

Programområde:

Kust och hav

Undersökningstyp:

Växtplankton

Författare: Se avsnittet "Författare och övriga kontaktpersoner".

Bakgrund och syfte med undersökningstypen

Undersökningstypen "**Växtplankton**", används för att i ett längre tidsperspektiv (mellan år) kunna påvisa förändringar i havsmiljön. Undersökningstypen ska främst bidra till att följa upp de biologiska effekterna av åtgärder för att reducera närsaltsbelastningen till havet. Ökade närsaltshalter kan leda till ökad celltäthet och förändrad samhällsstruktur. Undersökningens syfte är vidare att beskriva typiska säsongsvariationer av förekomst och utbredning hos växtplankton. Ett viktigt mål för undersökningen är att övervaka förekomsten av potentiellt giftiga eller på annat sätt skadliga alger.

Man kan med hjälp av denna undersökningstyp upptäcka förändringar av den biologiska mångfalden samt introduktion av nya arter.

Mängden och artsammansättningen av växtplankton kan ge upplysning om vattenmassans ursprung samt om den lokala och regionala tillförseln av näringsämnen till havet.

De störningar undersökningstypen "**Växtplankton**", är applicerbar på är algbloomningar, som kan resultera i förgiftning av marina eller landlevande djur och växter, och/eller syrebrist i havsområdenas djupvatten. Utveckling av algbloomningar kan också leda till förskjutningar i den ekologiska balansen, som kan medföra förändringar i artsammansättningen inte bara bland växtplankton, utan även bland djur i högre trofiska nivåer.

Målet för undersökningen uppnås genom att man **kontinuerligt** och **med tillräckligt hög provtagningsfrekvens** undersöker artsammansättningen och celltätheten av växtplankton.

Samordning

Undersökningstypen "**Växtplankton**" utförs normalt tillsammans med provtagning och mätningar av klorofyll, primärproduktion och hydrografi. Klorofyll, primärproduktion, temperatur, salinitet och ljusextinktion är viktiga stödvariabler.

Strategi

- ★ Avgörande för programmets framgång och meningsfullhet är **kontinuitet** och **långsiktighet**. Detta kräver en säker och långsiktig finansiering.
- ★ Definierade **kvalitetskrav** är viktigt för programmets meningsfullhet. Kvalitetskraven måste upprätthållas genom kontinuerlig **vidareutbildning** och kontroll av **taxonomisk kompetens**.

Statistiska aspekter

Stationer bestäms av undersökningens syfte och kraven på spatiell och temporal upplösning. Beroende på det tidskrävande arbetet att analysera växtplankton är det ofta inte kostnadseffektivt att ta flera replikat vid varje provtagning. I stället bör man göra kontrollmätningar 1-2 gånger om året, då 3-5 replikat tas vid en station och analyseras av en och samma person. Lämpliga kontrollperioder kan vara under samt efter vårblomning.

På grund av växtplanktons korta generationstid (från mindre än en dag till fjorton dagar eller mer) kräver växtplanktonundersökningar i allmänhet en hög provtagningsfrekvens för att viktiga steg i successionen skall kunna dokumenteras. **Högfrekvent** växtplanktonundersökning kräver 20-25 provtagningsstillfällen per år för att täcka växtplanktonsuccessionen under året. **Frekvent** växtplanktonundersökning omfattar minst 12 provtagningsstillfällen per år och är i allmänhet tillräcklig för att ge information om årscykeln, för att täcka växtplanktonsuccessionen under året. Episoder av kortare varaktighet kan emellertid gå förlorade. I allmänhet kan provtagningsfrekvensen minskas under vintermånaderna (speciellt i Östersjön), för att sedan ökas under blomningsperioder, vår, sommar och höst.

Den vertikala fördelningen av växtplankton kan variera avsevärt. Ofta samlas växtplankton i tunna skikt på varierande djup. Prov från vattenhämtare från enskilda djup riskerar att missa sådana skikt av växtplankton, vilket gör att dessa prov inte visar den sanna bilden av växtplanktonförekomsten. Problemet undanröjs genom att integrerade prov insamlas med hjälp av slang. Samtidigt är det viktigt att identifiera den art som utvecklar en stor population i ett tunt skikt. Därför bör ett prov tas med vattenhämtare på det djup, där ett planktonmaximum uppmätts med *in situ*-fluorescens, utöver det integrerade provet.

Plats/stationsval

Vid upprättandet av provtagningsstationer är det av vikt att stationens representativitet i området är undersökt. Frekvent provtagning vid en station ger generellt större information än lågfrekvent provtagning vid många stationer.

Mätprogram

Variabler

Den kvantitativa analysen av växtplankton definieras i olika ambitionsnivåer, på samma sätt som analysnoggrannheten för kemiska variabler anges. Tre olika ambitionsnivåer anges.

I nivå **1** sker en **förenklad analys**, där alla organismer kvantifieras och bestäms till större taxonomisk grupp och de dominerande organismerna till släkte. Beteckningen ”alla

organismer” innefattar vad som traditionellt räknas till växtplankton. Exempelvis ingår det heterotrofa dinoflagellat-släktet *Protoperdinium* spp och ciliaten *Mesodinium rubrum*. Som tillägg (om uppdragsgivaren så önskar) bestäms biomassan av växtplanktonpopulationen genom mätning och beräkning av ”typorganismer”.

I nivå **2** sker en **normal analys**, där alla organismer kvantifieras och bestäms till art, släkte eller större taxonomisk grupp och de dominerande organismerna till art. Som tillägg (om uppdragsgivaren så önskar) bestäms biomassan av växtplanktonpopulationen genom mätning och beräkning av ett antal slumpvis utvalda organismer inom varje taxon.

I nivå **3** sker en **fullständig analys**, där alla organismer kvantifieras och bestäms till art, släkte eller större taxonomisk grupp. ”Besvärliga arter” bestäms med hjälp av specialpreparation, som t.ex. kiselalgspreparat, torrpreparat, epifluorescensmikroskopi eller elektronmikroskopi. Som tillägg (om uppdragsgivaren så önskar) bestäms biomassan av växtplanktonpopulationen genom mätning och beräkning av ett antal slumpvis utvalda organismer inom varje taxon.

I samtliga nivåer kan håvplanktonprov dessutom insamlas och analyseras. Denna analys är till för att öka säkerheten i artbestämningen och utgör ett hjälpmedel för den kvantitativa analysen.

I nivå **2** och **3** kan man (om uppdragsgivaren så önskar) också genomföra en översiktlig analys av levande prover, för att snabbt konstatera om algblooming pågår i området. Detta steg kan vara viktigt för framförallt varningssystemen för giftiga eller skadliga alger.

Tabell 1. Översiktstabell för variabler och tidsperioder m.m.

Område	Företeelse	Determinand (Mätvariabel)	Metodmo- ment	Enhet / klassa- de värden	Priori- tet	Frekvens och tidpunkter	Referens till provtag- nings- eller observa- tionsmetodik	Referens till analysmetod
Station (Latitud och Longitud*)	Datum, Klockslag			UTC				
	Prov	Provtagnings- djup		m				
	Lista över Växtplankton, arter eller lägsta taxo- nomiska nivå (enl. ambi- tionsnivå 1, 2 eller 3)	Antal per volym	Sedimenta- tion	/dm3	1	12-25 gånger per år beroende på område och tid på året. Högre frekvens vid vår- och höst blomning	Bilaga 1	Bilaga 1
		Biomassa per volym, Våtvikt		ug/dm3	1			
		Partikulärt organiskt kol, halt (POC per volym)		ug/dm3	1			
		Antal per volym	Filtrering	/dm3	3		Bilaga 1	Bilaga 1
	Lista över Växtplankton, arter eller lägsta taxo- nomiska nivå	Antal (klass- indelad 0-5)	Håvprov	0=icke påvisat, 1=påvisat, 2=flera celler, 3=1-10 %, 4=10-50 %, 5=50-100 %.	3			

*. Grader och decimala minuter (WGS-84 dGPS, tre minut-decimaler önskvärt)

Frekvens och tidpunkter

För att kunna följa växtplanktonsuccessionen under året på ett tillfredställande sätt krävs en provtagningsfrekvens av 20-25 gånger per år. För att få generell information om årscykeln krävs en provtagningsfrekvens av minst 12 gånger per år.

Perioden december-januari kräver i allmänhet färre provtagningar, medan vårblooming och höstblooming kräver tätare provtagning. Längs ostkusten och framför allt i Bottenhavet och Bottenviken kan 12 provtagningar per år vara tillfylles, speciellt vid starka isvintrar. Provtagningsfrekvensen kan minskas under vintermånaderna, men det är viktigt att påpeka att växtplankton kan utvecklas och även blomma under isen i slutet av vintern. Längs den svenska västkusten, där isvintrar är relativt sällsynta och där vinterblomningar kan förekomma krävs provtagningar under hela året.

Observations/provtagningsmetodik

Metoderna skall vara allmänt accepterade och provtagarna bör vara vana vid provtagning i marin miljö.

Provtagning bör ske med slang (Lindahl 1986) för att erhålla sanna integrerade prov.

Provtagningsdjupen kan variera med område. I allmänhet bör prov tas från 0-10 m. Genom användande av *in situ* fluorometer kan eventuella klorofylltoppar upptäckas. När sådana observeras bör ett prov tas med vattenhämtare på det aktuella djupet för att identifiera vilken eller vilka växtplanktonarter som bildar klorofylltoppen.

Ofta förekommer en dygnsvandring hos växtplankton. Det är därför av vikt att prover tas på ett sådant sätt att hela eufotiska zonen integreras för att resultaten mellan stationer och tidpunkter ska vara jämförbara.

Tillvaratagande av prov

Innehållet i slangen töms i hink. Efter noggrann omblandning fylls provflaskor (50 - 250 ml). Flaskorna skall vara ljusa och ha täta skruvlock. Fixeringsvätska, **surgjord Lugols lösning** tillsätts omedelbart (Willén 1962). Under speciellt sommaren kan coccolitophorider (kalkflagellater) förekomma i stor mängd i Västerhavet. På grund av sitt kalkskal tål de inte sur Lugol. Kan man förvänta sig coccolithophorider i vattnet bör ett kompletterande prov tas, som fixeras med **alkalisk Lugols lösning** (Utermöhl 1958). Om man inte skall förvara proven under en längre tid, utan analyserar de relativt snart efter provtagningen, kan man använda **neutral Lugols lösning** och därmed undvika problem med huruvida det finns kalkflagellater i vattnet. Denna vätska ger inte lika hållbar fixering som de övriga varför den inte rekommenderas vid längre tids förvaring. Om proverna förvaras en längre tid före analys måste koncentrationen av fixeringsvätskan kontrolleras regelbundet (se på färgen) och ytterligare fixeringsvätska skall tillsättas om färgen blekts. Joden i Lugols lösning försvinner snabbare i ljus än i mörker.

Sur Lugols lösning	Alkalisk Lugols lösning	Neutral Lugols lösning
200 ml destillerat eller avjoniserat vatten	200 ml destillerat eller avjoniserat vatten	200 ml destillerat eller avjoniserat vatten
20 g kaliumjodid (KI)	20 g kaliumjodid (KI)	20 g kaliumjodid (KI)
10 g jod (I ₂)	10 g jod (I ₂)	10 g jod (I ₂)
20 ml isättika (koncentrerad CH ₃ COOH)	50 g natriumacetat (CH ₃ COONa)	

Tabell 2: recept på Lugols lösning; sur, alkalisk och neutral (Hallegraeff et al., 2003). Blandningen sker i samma ordning som ingredienserna är listade i tabellen. Det är viktigt att föregående ingrediens är helt löst innan nästa tillsätts. Den färdiga lösningen förvaras i mörk flaska och håller sig i rumstemperatur i ett år. Till 100 ml prov tillsätts 0.5 ml fixeringsvätska.

Analysmetodik

Kvalitativ analys:

Analys av håvplanktonprov

Analys av håvplanktonprov genomförs för att öka säkerheten vid den kvantitativa analysen. Bestämning av svåridentifierade arter kan ske med hjälp av specialpreparation, som kiselalgspreparat, torrpreparat, epifluorescensmikroskopi eller elektronmikroskopi.

Kvantitativ analys:

Begreppet dominerande arter kan orsaka problem. Ofta går det inte att avgöra vilka arter som dominerar, förrän man gjort en fullständig analys. Detta beror bland annat på att storleken av växtplankton spänner över ett mycket stort område; celldiametern kan variera över 3 tiopotenser, från ca 1 µm till ca 1000 µm och cellvolymen över 6 tiopotenser. Ett litet antal stora arter utgör oftast en betydligt större biomassa än ett mycket stort antal av en liten art. Abundans baserat på antalet celler tenderar därför att övervärdera små arter, medan abundans baserat på biomassa tenderar att övervärdera stora arter.

Den kvantitativa analysen av växtplankton skall ske enligt Utermöhl-metoden (Suornia, 1978). Utföraren bör vara van vid marin växtplanktonanalys och kunna verifiera sin kompetens. Kriterier för ackreditering av växtplanktonanalyser är numera färdigt utvecklade och godkända hos Swedac.

Räknekammare

Beroende på mängden växtplankton i provet används olika kammarvolymer. De vanligaste är 2, 10, 20, 25 och 50 ml, men även andra volymer kan förekomma. Höga kammare (100 ml) skall användas med försiktighet, då det finns risk att konvektionsströmmar försvårar

sedimentationen av växtplankton. Kammaren består av en bottenkammare och en lös toppcylinder. Bottenkammarens botten är ett cirkulärt täckglas.

Bottenkammaren och toppcylindern sätts samman och, efter det att provet är väl blandat genom försiktig, oregelbunden vändning av provet (25-50 vändningar anses nödvändigt för att säkert få loss växtplankton som fastnat vid botten under förvaringen) fylls kammaren. En topplatta läggs över toppcylindern. För att undvika att det bildas luftbubblor i sedimentationskammaren bör proverna acklimatiseras till omgivande temperatur innan kammaren fylls. Efter sedimentationen skjuts toppcylindern åt sidan med hjälp av en kvadratisk glasskiva med samma area som hela bottenkammaren.

Sedimentationstid

Sedimentationstiden är beroende på kammarens höjd. I tabellen nedan anges ungefärliga sedimentationstider för de vanligaste kammartyperna.

KAMMAR- VOLYM ML	KAMMAR- HÖJD Cm	SEDIMENTATIONS- TID timmar
2	1	3
10	2	8
20	5	16
25	6	20
50	10	24
100	20	48

Tabell 3: sedimentationstid för planktonprov beroende på höjd och volym på sedimentationskammarna.

Räkneprocedur

För att uppnå godtagbar noggrannhet vid analysen bör hela bottenkammaren först genomgåas översiktligt. Detta skall ge en uppfattning av i vilken grad växtplanktoncellerna har en jämn fördelning på kammarbotten.

Hur stor del av kammarbotten som ska analyseras är avhängigt dels mängden växtplankton i provet, dels vilken sorts enhet som räknas.

För att erhålla en statistiskt nöjaktig precision på mängden växtplankton i ett prov krävs att minst 50 enheter av arterna med högst täthet räknas. Totalt skall minst 500 enheter räknas. Med 50 enheter räknade är det ungefärliga 95-procentiga konfidensintervallet $\pm 28\%$. Att öka precisionen till $\pm 20\%$ kräver att minst 100 enheter räknades. Den förhållandevis lilla precisionsökningen man skulle erhålla betyder en avsevärd ökning av arbetsinsatsen, vilket inte bedöms vara kostnadseffektivt, men man skall hålla sig mellan 50 och 100 enheter.

ANTAL RÄKNADE ENHETER	95 % KONFIDENSINTERVALL ± (%)
1	200
4	100
15	52
20	45
25	40
30	37
40	32
50	28
75	23
100	20
150	16
250	13
500	9

Tabell 4: exempel på räkneosäkerhet vid olika antal räknade planktonenheter (cell / koloni / filament).

Följande räkneenheter rekommenderas:

enstaka cell (ex. solitära alger som *Ditylum*, *Coscinodiscus*, *Ceratium* och *Dinophysis*, kedjebildande alger som *Skeletonema* och *Chaetoceros*, eller kolonibildande alger som *Dinobryon*). Resultat anges i celler per liter.

filament (ex. *Aphanizomenon*, *Nodularia*): resultat anges i längd (meter per liter).

Stora växtplanktonarter kan räknas i låg förstoring och i en stor del av kammarbotten. Små arter måste räknas i hög förstoring och ofta i en del av kammarbotten.

CELLSTORLEK	REKOMMENDERAT OBJEKTIV	REKOMMENDERAT OKULAR
Mikroplankton > 20 µm	4×, 10×, 20×	10 - 16×
Nanoplankton 2 -20 µm	10×, 20×, 40×, 63×	10 - 16×
*Picoplankton < 2 µm	100×, oljeimmersion	10 - 16×

Tabell 5. Rekommenderad förstoring vid analys av plankton i olika storleksgrupper. * Picoplankton kräver fluorescensmikroskop.

Stora arter skall i allmänhet räknas i hela kammaren. Mindre arter kan vanligen räknas i en del av kammaren. Man analyserar då transekter av kammarbotten. Antalet transekter är beroende

*Handledning för miljöövervakning
Undersökningstyp*

av antalet celler. För en art kan det räcka med en transekt, medan en annan art kanske måste räknas i flera transekter för att man skall uppnå 50 enheter. Små arter som förekommer i stor mängd kan räknas i ett antal synfält, som är jämnt spridda längs en transekt. Identifiering av arter mindre än 2 µm, picoplankton, kräver en särskild analys (bilaga 1).

Omräkningen från räknade enheter till celler / L havsvatten sker genom att multiplicera antalet räknade celler med faktorn F som erhålls ur formlerna:

$$a) \quad F = \frac{A * 1\,000}{N * a_1 * V}$$

$$b) \quad F = \frac{A * 1\,000}{a_2 * V}$$

A: arean av kammaren

N: antalet analyserade transekter eller synfält

a₁: area av en transekt eller synfält

a₂: totalt analyserad area

V: volymen av sedimenterat prov

Rengöring av sedimentationskammare

Efter analysen skall sedimentationskammaren rengöras omedelbart. Det är viktigt att den inte får torka, då intorkade växtplankton och fixeringsmedel kan vara mycket svårt att få bort. Kammaren sköljs först i rinnande vatten och diskas sedan med svagt diskmedel och en mycket mjuk borste (puderborste är utmärkt). Slutligen sköljs den noga och torkas med en mjuk handduk och mjuk pappersnäsduk. Kamrarna förvaras dammfritt och torkas av med mjuk pappersnäsduk inför nästa påfyllning.

Utrustningslista

Provtagning

Protokoll

Vattenhämtare/slang

Växtplanktonhåv, 10 µm

Märkta provtagningsflaskor

Lugols lösning

Pipetter

Analys

Mikroskop för kvalitativ analys

Omvänt mikroskop för kvantitativ analys

Sedimentationskammare

Bestämningslitteratur

För analys av picoplankton behövs dessutom:

Excitationsljus med våglängd 470 nm, bandbredd 40 nm och emissionsvåglängd längre än 515 nm (blått ljus).

Fluorescensfri immersionsolja.

*Handledning för miljöövervakning
Undersökningstyp*

Filter, exempelvis av typen svart polykarbonat, diameter ca 25mm, porstorlek 0,2 μm .

Filtrertratt ca 16 mm.

Fältprotokoll

Exempel på fältprotokoll återges i bilaga 2.

Biomassaberäkning

I vissa undersökningar kan det finnas behov av att ange mängden växtplankton i en annan form än celltal. Det finns metoder att omvandla celltalen till biomassa uttryckt som volym eller kol. Denna omvandling baseras på storleksmätningar av de olika växtplanktonarterna.

Ett stort antal stereometriskt former används för de olika arterna för att beräkna cellvolymen. Biomassan kan anges antingen som volym ($\mu\text{m}^3 * \text{L}^{-1}$) för de olika arterna, eller genom ytterligare beräkning som KOL ($\mu\text{g C} * \text{L}^{-1}$). Omvandlingsfaktorer från volym till kol framgår av litteraturen (se rekommenderad litteratur).

Bakgrundsinformation

Växtplanktonundersökningar genomförs alltid tillsammans med program som innefattar klorofyll, hydrografi, närsalter och helst primärproduktion, för att underlätta tolkningen av resultaten. Utförlig information om hur man går till väga vid insamling och lagring av dessa data, finns i undersökningstyperna "Hydrografi och närsalter, trendövervakning" och "Primärproduktion." Dessutom krävs i allmänhet siktdjup, samt väderinformation.

Kvalitetssäkring

Växtplanktonanalys kräver omfattande taxonomisk träning och ett kontinuerligt arbete med litteraturuppföljning och vidareutbildning för att upprätthålla kompetensen. Deltagande i interkalibreringar och parallellanalyser bör vara ett absolut krav och detta bör genomföras regelbundet. Beroende på kontinuerlig förändring och utveckling i taxonomin utgör bestämmingslitteraturen ett stort kvalitetssäkringsproblem, som dock bör kunna lösas genom att man från centralt håll (NV, HELCOM, ICES, IOC) uppdaterar listor på lämplig bestämmingslitteratur. Eventuella felaktigheter kan bero av bestämmingslitteraturen och rapporterade data ska därför åtföljas av uppgifter om vilken bestämmingslitteratur som använts.

Databehandling, datavärd

Data som levereras till datavärd skall vara kvalitetssäkrade. En förteckning över datavärden finns att hitta på Naturvårdsverkets webbplats under adressen

<http://www.naturvardsverket.se/dokument/mo/modok/datavard.htm>

En årlig sammanställning av databasens status skall göras. Den bör innehålla statistik över databasens innehåll, vad som tillkommit under året respektive vilka dataleveranser som gjorts.

Rapportering, utvärdering

Årsrapporter skall produceras med en sammanställning, inklusive bakgrundsinformation om årets resultat och händelser.

Kostnadsuppskattning

Båtkostnader utgör en betydande del av kostnaden för ett växtplanktonprogram. Denna kostnad delas emellertid normalt med programmen för hydrografi och närsalter. Båtkostnaderna är beroende av det område som ska undersökas. Ett provtagningsprogram längs en öppen kust kräver större båtar och är därigenom dyrare än ett program inomskärs.

Materielkostnad kan mycket grovt uppskattas till ca 2 500 kr per station (2 prover, 25 provtagningar) och år.

Kvalitetssäkringskostnader (som innefattar inköp av litteratur, deltagande i kurser och deltagande i interkalibreringar) kan grovt uppskattas till 3 000 - 5 000 kr per station (2 prover, 15 provtagningar) och år (januari 1997).

Ambitionsnivå 1.

Analys, sammanställning och redovisning tar ca 200 timmar per station (2 prover, 25 provtagningar) och år.

Ambitionsnivå 2.

Analys, sammanställning och redovisning tar ca 300 timmar per station (2 prover, 25 provtagningar) och år.

Ambitionsnivå 3.

Analys, sammanställning och redovisning tar ca 400 timmar per station (2 prover, 25 provtagningar) och år.

Författare och övriga kontaktpersoner

Programområdesansvarig, Naturvårdsverket:

Sverker Evans

Miljöövervakningsenheten

Naturvårdsverket

106 48 Stockholm

Tel: 08-698 13 02

E-post: sverker.evans@naturvardsverket.se

Expert, Statens Meteorologiska och Hydrologiska Institut

Ann-Turi Skjevik, marinbiolog

Oceanografiska enheten

Nya Varvet 31

426 71 Västra Frölunda

Tel: 031-751 8979

Fax: 031-751 8980

E-post: ann-turi.skjevik@smhi.se

Författare: Lars Edler och Ann-Turi Skjevik

*Handledning för miljöövervakning
Undersökningstyp*

Referenser

Metodlitteratur

1. Edler, L. 1979. Recommendations on methods for marine biological studies in the Baltic Sea, Phytoplankton and chlorophyll. Publication / The Baltic Marine Biologists No. 5.
2. HELCOM. 1999. Manual For Marine Monitoring in the COMBINE PROGRAMME of HELCOM. <http://sea.helcom.fi/Monas/CombineManual2/CombineHome.htm>
3. Kononen, K., Forsskåhl, M. Huttunen, M. Sandell, M. and Viljamaa, H. 1983. Practical problems encountered in phytoplankton cell volume calculations using BMB recommendation in the Gulf of Finland. Limnologia 15/2. 605-614.
4. Lindahl, O. 1986. A dividable hose for phytoplankton sampling. ICES. C.M. 1986/L:26, annex 3.
5. Melvasalo, T., Viljamaa, H. and Huttunen, M. 1973. Plankton methods in the Water Conservation Laboratory in 1966-1972. Reports of the Water Conservation Laboratory. Helsinki 5.
6. Mender-Deuer, S and Lessard, E.J. 2000. Carbon to volume relationships for dinoflagellates, diatoms and other protist plankton. Limnol. Oceanogr. 45: 569-579.
7. Montagnes, D.J.S., Berges, J.A., Harrison, P.J. and Taylor, F.J.R. 1994. Estimating carbon, nitrogen, protein and chlorophyll a from volume in marine phytoplankton. Limnology & Oceanography. 39(5) 1044-1060.
8. Mullin, M.M., Sloan, P.R. and Eppley, R.W. 1966. Relationship between Carbon Content, Cell Volume and Area in Phytoplankton. Limnology & Oceanography. 11: 307-311.
9. Olenina, I., Hajdu, S., Edler, L., Andersson, A., Wasmund, N., Busch, S., Göbel, J., Gromisz, S., Huseby, S., Huttunen, M., Jaanus, A., Kokkonen, P., Ledaine, I., Niemkiewicz, E. 2006. Biovolumes and size-classes of phytoplankton in the Baltic Sea. Baltic Sea environment proceedings. In press.
10. Smayda, T.J. 1965. A quantitative analysis of the phytoplankton of the Gulf of Panama II. On the relationship between ¹⁴C assimilation and the diatom standing crop. Inter-American Tropical Tuna Commission Bulletin 9:7 464-529.
11. Smetacek, V. 1975. Die Sukzession des Phytoplanktons in der westlichen Kieler Bucht. Inst. für Meereskunde. Univ. Kiel. Dissertation. Kiel.
12. Sournia, A. (ed.) 1978. Phytoplankton Manual. Monographs on oceanographic methodology 6. Paris : Unesco.
13. Strathmann, R.R. 1967. Estimating the organic carbon content of phytoplankton from cell volume or plasma volume. Limnology & Oceanography. 12: 411-418.
14. Utermöhl, H. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. Mitteilungen / Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie No 9.

15. Verity, P.G., Robertson, C.H., Craig, R.T., Andrews, M.G., Nelson, J.R. and Sieracki M.E. 1992. Relationships between cell volume and the carbon and nitrogen content of marine photosynthetic nanoplankton. *Limnology & Oceanography*. 37(7) 1434-1446.
16. Willén, T. 1962. Studies on the phytoplankton of some lakes connected with or recently isolated from the Baltic. *Oikos* 13, 169-199.
17. Willén, T. 1995. Växtplankton i Östersjön 1979 -1988. Rapport / Naturvårdsverket 4288. ISBN 91-620-4288-2.

Bestämningslitteratur och checklistor

Endast ett begränsat urval. Utöver detta används mängder av artiklar från tidskrifter

18. Checklist of phytoplankton in the Skagerrak-Kattegat
<http://www.marbot.gu.se/SSS/SSShome.htm>.
19. Bérard-Therriault, L., Poulin, M. and Bossé, L. 1999. Guide d'identification du phytoplankton marine de l'estuaire et du golfe du Saint-Laurent incluant également certain protozoaires. Conseil national de recherches du Canada. ISBN 0-660-96057-5.
20. Dodge, J.D. 1982. Marine Dinoflagellates of the British Isles. London. Her Majesty's Stationary Office. ISBN 0 11 241196 7.
21. Drebes, G. 1974. Marines Phytoplankton. George Thieme Verlag. Stuttgart.
22. Edler, L., Hällfors, G. and Niemi, Å. 1984. A preliminary checklist of the phytoplankton of the Baltic Sea. *Acta Botanica Fennica* 128: 1-26.
23. Hasle, G. R., Syvertsen, E.E., Steidinger, K. A., Tangen, K., Throndsen, J. and Heimdal, B. R. 1997. Identifying marine phytoplankton. Academic Press, San Diego. Tomas C. R. (ed.). ISBN 0-12-693018-X.
24. Jensen, K.G and Moestrup, Ø. 1998. The Genus *Chaetoceros* (Bacillariophyceae) in inner Danish coastal waters. *Opera Botanica*, no 133.
25. Pankow, H. 1990. Ostsee-Algenflora. Gustav Fischer Verlag Jena. ISBN 3-334-00312-4.
26. Snoeijs, P. (ed.). 1993. Intercalibration and distribution of diatom species in the Baltic Sea. Vol. 1. Opulus Press. Uppsala. Publication / The Baltic Marine Biologists 16a. ISBN 91-9716-225-6.
27. Snoeijs, P. and Vilbaste, S. (ed.). 1994. Intercalibration and distribution of diatom species in the Baltic Sea. Vol. 2. Opulus Press. Uppsala. Publication / The Baltic Marine Biologists 16b. ISBN 91-9716-227-2.
28. Snoeijs, P. and Potapova, M. (ed.). 1995. Intercalibration and distribution of diatom species in the Baltic Sea. Vol. 3. Opulus Press. Uppsala. Publication / The Baltic Marine Biologists 16c. ISBN 91-9716-228-0.
29. Snoeijs, P. and Kasperoviciene, J. (ed.). 1996. Intercalibration and distribution of diatom species in the Baltic Sea. Vol. 4. Opulus Press. Uppsala. Publication / The Baltic Marine Biologists 16d. ISBN 91-9716-229-9.
30. Sundström, B. 1973. *Chaetoceros*-arter i Öresund. 3-betygsuppsats i Marin Botanik. Lunds Universitet.

31. The user-friendly guide to coastal planktonic ciliates. 2002. University of Liverpool. <http://www.liv.ac.uk/ciliate/>.
32. Thomsen, H.A. (ed.). 1992. Plankton i de indre danske farvande : analyse af forekomsten af alger og heterotrofe protister (ekskl. ciliater) i Kattegatt. Havforskning fra Miljøstyrelsen .Nr. 11. Miljøministeriet. København. ISBN 87-7810-034-8.
33. Throndsen, J., Hasle, G.R. and Tangen, K. 2003. Norsk kystplanktonflora. Almater Forlag AS. Oslo. ISBN 82-7858-037-5.
34. Tikkanen, T. & Willén, T. 1992. Växtplanktonflora. Naturvårdsverket. ISBN 91-620-1115-4.
35. Tomas, C.R. (ed). 1993. Marine Phytoplankton. A Guide to Naked Flagellates and Coccolithophorids. Academic Press. San Diego, California. ISBN 0-12-693010-4.
36. Tomas, C.R. (ed). 1996. Identifying Marine Diatoms and Dinoflagellates. Academic Press. San Diego, California. ISBN 0-12-693015-5.

Uppdateringar, versionshantering

Arbetsmaterial 1997-06-13

Version 1:1 2005-02-03. Uppdatering

Version 1:2 2006-04-03. Uppdatering

Bilaga 1. Metodbeskrivningar

Provtagning med håv, kvalitativa analyser

En håv med maskvidden 10 µm sänks ned till den aktuella stationens provtagningsdjup. Där får håven stabilisera i ungefär 20 sekunder, innan den dras upp. Den skall inte dras upp snabbare än att man ser skarvarna i wiren som håven är fäst vid, ungefär 0,25 m/s. Håven höjs och sänks upprepat i vattenytan och skakas om för att skölja ned plankton som sitter på håvens väggar. Vatten får rinna ur håven tills enbart den tjockare plastdelen är fylld. Innehållet hålls direkt i en provflaska, märkt med stationsnamn och datum.

Provtagning med slang, kvantitativa analyser

För att få ett sant integrerat växtplanktonprov räcker det inte att blanda vatten från olika fasta djup, utan man får använda slang (Lindahl, 1986). En förstärkt PVC-slang kan användas. Den inre diametern bör vara ungefär 20 mm för att på 10 meter få ett prov om ungefär 3 liter. Längden på slangen måste i tillägg till 10 meter av vattenpelaren täcka avståndet från havsytan till båtdäck eller plattform. I nivå med havsytan, då 10 meter slang är nedsänkt, måste det finnas en stängningsmekanism i form av en ventil som kan skötas från däck/plattform med en lina eller liknande. När man tar prov är det viktigt att man först sköljer slangen för att avlägsna eventuella svampsporer, eller andra föroreningar. Det vill säga, man sänker slangen ned i vattnet med ventilen öppen och höjer den igen. Sedan sänker man slangen igen, med ventilen öppen, tills denna är i höjd med vattenytan. Ventilen stängs, slangen höjs och töms i en hink, varpå provflaskor omedelbart fylls.

Analys av håvprov

Med hjälp av håvprov kan kvalitativa analyser göras. Dessa görs enbart som ett stöd för den kvantitativa analysen för att underlätta identifikationen av skadliga alger. Man kan dock få en snabb översikt över vilka arter som förekommer. Analysen är högst översiktlig och måste kompletteras med en kvantitativ analys. En första visuell bedömning av hur tjockt provet är avgör hur man tar ut prov med pipetten.

Man använder en skala 0-5, där 0=icke påvisat, 1=påvisat, 2=flera celler, 3=1-10 %, 4=10-50 %, 5=50-100 %.

Analys av slangprov

Den kvantitativa analysens syfte är att ge en sann bild av planktonsituationen. Denna analys ger inte bara artsammansättningen, utan även koncentrationen av de enskilda arterna.

Om planktoncellerna är för starkt färgade av Lugols lösning kan man avfärga med hjälp av natriumtiosulfat innan man sätter kammaren.

Provet får sedimentera i kammare för att sedan analyseras i inverterat mikroskop enligt Utermöhl-metoden (Utermöhl, 1958, Helcom 1999). Beroende på mängden växtplankton i provet och deras storlek väljer man förstoring och hur stor del av kammarbotten som skall analyseras. Lämpliga riktvärden är att analysera hela kammarbotten i 10× förstoring, minst 2

diametrar i 20× och minst 1 diameter i 40× förstoring. I vissa fall kan arter förekomma i sådan mängd att man endast räknar ett antal synfält, vanligen minst 10.

Kvantitativ analys, ambitionsnivå 1 (antal celler per liter)

Storlekar behöver inte mätas.

10×: Hela kammaren söks över. Alla alger med storlek över ca 50 µm räknas.

20×: Minst 2 diametrar analyseras. Alla alger med storlek mellan ca 20 och 50 µm räknas.

40×: Minst 1 diameter analyseras. Alla alger med storlek under ca 20 µm räknas.

Detta är enbart rekommendationer. Det är individuellt vilka alger man kan identifiera på respektive förstoring. Man skall alltid försöka att vara konsekvent genom att räkna en och samma art på samma förstoring vid olika tillfällen.

Kvantitativ analys, ambitionsnivå 2 (antal celler per liter samt biovolym)

Utöver ambitionsnivå 1, mäts längd och bredd på cellerna så att biovolymen kan beräknas utifrån geometriska formler, t. ex sfär + kon eller motsvarande beroende på cellens form.

Provtagning och analys av picoplankton (celler mindre 2 µm)

Fluorescensmikroskop krävs för analys av picoplankton. Vid provtagningen fixeras provet med glutardialdehyd till en slutkoncentration om 2 %. Beroende på hur tätt provet är filtreras 5-30 ml prov. Vid kvantifiering rekommenderas att minst 10 synfält analyseras. Man kan analysera färre om man når ett antal om minst 300 celler. Analysen görs i 1000× förstoring. Eftersom olika alger innehåller mer eller mindre unika sammansättningar av pigment, utnyttjar de ljus i olika våglängdspektra. Därför får de också olika färger beroende på det ljus som inte tas upp. På detta sätt kan man se skillnad på om organismerna är cyanobakterier eller växtplankton. I blått ljus lyser phycoerythrin-rika cyanobakterier gult, medan växtplankton som innehåller mycket klorofyll *a* lyser rött.