

Phytoplankton

Phytoplankton ist eine wesentliche Komponente aquatischer Ökosysteme. Es ist ein wichtiger Primärproduzent und spiegelt in seiner Aktivität, Biomasse und Artenzusammensetzung einen wichtigen anthropogenen Einflussfaktor auf Gewässer, die Eutrophierung, wider. In Europa ist deshalb die Untersuchung des Phytoplanktons ein wichtiger Bestandteil verpflichtender staatlicher Monitoringprogramme.

1. Artbestimmung und Merkmale der taxonomischen Gruppen

Typischerweise werden marine Auftriebsgebiete von größeren Diatomeen und Dinophyceen dominiert. In oligotrophen Ozeanen können nur sehr kleine Vertreter, wie einige *Synechococcus* spp. (Cyanobakterien), wachsen. In eutrophen Seen gibt es eine typische Jahresperiodik mit einer Blüte aus Diatomeen oder kleinen Flagellaten im Frühjahr, eine von größeren Grünalgen dominierte Sommersituation und u.U. im Herbst eine weitere Diatomeenblüte. Ist die P-Versorgung sehr hoch, treten im Sommer auch massive Cyanobakterienblüten auf, die zu toxischen Aufrahmungen zusammentreiben. Einige Cyanobakterien fixieren N_2 .

1.1. Aufgaben

- Machen Sie sich mit Ihrem Mikroskop vertraut! Bestimmen Sie für verschiedene Vergrößerungen die Dimension des Okularmikrometers! Wieviele μm ist ein Teilstrich lang für die Objektive 10x, 20x und 40x?
- Sehen Sie sich die bereitgestellten Arten an!
 - o die Kulturen: Namen mit Artbeschreibungen in den Schlüsseln vergleichen
 - o das fixierte Netzplankton (aus Blüten): dominierende Arten sind in den Probenbeschreibungen genannt und gezeigt
 - o die frischen Netzproben (20 μm): benutzen Sie Gruppenschlüssel, Bilderbücher oder fragen Sie
- Notieren Sie wichtige morphologische Merkmale, wie Zell- und Kolonieform, ungefähre Größe, Farbe, Beweglichkeit, Zellwandeigenschaften usw. Fertigen Sie aussagefähige Skizzen an!
- Bringen Sie in Erfahrung, zu welchen Großgruppen (Familien) die Kulturen gehören!
- Zu welcher Gattung gehört die mit "?" bezeichnete Kultur? Benutzen Sie einen der ausgelegten Bestimmungsschlüssel!

1.2. Durchführung

- Ausmessen des Okularmikrometers mit Hilfe eines Objektmikrometers.
- Auf dem Objektmikrometer ist 1 mm eingraviert mit einer weiteren Unterteilung in 100 Abschnitte. Damit ist der kleinste Abstand auf dem Objekt 10 μm .
- Für alle Vergrößerungen (ohne 100er Objektiv) Objektmikrometer mit Okularmikrometer an einem Teilstrich in Übereinstimmung bringen.
- Den jeweils am weitesten entfernten Teilstrich, der mit dem Okularmikrometer zusammenfällt, suchen. Anzahl dazwischen liegender Teilstriche des Objekt- und des Okularmikrometers abzählen. Nach Gleichung (A) berechnen.
- Je nach Vergrößerung verändert sich die Größe des Okularmikrometers. Das Objekt ist natürlich immer gleich groß.

$$(A) \text{Okularteil strich}(\mu m) = \frac{\text{Objektmikrometergrad uierung}(10\mu m) \cdot \text{Anzahl}_{\text{Objektteil striche}}}{\text{Anzahl}_{\text{Okularteil striche}}}$$

- Zur Ansicht liegen verschiedene Typen von Literatur bereit:
 - o erste Orientierung (Laien, Schüler): z. B. Das Leben im Wassertropfen, Kosmos Algenführer
 - o Übersicht über wichtige Arten (Biologen, Laboranten ohne Spezialkenntnisse): z. B. Marines Phytoplankton
 - o Bestimmungsschlüssel (Taxonomen): z. B. Süßwasserflora Mitteleuropas, Algenflora der Ostsee
- Für ausgewählte Gruppen liegen auch Kopien dichotomer Bestimmungsschlüssel bereit.

1.3. Auswertung

- Fertigen Sie eine Liste mit Namen, Skizze, Abmessungen, der Beschreibung diskriminierender Merkmale und der Gruppenzugehörigkeit an!
- Welche Bedeutung haben die Arten? Wo kommen Sie vor? Warum befinden Sie sich in der Stammsammlung?

2. Morphologie und Größe

Die Zellgröße ist ein sehr wichtiges Artbestimmungsmerkmal. Sehr häufig werden auch verschiedene Zellachsen (Länge zu Breite) miteinander verglichen und diskriminieren sogar Gattungen. Auch die Lage, Anzahl oder Größe von Fortsätzen oder anderen Strukturen der Zellen sind wichtige Bestimmungsmerkmale. Bei der Artbestimmung in natürlichen Gemeinschaften reicht es, einige Zellen zu vermessen und die Größenspanne mit den Angaben des Bestimmungsschlüssels zu vergleichen. Für die Bestimmung des Phytoplanktonbiovolumens jedoch ist eine größere Genauigkeit erforderlich. Insbesondere Diatomeen haben aufgrund ihrer besonderen Teilung (es wird immer die kleinere Hypotheka nachgebildet) eine breite Verteilung der Zellgröße, so dass nicht mit allgemeingültigen artspezifischen Zellvolumina gearbeitet werden kann. Entweder werden Arten in mehreren (bis zu 8) Größenklassen separat ausgezählt (Ostsee / HELCOM) oder es werden (nur) 20 Exemplare je Art (!) in allen Dimensionen (Länge, Breite, Tiefe) gemessen und ein mittleres Volumen berechnet (Nordseemonitoring). Das Phytoplanktonbiovolumen ist ein wesentliches Qualitätsmerkmal von Gewässern im Monitoring der Wasserrahmenrichtlinie.

2.1. Aufgaben

- Messen Sie Länge und Breite bzw. Tiefe von 50 Diatomeen einer Art in den bereit gelegten Glühpräparaten! Alternativ nehmen Sie eine der Diatomeenkulturen.
- Berechnen Sie für jede Zelle das Volumen.
- Geben Sie die Mediane der Zelllänge und des Zellvolumens an.

2.2. Durchführung

- Benutzen Sie die größte mögliche Vergrößerung (ohne Ölimmersion, max. 40er Objektiv) zur Messung!
- Schreiben Sie Länge und Breite (Schalenansicht) oder Länge und Tiefe (Gürtelbandansicht) auf.
- Berechnen Sie den Median der Tiefe und Breite. Bilden Sie ein Verhältnis der Mediane, mit dem Sie dann für das Zellvolumen die jeweils fehlende Achse ersetzen. Falls eine Art niemals in der Gürtelbandansicht liegt, erfragen Sie eine Relation!
- Berechnen Sie für jede Zelle das Volumen nach einer Quadervolumengleichung (B) oder über eine zusammengesetzte Form (Grundriss Drachenviereck, C) aus!

(B) $V_{\text{Quader}} = \text{Länge} \cdot \text{Breite} \cdot \text{Tiefe}$

(C) $V_{\text{Drachen}} = \frac{1}{2} \text{Länge} \cdot \text{Breite} \cdot \text{Tiefe}$ (Länge steht senkrecht auf Breite)

$\tilde{x}$ für ungerade n ist das x_i in der (metrischen) Größe nach sortierten an der $n_{1/2}$ -sten Stelle

$\tilde{x}$ für gerade n ist der Mittelwert aus den x_i von $n_{1/2}$ -sten und der $n_{1/2+1}$ -sten Stelle

$\tilde{x}$ = Median (in Excel und Taschenrechnern mit Statistikfunktion enthalten)

2.3. Auswertung

- Stellen sie die Ergebnisse als Größenhistogramm für die Länge und das Volumen dar. Ein Histogramm ist eine Säulengrafik mit Größenklassen auf der x-Achse und der Häufigkeit von Zellen auf der y-Achse.
- Wie sieht die Verteilungsfunktion aus? Welche Verteilung bilden Größen typischerweise?
- Berechnen Sie die mittlere Länge und das mittlere Volumen! Welchen Mittelwert dürfen Sie für die beobachtete Verteilungsform benutzen?

3. Abundanz

Die Abundanz (auch Zelldichte) ist die Anzahl von Zellen in einem Volumen oder auf einer Oberfläche. Zellen bilden als Partikel Suspensionen. Die Bezeichnung Konzentration (Anzahl von Teilchen je Volumen) und Lösung gelten nur für echte Lösungen, z. B. von Ionen. Häufig müssen Zellen zur Zählung angereichert werden, z. B. durch Sedimentation.

Von dominierenden Arten werden vereinbarungsgemäß mindestens je 100 Zellen der dominierenden Arten oder 500 Zellen insgesamt ausgezählt, um die gewünschte Genauigkeit zu erreichen. Diese Genauigkeit ergibt sich aus dem Konfidenzintervall (V_k') einer Poissonverteilung, die eine gehäufte Verteilung im Raum (einer Zählkammer) beschreibt. Mit zunehmender Beobachtung (Zählereignis, gezählte Zellen) wird das prozentuale Konfidenzintervall kleiner (D).

(D) $V_k' = \pm \frac{1,96}{\sqrt{n}} \cdot 100\%$ Standardabweichung 1,96 gilt für 95%ige Irrtumswahrscheinlichkeit

n = gezählte Zellen

3.1. Aufgaben

- Schauen Sie sich Sedimentierkammern und die Proben im Umkehrmikroskop an!
- Bestimmen Sie die Abundanz aller Zellen in der Proben "X"! Schreiben Sie sie an die Tafel!
- Diese Probe besteht aus 3 Arten, die auch in der Kulturensammlung enthalten sind. Welche sind das?

3.2. Durchführung

- Entscheiden Sie je nach Abundanz und Zellgröße, wie Sie welche Zellen zählen!

Blutzählkammer nach Bürker für kleine Zellen hoher Abundanz

- Die 2 breiten Randstreifen der Zählkammer leicht anfeuchten. Deckglas mit Druck auf die Ränder aufschieben. Newton'sche Ringe kontrollieren (Exaktheit der Kammerhöhe, Vermeidung des Aufschwimmens des Deckglases).
- 1 ggf. 2 Tropfen Probe an den mittleren Deckglasrand geben. Über das Zählgitter laufen lassen.
- Ausmessen der gewünschten Fläche mit dem Okularmikrometer. Fläche so wählen, dass insgesamt etwas mehr als 100 Zellen gezählt werden: gesamte Kammer, mehrere Großquadrate oder nur ausgewählte Kleinquadrate.
- Höhe steht auf der Kammer (100 oder 200 μm).
- Zellen, die auf dem Randstreifen liegen oder ihn berühren, werden
 - a. immer gezählt, wenn sie auf dem rechten und unteren Rand liegen,
 - b. können aber auch auf allen äußeren Randstreifen mitgezählt werden, wenn man nur die berücksichtigt, deren Schwerpunkt im inneren Randstreifen liegt. Für diese Methode sind Randstreifen als Doppelstreifen ausgeführt. An der Berechnung ändert sich nichts.
- Anzahl der Zellen je Feld notieren (gesamte Kammer oder mehrere Großquadrate, Kleinquadrate etc.).

Sedimentierkammer für größere Zellen geringer Abundanz

- Das Kammervolumen beträgt 1 ml. Kammer füllen und mit passendem Deckglas schließen.
- Proben brauchen einige Zeit zum Sedimentieren (mindestens 4 h). Hier reicht $\frac{1}{2}$ - 1 h.
- Den gesamten Kammerboden streifenweise abstricheln.

3.3. Auswertung

- Abundanzen berechnen (Zellen je ml, auch Tausend oder Millionen je ml).
- Konfidenzintervalle berechnen und ebenfalls in die Abundanz je ml umrechnen.
- Vergleichen Sie Ihre Vorgehensweise mit den Möglichkeiten des Umkehrmikroskops (Vor- und Nachteile beider Varianten)!

4. Beurteilung von Planktonproben

Die Diversität ist ein weiteres wichtiges Qualitätsmerkmal von Phytoplankton. Am einfachsten lässt sie sich als Artenanzahl angeben. Problematisch sind jedoch fehlende Artenkenntnisse, unsichere taxonomische Systeme, schwierige Artkonzepte, fehlende oder bei Zählvergrößerung nicht erkennbare Merkmale. Deshalb werden umfangreiche Synonymlisten gepflegt, Rückstellproben und Belegfotos archiviert. Sehr hilfreich sind/wären Merkmalslisten zur Artdifferenzierung und die Zusammenfassung ähnlicher Formen zu Artkomplexen.

4.1. Aufgaben

- Sichten Sie die Artzusammensetzung der frischen Proben!
- Schätzen Sie Artzahlen!
- Welche sind die jeweils dominierenden Gruppen?

4.2. Auswertung

- Fertigen Sie einfache Skizzen der dominierenden Arten an! Beschriften Sie mit Zellgrößen!
- Beurteilen Sie die gefundenen Artenzahlen! Was sind hohe bzw. niedrige Artenzahlen? Ist die Artenzahl in einer Blüte besonders hoch?

- Geben Sie Anteile (%) der dominierenden Gruppen an und kennzeichnen Sie, ob Sie Biomasse/volumen oder Abundanzanteile meinen!

Schlussbemerkung: Bitte füllen Sie das Protokoll während des Praktikums aus (wird ausgeteilt) und geben Sie es ab. Das Protokollblatt wird nicht nach dem Notensystem bewertet, ist aber zu $\frac{1}{4}$ Teil der Modulprüfung (bestanden/nicht bestanden). Es dient auch Ihrer Kontrolle, ob Sie die Aufgaben vollständig erfüllt, alle notwendigen Informationen beschafft und verstanden haben. Alle Aufgaben sind ein Angebot, um die Beschäftigung mit den Mikroalgen des Planktons zu strukturieren und die wesentlichen Arbeiten und Methoden von Phytoplanktonuntersuchungen kurz darzustellen. Die Beschreibung der Methoden ist auch über dieses Praktikum hinaus gültig.