



プランクトンのマニュアル

# Uputstvo za monitoring fito- i zooplanktona



Satoshi Ichise, Ph.D. u oblasti inženjerstva  
Prefekturalni centar za istraživanje životne sredine na jezeru Biwa  
(LBERI, Lake Biwa Environmental Research Institute)

# NILIM (državno ministarstvo MLIT)

## V deo – Istraživanje zoo- i fitoplanktona

Za istraživanje zoo- i fitoplanktona - National Institute for Land and Infrastructure Management (pri Ministarstvu zemlje, infrastrukture, transporta i turizma - MLIT)

[www.nilim.go.jp](http://www.nilim.go.jp) › [mizukokudam](#) › [system](#) › [download](#) PDF

Fiksiranje Lugolovim rastvorom, u odn. na fiksiranje formalinom izaziva manje pucanja, deformacija i skupljanja bičara i trepljara. Međutim, ovaj rastvor „pokriva” svojom bojom i pigmente predmetnih planktona, što bi izazivalo teškoću prilikom njihovog identifikovanja.

Postoji i metoda fiksiranja pomoću formalina ili glutaraldehida.

日本国土交通省の  
マニュアル

2

[動植物プランクトン 調査編 - 国土交通省 国土技術政策総合 ...](#)  
[www.nilim.go.jp](http://www.nilim.go.jp) › [mizukokudam](#) › [system](#) › [download](#)

# Uzorkovanje planktona (državni pravilnik)

## Uzimanje vode na terenu (detalji)

		FITOPLANKTON	ZOOPLANKTON
Metoda		ネットを使用しない	Uzimanje vode 定量的にネットを使用
Lokacije		Kontrolne, pomoćne tačke itd. (realizuje se pri istraživanju kvaliteta vode)	
Dubina uzimanja uzorka		Površinska voda (dubina 0,5m)	Na dubini 3x transparentnosti do 20m, po istim razmacima (npr. po 5m ) uzimaju se uzorci sa 5 nivoa
Način uzimanja vode	Oprema	Van Dorn uzorkivač	Šindler-Patalas uzorkivač, Van Dorn uzorkivač ili pumpa
	Količina uzorka	2L	Ukupno 50 - 100 L (sa svakog od 5 slojeva se uzima ista količina, od 10 do 20L), nakon filtriranja se sjedinjuje i stvara se jedan uzorak
	Napomena		Nakon uzimanja vode, filtriranje se vrši pomoću mreže NXXX25 (cca. 40 μm). Precizno se meri količina filtrirane vode radi merenja gustine.
Posuda za uzorak		Polietilenska boca (cca. 2L sa širokim grlom)	Polietilenska boca (cca. 500ml)
Fiksiranje na terenu		Neutralnim formalinom, Lugolovim rastvorom kiselinskim ili neutralnim (Dodaje se odgovarajuća količina da bude koncentracija od cca. 1%).	Neutralnim formalinom (koncentracije cca. 1%, preporučuje se ušećerani formalin) ili alkoholom (na terenu se preliminarno fiksira neindustrijskim etil alkoholom do cca. 70%, a kasnije, u laboratoriji se, pomoću bezvodnog alkohola, oko 3 puta obavljaju premutacije pre skladištenja).

主に中性のホルマリンを使用

[www.nilim.go.jp](http://www.nilim.go.jp) > [mizukokudam](#) > [system](#) > [download](#)

# Metoda laboratorijske analize pomoću mikroskopa (državni pravilnik)

## Detalji laboratorijske analize

		FITOPLANKTON		ZOOPLANKTON
Tretman uzorka		Koncentrisanje taloženjem	Taloženje sedimentacijskom komoricom	Koncentrisanje taloženjem
Identifikovanje i brojanje	Mikroskop	Upravni (Biološki)	Invertni	Biološki Invertni Stereo
	Uvećanje	cca. 200x - 400x	cca. 200x - 400x	cca. 50x - 100x
	Broj jedinki	po 1L	po 1L	po 1m <sup>3</sup>
Nivo preporuke		B	A	A

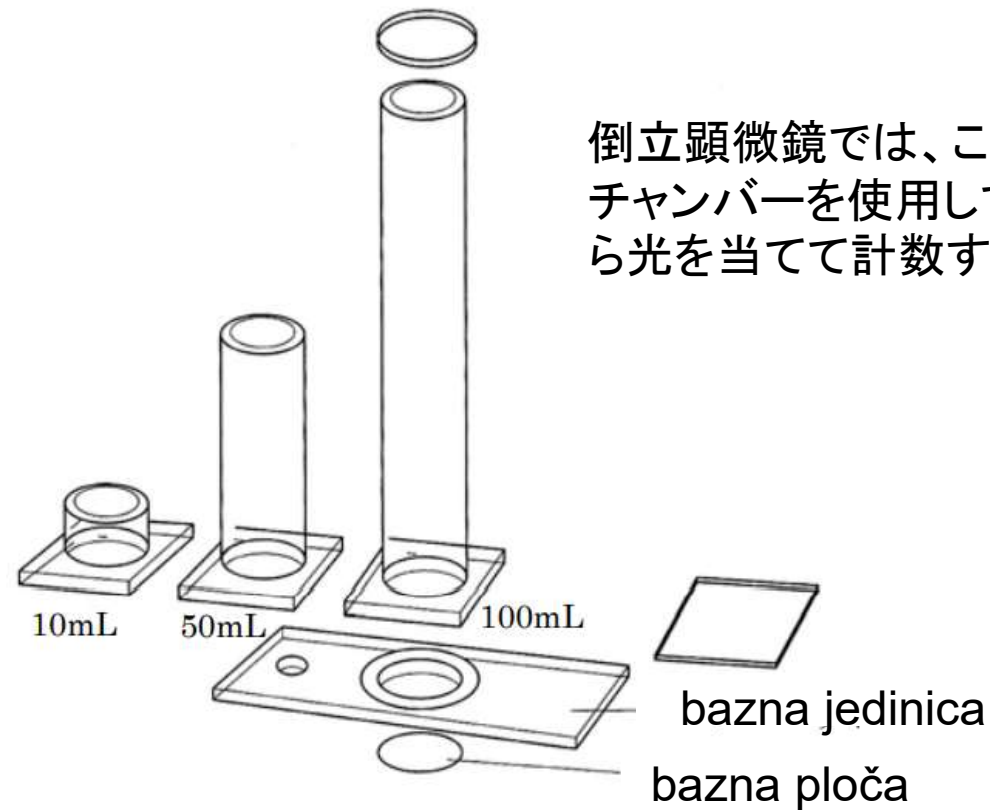
(Legenda) A: Preporučuje se B: Može se upotrebiti C: Ne upotrebljava se

生物顕微鏡

倒立顕微鏡

生物・倒立・実体

# Sedimentacijska komorica – dodatak za invertni mikroskop (državni pravilnik)



倒立顕微鏡では、このセディメント  
チャンバーを使用して濃縮し、下から  
光を当てて計数する。

## Jedinica sedimentacijske komorice

出典：竹内均監修（2003）「地球環境計測辞典 第2巻陸域編②」フジ・テクノシステム

[動植物プランクトン 調査編 - 国土交通省 国土技術政策総合 ...  
www.nilim.go.jp > mizukokudam > system > download](http://www.nilim.go.jp/mizukokudam/system/download)

# Rezultati brojanja zooplanktona (dokumentacija državne ustanove)

## 動物プランクトン計数結果の一例 Rezultati brojanja zooplanktona

				DATUM UZORKOVANJA								
				9-VIII-2017.		2-VIII-2018.		13-XI-2018.				
KLASA	RED	PORODICA	種名	総虫数	干島虫数	総虫数	干島虫数	総虫数	干島虫数			
			NAZIV VRSTE	Pkt. A	Pkt. B	Pkt. A	Pkt. B	Pkt. A	Pkt. B			
Lobosea	Arcellinida	Arcellidae	<i>Arcella discoides</i>	3	1	5						
			<i>Arcella vulgaris</i>			5						
			Diffugiidae	<i>Diffugia acuminata</i>					10			
				<i>Diffugia lobostoma</i>		55				20		
			Centropyxidae	<i>Centropyxis aculeata</i>				1				
				Hymenostomatida						60		
			Oligohymenophorea	Hymenostomatida	Codonellidae	<i>Codonella cratera</i>	5		10			
						Ciliophora				10		
			(razdeo Ciliophora)	Ploima	Brachionidae	<i>Anuraeopsis fissa</i>	90	10	135		40	
						<i>Brachionus angularis</i>	15		75		50	
Monogononta			<i>Brachionus calyciflorus f.amphiceros</i>		20		310		4			
			<i>Brachionus calyciflorus f.dorcas</i>	9								
			<i>Brachionus forficula</i>	135		70		10				
			<i>Brachionus quadridentatus</i>	1								
			<i>Keratella cochlearis f.cochlearis</i>			10		610	100			
			<i>Keratella cochlearis f.micracantha</i>					20				
			<i>Keratella cochlearis f.tecta</i>	2		5		20	40			
			<i>Keratella valga</i>		10	80	10	30	80			
			Lepadellidae	<i>Colurella uncinata</i>				15				
				<i>Lepadella sp.</i>	5			1				
			Lecanidae	<i>Monostyla bulla</i>	2	5	25					
				<i>Monostyla clostercerca</i>	30	25	5	10				
				<i>Monostyla lunaris</i>					20			
			Notommatidae	Notommatidae	<i>Notommatidae</i>						40	
					<i>Diurella similis</i>	3		10	30	50		
			Trichocercidae			<i>Trichocerca cylindrica</i>		1	10		50	80
						<i>Trichocerca sp.</i>			5		10	
						<i>Polyarthra vulgaris</i>	10	55	15		790	200
<i>Asplanchna priodonta</i>						2	10	9	4			
<i>Hexarthra mira</i>		25				90	30					
Flosculariaceae		Testudinellidae	<i>Filinia longiseta</i>				10	80	20			
			<i>Pompholyx oplanata</i>				130					
			<i>Conochiloides sp.</i>			5						
			Collothecidae			20		40				
			Philodinidae			10						
			Calanoida (copepodite)					1	5	14		
Bdelloidea	Bdelloida	Seisonidae	<i>Thermocyclops crassus</i>						2			
			<i>Thermocyclops taihokuensis</i>					2				
Maxillopoda	Calanoida	Cyclopidae	<i>Cyclopoida (copepodite)</i>	14	40	19	20	30	8			
			<i>Copepoda (nauplius)</i>	100	125	305	320	70	60			
			<i>Diachanosoma brachyurum</i>			5		38		2		
Branchiopoda	Cladocera	Sididae	<i>Ceriodaphnia sp.</i>		3	1			120			
			<i>Scapholeberis kingi</i>	2	4		2					
			<i>Bosmina longirostris</i>			1		440	540			
			<i>Bosmina sp.</i>		1							
Σ ukupan broj jedinki				426	385	935	933	2384	1394			
Σ broj prisutnih vrsta				16	16	27	15	20	18			
Σ sedimentacija (ml/L)				0	0	0.04	0.40	0.05	0.23			

jedinica: br. jedinki / L

カ類体系は、「利川水辺の国勢調査のための生物リスト(平成24年度版)」に従った。

# Monitoring planktona na jez. Biva (pref. Šiga)

1. Metoda uzorkovanja
2. Metoda obrade
3. Brojanje zoo- i fitoplanktona
4. Način skladištenja

1. 採水方法
2. 前処理方法
3. 動・植物プランクトンの計数
4. 保存方法



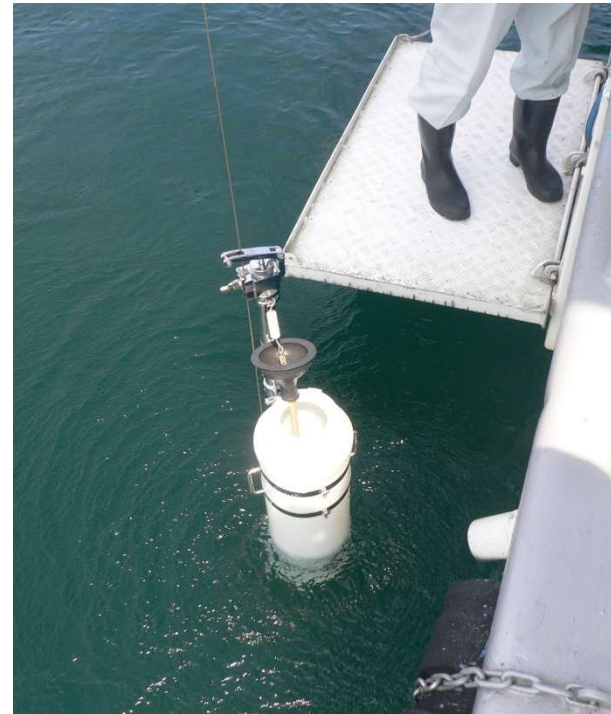
# 1. Metoda uzorkovanja (pref. Šiga)

- Uzimanje vode kofom  
→ Koncentrisanje planktonskom mrežom

## 1. 採水方法(滋賀県)



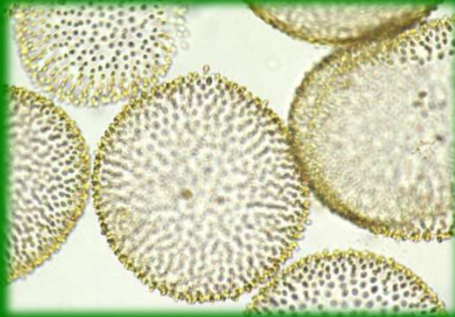
- Uzimanje vode Van Dorn uzorkivačem  
→ Koncentrisanje utvrđenom metodom obrade





Ne vrši se obrada fitoplanktona. Na jezeru Biva je mnoštvo vrsta fitoplanktona koje se mogu identifikovati samo preko živih uzoraka.

びわこで固定できない種類が多い。



## 2. Metoda obrade (pref. Šiga)

▪ Ne vrši se obrada fitoplanktona. Na isti dan kada je uzorkovan, realizuje se brojanje fitoplanktona komoricom-pločom.

▪ Za koncentrisanje zoo- i fitoplanktona, potrebni su:

- Menzura (1L, 100ml)
- Aspirator
- Epruveta za centrifugu (10ml)
- Formalin (nerazređen, rastvor 10%)
- Rastvor glutaraldehyda kao fiksativ: (微生物の生態3:学会出版センターより)

glutaraldehyd 25%...500ml  
formalin 37%...5ml  
kalcijum hlorid...12,5g

- 植物プランクトンは前処理を実施せず、そのまま採水しプランクトン計数版で計数作業を実施する。
- 動・植物プランクトンのこの固定液にて固定する。

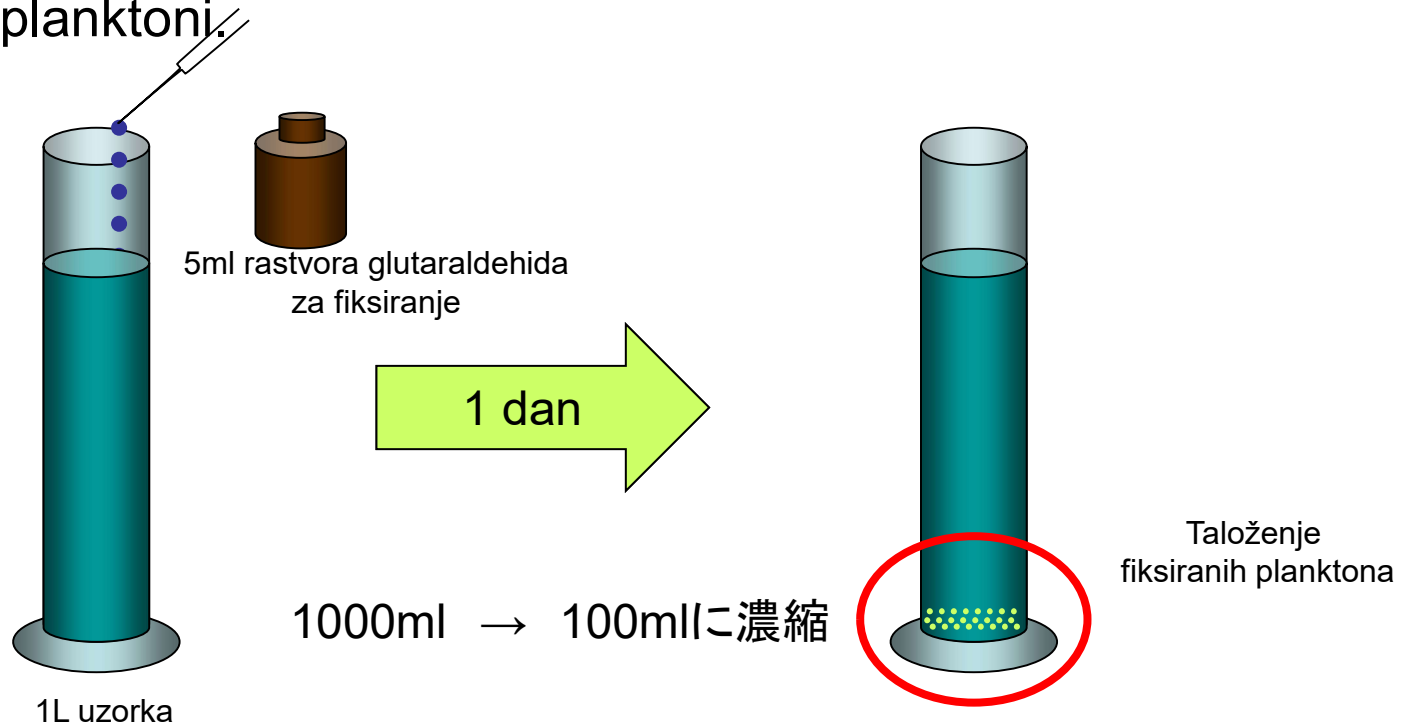


## 2. Metoda obrade (pref. Šiga)

### Postupci

1. Menzura se prethodno ispere destilovanom vodom. U menzuru se pretače 1.000 ml uzorka i dodaje se 5ml rastvora glutaraldehida za fiksiranje.

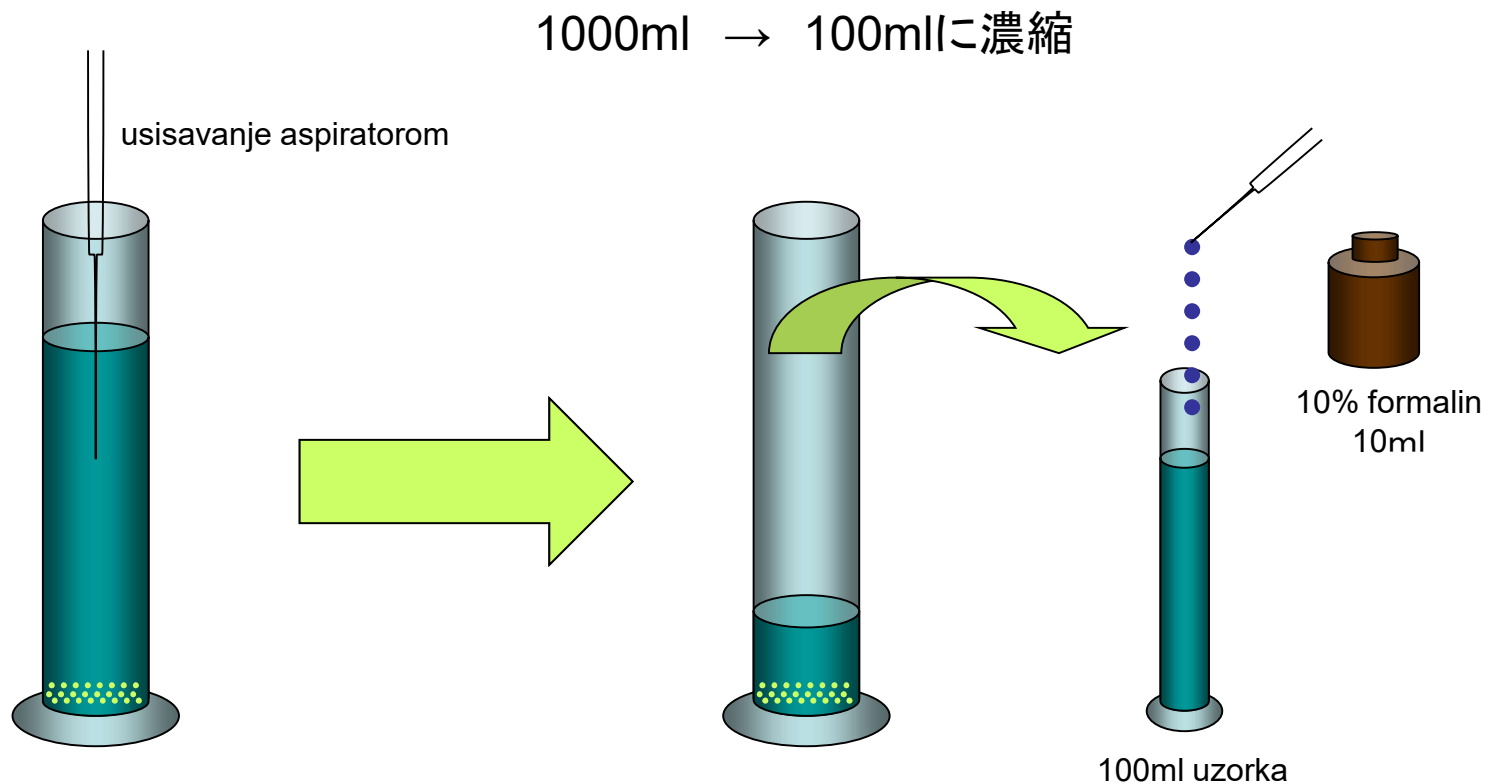
Menzura se pokrpa, ostavlja se da odstoji jedan dan dok se ne stalože planktoni.



## 2. Metoda obrade (pref. Šiga)

### Postupci

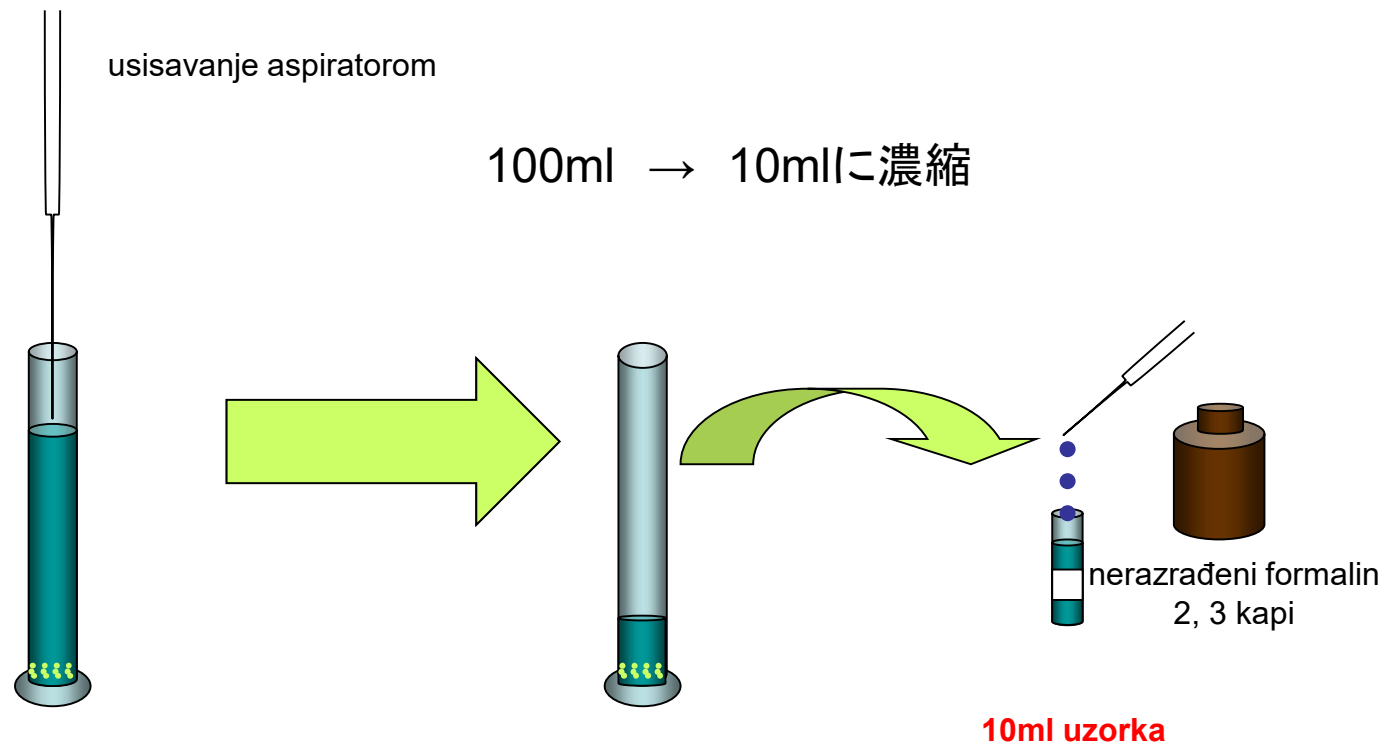
2. Višak tečnosti se odstranjuje pomoću aspiratora. Sediment od planktona se pretače u menzuru od 100ml. Dodaje se 10ml 10% formalina. Dodaje se destilovana voda dok uzorak ne dođe na 100ml.



## 2. Metoda obrade (pref. Šiga)

### Postupci

- Ista procedura kao kod postupka 1 da bi se formirao sediment; On se pretače u epruvetu za centrifugu (10ml). Dodaju se 2, 3 kapi nerazrađenog formalina, potom se dodaje destilovana voda dok uzorak ne dođe na 10ml.



### 3. Brojanje zoo- i fitoplanktona (pref. Šiga)

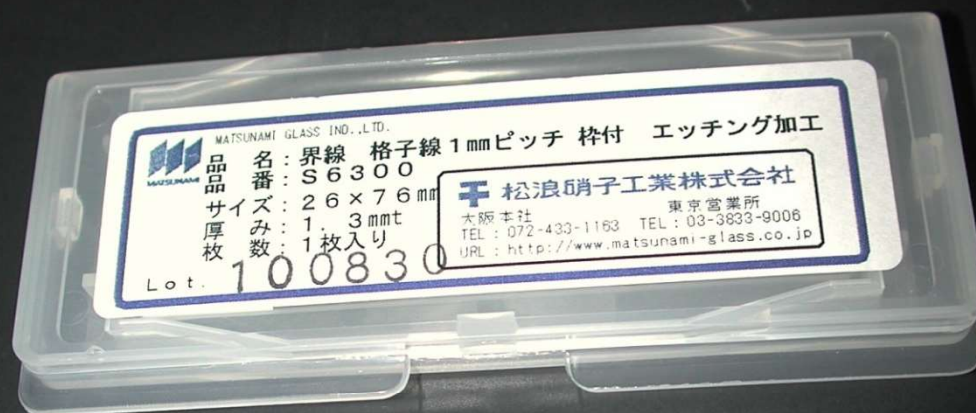
#### Priprema preparata

Pipetom se uzima 1ml dobro pomešanog uzorka. Površina komorice-ploče se ispira destilovanom vodom neposredno pre brojanja. Staviti uzorak na komoricu-ploču.



Nošenje ili hodanje sa komoricom-pločom izazvalo bi skupljanje planktona u uzorku ka sredini ploče. Stoga se stavlja uzorak na ploču unapred postavljenu na biološki mikroskop.





琵琶湖で使用している  
エッチング加工した  
新しいプランクトン計数板

*20 kvadratića*

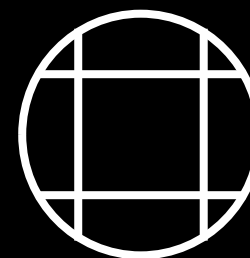


*50 kvadratića*

- Ploča (komorica) za precizno brojanje planktona sa bakropisno urezanim zarezima (Matsunami - glass)

Proizvod firme  
„Matsunami-glass”

*ukupno 1.000  
kvadratića*



*200x*

### 3. Brojanje zooplanktona (pref. Šiga)

#### Mikroskopska opservacija i brojanje

Upotrebljava se biološki mikroskop.

大きさに別に2段階に分けて  
計数している。

Brojiti samo planktone krupnije od  $150\mu\text{m}$  dužine.

Uvećanjem od 40x do 100x izbrojati sve jedinice koje se nalaze u svim kvadratićima na komorici-ploči.

【definicija krupnog planktona】

Vrsta koja se može identifikovati objektivom sa uvećanjem 4x.

Npr. trepljar krupnog tipa, rotatorije, zglavkar dužine jedinki dužih od cca.  $150\mu\text{m}$ .



Trepljar: *Strobilidium.sp*



Rotatorije: *Polyarthra vulgaris*



Zglavkar: *Eodiaptomus japonicus*

# 3. Brojanje planktona (pref. Šiga)

## Mikroskopska opservacija

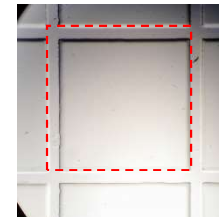
150 $\mu$ m以下の小型の動物プランクトンの計数方法

Vrši se opservacija biološkim mikroskopom.

Prebrojati planktone koji se nalaze na 100 kvadratića, koristeći uvećanje od 200x do 400x. Desetostruki broj od ishoda toga smatra se brojem u 1ml. S obzirom na nejednaku distribuciju planktona na komorici-ploči, odabira se 100 kvadratića na cik-cak (prikaz dole).



Potrebno je unapred odrediti način brojanja planktona koji se nalaze preko/na liniji granice kvadratića. Npr. računaju se planktoni koji su na gornjoj i levoj graničnoj liniji, itd.



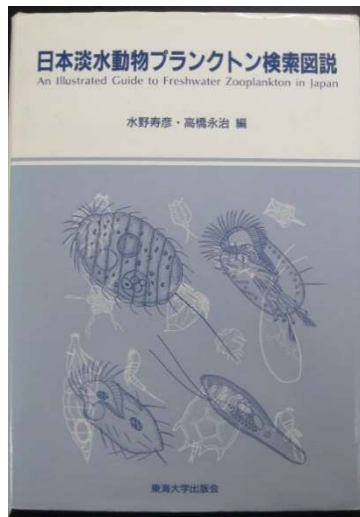
# 3. Brojanje zoo- i fitoplanktona (pref. Šiga)

## IDENTIFIKOVANJE

琵琶湖で同定検索に使用している主な参考図書

Knjige sa ilustracijama kao pomoćni materijal za identifikovanje i pretraživanje

日本淡水動物プランクトン検索図説 水野寿彦 高橋永治 東海大学出版会 1991年  
・植物: 日本淡水藻類図鑑 廣瀬弘幸 内田老鶴圃社 1977年





# Brojiti ćelije po vrstama fitoplanktona

プランクトスフェリア



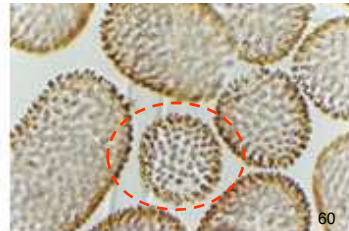
*Planktosphaeria* sp.

スズキケイソウモドキ



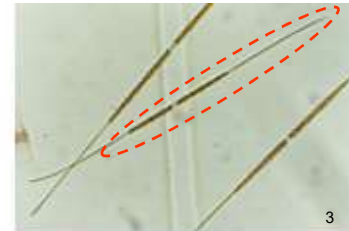
*Stephanodiscus pseudosuzukii*

ウログレナ



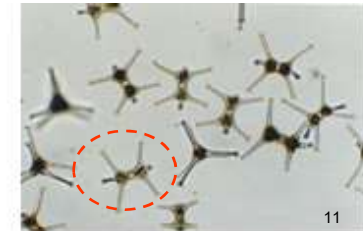
*Uroglena americana*

クロステリウム

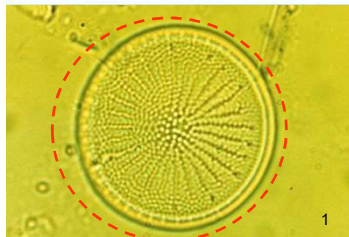


*Closterium aciculare*

スタウラスツルム・  
ドルシデンティフェルム



*Staurastrum dorsidentiferum*



スズキケイソウ

*Stephanodiscus suzukii*



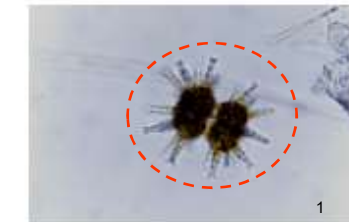
ギムノジニウム

*Gymnodinium helveticum*



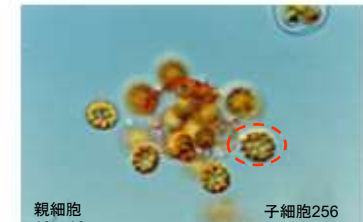
オビケイソウ

*Fragilaria crotonensis*



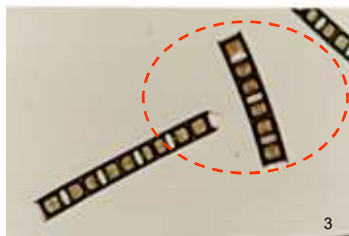
スタウラスツルム・  
アークティスコン

*Staurastrum arctiscon*



コエラスツルム

*Coelastrum cambricum*



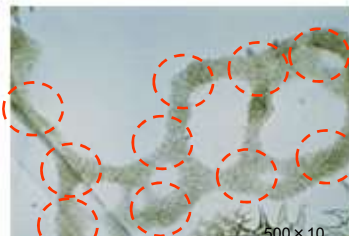
アウラコセイラ・ニッポニカ

*Aulacoseira nipponica*



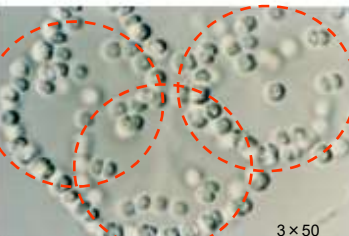
ケラチウム

*Ceratium hirundinella*



アフアノテーケ

*Aphanothece clathrata*



ゴンフォスフェリア

*Gomphosphaeria lacustris*



コスモクラディウム

*Cosmocladium constrictum*





# Tabelarni prikaz zapremine ćelija po vrstama

na jez. Biva – 634 vrste

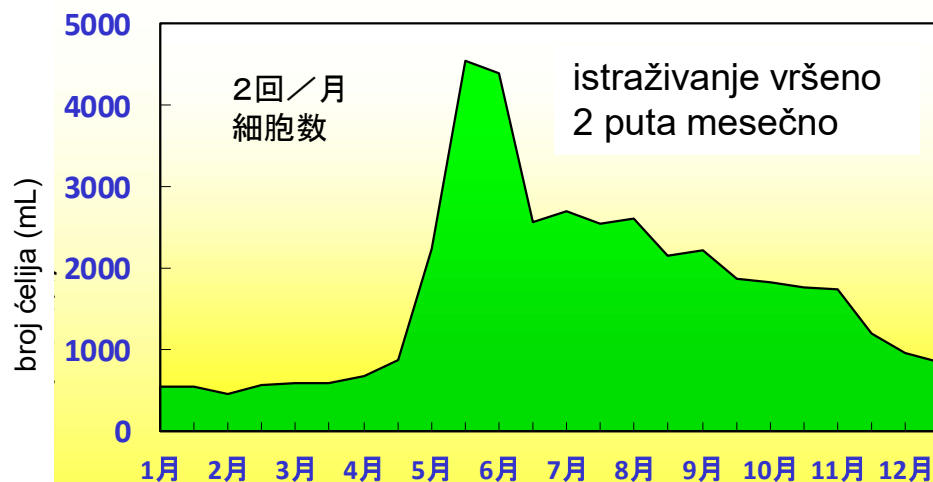
琵琶湖のデータベース一覧

Tabela: vrste cijanofita na jez. Biva, prosečna zapremina ćelije i pros. zavr. mase

No.	綱コード code	種名 species	prosek zavr.ćelije volume( $\mu\text{m}^3$ )	pr. zavr. mase volume( $\mu\text{m}^3$ )	pr. broj ćelija cells	tip type
1	Cyano	<i>Microcystis aeruginosa</i>	65	32,500	500	sphere
2	Cyano	<i>Microcystis wesenbergii</i>	110	22,000	200	sphere
3	Cyano	<i>Microcystis incerta</i>	10	5,000	500	sphere
4	Cyano	<i>Microcystis viridis</i>	90	18,000	200	sphere
5	Cyano	<i>Microcystis flos-aquae</i>	90	18,000	200	sphere
6	Cyano	<i>Microcystis novacekii</i>	100	20,000	200	sphere
7	Cyano	<i>Microcystis ichthyoblabe</i>	50	50,000	1,000	sphere
8	Cyano	<i>Microcystis</i> sp.	100	20,000	200	sphere
9	Cyano	<i>Aphanocapsa elachista</i>	8	4,000	500	sphere
10	Cyano	<i>Aphanocapsa elachista</i> var. <i>conferta</i>	8	4,000	500	sphere
11	Cyano	<i>Aphanocapsa</i> sp.	4	800	200	sphere
12	Cyano	<i>Aphanothece clathrata</i>	1	500	500	ellipsoid
13	Cyano	<i>Aphanothece nidulans</i>	2	200	100	ellipsoid
14	Cyano	<i>Aphanothece saxicola</i>	10	1,000	100	ellipsoid
15	Cyano	<i>Aphanothece</i> sp.	2	400	200	ellipsoid
16	Cyano	<i>Dactylococcopsis</i> sp.	40	320	8	spindle
17	Cyano	<i>Chroococcus dispersus</i>	19	950	50	ellipsoid
18	Cyano	<i>Chroococcus dispersus</i> var. <i>minor</i>	3	300	100	ellipsoid
19	Cyano	<i>Chroococcus minutus</i>	8	32	4	ellipsoid
20	Cyano	<i>Chroococcus limneticus</i>	380	1,520	4	ellipsoid
21	Cyano	<i>Chroococcus</i> sp.	70	280	4	ellipsoid
22	Cyano	<i>Gloeocapsa</i> sp.	60	480	8	sphere
23	Cyano	<i>Gloeothece</i> sp.	20	160	8	ellipsoid
24	Cyano	<i>Rhabdoderma lineare</i>	20	400	20	sphere
25	Cyano	<i>Rhabdoderma</i> sp.	8	400	50	sphere
26	Cyano	<i>Merismopedia tenuissima</i>	2	100	50	ellipsoid

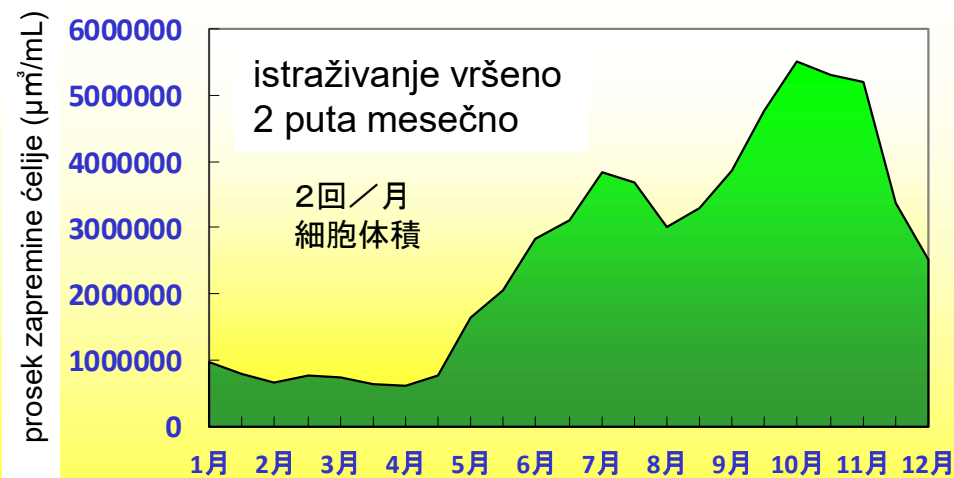
634 vrste fitoplanktona je registrovano u bazi podataka sa informacijama o životnoj sredini našeg centra. Omogućeno je njihovo dodavanje, brisanje i izmena. Na takav način sistem je uveden da bi se prikazivalo trenutno stanje u vezi sa brojem planktona i ukupnom zapreminom ćelija.

## Mesečna promena ukupnog broja ćelija



Mesečna promena proseka ukupnog broja ćelija (sever jez.1978 – 2005.)

## Mesečna promena ukupne zapremine ćelija

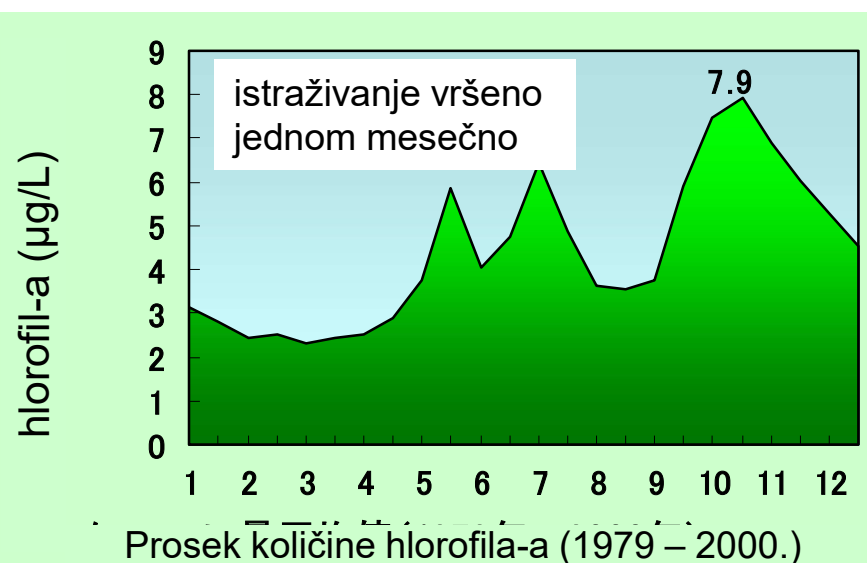


Mesečna promena proseka ukupne zapremine ćelija (sever jez.1978 – 2005.)

クロロフィルa量→

**Tendencija kretanja uk. zapremine ćelija se najviše podudara sa rezultatima fiz.-hemijske analize (hlorofila-a).**

## Mesečna promena količine hlorofila-a



# 4. Način skladištenja (pref. Šiga)

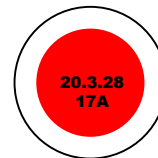
## Način skladištenja

1. Uzorci zooplanktona za brojanje se pretaču u bočicu za skladištenje. Da ne bi ostao uzorak u epruveti za centrifugu, ispira se 2, 3 puta 10% formalinom. Nakon ispiranja, ova tečnost se takođe pretače u bočicu. Dodaje se potrebna količina 10% formalina i bočica se dobro zatvara i poklapa se. Bočice se čuvaju na rafovima podeljene prema mesecu uzorkovanja. Na poklopcu se (uljanim) markerom beleže lokacija i datum uzorkovanja.

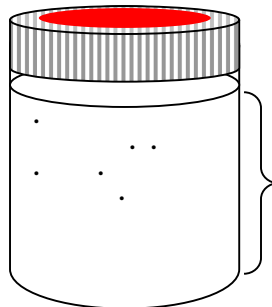
### 保存方法

- ①ホルマリン液(10%)で固定し永久保存する。

Upisati lokaciju i datum uzorkovanja uljanim markerom.



Dosipati 10% formalina da bi zapremina bila cca. 10 ml.



# 4. Način skladištenja (pref. Šiga)

## Način skladištenja

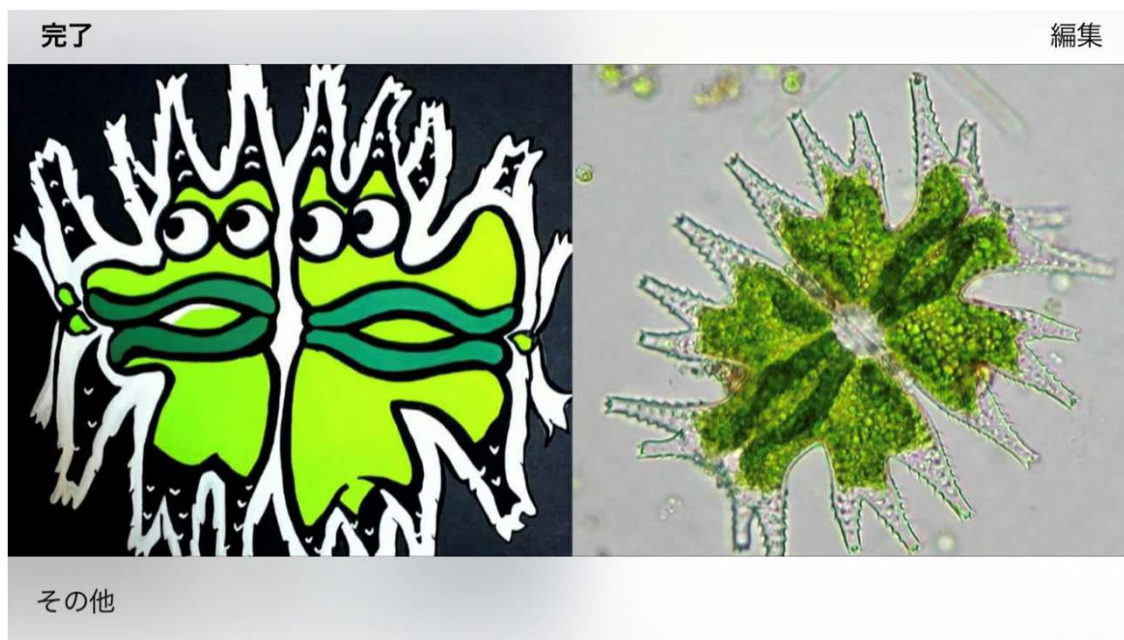
計数した残りのサンプルは  
すべて永久保存している。

2. Ukoliko se dugoročno čuvaju uzorci u formalinu, potrebno je voditi računa o dizanju koncentracije formalina usled isparavanja (rastvaranjem organskih supstanci poteklih od planktona smanjuje se pH vrednost tečnosti u bočici). Treba stoga redovno proveravati stanje uzoraka, a dodati 10% formalina po potrebi. Pri tome je obavezno nositi belo odelo, rukavice, zaštitne naočare i masku.



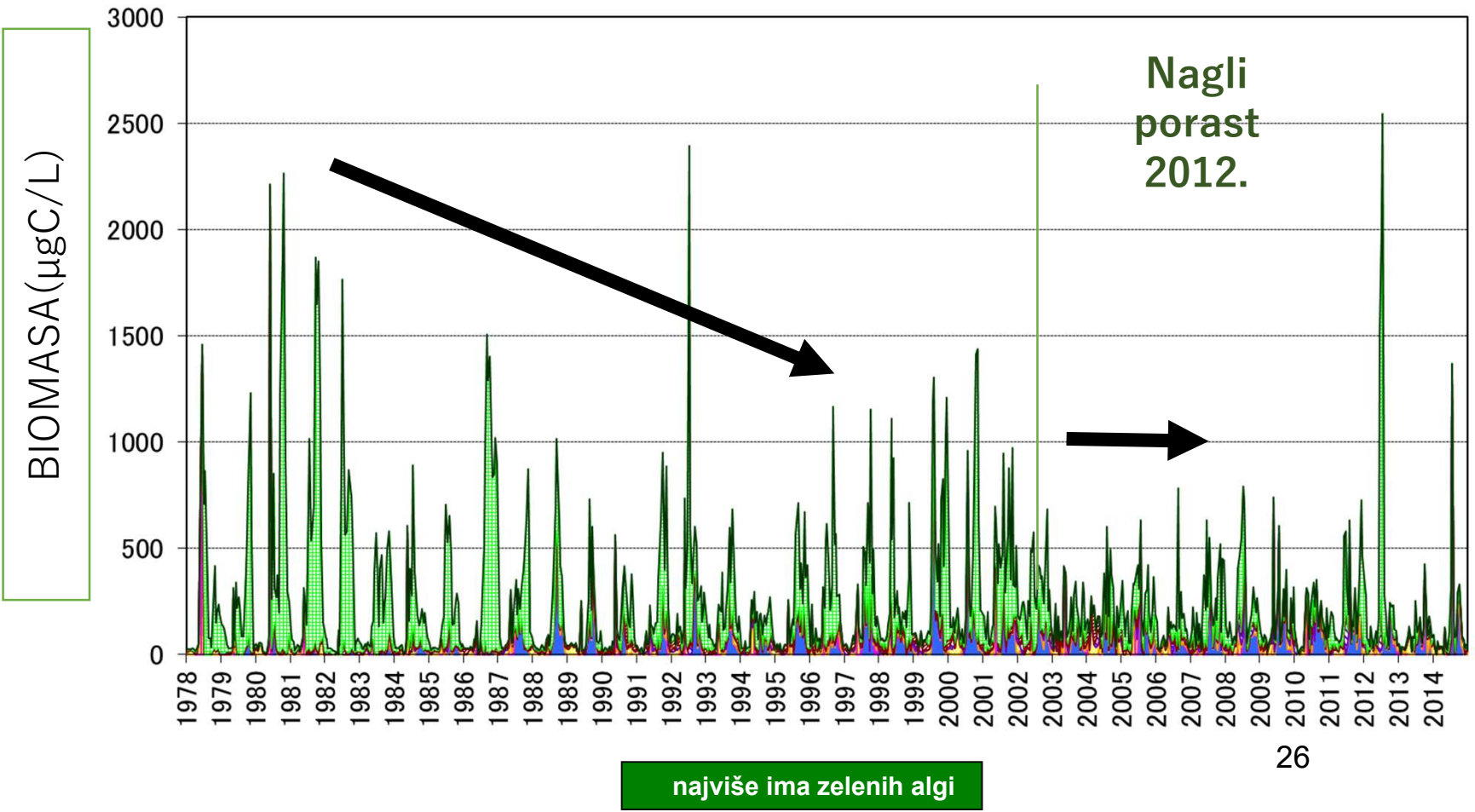
Čuvaju se svi uzorci planktona,  
uključujući one starije od 40 god.

# Hvala na pažnji!!



# KRAJ

# Dugoročna promena količine fitoplanktona ( $\mu\text{gC/L}$ ), severni deo jezera (punkt središnja pučina Imazu, dubina 0,5m)



Cijanofite Zlatne Silikatne Dinophyciae Mrke Zelene ostalo



## 琵琶湖の植物プランクトン計数の利点

1. 植物プランクトンは採水当日に結果が出る。
2. 生きているため形が崩れず正しく同定できる。
3. 固定しないので無くなる種類がない。
4. 動きで鞭毛の本数が分かる。
5. 早く計数結果、調査結果が出るため淡水赤潮やアオコ発生の予測対策や情報公開に適している。

# Učestalost istraživanja planktona

(prema pravilniku države)

## Primer učestalosti i perioda istraživanja

predmet uzorkovanja	mesec											
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3
FITOPLANKTON	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
ZOOPLANKTON	△	○	△	○	△	○	△	△	△	△	△	△

legenda ○ : Sprovodi se istraživanje  
 △ : Po potrebi se sprovodi istraživanje

国のマニュアルでは動物プランクトンは年3回の調査を実施する。  
 滋賀県は毎月実施している。

[動植物プランクトン 調査編 - 国土交通省 国土技術政策総合 ...  
 www.nilim.go.jp > mizukokudam > system > download](http://www.nilim.go.jp/mizukokudam/system/download)