



KVER HAFRANNSÓKNASTOFNUNAR

Leiðbeiningar um söfnun sýna til mælinga á blaðgrænu *a*
í straum- og stöðuvötnum, auk mælinga á
blaðgrænu *a* með handmæli

Ragnildur Þ. Magnúsdóttir, Jón S. Ólafsson, Eydís Salome Eiríksdóttir

Leiðbeiningar um söfnun sýna til mælinga á
blaðgrænu *a* í straum- og stöðuvötnum,
auk mælinga á
blaðgrænu *a* með handmæli

Ragnhildur Þ. Magnúsdóttir, Jón S. Ólafsson, Eydís Salome Eiríksdóttir

Skýrslan er unnin fyrir Stjórn vatnamála, Umhverfisstofnun

Upplýsingablað

Titill: Leiðbeiningar um söfnun sýna til mælinga á blaðgrænu <i>a</i> í straum- og stöðuvötnum, auk mælinga á blaðgrænu <i>a</i> með handmæli		
Höfundar: Ragnhildur Þ. Magnúsdóttir, Jón S. Ólafsson, Eydís Salome Eiríksdóttir		
Skýrsla nr. KV-2022-10	Verkefnisstjóri: Eydís Salome Eiríksdóttir	Verknúmer: 9220
	Fjöldi síðna: 15	Útgáfudagur: 19. maí 2022
Unnið fyrir: Stjórn vatnamála, Umhverfisstofnun	Dreifing: Opin	Yfirfarið af: Iris Hansen
<p>Ágrip</p> <p>Hér er fjallað um aðferðir sem nota skal við söfnun sýna til mælinga á blaðgrænu <i>a</i> í straum- og stöðuvötnum við vöktun vatnshlota samkvæmt lögum um stjórn vatnamála (nr. 36/2011). Fjallað er um hefðbundna sýnatöku á blaðgrænu af botni farvega í straumvötnum og úr vatnsbol stöðuvatna. Eins er fjallað um aðferðir við að mæla blaðgrænu <i>a</i> beint á botni í árfarvegum og í vatnsbol stöðuvatna með handmælum sem mæla flúrljómun lifandi þörungafrumna.</p> <p>Abstract</p> <p><i>Here we discuss methods that are to be used to collect samples to measure chlorophyll <i>a</i> in streams and lakes when monitoring water bodies in accordance with the Icelandic Water Management Act (no. 36/2011). Sampling of benthic chlorophyll from watercourses and from the water body of lakes is discussed. Methods for measuring chlorophyll <i>a</i> directly at the bottom of river channels and in the water body of lakes with handheld meters that measure in vivo fluorescence of algal cells are also discussed.</i></p>		
Lykilorð: Blaðgræna <i>a</i> , Chlorophyll <i>a</i> , vöktun straumvatna, vöktun stöðuvatna, stjórn vatnamála, vöktunaráætlun, vatnaáætlun, blaðgrænumælar		
Undirskrift verkefnisstjóra:		Undirskrift forstöðumanns sviðs:
		

Efnisyfirlit	Bls.
1 Inngangur.....	2
2 Val á sýnatökustöðum og tíðni sýnatöku	3
3 Skipulag í leiðöngrum	4
4 Bláðgræna í straumvötnum.....	4
4.1 Söfnun og meðhöndlun bláðgrænusýna í ám	4
4.2 Mælingar á bláðgrænu a á botni straumvatna með handmæli	7
5 Bláðgræna í stöðuvötnum	10
5.1 Söfnun og meðhöndlun bláðgrænusýna í stöðuvötnum.....	10
5.2 Mælingar á bláðgrænu a í vatnsbol stöðuvatna með handmæli	11
6 Greining á sýnum og skil á niðurstöðum	12

1 Inngangur

Þessar leiðbeiningar eru ætlaðar fagaðilum sem hyggjast safna sýnum til mælinga á blaðgrænu *a* í straum- og stöðuvötnum, sem nota skal við vöktun vatnshlota samkvæmt lögum nr. 36/2011 um stjórn vatnamála og reglugerð nr. 535/2011 um flokkun vatnshlota, eiginleika þeirra, álagsgreiningu og vöktun. Einnig er mælingu á blaðgrænu *a* með handmæli lýst (benthic torch og algae torch).

Nauðsynlegt er að lesa þetta leiðbeiningarskjal vel yfir áður en farið er af stað í leiðangur og fara þarf vandlega yfir alla verkþætti, tæki og tól áður en lagt er af stað. Eins er mjög mikilvægt að kynna sér staðlaðar aðferðir við söfnun og mælingu á blaðgrænu *a* í ISO staðli nr. 10260 (Water quality – Measurement of biochemical parameters – Spectrometric determination of the chlorophyll-a concentration).

Botnþörungar í ám og svifþörungar í stöðuvötnum eru, auk blábaktería, líffræðilegir gæðapættir sem hægt er að nota til að flokka straum- og stöðuvötn eftir ástandi þeirra. Magn blaðgrænu *a* á steinum í árfarvegum og í vatnsbol stöðuvatna er óbeinn mælikvarði á lífrúmmál þörungum og blábaktería í straum- og stöðuvötnum. Magn þeirra og tegundasamsetning er næm fyrir ákomu næringarefna. Tilgangur þess að mæla magn blaðgrænu í straum- og stöðuvötnum er að meta hvort magn þess endurspegli náttúrulegan breytileika blaðgrænu eða hvort hún hefur aukist vegna losunar næringarefna út í vatnshlot, t.d. vegna afrennslis af túnum og/eða losunar á fráveituvatni. Niðurstöður mælinga á blaðgrænu eru notaðar beint við mat á vistfræðilegu ástandi vatnshlota, eftir að meðaltal mælinga hvers árs hefur verið reiknað. Við ástandsflokkun eru þær niðurstöður bornar saman við skilgreind mörk á milli ástandsflokkum viðkomandi vatnagerðar¹.

Mjög mikilvægt er að sýnatökurnar séu rétt framkvæmdar. Viðkomandi aðili sem framkvæmir sýnatökurnar þarf að uppfylla eftirfarandi:

- Þekkja vel tilgang sýnatökunnar og bakgrunn hennar
- Hafa þekkingu á sýnatökuaðferðum
- Hafa kunnáttu til að nota þau tæki og tól sem nefnd eru í leiðbeiningunum
- Viðhafa fagleg vinnubrögð við sýnasöfnun/mælingar
- Leggja áherslu á að meðhöndla blaðgræusýnin hratt og örugglega samkvæmt leiðbeiningum þar sem sýnin eru viðkvæm fyrir ljósi, hita og súrefni, sem brýtur niður blaðgrænu

Nánari upplýsingar veita:

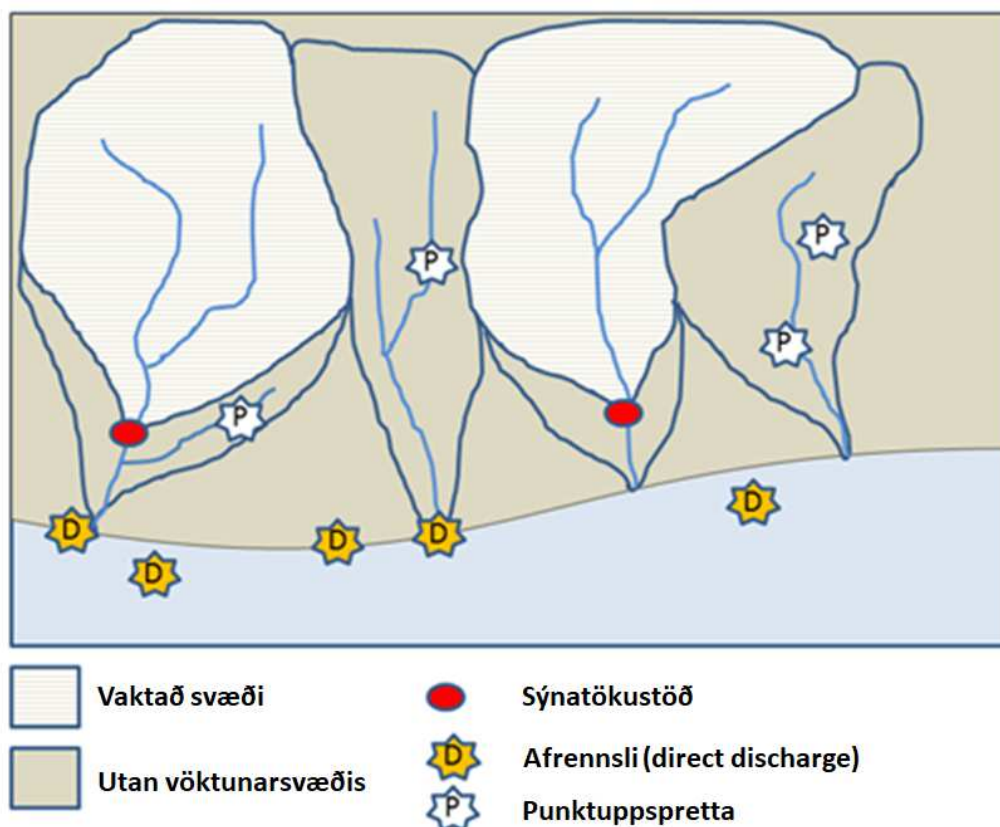
Sýnatökuaðferðir: Eydís Salome Eiríksdóttir, Hafrannsóknastofnun s: 575 2065

Stjórnsýsla vatnamála: Marianne Jensdóttir Fjeld, Umhverfisstofnun s: 591 2000

¹ Eydís Salome Eiríksdóttir, Sunna Björk Ragnarsdóttir, Gerður Stefánsdóttir, Agnes-Katharina Kreiling, Fjóla Rut Svavarsdóttir, Jón S. Ólafsson, Svava Björk Þorlákssdóttir 2020. Vistfræðileg viðmið við ástandsflokkun straum- og stöðuvatna á Íslandi. HV 2020-42/VÍ 2020-009/NÍ20010. 113 bls.

2 Val á sýnatökustöðum og tíðni sýnatöku

Gera þarf áætlun fyrir hvern leiðangur. Mikilvægt er að velja sýnatökustöðvar þannig að þær endurspegli þau vatnshlot sem vakta á og því þarf að gæta þess að safna ekki rétt neðan við ármót, innstreymi lækja eða afrennslis úr skurðum. Eins er mjög mikilvægt að gæta þess að safna ekki rétt neðan við punktuppsprettur mengunarvalda (P á mynd 1), nema tilgangurinn sé að sýna fram á möguleg áhrif þeirra á eiginleika vatnsins. Í straumvatni þarf að velja botngerð sem hentar sýnatökunni, t.d. á broti þar sem ekki er of djúpt eða of mikill straumur. Í stöðuvötnum er æskilegt að sýnum sé safnað úti á miðju vatni eða í útfalli vatna.



Mynd 1. Skýringarmynd sem sýnir æskilegar staðsetningar mælinga- og sýnatökustaða fyrir gæðabætti í straumvatni. Mynd fengin frá OSPAR, HASEC 14/14/1, Annex 8.

Samkvæmt reglugerð 535/2011 eiga sýnatökur og mælingar á blaðgrænu *a* að fara fram á sex mánaða fresti og samkvæmt vöktunaráætlun Umhverfisstofnunar skal mæla þörunga að lágmarki tvisvar á ári. Þar kemur þó fram að í einhverjum tilvikum gæti verið hægt að færa rök fyrir tíðari sýnatökum, allt að 6 skiptum á ári². Á norðurvegi jarðar er vaxtartími þörunga yfir sumartímamann og því er mælt með að blaðgræna sé mæld á þeim tíma (apríl/maí til september á Íslandi). Í djúpum stöðuvötnum geta hæstu gildin verið í upphafi og lok þessa tíma.

² Vöktunaráætlun vatnaáætlunar 2022-2027. https://ust.is/library/sida/haf-og-vatn/V%C3%B6ktunar%C3%A1%C3%A6tlun%202022-2027_DR%C3%96G.pdf

Við endurteknar sýnatökur í vatnshloti er mikilvægt að ávallt sé farið á sama sýnatökustað og að sýnum sé safnað á svipuðum tíma innan hvers árs. Nota skal staðsetningartæki til að fá nákvæma staðsetningu sýnatökustaða og skrá hnit þeirra niður, ásamt þeim upplýsingum sem skráðar eru á hverjum sýnatökustað. Gæta þarf þess að veðuraðstæður séu góðar og ekki séu miklir vatnavextir eða upprót í stöðuvötnum eftir storm.

3 Skipulag í leiðöngurum

Ávallt skulu a.m.k. tveir menn vera við sýnatökurnar og skulu þeir gæta fyllstu varúðar. Sýnatökuaðilar ættu ávallt að vera í viðeigandi hlífðarbúnaði og í björgunarvesti við sýnatökur. Vöðlur eru góðar á grunnu vatni en hafa þann ókost að fyllast ef sýnatökuaðili fellur í vatn. Þurrbúningur er því öruggari að þessu leyti. Á bát eru regnföt og stígvél eða þurrbúningur ákjósanlegri en vöðlur. Áður en lagt er í sýnatökur á stöðuvötnum skal gæta vel að veðurspá, en öldugangur veldur bæði erfiðleikum við sýnatökur og getur skapað hættu fyrir sýnatökuaðila. Auk þess veldur vindur gjarnan uppróti af botni, sérstaklega í grunnum vötnum, sem ekki er æskilegt við sýnatökur á blaðgrænu í vatnsbol. Í straumvatni þarf jafnframt að huga vel að rennsli áður en lagt er af stað í sýnatöku. Vatnavextir geta skapað hættu fyrir sýnatökuaðila auk þess að skekkja sýnatöku, þar sem hætta er á að sýnum sé safnað af steinum sem verið hafa á þurru lengst af en eru nýlega komnir undir vatn.

Gera þarf áætlun fyrir hvern leiðangur og fara þarf fyrirfram yfir hlutverk hvers og eins í sýnatökunni. Mikilvægt er að velja sýnatökustöðvar fyrirfram og gæta þess að þær endurspegli þau vatnshlot sem verið er að vakta (sjá nánar í kafla 2). Ef sýnatökur er endurteknar á milli ára á sama stað í vatnshloti, skal safna sýnum á svipuðum tíma innan árs. Mikilvægt er að skrá niður nauðsynlegar upplýsingar fyrir hvern mælistað og hvert sýni sem safnað er. Eins er gott að taka ljósmyndir í hvert sinn sem sýnatökur og mælingar fara fram, sérstaklega ef safnað er í ám.

4 Blaðgræna í straumvötnum

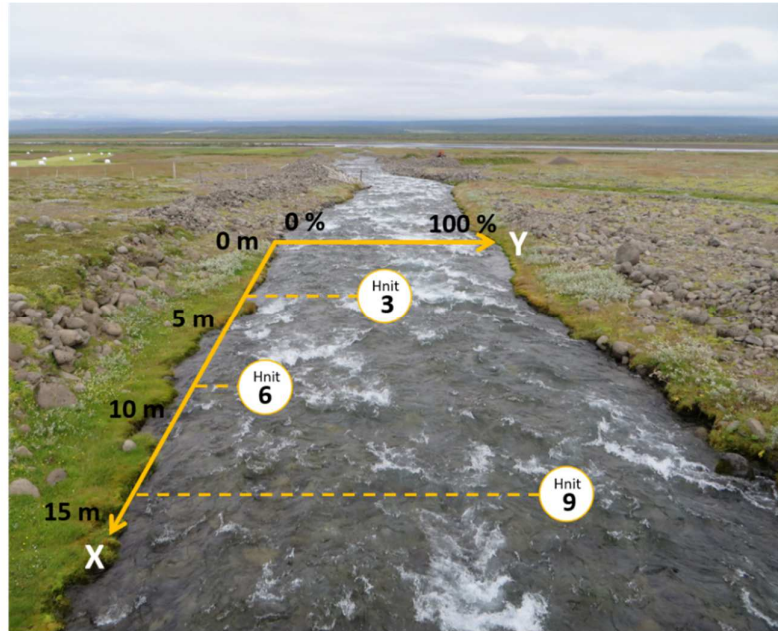
4.1 Söfnun og meðhöndlun blaðgrænusýna í ám

Sýnasöfnun og mæling á blaðgrænu α er gerð með hliðsjón af alþjóðlegum staðli, ISO 10260, sem lýsir söfnun og ljósgleypnimælingu á blaðgrænu α . Við sýnatöku er lífræn þekja skrubbuð af steinum sem teknir eru af botni árinna á hverjum söfnunarstað. Í töflu 1 er listi yfir nauðsynlegan útbúnað fyrir söfnun sýna af blaðgrænu í ám.

Áður en sýnasöfnun hefst er málband lagt út eftir bakka árinna (15-20 m). Tilviljanatölur eru notaðar til að skilgreina 10 sýnatökustaðsetningar í farveginum, á skilgreindu svæði meðfram árbakkanum og þvert á straumstefnu, á allt að 60 cm dýpi (Mynd 2). Einn steinn er tekinn á hverjum stað. Byrjað er á sýnatökum neðst innan þessa skilgreinda svæðis og farið gegn straumi. Með því móti er komist hjá raski þar sem sýnataka á eftir að fara fram.

Tilviljanatölur 15 metrar

Hnit	X	Y
1	0,7	26
2	1,5	77
3	3,9	48
4	4,8	12
5	6,4	83
6	6,9	16
7	10,3	72
8	10,7	81
9	13,8	70
10	14,1	25



Mynd 2. Dæmi um hvernig hægt er að velja sýnatökustaði í árfarvegi. Vinstra megin er dæmi um töflu með hnitum sem fengin eru með tilviljanatölum. Hægra megin er skýringarmynd sem skýrir hvernig á að nota hnit úr töflunni. Hnit 1-10 eru þeir staðir þaðan sem steinar eru teknir af botni eða mæling fer fram. Sem dæmi er hnit 3 t.d. 3,9 metra frá upphafsstað meðfram árbakka og 48% út í á frá þeim bakka sem málband liggur meðfram. Ljósmynd: Jón S. Ólafsson

Steinn er tekinn af árbotninum, settur í fötu og færður upp á árbakkann. Gætið þess að snerta sem minnst yfirborð steinsins. Þörungar og blábakteríur eru burstaðir af þeim hluta steinsins sem ekki snerti botn, best er að gera það yfir plastbakka. Burstað er með litlum bursta með vínilhárum, t.d. tannbursta, af afmörkuðu svæði á steininum t.d. innan slides myndaramma. Að lokum er skolað yfir afmarkað svæðið með eimuðu eða síuðu vatni úr sprautuflösku. Nauðsynlegt er að þekkja nákvæmlega það flatarmál sem skrúbbað er af og skrá það í feltbók. Gætið þess að ekki berist annað efni í sýnið en það sem kom af steininum (Mynd 3).



Mynd 3. Söfnun blaðgræusýna af botni straumvatna. A) Lífræn þekja er burstuð af steini innan úr ramma af þekktri stærð. B) Sá hluti steinsins sem var burstaður er skolaður vel með eimuðu/síuðu vatni ofan í hreinan plastbakka. C) Það sem skolaðist af steininum er komið fyrir í brúnni glerflösku sem er geymd í kæliboxi, varið frá sólarljósi þar til sýnið er síað í gegn um glertrefjasíur. Ljósmyndir: Svanhildur Egilsdóttir.

Nota skal eimað- eða síað vatn (t.d. síað með glerrefjasíu) við alla skolun á sýni og á sýnatökuáhöldum. Sýninu er hellt úr bakkanum í brúna 100 ml glerflösku og bakki skolaður með sprautuflösku þannig að ekki sitji eftir í honum neinir þörungar. Best er að sía blaðgræusýnin á staðnum og setja síurnar beint í djúpfrysti (fljótandi köfnunarefni/þurrís) að síun lokinni. Ef það er ekki hægt er sýnið varðveitt í myrkri og kulda, t.d. í kæliboxi, uns það verður síað. Nauðsynlegt er að síun fari fram samdægurs sýnasöfnuninni. Sýnin eru síuð með vakúmdælu, síuhaldara og glerrefjasíum (t.d. Whatman® GF/F 47 mm í þvermál). Við lok síunar þarf að tryggja að sítretkin sé skoluð að innan svo ekki sitji eftir á henni neinir þörungar (Mynd 4). Þegar sýnið hefur síast í gegnum síuna og hún orðin þurr er trektin fjarlægð. Pinsettu er smeygt undir síuna, sían brotin saman til helminga þannig að sýnið lokist inni í síunni og hún tekin þannig af síunarhaldaranum. Þá er sían lögð á þerripappír (t.d. eldhúspappír) og þrýst létt á til að þerra mesta vatnið úr síunni og það endurtekið þar til sían er nánast þurr. Þá er sían brotin saman á ný og sett í 1,8–2 ml sýnaglas/túbú (Cryotube) sem þola djúpfrystingu (-80°C), túpan merkt og fryst (Mynd 5). Þurrkun síunnar þarf að ganga eins hratt fyrir sig og hægt er þar sem blaðgrænan er viðkvæm fyrir niðurbroti. Síupappírinn þarf jafnframt að frysta strax að lokinni síun og halda frosnum fram að mælingu.

Blaðgræna er mjög viðkvæm fyrir niðurbroti og þarf því að gæta þess á öllum stigum í meðhöndlun og sýnatöku að verja sýnin fyrir sólarljósi og hita. Því er mikilvægt að halda þeim í myrkri og kældu umhverfi fram að síun og meðan á síun stendur. Eftir síun skal setja síurnar strax í frost og geyma sýnin þannig að þau séu varin fyrir ljósi. Best er að djúpfrysta síurnar t.d. í þurrís eða fljótandi köfnunarefni til flutnings eða skammtíma geymslu. Ef geyma á sýnin til lengri tíma þarf að geyma þau frosin við < -80 °C og eru sýnin þá nokkuð stöðug. Ef ekki er hægt að djúpfrysta sýnin þá skal geyma þau við < -25 °C og greina innan 30 daga frá söfnun.

Textabox 1.

Skráning upplýsinga vegna söfnunar blaðgræusýna

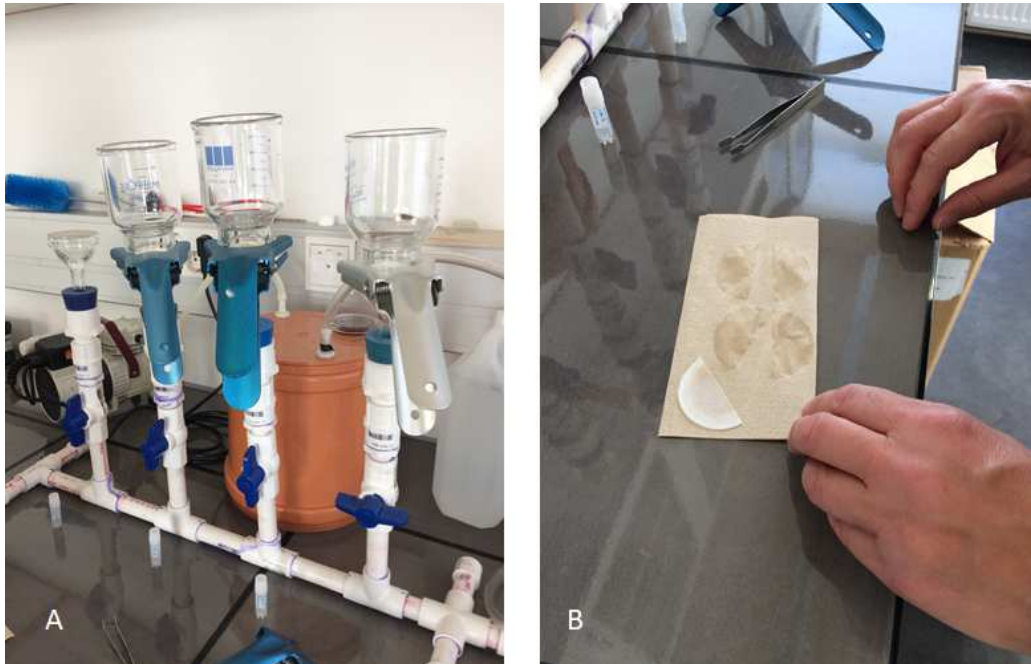
Upplýsingar á flösku:

- Einkvæmt númer* fyrir hverja sýnatökustöð
- Heiti sýnatökustaðar (nafn straumvatns/stöðuvatns)
- Heiti/númer sýnatökustöðvar
- Lýsing á sýninu (t.d. blaðgræna a)
- Númer sýnis innan stöðvar
- Dagsetning og tímasetning

Upplýsingar í feltbók:

- Einkvæmt númer* fyrir hvert sýnatökustöð
- Heiti sýnatökustaðar (nafn straumvatns/stöðuvatns)
- Heiti/númer sýnatökustöðvar
- Hnit sýnatökustaðar
- Dagsetning og tímasetning
- Lýsing á sýninu (t.d. blaðgræna a)
- Upplýsingar um sýnin sem tekin voru á hverjum stað
- Sýnatökuaðferð og nánari upplýsingar s.s. stærð ramma/flatarmál burstað/magn vatnssýnis
- Fjöldi mælinga á hverjum stað (ef notaður er handmælir)
- Nöfn þeirra sem safna sýnum
- Vatnshiti og aðrar mælingar sem gerðar eru.
- Veðurlýsing og aðrar athuganir sem þykja skipta máli fyrir hverja stöð (t.d. slý/litur á vatni).

*Einkvæmt númer á sýnatökustöð gæti t.d. verið samsett úr dagsetningu og tímasetningu sýnasöfnunar á hverjum stað (táknáð á ensku yyyyymmdd-hh:mm). Þannig er ólíklegt að ruglingur verði á númerakerfinu. Nauðsynlegt er að öll sýni sem tilheyra sömu sýnatöku beri sama númer, hvort sem sýnunum er safnað til mælinga á blaðgrænu, pH, næringarefnum eða öðrum þáttum sem safnað er á sama stað á sama tíma. Númerið er þá n.k. kennitala fyrir hverja sýnatökustöð.



Mynd 4. Síun blaðgræusýna á rannsóknarstofu. A) Dæmi um uppsetningu á búnaði sem hægt er að nota til að sía blaðgræusýni. Vakúmdæla er notuð til að sjúga vatn í gegn um glertrefjasíu og þörungar verða eftir á síunni. Gæta verður að ekki komist vatn í dæluna og því er vatninu safnað saman í söfnunardunk og hent að lokinni síun. B) Að lokinni síun eru síurnar brotnar í tvennt þannig að blaðgrænan lokist inni í síunni. Sían er þerruð á þerripappír þar til engin vökvi kemur úr henni. Að því loknu er samanbrotin sían sett í sýnaglas (Mynd 5), sýnaglasíð merkt og fryst. Ljósmyndir: Ragnhildur Þ. Magnúsdóttir



Mynd 5. Dæmi um sýnaglös sem eru heppileg til að frysta síupappír með blaðgræusýnum (cryotube).

4.2 Mælingar á blaðgrænu α á botni straumvatna með handmæli

Til eru handmælar sem hægt er að nota við beina mælingu á blaðgrænu á botni straumvatna. Dæmi um slíkan mæli er BenthosTorch frá bbe Moldaenke (Mynd 6). Mælirinn sendir frá sér ljós og mælir endurkast þess af ólíkum bylgjulengdum eftir því hvaða þörungahópar eru til staðar. Endurkast ólíkra bylgjulengda er notað til útreikninga á heildarmagni blaðgrænu α á fersentimetra á botni ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) auk þess sem það metur hlutdeild grænþörungna, kísilþörungna og blábaktería. Í töflu 1 er listi yfir nauðsynlegan útbúnað fyrir beina mælingu á blaðgrænu í botni straumvatna. Mikilvægt er að lesa leiðbeiningar sem fylgja mælinum áður en lagt er af stað.

Blaðgræna er mæld á 10 stöðum í árfarveginum, á yfirborði steina, á allt að 60 cm dýpi, sem eru á stöðum sem valdir hafa verið með tilviljunarkenndum hætti (sjá lýsingu á notkun

tilviljanatalna í kafla 4.1, Mynd 2). Mælinum er stungið ofan í vatnið og komið varlega fyrir á yfirborði steinanna og haldið þar í 10 sekúndur á meðan mælingin er gerð (Mynd 7). Þar sem útbreiðsla þörungum og blábaktería getur verið hnappdreifð eru þrjár mælingar gerðar á hverjum steini þar sem ein mæling á hverjum steini gæti gefið skekkta mynd af þeim samfélögum sem á staðnum eru. Sneitt er hjá steinum þar sem mosi eða háplöntur voru áfastar, en mælingarnar miðast við mat á magni blaðgrænu a úr þörungum og blábakteríum. Mælingarnar eru vistaðar í tækinu og hlaðið niður í tölvu við heimkomu. Heildarmagn blaðgrænu á hverjum steini er reiknað út frá meðaltalsgildi í öllum þremur mælingunum sem gerðar eru á hverjum steini. Endanleg niðurstaða á magni blaðgrænu a á botni árinna á hverjum sýnatökustað er reiknuð út frá 30 mælingum sem gerðar eru á 10 steinum í þeim hluta farvegar sem er til rannsóknar (Mynd 2).



Mynd 6. Dæmi um handmæli sem mælir endurkast ljóss af þörungum á botni í straum- og stöðuvötnum (BenthosTorch, bbe moldaenke). Ljósmynd: Svanhildur Egilsdóttir



Mynd 7. Mælingar á blaðgrænu með handmæli (BenthosTorch). A) Við mælingu stendur mælingamaður upp í strauminn, kemur mjúka enda mælisins fyrir á yfirborði steina (B) sem valdir eru með tilviljanatölum. Mælt er á þremur stöðum á yfirborði hvers steins og alls á 10 steinum í farveginum. Samtals eru gerðar 30 mælingar á hverjum mælistað. Ljósmyndir: Svanhildur Egilsdóttir

Tafla 1. Yfirlit yfir tæki og áhöld sem nauðsynleg eru við sýnasöfnun og mælingar á blaðgrænu í straumvatni.

Útbúnaður - gátlisti	STRAUMVATN	
	Söfnun sýna	Handmælir
Viðeigandi öryggis- og hlífðarbúnaður s.s. vöðlur, stígvél, björgunarvesti	X	X
Háir gúmmíhanskar	X	X
Feltbók (rite-in-rain) og blýantur	X	X
Málband	X	X
Töflur með tilviljanatölum	X	X
GPS tæki og auka batterí	X	X
Myndavél	X	X
Handmælir til að mæla blaðgrænu		X
Lítill, stífur vínbursti (t.d. tannbursti)	X	
Plastbakki undir það sem skrúbbað er af steinunum	X	
Rammar til að afmarka flatarmál til að bursta af (t.d. slides myndarammar)	X	
Sprautuflaska	X	
Eimað- eða síað vatn	X	
Brúnar glerflöskur og tappar, ~100 mL	X	
Merkilímband til að merkja flöskur	X	
Vatnsheldur penni	X	
Vakúm síubúnaður (sogflaska, síuhaldari og vakúm pumpa)	X	
Glertrefjasíur (GF/F)	X	
Pinnsetta (til að meðhöndla glertrefjasíu)	X	
Þerripappír	X	
Sýnatúbur fyrir glertrefjasíur (sem má djúpfrysta - Cryotubes)	X	
Fljótandi köfnunarefni/þurrís (ef sýni eru síuð á staðnum)	X	
Kælibox og kubbar og t.d. svartur plastpoki eða álpappír til að einangra sýnin frá ljósi.	X	

5 Blaðgræna í stöðuvötnum

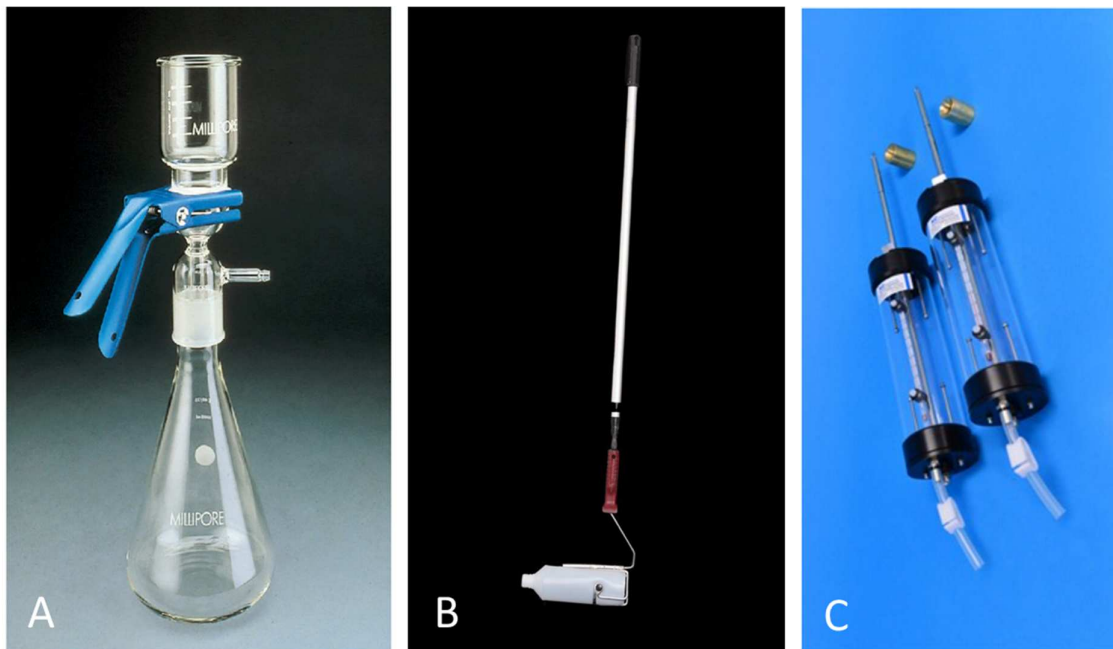
5.1 Söfnun og meðhöndlun blaðgrænusýna í stöðuvötnum

Sýnasöfnun á blaðgrænu *a* er gerð með hliðsjón af alþjóðlegum staðli, ISO 10260, sem lýsir söfnun og ljósgleypnimælingu á blaðgrænu *a*. Sýnum er safnað úr vatnsbol stöðuvatna. Æskilegt er að þessar mælingar séu gerðar af báti eða í útfalli vatna og að þess sé gætt að ekki berist grugg eða þörungar frá botni í sýnið. Í töflu 2 er listi yfir nauðsynlegan útbúnað fyrir söfnun sýna af blaðgrænu í stöðuvötnum.

Gott er að miða við að safna vatnssýni þar sem frumframleiðni í vatnsbol er mest, úr efsta lagi vatnsins á um 50–100 cm dýpi. Varast skal að safna sýnum beint af yfirborði. Á hverjum stað er vatni safnað í þrjár plastflöskur. Stærð flöskunnar fer eftir magni blaðgrænu á hverjum stað, en gott er að miða við að nota 1 lítra flösku. Nauðsynlegt er að merkja flöskurnar og skrá allar viðeigandi upplýsingar í feltbók/sýnatökublöð samkvæmt því sem kemur fram í textaboxi 1 í kafla 4.1.

Best er að sía blaðgrænusýni á staðnum og setja síurnar beint í djúpfrysti (fljótandi köfnunarefni/þurrís). Ef það er ekki hægt er sýnið varðveitt í myrkri og kulda, t.d. í kæliboxi, uns það verður síað. Nauðsynlegt er að síun fari fram samdægurs sýnasöfnuninni. Hvert sýni er síað sérstaklega í gegn um glertrefjasíur (t.d. Whatman®GF/F) með vakúmdælu og sogflösku (Mynd 4; Mynd 8A). Mikilvægt er að skrá nákvæmlega hve mikið vatn var síað í gegnum hverja síu til að hægt sé að magngreina styrk blaðgrænu í vatninu ($\mu\text{g/l}$). Við lok síunar þarf að tryggja að síutrektin sé skoluð að innan svo ekki sitji eftir á henni neinir þörungar (Mynd 4). Þegar sýnið hefur síast í gegnum síuna og hún orðin nokkuð þurr er trektin fjarlægð. Pinsettu er smeygt undir síuna, sían brotin saman til helminga þannig að sýnið lokist inni í síunni og hún tekin þannig af síunarhaldaranum. Þá er sían lögð á þerripappír (t.d. eldhúspappír) og þrýst létt á til að þerra mesta vatnið úr síunni og það endurtekið þar til sían er nánast þurr. Þá er sían brotin saman á ný og sett í lítil sýnaglös (2 ml; (Cryotube) sem þola djúpfrystingu (-80°C), túpan merkt og fryst. Meðhöndlun síunnar þarf að ganga eins hratt fyrir sig og hægt er þar sem blaðgrænan er viðkvæm fyrir niðurbroti. Síupappírinn þarf jafnframt að frysta strax að lokinni síun og halda frosnum fram að mælingu (Mynd 5).

Blaðgræna er mjög viðkvæm fyrir niðurbroti í sólarljósi og súrefni sem brýtur blaðgrænu niður í ólitað efni sem ekki er hægt að mæla með ljósgleypnimæli. Því þarf að gæta þess á öllum stigum í meðhöndlun og sýnatöku að verja sýnin fyrir sólarljósi og hita. Því er mikilvægt að halda þeim í myrkri og kældu umhverfi fram að síun og meðan á síun stendur. Eftir síun skal setja síurnar strax í frost og geyma sýnin þannig að þau séu varin fyrir ljósi. Best er að djúpfrysta síurnar t.d. í þurrís eða fljótandi köfnunarefni til flutnings eða skammtíma geymslu. Ef geyma á sýnin til lengri tíma þarf að geyma þau frosin við $< -80^{\circ}\text{C}$ og eru sýnin þá nokkuð stöðug. Ef ekki er hægt að djúpfrysta sýnin þá skal geyma þau við $< -25^{\circ}\text{C}$ og greina innan 30 daga frá söfnun.



Mynd 8. Dæmi um áhöld til notkunar við söfnun og meðhöndlun sýna af blaðgrænu sem safnað er úr stöðuvötnum. A) Sogflaska og síuhaldari til notkunar við síun blaðgrænusýna. B) Einfaldur sýnasafnari sem útbúinn hefur verið úr málningarstöng og rúllu auk flöskuhaldara fyrir hjól. C) Vatnssýnasafnari frá Ruttner frá KC í Danmörku.

5.2 Mælingar á blaðgrænu α í vatnsbol stöðuvatna með handmæli

Hægt er að mæla blaðgrænu α beint í stöðuvötnum með þar til gerðum handmælum sem meta heildarmagn blaðgrænu α út frá flúrljómun lifandi þörungafrumna. Mælirinn sendir frá sér ljós og mælir endurkast þess af mismunandi þörungahópum af ólíkum bylgjulengdum. Endurkastið er notað til útreikninga á heildarmagni blaðgrænu α í einum lítra af vatni ($\mu\text{g/l}$). Æskilegt er að þessar mælingar séu framkvæmdar af báti eða í útfalli vatna og að þær séu með þeim hætti að grugg og þörungar á botni hafi ekki áhrif á mælingar. Mikilvægt er að lesa leiðbeiningar sem fylgja mælinum áður en lagt er af stað. Eins þarf að gæta þess að hlaða mælinn áður en lagt er af stað í leiðangur. Í töflu 2 er listi yfir nauðsynlegan útbúnað fyrir beina mælingu á blaðgrænu í stöðuvötnum.

Mælinum er stungið ofan í vatnið og haldið þar í nokkrar sekúndur á meðan mælingin er gerð. Miða skal við að mælt sé á um 50 cm dýpi og að gerðar séu a.m.k. 3 mælingar á hverjum stað. Mælingarnar eru vistaðar í tækinu og hlaðið niður í tölvu við heimkomu, en einnig er gott að skrá hjá sér niðurstöður úr mælinum í feltbók á staðnum. Endanleg niðurstaða á magni blaðgrænu α á hverjum stað er reiknuð út frá meðalgildi mælinganna.

Tafla 2. Yfirlit yfir tæki og áhöld sem nauðsynleg eru við sýnasöfnun og mælingar á blaðgrænu í stöðuvötnum.

Útbúnaður - gátlisti	STÖÐUVATN	
	Söfnun sýna	Handmælir
Bátur (ef við á)	X	X
Viðeigandi öryggis- og hlífðarfatnaður s.s. björgunarvesti, þurrbúningur, flotgalli, vatnsheldur hlífðarfatnaður, stígvél	X	X
Háir gúmmihanskar	X	X
Feltbók (rite-in-rain) og blýantur	X	X
GPS tæki og auka batterí	X	X
Myndavél	X	X
Handmælir til að mæla blaðgrænu		X
Söfnunarbúnaður (vatnssýnataka/brúsi)	X	
3x 1 L plastflaska fyrir hvert sýni	X	
Merkilímband til að merkja flöskur	X	
Vatnsheldur penni	X	
Vakúm síubúnaður (sogflaska, síuhaldari og vakúm pumpa)	X	
Sprautuflaska	X	
Eimað eða síað vatn	X	
Mæliglas til að mæla rúmmál sýnis	X	
Glertrefjasíur (GF/F)	X	
Pinnsetta	X	
Þerripappír	X	
Sýnatúbur fyrir glertrefjasíur eftir síun (cryotubes – sem má djúpf	X	
Fljótandi köfnunarefni/þurrís (ef sýni eru síuð á staðnum)	X	
Kælibox og kubbar og t.d. svartur plastpoki eða álpappír til að einangra sýnin frá ljósi.	X	

6 Greining á sýnum og skil á niðurstöðum

Þessar leiðbeiningar fjalla um söfnun blaðgrænusýna og beinar mælingar á blaðgrænu í straum- og stöðuvötnum. Þegar blaðgrænusýnum hefur verið safnað, þarf að mæla styrk blaðgrænu með viðeigandi aðferðum. Þessar leiðbeiningar fjalla ekki um þær mælingar. Nauðsynlegt er að hafa aðgang að rannsóknastofu sem getur mælt blaðgrænusýni með viðeigandi hætti innan þess tímaramma sem gefin er upp í ISO staðli 10260. Niðurstöður mælinga á blaðgrænu með handmæli er hins vegar hægt að nota beint við ástandsflokkun vatnshlota, eftir að reiknuð hafa verið meðaltöl þeirra mælinga sem gerðar voru á hverjum stað.

Tilgangurinn með því að mæla blaðgrænu í straum- og stöðuvötnum er að nota niðurstöðurnar við ástandsflokkun vatnshlotanna. Því er mikilvægt að halda vel utan um allar upplýsingar varðandi sýnatökurnar og niðurstöður mælingar til að hægt sé að nota þær við ástandsflokkun. Mikilvægt er að tengja hvern sýnatökustað við vatnshlotanúmer hvers vatnshlots þannig að ekki fari á milli mála hvaðan sýnin eru. Skila skal niðurstöðum á magni blaðgrænu a í skilagátt stjórnar vatnamála og tengja þær við þau vatnshlot sem sýnin voru tekin úr.



HAFRANNSÓKNASTOFNUN

Rannsókn- og ráðgjafarstofnun hafs og vatna