

Erläuterungen zu den Laborarbeiten

Einleitung

Dieses Dokument ist ein Anhang zum Steckbrief des Indikator-Sets 6 - Makrozoobenthos der Wirkungskontrolle von Fließgewässerrevitalisierungen. Es ist eine Hilfe für die Arbeit des Sortierens und Auszählens der aquatischen Wirbellosen im Labor, die bei einer normalen Probenahme (8 separate Probestellen) gesammelt wurden. Die Arbeit besteht aus 4 Phasen:

- 1) IBCH: Sortieren und Bestimmung (-> Ausfüllen "LaborProtokoll_IBCH_geänd_8x" im Eingabeformular);
- 2) EPT: Sortieren und Bestimmung (-> Ausfüllen "Taxaliste E", "Taxaliste P", "Taxaliste T" im Eingabeformular);
- 3) Versand des Materials für die Qualitätskontrolle (Details werden in Absprache mit dem Experten geregelt);
- 4) Archivierung des Materials (empfohlen, aber optional).

Ablauf der Sortierung und Bestimmung im Labor

1. IBCH: Sortieren und Bestimmung (-> Ausfüllen "LaborProtokoll_IBCH_geänd_8x")

Schritt	Beschreibung
Das Material von einer Probe- stelle in eine Laborschale oder eine Petrischale leeren	<ul style="list-style-type: none">• Das Material einer Probestelle wird in eine flachen Schale geleert, die unter einem Stereomikroskop verwendet werden kann, um die Organismen zu sortieren. Geeignet ist eine weisse, 18x23 cm grosse, rechteckige Schale (Laborschale) oder eine Petrischale aus Glas mit einem Durchmesser von 9-11 cm. Für das Sortieren kann das Stereomikroskop mit einer 0.5- oder 0.3-fachen Zusatzlinse ausgestattet werden, um das Sichtfeld zu vergrössern. Abbildung 1.
Das Material in der Schale ausbreiten und mit Ethanol bedecken	<ul style="list-style-type: none">• Das Material wird so ausgebreitet, dass die Wirbellosen einzeln gezählt werden können. Organisches Material entfernen, wenn die Reinigung im Feld unzureichend war. Bei grossen Wirbellosen prüfen, ob sie kleinere Wirbellose verdecken (z. B. in den Beinen, Borsten, unter ihrem Körper). In mehreren Behältern oder Schalen ausbreiten, wenn es zu viel Material hat. Abbildung 2.• Wird das Sortieren im Wasser durchgeführt, erfordert die Arbeit viel Sorgfalt: kurze Zeit im Wasser, schnelle Rückführung der sortierten Tiere in Ethanol, Kontrolle des Ethanolgrades für die Verpackung in Röhrchen (siehe Punkt 3 und 4). Das Material muss unbedingt gut aufbewahrt werden, um ein Verrotten des Gewebes oder den Verlust von Beinen oder Kiemen zu verhindern.
Sortieren, Bestimmen und Auszählen der IBCH-Taxa	<ul style="list-style-type: none">• Die Taxa werden sortiert und auf IBCH-Niveau (normalerweise Familienniveau) bestimmt und in eine mit 85%igem nicht denaturiertem Ethanol gefüllte Schale gegeben. Abbildung 3.• Alle Individuen werden gezählt oder man folgt der Empfehlung von IBCH_2019 d.h.:<ul style="list-style-type: none">○ 1-50 Individuen absolute Zahl ;○ 51-100 Individuen Schätzung in 10er-Schritten;○ 101-300 Individuen Schätzung in Schritten von 50;○ > 300 Individuen Schätzung in Schritten von 100.
Sonderfall von Taxa mit hoher Abundanz (>100-200 Indivi- duen)	<ul style="list-style-type: none">• Das Sub-Sampling ist nicht erlaubt. In besonderen Fällen, in denen eine grosse Anzahl von Individuen (>100 bis 200) desselben Taxons (z.B. <i>Gammaridae</i>, <i>Baetidae</i>-Larven, Massenvorkommen <i>Limnephilidae</i>) vorhanden ist, ist es zulässig, für dieses Taxon nur einen Teil der Individuen zu zählen und diese Zahl dann auf die gesamte Probe der Probestelle hochzurechnen. Dazu müssen die Individuen aber zuerst gleichmässig in der Schale verteilt werden. Abbildung 6 und 7.• Die Ergebnisse der Auszählungen auf IBCH-Niveau werden auf im Arbeitsblatt «LaborProtokoll_IBCH_geänd_8x» des Eingabeformulars in der Spalte der entsprechenden Probestelle eingetragen.

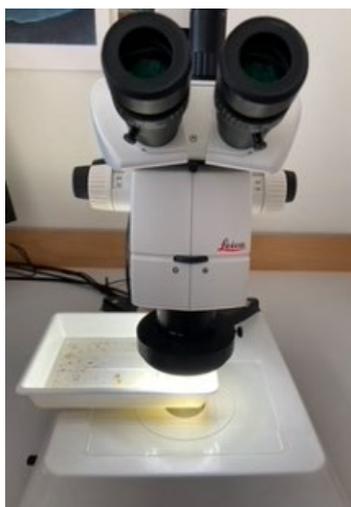


Abbildung 1 : Stereomikroskop



Abbildung 2 : Schale 18x23 cm



Abbildung 3 : Petrischale aus Glas Ø 10 cm

Schritt	Beschreibung
Verpacken der Nicht-EPT-Taxa für die Archivierung. (empfohlen, aber optional)	<ul style="list-style-type: none"> Nach dem Zählen und Erfassen können die Nicht-EPT-Taxa in Glasröhrchen (Modellref. MZB) archiviert werden. Pro Nicht-EPT-Taxon und Standort (d.h. über die 8 Probestellen des Standorts hinweg) werden nur etwa 20 Individuen aufbewahrt. Diese Individuen sollten so gut wie möglich die taxonomische Diversität repräsentieren (Arten, Entwicklungsstadien, usw.). Eine «Wiko-Etikette 1x» mit dem Namen des Taxons auf der Rückseite wird in jedes Röhrchen gelegt. Abbildung 4 und 13.
Verpackung von EPT-Taxa für die Bestimmung auf Artniveau	<ul style="list-style-type: none"> Alle EPT-Taxa werden nach Familie und Probestelle getrennt in Glasröhrchen oder PP/PS-Röhrchen von 40-50 ml (je nach Umfang des Materials) gegeben. In jedes Röhrchen wird eine «Wiko-Etikette 8x» mit dem Namen des Taxons auf der Rückseite gelegt. Abbildung 5 und 12.
Aufbewahrung des gesamten EPT-Material	<ul style="list-style-type: none"> Ab diesem Zeitpunkt muss das gesamte EPT-Material in 85%igem nicht denaturierten Ethanol für die Bestimmung auf Artniveau durch einen Spezialisten aufbewahrt werden. Das gesamte Material wird aufbewahrt. Mithilfe von Farbmarkierungen können Eintagsfliegen (rot), Plecopteren (blau) und Trichopteren (grün) voneinander getrennt werden. Diese Markierung ist nützlich, wenn die Bestimmung für jede Ordnung von einem anderen Spezialisten durchgeführt wird.
Diesen Vorgang für jede Probestelle wiederholen	<ul style="list-style-type: none"> Am Ende der Sortierung und Bestimmung auf IBCH-Ebene kann es vorkommen, dass man eine recht grosse Zahl an Röhrchen für die EPT-Familien hat, aber nur ein Röhrchen für jedes Nicht-EPT-Taxon.



Abbildung 4 : Nicht-EPT-Taxon auf der Rückseite der «Wiko-Etikette 1x»

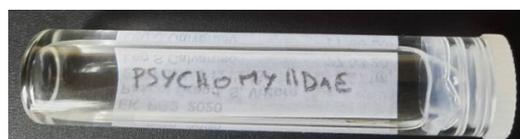


Abbildung 5 : EPT-Taxon auf der Rückseite der «Wiko-Etikette 8x»

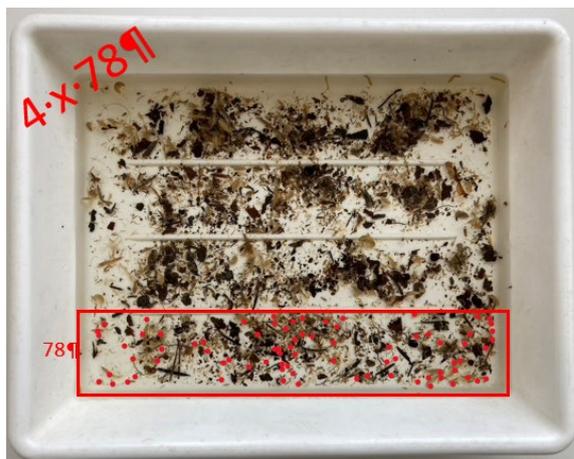


Abbildung 6 : Zählung von 1/4 der Gammariden mit hoher Abundanz



Abbildung 7 : Schale mit 361 Gammarus

2. EPT: Sortieren und Bestimmung (-> Ausfüllen "Taxaliste E", "Taxaliste P", "Taxaliste T" im Eingabeformular)

Schritt	Beschreibung
Leeren einer EPT-Familie von einer Probestelle in eine mit 85%igem nicht denaturierten Ethanol gefüllte Petrischale.	<ul style="list-style-type: none"> Für jede Familie und jede Probestelle werden die vorhandenen Arten sortiert und auf dem höchstmöglichen Niveau bestimmt, basierend auf dem Entwicklungsstadium der Larven und der empfohlenen Literatur. Die verschiedenen Bestimmungsniveaus sind in der "Dropdown-Liste EPT" im Eingabeformular von Set 6 beschrieben. Diese Arbeit wird von einem Spezialisten durchgeführt. Die Ergebnisse der Auszählungen auf Artniveau werden in die Arbeitsblätter "Taxaliste E/P/T" des Eingabeformulars eingetragen, also für jede Ordnung in der jeweiligen Spalte der entsprechenden Probestelle. Alle Individuen werden gezählt oder man folgt der Empfehlung von IBCH_2019 d.h.: <ul style="list-style-type: none"> 1-50 Individuen absolute Zahl ; 51-100 Individuen Schätzung in 10er-Schritten; 101-300 Individuen Schätzung in Schritten von 50; > 300 Individuen Schätzung in Schritten von 100 In besonderen Fällen, in denen eine grosse Anzahl von Individuen (>100 bis 200) derselben Art (z. B. <i>Allogamus auricollis</i>) vorhanden ist, ist es zulässig, für diese Art nur einen Teil der Individuen zu zählen und diese Zahl dann auf die gesamte Probe der Probestelle hochzurechnen. Dazu müssen die Individuen aber zuerst gleichmässig in der Petrischale verteilt werden. Abbildung 8.
Sortieren, Bestimmen und Auszählen der EPT-Taxa.	
Sonderfall von Taxa mit hoher Abundanz (>100-200 Individuen)	
EPT-Taxa für den Versand an die Qualitätskontrolle verpacken (EPT-Experte)	<ul style="list-style-type: none"> Alle EPT-Arten werden in mit 85%igem nicht denaturierten Ethanol gefüllten Glasröhrchen aufbewahrt und für den Versand an einen Experten zur Qualitätskontrolle nach Probestellen getrennt. Die Einzelheiten des Versands (Versanddatum, Fristen, Format...) werden in Absprache mit dem Experten geregelt. Das gesamte Material wird aufbewahrt. Mithilfe von Farbmarkierungen können Eintagsfliegen (rot), Plecopteren (blau) und Trichopteren (grün) voneinander getrennt werden. Diese Markierung ist nützlich, wenn die Bestimmung für jede Ordnung von einem anderen Experten durchgeführt wird.
Diesen Vorgang für jede Probestelle wiederholen	<ul style="list-style-type: none"> Am Ende der Sortierung und Bestimmung auf EPT-Ebene kann es sein, dass man einem recht grossen Volumen an Röhrchen für EPT-Arten hat.



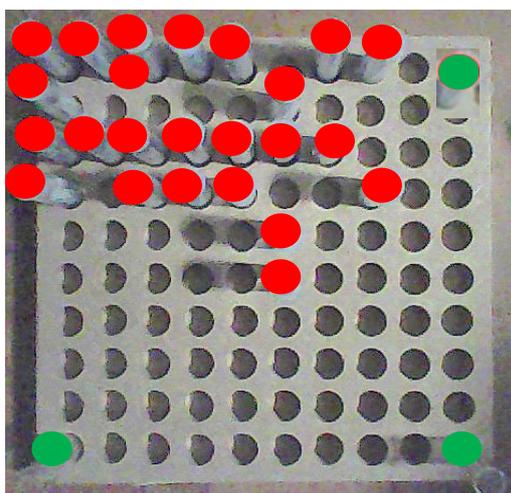
Abbildung 8: Beispiel mit 137 Individuen von *Allogamus auricollis*, die gleichmässig in einer Petrischale ausgebreitet sind. Je nach ausgezähltem Viertel, schwankt die Hochrechnung zwischen 128 und 144 Individuen.

3. Versand des Materials für die Qualitätskontrolle (Details werden in Absprache mit dem Experten geregelt)

Schritt	Beschreibung
EPT-Taxa für den Versand für die Qualitätskontrolle verpacken (EPT-Experte)	<ul style="list-style-type: none"> Die nach Probestelle getrennten Glasröhrchen mit den auf Art bestimmten EPT-Taxa werden zu viert in 60-ml-PP-Röhrchen gelegt und pro Ordnung in Beutel aufgeteilt. Die Beutel werden zum Versand senkrecht in einen Versandkanister gestellt. Abbildung 9. Die Details des Versands (Versanddatum, Fristen, Format...) werden in Absprache mit dem Experten geregelt (Variante Abbildung 10). Mithilfe von Farbmarkierungen können Eintagsfliegen (rot), Plecopteren (blau) und Trichopteren (grün) voneinander getrennt werden. Diese Markierung ist nützlich, wenn die Bestimmung für jede Ordnung von einem anderen Experten durchgeführt wird.
Zusätzliche Empfehlungen	<ul style="list-style-type: none"> Stecken Sie die Etikette immer in die Röhrchen, um die Herkunft anzuzeigen. Niemals mit einem Filzstift auf der Aussenseite des Röhrchens markieren, da die Markierung bei Kontakt mit Alkohol verwischt. Gut lesbares Etikett, das an der Röhrchenwand anliegt und von unten nach oben geschrieben ist. Die Exemplare in den Röhrchen dürfen nicht "gequetscht" werden! Sie sollten nicht mehr als die Hälfte des Volumens des Alkohols ausmachen. Füllen Sie das Röhrchen bis oben hin mit 85%igem, nicht denaturiertem Alkohol. Falls nötig, verwenden Sie ein zweites Röhrchen vom Typ MZL für das gleiche Taxon. Verwenden Sie in Absprache mit dem Experten ein anderes Verpackungssystem (Abbildung 10).
Rückmeldung des Experten	<ul style="list-style-type: none"> Das Material wird in der Regel nach Abschluss der Qualitätskontrolle an den Absender zurückgeschickt. Die Bemerkungen des Experten werden in der Spalte "Bemerkung QK" in den Arbeitsblättern "Taxaliste E/P/T" des Eingabeformulars übermittelt. Weitere, detailliertere Informationen können eventuell separat übermittelt werden. Nach der Qualitätskontrolle wird das Material der verschiedenen Probestellen in einem einzigen Röhrchen pro Taxon und Standort zusammengefasst, um den Umfang des Materials zu reduzieren und die Glasröhrchen zu recyceln. Dies geschieht je nach Absprache durch den Bestimmer oder direkt durch den Experten.



Abbildung 9: A: Empfohlenes Verpackungssystem für den Versand der EPT-Arten für die Qualitätskontrolle. Für einen Standort werden alle mit einem Farbpunkt markierten PP EPT-Röhrchen in einem Beutel gesammelt und in einen Eimer für den Versand gegeben. Auf den Deckel des Eimers werden ein oder mehrere «Wiko-Etikette 1x» mit dem Namen des Mitarbeiters geklebt. B : Falls das Material an getrennte EPT-Experte geschickt wird, können die PP EPT-Röhrchen pro Farbe in einen Beutel gegeben werden.



Liste taxons EPT	Total	1	2	3	4	5	6	7	8
Taxons certains /sicher identifizierte Taxa									
1 Baetis rhodani	485	97	20	37	53	11		16	2
2 Baetis alpinus	81	80						1	
3 Baetis sp.	165	40	12	15	12	29		2	55
4 Alainites muticus	46	17		8	6	10			5
5 Centroptilum luteolum	1							1	
6 Ephemera danica	7							7	



Abbildung 10: Alternatives Verpackungssystem für den Versand der EPT-Arten für die Qualitätskontrolle. Die Proben werden nach Standort und Ordnung getrennt auf Lochplatten geordnet. Die Platten können für den Versand jeweils zu dritt übereinander gestapelt werden.

4. Archivierung des Materials (empfohlen, aber optional)

Schritt	Beschreibung
Material nach Qualitätskontrolle endgültig verpacken	<ul style="list-style-type: none"> Die auf Art bestimmten und kontrollierten EPT-Taxa werden nach Ordnung und Standort getrennt in mit Wattestopfen verschlossenen Glasröhrchen Modell MZL gesammelt. Wurden die EPT-Taxa für die Qualitätskontrolle bereits in Glasröhrchen aufbewahrt, so kann der Plastikdeckel einfach durch einen Wattestopfen ersetzt werden. Ein Röhrchen pro Taxon und Standort bildet die Referenzsammlung für den Standort. Die Glasröhrchen werden pro EPT-Ordnung in braune 750-ml-Weithals-PET-Flaschen gestellt. Jede Flasche fasst etwa 60 Glasröhrchen. Die Weithals-PET-Flasche werden anschließend mit 85%igem nicht denaturierten Ethanol aufgefüllt und verschlossen. Abbildung 11.



Abbildung 11: Weithals-Flaschen zur Archivierung von EPT- und Nicht-EPT-Material.

Empfohlenes Material

Material	Mögliche Bezugsquelle
Petrischalen	Semadeni Art.12215 (Ø 60mm), Semadeni Art. 12218 (Ø 100mm), Semadeni Art.12219 (Ø 120mm)
Laborschale	Semadeni Art.3616
Glasröhrchen und Verschlüsse	MILIAN Art. 041-412112A (Spezialanfertigung auf Anfrage)
PP- oder PS-Röhrchen	Semadeni Art. 11513 (entspricht den alten 50ml Röhrchen PS)
Federstahl-Pinzette	Bioform Entomologiebedarf Art. B31b
Ethanol 85%	Ethanol 94% nicht denaturiert, mit destilliertem Wasser verdünnt.
Trichter zum Umfüllen	Semadeni Art. 211 (Pulvertrichter PP Ø 100mm)
Behälter für Ethanol	Semadeni Art. 16 (Spritzflasche PE-LD 250ml)
Eimer für den Postversand	Semadeni Art, 12276 (Rechteckiger Eimer PE-HD 295 x 200 x 150mm).
Trennung der Proben nach EPT-Taxon und Standort	Verschiedene Plastikbeutel (z. B. Mehrzweckbeutel 2 l in Rollen zu 150 Stück)
Weithals-Flaschen PET braun	Semadeni Art. 5546 (750 ml)
Lochplatten	MILIAN art. 39290371 (Rack aus polystyrol) oder von Hand gemacht

Vorlagen für die Etiketten

Es stehen Vorlagen für standortbezogene Etiketten zur Verfügung (siehe Beilagen):

- «Wiko-Etikette 8x» für die Beschriftung
 - der Behälter mit dem nach Probestellen getrennten gesamten Material im Feld
 - der Röhrchen der EPT-Taxa vor der Qualitätskontrolle.

- «Wiko-Etikette 1x» für die Beschriftung
 - der Röhrchen zur Archivierung der Nicht-EPT-Taxa
 - der Röhrchen zur Archivierung der EPT-Taxa nach erfolgter Qualitätskontrolle
 - der Eimer für den Postversand für die Qualitätskontrolle.

Die Etiketten werden mit einem Laserdrucker auf weisses Papier von 80mg/m² ausgedruckt. Graues oder gebleichtes Recyclingpapier von schlechter Qualität ist zu vermeiden.

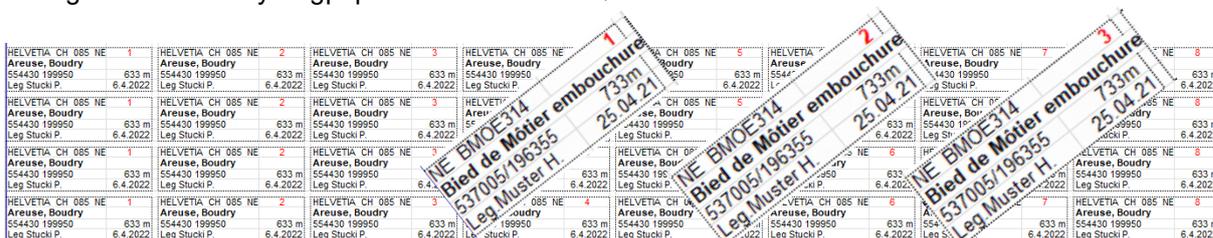


Abbildung 12: Beispiel der Vorlage «Wiko-Etiketten 8x». Die rote Farbe wurde hier zu Illustrationszwecken verwendet.

HELVETIA CH 085 NE	
Areuse, Boudry	
554430 199950	633 m
Leg Muster H.	6.4.2022

Abbildung 13: Beispiel der Vorlage «Wiko-Etiketten 1x».

Zusätzliche Informationen

Beilagen

Das Eingabeformular (welches das Aufnahmeraster und die Laborprotokolle beinhaltet), das Qualitätskontrolle-Formular, die Erläuterungen zu den Laborarbeiten sowie die Etiketten-Vorlagen können hier heruntergeladen werden: <https://www.bafu.admin.ch/wirkungskontrolle-revit>

Das MSK-Modul (BAFU 2019) kann [hier](#) heruntergeladen werden.

Änderungsverzeichnis

Relevante Änderungen seit der letzten Version sind grün markiert.

Datum (mm/yy)	Version	Änderung	Verantwortung