

Analyse von Zooplanktonproben aus dem
namibianischen Auftriebsgebiet mit Hilfe eines
automatisierten Analyseverfahrens (Zooscan)



von Tina Kesselring
geb. am 12. 06. 1986

Hamburg, August 2010

1. Gutachter: Prof. Dr. Christian Möllmann
2. Gutachter: Dr. Rolf Koppelman

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	ii
I. Abstract	iii
II. Zusammenfassung	iv
1. Einleitung	1
2. Material und Methoden	4
2.1. Probennahme	5
2.2. Probenbehandlung	7
2.3. Probenauswertung	8
2.3.1. Zooscan	8
2.3.2. Zooprocess	10
2.3.3. Plankton Identifier	11
2.3.4. manuelle Individuenzählung und taxonomische Bearbeitung	15
3. Ergebnisse	15
4. Diskussion	21
5. Literaturverzeichnis	26
III. Anhang	29
IV. Danksagung	34
V. Eidesstattliche Erklärung	35

I. Abstract

Zooplankton plays a key role in the marine food web because it connects primary producers with higher trophic levels. Abiotic and biotic factors like nutrient supply and the presence of predators strongly influence its abundance. Samples from the Benguela upwelling system off the Namibian coast were analysed in this work. In this area exist high resource concentrations and high biological productivity. Shelf seas are influenced by atmospheric, marine and terrestrial forces and they underlie continuous qualitative and quantitative transformation processes. They are therefore very interesting for scientific research. The BMBF project GENUS (Geochemistry & Ecology of the Namibian Upwelling System) analyses this upwelling region off the Namibian coast to gain insight into the relationship between biochemical and ecological processes.

The zooplankton samples were taken during an expedition of the research vessel Maria S. Merian in March 2008. The samples were analysed automatically and manually. Samples from five different Depths and 5 sieve sizes were first analysed and processed with the Zooscan-System and then sorted counted using a binocular. The two methods were compared to analyse advantages and disadvantages. The Zooscan-System consists of a hardware unit to digitize a picture of the sample and an analysing program. The zooscan -analysis revealed some uncertainties with counting accuracy and recognition of structures. Nevertheless, some samples were analysed with sufficient accuracy and little error. Generally more individuals were counted manually than with the Zooscan-System, however, both methods showed a similar relative composition. More analyses on extended methodical approach, for example, multiple scans of the same sample, should be undertaken to optimize the results..

II. Zusammenfassung

Zooplankton nimmt als Mittler zwischen Primärproduzenten und höheren trophischen Ebenen eine Schlüsselrolle im marinen Nahrungsnetz ein. Für das Vorkommen und die Artenvielfalt sind abiotischen und biotische Faktoren wie Nährstoffverfügbarkeit und die Abundanz von Räubern von Bedeutung. In den Versuchen dieser Arbeit wurde mit Material aus dem benguelischen Auftriebsgebiet vor der Küste Namibias gearbeitet. Bei diesem Gebiet handelt es sich um ein Schelfmeer, welches durch Auftriebsphänomene hohe Ressourcenkonzentration und hohe biologische Produktivität zeigt. Da Schelfmeere atmosphärischen, marinen und terrestrischen Einflüssen ausgesetzt sind, unterliegen sie einem ständigen qualitativen und quantitativen Transformationsprozess und sind somit sehr interessant für die wissenschaftliche Forschung. Das BMBF-Projekt GENUS (Geochemistry & Ecology of the Namibian Upwelling System) untersucht dieses Auftriebsgebiet vor der Küste Namibias, um die Verzahnung biogeochemischer Prozesse mit ökosystemaren Änderungen zu untersuchen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Zooplanktonproben, welche im März 2008 auf der Maria S. Merian-Fahrt 07/2B genommen wurden, vergleichend auf automatisierte und manuelle Weise ausgewertet. Dazu wurden Zooplanktonproben in jeweils 5 Größenklassen mit dem Zooscan-System, welches die Zooplanktonproben mithilfe eines speziellen Scanners digitalisiert, gezählt und sortiert. Das ZOOSCAN-System besteht aus einer Hardwareeinheit und einem Programm, welches die aufgenommenen Bilder bearbeitet und den Inhalt auswertet.

Die Zooscan-Analyse war in vielen Fällen bezüglich der Zählgenauigkeit sowie der Erkennung bestimmter Strukturen ungenauer als die manuelle Methode. Einige Proben dagegen konnte das System mit relativ kleinen Abweichungen von den manuellen Zählungen erschließen. Generell wurden mit der konventionellen Methode aber mehr Individuen gezählt als mit dem Scanner. Das Zooscan-System liefert auf diesem Stand der Entwicklung nur dann verwertbare Ergebnisse, wenn die relative Zusammensetzung einer Probe das Ziel der Untersuchungen ist. Um die Arbeit mit dem Zooscan und die Ergebnisse zu optimieren, müssen weitere Versuche mit erweiterter Herangehensweise durchgeführt werden, wie zum Beispiel mehrmaliges Scannen derselben Probe

1. Einleitung

Als Plankton werden sämtliche im freien Wasser schwebende und treibende Organismen bezeichnet, die sich nicht aktiv gegen Strömungen fortbewegen können. Dabei wird zwischen Phyto- und Zooplankton unterschieden. Zooplankton nimmt als Mittler zwischen Phytoplankton als Primärproduzenten und höheren trophischen Ebenen eine Schlüsselrolle im Nahrungsnetz ein. Das räumliche Vorkommen und die Artenvielfalt von Zooplankton hängen sowohl von biotischen Faktoren wie z. B. Abundanz von Räubern, als auch von abiotischen Einflüssen wie Nährstoffverfügbarkeit und anthropogenen Einflüssen ab (Lenz 2000, Loick et al. 2005, Verheye et al. 2005).

Bisher ist das Wissen über die Wirkung dieser Einflüsse auf die Populationsdynamik und Entwicklung von Zooplankton jedoch begrenzt, da die Probenahmen und -aufbereitungen sehr aufwendig sind. Insbesondere für Schelfmeerökosysteme sind diese Kenntnisse wichtig, da sie durch Fischerei und Tourismus von hoher sozioökonomischer Bedeutung sind. Schelfmeere sind flache Meeresbereiche über dem Festlandsockel, welche landwärts durch die Küste, seewärts durch einen Kontinentalhang begrenzt werden und somit eine vielschichtige Übergangszone zwischen Wasser und Land darstellen. Für solche Gebiete ist eine hohe Ressourcenkonzentration bezeichnend, welche sich in hoher biologischer Produktivität auf allen trophischen Ebenen widerspiegelt. Sie sind atmosphärischen, marinen als auch terrestrischen Einflüssen ausgesetzt und unterliegen einem ständigen Prozess der qualitativen und quantitativen Transformation als Folge von Veränderungen der hydrodynamischen und thermischen Eigenschaften. Treten Variabilitätsveränderungen dekadisch auf, bezeichnet man sie als Regime Shift. Dieser ist durch den Übergang eines Ökosystems von einem metastabilen Zustand in einen anderen, ebenso metastabilen Zustand gekennzeichnet (Cury & Shannon 2004)

Von besonderer Bedeutung sind Küstenauftriebsgebiete, das sind Regionen, in denen kaltes, nährstoffreiches Wasser mit höherer Dichte aus tieferen Schichten an die Wasseroberfläche transportiert wird und dort nährstoffarmes, wärmeres Wasser verdrängt. Durch diese Nährstoffverfügbarkeit kommt es zu einer erhöhten Primärproduktion und als Folge zu einem Zuwachs aller anderen trophischen Ebenen wie z. B. Fischproduktion. Auftriebsgebiete sind Beispiele für sehr variable Ökosysteme, in denen sich physikalische, chemische und biologische Merkmale fortlaufend verändern (Nelson & Hutchings, 1983). Folglich ist die

Abundanz und biologische Diversität dieser Gebiete schwer vorhersagbar, da Nährstoffe ungleichmäßig verteilt sind und sich in manchen Gebieten häufen, während in anderen Ressourcenarmut herrscht, dieses Phänomen wird auch als "Patchiness" bezeichnet (Stuart et al., 2003). Tiere, die in diesen Regionen leben, profitieren einerseits von dem Nährstoffreichtum, müssen andererseits schwankenden Umweltbedingungen gegenüber tolerant sein. Solche Umweltgegebenheiten fördern geringe Diversität und zugleich hoch produktive Habitate mit höchstem Vorkommen marinen Lebens und ökologischen Ressourcen. Meist kommen in diesen Gebieten kurze Nahrungsketten vor (Diatomeen-herbivores Zooplankton-clupeiforme Fische), welche die Energie sehr effizient in höhere trophische Ebenen transportieren. Diese kurzen Nahrungsketten können jedoch z.B. durch Fischereidruck zu langkettigen, flagellaten-basierten Nahrungsnetzen mit zum Teil veränderter Struktur der höheren trophischen Ebenen (z.B. hohen Beständen an gelatinösen Organismen) wechseln (Barnes, 2007).

Ein Beispiel für Küstenauftriebsgebiete ist das Seegebiet im Südostatlantik westlich vor Namibia, welches in zwei separate Sub-Systeme aufgeteilt werden kann - in einen nördlichen und einen südlichen Teil. Auch dieses Auftriebsgebiet ist gekennzeichnet durch Temperatur-Sauerstoffkonzentrations- und Salzgehaltsanomalien, welche durch die Auftriebsströmung verursacht werden. Aufgrund dieser instabilen Umweltbedingungen besteht die Tendenz, dass besonders wenige generalistische Arten in diesen Gebieten ein optimales Habitat finden. Ebenso begünstigt die hohe Produktionsrate große Abundanzen. Namibias marine Umwelt befindet sich in einem guten Zustand, obwohl die Biodiversität sowohl durch natürliche, als auch anthropogene Phänomene bedroht wird (Berger & Wefer, 2002).

Die Zooplanktongemeinschaften in diesem Gebiet werden von ständig wachsendem Druck seitens klimabedingter Umweltveränderungen, Habitatzerstörung und Überfischung in ihrer Abundanz und Zusammensetzung beeinflusst. Um mögliche Veränderungen in der Dynamik eines Ökosystems messen zu können, müssen aus definierten Gebieten Planktonproben entnommen und diese im Anschluss bearbeitet und ausgewertet werden.

Ein Ziel des BMBF-Projektes GENUS (Geochemistry & Ecology of the Namibian Upwelling System) ist es, den Einfluss von vertikalen und lateralen Strömungen und Stoffwanderungen auf die Zooplanktongemeinschaft sowie den möglichen Stoffrückkopplungsmechanismus in der Auftriebsregion zu untersuchen.

Die auf Forschungsreisen gewonnenen Proben aus verschiedenen Stationen und Tiefen liefern eine große Menge an wissenschaftlichem Material, dessen Wert jedoch durch die Notwendigkeit der Probenauswertung begrenzt wird, es zeitaufwändig und damit kostenintensiv ist, größere Probenmengen zu analysieren, zu zählen und zeitgleich die Fehlerquote gering zu halten. Durch dieses Aufwandsproblem wird die Möglichkeit, die Dynamik von Ökosystemen und ihre zeitlichen und räumlichen Veränderungen zu verstehen, begrenzt.

In letzter Zeit sind im Bereich der Bildbearbeitung und -auflösung große Fortschritte erzielt worden, welche es möglich machen, Planktonproben automatisch und semi-automatisch zu sortieren und zu bestimmen. In den 1980er Jahren wurden mit Hilfe von Silhouettenfotographie und Videoaufnahmen optische Zählssysteme entwickelt, die Organismen in-situ und ex-situ auf Bildern und Videobändern festhalten (Jeffries et al., 1980; Rolke and Lenz, 1984). Zu diesen Systemen zählen der Optical Plankton Counter (Hermann 1988) und der Video Plankton Counter (Cabell et al., 1995), welche erstmals automatische taxonomische Klassifikation zuließen. Im Zuge der Verbesserung der optisch-technischen Möglichkeiten sowie Entwicklung von hochleistungsfähigen Computern mit großen Speicherkapazitäten konnten auch die automatisierten Verfahren zur Bearbeitung von Planktonproben weiterentwickelt werden und ein funktionierendes System der Bildanalyse entstehen. Das Erkennen von Zooplankton ist insofern eine Herausforderung für Mustererkennungsprogramme, da es eine Vielzahl von verschiedenen Erscheinungsformen und Größen gibt, sowie Abweichungen von Körperanhängen, beschädigte Tiere oder Aggregationen von mehreren Individuen. Durch Entwicklung hochmoderner Programme wurde es möglich, auch solche Muster zu erkennen und zu unterscheiden.

Der ZOOSCAN ist ein Bildaufnahmegerät mit speziell entwickeltem Lichtsystem und wasserdichter Scanoberfläche, in welches Zooplanktonproben gegeben, bei hoher Auflösung digitalisiert und ohne Beschädigung wieder entfernt werden können (Benfield et. al. 2007). Die auf den entstandenen Bildern festgehaltenen Tiere können anschließend durch Benutzung speziell entwickelter Software identifiziert, gezählt und ausgemessen werden. Zooplanktonscans bieten den Vorteil der permanenten Dokumentation fortlaufender Zeitreihen von Probennahmen und verbessern den Prozess der qualitativen und quantitativen Analyse. Jedoch gibt es Nachteile der Silhouettenfotographie, da die Auflösung oft nicht im Vergleich zu den originalen Organismen steht und somit die Möglichkeiten der taxonomischen Einteilung begrenzt werden können. Am Institut für Hydrobiologie und

Fischereiwissenschaften der Universität Hamburg ist ein Zooplanktonscanner vorhanden, der Proben kategorisiert und die Abundanzen erfassen kann. Im Rahmen dieser Arbeit sollen die Bestände des Zooplankton an einer Station im Auftriebsgebiet vor Namibia mit automatisierten Verfahren erfasst und diese dann mit konventionellen Methoden (manuelle Auszählungen) verglichen werden. Ebenso soll die Fragestellung diskutiert werden, ob der Bearbeitungsaufwand sowie die Fehlerquoten sich unterscheiden.

2. Material und Methoden

Der Benguelastrom ist eines der vier größten Strömungssysteme der Weltmeere und erstreckt sich zwischen 16° und 34° S entlang der 500 m Isobathe. Er wird in einen nördlichen (179000 km²) und südlichen (220000 km²) Bereich unterteilt. Dieses Gebiet ist Teil des subtropischen Wirbels (Berger & Wefer 2002) und liegt an der Südwestküste Afrikas. Das Seegebiet befindet sich westlich des Kaps der guten Hoffnung und grenzt an Angola im Norden. Im Süden ist die Grenze durch einen warmen Strom definiert, welcher im Indischen Ozean entsteht - der Agulhas-Strom. Durch starken Wind kommt es gelegentlich zu einem Einstrom des Agulhas in das Benguelaströmungssystem. Im Norden existiert die warme Angola Strömung, welche in den oberflächennahen Wasserschichten das Benguelawassergebiet abgrenzt (Angola-Benguela Front). Vieles deutet darauf hin, dass Wasser von Norden und Westen in den nördlichen Benguelabereich einströmt (Shannon & O`Toole 2003). Der nördliche Benguelashelf ist ein typisches Auftriebsgebiet mit äquatorwärts gerichteten Winden, kaltem Wasser und hoher Planktonbiomasse (Andrews & Hutchings 1980). Die südliche Benguelaregion ist durch saisonale windbedingte Auftriebsereignisse in den küstennahen Gebieten und durch wärmeres Wasser in den küstenfernen Gebieten gekennzeichnet. Das Ökosystem und dessen Variabilität ist von diesen Auftriebsereignissen geprägt, da sie Nährstoffanreicherungen hervorrufen (Boyer et al. 2001)

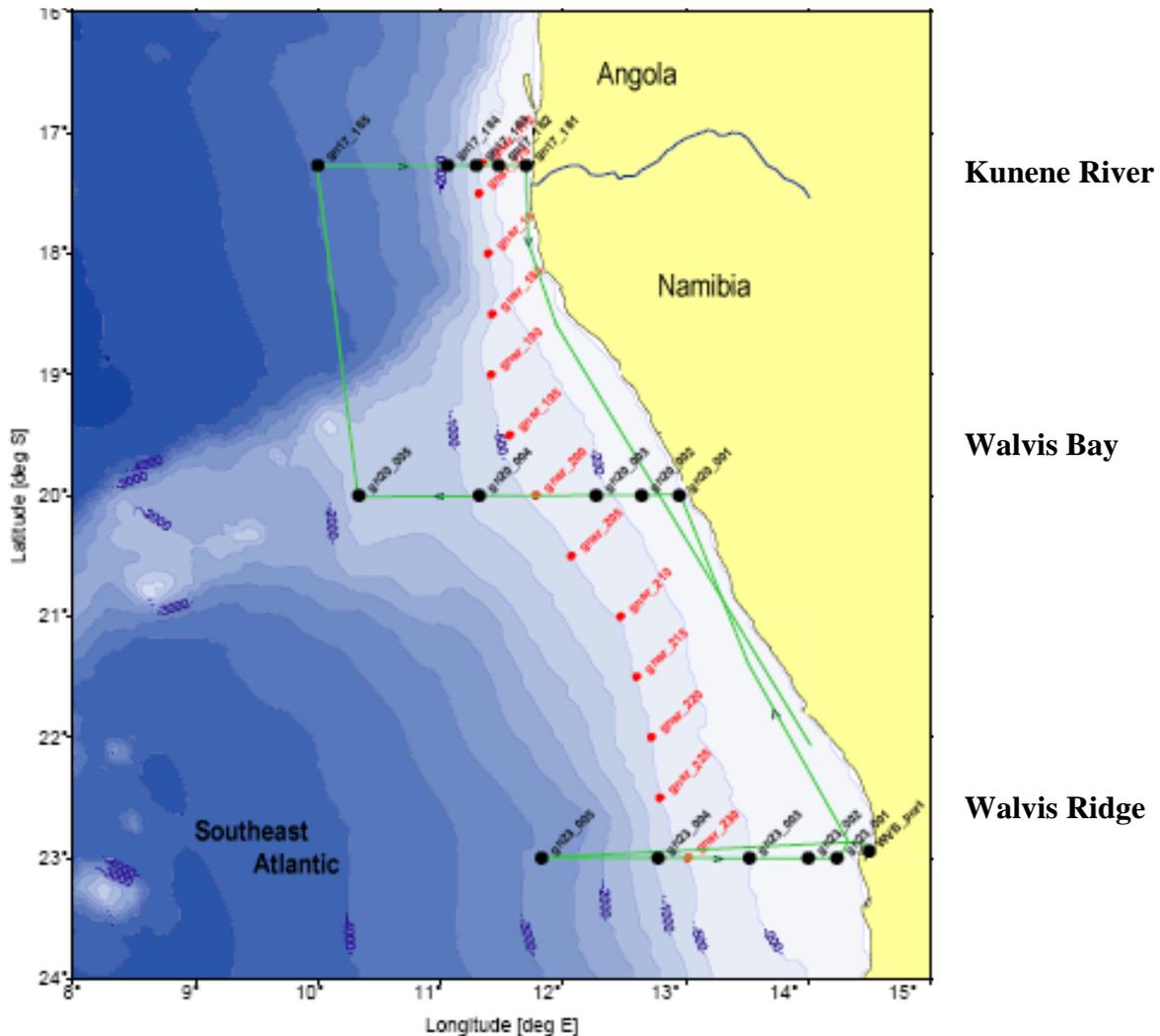


Abbildung 1: Transekte im Forschungsgebiet vor Namibia aus: Short cruise report – Research Vessel Maria S. Merian-Cruise (2008)

2.1. Probennahme

Die Zooplanktonproben für die Untersuchungen stammen aus der nördlichen Benguelaauftriebsregion vor der Küste Namibias zwischen 17°S und 23°S. Die Probennahme erfolgte während der Fahrt des Forschungsschiffes Maria S. Merian vom 09.03. - 04.04. 2008. Die Reise war in zwei Fahrtabschnitte geteilt, MSM 07- 2B und MSM 07- 3. Der erste Abschnitt begann am 09. und endete am 20. März, der zweite Abschnitt fand vom 22. März bis 04. April statt.

Im Untersuchungsgebiet wurden drei Transekte beprobt: Walvis Bay, Walvis Ridge und Kunene-River (Abbildung 1). An jeweils fünf Stationen wurden insgesamt 15 Hols mit dem

1m²-Doppel-MOCNESS (Multiple Opening/Closing Net and Environmental Sensing System; Wiebe et al. 1985) genommen. Dieses Fanggerät ist mit 2 mal 10 Netzen ausgestattet, welche eine 1m² große Netzöffnung besitzen. Die Netzöffnungsgröße bestimmt sich durch den Neigungswinkel des Gerätes von 45° beim Schleppen durch das Wasser bei einer Schiffsgeschwindigkeit von 2 kn. Schwankungen im Neigungswinkel werden aufgezeichnet und bei der Berechnung des filtrierte Volumens berücksichtigt. Die Maschenweite dieser Netze beträgt 333 µm. Durch den Tiefenmesser, das Flow- und Klinometer am Gerät kann über die Bordeinheit ständig die Gerätetiefe, Vertikalgeschwindigkeit und Schräglage im Wasser kontrolliert werden. Ist das Netz in die gewünschte Tiefenstufe gefiert, kann beim Hieven über die Bordeinheit das Öffnen der einzelnen Netze veranlasst werden. Wird ein Netz geöffnet, schließt sich automatisch das vorher geöffnete Netz, was eine feinstratifizierte Auflösung der Wassersäule ermöglicht. Die Netze wurden mit einer Geschwindigkeit 0,5 m s⁻¹ gehievt. Die maximale Holtiefe betrug 1000 m im ozeanischen Bereich. In der Tabelle 1 sind die genauen Daten der Probennahmen dargestellt. Für die Versuche dieser Arbeit wurden Proben jeder zweiten Tiefenstufe des Hols MOC-D-09 verwendet (Tabelle 2).

Tabelle 1: Stationen der 1m²-MOCNESS Probennahmen und Schiffspeditionen

Station	Hol	Datum	Uhrzeit	Latitude	Longitude	Tiefe	Holtiefe
			UTC			m	m
gn_23_005	MOC-D-01	10.03.08	07:30-09:45	22,59°	11,52°	2933	1000
gn_23_004	MOC-D-02	11.03.08	02:28-04:40	22,60°	12,49°	920	800
gn_23_003	MOC-D-03	11.03.08	10:55-11:40	23,00°	13,32°	216	150
gn_23_002	MOC-D-04	11.03.08	18:03-18:20	23,00°	13,32°	137	100
gn_23_001	MOC-D-05	11.03.08	23:22-23:43	20,02°	14,15°	105	75
gn_20_001	MOC-D-06	13.03.08	02:53-03:07	20,02°	12,56°	70	50
gn_20_002	MOC-D-07	13.03.08	07:36-08:01	20,02°	12,39°	127	100
gn_20_003	MOC-D-08	13.03.08	15:40-16:24	20,02°	12,17°	245	200
gn_20_004	MOC-D-09	14.03.08	01:10-03:40	20,03°	11,19°	1016	900
gn_20_005	MOC-D-10	14.03.08	15:05-17:19	20,03°	10,20°	1387	1000
gn_17_165	MOC-D-11	15.03.08	23:30-02:14	17,40°	10,04°	3980	1000
gn_17_164	MOC-D-12	16.03.08	11:40-14:17	17,21°	11,03°	1465	1000
gn_17_163	MOC-D-13	17.03.08	02:21-03:05	17,20°	11,18°	412	150
gn_17_162	MOC-D-14	17.03.08	06:09-06:31	17,17°	11,29°	155	100
gn_17_161	MOC-D-15	17.03.08	09:16-09:23	17,17°	11,42°	55	40

Tabelle 2: Quantifizierte Netze des Hols MOC-D-9

Netz	Fangtiefe/ m	Auslösezeit/ UTC	Koordinaten	Wasser-tiefe in m	Seil-länge	Schiffsgeschwindigkeit kn
L2	900-800	2:25	20°3,3 S 11°18,7 E	994	1419	1,7
L4	600-400	3:05	20°4,4 S 11°18,4 E	1006	690	2,1
L6	200-150	3:26	20°4,4 S 11°18,4 E	1014	253	1,8
L8	100-50	3:31	20°4,4 S 11°18,4 E	1016	107	2,2
L10	25-0	3:33	20°4,4 S 11°18,4 E	1016	57	2,5

2.2. Probenbehandlung

Nach der Probennahme wurden diese bei Bedarf mit Hilfe eines Motoda-Plankton-Teilers (MOTODA 1959) halbiert. Der Motoda-Teiler stellt eine Teilung der Probe in zwei gleiche Hälften sicher. Auf dem Schiff wurden die Proben konzentriert und mit filtrierter 4%iger Formol-Seewasserlösung, welche mit Natriumtetraborat gepuffert (pH 8,0-8,2) war, fixiert.

Im Labor an Land wurde eine Größenaufspaltung der Proben durch Siebkettenfraktionierung vorgenommen und als Ergebnis erhielt man je Probe 5 verschiedene Größenklassen des Zooplanktons: <0,5 mm , 0,5-1 mm, 1-2mm, 2-5 mm, > 5mm. Nach der Siebkettenfraktionierung im Labor wurden die Proben für die Individuenzählung in eine formolfreie Sortierlösung überführt, die aus 0,5% Propylenphenoxetol, 5% Propylenglykol und 94,5% entionisiertem Wasser besteht (Steedmann 1976). Je nach Zooplanktonkonzentration in der Probe wurde der Teilungsvorgang solange wiederholt, bis eine geeignete Aliquotgröße für die Zooscananalyse gefunden war (siehe unten). Dabei wurden absichtlich einige Proben auf ein kleineres Aliquot heruntergeteilt, um bei der Zooscananalyse testen zu können, ob es Unterschiede zwischen Proben mit hoher und Proben mit niedrigerer Individuendichte gibt. Tabelle 3 zeigt die Aliquotgröße für die verwendeten Proben.

Tabelle 3: Aliquotgröße der verwendeten Proben des Hols D9

Netz	Größenklasse	Aliquotgröße
L2	< 0.5 mm	1/2
	0.5–1 mm	1/2
	1-2 mm	1/4
	2-5 mm	1/2
	> 5 mm	1/2
L4	< 0.5 mm	1/20
	0.5–1 mm	1/20
	1-2 mm	1/20
	2-5 mm	1/10
	> 5 mm	1/20
L6	< 0.5 mm	1/4
	0.5–1 mm	1/10
	1-2 mm	1/2
	2-5 mm	1/2
	> 5 mm	1/10
L8	< 0.5 mm	1/4
	0.5–1 mm	1/20
	1-2 mm	1/2
	2-5 mm	1/2
	> 5 mm	1/20
L10	< 0.5 mm	1/20
	0.5–1 mm	1/100
	1-2 mm	1/20
	2-5 mm	1/20
	> 5 mm	1/2

2.3.Probenauswertung

2.3.1. Zooscan

Das ZOOSCAN-System ist speziell für eine hochauflösende, schnelle Digitalisierung von Zooplankton- und Mikronektonproben entwickelt worden und nutzt die moderne Scanner-Technologie mit speziellem Beleuchtungssystem und wasserdichter Scanoberfläche, welche das Fotografieren von Flüssigkeiten möglich macht (Grosjean et al., 2004). Solche flüssigen Proben können nach der Aufnahme ohne Beschädigung von der Oberfläche entfernt werden. Anschließend wird die Aufnahme mit Hilfe von automatisierten Analyse- und Messverfahren bearbeitet. Das Zooscan-System ist mit einem neuartigen Erkennungssystem ausgestattet,

welches unbekannte Proben bzw. deren Bestandteile mit benutzerdefinierten oder auch importierten Datensätzen vergleichen kann.

Die Zooscan-Hardware besteht aus zwei wasserdichten Hauptelementen, welche eine sichere Handhabung von flüssigem Probenmaterial ermöglichen. Die Schale, auch Scanzelle genannt, besitzt eine hochauflösende Aufnahmeeinheit und einen Abflusskanal, welcher die quantitative Entfernung der Probe vom Scanner gewährleistet (Abbildung 2). Der Deckel optimiert Lichtbedingungen und enthält eine Messeinheit für die optische Dichte (Gorsky et al. 2009).

Der Aufnahmebereich des Zooscan wird über die Auswahl zwischen zwei verschiedenen transparenten Rahmen definiert, welche in die Scan-Zelle eingesetzt werden. Der kleine Rahmen hat eine Aufnahmefläche von 11*24 cm, während der größere Rahmen eine Aufnahme von 15*24 cm ermöglicht. Die Rahmen besitzen eine 5 mm hohe Stufe, diese verhindert bei Hinzugabe der Probe die Bildung eines konkaven Randes, der die Bildqualität beeinflussen würde.

Die Zooplanktonproben werden direkt in die Scanzelle gegeben und einander überlappende Tiere werden manuell mit Hilfe eines kratzfreien Stäbchens getrennt sowie unmittelbar von der Kante des Rahmens in die Mitte der Zelle gerückt, um ein versehentliches Abschneiden des Bildes von Teilen der Tiere zu verhindern. Die manuelle Teilung von sich überlappenden Tieren ist insofern wichtig, da andernfalls zwei zusammenhängende Tiere möglicherweise als ein Tier fehlinterpretiert werden können.

In den auf eine geeignete Aliquotgröße heruntergeteilten Proben liegen die enthaltenen Tiere auf der Scanoberfläche bestenfalls so dicht, dass sie nicht überlappen oder sich berühren. Trotzdem muss die Probengröße groß genug sein, um die Ergebnisse repräsentativ auswerten zu können. In einer Größenklasse unter 0,5 mm sind ca. 1500-2000 Individuen auf 15*10 cm als Richtwert anzusehen, während bei einer Größenklasse von >0,5 mm nur ca. 500-800 Tiere als realistischer Wert für nicht-überlappende Bilder gelten (Grosjean et al. 2004). Vor der eigentlichen Aufnahme wird eine Blank- Aufnahme der Scanzelle gemacht, um den Hintergrund zu kalibrieren und eventuell vorhandene Kratzer oder Ähnliches zu eliminieren. Es folgt der Scan-Prozess der Probe, welcher mehrere Minuten in Anspruch nehmen kann.

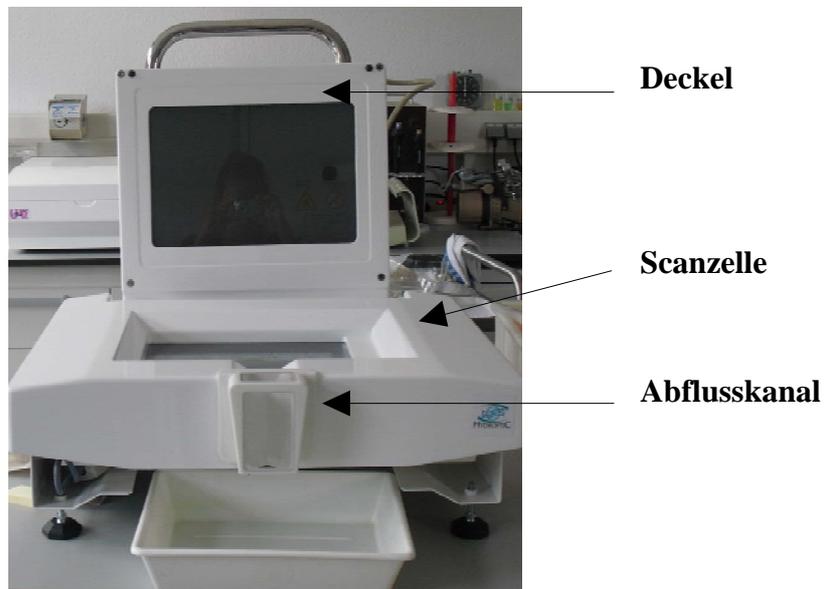


Abbildung 2: Der Zooscan

2.3.2. Zooprocess

Nachdem das Bild mit dem Zooscan aufgenommen wurde, folgt ein komplexer Prozess der Bildbearbeitung (Abbildung 3). Dazu wurde mit „Zooprocess“ ein spezielles Softwaresystem entwickelt, welches auf www.zooscan.com zum freien Download zur Verfügung steht.

Dieses Programm erfasst und sichert sämtliche Daten, die in der Digitalaufnahme mit oft über 1000 Tieren pro Scan enthalten sind (Benfield et al. 2007). Es ermöglicht die Bildbearbeitung und -analyse sowie die Extraktion einzelner Ausschnitte.

Das beim Scannen erhaltene Rohbild wird im nächsten Arbeitsschritt normalisiert, das heißt die gesamten Graustufen werden konvertiert. Hiermit einher geht das sogenannte „Prozessing“ des Bildes. Bei diesem Schritt wird der vorher aufgenommene Hintergrund vom konvertierten Probenbild abgezogen sowie Ränder und Ecken des Rahmens von der Aufnahme eliminiert. Folgend werden im Schritt „Extract Vignettes for Plankton Identifier“ sogenannte „Vignetten“ erstellt, diese beinhalten jeweils ein Objekt, welches dann einzeln

analysiert wird. In der so vorbereiteten Aufnahme können nun einzelne Objekte erkannt, extrahiert und gemessen werden. Für die weiterführende Beschreibung des Messverfahrens von Zooplanktern mit Hilfe des Zooprocess-Systems siehe auch Gorsky *et al.* (2004). Oft sind auf einer Vignette mehrere Objekte vorhanden - mit dem Arbeitsschritt "Separation using Vignettes" können sich berührende oder überlappende Tiere per Mausclick getrennt werden, indem ein Trennstrich gezogen wird. Diese Tiere werden im anschließenden nochmaligen Prozessingverfahren als voneinander unabhängige Objekte behandelt.

2.3.3. Plankton Identifier

Durch die vorangegangene Bearbeitung des Rohbildes ist es nun möglich, mit "Plankton Identifier" konkrete taxonomische Einordnungen und Zählungen durchzuführen. Dazu ist es notwendig, zuerst ein sogenanntes "Training Set" zu erstellen, in welchem von jeder für das betreffende Forschungsgebiet repräsentativen Tiergruppe eine bestimmte Anzahl von Bildern enthalten ist. Dieses Training Set stellt eine manuelle Klassifizierung der Organismen dar (Grosjean & Denis 2007).

Dieses Archiv ist die Grundlage für die späteren automatischen Bestimmungen des Systems. Für das Training Set des Namibiaprojektes wurden ausgewählte Organismengruppen der Proben des Hols 1; 3 und 4 aus den Tiefenstufen 900-800 m; 800-600 m; 600-400 m; 400-200 m; 200-150 m; 150- 100 m; 100- 50 m; 50- 25 m und 25- 0 m archiviert. Je nach Verfügbarkeit wurden zwischen 400 und 1000 Tiere je Gruppe fotografiert. Dabei war es wichtig, alle Größenklassen abzudecken und, wenn möglich, verschiedene Arten der jeweiligen Großgruppen zu erfassen, um die Wahrscheinlichkeit von späteren Fehlzuordnungen von unbekanntem Arten durch das System zu verkleinern. Auch wurden die Aufnahmen und damit die Erkennungsmöglichkeiten vervielfacht, indem die gleichen Tiere mehrmals in verschiedenen Positionen gescannt wurden, zum Beispiel durch behutsames "Umrühren" der Learning-Set-Probe in der Scanzelle und der nachfolgenden Aufnahme dieser veränderten Konstellation auf der Scanoberfläche. Der Vorteil hiervon ist, dass dadurch die Tiere in verschiedenen Ausrichtungen erfasst werden können und sich so ebenfalls die Fehlerkennungsquote durch das System verringern lässt. Tabelle 4 zeigt die Tier- und Zusatzgruppen, die ins Learning Set einbezogen wurden. Dabei wurde zwischen 14 taxonomischen und 6 unspezifischen Gruppen unterschieden.

Tabelle 4: Zuordnung der Learning-Set-Tiergruppen

Gruppe	Zuordnung
Cnidaria	Coelenterata
Polychaeta	Lophotrochozoa
Mollusca	Lophotrochozoa
Chaetognatha	unklare Zuordnung
Ostracoda	Ecdysozoa
Calanoida	Ecdysozoa
Cyclopoida	Ecdysozoa
Harpacticoida	Ecdysozoa
Crustcea-Larven	Ecdysozoa
Amphipoda	Ecdysozoa
Mysidacea	Ecdysozoa
Euphausiacea	Ecdysozoa
Salpida	Chordata
Fisch	Chordata
Exuvia	Tote Tiere und Hüllen
bubbles	Luftblasen
fiber	Fussel
detritus	Abfall, z.B abgefallene Beine
blurry	Unschärfe Bilder, auf denen man das Tier unzureichend erkennen kann
unknown	Unidentifizierbares Objekt

In den Ordner “Exuvien und Tote” wurden sämtliche Tiere eingeordnet, die schon vor der Probennahme tot waren, sowie Exoskelette und aufgrund von Beschädigungen nicht mehr zu identifizierende Tiere.

Es wurden jeweils Lernig-Ordner für in der Zelle vorhandene Luftblasen und kleinste Fusselteilchen sowie für unscharfe Objekte angelegt. Im Ordner “Detritus” wurden alle Teilchen aufgenommen, die weder zu ganzen Tieren gezählt, noch als Fussel oder unscharf identifiziert werden konnten, zum Beispiel abgefallene Beinchen oder Antennen. Nachdem die Ordner angelegt und mit Bildern befüllt wurden, folgte der Prozess der Kategorisierung der einzelnen Klassen. Dieser Vorgang wägt die Anzahl der Kategorien gegen die Anzahl der akzeptablen Fehlerquote auf (Culverhouse et al., 2003). Dies ist notwendig um herauszufinden, ob die Anzahl der im vorherigen Schritt gebildeten Großgruppenklassen mit der Leistung des Erkennungssystems vereinbar ist; zu viele Kategorien können einen zu hohen Fehler bedingen, da die Trennschärfe des Systems nicht ausreichend ist. Eine optimierte Kategorisierung stellt die beste Ausnutzung des Systemerkennungsvermögens dar. Während dieser Überprüfung werden Kategorien entwickelt, von denen jede nur Tiere gleichem optischem Erscheinungsbildes enthält. Kategorien, die sich oftmals gegenseitig überschneiden, werden automatisch zu einer zusammengefasst. Dieser Vorgang wird solange wiederholt, bis zu tolerierende Fehlerquoten übrig bleiben.

In Verbindung mit diesem Vorgang steht die Bildung einer “Confusion Matrix”. Diese Matrix überprüft das Kategorisieren, kontrolliert die klassifizierten und verfolgt die unidentifizierten Objekte und korrigiert falsch zugeordnete Tiere in die richtigen Gruppen. Im Anschluss an den automatischen Prozess des Zuordnens wird das Ergebnis kontrolliert und eventuell immer noch falsch klassifizierte Objekte manuell in den richtigen Ordner verschoben.

Nach dem Erstellen des Lernsets ist das Program in der Lage, nach dem Scannen einer Probe und deren Processing eine Plankton-Identifizierungs-Analyse zu starten. Während dieser Analyse vergleicht das System Vignetten des Lernsets denen der jeweiligen Probe, ordnet jeden Partikel in eine Klasse ein und kann im Nachhinein manuell nachbearbeitet werden, bis alle Aufnahmen in den richtigen Ordner verschoben wurden. Für jedes Objekt wird nach der Analyse ein Metadata-File angelegt, in dem alle Merkmale gespeichert werden, dazu gehören Größe, Breite, Graustufen, Bestimmung usw. (Bell & Hopcroft 2008). Diese Arbeitsschritte dauern ohne die Erstellung der Lernsets ca. 3,5 Stunden und sind in der Abbildung 3 als

Flussdiagramm in chronologischer Reihenfolge dargestellt. Je nach Übung des Programmbedienenden kann sich das Erhalten der Ergebnisse um einige Stunden verzögern.

Aus dieser Datensammlung wurde das Material in Microsoft Office Excel kopiert und dort weiter bearbeitet.

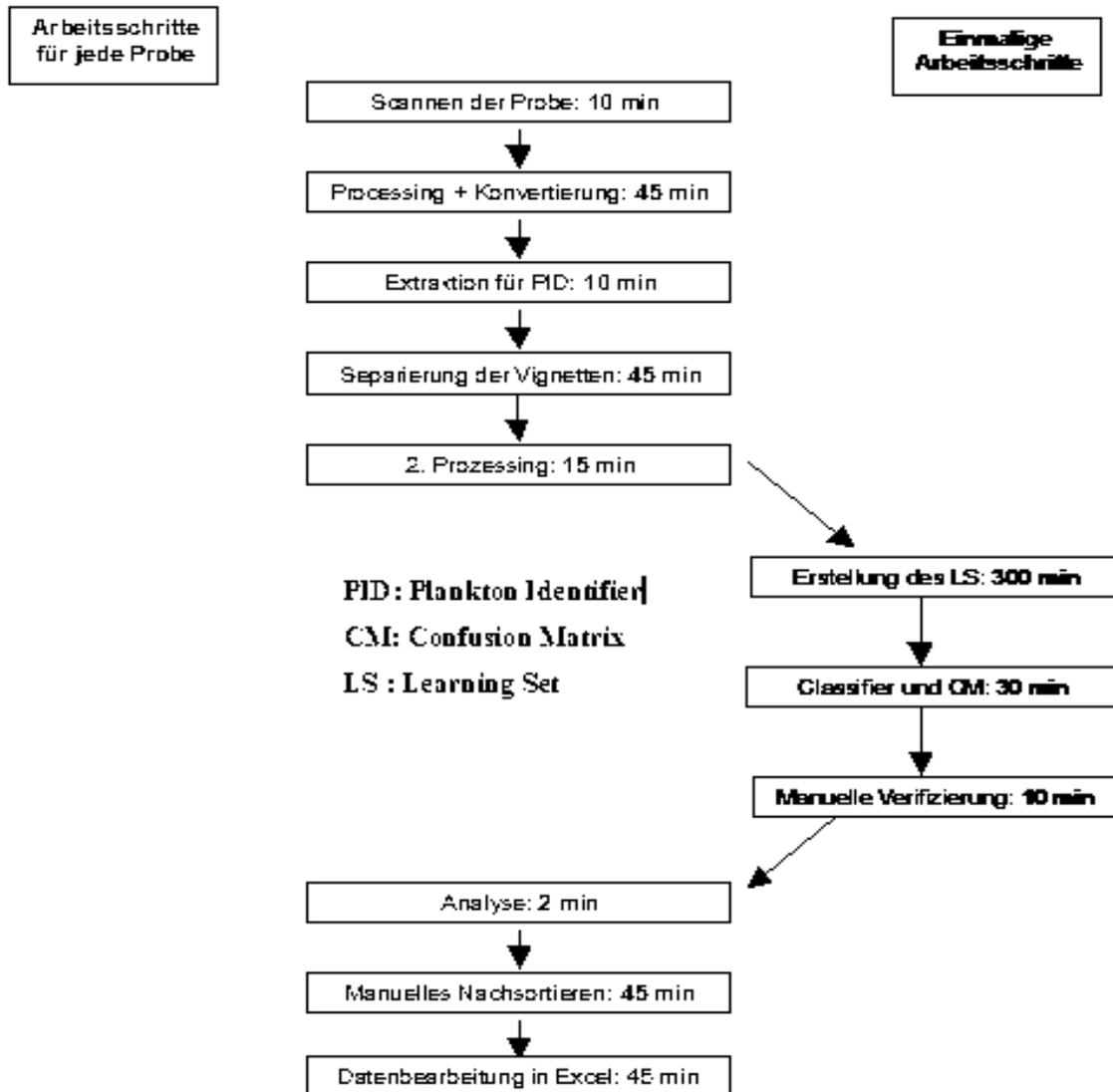


Abb. 3: Arbeitsschritte am Zooscan und Bildbearbeitung

2.3.4. manuelle Individuenzählung und taxonomische Bearbeitung

Um die Zählwerte vergleichen zu können, erfolgte nach der Zooscananalyse die qualitative und quantitative Bearbeitung per Hand mit Hilfe eines Binokulars. Die Individuen der einzelnen Gruppen wurden gezählt und gruppenweise verpackt. Bei der Zuordnung wurden einige Tiere gefunden, die bei der Fraktionierung beschädigt wurden, diese wurden wie folgt behandelt: Bei Copepoda, Euphausiacea, Mollusca und Fischen wurden die Kopfteile gezählt und die Hinterteile unberücksichtigt im "Rest" gelassen. Bei den Chaetognatha wurde umgekehrt vorgegangen, da ihr Körper im Verhältnis zum Kopf größer ist und sich somit der Kopf in anderen Fraktionen verloren haben könnte. Während der Bestimmung der Tiere wurde hauptsächlich auf Bestimmungsliteratur der Benguelaauftriebsregion zurückgegriffen (Smith,1977).

3. Ergebnisse

Der Vergleich von Scanner und manueller Zählung ergab, dass der Scanner bis auf eine Ausnahme weniger Tiere gezählt hatte als der Laborant. (Abbildung 4). Die Zählergebnisse für jedes Netz und die relativen Abweichungen für die jeweiligen Tiergruppen und Größenklassen sind im Anhang dargestellt (Tabellen A1-A10). Das Ausmaß der Abweichungen zwischen Scanner- und manueller Zählarbeit variierte stark und es kann keine generelle Aussage bezüglich der Abhängigkeit der Ergebnisse von speziellen Faktoren (wie zum Beispiel Größe der Tiere) getroffen werden. Bei einigen Proben zählte der Scanner nur halb so viele Tiere wie bei der manuellen Analyse (zum Beispiel Probe L4 der Größe >5 mm). Bei anderen hingegen näherten sich die Werte an, wie bei der Probe L6 der Größe 2-5 mm. Um die Dimensionen der Abweichungen zu verdeutlichen, wurden mittlere Abweichungsfaktoren für die einzelnen Größenklassen berechnet (siehe Tabelle 5). Diesem System folgend, müssen die vom Scanner erfassten Tiere mit dem ermittelten Faktor multipliziert werden, um auf den reellen Wert zu kommen. Die Werte für einzelne Gruppen unterscheiden sich stark: Während die Chaetognatha fast aller Größenklassen mit 1,2 bis 1,9 multipliziert werden müssen, sind es bei der Tiergruppe Calanoida Faktoren zwischen 0,7 und 2,3.

Weniger unterschiedlich fallen die Ergebnisse der Überprüfung der relativen Artenzusammensetzungen in den verschiedenen Größenklassen aus (Abbildung 5). Es wird deutlich, dass sich die prozentualen Anteile von Scanner- und manueller Zählung trotz

verschiedener Gesamtindividuenzahlen kaum unterscheiden. Bei beiden Analysemethoden stellt die Gruppe der Calanoida einen bedeutenden Anteil an der Gesamtzusammensetzung. Lediglich bei der Größenklasse $<0,5$ mm ist ein deutlicher Unterschied festzustellen: Beide Methoden zeigen einen überwiegenden Cyclopoidaanteil, jedoch ist dieser beim Scanner größer (54%) und bei der manuellen Zählung kleiner (48%) zugunsten eines größeren Calanoidenanteils. So erreichen die Calanoida zum Beispiel bei der Größenklasse 1-2 mm 83% beim Scanner und 86% bei der manuellen Zählung.

Am zweithäufigsten in allen Größenklassen kommen die Chaetognatha vor (durchschnittlich 10,9 % bei den manuell gezählten Tieren aller Größenklassen zusammen), sowie Crustacea-Larven. Die Polychaeta erreichen durchschnittlich 0,8 % am Gesamtanteil der manuell ausgewerteten Proben, Ostracoda 1,6 %. Die anderen Gruppen wurden aufgrund ihres geringen Vorkommens unter „Rest“ zusammengefasst.

Die Genauigkeit der Zählergebnisse des Scanners unterscheidet sich von Probe zu Probe. Um einen Gesamtüberblick zu gewinnen, wurden Abweichungen für alle gezählten Individuen innerhalb ihrer taxonomischen Großgruppe berechnet. Demnach weisen Cnidaria, Harpacticoida und Isopoda die größten Abweichungen auf (Tabelle 6), das heißt der Scanner erkannte in diesen Gruppen die wenigsten Tiere richtig. Am besten erkannte der Scanner Polychaeta, Chaetognatha und Cyclopoida, dessen Zählungen mit 5 %; 19 % und 15 % am wenigsten voneinander abwichen. Die automatisierte Zählung der Ostracoda wich in 37 % von der manuellen ab. Dazwischen standen die anderen Tiergruppen, zum Beispiel Calanoida (51 % Abweichung) und Amphipoda (55 %). Die in den verwendeten Proben nicht allzu häufig vorhandenen Fische wurden vom Scanner zum Großteil richtig erkannt. Kein einziges Tier zählte der Scanner hingegen in der Gruppe Cnidaria obwohl diese durchaus vorhanden waren. Die größten mittleren Abweichungen aller Größenklassen zusammen (Tabelle 8) zeigte das Netz L4 (92 %), welches insgesamt 2087 Tiere beinhaltete; die kleinste mittlere Abweichung wies Netz L10 (56 % mit 2984 Tieren insgesamt) auf. Damit lässt sich kein Zusammenhang zwischen kleineren Aliquotgrößen und relativen Abweichungen herstellen.

Um eventuelle Abhängigkeiten von der Größe der in den Proben vorhandenen Tiere festzustellen, wurden die relativen Abweichungen für kleinere ($<0,5-2$ mm) und größere (>2 mm) Klassen berechnet. Es zeigte sich, dass bei drei Netzen die Scannerzählungen der kleineren Größenklassen stärker von denen der größeren Klassen abwichen, bei 2 Netzen verhielt es sich umgekehrt. Auffällig war das Netz L6: Hier wichen die Scannerzählungen der

kleinen Größenklassen um 59% von den manuellen Zählungen ab, die größeren Klassen allerdings nur um 3%. Dieses Netz ist das mit den wenigsten Tieren insgesamt (808 Tiere manuell gezählt).

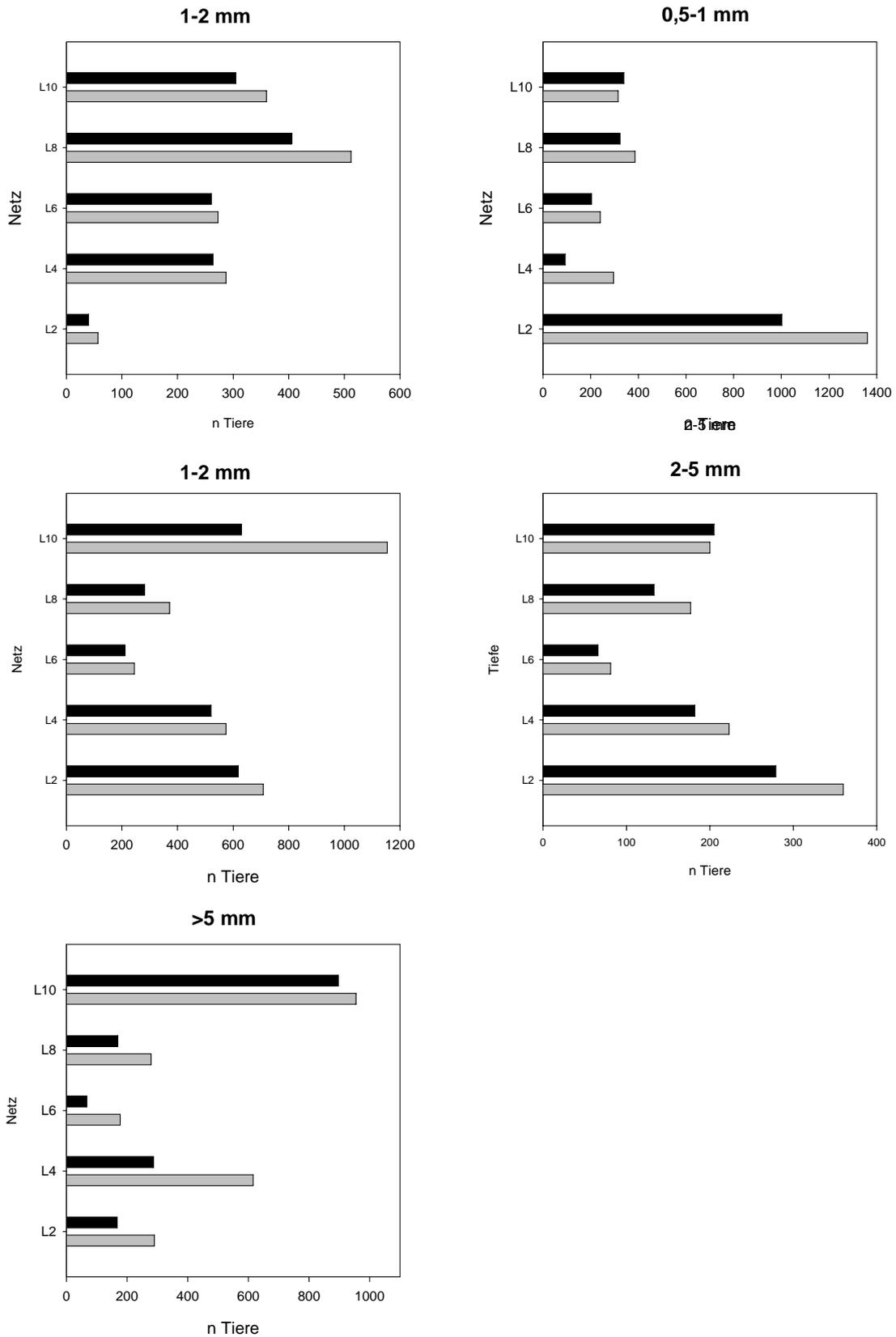


Abb. 4: Gesamtindividuenzahlen der Größenklassen, Scanner und manuelle Analyse im Vergleich. Bitte die unterschiedlichen Skalierungen beachten.

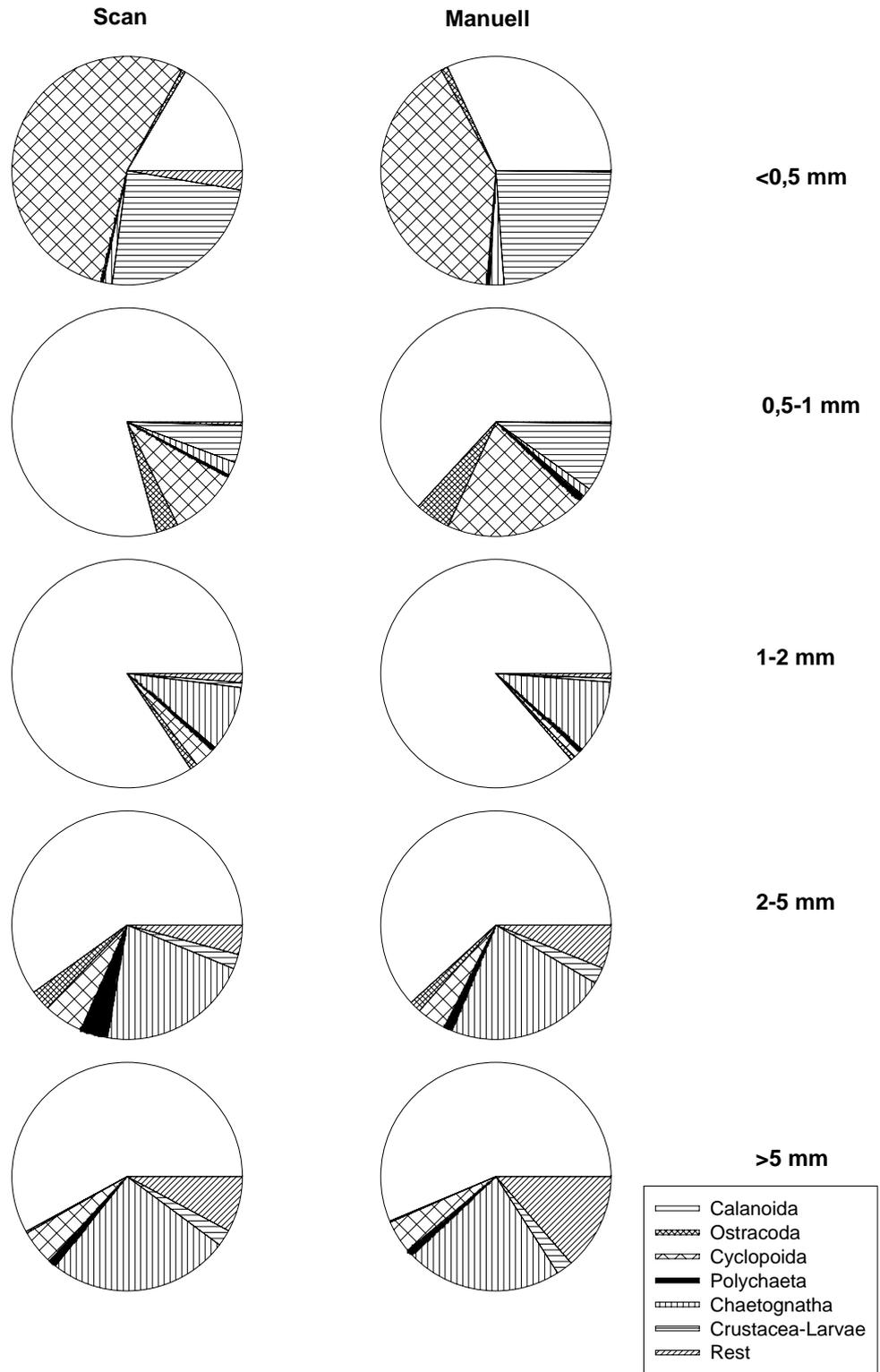


Abbildung 5: Relative Zusammensetzung der Großgruppen und ihre Größenklassen-
Vergleich Scanner und manuelle Analyse

Tabelle 5: Mittlerer Abweichungsfaktor von gezählten zu gescannten erfassten Individuen (gezählt/erfasst) und ihre Spannweiten

Taxa	< 0,5 mm	0,5-1 mm	1-2 mm	2-5 mm	>5 mm
Polychaeta	1,5	2,3	1,4	0,4	1,2
Mollusca				0,2	0,5
Chaetognatha	1,9	0,5	1,5	1,3	1,2
Ostracoda	2	1,4	0,7	0,7	1
Calanoida	2,3	0,7	1,3	1,3	1,4
Cyclopoida	0,8	1,7	0,4	0,9	1,3
Crustacea-Larven	7,4	1,5	1,0	1,3	1,4
Amphipoda		0,4	0,7	1,7	2,5
Isopoda			0	0,7	0,6
Euphausiacea			0,4	0,5	1,8
Cephalopoda			1		
Salpida			1,3	0,7	11
Fisch					1,6

Tabelle 6: mittlere Abweichungen von manuell gezählten zu gescannten Proben insgesamt

Kategorie	Abweichung in %
Cnidaria	100
Polycha	5
Mollusca	28
Chaetognatha	19
Ostracoda	37
Calanoida	51
Cyclopoida	15
Harpacticoida	100
Crustacea	27
Amphipoda	55

Isopoda	88
Euphausiacea	12
Cephalopoda	17
Salpida	77
Fisch	0
Exuvien	11

Tabelle 7: Mittlere Abweichungen in % von kleinen und größeren Klassen der gescannten zu manuell gezählten Proben im Vergleich

Netz	Gesamt- Individuenzahlen manuell gezählt	< 0,5 mm-2 mm	>2 mm
L 2	2756	94	82
L 4	2087	81	102
L 6	1017	59	3
L 8	1725	55	49
L 10	2984	75	37

Tabelle 8: Mittlere Abweichungen von gescannten zu manuell gezählten Tieren aller Tiergruppen aller Netze

Netz	Mittlere Abweichung in %
L2	87
L4	92
L6	75
L8	57
L10	56

4. Diskussion

Vom Zooscan wird erwartet, dass die mühsame Zähl- und Sortierarbeit am Binokular ersetzt wird. Das System verspricht eine effiziente und zeitsparende Alternative zu sein, die den nötigen Personalaufwand des Probensortierens verkleinern und einen Fortschritt in der Probenarchivierung bewirken kann. Werden digitale Fotos von einer Zooplanktonprobe

gemacht, könnten diese immer wieder angesehen und erneut bearbeitet werden, sobald noch neue Fragestellungen auftauchen. Es wird eine Minimierung der Fehler erwartet, welche durch den Bearbeiter verursacht werden, wie zum Beispiel Verzählen und falsches taxonomisches Einordnen des Tieres. Diese Fehler häufen sich, wenn der Laborant längere Zeit am Binokular arbeitet, die Augen ermüden und die Konzentration nachlässt. Ebenso können Fehler bei der Probenauswertung passieren, wenn die Proben aufgrund zu hoher Individuendichte auf kleinere Aliquots heruntergeteilt werden müssen. Dadurch ist das Risiko groß, dass im Aliquot zu wenig unterrepräsentierte Tiere vorhanden sind und es durch das Aufmultiplizieren auf die eigentliche Probengröße zu einem verfälschten Profil der Individuendichte und somit ihrer Verteilung kommen kann. Deshalb sollten so viele Aliquote ausgezählt werden, bis mindestens 30-40 Tiere erreicht sind (Koppelman et al., 2009). Da der Scanner idealerweise ein Bild der gesamten Probe macht und sowohl die weniger, als auch die hoch abundanten Arten vollständig erfasst und zählt, sollte dieses Problem der Vergangenheit angehören. Allerdings hat sich bei der praktischen Arbeit gezeigt, dass auch für den Scanner eine Probenteilung erforderlich ist. Daher sollten auch bei dieser Methode so viele Aliquote erfasst werden, bis 30-40 Individuen der Zielgruppe gezählt wurden. Auch sollte ein Bilderkennungssystem, welches Profile, Schattierungen und Formen zu bestimmten Tiergruppen zuordnen kann, eventuell bessere taxonomische Arbeit leisten als ein unerfahrener Laborant. Dieses Experiment wurde durchgeführt, um Klarheit über die Exaktheit der Hard- und Softwareeinheit zu erlangen sowie den Arbeits- und Zeitaufwand zu ermitteln und mit der manuellen Methode zu vergleichen. Während der Arbeit mit dem Zooscan wurde diese Erwartungshaltung in vielerlei Hinsicht korrigiert.

Die vom Scansystem erhobene Gesamtindividuenzahl aller Proben betrug 9174 Tiere, die Gesamtanzahl bei der manuellen Zählung ergab 10569 Tiere. Schon bei dieser groben Betrachtung ist ein quantitativer Unterschied festzustellen. Vergleicht man die Individuenzahlen der einzelnen Netze miteinander, fällt auf, dass die Netze L2 und L4 mit 87 % und 92 % die größten Abweichungen aufweisen im Gegensatz zu L8 (57 %) und L10 (56 %). L6 liegt mit 75 % dazwischen. Zieht man die dazugehörigen Gesamtindividuenzahlen der einzelnen Netze heran, ist ein Zusammenhang erkennbar: L2 und L10 sind die Netze mit den meisten Tieren, gefolgt von L4, L8 und L6 mit den wenigsten. Es deutet sich an, dass Proben mit hoher Individuendichte höhere Abweichungen aufweisen als Proben mit weniger Tieren. Dieses Phänomen ist mit der Verteilung der Tiere auf der Scanzelle zu erklären. Wenn, wie im Versuch beim Netz L2/>5 mm, sehr viele Tiere in dieser Zelle sind, fällt es schwer sie zu trennen. Oftmals hatten sich kleine Copepoden und Chaetognathen an die größeren Fische

oder Quallen geheftet bzw wurden von diesen verdeckt oder lagen obenauf. Beim Versuch, diese Tiere zu entfernen, verlagerten sich die nächsten, da alles so dicht gedrängt auf der Oberfläche lag. Es empfiehlt sich somit, vorher die Probe nach eigenem Ermessen auf eine ungefähre Größe von ca. 1000 bis 1500 Individuen zu teilen, um dieses Problem zu eliminieren.

Auch belegen die Gesamtindividuenzahlen von Scanner und manueller Zählung erhebliche Unterschiede. Manchmal zählte der Scanner mehr Tiere als bei der konventionellen Methode erfasst wurden, was vielleicht mit dem Verlorengehen einiger Individuen beim Entfernen der Probe vom Scanner erklärt werden kann. Allerdings ist es unwahrscheinlich, dass mehr als 100 Tiere beim Spülen verlorengingen. Ergab die manuelle Analyse mehr Tiere als die Scananalyse, so kann dies mit dem gehäuften Auftreten der Kategorie „Multiple“ in einigen Proben erklärt werden. Diese „Multiple“-Bilder entstehen, wenn sich mehrere Tiere auf einer Vignette befinden. Um dieses zu verhindern, wurden die zu nahe aneinander liegenden Individuen eigentlich im „Separation“-Arbeitsschritt durch manuell gezogene Striche voneinander getrennt, doch dieser Vorgang funktionierte nicht immer wie gewünscht. Viele Vignetten zeigten trotz gezogener Trennlinie noch mehrere Tiere und mussten somit in den Ordner „Multiple“ verschoben werden. Bei der manuellen Erfassung wurden sie als ein einziges Tier gezählt und so kommt die Abweichung in diese Richtung zustande. Es ist möglich, dass die Zahl der Trennstriche in einer Vignette begrenzt ist und somit einfach einige Tiere auf einem Bild verbleiben. Auch interpretierte das Scanprogramm einige Silhouetten vollkommen falsch, wie in Netz L2/ 0,5-1 mm: statt einem zählte das System 7 Amphipoda, ebenso im Netz L4/ <0,5 mm - der Scanner zählte 6 Amphipoden, tatsächlich war kein einziger in dieser Probe. Ähnlich verhält es sich mit der Gruppe der Mysidacea: Waren zum Beispiel 5 in L10/ 0,5-1 mm, so erkannte der Scanner keine von diesen. Möglicherweise ist die Vielfalt von komplexeren Tieren vom System nicht zu erfassen, zumal sie in unterschiedlichen Positionen auf der Scanfläche liegen. Eine Möglichkeit, diesen Fehler zu umgehen wäre die Anzahl der Learning-Scans im Learning-Set aufzustocken und so noch mehr von diesen komplexeren Tieren zu fotografieren und dem System auf diese Weise die Möglichkeit der Erkennung zu geben. Ähnlich verhielt es sich mit der Gruppe der Cnidaria. Der Scanner erkannte keines der 13 Tiere, die in Hol 9 vorkamen. Auch konnte diese Tiergruppe bei der anschließenden Sichtung der Vignetten nicht gefunden werden. Vermutlich fallen diese gelatinösen, nahezu durchsichtigen Tiere durch das Graustufenraster und werden schlichtweg als „Hintergrundrauschen“ abgezogen.

Ein Problem des manuellen Nachsortierens zeigte sich während der Arbeit auf: Manche Tiere konnte man auf dem Bild nicht eindeutig zuordnen, zum Beispiel ob es sich um eine Tier der Gruppe Calanoida oder Cyclopoida handelt. In so einem Fall würde man bei der manuellen Auszählung das Tier unter dem Binokular vergrößern, drehen, fokussieren und anschließend höchstwahrscheinlich bestimmen können. Bei der Scananalyse wird ein Bild unter dem Risiko der Fehlbestimmung in die eine oder andere Gruppe eingeordnet. Bei zu großer Unsicherheit gelangt es in die Kategorie „unscharf“ und ist eliminiert. In diesem Fall fehlt das Tier vollständig.

Die prozentuale Zusammensetzung der Tiergruppen in den verschiedenen Größenklassen zeigt, dass die Calanoida bei allen bis auf die kleinste Kategorie die dominante Tiergruppe darstellen. Es ist erwiesen, dass Calanoida den größten Anteil des Mesozooplanktons ausmachen (Weikert & Koppelman, 1992). Diese Tatsache konnte von den Zooscananalysen bestätigt werden.

Cyclopoida waren in den kleinsten Größenklassen mit 54 % im Scanergebnis am häufigsten vertreten. Dies ist typisch für Zooplankton, welches kleiner als 0,5 mm ist (Koppelman et al., 2003). Somit hat die Scananalyse die grobe Struktur der Zooplanktonproben erfasst und kann besonders für relative Zusammensetzungsprofile ein durchaus akzeptables Ergebnis liefern. Jedoch müssen für die teilweise erheblichen Abweichungen Gründe und Lösungen gefunden werden, da es bei Zählanalysen durchaus genau auf die gefundene Anzahl ankommt und Ergebnisse mit drastischen Abweichungen unbrauchbar sind. Einerseits scheint es bei Betrachtung der Ergebnisse der Gruppen Euphausiacea, Amphipoda und Cnidaria so, dass das System noch nicht imstande ist, komplexere Formen korrekt zu bearbeiten, andererseits liefert es zum Beispiel bei der Gruppe „Fische“ erstaunlich gute Ergebnisse. Daraus kann man ableiten, dass man bei der Erstellung von Kategorien und Learning-Sets auf diese Schwachstellen des Prozesses vermehrt achten sollte und es gerade bei diesen Gruppen mit mehr Informationen/ Tieren befüllen sollte als bei anderen. Im Anschluss an die Entwicklung ausführlicherer Lernsets könnten Probeanalysen durchgeführt werden um zu testen, ob das Ergebnis besser wird. Sollte dies nicht der Fall sein, müsste man überlegen, ob es sinnvoll wäre die problematischen Gruppen eventuell zu einer zusammenzulegen oder, sollte dies aus taxonomischen Gründen nicht vertretbar sein, sie ganz herauszunehmen.

Eine andere Verbesserungsmöglichkeit könnte folgendermaßen versucht werden: Sollte der Grund für die teilweise großen Abweichungen in der Probenhandhabung und der Anordnung auf der Scanoberfläche zu finden sein, so kann man durch mehrmaliges Scannen der gleichen Probe mehrere Zählwerte für ein und die selbe Probe erhalten, aus diesen einen Mittelwert

bilden und so den Fehler verringern. Auch kann auf diese Weise bei jedem erneuten Scan das Lernset mit weiteren Bildern befüllt werden. Eine andere Anordnung und somit komplett neue Lernperspektiven für die Lernsets erreicht man durch Neuaufteilung der Probe auf der Scanzelle. Dies kann durch einfaches Umrühren der Probe oder erneutes Auftragen nach Entfernung geschehen. Allerdings wäre die erste Variante empfehlenswert, da durch das Entfernen der Probe vom Gerät Tiere verloren gehen können und so ein zusätzlicher Fehler entstehen kann. Anschließend an die vergleichenden Scans und den Erweiterungen der Lernsets kann noch ein Kontrollscan gemacht werden, welcher direkt mit dem ersten Scan verglichen und somit festgestellt wird, ob eine Verbesserung eingetreten ist. Eine Komponente der Arbeit mit dem Zooscan ist die benötigte Zeit vom Vorbereiten der Probe bis hin zu den Ergebnissen. Als Zooscan-Neuling ist es ein großer Aufwand, sich in die komplexe Software einzufinden und für mich wäre es ohne Unterstützung einer erfahrenen Person kaum möglich gewesen, den Versuch durchzuführen. Dabei stellte das Scannen und Bildbearbeiten nicht das größte Problem dar, sondern die anschließenden Arbeitsschritte des Zooscansystems, deren Reihenfolge und Verständnis. Der Zeitfaktor hängt hierbei vom Verständnis für Programme und Datenverarbeitung des jeweiligen Versuchsdurchführenden ab. Ist das System einmal verstanden, geht es von Probe zu Probe schneller und möglicherweise kann der Zooscan eine echte Alternative zur manuellen Zählarbeit werden, wenn noch einige Punkte optimiert werden. Zu dem Stand, auf dem das Zooscansystem momentan ist, würde die beste Lösung und Nutzungsmöglichkeit eine Aufteilung auf Scan und manuelle Sortieren sein, jedoch kein Ersatz. Man kann die Stärken des Zooscans nutzen und beispielsweise große Mengen Copepoden oder Ostracoden vom Scanner zählen lassen, um hier Arbeitszeit und -aufwand zu sparen, vorher jedoch aus der großen Menge alle anderen Tiere herauszusuchen, die das Gerät sowieso nur unzureichend und nicht zufriedenstellend bearbeitet, um auch hier die Genauigkeit der Probenbearbeitung zu gewährleisten. Zusammenfassend ist zu sagen, dass der Zooscan ein innovatives Gerät ist, mit dem sich durchaus verwertbare Ergebnisse erzielen lassen. Ein Vorteil ist die Proben- und Ergebnisarchivierung, da von jeder Probe Foto- und Zählmaterial in digitalisierter Form vorliegen und jederzeit der ursprüngliche Zustand der Probe rekonstruiert werden kann. Bis Aufwand und die Genauigkeit des Systems der manuellen Zählanalyse entsprechen können, bedarf es noch einiger Veränderungen im Systemablauf sowie trainierten Personals.

5. Literaturverzeichnis

- Andrews, WRH., Hutchings L (1980) Upwelling in the southern Benguela current. *Progress in Oceanography* 9:1–81.
- Barnes, EK (2007) Shifts in the Benguela ecosystem and recommendations for protecting Namibia's fishery economy
- Bell JL, Hopcroft RR (2008) Assessment of ZooImage as a tool for the classification of zooplankton: *Journal of Plankton Research* 30: 1351-1367
- Benfield MC, Grosjean P, Culverhouse P, Irigoien X, Sieracki ME, Lopez-Urrutia A, Dam HG, Hu Q, Davis CS, Hansen A, Pilskaln CH, Riseman E, Schultz H, Utgoff PE, Gorsky G (2007) RAPID: research on automated plankton identification *Oceanography* 20: 12-26
- Berger, WH, Wefer, G (2002) On the reconstruction of upwelling history: Namibia upwelling in context. *Marine Geology* 180, 3-28
- Boyer DC, Hampton I (2001) An Overview of the living marine resources of Namibia. In: Payne AIL, Pillar SC, Crawford RJM (eds) *A decade of Namibian fisheries science*. *South African Journal of Marine Science* 23: 5-35
- Cabell S, Davis, Scott M, Gallagher, Martin Marra and W. Kenneth Stewart (1995) Rapid visualization of plankton abundance and taxonomic composition using the Video Plankton Recorder
- Cury P, Shannon L (2004) Regime shifts in upwelling ecosystems: observed changes and possible mechanisms in the northern and southern Benguela: *Progress In Oceanography* 60: 223-243
- Gorsky G, Ohman MD, Picheral M, Gasparini S, Stemmann L, Romagnan JB, Cawood A, Pesant S, Garcia-Comas C, Prejger F (2009) Digital zooplankton image analysis using the ZooScan integrated System. *Journal of Plankton Research* 32: 285-303

Grosjean P, Picheral M, Warembourg C, Gorsky G (2004) Enumeration, measurement, and identification of net zooplankton samples using the ZOOSCAN digital imaging system. *Int. Counc. Explor. Sea Journal of Marine Science* 61: 518-525

Grosjean P, Denis K (2007) ZooImage User's Manual.

<http://www.sciviews.org/Zoo/PhytoImage>

Herman A W (1988) Simultaneous measurement of zooplankton and light attenuation with a new optical plankton counter. *Cont. Shelf Res.* 8: 205-221.

Koppelman R, Fabian H, Weikert H (2003) Temporal variability of deep-sea zooplankton in the Arabian Sea

Koppelman R, Böttger-Schnack R, Möbius J, Weikert H (2009) Trophic Relationships of zooplankton in the eastern Mediterranean based on stable isotope measurements. *Journal of Plankton Research* 31 669-686

Lenz J (2000) Introduction In: Harris RP, Wiebe PH, Lenz J, Skjoldal HR, Huntley M (eds) *Int. Counc. Explor. Sea Zooplankton Methodology Manual*, Academic Press, London, pp 1-32

Loick N, Ekau W, Verheye HM (2005) Water-body preferences of dominant calanoid copepod species in the Angola-Benguela frontal zone. *African Journal of Marine Science* 27: 597-608

Motoda, S (1959). Devices of simple plankton apparatus. *Memoirs of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University*, 7: 73-94.

Nelson, G, Hutchings, L, (1983) The Benguela Upwelling Area. *Prog Oceanography* 12: 333-356

Shannon LV, O'Toole MJ (2003) Sustainability of the Benguela: ex africa semper aliquid novi. In: Hempel G, Sherman K (eds) *Large marine ecosystems of the world: trends in exploitation, protection and research*. Elsevier Verlag, Amsterdam, pp 227-253

Smith DL (1977) A Guide to Marine Coastal Plankton and Marine Invertebrate Larvae.

Steedmann HF (1976) Examination, sorting and observation fluid. In: Steedmann:
Zooplankton fixation and preservation UNESCO press, Paris: 182-183

Verheye HM, Hagen W, Auel H, Ekau W, Loick N, Rheenen I, Wencke P, Jones S (2005)
Lifestrategies, energetics and growth characteristics of *Calanoides carinatus*
(Copepoda) in the Angola-Benguela frontal region. African Journal of Marine Science 27:
641-651

Weikert H, Koppelman R (1992) Vertical structural patterns of deep-living zooplankton in the
NE Atlantic, the Levantine Sea and the Red Sea: a comparison. Oceanologica Acta 16/2 163-
177

Wiebe PH, Morton AW, Bradley AM, Backus RH, Craddock JE, Barber TJ (1985) New
developments in the MOCNESS, an apparatus for sampling zooplankton and micronecton.
Mar. Biol. 87: 313-323

III. Anhang

Tabelle A1: Individuenanzahl in Netz L2

Kategorie	< 0,5 mm		0,5-1 mm		1-2 mm		2-5 mm		> 5 mm	
	Scan	man.	Scan	man.	Scan	man.	Scan	man.	Scan	man.
Cnidaria	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
Polychaeta	1	0	9	16	4	7	10	9	2	5
Mollusca	0	0	0	1	0	0	0	1	0	
Chaetognatha	1	0	19	3	6	11	22	41	78	88
Ostracoda	1	3	87	116	20	12	14	17	2	2
Calanoida	14	47	778	1052	582	664	227	269	76	160
Cyclopoida	22	2	88	165	5	11	2	8	6	7
Harpacticoida	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
Crustacea-Larven	0	4	12	7	0	1	0	0	1	1
Amphipoda	0	0	7	1	1	2	3	10	0	1
Isopoda	0	0	2	1	0	0	0	0	0	
Mysidaceae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Euphausiidae	0	0	0	0	0	0	1	0	2	3
Cephalopoda	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Salpidae	0	1	0	0	0	2	0	1	0	1
Fisch	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
mehrere	0		171		50		16		11	
fiber	3		5		16		2		0	
bubble	23		6		0		0		0	
detritus	0		0		0		0		0	
Exuvien/ Tote	12	3	29	36	14	7	22	41	19	22

Tabelle A2: relative Abweichungen von gescannten zu manuell gezählten Proben in % im Netz L2

Kategorie	< 0,5 mm	0,5- 1 mm	1-2 mm	2-5 mm	> 5 mm	MW
Cnidaria				100	100	100
Polychaeta	100	78	75	10	150	39
Mollusca	100			100	100	100
Chaetognatha	100	84	83	13	160	0
Ostracoda	200	33	40	0	100	43
Calanoida	236	35	14	111	116	83
Cyclopoida	91		120	17	55	87
Harpacticoida				100		100
Crustacea		42		0	53	21
Amphipoda		86			100	74
Isopoda		50			100	50
Salpida	100			50		100
Exuvien	271	62	85	67	55	52
Mittelwert	27	10	56	39	34	

Tabelle A3: Individuenanzahl in Netz L4

Kategorie	< 0,5 mm		0,5-1 mm		1-2 mm		2-5 mm		> 5 mm	
	Scan	man.	Scan	man.	Scan	man.	Scan	man.	Scan	man.
Cnidaria	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
Polychaeta	3	6	0	5	3	3	20	1	1	1
Mollusca	1	0	0	0	0	0	3	0	5	2
Chaetognatha	0	0	9	0	14	15	27	33	58	93
Ostracoda	1	2	1	4	0	0	11	0	0	0
Calanoida	47	80	1225	91	483	532	89	150	194	374
Cyclopoida	159	145	55	199	7	7	16	15	17	28
Harpacticoida	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Crustacea-Larven	47	53	27	88	3	4	9	5	4	3
Amphipoda	6	0	1	0	0	0	2	1	1	0
Isopoda	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mysidaceae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Euphausiaceae	0	0	0	0	0	0	4	0	40	
Cephalopoda	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Salpida	0	1	0	0	10	13	0	17	0	97
Fisch	0	0	0	0	0	0	1	0	3	6
fiber	1061		530		541		384		1118	
bubble	60		55		16		23		75	
detritus	14		11		5		3		9	
Exuvien/ Tote	38	25	101	38	15	19	6	52	40	15
unknown	1	1	1	0	0	0	0	0	4	
blurry	36		20		6		0		38	

Tabelle A4: relative Abweichungen von gescannten zu manuell gezählten Proben in % im Netz L4

Kategorie	< 0,5 mm	0,5- 1 mm	1-2 mm	2-5 mm	> 5 mm	MW
Cnidaria					100	100
Polychaeta	100		0	95	0	1
Mollusca	100			100	60	87
Chaetognatha		100	7	22	60	3
Ostracoda	100	300		100		100
Calanoida	70	93	10	69	93	30
Cyclopoida	9	262	0	6	65	62
Crustacea	13	226	33	44	25	41
Amphipoda	100	100		50	100	88
Euphausiidae				100	100	100
Salpida			30		100	35
Fisch				100	100	0
Exuvien	34	62	27	767	63	127
Mittelwert	5	62	15	24	19	

Tabelle A5: Individuenanzahl in Netz L6

Kategorie	< 0,5 mm		0,5-1 mm		1-2 mm		2-5 mm		> 5 mm	
	Scan	man.	Scan	man.	Scan	man.	Scan	man.	Scan	man.
Cnidaria	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Polychaeta	71	0	0	0	3	3	2	1	1	1
Mollusca	0	0	0	0	0	0	2	3	11	22
Chaetognatha	29	4	28	20	75	125	27	47	10	34
Ostracoda	4	4	7	10	3	3	0	0	0	0
Calanoida	7	8	6	73	120	106	32	17	18	34
Cyclopoida	1316	76	35	39	5	1	0	2	6	6
Crustacea	74	181	69	98	1	6	0	7	4	11
Amphipoda	175	0	2	0	1	1	0	0	0	1
Isopoda	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0
Euphaudiaceae	3	0	0	0	2	0	3	0	17	69
Salpida	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
mehrere	7	0	2	0	1	0	0	0	9	0
fiber	3	0	569	0	527	0	262	0	1595	0
bubble	0	0	43	0	12	0	9	0	40	0
detritus	439	0	14	0	61	0	12	0	107	0
Exuvien/ Tote	3	24	80	17	22	15	9	9	13	11
unknown	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
blurry	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle A6: relative Abweichungen von gescannten zu manuell gezählten Proben in % im Netz L6

Kategorie	< 0,5 mm	0,5- 1 mm	1-2 mm	2-5 mm	> 5 mm	MW
Polychaeta			0	50	0	17
Mollusca				50	100	75
Chaetognatha	33	29	67	74	240	77
Ostracoda	33	43	0			25
Calanoida	14	20	12	47	89	13
Cyclopoida	7	11	80	100	0	32
Crustacea	3	42	500	100	175	124
Amphipoda	100	100	0			67
Isopoda		100				100
Euphausiaceae			100	33	306	58
Salpida				100		100
Exuvien	66	79	32	0	15	39
Mittelwert	11	24	38	34	112	

Tabelle A7: Individuenanzahl in Netz L8

Kategorie	< 0,5 mm		0,5-1 mm		1-2 mm		2-5 mm		> 5 mm	
	Scan	man.	Scan	man.	Scan	man.	Scan	man.	Scan	man.
Cnidaria	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Polychaeta	0	0	0	0	0	0	1	1	7	7
Mollusca	0	0	0	0	3	0	3	3	7	15
Chaetognatha	2	0	0	0	14	10	19	15	14	9
Ostracoda	0	1	2	2	1	1	0	0	0	0
Calanoida	45	128	162	204	246	344	77	121	67	144
Cyclopoida	299	323	101	112	7	8	17	18	35	47
Crustacea	52	59	59	68	5	6	7	12	12	23
Amphipoda	5	0	0	0	2	0	1	0	4	1
Isopoda	0	0	0	0	3	0	1	0	0	0
Euphausiidae	2	0	0	0	1	0	6	6	23	1
Salpidae	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Fisch	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
mehrere	5		4		43		12		3	
fiber	799		495		264		542		609	
bubble	175		29		23		15		57	
detritus	12		9		5		18		8	
Exuvien/ Tote	43	23	67	16	29	10	29	8	15	6
unknown	0	0	2	0	2	2	4		1	27
blurry	74	0	7	0	8	0	14		23	5

Tabelle A8: relative Abweichungen von gescannten zu manuell gezählten Proben in % im Netz L8

Kategorie	< 0,5 mm	0,5- 1 mm	1-2 mm	2-5 mm	> 5 mm	MW
Cnidaria					100	100
Polychaeta				0	0	0
Mollusca			100	0	115	5
Chaetognatha	100		29	21	36	46
Ostracoda	100	0	0			33
Calanoida	184	26	40	57	115	84
Cyclopoida	8	11	14	6	34	15
Crustacea	13	15	20	71	92	42
Amphipoda	100		100	100	75	94
Isopoda			100	100		100
Euphausiidae	100		100	0	17	4
Salpida	100					100
Fisch				0	0	0
Exuvien	47	76	66	72	60	64
Mittelwert	38	5	22	14	9	

Tabelle A9: Individuenanzahl in Netz L10

Kategorie	< 0,5 mm		0,5-1 mm		1-2 mm		2-5 mm		> 5 mm	
	Scan	man.	Scan	man.	Scan	man.	Scan	man.	Scan	man.
Cnidaria	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Polychaeta	0	0	0	0	0	1	0	0	5	5
Mollusca	1	0	0	0	2	1	1	1	17	19
Chaetognatha	10	26	6	11	99	153	91	101	245	282
Ostracoda	2	4	0	1	0	1	0	0	2	2
Calanoida	98	112	300	280	473	990	94	87	566	584
Cyclopoida	141	63	33	18	44	6	13	0	16	18
Harpacticoida	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Crustacea	36	55	3	0	7	0	2	0	16	15
Amphipoda	14	0	0	0	1	0	0	1	0	0
Isopoda	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Mysidacea	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0
Euphausiacea	1	0	0	0	2	0	1	3	17	18
Cephalopoda	0	0	0	0	1	1	2	1	1	1
Salpida	0	0	0	0	0	0	0	6	10	10
Fisch	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
mehrere	2		1		199		1		5	
fiber	1799		344		869		709		801	
bubble	51		23		7		13	0	7	
detritus	21		1		6		6	0	3	
Exuvien/Tote	64	29	35	16	32	21	11	15	11	12
unknown	0		0		0		0		1	
blurry	117		8	0	25		10		45	

Tabelle A10: relative Abweichungen von gescannten zu manuell gezählten Proben in % im Netz L10

Kategorie	< 0,5 mm	0,5- 1 mm	1-2 mm	2-5 mm	> 5 mm	MW
Polychaeta					0	0
Mollusca	100		50	0	12	35
Chaetognatha	160	83	55	11	15	65
Ostracoda	100				0	50
Calanoida	116	6	109	7	3	43
Cyclopoida	55	45	86	100	13	55
Crustacea	53	100	100	100	6	51
Amphipoda	100		100			100
Isopoda	100			100		100
Euphausiacea	100		100	200	6	2
Cephalopoda			0	50	0	17
Salpida				100	0	50

IV. Danksagung

An dieser Stelle bedanke ich mich bei meinem Erstgutachter Prof. Dr. Christian Möllmann (Institut für Hydrobiologie und Fischereiwissenschaft, Universität Hamburg) für die Überlassung des Themas meiner Arbeit. Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Zweitgutachter Dr. Rolf Koppelman (Institut für Hydrobiologie und Fischereiwissenschaft, Universität Hamburg), für die zielführende Betreuung und Anleitung zur korrekten wissenschaftlichen Vorgehensweise. Weiterhin danke ich Dr. Bettina Martin (Institut für Hydrobiologie und Fischereiwissenschaft, Universität Hamburg) für ihre hilfsreiche Korrektur meiner Bachelorarbeit und Anneke Denda (Institut für Hydrobiologie und Fischereiwissenschaft, Universität Hamburg) für jegliche Hilfestellung während meiner Arbeit im Institut. Einen großes Dankeschön an unsere Technische Assistentin Silke Janßen (Institut für Hydrobiologie und Fischereiwissenschaft, Universität Hamburg), ohne deren geduldige Erklärungen und Antworten die Arbeit mit dem Zooscan unmöglich gewesen wäre. Lieben Dank an meine Familie Dr. Petra Kesselring und SR Inge Kesselring, die mir immer sowohl finanziell als auch moralisch mit Rat und Tat zur Seite steht.

V. Eidesstattliche Erklärung

Hiermit bestätige ich, dass die vorliegende Arbeit von mir selbständig verfasst wurde und ich keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel – insbesondere keine im Quellenverzeichnis nicht benannten Internet-Quellen – benutzt habe und die Arbeit von mir vorher nicht einem anderen Prüfungsverfahren eingereicht wurde. Die eingereichte schriftliche Fassung entspricht der auf dem elektronischen Speichermedium. Ich bin damit einverstanden, dass die Bachelorarbeit veröffentlicht wird.

Tina Kesselring