



Załącznik 2.7. Ostateczna wersja zaktualizowanych metodyk na potrzeby oceny stanu ekologicznego wód powierzchniowych w Polsce na podstawie fitobentosu

do pracy pn.:

„Aktualizacja metodyk monitoringu i oceny stanu ekologicznego śródlądowych wód powierzchniowych na podstawie fitobentosu wraz ze szkoleniami”

ETAP II

Zamawiający: Główny Inspektorat Ochrony Środowiska

Wykonawca: Ocean Sense Maciej Fojcik

Praca została wykonana w ramach realizacji umowy numer 11/2017/POIŚ z dnia 12.05.2017 r. współfinansowanej ze środków Unii Europejskiej w ramach Programu Operacyjnego Infrastruktura i Środowisko 2014-2020 w ramach osi priorytetowej II „Ochrona Środowiska, w tym adaptacja do zmian klimatu”, Działanie 2.1. „Adaptacja do zmian klimatu wraz z zabezpieczeniem i zwiększeniem odporności na klęski żywiołowe, w szczególności katastrofy naturalne oraz monitoring środowiska” w ramach projektu pt.

„Wzmocnienie monitoringu wód w zakresie procedur zapewnienia i kontroli jakości pomiarów i ocen stanu wód powierzchniowych oraz infrastruktury badawczej, pomiarowej i informatycznej”

Gdańsk, czerwiec 2018



Fundusze Europejskie
Infrastruktura i Środowisko



Główny Inspektorat Ochrony Środowiska

Unia Europejska
Fundusz Spójności



Podręcznik do monitoringu i oceny jeziornych jednolitych części wód powierzchniowych na podstawie fitobentosu

(2018)

Autorzy:

dr Aleksandra Zgrundo

mgr Łukasz Peszek

mgr Anita Poradowska

Spis treści

WSTĘP	4
1. PODSTAWY TEORETYCZNE STOSOWANIA ZBIOROWISK OKRZEMEK BENTOSOWYCH W MONITORINGU WÓD.....	6
2. TYPY JEZIOR	7
3. PRACE TERENOWE	8
<i>SPRZĘT TERENOWY.....</i>	<i>8</i>
<i>TERMIN POBORU.....</i>	<i>9</i>
<i>STANOWISKO BADAWCZE.....</i>	<i>10</i>
<i>WYBÓR SUBSTRATU.....</i>	<i>11</i>
<i>POBÓR PRÓBEK EPIFITONU Z MAKROFIÓW WYNURZONYCH</i>	<i>19</i>
<i>KONSERWOWANIE PRÓBEK.....</i>	<i>20</i>
<i>DODATKOWE PRACE TERENOWE.....</i>	<i>21</i>
<i>WSTĘPNA ANALIZA PRÓBEK FITOBENTOSU.....</i>	<i>22</i>
4. PREPARATYKA LABORATORYJNA.....	23
<i>METODY OCZYSZCZANIA OKRZEMEK.....</i>	<i>23</i>
<i>PRZYGOTOWANIE PREPARATÓW TRWAŁYCH</i>	<i>27</i>
5. ARCHIWIZACJA PREPARATÓW OKRZEMKOWYCH I PRÓBEK.....	30
6. ANALIZA MIKROSKOPOWA.....	30
<i>OZNACZANIE TAKSONÓW OKRZEMEK.....</i>	<i>31</i>
<i>OKREŚLANIE LICZEBNOŚCI WZGLĘDNEJ OKRZEMEK W PREPARATACH STAŁYCH.....</i>	<i>32</i>
<i>PROCEDURA ZLICZANIA OKRYW W PREPARACIE STAŁYM.....</i>	<i>34</i>
7. INTERPRETACJA WYNIKÓW ANALIZY MIKROSKOPOWEJ – MULTIMETRYCZNY INDEKS OKRZEMKOWY DLA JEZIOR	35
8. INTERPRETACJA WYNIKÓW INDEKSÓW OKRZEMKOWYCH	37
LITERATURA	39
Załącznik 1. Wzór protokołów terenowych	41
Załącznik 2. Uaktualnione wartości wrażliwości i wagowe oraz referencyjne dla poszczególnych taksonów w jeziorach i zbiornikach wodnych	42
Załącznik 3. Instrukcja wprowadzania danych z analizy okrzemkowej do formatów bazodanowych	57

WSTĘP

Ramowa Dyrektywa Wodna (RDW, Dyrektywa 2000/60/WE z dnia 23 października 2000r. wraz z późniejszymi zmianami) nakłada na kraje członkowskie Unii Europejskiej między innymi obowiązek uzyskania co najmniej dobrego stanu ekologicznego naturalnych wód powierzchniowych lub co najmniej dobrego potencjału ekologicznego silnie zmienionych i sztucznych wód powierzchniowych. Definicje stanu ekologicznego sformułowano w oparciu o charakter elementów biologicznych występujących w zbiornikach wodnych (RDW, Załącznik V). Zbiorowiska okrzemek bentosowych stanowią składową jednego z elementów biologicznych określonego jako „Inne rośliny wodne” rozumiane jako makrofity i fitobentos. W 2007 roku Polska wprowadziła badania zbiorowisk okrzemek bentosowych (tzw. fitobentosu okrzemkowego) jako element rutynowego monitoringu rzek i jezior oraz zbiorników zaporowych.

Zgodnie z najnowszymi wytycznymi RDW metody stosowane w monitoringu bazującym na analizie okrzemkowej zostały znormalizowane i ujęte w dokumentach Europejskich Norm wprowadzonych w Polsce: EN-PN 13946:2014-05 „Jakość wody – Wytyczne do rutynowego pobierania próbek oraz wstępnego przygotowania do analiz okrzemek bentosowych z rzek i jezior” i EN-PN 14407:2014-05 „Jakość wody – Wytyczne dotyczące identyfikacji i oznaczania ilościowego próbek okrzemek bentosowych z rzek i jezior”.

Dla celów monitoringu stanu i potencjału ekologicznego wód powierzchniowych w Polsce stworzono szereg przewodników metodycznych, tj.: „Wybór typów jednolitych części wód rzecznych i jeziornych do oceny stanu ekologicznego na podstawie fitobentosu wraz z rekomendacją metodyki poboru i analizy prób” (Picińska-Fałtynowicz i in. 2006), „Przewodnik metodyczny – Zasady poboru i opracowania prób fitobentosu okrzemkowego z rzek i jezior” (Picińska-Fałtynowicz i Błachuta 2010) oraz „Wytyczne metodyczne do przeprowadzania monitoringu i oceny potencjału ekologicznego zbiorników zaporowych w Polsce” (Błachuta i Picińska-Fałtynowicz 2010). W 2017 roku w celu zaktualizowania metodyk przygotowano wstępną wersję dokumentu „Wytyczne metodyczne do przeprowadzenia oceny stanu ekologicznego jednolitych części wód rzek i jezior oraz potencjału ekologicznego sztucznych i silnie zmienionych jednolitych części wód płynących Polski na podstawie badań fitobentosu” (Zgrundo i in.). Dokument ten powstał w ramach projektu GIOŚ „Wzmocnienie monitoringu wód w zakresie procedur zapewnienia i kontroli jakości pomiarów i ocen stanu wód powierzchniowych oraz infrastruktury badawczej,

pomiarowej i informatycznej” zadanie „Aktualizacja metodyk monitoringu i oceny stanu ekologicznego śródlądowych wód powierzchniowych na podstawie fitobentosu wraz ze szkoleniami”. Na jego bazie utworzono również niniejszy „Podręcznik do monitoringu i oceny jeziornych jednolitych części wód powierzchniowych na podstawie fitobentosu”.

Przy opracowywaniu podręcznika przeanalizowano nie tylko wcześniej obowiązujące przewodniki określające zasady poboru i opracowania prób okrzemek bentosowych w celu obliczenia indeksów okrzemkowych dla rzek i zbiorników zaporowych (IO) oraz jezior (IOJ), ale również korekty wprowadzane w późniejszym okresie („Uwagi i proponowane zmiany do przewodnika metodycznego z roku 2006” w Alvarez Troncoso i Zalewski 2012 „Nadzór merytoryczny nad poborem prób i oznaczaniem fitobentosu w rzekach i jeziorach wraz z opracowaniem oceny stanu i klucza do oznaczania fitobentosu”) oraz propozycję metodyki oceny stanu ekologicznego odcinków rzek pod wpływem wód morskich (Błachuta i in. 2017 „Dostosowanie istniejących metodyk oceny stanu ekologicznego do wykorzystania w przyujściowych odcinkach rzek – Wstępna wersja korekt metodyk”). Uwzględniono również sugestie pracowników Inspekcji Ochrony Środowiska oraz dobre praktyki stosowane w krajach UE o podobnych warunkach środowiskowych.

Zasady bezpieczeństwa

Przed przystąpieniem do prac terenowych i laboratoryjnych należy zapoznać się z potencjalnymi zagrożeniami i niebezpieczeństwem towarzyszącymi wykonywanym zadaniom. Jakikolwiek prace opisane w podręczniku powinny być wykonywane zgodnie z wewnętrznymi przepisami i zasadami dotyczącymi bezpieczeństwa i higieny pracy pracowników WIOŚ.

1. PODSTAWY TEORETYCZNE STOSOWANIA ZBIOROWISK OKRZEMEK BENTOSOWYCH W MONITORINGU WÓD

Okrzemki (Bacillariophyta) są fotoautotroficznymi mikroorganizmami występującymi powszechnie na całej kuli ziemskiej. Zamieszkują niemal wszystkie siedliska o ile chociaż okresowo dociera do nich woda i światło. Szczególnie obficie rozwijają się w wodach powierzchniowych, zarówno płynących jak i stojących. Liczne gatunki okrzemek mają wyraźnie określone wartości i wąski zakres tolerancji ekologicznej w odniesieniu do wielu czynników środowiska, np.: trofii (zawartości soli biogenicznych), saprobii (zanieczyszczenia materią organiczną i procesów z nią związanych), odczynu pH, twardości wody czy zasolenia, stąd uznawane są za dobre wskaźniki stanu środowiska. Jednak wykorzystując okrzemki w monitoringu jakości wód zakładamy, że to właśnie jakość wód ma największy wpływ na kształtowanie się zbiorowisk okrzemek, na podstawie których wykonujemy ocenę, i pomijamy wpływ innych czynników. Z tego względu tak ważne jest, aby stosować się do zaleceń metodycznych zawartych w podręczniku. Jedynie w tym przypadku można zminimalizować wpływ czynników nie uwzględnianych w indeksach okrzemkowych na końcowe wyniki oceny stanu/potencjału ekologicznego wód.

Okrzemki w środowisku wodnym zasiedlają zarówno toń wodną wchodząc w skład formacji zwanej fitoplanktonem lub egzystują w cienkim **biofilmie** pokrywającym dno i elementy dna tworząc tzw. **fitobentos**. Biofilm w makroskali nie wygląda interesująco, ale w mikroskali jest bogatym trójwymiarowym zbiorowiskiem budowanym przez bakterie, organizmy roślinne i drobne zwierzęta. Okrzemki w biofilmie zazwyczaj są najliczniej reprezentowanymi organizmami fotosyntetyzującymi wykazującymi szereg adaptacji ekologicznych. Adaptacje polegają między innymi na wykształceniu różnych mechanizmów umożliwiających kontakt czy przyczepienie się komórki lub kolonii do podłoża np. na stabilnym substracie przeważają okrzemki przyczepiające się bezpośrednio za pomocą polisacharydów wydzielanych przez specjalną strukturę zwaną szczeliną lub poprzez galaretowate poduszeczki, styliki, czy nasady rurek, w których znajdują się komórki kolonii. Z kolei na podłożu miękkim tworzonym przez osady dominują gatunki mobilne aktywnie się przemieszczające w poszukiwaniu najodpowiedniejszych warunków życia. Stąd zbiorowiska okrzemek zebrane w jednym zbiorniku wodnym z różnych podłoży charakteryzują się odmienną strukturą gatunkową i funkcjonalną. Z tego powodu materiał okrzemkowy zebrany dla celów monitoringu w tym samym zbiorniku czy cieku, ale z różnych podłoży nie

powinien być łączony. Również zalecenie, aby próbki fitobentosu zbierać z tego samego podłoża dla całego systemu rzecznoego, stworzono w oparciu o tę obserwację.

Pomimo iż biofilm tworzy się na różnego typu substratach naturalnych zanurzonych w wodzie (skałach, piasku, mule, drewnie, roślinach itp.) oraz sztucznych (np. budowlaach hydrotechnicznych, łodziach, odpadach itp.), w monitoringu zaleca się zbieranie prób jedynie z substratów naturalnych tworzących podłoże twarde i stabilne tj. kamienie, skały oraz rośliny. W dalszej części przewodnika zbiorowiska okrzemek rozwijających się na podłożu skalnym naturalnym lub sztucznym będziemy opisywać jako **epiliton**, natomiast zbiorowiska rozwijające się na powierzchni zanurzonych części roślin jako **epifiton**. Zbiorowisk rozwijających się na zanurzonych powierzchniach drewnianych (tzw. epiksylon) nie zaleca się analizować w ramach monitoringu stanu wód ze względu na fakt, iż jest to podłoże ulegające rozkładowi w wodzie, a rozwijające się na nim zbiorowiska są bardziej odporne na obecność rozkładającej się materii organicznej. Stąd uzyskuje się zaniżoną informację na temat jakości wód. Podobnie nie zaleca się wykorzystywania zbiorowisk tworzących się na powierzchni osadów jak piasek i muł (tzw. epipsammon i epipelon), ponieważ jest to podłoże niestabilne i zazwyczaj zanieczyszczone materią organiczną oraz różnymi cząstkami (również okrzemkami) naniesionymi z górnych odcinków cieków, co również przekłada się na zaniżenie oceny stanu wód.

Na bazie rozważań dotyczących dynamiki zmian w składzie i strukturze zbiorowisk okrzemek tworzących biofilm, opracowano wytyczne (zawarte w np. EN-PN 13946:2014-05), które pozwalają na jak najlepsze pobranie prób do monitorowania stanu ekologicznego wód. Niniejszy podręcznik odwołuje się do tych zaleceń, jednak należy pamiętać iż zalecenia sformułowano w taki sposób, aby można było wprowadzać drobne zmiany np. w metodyce prac terenowych w zależności od lokalnych warunków środowiska.

2. TYPY JEZIOR

W dokumencie „Aktualizacja wykazu JCWP i SCWP dla potrzeb kolejnej aktualizacji planów w latach 2015-2021” (Hobot 2015) wykazano zasadność utrzymania dotychczasowego kryterium 50 ha dla wyznaczenia powierzchni znaczących części wód jezior. Zgodnie z takim podejściem za JCWP jezior uznaje się wszystkie jeziora o powierzchni > 50 ha tj. wyłącznie jeziora nizinne. W związku z brakiem zmian w typologii abiotycznej jezior dla potrzeb monitoringu opartego na fitobentosie utrzymano podział jezior na miękkowodne i twardowodne (Tab. 1), a tym samym wyróżnienie na specyficzne taksony referencyjne.

Tabela 1. Podsumowanie podziału na typy abiotyczne jezior w odniesieniu do flory okrzemkowej

Grupa jezior	Jeziora miękkowodne	Jeziora twardowodne		
Zawartość wapnia	Ca < 25 mg/l	Ca > 25 mg/l		
Region	Niż Środkowopolski	Niż Środkowopolski	Niziny Wschodniobałtycko-Białoruskie	
Subregion	Jeziora na utworach młodogłacjalnych	Jeziora na utworach młodogłacjalnych	Jeziora na utworach młodogłacjalnych	Jeziora Polesia
Typ	1a (S) i 1b (NS); WS dowolny	2a (S) i 2b (NS), WS < 2; 3a (S) i 3b (NS), WS > 2; 4 - przymorskie;	5a (S) i 5b (NS), WS < 2; 6a (S) i 6b (NS); WS > 2;	7a (S) i 7b (NS), WS dowolny

Oznaczenia zastosowane w tabeli: S – stratyfikowane, NS – niestratyfikowane, WS – Współczynnik Schndlera określający podatność jeziora na degradację: WS < 2 – niska, WS > 2 – wysoka podatność na degradację

3. PRACE TERENOWE

Prace terenowe związane z zebraniem próbek fitobentosu okrzemkowego są niezwykle ważnym etapem w procesie monitoringu wód ponieważ jakość zebranego materiału ma decydujący wpływ na wynik analizy, tj. wartość indeksu okrzemkowego, a tym samym ocenę stanu ekologicznego lub potencjału ekologicznego danej części wód. W przypadku materiału okrzemkowego o dużej liczbie martwych czy uszkodzonych komórek i/lub dużej liczbie połamanych okryw i/lub dużej ilości zanieczyszczeń nie można spodziewać się wiarygodnego wyniku analizy. Z tego powodu, jeśli nie uda się zebrać próbki fitobentosu spełniającej wymagania monitoringu, należy po zidentyfikowaniu potencjalnych przyczyn, ponownie przeprowadzić prace terenowe. Dodatkowy pobór próbki można wykonać przy okazji badań innych elementów wskaźnikowych.

SPRZĘT TERENOWY

Listę podstawowego sprzętu terenowego zawarto w Tabeli 2. Dodatkowo można się zaopatrzyć w tzw. „akwaskop” – urządzenie o szklanym dnie używane do wyszukiwania odpowiedniego substratu w wodzie.

Tabela 2. Lista podstawowego sprzętu terenowego

Lp.	Element sprzętu terenowego
1.	Odpowiednie wyposażenie zapewniające bezpieczeństwo w wodzie np. kamizelki ratunkowe, lina do asekuracji
2.	Odpowiedni sprzęt ochrony osobistej np. wodery lub wysokie kalosze, jednorazowe rękawiczki
3.	Instrukcja poboru próbek
4.	Przybory do pisania i opisywania pojemników na próbki (lub wcześniej przygotowane etykiety)
5.	Pojemniki na próbki (ok. 50 ml lub większe) i plastikowe worki
6.	Twarda szczoteczka do zębów
7.	Ostry nóż lub inne narzędzie do cięcia
8.	Narzędzie do zeskrobywania fitobentosu okrzemkowego z powierzchni pionowych
9.	Kuweta (o wymiarach ok. 30 x 20 cm lub większa)
10.	Substancja konserwująca, np.: formalina, etanol, płyn Lugola
11.	Protokół poboru próbek
12.	Aparat fotograficzny
13.	Odbiornik GPS

Wszystkie narzędzia bezpośrednio wykorzystywane do zbierania fitobentosu okrzemkowego (np. kuwety, szczoteczki, nóż, itp.) należy dokładnie umyć przed zbieraniem kolejnej próbki, aby uniknąć zanieczyszczenia okrzemkami z poprzedniego stanowiska.

TERMIN POBORU

Pobór próbek mikrofitobentosu okrzemkowego powinien nastąpić w czasie optimum rozwoju tej grupy organizmów, wtedy gdy woda ma stosunkowo niską temperaturę i jest bogata w sole odżywcze tzn. wiosną i jesienią. Jednak należy mieć na względzie również obecność dobrze rozwiniętej roślinności wodnej stanowiącej często jedyny akceptowany w jeziorach przez normę EN-PN 13946:2014-05 substrat. Stąd **dla celów monitoringu** w jeziorach zaleca się pobór fitobentosu okrzemkowego **jeden raz w roku** optymalnie **w okresie późne lato – jesień**.

Przy wyznaczaniu terminu poboru prób należy:

- uwzględnić warunki meteorologiczne i hydrologiczne tj. zaplanować prace terenowe w okresie stabilnych warunków hydrologicznych, z pominięciem okresów długotrwałych wezbrań i niżówek, klęsk żywiołowych oraz co najmniej 3 dni po nawalnych opadach deszczu,

- uwzględnić termin prac terenowych prowadzonych w poprzednich latach. Najlepiej, o ile to możliwe, aby w każdym kolejnym roku pobór prób odbywał się w analogicznym terminie.

Podczas prac terenowych mających na celu zebranie fitobentosu okrzemkowego należy przeprowadzić analizę wybranych elementów fizykochemicznych wody (Analizy fizykochemiczne wody, str. 20), aby wspomóc interpretację uzyskanych wyników analizy okrzemkowej i aktualizację metodyki przeprowadzanej w przyszłości. Dopuszcza się wykorzystanie wyników pomiarów parametrów fizykochemicznych wykonanych w okresie 2 tygodni przed terminem poboru fitobentosu.

STANOWISKO BADAWCZE

Ważne jest, aby stanowisko znajdowało się w punkcie reprezentatywnym dla jednolitych części wód powierzchniowych (JCWP). Należy wybrać odcinek brzegu jeziora o odpowiednim substracie i najodpowiedniejszych warunkach do rozwoju biofilmu okrzemkowego. Stanowisko poboru prób w zbiorniku wodnym powinno być usytuowane z dala od czynników wpływających na wiarygodność oceny stanu/potencjału ekologicznego np. dopływów pochodzenia naturalnego czy brzegów pod silnym wpływem działalności ludzkiej, ale w rejonie w którym zachodzi swobodna wymiana wód z głównym basenem. Stanowisko powinno być zlokalizowane w strefie litoralu, w miejscu nie narażonym na częste i silne falowanie oraz dobrze nasłonecznionym, aby organizmy fotosyntetyzujące miały optymalne warunki rozwoju. Substrat, z którego pobiera się próbkę powinien znajdować się w strefie eufotycznej i zgodnie z zaleceniami normy EN-PN 13946:2014-05 być stale zanurzony w wodzie przez co najmniej 4 tygodnie, aby wykształciło się na nim dojrzałe zbiorowisko. Domyślnie przyjmuje się głębokość maksymalnie około 30 cm licząc od powierzchni lustra wody, jednak bardzo pomocna może być wiedza lokalna na temat okresowych zmian poziomu wody w zbiorniku. W przypadkach uzasadnionych względami bezpieczeństwa można zrezygnować z prac terenowych w celu wykonania oceny JCWP. Taką decyzję należy odpowiednio udokumentować.

Po zebraniu próbki należy wypełnić protokół terenowy (zwłaszcza uwzględnić informacje dotyczące morfologii stanowiska, otoczenia jeziora, dopływach itp.) wpisując również informacje, które mogą wspomóc interpretację wyników np. o ekstremalnych warunkach pogodowych czy oberwaniem się części brzegu itp. Ostateczny kształt formularza terenowego stosowanego w państwowym monitoringu środowiska będzie uzależniony od wymagań systemu informatycznego obsługującego monitoring i ocenę stanu wód

powierzchniowych. Zestaw elementów, które prawdopodobnie będzie zawierał protokół terenowy zamieszczono w Załączniku 1. Obok prawidłowego wypełnienia protokołu terenowego zaleca się również wykonanie dokumentacji fotograficznej.

Raz wybrane stanowisko powinno być monitorowane w każdym cyklu badawczym. Jednak stanowisko można przesunąć jeśli na danym odcinku zaszły istotne zmiany w morfologii zbiornika uniemożliwiające kontynuację badań monitoringowych. Wówczas fakt zmiany stanowiska należy odnotować w protokole terenowym.

WYBÓR SUBSTRATU

Okrzemki tworzą bogate zbiorowiska na powierzchni większości zanurzonych substratów i dnie. Jednak skład zbiorowisk w dużym stopniu zależy od rodzaju podłoża. Stąd dla celów monitoringu najlepiej wykorzystywać ten sam substrat na wszystkich stanowiskach. Norma EN-PN 13946:2014-05 zaleca zbieranie próbek w pierwszej kolejności z twardego podłoża naturalnego np. skał, głazów, otoczków, kamieni, większych ziaren żwiru. Jeśli takie powierzchnie nie są dostępne, można zebrać próbkę z powierzchni będących wytworem człowieka, jak nabrzeża i podpory mostów. Jednak twarde substraty sztuczne (również np. cegły, płytki ceramiczne), muszą znajdować się w wodzie przynajmniej przez 4 tygodnie. Dopuszcza się wprowadzenie sztucznego podłoża w strefie eufotycznej (np. fragmentów betonu, płytek ceramicznych czy lin). Próby fitobentosu okrzemkowego mogą również zostać zebrane z zanurzonych stale części makrofitów. Jeśli to możliwe w celu porównania wyników pomiędzy stanowiskami powinno wykorzystywać się ten sam gatunek rośliny (albo grupę podobnych morfologicznie roślin).

Zgodnie z normą EN-PN 13946:2014-05 nie zaleca się zbierania prób z drewna (ze względu na jego rozkład w wodzie) oraz osadu, chyba że wykonane badania wstępne udowodnią, iż takie podejście jest uprawnione. Ponadto próbek zebranych z różnych podłoży na jednym stanowisku nie należy łączyć w jedną próbkę zintegrowaną.

Biofilm okrzemkowy w wodach jezior jest z reguły dobrze wykształcony i łatwy do zaobserwowania gołym okiem. Zazwyczaj tworzy brązowawy lub brązowo-żółty nalot lub nitkowate agregaty na powierzchni stałego substratu (Rys. 1). Nie zawsze wykształcony biofilm okrzemkowy daje wyraźny charakterystyczny kolor. W celu potwierdzenia obecności biofilmu okrzemkowego należy delikatnie przesunąć opuszkami palców po powierzchni substratu. Powierzchnia śliska w dotyku świadczy o obecności okrzemek, co daje podstawę do wykorzystania substratu i zebrania próbki z jego powierzchni.



Rys. 1. Przykłady skupień tworzonych przez fitobentos na powierzchni substratów stałych

POBÓR PRÓBEK Z NATURALNYCH TWARDYCH PODŁOŻY

Najlepszym substratem są otoczaki i kamienie, ponieważ łączą warunek stabilności podłoża (w pełni rozwijają się na nim zbiorowiska okrzemkowe) i możliwość przemieszczania substratu w celu bezpiecznego zebrania fitobentosu okrzemkowego. Należy zebrać co najmniej 5 kamieni zanurzonych trwale w wodzie w taki sposób, aby jak najlepiej odzwierciedlały mozaikowość siedliska i odpowiadały kryteriom opisanym w poprzednim rozdziale (tj. warunkom świetlnym, odległość od dopływów i wpływu człowieka itd.). Jeśli w obrębie stanowiska występuje odpowiednia ilość substratów można zastosować strategię zbierania prób w sposób losowy lub w transektach. W sytuacji, gdy brak odpowiedniej wielkości kamieni, można zebrać materiał z głazów (5 sztuk) lub mniejszych kamyków (10 sztuk), pamiętając iż w sumie biofilm okrzemkowy powinien zostać zebrany z łącznej powierzchni co najmniej 10 cm². Jeśli nie ma wystarczającej ilości odpowiedniego substratu należy umieścić odpowiednią notatkę w protokole terenowym.

Do zdzierania biofilmu z powierzchni substratu najlepiej wykorzystać twardą szczoteczkę do zębów (Rys. 2). Zaleca się wyjąć kamienie z wody i umieścić w kuwecie w pozycji w jakiej znajdowały się w cieku, aby biofilm okrzemkowy zdzierać z powierzchni, na której się wykształcił. Wszelkie luźne zanieczyszczenia znajdujące się na powierzchni substratu należy usunąć przez przepłukanie kamienia w wodzie. Zaleca się unikać pobierania materiału z kamieni pokrytych widoczną warstwą mułu, piasku czy materii organicznej.



Rys. 2. Przykład zbierania biofilmu okrzemkowego za pomocą szczoteczki

Do kuwety należy wlać niewielką ilość wody z jeziora czy zbiornika wodnego (najlepiej odpowiadającą pojemności pojemnika na próbkę lub mniej ok. 50 ml) i za pomocą szczoteczki energicznie zdzierać biofilm do wody poprzez szorowanie odpowiedniej (górnej) powierzchni kamieni, od czasu do czasu opłukując w niej szczoteczkę. Identyczną procedurę należy zastosować do wszystkich zebranych kamieni. Woda w kuwecie podczas usuwania biofilmu powinna przybrać brunatną barwę. Zaleca się stosowanie zasady, że do każdej próby trzeba użyć nową szczoteczkę. Jednak jeżeli szczoteczka zostanie dokładnie wymyta w laboratorium i nie wykazuje oznak zużycia można wykorzystać ją ponownie. Jak wykazali Kelly i Zgrundo (2013) dokładne wymycie szczoteczki po jej wykorzystaniu (tj. bez widocznych śladów biofilmu oraz innych zanieczyszczeń) zapobiega zanieczyszczeniu kolejnych próbek. Generalnie w celu uniknięcia zanieczyszczenia próbki okrzemkami z poprzedniego stanowiska wszystkie wykorzystywane narzędzia należy dokładnie umyć przed zbieraniem nowej próbki.

W przypadku braku kuwety materiał okrzemkowy można zdzierać bezpośrednio do pojemnika na próbkę. Można również wykorzystać ostry nożyk lub szpatułkę, ale należy

pamiętać, że nie są to narzędzia idealne, gdyż nie docierają we wszystkie zagłębienia substratu i mogą łamać okrywy okrzemek.

Powyżej opisana metoda jest metodą domyślną stosowaną w przypadku substratów nie porośniętych glonami nitkowatymi. Jednakże w wodach wzbogaconych solami pokarmowymi naturalne substraty, jak otoczaki i kamienie, pokryte są glonami nitkowatymi (np. z rodzaju *Cladophora*). Jeśli powyżej 75% powierzchni dna (dostępnych substratów) jest porośnięte przez glony nitkowate, to taki substrat powinien być preferowany przy zbiorze prób zgodnie z zaleceniami normy EN-PN 13946:2014-05. Jednak w tej sytuacji należy zastosować zmodyfikowany sposób zebrania materiału okrzemkowego tj. przed przystąpieniem do zdzierania biofilmu należy w miarę możliwości usunąć nici glonów, a następnie energicznie zrywać biofilm za pomocą szczoteczki w sposób opisany powyżej. Jeśli resztki plech dostaną się do próby, należy je usunąć z pojemnika przed jej zakonserwowaniem czy umieszczeniem w pojemniku transportowym.

Zazwyczaj zebranie materiału w powyżej opisany sposób pozwala uzyskać próbę z ciemnobrunatną zawiesiną (Rys. 3). Jednak gdy nie uzyskano satysfakcjonującego efektu, ponieważ biofilm jest słabo rozwinięty, należy zwiększyć łączną powierzchnię opróbowanego substratu.



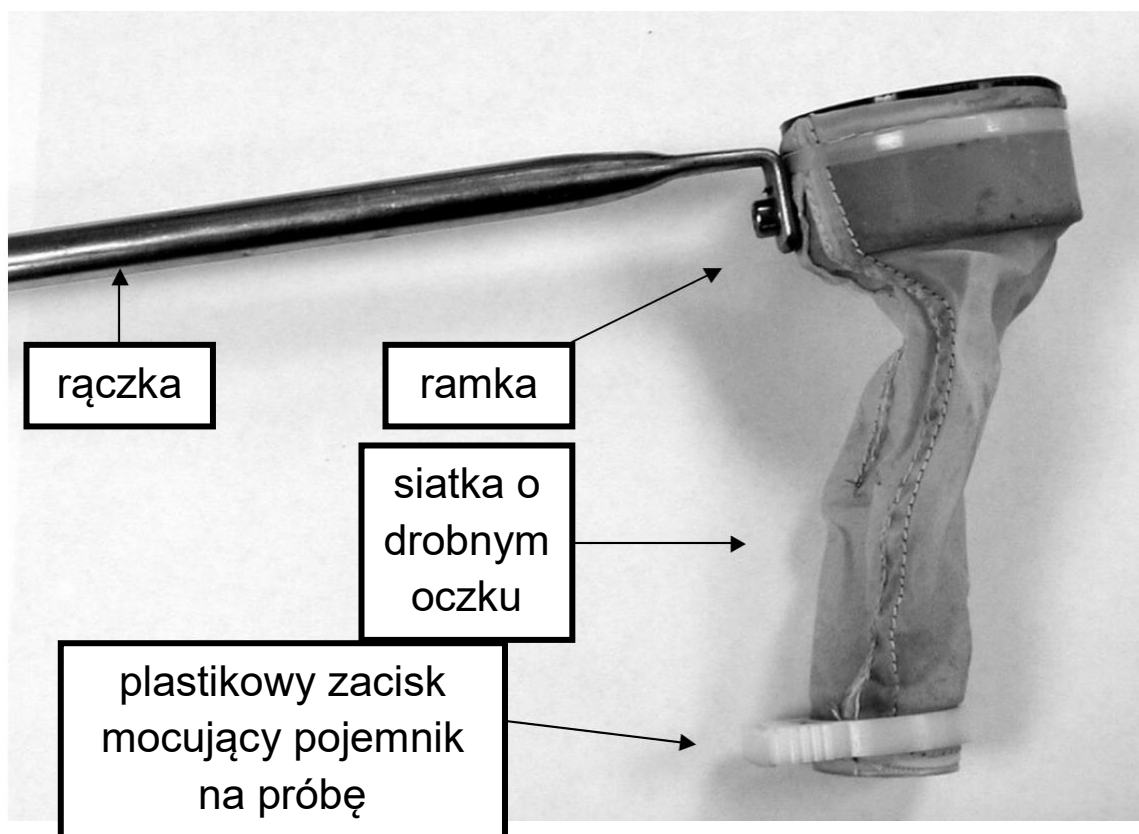
Rys. 3. Przykład zawiesiny uzyskanej poprzez zdzieranie biofilmu za pomocą szczoteczki

Następnie dobrze wymieszaną zawiesinę zeskrobanego biofilmu należy przelać z kuwety do odpowiednio opisanego pojemnika. Na etykiecie pojemnika powinna znaleźć się informacja z nazwą jeziora czy zbiornika wodnego, nazwą stanowiska, kodem punktu, datą zbioru i typem zbiorowiska.

POBÓR PRÓBEK Z PODŁOŻY SZTUCZNYCH PIONOWYCH

Pionowe powierzchnie pochodzenia antropogenicznego, takie jak np. elementy pomostów i umocnień brzegów, mogą również posłużyć jako podłoże imitujące substrat naturalny. W przypadku zbioru próbki z takiej powierzchni należy zastosować wszelkie opisane wcześniej kryteria dotyczące wyboru mikrosiedlisk (uwzględniające warunki świetlne, prędkość wody, otoczenie, itd.). W tym przypadku próbki należy pobierać z głębokości maksymalnie około 30 cm.

Zgodnie z zaleceniami zawartymi w normie PN-EN 13946:2014-05 do zebrania próbki należy zastosować odpowiednie narzędzie o długiej ręczce zaopatrzone w element do zeskrobywania biofilmu i doczepioną siatkę o drobnym oczku. Wykorzystywane narzędzia należy dokładnie umyć przed zbieraniem nowej próbki, aby uniknąć zanieczyszczenia okrzemkami z próbki zbieranej na poprzednim stanowisku. Przykładowy skrobak do pozyskiwania biofilmu z pionowych powierzchni przedstawiono na rysunku 4.



Rys. 4. Przykład skrobaka do zdzierania biofilmu z powierzchni pionowych (za: Kelly i in. 2005).

Przed przystąpieniem do pobierania próbki należy zanurzyć skrobak i wzburzyć wodę na przeciw powierzchni substratu, z której planujemy zedrzeć biofilm, tak aby jakikolwiek luźno związany z substratem materiał został oderwany. Następnie zaostrzoną częścią końcówki narzędzia zeskrobuje się biofilm z łącznej powierzchni ok. 10 cm². Zeskrobywanie biofilmu okrzemkowego powtarza się co najmniej 3 razy, a z powtórzeń tworzy się próbę zintegrowaną. Zazwyczaj zebranie materiału w powyżej opisany sposób daje bardzo gęstą próbę z fragmentami biofilmu. Jednak gdy nie uzyskano satysfakcjonującego efektu, ponieważ biofilm jest słabo rozwinięty, należy zwiększyć łączną powierzchnię substratu. Zebraną w ten sposób zawiesinę przelewa się bezpośrednio do odpowiednio opisanego pojemnika na próbę z niewielką ilością wody ze zbiornika wodnego. Na etykiecie pojemnika powinna znaleźć się informacja z nazwą jeziora, nazwą stanowiska, kodem punktu, datą zbioru i typem zbiorowiska.

POBÓR PRÓBEK Z PODŁOŻY SZTUCZNYCH

W przypadku braku odpowiednich substratów można umieścić substraty sztuczne o porowatej powierzchni (np. porowate płytki ceramiczne, cegły, postrzępioną linę

polipropylenową) i poczekać, aż wytworzy się na nich dojrzały biofilm okrzemkowy. Zaleca się ekspozycję substratu przez okres co najmniej 4 tygodni. Jednak w przypadku wód o szczególnych warunkach środowiskowych (np. w wodach bardzo ubogich w sole pokarmowe, o niskich temperaturach czy silnie zacienionych) może zaistnieć potrzeba dłuższej ekspozycji.

Szczegółowe metody poboru próbek będą zależeć od rodzaju zastosowanego substratu. W przypadku porowatych płytek czy cegieł próbki zbiera się zgodnie z metodą opisaną w sekcji „Pobór próbek z naturalnych twardych podłoży”. W przypadku użycia liny, należy odciąć końcowe 5 cm i postępować dalej zgodnie z metodą opisaną w sekcji „Pobór próbek z makrofiiów zanurzonych”. Zebraną w ten sposób zawiesinę przelewa się bezpośrednio do odpowiednio opisanego pojemnika na próbkę z niewielką ilością wody z ciekłu. Na etykiecie pojemnika powinna znaleźć się informacja z nazwą jeziora czy zbiornika wodnego, nazwą stanowiska, kodem punktu, datą zbioru i typem zbiorowiska.

Przy umieszczaniu substratów sztucznych w wodach należy pamiętać, aby nie ingerowały one w działalność innych użytkowników wód, i zminimalizować ryzyko ich umyślnego zniszczenia. Ze względu na możliwość utraty substratów sztucznych za względu na ich przemieszczenie lub umyślne usunięcie w akcie wandalizmu należy umieścić dodatkowe sztuki.

POBÓR PRÓBEK Z MAKROFIÓW ZANURZONYCH

Zgodnie z normą PN-EN 13946:2014-05 próbki fitobentosu okrzemkowego można pobrać z zanurzonych makrofitów (jak np. *Ranunculus*, *Myriophyllum*, *Ceratophyllum*, *Elodea* i *Potamogeton*) czy makroglonów. W tym przypadku pozyskuje się zarówno organizmy epifityczne, jak i inne luźno związane z podłożem.

W celu pozyskania materiału okrzemkowego należy zebrać 5 roślin (wyłącznie zdrowe części) lub ich części i umieścić w odpowiednio opisanym plastikowym worku na czas transportu. W laboratorium rośliny umieszcza się w dużej zlewce, zalewa wodą destylowaną lub demineralizowaną i poprzez intensywne mieszanie lub wstrząsanie odrywa się organizmy epifityczne z powierzchni substratu. W celu usunięcia biofilmu z roślin można je również zalać niewielką ilością 10% HCl, odczekać ok. 1 godziny i dobrze wymieszać. Po usunięciu roślin ze zlewki, należy poczekać, aż zawiesina opadnie na dno i zlać supernatant. Próbkę do dalszej preparatyki laboratoryjnej stanowi zagęszczona zawiesina.

POBÓR PRÓBEK EPIFITONU Z MAKROFIÓW WYNURZONYCH

Wynurzone makrofity (takie jak *Glyceria maxima*, *Phragmites australis* i *Typha* spp.) są uznawane za lepszy substrat niż zanurzone, a tworzący się na powierzchni ich zanurzonych pędów biofilm można łatwo zidentyfikować (Rys. 5). Jako substrat należy zebrać co najmniej 5 zdrowych roślin rosnących wzdłuż krawędzi szuwaru od strony otwartej toni wodnej.



Rys. 5. Przykłady biofilmu tworzącego się na powierzchni makrofity

Zgodnie z normą PN-EN 13946:2014-05 przy zbieraniu fitobentosu okrzemkowego z makrofity zanurzone jako zasadę przyjmuje się, że część pędu pobierana jako substrat do pozyskania próbki powinna być stale zanurzona w wodzie w strefie eufotycznej, ale jednocześnie nie zanieczyszczona osadami dennymi. Najpierw usuwa się pęd makrofity znajdujący się nad powierzchnią wody, a następnie nad pozostałą częścią pędu umieszcza się pojemnik na próbę dnem do góry. Na koniec odcina się pęd poniżej szyjki pojemnika i odwraca pojemnik z pędem do właściwej pozycji. Czynność opisaną powyżej powtarza się

dla 5-6 pędów. Dzięki zastosowaniu tej metody maksymalnie zmniejsza ryzyko usunięcia z roślin okrzemek luźno związanych z podłożem. Jeśli biofilm nie jest zbyt delikatny pędy makrofitów można umieszczać bezpośrednio w pojemniku bez czynności związanych z odwracaniem go.

W celu usunięcia biofilmu okrzemkowego w laboratorium można próbę z pędami makrofitów dobrze wymieszać i wytrząsać do uzyskania brązowej zawiesiny. Biofilm można również zdrapać odpowiednim narzędziem (np. nożem) czy usunąć szczoteczką. Kolejna metoda polega na zalaniu pędów odpowiednią ilością 10% HCl na ok. 1 godzinę. Następnie próbkę należy dobrze wymieszać, a rośliny usunąć ze zlewki. Po opadnięciu okrzemek na dno zlać supernatant. Próbkę do dalszej preparatyki laboratoryjnej stanowi zagęszczona zawiesina.

KONSERWOWANIE PRÓBEK

Jeśli próbki są transportowane w warunkach niskiej temperatury i bez dostępu światła oraz dostarczone do laboratorium w ciągu 24 godzin nie ma potrzeby ich utrwalania w terenie. W przypadku konieczności utrwalenia próbek, należy je zakonserwować zaraz po umieszczeniu w odpowiednio opisanym pojemniku. Do krótkotrwałego przechowywania (przez okres kilku tygodni) jako substancję konserwującą można zastosować płyn Lugola (ze względu na jego parowanie) w ilości ok. 1 – 5 kropli na 100 ml próbki do uzyskania ciemnobrązowego koloru. W przypadku gęstych próbek ilość płynu Lugola należy odpowiednio zwiększyć. Do długotrwałego przechowywania próbek (przez okres liczony w latach) zaleca się stosować buforowany roztwór formaldehydu (HCHO) lub etanol (C₂H₅OH). Roztwór formaldehydu buforowany do pH 7 należy dodać do próbki w takiej ilości, aby otrzymać końcowy roztwór o stężeniu 1 – 4%. Ilość środka konserwującego należy uzależnić od ilości materii organicznej w próbce. Obecność bufora (np. HEPES kwas 2-[4-(2-hydroksyetylo)-1-piperazylo]etanosulfonowy, boran, heksametylotetramina) jest konieczna, aby zapobiec rozpuszczaniu okryw okrzemek w warunkach alkalicznych. Etanol w końcowym stężeniu 20% zalecany jest do średnioterminowego przechowywania próbek (przez okres kilku miesięcy). Wyższe stężenia (nawet do ok. 70%) poleca się do przechowywania długoterminowego. Probki można również zamrozić.

DODATKOWE PRACE TERENOWE

ANALIZY FIZYKOCHemiczne WODY

Prace terenowe mające na celu zebranie fitobentosu okrzemkowego należy zharmonizować z monitoringiem elementów fizykochemicznych (wspierających elementy biologiczne) na JCWP, aby dodatkowo pozyskać pomiary podstawowych parametrów fizykochemicznych wody według zestawienia zawartego w tabeli 3.

Tabela 3. Lista parametrów fizykochemicznych do uwzględnienia podczas prac terenowych

POMIARY W TERENIE	jeziora
przewodność elektryczna właściwa [$\mu\text{S}/\text{cm}$]	x
odczyn wody pH	x
temperatura wody [$^{\circ}\text{C}$]	x
ANALIZY W LABORATORIUM	
fosfor ogólny [mg P/l]	x
Fosfor fosforanowy (V) [mg P- PO_4/l]	x
azot ogólny [mg N/l]	x
azot amonowy [mg N- NH_4/l]	x
azot azotanowy [mg N- NO_3/l]	x
zasadowość [mg CaCO_3/l]	x
twardość ogólna [mg CaCO_3/l]	x

Próbki do pomiarów elementów fizykochemicznych oraz same analizy chemiczne należy przeprowadzić zgodnie z odpowiednimi normami (np. PN-EN ISO 5667-6:2016-12 „Jakość wody – Pobieranie próbek – Część 6: Wytyczne dotyczące pobierania próbek z rzek i strumieni”, PN-EN ISO 5667-3:2013-05 Jakość wody – Pobieranie próbek – Część 3: Utrwalanie i postępowanie z próbkami wody PN-EN 27888:1999 „Jakość wody – Oznaczanie przewodności elektrycznej właściwej” itd.).

WYPEŁNIANIE PROTOKOŁU TERENOWEGO

Na każdym stanowisku należy wypełnić odpowiedni protokół terenowy. Właściwe wypełnienie formularza terenowego ma za zadanie wspomóc interpretację wyników analizy okrzemkowej. Zaleca się wykonanie co najmniej dwu fotografii – ogólnego pokroju rzeki na stanowisku i rodzaju dna, aby oprócz dostarczenia dodatkowych informacji wspierających

interpretację wyników ułatwiały lokalizację stanowiska w przyszłości. W formularzach należy również zawrzeć informację na temat wszelkich zmian jakie miały miejsce w samym cieku czy zbiorniku wodnym oraz jego otoczeniu od poprzedniej wizyty na stanowisku badawczym oraz zmian w metodyce prac terenowych.

Obecnie przewiduje się, że protokół terenowy będzie miał postać elektroniczną w postaci aplikacji mobilnej systemu informatycznego JWoda. Będzie on zawierał ogólne informacje o stanowisku poboru i warunkach pobierania prób, jak również o podłożu, z którego pobrano próbę. Dokładna zawartość interfejsu będzie zależeć od wymagań systemów informatycznych do obsługi laboratoriów WIOŚ oraz JWoda. W przypadku, gdy ekspert uzna, że zaistniały okoliczności warte odnotowania, dla których nie będzie odpowiedniej rubryki, będzie mógł je opisać w polu "Uwagi".

WSTĘPNA ANALIZA PRÓBEK FITOBENTOSU

Stosowanie się do zasad opisanych w poprzednich rozdziałach daje pewność, że próbka będzie spełniała stawiane jej wymagania pod względem jakości i pozwoli na właściwą ocenę stanu/potencjału środowiska wodnego. Zawsze jednak warto zebrane próbki wstępnie obejrzeć pod mikroskopem (powiększenie 400 – 600 x) i ocenić ich jakość. Przy ocenie należy wziąć pod uwagę: obfitość okrzemek, stan ich komórek (obecność właściwie wykształconych chloroplastów) i obecność zanieczyszczeń (materii organicznej i nieorganicznej oraz innych glonów). Jeśli w obrazie mikroskopowym znajduje się dużo zanieczyszczeń i jednocześnie wiele komórek okrzemek jest uszkodzonych lub martwych, próbka nie została zebrana z odpowiedniego mikrosiedliska i należy powtórzyć pobór. Przy ponownym poborze próbki fitobentosu okrzemkowego nie trzeba wykonywać kolejnych analiz fizyczno-chemicznych wody, jeśli prace terenowe przeprowadzono w odstępie do 2 tygodni.

4. PREPARATYKA LABORATORYJNA

W celu poprawnej identyfikacji taksonomicznej okrzemki należy pozbawić treści komórkowej (cytoplazmy, chloroplastów itd.), a z ich okryw sporządzić stały preparat mikroskopowy z wykorzystaniem odpowiedniej żywicy o wysokim współczynniku załamania światła. Istnieje wiele metod oczyszczania materiału okrzemkowego, a najpopularniejsze wymagają zastosowania silnych utleniaczy np. nadtlenu wodoru (30% H_2O_2). W kolejnej części rozdziału przedstawiono protokoły najczęściej stosowanych metod zgodnie z normą PN-EN 13946:2014-05. Nie istnieje jedna „właściwa” metoda oczyszczania okryw okrzemek. Każda z metod jest poprawna o ile w efekcie jej stosowania otrzymuje się preparat czysty tj. pozbawiony materii organicznej.

Próbki o dużej zawartości materii organicznej wymagają silniejszych reagentów niż materiał czysty, zawierający niemal wyłącznie komórki okrzemek. Z kolei próbki, w których są obecne węglany lub związki żelaza wymagają wstępnego zastosowania kwasu chlorowodorowego (HCl), aby zapobiec np. w przypadku węglanów wytrącaniu się gipsu.

Próbka poddawana procesowi oczyszczania powinna być maksymalnie zagęszczona (pozbawiona wody), przez odwirowanie lub sedymentację (24 godziny). Supernatant z odwirowania lub osadzania należy ostrożnie odpipetować lub zlać znad osadu. Z każdej próbki, część należy zachować jako rezerwę, na wypadek zniszczenia materiału w trakcie procesu oczyszczania.

Należy zwrócić szczególną uwagę na czystość narzędzi stosowanych podczas preparatyki laboratoryjnej, aby ograniczyć ryzyko wzajemnego zanieczyszczenia się próbek. Do każdej próbki należy użyć odrębnej zlewki/probówki oraz pipety czy bagietki do mieszania.

METODY OCZYSZCZANIA OKRZEMEK

Wszystkie metody oczyszczania materiału okrzemkowego wymagają wykorzystania silnych substancji utleniających, które są silnie reaktywne i/lub wybuchowe. Stąd podczas preparatyki laboratoryjnej należy zachować szczególne środki ostrożności i stosować odpowiednie zalecenia BHP. Zachowanie odpowiednich środków ostrożności i zaleceń BHP gwarantuje bezpieczną pracę.

Metoda 1: Gorący nadtlenek wodoru

Sprzęt laboratoryjny:

- wyciąg laboratoryjny,

- płyta grzejna, łaźnia piaskowa lub wodna,
- zlewki lub probówki odporne na wysokie temperatury (jedna na próbkę),
- przyrządy do odmierzania określonej objętości (20 ml) utleniacza,
- czyste pipety Pasteura (jedna na próbkę),
- wirówka i odpowiednie probówki wirówkowe odporne na działanie stosowanych utleniaczy i kwasów (opcjonalnie).

Jeśli nie ma możliwości skorzystania z wirówki próbki można zostawić do całkowitej sedymentacji materiału (zakłada się, że 1 godzina odpowiada tempie sedymentacji okrzemek w 1 cm kolumny wody), a następnie delikatnie zlać supernatant.

Odczynniki:

- 30% roztwór nadtlenu wodoru (H_2O_2),
- rozcieńczony roztwór kwasu chlorowodorowego (HCl), np. $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Procedura:

1. Próbkę dokładnie wymieszać przez wstrząsanie i przenieść 5 – 10 ml zawiesiny do zlewki lub probówki.
2. Dodać około 20 ml nadtlenu wodoru i ogrzewać na płycie grzejnej, w łaźni piaskowej lub wodnej w temperaturze około $90 \text{ }^\circ\text{C}$ ($\pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$) pod wyciągiem do całkowitego utlenienia materii organicznej (zwykle 3 – 12 godz.). W razie potrzeby uzupełniać nadtlenek wodoru. Należy zachować ostrożność podczas nalewania zimnego stężonego nadtlenu wodoru do próbek zawierających dużą ilość materii organicznej, a także podczas ich ogrzewania, ponieważ reakcja jest gwałtowna. W celu zredukowania burzliwej reakcji można dodać kilka kropel etanolu.
3. Po zakończeniu procesu ogrzewania, dodać kilka kropli kwasu chlorowodorowego, aby usunąć pozostały nadtlenek wodoru oraz węglany i spłukać ściany zlewki wodą destylowaną lub dejonizowaną. Można pominąć dodanie kwasu chlorowodorowego jeśli próbkę zebrano w rejonie, gdzie nie występują wody z węglanami.
4. Próbkę pozostawić pod wyciągiem do ostudzenia.
5. Wygotowany materiał okrzemkowy przenieść do probówki wirówkowej, dopełnić wodą destylowaną i odwirować (2500 obrotów/minutę przez 5 minut) lub pozostawić do sedymentacji na 24 godz.
6. Supernatant zdekantować.
7. Proces przemywania powtórzyć przynajmniej trzykrotnie do całkowitego usunięcia resztek nadtlenu wodoru (optymalnie 5 razy). Dobrze oczyszczony materiał okrzemkowy ma postać białego opalizującego osadu.

8. Po zakończeniu przemywania do materiału okrzemkowego dodać niewielką ilość wody destylowanej i przenieść do czystej fiolki, zaetykietowanej zgodnie z danymi wyjściowej próbki.
9. Dodać kilka kropli 4% formaliny lub etanolu, aby zapobiec rozwojowi grzybów. Zakonserwowany materiał można przechowywać przez czas nieograniczony, najlepiej w chłodzie i ciemności.

Metoda 2: Zimny nadtlenek wodoru

Metoda zalecana do oczyszczania próbek zawierających czysty materiał okrzemkowy (bez domieszek materii organicznej, osadu, fragmentów roślin itp.).

Sprzęt laboratoryjny:

- jak w Metodzie 1, ale bez płyty grzejnej, łaźni piaskowej lub wodnej.

Odczynniki:

- jak w Metodzie 1.

Procedura:

1. Postępuj zgodnie z Metodą 1, ale bez ogrzewania zlewek/probówek zawierających materiał okrzemkowy.
2. Przykrytą zlewkę/probówkę pozostawić na co najmniej 4 dni. Aby przyspieszyć proces utleniania, wystawić zlewkę na działanie światła słonecznego lub lampy UV.
3. Po zakończeniu procesu utleniania materii organicznej przemyć materiał postępując zgodnie z procedurą opisaną w Metodzie 1.

Jeżeli po zastosowaniu metody nie otrzymano czystych pancerzyków okrzemek, należy wymienić nadtlenek wodoru i powtórzyć procedurę lub zastosować inną metodę.

Metoda 3: Gorący nadtlenek wodoru z dwuchromianem potasu

Sprzęt laboratoryjny:

- jak w Metodzie 1.

Odczynniki:

- jak w Metodzie 1 oraz krystaliczny dwuchromian potasu $K_2Cr_2O_7$ (lub nadmanganian potasu $KMnO_4$).

Procedura:

1. Dobrze wymieszać próbkę przez wstrząsanie i przenieść 2 – 5 ml gęstej zawiesiny do zlewki.

2. Dodać 50 ml nadtlenku wodoru i ogrzewać na płycie grzejnej w łaźni piaskowej lub wodnej pod wyciągiem w temperaturze około 90 °C (± 5 °C) do całkowitego utlenienia materii organicznej. Zachować ostrożność tak jak w Metodzie 1.
3. Zdjąć zlewkę z płyty grzejnej.
4. Dodawać szpatułką dwuchromian potasu kryształek po kryształku (reakcja jest burzliwa). Po kilku minutach roztwór powinien być klarowny o niebieskawo-zielonym kolorze.
5. Jeżeli roztwór jest nadal mętny, dodać kilka kropli kwasu chlorowodorowego, aby usunąć resztki nadtlenku wodoru i węglanów, i spłukać ścianki zlewki wodą destylowaną lub dejonizowaną. W przypadku dużej zawartości węglanów dodać 20 ml stężonego kwasu chlorowodorowego i ostrożnie ogrzewać.
6. Przemyc materiał okrzemkowy i przenieść do czystej fiolki jak w Metodzie 1.

Metoda 4: Zimny kwas (lub nadmanganian)

Sprzęt laboratoryjny:

- wyciąg laboratoryjny,
- przyrządy do odmierzania określonej objętości (20 ml) utleniacza,
- czyste pipety Pasteura (jedna na próbkę),
- probówki wirówkowe odporne na działanie stosowanej mieszaniny kwasów (duże np. 30 – 50 ml),
- wirówka.

Odczynniki:

- rozcieńczony kwas chlorowodorowy (HCl), np. 1 mol·dm⁻³,
- stężony kwas siarkowy (H₂SO₄),
- nadmanganian potasu (KMnO₄) w postaci krystalicznej (około 0,1 - 0,5 g na próbkę) lub nasycony roztwór nadmanganianu potasu (1 – 2 ml na próbkę),
- nasycony kwas szczawiowy (C₂H₂O₄).

Procedura uzyskania nasyconego kwasu szczawiowego:

około 10 g krystalicznego kwasu szczawiowego rozpuścić w 100 ml wody destylowanej lub dejonizowanej, podgrzewając delikatnie i mieszając. Pozostawić do ostygnięcia. Powinny wytrącić się kryształy kwasu szczawiowego. Jeżeli kryształy się nie wytrącają, dodać nieco więcej kwasu szczawiowego i powtórzyć etap ogrzewania, i ochładzania.

Procedura:

1. Zhomogenizować próbę przez wytrząsanie i przenieść 5 – 10 ml zawiesiny do probówki wirówkowej.
2. Jeżeli w próbce występują (lub potencjalnie mogą występować) związki wapnia, zaleca się najpierw ich usunięcie. W tym celu, dodawać po kropli rozcieńczonego kwasu chlorowodorowego do czasu, aż próba przestanie musować (co oznacza, że przestał się uwalniać dwutlenek węgla).
3. Dodać wodę destylowaną lub dejonizowaną, odwirować i zlać supernatant.
4. Ostrożnie dodać 5 ml stężonego kwasu siarkowego.
5. Dodać 0,1 g stałego nadmanganianu potasu (lub kilka kropli nasyconego roztworu nadmanganianu potasu) i delikatnie mieszać do rozpuszczenia się kryształków. Na tym etapie zawiesina przybiera kolor purpurowy. Jeżeli użyto kryształów nadmanganianu potasu, należy doprowadzić do ich całkowitego rozpuszczenia przed przystąpieniem do następnego etapu.
6. Powoli dodawać 10 ml nasyconego kwasu szczawiowego i odczekać, aż zawartość probówki przestanie musować, a zawiesina wybieli się.
7. Przemyć materiał okrzemkowy i przenieść do czystej fiolki jak w Metodzie 1.

PRZYGOTOWANIE PREPARATÓW TRWAŁYCH

Okrzemki bentosowe identyfikuje się i zlicza przy wykorzystaniu mikroskopu świetlnego pod dużym powiększeniem (co najmniej 1000 x) dopiero po pozbawianiu ich treści komórkowej i utrwaleniu w preparatach stałych za pomocą odpowiedniego ośrodka. Stąd ważne jest, aby poprawnie wykonać preparaty stałe umożliwiające obserwację morfologii pancerzyków w mikroskopie świetlnym. Zaletą preparatów stałych jest fakt, że można je przechowywać praktycznie nieskończenie długo i wykorzystywać jako materiał referencyjny.

Listę przydatnego sprzętu laboratoryjnego i odczynników chemicznych do wykonania preparatów stałych zawarto w Tabeli 4.

Tabela 4. Lista sprzętu laboratoryjnego i odczynników chemicznych przydatnych do przygotowania stałych preparatów krzemkowych

Sprzęt laboratoryjny:	- szkiełka nakrywkowe i podstawowe - jednorazowe pipety - szklane fiołki - wyciąg - suszarka - płyta grzejna (np. ceramiczna) - rękawiczki jednorazowe
Odczynniki chemiczne:	- woda destylowana lub redestylowana - etanol - żywica syntetyczna o wysokim współczynniku załamania światła > 1,6 (np. Naphrax®, Pleurax)

W celu wykonania preparatu krzemkowego należy na bazie oczyszczonego materiału krzemkowego przygotować zawiesinę o odpowiedniej gęstości. Najlepiej do niewielkiej szklanej fiołki wlać nieco wody destylowanej lub dejonizowanej i dodać niewielką ilość materiału krzemkowego. Gęstość okryw w zawieszynie można sprawdzić oglądając ją pod światło lub analizując w niewielkim powiększeniu (np. 400x) wysuszoną kroplę zawiesziny nakropioną na szkiełko podstawowe. Do rozcieńczania zawiesziny można również wykorzystać etanol, co pozytywnie wpływa na bardziej równomierne rozmieszczenie krzemek na szkiełku podstawowym. Może się okazać, że materiał wyjściowy jest zbyt rzadki i żeby otrzymać preparat o odpowiedniej ilości okryw w polu widzenia trzeba będzie go zagęścić np. poprzez wirowanie.

Przed przystąpieniem do wykonywania preparatu należy dobrze wymieszać zawiesinę np. przez wstrząsanie. Następnie czystą pipetą Pasteura pobiera się niewielką ilość zawiesziny ze środkowej części fiołki i nakrapia na odtłuszczone szkiełko nakrywkowe, aby utworzyła się na nim poduszczone zajmująca praktycznie całą powierzchnię szkiełka. Szkiełko zostawia się do wyschnięcia w ciepłym i pozbawionym pyłów otoczeniu (np. pod wyciągiem, w eksykatorze) lub w suszarce albo na płycie grzejnej (maksymalna temp. ok 40°C). Po wysuszeniu na powierzchni szkiełka nakrywkowego powinna się pojawić cienka biaława warstwa.

Wykonując preparat stały na szkiełko podstawowe nakłada się najpierw niewielką kroplę żywicy o odpowiednim współczynniku załamania światła, a następnie szkiełko

nakrywkowe, tak aby materiał okrzemkowy zanurzyć w żywicy. W celu trwałego sklejenia szkiełka podstawowego z nakrywkowym należy postępować zgodnie ze wskazówkami producenta żywicy.

Mycie szkiełek nakrywkowych i podstawowych przed wykonaniem preparatów stałych, np. za pomocą etanolu lub zwykłego detergentu spłukanego wodą destylowaną, wpływa pozytywnie na jakość preparatu i na bardziej równomierne rozmieszczenie okryw okrzemek.

Należy zwrócić szczególną uwagę, aby preparat był odpowiednio opisany tj. zawierał przynajmniej informacje na temat lokalizacji stanowiska, daty zbioru próby czy kod umożliwiający uzyskanie z bazy danych dalszych informacji o próbce.

Prawidłowo wykonany preparat stały spełnia następujące kryteria:

- okrywy okrzemek są pozbawione materii organicznej,
- żywica jest właściwie utwardzona,
- żywica jest wolna od pęcherzyków powietrza,
- żywica znajduje się pomiędzy szkiełkiem podstawowym, a nakrywkowym na całej powierzchni,
- okrywy na szkiełku są rozmieszczone stosunkowo równomiernie (nie tworzą agregatów) i nie obserwuje się tzw. efektu brzegowego tj. gęstość okryw okrzemek jest mniej więcej jednakowa w centrum i na brzegach szkiełka nakrywkowego,
- obca materia organiczna i nieorganiczna w preparacie nie występuje lub istnieje w niewielkich ilościach, które nie utrudniają identyfikacji okryw okrzemek i ich analizy ilościowej,
- w polu widzenia znajduje się od 5 do 15 okryw okrzemek w polu widzenia pod powiększeniem 1000 x (idealna sytuacja), ale nie więcej niż 20.

W przypadku, gdy oczyszczony materiał okrzemkowy zawiera zbyt dużo materii organicznej w stosunku do ilości okryw i rozcieńczenie próbki nie wpływa na poprawę jakości preparatu, materiał należy ponownie poddać procesowi wytrawiania. Proces oczyszczania należy również powtórzyć jeśli w preparacie przeważają całe komórki okrzemek lub ich kolonie (taśmy, zygzaki) ze względu na wysoki poziom niepewności związany z prawidłowym oznaczeniem taksonów oraz nierównomierne rozmieszczenie komórek w preparacie wpływające na wiarygodność wyników analizy ilościowej.

5. ARCHIWIZACJA PREPARATÓW OKRZEMKOWYCH I PRÓBEK

Stałe preparaty okrzemkowe są niezastąpionym materiałem porównawczym w badaniach monitoringowych. Mogą również posłużyć wykonaniu różnorodnych analiz taksonomicznych i środowiskowych. Z tego powodu w normie PN-EN 14407:2104-15 zawarto zalecenia dotyczące ich przechowywania. Zgodnie z nimi preparaty powinny być deponowane w lokalnych lub krajowych herbariach, a opis znajdujący się na szkiełku podstawowym powinien zawierać istotną informację odsyłającą w nie budzący wątpliwości sposób do innych danych dotyczących opisu stanowiska jak np. mapa ze współrzędnymi geograficznymi, dane chemiczne, hydrologiczne itp. Do przechowywania preparatów można wykorzystać specjalne pudełka lub szafy na preparaty.

Również zawiesina oczyszczonych pancerzyków okrzemek powinna być opisana w sposób nie budzący wątpliwości i przechowywana w odpowiednich warunkach. Zaleca się przechowywanie części reprezentatywnych próbek po odpowiednim ich zakonserwowaniu, gdyż mogą posłużyć do weryfikacji anomalnych wyników. W tym celu najlepiej oczyszczony materiał okrzemkowy umieścić w szklanej fiole (aby zapobiec rozpuszczaniu się okryw okrzemek) i zakonserwować kilkoma kroplami 4% formaliny lub etanolem (nawet do uzyskania stężenia ok. 80%), aby zapobiec rozwojowi grzybów. Zakonserwowany materiał można przechowywać przez czas nieograniczony, najlepiej w chłodzie i ciemności. Materiał okrzemkowy można przechowywać również w postaci wysuszonej.

6. ANALIZA MIKROSKOPOWA

Okrzemki identyfikuje się i zlicza w preparatach stałych pod dużym powiększeniem w celu wykonania analizy jakościowej i ilościowej zebranych zbiorowisk. Otrzymane wyniki następnie interpretuje się w oparciu o indeksy okrzemkowe opracowane osobno dla cieków (potoków, rzek, kanałów), jezior i zbiorników zaporowych.

Do przeprowadzenia analizy okrzemkowej niezbędny jest mikroskop świetlny wyposażony w obiektyw immersyjny o dużym powiększeniu (np. 100x). Zaleca się również wykorzystanie kontrastu fazowego lub kontrastu interferencyjnego (Nomarskiego) oraz okularu mikrometrycznego (z podziałką okularową przynajmniej co 1 μm). Konieczny jest również zestaw do wykonywania zdjęć czy sekwencji wideo wraz z odpowiednim oprogramowaniem w celu dokumentacji organizmów trudnych do zidentyfikowania (może również służyć do wykonywania pomiarów). Dodatkowymi niezbędnymi przedmiotami są olejki immersyjne z dozownikiem i ściereczka/chusteczki do soczewek.

Okular mikrometryczny czy jakikolwiek sprzęt do wykonywania pomiarów powinien być regularnie kalibrowany względem mikrometru podstawowego (szkiełka kalibracyjnego), a wyniki kalibracji należy umieścić w widocznym miejscu.

OZNACZANIE TAKSONÓW OKRZEMEK

Okrzemki powinny być identyfikowane w preparatach trwałych przeglądanych pod powiększeniem co najmniej 1000x, tzn. z użyciem obiektywu immersyjnego. Jedynie w tym przypadku można prawidłowo rozpoznać podstawowe cechy budowy ściany komórkowej będące podstawą identyfikacji i przynależności taksonomicznej. Niezbędne jest również wykonanie odpowiednich pomiarów okryw oraz ilości prążków czy innych charakterystycznych elementów ornamentacji. Dokładne wskazówki na temat podstaw identyfikacji okryw okrzemek zawarto w opracowaniu Bąk i in. 2012 „Klucz do oznaczania okrzemek w fitobentosie na potrzeby oceny stanu ekologicznego wód powierzchniowych w Polsce”. Pozycja ta spełnia również rolę przewodnika do oznaczania najczęściej identyfikowanych okrzemek w monitoringu wód w Polsce. Ze względów praktycznych przy aktualizacji metodyk na potrzeby oceny stanu ekologicznego wód powierzchniowych w Polsce na podstawie fitobentosu uaktualniono również listy nazw taksonów stosowane w formatkach, tak aby odpowiadały one nazwom stosowanym w podręczniku Bąk i in. 2012.

Generalnie okrzemki oznacza się w widoku od strony okrywy, jednak niektóre taksony identyfikuje się na podstawie wyglądu od strony pasa obwodowego, ponieważ zazwyczaj w taki sposób okrzemka układa się w preparacie (np. *Rhoicosphenia abbreviata*). Z kolei część taksonów można zidentyfikować do gatunku na podstawie wyglądu od strony pasa obwodowego na zasadzie „dopasowania” do innych okryw taksonu znalezioneego w próbce.

W celu identyfikacji gatunków rzadkich zaleca się zastosowanie odpowiednich pozycji z literatury specjalistycznej np. z serii *Diatoms of Europe* lub *Iconographia Diatomologica*, czy dedykowanych artykułów taksonomicznych. Badania naukowe prowadzone w ostatnich latach doprowadziły do powstania równoległych systemów nomenklatury taksonomicznej. Stąd ważnym jest, aby wyeliminować jakiekolwiek wątpliwości co do pozycji taksonomicznej oznaczanej okrzemki. Nazwy taksonów okrzemek powinny być uzupełnione nazwiskami autorów oraz namiarami na pozycję literaturową wg. której oznaczano takson we wszystkich przypadkach kiedy istnieje możliwość popełnienia pomyłki w nazewnictwie. W przypadku problemów z identyfikacją okazów można je utrwalić w postaci rysunków, wysokiej jakości mikrofotografii czy obrazów video, jednak najlepiej

również zaznaczyć absolutną pozycję okazu w preparacie za pomocą odpowiedniego urządzenia.

Na potrzeby indeksów okrzemkowych stosowanych w Polsce zaleca się identyfikację okryw do poziomu gatunku. Jednak część taksonów o podobnej morfologii i identycznych wymaganiach autekologicznych w celach praktycznych pogrupowano w tzw. kompleksy gatunków.

OKREŚLANIE LICZEBNOŚCI WZGLĘDNEJ OKRZEMEK W PREPARATACH STAŁYCH

Podczas wykonywania analizy mikroskopowej należy stworzyć listę taksonów wraz z ich liczebnością na odpowiednim formularzu, w zeszycie analiz mikroskopowych lub w programie komputerowym umożliwiającym bezpośrednie wprowadzanie danych.

Dla indeksów okrzemkowych stosowanych w Polsce zaleca się traktowanie okrywy jako jednostki przy zliczaniu (2 okrywy tworzą pancerzyk). W przypadku niektórych okrzemek, np. z rodzaju *Amphora*, należy zwrócić uwagę, aby nie liczyć jednej okrywy zamiast dwóch, ponieważ ma to wpływ na niedoszacowanie liczebności. Z kolei w przypadku okrzemek o niewielkich rozmiarach (np. z rodzaju *Achananthes* czy *Navicula*) może nie być możliwe rozróżnienie pomiędzy okrywą, a pancerzykiem, co może wpłynąć na niedoszacowanie czy przeszacowanie ich liczebności. Jednak obecnie uważa się, że ten rodzaj niepewności ma niewielki wpływ na wyniki zliczania, udziały procentowe taksonów i ostateczne wyniki analizy.

Dla indeksów stosowanych w Polsce zaleca się zliczenie około 300 okryw taksonów wskaźnikowych czyli taksonów zawartych w odpowiednich tabelach załączonych do indeksów okrzemkowych. Dla taksonów nie ujętych w formatkach bazodanowych do obliczania wartości indeksów okrzemkowych należy utworzyć oddzielną listę wraz z ich liczebnością na potrzeby kolejnych aktualizacji. Dopuszcza się oznaczenie do rodzaju (lub wyższej rągi taksonomicznej) okryw trudnych do identyfikacji, jednak nie powinny one stanowić więcej niż 5% wszystkich zliczonych okryw. Z kolei taksony opisywane jako planktonowe (np. *Cyclotella*, *Stephanodiscus*, *Thalassiosira*, *Asterionella formosa* czy *Fragilaria crotonensis*) zaleca traktować się jako zanieczyszczenie i nie zliczać ich okryw.

Zgodnie z normą PN-EN 14407:2014-15 przy wykonywaniu analizy ilościowej okrzemek można zastosować jedną z poniżej opisanych opcji:

- a) zliczanie wykonuje się przesuwając szkiełko w transektach (trawersach) wzdłuż lub w poprzek szkiełka podstawowego, a każdą okrzemkę identyfikuje się i zlicza, gdy przekroczy ona linię podziałki okularowej,
- b) identyfikuje się i zlicza okrzemki w polu widzenia (albo w polu siatki), a następnie przesuwa się wzdłuż transektu (trawersu) pionowego czy poziomego do kolejnego pola lub wybiera losowo nowe pole widzenia,
- c) lub stosuje się kombinację obu metod polegającą na zliczaniu najpierw w polach widzenia, a potem przesuwając się wzdłuż transektu (trawersu).

Jeśli stosuje się zliczanie w losowo wybranych polach widzenia to pola losowe należy lokalizować, stosując podziałkę noniusza w mikroskopie, w połączeniu z tablicami liczb losowych albo z funkcjami dotyczącymi liczb losowych w programach komputerowych lub elektronicznych kalkulatorach.

We wszystkich przypadkach procedurę zliczania powtarza się do uzyskania odpowiedniej liczby okrzemek. Dodatkową zasadę należy wprowadzić do zliczania okrzemek w sytuacji, gdy tylko jej część znajduje się w zdefiniowanym polu liczenia, np. stosuje się zliczanie okrzemek częściowo widocznych w górnej, ale nie dolnej krawędzi pola – w przypadku transektów poziomych, lub na lewej, a nie prawej krawędzi – w przypadku transektów pionowych. W każdym przypadku konsekwencja w stosowaniu przyjętej zasady jest ważniejsza od wybranej zasady. Dodatkowo należy wziąć pod uwagę, że niezależnie od sposobu poruszania się w transektach (pionowych czy poziomych) należy unikać zachodzenia się pól widzenia poszczególnych transektów, a przesunięcie stolika do nowego transektu powinno uwzględniać również wielkość okrzemek znajdujących się na krawędziach transektów.

Jeśli wykonywanie analizy ilościowej nie zakończyło się w ciągu jednej sesji należy zapisać pozycje przeanalizowanych transektów korzystając z podziałki na stoliku (tzw. podziałka noniusza/Verniera).

Dla indeksów stosowanych w Polsce zaleca się zliczanie wyłącznie całych, nieuszkodzonych okryw. Obecność wielu fragmentów okrzemek może wskazywać na błędy metodyczne stosowane podczas prac terenowych czy laboratoryjnych.

Podaje się wiele przyczyn uniemożliwiających zidentyfikowanie okrzemki, np. jej ułożenie, czy obecność nadmiernej ilości materiału mineralnego i/lub organicznego w preparacie. W przypadku zanieczyszczenia preparatu uniemożliwiającego przeprowadzenie analizy jakościowej i ilościowej należy przygotować nowe preparaty z rozcieńczonej zawiesiny lub korygując czas sedymentacji w celu oddzielenia okrzemek od zanieczyszczeń.

PROCEDURA ZLICZANIA OKRYW W PREPARACIE STAŁYM

Po umieszczeniu preparatu na stoliku mikroskopu należy przenieść odpowiednie informacje z opisu preparatu do formularza wyników zliczania. Powinno się uwzględnić zarówno kod próbki, nazwę zbiornika, nazwę stanowiska, datę pobrania próby oraz datę analizy i nazwisko analityka.

Przed rozpoczęciem zliczania zaleca się wybranie pozycji początkowej na preparacie; najlepiej na krawędzi naniesionej zawiesiny, ale tylko jeśli nie ma istotnych „efektów brzegowych” (tzn. żadne taksony nie są w widoczny sposób bardziej skoncentrowane na krawędzi niż w innych miejscach w obrębie naniesionej zawiesiny).

W polu widzenia identyfikuje się wszystkie obecne okrywy. Po zapisaniu ilości okryw wszystkich taksonów w pierwszym polu widzenia należy kontynuować liczenie przesuając się po preparacie zgodnie z przyjętą strategią i rejestrować w formularzu danych wszystkie zidentyfikowane okrywy okrzemek, aż do momentu policzenia wymaganej liczby okryw.

Korzystając ze śruby mikrometrycznej należy dokładnie nastawiać ostrość i zmieniać ją, aby odróżniać pojedyncze okrywy od całej skorupki. W przypadku zidentyfikowania całej skorupki do wyników dodaje się dwie okrywy. Cała skorupka ma dwie nieco oddalone od siebie płaszczyzny ostrości, w których można wyraźnie zobaczyć prążki, szczelinę czy inne struktury, które obserwuje się poprzez zmianę ostrości widzenia. Cała skorupka ma też często odmienne właściwości optyczne od pojedynczej okrywy.

Pojawiające się sporadyczne kolonie, np. w postaci nici, powinno się zliczać jako odpowiednią liczbę okryw. Jednak jeżeli okrzemki masowo występują w postaci kolonii należy rozważyć przygotowanie kolejnego preparatu z materiału, który potraktowano uprzednio bardziej agresywną mieszaniną odczynników utleniających.

Jeżeli nie można zidentyfikować okrywy okrzemki należy wykonać jej zdjęcia lub sporządzić dokładne rysunki i skonsultować się z osobą o większym doświadczeniu. Zdjęciom lub rysunkom powinny towarzyszyć informacje na temat: kształtu i rozmiarów okrywy, gęstości i rozmieszczenia prążków (w polu środkowym i biegunach), kształtu i wielkości pola środkowego, liczby i położenia porów oraz układu końców szczeliny.

Po zakończeniu analizy preparat zdejmuje się ze stolika mikroskopu, a z obiektywu i preparatu wyciera się olejek immersyjny.

7. INTERPRETACJA WYNIKÓW ANALIZY MIKROSKOPOWEJ – MULTIMETRYCZNY INDEKS OKRZEMKOWY DLA JEZIOR

Po zliczeniu odpowiedniej ilości okryw okrzemek dane ilościowe przelicza się wykorzystując odpowiedni indeks okrzemkowy tj. Multimetryczny Indeks Okrzemkowy dla Jezior (IOJ). Na jego podstawie wykonuje się ocenę poziomu presji związanej z eutrofizacją wywieranej na jezioro. Wraz z modułem zawierającym informację o taksonach referencyjnych dają miarę „ogólnej jakości wody”. Należy zwrócić uwagę, że indeks nie jest w stanie odzwierciedlić wszystkich środowiskowych czynników stresujących. Na przykład wysokie stężenia metali ciężkich wywierają wpływ na zbiorowiska okrzemek, który bardzo trudno określić ilościowo. Jeżeli podejrzewa się istnienie czynników stresujących innych niż eutrofizacja, zaleca się wówczas sięgnięcie do specjalistycznej literatury lub skonsultowanie się z ekspertem w danej dziedzinie.

Indeksy okrzemkowe stosowane w Polsce bazują na względnej obfitości taksonów obecnych w próbce. Liczebność względna $[L_i]$ i -tego taksonu wskaźnikowego w próbce wyraża się jako jego udział procentowy i oblicza się według poniższego wzoru:

$$L_i = \frac{\text{Liczba okryw taksonu}_i}{\text{Liczba wszystkich zliczonych okryw}}$$

W kolejnym kroku wartości udziałów procentowych dla wszystkich taksonów w próbce uwzględnionych w indeksie są wykorzystywane do obliczania poszczególnych modułów tworzących indeks.

Multimetryczny indeks okrzemkowy IOJ dla jezior składa się z dwóch modułów: wskaźnika trofii TJ oraz modułu gatunków referencyjnych GR_J uwzględniającego taksony referencyjne dla wszystkich typów jezior oraz osobno dla jezior międko- i twardowodnych. Moduł trofii wyliczany jest na podstawie równania:

$$TJ = \frac{\sum_{i=1}^n TJ_i \cdot wTJ_i \cdot L_i}{\sum_{i=1}^n wTJ_i \cdot L_i}$$

gdzie:

TJ_i – wartość wrażliwości względem trofii i -tego taksonu,

wTJ_i – wartość wagowa (zakres tolerancji) i -tego taksonu,

L_i – względna obfitość i -tego taksonu (liczba okryw i -tego taksonu podzielona przez liczbę wszystkich zliczonych okryw).

Stopień odchylenia badanego zbiorowiska od zbiorowiska referencyjnego określa moduł gatunków referencyjnych GR_J opisany równaniem:

$$GR_J = \sum_{i=1}^n tR_i$$

gdzie:

tR_i -względna liczebność i-tego taksonu referencyjnego (liczba osobników i-tego taksonu referencyjnego podzielona przez liczbę wszystkich zliczonych osobników).

Pierwotnie wartości wrażliwości względem trofi dla poszczególnych taksonów przyjęto na podstawie list stworzonych dla indeksu dla niemieckich jezior nizinnych TI_{NORD} (Schaumburg i in. 2007), a wartości wagowe nadano w oparciu o pulę wyników z polskich jezior z lat 2008 i 2009 (za Picińska-Fałtynowicz i Błachuta 2010). Uaktualnione wartości wrażliwości i wagowe względem trofii dla poszczególnych taksonów oraz ich wartości referencyjne w jeziorach zamieszczono w odpowiedniej tabeli w Załączniku 2.

Wskaźnik TJ przyjmuje teoretyczne wartości od 0 (niska żyzność) do 1 (wysoka żyzność). Wskaźnik GR_J zmienia się w przedziale od 0 (żaden z taksonów w próbie nie jest taksonem referencyjnym) do 1 (wszystkie taksony w próbie są taksonami referencyjnymi). Połączenie tych dwóch wskaźników w jeden indeks multimetryczny wymaga sprowadzenia ich do identycznych przedziałów zmienności. W tym celu wylicza się znormalizowany wskaźnik trofii Z_{TJ} zgodnie z równaniem:

$$Z_{TJ} = 1 - (TI \cdot 0,1)$$

gdzie:

Z_{TJ} – znormalizowana wartość wskaźnika T,

TJ – wskaźnik trofii.

Wartości wskaźnika GR_J nie trzeba przeliczać, ponieważ zmieniają się w przedziale od 0 do 1. Ostatecznie Multimetryczny indeks okrzemkowy IOJ dla jezior wylicza się z równania:

$$IOJ = 0,6 \cdot Z_{TJ} + 0,4 \cdot GR_J$$

gdzie:

Z_{TJ} – znormalizowany wskaźnik trofii,

GR_I – wskaźnik obfitości gatunków referencyjnych

Wartość indeksu IOJ zmienia się od 1 (stan/potencjał bardzo dobry) do 0 (stan/potencjał zły).

W celu wyliczenia wartości indeksu okrzemkowego należy wprowadzić dane z analizy okrzemkowej do odpowiedniej formatki bazodanowej. Instrukcję wprowadzania danych do formatek zawarto w Załączniku 3.

W kolejnym kroku na podstawie wartości indeksów okrzemkowych wykonuje się ocenę stanu ekologicznego lub potencjału ekologicznego wód dla biologicznego elementu jakości określanego jako fitobentos okrzemkowy.

8. INTERPRETACJA WYNIKÓW INDEKSÓW OKRZEMKOWYCH

Definicje stanu ekologicznego naturalnych części wód powierzchniowych oraz potencjału ekologicznego sztucznych i silnie zmienionych części wód są zawarto w Ramowej Dyrektywie Wodnej (Dyrektywa 2000/60/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 23 października 2000 r. ustanawiająca ramy wspólnotowego działania w dziedzinie polityki wodnej). Stan/potencjał ekologiczny określa się na 5-stopniowej skali (Dyrektywa 2000/60/WE (RDW), Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 21 lipca 2016 r. w sprawie sposobu klasyfikacji stanu jednolitych części wód powierzchniowych oraz środowiskowych norm jakości dla substancji priorytetowych (Dz.U. 2016 poz. 1187).

W celu wykonania oceny stanu/potencjału ekologicznego jednolitych części wód powierzchniowych takich jak jezioro lub zbiornik wodny na podstawie wyników badań fitobentosu okrzemkowego należy porównać otrzymaną wartość indeksu IOJ z przyjętymi granicami klas (Tabela 5) i odpowiednio ją zaklasyfikować.

Tabela 5. Granice klas stanu ekologicznego dla jednolitych części wód powierzchniowych, takich jak jezioro lub inny naturalny zbiornik wodny, w tym jeziora lub inne sztuczne zbiorniki naturalne wyznaczone jako jednolite części wód silnie zmienione oraz sztuczne zbiorniki wodne, na podstawie Multimetrycznego Indeksu Okrzemkowego dla Jezior IOJ

Typ jeziora	Wartość graniczna wskaźnika jakości wód właściwa dla klasy:				
	I	II	III	IV	V
1a – 7b	> 0,705	≥ 0,590	≥ 0,400	≥ 0,150	< 0,150

W przypadku dużych rozbieżności wyników oceny JCWP na podstawie fitobentosu okrzemkowego i innych elementów należy ustalić przyczyny rozbieżności. Po

wyeliminowaniu przyczyn naturalnych, a także nieprawidłowości w poborze i analizie próbek, w przypadku dalszego powtarzania się rozbieżności, należy podjąć monitoring badawczy (Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 21 lipca 2016 r., Dz.U. 2016 poz. 1187).

LITERATURA

- Alvarez Troncoso R., Zalewski T. 2012. Nadzór merytoryczny nad poborem prób i oznaczaniem fitobentosu w rzekach i jeziorach wraz z opracowaniem oceny stanu i klucza do oznaczania fitobentosu. Etap III, praca wykonana na zlecenie GIOŚ w ramach umowy 56/2010/F, Adasa Sistemas S.A.U., str. 117.
- Bąk M., Witkowski A., Żelazna-Wieczorek J., Wojtal A.Z., Szczepocka E., Szulc K., Szulc B. 2012. Klucz do oznaczania okrzemek w fitobentosie na potrzeby oceny stanu ekologicznego wód powierzchniowych w Polsce, Biblioteka Monitoringu Środowiska, Warszawa, str. 452
- Błachuta J., Picińska-Fałtynowicz J. 2010. Wytyczne metodyczne do przeprowadzenia monitoringu i oceny potencjału ekologicznego zbiorników zaporowych w Polsce, raport z prac wykonanych na zlecenie GIOŚ w ramach umowy 55/2010/F, IMGW we Wrocławiu, Wrocław, str. 58
- Błachuta J., Kraśniewski W., Mazurek M., Miszuk B., Picińska-Fałtynowicz J., Wiktorowicz E., Zdralewicz I. 2017. Dostosowanie istniejących metodyk oceny stanu ekologicznego do wykorzystania w przyujściowych odcinkach rzek Etap II, zadanie 2.1. Wstępna wersja korekt metodyk, praca wykonana na zlecenie GIOŚ w ramach umowy 15/2016/F, IMGW – PIB, Wrocław, str.10.
- Dyrektywa 2000/60/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 23 października 2000 roku ustanawiająca ramy wspólnotowego działania w dziedzinie polityki wodnej, str. 198.
- Kelly M.G., Zgrundo A. 2013. Potential for cross-contamination of benthic diatom samples when sampling using toothbrushes, *Diatom Research*, 28(4): 359-363, DOI: 10.1080/0269249X.2013.806959
- Kelly M.G., Yallop M.L., Hirst H., Bennion H. 2005. Sample collection. Version 2.1. 11pp. Unpublished DARES/DALES protocol. <http://craticula.ncl.ac.uk/dares/methods.htm>
- Hobot A. (red). 2015. Aktualizacja wykazu JCWP i SCWP dla potrzeb kolejnej aktualizacji planów w latach 2015-2021, raport wykonany na zlecenie KZGW, Gliwice-Warszawa, str. 52
- EN-PN 13946:2014-05 „Jakość wody – Wytyczne do rutynowego pobierania próbek oraz wstępnego przygotowania do analiz okrzemek bentosowych z rzek i jezior”
- EN-PN 14407:2014-05 „Jakość wody – Wytyczne dotyczące identyfikacji i oznaczania ilościowego próbek okrzemek bentosowych z rzek i jezior”.
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 21 lipca 2016 r. w sprawie sposobu klasyfikacji stanu jednolitych części wód powierzchniowych oraz środowiskowych norm jakości dla substancji priorytetowych Dz.U. 2016 poz. 1187
- Schaumburg J., Schranz Ch., Stelzer D., Hofmann G., Gutowski A., Foerster J. 2006. Instruction Protocol for the ecological Assessment of Running Waters for

Implementation of the EC Water Framework Directive: Macrophytes and Phytobenthos. Bavarian Water Management Agency. München. s. 1-121.

Schaumburg J., Schranz Ch., Stelzer D., Hofmann G. 2007. Action Instructions for the ecological Evaluation of Lakes for Implementation of the EU Water Framework Directive: Macrophytes and Phytobenthos. Bavarian Water Management Agency. München. s. 1-69.

Picińska-Fałtynowicz J., Błachuta J., Kotowicz J., Mazurek M., Rawa W. 2006. Wybór typów jednolitych części wód rzecznych i jeziornych do oceny stanu ekologicznego na podstawie fitobentosu wraz z rekomendacją metodyki poboru i analizy prób, praca wykonana na zlecenie GIOŚ, IMGW we Wrocławiu, Wrocław, str. 34.

Picińska-Fałtynowicz J., Błachuta J. 2010. Przewodnik metodyczny – Zasady poboru i opracowania prób fitobentosu okrzemkowego z rzek i jezior. Wytyczne metodyczne do przeprowadzenia oceny stanu ekologicznego jednolitych części wód rzek i jezior oraz potencjału ekologicznego sztucznych i silnie zmienionych jednolitych części wód płynących Polski na podstawie badań fitobentosu, raport z prac wykonanych na zlecenie GIOŚ, IMGW we Wrocławiu, Wrocław, str. 58

Zgrundo A., Peszek Ł., Poradowska A. 2017. Wytyczne metodyczne do przeprowadzenia oceny stanu ekologicznego jednolitych części wód rzek i jezior oraz potencjału ekologicznego sztucznych i silnie zmienionych jednolitych części wód płynących Polski na podstawie badań fitobentosu”, raport z prac wykonanych na zlecenie GIOŚ w ramach umowy 11/2017/POIŚ, OceanSense Maciej Fojcik, Gdańsk, str. 54

Załącznik 1. Wzór protokołów terenowych

Zestaw elementów, które powinny zostać umieszczone w protokole terenowym:

1. Dane identyfikacyjne punktu pomiarowo-kontrolnego (kod ppk, kod i nazwa jednolitej części wód powierzchniowych)
2. Dane identyfikacyjne stanowiska pobierania prób (w szczególności współrzędne stanowiska, nazwa cieku lub zbiornika; zwłaszcza gdy inna niż nazwa JCWP, do którego przyporządkowano stanowisko)
3. Dane identyfikacyjne podmiotu odpowiedzialnego za pobór próbki (nazwa WIOŚ lub jego delegatura, ewentualnie dane próbobiorców i laborantów – zgodnie z wymaganiami laboratorium)
4. Dane identyfikacyjne próbki (kod, w zależności od potrzeb laboratorium)
5. Data i godzina poboru próbki
6. Rodzaj substratu, z którego pobrano próbkę
7. Głębokość z jakiej pobierano próbkę
8. Stan pogody (słoneczna, pochmurna, pochmurna z opadami, burzowa, zmienna)
9. Informacja, czy warunki środowiska odbiegają od typowych (jeśli tak, należy umieścić odpowiednią notatkę w uwagach)
10. Temperatura powietrza
11. Nasilenie opadów (brak, słabe, średnie, intensywne)
12. Ocena organoleptyczna wody (czysta, mętna, z widoczną zawiesiną, z substancjami humusowymi, inne)
13. Roztopy (tak, nie)
14. Stan wody w ciekach (niski, średni, wysoki) lub falowanie w jeziorach i zbiornikach zaporowych (brak, małe, średnie, intensywne)
15. Pomiary chwilowe podstawowych parametrów wody tj. pH, temperatury, tlenu i przewodności
16. Czy w stanowisku lub powyżej stanowiska prowadzone są prace budowlane i utrzymaniowe (z uwzględnieniem prac hydrotechnicznych, infrastruktury hydrotechnicznej i drogowej)?
17. Czy w stanowisku lub w sąsiedztwie stanowiska występują śmieci?
18. Czy w stanowisku lub powyżej stanowiska występują inne zanieczyszczenia?
19. Czy w stanowisku lub w sąsiedztwie stanowiska występują zakwity?
20. Uwagi

Załącznik 2. Uaktualnione wartości wrażliwości i wagowe oraz referencyjne dla poszczególnych taksonów w jeziorach i zbiornikach wodnych

Lista wskaźnikowych taksonów okrzemek w jeziorach: dla indeksu trofii (TJ – wartość wrażliwości taksonu, wTJ – wartość wagowa taksonu), taksonów referencyjnych dla wszystkich typów jezior (O), oraz taksonów referencyjnych dla jezior miękkowodnych (MW) i twardowodnych (TW).

Kod	Takson		TJ	wTJ	O	MW	TW
ALDU	Achnanthes	lanceolata ssp. robusta (Hustedt) Lange-Bertalot	2,3	2			1
ANOD	Achnanthes	nodosa Cleve	0,4	3		1	
AOBG	Achnanthes	oblongella Østrup	0,5	3		1	
APET	Achnanthes	petersenii (Hustedt) Round i Bukhtiyarova	0,7	1			1
AROK	Achnanthes	rosenstocki Lange-Bertalot	0,1	3			1
ATRI	Achnanthes	trinodis Arnott	0,4	3			1
ACAF	Achnanthidium	affine (Grunow) Czarnecki	3,4	2			
ADCA	Achnanthidium	caledonicum (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot	0,1	3	1		
ADEU	Achnanthidium	eutrophilum (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot	3	1			
ADEG	Achnanthidium	exiguum (Grunow) Czarnecki	2,4	2			1
ADEX	Achnanthidium	exile (Kützing) Round, Bukhtiyarova	0,5	1			1
ADGL	Achnanthidium	gracillimum (Meister) Lange-Bertalot	0,4	3			1
ADLO	Achnanthidium	linearoides Lange-Bertalot	0,4	3		1	
ADMI	Achnanthidium	minutissimum (Kützing) Czarnecki var. minutissimum	0,7	1	1		
AICP/ADMJ	Achnanthidium	minutissimum f. inconspicuum (Østrup) Compère, Riaux-Gobin + var. jackii (Rabenhorst) Lange-Bertalot	0,5	2			1
ADPY	Achnanthidium	pyrenaicum (Hustedt) Kobayasi	0,5	1	1		
ABRY	Adlafia	bryophila (Petersen) Lange-Bertalot	0,5	2	1		
ADMS	Adlafia	minuscula (Grunow) Lange-Bertalot	3	2			
ADMM	Adlafia	minuscula var. muralis (Grunow) Lange-Bertalot	5,7	3			
ADFS	Adlafia	suchlandtii (Hustedt) Lange-Bertalot	0,5	3		1	

APEL	Amphipleura	pellucida (Kützing) Kützing	1,2	2			1
ALIB	Amphora	copulata (Kützing) Schoeman, Archibald	4	3			
AINA/AMID/AEXM	Amphora	inariensis Krammer + indisticta Levkov + eximia Carter	1	1			1
AOVA	Amphora	ovalis (Kützing) Kützing	3,3	1			
APED	Amphora	pediculus (Kützing) Grunow	2,9	1			
ABLT	Aneumastus	balticus Lange-Bertalot					1
ANMI	Aneumastus	minor Lange-Bertalot	1,4	2			1
ANSS	Aneumastus	stroesei (Østrup) Mann, Stickle	1,1	1			1
ANTU	Aneumastus	tusculus (Ehrenberg) Mann, Stickle	1,2	2			1
ASPH	Anomoeoneis	sphaerophora Pfister	5,3	3			
BBRE	Brachysira	brebissonii Ross	0,5	3		1	
BNEO	Brachysira	neoexilis Lange-Bertalot	0,7	2	1		
BPRO	Brachysira	procera Lange-Bertalot, Moser	0,4	3	1		
BSER	Brachysira	serians (Brébisson) Round, Mann	0,4	3		1	
BSTY	Brachysira	styriaca (Grunow) Ross	0,4	3	1		
BVIT	Brachysira	vitrea (Grunow) Ross	0,5	3			1
CAER	Caloneis	aerophila Bock	0,5	3		1	
CAPS	Caloneis	alpestris (Grunow) Cleve	0,4	2			1
CAMP	Caloneis	amphisbanena (Bory) Cleve	4,1	3			
CFLN/CLAN/CBAC	Caloneis	fontinalis (Grunow) Cleve-Euler + lancettula (Schulz) Lange-Bertalot & Witkowski + bacillum (Grunow) Cleve	3,2	2			
CAOB	Caloneis	obtusa (Smith) Cleve	0,4	3	1		
CSHU	Caloneis	schumanniana (Grunow) Cleve	1,9	3			1
CSIL	Caloneis	silicula (Ehrenberg) Cleve	3,3	2			
CCOC	Cavinula	cocconeiformis (Gregory, Greville) Mann, Stickle	0,7	2	1		
CPSE	Cavinula	pseudoscutiformis (Hustedt), Mann, Stickle	0,4	3	1		
CVSO	Cavinula	scutelloides (Smith) Lange-Bertalot	3,9	3			
CHME	Chamaepinnularia	mediocris (Krasske) Lange-Bertalot, Krammer	0,5	3		1	
CHSD/CHSH	Chamaepinnularia	soehrensii (Krasske) Lange-Bertalot & Krammer + var. hassiaca (Krasske) Cantonati & Lange-Bertalot	0,5	3		1	

CNTH	Cocconeis	neothumensis Krammer	2,2	2			1
CPED	Cocconeis	pediculus Ehrenberg	4,3	3			
CPLA/CPLE/CPLI	Cocconeis	placentula var placentula Ehrenberg + euglypta (Ehrenberg) Grunow + lineata (Ehrenberg) Van Heurck	3,3	2			
COPL	Cocconeis	pseudolineata (Geitler) Lange-Bertalot	3,5	2			
CRCI	Craticula	citrus Krasske	5,7	3			
CRCU/CAMB	Craticula	cuspidata (Kützing) Mann + ambigua (Ehrenberg) Mann	4,9	3			
CMNO	Craticula	minusculoides (Hustedt) Lange-Bertalot	5,7	3			
CMLF	Craticula	molestiformis (Hustedt) Lange-Bertalot	5,7	3			
CTPU	Ctenophora	pulchella (Ralfs) Williams, Round	5,9	3			
CELL	Cymatopleura	elliptica (Brébisson) Smith + odmiany	3,3	3			
CSOL	Cymatopleura	solea (Brébisson) Smith + odmiany + Cymatopleura librile (Ehrenberg) Ehrenberg	4,1	3			
CAFN	Cymbella	affiniformis Krammer	1	1			1
CAFF	Cymbella	affinis Kützing	1,1	3			1
CASP	Cymbella	aspera (Ehrenberg) Peragallo	2,6	1			1
CCMP	Cymbella	compacta Østrup	3	2			
CCYM	Cymbella	cymbiformis Agardh	0,7	2			1
CDES	Cymbella	descripta (Hustedt) Krammer	0,4	3	1		
CAEX	Cymbella	excisa Kützing	2,2	2			1
CHEL	Cymbella	helvetica Kützing	0,5	2			1
CHUS	Cymbella	hustedtii Krasske	1,5	3			1
CLAE	Cymbella	laevis Nägeli	0,6	2			1
CLAN	Cymbella	lanceolata (Agardh) Agardh	3,6	2			
CTLA	Cymbella	lancettula (Krammer) Krammer	0,5	3			1
CCIS	Cymbella	neocistula	2,6	1			1
CNCI	Cymbella	neocistula Krammer	1	3			1
CLEP	Cymbella	neoleptoceros Krammer					1
CPRX	Cymbella	proxima Reimer	4,5	3			
CTUM	Cymbella	tumida (Brébisson) Van Heurck	0,5	3			1

CVUL	Cymbella	vulgata Krammer					1
CBAM	Cymbopleura	amphicephala (Nägeli) Krammer	1,4	3	1		
CBCU	Cymbopleura	cuspidata (Kützing) Krammer	0,8	1			1
CBHY	Cymbopleura	hybrida (Grunow) Krammer	0,4	3			1
CIQL	Cymbopleura	inaequalis (Ehrenberg) Krammer	2,4	2			1
CINC	Cymbopleura	incerta (Grunow) Krammer	0,4	3	1		
CYBL	Cymbopleura	lata (Grunow) Krammer	1,5	2			1
CSAQ	Cymbopleura	subaequalis (Grunow) Krammer	0,8	2	1		
DDEL	Deliacata	delicatula (Kützing) Krammer	0,5	3			1
DKUE	Denticula	kuetzingii Grunow	1	2			1
DTEN	Denticula	tenuis Grunow	0,8	1			1
DEHR	Diatoma	ehrenbergii Kützing	1,4	2			1
DMES	Diatoma	mesodon (Ehrenberg) Kützing	0,7	3	1		
DMON	Diatoma	moniliformis (Kützing) Williams	5,7	3			
DPOL	Diatoma	polonica Bąk, Lange-Bertalot, Nosek, Jakubowska, Kielbasa	4,2	2	1		
DPRO	Diatoma	problematica Lange-Bertalot	5,7	3			
DITE	Diatoma	tenuis Agardh	5	2			
DVUL	Diatoma	vulgaris Bory	5,6	3			
DELL	Diploneis	elliptica (Kützing) Cleve	1,4	1			1
DOBL	Diploneis	oblongella (Nägeli) Cleve-Euler	0,3	2			1
DOVA	Diploneis	ovalis (Hilse) Cleve	0,4	3			1
DPET	Diploneis	petersenii Hustedt	0,7	2		1	
EELG	Encyonema	elginense (Krammer) Mann	0,4	3		1	
EGAE	Encyonema	gaeumannii (Meister) Krammer	0,5	2	1		
EHEB	Encyonema	hebridicum Grunow	0,5	3	1		
CLAC	Encyonema	lacustre (Agardh) Pantocsek	0	2			1
ENMI	Encyonema	minutum (Hilse) Mann	0,7	3	1		
ENNG	Encyonema	neogracile Krammer	1	3		1	
ENPE	Encyonema	perpusillum (Cleve) Mann	0,5	3	1		

ENPE	Encyonema	prostratum (Berkeley) Kützing	3,4	3			
ENRE	Encyonema	reichardtii (Krammer) Mann	4	3			
ESLE	Encyonema	silesiacum (Bleisch) Mann					1
ENVE	Encyonema	ventricosum (Agardh) Grunow					1
ECAA	Encyonopsis	caespitosum Kützing	1,6	3			1
ECES	Encyonopsis	cesatii (Rabenhorst) Krammer	0,5	3	1		
ECFA	Encyonopsis	falaisensis (Grunow) Krammer	0,7	2	1		
ENCM	Encyonopsis	microcephala (Grunow) Krammer	1	3	1		
EOMI/ETAN/SSEM	Eolimna minima	minima (Grunow) Lange-Bertalot + tantula (Hustedt) Lange-Bertalot + Sellaphora seminulum (Grunow) Mann	5,7	2			
ESBM	Eolimna	subminuscula (Manguin) Wetzel, Ector	5,7	3			
EADN	Epithemia	adnata (Kützing) Brébisson	2,4	2			1
EFRI	Epithemia	frickei Krammer					1
ESMI	Epithemia	smithii Carruthers					1
ESOR	Epithemia	sorex Kützing	2,5	2			1
ETUR	Epithemia	turgida (Ehrenberg) Kützing	3	2			
EUAL	Euccoconeis	alpestris (Brun) Lange-Bertalot in Lange-Bertalot, Genkal	0,5	2	1		
EUFL	Euccoconeis	flexella (Kützing) Meister	0	3	1		
EULA	Euccoconeis	laevis (Østrup) Lange-Bertalot	0,5	2	1		
EARB	Eunotia	arcubus Nörpel, Lange-Bertalot	0,6	3			1
EARC	Eunotia	arcus Ehrenberg			1		
EBIL	Eunotia	bilunaris (Ehrenberg) Schaarschmidt	3,7	3			
EBOT	Eunotia	botuliformis Wild, Nörpel, Lange-Bertalot	1,6	2		1	
EEXI	Eunotia	exigua (Brébisson) Rabenhorst	0,6	3		1	
EFAB	Eunotia	faba (Ehrenberg) Grunow	0,4	3		1	
EFOR	Eunotia	formica Ehrenberg	5,9	1			
EGFA	Eunotia	glacialifalsa Lange-Bertalot			1		
EGLA	Eunotia	glacialis Meister	1,8		1		
EIMP	Eunotia	implicata Nörpel-Schempp, Alles, Lange-Bertalot	1,1	3	1		

EINC	Eunotia	incisa Gregory	1	3		1	
EMEI	Eunotia	meisteri Hustedt	0,4	3		1	
EMIN	Eunotia	minor (Kützing) Grunow			1		
EMUC	Eunotia	mucophila (Lange-Bertalot , Nörpel) Lange-Bertalot				1	
ENAE	Eunotia	naegeli Migula	1,1	3		1	
ENYM/ENEC	Eunotia	nymanniana Grunow + neocompacta Mayama	0,4	3		1	
EPTD	Eunotia	paratridentula Lange-Bertalot, Kulikovskiy	0,5	3		1	
EPEC	Eunotia	pectinalis (Kützing) Rabenhorst	0,5	3		1	
EPRA	Eunotia	praerupta Ehrenberg	0,5	3	1		
ERHO	Eunotia	rhomboidea Hustedt	0,5	3		1	
ERHY	Eunotia	rhynchocephala Hustedt				1	
ESDI	Eunotia	serra var. serra (Ehrenberg) Meister	0,4	3		1	
FMOC	Fallacia	monoculata (Hustedt) Mann	5,7	3			
FPYG	Fallacia	pygmaea (Kützing) Stickle, Mann	4,2	3			
NSBU/FMOC	Fallacia	subhamulata Grunow	1,2	1			1
FSLU	Fallacia	sublucidula Hustedt	4,2	3			
FSAP	Fistulifera	saprophila Lange-Bertalot, Bonik	5,7	3			
FAPO	Fragilaria	amphicephaloides Lange-Bertalot	0,5	3			1
FAUT	Fragilaria	austriaca (Grunow) Lange-Bertalot	1	3			1
FBCP	Fragilaria	biceps Ehrenberg	5,3	1			
FBID	Fragilaria	bidens Heiberg	6,9	1			
FCBI	Fragilaria	binodis Ehrenberg	2,8	2			
FBRE	Fragilaria	brevistriata Grunow	2,8	2			
FCAP	Fragilaria	capucina Desmazières var. capucina	3,8	3			
FCON	Fragilaria	construens (Ehrenberg) Grunow	2,8	2			
FDEL	Fragilaria	delicatissima (Smith) Lange-Bertalot	0,9	3			1
FCDI	Fragilaria	distans (Grunow) Bukhtiyarova	0,4	3			1
FEXI	Fragilaria	exiguiformis Lange-Bertalot	0,5	3	1		
FFAM	Fragilaria	famelica (Kützing) Lange-Bertalot	4,2	3			

FGRA	Fragilaria	gracilis Østrup			1		
STLA	Fragilaria	lapponica Grunow	2,5	2			1
FLEP	Fragilaria	leptostauron (wraz z odmianami)	4	2			
FMES	Fragilaria	mesolepta Rabenhorst	3,8	2			
FNAN	Fragilaria	nanana Lange-Bertalot	1,6	2			1
FNIT	Fragilaria	nitzschoides Grunow	5,7	1			
FPAR	Fragilaria	parasitica + subconstricta	3,3	2			
FPEN	Fragilaria	perminuta (Grunow) Lange-Bertalot	3,8	2			
FPIN	Fragilaria	pinnata Ehrenberg	2,6	2			1
FROB	Fragilaria	robusta (Fusey) Manguin	1,5	3			1
FCRP	Fragilaria	rumpens (Kützing) Carlson	4,1	1			
FTEN	Fragilaria	tenera (Smith) Lange-Bertalot	1,9	3	1		
FVAU	Fragilaria	vaucheriae (Kützing) Petersen	5,3	3			
FCVE	Fragilaria	venter Ehrenberg	2,8	2			
FVIR	Fragilaria	virescens Ralfs	0,7	3		1	
FERI	Frustulia	erifuga Lange-Bertalot, Krammer	0,5	2		1	
FRHO	Frustulia	rhomboides (Ehrenberg) De Toni	1	2		1	
FRCR	Frustulia	rhomboides var. crassinervia (Brébisson) Ross	0,5	2		1	
FRSA	Frustulia	saxonica Rabenhorst	0,5	2		1	
FVUL	Frustulia	vulgaris (Thwaites) De Toni	5,7	3			
GDEC	Geissleria	decussis (Hustedt) Lange-Bertalot, Metzeltin	3	2			
GSHO	Geissleria	schoenfeldii (Hustedt) Lange-Bertalot & Metzeltin	2,7	3			1
GACU	Gomphonema	acuminatum Ehrenberg + coronatum Ehrenberg	3,6	3			
GACU/GCOR	Gomphonema	acuminatum Ehrenberg + coronatum Ehrenberg	3,3	2			
GANT	Gomphonema	angustum Agardh	0,8	2			1
GAUG	Gomphonema	augur Ehrenberg	5	3			
GAUR	Gomphonema	auritum Braun	0,3	3	1		
GBAV	Gomphonema	bavaricum Reichardt, Lange-Bertalot	0,5	2			1
GBOH	Gomphonema	bohemicum Reichelt, Fricke	0,5	2		1	

GBRE	Gomphonema	brebissonii Kützing	3,3	2			
GCLA	Gomphonema	clavatum Ehrenberg	4	2			
GDIC	Gomphonema	dichotomum Kützing	0,6	2	1		
GPXS	Gomphonema	exilissimum (Grunow) Lange-Bertalot, Reichardt	1		1		
GGRA	Gomphonema	gracile Ehrenberg	1,4	1	1		
GHEB	Gomphonema	hebridense Gregory	0,2	3	1		
GHEL	Gomphonema	helveticum Brun	0,4	3			1
GLAT	Gomphonema	lateripunctatum Reichardt, Lange-Bertalot	0,3	3			1
GMIC	Gomphonema	micropus Kützing	6,5	3			
GMIN	Gomphonema	minusculum Krasske	4,2	2			
GMIS	Gomphonema	minutum (Agardh) Agardh					1
GOCU	Gomphonema	occultum Reichardt, Lange-Bertalot	0,6	3			1
GOOL	Gomphonema	olivaceoides Hustedt	1	3	1		
GOLI	Gomphonema	olivaceum (Hornemann) Brébisson	4,3	2			
GPPA	Gomphonema	parvulus (Lange-Bertalot i Reichardt) Lange-Bertalot, Reichardt	0,5			1	
GPAR/GPAS	Gomphonema	parvulum (Kützing) Kützing var. parvulum + parvulum Lange-Bertalot, Reichardt f. saprophilum	3	3			
GPRC	Gomphonema	procerum Reichardt, Lange-Bertalot	0,7	3			1
GPTE	Gomphonema	pseudotenellum Lange-Bertalot	0,7	3	1		
GPUM	Gomphonema	pumilum (Grunow) Reichardt, Lange-Bertalot	2,8	2			
GSUB	Gomphonema	subtile Ehrenberg	0,1	1	1		
GTER	Gomphonema	tergestinum (Grunow) Schmidt	3	2			
GTRU/GOPA/GCAP	Gomphonema	truncatum Ehrenberg + pala Reichardt + italicum Kützing + capitatum Ehrenberg	3,3	1			
GVIB	Gomphonema	vibrio Ehrenberg	0,8	3			1
GYAT	Gyrosigma	attenuatum (Kützing) Rabenhorst	3,6	3			
GSCI	Gyrosigma	sciotonense (Sullivant) Cleve	4,4	3			
HOLI	Halamphora	oligotraphenta (Lange-Bertalot) Levkov	0,8	3			1
HTHU	Halamphora	thumensis (Mayer) Levkov	0,4	3			1
HVEN	Halamphora	veneta (Kützing) Levkov	5,7	2			

HCAP	Hippodonta	capitata (Ehrenberg) Lange-Bertalot, Metzeltin, Witkowski	5,4	3			
DCOT	Hippodonta	costulata (Grunow) Lange-Bertalot, Metzeltin, Witkowski	5,9	2			
HHUN	Hippodonta	hungarica (Grunow) Lange-Bertalot, Metzeltin, Witkowski	5,4	3			
HLUE	Hippodonta	lueneburgensis (Grunow) Lange-Bertalot, Metzeltin, Witkowski	4,6	3			
HUCO	Humidophila	contenta (Grunow) Lowe, Kociolek, Johansen, Van de Vijver, Lange-Bertalot, Kopalová + perpusilla	0,5	3			
KCLE	Karayevia	cleveii (Grunow) Round + ploenensis (Hustedt) Bukhtiyarova	2,3	2			1
KAKO	Karayevia	kolbei (Hustedt) Bukhtiyarova	4,1	2			
KLAT	Karayevia	laterostrata (Hustedt) Bukhtiyarova	0,5	3	1		
APLO	Karayevia	ploenensis	4,2	3			
KOPA	Kobayasiella	parasubtilissima (Kobayasi i Nagumo) Lange-Bertalot	0,5	3		1	
KOSU	Kobayasiella	subtilissima (Cleve) Lange-Bertalot	0,5	3		1	
LHUN	Lemnicola	hungarica (Grunow) Round i Basson	6,7	3			
LGOE	Luticola	goeppertiana (Bleisch) Mann	5,7	3			
MGRE	Mastogloia	grevillei Smith					1
MSLA	Mastogloia	lacustris (Grunow) Grunow	0,4	3			1
MAAT/MAPE	Mayamaea	atomus (Kützing) Lange-Bertalot + permitis (Hustedt) Bruder, Medlin	5,2	2			
MVAR	Melosira	varians Agardh	4,9	3			
MCIR	Meridion	circulare (Greville) Agardh	4,9	1			
MCCO	Meridion	constrictum Ralfs	2,5	1			
NANT	Navicula	antonii Lange-Bertalot	3	2			
NCPR	Navicula	capitatoradiata Germain	4,2	3			
NCAR	Navicula	cari Ehrenberg	3,1	3			
NCIN	Navicula	cincta (Ehrenberg) Ralfs	2,2	3			
NCRY	Navicula	cryptocephala Kützing	3	3			
NCFA	Navicula	cryptofallax Lange-Bertalot, Hofmann	4,2	3			
NCTE/NCGN	Navicula	cryptotenella Lange-Bertalot + cryptotenelloides Lange-Bertalot	1,4	2			1
NDET	Navicula	detenta Hustedt	0,5	3		1	
NERI	Navicula	erifuga Lange-Bertalot	5,7	3			

NEXI	Navicula	exilis Kützing	0,7	2		1	
NGER/NROSNAAM	Navicula	germainii Wallace + rostellata Kützing + amphiceropsis Lange-Bertalot, Rumrich	5,7	3			
NGOT	Navicula	gottlandica Grunow	0,2	2			1
NGRE	Navicula	gregaria Donkin	6,8	3			
NLAN	Navicula	lanceolata Mann, Droop	7,1	2			
NMEN	Navicula	menisculus Schumann	4,7	3			
NMOK	Navicula	moskalii Metzeltin, Witkowski, Lange-Bertalot	3	2			
NNOT	Navicula	notha Wallace	0,5	3		1	
NOBL	Navicula	oblonga (Kützing) Kützing	2	2			1
NOPU	Navicula	oppugnata Hustedt	4,6	2			
NPRA	Navicula	praeterita Hustedt	0,4	3			1
NRAD	Navicula	radiosa Kützing	1,9	2			1
NRCS	Navicula	recens (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot	5,7	3			
NRCH	Navicula	reichardtiana Lange-Bertalot	3,5	2			
NREI	Navicula	reinhardtii (Grunow) Grunow	3,3	2			
NRHT	Navicula	rhynchotella Lange-Bertalot	5,7	3			
NSHR	Navicula	schroeteri Meister	5,7	3			
NSLE	Navicula	slesvicensis Grunow	4,7	3			
NSBN	Navicula	subalpina Reichardt	0,5	2			1
NTPT	Navicula	tripunctata (Müller) Bory	5,3	3			
NTRV	Navicula	trivialis Lange-Bertalot	4,9	3			
NTCX	Navicula	trophicatrix Lange-Bertalot	2,6	2			1
NMUP	Navicula	upsaliensis Schumann	4	3			
NVEN	Navicula	veneta Kützing	5,7	2			
NVIR	Navicula	viridula (Kützing) Ehrenberg	5,7	3			
NVUL	Navicula	vulpina Kützing	0,7	2			1
NEAF	Neidium	affine (Ehrenberg) Pfitzer	0,5	3	1		
NEAM	Neidium	ampliatum (Ehrenberg) Krammer	0,9	2	1		

NBIS	Neidium	bisulcatum (Lagerstedt) Cleve var. bisulatum	0,5	3		1	
NEDU	Neidium	dubium (Ehrenberg) Cleve	2,2	2			1
NACI	Nitzschia	acicularis (Kützing) Smith	5,8	3			
NACD	Nitzschia	acidoclinata Lange-Bertalot	2,9	1			
NACU	Nitzschia	acula (Kützing) Hantzsch	5,7	3			
NZAL	Nitzschia	alpina Hustedt	0,5	3	1		
NAMP	Nitzschia	amphibia Grunow	5	3			
NIAN	Nitzschia	angustata (Smith) Grunow	1,8	2			1
NBCL	Nitzschia	bacillum Hustedt	1,3	2			1
NICA	Nitzschia	calida Grunow	5,7	3			
NCTN	Nitzschia	capitellata Hustedt	7,3	3			
NCOM	Nitzschia	communis Rabenhorst	5,7	3			
NICO	Nitzschia	commutata Grunow	9,7	3			
NZCO	Nitzschia	constricta (Kützing) Ralfs	6,7	3			
NDEB	Nitzschia	debilis (Arnott) Grunow	5,7	3			
NDIS	Nitzschia	dissipata (Kützing) Grunow ssp. dissipata	3,9	3			
NDME	Nitzschia	dissipata var. media (Hantzsch) Grunow	2,9	3			
NFIL	Nitzschia	filiformis (Smith) Van Heurck	5,7	3			
NFON	Nitzschia	fonticola Grunow	3,7	3			
NINC	Nitzschia	frustulum var. inconspicua (Grunow) Grunow	5,7	3			
NIGR	Nitzschia	gracilis Hantzsch	3,7	2			
NHEU	Nitzschia	heufleriana Grunow	2,8	3			
NHOM	Nitzschia	homburgiensis Lange-Bertalot	1	3		1	
NIHU	Nitzschia	hungarica Grunow	5,7	3			
NINT	Nitzschia	intermedia Hantzsch	5,7	3			
NILA	Nitzschia	lacuum Lange-Bertalot	1,3	2			1
NLEV	Nitzschia	levidensis (Smith) Grunow + odmiany	8,1	3			
NLIN	Nitzschia	linearis Agardh) Smith	4,8	3			
NMIC	Nitzschia	microcephala Grunow	5,7	3			

NPAL	Nitzschia	palea (Kützing) Smith var. palea	3,1	2			
NPAE	Nitzschia	paleacea (Grunow) Grunow	3,5	3			
NIPM	Nitzschia	perminuta (Grunow) Peragallo			1		
NIPR	Nitzschia	pura Hustedt			1		
NIPU	Nitzschia	pusilla Grunow	5,7	3			
NZRA	Nitzschia	radicula Hustedt	1	2			1
NREC	Nitzschia	recta Hantzsch	3,7	3			
NIRE	Nitzschia	regula Hustedt	0,4	3			1
NSIO	Nitzschia	sigmoidea (Nitzsch) Smith	3,4	3			
NSOC	Nitzschia	sociabilis Hustedt	4,2	3			
NISO	Nitzschia	solita Hustedt	5,7	3			
NSUA	Nitzschia	subacicularis Hustedt	3,5	3			
NSBL	Nitzschia	sublinearis Hustedt	3,7	2			
NLSU	Nitzschia	subtilis Grunow	5,7	3			
NZSU	Nitzschia	supralitorea Lange-Bertalot	5,7	3			
NTRY	Nitzschia	tryblionella Hantzsch	5,7	3			
NUMB	Nitzschia	umbonata (Ehrenberg) Lange-Bertalot	5,7	3			
NWUE	Nitzschia	wuellerstorffii Lange-Bertalot	5,7	3			
PPRE	Parlibellus	protracta (Grunow) Bishop, Minerovic, Liu, Kociolek	3,2	3			
PBOR	Pinnularia	borealis Ehrenberg	3	1			
PMAJ/PNEO	Pinnularia	major (Kützing) Rabenhorst + neomajor Krammer	0,5	1	1		
PMIC	Pinnularia	microstauron (Ehrenberg) Cleve	2,4	1			1
PNOB	Pinnularia	nobilis (Ehrenberg) Ehrenberg	4,1	1			
PNOD	Pinnularia	nodosa (Ehrenberg) Smith	1,7	1			1
PRUP	Pinnularia	rupestris Hantzsch	2,9	1			
PSIL	Pinnularia	silvatica Petersen	0,5	3		1	
PSCA/PSIN	Pinnularia	subcapitata var. subcapitata + P. sinistra	0,9	3		1	
PGIB/PSGI	Pinnularia	subgibba Krammer + gibba (Ehrenberg) Ehrenberg	2,2	1			1
PVIF	Pinnularia	viridiformis Krammer	2,9	1			

PCLT/PCLD	Placoneis	clementis (Grunow) Cox + clementoides (Grunow) E.J.Cox	2,7	2			1
PCTA	Placoneis	constans (Hustedt) Cox	3	2			
PELG/PPAE	Placoneis	elginensis (Gregory) Cox + paraelginensis Lange-Bertalot	2,5	2			1
PGAS	Placoneis	gastrum (Ehrenberg) Mereschkowsky	3,6	3			
PPLC	Placoneis	placentula (Ehrenberg) Heinzerling	2,6	2			1
PPOF	Placoneis	porifera (Hustedt) Ohtsuka Fujita	2,7	2			
PELP	Placoneis	pseudoanglica Lange-Bertalot	3,1	2			
PLBI	Planothidium	biporum (Hohn, Hellerman) Lange-Bertalot	2,3	1			1
PDAU	Planothidium	dau (Foged) Lange-Bertalot	1	1		1	
PTDE	Planothidium	delicatum (Kützing) Round, Bukhtiyarova	5,4	3			
PLFR	Planothidium	frequentissimum (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot	2,3	2			1
PGRN	Planothidium	granum (Hohn & Hellerman) Lange-Bertalot	4,2	1			
PJOU	Planothidium	joursacense (Héribaud-Joseph) Lange-Bertalot	2	2	1		
PTLA	Planothidium	lanceolatum (Brébisson ex Kützing) Lange-Bertalot	1,2	2			1
PTOE	Planothidium	oestrupii (Cleve-Euler) Edlund	1,6	1			1
PRST	Planothidium	rostratum (Østrup) Lange-Bertalot	2,3	2			1
ACON	Platesa	conspicua (Mayer) Lange-Bertalot	2,6	1			1
PZIE	Platessa	ziegleri (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot	1,7	2			1
PITE	Prestauroneis	integra (Smith) Bruder	4,2	3			
PALT	Psammothidium	altaicum (Poretzky) Bukhtiyarova	0,4	3		1	
PDAO	Psammothidium	daonense (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot	1	1		1	
PHEL	Psammothidium	helveticum (Hustedt) Bukhtiyarova, Round	0,5	3		1	
PLAU	Psammothidium	lauenburgianum (Hustedt) Bukhtiyarova, Round	4,2	2			
PLVD	Psammothidium	levanderi (Hustedt) Bukhtiyarova, Round	0,4	3		1	
PMRG	Psammothidium	marginulatum (Grunow) Bukhtiyarova, Round	0,5	3		1	
PSAT	Psammothidium	subatomoides (Hustedt) Bukhtiyarova & Round	0,7	3		1	
PVEN	Psammothidium	ventrale (Krasske) Bukhtiyarova & Round	0,5	3		1	
RSIN/RUNI	Reimeria	sinuata (Gregory) Kociolek, Stoermer + uniseriata Sala, Guerrero, Ferrario	2,8	1			

RABB	Rhoicosphenia	abbreviata (Agardh) Lange-Bertalot	4,4	3			
RGIB	Rhopalodia	gibba (Ehrenberg) Müller var. gibba	2,8	3			1
RGPA	Rhopalodia	parallela (Grunow) Müller	0,5	3			1
RPUS	Rossithidium	pusillum (Grunow) Round i Bukhtiyarova	0,8	3	1		
NSBR	Sellaphora	subrotundata (Hustedt) Wetzel, Ector, Van de Vijver, Compère, Mann	2,4	1			1
NABL	Sellaphora	absoluta (Hustedt) Wetzel, Ector, Van de Vijver, Compère, Mann	0,6	3	1		
SEBA	Sellaphora	bacillum (Ehrenberg) Mann	2,5	2			1
SJOU	Sellaphora	joubaudii (Germain) Aboal	3	2			
SELA	Sellaphora	laevissima (Kützing) Mann	2,3	1			1
NPVE	Sellaphora	pseudoventralis (Hustedt) Chudaev & Gololobova	2,6	1			1
SPUP/SPPU	Sellaphora	pupula (Kützing) Mereschkowsky + pseudopupula (Krasske) Lange-Bertalot	3	2			
SSTM	Sellaphora	stroemii Hustedt	0,7	2			1
STKR	Stauroneis	kriegeri Patrick	3,8	2			
SSMI	Stauroneis	smithii Grunow	3	2			
STCU	Stenopterobia	curvula (Smith) Krammer	0,5	3		1	
STDE	Stenopterobia	delicatissima (Lewis) Brébisson	0,5	3		1	
SANG	Surirella	angusta Kützing	7,1	3			
SBIF	Surirella	bifrons Ehrenberg	2,4	3			1
SBRE/SBKU	Surirella	brebissonii Krammer, Lange-Bertalot + kuetzingii Krammer, Lange-Bertalot	6,8	3			
SLCO	Surirella	grunowii Kulikovskiy, Lange-Bertalot, Witkovski	0,5	3	1		
SLIN	Surirella	linearis Smith	1,7	2	1		
SUMI	Surirella	minuta Brébisson	5,7	3			
SRBA	Surirella	roba Leclercq	0,7	2		1	
TBEL	Tabellaria	binalis var. elliptica Flower	0,4	3		1	
TFEN	Tabellaria	fenestrata (Lyngbye) Kützing			1		
TFLO	Tabellaria	flocculosa (Roth) Kützing	1,1	3	1		
TVEN	Tabellaria	ventricosa Kützing	0,4	3		1	

FFAS	Tabularia	fasciculata (Agardh) Williams, Round + tabulata (C.Agardh) Snoeijs	5,7	3			
UACU	Ulnaria	acus (Kützing) Aboal + biceps (Kützing) Compère	3,8	2			
UDEA	Ulnaria	delicatissima var. angustissima (Grunow) Aboal	5,7	3			
UULN	Ulnaria	ulna (Nitzsch) Compère	5,3	2			

Załącznik 3. Instrukcja wprowadzania danych z analizy okrzemkowej do formatek bazodanowych

Uaktualnione formatki (wersja 02.05.2018) utworzono w programie MS EXCEL 2013.

Poponuje się zachować system kodowania plików zgodny z sugestiami zawartymi w poprzednich podręcznikach, tj: nazwa każdego pliku składa się z trzech grup znaków rozdzielonych podkreślnikiem zgodnie ze schematem zaprezentowanym w poniższej tabeli.

KOD WYKONAWCY	KOD DANYCH	ROK
skrót wykonawcy badań: WIOS i jego kod (od 01 do 16)	określenie rodzaju danych FB (fitobentos) oraz grupy rzek, dla których jest przeznaczony format (od 01 do 06)	rok, w którym prowadzono badania
WIOS09	FB06	2018

Przykłady stosowania nazewnictwa:

nazwa pliku WIOS15_FB01_2018.xls oznacza formatkę dla WIOŚ Małopolskiego (kod 15) do wprowadzania danych fitobentosu (FB) dla rzek pierwszej grupy (potoki górskie – 01) z roku 2018. Nazwa pliku WIOS01_FB06_2018.xls oznacza formatkę dla WIOŚ Zachodniopomorskiego (kod 01) do wprowadzania danych fitobentosu (FB) dla rzek szóstej grupy (potoki, strumienie i rzeki przyujściowe pod wpływem wód słonych – 06) w roku 2018.

UWAGA!

Formatki dla rzek pierwszej grupy umożliwiają wprowadzenie w roku badawczym danych z 48 stanowisk (lub mniejszej liczby stanowisk z powtórkami), formatki dla jezior 50, a dla zbiorników zaporowych 15.

Formatka (plik) do wprowadzania danych zawiera następujące arkusze/zakładki:

WYDRUK WYNIKÓW (rys. 1) – zawiera zestawienie danych gotowych do wydruku po wprowadzeniu danych z analizy okrzemkowej;

WYNIKI – do przedstawienia wyników;

WPISUJ (rys. 2) – do wprowadzania danych;

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z
1																										
2																										
3																										
4																										
5																										
6																										
7																										
8																										

FITOBENTOS 2018; GRUPA 1 (typy rzek 1, 2, 3)

WYDRUK_WYNIKOW

WPISUJ

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1				MS-KOD RZEKA	PLxxS15cNAZWA	PLxxS15cNAZWA	PLxxS15cNAZWA	PLxxS15cNAZWA	PLxxS15cNAZWA	PLxxS15cNAZWA	PLxxS15cNAZWA
2				DATA	29-12-2009	30-12-2009	31-12-2009	1-01-2010	1-01-2010	1-01-2010	1-01-2010
3					TYP	TYP	TYP	TYP	TYP	TYP	TYP
4	KOD	RODZAJ	GATUNEK	TYP RZEKI	TYP	TYP	TYP	TYP	TYP	TYP	TYP
5	ADEN	Achnanthes	delicatula ssp. engelbrechtii								
6	ALDU	Achnanthes	lanceolata ssp. robusta								
7	ALEM	Achnanthes	lemmermannii								
8	ANOD	Achnanthes	nodosa								
9	ASBX	Achnanthes	subexigua								
10	ATRI	Achnanthes	trinodis								
11	AMAF	Achnanthidium	affine								
12	ADCA	Achnanthidium	caledonicum								
13	ADEU	Achnanthidium	eutrophilum								
14	ADEG	Achnanthidium	exiguum								
15	ADEX	Achnanthidium	exile								
16	AMGR	Achnanthidium	gracillimum								
17	ALIN	Achnanthidium	lineare								
18	ADLO	Achnanthidium	linearoides								
19	AMIN	Achnanthidium	minutissimum								
20	AICP/AD	Achnanthidium	minutissimum f. inconspicuum + var. jackii								
21	ADPY	Achnanthidium	pyrenaicum pyrenaicum								
22	ADSA	Achnanthidium	saprophyllum								

58

Wprowadzanie danych rozpoczyna się od wypełnienia pól w pierwszych 4 wierszach kolumny D. W pierwszym wierszu należy wprowadzić nazwę rzeki (domyślnie jest NAZWA RZEKI), wielkimi literami. Nazwa rzeki nie powinna zawierać więcej niż 30 znaków. Można stosować skróty: DPL – dopływ; POT – POTOK; KAN – KANAŁ; J – jezioro (np. POT LEŚNY, UJ do RAWY). W drugim wierszu wprowadza się pełny MS kod stanowiska (np. PL01S1301_1697), w trzecim: datę w formacie RR-MM-DD. W czwartym wierszu wpisuje się typ rzeki (np. 06 dla potoków, strumieni i rzek przyujściowych pod wpływem wód słonych). Od piątego wiersza wprowadza się dane na temat liczebności taksonów zidentyfikowanych w preparacie podczas zliczania (patrz rys. 5 z przykładami wprowadzonych danych dla kilku taksonów). Dla ułatwienia poszczególne taksony okrzemek zaznaczono na kolorowo grupami wg. rodzaju, np. rodzaj *Achnanthes* jest w polach koloru niebieskiego, rodzaj *Achnantheidium* w polach koloru białego, a rodzaj *Adlafia*, w polach koloru zielonego (patrz rys. 6).

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1				RZEKA	NAZWA	NAZWA	NAZWA	NAZWA	NAZWA	NAZWA
2				MS-KOD	PLxxS1501	PLxxS1501	PLxxS1501	PLxxS1501	PLxxS1501	PLxxS1501
3				DATA	29-12-2009	30-12-2009	31-12-2009	1-01-2010	1-01-2010	1-01-2010
4	KOD	RODZAJ	ATUNEK	TYP RZE	TYP	TYP	TYP	TYP	TYP	TYP
17	ALIN	Achnantheidium	lineare							
18	ADLO	Achnantheidium	linearoides							
19	AMIN	Achnantheidium	minutissimum							
20	AICP/AD	Achnantheidium	minutissimum f. inconspicuum + var.	5						
21	ADPY	Achnantheidium	pyrenaicum pyrenaicum							
22	ADSA	Achnantheidium	saprophilum	10						
23	ADSO	Achnantheidium	subatomus							
24	ADTH	Achnantheidium	thienemannii							
25	ABRY	Adlafia	bryophila	8						
26	ADMS	Adlafia	minuscule							
27	ADFS	Adlafia	suchlandtii							
28	ARUT	Amphipleura	rutilans							
29	APEL	Amphipleura	pellucida	45						
30	ACIM	Amphora	cimbrica							
31	ACOP	Amphora	coagulata							

Rys. 5. Przykład wprowadzonych danych do zakładki WPISUJ

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1			RZEKA	NAZWA RZEKI	NAZWA RZEKI	NAZWA RZEKI	NAZWA RZEKI	NAZWA RZEKI	NAZWA RZEKI	NAZWA RZEKI
2			MS-KOD	PLxxS1501_xxxx	PLxxS1501_xxxx	PLxxS1501_xxxx	PLxxS1501_xxxx	PLxxS1501_xxxx	PLxxS1501_xxxx	PLxxS1501_xxxx
3			DATA	29-12-2009	30-12-2009	31-12-2009	1-01-2010	1-01-2010	1-01-2010	1-01-2010
4	KOD	RODZAJ	ATUNEK	TYP RZE	TYP	TYP	TYP	TYP	TYP	TYP
5	ADEN	Achnanthes	delicatula ssp. engelbrechtii							
6	ALDU	Achnanthes	lanceolata ssp. robusta							
7	ALEM	Achnanthes	lemmermannii							
8	ANOD	Achnanthes	nodosa							
9	ASBX	Achnanthes	subexigua							
10	ATRI	Achnanthes	trinodis							
11	AMAF	Achnanthidium	affine							
12	ADCA	Achnanthidium	caledonicum							
13	ADEU	Achnanthidium	eutrophilum							
14	ADEG	Achnanthidium	exiguum							

Rys. 6. Lista taksonów z kolorowymi polami dla poszczególnych rodzajów (na niebiesko dla rodzaju *Achnanthes* i na biało dla *Achnanthidium*)

Liczbę wprowadzonych okryw możemy skontrolować przechodząc do ostatniego wypełnionego wiersza zakładki (wiersz 582). Łączna liczba okryw dla pierwszych wprowadzonych taksonów w poniższym przykładzie (rys. 7) wynosi 321.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1			RZEKA	NAZWA	NAZWA	NAZWA	NAZWA	NAZWA	NAZWA	NAZWA
2			MS-KOD	PLxxS1501	PLxxS1501	PLxxS1501	PLxxS1501	PLxxS1501	PLxxS1501	PLxxS1501
3			DATA	29-12-2009	30-12-2009	31-12-2009	1-01-2010	1-01-2010	1-01-2010	1-01-2010
4	KOD	RODZAJ	ATUNEK	TYP RZE	TYP	TYP	TYP	TYP	TYP	TYP
571	TFEN	Tabellaria	fenestrata							
572	TFLO	Tabellaria	flocculosa							
573	TVEN	Tabellaria	ventricosa							
574	FFAS	Tabularia	fasciculata + tabulata							
575	TGLA	Tetracyclus	glans							
576	TRUP	Tetracyclus	rupestris							
577	UACU	Ulnaria	acus							
578	FBCP	Ulnaria	biceps							
579	UDEA	Ulnaria	delicatissima var. angustissima							
580	UOXY	Ulnaria	oxyrhynchus							
581	UULN	Ulnaria	ulna							
582			RAZEM	321	0	0	0	0	0	0
583										
584			Liczba wprowadzonych prób	1	2	3	4	5	6	7
585										

Rys. 7. Przykład wprowadzonej łącznej liczby taksonów

W białych polach należy uzupełnić dane dotyczące kodu JCWP (np. PLRW20006212674) oraz informacji o stanowisku (opis powinien dokładnie charakteryzować stanowisko, ale nie powinien być zbyt długi, np. zamiast „Kanał Młyński, Ujście do Lubszy” można wprowadzić „UJ do LUBSZY”, nazwa rzeki nie jest tu konieczna ponieważ już jest wpisana do arkusza w wierszu 9, tuż przed kodem MS).

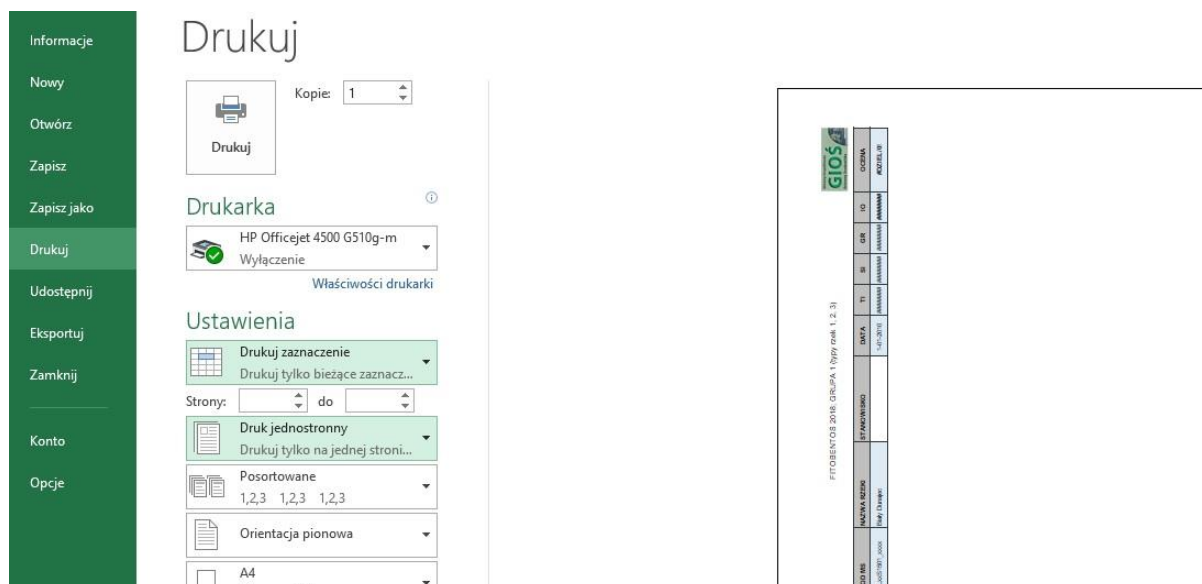
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	 GIOŚ Głosy Polaków Głoszący Sprzeciwem	OCENA	SŁABY	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01
2		IO	0,216	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01
3		GR	0,000	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01
4		SI	2,900	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01
5		TI	2,900	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01	#DZIEL./01
6		DATA	29-12-2009	30-12-2009	31-12-2009	1-01-2010	1-01-2010	1-01-2010	1-01-2010	1-01-2010
7		KO								

8; GRUPA 1 (typy rzek 1, 2, 3)

WYDRUK WYNIKOW

WPISUJ

Gotowe wyniki można wydrukować poprzez zaznaczenie wybranych kolumn zawierających odpowiednie dane do wydruku i następnie poprzez opcję w oknie dialogowym drukarki „drukuj zaznaczenie” (patrz rys. 9)



Rys. 9. Podgląd wydruku wybranych danych poprzez opcję drukuj zaznaczenie. Uwaga! Kolumny A i B dodają się automatycznie, przed wydrukiem nie trzeba ich zaznaczać

Nie należy skracać formatek przez usuwanie „niepotrzebnych” taksonów, należy je wypełniać dokładnie tak, jak są skonstruowane, i tylko te pola, które służą do wprowadzania danych – w zakładce wpisyj: wiersze od 1 do 581 dla rzek, od 1 do 397 dla jezior, oraz od 23 do 522 dla zbiorników; w zakładce wydruk wyników: niewypełnione kolorem wiersze każda zmiana powoduje, że wyników nie można automatycznie przełożyć do innych baz.