



Titel: Fytobenthos i vandløb			
Dokumenttype: Teknisk anvisning	TA. nr.: V21	Version: 5	Oprettet: 23.4.2014
Forfattere: Peter Wiberg-Larsen, Liselotte Sander Johansson & Helena Kallestrup	Gyldig fra: 01.05.2014		
	Sider: 12		
	Sidst ændret: 02.09.2020		
TA henvisninger	V02, SV1		

Indhold

1 Indledning.....	2
2 Metode.....	3
2.1 Tid, sted og periode.....	3
2.2 Udstyr.....	3
2.3 Procedure.....	3
2.3.1 Indsamling fra naturlige substrater.....	3
2.3.2 Konservering, etikettering, opbevaring og forsendelse af prøver.....	5
2.4 Tjekliste.....	6
2.5 Særlige forholdsregler – faldgruber.....	7
3 Databehandling.....	8
3.1 Beregninger.....	8
3.2 Data og koder.....	8
4 Kvalitetssikring.....	9
4.1 Kvalitetssikring af metode.....	9
4.2 Kvalitetssikring af data og dataaflevering.....	9
4.3 Ekstern kontrol.....	9
5 Referencer.....	10
6 Bilag.....	11
6.1 Følgeskema til brug ved indsamling af prøver.....	11
6.2 Fremstilling af Lugols væske.....	11
7 Oversigt over versionsændringer.....	12

1 Indledning

Bundlevende alger (fyto-benthos) udgør en del af det biologiske kvalitetselement "makrofyter og bundvegetation" ("macrophytes and phytobenthos"), som ifølge Vandrammedirektivet forventes anvendt i vandløb.

Denne tekniske anvisning beskriver indsamling af fyto-benthosprøver - mere præcist gruppen af kiselalger (diatomeer) - i vandløb. Metoden bygger på erfaringer og metoder udviklet i andre EU-lande (Kelly et al. 2001, European Standard 2003, Kelly et al. 2008).

Metoden er designet til at beskrive den relative artssammensætning af kiselalger, som er til stede i de udtagne prøver. Herudfra beregnes indekssværdier efter "Dansk Vandløbs Kiselalge Indeks", som er baseret på de tilstedeværende algers eutrofieringsoptima. Oparbejdning af prøver samt beregningerne er ikke omtalt i nærværende tekniske anvisning. For beskrivelse af oparbejdning af prøver henvises til TA SV1 "Bentiske kiselalger – oparbejdning af prøver fra søer og vandløb".

2 Metode

2.1 Tid, sted og periode

Prøverne indsamles i perioden 1.-15. maj. I år, hvor løvspringet sker før 1. maj, udvides indsamlingsperioden til 15. april-15. maj.

Prøverne indsamles på den udpegede 100 m strækning (se V02), hvor der foretages undersøgelser af de øvrige biologiske og fysiske kvalitetselementer.

2.2 Udstyr

- Tandbørste ("hård")
- Plastikbakke
- Prøveflasker (i klart glas eller plastik (se afsnit 2.3.2)) med skruelåg, 500 ml + 100 ml
- Tragt
- Lugol (til fiksering af prøver)
- Kraftig saks (beskærersaks)
- Kraftig pincet til fastholdning af plantestængler
- Sprøjteflaske (til skylning)
- De-ioniseret vand
- Fortrykte selvklæbende etiketter
- Blyant/vandfast marker
- Kølekasser
- Køleelementer
- Waders

2.3 Procedure

På hver station indsamles kiselalger fra i prioriteret rækkefølge: (1) sten, (2) makrofyter. Algeprøverne konserveres og opbevares indtil senere bearbejdning (identifikation og optælling af de forekommende arter af kiselalger).

2.3.1 Indsamling fra naturlige substrater

Der indsamles én puljet prøve fra hver station. Som substrat vælges i prioriteret rækkefølge: (1) sten, (2) neddykkede dele af emergente makrofyter. Dvs. at hvis der forekommer sten på lokaliteten, indsamles der én puljet prøve herfra: Er det ikke muligt, indsamles der én puljet prøve fra makrofyter. Forekommer der hverken sten eller makrofyter, indsamles der ingen prøve.

Indsamling fra sten:

Indsaml mindst 5 sten (64-256 mm) så vidt muligt tilfældigt fra steder, hvor hovedstrømmen passerer, og hvor der er helt eller periodevis lys-åbent. Stenene bør indsamles i områder med forskellig dybde, men undgå at samle sten på større dybder end 0,5 m. Om muligt skal de valgte sten være nogenlunde jævnt fordelt over 100 m strækningen. Stenene skal have en tydeligt udviklet biofilm, men undgå sten med tydelig påvækst af trådalger, dække af silt, eller hvor algefilmen ser "død" ud. Fjern løstsiddende partikler ved at vaske sten kortvarigt i vandløbsvandet (bevæges blot lidt frem og tilbage i vandet).

Stenene håndteres en efter en. Placer stenen i en plastikbakke (figur 1). Fyld ca. 400 ml vandløbsvand i bakken. Derefter børstes oversiden af stenen kraftigt med en tandbørste (hård type). Børst kun de steder som er fri for trådalger og silt. Er det umuligt at undgå sten med påvækst af trådalger, fjernes disse alger, før mikroalgerne afbørstes. Under afbørstningen skal den flade der børstes være vanddækket (se figur 1). Proceduren fortsættes med de følgende 4 sten. Efter afbørstningen af de 5 sten, hældes vandet over i én prøveflaske (500 ml, klart glas evt. plastik med skruelåg (se afsnit 2.3.4)). Brug en tragt, når der hældes. Der indsamles således én – og kun én - samleprøve fra hver lokalitet.

Bakke og tragt renses og skylles **GRUNDIGT**, inden de bruges ved efterfølgende lokaliteter. Der **ANVENDES NY UBRUGT** tandbørste for hver station.

Figur 1. Afbørstning af sten i praksis.



Indsamling fra makrofyter:

Indsaml fra neddykkede dele af emergente planter. Anvend kun én art fra den pågældende lokalitet. Egnede emergente arter er: tagrør, enkelt/grenet pindsvineknop, høj sødgræs, manna-sødgræs, dunhammer. Planterne skal have en tydeligt udviklet biofilm, men undgå sådanne, som har tydelig påvækst af trådalger, eller som er dækket af silt/mudder/sand. Visne, faste, men ikke henrådende, planter må gerne benyttes.

Afskær (klip) mindst 5 stykker plantestængler så tæt ved bunden som muligt. Ser algelaget ud til at være tyndt, tages 10 stykker. Plantestyk-kerne indsamles så vidt muligt tilfældigt, og om muligt skal de indsamles nogenlunde jævnt fordelt over 100 m strækningen. Sørg for at indsamle fra planter fra vanddybder på 0,25-0,50 m's vanddybde og som vurderes har været dækket med vand over længere tid. For hver bortskares og kasseres først den del, som er oven for vandet. Afskær dernæst et ca. 10 cm langt stykke af den del, som er under vand. Dette overføres forsigtigt til plastikbakken med ca. 400 ml vand og rystes kraftigt for at frigøre kiselalgerne (brug enten vand fra vandløbet eller hvis det er meget "beskidt" medbragt deioniseret vand). Afbørst desuden alger med tandbørste. Når alle 5 stykker er afbørstet, hældes vandet forsigtigt over i én prøveflaske (500 ml, klart glas eller plastik med skruelåg (se afsnit 2.3.4)). Brug en tragt, når der hældes. Der indsamles således én – og kun én - samleprøve fra hver lokalitet.

Bakke, saks og tragt renses og skylles **GRUNDIGT**, inden de bruges ved efterfølgende lokaliteter. Der **ANVENDES NY UBRUGT** tandbørste for hver station.

2.3.2 Konservering, etikettering, opbevaring og forsendelse af prøver

I felten

Hver prøveflaske forsynes med etiket indeholdende følgende oplysninger:

Observationssted nr.	
Lokalt stations nr.	
Vandløbsnavn	
Lokalitetsnavn	
Substrattype	
Dato for indsamling af algeprøve	
Navn på indsamler	

Sørg for en sikker afmærkning: Brug blyant/vandfast marker, vandfast mærkat, og sørg for, at denne sidder godt fast. Sørg også for at afskylle og tørre flasken grundigt, inden etiketten påsættes.

Prøveflasken placeres mørkt og køligt (kølekaske med køleelementer) og hjemtages.

I laboratoriet

Indholdet ses efter for grove plantestykker og lignende. Disse pilles fra eller prøven hældes gennem en køkkensi (maskevidde ca. 0,5 mm) og over i en beholder, som kan lukkes med låg. Den stilles i køleskab til sedimentation i 1 døgn. Herefter fjernes den overskydende klare væske, uden at hvirvle det sedimenterede materiale op, som overføres til mindre glas- eller plastikflaske (100 ml). Se anvendelse af plastikflaske ved forsendelse nedenfor. Flaskens indhold fikseres med Lugol væske (se bilag 6.2), således at der opnås en lugolkoncentration på 2 % i den samlede, konserverede prøveflaske. Dog bør flasken kun fyldes til ca. 1 cm under skruegvindtet, så der undgås spild ved genåbning af prøven.

Den "nye" prøveflaske etiketteres som ovenfor angivet.

Udfyld følgeskema (bilag 6.1). Noter hvis der er særlige forhold af betydning ved prøvetagningen (hvis det har været nødvendigt at afvige fra metodebeskrivelsen, vanskelige prøvetagningsforhold med høj vandstand, okkerbelægninger, uklart vand eller lign.).

Prøveflaskerne opbevares mørkt og køligt (f.eks. i en kælder eller køleskab) for at undgå at Lugolen fordamper indtil senere bearbejdning.

Hvis prøverne skal sendes med pakkepost, skal der anvendes plastikflasker, lavet af polyetylen. Hvis de pågældende prøver opbevares mere end fire uger inden oparbejdning, skal de tilses jævnlige og evt. genfikseres. Ved længere tids opbevaring (mere end 6 mdr.) skal de under alle omstændigheder hældes på glasflasker.

2.4 Tjekliste

Vigtige punkter at iagttage i forbindelse med indsamling af prøverne i felten, samt efterfølgende behandling af de indsamlede prøver:

- Udpegning af stationer (på kontoret)
- Pakning af bil: Husk alt udstyr – jf. udstyrslisten
- Indsamling af naturlige substrater (1. sten ELLER 2. makrofytter)
- Afbørstning af alger og overførsel af algesuspension til prøveflaske
- Etikettering af prøveflaskerne
- Efter hjemkomst: placering af prøveflasker mørkt og køligt til sedimentation
- Dekantering af overskydende væske og omhældning til 100 ml flasker efter 1 døgn
- Fiksering og etikettering af prøveflasker
- Udfyldelse af følgeskema med oplysninger om indsamlede prøver (Se tabel øverst i afsnit 2.3.4).

2.5 Særlige forholdsregler – faldgruber

Vær omhyggelig under indsamling af naturlige substrater. Husk at skifte tandbørste mellem hver station. Husk desuden at rense bakke, saks og tragt grundigt, inden de anvendes ved næste station. Sørg for, at prøverne er tilstrækkeligt konserverede (undgå silt, trådalger m.v. af hensyn til tilstrækkelig konservering).

3 Databehandling

3.1 Beregninger

Ikke relevant.

3.2 Data og koder

Ikke relevant.

4 Kvalitetssikring

4.1 Kvalitetssikring af metode

Tjek om du nøje har fulgt metoden. Kontroller at oplysningerne på hhv. etiket og i følgeskema stemmer overens for hver enkelt station. Undgå at indsamle algeprøve, som må formodes at indeholde stort indhold af døde alger m.v. Skyl så vidt muligt sådant materiale af, inden der børstes.

4.2 Kvalitetssikring af data og dataaflevering

Ikke relevant.

4.3 Ekstern kontrol

Ikke relevant.

5 Referencer

- European Standard (2003) Water quality – Guidance standard for the routine sampling and pretreatment of benthic diatoms from rivers. EN 13946. European Committee for Standardization. Ref. No. EN 13946:2003E.
- Kelly, M.G., Adams, C., Graves, A.C., Jamieson, J., Krokowski, J., Lycett, E.B., Murray-Bligh, J., Pritchard, S. & Wilkins, C (2001). The Trophic Diatom Index: A User's Manual. Revised edition. Environment Agency, Research and Development, Technical Report E2/TR2.
- Kelly, M.G., Juggins, S., Bennion, H., Burgess, A., Yallop, M., Hingst, H., King, L., Jamieson, J., Guthrie, R. & Rippey, B. (2007) Use of Diatoms for Evaluating Ecological Status in UK Freshwaters. Environment Agency Science Report SCO301030.
- Johansson, L.S. & Wiberg-Larsen, P. (2020) Benthiske kiselalger – oparbejdning af prøver fra søer og vandløb. Teknisk anvisning nr. SV1, version 1, DCE – Nationalt center for Miljø og Energi, Aarhus Universitet, 16 p. (in Danish).

6 Bilag

6.1 Følgeskema til brug ved indsamling af prøver

Observationssted nr.	Vandløbsnavn	Lokalitet
Dato for indsamling af algeprøve (åååå.mm.dd)	Indsamlet substrattype (sten eller makrofyter)	Indsamling udført af:
Bemærkninger til indsamling af substrat m.v.:		

6.2 Fremstilling af Lugols væske

220 ml sur Lugolopløsning (Willén 1962):

- 20 g kaliumjodid
- 200 ml destilleret vand
- 10 g resublimeret jod
- 20 g eddikesyre (konc. CH₃COOH)

Destilleret vand måles af. Heri opløses kaliumiodid og resublimeret jod.

Derefter tilsættes eddikesyre.

7 Oversigt over versionsændringer

Version	Dato	Emne	Ændring
2	18-03-2015		Det er anført, at det er tilladt at anvende plastikflasker under visse betingelser.
	18-03-2015		Flasken skal fyldes til én cm under skruegevindet
	18-03-2015		Det er understreget, at koncentrationen af lugol under alle omstændigheder skal være 2%.
3	04-05-2017		Tydeliggørelse af sedimentationstid samt mindre tekstmæssige opdateringer.
4	23-04-2019		Revidering af metoder samt større tekstmæssig opdatering.
5	11-08-2020	Opdeling af TA	Beskrivelse af bearbejdning af fytobenthosprøver er taget ud og findes nu samlet for søer og vandløb i TA SV1.