanet. Det anbefales at sætte prøven (som er ultralydsbehandlet, hvis dette påkræves) op i et 0,1 ml tællekammer samtidig med det/de kamre, man ellers skal bruge til den pågældende



prøve. Det skal altid sikres, at individerne står skarpest muligt og at de ligger i ét fokusplan. Ved brug af et 60-63x objektiv vil man kunne se detaljer som kloroplasters form, beliggenhed og antal bedre end ved 40x objektiv. Inden tællingen må man, pga. den ringe højde af fokusplanet ved 63x objektiv, først sikre sig i 40x faseobjektiv, at de meget små individer ligger i ét plan. Hvis det er tvivlsomt, skal der ikke benyttes 63x objektiv; men 40x (fasekontrast)objektiv af god kvalitet ved optællingen, hvorved arbejdsafstanden øges.

Hvis prøven indeholder megen detritus og mange kolonidannende arter, ultralydsbehandles prøven før tælling af de mindste arter. Herved adskilles både kolonier, eventuelt sammenklumpede celler og detritus, der fordeles og lægger sig jævnt på bundglasset. Se anvisningerne om ultralydsbehandling ovenfor og i bilag 6.2.

Anbefalede forstørrelser til tælling af forskellige størrelsesklasser fremgår af tabel 14.4 (Helcom 2010).

**Tabel 14.4.** Anbefalede forstørrelser til tælling af forskellige algestørrelsesklasser. <sup>1</sup>se tekst ang. alger <2µm.

Størrelse	Forstørrelse
0,2 – 2 µm (picoplankton)	400-ca. 600x <sup>1</sup>
2 – 20 µm (nanoplankton)	250 – 400x
> 20 µm (microplankton)	100x

Individer, der ligger hen over kanterne af tællefeltet, skal ikke alle regnes med. Man vælger to af feltets fire kanter og regner de individer med, der ligger hen over disse kanter.

Som udgangspunkt tælles der enkeltceller, men der kan også tælles andre enheder (f.eks. kæder (tråde) eller kolonier). Hos arter, der danner kæder (tråde) (f.eks. trådformede kiselalger og trådformede blågrønner), kan der i visse tilfælde tælles enkeltceller i kæden. Arter (f. eks. *Aphanizomenon* spp.) uden tydelig celleopdeling tælles (og måles) som enkeltindivid (tråd), mens kolonidannende arter, hvor det ikke er muligt at tælle enkeltceller (f. eks. *Microcystis* spp.), ultralydsbehandles eller underopdeles i delkolonier, hvor det er antallet af delkolonier, der ligger til grund for en usikkerhedsberegning på tællertallet. For udregning af usikkerheden på det antal individer (celler/kolonier/tråde), der skal tælles, se afsnit 2.3.3.

Hvis der forekommer mange lange trådformede kæder af varierende længde, kan det nedbringe usikkerheden på målingerne at ultralydsbehandle prøven inden tælling og måling. Trådene opdeles derved i mere ensartede fragmenter, og variationen på de enkelte længdemålinger nedsættes. Det kan være nødvendigt at opdele fragmenterne endnu en gang i flere størrelsesgrupper og måle dem hver for sig. GALD skal *altid* måles inden evt. ultralydsbehandling. Visse arter med tydelige lange celler (f.eks. kiselalgen *Aulacoseira*) kan optælles som celler, så man undgår størrelsesopdeling.





### 2.3.3 Antal individer, der skal tælles og måles.

#### Generelt

For at udregne den usikkerhed, der kan forventes på tællingen, kan der anvendes følgende formel: 95 % konfidensinterval =  $\pm 2 \times 100 / \sqrt{n}$  %, hvor  $n$  = antal talte individer (enkelceller, kolonier eller delkolonier). Formlen forudsætter en tilfældig fordeling af organismerne og den giver 95 % konfidensinterval i procent af det talte antal individer (Javornicky, 1958; Lund et al., 1958).

Hvis store individer (>20  $\mu\text{m}$ , f. eks. *Ceratium*) udgør en væsentlig del af biomassen, tælles alle (uanset antal) individer i tællekammeret ved lav forstørrelse.

Tælleusikkerheden bestemmer, hvor mange betydende cifre den endelige koncentration bør opgives med. Der er ingen mening i at opgive en koncentration med mere end ét betydende ciffer end det første, der er usikkerhed på. Det endelige antal cifre udvælges efter de arter, der har den mindste biomasse, f.eks.: Art 1: 5,035, art 2: 0,002  $\text{mm}^3/\text{L}$ .

#### Niveau 1 oparbejdning

For at få et statistisk acceptabelt estimat skal der så vidt muligt tælles omkring 100 individer (celler/kolonier/tråde) af hver af de vigtigste arter/slægter. I alt skal der tælles mindst 500 individer (HELCOM 2010). Dette skal *ikke* forstås sådan, at der kun må/skal tælles fem arter/slægter. Det er vigtigt at *alle* kvalitativt vigtige (se ovenfor) arter bliver medtaget i opgørelsen af biomassen. Der kan være tilfælde, hvor man ikke, indenfor en rimelig oparbejdningstid kan opnå et tælleantal på 100 individer, men de vigtigste arter skal altid opgøres, hvilket i nogle tilfælde kan betyde, at man må acceptere en lidt større usikkerhed på nogle af de vigtige arter. Hvis det totale tælleantal er meget lavt (<10) skal man dog nøjes med at registrere arten som "observeret".

Til udarbejdelse af artsliste ses hele kammeret igennem og tilstedeværelse af ikke tidligere fundne arter registreres. Da det er vigtigt at få en artsliste, der er så dækkende som muligt for den del af vandsøjlen, hvor prøven er taget, skal der suppleres med gennemsyn af en repræsentativ del af netprøven. Arter, der ikke forekommer i den sedimenterede prøve skal registreres som "observeret", men ikke opmåles, i denne del af oparbejdningen. Derudover kan man i netprøven finde ekstra individer til identifikation, som er fåtallige i den sedimenterede prøve. Der foretages som minimum størrelsesopmålinger af 10 individer (celler/kolonier) pr. optalt art/slægt af de arter, der er valgt som "kvalitativt vigtige". GALD-værdien på disse arter skal måles på hvert individ, der måles. Ved kolonier skal GALD-værdien af disse angives.



## Niveau 2 oparbejdning

Der skal tælles minimum 50 individer (celler/kolonier/tråde) af hver af de vigtigste arter. I alt skal der tælles mindst 250 individer. Dette skal *ikke* forstås sådan, at der kun må/skal tælles fem arter/slægter. Det er vigtigt at *alle* kvalitativt vigtige (se ovenfor) arter bliver medtaget i opgørelsen af biomassen. Der kan være tilfælde, hvor man ikke, indenfor en *rimelig* oparbejdningstid kan opnå et tælleantal på 50 individer, men de vigtigste arter skal altid opgøres, hvilket i nogle tilfælde kan betyde, at man må acceptere en lidt større usikkerhed på nogle af de vigtige arter. Hvis det totale tælleantal er meget lavt (<10) skal man dog nøjes med at registrere arten som "observeret".

Til udarbejdelse af artsliste ses hele kammeret igennem og tilstedeværelse af nye arter registreres som "observeret". Der kan eventuelt suppleres med gennemsyn af netprøven. Der foretages som minimum størrelsesopmålinger af 10 individer (celler/kolonier) indenfor hver art/slægt. Der skal **ikke** måles GALD-værdier.

Oversigt over antallet af individer, der skal tælles/måles ved de to niveauer fremgår af tabel 14.5.

**Tabel 14.5** Antal individer, der skal tælles, måles og hvorfra der skal angives GALD-værdi ved henholdsvis niveau 1 og niveau 2 oparbejdning. OBS – store arter og kvalitativt vigtige arter skal altid opgøres (se tekst).

	<b>Niveau 1 oparbejdning</b>	<b>Niveau 2 oparbejdning</b>
Antal individer, der skal tælles	Min. 100 af hver af de vigtigste arter. I visse tilfælde kan et lavere antal accepteres – se tekst.	Min. 50 af hver af de vigtigste arter. I visse tilfælde kan et lavere antal accepteres – se tekst.
	Mindst 500 i alt	Mindst 250 i alt
Antal individer/kolonier, der skal måles	Min. 10 af hver af de vigtigste arter	Min. 10 af hver af de vigtigste arter
Antal individer, hvorfra der skal angives GALD-værdi	Samme antal, som måles	Ingen
Gennemgang af repræsentativ delmængde af netprøven for supplement til artslisten (se tekst)	Ja	Ikke påkrævet

### 2.3.4 Omregning fra tælleantal til koncentration

Når antal alger pr. ml eller pr. liter skal udregnes, må følgende parametre kendes:

- kammerbundens areal
- areal af den del af kammerbunden, der er talt
- vandvolumenet, hvorfra algerne er sedimenteret (normalt kammer-volumet)
- tælleantal for hver art/slægt

Derefter ganges op til, hvor mange individer af hver art/slægt der har ligget på hele kammerbunden, og derfra udregnes koncentration pr. ml eller pr. l. For eksempler se bilag 6.3.

### 2.3.5 Biomasseberegning

Algernes antal omregnes til total volumen og videre til biomasse. Biomasseberegninger omfatter beregning af: celle- eller kolonivolumen pr. individ (i  $\mu\text{m}^3$ ) og cellevolumenbiomasse pr. liter (i  $10^9 \mu\text{m}^3/\text{l} = \text{mg vådvægt/l}$ ).

De specifikke volumener beregnes ud fra tilnærmede geometriske former og opmålinger af længde, diameter, osv. af individerne i den enkelte prøve. Ved opmåling af celler eller kolonier/tråde inden for en slægt vælges den geometriske form som bedst repræsenterer arterne inden for slægten. Geometriske former og tælleenhed(er) for de enkelte taxa findes i STOQ.

Der måles et antal (se afsnit 2.3.3) individer (celler/kolonier/tråde) af de talte arter/slægter i hver prøve, dvs. de arter/slægter som tilsammen skønnes at udgøre mindst 90% af det totale volumen. De målte individer udvælges, så de skønnes at repræsentere den enkelte art/slægt i prøven. Hvis man vælger at måle enkeltceller i kolonier (og ultralydsbehandling ikke er påkrævet), skal man ikke måle 10 individer fra samme koloni, men måle en enkeltcelle fra 10 (eller så mange som muligt) forskellige, repræsentativt udvalgte kolonier.

I tilfælde af stor variation på kolonier (som ikke kræver ultralydsbehandling) af en given art/slægt, kan det være nødvendigt at opdele de observerede kolonier i størrelsesgrupper og måle 10 af hver af disse grupper, idet der ellers vil forekomme for stor usikkerhed på den beregnede biomasse. Se endvidere afsnit 2.3.2 for behandling af lange trådformede kolonier.

Ved beregning af biomassen er det ligeså vigtigt at estimere det specifikke volumen for de forskellige arter/slægter så nøjagtigt som muligt, som at få talt et tilpas stort antal individer. Der skal kun relativt små unøjagtigheder til ved opmålingen af de forskellige dimensioner, før det, når dimensionerne ganges sammen og eventuelt opløftes i anden eller tredje potens, får en væsentlig indflydelse på biomassen.

Er der anvendt standardiserede størrelsesinddelinger (tabel 14.2), skal de *aktuelle* mål benyttes ved volumenberegning.

Et eksempel for størrelsesgruppen 50-100  $\mu\text{m}$ :  
De aktuelle målinger viser en middelværdi på 60  $\mu\text{m}$ . Den teoretiske gruppe (50-100  $\mu\text{m}$ ) 75  $\mu\text{m}$ . De 75  $\mu\text{m}$  ville give en voldsom overdimensionering af individvolumen i forhold til den faktiske middelværdi på 60  $\mu\text{m}$ .

### **2.3.6 Måling af GALD-værdier**

Ved GALD-værdien forstås den største lineære dimension af en planteplanktonorganisme (Greatest Axial Linear Dimension). Under udregningen af GALD-værdien medtages alle synlige vedhæng, det vil f.eks. sige, at torne hos *Scenedesmus* medregnes. Ved ultralydsbehandling skal GALD-værdien måles i den ubehandlede prøve.

## **2.4 Vedligehold af instrumenter**

Mikroskoper og lupper vedligeholdes og justeres efter fabrikantens anvisninger.

Hvis specialudstyr til digital længdemåling anvendes, skal der periodisk foretages en kalibrering over for en kendt standard. Det anbefales at foretage en sådan kalibrering fem gange årligt.

### 3 Databehandling

Data indberettes i fagdatabase STQ i Danmarks Miljøportal, og overføres til Overfladevandsdatabase (ODA). Data kvalitetssikres i ODA.

#### 3.1 Dataindberetning

Følgende data skal indberettes til fagdatacenteret

For prøven som helhed

- Stationsnavn
- Stationsnummer
- Dato
- Person, der har oparbejdet prøven
- Artsliste

For hvert individ/koloni

- Dimensionsnummer for hver målt dimension
- Længde(r) af den/de målte dimension(er) ( $\mu\text{m}$ )
- Volumenformel og formelnavn
- Individ-/cellevolumen ( $\mu\text{m}^3$ )
- GALD værdi ( $\mu\text{m}$ ) (kun ved Niveau 1 oparbejdning)

For hvert taxon/hver størrelsesgruppe

- Koncentration (antal/ml)
- Biomasse (mg vådvægt/l)

Der henvises til endvidere til Datateknisk anvisning DT03 Fytoplankton og zooplankton.

## 4 Kvalitetssikring

Kvalitetssikring omfatter kontrol af

- om metodeforskrifter overholdes
- at primærdata er realistiske
- at beregnede resultater er realistiske

Foretag en egenkontrol på de udførte bestemmelser. Skaf evt. en "second opinion" fra en kvalificeret kollega. Derudover skal målene for de enkelte dimensioner kontrolleres og det skal sikres, at de rigtige dimensioner er angivet, f.eks. at man ikke har byttet om på cellens diameter og længde.

Det forudsættes, at laboratorier/institutioner, der udfører kvalitative og kvantitative opgørelser af planteplankton, følger denne tekniske anvisning, bruger den anbefalede bestemmelseslitteratur og deltager i interkalibreringer arrangeret af Fagdatacenter for ferskvand v/DCE.

Se endvidere Datateknisk anvisning DT03 Fyttoplankton og zooplankton.

## 5 Referencer

Cronberg, G. (1982). Phytoplankton changes in Lake Trummen induced by restoration. *Folia Limnol. Scand.* 18: 1-119.

HELCOM Combine Manual, 2010, annex C6 ([www.helcom.fi](http://www.helcom.fi))

Holmboe, N., Sørensen, H. M., Jensen, H., Fugl, K., Johansson, L.S., Bøgestrand, J., Sortkjær, L., Fossing, H., Manscher, O. H. (2014). Datateknisk Anvisning Fytoplankton og Zooplankton. Aarhus Universitet DCE Nationalt Center for Miljø og Energi.  
<https://ecos.au.dk/forskningraadgivning/fagdatacentre/ferskvand>.

Javornicky, P. (1958). Die Revision einiger Methoden zur Feststellung der Quantität des Phytoplanktos. *Science Pap. Inst. Chemie Technl., Prague 2*, pp. 283-367

Lund, J.W.G., Kipling, C., LeCren, D. (1958). The inverted microscope of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia* 11, pp. 43-170.

Olrik, K. (1991). Planteplankton – metoder. Prøvetagning, bearbejdning og rapportering ved undersøgelser af planteplankton i søer og marine områder. – Miljøprojekt nr. 187. Miljøministeriet/Miljøstyrelsen ISBN: 87-503-9411-8. 108 pp.

Olrik, K., Blomqvist, P., Brettum, P., Cronberg, G. Eloranta, P. (1998). Methods for Quantitative Assessment of Phytoplankton in Freshwaters, part 1. Sampling, Processing, and Application in Freshwater Environmental Monitoring Programmes. – Svensk Miljöövervakning. Naturvårdsverket Förlag. ISBN: 91-620-4860-0. 86 pp.

Søndergaard, M., Lauridsen, T.L., Kristensen, E.A, Baattrup-Pedersen, A., Wiberg-Larsen, P., Bjerring, R., Friberg, N. (2013). Biologiske indikatorer til vurdering af økologisk kvalitet i danske søer og vandløb. Aarhus Universitet, DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi, 78 s. - Videnskabelig rapport fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi nr. 59.  
<http://www2.dmu.dk/Pub/SR59.pdf>

Utermöhl, H. (1958): Zur vervollkomnung der quantitative Phytoplankton-Methodik. *Mitt. Int. Verein. Limnol.* 9: 1-38.

Willén, E., Pejler, Y., Tirén, M. (1985). Räkningförfarande af växtplankton vid laboratoriet för mijökontroll, Uppsala – Laboratorie handledning, 55 pp.



## 6 Bilag

Bilag 6.1 Udvalgt bestemmelseslitteratur til planteplankton

Bilag 6.2 Vedrørende ultralydsbehandling

Bilag 6.3 Udregning af algekoncentrationer

Bilag 6.4 Volumenberegning af planteplankton

Bilag 6.5 Artsbestemmelse af thekate furealger ved farvning med Calcofluor

Bilag 6.6 Liste over arter, der figurerer som indikatorarter i forbindelse med planteplanktonindekset

Bilag 6.7 Oversigt over algeklasser fundet i danske søer



## **Bilag 6.1 Bestemmelseslitteratur til planteplankton.**

### **Udvalgte bestemmelsesværker**

#### **Blågrønalger – Cyanophyta**

Bourrelly, P. 1970. Les algues d'eau douce. 3. Les algues bleues et rouges. - Paris. 512 pp.

Cronberg, G., Annadotter, H. 2006. Manual on aquatic cyanobacteria. A photo guide and synopsis of their toxicology. - Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. Internat. Soc. for the Study of Harmful Algae.

Geitler, L. 1925. Cyanophyceae. - In: Pascher (ed.), Süßwasser-flora von Mitteleuropas 12, 450 pp.

Geitler, L. 1932. Cyanophyceae. In Rabenhorst Kryptogamenflora. - Fl. 14, Leipzig, 1096 pp.

Komárek, J., Anagnostidis, K. 1999. Cyanoprokaryota 1. Teil Chroococcales 1999. - In: Ettl, H., Gerloff, I., Heynig, H. & D. Mollenhauer, (Hrsg.), Süßwasserflora von Mittel-europa. 19/1. - Gustav Fischer Verlag. Stuttgart.

Komárek, J., Anagnostidis, K. 2005. Cyanoprocaryota 2. Teil: Oscillatoriales. In: Büdel, B., Gärtner, G., Krienitz, L., Schagerl (Hrsg.), Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/2. - Elsevier.

Komárek, J. 2013. Cyanoprocaryota 3. Teil / Part 3: Heterocytous Genera. In: Büdel, B., Gärtner, G., Krienitz, L., Schagerl (Hrsg. /Eds.), Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/3. - Springer Spektrum.

Nygaard, G. 1949. Hydrobiological studies on some Danish ponds and lakes. Part II: The quotient hypothesis and some new or little known phytoplankton organisms. - Det Kgl. Danske Vidensk. Sæsk. Biol. Skr., Bind VII, Nr. 1. Munksgaard. København.

Skuja, H. 1956. Taksonomische und biologische Studien über das Phytoplankton schwedischer Binnengewässer. - Nova Acta Soc. Sci. Upsal., Ser. 4, 16:3.

#### **Gulgrønalger – Xanthophyta**

Ettl, H. 1978. Xanthophyceae 1. Teil. - In: Ettl, H., Gerloff, J. & Heynig, H. (eds.) Süßwasserflora von Mitteleuropa Bd. 3. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart. New York.

Johnson, L.R. 2011. Phylum Xanthophyta (Yellow-Green Algae). - In: John, D.M., Whitton, B.A. & Brook, A.J. (eds.) The Freshwater Algal Flora of the British Isles. Cambridge University Press.

## **Grønalgler – Chlorophyta excl. Zygnematales**

Barrientos, O.O.Parra 1979. Revision der Gattung Pediastrum MEYEN (Chlorophyta). J. Cramer. FL-9490 Vaduz.

Blomqvist, P. & Herlitz, E. 1998. Methods for Quantitative Assessment of Phytoplankton in Freshwaters, part 2. Literature and its use for determination of planctonic Volvocales, Tetrasporales, Chlorococcales, and Ulotrichales, and formulae for calculation of biovolume of the organisms. - Svensk Miljöovervakning. Naturvårdsverkets Voerlag.

Bourelly, P. 1972. Les algues d'eau douce. I. Les algues vertes. - Paris. 569 pp.

Hindak, F. 1988. Studies on the Chlorococcal Algae (Chlorophyceae) IV. - Veda, Publishing House of the Slovak Academy of Sciences. Bratislava.

Hindak, F. 1990. Studies on the Chlorococcal Algae (Chlorophyceae) V. - Veda, Publishing House of the Slovak Academy of Sciences. Bratislava.

Huber-Pestalozzi, G. 1961. Das Phytoplankton des Süßwassers. Chlorophyceae (Grünalgen) Ordnung: Volvocales. In: Thienemann, A. (ed.) Die Binnengewässer 16:5. Stuttgart.

Huber-Pestalozzi, G. 1972. Das Phytoplankton des Süßwassers. Chlorophyceae (Grünalgen). Ordnung: Tetrasporales. In: Thienemann, A. (ed.). Die Binnengewässer 16:6. Stuttgart. 116 pp.

Huber-Pestalozzi, G. 1982. Das Phytoplankton des Süßwassers. Conjugatophyceae. Zygnematales und Desmidiaceae (excl. Zygnemataceae). In: Elster, H.J. & Ohle, W. (eds.). Die Binnengewässer 16:8(1). Stuttgart. 543 pp.

Huber-Pestalozzi, G. 1983. Das Phytoplankton des Süßwassers. Chlorophyceae (Grünalgen). Ordnung: Chlorococcales. In: Thienemann, A. (ed.) Die Binnengewässer 16:7(1). Stuttgart. 1044 pp.

John, D.M. 2002. Phylum Chlorophyta. - In: John, D.M., Whitton, B.A. & Brook, A.J. (eds.) The Freshwater Algal Flora of the British Isles. Cambridge University Press.

Nygaard, G., Komarek, J., Kristiansen, J. & Skulberg, O.M. 1986. Taxonomic designations of the bioassay alga NIVA\_CHL 1 ("Selenastrum capricornutum") and some related strains. - Opera Botanica 90.

Starmach, K. 1972. Ulotrichales. - In: Chlorophyta III. Starmach, K. & Sieminska, J. (eds.) Flora Slodkowodna Polski Tom 10. Polska Akademia Nauk. Instytut Botaniki. Warszawa. Krakow.

## **Grønalgler – Chlorophyta, Zygnematales**

Coesel, F.M. & Meesters, K.J. 2007. Desmids of the Lowlands. - STOWA (Dutch

Foundation for Applied Water Research). KNNV Publishing, Zeist, the Netherlands.

Huber-Pestalozzi, G. 1982. Das Phytoplankton des Süßwassers. Conjugatophyceae. Zygnematales und Desmidiaceae (excl. Zygnemataceae). In: Elster, H.J. & Ohle, W. (eds.). Die Binnengewässer 16:8(1). Stuttgart. 543 pp.

John, D.M. 2011. Phylum Chlorophyta. - In: John, D.M., Whitton, B.A. & Brook, A.J. (eds.) The Freshwater Algal Flora of the British Isles. Cambridge University Press.

Krieger, W. & J. Gerloff 1962-1969. Die Gattung Cosmarium. - Verlag von J. Cramer. Stuttgart.

Komárek, J. & Marvan, P. 1992. Morphological Differences in Natural Populations of the Genus Botryococcus (Chlorophyceae). - Arch. Protistenkd. 141: 65-100.

Komárková, J. 1991. Life Cycle of Botryococcus protuberans W. et G.S. WEST in Natural Conditions. - Arch. Protistenkd. 139: 59-68.

Lenzenweger, R. 1989. 3 Beiträge über Desmidiaceae. - Stapfia Nr. 22. Linz.

Nygaard, G. 1949. Hydrobiological studies on some Danish ponds and lakes. Part II: The quotient hypothesis and some new or little known phytoplankton organisms. - Det Kgl. Danske Vidensk. Selsk. Biol. Skr., Bind VII, Nr. 1. Munksgaard. København.

Ruzica, J. 1977-1981. Die Desmidiaceen Mitteleuropas Bd. 1(1-2). - E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Naegle u. Obermiller) Stuttgart.

Teiling, E. 1967. The desmid genus Staurodesmus. - Arkiv för Botanik. - Kungl. Svenska Vetenskapsakademien Serie 2. Band 6 nr 11. Almqvist & Wiksell. Stockholm.

Tikkanen, T. & T. Willen 1992. Växtplanktonflora. - Naturvårdsverket. Tuna-Tryck AB, Eskilstuna.

West, W. & G.S. West 1923 (reprinted 1971). A Monograph of the British Desmidiaceae Vol. V. Printed for the Ray Society, London 1923. Reprinted with permission of the Ray Society Johnson Reprint Corporation, New York, London.

### **Grønalger - Prasinophyta**

Moestrup, Ø. 2011. Phylum Prasinophyta. - In: John, D.M., Whitton, B.A. & Brook, A.J. (eds.) The Freshwater Algal Flora of the British Isles. Cambridge University Press.

### **Kiselalger – Bacillariophyta**

Cox, E. J. 1996. Identification of Freshwater Diatoms from Living material. - Chapman & Hall.



Hustedt, F. 1930 (reprint 1976). Bacillariophyta (Diatomeae). - In: Pascher, A. (ed.) Süßwasser-Flora Mitteleuropas, Hft. 10. Gustav Fischer Verlag. Jena. Reprint: Otto Koeltz Science Publishers. Koenigstein. W-Germany.

Hustedt, F. 1959. Die Kieselalgen 2. Teil. In: Dr. L. Rabenhorsts Kryptogamen-Flora von Deutschland, Oesterreich und der Schweiz Bd. VII 2. Teil. Leipzig 1959 Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig K.-G.. Johnson Reprint Corporation New York London.

Kelly, M.G. & E.Y. Hayworth 2011. Phylum Bacillariophyta (Diatoms). In: John, D.M., Whitton, B.A. & Brook, A.J. (eds.) The Freshwater Algal Flora of the British Isles. Cambridge University Press.

Kramer, K. & Lange-Bertalot, H. 1986-91. Bacillariophyceae. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart. Band 2/1-4 876, 896, 576, 437 pp.

Krammer, K. & H. Lange-Bertalot 1988. Bacillariophyceae 2. Teil: Bacillariae, Epithemiaceae, Surirellaceae. In: Ettl, H., Gerloff, J. & Heynig, H. (eds.) Süßwasserflora von Mitteleuropa. Band 2/2. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart New York.

Krammer, K. & H. Lange-Bertalot 1991. Bacillariophyceae 3. Teil: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. In: Ettl, H., Gerloff, J. & Heynig, H. (eds.) Süßwasserflora von Mitteleuropa. Band 2/3. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart New York.

Round, F.E., Crawford, R.M. & Mann, D.G. 1990. the diatoms. Biology & Morphology of the Genera. Cambridge University Press. Cambridge.

### **Rekylalger – Cryptophyta**

Huber-Pestalozzi, G. & Fott, B. 1968. Das Phytoplankton des Süßwassers. Cryptophyceae, Chloromonadophyceae, Dinophyceae. In Elster, H. und Ohle W. (eds) Die Binnengewässer 16:3. Stuttgart.

Klaveness, D. 1981. Rhodomonas lacustris (PASCHER & RUTTNER) JAVORNICKY (Cryptomonadida): Ultrastructure of the vegetative cell. - The Journal of Protozoology. Vol. 28 (1).

Popovsky, J. & Pfiester, L.A. 1990. Dinophyceae. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Band 6. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart 272 pp.

### **Furealger - Dinophyta**

Hickel, B. 1985. The population structure of Ceratium in a small eutrophic lake. - Verh. Internat. Verein. Limnol. 22: 2845-2849.

Hickel, B. 1988. Morphology and life cycle of Ceratium rhomvoides nov. sp. (Dinophyceae) from the lake Plussee (F.R.G.) - Hydrobiologia 161: 49-54.

Huber-Pestalozzi, G. & Fott, B. 1968. Das Phytoplankton des Süßwassers. Cryptophyceae, Chloromonadophyceae, Dinophyceae. In Elster, H. und Ohle W. (eds) Die

Binnengewässer 16:3. Stuttgart.

Lewis, J.M. & J.D. Dodge 2011. Phylum Pyrrophyta (Dinoflagellates). - In: John, D.M., Whitton, B.A. & Brook, A.J. (eds.) The Freshwater Algal Flora of the British Isles. Cambridge University Press.

Nygaard, G. 1949. Hydrobiological studies on some Danish ponds and lakes. Part II: The quotient hypothesis and some new or little known phytoplankton organisms. - Det Kgl. Danske Vidensk. Selsk. Biol. Skr., Bind VII, Nr. 1. Munksgaard. København.

Pollinger, U. & Hickel, B. 1991. Dinoflagellate associations in a subtropical lake (Lake Kinneret, Israel). - Arch. Hydrobiol. 120 (3): 267-285.

Popovsky, J. & Pfiester, L.A. 1990. Dinophyceae. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Band 6. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart 272 pp.

### **Gulalger – Chrysophyta**

Asmund, B. & Kristiansen, J. 1986. The genus Mallomonas (Chrysophyceae). - Opera Botanica 85: 1-128.

Bourelly, P. 1957. Recherches sur les Chrysophycées. - Rev. algol., Mém. Hors. Sér. 1: 1-142.

Bourelly, P. 1968. Les algues d'eau douce. 2. Les algues jaunes et brunes. Paris, 438 pp.

Huber-Pestalozzi, G. 1941. Das Phytoplankton des Süßwassers. Chrysophyceen, farblose flagellaten, Heterokonten. In: Thienemann, A. (ed.): Die Binnengewässer 16:2(1) 247 pp. Stuttgart.

Kristiansen, J. 1991. A checklist of Danish Freshwater Chrysophytes. Copenhagen. 54 pp.

Kristiansen, J. & Preisig, H.R. 2007. Chrysophyte and Haptophyte Algae. Part 2: Synurophyceae. - In: Büdel, B., Gaertner, G., Krienitz, L. Preisig, H.R. & Schargerl (Eds.) Süßwasserflora von Mitteleuropa, Freshwater Flora of Central Europe 1.2. Spektrum Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Kristiansen, J. 2011. Phylum Chrysophyta (Golden Algae). - In: John, D.M., Whitton, B.A. & Brook, A.J. (eds.) The Freshwater Algal Flora of the British Isles. Cambridge University Press.

Nygaard, G: 1949. Hydrological studies in some Danish ponds and lakes. II. Kongl. danske vidensk. Biol. Skr. 7(1): 1-293.

Siver, P. 1991. The biology of Mallomonas. Morphology, taxonomy and ecology. Developments in Hydrobiology 63: 1-230.

Skuja, H. 1948. Taksonomie des Phytoplanktons einiger Seen in Uppland, Schweden. - *Symb bot. upsal.* 9(3):1-399.

Skuja, H. 1956. Taksonomische und biologische Studien über das Phytoplankton schwedischer Binnengewässer. - *Nova acta R. Soc.Sci. upsal. Ser.4.* 18(3): 1-404.

Skuja, H. 1964. Grundzüge der Algenflora und Algenvegetation der Fjeldgegeden um Abisko in Schwedisch-Lappland. - *Nova acta R. Soc.Sci. upsal. Ser.4.* 18(3): 1-465.

Starmach, K. 1985. Chrysophyceae und Haptophyceae. - In: Ettl, H., Gerloff, J., Heynig, H. & Mollenhauer, D. (eds.) *Susswasserflora von Mitteleuropa* 1.1. Gustv Fischer Verlag. Stuttgart, New York.

Takahashi, E. 1978. Electronmicroscopical studies of the Synuraceae (Chrysophyceae) in Japan. *Taksonomy and Ecology.* Tokyo University Press. 194 pp.

### **Øjealger - Euglenophyta**

Huber-Pestalozzi, G. 1955. Das Phytoplankton des Süßwassers. Euglenophyceen. In: Thienemann, A. (ed.): *Die Binnengewässer* 16:4. Stuttgart. 606 pp.

Wolowski, K. & F. Hindak 2005. *Atlas of Euglenophytes.* - VEDA Publishing House of the Slovak Academy of Sciences.

Wolowski, K. 2011. Phylum Euglenophyta (Euglenophytes). - In: John, D.M., Whitton, B.A. & Brook, A.J. (eds.) *The Freshwater Algal Flora of the British Isles.* Cambridge University Press.

### **Slimalger – Raphidophyta**

Pentecost, A. 2011. Phylum Raphidophyta. - In: John, D.M., Whitton, B.A. & Brook, A.J. (eds.). *The Freshwater Algal Flora of the British Isles.* Cambridge University Press.

### **Stikalger – Haptophyta, Prymnesiophyta**

Kristiansen, J. & Preisig, H.R. 2007. Chrysophyte and Haptophyte Algae. Part 2: Synurophyceae. - In: Büdel, B., Gaertner, G., Krienitz, L. Preisig, H.R. & Schargerl (Eds.) *Süßwasserflora von Mitteleuropa, Freshwater Flora of Central Europe* 1.2. Spektrum Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Larsen, J. & Nguyen (eds.) 2004. Potentially toxic microalgae of Vietnamese waters. - *Opera Botanica* 140-2004. Grafisk Datacenter. Copenhagen.

Preisig, H.R. 2011. Phylum Haptophyta (Prymnesiophyta). - In: John, D.M., Whitton, B.A. & Brook, A.J. (eds.) *The Freshwater Algal Flora of the British Isles.* Cambridge University Press.

Starmach, K. 1985. Chrysophyceae und Haptophyceae. - In: Ettl, H., Gerloff, J., Heynig, H. & Mollenhauer, D. (eds.) Süsswasserflora von Mitteleuropa 1.1. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart, New York.

### **Eustigmatophyta**

John, D.M. 2011. Phylum Eustigmatophyta. In: John, D.M., Whitton, B.A. & Brook, A.J. (eds.) The Freshwater Algal Flora of the British Isles. Cambridge University Press.

Smith, G.M. 1950. The Fresh-water Algae of the United States. McGraw-Hill Book Company, Inc. New York, Toronto, London.

### **Generelle**

Christensen, T. 1980-1994. Algae. A taksonomic survey. Fasc. 1-2. AiO Tryk/Print as, Odense.

Graham, L.E., Graham, J.M. & L.W. Wilcox 2009. Algae. - Benjamin Cummings. San Francisco ect.

Guiry, M.D. in Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2012. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 10 May 2012.

Nygaard. G. & Kristiansen, J. 2001. Dansk planteplankton (3. udgave). Gyldendal.

Olrik, K. 1997. Danmarks planteplankton. Gads Forlag.

## Bilag 6.2 Ultralydsbehandling af algekolonier

Ved anvendelse af ultralyd er det nødvendigt at prøve sig frem for at finde den rette behandlingstid. Normalt er ca. 1 minut passende, men visse kolonier som fx kolonier af *Microcystis wesenbergii* er vanskelige at slå i stykker og kan kræve længere tid. Samtidigt er det vigtigt ikke at give ultralydsbehandling for længe, idet de enkelte celler derved kan slås i stykker. En mere indgående beskrivelse af ultralydsmetodikken findes i Cronberg (1982).

Der kan forekomme prøver, hvor der findes både solitære og kolonidannende individer indenfor samme art. Efter ultralydsbehandling kan de oprindeligt solitære individer og de individer, som stammer fra kolonierne ikke adskilles. Her må man tælle de solitære før ultralydsbehandlingen (samtidig med GALD måling), derefter ultralydsbehandle, foretage opmålinger af individer, tælle alle individer og derefter fratække antallet af de oprindeligt solitære individer.

I samme prøve kan der findes arter, som er svære/umulige at adskille fra hinanden efter ultralydsbehandling. Hvis en art skønnes at udgøre mere end 90% af den samlede biomasse, henføres hele biomassen til denne.

Hvis der ikke kun er en dominerende art, indeles arterne i grupper efter størrelse, der så kan omfatte 2-3 arter. Dette angives fx som *Microcystis botrys*/*M. viridis*/*M. wesenbergii*.

Det bør altid afvejes, om en tælling og opmåling med eller uden ultralydsbehandling giver det sikreste resultat.

Ved tælling og opmåling er det en god idé at bruge et forholdsvis finmasket kvadratnet i stedet for traditionelt måleokular. Et kvadratnet med kendt størrelse af ruderne, der dækker hele synsfeltet i okularet, gør såvel tællinger som målinger nemmere og sikrere.



## Bilag 6.3 Udregning af algekoncentration

Et regneeksempel (Olrik, 1991):

1. Kammerbund areal:  $530,93 \text{ mm}^2$   
Diagonal areal v.  $100\times = 26,77 \text{ mm}^2$   
- - v.  $320\times = 8,32 \text{ mm}^2$   
- - v.  $400\times = 6,63 \text{ mm}^2$

2. Omsætningsfaktor fra diagonal til bund  
v.  $100\times = 530,93/26,77 = 19,38\times$   
v.  $320\times = 530,93/8,32 = 63,8\times$   
v.  $400\times = 530,93/6,63 = 80,1\times$

3. Omsætningsfaktor fra tælleletal til antal pr. ml ved tælling af 1 diagonal i 2,5 ml kammer:  
v.  $100\times = \text{tælleletal} \times 19,83/2,5 = \text{antal/ml}$   
v.  $320\times = \text{tælleletal} \times 63,8/2,5 = \text{antal/ml}$   
v.  $400\times = \text{tælleletal} \times 80,1/2,5 = \text{antal/ml}$

Hvis der tælles flere diagonaler, divideres yderligere med antal tællediagonaler

## Bilag 6.4a Volumenberegning af planteplankton

Følgende volumenformer anvendes i danske undersøgelser. I STOQ er der angivet en af disse for hver art (i nogle tilfælde kan man selv vælge en passende form):

Cylinder  
 Cylinder m. elliptisk tværsnit  
 Defineres  
 Elliptisk kegle  
 Halv kegle + afskåret rotationsellipsoide m. elliptisk tværsnit  
 Kegle  
 Kegle + 1/2 kugle  
 Kugle  
 Kugle + n cylindere  
 Kugleskal  
 Parallelepiped  
 Rhodomonas specialformel  
 Rotationsellipsoide  
 Rotationsellipsoide m. elliptisk tværsnit  
 Skrueform (n\*cirkelformet cylinder)  
 Spindelform  
 Staurastrum formel (to kegler + n cylindre)  
 Tetraeder  
 To halve kegler med forskellig længde  
 To kegler med forskellig længde  
 Trapezoid  
 Tresidet prisme

For *Ceratium* arter anvendes der tværfurrelationer, som fremgår af STOQ.

### **Boks 14.1 Beregning af standard error ved antal og volumen (Efter Orlík, 1991)**

Standard error =  $S.e._{95}$ , er 95 % konfidensgrænserne og udregnes således:

$S.e._{95} = s/\sqrt{n} \times 1,96$ , hvor  $s$  = standardafvigelse og  $n$  = antal målinger.

$S.e._{95}$  volumen: cylinder =  $\sqrt{(S.e._{95} l / l)^2 + 2 \times (S.e._{95} d / dl)^2} \times 100 = S.e._{95}$

i procent af volumen. Hvis der i volumenformlen indgår  $dl^3$ , skal  $S.e._d$  ganges ind 3 gange. Hvis der i volumenformlen indgår  $1 + dl^2$ , skal  $S.e._l$  ganges ind én gang og  $S.e._d$  ind 2 gange i formlen, osv.



**Boks 14.2 Volumenberegninger, eksempler (fra Olrik, 1991):**

*Aphanizomenon flos-aquae*

Tælleenhed:	tråd
Volumenformel cylinder	$\pi/4 (dl)^2 \times l$
Diameter (dl) $\mu\text{m}$	4,1 $\mu\text{m}$
Standardafvigelse $\mu\text{m}$	0,4 $\mu\text{m}$
Længde (l) $\mu\text{m}$	80 $\mu\text{m}$
Standardafvigelse $\mu\text{m}$	59 $\mu\text{m}$
Volumen	1060 $\mu\text{m}^3$
Standard error i % af volumen	38

*Microcystis aeruginosa*

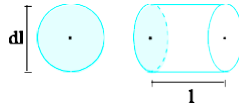
Enhed talt:	dele af koloni
Volumenformel kugle x 3/4 (reduktion for gelé ansættes til en faktor < 1, her x 3/4)	$\pi/6 \times (dl)^3 \times 3/4$
Diameter (dl) $\mu\text{m}$	45 $\mu\text{m}$
Standardafvigelse	13 $\mu\text{m}$
Volumen	35.100 $\mu\text{m}^3$
Standard error i % af volumen	25

## Bilag 6.4b Formler for beregning af volumen

Modificeret efter Olrik, 1991

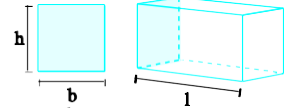
### Cylinder

Volumen:  $\pi/4 \cdot dl^2 \cdot l$



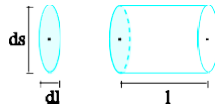
### Parallelepiped

Volumen:  $l \cdot b \cdot h$



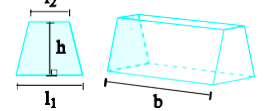
### Cylinder med elliptisk tværsnit

Volumen:  $\pi/4 \cdot ds \cdot dl \cdot l$



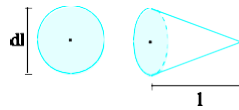
### Trapezoid

Volumen:  $1/2 \cdot b \cdot h \cdot (l_1 + l_2)$



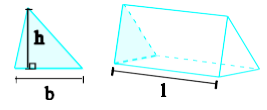
### Kegle

Volumen:  $\pi/12 \cdot dl^2 \cdot l$



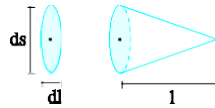
### Tresidet prisme

Volumen:  $1/2 \cdot l \cdot b \cdot h$



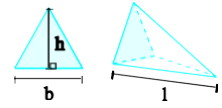
### Elliptisk kegle

Volumen:  $\pi/12 \cdot ds \cdot dl \cdot l$



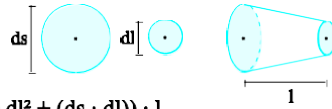
### Tetraeder (pyramide med trekantet formet basis)

Volumen:  $1/6 \cdot l \cdot b \cdot h$



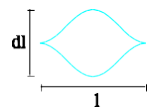
### Keglestub

Volumen:  $\pi/12 \cdot (ds^2 + dl^2 + (ds \cdot dl)) \cdot l$



### Spindelform

Volumen:  $\pi \cdot 2/15 \cdot dl^2 \cdot l$



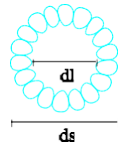
### Kugle

Volumen:  $\pi/6 \cdot dl^3$



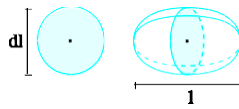
### Kugleskal

Volumen:  $\pi/6 \cdot (ds^3 - dl^3)$



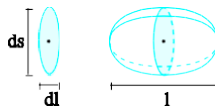
### Rotationsellipsoide

Volumen:  $\pi/6 \cdot dl^2 \cdot l$



### Rotationsellipsoide med elliptisk tværsnit

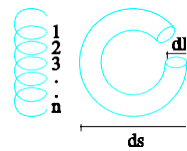
Volumen:  $\pi/6 \cdot l \cdot ds \cdot dl$



### Skruformer (cylinder m. cirkelformet omkreds)

$n$  = antal skrue i tråd

Volumen:  $n \cdot (\pi/4 \cdot dl^2) \cdot (\pi \cdot ds)$





## **Bilag 6.5 Artsbestemmelse af thecate furealger ved farvning med Calcofluor**

Artsbestemmelse af en række thecate furealger kan være vanskelig i sedimentationskamre. Disse organismer kan ofte identificeres i netprøver, hvor cellernes celluloseplader farves med Calcofluor (Olrik m.fl., 1998).

Calcofluor produceres bl.a. af Sigma som 'fluorescent brightener 28' med reference til Calcofluor White M2R. En opløsning til farvning laves ved opløsning af 10-100 µg Calcofluor White M2R pr. ml destilleret H<sub>2</sub>O. Denne opløsning kan typisk holde sig i 7-14 dage (ved stuetemperatur). Når opløsningen bliver uklar, skal der laves en ny. For at undgå udfældninger af Calcofluor i præparater, skal pH være 7, dvs. at en netprøve konserveret i sur Lugol bør neutraliseres inden undersøgelse med Calcofluor.

I praksis vil man ofte kunne få et godt resultat ved at placere en dråbe netprøve på et objektglas og dække den med et dækglas, inden der i den ene side af dækglasset tilsættes en dråbe Calcofluor-opløsning og i den anden en dråbe NaOH.

Præparatet undersøges i epifluorescensmikroskop med UV-lys (355-425 nm), hvor cellulose vil fluorescere blå-hvidt.

Såfremt cellerne i netprøven er meget kraftigt farvede, kan de evt. inden undersøgelsen bleges ved tilsætning af små mængder af natriumthiosulfat (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> · 5H<sub>2</sub>O).

## Bilag 6.6 Liste over planteplanktonarter, der i planktonindekset figurerer som indikatorarter

For yderligere oplysninger – se Søndergaard m.fl. 2013. *Vær opmærksom på, at taksonomien ændrer sig og at navnene kan ændre sig i forhold til navnene i nedenstående tabel.* Derfor er det meget vigtigt, at holde sig opdateret ang. navnene, således at man ikke overser nogen af indikatorarterne i en given prøve. OBS! *M. akrokomos*, *Ochromonas sp.*, *Uroglena sp.*, *Chromulina sp.*, og *Apedinella/Pseudopedinella* er fejlagtigt opført som furealger; de tilhører gruppen af gulalger.

### Tabel 2.1.3 fra Søndergaard m.fl., 2013.

Tabel 2.1.3. Arter/slægter af fytoplankton, som primært findes i henholdsvis de mest næringsfattige og næringsrige danske søer. Listen er lavet på baggrund af deres forekomst i forhold til indhold af totalfosfor og klorofyl *a*. Kun arter, som er observeret mindst 100 gange (datoer og søer), er taget med. Arter/slægter fra næringsfattige søer er fastsat ud fra arter, som er fundet ved en klorofyl *a* median under 30 µg/l (sommergenemsnit) og en totalfosformedian under 50 µg P/l, mens arter/slægter fra næringsrige søer, hvor den nedre 25 % fraktil af klorofyl *a* er større end 30 µg/l, og hvor den nedre 25% fraktil af totalfosfor er over 0,1 mg P/l.

Algeklasse	Mest næringsfattige danske søer	Mest næringsrige danske søer
Blågrønalger	<i>Gomphosphaeria lacustris</i> <i>G. littoralis</i> <i>Synechococcus elongatus</i>	<i>Woronichinia sp.</i> <i>Merismopedia tenuissima</i> <i>M. warmingiana</i> <i>Microcystis incerta</i> <i>M. viridis</i> <i>Cyanonephron styloides</i> <i>Anabaenopsis sp.</i> <i>A. elenkinii</i> <i>Lyngbya contorta</i> <i>Oscillatoria limnetica v. acicularis</i> <i>O. plantonica</i>
Rekylalger	<i>Radiocystis geminata</i>	
Gulalger	<i>Dinobryon divergens</i> <i>D. bavaricum</i> <i>D. cylindricum</i> <i>D. sociale</i>	
Furealger	<i>Gymnodinium sp.</i> <i>G. uberrimum</i> <i>Peridinium cinctum</i> , <i>P. inconspicuum</i> , <i>P. volzii</i> , <i>P. willei</i> <i>P. umbonatum-gruppen</i> <i>Mallomonas akrokomos</i> <i>Ochromonas sp.</i> <i>Uroglena sp.</i> <i>Chromulina sp.</i> <i>Apedinella/Pseudopedinella sp</i>	
Kiselalger	<i>Synedra acus v. angustissima</i>	<i>Synedra berlinensis</i>
Øjealger		<i>Phacus sp.</i>
Grønalger	<i>Pseudosphaerocystis lacustris</i> <i>Ankyra lanceolata</i> <i>Botryococcus sp.</i> <i>Botryococcus braunii</i> <i>Eutetramorus fottii</i> <i>Spaerocystis schroeterii</i> <i>Stichococcus sp.</i> <i>Mougeotia sp.</i> <i>Oodogonium sp.</i>	<i>Actinastrum hantzchii</i> <i>Coelastrum astroideum</i> <i>Crucigenia tetrapedia</i> <i>Monoraphidium sp.</i> <i>Pediastrum sp.</i> <i>Scenedesmus spp, desmodesmus-gruppen</i> <i>S. spp, acutodesmus-gruppen</i> <i>S. acuminatus</i> <i>S. acuminatus/acutus</i> <i>S. opoliensis</i> <i>S. quadriquadra</i> <i>S. dimorphus</i> <i>Tetrastrum staurogeniaeforme</i> <i>Planktonema lauterbornii</i> <i>Closterium limneticum</i>

## Bilag 6.7 Oversigt over algeklasser fundet i danske søer.

I parentes er nævnt de latinske rækkenavne iflg. Algaebase <http://www.algaebase.org> januar 2017. <sup>1</sup>De nævnte klasser under hhv. gulgrøn-alger og gulalger findes nu i samme række (*Ochrophyta*). Her er klasserne delt op jfr. den "traditionelle" opdeling, som er anvendt indtil nu i forbindelse med overvågningen og udvikling af planteplanktonindeks m.m.

<b>Gruppe</b>	<b>Klasse</b>
Blågrøn-alger (Cyanobacteria)	<i>Cyanophyceae</i>
Gulgrøn-alger ( <i>Ochrophyta</i> <sup>1</sup> )	<i>Eustigmatophyceae</i> <i>Raphidophyceae</i> <i>Xanthophyceae</i>
Grøn-alger ( <i>Charophyta</i> , <i>Chlorophyta</i> )	<i>Charophyceae</i> <i>Chlorodendrophyceae</i> <i>Chlorophyceae</i> <i>Conjugatophyceae</i> <i>Klebsormidiophyceae</i> <i>Mamiellophyceae</i> <i>Mesostigmatophyceae</i> <i>Nephrophyceae</i> <i>Pedinophyceae</i> <i>Prasinophyceae</i> <i>Trebouxiophyceae</i> <i>Ulvophyceae</i> <i>Zygnematophyceae</i>
Kiselalger ( <i>Bacillariophyta</i> )	<i>Bacillariophyceae</i> <i>Fragilariophyceae</i> <i>Coscinodiscophyceae</i>
Rekylalger ( <i>Cryptophyta</i> )	<i>Cryptophyceae</i>
Furealger (Miozoa, superklasse: <i>Dinoflagellata</i> )	<i>Dinophyceae</i>
Gulalger ( <i>Ochrophyta</i> <sup>1</sup> )	<i>Bicosoecophyceae</i> <i>Chrysophyceae</i> <i>Dictyochophyceae</i> <i>Phaeothamniophyceae</i> <i>Synurophyceae</i>
Øjealger ( <i>Euglenophyta</i> )	<i>Euglenophyceae</i>
Stilkalger ( <i>Haptophyta</i> )	<i>Coccolithophyceae</i> <i>Prymnesiophyceae</i>



## 7 Oversigt over versionsændringer

Version	Dato	Emne:	Ændring:
1	09.06.2011		Ingen
2	17.03.2017	Generelt	Layout er ændret – tekst indsat i standardskabelon
			"DMU" ændret til "DCE" eller Fagdatacenter for ferskvand, Institut for Bioscience
			Bilagsnummerering ændret
		Udstyr	Det er tilføjet, at lysmikroskopet skal være med fasekontrast
			Der er ændret i størrelserne af tællekamrene
		Oprettelse af nye arter	Kodelistebetegnelse er ændret fra STANDAT til Stancode
		Opsætning af prøve	Antal af det anbefalede antal gange prøven vendes før sedimentation ændret fra 10 til 20-30
			Det er tilføjet, at det er på kamre med løs overdel, der skal smøres med vaseline
			Det er præciseret, at sedimentationstiderne i tabel 14.3 gælder for ferskvandsprøver
			Det er tilføjet, at for prøver fra næringsfattige og lavalkaline søer, skal man bruge 50 ml kammer
		Tælleprocedure og biomasseberegning	Tabel 14.1 og tabel 14.2 er revideret
			Der er i afsnit 2.3.2 og bilag 6.2 tilføjet yderligere beskrivelser af fremgangsmåden ved ultralydsbehandling af kolonidannende blågrønalger,
			Beskrivelsen af, hvilke arter, der anses som kvalitativt vigtige er udvidet.
			Det er understreget, at kvalitativt vigtige arter altid skal opgøres, uanset tælleantal (dog skal det være >10 ind).
			Det er understreget, at store arter (>20 µm) altid skal opgøres.
Anbefalet forstørrelse til tælling af plankton 2-20 µm ændret fra 100-			





			400x til 250-400x
			Der er givet tips til opgørelsen af alger <math><2\mu\text{m}</math>, som skal foregå ved høj forstørrelse
			Tips om at ultralydsbehandle ved høj forekomst af detritus og sammenklumpede celler
			Det er specificeret, at det er en repræsentativ delprøve af netprøven, der skal undersøges i niveau 1 oparbejdningen.
			Tips om at fragmentere trådformede kolonier vha ultralydsbehandling for at mindske usikkerheden på målingerne.
			Det er beskrevet, at man ved måling af enkeltceller i koloni skal vælge celler fra forskellige kolonier
		Vedligeholdelse af instrumenter	Anvisninger er tilføjet.
		Litteraturliste	Liste over bestemmelseslitteratur er opdateret
		Volumenberegning	Bilag 6.4a er ændret. Regneeksempel med <i>Ceratium</i> er fjernet
		Volumenberegning	Bilag 6.4b er udskiftet
		Planteplanktonindeks	Bilag 6.4c er fjernet. Der henvises i teksten til STOQ.
			Bilag med de arter, der figurerer som indikatorarter i Søndergaard m.fl. er indsat
		Taksonomi	Der er tilføjet et bilag (6.7) med oversigt over de klasser, der er fundet i danske søer og deres tilhørsforhold til de traditionelle grupper, der er anvendt i overvågningen i Danmark.