

KASVIPLANKTONIN LASKENTAMENETELMÄT

(23.9.2011)

Toimituskunta: Marko Järvinen¹, Laura Forsström², Maija Huttunen³, Seija Hällfors³, Reija Jokipii¹, Maija Niemelä¹, Arja Palomäki⁴

1) SYKE vesikeskus 2) Helsingin yliopisto ympäristötieteen laitos 3) SYKE merikeskus 4) Jyväskylän yliopisto ympäristöntutkimuskeskus

Työryhmä: Pirkko Ala-Uotila, Raino-Lars Albert, Sanna Autio, Terttu Finni, Laura Forsström, Päivi Hakanen, Anna-Liisa Holopainen, Maija Huttunen, Guy Hällfors, Heidi Hällfors, Seija Hällfors, Reija Jokipii, Marko Järvinen, Sanna Kankainen, Sirpa Lehtinen, Liisa Lepistö, Maija Niemelä, Johanna Oja, Arja Palomäki, Marjut Räsänen, Pauliina Salmi, Kalevi Salonen, Petra Tallberg, Hanna Turkki, Kristiina Vuorio, Minna Ylä-Jarkko, Satu Zwerver

Sisällysluettelo

1	TARKOITUS JA KOHDERYHMÄ.....	2
2	NÄYTTEENOTTO JA NÄYTTEEN SÄILÖNTÄ	2
3	LAITTEISTO.....	3
	3.1 <i>Mikroskooppi.....</i>	3
	3.2 <i>Laskeutuskammio.....</i>	3
4	NÄYTTEEN VALMISTAMINEN MIKROSKOPOINTIA VARTEN	3
5	LASKENTA	4
5.1.	KVANTITATIIVISET MENETELMÄT	5
5.1.1	<i>Laaja kvantitatiivinen menetelmä</i>	7
5.1.2	<i>Suppea kvantitatiivinen menetelmä</i>	9
5.2	MUUT LASKENTAMENETELMÄT	9
5.2.1	<i>Semikvantitatiivinen menetelmä</i>	9
5.2.2	<i>Kvalitatiivinen määrittely</i>	9
5.2.3	<i>Vesilaitosten sinilevävalvonta.....</i>	9
6	LASKENTATULOSTEN MUUNTO TIHEY SARVOIKSI.....	10
7	TULOSTEN MUUNTO BIOMASSOIKSI.....	10
	7.1 <i>Tilavuustaulukot.....</i>	10
	7.2 <i>Mittaukset</i>	10
	7.3 <i>Hiihisisältö</i>	11
8	LAADUNVARMISTUS.....	11
9	RAPORTOINTI	12
10	KIRJALLISUUS – MENETELMÄT JA LASKENTA	12
11	LIITTEET	15
	Liite 1 <i>Lugol-liuos.....</i>	15
	Liite 2 <i>Mikroskooppilaitteisto.....</i>	15
	Liite 3 <i>Virherajojen laskenta todellisesta vaihtelusta.....</i>	16
	Liite 4 <i>Suosittelava määrityskirjallisuus ja verkkosivut</i>	16

1 Tarkoitus ja kohderyhmä

Kasviplankton on hyvä vesien tilan indikaattori, sillä se reagoi nopeasti mm. ravinnepitoisuuden ja happamuuden muutoksiin vesistössä. Kasviplanktonin määrää ja koostumusta käytetään arvioitaessa vesistöjen tilaa EU:n vesipolitiikan puitedirektiivin (VPD) edellyttämässä sisä- ja rannikkovesien ekologisessa luokittelussa (European Commission 2000, Vuori ym. 2009). EU:n meristrategiadirektiivi (MSD) edellyttää kuvauksen vallitsevan elinympäristön kasviplanktonyhteisöstä (European Commission 2008). Myös Itämeren suojelukomissio seuraa Itämeren rannikkovesien ja avomeren tilaa ja muutoksia kasviplanktonin avulla (HELCOM 2008). Kasviplanktonin käyttö vesien tilan seurannassa, luokittelussa, vertailuolojen määrittämisessä ja ihmistoiminnan aiheuttamien muutosten arvioinnissa edellyttää, että laskentatulokset ovat luotettavia ja vertailukelpoisia.

Tämä ohje kuvaa kasviplanktonlaskennan eri vaiheet ja käytettävät menetelmät. Kohderyhmänä ovat kasviplanktonanalysoijat sekä kasviplanktonnäytteitä määritettäväksi tarjoavat tahot. Ohje on uudistettu ja korjattu painos Suomen ympäristökeskuksen (SYKE) ohjeesta "Kasviplanktonin tutkimusmenetelmät" (5.4.2006), joka on julkaistu myös Vesitalous -lehdessä (Lepistö ym. 2006). Tämä uusi ohjeistus korvaa edellä mainitut kasviplanktonin laskentaohjeet. Sen perustana on eurooppalainen standardi SFS-EN-15204 (<http://www.cen.eu/>) "Water quality – Guidance on the enumeration of phytoplankton using inverted microscopy (Utermöhl technique)" (SFS 2006). Ohje on laadittu yhteistyössä Suomen kasviplanktonseuran kanssa. Ohje on ladattavissa SYKEN kotisivuilta (www.ymparisto.fi > Tutkimus > Ympäristön seuranta > Vesien tilan seuranta > Menetelmäohjeet ja maastolomakkeet; ks. suora linkki luvun 10 kirjallisuusluettelosta). Parhaillaan ovat valmisteilla eurooppalaiset standardit, jotka ohjeistavat kasviplanktonin biotilavuuksien määrittämistä, järvikasviplanktonin näytteenottoa sekä merikasviplanktonin tutkimista.

Itämeren kasviplanktonseurantaan liittyvät erityisvaatimukset löytyvät erillisestä ohjeesta (HELCOM 2008), jossa on kuvattu tarkasti ainoastaan ne menetelmät, joita tulee käyttää HELCOM:lle raportoitavia näytteitä laskettaessa.

2 Näytteenotto ja näytteen säilöntä

Kasviplanktonnäyte otetaan seuranta- tai tutkimussuunnitelman mukaisesti häiriintymättömien vesinäytteiden ottoon tarkoitettulla näytteenottimella (SFS 147-1, 2010). Näytettä tarvitaan vähintään 200 ml. Suurikokoisen lajiston yksityiskohtaisempaa kvalitatiivista määrittämistä varten voidaan ottaa lisäksi näyte haavilla, jonka suositeltava silmäkoko on 10-25 µm. Leväkukinnasta näytettä otetaan noin 50-100 ml ja se säilötään kuten muut kasviplanktonnäytteet, jos sitä ei tutkita 1-2 vrk:n kuluessa. Säilömätön leväkukintänäyte säilytetään viileässä näyteastian korkki auki. Haavinäytteenottoa käytetään semikvantitatiivisessa ja kvalitatiivisessa kasviplanktonitutkimuksessa (luku 5). Lugol-säilötystä näytteestä ei ole yleensä mahdollista piilevien tarkka lajintunnistus, koska piileväkuoren rakenteet näkyvät huonosti kun solun sisältö on tallella. Piilevien tarkempi lajintunnistus edellyttää piileväpreparaatteja.

Kasviplanktonnäyte säilötään lisäämällä siihen näytteenoton yhteydessä Lugol-liuosta 0,5-1 ml/200 ml näytettä (Tikkanen 1986, liite 1). Säilötyn näytteen väri on vaalean ruskehtava. Näytepulloiksi suositellaan värittömiä lasipulloja, jotta riittävä säilöntäaineen väri/määrä voidaan varmistaa myös myöhemmin. Muovipullot soveltuvat vain näytteen lyhytaikaiseen säilytykseen. Näytteitä säilytetään valolta suojattuina viileässä - mieluiten jääkaappilämpötilassa. Näytteiden väri on tarkistettava vuosittain ja tarvittaessa lisätään Lugol-liuosta, jotta näytteen sisältämät leväsolut eivät ala hajota.

3 Laitteisto

Kasviplanktonin tutkimista varten tarvitaan käänteismikroskooppi ja laskeutuskammioita/-kyvettejä. Käytettäessä korkean erotuskyvyn öljyimmersio-objektiiveja tarvitaan lisäksi immersioöljyä. Kvalitatiivisen näytteen määritys voidaan tehdä myös tutkimusmikroskoopilla objektilasilta.

3.1 Mikroskooppi

Tärkeimmät mikroskoopin kuvanlaatuun vaikuttavat tekijät ovat objektiivit, kondensori ja valaistus. Standardin SFS-EN-15204 (SFS 2006) mukaiset mikroskoopin perusvaatimukset on esitetty liitteessä 2.

Mikroskoopin suurennus muodostuu objektiivin ja okulaarin suurennusten tulosta. Kokonaissuurennukseen vaikuttaa myös mahdollinen mikroskoopin runkokerroin. Kuvan laatuun vaikuttaa paljon laitteiston erotuskyky, joka riippuu objektiivien ja mikroskoopin kondensorin numeerisista apertuureista (NA; liite 2). Koska laskettavat planktonlevät ovat useimmiten 2-200 µm kokoisia, ja niiden tärkeät tuntomerkit ovat usein vielä tätä pienempiä, on kuvan korkea laatu ensiarvoisen tärkeää.

Jos mikroskooppiin on asennettu kamera/videokamerajärjestelmä, suosittelemme lajiston dokumentointia tukemaan lajinmääritystä sekä toimimaan osana laadunvarmennusta.

3.2 Laskeutuskammio

Kasviplanktonnäyte laskeutetaan laskeutuskammiossa (Utermöhl 1931, 1958; kappale 4), jonka pohjan pinta-ala tunnetaan. Yleisimmin käytetyt laskeutuskammioiden tilavuudet on esitetty taulukossa 1. Laskeutuskammion pohjalevyn ja siihen liitetyn jatkosylinterin yhteistilavuus on varmistettava punnitsemalla lasilla peitetty laskeutuskammio sekä tyhjänä että vedellä täytettynä.

4 Näytteen valmistaminen mikroskopointia varten

Kasviplanktonnäyte otetaan riittävän ajoissa lämpenemään huoneenlämpöön. Näin ehkäistään kaasukuplien muodostumista ja edistetään solujen tasaista jakautumista kammion pohjalle. Huoneenlämpöinen näyte sekoitetaan hyvin ennen laskeuttamista. Laskeutettava näytemäärä (yleensä 3-50 ml) valitaan näytteen arvioidun solutiheyden mukaan. Sopivan laskeutustilavuuden selvittämiseksi voidaan tehdä koelaskeutus, jossa näytettä laskeutetaan aluksi pieni vesimäärä ja sen perusteella päätetään lopullinen laskeutustilavuus. Mitä enemmän leviää ja/tai muita hiukkasia (mm. savihiukkaset) näytteessä on, sitä pienempi tilavuus sitä laskeutetaan. Näytteen laimentamista ei suositella, mutta tarvittaessa sen voi tehdä vesijohtovedellä. Erittäin karuissa järvissä näytettä voidaan joutua poikkeustapauksissa konsentroimaan, esimerkiksi esilaskeuttamalla.

Sinilevien laskeutumista voidaan edistää lisäämällä laskeutuskammioon pieni pisara laimennettua astianpesuainetta (käyttöliuos = pari pisaraa astianpesuainetta/50 ml vettä).

Jotta levät laskeutuisivat laskeutuskammion pohjalle mahdollisimman satunnaisesti, laskeutus tulee tehdä tasaisella ja vaakasuoralla alustalla valolta ja vedolta suojatussa, mahdollisimman tasalämpöisessä paikassa. Laskeutusaika määräytyy jatkosylinterin korkeuden perusteella

(taulukko 1) ja on enimmillään 5 vrk. Liian pitkä laskeutusaika lisää ilmakuplien muodostumista sekä riskiä, että pohjalle vajonneet levät siirtyvät.

Taulukko 1. Suositukset näytteen minimilaskeutusajoiksi järvi- ja merinäytteille, joiden perustana ovat SFS (2006), HELCOM (2008) ja IOC (2010)*. SFS-EN 15204 standardi suosittelee laskeutusajaksi järvinäytteille 4 tuntia/cm.

Laskeutuskammion pohjalevyn ja jatkosylinterin yhteistilavuus (ml)	Jatkosylinterin korkeus (cm)	Laskeutusaika (h)	
		Järvinäyte	Merinäyte
2-3	0,5 - 1	3	3
5	1	6	5
10	2	8	8
25	5	16	16*
50	10	24	24
100	20	48	48

5 Laskenta

Kasviplanktonlaskenta voidaan suorittaa eri tavoin riippuen tutkimuksen tarkoituksesta ja vaadittavasta tulosten tarkkuudesta. Laskentamenetelminä erotetaan

- kvantitatiivinen menetelmä
- semikvantitatiivinen menetelmä
- kvalitatiivinen menetelmä
- vesilaitosten sinilevävalvonta

Kasviplanktonlaskennan tarkkuuden/tason määrittää työn tilaaja/tutkimuksen suunnittelija (esim. Suomen ympäristökeskus SYKE, HELCOM, Elinkeino-, liikenne- ja ympäristökeskus (ELY)).

Kvantitatiivisella menetelmällä saadaan tuloksena lajikoostumus, lajien yksilötiheydet ja biomassa. Semikvantitatiivisella menetelmällä saadaan arvio lajien suhteellisista runsauksista. Kvalitatiivinen menetelmä tuottaa ainoastaan lajilistan ilman tietoa lajien välisistä runsaussuhteista. Semikvantitatiivista ja kvalitatiivista menetelmää käytetään pääasiassa haavinäytteiden tutkimisessa. Kaikissa menetelmissä voidaan käyttää taustatietona α -klorofyllimittauksia, jotka ilmentävät näytteessä olevan kasviplanktonin määrää.

Näyte lasketaan laskeutuskammioista käänteismikroskoopilla käyttäen kahta tai kolmea suurennusta (SFS 2006, Olrik ym. 1998, HELCOM 2008). Havaitut laskentayksiköt lasketaan ja ne määritetään tasolle (laji, lajiryhmä, suku, laho, luokka), joka on mahdollista tai ennalta sovittu. Tämä tehdään suurennuksella, jolla lajituntomerkit ovat parhaiten nähtävissä ja jolla laskentayksiköiden määrä laskettavaa pinta-alaa (esim. näkökenttää) kohden on sopivin (taulukko 2). Epäselvässä tapauksessa on parempi määrittää taksoni suku- tai lahkotasolle kuin virheellisesti lajitasolle. Tunnistamattomat siimalliset leväsolut ja pienet yksittäiset solut lasketaan kokoluokittain ryhmiteltyinä.

Taulukko 2. Yleisesti käytettävät suurennukset.

Suurennus		Objektiiv	Okulaari	Laskettavat levät
suuri	≥400x	40x - 100x	10x - 12,5x	Pienet (<20 µm) solut sekä pienet yhdyskunnat ja rihmat.
keskisuuri	200x - 250x	20x	10x - 12,5x	Suurehkot (yleensä >20 µm) solut, yhdyskunnat ja 100 µm:n yksiköinä laskettavat rihmat.
pieni	100x - 150x	10x	10x - 12,5x	Harvalukuiset ja suurikokoiset lajit ja 100 µm:n yksiköinä laskettavat rihmat.

Laskentayksiköt

Laskentayksikkönä on yksittäinen solu, yhdyskunta tai 100 µm:n pituinen rihma. Useimmiten laskentayksikkönä on solu. Laskenta tehdään soluina myös yhdyskunnista aina kun se on mahdollista. Samalla lajilla voi olla samassa näytteessä useampia erilaisia laskentayksiköitä. Esimerkiksi monisolainen *Synura*-yhdyskunta ja irrallisena esiintyvä *Synura*-solu ovat kumpikin yksi yksikkö.

Yhdyskuntia laskettaessa on aina pyrittävä arvioimaan myös yhdyskunnassa olevien solujen lukumäärä, joka voi vaihdella suuresti. Muodoltaan vaihtelevat yhdyskunnat jaetaan pienempiin osa-alueisiin, joista lasketaan yhden osa-alueen solujen lukumäärä, joka kerrotaan osa-alueiden lukumäärällä.

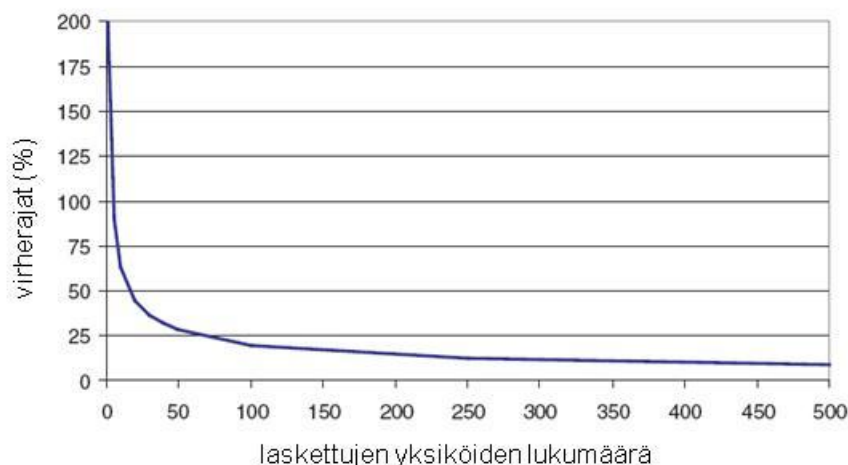
Esimerkkejä laskentayksiköistä

1. **Soluittain laskettavat.** Solut esiintyvät irrallaan tai ne muodostavat yhdyskuntia, joista yksittäiset solut on helppo laskea luotettavasti erikseen, esim. *Cryptomonas*, *Dinobryon* ja *Skeletonema*.
2. **Yhdyskunnittain laskettavat.** Yhdyskunnat, joiden solumäärä on suuri, esim. *Microcystis*, *Cyanodictyon* ja *Volvox*. Myös yhdyskuntia laskettaessa arvioidaan kokonaissolulukumäärä. Tämä tehdään laskemalla/arvioimalla esim. 10 tai 100 solun alue ja sen jälkeen arvioimalla, kuinka monta tällaista aluetta on koko yhdyskunnassa.
3. **Kenobioittain laskettavat.** Kenobia on yhdyskunta, jolla on ± pysyvä solumäärä, esim. *Coelastrum*, *Eudorina* ja *Scenedesmus*.
4. **100 µm:n pituisina rihmoina laskettavat**, esim. *Anabaena*, *Nodularia* ja muut rihmamaiset sinilevät.

5.1. Kvantitatiiviset menetelmät

Kvantitatiivisessa laskennassa tarkoituksena on saada kuva kasviplanktonin koostumuksesta ja biomassasta. Kvantitatiivinen laskenta voidaan tehdä eri tarkkuustasoilla. Ennen näytesarjan aloittamista laskennan haluttu tarkkuus on määriteltävä tutkimuksen tavoitteiden mukaisesti. Tässä ohjeessa esitellään tarkemmin laaja ja suppea menetelmä, joista laaja menetelmä on SYKEN edellyttämä seurantanäytteiden määrittelytapa. Laskentatulosta voidaan muuntaa biomassaksi käyttämällä lajikohtaisia keskitilavuuksia (luku 7).

Kvantitatiivisen laskennan tilastollinen luotettavuus perustuu oletukseen, että solut ovat jakautuneet satunnaisesti laskeutuskammion koko pohjan alueelle. Planktonsolujen osuminen lasketulle osa-alueelle noudattaa tällöin Poisson-jakaumaa. Kvantitatiivisella menetelmällä saadun laskentatuloksen teoreettiset virherajat määräytyvät lasketun solulukumäärän funktiona. Mitä suurempi osa näytteestä tutkitaan, sitä luotettavampia ovat tulokset (kuva 1, taulukko 3), mutta vastaavasti laskentaan käytettävä aika kasvaa. Virherajat voidaan laskea myös näytteestä laskettujen näkökenttien (tai kaistojen) välisistä todellisista vaihteluista, mikä on esitetty liitteessä 3.



Kuva 1. Virherajojen riippuvuus laskettujen yksiköiden lukumäärästä 95 % merkitsevyystasolla (muokattu IOC, 2010).

Taulukko 3. 95 % -virherajojen riippuvuus laskettujen yksiköiden lukumäärästä.

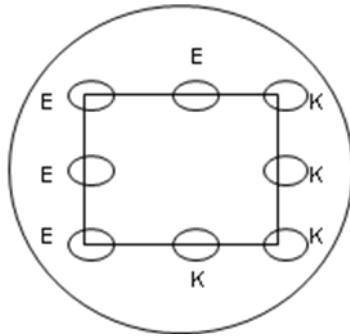
Laskettujen yksiköiden lukumäärä	Virherajat ± (%)	Virhe, jos laskentayksikköjen lukumäärä on 500 yksikköä/L
1	200	500 ± 1000
2	141	500 ± 705
5	89	500 ± 445
10	63	500 ± 315
20	45	500 ± 225
50	28	500 ± 140
100	20	500 ± 100
200	14	500 ± 70
400	10	500 ± 50
500	9	500 ± 45
1000	6	500 ± 30

Virherajat = $\pm(200/\sqrt{n})$, jossa n = laskettujen yksikköiden lukumäärä.

Ennen laskennan aloittamista tarkastellaan solutiheyttä ja solujen jakautumista laskeutuskammiossa. Jos näyte on liian harva tai liian tiheä, laskeutetaan uusi tilavuudeltaan suurempi tai pienempi näyte. Tarvittaessa voidaan eri laskentayksiköitä laskea eri tilavuuksista. Jos solut ovat epätasaisesti jakautuneet esimerkiksi pääosin laskeutuskammion toiselle puoliskolle, kammion keskelle tai reunoille tai kammiossa on ilmakuplia, näyte hylätään ja laskeutetaan uusi näyte. Näytteen jakautumisen testaus on esitetty SFS-EN 15204 standardin liitteessä F.

Näytteessä olevien solujen kokoa arvioitaessa käytetään okulaarimittaa, joka on kalibroitu objektiivimikrometrin avulla.

Laskenta-alueen reunalla olevat solut huomioidaan SFS-EN-15204 standardin (SFS 2006) mukaisesti (kuva 2).



Kuva 2. SFS-EN-15204 standardin suositus laskenta-alueen reuna-alueella olevien laskentayksiköiden laskentaan (SFS 2006). K = lasketaan, E = ei lasketa.

5.1.1 Laaja kvantitatiivinen menetelmä

Tätä laskentamenetelmää käytetään laskettaessa velvoitetarkkailu- ja VPD-seurantanäytteitä, jotka tallennetaan SYKEn ylläpitämään kasviplanktonrekisteriin. Itämeren HELCOM seurantanäytteiden mikroskopointi on ohjeistettu hyvin yhteneväisesti HELCOM 2008-ohjeessa. Kaikki SYKEssä analysoidut Itämeren rannikko- ja avomerinäytteet lasketaan HELCOM (2008) ohjeen mukaisesti riippumatta siitä raportoidaanko tuloksia HELCOM:lle.

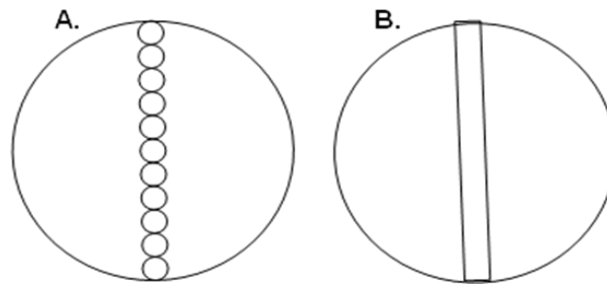
Laskenta tehdään käänteismikroskoopilla käyttäen yleensä kolmea suurennusta (taulukko 2). Laskennan voi aloittaa joko pienellä tai suurella suurennuksella. Merinäytteiden laskenta ohjeistetaan aloitettavaksi pienellä suurennuksella (IOC 2010).

Suurella (≥ 400 -kertaisella) suurennuksella määritetään ja lasketaan alle 20 μm :n kokoiset solut ja soluittain laskettavat yhdyskunnat 50-100 näkökentältä tai ruudukolta, jotka valitaan satunnaisesti laskeutuskammion pohjan alalta tai kaistoilta. Runsaana esiintyvän laskentayksikön laskenta voidaan lopettaa, kun kyseistä laskentayksikköä on laskettu 50 kappaletta vähintään 20 näkökentältä tai kun todelliset virherajat ovat $< 25\%$. Laskennan voi tällä suurennuksella lopettaa, kun on tutkittu vähintään 50 näkökenttää, ja soluja, rihmoja tai yhdyskuntia on laskettu vähintään 400 kappaletta tai kun todelliset virherajat ovat alle 40 % (liite 3).

Keskisuurella (200-250-kertaisella) suurennuksella lasketaan 20 μm suuremmat laskentayksiköt laskeutuskammion halkaisijoilta (kuva 3) tai satunnaisesti valituilta näkökentiltä/ruuduilta (mikroskoopin näkökentän laajuudesta riippuen), kunnes vähintään 50 näkökenttää on saavutettu. Halkaisijoilta tapahtuvassa laskennassa on suositeltavaa laskea vaaka- ja pystyhalkaisijat. Runsaana esiintyvän lajin laskenta voidaan lopettaa, kun kyseistä lajia on laskettu 50 solua, yhdyskuntaa, rihmaa tms. vähintään 20 näkökentältä tai kun yksilötiheyden todelliset virherajat ovat $< 25\%$ (liite 3). Keskisuuret laskentayksiköt muodostavat yleensä merkittävän osan kasviplanktonnäytteen kokonaisbiomassasta.

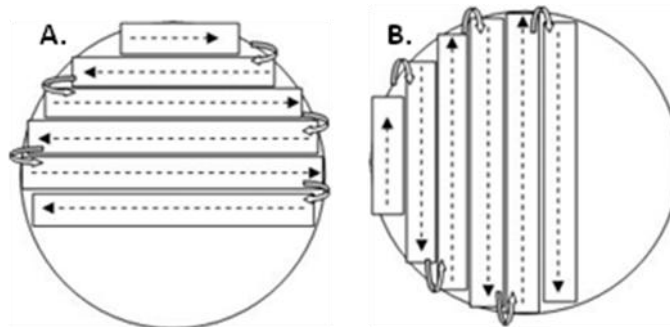
Laskennassa on huomioitava, että soluittain laskettavien yhdyskuntien ja 100 μm :n pätinä laskettavien rihmojen laskennan voi lopettaa vasta, kun yhdyskuntia tai kokonaisia rihmoja on

laskettu 50 kappaletta (esim. *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Asterionella*, *Aulacoseira* ja *Peridiniella catenata*).



Kuva 3. Laskeutuskammion kaistalta tapahtuvassa laskennassa levät voidaan laskea esim. näkökenttien helminauhalla (A) tai yhtenäiseltä kaistalta (B), jolloin näkökenttää siirretään "liu'uttamalla".

Pienellä (100-150-kertaisella) suurennuksella lasketaan koko tai puolen laskeutuskammion alueelta tai riittävältä määrältä kaistoja aikaisemmin havaitsemattomat suuret ja harvalukuiset (esim. *Ceratium*) laskentayksiköt (kuva 4). Näkökentässä osittain näkyvät laskentayksiköt huomioidaan vain kaistan toiselta reunalta, jotta niitä ei lasketa kahdesti.



Kuva 4. Koko laskeutuskammion pohjalta laskettaessa voidaan siirtyä kaistalta toiselle joko vaakasuoraan (A) tai pystysuoraan (B).

Suurikokoiset litoraalilajit, esim. *Nostoc*, *Surirella* ja *Mougeotia*, jätetään yleensä laskennassa huomioimatta. Litoraalilajit, pikoplankton, alkueläimet ja muu eläinplankton voidaan lisätä laskentalomakkeeseen kommenttina, jos ne esiintyvät näytteessä runsaina.

5.1.2 Suppea kvantitatiivinen menetelmä

Suppeaa kvantitatiivista menetelmää voidaan käyttää tarkkailun tai tutkimuksen tarpeiden mukaisesti sekä esimerkiksi vesilaitosten raakaveden tarkkailussa. Suppealla menetelmällä saadut tulokset eivät ole vertailukelpoisia laajan menetelmän tulosten kanssa ja siksi niitä ei voida käyttää vesiputedirektiivin vesien tilan luokittelussa.

Näyte tutkitaan yleensä kahta suurennusta käyttäen. Pienikokoiset laskentayksiköt lasketaan suurella suurennuksella vähintään 25 näkökentästä tai 30 ruudukosta, jotka valitaan satunnaisesti koko laskeutuskammion alalta tai halkaisijoilta. Keskiuurella (200-250-kertaisella) suurennuksella lasketaan samalla menetelmällä suuret ja aiemmin havaitsemattomat taksonit. Koko näytteestä lasketaan kuitenkin yhteensä vähintään 200 laskentayksikköä. Poikkeuksen voi muodostaa raakavesinäytteiden tarkkailu, jossa leviä ei välttämättä löydy näytteestä näin runsaasti.

5.2 Muut laskentamenetelmät

5.2.1 Semikvantitatiivinen menetelmä

Menetelmä soveltuu parhaiten laajoihin seurantatutkimuksiin ja edellyttää hyvää lajintuntemusta. Samasta vesistöstä pyritään käyttämään samaa näytteen laskeutustilavuutta tulosten vertailtavuuden helpottamiseksi. Aluksi näytettä tarkastellaan pienellä suurennuksella yleiskuvan saamiseksi. Kaikki havaitut taksonit määritetään tutkimussuunnitelmassa määritellylle tasolle ja niiden runsaus arvioidaan yhdellä tai useammalla suurennuksella (runsaus asteikolla 1-5). Koko näytteestä tehdään siis yksi lajilista. Vaihtoehtoisesti voidaan sopia, että arvioidaan vain valtalajien suhteellinen runsaus asteikolla 3-5 (taulukko 4). Hyvin oligotrofisissa vesissä voidaan listata esimerkiksi viisi runsainta lajia.

Taulukko 4. Semikvantitatiivisen menetelmän taksonien runsaus arvioituna asteikolla 1-5.

Asteikko	Runsauden kuvaus
1	yksittäinen (vain muutamia yksilöitä näytteessä)
2	vähän (useita yksilöitä näytteessä)
3	kohtalaisesti (suurennuksesta riippumatta yksilöitä lähes joka näkökentässä)
4	runsas (suurennuksesta riippumatta useita yksilöitä joka näkökentässä)
5	vallitseva (suurennuksesta riippumatta yksilöitä runsaasti joka näkökentässä)

5.2.2 Kvalitatiivinen määrittäminen

Näytteestä määritetään ekologisesti merkittävät tai mahdollisesti myrkylliset valtalajit (esim. massaesiintymän aiheuttaja) tai vedessä poikkeuksellisen ilmiön aiheuttanut eliö. Menetelmällä ei tuoteta täydellistä lajilistaa eikä tietoa lajien välisistä runsaussuhteista. Näyte tutkitaan joko objektilasilta tai laskeutuskammion tutkimus- tai käänteismikroskoopilla yhtä tai kahta suurennusta käyttäen.

5.2.3 Vesilaitosten sinilevävalvonta

Vesilaitosten raakaveden sinilevien lukumäärä tai biomassa määritetään Sosiaali- ja terveysalan lupa- ja valvontaviraston ohjeistuksen mukaan (Valvira 2010).

6 Laskentatulosten muunto tiheysarvoiksi

Mikroskopioimalla saatu laskentatulostu muutetaan kasviplanktonin tiheydeksi tilavuusyksikköä kohti sekä edelleen kokonaisbiomassaksi (luku 7). Laskentaohjelmat yleensä muuntavat laskentatulokset tiheys- ja biomassa-arvoiksi, kun tarvittavat syöttötiedot on tallennettu ohjelmaan.

Laskentayksiköitten tiheys (kpl l⁻¹) saadaan alla olevasta kaavasta,

$$\frac{\left(\frac{\text{lasketusammion pohjan pinta-ala (mm}^2\text{)}}{\text{laskenta-alueen pinta-ala (mm}^2\text{)}} \right) * \left(\frac{\text{laskettu yksilömäärä (kpl)}}{\text{laskenta-alueiden lukumäärä (kpl)}} \right) * 1000}{\text{laskettu näytetilavuus (ml)}}$$

jossa

laskenta-alueen pinta-ala = kyseisellä suurennuksella laskettu kokonaispinta-ala

7 Tulosten muunto biomassoiksi

7.1 Tilavuustaulukot

Yleisesti seurantanäytteille käytetään tilavuustaulukoita (esim. SYKE 2011, HELCOM), joissa laskentayksiköille (ja kokoluokille) on ilmoitettu mittauksiin ja yksinkertaisiin geometrisiin muotoihin perustuva keskimääräinen biotilavuus. Koska kasviplanktonisolujen koko voi vaihdella paljon, on monille laskentayksiköille annettu useita kokoluokkia. Mikäli tilavuustaulukosta puuttuu sopiva kokoluokka, luodaan mittausten perusteella uusi kokoluokka. Laskettaessa Itämeren rannikko ja avomerinäytteitä on käytettävä HELCOM PEG-ryhmän ylläpitämää laji- ja tilavuustaulukkoa (<http://www.ices.dk/env/repfor/index.asp>). Käytettävästä laji- ja tilavuustaulukosta on sovittava erikseen, mikäli näytteet on otettu esimerkiksi jokisuiston tai suljetun sisälahden tapaisesta erityisympäristöstä, jonka analysointiin HELCOM PEG-ryhmän ylläpitämä laji- ja tilavuustaulukko ei sovellu.

7.2 Mittaukset

Laskentayksiköiden biotilavuuksista saadaan yleensä tarkempia, jos lajit mitataan laskennan yhteydessä ja biotilavuus lasketaan suositeltujen geometrinen kaavojen (esim. Tikkanen & Willén 1992, Olenina ym. 2006) mukaan. Tämä on aikaavievää, etenkin jos näytteestä mitataan suuri määrä soluja, rihmoja tai yhdyskuntia. On myös huomioitava, että keskitilavuudet pitää laskea solujen, rihmojen tai yhdyskuntien tilavuuksista – ei mittojen keskiarvoista. Solujen kokoa mitattaessa käytetään okulaarissa olevaa mittajanaa, joka on kalibroitu objektiivimikrometrin avulla.

Näytteen säilöntä voi muuttaa leväsolun kokoa (Zarauz & Irigoien 2008). Tätä varten olisi hyvä varsinkin tutkimuksissa mitata valtalajien koko myös elävästä näytteestä. Käytännön syistä tämä ei ole yleensä mahdollista seurantanäytteissä.

Laskentayksiköiden biotilavuudet voidaan muuntaa tuorebiomassoiksi kertomalla ko. laskentayksiköiden tilavuudet luvun 6 kaavan antamilla yksilötiheyksillä. Biomassamuunnos perustuu oletukseen, että kasviplanktonisolujen tiheys vastaa veden tiheyttä, jolloin 1 mm³ = 1 mg. Näytteen kokonaisbiomassa saadaan laskemalla yhteen kaikkien laskentayksiköiden biomassat.

7.3 Hiilisisältö

Kasviplanktonin hiilibiomassoja tarvitaan mm. ravintoverkkotutkimuksiin sekä järven hiilibudjetin tai orgaanisen aineksen kierron laskemiseen. Muuntokertoimiin liittyy monia epävarmuustekijöitä. SYKEN ja HELCOMin kasviplanktonlaskentatulosten hiilisisällöksi muuntamisessa käytetään kaavoja, jotka esitetään julkaisussa Menden-Deuer & Lessard (2000) sekä http://www.helcom.fi/groups/monas/CombineManual/AnnexesC/en_GB/annex6/.

$$\text{Hiilisisältö [pg C solu}^{-1}\text{]} = 0.216 \times V^{0.939},$$

jossa V = biotilavuus [μm^3].

Piileville on erillinen laskentayhtälö, koska soluilla on pienempi hiilipitoisuus:

$$\text{Hiilisisältö [pg C solu}^{-1}\text{]} = 0.288 \times V^{0.811}$$

Tutkimusten perusteella (Sicko-Goad ym. 1977, Lundgren 1978, Ahlgren 1983, Olrik ym. 1998) hiilibiomassojen arvioimiseen voidaan käyttää myös seuraavia kaavoja:

- Sinilevät C = B x 0.22
- Panssarilliset dinoflagellaatit C = B x 0.13
- Piilevät C =
B x 0.11
- Viherlevät C = B x 0.16
- Kaikki muut kasviplanktonryhmät C = B x 0.11,

jossa,

C = kasviplanktonin hiilibiomassa ($\mu\text{g C l}^{-1}$)

B = kasviplanktonin tuorebiomassa ($\mu\text{g l}^{-1}$)

8 Laadunvarmistus

Kasviplanktonlaskenta edellyttää hyvää lajintuntemusta, yhtenäisten ja hyväksytyjen menetelmien käyttöä sekä kykyä arvioida tulosten oikeellisuutta. Lajintuntemusta ja siihen liittyvää taksonomista tietoutta tulee ylläpitää ja tämä tulee osoittaa koulutuksen ja vertailumääritysten avulla. Tulosten vertailtavuuden ja tulkittavuuden parantamiseksi suositellaan, että samaan seuranta- tai tutkimushankkeeseen kuuluvien havaintopaikkojen näytesarjat lasketaan samalla menetelmällä ja laskennan suorittaisi sama henkilö.

Määrittäjällä tulee olla käytettävissä ajanmukainen määrityskirjallisuus. Keskeinen määrityskirjallisuus on listattuna liitteessä 4 sekä Suomen kasviplanktonseuran kotisivuilla (<http://www.kasviplanktonseura.fi/>). Lajistoa on myös hyvä dokumentoida piirustuksina, valokuvina ja/tai video-otoksina. Epävarmoissa määritystilanteissa suositellaan varmennuksen pyytämistä toisilta asiantuntijoilta. Suomen kasviplanktonseuralla on käytössä seuran jäsenille sähköpostiosoite: uutiset@kasviplanktonseura.fi.

Kasviplanktonlaskentaa koskevaa laadunvarmistusta on käsitelty julkaisussa "Kasviplanktonanalyysin laadunvarmistus" (Lepistö ym. 2009). Laskentamenetelmän luotettavuutta selventävät standardin (SFS 2006) ohella mm. Lund ym. (1958) ja Rott ym. (2007).

9 Raportointi

Tilaaajan kanssa tehdyn sopimuksen mukaan tuloksiin voidaan liittää asiantuntijalausunto/raportti, jossa on tiedot näytteenotto- ja laskentamenetelmistä, ml. tiedot laadunvarmistuksesta sekä laskijan yhteystiedot.

10 Kirjallisuus – menetelmät ja laskenta

Ahlgren, G. 1983. Comparison of methods for estimation of phytoplankton carbon. Arch. Hydrobiol. 98: 489-508.

Blomqvist, P. & Herlitz, E. 1998. Methods for quantitative assessment of phytoplankton in freshwaters. Part 2. Naturvårdsverket, rapport 4861, Stockholm.

CEN 2006. Draft proposal of "Phytoplankton biovolume determination using inverted microscopy (Utermöhl technique). CEN TC 230/WG 2/TG 3. CEN, Brussels. 35 s.

European Commission 2000. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. Official Journal of the European Communities L 327: 1-72. (22.12.2000)

European Commission 2008. Directive Euroopan Parlamentin ja Neuvoston direktiivi 2008/56/EY, annettu 17 päivänä kesäkuuta 2008, yhteisön meriympäristöpolitiikan puitteista (meristrategiadirektiivi) (ETA:n kannalta merkityksellinen teksti). *Virallinen lehti nro L 164, 25/06/2008, s. 0019 - 0040*

HELCOM 2008. Guidelines concerning phytoplankton species composition, abundance and biomass. HELCOM Monas Combine Manual, Part C, Annex 6. (päivitetty 08.01.2008). (http://www.helcom.fi/groups/monas/CombineManual/AnnexesC/en_GB/annex6/).

IOC 2010. Intergovernmental Oceanographic Commission of © UNESCO. 2010. Karlson, B., Cusack, C., Bresnan, E. (eds.). Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis. IOC Manuals and guides, no. 55. 110 s. Paris, UNESCO. <http://unesdoc.unesco.org/images/0018/001878/187824e.pdf>

Kettunen, I., Mäkelä, I. & Heinonen, P. 2008. Vesistötietoa näytteenottajille. <http://www.ymparisto.fi/default.asp?contentid=340460&lan=fi>

Lepistö, L. 2004. Vesien tilan arvioinnissa käytettävät biologiset tutkimukset - 2.2 Kasviplankton. Julkaisussa M. Ruoppa ja P. Heinonen (toim.), Suomessa käytetyt biologiset vesitutkimusmenetelmät. Suomen ympäristö 682.

Lepistö, L., Vuorio, K., Holopainen, A.-L., Huttunen, M., Jokipii, R. & Niemelä, M. 2006. Kasviplanktonin tutkimusmenetelmät. Vesitalous 1: 16-21.

Lepistö, L., Vuorio, K., Holopainen, A.-L., Palomäki, A., Järvinen, M. & Huttunen, M. 2009. Kasviplanktonanalyysin laadunvarmistus. Suomen ympäristö 40. 31 s.

Leppänen, J.-M., Rantajarvi, E., Hällfors, S., Kruskopf, M. & Laine, V. 1995. Unattended monitoring of potentially toxic phytoplankton species in the Baltic Sea. Journal of Plankton Research 17: 891-902.

Lund, J.W.G., Kipling, C. & Le Cren, E.D. 1958. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. Hydrobiologia 11: 143-170.

Lundgren, A. 1978. Experimental lake fertilization in the Kuokkel area, northern Sweden: Changes in sestonic carbon and the role of phytoplankton. Verh. Internat. Verein. Limnol. 20: 863-868.

Mäkelä A. ym. 1992. Vesitutkimusten näytteenottomenetelmät. Vesi- ja ympäristöhallinnon julkaisuja sarja B. VAPK-kustannus, Helsinki.

Olenina, I., Hajdu, S., Andersson, A., Edler, L., Wasmund, N., Busch, S., Göbel, J., Gromisz, S., Huseby, S., Huttunen, M., Jaanus, A., Kokkonen, P., Ledaine, I. & Niemkiewicz, E. 2006. Biovolumes and size-classes of phytoplankton in the Baltic Sea. Baltic Sea Environment Proceedings No.106, 144 s. (<http://www.helcom.fi/stc/files/Publications/Proceedings/bsep106.pdf>)

Olrik, K., Blomqvist, P., Brettum, P., Cronberg, G. & Eloranta, P. 1998. Methods for quantitative assessment of phytoplankton in freshwaters. Part 1. Naturvårdsverket, Stockholm, 86 s.

Rocha, O. & Duncan, A. 1985. The relationships between cell carbon and cell volume in freshwater algal species used in zooplanktonic studies. Journal of Plankton Research 7: 279-294.

Rott, E., Salmaso, N. & Hoehn, E. 2007. Quality control of Utermöhl-based phytoplankton counting and biovolume estimates - an easy task or a Gordian knot? Hydrobiologia 578:141-146 (DOI 10.1007/s10750-006-0440-5)

Ruoppa, M. & Heinonen, P. (toim.) 2004. Suomessa käytetyt biologiset vesitutkimusmenetelmät. Suomen Ympäristö 682.

SFS (Suomen standardoimisliitto) 2006. SFS-EN 15204, Water quality – Guidance standard on the enumeration of phytoplankton using inverted microscopy (Utermöhl technique). 42 s. (6 liitettä)

SFS (Suomen standardoimisliitto) 2010. SFS-KÄSIKIRJA 147-1. Veden laatu. Osa 1: Näytteenottomenetelmät.

Sicko-Goad, L., Stoermer, E.F. & Ladewski, B.G. 1977. A morphometric method for correcting phytoplankton cell volume estimates. Protoplasma 93: 147-163.

SYKE 2011. Kasviplanktonrekisterin lajitiedot. <http://www.helcom.fi/stc/files/Publications/Proceedings/bsep106.pdf> [Huom! Tietoja päivitetään parhaillaan; kotisivuilla vielä vanhat tiedostot]

SYKE 2011. Kasviplanktonin laskentamenetelmät. <http://www.ymparisto.fi/default.asp?node=12871&lan=fi>

Tikkanen, T. 1986. Kasviplanktonopas. Suomen Luonnonsuojelun Tuki Oy. 278 s.

Tikkanen, T. & Willén, T. 1992. Växtplanktonflora. Natursvårdverket. 280 s.

Utermöhl, H. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. Mitteilungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie 9: 1-39.

Valvira 2010. Toksisten syanobakteerien valvonta ja toimenpiteet talousvettä toimittavilla laitoksilla. Sosiaali- ja terveysalan lupa- ja valvontavirasto Valvira, Ohje 14.06.2010, Dnro 3804/11.02.02.01/2010. 5 s. http://www.valvira.fi/files/Ohje_toksisten%20syanobakteerien%20valvonta.pdf

Vuori, K.-M., Hellsten, S., Järvinen, M., Kangas, P., Karjalainen, S.M., Kauppila, P., Meissner, K., Mykrä, H., Olin, M., Rask, M., Rissanen, J., Ruuhijärvi, J., Sutela, T. & Vehanen, T. 2008. Vesienhoitoalueiden biologisten seurantojen järjestäminen ja määritysten hankinta - Työryhmän ehdotukset seurantaohjelman uudistamista varten. Suomen ympäristökeskuksen raportteja 35/2008, SYKEra35/2008,74 s. (SYKE)URN:ISBN: 978-952-11-3322-0. ISBN: 978-952-11-3322-0 (PDF)

Vuori, K.-M., Mitikka, S. & Vuoristo, H. (toim.) 2009. Pintavesien ekologisen tilan luokittelu. Osa I: Vertailuolot ja luokan määrittäminen, Osa II: Ihmistoiminnan ympäristövaikutusten arviointi. Ympäristöhallinnon ohjeita 3. 120 s.

Zarauz, L. & Irigoien, X. 2008. Effects of Lugol's fixation on the size structure of natural nano-microplankton samples, analyzed by means of an automatic counting method. *Journal of Plankton Research* 30(11): 1297-1303.

11 Liitteet

Liite 1 Lugol-liuos

a) Hapan Lugol-liuos

200 ml tislattua tai deionisoitua vettä
 20 g kaliumjodidia (KI)
 10 g jodia (I₂)
 20 ml jäätikkahappoa (conc. CH₃COOH)

b) Neutraali Lugol-liuos

200 ml tislattua tai deionisoitua vettä
 20 g kaliumjodidia (KI)
 10 g jodia (I₂)

c) Emäksinen Lugol-liuos

200 ml tislattua tai deionisoitua vettä
 20 g kaliumjodidia (KI)
 10 g jodia (I₂)
 20 ml natriumasetaattia (conc. CH₃COO-Na)

(Willén 1962, CEN 2006, IOC 2010)

Hapan Lugol-liuos säilöö hyvin siimalliset solut, mutta se ei sovellu kalkkirakenteita sisältävien levien pitkäaikaiseen säilytykseen, sillä se liuottaa niitä (IOC 2010). Neutraalia Lugol-liuosta suositellaan käytettäväksi, kun tutkimuksen kohteena ovat esimerkiksi pansarisiimalevät ja tunnistuksessa tarvitaan myöhemmin epifluoresenssimikroskopiaa. Epifluoresenssin intensiteettiin vaikuttaa pH ja happamassa liuoksessa fluoresenssi on heikkoa tai puuttuu (IOC 2010). Lugol-käyttöliuosta ei suositella säilytettäväksi yli yhtä vuotta.

Liite 2 Mikroskooppilaitteisto

Tärkeimmät mikroskoopin kuvan laatuun vaikuttavat tekijät ovat objektiivit, kondensori ja valaistus. Standardin SFS-EN-15204 (SFS 2006) mukaiset mikroskoopin perusvaatimukset on esitetty taulukossa 1.

Taulukko 1. Kasviplanktonlaskennassa käytettävän mikroskoopin laitesuositukset (SFS-EN 15204 (SFS 2006), Annex A).

Ominaisuus	Suositus	Kommentit
Valaistus	50-100 W	
Kondensorin NA	>0,5	
Objektiivit	10x ja/tai 20x (faasi)	Suuret solut, yhdyskunnat ja rihmat
	20x NA >0,5	Suurehkot ja keskikokoiset levät
	40x faasi ja 60x tai 100x Plan Apo (öljy) NA >0,9	Pienikokoiset levät
Okulaarit	10x tai 12,5x	

Objektiivin numeerinen aperttuuri (NA) vaikuttaa siihen, kuinka suuri erotuskyky objektiivilla on. Mitä suurempi on NA, sitä pienempiä yksityiskohtia objektiivilla voidaan erottaa. Kondensorin NA vaikuttaa samalla tavalla kuvan tarkkuuteen. Mitä suurempi on NA, sitä tarkempi on kuva. Käytännössä kasviplanktonmikroskopoinnissa, jossa käytetään laskeutuskammiota, kondensorin NA ei voi olla >0,6, sillä muuten kondensorin etäisyys objektiivista on vain ~11 mm. Käytettäessä objektiivia, jonka NA on suuri (usein >0,9) tulee, objektiivista riippuen, käyttää väliainetta objektiivin ja kyvetin välissä. Yleisin väliaine on öljy. Öljyn käytön etuna on, että sillä on suurempi taitekerroin kuin ilmalla ja tätä kautta se vaikuttaa suurentavasti erotuskykyyn. Lisätietoa mikroskopiasta löytyy mm. internetistä (esim. <http://micro.magnet.fsu.edu/primer/index.html>).

Kuvan laatuun vaikuttaa myös objektiivin linssien rakenne. Laadukkaimmissa Plan Apo linseissä vääristymät on korjattu. Optisena järjestelmänä käytetään normaalisti faasikontrastia (vaihevastakohtamikroskopia) tai kirkaskenttää. Faasikontrastimenetelmällä lisätään kontrastia, mikä helpottaa hentojen solurakenteiden näkymistä, mutta pienten yksityiskohtien erotuskyky ei ole välttämättä suuri. Kirkaskenttää käytettäessä kontrastia on huomattavasti vähemmän, mutta toisaalta suuri NA objektiivissa ja kondensorissa mahdollistaa hyvän (jopa 0,3 µm) erotuskyvyn.

Suosittelava okulaarin suurennus on 10- tai 12,5-kertainen. Tätä isommat okulaarin suurennukset eivät paranna kuvan tarkkuutta vaikka itse kuva suurenee. Solujen mittausta varten okulaarissa tulee olla kalibroitu mittajana. Okulaarissa voi olla lisäksi hiusristikko tai ruudukko laskenta-alueen rajausta varten.

Liite 3 Virherajojen laskenta todellisesta vaihtelusta

Näkökenttien välinen vaihtelu oletetaan yleensä vakioksi (luku 5), jota se ei useinkaan ole. Laskentayksiköiden tiheyksien ja kokonaisbiomassan (huomioimatta yksilöbiomassan vaihtelua) virherajat voidaan laskea näytteestä laskettujen näkökenttien (tai kaistojen) välisistä vaihteluista. Virherajojen laskemiseen käytetään tällöin kaavaa:

$$\pm t_{(0,05,n-1)} * s / \sqrt{n},$$

jossa n = laskettujen näkökenttien tai kaistojen tms. lukumäärä näytteessä, s = näkökenttien välinen keskihajonta ja 0,05= Studentin t-jakaumasta poimittu raja-arvo merkitsevyytasolla 0,05, kun vapausasteiden (laskettujen näkökenttien, kaistojen tms.) määrä on n.

Liite 4 Suositeltava määrittelykirjallisuus ja verkkosivut

Suomen järvien ja rannikkovesien kasviplanktonin peruslajisto on kuvattu Toini Tikkanen määrittelysoppaassa Kasviplanktonopas (Tikkanen 1986), joka on julkaistu hieman uudistettuna versiona ruotsiksi (Tikkanen & Willen 1992). Vaikka nämä loppuunmyydyt teokset, jotka muodostavat myös kasviplanktonin nettioppaan (www.jyu.fi/bio/kasviplankton/uusin/index.php) perustan, ovat tärkeitä määrittäjän

yleisteoksia, ne eivät ole riittävän kattavia käytettäväksi ainoina määritysoppina kasviplanktonin määrittämisessä. Alla on esitetty kattavampi lista ajanmukaisesta määrityskirjallisuudesta.

Coesel, P.F.M. & Meesters, K.J. 2007. Desmids of the Lowlands, Mesotaeniaceae and Desmidiaceae of the European Lowlands. KNNV, Zeist. 351 s.

Cronberg, G. & Annadotter, H. 2006. Manual on aquatic cyanobacteria, a photo guide and synopsis of their toxicology. ISSHA, Copenhagen. 106 s.

Ciugulea, I. & Triemer, T.E. 2010. A color atlas of photosynthetic euglenoids. Michigan State University Press. 204 s.

Ettl, H. 1978. Xanthophyceae 1. Teil. Teoksessa: Ettl H., Gerloff J., Heynig H. (toim.). Süßwasserflora von Mitteleuropa Band 3. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York. 530 s.

Ettl, H. 1983. Chlorophyta 1. Teil: Phytomonadina. Teoksessa: Ettl H., Gärtner G., Heynig H., Mollenhauer D. (toim.). Süßwasserflora von Mitteleuropa Band 9. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York. 807 s.

Ettl, H. & Gärtner, G. 1988. Chlorophyta 2. Teil: Tetrasporales, Chlorococcales, Gloeodendrales. Teoksessa: Ettl H., Gärtner G., Heynig H., Mollenhauer D. (toim.). Süßwasserflora von Mitteleuropa Band 10. Gustav Fischer Verlag, Jena. 436 s.

Hindák, F. 1977. Studies on the chlorococcal algae (Chlorophyceae). I. *Biol. Práce.*, XXIII/4, 190 s.

Hindák, F. 1980. Studies on the chlorococcal algae (Chlorophyceae). II. *Biol. Práce.*, XXVI/6, 196 s.

Hindák, F. 1984. Studies on the chlorococcal algae (Chlorophyceae). III. *Biol. Práce.*, XXX/1, 310 s.

Hindák, F. 1988. Studies on the chlorococcal algae (Chlorophyceae). IV. *Biol. Práce.*, XXXIV/1-2, 264 s.

Hindák, F. 1990. Studies on the chlorococcal algae (Chlorophyceae). V. *Biol. Práce.*, XXXVI/4, 192 s.

Hindák, František 2008. Colour Atlas of Cyanophytes. Veda. Bratislava. 253 s.

Hoppenrath, M., Elbrächter, M. & Drebes, G. 2009: Marine phytoplankton. Selected microphytoplankton species from the North Sea around Helgoland and Sylt. - Kleine Senckenberg - Reihe 49, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele u. Obermiller) Stuttgart. 264 s.

Houk, V. & Klee, R. 2010. Atlas of freshwater centric diatoms with a brief key and descriptions. Part II. Melosiraceae and Aulacoseiraceae (Supplement to Part I). *Fottea* 7, Number 2.

John, D.M. & Williamson, D.B. 2009. A practical guide to the Desmids of the West of Ireland. MRI. 196 s.

Joosten, A.M.T 2006. Flora of the blue-green algae of the Netherlands, I The non filamentous species of inland waters. KNNV Publishing, Utrecht. 239 s.

Kadlubowska, J. 1984. Teil: Chlorophyta VIII Zygnemales. Teoksessa: Ettl, H., Gerloff, J., Heynig, H. & Mollenhauer D. (toim.). Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band 16. Stuttgart, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York. 532 s.

Komárek, J. & Anagnostidis, K. 1999. Cyanoprokaryota, 1. Teil: Chroococcales. Teoksessa: Ettl H., Gärtner G., Heynig H. & Mollenhauer D. (toim.). Süßwasserflora von Mitteleuropa Band 19. Gustav Fischer Verlag, Jena. 548 s.

Komárek, J. & Anagnostidis, K. 2007. Cyanoprokaryota, 2. Teil: Oscillatoriales. Teoksessa: Büdel B., Krieniz, L., Gärtner, G. & Schlager, M. (toim.) Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band. 19. Elsevier, München. 759 s.

Komárek J. & Fott B. 1983 Chlorophyceae (Grünalgen), Ordnung Chlorococcales. In: Huber-Pestalozzi G. (Ed.): Das Phytoplankton des Süßwassers, Die Binnengewässer 16, 7/1: 1-1044, Schweizerbart Verlag, Stuttgart 1983.

Komárek, J. & Zapomelová, E. 2008 Planktic morphospecies of the cyanobacterial genus *Anabaena* = subg. *Dolichospermum* - 1. part: coiled types. - *Fottea* 7(1): 1–31.

Komárek, J. & Zapomelová, E. 2008: Planktic morphospecies of the cyanobacterial genus *Anabaena* = subg. *Dolichospermum* - 2. part: straight types. - *Fottea* 8(1): 1–14.

Krammer, K. & Lange-Bertalot, H. 1986. Bacillariophyceae. 1. Teil: Naviculaceae. Teoksessa: Ettl, H., Gerloff, J., Heynig, H. & Mollenhauer D. (toim.). Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band 2. Stuttgart, Gustav Fischer Verlag, Jena. 876 s.

Krammer, K. & Lange-Bertalot, H. 1988. Bacillariophyceae. 2. Teil: Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae. Teoksessa: Ettl, H., Gerloff J., Heynig, H. & Mollenhauer, D. (toim.). Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band 2. Stuttgart, Gustav Fischer Verlag, Jena. 596 s.

Krammer, K. & Lange-Bertalot, H. 1991. Bacillariophyceae. 3. Teil: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. Teoksessa: Ettl, H., Gerloff, J., Heynig, H. & Mollenhauer, D. (toim.), Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band 2. Stuttgart, Gustav Fischer Verlag, Jena. 576 s.

Krammer, K. & Lange-Bertalot, H. 1991. Bacillariophyceae. 4. Teil: Achnantheaceae. Kritische Ergänzungen zu *Navicula* (Lineolatae) und *Gomphonema*. Teoksessa: Ettl, H., Gärtner, G., Gerloff, J., Heynig, H. & Mollenhauer, D. (toim.), Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band 2. Stuttgart, Gustav Fischer Verlag, Jena. 437 s.

Krammer, K. & Lange-Bertalot, H. 1991. Bacillariophyceae. 5. Teil. Teoksessa: Ettl, H., Gärtner, G., Krienitz, K. & Lokhorst G.M. (toim.), Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band 2. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin. 311 s.

Kristiansen, J. & Preisig, H. 2007. Chrysophyte and Haptophyte Algae. Synurophyceae Teil 2 / Part 2. Teoksessa: Büdel, B., Gärtner, G., Krienitz, L., Preisig, H.-R., Schagerl, M. (toim.) Süßwasserflora von Mitteleuropa, Bd. 01/2 Freshwater Flora of Central Europe, Vol. 01/2: Spektrum Akademischer Verlag, 252 S.

Lange-Bertalot H., Metzeltin D. 1996. Indicators of Oligotrophy. 800 taxa representative of three ecologically distinct lake types. Carbonate buffered - Oligodystrophic - Weakly buffered soft water Iconographia Diatomologica: Annotated Diatom Micrographs, Volume 02: Ecology-Diversity-Taxonomy. 2428 figures on 125 plates. 390 s.

Lepistö, L., Cronberg, G., Tikkanen, T. 1996. Records of some algal species. Nordic Phytoplankton Workshop 7.-10.6. 1994. The Finnish Environment 20. 34 s.

Lind, E.M. & Brook, A.J. 1980. Desmids of the English Lake District. Freshwater Biological Association, Scientific Publication no. 42. 123 s.

Mrozinska, T. 1985. Chlorophyta, 4. Teil: Oedogoniophyceae: Oedogoniales. Julk.: Ettl H., Gärtner G., Heynig H., Mollenhauer D. (toim.). Süßwasserflora von Mitteleuropa Band 14. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York. 624 s.

Popovsky J. & Pfiester, L.A. 1990. Dinophyceae (Dinoflagellida). Teoksessa: Ettl H., Gerloff, J., Heynig, H. & Mollenhauer, D. (toim.). Süßwasserflora von Mitteleuropa Band 6. Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart. 272s. [Huom! Panssarileväsystematiikka on muuttumassa; uusi versio Moestrup ym. tekeillä]

Rieth, Alfred 1980. Xanthophyceae, 2. Teil. Teoksessa: Ettl, H., Gärtner G. & Heynig, H. (toim.). Süßwasserflora von Mitteleuropa Band 4. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York. 147 s.

Ruzicka, J. 1977. Die Desmidiaceen Mitteleuropas. Band 1, Lief. 1. - E.Schweizerbart, Stuttgart.

Ruzicka, J. 1981. Die Desmidiaceen Mitteleuropas. Band 1, Lief. 2. - E.Schweizerbart, Stuttgart.

Starmach, K. 1985. Chrysophyceae und Haptophyceae. Teoksessa: Ettl H., Gerloff J., Heynig H., Mollenhauser D. (toim.). Süßwasserflora von Mitteleuropa Band 1. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York. 515 s.

Teiling, E. 1967. The desmid genus *Staurodesmus*. A taxonomic study. Arkiv för Botanik, serie 2, band 6, no 11. Kungliga Svenska Vetenskapakademien.

Thomsen, H.A. (ed.), Plankton I de indre danske farvande. Analyse af forekomsten af alger og heterotrofe protister (ekskl. ciliater) i Kattegat,. Havforskning fra Miljøstyrelsen 11: 1-331.

Thronsen, J., Hasle, G. R. & Tangen, K. 2007. Phytoplankton of Norwegian coastal waters. - Almater Forlag AS, Oslo, 343 s.

Tikkanen, T. 1986. Kasviplanktonopas. Suomen Luonnonsuojeluliiton tuki Oy. Helsinki.

Tikkanen, T. & Willén, T. 1992. Växtplanktonflora. Natursvårdverket. 280 s.

Tomas, C.R. (ed.) 1997: Identifying marine phytoplankton. – Academic press, Harcourt Brace & Company, San Diego, New York etc. 858 s.

Wołowski, K. & Hindák, F. 2005. Atlas of Euglenophytes. Veda. 136 s.

Verkkosivuja:

AlgaeBase <http://www.algaebase.org/>

Integrated Taxonomic Information System <http://www.itis.gov/>

Nettiopas www.jyu.fi/bio/kasviplankton/uusin/index.php

Nordic MicroAlgae <http://nordicmicroalgae.org/>

Lisää linkkejä kasviplanktonin lajintunnistusta, systematiikkaa ja taksonomiaa käsitteleviin verkkosivuihin on esitetty Suomen kasviplanktonseuran kotisivuilla (<http://www.kasviplanktonseura.fi/>).