



Titel: Mesozooplankton			
Dokumenttype: Teknisk anvisning	TA nr.: M11	Version: 1	Oprettet: 19.01.2016
Forfattere: Hans H. Jakobsen og Eva Friis Møller	Gyldig fra: 19.01.2016		
	Sider: 14		
	Sidst ændret:		
TA henvisninger	M01 – M09		

Indhold

1	Indledning	1
2	Metode	2
2.1	Tid, sted og periode.....	2
2.2	Udstyr	2
2.2.1	Udstyr til brug ved indsamling i felten	2
2.2.2	Udstyr til brug i laboratorie	3
2.3	Procedure.....	4
2.3.1	Indsamling.....	4
2.3.2	Konservering af prøver	4
2.3.3	Oparbejdning af prøver.....	5
2.4	Vedligehold af instrumenter.....	6
3	Databehandling	7
3.1	Tællestatistik	7
3.2	Data og koder.....	8
4	Kvalitetssikring	10
4.1	Kvalitetssikring af data og dataaflevering	10
5	Referencer	12
6	Bilag	13
6.1	Kemikalier.....	13
7	Oversigt over versionsændringer	14

1 Indledning

Denne tekniske anvisning (TA) beskriver procedurer for indsamling af mesozooplankton ved hjælp af planktonnet eller planktonpumpe. Ligeledes beskriver TA'en den efterfølgende konservering og oparbejdning af prøverne, herunder estimering af biomasse.

Mesozooplankton defineres som zooplankton i størrelsesintervallet 0,2-2 mm. Dog er de mindste hjuldyr og de tidligste udviklingsstadier af vandlopperne (nauplier) mindre end 0,2 mm.

Mesozooplankton omfatter flercellede organismer, som enten tilbringer hele deres liv i de frie vandmasser (holoplankton: vandlopper, dafnier og hjuldyr o.a.) eller kun dele af livet (meroplankton: larvestadier af muslinger, snegle, børsteorm, storkrebs, pighuder o.a.).

2 Metode

Undersøgelserne af mesozooplankton omfatter bestemmelse af:

- art, slægt og familie samt for vandlopper også bestemmelse af stadie

For hver enkelt art/gruppe indgår en kvantitativ opgørelse af:

- antal
- størrelse
- kulstofbiomasse
- vådvægtbestemmelse

2.1 Tid, sted og periode

Mesozooplanktonprøverne kan udtages hele året i dagtimerne, dvs. i tidsrummet fra 1 time efter solopgang til 1 time inden solnedgang.

2.2 Udstyr

2.2.1 Udstyr til brug ved indsamling i felten

Der skal vælges mellem følgende prøvetagningsudstyr (se også *TA M01 Indsamling af vand- og planktonprøver i felten*):

- Planktonpumpe med påmonteret 60 μm net
- WP-2 planktonet med maskevidde på 60 μm

Øvrigt udstyr omfatter:

- Sprøjteflaske med havvand til at skylle net og cod-end med
- Mørkfarvede prøveglas (for at beskytte mod lys) af passende størrelse til opbevaring og fiksering af mesozooplanktonprøver (*figur 1*). Bemærk at beholdere af plastik kan reagere med neutral Lugol-opløsning



Figur 1. 500 ml prøveglas egnet til opbevaring af mesozooplankton fikseret i neutral Lugol-opløsning.

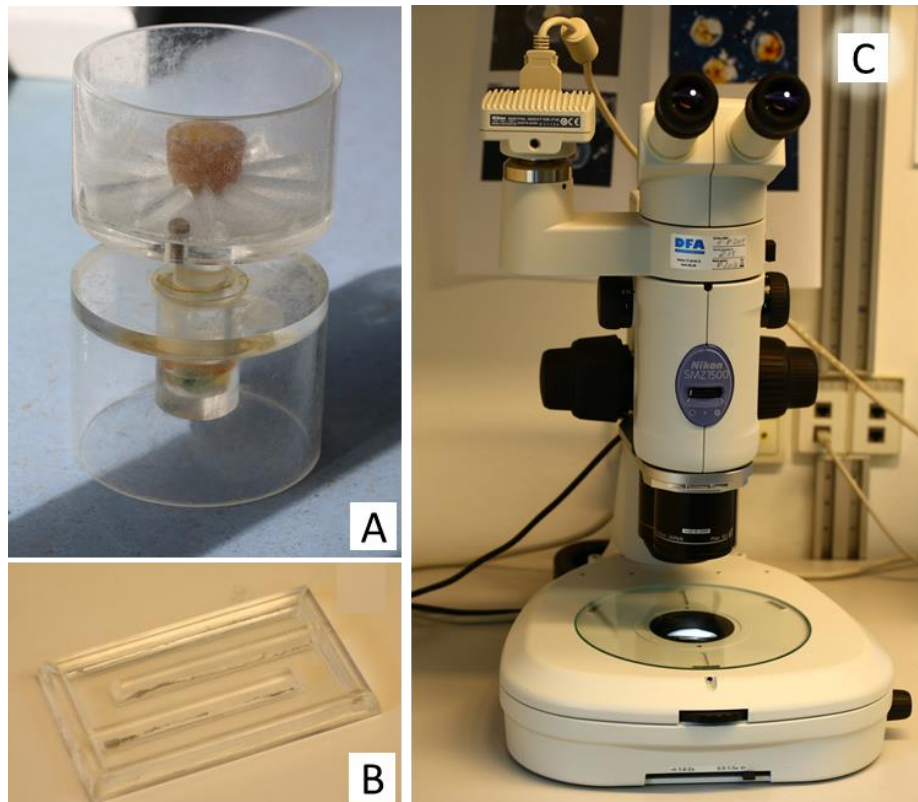
- Flaske og dispenser med indstilleligt volumen til dosering af neutral Lugol-opløsning
- Éngangshandsker til arbejde med neutral Lugol-opløsning.

Kemikalier (se afsnit 6.1):

- Neutral Lugol-opløsning

2.2.2 Udstyr til brug i laboratorie

- Zooplankton-splitter, fx en karrusel-splitter (*figur 2A*)
- Tællekammer (*figur 2B*)
- Dissektionsmikroskop (maksimal forstørrelse >125X; *figur 2C*)
- Kalibreret måleokular eller digitalt måleudstyr (fx digitalt mikroskop-kamera med tilhørende software)
- Flaske og dispenser med indstilleligt volumen til dosering af neutral Lugol-opløsning
- Tælleur ("hand tally") til tælling af organismer
- Plastic Pasteur-pipetter
- Tælleskema til notering af data
- Bestemmelseslitteratur



Figur 2. A: Zooplankton "splitter" af Kott typen (Kott 1953), til opdeling af zooplanktonprøver i mindre delprøver. B: Tællekammer til optælling af mesozooplankton. C: Dissektionsmikroskop med digitalt kamera til analyse af mesozooplankton.

Kemikalier (se afsnit 6.1 Kemikalier):

- Neutral Lugol-opløsning
- 0,1 M natriumthiosulfatopløsning ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

2.3 Procedure

2.3.1 Indsamling

På lav vanddybde (< 25 m) indsamles mesozooplankton fra bunden til overfladen.

På større vanddybde (> 25 m) indsamles mesozooplankton fra 25 m's dybde og op til overfladen.

På stationer, hvor der tidligere er indsamlet vandprøver fra andet dybdeinterval, forsættes denne procedure.

Prøvetagningen foretages efter retningslinjerne fastlagt i TA M01 *Indsamling af vand- og planktonprøver i felten*. Vær særlig opmærksom på at aflæse flowmeteret på WP-2 nettet før og efter prøvetagningen til beregning af det vandvolumen, der er passeret gennem nettet under prøvetagningen.

Hvis der er gopler i prøven, skal denne tages om. Hvis det ikke er muligt, eller det ikke er muligt at undgå gopler, skal goplerne fjernes og prøven renses manuelt, før den fikseres (se også TA M01 *Indsamling af vand- og planktonprøver i felten*).

2.3.2 Konservering af prøver

Mesozooplankton overføres kvantitativt fra zooplanktonpumpens net eller fra planktonnettet ved forsigtigt at tømme hele prøven i cod-enden over i et prøveglas. Prøven kan eventuelt koncentreres ved forsigtigt at filtrere cod-endens indhold gennem et 60 µm filter og derefter overføre prøven på filteret til prøveglasset. Brug havvand i en sprøjteflaske til forsigtigt at skylle prøven over i prøveglasset, så det sikres, at alt mesozooplankton i cod-end og net er overført.

Netprøverne konserveres i en neutral Lugol-opløsning til en slutkoncentration på ca. 2 % Lugol-opløsning (dvs. 2 ml neutral Lugol-opløsning pr. 100 ml mesozooplanktonprøve). Konserveringsmidlet doseres til prøveflasken med dispenser efter, at zooplanktonprøven er hældt i prøveglasset.

Éngangshandsker skal anvendes ved arbejde med neutral Lugol-opløsning.

Prøverne opbevares mørkt og koldt, dvs. ved 0-4 °C.

Prøverne skal være oparbejdet senest 3 måneder efter indsamlingen.

2.3.3 Oparbejdning af prøver

- Bland prøven grundigt ved at vende flasken roligt mindst 10 gange.
- Prøven deles derefter med en plankton-splitter (*figur 2A*). Opsplitning af mesozooplanktonprøven beror i høj grad på erfaring, da prøven vil indeholde et varierende antal dyr afhængig af årstiden og det filtre-rede volumen.
- Oparbejdning af mesozooplankton skal foregå under et dissektionsmikroskop (*figur 2C*), og delprøven skal optælles i et velegnet tællekammer (*figur 2B*).
- Prøveoparbejdningen må først afsluttes, når en hel delprøve er oparbejdet. Det er vigtigt, at der er optalt mindst 500 individer/taksonomiske enheder, og at disse er bestemt til lavest mulige taksonomiske enhed og inddelt i størrelsesklasserne angivet i Std00124.

I visse tilfælde er det ikke muligt at identificere mesozooplankton til artsniveau, og en taksonomisk enhed er derfor en organisme bestemt til lavest mulige taksonomiske niveau og kan fx inkludere art, slægt, familie samt stadie for vandlopper. Alle godkendte taksonomiske betegnelser fremgår af STANCODE-liste 1067. For vandlopper angives art, stadie, køn (for voksne individer), Std00124 kode anføres. For vandlopper (nauplier), æg, dafnier og muslingelarver angives størrelsen inden for de angivne intervaller i Std00124. *Tabel 1* viser en oversigt over bestemmelsesniveau samt hvilke metoder, der skal bruges til bestemmelse af biomasse og ved opmåling.

Tabel 1. Oversigt over bestemmelsesniveau og metode til bestemmelse af biomasse. Længde/volumen regression er indbygget i STOQ og omregnes til kulstof ved at multiplicere volumenet med 0,12 pg kulstof μm^{-3} (Hansen et al. 1997).

Mesozooplankton	Niveau for bestemmelse	Bestemmelse af biomasse	Opmåling
<u>Vandlopper</u>			
Nauplier	orden	størrelsesklasser	hele længde
Copepodit	slægt eller art	længde/volume	prosom
Voksen	slægt eller art	længde/volume	prosom
<u>Dafnier/Cladoceer</u>			
	slægt	størrelsesklasser	fra toppen af hovedskjoldet til den posteriore ende af kropsskjoldet
<u>Øvrige mesozooplankton</u>			
	orden, slægt eller art	dimension afhænger af art (se STOQ*)	Længde/ bredde af dimensioner iht. STOQ*

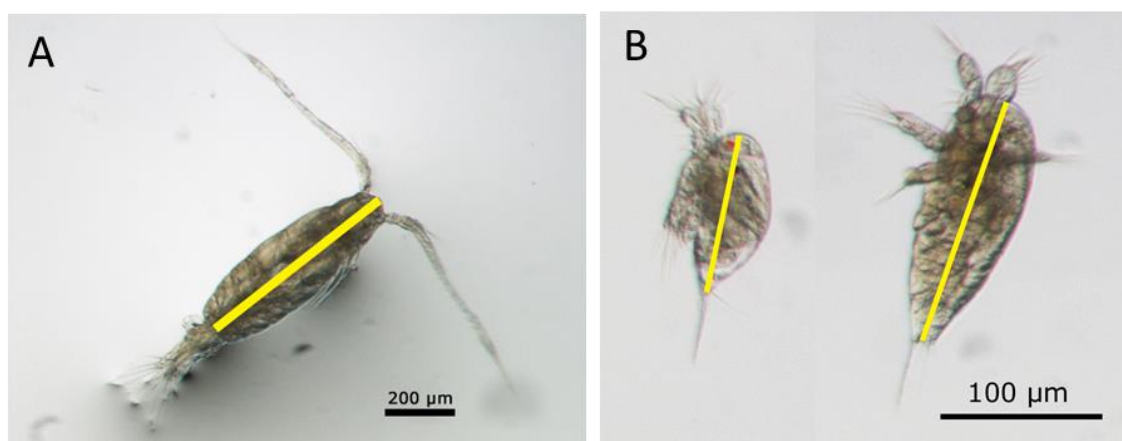
* STOQ Marin Plankton Version 305 (2010)

De dominerende mesozooplanktonarter vil typisk være vandlopper, men der kan optræde sæsonbetingede forekomster af meroplankton (især muslinge- og balanuslarver) samt cladoceer/dafnier.

Der skal opmåles 10 individer af hver taksonomisk enhed, som det er beskrevet i *STOQ Marin Plankton Version 3.05 (2010)* og en gennemsnitslængde beregnes.

Hos voksne vandlopper og copepoditer opmåles prosomens længde (se figur 3A), hos nauplier opmåles hele dyres længde (se figur 3B) og hos cladoceer/dafnier opmåles længden fra toppen af hovedskjoldet til den posteriore ende af kropsskjoldet.

Bemærk, at for visse dyr kan indfarvningen med neutral Lugol-opløsning blive så kraftig, at vigtige karakterer for bestemmelsen sløres. I sådanne tilfælde kan indfarvningen fjernes (oxideres) ved dråbevis tilsætning af 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -opløsning, indtil prøven er passende afbleget. Hvis prøven derefter skal gemmes, skal prøven igen fikseres med neutral Lugol-opløsning.



Figur 3. A: vandloppe hvor prosom er markeret med gult. B: nauplier hvor hele længden (markeret med gult) opmåles i stedet for prosom.

2.4 Vedligehold af instrumenter

- Tællekamre, planktonsplitter samt eventuelt anvendt filter og slanger (anvendt i laboratoriet) skal skylles i varmt ferskvand.
- Planktonsplitteren renses i lunkent vand eller demineraliseret vand.
- Dissektionsmikroskopet aftørres for spildt prøvemateriale for at undgå korrosion. Almindeligt vedligehold og justeringer foretages løbende efter fabrikantens anvisninger.
- Hvis digital længdemåling anvendes, skal der altid foretages en kalibrering over en kendt standard.

3 Databehandling

For en uddybning af databehandlingen henvises til *datateknisk anvisning DT03 Fytoplankton og zooplankton*.

3.1 Tællestatistik

For tællingerne gælder det, at tællingerne er Poisson-fordelt, hvilket betyder, at jo flere dyr, der tælles og bestemmes, jo større er præcisionen. Der kan på det optalte antal dyr beregnes øvre og nedre sikkerhedsgrænser, som er asymmetriske for lave tællinger (N). Ved et 95 % konfidensinterval beregnes disse grænser i absolutte tal som:

$$n_h = N + 2,42 + 1,96\sqrt{N+1,5}$$

$$n_l = N + 1,42 - 1,96\sqrt{N+0,5}$$

hvor N er antallet af talte dyr og n_h og n_l er hhv. øvre og nedre grænse for tællingen (Lund et al. 1958). Det vil sige, at ved et 95 % konfidensinterval ligger antallet af celler i intervallet:

$$N - n_l \leq N \leq N + n_h$$

For at udregne hvor mange individer, der skal tælles af hver art/slægt for at opnå en given omtrentlig/tilnærmet (symmetrisk) usikkerhed inden for et 95 % konfidensinterval, anvendes følgende formel:

$$\text{usikkerhed (\%)} = \pm \frac{200}{\sqrt{N}}$$

hvor N er antal talte dyr (se også *tabel 2*).

Tabel 2. Usikkerhedsgrænser ved udvalgte optællinger.

optalte fytoplankton celler	usikkerhed bestemt ved Poisson-fordeling				usikkerhed tilnærmet symmetrisk			
	absolutte usikkerheds- interval		relative usikkerheds- interval		absolutte usikkerheds- interval		relative usikkerheds- interval	
N	n_l	n_h	n_l	n_h				
4	1	- 11	-68%	- 175%	0	- 8		±100%
10	5	- 19	-49%	- 91%	4	- 16		±63%
25	17	- 38	-34%	- 50%	15	- 35		±40%
50	37	- 66	-25%	- 33%	36	- 64		±28%
75	59	- 95	-21%	- 26%	59	- 95		±23%
100	82	- 122	-18%	- 22%	80	- 120		±20%

3.2 Data og koder

Specifikationerne på stationsdata er beskrevet i *TA M01 Indsamling af vand- og planktonprøver i felten*.

Mesozooplanktondata, der skal indlæses i Overfladevandsdatabasen (ODA), omfatter:

Mesozooplankton, prøveoplysning

Replikatnummer	
Laboratorium	std00032
Prøvetype	std00034
Prøvevolumen i liter (fx 500)	
Navn på person der har analyseret prøven	
Navn på person der har taget prøven	
Netstørrelse i μm	
Prøvetagningsudstyr	std00024
Dybdeinterval (fx 0-50 m)	
Fikseringsmiddel	
Valideret af (initialer)	
Dato for sidste interkalibrering	
Ks-møder, Kvalitetssikringsmøder, som tælleren har deltaget i	
Startdato for udførelse af laboratoriarbejde	
Slutdato for udførelse af laboratoriarbejde (tælling)	
Bemærkning	

Mesozooplankton, antal og biomasse

Latinsk navn	
STANDAT-kode	std00135
Reference til bestemmelsesværk	
Bestemmelsesusikkerhed	std00141
Andel af prøven, der er optalt (fx 0,125 hvis 1/8 er talt)	
Koefficient, som antal talte skal ganges med	
Antal talte individer	
Antal målte individer	
Individ længde (μm individ ⁻¹)	
Stadie (for copepoder)	std00124
Individ C biomasse (μgC individ ⁻¹)	
Enhed for individ biomasse (std 00016, nr 178)	std00016
Formel benyttet til individ biomasseberegning	std00125

Såfremt der i prøverne findes nye arter, familier etc., eller anvendes en (ny) navngivning, som ikke fremgår af STANCODE-liste 1067, skal der rettes henvendelse om ny STANDAT-kode til:

STANDAT-sekretariatet
DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi
Aarhus Universitet
Vejlshøjvej 25
8600 Silkeborg

Anmodningen skal indeholde følgende oplysninger, idet nomenklaturen skal følge www.algaebase.org

- latinske navne (slægt, art)
 - er der tale om en artsgruppe, angives hvilke arter gruppen omfatter
 - eventuelt dansk navn
- author(er)
- bestemmelsesværk
- klasse
- geometrisk formel
- ernæringsbiologi (autotrof, heterotrof, mixotrof)

Efter tildeling af STANDAT-kodenummer, kan arten oprettes i STOQ ved henvendelse til Danmarks Miljøportal (se også *datateknisk anvisning DT03 Fytoplankton og zooplankton*).

4 Kvalitetssikring

En udførlig beskrivelse af kvalitetssikringen findes i *datateknisk anvisning DT03 Fytoplankton og zooplankton*.

4.1 Kvalitetssikring af data og dataaflevering

Kontrol af primære data omfatter tjek af værdier. Det er vigtigt, at alle oparbejdede parametre tjekkes, såsom antal talte individer og biomasseværdier. Værdier sammenholdes med tidligere værdier, og det undersøges, om de ligger inden for sædvanligt niveau.

Hvor der er udført samhørende prøveindsamling af eksempelvis kemi, fyto- og mesozooplankton, skal kontrollen også omfatte en sikring af, at datoer, prøvetagningsdybder mv. er samstemmende mellem sammenhørende prøver.

Kvaliteten af mesozooplanktonundersøgelserne sikres ved

- at metodeforskrifter overholdes
- kontrol af primærdata
- vurdering af validiteten af beregnede resultater sammenlignet med historiske data
- deltagelse i workshops og interkalibreringer.

Metodeforskrifterne (dvs. denne TA) overholdes bedst, hvis der udarbejdes en oversigt/instruks for, hvordan prøver skal indsamles og behandles i felten, idet mesozooplanktonprøverne oftest indsamles samtidig med andre prøver såsom klorofyl, kemi, fytoplankton osv. (se *TA M01 Indsamling af vand- og planktonprøver i felten*).

Der bør fra årets start udarbejdes en oversigt over prøvetagningsdatoer, prøvetyper og mærkning af prøver. Ved brug af konsulenter skal det sikres, at konsulenten får den nødvendige information. Beskrivelsen af hvornår og hvordan prøver og resultater udveksles, skal være entydig. Det kan være en fordel lokalt at udarbejde en følgeseddel til prøverne, hvor de oplysninger, der skal indberettes, fremgår. Det er bl.a. oplysninger om prøvetager, dybde, tidspunkt, udstyr.

Kontrol af primærdata omfatter en sikring af, at fx datoer og prøvetagningsdybder er i overensstemmelse med anden prøvetagning, der er foretaget samtidig. Det skal også kontrolleres, om individlængderne og opmålte dimensioner ligger inden for et realistisk/sædvanligt niveau i forhold til tidligere resultater.

De beregnede resultater skal ligeledes valideres i forhold til tidligere observationer. Når data er indtastet i STOQ, er der mulighed for at udtrække forskellige standardrapporter i form af tabeller og grafiske rapporter, der kan

bruges til at sammenligne indtastede data med historiske data for at vurdere, om de indtastede data placerer sig fornuftigt.

Deltagelse i workshops og interkalibreringer med jævne mellemrum skal sikre, at den nødvendige ekspertise opretholdes, og eventuelle taksonomiske eller metodiske ændringer bibringes eksperterne og implementeres i prøvetagningsprogrammet.

5 Referencer

Hansen, P.J., Bjørnsen, P.K. and Hansen, B.W. 1997. Zooplankton grazing and growth: scaling within the 2-2000 μm body range. - Limnology and Oceanography 42(4): 687-704.

Kott,P. 1953. Modified whirling apparatus for the subsampling of plankton. - Marine and Freshwater Research 4(2): 387-393.

Lund,J.W.G., Kipling,C. and Le Cren,E.D. 1958. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. - Hydrobiologia 11(2): 143-170.

STOQ Marin Plankton Version 3.05 (2010). Danmarks Miljøportal, Vejledninger om overfladevand og PULS.

<http://www.miljoportal.dk/Dokumenter%20alle/Brug%20af%20STOQ%20Marin%20Plankton%20Version%20305.pdf>

6 Bilag

6.1 Kemikalier

Neutral Lugol-opløsning:

- 200 ml destilleret vand
- 20 g kaliumiodid (KI)
- 10 g resublimeret iod (I_2)

Blandes i den beskrevne rækkefølge. Vær sikker på, at det forrige kemikalie er opløst, før det næste tilsættes. Opbevares i glasflaske med tætsluttende låg.

0.1 M natriumthiosulfat ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$) til eventuel blegning af zooplanktonprøve.

7 Oversigt over versionsændringer

Version	Dato	Emne:	Ændring: