

## Anlagen zum Ergebnisbericht

### Neuartige Konzepte zur Entwicklung von Baggerseen unter Nutzung digitaler Analyse- und Bewertungsmethoden

Aktenzeichen:

AZ 35787-01

Verfasser:

Jost Borchering, Lisa Heermann, Alexandra Schönle & Ulrich Werneke

Antragsteller:

- Prof. Dr. Jost Borchering, Universität zu Köln, Institut für Zoologie, Allgemeine Ökologie, Ökologische Forschungsstation Rees, Grietherbusch 3a, 46459 Rees-Grietherbusch, +49 2851 8575, [Jost.Borchering@uni-koeln.de](mailto:Jost.Borchering@uni-koeln.de)

Kooperationspartner:

- Dr. Ulrich Werneke, Naturschutzzentrum im Kreis Kleve e.V. (NZ Kleve), Niederstraße 3, 46459 Rees-Bienen, +49 2851 96330, [werneke@nz-kleve.de](mailto:werneke@nz-kleve.de)

Projektbeginn:

08.02.2021

Projektlaufzeit:

36 Monate

Rees-Grietherbusch, März 2024

# Anlagen

---

Anlage 1: Methodik zur Erfassung abiotischer Parameter und biotischer Organismengruppen

## Anlage 1: Methodik zur Erfassung abiotischer Parameter und biotischer Organismengruppen

### Physikalisch/Chemische Analysen und Trophie

Im Reeser Meer Norderweiterung wurde in den Jahren 2021-2023 das umfangreiche Probennahmeprogramm mit 6 Beprobungen zwischen März und im September einschließlich Bestimmung der Trophie durchgeführt. In beiden Seen wurden die Proben an der seetiefsten Stelle und aus dem Oberflächenwasser genommen, beim Vorliegen einer thermischen Schichtung im Spätsommer oder Herbst zusätzlich auch aus dem sauerstoffarmen Tiefenwasser.

Die Messungen folgender Parameter wurden mit Hilfe von Sonden (WTW Serie 325, ab August 2021 WTW Multi 3630 IDS) durchgeführt:

- Wassertemperatur in °C
- Sauerstoffkonzentration in mg/l
- Sauerstoffsättigung in %
- pH-Wert
- Elektrische Leitfähigkeit in  $\mu\text{S}/\text{cm}$

Alle Proben wurden vom Boot aus etwa an der seetiefsten Stelle (ca. 9,5 m Tiefe) genommen. Bei der Probennahme wurde aus allen Tiefenzonen nacheinander in 1 m-Schritten das Wasser über eine elektrische Pumpe und einen bis zu 20 m Länge ausrollbaren Schlauch in eine Messbox gepumpt (s. **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**), wo dann die o. g. Parameter bestimmt wurden. Die Entnahme der Proben für die chemischen Analysen erfolgte aus dem Ablauf der Messbox. Im See der Norderweiterung wurde ferner die Sichttiefe mit Hilfe einer Secchi-Scheibe gemessen (s. **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**).

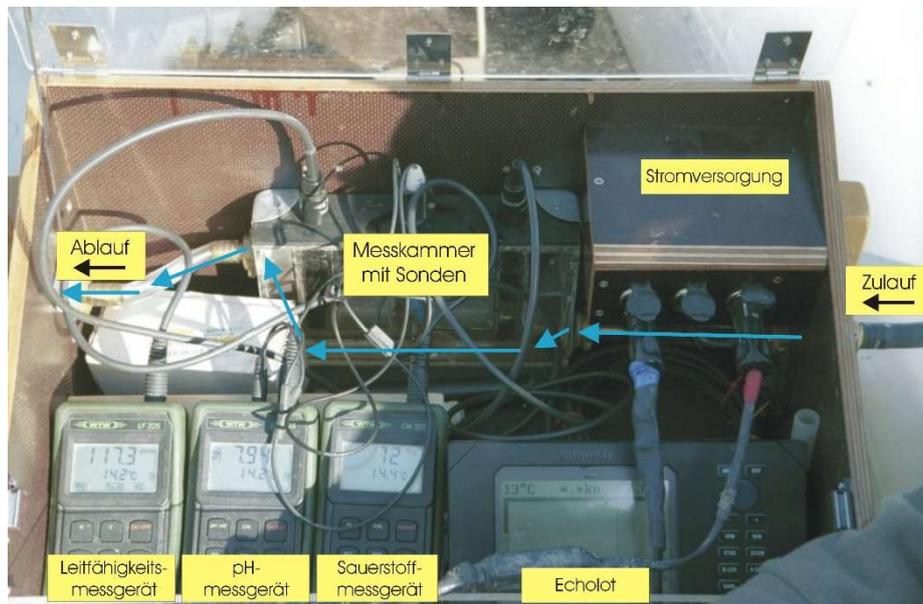


Abbildung 1: Messbox mit Durchflusskammer zur Bestimmung der physikalischen Gewässer-eigenschaften in unterschiedlichen Tiefen. Die Fließrichtung des Wassers ist mit blauen Pfeilen dargestellt.



Abbildung 2: Messung der Sichttiefe mittels einer Secchi-Scheibe, die an einer markierten Leine so weit in den See hinuntergelassen wird, bis sie nicht mehr sichtbar ist.

Alle Wasserproben wurden in vorkonfektionierte Gefäße gefüllt und anschließend in gekühlten und abgedunkelten Transportboxen zur LINEG transportiert. Dort wurden sie gemäß der vorgeschriebenen DIN-Methoden untersucht.

## Aquatische submerse Vegetation

Die submersen Makrophyten im Reeser Meer Norderweiterung wurden in den Jahren 2021-2023 und in beiden Seen jeweils nach derselben Methode untersucht. Die Tauchgänge erfolgten in der Regel zwischen Mai und Auguste eines jeden Jahres und die Makrophyten nach der beim LUA [Landesumweltamt] NRW (2006) beschriebenen Methode kartiert. Differenzen hinsichtlich der Wasserstände wurden zu der gemessenen unteren Makrophytengrenze addiert (korrigierte untere Makrophytengrenze).

In der Reeser Meer Norderweiterung wurden, um der inzwischen größeren Seefläche und dem für submerse Makrophyten erweiterten Lebensraum gerecht zu werden, 4-5 Transekte untersucht. Die Lage der Transekte ist als Startpunkt in den untenstehenden Tabellen angegeben. Da das Ufer im Bereich des Transektes 1 umgestaltet wurde, konnte das Transekt 1 nicht weiter untersucht werden. Abweichend zu den Jahren 2021 und 2022 wurden im Jahr 2023 die Transekte 3 und 4 nicht untersucht, da dort aktiv abgegraben wurde. Dafür wurden zwei neue Transekte 6 und 7 im jüngsten Abgrabungsbereiches beprobt.

Die Lage der Transekte für den See Knappheide ist in Abbildung 3 sowie als Startpunkt in den untenstehenden Tabellen angegeben.



Abbildung 3: Lage der Transekte 1-4 für die Kartierung der Wasserpflanzen im Abgrabungssee „Knappheide“.

In den Linien-Transekten wurden die Makrophyten auf einer Breite von 20-30 Metern getrennt nach Tiefenzonen (0-1 m, 1-2 m, 2-4 m, 4-6 m, etc. bis zur unteren Makrophyten-Tiefengrenze) halbquantitativ erfasst. Die Flachbereiche (Zone von 0-1 m Wassertiefe) wurden durchwaten. Zusätzlich wurden Bereiche zwischen den Transekten betaucht. Die Häufigkeit wurde anhand der Schätzskala nach KOHLER (1978) in Kategorien von 1 (sehr selten) bis 5 (massenhaft) eingestuft. Die Besiedlung des Gewässergrundes durch Blaualgen und fädige Grünalgen wurde mit aufgenommen, ohne diese nach Arten zu differenzieren.

Außerdem wurden die folgenden Zusatzkriterien erhoben, die in Zukunft bei den EG-WRRL-Verfahren zur Bewertung von Makrophyten in Seen berücksichtigt werden: Benthivorie

(Wühlschäden), Herbivorie und Epiphyten. Sie dienen als ergänzende Information für Belastungen und die Ableitung von Maßnahmenhinweisen. Die Parameter Benthivorie (Wühlschäden), Herbivorie und Epiphyten werden in einer dreiteiligen Skala je Tiefenstufe und Transekt erhoben (gering/mittel/stark, vgl. MEIS et al. 2018, VAN DE WEYER & STELZER 2021).

Die Bestimmung der Wasserpflanzen und Nomenklatur folgt VAN DE WEYER & SCHMIDT (2018).

Kohler, A. (1978): Methoden der Kartierung von Flora und Vegetation von Süßwasserbiotopen. *Landschaft und Stadt* 10: 73-85

LUA NRW (2006): Klassifikation und Bewertung der Makrophytenvegetation der großen Seen in NRW gemäß EU-Wasser-Rahmen-Richtlinie, LUA Merkblätter 52: 108 S., <http://www.lua.nrw.de/veroeffentlichungen/merkbl/merk52/merk52.pdf> Bearbeitung: Dr. Klaus van de Weyer

Meis, S., Weyer, K. van de, Stuhr, J. 2018: Ein Verfahren zur Erfassung und Dokumentation von Schäden durch benthivore Cypriniden an submersen Makrophyten in Stillgewässern. *Korrespondenz Wasserwirtschaft* 3/2018 (11): 138-141

Weyer, K. van de, Schmidt, C. 2018: Bestimmungsschlüssel für die aquatischen Makrophyten (Gefäßpflanzen, Armleuchteralgen und Moose) in Deutschland: Band 1: Bestimmungsschlüssel. 2., überarbeitete Auflage. Fachbeiträge des LfU Brandenburg 119: 180 S. Herausgeber: Landesamt für Umwelt (LfU) Brandenburg, Potsdam  
Wisskirchen, R., Haeupler, H. (1998) (Hrsg.): Standardliste der Farn- und Blütenpflanzen Deutschlands: 765 S., Ulmer/Stuttgart (Hohenheim)

Weyer, K. van de & Stelzer, D. (2021): Handlungsanweisung zur WRRL-Bewertung von Makrophyten in Seen nach dem NRW-Verfahren, Stand: 29.10.2021. Projekt-Nr. O 2.20 des Länderfinanzierungsprogramms „Wasser, Boden und Abfall“ 2020.

## Zooplankton

Die Zooplanktonproben wurden in der Regel in allen Untersuchungsjahren (2021-2023) von Mai bis Oktober einmal pro Monat am tiefsten Punkt jedes Sees entnommen. Die Probenahmen fanden mittags, ca. 10-11 Uhr, und abends nach Sonnenuntergang statt. Die Proben wurden mit einer Schindler-Patalas-Schöpfer entnommen, der ein Volumen von 10 l über eine Maschenweite von 158 bzw. 200  $\mu\text{m}$  filtert. Die Probenahmen erfolgten im Epilimnion (etwa 2 m Tiefe) und im Hypolimnion (etwa 8,5-12 m Tiefe) mit jeweils 5 Replikaten. Die Organismen wurden in einer Formalin-Saccharose-Lösung (37 %) konserviert.

### Sampling



- May – Oct, monthly
- 10L – 158-200 $\mu\text{m}$

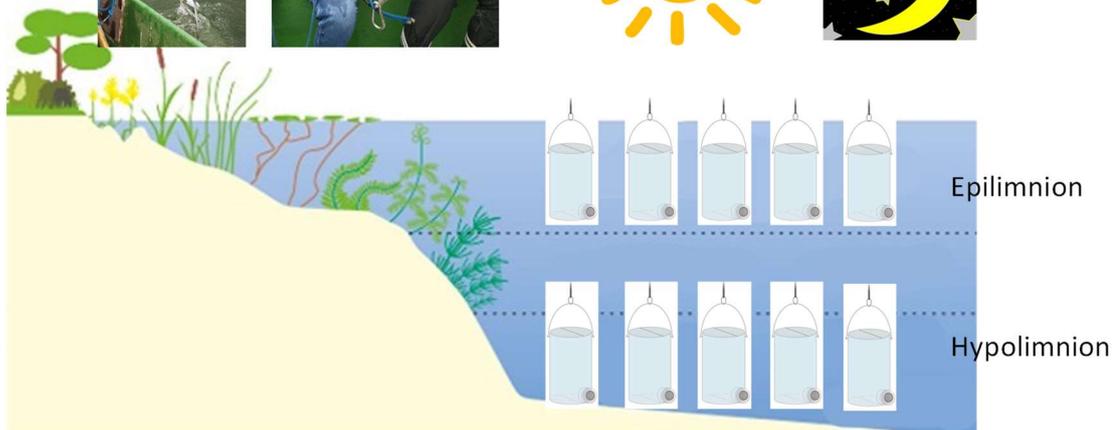


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Probenahmen zur Erfassung des Zooplanktons

Die Auswertungen der Zooplanktonproben erfolgte mit dem sogenannten ZooScan. Hierzu wurde im Rahmen des Projektes eine detaillierte Anweisung erarbeitet, wie die Proben routinemäßig ausgewertet werden sollten. Dieses Manual wird im Folgenden wiedergegeben:

---

## Arbeiten mit dem ZooScan - Eine Schritt-für Schritt Anleitung

---

Benötigte Programme:	<ul style="list-style-type: none"><li>- Zooprocess</li><li>- ImageJ</li><li>- Tanagra</li><li>- Plankton Identifier</li><li>- R-Studio/Excel</li></ul>
----------------------	--

---

### Voraussetzungen für das Arbeiten mit dem ZooScan

---

Der ZooScan eignet sich für das analysieren und aufarbeiten von Zooplanktonproben, basierend auf visuellen Klassifizierungen. Der ZooScan besteht aus einem kippbaren Teil, der die Scann Kammer enthält. Darunter befindet sich die Scan Vorrichtung, die Analysen in unterschiedlichen Auflösungen ermöglicht. Die Kammer lässt sich mit einem Deckel verschließen, der beleuchtet ist und einen höheren Kontrast zu den Objekten ermöglicht. Proben können mit dem ZooScan gescannt und digitalisiert werden. Output Dateien nach der Klassifizierung enthalten alle Metadaten und Messungen jedes einzelnen Objektes in einer Probe. Geeignet sind Proben mit einem Umfang von nicht mehr als 1000-1500 Individuen. Werden mehr Objekte in den Scanner aufgetragen, so kann es zum Verlust der hohen Bildqualität kommen, unter anderem, da Objekte überlappen. Um dies zu vermeiden, eignen sich Methoden, die selektiv ein festgesetztes Volumen (z.B. 10-20 L) eines Gewässers beproben, wie etwa der Schindler-Patalas-Schöpfer. Bei der Probennahme ist darauf zu achten, dass so wenig Schmutz wie möglich in den Proben ist, da auch dies die Bildqualität beeinflussen kann. Des Weiteren sollte die Gaze bei einer Beprobung nicht feiner als 200 µm sein. Individuen < 200 µm werden im Klassifizierungsschritt mit höherer Wahrscheinlichkeit falsch zugeordnet. Es ist zu empfehlen die Proben noch im Feld zu fixieren, um ein repräsentatives Bild der Abundanzen und Spezies Zusammensetzung zu bekommen. Hierzu eignen sich im Zusammenhang mit dem ZooScan eine Formol-Zucker oder Ethanol-Zucker Lösung.

---

#### Probenlagerung und Vorbereitung

Da das Scannen von Proben in gekühltem Wasser bessere Ergebnisse liefert, müssen Proben sowie destilliertes Wasser bei 8°C im Kühlschrank gelagert werden. Dies hat zum Zweck, dass keine Gasblasen gebildet werden und Objekte ruhiger auf der Scanner Fläche liegen. Bei zu kaltem Wasser kann die Glasoberfläche des Scanners beschlagen, was es zu vermeiden gilt. Für den Fall, dass die Oberfläche beschlägt, kann einige Minuten gewartet werden, bis sich die Glasscheibe der Temperatur des Wassers angleicht. Unmittelbar vor dem Scannen einer Probe muss diese aus der Fixierung in destilliertes Wasser überführt werden. Dazu eignet sich ein „Sieb“ mit einer engeren Maschenweite als bei der Probennahme, da so Objekte nicht verloren gehen können. Das Überführen ist wichtig, da Fixierungs- oder Lösungsmittel die Glasoberfläche des Scanners beschädigen oder verunreinigen können.

---

### ZooScan

---

#### Vorbereiten des Projektes

Vor Beginn müssen die Programme für den ZooScan installiert werden (ImageJ, Zooprocess und Vuescan). Zum Starten eines Projekts, kann in ImageJ ein Zielordner für die Scans und Metadaten kreiert werden. Dies wird über den Punkt „Create new project“ gesteuert werden. In diesem Abschnitt können die Metadaten des Projekts, wie etwa die Koordinaten des Probegewässers angegeben werden. Hier können auch die Einstellungen für Rahmengröße und Auflösung getroffen werden. Dabei ist folgendes zu beachten:

Large Frame: Der Große Rahmen eignet sich vor allem zum schnellen klassifizieren von Zooplankton Proben. Auch Proben mit vielen Objekten können problemlos gescannt werden. Für das Berechnen des Biovolumens, vor allem für kleinere Spezies, wie etwa Copepoden, eignet sich der Large Frame nicht so gut. Obwohl die Messungen für größere Organismen Gruppen, wie etwa Daphnien präziser

---

---

sind, sollten auch hier die Biovolumen überprüft und gegebenenfalls mithilfe der erstellten Kalibriergerade angeglichen werden. (Scan Dauer: ca. 8 min)

Narrow Frame: Der kleinere Rahmen eignet sich zum präziseren einschätzen bezüglich der Biovolumens, wobei auch hier die Berechnungen für große Individuen präziser ist. Auch hier sollten nach Möglichkeit Messwerte überprüft und gegebenenfalls umgerechnet werden. Bezüglich der Präzision von Klassifizierungen besteht kein Vorteil gegenüber dem Large Frame. Mit einer Scan Dauer von über 20 min ist der Narrow Frame ausschließlich für präzise Einschätzungen des Biovolumens zu empfehlen.

Für beide Rahmengrößen empfehlen wir die höchst mögliche Auflösung. Innerhalb des Menüpunktes „Create new project“ können auch die Namen, sowie Metadaten für alle Proben eingetragen werden. Wichtig ist hierbei, dass jede Probe unterschiedlich benannt werden muss und keine Bezeichnung doppelt auftauchen kann. Das Hinzufügen von Proben kann allerdings auch zu einem späteren Zeitpunkt erfolgen.

---

### **Scan Prozess Vorbereitung**

Zur Vorbereitung für die Planktonanalyse muss zu Beginn eines jeden Tages eine Leere Probe gescannt werden („Background Scan“). Dieser Background Scan dient dazu, den Hintergrund (also die leere Fläche) eines Scans, der eine Probe enthält, „subtrahieren“ zu können. So kann Zooprocess aufgrund der Kontraste die Bilder von Objekten entlang ihrer Silhouetten „ausschneiden“.

Alle Scans werden mit destilliertem Wasser durchgeführt um die Ablagerung von Kalk oder anderen Verunreinigungen auf der Scanner Oberfläche zu vermeiden. Für den Background Scan wird ImageJ gestartet und die Option „Scan Background image“ gewählt. Daraufhin erscheint eine Schritt-für-Schritt Anleitung die genau zu befolgen ist. Spätestens zu diesem Zeitpunkt muss der ZooScan eingeschaltet werden. Es ist zu empfehlen die Scanner Oberfläche vor Beginn abzuspuhlen. Hierzu kann auch der bewegliche Teil gekippt werden, damit das Wasser über die Öffnung ablaufen kann. Hiernach wird ein dünner Film destilliertes Wasser auf die Glasfläche aufgetragen. Erst danach wird der gewählte Rahmen eingesetzt. Dies hat zum Zweck, dass der Rahmen besser mit der Oberfläche des Scanners Verbunden ist und keine Luftblasen unter dem Rahmen gefangen sind. Anschließend wird das innere des Rahmens bis zur 5 mm Stufe mit destilliertem Wasser befüllt. Dann kann der Deckel des ZooScans geschlossen werden. Die Checkliste von ImageJ ist weiterhin zu verfolgen. Diese gibt an, dass zum Scannen Vuescan geöffnet wird und der Scan über dieses Programm gestartet wird. Dieser Scan Prozess wird wie auf der Checkliste angegeben, zweimal durchgeführt. Nach Fertigstellung kann das Wasser aus dem ZooScan entleert werden und Proben können analysiert werden.

---

### **Scan von Proben**

Für das Scannen von Proben wird innerhalb ImageJ die Option „Scan Sample“ ausgewählt. Hier kann die entsprechende Probe ausgewählt oder über „edit metadata“ neu kreiert werden. Ähnlich wie für den Background Scan wird die Scan Kammer des ZooScans mit einem dünnen Film Wasser bedeckt, bevor der gewählte Rahmen eingefügt wird. Um sicher zu stellen, dass der Rahmen richtig mit der

---

---

Oberfläche verbunden ist, kann leichter Druck auf den Rahmen ausgeübt werden. So werden auch mögliche Luftblasen aus dem Zwischenraum herausgedrückt werden. Daraufhin kann die Probe in destilliertem Wasser in das Innere des Rahmens gegeben werden. Anschließend wird mit destilliertem Wasser bis zur 5 mm Stufe aufgefüllt. Mit einer Präpariernadel können Objekte, die überlappen oder sich zu nah am Rand befinden (mind. 0,5 – 1 cm Abstand zum Rand des Rahmens) sortiert werden. Dieser Prozess sollte nicht länger als 5 min durchgeführt werden. Der Deckel kann nach diesem Prozess geschlossen werden. Überhängende Objekte können auch in einem späteren Arbeitsschritt voneinander getrennt werden. Innerhalb ImageJ wird nun die Anleitung innerhalb der Check-Liste befolgt.

Nach dem Scannen kann die Probe über die Öffnung entleert und mit einem Sieb aufgefangen werden. Ist der Scan Prozess beendet, sollte die Glasoberfläche des Scanners mit einem weichen Tuch oder Papier getrocknet werden, um Schlierenbildung zu vermeiden.

---

### **Prozessieren von Scans**

Damit die Scans weiterverarbeitet werden können, müssen sie innerhalb von Zooprocess prozessiert werden. Dazu wird in ImageJ die Option „Convert and Process samples“ ausgewählt und durchgeführt. In diesem Schritt „schneidet“ das Programm die einzelnen Objekte aus den gesamten Scans heraus und ordnet sie in Unterordner, die nach der Probe benannt sind, in den vorher erstellten Zielordner.

Nach diesem Schritt können die einzelnen Bilder überprüft werden. Wenn gewünscht können hier Bilder, auf denen sich mehrere Objekte befinden in den „Multiples to seperate“ Ordner verschoben werden. Diese können in der Maske „Separation of Multiples“ individuell zugeschnitten werden. Nach diesem Schritt ist es notwendig den Schritt „Convert and Process“ zu wiederholen.

Die hier entstandenen „output“ Dateien können in „Plankton Identifier“ (PkID) weiterverarbeitet werden. Für weitere Details verweisen wir auf das Manual zum ZooScan von Picheral & Elineau (2020).

---

### **Plankton Identifier**

Die Dateien aus Zooprocess können innerhalb dieses Programms klassifiziert und sortiert werden. Plankton Identifier (PkID) ermöglicht die Identifikation und Klassifizierung von Zooplankton Spezies mithilfe von verschiedenen Statistischen Modells. Diese können Individuell trainiert und ausgewählt werden, sodass sie auf die eigene Fragestellung zugeschnitten sind.

---

### **Erstellen von Learning Sets**

Der erste Schritt zur Vorbereitung der Klassifizierung von Zooplankton, muss das statistische Model trainiert werden. Das heißt es muss „lernen“ welche Objekte möglicherweise zu „erwarten“ sind.

Zunächst werden Ordner von verschiedenen Gruppen erstellt. Neben den zu erwartenden Spezies sollten auch Ordner für Fasern/Fusseln und Schmutz erstellt werden. So kann jedes Objekt eines Scans einer Gruppe zugewiesen werden. Pro Gruppe sollten mind. 100 Bilder zugewiesen werden. Dies stellt sicher, dass das statistische Model ausreichen trainiert wird. Hierzu werden Bilder aus Scans verwendet, die im Pfad des Zielordners von Zooprocess zu finden sind und können per drag and drop in die einzelnen Kategorien gezogen werden. Innerhalb PkID wird die Option „Create Learning Set“ ausgewählt.

---

---

Es ist zu empfehlen, dass nur Kategorien erstellt werden, welche sich ausreichend voneinander unterscheiden, um eine ausreichende Performance des statistischen Modells zu gewährleisten. Beispielsweise kann das Modell Calanoide und Cyclopoide Copepoden nicht ausreichend voneinander unterscheiden. Darum ist von einer Unterscheidung auf Art-Level abzusehen

---

### **Evaluierung eines Learning Sets**

Ob das Learning Set ausreicht, um das statistische Modell zufriedenstellend zu trainieren, kann mit dem Menüpunkt „Evaluation“ überprüft werden. Hier kann das gewünschte statistische Modell ausgewählt werden. Wir empfehlen den Random Forest Classifier oder das MLP mit 3 Layers in 20 Neuronen. Um die Layers und Neuronen Anzahl hoch zu setzen kann das Skript für das Modell auf dem kleinen „KlemmbrettSymbol“ neben der Auswahl des Modells angeklickt werden. Innerhalb des Skripts können die Layers und Neuronen angepasst werden.

In diesem Schritt sollte das Learning Set mit beiden Modellen evaluiert werden. Für jede Kategorie sollte der Recall mindestens 75 % betragen, um eine zufriedenstellende Klassifizierungsleistung zu gewährleisten. Zwischen den beiden Modellen sollte jenes gewählt werden, welches insgesamt die höchsten Werte für Recall und Precision aufweist. Das Learning Set kann jederzeit nach Belieben erweitert und verändert werden. Obwohl die Leistung des Modells über eine Saison hinweg gleichbleiben kann, sollten Kategorien angepasst werden, falls neue Morphotypen von Spezies auftauchen und die Leistung beeinflussen.

---

### **Klassifizierung von Proben**

Erfüllt das Learning Set alle gewünschten Kriterien, kann es zur Klassifizierung eingesetzt werden. Über das Menüfeld „Prediction“ wird zunächst das erstellte Learning Set ausgewählt und anschließend, die zu kategorisierende Probe. Das am besten performende Modell wird ausgewählt und ein Zielordner für die Prediction-Datei wird bestimmt. Dieser Schritt kann für mehrere Proben gleichzeitig durchgeführt werden, was den Arbeitsaufwand minimiert.

Nach dem automatisierten Klassifizieren, können die Kategorien manuell validiert werden. Dies geschieht über den Menüpunkt „Validation“. Hier kann eine Probe, sowie Zielordner ausgewählt werden. Die Validierung erfolgt durch Verschieben von falsch kategorisierten Bildern in den richtigen Ordner. Ist dieser Schritt beendet, kann die Output-Datei weiterverwendet werden. Diese Datei im „.txt“ Format enthält alle Messungen und Metadaten für jedes Objekt.

Wenn gewünscht, können Dateien aggregiert werden, sodass die End-Datei die Summen aller Messungen nach Kategorie enthält. Diese Aggregation kann über den Menüpunkt „Compilation“ durchgeführt werden.

Zur Weiterverarbeitung der Dateien eignen sich R oder Excel. Für weitere Details bezüglich Plankton Identifier verweisen wir auf [Plankton Identifier - Home Page \(obs-vlfr.fr\)](http://Plankton Identifier - Home Page (obs-vlfr.fr))

---

### **Mögliche Fixierungsmittel:**

Formol-Saccharose Lösung:  
- 950 ml Aqua dest.

---

- 
- 50 ml Formaldehyde [37 %]
  - 60 g Saccharose
  - 3 g Borax
- Ethanol-Saccharose Lösung
- 40 g Saccharose
  - 285 ml Aqua dest.
  - 714 ml Ethanol [98 %]
- 

Das Arbeiten mit dem ZooScan wurde in einer umfangreichen methodischen Evaluation hinsichtlich der erzielten Ergebnisse systematisch analysiert (Wagner, K. (2022): Assessment of Zooplankton communities – a comparison of manual and semi-automatic methods. Master Thesis, Universität zu Köln). Die wesentlichen Ergebnisse dieser Arbeit lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Die Zooplanktonanalyse ist von zentraler Bedeutung für die Bewertung und Überwachung der Qualität und des trophischen Zustands eines Gewässers. Sie kann Informationen über Räuber-Beute-Interaktionen und den Energietransfer zwischen verschiedenen trophischen Ebenen geben. Außerdem können Zooplanktonarten als Bioindikatoren betrachtet werden, da Veränderungen der Abundanz, des Biovolumens und der Morphologie auf Umweltveränderungen hinweisen können. Die Analyse von Zooplanktonproben kann zeitaufwändig sein, wenn sie mit einer traditionellen mikroskopischen Methode durchgeführt wird. Andere Methoden, wie das Metabarcoding, sind für eine regelmäßige Überwachung oder groß angelegte Untersuchungen teuer und könnten Informationen über morphologische Veränderungen bei Individuen potentiell nicht erkennen.
- In dieser Studie wurden die traditionelle manuelle mikroskopische Analyse und eine halbautomatische Methode verglichen, auf der Grundlage ihrer Leistungsfähigkeit. Als halbautomatisches Verfahren wurde das ZooScan-System gewählt. Dabei handelt es sich um eine Methode, die statistische Modelle zur Identifizierung und Klassifizierung von Zooplanktonarten anhand von Bildern verwendet. Während ZooScan für Meeresorganismen bereits etabliert ist, wird es erst seit kurzem in der Süßwasserforschung eingesetzt. Ziel dieser Arbeit war es daher, ein verbessertes Protokoll und Richtlinien zu erstellen, die bei der Verwendung des ZooScan zur Analyse von Süßwasserproben zu berücksichtigen sind.
- Die Ergebnisse dieser Untersuchungen haben gezeigt, dass das ZooScan die Zeit der Probenanalyse verkürzen kann und gleichzeitig alle notwendigen Informationen zur Beurteilung der Qualität und des trophischen Zustands eines Süßwasserkörpers liefert. Insbesondere bei der Verwendung des großen Rahmens kann die Zeit für die Handhabung der Proben erheblich reduziert werden. Die Ergebnisse der Studie zeigten auch, dass die Bewertung des Biovolumens auf der Grundlage des halbautomatischen Systems mehr oder weniger deutlich von der mikroskopischen Methode abweichen kann. Das ZooScan neigt dazu Biovolumen zu überschätzen, was bei den verschiedenen, in dieser Studie untersuchten Arten unterschiedlich stark ausgeprägt war.
- Darüber hinaus wurde in dieser Studie untersucht, ob mögliche saisonale Veränderungen der Zooplankton Morphologie die Klassifizierungsleistung eines statistischen Modells beeinflussen können. Dabei wurde kein signifikanter Verlust der Klassifizierungsgenauigkeit festgestellt. Ein statistisches Modell, das auf Bildern vom einen Probennahmezeitraum trainiert wurde, klassifizierte ausreichend Zooplanktonproben aus einem ganzen Probennahmejahr und dem Beginn des darauffolgenden Jahres.

Um die Zusammensetzung des Zooplanktons in der RMNE vor dem Auftreten der Population von *L. delineatus* im Jahr 2019 mit der Zusammensetzung nach dem Auftreten der Fische zu vergleichen, wurden auch Daten von Werneke und Kosmac aus dem Jahre 2015 verwendet. Werneke (NZ Kleve) und Kosmac (Linksniederrheinische Entwässerungs-Genossenschaft)

nutzten anstelle eines Schindler-Patalas-Schöpfers ein Planktonnetz in einem „vertical Haul“ durch und entnahmen dadurch Proben aus einer Tiefe von 7 m bis zur Oberfläche. Sie sammelten im Jahr 2015 insgesamt 10 Proben und beprobten das Zooplankton in der RMNE von März bis Ende September 2015 ein- bis zweimal pro Monat. Werneke und Kosmac beprobten nur tagsüber zwischen 10 und 13 Uhr. Während die Maschenweite von 200 µm in den Jahren 2015, 2022 und 2023 gleich war, betrug der Durchmesser des Netzes 16,5 cm, was zu einem geschätzten Probenvolumen von etwa 149,7 l pro Zug führte. Da sich diese Beprobungsmethoden zu den unseren unterschieden, wurden alle 5 Epilimnion- und alle 5 Hypolimnion-Proben zusammengeführt. Daraus ergab sich ein Gesamtprobenvolumen von 100 l, davon 50 l im Epilimnion und 50 l im Hypolimnion, so dass der Datensatz mit der 149,7-Liter-Vertikalbeprobung aus dem Jahr 2015 gut vergleichbar war.

Probennummer	N8		
Datum	06.08.2015		
Bearbeitung	Ethanol fixierte Probe		
Probenvolumen	gesamte Probe		
Taxon	Anzahl/Probe	Anzahl/L	Länge mm
Chaoborus spec	79	0.528	
Daphnia magna	158	1.055	
<i>Daphnia magna</i> >2	106	0.708	>2
<i>Daphnia magna</i> 1,5-2	27	0.180	1,5-2
<i>Daphnia magna</i> 1,5-2	25	0.167	1-1,5
<i>Daphnia magna</i> 0,5-1	0	0.000	0,5-1
<i>Daphnia magna</i> <0,5	0	0.000	<0,5
Daphnia hyalina/longispina	174	1.162	
<i>Daphnia hyalina/longispina</i> >2	31	0.207	>2
<i>Daphnia hyalina/longispina</i> 1,5-2	27	0.180	1,5-2
<i>Daphnia hyalina/longispina</i> 1-1,5	42	0.281	1-1,5
<i>Daphnia hyalina/longispina</i> 0,5-1	27	0.180	0,5-1
<i>Daphnia hyalina/longispina</i> <0,5	47	0.314	<0,5
Diaphanosoma brachyurum	1	0.007	
Calanoida	903	6.032	
Calanoida, Copepodite		0.000	
Calanoida Nauplien		0.000	
Cyclopoida	1	0.007	
Cyclopoida, Copepodite		0.000	
Cyclopoida, Nauplien		0.000	

Abbildung 5: Exceltabelle mit Ergebnissen der Auswertung der Probe genommen am 06.08.2015. Erstellt von Udo Kosmac und Ulrich Werneke.

Das Ergebnis der händischen Auswertung (Abb. 2) zeigt eine Auflistung der Taxa links und die jeweilige Anzahl pro Probe und Anzahl pro Liter rechts davon. Die Unterteilung der Cladoceren in die Arten *Daphnia magna* und *Daphnia hyalina/longispina* ist der linken Spalte zu entnehmen. Die Unterteilung der Copepoden in Calanoida und Cyclopoida ebenfalls und die Chaoborus Larven wurden als *Chaoborus spec.* beschrieben. Da eine solche Klassifizierung über den ZooScan teilweise nicht möglich war, mussten die Abundanzen der einzelnen Arten bzw. Ordnungen aus Abbildung 2 zusammengelegt werden, um einen Vergleich der beiden Methoden zu ermöglichen. Bei dem Vergleich beider Methoden in Abbildung 4 ist zu erkennen, dass die Werte der Abundanz von *Chaoborus* und Copepoda bei der händischen Auswertung ein klein wenig höher waren als mit der Auswertung über den ZooScan. Insgesamt kann aber ohne jeden Zweifel festgehalten werden, dass sich die Ergebnisse aus der klassischen Zooplanktonanalyse sehr gut mit den aus dem ZooScan gewonnenen Daten vergleichen lassen, eine Schlussfolgerung die im Wesentlichen auch in der methodischen Arbeit von Wagner (2022) erzielt wurde.

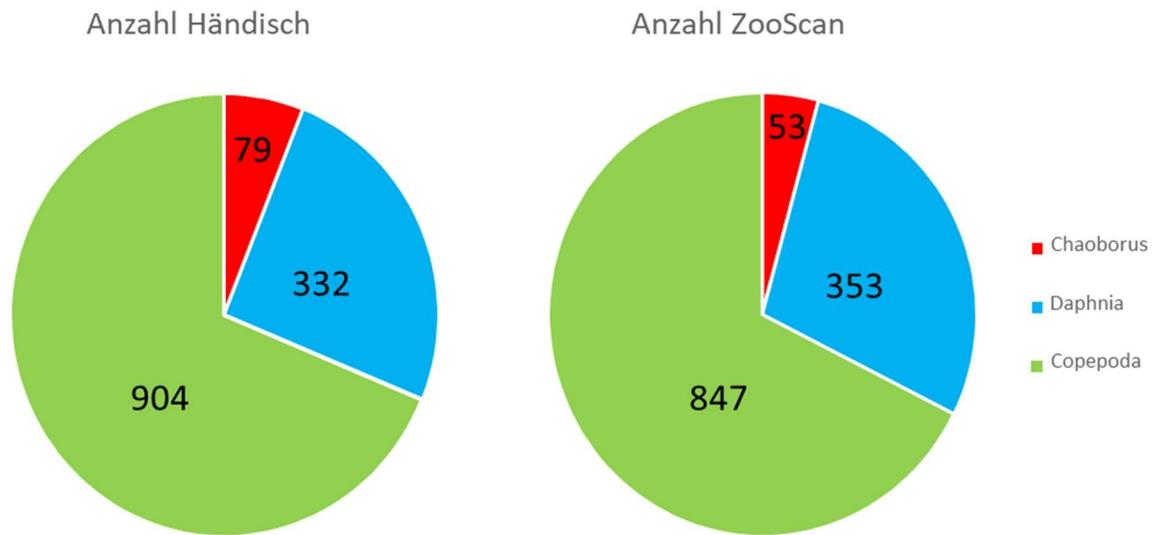


Abbildung 6: Abundanzen der drei untersuchten Gruppen innerhalb der ausgewählten Probe vom 06.08.2015. Rechts: Ergebnis nach Auswertung mit ZooScan. Links: Ergebnis nach händischer Auswertung (durchgeführt von Udo Kosmac).

## Fische

In Analogie zu den bisherigen Untersuchungen vor Projektbeginn, wurden ab Juni 2021 jährlich Proben im Juni und September mit Multimaschen-Kiemenstellnetzen genommen. Jeweils 15 Netze mit einer Gesamtfläche von 191,8 m<sup>2</sup> wurden in beiden Seen verwendet. Das Aufstellen der Netze erfolgte abends vor der Dämmerung. Am nächsten Tag nach Sonnenaufgang wurden sie gehoben, so dass sie sich in der Regel zwischen 13 Stunden und 17 Stunden im Gewässer befanden. Von den 15 Netzen waren drei pelagisch und die übrigen benthisch. Diese wurden entlang des Ufers ungefähr senkrecht zur Wasserlinie gestellt, beginnend bei den flachen Uferbereichen.



Abbildung 7: Karte der Positionen der Stellnetze zur Befischung an der Reeser Meer Norderweiterung.

Fische wurden nur in der Reeser Meer Norderweiterung aber nicht im See Knappheide gefangen. Nach dem Heben wurden die Fische zunächst aus den Stellnetzen befreit und anschließend die Art ermittelt. Danach wurden sie gezählt, ihre Länge auf einen Millimeter genau bestimmt und auf Eis gelagert.

Um die Fangzahlen über die Jahre vergleichen zu können, wurde der catch per unit effort (CPUE) berechnet (Scharf et al., 2009):  $CPUE = N/qm t$

mit  $N$ : Anzahl an Fischen im Netz  $qm$ : Fläche des Netzes [ $m^2$ ]  $t$ : Stellzeit [h]

Mit Hilfe einer Längen-Häufigkeitsverteilung, bei der die Daten der Fische aus den Stellnetzen verwendet wurden, konnte die Längenentwicklung dieser in den Frühjahren und Herbst den Befischungsjahre ermittelt werden. Für die anschließende Längen-Gewichts-Regression wurden die Daten aller Befischungsmethoden verwendet und grafisch veranschaulicht.

Zusätzlich zur Beprobung mit den Stellnetzen erfolgten tagsüber vom 15. Mai 2023 bis zum 18. Juli 2023 einmal pro Woche Probennahmen mit einem Uferzugnetz. Am 13. Juni 2023 geschah dies zusätzlich auch nachts. Für die Probennahme wurde mit dem aufgespannten Netz der Uferbereich parallel zur Wasserlinie abgelaufen, bis mindestens 35 Fische gefangen wurden. Das Netz wies eine Fläche von 15  $m^2$  und eine Maschenweite von 1 mm auf. Die durch die Uferzüge gefangenen Fische wurden anschließend in 96% Ethanol überführt. Im Frühjahr 2023 wurden zusätzliche Elektro-Befischungen durchgeführt, um den Fangerfolg der verschiedenen Methoden auf die Fischart Moderlieschen abschätzen zu können.

Von jedem Fang wurden soweit vorhanden mindestens 35 Fische vermessen und deren Darminhalt analysiert. Vor den Darmanalysen wurde zunächst das Gewicht der Fische mit Hilfe einer Feinwaage und einer Genauigkeit von 0,1 mg, sowie deren totale Länge mit einer Genauigkeit von 1 mm bestimmt. Bei Fischen, die größer als ca. 17 mm waren, erfolgte des Weiteren die Messung der Kopf- und Augenbreite mit Hilfe eines Messschiebers und einer Genauigkeit von 0,01 mm. Wenn mehr als 35 Fische gefangen wurden, wurde bei den übrigen Fischen nur die Länge bestimmt.

Für die Analyse des Darminhalts wurden bei zunächst auf Eis gelagerten Fischen die inneren Organe entnommen und der Darm in 96% Ethanol überführt, um die spätere Präparation zu erleichtern. Am nächsten Tag wurde das Gewicht des gefüllten Darms und danach dessen Leergewicht mit Hilfe der Feinwaage bestimmt. Für die Bestimmung des Leergewichts wurde der Darm aufgeschnitten und auf einem Objektträger entleert. Der Darminhalt konnte daraufhin unter dem Binokular oder bei Bedarf (Fische kleiner als 15 mm) unter dem Mikroskop analysiert werden. Das heißt, es wurden, wenn möglich, die gefundenen Taxa bestimmt und deren relativer Anteil am Darminhalt geschätzt. Um den Darminhalt vor dem Austrocknen zu schützen, wurde er mit einem Tropfen Wasser befeuchtet. Bei den Fischen aus den Uferzugnetzen, welche bereits in Ethanol gelagert wurden, ist das Vorgehen identisch. Jedoch wurde der Darm direkt analysiert und nicht erst in Ethanol überführt.

Des Weiteren wurde nach Möglichkeit das Geschlecht mit Hilfe der Gonaden, sowie das Gewicht der Gonaden und der Leber mit der Feinwaage bestimmt. Die Gonaden der Männchen sind weiß und wirken schleimig. Die der Weibchen sind orange und eiförmig. Das Vorgehen hierbei unterschied sich bei den Fischen, die in Ethanol und denen, die auf Eis gelagert wurden, nicht.

Nach der Präparation wurde zunächst das Gewicht des Darminhalts ermittelt. Dazu wurde das Leergewicht des Darms vom Gewicht des gefüllten Darms subtrahiert:

$$MDarminhalt = MDarm voll - MDarm leer$$

Mit Hilfe dessen konnte anschließend der Index of stomach fullness (ISF) berechnet werden:

$$ISF = \frac{\text{Gewicht Darminhalt}}{\text{Gesamtwicht Fisch} - \text{Gewicht Darminhalt}} \times 100$$

Dieser setzt die Masse an aufgenommener Nahrung ins Verhältnis zum Körpergewicht des Fisches (Hyslop, 1980), wodurch die Menge an aufgenommener Nahrung zwischen den Fischen verglichen werden konnte.

Hyslop, E. J. (1980). Stomach contents analysis-a review of methods and their application. *Journal of Fish Biology*, 17(4), 411–429. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1980.tb02775.x>

Scharf, W. R., Heermann, L., König, U., & Borcharding, J. (2009). Development of abundance and size structure of young-of-the-year perch populations using three methods. *Fisheries Research*, 96(1), 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2008.09.008>

## Libellen

Im Jahre 2023 wurden die Libellen von der Firma „LökPlan – Conze & Cordes GbR“, Anröchte, kartiert. Diese Kartierung war mit ähnlichen Methoden bereits 2017 durchgeführt worden. Untersucht wurden 2023 neben der Norderweiterung der Abgrabung „Reeser Meer“ noch eine neue Probestelle am „Schmalen Meer“. In 2017 dort untersuchte Abschnitte waren mittlerweile durch den Aufwuchs von dichtem Weidengebüsch unzugänglich, auch das „Aspelsche Meer“ nördlich und der Verbindungsgraben zwischen diesen beiden Gewässern waren unzugänglich und wurden nicht (mehr) untersucht. Die Probestellen an der Norderweiterung blieben identisch zu den Untersuchungen im Jahr 2017. Zusätzlich wurde zwischen den beiden älteren Probestellen D1 und D2 am Schmalen Meer im Bereich einer feuchten Hochstaudenflur bzw. einem Röhrichtabschnitt eine schmale Zuwegung zum Ufer geschaffen und eine Probestelle „Dneu“ festgelegt und mit untersucht (s. Abb. 1).



Abbildung 8: Lage des Untersuchungsgebietes (rot umrandet).

Die Probestellen wurden von Anfang Mai bis Mitte September insgesamt fünfmal (einmal je Monat) untersucht (s. Tab. 1). Dabei wurden Tage mit günstiger Witterung ausgewählt: möglichst sonnig, warm, trocken und windstill. Die einzelnen Begehungen begannen zwischen 8:00 – 9:00 Uhr und dauerten bis in den frühen Nachmittag (ca. 5 - 6 Stunden je Durchgang), dabei wurden die einzelnen Probestellen zu unterschiedlichen Tageszeiten aufgesucht. Bei den Begehungen wurde an den einzelnen Probestellen eine Begehung der Uferlinie (Transekt) durchgeführt und alle Libellen nach Art, Geschlecht, Anzahl und Verhalten aufgenommen (Zeitaufwand ca. 15 – 20 Minuten je 100m). In einem zweiten Durchgang wurden in einem 3 – 5 m breiten Uferstreifen Exuvien eingesammelt (Zeitaufwand ca. 15 Minuten). Dies erfolgte als semiquantitative Aufsammlung um auch die Ufervegetation nicht zu sehr zu beeinträchtigen. Während bei den Imagines die Bestimmung mit Fernglas und Kamera ausreichend war, wurden die Exuvien mit einem Binokular nachbestimmt.

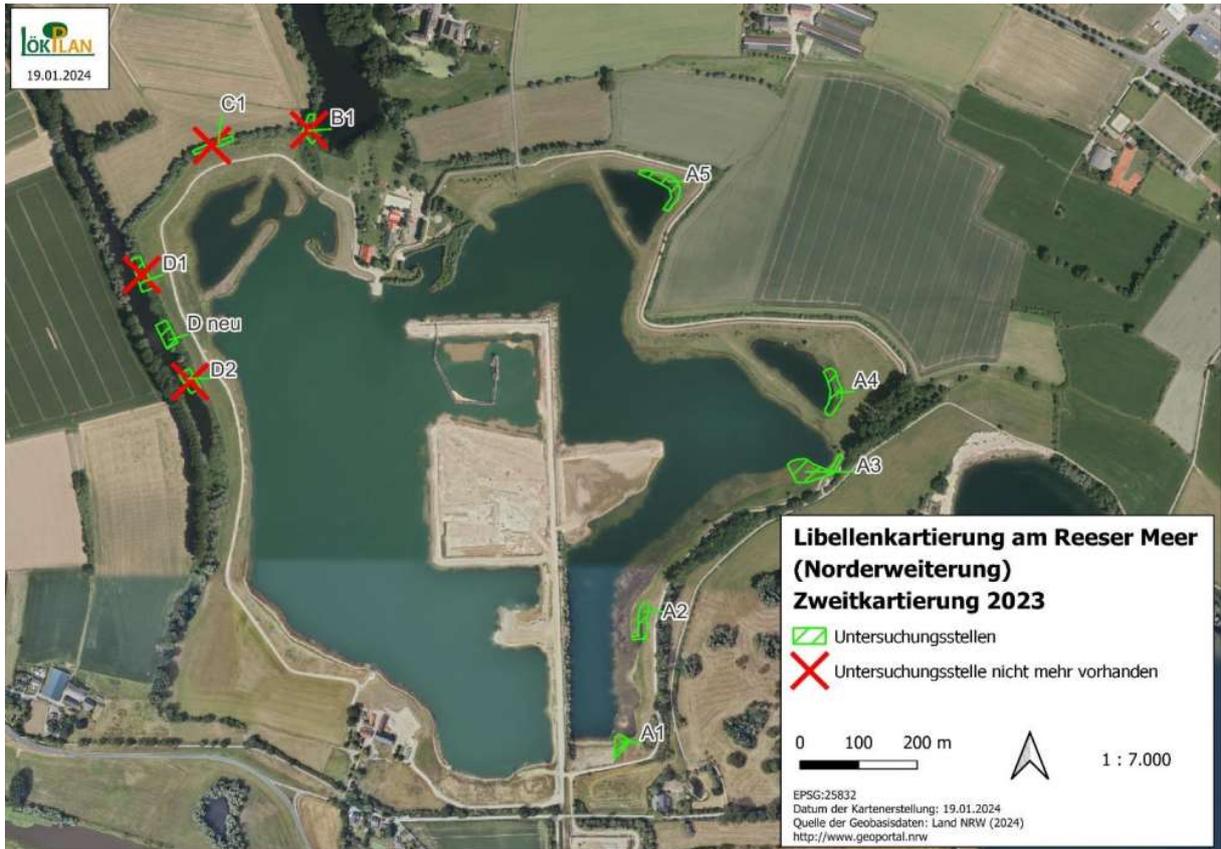


Abbildung 9: Lage der Probestellen 2023 (A1 – A5 und Dneu), sowie der ehemaligen Probestellen aus 2017.

## Amphibien

Im Jahre 2021 waren die Amphibien in der RMNE und in den Jahren 2021 und 2023 im See Knappheide von der Firma „Büro für faunistische Bestandserhebungen, Biotopmanagement und Naturschutz“, Münster, kartiert worden. Zur Erfassung der Amphibienarten wurden die Kleingewässer im Gebiet und die Gewässerufer des großen Baggersees bei geeignetem Wetter nachts mit Hilfe einer starken Handlampe nach den dann aktiven Amphibien abgesucht. Mit dieser Methode sind besonders die im Wasser paarungsaktiven Individuen aber auch die Amphibienlarven sehr gut nachweisbar.