

WYTYCZNE METODYCZNE

do przeprowadzenia badań fitoplanktonu

i oceny stanu ekologicznego rzek na jego podstawie



Praca sfinansowana ze środków Narodowego Funduszu Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej na podstawie umowy nr 406/2010/Wn-07/MN-BD/D na dofinansowanie państwowej jednostki budżetowej w formie przekazania środków na cele nieinwestycyjne z dnia 20.08.2010 r.



WARSZAWA, GIOŚ

LISTOPAD 2012

SPIS TREŚCI

WSTĘP	3
1. CHARAKTERYSTYKA TYPÓW RZEK	3
FITOPLANKTONOWYCH	
2. STANOWISKO BADAWCZE	6
2.1. WYBÓR PUNKTÓW POMIAROWO-KONTROLNYCH W	6
JEDNOLITYCH CZĘŚCIACH WÓD POWIERZCHNIOWYCH	
[JCWP].	
2.2. WYBÓR STANOWISKA	6
3. NIEZBĘDNY SPRZĘT TERENOWY	6
4. TERMIN I CZĘSTOTLIWOŚĆ POBORU PRÓBEK	7
5. CHARAKTERYSTYKA STANOWISKA	7
5.1. PARAMETRY FIZJOGRAFICZNE STANOWISKA	7
5.2. PARAMETRY FIZYCZNO-CHEMICZNE WODY	7
6. METODY POBORU I POSTĘPOWANIE Z PRÓBKAMI	8
6.1. CHLOROFIL <i>a</i>	8
6.2. FITOPLANKTON	8
6.3. FRAKCJA OKRZEMKOWA	9
7. ANALIZA FITOPLANKTONU	9
7.1. SPRZĘT	9
7.2. PRZYGOTOWANIE MIKROSKOPU	10
7.3. PRZYGOTOWANIE PRÓBEK DO ANALIZY	10
7.4. ANALIZA JAKOŚCIOWA – SKŁAD TAKSONOMICZNY	11
7.5. OKREŚLANIE LICZEBNOŚCI FITOPLANKTONU	13
7.6. FRAKCJA OKRZEMKOWA – PREPARATYKA I	14
OPRACOWANIE	
7.7. ANALIZA ILOŚCIOWA – OBLICZANIE BIOMASY	16
(BIOOBJĘTOŚCI)	
8. METODA OCENY STANU EKOLOGICZNEGO	20
RZEKI W OPARCIU O ZBIOROWISKO	
FITOPLANKTONU	
8.1. WYLICZANIE INDEKSU FITOPLANKTONOWEGO IFPL	20
8.2. FORMAT BAZODANOWY	22
PROTOKÓŁ TERENOWY	25
LITERATURA	26

Dane kontaktowe autorów:

Joanna Picińska-Fałtynowicz, joanna.faltynowicz@imgw.pl
Jan Błachuta, jan.blachuta@imgw.pl

WSTĘP

W największych polskich rzekach nizinnych, w toni wodnej rozwija się zbiorowisko fotoautotroficznych organizmów – fitoplankton, który w świetle Definicji Normatywnych tzw. Ramowej Dyrektywy Wodnej (Dyrektywa 2000/60/WE) obowiązującej w krajach członkowskich Unii Europejskiej, jest jednym z biologicznych elementów jakości uwzględnianym w ocenie stanu ekologicznego tych rzek. Na podstawie fitoplanktonu można ocenić żyzność wód rzeki, która jest skutkiem działania jednej z najistotniejszych presji, tzn. nadmiernego dopływu, z różnych źródeł, nieorganicznych związków fosforu i azotu czyli nutrientów. W Polsce opracowano metodę oceny stanu ekologicznego dużych rzek w oparciu o fitoplankton jako zbiorowisko wskaźnikowe trofii wód, w odróżnieniu od potoków i małych rzek, dla których zbiorowiskiem wskaźnikowym jest fitobentos.

Niniejszy przewodnik określa zasady poboru i opracowania próbek fitoplanktonu i chlorofilu a z rzek fitoplanktonowych oraz zasady obliczania multimetrycznego indeksu fitoplanktonowego IFPL, na podstawie którego jest oceniany stan ekologiczny największych polskich rzek zgodnie z wytycznymi Ramowej Dyrektywy Wodnej.

1. CHARAKTERYSTYKA TYPÓW RZEK FITOPLANKTONOWYCH

Polskie rzeki fitoplanktonowe są reprezentowane przez pięć typów abiotycznych: typ 19 – rzeka nizinna piaszczysto-gliniasta; typ 20 – rzeka nizinna żwirowa; typ 21 – wielka rzeka nizinna; typ 24 – rzeka w dolinie zatorfionej i typ 25 – rzeka łącząca jeziora. Do rzek fitoplanktonowych należą także silnie zmienione odcinki wymienionych wyżej typów rzek. Generalnie, rzekami planktonowymi są wszystkie rzeki typu 21, natomiast w przypadku typów 19, 20, 24 i 25, tylko rzeki o powierzchni zlewni powyżej 5000 km². W rzekach silnie zmienionych może się rozwijać fitoplankton nawet przy mniejszej powierzchni zlewni.

Krótką abiotyczną charakterystyką rzek fitoplanktonowych (Błachuta i in. 2010) jest przedstawiona poniżej.

Typ 19. Rzeka nizinna piaszczysto-gliniasta (dotyczy rzek o zlewni powyżej 5 tys. km²)

Utwory powierzchniowe: żwiry polodowcowe i piaski, gliny piaszczyste, sandry, lessy i lessopodobne, w rozległych terasach o szerokości > 300 m.

Wielkość zlewni: 5000 – 10 000 km².

Wysokość < 200 m n.p.m.

Opis morfologiczny: w płaskich dolinach synklinalnych lub szerokich skrzynkowych, bieg kręty do meandrującego.

Substrat dna: piasek różnej grubości lub glina, często dodatkowo żwiry, rzadziej ropy lub margle.

Spadek koryta: 0,2-2 ‰, rzadko > 2 ‰.

Prędkość przepływu: niewielka, ruch wody laminarny, lokalnie turbulentny, zmienność objętości przepływu umiarkowana lub średnia.

Przewodnie cechy fizyczno-chemiczne wody: przewodnictwo elektryczne 400-800 $\mu\text{S}/\text{cm}$; odczyn pH 7,5-8,5; twardość węglanowa 100-305 mg CaCO_3/l , twardość ogólna 140-360 mg CaCO_3/l .

Rzeki nizinne piaszczysto-gliniaste powstają z połączenia potoków typu 16, 17 lub 18 albo z przekształcenia typów 8, 9, 14 lub 15 po ich wpłynięciu w obszar nizin o małych spadkach zlewni. Występują w całej Polsce.

Typ 20. Rzeka nizinna żwirowa (dotyczy rzek o zlewni powyżej 5 tys. km^2)

Utwory powierzchniowe: żwiry polodowcowe, piaski ze żwirami na obszarach staroglacjalnych (wariant krzemianowy), moreny młodoglacjalne (wariant węglanowy), żwirowe terasy o szerokości > 300 m.

Wielkość zlewni: 5000 – 10 000 km^2 .

Wysokość < 200 m n.p.m.

Opis morfologiczny: w dolinach synklinalnych, bieg, w zależności od spadku, od lekko krętego do meandrującego; silna erozja boczna, niewielka denną (gruboziarnisty substrat), przekrój poprzeczny zwykle płytki, szeroki; brzegi na łukach wklęsłych wysokie i strome, na łukach wypukłych płaskie z odsypiskami żwirowymi.

Substrat dna: żwir różnej wielkości z grubym piaskiem, rzadziej z glinami i kamieniami.

Spadek koryta: <0,5-2 ‰.

Prędkość przepływu: duża, ruch wody turbulentny.

Zmienność objętości przepływu: umiarkowana lub średnia.

Przewodnie cechy fizyczno-chemiczne wody: dla wariantu krzemianowego – przewodnictwo elektryczne < 440 $\mu\text{S}/\text{cm}$; odczyn pH < 7,5; twardość węglanowa < 110 mg CaCO_3/l , twardość ogólna < 145 mg CaCO_3/l ; dla wariantu węglanowego: przewodnictwo elektryczne 500-800 $\mu\text{S}/\text{cm}$; odczyn pH 7,5-8,5; twardość węglanowa 140-180 mg CaCO_3/l , twardość ogólna 210-325 mg CaCO_3/l .

Rzeki nizinne żwirowe powstają z połączenia potoków typu 18, rzadziej 17 lub po wpłynięciu rzek typu 8, 9, 10, 14 lub 15 w obszar nizin. Występują głównie na obszarze Pojezierza Wschodniobałtyckiego, Pojezierzy Południowobałtyckich i Nizin Sasko-Łużyckich.

Typ 21. Wielka rzeka nizinna

Utwory powierzchniowe: terasy rzeczne (aluwia) o szerokości > 300 m.

Wielkość zlewni > 10 000 km^2 .

Wysokość < 200 m n.p.m.

Opis morfologiczny: w rozległych terasach zalewowych, dolina płaska (z reguły w pradolinach), bieg od krętego do meandrującego. Koryto często rozgałęzione; możliwe starorzeczka, boczne koryta, wyspy, łachy i odsypiska

Substrat dna: piaski (dominujące), z towarzyszącymi żwirami, ropy i materiałem organicznym.

Spadek koryta: <0,5, najczęściej < 0,1 ‰.

Prędkość przepływu: duża, ruch wody laminarny, lokalnie turbulentny.

Zmienność objętości przepływu: trzy warianty związane z nieregularnością przepływu: małe wahania ($\text{WQ}/\text{NQ} < 10$), średnie wahania ($\text{WQ}/\text{NQ} = 10 - 15$) i duże wahania ($\text{WQ}/\text{NQ} > 15$).

Przewodnie cechy fizyczno-chemiczne wody: przewodnictwo elektryczne 500-850 $\mu\text{S}/\text{cm}$; odczyn pH 8,0-8,5.

Wielkie rzeki nizinne powstają z połączenia różnego typu rzek. Do tego typu należą: Wisła, Odra, Warta, Narew i Bug w środkowych i dolnych biegach oraz San i Noteć – tylko w dolnych biegach.

Typ 24. Rzeka w dolinie zatorfionej (dotyczy rzek o zlewni powyżej 5 tys. km^2)

Utwory powierzchniowe: zatorfione terasy rzeczne > 300 m, obszary zatorfione na sandrach oraz pradoliny.

Wielkość zlewni: 5000 – 10 000 km^2 .

Wysokość < 200 m n.p.m.

Opis morfologiczny: w szerokich płaskich dolinach skrzynkowych. bieg kręty do meandrującego, z tendencją do rozgałęziania koryta, liczne starorzecza

Substrat dna: dominuje materiał organiczny, z domieszką piasków lub żwirów z piaskiem, lokalnie występują kamienie, żwiry lub iły.

Spadek koryta: < 1‰.

Prędkość przepływu: mała, ruch wody laminarny, lokalnie odcinki z dnem żwirowym lub piaszczystym, wówczas ruch wody turbulentny.

Zmienność objętości przepływu: nieznaczna lub średnia; przy wysokich stanach wody duże obszary zalewowe.

Przewodnie cechy fizyczno-chemiczne wody: możliwe dwa warianty: kwaśny i zasadowy (obojętny); dla wariantu kwaśnego: przewodnictwo elektryczne 350-500 $\mu\text{S}/\text{cm}$; odczyn pH 6,5 - 7,5; twardość węglanowa 50-110 $\text{mg CaCO}_3/\text{l}$, twardość ogólna 100-200 $\text{mg CaCO}_3/\text{l}$; dla wariantu zasadowego: przewodnictwo elektryczne 550-800 $\mu\text{S}/\text{cm}$; odczyn pH 7,5 - 8,0; twardość węglanowa 140-250 $\text{mg CaCO}_3/\text{l}$, twardość ogólna 190-450 $\text{mg CaCO}_3/\text{l}$; woda z dużą zawartością substancji humusowych, często o zabarwieniu brązowym.

Rzeki w dolinie zatorfionej powstają z połączenia potoków typu 23, rzadziej 17 lub 18. Występują głównie na Polesiu, Wysoczyźnie Podlasko-Białoruskiej, na Nizinach Środkowopolskich oraz Pobrzeżu Południowobałtyckim.

Typ 25. Rzeka łącząca jeziora (dotyczy rzek o zlewni powyżej 5 tys. km^2)

Utwory powierzchniowe: obszary pojezierzy młodoglacjalnych.

Wielkość zlewni: < 1000 km^2 .

Wysokość < 200 m n.p.m.

Opis morfologiczny: odcinki rzek płynące doliną łączącą dawniej jeziora – wtedy podobne do typu 17 i 19 lub 23 i 24 lub doliną rozdzielającą jeziora – wtedy mogą występować odcinki przełomowe o dużej prędkości przepływu i są podobne do typu 18 lub 20.

Substrat dna: duży udział osadów drobnoziarnistych o dużej miąższości (kreda jeziorna), z domieszką piasków i materii organicznej.

Spadek koryta: < 1-5‰.

Prędkość przepływu: mała, ruch wody laminarny, lokalnie odcinki z dnem żwirowym lub piaszczystym, wówczas ruch wody turbulentny.

Zmienność objętości przepływu: nieznaczna.

Przewodnie cechy fizyczno-chemiczne wody: przewodnictwo elektryczne 500-600 $\mu\text{S}/\text{cm}$; odczyn pH 7,0 - 8,5; twardość węglanowa 180-360 $\text{mg CaCO}_3/\text{l}$, twardość ogólna 215-500 $\text{mg CaCO}_3/\text{l}$.

Obszary występowania rzek łączących jeziora to Pojezierza Południowobałtyckie oraz Pojezierze Wschodniobałtyckie.

2. STANOWISKO BADAWCZE

2.1. WYBÓR PUNKTÓW POMIAROWO-KONTROLNYCH W JEDNOLITYCH CZĘŚCIACH WÓD POWIERZCHNIOWYCH [JCWP].

1). W jednej jednolitej części wód powierzchniowych powinien być jeden punkt pomiarowo-kontrolny [PPK], nawet w JCWP mierzących ponad sto km. Wyjątek od tej reguły jest dopuszczalny tylko wtedy, kiedy długa JCWP jest poddana niejednakowej presji, np. górna połowa JCWP ma słabe presje, a w części środkowej jest duże źródło zanieczyszczeń. Należy wówczas zaprojektować dwa PPK. Uzyskanie odmiennych ocen w obu PPK stanowi bardzo ważną przesłankę do zmiany wydzielenia JCWP.

2) PPK powinny być lokalizowane w końcowym odcinku JCWP, a nie na jej początku. Niekoniecznie muszą być dokładnie na końcu JCWP, ale powinny być w jej dolnym odcinku. Jeżeli jest taka możliwość, stanowiska do poboru fitoplanktonu należy wyznaczać na mostach. Ułatwia to poprawne pobranie próbek ze środka nurtu.

2.2. WYBÓR STANOWISKA

Stanowisko badawcze w określonym PPK należy wyznaczyć w miejscu reprezentatywnym dla danej części wód. Nieodpowiednie do poboru fitoplanktonu są odcinki rzek sztucznie poszerzone, pogłębione i umocnione (baseny portowe, śluzy, miejsca bezpośrednio przed i za progami wodnymi, itp., bowiem prędkość przepływu jest w tych miejscach zmieniona i może powodować warstwowanie lub sedymentację organizmów planktonowych. Dopuszczalne są miejsca, w których koryto rzeki jest poszerzone nie więcej niż dwukrotnie i pogłębione nie więcej niż o 1/3. Jeżeli PPK jest wyznaczony na moście, próbki należy pobierać od strony przeciwnej prądowi wody, tzn. „twarzą do prądu”.

3. NIEZBĘDNY SPRZĘT TERENOWY

Do poboru próbek należy przygotować:

- 1) Czerpacz wody: Bernatowicza, Friedingera, Ruttnera lub van Derna (PN C-05550-02:1986, PN-EN 25667-2. 1999, PN-EN ISO 5667-6:2003);
- 2) Pojemniki na próbki wody do analiz chemicznych, do oznaczenia chlorofilu a, do fitoplanktonu oraz do frakcji okrzemkowej fitoplanktonu; pojemniki powinny być szklane, ze szczelnym korkiem, o pojemności 250-500 ml;
- 3) Etykiety do opisanie próbek;
- 4) Płyn Lugola do utrwalenia próbek fitoplanktonu;

- 5) Mierniki do pomiarów podstawowych parametrów fizyczno-chemicznych wody (nasycenie tlenem, pH, przewodność i temperatura);
- 6) Protokół terenowy;
- 7) Zestaw pierwszej pomocy.

4. TERMIN I CZĘSTOTLIWOŚĆ POBORU PRÓBEK FITOPLANKTONU

Fitoplankton rzeczny należy pobierać w każdym roku badawczym, w okresie sezonu wegetacyjnego, od marca do listopada włącznie, z częstotliwością miesięczną (w danym roku nie mniej niż 6 i nie więcej niż 8 próbek z każdego stanowiska). Jednocześnie z fitoplanktonem, należy pobrać próbki na badanie stężenia chlorofilu a w wodzie oraz analizę fizyczno-chemiczną.

5. CHARAKTERYSTYKA STANOWISKA

5.1. PARAMETRY FIZJOGEOGRAFICZNE STANOWISKA

Charakterystyka fizjogeograficzna stanowiska jest sporządzana jednokrotnie i powinna zawierać następujące parametry:

1. Wysokość n.p.m. [m];
2. Odległość od źródła [km]
3. Powierzchnia zlewni [km²];
4. Współrzędne geograficzne: długość i szerokość geograficzna, wyrażone w stopniach, dziesiętnych stopni do 6 miejsc po przecinku.

5.2. PARAMETRY FIZYCZNO-CHEMICZNE WODY

Są mierzone przy każdym poborze próbek.

W trakcie poboru należy zmierzyć następujące parametry:

1. Temperatura wody;
2. Tlen;
3. Odczyn pH;
4. Przewodność elektryczna właściwa.

Jednocześnie z poborem fitoplanktonu, należy pobrać wodę do określenia następujących parametrów:

1. Stężenie chlorofilu a;
2. Fosfor ogólny;

3. Fosforany;
4. Azot ogólny;
5. Azot azotanowy;
6. Chlorki;
7. Twardość ogólna;
8. Zasadowość
9. Barwa
10. Ogólny węgiel organiczny.

Wyniki pomiarów/analiz wszystkich parametrów są wprowadzane do formatu bazodanowego (podrozdział 8.2.)

6. METODY POBORU I POSTĘPOWANIE Z PRÓBKAMI

6.1. CHLOROFIL *a*

Próbkę wody na oznaczenie stężenia chlorofilu *a* należy pobrać jednocześnie z pozostałymi próbkami (fitoplanktonu i do analiz chemicznych. Oznaczenie chlorofilu *a* wykonujemy zgodnie z wytycznymi zawartymi w normie: PN-ISO-10260:2002.

6.2. FITOPLANKTON

Próbki wody na fitoplankton należy pobierać odpowiednimi czerpaczami (por. rozdz. 3), z głębokości 0,5 m ze środka głównego nurtu. W przypadku widocznych zakwitów na powierzchni wody, np. oleistych zielono-niebieskich plam sinicowych i widzialności mniejszej niż 1 m, należy pobrać drugą próbkę z powierzchni i zmieszać z próbką z głębokości 0,5 m.

Próbki wody do analizy fitoplanktonu i na zawartość chlorofilu *a* muszą pochodzić z tego samego zaczerpnienia.

Pojemnik napełniamy wodą tylko do 80% objętości, aby można było dodać środka utrwalającego oraz dobrze wymieszać próbkę. Probki powinny mieć objętość 500 ml. W zależności od rzeki, na początku (marzec, kwiecień) i przy końcu (październik, listopad) sezonu wegetacyjnego może zaistnieć konieczność pobrania próbek o większej objętości: 750 – 1000 ml. Każda zebrana próbka musi być zaopatrzona w etykietę z nazwą stanowiska, datą poboru i typem zbiorowiska = fitoplankton (FPL).

Próbkę utrwalamy alkalicznym płynem Lugola w ilości 0,5 – 1 ml (10 – 20 kropli) roztworu na 200 ml próbki (PN-EN ISO 5667-3. 2005), do uzyskania barwy ciemnożółtej

(koniakowej). W czasie transportu próbki nie mogą być wystawione na bezpośrednie działanie promieni słonecznych i w miarę możliwości nie powinny być narażone na wstrząsy. Utrwalone płynem Lugola próbki powinny być przechowywane w chłodzie (1°C - 4°C) i w ciemności, maksymalnie przez 6 miesięcy od daty zebrania, w pozycji pionowej. Należy je co pewien czas przeglądać, jeśli ulegają odbarwieniu (nieszczelne zamknięcie butelki umożliwia dyfuzję jodu), ponownie dodać płynu Lugola aż do uzyskania odpowiedniej barwy.

Alkaliczny płyn Lugola z octanem sodu

10 g jodku potasu rozpuścić w 20 ml wody i dodać 5 g jodu (podwójnie sublimowanego). Następnie uzupełnić 50 ml wody i dodać 5 g octanu sodu. Przechowywać w pojemniku z ciemnego szkła, zamykanym szczelnym korkiem na szlif.

6.3. FRAKCJA OKRZEMKOWA

Jednocześnie z próbką fitoplanktonu, należy pobrać próbkę bliźniaczą, która po odpowiednim przygotowaniu, posłuży do sporządzenia trwałych preparatów okrzemkowych. Próbkę okrzemkową utrwała się również płynem Lugola i przechowuje w ten sam sposób jak próbki fitoplanktonu.

7. ANALIZA FITOPLANKTONU

Analiza ilościowa i jakościowa fitoplanktonu powinna być przeprowadzona zgodnie z metodyką rekomendowaną dla krajów UE i przyjętą przez Polskę w 2006 roku, tzn. z użyciem mikroskopu odwróconego i cylindrycznych komór sedymentacyjnych (metoda Utermöhla) (PN-EN 15204:2006).

7.1. SPRZĘT

Niezbędne wyposażenie do określenia składu taksonomicznego i liczebności fitoplanktonu obejmuje:

- Mikroskop odwrócony: okulary o powiększeniu 10x lub 12,5x; obiektywy o powiększeniu 10x, 20x, 40x i 100x (zalecany);
- Mikrometr okularowy liniowy z działką elementarną 0,1 mm, okular mikrometryczny (siatka mikrometryczna okularowa, podzielona na 200 kwadratów) i mikrometr przedmiotowy;
- Komory sedymentacyjne cylindryczne Utermöhla z odpowiednio dopasowanymi szkiełkami (grubości 0,16 – 0,20 mm) stanowiącymi dno komory;

- Szkiełka nakrywkowe (42 mm x 42 mm, o grubości 1,2 mm) do zamknięcia komór po sedymentacji;
- Cylindry sedymentacyjne o pojemności 2, 10, 20, 25 i 50 ml z dopasowaną przykrywką;
- Kamera do mikrofotografii, komputer i program analizy obrazu.

7.2. PRZYGOTOWANIE MIKROSKOPU DO ANALIZY

Przed przystąpieniem do analizy próbki, należy wyskalować obiektywy mikroskopu:

- wyznaczyć dla mikrometru okularowego liniowego i każdego z obiektywów, używając mikrometru przedmiotowego, współczynniki mikrometryczne służące do przeliczenia wykonanych pod mikroskopem pomiarów organizmów na wartości rzeczywiste wyrażone w μm ; dla każdego obiektywu współczynnik mikrometryczny jest inny;
- wyznaczyć dla siatki mikrometrycznej okularowej i każdego z obiektywów szerokości 1, 2 lub więcej kratek służących do liczenia osobników fitoplanktonu w przypadku dużej ich liczby;
- wyznaczyć średnicę pól widzenia obiektywów potrzebnych do określenia szerokości pasa do liczenia osobników fitoplanktonu z powierzchni 1 cm^2 komory;
- określić liczbę pasów na powierzchni 1 cm^2 dla każdego obiektywu.

7.3. PRZYGOTOWANIE PRÓBEK DO ANALIZY

Ilość organizmów fitoplanktonowych w zebranej próbce zmienia się wyraźnie w zależności od terminu poboru i typu rzeki. W związku z tym, należy dobrać odpowiedniej wielkości cylinder sedymentacyjny i czas sedymentacji (Tab.1).

Tabela 1. Czas sedymentacji próbek fitoplanktonu utrwalonych płynem Lugola

Objętość cylindra [ml]	Wysokość cylindra [cm]	Czas sedymentacji [godz.]
2	1	4
10	2	8
20	4	16
25	4,5	18
50	9,5	38

Pomocną informacją przy doborze wielkości cylindrów sedymentacyjnych jest zawartość chlorofilu a w wodzie pobranej jednocześnie z próbką fitoplanktonu, odzwierciedlająca biomasę fitoplanktonu (Tab. 2) (Mischke i in. 2005, za Hoehn i in. 1998).

Tabela 2. Dobór cylindra sedymentacyjnego w zależności od zawartości chlorofilu a

Zawartość chlorofilu a [$\mu\text{g/l}$]	Objętość komory sedymentacyjnej [ml]
0 – 0,5	2 x 50
0,5 – 2	50
2 – 5	25
5 – 10	10
.> 10	Próbkę należy rozcieńczyć

W przypadku gęstej próbki, można napełnić nią bezpośrednio komorę, bez uprzedniego rozcieńczenia, niemniej przed przystąpieniem do analizy należy sprawdzić, czy organizmy są rozłożone równomiernie. Zbijanie się osobników glonów utrudnia poprawne ich zliczenie, a ma miejsce szczególnie w przypadku prób obfitujących w formy nitkowate, głównie sinic i okrzemek. Jeśli takie zjawisko występuje, próbkę należy rozcieńczyć.

Rozcieńczanie próbki

Do cylindra miarowego wlewamy jedną część dobrze wymieszanej próbki i dodajemy określoną liczbę części wody, w zależności od tego ile krotnie próbka ma być rozcieńczona; należy użyć wody przegotowanej i ostudzonej lub wody odstanej, ale nie destylowanej (spowoduje uszkodzenia komórek na skutek zmiany ciśnienia osmotycznego).

Cylinder sedymentacyjny należy napełnić dobrze wymieszaną próbką aż do jego przelania w taki sposób, aby nie było w nim pęcherzyków powietrza, a następnie przykryć.

W przypadku obecności cyjanobakterii planktonowych zawierających aerotpy (*Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Planktothrix*) które powodują, że ciężar właściwy sinic jest mniejszy niż wody i w związku z tym zbierają się one na powierzchni, próbkę należy poddać krótkiemu (ok. 20 sekund) działaniu ultradźwięków lub dodać etanolu. Oba sposoby powodują zniszczenie aerotopów i opadanie sinic w komorze sedymentacyjnej.

7.4. ANALIZA JAKOŚCIOWA – SKŁAD TAKSONOMICZNY

Celem analizy fitoplanktonu z rzeki jest określenie stanu ekologicznego tej rzeki w danym punkcie monitoringowym, dlatego nie jest konieczna bardzo dokładna identyfikacja wszystkich występujących glonów. **Wymagana jest dokładność oznaczania zgodna z listą taksonów wskaźnikowych** (Tab. 3).

Tabela 3. Lista taksonów wskaźnikowych fitoplanktonu rzecznego; T – wartość troficzna taksonu, wT – wartość wagi.

TAKSON	T	wT
<i>Achnantheidium minutissimum</i> [kompleks]	2,3	1,00
<i>Actinastrum</i> , <i>Ankistrodesmus</i> , <i>Kirchneriella</i> , <i>Monoraphidium</i>	4,2	0,50
<i>Actinocyclus normanii</i>	4,0	1,00
<i>Amphora</i> (bez <i>A. pediculus</i> i <i>A. ovalis</i>)	2,0	1,00
<i>Anabaena</i> (<i>circinalis</i> , <i>compacta</i> , <i>crassa</i> , <i>flos-aquae</i> ; <i>lemmermanii</i> , <i>planctonica</i> , <i>solitaria</i> , <i>spiroides</i>)	4,6	1,00
<i>Aphanizomenon</i>	4,6	1,00
<i>Asterionella formosa</i>	2,1	1,00
<i>Aulacoseira</i> (<i>ambigua</i> , <i>islandica</i> , <i>muzzanensis</i> , <i>subarctica</i>)	4	0,50
<i>Aulacoseira</i> (pozostałe)	3,2	0,50
<i>Aulacoseira granulata</i>	3,0	0,50
<i>Botryococcus</i>	3,6	1,00
<i>Ceratium</i>	1,2	1,00
<i>Chlamydomonales/Volvocales</i>	2,3	1,00
<i>Chrysophyceae</i> duże $\geq 10\mu\text{m}$	1,8	1,00
<i>Chrysophyceae</i> małe $< 10\mu\text{m}$	1,1	1,00
<i>Cocconeis placentula</i>	2,1	1,00
<i>Coelastrum</i>	3,4	0,50
<i>Crucigenia/Crucigeniella</i>	4,4	0,50
<i>Cryptomonas</i>	3,2	1,00
<i>Cyclostephanos</i> (pozostałe)	4,2	0,50
<i>Cyclostephanos dubius</i>	3,4	0,50
<i>Cyclostephanos invisitatus</i>	2,0	1,00
<i>Cyclotella</i> [pozostałe]	3,3	0,50
<i>Cyclotella glomerata</i>	2,1	1,00
<i>Cyclotella meneghiniana</i>	3,5	0,25
<i>Cyclotella ocellata</i>	3,2	0,25
<i>Cyclotella striata</i>	3,2	0,50
<i>Cymatopleura elliptica</i>	2,0	1,00
<i>Cymatopleura solea</i>	1,1	1,00
<i>Desmodesmus armatus</i>	4,5	0,50
<i>Desmodesmus communis</i> /D. <i>opoliensis</i>	4,6	1,00
<i>Diatoma tenuis</i>	3,1	0,50
<i>Diatoma vulgare</i>	2,3	1,00
<i>Dictyosphaerium</i>	4,3	1,00
<i>Discostella pseudostelligera</i>	3,3	0,50
<i>Discostella stelligera</i>	1,7	0,50
<i>Euglena/Lepocinclis</i>	2	1,00
<i>Fragilaria</i> [pozostałe] + <i>Staurosira construens</i>	1,7	1,00
<i>Fragilaria crotonensis</i>	1,4	1,00
<i>Gomphonema/Rhoicosphenia</i>	2,4	1,00
<i>Kephyrion/Pseudokephyrion</i>	2,6	1,00
<i>Melosira varians</i>	2,7	0,50
<i>Microcystis</i>	4,6	1,00
<i>Navicula</i> [pozostałe] + <i>Craticula/Hippodonta/Luticola/Sellaphora</i>	2,2	1,00
<i>Navicula gregaria</i>	2,4	1,00
<i>Navicula lanceolata</i>	2,1	1,00

<i>Navicula menisculus</i>	2,0	1,00
<i>Nitzschia</i> [pozostałe]	3,6	0,50
<i>Nitzschia acicularis</i>	3,5	0,50
<i>Nitzschia fonticola</i>	4,2	0,50
<i>Nitzschia sigmoidea</i>	2,4	1,00
Okrzemki centryczne o średnicy <20 µm	3,2	0,50
Okrzemki centryczne o średnicy ≥20 µm	3,0	0,50
<i>Oocystis</i>	4,3	0,50
<i>Oscillatoriales</i> [bez <i>Planktothrix</i>]	4,2	1,00
<i>Pediastrum</i>	4,8	1,00
<i>Peridinales</i>	3,2	0,50
<i>Planktothrix</i> [pozostałe]	4,9	1,00
<i>Planktothrix rubescens</i>	1,2	0,25
<i>Planktothrix agardhii</i>	4,9	1,00
<i>Planothidium frequentissimum</i> + <i>lanceolatum</i>	2,3	1,00
<i>Rhodomonas</i>	1,6	0,75
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	5,0	1,00
<i>Scenedesmus/Desmodesmus</i> (pozostałe)	3,5	0,50
<i>Skeletonema</i>	4,6	0,50
<i>Sphaerocystis/Planktosphaeria/Eutetramorus</i>	4,4	1,00
<i>Staurastrum</i>	4,0	0,50
<i>Stephanodiscus</i> (pozostałe)	3,5	1,00
<i>Stephanodiscus hantzschii</i>	2,3	0,50
<i>Stephanodiscus minutulus</i>	1,4	1,00
<i>Stephanodiscus neoastrea</i>	3,4	0,50
<i>Surirella</i>	2,0	1,00
<i>Tabellaria</i>	2,1	1,00
<i>Tetraedron/Tetrastrum</i>	4,2	0,50
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	3,7	0,25
<i>Thalassiosira weissflogii</i>	5,0	0,25
<i>Trachelomonas</i>	2,4	1,00
<i>Ulnaria acus</i>	1,2	1,00
<i>Ulnaria delicatissima</i> var. <i>angustissima</i>	2,8	1,00
<i>Ulnaria ulna</i>	1,7	1,00

Taksony fitoplanktonu rzeczny należy oznaczyć do poziomu przedstawionego w powyższym wykazie opierając się na opracowaniu „Klucz do identyfikacji organizmów planktonowych z rzek i jezior dla celów badań monitoringowych części wód powierzchniowych w Polsce” (Picińska-Fałtynowicz i Błachuta 2012).

7.5. OKREŚLANIE LICZEBNOŚCI FITOPLANKTONU

Liczebność pojedynczego taksonu w próbce (liczba osobników/ml) wylicza się według wzoru:

$$L = IK/vC$$

gdzie:

IK – Liczba zliczonych osobników x wielkość całkowitej powierzchni komory [$n \times mm^2$]

vC – Objętość cylindra sedymentacyjnego x powierzchnia przeliczonych pól [ml x mm²]

Liczebność całkowita fitoplanktonu jest sumą liczebności wszystkich uwzględnionych w analizie taksonów.

7.6. FRAKCJA OKRZEMKOWA – PREPARATYKA I OPRACOWANIE

Okrzemki centryczne stanowią najważniejszą grupę fitoplanktonu rzecznego, a ich gatunki mają wysoką wartość indykacyjną. Większości z nich nie można dobrze oznaczyć w komorze pod mikroskopem odwróconym, bowiem podstawowe cechy identyfikacyjne (ornamentacja) są słabo widoczne lub w ogóle niewidoczne. Dlatego też, niezbędne jest wykonanie preparatów trwałych z wytrawionych okryw okrzemek, zamkniętych w ośrodku o wysokim współczynniku załamania światła, które umożliwiają dokładne oznaczenie gatunków.

OCZYSZCZANIE OKRZEMEK ma na celu pozabawienie ich komórek treści organicznej i uzyskanie czystych pancerzyków, których kształt, wielkość i ornamentacja są cechami taksonomicznymi. Metody oczyszczania polegają na stosowaniu silnych utleniaczy na zimno lub gorąco, najczęściej nadtlenu wodoru, rozcieńczonego kwasu chlorowodorowego lub stężonego kwasu siarkowego. Proces oczyszczania okrzemek musi być przeprowadzony pod digestorium. Dokładne zasady postępowania są zawarte w normie PN-EN 13946:2006. Do przygotowania oczyszczonego materiału okrzemkowego należy użyć całej próbki „bliźniaczej” lub jej części, po uprzednim jej zagęszczeniu.

PREPARATY TRWAŁE wykonuje się z oczyszczonego materiału, stosując ośrodki o wysokim współczynniku załamania światła (np. Naphrax). Dobrze wykonany preparat powinien zawierać równomiernie rozłożone okrywy, od 10 do 15 w polu widzenia przy powiększeniu 1000x. Dokładne zasady wykonania preparatów trwałych są zawarte w wyżej wzmiankowanej normie.

OKREŚLANIE LICZEBNOŚCI WZGLĘDNEJ OKRZEMEK W PREPARATACH TRWAŁYCH

Przeliczanie w przygotowanych preparatach trwałych należy przeprowadzać w mikroskopie prostym, w świetle przechodzącym, pod największym powiększeniem, z użyciem obiektywu immersyjnego 100x. Należy przeliczyć około 400 okryw, przeglądając kolejne pasy wzdłuż lub w poprzek szkiełka nakrywkowego. Należy oznaczyć i przeliczyć przede wszystkim te taksony okrzemek, które w trakcie analizy fitoplanktonu w mikroskopie odwróconym zostały zaklasyfikowane do dwóch grup:

CENTRYCZNE D = OKRZEMKI CENTRYCZNE > 20 μm (okrzemki centryczne o średnicy okrywy większej niż 20 μm) i

CENTRYCZNE M = OKRZEMKI CENTRYCZNE < 20 μm (okrzemki centryczne o średnicy okrywy mniejszej niż 20 μm).

Inaczej mówiąc, analiza preparatu trwałego ma umożliwić identyfikację gatunków wskaźnikowych dla indeksu trofii fitoplanktonu, z rodzajów: *Actinocyclus*, *Aulacoseira*, *Cyclotella*, *Cyclostephanos*, *Discostella*, *Stephanodiscus* i *Thalassiosira*. Gatunki te mają różne wartości indykacyjne i dlatego wartość indeksu trofii jest dokładniejsza, gdy uwzględnia się gatunki niż w przypadku, gdy w obliczeniach poprzestaniemy na grupach zbiorczych.

Jeśli w analizie pod mikroskopem odwróconym stwierdzono też okrzemki z rodzajów *Achnantheidium*, *Fragilaria*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Planothidium* i *Ulnaria*, to w preparacie trwałym należy również dokładnie oznaczyć gatunki wskaźnikowe.

Zliczanie okryw fitoplanktonowych okrzemek wskaźnikowych wykonuje się w następujący sposób:

- przeliczyć ± 400 okryw wzdłuż pasa pod powiększeniem 1000x, czyli z użyciem obiektywu immersyjnego 100x;
- jeśli przejście jednego pasa nie dało wymaganej liczby okryw, należy przejść do następnego, przesuając pole widzenia o więcej niż jeden skok;
- obliczyć udziały procentowe poszczególnych gatunków w grupach:

CENTRYCZNE D,

CENTRYCZNE M,

***Planothidium lanceolaum*,**

***Achnantheidium minutissimum*,**

***Ulnaria*,**

***Navicula*,**

***Nitzschia*;**

- uzyskane wyniki przenieść na wartości liczebności uzyskane z analizy fitoplanktonu pod mikroskopem odwróconym.

PRZYKŁAD

Wynik analizy FITOPLANKTONU pod mikroskopem odwróconym (liczebność)

CENTRYCZNE D – 10400

CENTRYCZNE M – 32500

Wynik analizy OKRZEMEK PLANKONOWYCH w preparacie trwałym (liczebność względna)

CENTRYCZNE D = 198 okryw (100%)

Cyclotella meneghiniana 43,4%

Cyclostephanos dubius 16,5%

Stephanodiscus neoastrea 40,1%

CENTRYCZNE M = 214 okryw (100%)

Cyclotella meneghiniana 53,7%

Cyclotella ocellata 25,8%

Discostella pseudostelligera 20,5%

Przeliczenie udziału % z preparatu trwałego na liczebność z mikroskopu odwróconego

CENTRYCZNE D = 10400 (100%)

Cyclotella meneghiniana 4513,6

Cyclostephanos dubius 1716

Stephanodiscus neoastrea 4170,4

CENTRYCZNE M = 32500 (100%)

Cyclotella meneghiniana 17452,5

Cyclotella ocellata 8385

Discostella pseudostelligera 6662,5

WYNIK OSTATECZNY

Cyclotella meneghiniana 21966

Cyclotella ocellata 8385

Cyclostephanos dubius 1716

Discostella pseudostelligera 6662

Stephanodiscus neoastrea 4171

7.7. ANALIZA ILOŚCIOWA – OBLICZANIE BIOMASY (BIOOBJĘTOŚCI)

Wynikiem ostatecznym analizy ilościowej fitoplanktonu powinna być jego bioobjętość wyrażona w mm³/l. Wyniki obliczonej bioobjętości dla każdego stwierdzonego w próbce taksonu wskaźnikowego wpisujemy do formatu bazodanowego (podrozdział 8.2). Przed przystąpieniem do wpisywania, taksony należy pogrupować zgodnie z listą (Tab. 3); dotyczy to wierszy, w których występują dwa taksony lub więcej o takiej samej wartości wskaźnikowej – ich bioobjętości należy zsumować, np. *Actinastrum*, *Ankistrodesmus*, *Monoraphidium*, *Kirchneriella* i wartość łącznej bioobjętości wpisać w odpowiednim wierszu matrycy.

Proces zliczania osobników glonów w próbce powinien traktować z taką samą poprawnością statystyczną zarówno organizmy małe jak i duże. Aby poprawnie uchwycić taksony wskaźnikowe, powinno się zliczyć minimum 15 taksonów w obrębie preparatu, których łączna bioobjętość będzie wynosiła ok. 90%, a każdy gatunek dominujący pod względem

biomasy będzie miał objętość powyżej 4%. Aby spełnić te wymagania, należy postępować następująco:

- Łącznie przeliczyć co najmniej 400 osobników, z rozróżnieniem na taksony o dużych komórkach lub kolonijne („duże”) i taksony o małych komórkach („małe”);
- Zliczyć taksony o dominującej biomacie, w tym przynajmniej po 60 osobników taksonów „małych” i co najmniej po 20 osobników taksonów „dużych” w jednym preparacie;
- Uwzględnić liczbę osobników innych taksonów, również gdy ich liczba jest poniżej dolnej granicy zliczania, tzn. jest mniej niż po 60 osobników „małych” i mniej niż po 20 osobników „dużych” taksonów;
- Liczenie należy przeprowadzić z użyciem przynajmniej dwóch różnych powiększeń: pod powiększeniem 400x dla gatunków „małych” i zliczyć co najmniej po 60 osobników dominantów z jednej małej powierzchni komory (zawsze są to 2 pasy, ale ich szerokość może być różna w zależności od mikroskopu) oraz pod powiększeniem 200x dla gatunków „dużych” i zliczyć z jednej dużej powierzchni (co najmniej $\frac{1}{4}$ komory) kolonie (np. *Fragilaria crotonensis*) lub komórki (np. *Ceratium*), przynajmniej po 20 osobników;
- Liczenie w klasach wielkości należy przeprowadzić przynajmniej dla taksonów dominujących (biomasą), które mają szerokie spektrum wielkości; dla tych taksonów, w protokole próbki należy wpisać klasy wielkości charakterystycznych wymiarów (np. średnica, długość czy szerokość) zmierzonych mikrometrem okularowym i zliczać osobniki w tych klasach; w wyniku końcowym te klasy zostaną zsumowane, ale są konieczne do wyliczenia objętości taksonów;
- Oznaczanie okrzemek: większość taksonów okrzemek, zwłaszcza o małych komórkach lub delikatnej ornamentacji, nie może być dokładnie zidentyfikowana w mikroskopie odwróconym (w komorze sedymentacyjnej), dlatego udział okrzemek należy wyliczyć jako liczebność względną w preparatach trwałych, z zachowaniem odpowiednich klas wielkości i uwzględnić proporcjonalnie w wyniku danej klasy wielkości uzyskanym ze zliczania w mikroskopie odwróconym (por. przykład powyżej);
- Objętość taksonu w próbce wylicza się w oparciu o objętość jednego osobnika, standardową lub indywidualnie wyliczoną przez analityka (na podstawie minimum 30 pomiarów), mnożąc ją przez zliczoną liczbę osobników danego taksonu;

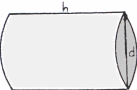
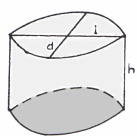
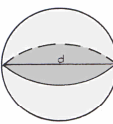
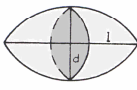
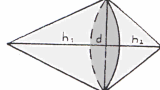
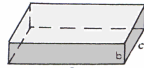
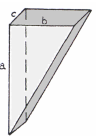
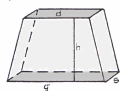
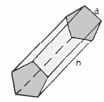
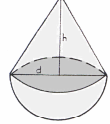
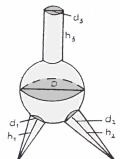
objętość całkowita konieczna do wyliczenia wskaźnika trofii fitoplanktonu jest sumą objętości wszystkich taksonów wskaźnikowych zliczonych w próbce i przeliczona na 1 litr próbki. Przy wyliczaniu objętości taksonów, ułatwieniem będzie korzystanie ze standardowych objętości komórek opracowanych przez A. Hutorowicza (2005).

Głony posiadają różnorodne osobnicze formy morfologiczne. Dla części naturalną formą życiową jest pojedyncza komórka, dla innych nić lub trychom albo kolonia. Jednostką uwzględnianą w liczeniu fitoplanktonu jest osobnik, zdefiniowany stosownie do odmiennych form glonów (Tab. 4).

Tabela 4. Określenie osobnika (jednostki w analizie ilościowej) dla różnych form morfologicznych organizmów fitoplanktonu.

OSOBNIK	PRZYKŁAD
KOMÓRKA	Wszystkie organizmy jednokomórkowe oraz <i>Asterionella</i> , <i>Aulacoseira</i> , <i>Melosira</i> , <i>Diatoma vulgaris</i> , <i>D. tenuis</i> , <i>Fragilaria crotonensis</i> , <i>Fragilaria capucina</i> , <i>Tabellaria</i> i inne okrzemki tworzące taśmowate lub zygzakowate kolonie
KOLONIA o określonej średnicy	sinice, <i>Microcystis</i> ,
KOLONIA o określonej liczbie komórek	sinice kokalne, np. <i>Aphanocapsa</i> , <i>Aphanothece</i> , <i>Merismopedia</i> , <i>Chroococcus</i> zielenice, np. <i>Eudorina</i> , <i>Pandorina</i> , <i>Coelastrum</i> , <i>Crucigenia</i> , <i>Scenedesmus</i> , <i>Dictyosphaerium</i>
NIĆ/TRYCHOM o umownej długości, np. 20, 50 lub 100 μm	sinice nitkowate, zielenice nitkowate

Objętość poszczególnych taksonów wylicza się na podstawie wzorów podanych na rysunkach poniżej:

Konieczne wymiary			
1		Walec $(\Pi * d * h)/4$	h, d
2		Elipsoid $(\Pi * d * h)/4$	h, d, l
3		Kula $(\Pi * d^3)/6$	d
4		Półkula $(\Pi * d^3)/12$	d
5		Elipsoid obrotowy $(\Pi * d^3 * l)/6$	d, l
6		Stożek + stożek $(\Pi * d^3 * (h_1 + h_2))/12$	d, h_1, h_2
7		Prostopadłościan $a * b * c$	a, b, c
8		Czworościan $0,18 * a^3$	a
Konieczne wymiary			
9		Pół prostopadłościanu $(a * b * c)/2$	a, b, c
10		Trapezoid $((g + d) * h * s)/2$	g, d, h, s
11		Garniastół pięciokątny $1,72 * a^3 * h$	a, h,
12		Stożek $(\Pi * d^3 * h)/12$	d, h
13		Stożek + półkula $(\Pi * d^3 * (h + d))/12$	d, h
14		Wydrążona kula $(\Pi * (D^3 - d^3))/6$	D, d
15		"Ceratium" $0,26 * (d_1^3 * h_1 + d_2^3 * h_2 + d_3^3 * h_3) + (0,785 * d_1^3 * h_1)$	D, d_1, d_2, d_3, h_1, h_2, h_3

Przy wyliczaniu objętości taksonów, ułatwieniem będzie korzystanie ze standardowych objętości komórek opracowanych przez Hutorowicza (2005)¹..

¹ Opracowanie standardowych objętości komórek do szacowania biomasy wybranych taksonów glonów planktonowych wraz z określeniem sposobu pomiarów i szacowania. Praca zrealizowana na zlecenie GIOŚ. Olsztyn, październik 2005.

8. METODA OCENY STANU EKOLOGICZNEGO RZEKI W OPARCIU O ZBIOROWISKO FITOPLANKTONU

8.1. WYLICZANIE WSKAŹNIKA FITOPLANKTONOWEGO

Do oceny stanu ekologicznego rzek na podstawie zbiorowiska fitoplanktonu opracowano **multimetryczny indeks fitoplanktonowy IFPL**, który jest średnią arytmetyczną z dwóch modułów: **wskaźnika trofii IT** oraz **wskaźnika chlorofilowego CH**. Wymagana w RDW specyficzność oceny dla typu rzeki jest uwzględniana na poziomie wskaźnika chlorofilowego.

Indeks trofii IT jest oparty na taksonach występujących w zbiorowisku fitoplanktonu, wskaźnikowych dla poziomu żyzności wód rzeki. Każdy takson ma przypisaną wartość troficzną i wagową (porównaj Tab. 3); przy obliczaniu indeksu IT uwzględnia się również procentowy udział danego taksonu wskaźnikowego w całej bioobjętości wszystkich taksonów wskaźnikowych.

Wskaźnik trofii IT jest wyliczany według wzoru (1):

(1)	$IT = \Sigma (D_i * wT_i * T_i) / \Sigma (D_i * wT_i)$ Gdzie: D_i – średnia sezonowa procentowego udziału i-tego taksonu w bioobjętości taksonów wskaźnikowych fitoplanktonu; wT_i – wartość wagowa (tolerancja) i-tego taksonu; T_i – wartość wskaźnikowa trofii i-tego taksonu.
-----	--

Wskaźnik chlorofilowy CH jest wyliczany w pięciu kategoriach według podanego niżej schematu:

Typ 19,20,24,25		Typ 21	
Stężenie chlorofilu a (średnia z sezonu)	CH	Stężenie chlorofilu a (średnia z sezonu)	CH
< 20	0	< 25	0
20-35	1	25-60	1
35-50	2	60-95	2
50-65	3	95-130	3
> 65	4	> 130	4

Przed wyliczeniem wskaźnika fitoplanktonowego IFPL wartości wskaźników trofii i chlorofilowego są standaryzowane według wzorów (2 i 3).

(2)	$Z_{IT} = (1 - ((IT - 1) * 0,25))$ gdzie: Z_{IT} – znormalizowana wartość wskaźnika trofii IT; IT – jak w równaniu (1);
-----	--

	Wartość Z_{IT} zmienia się w przedziale od 1 (najkorzystniejszy) do 0 (najmniej korzystny).
(3)	$Z_{CH} = 1 - (CH * 0,25)$ gdzie: Z_{CH} – znormalizowana wartość wskaźnika chlorofilu CH; CH – wskaźnik chlorofilu; Wartość Z_{CH} zmienia się w przedziale od 1 (najkorzystniejszy) do 0 (najmniej korzystny).

Indeks fitoplanktonowy IFPL wylicza się według równania (4):

(4)	$IFPL = (Z_{IT} + Z_{CH})/2$ gdzie: Z_{IT} – jak w równaniu (2); Z_{CH} – jak w równaniu (3); Wartość indeksu IFPL zmienia się w przedziale od 1 (najkorzystniejszy) do 0 (najmniej korzystny).
-----	---

Specyficzność dla typu rzeki jest uwzględniana na etapie obliczeń wskaźnika chlorofilowego CH, toteż dla wszystkich typów rzek stosuje się takie same przedziały dla granic klas stanu ekologicznego, zgodne z Rozporządzeniem Ministra Środowiska z dnia 9 listopada 2011 r. (Dz. U. Nr 257, Poz. 1545) (tab. 5).

Tabela 5. Granice klas stanu ekologicznego rzek fitoplanktonowych na podstawie indeksu IFPL

STAN EKOLOGICZNY	Wartość indeksu IFPL
Bardzo dobry	$\geq 0,80$
Dobry	$< 0,80 - \geq 0,60$
Umiarkowany	$< 0,60 - \geq 0,40$
Słaby	$< 0,40 - \geq 0,20$
Zły	$< 0,20$

8.2. FORMAT BAZODANOWY

Dane wprowadzamy do formatu bazodanowego

FITOPANKTON_RZEKI_WIOSXX_RRRR.xls, który wykonuje obliczenia indeksu IFPL.

Dane wprowadzamy do arkusza „WPISUJ”

	A	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X
	RZEKA	NOTEĆ	NOTEĆ	NOTEĆ	NOTEĆ	NOTEĆ	NOTEĆ	NOTEĆ	NOTEĆ	NOTEĆ	DRWECA	DRWECA	DRWECA	RZEKA 2	RZEKA 2
	MS_KOD	PL02S0001_0827	PL02S0001_0827	PL02S0001_0827	PL02S0001_0827	PL02S0001_0827	PL02S0001_0827	PL02S0001_0827	PL02S0001_0827	PL02S0001_0827	PL01S0001_0996	PL01S0001_0996	PL01S0001_0996	PL00S0000_0000	PL00S0000_0000
	DATA	2010-04-12	2010-04-30	2010-05-20	2010-06-20	2010-07-12	2010-08-12	2010-09-13	2010-10-12	2010-05-09	2010-07-04	2010-10-10	2011-01-01	2011-01-01	
	TYP	21	21	21	21	21	21	21	21	20	20	20	0	0	
4	TAKSON														
5	Chlorofil a [$\mu\text{g/l}$]	27,1	43,3	10,8	14,7	20,7	30,0	27,8		14,5	27,8	96,0			
6	<i>Achnanthes lanceolata</i> - [kompleks]	0,550													
7	<i>Achnanthes minutissima</i> [kompleks]									1,200					
8	<i>Actinocyclus normanii</i>														
9	<i>Amphora</i> (bez <i>A. pediculus</i> i <i>A. ovalis</i>)										14,000				
10	<i>Anabaena</i>														
11	<i>Ankistrodesmos</i>														
12	<i>Aphanizomenon</i>	0,100		1,800		13,100				2,100					
13	<i>Asterionella formosa</i>	5,100	0,300	1,500	0,200		1,000	0,200				1,400			
14	<i>Aulacoseira granulata</i>	0,400		19,700	3,700		0,300	4,500							
15	<i>Aulacoseira</i> : <i>ambigua</i> , <i>subarctica</i> , <i>muzzanensis</i> , <i>islandica</i>				3,000										
16	<i>Aulacoseira</i> (pozostałe)									22,000					
17	<i>Botryococcus</i>														
18	<i>Ceratium</i>												14,000		
19	<i>Chlamydomonas</i>		0,100		3,000										
20	<i>Chrysococcus</i>									1,400					
21	<i>Chrysophyceae</i> małe														
22	<i>Chrysophyceae</i> duże										21,000				
23	<i>Chrysophyceae</i> [zbiorcza]														
24	<i>Cocconeis placentula</i>							1,000				2,000			
25	<i>Coelastrum</i>	0,100	1,300	4,300	1,500					5,000					
26	<i>Crucigenia/Crucigeniella</i>			15,100	1,500		1,000								
27	<i>Cryptomonas</i>				1,600			0,500							
28	<i>Cyclostephanos delicatus</i>														
29	<i>Cyclostephanos dubius</i>						0,100			1,000					

Wprowadzamy dane do wierszy 1-5:

Nazwa rzeki; kod MS, data poboru próbki; typ rzeki (bezwzględnie musi być wypełniony) oraz stężenie chlorofilu a w próbce.

Następnie wprowadzamy objętość stwierdzonych w próbce taksonów wskaźnikowych.

Wprowadzamy tylko taksony z listy, nie dodajemy żadnego innego, nie wprowadzamy zmian w liście.

Dla każdego PPK przewidziane jest do 8 powtórzeń w ciągu roku.

Po zakończeniu wpisywania taksonów przechodzimy w dół arkusza do wierszy oznaczonych jako parametry fizyczno-chemiczne i parametry fizjograficzne.

UWAGA:

Nie należy zmieniać żadnych formuł w żadnym z arkuszy skoroszytu. Na razie nie są one ukryte i chronione przed zmianami.

Szczególnie nie można zmienić formuły w wierszu 96 „SUMA”. Dla uniknięcia dzielenia przez zero w przypadku, kiedy w jakimś PPK z przyczyn pogodowych nie uda się zebrać w ciągu roku 8 próbek!!!

Parametry fizyczno-chemiczne wprowadzamy dla każdej z próbek miesięcznych osobno.

N112		A	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	AA
1		RZEKA	ODRA Pojęcko	ODRA Pojęcko	ODRA Pojęcko	ODRA Pojęcko	ODRA Pojęcko	ODRA Pojęcko	ODRA Pojęcko	ODRA Pojęcko		WARTA Wóreck	WARTA Wóreck	WARTA Wóreck	WARTA Wóreck	WARTA Wóreck	WARTA Wóreck	WARTA Wóreck	WARTA Wóreck
2		IMS_KOD	PL02S0401_0638	PL02S0401_0638	PL02S0401_0638	PL02S0401_0638	PL02S0401_0638	PL02S0401_0638	PL02S0401_0638	PL02S0401_0638		PL02S0501_0904	PL02S0501_0904	PL02S0501_0904	PL02S0501_0904	PL02S0501_0904	PL02S0501_0904	PL02S0501_0904	PL02S0501_0904
3		DATA	2011-04-05	2011-05-10	2011-06-08	2011-06-27	2011-07-18	2011-08-29	2011-09-11	2011-10-03		2011-04-05	2011-05-10	2011-06-08	2011-06-27	2011-07-18	2011-08-29	2011-09-12	2011-10-03
4	TAKSON	TYP	21	21	21	21	21	21	21	21		21	21	21	21	21	21	21	21
5		Chlorofil a [$\mu\text{g/l}$]	33.0	72.0	96.0	26.0	29.0	34.0	40.0	36.0		32.0	103.0	82.0	91.0	140.0	60.0	61.0	47.0
96		SUMA	4249	7097	2031	1711	1886	592	1315	1276		3943	2141	2246	2041	4461	1895	1685	3432
97	PARAMETRY FIZYCZNO-CHEMICZNE																		
98		Temperatura wody [$^{\circ}\text{C}$]	12.0	17.1	24.5	20.2	22.3	21.1	19.5	16.5		11.6	18.2	19.9	21.0	23.0	21.1	19.2	17.1
99		Przewodność [μS]	886	968	1066	1317	991	787	1171	1224		648	526	542	534	466	526	506	532
100		odczyn pH	8.1	8.5	8.7	8.3	8.3	8.0	8.0	8.2		8.0	8.7	8.7	8.9	8.9	8.3	8.2	8.3
101		Tlen [mgO_2/l]	11.6	11.9	10.5	9.3	7.7	5.5	5.4	5.5		11.4	13.6	11.1	11.8	9.9	6.2	6.0	5.6
102		Chlorki [mgCl/l]	126	165	196	266	188	138	227	262		40	35	41	40	39	41	39	43
103		OWO [mgCl/l]	10.1	8.5	8.5	7.2	9.1	9.3	7.5	7.2		11.0	10.2	9.7	12.4	11.0	10.5	10.6	10.5
104		P ogólny [mgP/l]	0.050	0.004	0.034	0.155	0.090	0.194	0.170	0.100		0.110	0.048	0.161	0.169	0.129	0.201	0.219	0.080
105		Fosforany [mgPO_4/l]	0.040	0.004	0.003	0.035	0.075	0.054	0.060	0.035		0.070	0.004	0.029	0.018	0.060	0.050	0.080	0.051
106		Azot ogólny [mgN/l]	3.63	3.13	2.75	2.35	2.65	2.15	2.29	2.41		4.80	2.67	1.93	1.37	1.37	1.89	1.72	1.85
107		Azotany [mgN/l]	3.03	2.14	1.54	2.23	1.80	1.35	1.14	1.36		3.60	1.44	0.90	0.03	0.42	0.79	0.79	1.03
108		Twardość ogólna [mgCaCO_3/l]	270	246	287	284	223	204	269	277		313	220	218	236	186	211	208	210
109	PARAMETRY FIZJOGRAFICZNE																		
111		Wysokość n.p.m. [m]																	
112		km od źródła																	
113		Powierzchnia zlewni [km^2]																	
114		Długość geograficzna [X] dd.ddddd	14.89																
115		Szerokość geograficzna [Y] dd.ddddd	52.052																

Parametry fizjograficzne wprowadzamy tylko dla pierwszej próbki w sezonie.

Format przelicza wprowadzone dane w arkuszu T_H.

Również w tym arkuszu nie należy wprowadzać żadnych zmian w formułach.

Po wprowadzeniu danych można sprawdzić wyniki obliczeń w arkuszu „WYNIKI”

Liczba stanowisk będzie dostosowana do liczby PPK badanych przez dany WIOŚ w określonym roku.

Wyniki obliczeń indeksu IFPL oraz składowego wskaźnika trofii i średniego stężenia chlorofilu a oraz średnich wyliczonych z parametrów fizyczno-chemicznych odczytujemy z arkusza WYNIKI.

 Sfinansowano ze środków Narodowego Funduszu Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej		WYNIKI BADAŃ FITOPLANKTONU												
		ROK		2010		WIOŚ		WIOS 04						
RZEKA		ODRA	ODRA	WARTA	WARTA	NOTEĆ	CZERNICA							
MS_KOD		PL02S0401_0661	PL02S0401_0658	PL02S0401_0676	PL02S0401_0693	PL02S0401_1632	PL02S0401_0609							
TYP		21	21	21	21	21	25	0	0	0	0	0	0	0
KOD JCWP		PLRW600021179999	PLRW600021179999	PLRW60002118799	PLRW60002118799	PLRW600021188971	PLRW6000251564899							
LICZBA POMARÓW		8	8	4	4	4	4	0	0	0	0	0	0	0
PARAMETRY BIOLOGICZNE														
Chlorofil a [µg/l]	15,88	15,26	11,83	32,93	4,40	3,53	#####	#####	#####	#####	#####	#####	#####	#####
indeks troficzny IT	3,03	3,25	3,11	2,92	3,10	2,31	#####	#####	#####	#####	#####	#####	#####	#####
indeks halobowy IH	1,93	1,76	1,89	1,71	1,98	2,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IFPL	0,75	0,72	0,74	0,63	0,74	0,84	#####	#####	#####	#####	#####	#####	#####	#####
GRANICE KLAS		I BARDZO DOBRY		II DOBRY		III UMIARKOWANY		IV SŁABY		V ZŁY				
		≥ 0,80		< 80 – ≥ 0,60		< 60 – ≥ 0,40		< 0,40 – ≥ 0,20		< 0,20				
PARAMETRY FIZYCZNO-CHEMICZNE														
Temperatura wody [°C]	14,9	15,3	15,3	15,7	14,9	14,7	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!
Przewodność [µS]	666	673	481	556	549	711	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!
odczyn pH	8,2	8,0	7,9	8,1	8,0	7,6	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!
Tlen [mgO2/l]	9,8	9,4	9,0	10,0	9,4	7,8	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!
Chlorki [mgCl/l]	98	101	45	36	48	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!
OWO [mgC/l]	11,51	11,73	15,88	15,93	14,35	10,34	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!
P ogólny [mgP/l]	0,184	0,198	0,178	0,198	0,155	0,132	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!
Fosforany [mgPO4/l]	0,265	0,247	0,246	0,205	0,265	0,197	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!
Azot ogólny [mgN/l]	3,19	3,48	3,09	3,60	2,30	3,24	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!
Azotany [mgN/l]	2,23	1,90	1,18	2,58	1,63	8,86	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!
Twardość ogólna [mgCaCO3/l]	216	220	245	282	253	403	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!
Stany wody	2,9	2,9	2,8	2,8	2,8	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!	#DZIEL/0!
PARAMETRY FIZJOGRAFICZNE														
Wysokość n.p.m. [m]	19,6	20	19,3	19,6	24,5	57	0	0	0	0	0	0	0	0
km od źródła	615	552	742,7	738,9	361	8,5	0	0	0	0	0	0	0	0
Powierzchnia zlewni [km2]	118861	118861	54528,7	54528,7	17330,5	70	0	0	0	0	0	0	0	0
Długość geograficzna [X]	14,63174	14,681920	15,405568	15,420510	15,755105	16,068860	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
Szerokość geografczna [Y]	52,57789	52,133180	52,735494	52,731740	52,817116	51,877780	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000



PROTOKÓŁ TERENOWY – RZEKI FITOPLANKTONOWE



RZEKA:		Opracował	
Jednolita część wód (nazwa, kod):		Stanowisko: MS-KOD + nazwa	
	Powierzchnia zlewni [km ²]		Długość geogr. [X]
	Odległość od źródła [km]		Szerokość geogr. [Y']
	Wysokość [m n.p.m.]		ROK BADAŃ

PARAMETRY FIZYCZNO-CHEMICZNE

PARAMETR	DATA							
Temperatura wody [°C]								
Przewodność [μS/cm]								
odczyn pH								
Tlen rozpuszczony [mgO ₂ /l]								
Chlorki [mgCl/l]								
OWO [mgC/l]								
P ogólny [mgP/l]								
Fosforany [mgPO ₄ /l]								
Azot ogólny [mgN/l]								
Azotany [mgN/l]								
Twardość ogólna [mgCaCO ₃ /l]								
Zasadowość ogólna (meq/l)								
Barwa mgPt/l								

UWAGI:

LITERATURA

- Błachuta J., Picińska-Fałtynowicz J., Czocho K. & Kulesza K., 2010. Abiotyczne typy wód płynących w Polsce. *Gospodarka Wodna*, 5: 181-191;
- Hutorowicz A. 2005. Opracowanie standardowych objętości komórek do szacowania biomasy wybranych taksonów glonów planktonowych wraz z określeniem sposobu pomiarów i szacowania. Praca zrealizowana zgodnie z umową nr 13/2005/B z dnia 4. 07. 2005 r. Olsztyn, październik;
- Mischke U., Behrendt H., Köhler J., Opitz D., 2005. Endbericht zum LAWA-Vorhaben:
- Picińska-Fałtynowicz J., Błachuta J. 2012. Klucz do identyfikacji organizmów fitoplanktonowych z rzek i jezior dla celów badań monitoringowych części wód powierzchniowych w Polsce. Biblioteka Monitoringu Środowiska, Warszawa.
- PN C-05550-02:1986. Woda i ścieki -- Pobieranie próbek do badań biologicznych -- Pobieranie próbek fitoplanktonu;
- PN-EN 25667-2. 1999. Jakość wody. Pobieranie próbek. Wytyczne dotyczące technik pobierania próbek;
- PN-EN ISO 5667-3. 2005. Jakość wody. Pobieranie próbek. Część 3: Wytyczne dotyczące utrwalania i postępowania z próbkami wody;
- PN-EN 13946:2006. Jakość wody. Wytyczne do rutynowego pobierania próbek oraz wstępnego przygotowania do analiz okrzemek bentosowych z rzek;
- PN-EN 15204:2006. Jakość wody -- Wytyczne do oznaczania ilościowego fitoplanktonu z użyciem odwróconego mikroskopu (metoda Utermöhl);
- PN-ISO 10260. 2002. Jakość wody. Pomiar parametrów biochemicznych. Spektrometryczne oznaczanie stężenia chlorofilu a.
- PN-ISO 5667-6. 2003. Jakość wody. Pobieranie próbek. Część 6: Wytyczne dotyczące pobierania próbek z rzek i strumieni.
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 listopada 2011 r. w sprawie sposobu klasyfikacji stanu jednolitych części wód powierzchniowych oraz środowiskowych norm jakości dla substancji priorytetowych. Dz. U. Nr 257, Poz. 1545.