

stowa

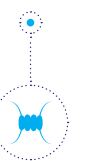


HANDBOEK HYDROBIOLOGIE

Biologisch onderzoek voor de ecologische
beoordeling van Nederlandse zoete
en brakke oppervlaktewateren

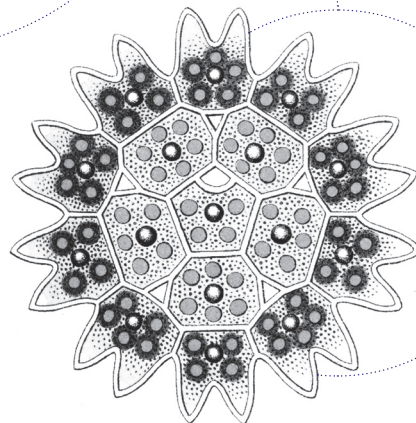
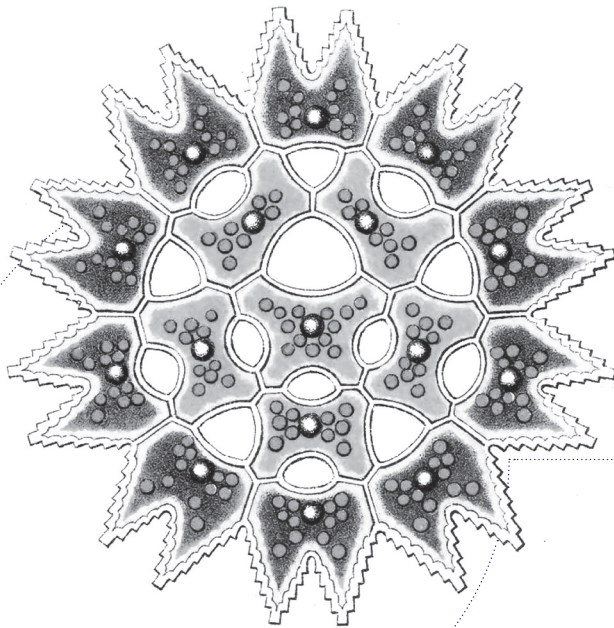
INHOUDSOPGAVE HANDBOEK HYDROBIOLOGIE

<p>I</p> <p>II</p>	<p>Informatie</p> <p>Micro</p> <p>7: Fytoplankton</p> <p>8: Sieralgen</p> <p>9: Kiezelwieren</p> <p>10: Zoöplankton</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Achtergrondinformatie • Werkvoorschrift A: Bemonstering van fytoplankton in oppervlaktewater • Werkvoorschrift B: Analyse van fytoplankton in oppervlaktewater <ul style="list-style-type: none"> • Achtergrondinformatie • Werkvoorschrift A: Bemonstering van sieralgen in oppervlaktewater • Werkvoorschrift B: Analyse van sieralgen in oppervlaktewater met omkeermicroscop • Werkvoorschrift C: Analyse van sieralgen in oppervlaktewater met staande microscop <ul style="list-style-type: none"> • Achtergrondinformatie • Werkvoorschrift A: Bemonstering van kiezelwieren in oppervlaktewater • Werkvoorschrift B: Analyse van kiezelwieren in oppervlaktewater <ul style="list-style-type: none"> • Achtergrondinformatie • Werkvoorschrift A: Bemonstering van zoöplankton voor EBeo • Werkvoorschrift B: Analyse van zoöplankton voor EBeo
<p>III</p> <p>IV</p>	<p>Macro</p> <p>Bijlagen</p>	



HOOFDSTUK 7 FYTOPLANKTON

Dit hoofdstuk geeft het werkvoorschrift voor de bemonstering en analyse van fytoplankton. De voorschriften zijn bedoeld voor een ecologische beoordeling met de KRW-maatlat en de EBeo-systemen. Met de resultaten kunnen echter ook andere vragen beantwoord worden. Om de voorschriften beter te kunnen begrijpen geven we eerst wat achtergrondinformatie over het fytoplankton. Wie meer over fytoplankton wil lezen vindt tussen de tekst suggesties.



7.1 INLEIDING

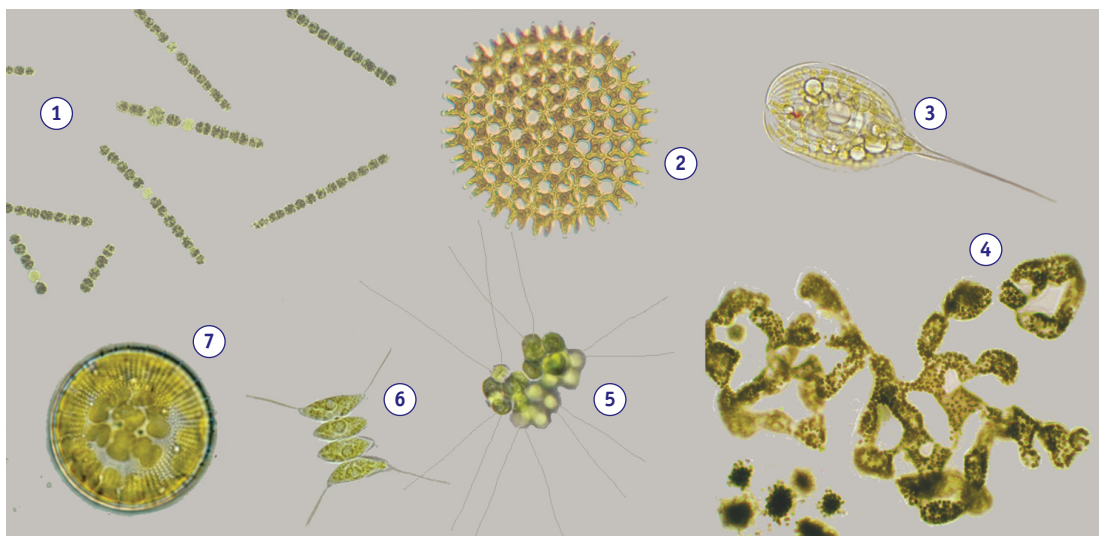
7.1.1 Biologie

Wat is fytoplankton?

Fytoplankton is een verzamelnaam voor plantaardige micro-organismen in de waterkolom van het oppervlaktewater. Meestal worden ze kortweg algen genoemd, of wieren. Deze organismen zijn in principe ééncellig, maar bij veel soorten zijn de cellen verenigd tot kolonies of draden (figuur 7.1). In het fytoplankton komen ook sialgalen en kiezelwieren voor. De meeste soorten uit deze twee groepen leven echter niet planktisch maar benthisch. Daarom zijn voor deze algen andere onderzoeksmethoden nodig (zie hoofdstuk 8 en 9).

Fig 7.1. Fytoplankton is een vormenrijke groep

(1 = *Anabaena*, 2 = *Pediastrum*, 3 = *Phacus*, 4 = *Microcystis*, 5 = *Micractinium*, 6 = *Desmodesmus*, 7 = *Stephanodiscus*)



Indeling

In het fytoplankton vindt men vertegenwoordigers van een groot aantal taxonomische klassen (tabel 7.1). Traditioneel echter, maakt men in het waterkwaliteitsonderzoek onderscheid tussen vier groepen van fytoplankton:

- 1 blauwalgen of cyanobacteriën;
- 2 groenalgen;
- 3 kiezelalgen;
- 4 overige algen.

Diversiteit

Binnen deze vier groepen zijn honderden tot duizenden soorten beschreven. De meeste hiervan zal men nooit of hooguit zelden tegenkomen in monsters uit Nederlandse zoete en brakke wateren. In de TWN-naamlijst van fytoplankton stonden per april 2008 ruim veertienhonderd soorten. In Lugolgefixeerde monsters zal een ervaren analist hiervan niet veel meer dan duizend met enige zekerheid kunnen herkennen. De helft hiervan behoort tot de groep groenalgen (tabel 7.1).

Tabel 7.1 Indeling van fytoplankton in hoofdgroepen en klassen

Indeling volgens TWN systematiek. Tussen haakjes een globale schatting van het aantal redelijk betrouwbaar te herkennen (zonder toepassing van speciale technieken, zoals het maken van oxidatiepreparaatjes voor kiezelalgen) taxa (soorten of genera) in Lugolgefixeerde fytoplanktonmonsters uit Nederlandse zoete en brakke wateren.

BLAUWALGEN (195)	GROENALGEN (883)	KIEZELALGEN (210)	OVERIGE ALGEN (234)
Cyanophyceae (195)	Chlorophyceae (355)	Bacillariophyceae (130)	Chrysophyceae (55)
	Glaucocystophyceae (1)	Coscinodiscophyceae (50)	Cryptophyceae (15)
	Klebsormidophyceae (1)	Fragilariophyceae (30)	Dinophyceae (35)
	Mesostigmatophyceae (1)		Euglenophyceae (80)
	Pedinophyceae (6)		Eustigmatophyceae (8)
	Prasinophyceae (4)		Prymnesiophyceae (4)
	Zygnematophyceae (515)		Raphidophyceae (2)
			Synurophyceae (5)
			Tribophyceae (30)

De soortenrijkdom van fytoplanktonmonsters loopt sterk uiteen. Wanneer men ook de minder talrijke soorten in ogenschouw neemt, is een rijkdom van gemiddeld veertig à vijftig soorten in monsters van de Nederlandse, voedselrijke meren normaal. De diversiteit in een afzonderlijk monster kan echter makkelijk uiteenlopen van tien tot ver over de honderd soorten.

Levenswijze

Wat hun voedingswijze betreft onderscheiden we drie groepen algen:

- 1 fototrofe algen; deze bezitten chlorofyl-a en kunnen hiermee zonlicht en anorganische voedingsstoffen omzetten in biomassa. De kwantitatief belangrijkste anorganische voedingsstoffen voor algengroei zijn koolstof, stikstof en fosfaat.
Voorbeelden van fototrofe algen zijn alle kiezelwieren, alle blauwalgen en de meerderheid van groenalgen en overige algen;
- 2 heterotrofe algen; deze bezitten geen chlorofyl-a. Ze zijn voor hun groei afhankelijk van opgeloste organische stof, bacteriën, of andere algen. Deze groep wordt ook wel kleurloze algen genoemd.
Voorbeelden vindt men in de meeste groepen algen, bijvoorbeeld groenalgen (*Collodictyon*, *Polytoma*), goudalgen (*Bicocoea*, *Salpingoeca*), dinoflagellaten (*Gymnodinium helveticum*), cryptophyceen (*Chilomonas*) en oogflagellaten (*Astasia*, *Petalomonas*);
- 3 mixotrofe algen; deze bezitten chlorofyl-a en kunnen ook heterotroof leven, bijvoorbeeld op momenten dat er weinig anorganische voedingsstoffen aanwezig zijn.
Voorbeelden zijn vooral te vinden in de groepen goudalgen (*Dinobryon*, *Ochromonas*), dinoflagellaten (*Ceratium*) en oogflagellaten (*Euglena*).

7.1.2 Ecologie

Algen in de waterkolom

Als maat voor de biomassa van fytoplankton meten de waterbeheerders in Nederland al ruim dertig jaar het chlorofyl-a gehalte in oppervlaktewater. Alleen de fototrofe en mixotrofe algen leveren een bijdrage aan het chlorofyl-a.

Niet alle algen in de waterkolom hebben een zuiver planktische levenswijze. In ondiepe meren vindt men in het plankton veel algensoorten, die een deel van hun leven op de bodem of op waterplanten leven. De bekendste zijn draadvormige groenalgen (bijvoorbeeld *Oedogonium* en *Ulothrix*) en pennate diatomeeën (bijvoorbeeld *Amphora*, *Epithemia*, *Navicula*). Ook de als planktisch bekend staande groenalgen *Pediastrum* en *Scenedesmus* en de blauwalg *Merismopedia*, kunnen hoge dichtheden bereiken op het sedimentoppervlak van heldere plassen.

De soortelijke massa van fytoplanktoncellen is net iets groter dan van water. Hierdoor zakt het fytoplankton langzaam naar de bodem, tenzij ze door waterbeweging in de waterkolom blijven circuleren. Door het uitzakken krijgen fototrofe algen op een zeker moment niet voldoende licht meer om te kunnen blijven groeien. Sommige soorten kunnen dit uitzakken tegengaan door:

- het bezit van zweefborstels aan de cel;
- het bezit van flagellen waarmee ze zich actief kunnen bewegen;
- het bezit van aerotopen (gasvacuolen) om hun soortelijke massa te verlagen.

Soorten met zo'n actieve bewegingsmogelijkheid kunnen zich ook concentreren op een bepaalde diepte, of aan het oppervlak in de vorm van een drijfslag. De bewegingsmogelijkheden van algen zijn echter niet sterk genoeg om op te kunnen boksen tegen de krachten van convectiestromingen en turbulentie, die in meren optreden bij windsnelheden boven drie meter per seconde (Scott *et al.* 1969, Bees *et al.* 1998), dat is een windkracht van ca. 3 Beaufort of hoger.

Algen in het voedselweb

Algen staan aan het begin van de voedselketen in het water (figuur 7.2). Het fytoplankton vormt het voedsel voor het dierlijke plankton, waaronder watervlooien en roeipootkreeftjes (zie hoofdstuk 10). Deze diertjes worden zelf weer gegeten door vis als Spiering, jonge Brasem en Blankvoorn. Deze vissen kunnen op hun beurt een prooi worden van Baars, Snoek, Snoekbaars, Fuut en Aalscholver.

Fytoplanktonsoorten verschillen in begraasbaarheid en verteerbaarheid. Zoöplanktonsoorten verschillen in voorkeur voor de grootte van hun voedseldeeltjes. Begrazing door zoöplankton leidt daardoor al gauw tot een verandering in de soortensamenstelling van het fytoplankton. Sommige algensoorten zijn te groot om te kunnen worden begraasd. Deze algen profiteren van de begrazing van andere soorten en blijven zo uiteindelijk als enige algensoort in het plankton over. Een voorbeeld is de blauwalg *Aphanizomenon flos-aquae*, die in voedselrijke meren en boezemwateren gevonden kan worden. Bij een hoge graasdruk van watervlooien kan deze soort in de zomermaanden grote kolonies vormen, die als kleine grassprietjes in het water te zien zijn.

Algen en eutrofiëring

Van de belangrijkste voedingsstoffen voor fototrofe algen is fosfaat van nature het schaars in de meeste watersystemen. Dit komt omdat de toevoer van fosfaat afhankelijk is van langzame processen: verwerking en erosie (Reynolds 1978).

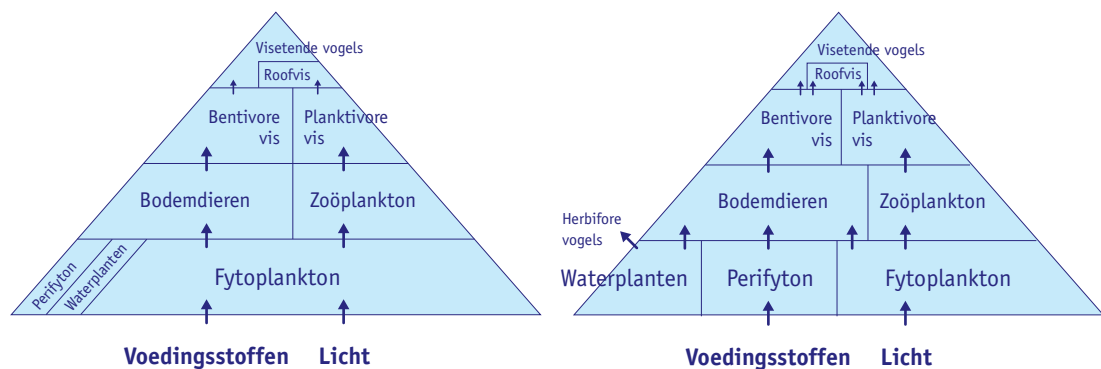
Door menselijke activiteiten is het gehalte van fosfaat, maar ook van stikstof, in het oppervlaktewater sterk gestegen. Dit proces heet eutrofiëring. Omdat de voedingsstoffen hierdoor niet langer groeibepkend zijn, kan het fytoplankton doorgroeien tot het water zo troebel is, dat de factor licht beperkend wordt.

Niet alleen de biomassa, maar ook de soortensamenstelling van fytoplankton verandert als gevolg van eutrofiëring. Algensoorten die aangepast zijn aan minder licht hebben een voordeel in het troebele water. Dit geldt bijvoorbeeld voor de blauwalgen *Limnothrix redekei* en *Planktothrix agardhii*. En verder, door eutrofiëring neemt wel fosfaat toe, maar niet silicium, dat een essentiële voedingsstof is voor kiezelalgen.

Wanneer de verhouding silicium:fosfaat door eutrofiëring daalt, kunnen soorten met een lagere silicium-behoefte (zoals groenalgen, blauwalgen en dinoflagellaten) in het voordeel zijn boven soorten met een hogere siliciumbehoefte (zoals kiezelwieren en goudalgen).

Fig 7.2 Voedselweb

Voedselweb in een diep planktongedomineerd meer (links) en een ondiep meer met een groter aandeel van bodemalgen en waterplanten (rechts). Bron: Bijkerk & Berg (2005).



De belangrijkste eutrofiëringseffecten via het fytoplankton zijn samengevat:

- troebelheid door een hogere biomassa van planktonalgen (hierdoor verdwijnen waterplanten en verandert de soortensamenstelling van macrofauna en vis)
- bloei van blauwalgen in de zomer (in ondiepe meren van bijvoorbeeld *Planktothrix agardhii*, in diepere meren van bijvoorbeeld *Microcystis*).

Enkele belangrijke milieufactoren

De soortensamenstelling van fytoplankton wordt bepaald door een aantal factoren, die hieronder genoemd worden.

- 1 Het zoutgehalte en de alkaliniteit van het water (bufferend vermogen).
In ongebufferde, zure vennen vinden we heel andere soorten dan in onze grote, matig tot sterk gebufferde plassen en meren, of in brakke wateren.
- 2 Het lichtklimaat onder water, in relatie tot turbulentie (waterbeweging). In troebele en turbulente rivieren overheersen het gehele jaar kiezelalgen (*Stephanodiscus*, *Skeletonema*). In heldere, matig voedselrijke meren overheersen in het voorjaar kiezelalgen (*Asterionella*, *Cyclotella*) en goudalgen (*Dinobryon*) en in de zomer dinoflagellaten (*Ceratium*), sieralgen en kleine chroococcale blauwalgen (*Cyanodictyon*, *Snowella*, *Woronichinia*). Wanneer deze meren voedselrijker en daarmee troebeler worden, gaan in het voorjaar andere kiezelalgen domineren (*Stephanodiscus*, *Diatoma*) en in de zomer andere blauwalgen (*Aphanizomenon*, *Limnothrix*, *Microcystis*, *Planktothrix*).
- 3 De watertemperatuur. Kiezelalgen uit de voorjaarspiek zijn aangepast aan lagere temperaturen. Wanneer de hoeveelheid licht in het vroege voorjaar geleidelijk toeneemt beginnen ze te groeien. Veel blauwalgen daarentegen zijn aangepast aan hogere temperaturen en ontwikkelen zich pas later in het seizoen.
- 4 Begrazing door zoöplankton. Deze is in meer of mindere mate selectief. Hierdoor verschuift de soortensamenstelling in de richting van soorten die moeilijker begraaft zijn, zoals kolonievormende blauwalgen

(bijvoorbeeld *Anabaena lemmermannii*, *Aphanizomenon flos-aquae*), grotere sialgen (*Closterium aciculare*, *Staurastrum planctonicum*), grotere kiezelalgen (*Actinocyclus normanii*, *Fragilaria crotonensis*) en grotere, of met een slijmmantel omgeven groenalgen (*Oocystis*, *Sphaerocystis*).

- 5 De voedselrijkdom (trofiegraad). Er is een duidelijke relatie tussen de alkaliniteit en het fosfaatgehalte (Vighi & Chiaudani 1985): hoe hoger de alkaliniteit, hoe hoger van nature het fosfaatgehalte. Het verband tussen soortensamenstelling en voedselrijkdom berust daarom deels op de bovengenoemde invloed van de alkaliniteit: laag-alkaliene, van nature voedselarme plassen herbergen oligotrafente soorten, hoog-alkaliene, van nature voedselrijke plassen zijn gekenmerkt door eutrafente soorten.

In wateren die van nature voedselarm zijn (niet tot zwakgebufferde wateren) verschuift de soortensamenstelling bij toename van de voedselrijkdom (eutrofiëring). In plaats van langzaamgroeiende soorten (o.a. sialgen) en mixotrofe soorten (o.a. goudalgen) treden sneller groeiende groenalgen (o.a. flagellaten en Chlorococcales) en cryptophyceën in de zomer op de voorgrond.

7.1.3 Ruimtelijke variatie

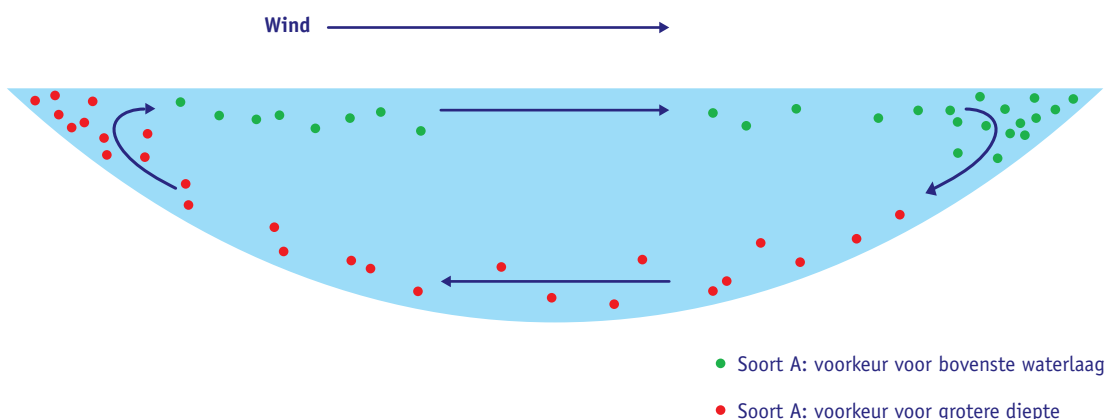
Variatie in horizontale richting

Horizontale variatie in de soortensamenstelling en abundantie van fytoplankton komt tot stand onder invloed van de wind (Reynolds 2006). In kleine plassen en poelen (diameter kleiner dan ongeveer vijftig meter) hoeft men hiermee geen rekening te houden, maar in grotere plassen wel. Streepvormige verschillen in abundantie, parallel aan de windrichting op een schaal van meters, kunnen ontstaan door Langmuir-circulaties, bij windsnelheden van 3 tot 5 Beaufort.

Verschillen in abundantie van soorten tussen de loef- en lijzijde van een meer, kunnen ontstaan door een aanhoudende, zwakke wind uit één richting, in combinatie met verschillen in verticale verspreiding tussen de fytoplanktonsoorten (figuur 7.3). Soorten die hoog in de waterkolom verblijven, zoals *Microcystis* spp., kunnen zich hierdoor ophopen aan de loefzijde van de plas (langs de op de wind gelegen oever). Een dergelijke accumulatie kan men al waarnemen in plassen met een strijklengte van omstreeks tweehonderd meter. Soorten die zich dieper ophouden kunnen zich concentreren aan de lijzijde van het meer.

Fig 7.3 De invloed van wind op de positie van algen

Onder invloed van wind verplaatsen sommige algen zich naar de ene kant van het meer en andere naar de andere kant. Algen die zich bovenin de waterkolom ophouden worden naar de loefzijde getransporteerd, algen die zich onderin ophouden gaan met de onderstroom mee naar de lijzijde van het meer. Naar: Reynolds (1984).



Variatie in verticale richting

Verticale verschillen in soortensamenstelling en abundantie ontstaan doordat algen verschillen in drijfvermogen en bewegingsmogelijkheden (zie [paragraaf 7.1.2](#)). Veel soorten blauwalgen en flagellaten kunnen over grotere afstanden verticaal migreren, naar een voorkeurspositie in de waterkolom. Bekend zijn natuurlijk de drijfslagen van bepaalde blauwalgen, zoals *Anabaena* en *Microcystis*. Een mooi voorbeeld van een 'drijfslag' op grotere diepte biedt de blauwalg *Planktothrix rubescens*. Deze houdt zich bij voorkeur op in de spronglaag van gestratificeerde meren, mits hier voldoende licht doordringt. Dergelijke concentraties op een bepaalde diepte zijn ook bekend van grote flagellaten als *Ceratium hirundinella* (Heaney & Talling 1980) en *Gonyostomum semen* (Salonen & Rosenberg 2000). Menging door convectie en turbulentie kan verticale verschillen in de fytoplanktonsamenvoeging weer teniet doen.

7.1.4 Verspreiding in Nederland

Over de verspreiding van soorten in Nederland bestaan geen recente overzichtswerken. Van afzonderlijke soorten kan men verspreidingskaartjes maken op basis van de gegevens opgeslagen in Limnodata. Men kan er alleen niet van uitgaan dat deze data een volledig beeld geven van de verspreiding van een soort. Dit geldt nog meer voor de voorloper hiervan, de Eco-atlas van fytoplankton uit 1997 (STOWA 1997).

Nog steeds bruikbare, ofschoon verouderde, overzichten van vindplaatsen van algensoorten in Nederland, zijn te vinden in Redeke (1935) en Dresscher (1976).

7.1.5 Fytoplanktongemeenschappen

Algemeen

Afhankelijk van stroming, diepte, alkaliniteit en voedselrijkdom van wateren, kan men verschillende fytoplanktongemeenschappen onderscheiden. Deze gemeenschappen zijn gekenmerkt door karakteristieke algensoorten, die in de loop van het seizoen afwisselend op de voorgrond treden ([figuur 7.4](#)).

Rivieren

In de benedenlopen van onze grote rivieren is het water voedselrijk en troebel. Hier vinden we fytoplankton dat aangepast is aan turbulentie en weinig licht. De belangrijkste algengroep in dit soort wateren is de groep kiezelwieren. Veel voorkomende soorten zijn: *Cyclotella meneghiniana*, *Skeletonema potamos*, *Skeletonema subsalsum* en *Stephanodiscus hantzschii*. In de Maas vinden we 's zomers ook veel groenalgen.

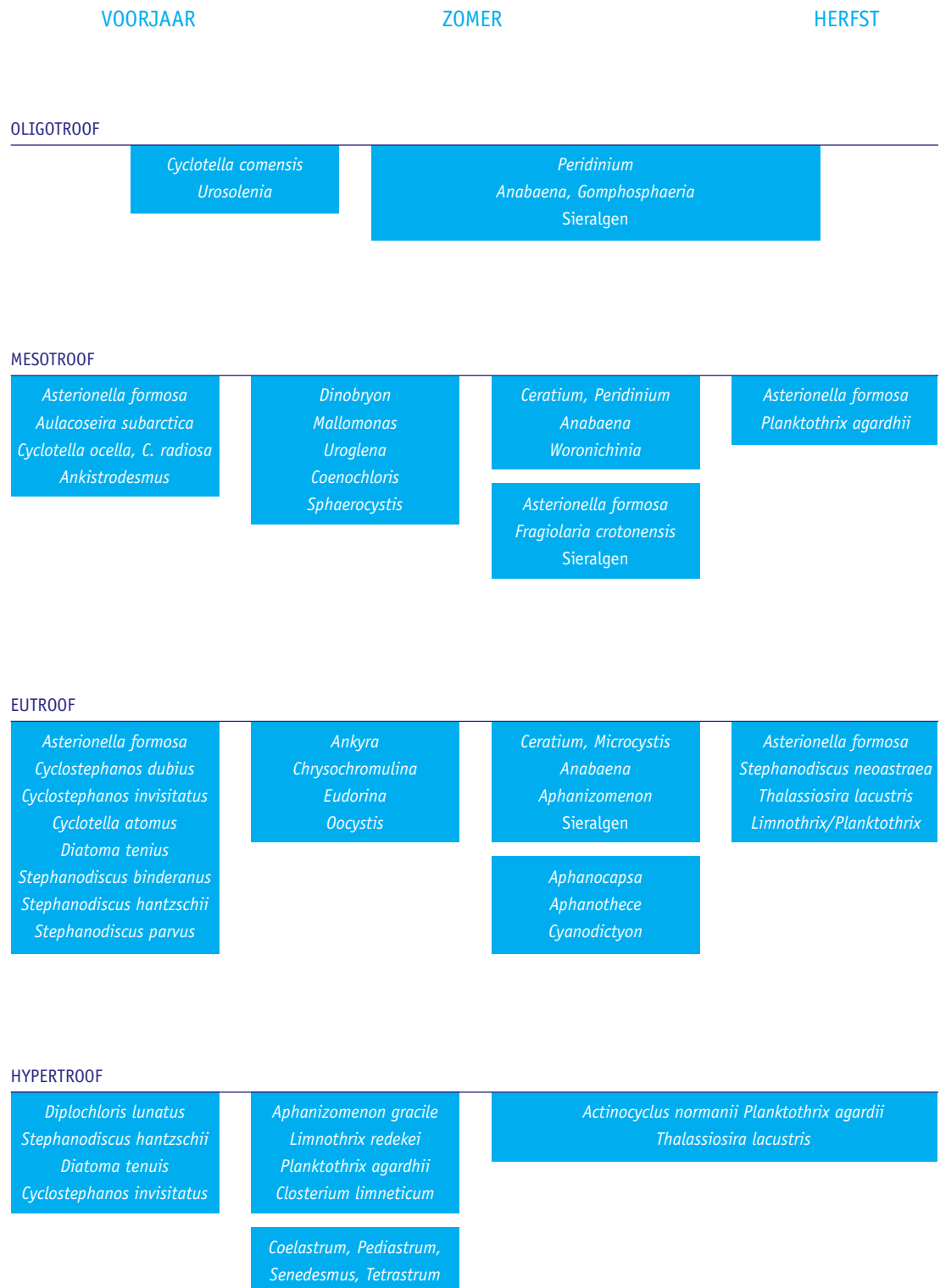
Meren

Het klassieke beeld van de fytoplanktonsuccessie in meren is: van kiezelalgen in het voorjaar, via groenalgen in de voorzomer, naar blauwalgen in de nazomer. Dit beeld is in voedselrijke meren vaak te herkennen, maar niet altijd even duidelijk.

De soortensamenstelling van meren verschilt met diepte (wel of geen stratificatie), alkaliniteit (buffering) en voedselrijkdom. In ondiepe, voedselrijke meren vinden we groenalgen uit de geslachten *Monoraphidium*, *Crucigenia*, *Scenedesmus*, *Tetraedron* en *Tetrastrum*. In diepe voedselrijke meren komen we groenalgen tegen als *Closterium aciculare*, *Coelastrum reticulatum* en *Sphaerocystis planctonica*. In minder voedselrijke, ondiepe plassen treden *Ankistrodesmus*, *Cosmarium*, *Dimorphococcus*, *Staurastrum*, *Tetrallanthos* en *Willea* op de voorgrond. In ongebufferde, zure vennen komen wat groenalgen betreft vooral sieraalgen voor, draadvormige groenalgen uit de geslachten *Binuclearia*, *Mougeotia* en *Oedogonium* en kleine flagellaten zoals *Monomastix* en *Pedinomonas*. Neemt de voedselrijkdom toe dan stijgt onder de groenalgen het aandeel van *Chlamydomonas* en Chlorococcales (bijv. *Crucigenia fenestrata*).

Fig 7.4 Successie van fytoplanktonsoorten in vier typen meren

Naar Reynolds 1984, gewijzigd en aangevuld.



Eenheidsworst

Een groot deel van de Nederlandse plassen en meren heeft een boezemfunctie. Daarbij wordt het peil gehandhaafd door de inlaat van water afkomstig uit de Rijn. Hierdoor is er door het hele land een grote overeenkomst in soortensamenstelling.

Duidelijk afwijkende gemeenschappen zijn te vinden in geïsoleerde petgaten en poeltjes, diepe (voormalige) wingaten en zure vennen.

Verder lezen

Een gedetailleerde beschrijving van de seizoensvariatie van fytoplankton in relatie tot diverse stuurfactoren, vindt men in het model van de Plankton Ecology Group (het PEG-model in Sommer *et al.* 1986; zie ook [hoofdstuk 10](#) en [bijlage 22](#)). Standaardwerken voor wie meer wil weten van de ecologie van fytoplankton in het algemeen, zijn de boeken van Reynolds (1984, 1997, 2006). Sandgren (1988) behandelt de levenswijze van de verschillende fytoplanktongroepen.

7.2 TOEPASSING

Fytoplanktononderzoek vindt zijn toepassing in de volgende onderwerpen.

7.2.1 Ecologische beoordeling voor de KRW

Twee deelmaatlatten

Voor de Europese Kaderrichtlijn Water (KRW) moet men de ecologische toestand van oppervlaktewater beoordelen. Hiertoe zijn maatlatten ontwikkeld voor een aantal biologische groepen, waaronder fytoplankton. Van het fytoplankton moeten de biomassa en de abundantie en soortensamenstelling worden beoordeeld. Daarnaast spelen frequentie en intensiteit van bloeien een rol in de omschrijving van de kwaliteitstoestanden (Europees Parlement en de Raad van de Europese Unie 2000).

Voor de biomassa is een maatlat ontwikkeld, die gebaseerd is op het chlorofyl-a-gehalte. Wie hier meer over wil lezen kan het achtergronddocument raadplegen (Van den Berg & Pot 2007), of de beschrijvingen per watertype (Evers & Knoben 2007, Van der Molen & Pot 2007a, 2007b).

Voor de soortensamenstelling en abundantie van fytoplankton zijn twee deelmaatlatten ontwikkeld. De ene is een toets op excessieve menselijke beïnvloeding (de deelmaatlat 'bloeien', oftewel de negatieve maatlat). De andere is een toets op natuurlijkheid, of afstand tot de referentiesituatie (positieve maatlat). De positieve maatlat is gebaseerd op het vóórkomen van sialgalen ([hoofdstuk 8](#)). Ofschoon de maatlatten complementair zijn, is besloten om de sialgalenmaatlat vooralsnog niet verplicht te stellen. Eerst moet deze maatlat beter onderbouwd worden met onderzoeksresultaten.

Deelmaatlat 'bloeien'

Op dit moment hebben we dus alleen te maken met de deelmaatlat 'bloeien'. In deze maatlat worden 35 typen bloeien onderscheiden, elk met een eigen score. De persistente bloei van *Planktothrix agardhii*, gedefinieerd door een dichtheid van meer dan tienduizend draden per ml, scoort bijvoorbeeld 0,1. Wanneer het fytoplankton gedurende het zomerhalfjaar maandelijks is bemonsterd, wordt van elk monster de aard van de bloei vastgesteld, waarbij de laagstscorende bloei bepalend is voor de score. Is er geen bloei dan is er geen score. De eindscore wordt bepaald als het rekenkundig gemiddelde van de scores van alle afzonderlijke monsters uit dat jaar.

De deelmaatlat 'bloeien' is beschreven in Van der Molen & Pot (2007a en b) en in Evers & Knoben (2007) en is opgenomen in QBWat vanaf versie 4.0.

7.2.2 Ecologische beoordeling volgens EBeo

Fytoplankton speelt een rol in een aantal ecologische beoordelingssystemen van de STOWA. De systemen voor kanalen (EBeoKan) en diepe plassen (EBeoGat) gebruiken fytoplankton in de beoordeling van de voedselrijkdom (trofiegraad) van het oppervlaktewater (STOWA 2006). In het systeem voor ondiepe plassen (EBeoMeer) bepaalt men met het fytoplankton de typologische eenheid. Samen met het chlorofyl-a-gehalte leidt men hieruit het ecologische niveau van het water af. In het systeem voor brakke wateren (EbeoBrak) is de analyse van fytoplankton facultatief. Men kan het in dit systeem gebruiken als maat voor het zoutgehalte en de kenmerkendheid.

Determinatie tot op soort is voor de EBeo-systemen niet nodig. EBeoKan maakt gebruik van een indicatorlijst op geslachtsniveau (STOWA 1994a). Hierbij worden indicatoren voor oligotrofie en eutrofie onderscheiden. Indicatoren voor oligotrofie (zogenaamde oligotrafente soorten) zijn bijvoorbeeld alle onderscheiden Chrysophyceae, Xanthophyceae en Conjugatophyceae. Indicatoren voor eutrofie (eutrafente soorten) zijn Cyanophyta, Chlorophyta (exclusief Conjugatophyceae) en alle planktische diatomeeën. Deze indeling is behoorlijk globaal en alleen toepasbaar voor de Nederlandse kanalen.

De indeling in indicatorklassen van EBeoGat is eveneens op een hoger taxonomisch niveau dan het soortsniveau gemaakt (STOWA 1994b). Het verschil met EBeoKan is dat drie trofieklassen onderscheiden worden. De Euglenophyceae en planktische diatomeeën worden hier niet als eutrafent, maar als mesotrafent opgevoerd.

Pas op met het gebruik van deze indicatoren buiten de EBeo-systemen. Binnen één geslacht kunnen namelijk duidelijke verschillen tussen soorten bestaan in trofievoorkeur. *Cyclotella meneghiniana* bijvoorbeeld, geldt als eutrafent, terwijl *Cyclotella bodanica* een oligotrafente soort is (Knopf *et al.* 2000). De meeste *Cyclotella*-soorten staan te boek als oligotrafent. Toch geldt dit geslacht in EBeoKan als eutrafent. Dat komt doordat dit beoordelingssysteem is gebaseerd op een beperkte dataset, waarin *Cyclotella meneghiniana* de belangrijkste vertegenwoordiger van dit geslacht zal zijn geweest. Wees dus voorzichtig met het gebruik van indicatorwaarden voor geslachten, zeker als deze zijn afgeleid uit een beperkte verscheidenheid van watertypen.

Ten slotte wordt de beoordeling bij alle EBeo-systemen gebaseerd op de relatieve abundantie van indicatorsoorten. Een bepaling van de abundantie per volume-eenheid is dus niet nodig.

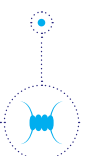
Voorbeelden van toepassing van de EBeo-systemen zijn te vinden in de genoemde STOWA-rapporten.

7.2.3 Typering van habitat met functionele groepen

Fytoplanktonsoorten kunnen worden ingedeeld in functionele groepen. Deze verschillen in hun voorkeur voor milieutypen (habitats), als gevolg van verschillen in toleranties en gevoeligheden (tabel 7.2).

De indeling in functionele groepen volgens Reynolds (zie Reynolds *et al.* 2002, Reynolds 2006 en Padišák *et al.* 2009) is een verdere, veel meer gedetailleerde uitwerking van zijn indeling in overlevingsstrategieën (zie Reynolds 1988): de snelle groeiers (C-strategie), de sedimentatie- en begrazingstolerante, langzame groeiers (S-strategie) en de aan weinig licht aangepaste groeiers (R-strategie). De indeling is gebaseerd op ecofysiologische eigenschappen van een soort.

In het systeem worden momenteel omstreeks veertig verschillende functionele groepen onderscheiden. Uit het aandeel van de functionele groepen in de totale gemeenschap kan men zich een oordeel vormen van de condities waaronder het plankton zich op dat moment ontwikkelt. Omdat het hier gaat om de vraag welke functionele groep onder deze condities het beste gedijt (met andere woorden, welke de hoogste opbrengst heeft), moet men voor deze toepassing het biovolume-aandeel van de verschillende functionele groepen weten.



Tabel 7.2 Enkele functionele groepen volgens Reynolds

Bron: Reynolds et al. 2002.

GROEP	HABITAT	TOLERANT VOOR	GEVOELIG VOOR	VOORBEELDSOORTEN
D	Ondiepe, geëutrofiëerde, troebele meren en rivieren	Doorspoeling, turbulentie	Uitputting voedingsstoffen	Stephanodiscus hantzschii
P	Eutrofe epilimnia	Geringe licht- en koolstof-beperking	Stratificatie, siliciumuitputting	Nitzschia acicularis Fragilaria crotonensis
X2	Ondiepe, heldere, gemengde lagen in meso-eutrofe meren	Stratificatie	Menging, begrazing	Closterium aciculare Plagioselmis,
Lm	Zomer epilimnia van eutrofe meren	Stratificatie, koolstofbeperking	Menging, weinig licht	Chrysochromulina Ceratum, Microcystis
W1	Kleine organische vijvers	Hoog BOD	Begrazing	Euglena, Lepocinclis, Synura, Gonium

7.2.4 Zwemwatercontrole

Sommige fytoplanktonalgen zijn in staat om toxines te maken. In het zoete water zijn dit hoofdzakelijk blauwalgen (zie Chorus & Bartram 1999, Chorus 2001, Huisman *et al.* 2005 en [bijlage 24](#)). De toxines kunnen leiden tot huidirritaties, maag- en darmklachten en in ernstige gevallen, leverproblemen, verlamingsverschijnselen en sterfte (Codd *et al.* 2005). Om de gezondheid van recreanten te waarborgen worden potentieel toxische blauwalgen in zwemwateren daarom goed in de gaten gehouden. In maart 2006 verscheen de nieuwe Europese Zwemwaterrichtlijn (Europees Parlement en de Raad van de Europese Unie 2006). Volgens deze richtlijn moet voor elk zwemwater een zwemwaterprofiel worden gemaakt. In dit profiel moet men onder meer aangeven wat de kans is op een bloei van blauwalgen (zie Anonymus 2005). Wanneer deze kans reëel is moet men een passende controle uitvoeren om tijdig gezondheidsrisico's vast te kunnen stellen. Voor deze passende controle is een nieuw blauwalgenprotocol ontwikkeld.

Blauwalgenprotocol

In het blauwalgenprotocol, versie 18 van oktober 2008, bepaalt de aanwezigheid van drijfslagen of de hoeveelheid potentieel toxische blauwalgen, of het zwemmen ontraden, of verboden moet worden. De kans bestaat dat het blauwalgprotocol nog aangepast gaat worden. De meest actuele versie kan men altijd vinden onder het thema Cyanobacteriën op de site van de STOWA. Vooral nog hoeft dus geen microcystine meer gemeten te worden (zie [bijlage 23](#)).

Microcystine is de meest voorkomende gifstof van blauwalgen. Op deze stof was tot voor kort de norm voor zwemwater gebaseerd: boven een gehalte van 20 µg/l microcystine moest het zwemmen verboden worden (Gezondheidsraad 2001). Op basis van microcystine is het risico echter niet eenvoudig te monitoren, omdat de gehalten op korte termijn sterk kunnen fluctueren. Daarbij komt dat microcystine niet door alle potentieel giftige blauwalgen geproduceerd wordt en dat naast microcystine ook andere gifstoffen belangrijk kunnen zijn. De blauwalgen *Anabaena* en *Aphanizomenon* bijvoorbeeld, kunnen anatoxine of saxitoxine maken, al of niet in combinatie met microcystine

Een selectie van geslachten

Volgens het nieuwe blauwalgenprotocol moet men minstens eens in de twee weken de hoeveelheid bepalen van de blauwalgen *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Planktothrix* en *Woronichinia*. Dit zijn de meest voorkomende, potentieel toxische blauwalggelachten, maar niet de enige. Let daarom ook op andere verdachte geslachten, zoals *Anabaenopsis* en *Cylindrospermopsis*. Het eerste geslacht komt voor in plassen met wat hogere zoutgehalten (tot licht brak). Het tweede is een (sub)tropisch geslacht. De laatste jaren is *Cylindrospermopsis* echter steeds vaker aangetroffen in de gematigde delen van Europa (Briand *et al* 2004, Stefaniak & Kokocinski 2005, Stüken *et al.* 2006). Ook in Nederland is deze blauwalg al enkele keren waargenomen.

Andere plaagalgen

In zuurdere en donkere wateren, veelal humeuze en geëutrofiëerde vennen en zandwinplassen, kan de raphidophyt *Gonyostomum* hinderlijk zijn. Hij is niet toxisch, maar maakt zwemkleding glibberig en kan huidirritatie veroorzaken.

In (licht-)brakke plassen kan de flagellaat *Prymnesium* toxisch worden als er tekort is aan stikstof of fosfaat. Hier kan vis het slachtoffer van worden. De gifstoffen maken het kieuwslimvlies 'lek', waardoor de vis dood gaat aan zuurstoftekort. Dergelijke vissterftes zijn in Nederland bekend uit de Binnenschelde en het Botshol.

In plassen met een slechte zuurstofhuishouding kan de purperzwavelbacterie *Chromatium okenii* tot bloei komen en het water rood kleuren. Dit is dus eigenlijk geen alg. Hij kan gevonden worden in plassen met een dikke slibbodem.

7.2.5 Voorwaarden voor toepassing beoordelingssystemen

De hiervoor genoemde systemen voor ecologische beoordeling stellen dezelfde eisen aan de bemonsteringsmethode. Er is alleen een verschil in bemonsteringsfrequentie en -tijdstip. De minimale eisen aan de analyse zijn echter verschillend. Onderzoek voor zwemwatercontrole stelt geheel eigen eisen aan bemonstering en analyse. Hieronder worden de eisen per toepassing samengevat.

Eisen vanuit de KRW-deelmaatlat

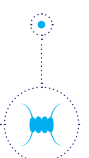
- Een voor het meetpunt representatieve bepaling van de soortensamenstelling en abundantie van planktonalgen gedurende het zomerhalfjaar, op basis van minimaal vier maandelijks monsternemingen en analyses.
- Determinatieniveau: soort of geslacht (afhankelijk van het type bloei).
- Abundantiebepaling: aantal waarnemingen en cellen per ml.

Eisen vanuit de EBeo-systemen

- Een voor het meetpunt representatieve bepaling van de soortensamenstelling en relatieve abundantie van planktonalgen op minimaal één (EBeoKan en EBeoGat) tijdstip in het zomerhalfjaar, respectievelijk twee tijdstippen in het winterhalfjaar en zes in de zomer (EBeoMeer).
- Determinatieniveau: geslacht.
- Abundantiebepaling: relatieve abundantie op basis van individuen.

Eisen vanuit de analyse van functionele groepen

- Een voor het meetpunt representatieve bepaling van de soortensamenstelling en het biovolume van planktonalgen gedurende het zomerhalfjaar, op basis van minimaal vier maandelijks monsternemingen en analyses.
- Determinatieniveau: soort.
- Abundantiebepaling: biovolume per ml.



Eisen vanuit de zwemwatercontrole

- Een voor de badzone representatieve bepaling van de hoeveelheid potentieel toxische cyanobacteriën uit minimaal de geslachten *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Planktothrix* en *Woronichinia*.
- Determinatieniveau: minimaal geslachtsniveau.
- Abundantiebepaling: cellen per ml.

7.3 TOELICHTING OP DE WERKVOORSCHRIFTEN**7.3.1 Algemeen**

Er zijn aparte werkvoorschriften voor het bemonsteren en analyseren van fytoplankton. Wat betreft de analyse hebben we aparte werkvoorschriften gemaakt voor zwemwatercontrole en voor beoordeling van de ecologische toestand met behulp van de KRW-maatlat of de EBeo-systemen. Het laatstgenoemde voorschrift is zo opgesteld dat alle beoordelingssystemen toepasbaar zijn.

De hierboven genoemde beoordelingssystemen vereisen een betrouwbare, kwantitatieve analysemethode. Hiervoor is de Utermöhlmethode de standaard. Ook voor het bepalen van relatieve abundanties raden wij deze methode aan, omdat ook dan de algen volgens het toeval verdeeld moeten zijn bij de telling. De Utermöhlmethode geeft de beste kans hierop. Het is dan een kleine moeite om absolute abundanties te bepalen en de toepassingsmogelijkheden van de analyseresultaten aanzienlijk te vergroten.

7.3.2 Bemonstering

De belangrijkste vragen zijn: waar kies ik mijn meetpunt en hoe bemonster ik de waterkolom. Om deze vragen te kunnen beantwoorden moet men de ruimtelijke variatie van het fytoplankton kunnen inschatten (zie [paragraaf 7.1.3](#)).

Meetpunt in het midden van het meer

Variatie in horizontale richting is een niet te onderschatten fenomeen in grotere plassen. Men kan er voor kiezen om een mengmonster samen te stellen uit een bemonstering aan de lijzijde en aan de loefzijde van de plas. In plaats daarvan kiezen wij voor een vast meetpunt in het midden van het meer. Dit doen we om praktische redenen en om zoveel mogelijk aan te sluiten bij de ontwerpnorm voor de bemonstering van fytoplankton (N109:2007). Rond dit meetpunt kiezen we twee monsterpunten.

Meren: bemonstering van mengdiepte of eufotische zone

Variatie in verticale richting moet men evenmin onderschatten. Deze variatie kan men wel veel beter het hoofd bieden, door een juiste keuze van de bemonsteringsdiepte. Immers, van tijd tot tijd zal een waterkolom gemengd worden door convectie of turbulentie. Verticale concentraties van algen verdwijnen dan en sedimenterende algen komen weer terecht in de eufotische zone. De diepte tot waar deze menging kan optreden, de mengdiepte, is één van de factoren die de diepte bepaalt tot waar men moet bemonsteren. In een volledig gemengde waterkolom reikt de mengdiepte vrijwel tot aan het sedimentoppervlak. In een gestratificeerde waterkolom reikt de mengdiepte tot aan de spronglaag (zie Reynolds 1984, pp 46-47).

De andere factor is de zichtdiepte. Is de zichtdiepte groter dan de diepte van het epilimnion, dan zijn er mogelijkheden voor de groei van gespecialiseerde, fototrofe algen in de spronglaag, zoals *Planktothrix rubescens*. In dat geval moet men niet de mengdiepte, maar de gehele eufotische zone bemonsteren (zie [figuur 7A-2](#)).

Permanent gemengde wateren

Beken en rivieren zijn permanent gemengde wateren. Bij deze wateren mogen we aannemen dat het fytoplankton uniform verdeeld is over de gehele waterkolom. Het is hier dan ook niet nodig om de volledige mengdiepte te bemonsteren; men kan volstaan met een bemonstering op 0,5 meter diepte.

Kanalen

Druk bevaren kanalen zijn permanent gemengd en zouden bemonsterd kunnen worden als een rivier. Kanalen die minder druk bevaren worden, moet men echter bemonsteren als een niet-gestratificeerd meer. Dat betekent een bemonstering van de gehele waterkolom tot op enkele decimeters boven het sedimentoppervlak. Omwille van de standaardisatie schrijven we deze bemonstering voor alle kanalen voor. Let op: voor EBeoKan moest men de bemonstering uitvoeren met een waterhapper op ca. 0,4 meter diepte (STOWA 1994a).

Sloten

Sloten zijn meestal minder dan één meter diep en minder dan zes meter breed. De ontwerpnorm N109 (2007) voorziet niet in dit watertype. Om praktische redenen voeren we de bemonstering uit vanaf de kant en bemonsteren we het water met een fles-monsternemer op 0,2 meter diepte en, wanneer de sloot diep genoeg is, ook op 0,5 meter diepte.

7.3.3 Analyse

Utermöhlmethode

De Utermöhlmethode (Utermöhl 1958) is de standaard voor kwantitatief planktononderzoek. Ofschoon er in de loop der tijd verschillende modificaties zijn ontwikkeld, is het principe van de methode gelijk gebleven: men telt het fytoplankton na bezinking in sedimentatiecuvetten, met behulp van een omkeermicroscop. Voor deze methode bestaat een Europese norm: NEN-EN 15204. Essentieel voor een betrouwbare telling is een goede verdeling van de algen over de cuvetbodem, dat wil zeggen: een verdeling volgens het toeval.

Goede verdeling van algen

Er is een ondergrens aan het volume dat kan worden ingezet, met het oog op een goede, volgens het toeval verdeelde spreiding van de algen over de cuvetbodem. De hoeveelheid is afhankelijk van de grootte van het cuvet en kan gesteld worden op 0,2 ml per cm² cuvetbodem. Wanneer deze hoeveelheid tot een onwerkbaar hoge dichtheid van deeltjes (algen en slib) op de cuvetbodem leidt, moet het monster worden verdund. Onwerkbaar is een gemiddelde dichtheid van méér dan veertig te tellen algen per microscoopbeeldveld, bij de sterkste vergroting (600x).

Er is ook een bovengrens aan het volume dat kan worden ingezet, namelijk de maximale inhoud van het cuvet. Wanneer deze hoeveelheid tot een onwerkbaar lage dichtheid van algen op de cuvetbodem leidt, moet het monster worden geconcentreerd. Onwerkbaar is een gemiddelde dichtheid van minder dan twee algen per beeldveld bij de zwakste vergroting (200x).

Fytoplanktonmonsters bevatten naast algen ook een wisselende hoeveelheid slibdeeltjes. Als het gehalte van slib hoog is in verhouding tot de hoeveelheid algen, bepaalt ook de hoeveelheid slib hoeveel deelmonster moet/kan worden ingezet voor een werkbare analyse. Door teveel slibdeeltjes per beeldveld (een 'zandbak') ziet men algen over het hoofd. Als het monster heel weinig algen bevat en veel slib, is concentratie daarom niet of slechts in zeer beperkte mate mogelijk.

Individueen, waarnemingen en cellen

Het tellen van individuen is in Nederland een traditie die in stand gehouden wordt door de EBeo-systemen. Ook al is geprobeerd om het individu als teleenheid te definiëren (WHH 2000, PON 2007), het gebruik er van werkt de onvergelykbaarheid van resultaten in de hand en leidt tot verlies aan toepassingsmogelijkheden (risico-analyse toxiciteit, biovolumebepaling).

Een draadvormige blauwalg is namelijk altijd gelijk aan één individu, of hij nou tien cellen of tweehonderd cellen lang is. Bij het tellen van kolonievormende algen, is één individu gelijk aan de gemiddelde koloniegrootte 'volgens de literatuur'. Eén kolonie kan dan groter of kleiner zijn dan één individu. Maar in de literatuur zoekt men vergeefs naar gemiddelde koloniegroottes... Alleen voor *Microcystis* heeft men de afspraak gemaakt dat een individu honderd cellen groot is. En wat betreft kolonies die uit elkaar vallen: als men al in staat is om de losse cellen te herkennen als oorspronkelijke koloniecellen, hoe berekent men dan het aantal individuen? Voor enkele taxa zijn afspraken gemaakt (zie PON 2007). Bij *Synura* is één individu gedefinieerd als 25 losse cellen, of één 'complete' kolonie (bij deze soort dus géén gemiddelde koloniegrootte). Bij *Dinobryon* is één individu gelijk aan vier cellen en kan een 'complete' kolonie dus wel weer uit meerdere individuen bestaan.

Het uitsluitend tellen van individuen is een vorm van gegevensverwerking tijdens de gegevensverwerving. Dit raden we beslist af! Als we ons op het standpunt stellen dat de cel de basiseenheid van reproductie is, moet elke cel in filament, coenobium, of kolonie geteld worden (Smayda 1978). Voor toepassing van de EBeo-systemen kan men vervolgens omrekenen naar individuen, als men tijdens de telling ook het aantal waarnemingen per soort noteert (zie tabel 7.3). Met deze beide basisgegevens, aantal cellen en aantal waarnemingen per soort, en toereikende afspraken over individuengroottes, is een omrekening naar individuen voor iedereen controleerbaar en zo nodig corrigeerbaar.

Telstrategie

Fytoplanktontellingen zijn meestal gericht op de meest talrijke algen: men kiest een vergroting, vaak 400, begint te tellen en stopt wanneer er tweehonderd algen geteld zijn. Deze strategie overschat de bijdrage van kleine soorten en onderschat de bijdrage van grote soorten, aan de totale hoeveelheid fytoplankton in termen van biomassa of chlorofyl-a (Smayda 1978). Voor ecologische vragen, of een beoordeling met functionele groepen, is dit niet gewenst. Ook bij zwemwateronderzoek moet men de minder talrijke, maar grote *Microcystis*-kolonies niet over het hoofd zien bij de telling.

Om een representatieve beschrijving te kunnen maken van de gehele fytoplanktongemeenschap, geven we in het werkvoorschrift een telstrategie die is opgebouwd uit meerdere stappen (zie tabel 7B.1). Talrijke en doorgaans kleine soorten worden geteld bij een sterke vergroting in een klein deel van het monster. Minder talrijke, grote soorten worden geteld bij een zwakke vergroting in een groter deel van het monster. De achtergrond van deze strategie en de betrouwbaarheid van de abundantiebepaling staan in bijlage 18. Tabel 7.4 geeft als voorbeeld het resultaat van een telling in vier stappen.

Wat tellen we mee?

De kleinste algen die als zodanig herkend en meegeteld zouden moeten worden, zijn algen met afmetingen van één tot drie micrometer. Onder dit picoplankton vinden we chroococcale blauwalgen, maar ook vertegenwoordigers uit de groep groenalgen (phylum Chlorophyta), zoals *Chlorella*, *Choricystis*, *Nannochloropsis* en *Pseudodictyosphaerium*. Picoplankton is te vinden in allerlei wateren, van voedselarm tot hypertroof (Hepperle & Krienitz 2001).

Ook in het Nederlandse oppervlaktewater zijn minuscule groenalgen van tijd tot tijd zeer talrijk. Hun dichtheid kan meer dan honderdduizend cellen per milliliter bedragen en hun bijdrage aan het chlorofyl-a-gehalte meer dan tien procent.

Bij de beoordeling volgens Ebeo en KRW-maatlat kan men deze categorie echter beter buiten beschouwing laten. Tot op heden zijn deze algen zeer waarschijnlijk door velen over het hoofd gezien. Daarom moet men aannemen dat ze geen rol hebben gespeeld in de ontwikkeling van de EBeo-systemen.

Tabel 7.3 Telinstructie

Noteer van elk aangetroffen taxon als basisgegevens het aantal waarnemingen en het aantal cellen; bereken hieruit desgewenst het aantal individuen.

SOORT	BASISGEGEVEN	AANTAL INDIVIDUEN
Aulacoseira granulata	1 waarneming van 6 cellen	6
Coelastrum astroideum	1 waarneming van 8 cellen.	1
Cryptomonas sp.	1 waarneming van 1 cel	1
Cyanocatenata imperfecta	1 waarneming van 24 cellen	0,48 ¹
Dictyosphaerium pulchellum	1 waarneming van 16 cellen	1
Dinobryon divergens	1 waarneming van 1 cel	0.25 ²
Microcystis aeruginosa	1 waarneming van 2 000 cellen	20
Planktothrix agardhii	1 waarneming van 98 cellen	1
Scenedesmus arcuatus	1 waarneming van 8 cellen	1
Scenedesmus intermedius	1 waarneming van 4 cellen	1
Tetrastrum komarekii	1 waarneming van 16 cellen ³	4
Tetrastrum staurogeniaeforme	1 waarneming van 4 cellen	1

¹ Uitgaande van een gemiddelde individugrootte van 50 cellen.

² Uitgaande van een gemiddelde individugrootte van 25 cellen.

³ Opgebouwd uit vier syncoenobia.

Analyse-inspanning

De analyse-inspanning is de tijd die men aan een analyse besteedt, voor zover die wordt bepaald door de grootte van de steekproef waaraan men de analyse uitvoert. Hoe groter de steekproef, hoe meer tijd men kwijt is. Maar ook geldt: hoe groter de steekproef, hoe meer soorten een ervaren analist zal vinden en hoe betrouwbaarder de aantalsbepaling kan zijn. Om analyseresultaten te kunnen vergelijken, moet de analyse-inspanning dus enigszins gestandaardiseerd worden.

In werkvoorschriften wordt de analyse-inspanning doorgaans uitgedrukt in het aantal algen dat men moet tellen. Een veel gebruikte richtlijn is: 'Tel tweehonderd individuen'. In plaats van individuen praten wij liever over 'waarnemingen'. Dit is een betere term vanuit statistisch oogpunt en het voorkomt verwarring met het begrip individu als teleenheid (zie eerder in deze paragraaf). Daarnaast moet de analyse-inspanning nog op een andere manier vastgelegd worden, namelijk in de minimale grootte van het deelmonster dat men onderzoekt. Een tweede voorwaarde kan dan zijn: 'Onderzoek minimaal vijf beeldvelden'. De achtergrond hiervan is, dat de algen op de cuvetbodem niet homogeen verdeeld zijn, maar volgens het toeval. Hierdoor varieert het aantal algen per beeldveld en moet men meerdere beeldvelden tellen om tot een goed gemiddelde te kunnen komen.

Tabel 7.4 Voorbeeld van een telling

In vier stappen.

STAP	TAXON	nWAARN	nCELLEN	CELLEN/ML	%BIOVOLUME	VERGROTING	% CUVET
1	Alg non det.	1	1	57	0,66	630x	1,75
1	Chlorophyceae 1-2 µm cel	3	3	172	0,01	630x	1,75
1	Chlorophyceae 2-5 µm cel	1	1	57	0,03	630x	1,75
1	Chroococcales 2-5 µm cel	2	2	115	0,07	630x	1,75
1	Colacium sp.	1	1	57	1,83	630x	1,75
1	Hortobagiella verrucosa	1	1	57	0,08	630x	1,75
1	Microcystis sp losse cel	2	2	115	0,23	630x	1,75
1	Monoraphidium tortile	1	1	57	0,04	630x	1,75
1	Oocystis sp.	3	13	745	3,67	630x	1,75
1	Pleurochloridaceae non det.	1	1	57	0,25	630x	1,75
1	Scenedesmus armatus	1	4	229	0,42	630x	1,75
1	Scenedesmus costato-granulatus	1	2	115	0,05	630x	1,75
1	Scenedesmus sp.	1	3	172	0,32	630x	1,75
1	Stephanodiscus hantzschii	2	3	172	4,52	630x	1,75
2	Asterionella formosa	18	159	2758	53,31	630x	5,76
3	Aulacoseira ambigua	9	26	104	3,63	200x	25,00
3	Aulacoseira subarctica	5	14	56	1,97	200x	25,00
3	Coenochloris sp.	1	8	32	0,05	200x	25,00
3	Cryptomonas sp.	50	50	200	13,26	200x	25,00
3	Stephanodiscus neoastraea	1	1	4	0,91	200x	25,00
4	Actinocyclus normanii	3	4	8	2,85	200x	50,00
4	Aphanizomenon flos-aquae var. klebahnii	25	570	1140	4,41	200x	50,00
4	Aulacoseira granulata	1	2	4	0,13	200x	50,00
4	Closterium acutum var. acutum	3	3	6	0,40	200x	50,00
4	Closterium limneticum	7	7	14	2,45	200x	50,00
4	Elakatothrix sp.	2	4	8	0,20	200x	50,00
4	Pediastrum boryanum	12	322	644	0,21	200x	50,00
4	Peridiniaceae	1	1	2	0,27	200x	50,00
4	Planktothrix agardhii	3	343	686	1,50	200x	50,00
4	Scenedesmus maximus	2	6	12	0,14	200x	50,00
4	Staurastrum chaetoceras	2	2	4	0,19	200x	50,00
4	Staurastrum planctonicum	1	1	2	1,40	200x	50,00
4	Staurastrum sp.	1	1	2	0,10	200x	50,00
4	Thalassiosira lacustris	1	1	2	0,42	200x	50,00
Stap 1 totaal		21	38	2178	12		
Stap 2 totaal		18	159	2758	53		
Stap 3 totaal		66	99	396	20		
Stap 4 totaal		64	1267	2534	15		
Telling totaal		169	1563	7866	100		

Tweehonderd waarnemingen, mits...

Hoe groot de analyse-inspanning moet zijn, wordt bepaald door de vraag en de gewenste betrouwbaarheid (zie [bijlage 18](#)). Voor een representatief beeld van de soortensamenstelling, is een analyse-inspanning van tweehonderd waarnemingen een goede richtlijn. Bij de aanbevolen telstrategie wordt dit aantal verdeeld over meerdere analysestappen.

Tweehonderd waarnemingen is te weinig als men te maken heeft met heel soortenrijke monsters; driehonderd of meer, is dan al gauw nodig voor een representatief beeld. Aan de andere kant kan men bij soortenarme monsters volstaan met minder waarnemingen; het is niet nodig om meer dan vijftig cryptomonassen te tellen, in een monster met alleen dit organisme.

Een speciaal geval vormen monsters met heel weinig algen en veel slib, bijvoorbeeld monsters uit december-januari, of monsters uit troebele rivieren.

Door het hoge slibgehalte kunnen deze monsters niet geconcentreerd worden. Het verzamelen van tweehonderd waarnemingen kan dan zeer tijdrovend zijn. In zo'n geval kan men afspreken om een kleiner aantal waarnemingen te verzamelen, bijvoorbeeld vijftig of honderd.

7.3.4 Biovolumebepaling

Waarom?

Een biovolumebepaling is niet noodzakelijk voor toepassing van de KRW-maatlat en de EBeo-systemen. Het biovolume kan gebruikt worden als maat voor de biomassa. Om een aantal redenen levert zo'n biovolumebepaling een duidelijke meerwaarde aan het resultaat van de fytoplanktonanalyse (zie ook Smayda (1978):

- de biovolumebijdrage van algen is belangrijker dan de aantalsverhouding, voor een ecologische interpretatie. De biovolumebijdrage toont hoe de aanwezige algensoorten de beschikbare voedingsstoffen verdeelen, in een omgeving waar ook verlies door sedimentatie en begrazing een rol speelt;
- om het aandeel van algensoorten in het gemeten chlorofyl-a-gehalte te bepalen moet ook de abundantie van de algen uitgedrukt worden in een biomassa-gerelateerde maat, zoals het biovolume;
- binnen de KRW wordt het biovolume van fytoplankton gebruikt om analyseresultaten tussen verschillende Europese landen te vergelijken, in het kader van de interkalibratie van maatlaten. Om hieraan mee te kunnen doen moet ook Nederland data op kunnen leveren waarin de abundantie van het fytoplankton is uitgedrukt in biovolume.

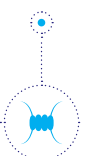
Voorschriften

In het werkvoorschrift zijn twee voorschriften opgenomen voor de bepaling van het biovolume. In het ene worden algen gemeten, het andere maakt gebruik van een gemiddeld celvolume per soort. Met dergelijke gemiddelden, toepasbaar voor Nederlandse oppervlaktewateren, kan men in het algemeen een bruikbaar resultaat behalen dat voldoet in routinematige monitoringprogramma's.

Meten

Het opmeten van algen is zeer tijdrovend. Bovendien kan men in veel gevallen niet alle (en bij sommige soorten nooit alle) dimensies tegelijk zien en opmeten.

Voor routinematig monitoringonderzoek zijn daarom computerprogramma's ontwikkeld die tijdsbesparend zijn. Deze programma's maken gebruik van soortspecifieke verhoudingen tussen de dimensies. Met het programma Count Manager bijvoorbeeld, kunnen tijdens de analyse zowel aantallen als afmetingen ingevoerd worden. Bij het programma zit een lijst met gemiddelde celvolumes voor de meeste in Nederland aan te treffen soorten. Het biovolume wordt per soort berekend uit deze default afmetingen, tenzij metingen zijn ingevoerd. In dat geval berekent het programma het biovolume uit de ingevoerde afmeting.



Wanneer het niet mogelijk is om de soort te bepalen, wordt de alg toegekend aan een hoger taxonomisch niveau. Om het biovolume toch zo goed mogelijk te kunnen berekenen moet men onderscheid maken in grootteklassen (bijvoorbeeld Centrales - diameter >10-20 µm).

7.3.5 Het determineren

Algemeen

Om de maatlatten te kunnen toepassen is een determinatie tot op soortsniveau niet altijd vereist. Toch vinden wij het een goede gewoonte om altijd te streven naar determinatie tot op soort. Hierdoor vergroot men de toepassingsmogelijkheden van de resultaten. De analist vergroot hierdoor zijn kennis en vaardigheden en ontwikkelt een kritische blik. Tevens draagt men bij aan de ontwikkeling van nieuwe kennis en toepassingen. Een ervaren analist herkent een soort meestal direct. Wanneer dit niet het geval is, is ook het geslacht soms niet met zekerheid vast te stellen.

Inwerken

Het determineren van planktonalgen vergt veel kennis en ervaring. Een beginnende analist heeft een gedegen inwerkprogramma nodig van drie tot zes maanden, onder intensieve begeleiding van ervaren analisten. Na deze periode kan hij of zij bevoegd verklaard worden voor het uitvoeren van tellingen (op basis van een reeks succesvolle tweedelijnscontroles). Het eerste jaar moet de beginnende analist, bij de geringste twijfel raad kunnen vragen aan ervaren collega's en hier ook toe aangezet worden. De aanwezigheid van één of meer ervaren collega's op een laboratorium is cruciaal voor een succesvolle inwerking.

Determinatieliteratuur

Bijlage 30 geeft een overzicht van aanbevolen determinatiewerken, geordend per algengroep. Bij de samenstelling is zoveel mogelijk uitgegaan van veel gebruikte standaardwerken, zoals de serie Süßwasserflora von Mitteleuropa en 'Huber-Pestalozzi'. Echter, niet alle algen kunnen met deze standaardwerken bevredigend gedetermineerd worden. Dit komt omdat nog steeds nieuwe algensoorten ontdekt worden. Daarnaast wijzigen de taxonomische inzichten zo nu en dan.

De lijst van determinatieliteratuur kan zonder problemen uitgebreid worden met vele nuttige, aanvullende publicaties. In de TWN-naamlijst is achter elk taxon de literatuur vermeld waarin het beschreven is.

Naamlijst

Voor de uitwisseling van gegevens is het essentieel dat ieder laboratorium dezelfde naamlijst hanteert. De standaardnaamlijst is de TWN-lijst (Taxon Waterbeheer Nederland). De TWN-lijst is beschikbaar via de site van IDSW (InformatieDesk standaarden Water; zie [bijlage 2](#)).

In de oudere IAWM-lijst zijn niet alle Nederlandse taxa opgenomen. Van sommige soorten is de naam verouderd en in enkele namen komen schrijffouten voor. In de TCN-lijst zijn deze schrijffouten eruit gehaald, maar deze lijst wordt niet meer geactualiseerd.

Speciale technieken voor het determineren

Voor het determineren van sommige soorten zijn speciale technieken nodig. Wanneer deze soorten een belangrijk aandeel hebben in het fytoplankton (meer dan ca. 20%) èn verder onderzoek perspectieven biedt, verdient het aanbeveling om deze speciale technieken toe te passen. In de bijlage 20 zijn de meest gebruikte technieken beschreven.

Omgang met onzekerheden

Voor een juiste beoordeling en interpretatie is een correcte determinatie essentieel. Dit vergt een kritische blik met oog voor detail, inzicht en ervaring, maar vooral: kwalitatief hoogwaardige microscoop-objectieven.

Door te beginnen met het maken van een soortenlijst krijgt men een goede indruk van de soortensamenstelling van het monster. In sommige gevallen moet men meerdere individuen hebben gezien, vóór men kan bepalen met welke soort men te maken heeft.

In ieder monster komt men algen tegen die niet met zekerheid op soort of geslacht te determineren zijn. Determineer dergelijke tot op een hoger taxonomisch niveau volgens de TWN-systematiek. Maak onderscheid tussen grootteklassen, wanneer gedetermineerd wordt op een hoger niveau dan geslachtsniveau. Dit met het oog op de vergelijkbaarheid met andere resultaten en beoordelingen. Met name de zeer kleine algen ($< 2 \mu\text{m}$), moeten voor de EBeo- en KRW-beoordelingen buiten beschouwing worden gelaten. Op de duur wordt het determineren ook door enige intuïtie gestuurd. Des te meer geldt dan: wees zorgvuldig en schat de betrouwbaarheid van de identificatie in. Wees bewust van het beginsel: beter geen naam dan een verkeerde naam.

7.3.6 Kritische stappen in bemonstering en analyse

Verdeling

De verdeling van de algen over de bodem van het sedimentatiecuvet, is van grote invloed op de reproduceerbaarheid van het analyseresultaat, met name van de dichtheidsbepaling. De verdeling moet 'volgens het toeval zijn', met andere woorden, volgens een Poisonverdeling (zie [bijlage 18](#)).

Ondergrens

Waar ligt de ondergrens qua grootte van wat nog gezien en meegeteld wordt? Met de in dit voorschrift gestelde eisen is een ondergrens van $1 \mu\text{m}$ haalbaar. Geef in specificaties en rapportages altijd aan welke ondergrens gehanteerd wordt. Onderscheid grootteklassen wanneer men bij de determinatie hogere taxonomische niveau's dan geslachtsniveau hanteert!

Over het hoofd zien

Bepaalde soorten chroococcale blauwalgen en kleine groenalgen kunnen gemakkelijk over het hoofd gezien worden bij een zwakkere vergroting van 200x of 400x (bijvoorbeeld *Cyanocadena imperfectum* en groenalgen van $1 \text{ à } 2 \mu\text{m}$). Tel deze kleine soorten daarom bij een sterkere vergroting van 600x. Soortenlijsten zijn ook onbetrouwbaar wanneer alleen met een sterke vergroting (600x) geteld wordt, omdat de grootte van het onderzochte volume hierbij relatief klein is. Een ideale combinatie voor fytoplanktonanalyse is een 20 en 60 olie-immersieobjectief.

Optiek

De kwaliteit van de microscoop-objectieven is van grote invloed op het resultaat van de analyse, maar ook op het werkplezier en de productiviteit van de analist. Het is daarom niet verstandig om te bezuinigen op de aanschaf van dit soort 'kritische' apparatuur.

7.3.7 Verder lezen

Wie meer wil lezen over de methodieken van fytoplanktononderzoek verwijzen wij naar de fytoplanktonhandboeken van Sournia (1978) en Hallegraeff et al. (2003) en naar de site van de Helsinki Commission (HELCOM 2008).

7.4 KWALITEITZORG

Opleiding

Iedereen die fytoplankton gaat determineren moet een inwerkprogramma hebben doorlopen. Gecertificeerde hydrobiologische laboratoria moeten hiervoor een opleidingstraject hebben, dat doorlopen wordt

onder supervisie van een ervaren analist (zie NEN EN 17205). Bij zelfstudie moet men ondersteuning zoeken bij externe specialisten en deel nemen aan determinatiedagen georganiseerd door het Planktonoverleg Nederland (zie [bijlage 2](#) voor adressen).

Lijnscontroles

Gecertificeerde hydrobiologische laboratoria moeten lijnscontroles uitvoeren, om de kwaliteit van hun analyseresultaten te waarborgen. Er zijn drie lijnscontroles. Tezamen moeten zij de betrouwbaarheid van onderzoeksresultaten waarborgen. In de werkvoorschriften zijn richtlijnen en tips gegeven om deze lijnscontroles in te vullen.

7.5 TIJDSBESTEDING

Onderstaande begroting is gebaseerd op de inzet van ervaren monsternemers en analisten.

Bemonsteringstijd is exclusief (de)mobilisatie en reistijd van en naar het water.

Analysetijd is inclusief voor- en nabehandeling (schoonmaken cuvetjes), maar exclusief gegevensverwerking en rapportage.

Monitoring ecologische toestand

Bemonstering

Stromende wateren en sloten: 0,2 uur (vanaf oever).

Kanalen: 0,4 uur (per boot).

Ondiepe plassen: 0,6 uur (per boot).

Diepe plassen: 0,8 uur (per boot).

Analyse

Zonder biovolumebepaling: 2,2 uur (range 1,8 tot 2,5 uur).

Met biovolumebepaling: 2,7 uur (range 2,3 tot 3,0 uur).

Zwemwatercontrole

Bemonstering

Plassen (zwemzone vanaf oever): 0,2 uur.

Analyse

Telling potentieel toxische blauwalgen (quick scan): 0,8 uur (range 0,5 tot 1,2 uur).

Determinatie drijfslag: 0,4 uur (range 0,3 tot 0,5 uur).

7.6 LITERATUURVERWIJZINGEN

Anonymus (2005) *Handreiking bij het opstellen van een zwemwaterprofiel*. RIZA-Grontmij. 44 pp.

Bees MA, Mezic I & McGlade J (1998) Planktonic interactions and chaotic advection in Langmuir circulation. *IMACS Mathematics and Computers in Simulation* 44: 527-544.

Bijkerk R & Berg GJ (2005) *Zicht in meren. Een ecologisch statusrapport van de vier meren in het beheersgebied van het Waterschap Hunze en Aa's*. Rapport 2004-118, Koeman en Bijkerk bv, Haren. 93 pp.

Briand J F, Lebourlangier Ch, Humbert J-F, Bernard C & Dufour P (2004) *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) invasion at mid-latitudes: selection, wide physiological tolerance, or global warming. *Journal of Phycology* 40: 231- 238.

Chorus I (ed) (2001) *Cyanotoxines – Occurrence, causes, consequences*. Springer Verlag, Berlin. 357 pp.

- Chorus I & Bartram J (1999) *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management*. Published on behalf of World Health Organization. E & FN Spon, Londen, New York. 416 pp.
- Codd GA, Lindsay J, Young FM, Morrison LF & Metcalf JS (2005) Harmful cyanobacteria. From mass mortalities to management measures. In: Huisman J, Matthijs HCP & Visser PM (eds) *Harmful cyanobacteria*. Aquatic Ecology Series, Volume 3. Springer Verlag, Dordrecht. pp 1-23.
- Dresscher TGN (1976) *Index van de namen en vindplaatsen die betrekking hebben op in Nederlandse wateren aangetroffen algen en enige groepen van micro-organismen*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam. 808 pp.
- Europees Parlement en de Raad van de Europese Unie (2000). *Richtlijn 2000/60/EG van het Europees parlement en de raad van 23 oktober 2000 tot vaststelling van een kader voor communautaire maatregelen betreffende het waterbeleid. (Kaderrichtlijn Water)*. Brussel. Publicatieblad van de Europese Gemeenschappen, 22-12-2000.
- Europees Parlement en de Raad van de Europese Unie (2006) *Richtlijn 2006/7/EG van het Europees Parlement en de Raad van 15 februari 2006 betreffende het beheer van de zwemwaterkwaliteit en tot intrekking van Richtlijn 76/160/EEG*. Publicatieblad van de Europese Unie 4.3.2006, L64/37-51.
- Evers CHM & Knoben RAE (red) (2007) *Omschrijving MEP en maatlatten voor sloten en kanalen voor de Kaderrichtlijn Water*. Rapport 2007-32b, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Utrecht. 144 pp.
- Gezondheidsraad (2001) *Microbiële risico's van zwemmen in de natuur*. Publicatie nr 2001/25, Gezondheidsraad, Den Haag. 99 pp.
- Hallegraeff GM, Anderson DM & Cembella AD (eds) (2003) *Manual on harmful marine microalgae*. Monographs on Oceanographic Methodology 11. UNESCO Publishing, Paris. 793 pp.
- Heaney SI & Talling JF (1980) Dynamic aspects of dinoflagellate distribution patterns in a small, productive lake. *Journal of Ecology* 68: 75-94.
- HELCOM (2008) *Annex 6: Guidelines concerning phytoplankton species composition, abundance and biomass. Update 8.1.2008*. http://www.helcom.fi/groups/monas/CombineManual/AnnexesC/en_GB/annex6/
- Hepperle D & Krienitz L (2001) Systematics and ecology of chlorophyte picoplankton in German inland waters along a nutrient gradient. *International Review of Hydrobiology* 86: 269-284.
- Huisman J, Matthijs HCP & Visser PM (eds) (2005) *Harmful cyanobacteria*. Aquatic Ecology Series, Volume 3. Springer Verlag, Dordrecht. 241 pp.
- Knopf K, Hoehn E, Mischke U & Nixdorf B (2000) *Klassifizierungsverfahren von Seen anhand des Phytoplanktons. Teil I der Literaturstudie über "Ökologische Gewässer-wertung-Phytoplankton" im Auftrag der ATV/DVWK und LAWA-AG "Stehende Gewässer"*. BTU, Cottbus. 100 pp.
- NEN-EN 15204 (2006) *Water quality - Guidance standard on the enumeration of phytoplankton using inverted microscopy (Utermöhl technique)*. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 42 pp.
- N109 (2007) *Water Quality - Guidance on quantitative and qualitative sampling of phytoplankton from inland waters*. German draft proposal for CEN/TC 230 d.d. 28 april 2007.
- Padisák J, Crossetti LO & Naselli-Flores L (2009) Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. *Hydrobiologia* 621: 1-19.
- PON (2007) *Werkdocument fytoplankton en epifytische diatomeeën in Nederland*. Plankton Overleg Nederland, Lelystad. 62 pp. + deel 2 soortenlijst.
- Redeke HC (1935) *Synopsis van het Nederlandse zoet- en brakwater-plankton*. Publicatie no. 2, Hydrobiologische Club, Amsterdam.
- Reynolds CS (1978) Phosphorus and the eutrophication of lakes – a personal view. In: Porter R & FitzSimons D (eds) *Phosphorus in the environment: its chemistry and biochemistry*. CIBA Foundation Symposium 57 (new series), Elsevier – Excerpta Medica, Amsterdam. pp 201-228.
- Reynolds CS (1984) *The ecology of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge. 384 pp/
- Reynolds CS (1988) Functional morphology and the adaptive strategies of freshwater phytoplankton. In: Sandgren CD (ed) *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge. pp 388-433.

- Reynolds CS (1997) *Vegetation processes in the pelagic: a model for ecosystem theory*. Excellence in ecology 9. Ecology Institute, Oldendorf. 371 pp.
- Reynolds CS (2006) *Ecology of phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge. 535 pp.
- Reynolds CS, Huszar V, Kruk C, Naselli-Flores L & Melo S (2002) Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 24: 417-428.
- Salonen K & Rosenberg M (2000) Advantages from diel vertical migration can explain the dominance of *Gonyostomum semen* (Raphidophyceae) in a small, steeply-stratified humic lake. *Journal of Plankton Research* 22:1841-1853.
- Sandgren CD (ed) (1988) *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge. 442 pp.
- Scott JT, Myer GE, Stewart R & Walther EG (1969) On the mechanism of Langmuir circulations and their role in epilimnion mixing. *Limnology and Oceanography* 14: 493-503.
- Smayda TJ (1978) What to count? In: Sournia A (ed) (1978) *Phytoplankton manual*. Monographs on oceanographic methodology 6: UNESCO, Paris. pp 165-166.
- Sommer U, Gliwicz ZM, Lampert W & Duncan A (1986) The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters. *Archiv für Hydrobiologie* 106: 433-471.
- Sournia A (ed) (1978) *Phytoplankton manual*. Monographs on oceanographic methodology 6: UNESCO, Paris. 337 pp.
- Stefaniak K & Kokocinski M (2005) Occurrence of invasive cyanobacteria species in polymictic lakes of the Wielkopolska region (Western Poland). *Oceanological and Hydrobiological Studies* 34, Supplement 3, Institute of Oceanography, University of Gdansk: 137-148.
- STOWA (1994a) *Ecologische beoordeling en beheer van oppervlaktewater. Beoordelingssysteem voor kanalen op basis van macrofyten, macrofauna, epifytische diatomeeën en fytoplankton*. Rapport 94-1, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Utrecht. 77 pp.
- STOWA (1994b) *Ecologische beoordeling en beheer van oppervlaktewater. Beoordelingssysteem voor zand-, grind- en kleigaten op basis van fyto- en zooplankton, macrofyten, macrofauna en epifytische diatomeeën*. Rapport 94-18, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Utrecht. 60 pp.
- STOWA (1997) *Eco-atlas van waterorganismen. Deel II: fytoplankton en macrofyten*. Rapport 97-38, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Utrecht. 292 pp.
- STOWA (2006) *Handboek Nederlandse ecologische beoordelingssystemen (EBeo-systemen). Deel A. Filosofie en beschrijving van de systemen*. Rapport 2006-04, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Utrecht. 255 pp.
- Stüken A, Rücker J, Endrulat T, Preussel K, Hemm M, Nixdorf B, Karsten U & Wiedner C (2006) Distribution of three alien cyanobacterial species (Nostocales) in northeast Germany: *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Anabaena bergii* and *Aphanizomenon aphanizomenoides*. *Phycologia* 45: 696-703.
- Utermöhl H (1958) Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitteilung Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie* 9: 1-38.
- Van den Berg M & Pot R (red) (2007) *Achtergronddocument referenties en maatlatten fytoplankton ten behoeve van de Kaderrichtlijn Water. Bijgewerkt april 2008*. Rapportage van de expertgroep fytoplankton. p/a STOWA, Utrecht. 61 pp.
- Van der Molen DT & Pot R (red) (2007a) *Referenties en maatlatten voor natuurlijke watertypen voor de Kaderrichtlijn Water*. Rapport 2007-32, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Utrecht. 362 pp.
- Van der Molen DT & Pot R (red) (2007b) *Referenties en maatlatten voor natuurlijke watertypen voor de Kaderrichtlijn Water. Aanvulling kleine typen*. Rapport 2007-32 Aanvulling, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Utrecht. 166 pp.
- Vighi M & Chiaudani G (1985) A simple method to estimate lake phosphorus concentrations resulting from natural, background, loadings. *Water Research* 19: 987-991.
- WHH (2000) *Richtlijnen voor onderzoek naar fytoplankton en epifytische diatomeeën in Noord- en Zuid-Holland*. Werkgroep Hydrobiologie Holland. 28 pp + deel 2 – soortenlijst.

WERKVOORSCHRIFT 7A BEMONSTERING VAN FYTOPLANKTON IN OPPERVLAKTEWATER

7A.1 Doel en toepassingsgebied

Dit werkvoorschrift heeft betrekking op fytoplankton uit stilstaande en stromende, zoete tot brakke wateren. Het bevat op de eerste plaats richtlijnen voor het bemonsteren van deze algen. Op de tweede plaats geeft het aanwijzingen voor het verzamelen en verwerken van metagegevens. Op de derde plaats geeft het adviezen voor de kwaliteitszorg van de bemonstering.

De beschreven bemonsteringsmethode is bedoeld voor de volgende toepassingen:

- beoordeling ecologische kwaliteit volgens de KRW-maatlat (Evers & Knoben 2007, Van der Molen & Pot 2007a en 2007b);
- beoordeling ecologische kwaliteit volgens EBeo (STOWA 2006).

Opmerking

Dit werkvoorschrift is niet van toepassing op bemonsteringen in het kader van onderzoek naar de zwemwaterkwaliteit.

7A.2 Beginsel

Uit een oppervlaktewater neemt men een monster van het deel van de waterkolom waarin zich de algen bevinden die verantwoordelijk zijn voor de primaire productie. Het monster wordt direct na monstername geconserveerd met Lugol.

7A.3 Normen

Onderdelen van dit voorschrift zijn gebaseerd op de volgende normen:

NEN-EN 14996:2006

Water quality - Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment (Richtlijn voor de kwaliteitsborging van biologische en ecologische beoordelingen in het aquatische milieu) - juni 2006.

Verder is rekening gehouden met het volgende voorstel voor een norm:

N109 2007/04/28

Water Quality - Guidance on quantitative and qualitative sampling of phytoplankton from inland waters (draft proposal for CEN/TC 230) – april 2007.

Opmerking

Dit normvoorstel is niet geheel toepasbaar voor ondiepe, stilstaande wateren met een gemiddelde diepte kleiner dan drie meter. Voor deze categorie wateren hebben wij in dit werkvoorschrift daarom eigen bemonsteringsdiepten gegeven. Daarnaast bevelen wij voor meren aan om een meetpunt te kiezen op een plaats waar de waterdiepte minstens gelijk is aan de gemiddelde diepte van het meer. Het normvoorstel kiest het meetpunt op de plek waar de plas het diepst is.

7A.4 Termen en definities

De in de voorschriften gebruikte termen en definities zijn verklaard in [bijlage 1](#). Zie ook de normbladen NEN-EN 14996 en NEN-EN 15204 en de ontwerpnorm N109 2007/04/28.

7A.5 Chemicaliën

Voor het conserveren van monsters heeft men de volgende chemicaliën nodig:

- a alkalische Lugol: voor conservering van monsters (voor bereiding en gebruik zie [bijlage 12](#));
- b zure Lugol: voor conservering van monsters waarin de schaaltes van kiezelwieren goed bewaard moeten blijven (voor bereiding en gebruik zie [bijlage 12](#));
- c formaline: voor het nafixeren van Lugolgeconserveerde monsters (voor bereiding en gebruik zie [bijlage 12](#)).

7A.6 Apparatuur en hulpmiddelen

Voor het bemonsteren van fytoplankton heeft men de volgende apparaten en hulpmiddelen nodig:

- a fles-monsternemer: een fles of kunststof bekerglas aan een steel. Voor bemonstering vanaf de oever moet de lengte van de steel minimaal drie meter zijn. Handig is een traploos instelbare telescoopstang, die uitschuifbaar is tot minimaal deze lengte. Zie [bijlage 10](#) voor beschrijving en instructie;
- b mengvat: een schone, grote emmer of koelbox waarin men submonsters verzamelt om ze te kunnen mengen tot een mengmonster. De inhoud moet ruim voldoende zijn voor alle submonsters op het meetpunt;
- c monsterflessen: schone, bijvoorkeur vierkante wijdhalsflessen van glas of hard pvc, met een deksel en inlay die een waterdichte en gasdichte afsluiting waarborgt. Kies een fles met een geschikte grootte. Een inhoud van 100 tot 250 ml is in de praktijk goed toepasbaar. Een volume van 1000 ml is voor de analyse doorgaans veel meer dan nodig en vraagt meer opslagruimte en, eventueel, verzendkosten;
- d steekbuis: een anderhalf tot twee meter lange buis met een interne diameter van ongeveer zes centimeter, die aan de onderzijde kan worden afgesloten met behulp van een stop. Voor gebruik in wateren tot anderhalf à twee meter diep. Zie [bijlage 10](#) voor beschrijving en instructie;
- e waterhapper: een instrument om watermonsters te verzamelen op nauwkeurig te bepalen diepten in de waterkolom. Het apparaat moet voorzien zijn van minimaal tien meter lijn; voor diepe plassen kan 22 meter lijn noodzakelijk zijn. Zie [bijlage 10](#) voor beschrijving en instructie.

7A.7 Bemonsteringsfrequentie en -tijdstip

- 1 Kies de bemonsteringsfrequentie in overeenstemming met de eisen van de beoordelingssystemen en het watertype, aan de hand van tabel [7A.1](#) en de toelichting verder in deze paragraaf.
- 2 Kies de tijdstippen van een maandelijks bemonstering zodanig, dat de tijdsintervallen tussen de bemonsteringstijdstippen gelijk zijn (equidistant).

Tabel 7A.1 Eisen aan frequentie en tijdstip van bemonstering

Vanuit de verschillende beoordelingssystemen.

BEOORDELING-SYSTEEM	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	BEMONSTERINGS-TIJDSTIP(PEN)	AANTAL MONSTERS
KRW ongebufferd			1					1			apr-mei en aug-sep	2
KRW gebufferd			1	1-2		1	1-2				apr, mei en/of jun, jul, aug en/of sep	4 tot 6
EBeoBrak			1	1	1	1	1	1-2			apr, mei, jun, jul, aug, sep en/of okt	6 tot 7
EBeoGat				0-1				1			apr-jun en/of aug-okt	1 tot 2
EBeoKan				0-1			1				mei-jun en/of aug-sep	1 tot 2
EBeoMeer	1	1	1	1	1	1	1	1	1		feb/mrt, apr, mei, jun, jul, aug, sep, okt/nov	8

KRW maatlat

De meetfrequentie is afhankelijk van het watertype:

- a ongebufferde tot zeer zwak gebufferde wateren (M4, M12, M13, M17, M18, M26): bemonster één maal in de periode april-mei en éénmaal in de periode augustus-september;
- b zwak tot sterk gebufferde wateren (M3, M6, M7, M10, M11, M14, M15, M16, M19, M20, M21, M22, M23, M24, M25, M27, M28, M29, M30, M31, M32): bemonster minimaal vier keer in het zomerhalfjaar in de volgende perioden: april, mei-juni, juli en augustus-september.

EBeoBrak

Bemonster zes tot zeven keer in de periode april-oktober, bij voorkeur één keer per maand in april-augustus en één of twee keer in september-oktober.

EBeoGat

Bemonster één keer in de periode april-juni en/of één keer in de periode augustus-oktober. Als men maar één keer per jaar kan bemonsteren, kies dan bij voorkeur voor de periode augustus-september.

EBeoKan

Bemonster één keer in de periode mei-juni en/of één keer in de periode augustus-september. Als men maar één keer per jaar kan bemonsteren, kies dan bij voorkeur voor de periode augustus-september.

EBeoMeer

Bemonster één keer in de periode februari-maart, maandelijks gedurende het zomerhalfjaar (april tot en met september) en één keer in de periode oktober-november.

7A.8 Meetpuntkeuze

Algemeen

- 1 Kies het meetpunt zoals verderop in deze paragraaf is beschreven voor de verschillende watertypen. Zorg dat het meetpunt buiten de oeverzone ligt en niet te dicht bij versturende elementen, zoals een zijwater, een haven of een lozingspunt. Alleen als aan deze voorwaarden voldaan wordt, kan men bemonsteringen uitvoeren vanaf een pier, krib of brug.
- 2 Kies binnen deze voorwaarden bij voorkeur een meetpunt dat in het verleden eerder is bemonsterd.
- 3 Voer de bemonstering uit op twee monsterpunten, die liggen binnen een straal van ongeveer twintig meter rond het meetpunt en op een onderlinge afstand van ongeveer tien meter (zie [figuur 7A.1](#)).

Sloten

- 1a Bij sloten die smaller zijn dan zes meter: kies het meetpunt en de monsterpunten in het midden van de sloot.
- 1b Bij sloten die breder zijn dan zes meter: kies het meetpunt en de monsterpunten op minimaal drie meter buiten de oever, dan wel de zone met oevervegetatie.

Kanalen

- 1 Kies het meetpunt en de monsterpunten in het midden van het kanaal. Bij zeer druk bevaren kanalen kan men kiezen voor een meetpunt op minimaal drie meter buiten de oever, dat men vanaf de oever kan bemonsteren.

Meren en plassen (zowel ondiepe als diepe)

- 1 Kies het meetpunt en de monsterpunten op een plaats in het midden van meer of plas, waar de waterdiepte minimaal gelijk is aan de gemiddelde diepte in de plas.

- 2 Bij kleine poelen en vennen (diameter kleiner dan omstreeks twintig meter), mag de onderlinge afstand van de monsterpunten kleiner zijn dan tien meter. Meet- en monsterpunten moeten te allen tijde minimaal drie meter buiten de oever liggen.

Opmerking

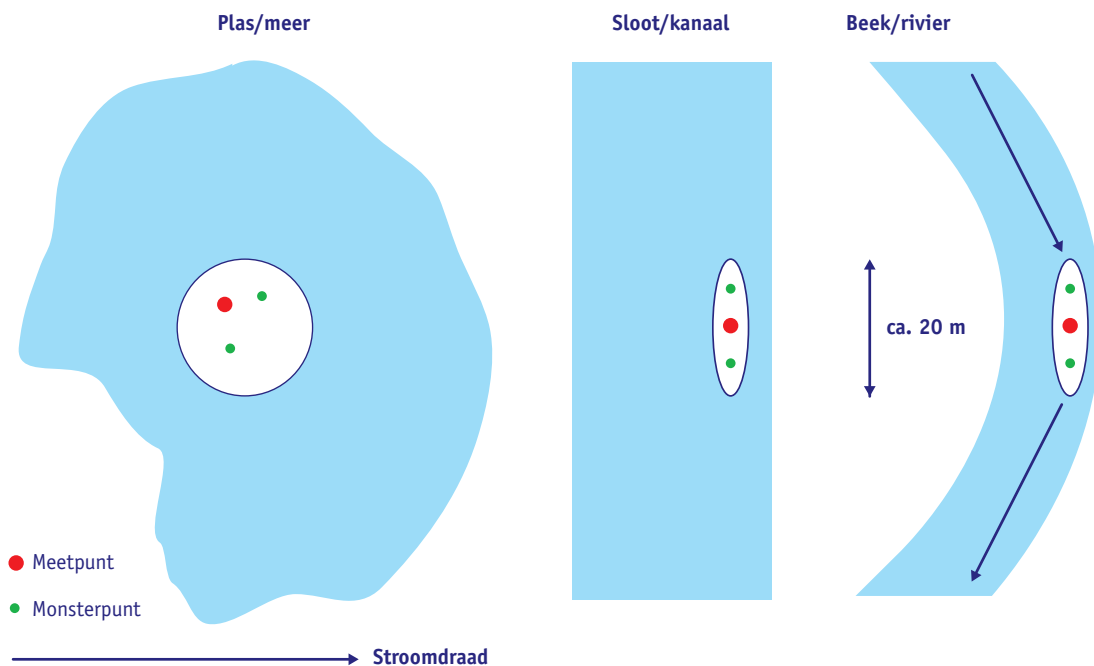
Bij ondiepe plassen die lokaal verdiept zijn voor scheepvaart of zandwinning, tellen deze verdiepingen niet mee in de gemiddelde diepte.

Stromende wateren

- 1 Kies het meetpunt en de monsterpunten in de stroomdraad.

Fig 7A.1 Ligging van monsterpunten in een plas en in lijnvormige wateren

De monsterpunten liggen binnen een gebied van ongeveer twintig meter rond een meetpunt, op een onderlinge afstand van ongeveer tien meter en op minimaal drie meter buiten de oever (tenzij het water smaller is dan zes meter, of de stroomdraad dichters langs de oever loopt).



7A.9 Uitvoering

Sloten

- 1 Voer de bemonstering uit vanaf de oever met een fles-monsternemer als volgt:
 - a sloten niet dieper dan 0,5 m: bemonster de waterkolom op halve diepte (ca. 0,2 m);
 - b sloten dieper dan 0,5 m: bemonster de waterkolom achtereenvolgens op 0,2 en 0,5 m diepte.
- 2 Leeg de fles in het mengvat en herhaal de bemonstering op het andere monsterpunt.
- 3 Meng de inhoud van het mengvat en neem hieruit direct daarna een deelmonster voor de analyse.
- 4 Breng het deelmonster over in een schone monsterfles en vul deze af tot 90%.

Kanalen

- 1 Bemonster het kanaal vanuit een boot met een waterhapper, of steekbuis. Bemonstering kan plaats vinden vanaf een brug, als dit meetpunt representatief is voor het (deel van het) waterlichaam. Voer de bemonstering uit als volgt:
 - a kanalen tot en met 3 m diep: bemonster de waterkolom vanaf het wateroppervlak tot op 0,2 à 0,5 m boven het sedimentoppervlak met een waterhapper, of, wanneer de diepte dit toelaat, met een steekbuis; bij bemonstering met de waterhapper: kies diepte-intervallen van 0,5 m;
 - b kanalen dieper dan 3 m: bemonster de waterkolom vanaf het wateroppervlak tot op 0,5 à 1 m boven het sedimentoppervlak met een waterhapper; kies diepte-intervallen van 1 m.
- 2 Leeg de fles, steekbuis, of waterhapper in het mengvat en herhaal de bemonstering op het andere monsterpunt.
- 3 Meng de inhoud van het mengvat en neem hieruit direct daarna een deelmonster voor de analyse.
- 4 Breng het deelmonster over in een schone monsterfles en vul deze af tot 90%.

Opmerking

Zeer druk bevaren kanalen zullen voortdurend zo goed gemengd zijn, dat men ze kan bemonsteren als een stromend water. Dat houdt in: bemonstering vanaf de oever met een fles-monsternemer op 0,5 m diepte (zie verder in deze paragraaf). Hierdoor loopt men ook minder risico bij de bemonstering.

Ondiepe meren en plassen (gemiddelde diepte ≤ 6 m)

- 1 Bemonster de plas vanuit een boot met een waterhapper, steekbuis of fles-monsternemer, of bij kleine poelen en vennen die niet dieper zijn dan 0,5 m: vanaf de oever met een fles-monsternemer. Voer de bemonstering uit afhankelijk van de gemiddelde diepte als volgt (zie ook [tabel 7A.2](#)):
 - a plassen niet dieper dan 0,5 m: bemonster de waterkolom met een fles-monsternemer op halve diepte (ca. 0,2 m);
 - b plassen 0,5-3 m diep: bemonster de waterkolom vanaf het wateroppervlak tot op 0,2 à 0,5 m boven het sedimentoppervlak met een waterhapper, of, wanneer de diepte dit toelaat, met een steekbuis; bij bemonstering met de waterhapper: kies diepte-intervallen van 0,5 m;
 - c plassen dieper dan 3 m: bemonster de waterkolom vanaf het wateroppervlak tot op 0,5 à 1 m boven het sedimentoppervlak met een waterhapper; kies diepte-intervallen van 1 m.
- 2 Leeg de fles, de waterhapper of de steekbuis in het mengvat en herhaal de bemonstering op het andere monsterpunt.
- 3 Meng de inhoud van het mengvat en neem hieruit direct daarna een deelmonster voor de analyse.
- 4 Breng het deelmonster over in een schone monsterfles en vul deze af tot 90%.

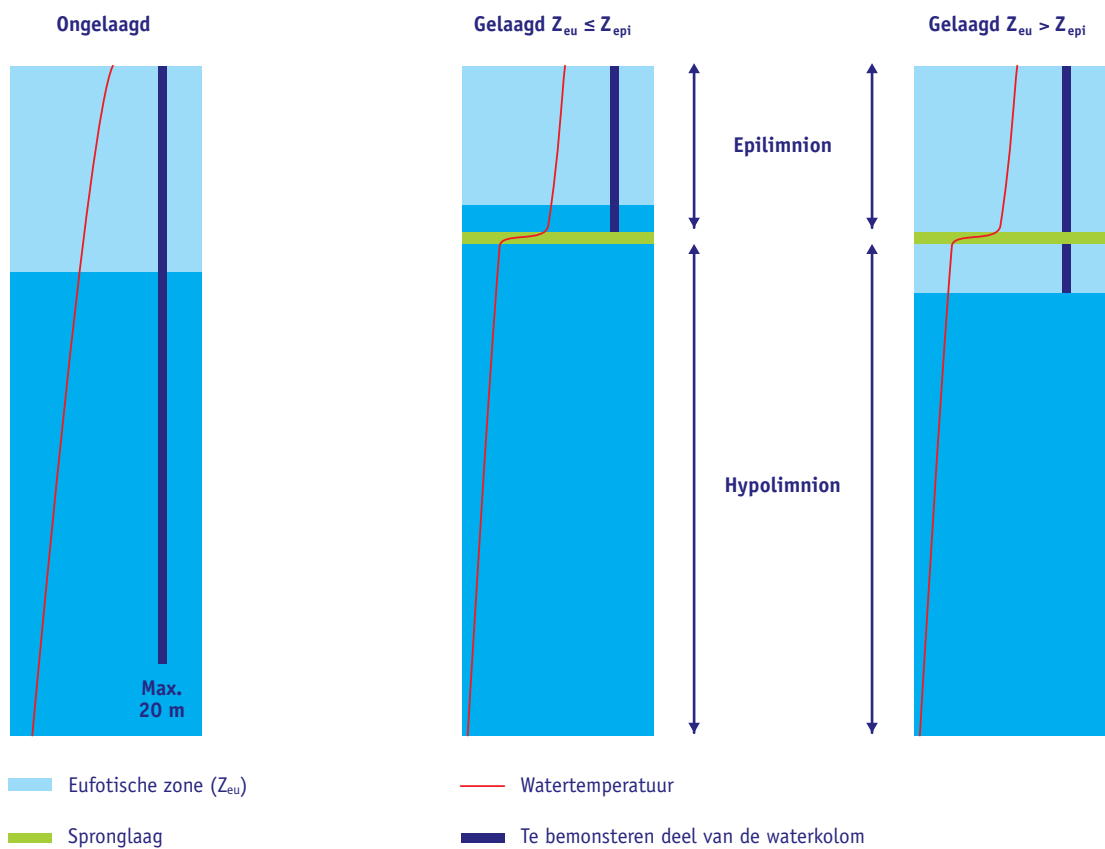
Diepe meren en plassen (gemiddelde diepte > 6 m)

- 1 Bemonster de plas vanaf een boot met behulp van een waterhapper.
- 2 Bepaal de diepte van de eufotische zone, Z_{eu} , en van het epilimnion, Z_{epi} , als volgt:
 - Z_{eu} : meet de zichtdiepte met behulp van een Secchi-schijf; Z_{eu} is bij benadering gelijk aan 2,5 maal de zichtdiepte;
 - Z_{epi} : bepaal de ligging van de spronglaag door meting van het verloop van de watertemperatuur in de verticaal, via temperatuursmetingen op diepte-intervallen van 0,5 m; Z_{epi} is de diepte waarop de watertemperatuur sterk begint de dalen en de spronglaag begint ([figuur 7A.2](#));
- 3 Bemonster de verticaal met diepte-intervallen van één meter, vanaf het wateroppervlak tot een diepte die bepaald wordt door de gelaagdheid en de zichtdiepte, als volgt (zie [tabel 7A.2](#)):
 - a niet gelaagd: bemonster de waterkolom vanaf het wateroppervlak tot op een diepte gelijk aan de gemiddelde diepte van het meer; bemonster tot maximaal 20 m diepte wanneer de gemiddelde diepte van het meer groter is dan 20 m; bemonster tot ca. 1 m boven het sedimentoppervlak;

- b gelaagd en $Z_{eu} \leq Z_{epi}$: bemonster de waterkolom vanaf het wateroppervlak tot de spronglaag (Z_{epi});
 - c gelaagd en $Z_{eu} > Z_{epi}$: bemonster de waterkolom vanaf het wateroppervlak tot een diepte van 2,5 maal de zichtdiepte (Z_{eu}).
- 4 Verzamel de submonsters in het mengvat en herhaal de bemonstering op het andere monsterpunt.
 - 5 Meng de inhoud van het mengvat en neem hieruit direct daarna een deelmonster voor de analyse.
 - 6 Breng het deelmonster over in een schone monsterfles en vul deze af tot 90%.

Fig 7A.2 Bemonstering van diepe meren

Bij diepe meren is de diepte van bemonstering afhankelijk van de gelaagdheid en de diepte van de eufotische zone.



Stromende wateren

- 1 Bemonster de beek of rivier met een fles-monsternemer vanaf oever, krib, ponton, brug, of boot, al naar gelang de breedte van de waterloop en de mogelijkheden op het meetpunt. Voer de bemonstering uit als volgt:
 - a waterlopen ondieper dan 1,0 m: bemonster de waterkolom op halve diepte;
 - b waterlopen dieper dan 1,0 m: bemonster de waterkolom op 0,5 m diepte.
- 2 Leeg de fles in het mengvat en herhaal de bemonstering op het andere monsterpunt.
- 3 Meng de inhoud van het mengvat en neem hieruit direct daarna een deelmonster voor de analyse.
- 4 Breng het deelmonster over in een schone monsterfles en vul deze af tot 90%.

Tabel 7A.2 Overzicht bemonsteringsdiepten

WATERTYPE	SUBTYPE	BEMONSTERDE DIEPTEN IN METER
Stromende wateren	< 0,5 m diep	halve diepte
	> 0,5 m diep	halve diepte
Sloten	< 0,5 m diep	0,2
	> 0,5 m diep	0,2 en 0,5
Kanalen	n.v.t.	0-0,5 of 0,2 en 0,5
Ondiepe plas	poel of klein ven < 0,5 m diep	0,2
	poel of klein ven > 0,5 m diep	0,2 en 0,5
	plas of meer < 3 m diep	0, 0,5, 1, 1,5, ... tot ca. 0,5 m boven sediment
	plas of meer > 3 m diep	0, 1, 2, 3, 4, 5, ... tot ca. 1,0 m boven sediment
Diepe plas	niet-gelaagd	0, 1, 2, 3, 4, 5, ... tot gemiddelde diepte, max 20 m
	gelaagd $Z_{eu} < Z_{epi}^1$	0, 1, 2, 3, 4, 5, ... tot spronglaag
	gelaagd $Z_{eu} > Z_{epi}^1$	0, 1, 2, 3, 4, 5, ... tot 2,5 maal Secchi-diepte

¹ Z_{eu} = diepte eufotische zone (ca. 2,5 maal Secchi-diepte); Z_{epi} = diepte epilimnion

7A.10 Etikettering

Etiketeer de monsterfles op de voorgeschreven wijze (zie [bijlage 11](#)).

7A.11 Conservering en opslag

- 1 Conserveer het monster direct na monsternamen met alkalische Lugol.
- 2 Sla het monster op bij 4 °C in het donker, tenzij men het monster binnen één week gaat analyseren. Sla het monster in dat geval op bij kamertemperatuur in het donker.
- 3 Controleer de staat van conservering in de eerste maand van opslag wekelijks, bij gebruik van alleen Lugol. Voeg bij ontkleuring opnieuw Lugol toe.
- 4 Fixeer het monster na met formaline, wanneer het monster langer dan twaalf maanden bewaard moet blijven. Ook met formaline nagefixeerde monsters bewaart men bij 4 à 5 °C in het donker¹.

Opmerking 1

Mits koel (4 °C) en donker bewaard in dampdichte flessen, kunnen goed geconserveerde Lugolmonsters minimaal twaalf maanden opgeslagen worden voor analyse.

¹ Voor de kwaliteit van de conservering is het aan te raden om het monster zo snel mogelijk na te fixeren met formaline. Voor de microscopische analyse is formaline om gezondheidsredenen echter minder prettig. Voer naxiatie met formaline dus zo snel mogelijk uit na de analyse. Alleen als de analyse niet binnen twaalf maanden plaats kan vinden, doe de naxiatie met formaline dan zo snel mogelijk na de voorfixatie met Lugol.

Opmerking 2

Wanneer het monster kiezelalgen bevat waarvan men de kiezelschaaltjes langdurig wil conserveren, moet men het monster aanzuren. Kiezelschaaltjes lossen namelijk geleidelijk op in een basisch milieu. In plaats van alkalische Lugol gebruikt men dan zure Lugol als conserveermiddel. Als alternatief kan men azijnzuur toevoegen aan een monster dat geconserveerd is met alkalische Lugol. De dosering hiervoor is 0,4 ml azijnzuur per liter Lugolgeconserveerd monster.

7A.12 Rapportage

Bij de bemonstering worden metadata vastgelegd die nodig zijn voor de interpretatie van de bemonsteringsresultaten (zie [hoofdstuk 2](#) voor het begrip metadata).

De metadata worden gekoppeld aan het unieke *monsternummer*.

Leg in het veld onder het monsternummer de volgende gegevens vast op veldformulier of in veldcomputer:

- naam van de monsternemer(s);
- code van het meetpunt²;
- datum van bemonstering (in DD-MMM-JJJJ, dat wil zeggen: 12 aug 2008);
- tijdstip van bemonstering (in HH:MM, dat wil zeggen: 13:30);
- x,y-coördinaten van het meetpunt;
- naam van het water waarin het meetpunt ligt;
- gehanteerde werkvoorschrift;
- verzamelde submonsters (welke submonsters en gebruikte technieken);
- weersomstandigheden tijdens de bemonstering;
- bedekkingspercentage emergente, drijvende en ondergedoken watervegetatie;
- bijzonderheden tijdens de bemonstering (bijvoorbeeld sterke waterstandsval in de voorafgaande periode, aanwezigheid drijfslaag, aanwezigheid grote grazers in het water, ...).

7A.13 Kwaliteitszorg

Kwaliteitszorg op het gebied van bemonstering moet:

- de reproduceerbaarheid en betrouwbaarheid van de bemonstering bevorderen;
- de kwaliteit van de monsters op lange termijn bevorderen.

Overige punten die de kwaliteit van het veldwerk moeten bevorderen worden besproken in de [hoofdstukken 3 en 5](#).

Eerstelijnscontrole

De eerstelijnscontrole is bedoeld om fouten in de uitvoering van een onderzoek te voorkomen. Voor de bemonstering van fytoplankton betekent dit:

- werk volgens dit voorschrift;
- controleer of het materiaal schoon is voor iedere bemonstering;
- zorg voor toereikende en zorgvuldige etikettering van de monsters;
- zorg voor een duurzame conservering van monsters gedurende de opslagperiode.

² Onder de meetpuntcode is bij veel beheerders al een grote hoeveelheid informatie over het meetpunt opgeslagen, zoals de naam van het water en de x,y-coördinaten. Toch is het goed om enkele aanvullende meetpuntidentificatiegegevens in het veld te noteren, om bij afwijkingen (schrijf- of aanwijfsfouten in de monstercode) toch de juiste gegevens te kunnen achterhalen.

Tweedelijnscontrole

De tweedelijnscontrole is bedoeld om de reproduceerbaarheid van de bemonstering binnen één laboratorium te testen. Voor de bemonstering van fytoplankton betekent dit:

- zorg voor een goede, interne opleiding van nieuwe collega-bemonsteraars, waarvan een stage onder begeleiding van een ervaren collega deel uitmaakt;
- organiseer gezamenlijke bemonsteringen in verschillende watertypen.

Derdelijnscontrole

De derdelijnscontrole is bedoeld om de betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid van onderzoeksresultaten tussen laboratoria te testen. Het gebruikelijke ringonderzoek richt zich echter alleen op de analyse, niet op de bemonstering.

Het beste alternatief op dit moment is je aansluiten bij een landelijk overleg van collega-analisten/onderzoekers (zie [bijlage 2](#) voor adressen). Hier kunnen problemen uit de praktijk van de bemonstering besproken worden.

7A.14 Literatuurverwijzingen

- Evers CHM & Knoben RAE (red) (2007) *Omschrijving MEP en maatlatten voor sloten en kanalen voor de Kaderrichtlijn Water*. Rapport 2007-32b, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Utrecht. 144 pp.
- NEN-EN 14996 (2006) *Water quality - Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment*. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 14 pp.
- NEN-EN 15204 (2006) *Water quality - Guidance standard on the enumeration of phytoplankton using inverted microscopy (Utermöhl technique)*. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 42 pp.
- N109 (2007) *Water Quality - Guidance on quantitative and qualitative sampling of phytoplankton from inland waters*. German draft proposal for CEN/TC 230 d.d. 28 april 2007.
- STOWA (2006) *Handboek Nederlandse ecologische beoordelingssystemen (EBeo-systemen). Deel A. Filosofie en beschrijving van de systemen*. Rapport 2006-04, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Utrecht. 255 pp.
- Van der Molen DT & Pot R (red) (2007a) *Referenties en maatlatten voor natuurlijke watertypen voor de Kaderrichtlijn Water*. Rapport 2007-32, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Utrecht. 290 pp.
- Van der Molen DT & Pot R (red) (2007b) *Referenties en maatlatten voor natuurlijke watertypen voor de Kaderrichtlijn Water. Aanvulling kleine typen*. Rapport 2007-32B, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Utrecht. 166 pp.



WERKVOORSCHRIFT 7B ANALYSE VAN FYTOPLANKTON IN OPPERVLAKTEWATER

7B.1 Doel en toepassingsgebied

Dit werkvoorschrift heeft betrekking op fytoplankton uit zoete tot brakke, stilstaande en stromende wateren. Het bevat richtlijnen voor het analyseren van fytoplanktonmonsters en het verwerken van de verzamelde gegevens en de vastlegging van metagegevens. Ten slotte geeft het adviezen voor de kwaliteitszorg voor deze analyse.

De beschreven methode is bedoeld voor de volgende toepassingen:

- beoordeling ecologische toestand volgens de KRW-maatlat (Evers & Knobens 2007, Van der Molen & Pot 2007a en 2007b);
- beoordeling ecologische kwaliteit volgens EBeo (STOWA 2006).

Opmerking

Dit werkvoorschrift is niet van toepassing op zogenaamde quick scan analyses van blauwalgen voor vaststelling van de zwemwaterkwaliteit.

7B.2 Beginsel

Uit een goed gemengd, Lugolgeconserveerd monster van oppervlaktewater neemt men een deelmonster van een bekend volume. Dit deelmonster brengt men over in een sedimentatiecuvet. Na bezinking telt en determineert men de chlorofyl-a bevattende algen met behulp van een omgekeerd microscoop. Hierbij noteert men het aantal waarnemingen en het aantal cellen per onderscheiden taxon. Bij draden en kolonies waarvan het aantal cellen moeilijk precies te tellen is, maakt men een zo goed mogelijke schatting van het aantal cellen. Tenslotte berekent men voor elk taxon de dichtheid in cellen per milliliter monster, uit het getelde aantal cellen, het onderzochte deel van het cuvet en het volume van het deelmonster.

7B.3 Normen

Onderdelen van dit voorschrift zijn gebaseerd op de volgende normen:

NEN-EN 14996:2006

Water quality - Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment (Richtlijn voor de kwaliteitsborging van biologische en ecologische beoordelingen in het aquatische milieu) - juni 2006.

NEN-EN 15204:2006

Water quality - Guidance standard on the enumeration of phytoplankton using inverted microscopy (Utermöhl technique) (Richtlijn voor het tellen van fytoplankton met behulp van omgekeerde microscopie (Utermöhl-techniek)) - september 2006.

Verder is rekening gehouden met het volgende voorstel voor een norm:

N108:2008/03/30

Water quality - Phytoplankton biovolume determination by microscopic measurement of cell dimensions (draft proposal for CEN/TC 230) - maart 2008.

7B.4 Termen en definities

De in dit voorschrift gebruikte termen en definities zijn verklaard in [bijlage 1](#). Zie ook de normbladen NEN-EN 14996 en NEN-EN 15204.

7B.5 Chemicaliën

Voor het microscopisch analyseren van monsters heeft men de volgende chemicaliën nodig:

- a immersie-olie: middelmatig visceuze olie voor olie-immersie-objectieven zonder PCB's of epoxyhars (voor toelichting zie [bijlage 12](#));
- b verdunningsvloeistof: leidingwater waaraan Lugol is toegevoegd met eenzelfde dosering als bij fytoplanktonmonsters (voor bereiding zie [bijlage 12](#)).

7B.6 Apparatuur en hulpmiddelen

Voor het microscopisch analyseren van monsters heeft men de onderstaande apparaten en hulpmiddelen nodig:

- a omkeermicroscop: zie [bijlage 16](#);
- b pipettips: voor gebruik met onderstaande volumepipetten en met een zodanig afgesneden tip dat de opening een diameter heeft van ca. 3 mm (zie [bijlage 14](#));
- c sedimentatiecuvet: met een bodemdikte van 0,15-0,17 mm; zie [bijlage 17](#));
- d volumepipetten: om volumina te kunnen pipetteren van 0,2 tot 5,0 ml of meer (afhankelijk van cuvette type), met een bekende afwijking.

Alleen voor het concentreren van monsters:

- e bovenweger: met een weegvermogen tot minimaal 2000 gram en een afwijking van $\pm 0,1$ gram
- f maatcilinder: van 1 liter met een maatstreepverdeling van 10 ml
- g monsterflesjes: van 50 ml of 100 ml inhoud, met een dop en inlay die een waterdichte en gasdichte afsluiting waarborgen en bij voorkeur van bruin glas.

7B.7 Voorbehandeling

Acclimatisatie

- 1 Zorg dat het monster, de verdunningsvloeistof en de sedimentatiecuvetten op gelijke temperatuur zijn. Dit bevordert een gelijkmatige verdeling van deeltjes over de cuvetbodem en voorkomt condensvorming op het dekglas. In de praktijk is kamertemperatuur het gemakkelijkst.
- 2 Neem het monster minimaal één dag vóór het inzetten uit de koeling en zet het weg bij kamertemperatuur, bij voorkeur in een donkere kast.
- 3 Zet monsters bij voorkeur niet langer dan een week buiten de koeling.

Homogenisatie

Voor men een deelmonster neemt moet het monster zo goed geschud zijn dat alle algen en andere deeltjes van de flesbodem zijn losgekomen en volledig gemengd zijn. Alleen dan kan men een representatief deelmonster onttrekken.

- 1 Schud het monster gedurende minimaal dertig seconden op drie verschillende wijzen (zie [bijlage 13](#)).

Tip

Vierkante monsterflessen en de opeenvolgende schudbewegingen voorkomen het ontstaan van een kolk, die leidt tot een onvolledige menging van deeltjes.

Verdunning

Verdun het deelmonster als het pipetteren van 0,2 ml per cm² cuvetbodemoppervlak leidt tot een dichtheid van meer dan veertig te tellen algen per beeldveld. Verdun een deelmonster op de volgende wijze.

- 1 Doe 1 ml van het gehomogeniseerde monster in een reageerbuis;
- 2 Voeg hieraan 4 ml (vijf keer verdund) of 9 ml (tien keer verdund) verdunningsvloeistof toe;

- 3 Sluit de reageerbuis af met parafilm en meng de vloeistof goed;
- 4 Noteer de verdunningsfactor achter het monsternummer in het labjournaal of in het databestand van metagegevens.

Let op

We bevelen aan om een deelmonster te verdunnen en niet het gehele monster.

Opmerking

In plaats van vijf of tien keer verdunnen, kan men naar behoefte ook een andere verdunning maken. Bepaal voor een andere verdunning de verdunningsfactor, $F_{\text{verdunning}}$, uit de verhouding tussen het volume gepipetteerd deelmonster, $V_{\text{deelmonster}}$, en het totale volume na verdunning in de buis, $V_{\text{deelmonster}} + V_{\text{verdunningsvloeistof}}$:

$$F_{\text{verdunning}} = V_{\text{deelmonster}} / (V_{\text{deelmonster}} + V_{\text{verdunningsvloeistof}})$$

Concentratie

Concentreer het monster als het volledig afvullen van het sedimentatiecuvet met een deelmonster, leidt tot gemiddeld minder dan twee algen per beeldveld. Als het monster veel andere deeltjes bevat (detritus, slib), is concentreren niet of slechts in beperkte mate mogelijk. Concentreer het monster volgens één van onderstaande twee werkwijzen.

A Met behulp van een maatcilinder:

- 1 bepaal het beginvolume van het monster, V_{begin} , met behulp van een maatcilinder en noteer dit op het etiket van de fles en in het labjournaal of databestand van metagegevens;
- 2 giet het monster terug in de monsterfles en zet deze weg op een trillingsvrije plaats in het donker, gedurende minimaal vier uur per centimeter waterkolomhoogte in de fles (dus minimaal vier dagen bij een literfles van twintig centimeter hoog);
- 3 draai de fles dagelijks een kwartslag met een kort rukje maar zonder hem op te tillen, om eventueel aan de wand hechtende algen weer los te maken;
- 4 hevel of zuig de bovenstaande vloeistof af tot op ca. 5 cm boven de bodem van de fles;
- 5 homogeniseer het residu in de monsterfles en het bepaal het eindvolume van het monster, V_{eind} , met een maatcilinder; noteer dit volume op het etiket van de fles en in het labjournaal of databestand van metagegevens;
- 6 bepaal de concentratiefactor, $F_{\text{concentratie}}$, uit de verhouding tussen het beginvolume vóór afheveling, V_{begin} , en het eindvolume na afheveling, V_{eind} :

$$F_{\text{concentratie}} = V_{\text{begin}} / V_{\text{eind}}$$

B Met behulp van een bovenweger:

- 1 zet het monster in de monsterfles weg op een trillingsvrije plaats in het donker, gedurende minimaal vier uur per centimeter waterkolomhoogte in de fles (dus minimaal vier dagen bij een literfles van twintig centimeter hoog);
- 2 draai de fles dagelijks een kwartslag met een kort rukje maar zonder hem op te tillen, om eventueel aan de wand hechtende algen weer los te maken;
- 3 zet de fles zonder dop voorzichtig op een bovenweger en noteer het gewicht, G_{begin} , in het labjournaal of databestand van metagegevens;
- 4 laat de fles op de bovenweger staan en hevel of zuig de bovenstaande vloeistof af tot op ca. 5 cm boven de bodem van de fles;

- 5 noteer het gewicht na afheveling, G_{eind} , in het labjournaal of databestand van metagegevens (dus het gewicht van fles zonder dop met het geconcentreerde monster);
- 6 homogeniseer het geconcentreerde monster en giet het over in een kleiner monsterflesje;
- 7 zet de lege, oorspronkelijke monsterfles zonder dop op de bovenweger en noteer het gewicht, G_{fles} ;
- 8 bepaal de concentratiefactor, $F_{\text{concentratie}}$, uit de verhouding tussen het gewicht vóór afheveling, G_{begin} , en het gewicht na afheveling, G_{eind} , beide verminderd met het gewicht van de lege fles, G_{fles} :

$$F_{\text{concentratie}} = (G_{\text{begin}} - G_{\text{fles}}) / (G_{\text{eind}} - G_{\text{fles}});$$

- 9 noteer de concentratiefactor op het etiket van het kleine monsterflesje en in het labjournaal of databestand van metagegevens.

Let op

We raden aan om het gehele monster te concentreren en niet een deelmonster.

7B.8 Inzetten

- 1 Etiket teer het cuvet met gegevens van het monster.
- 2 Breng in het cuvet zoveel verdunningsvloeistof aan dat het cuvet met het te pipetteren deelmonster geheel zal worden afgevuld.
- 3 Homogeniseer het monster in de monsterfles.
- 4 Neem direct daarna met een volumepipet een toereikende¹ hoeveelheid deelmonster uit de monsterfles en breng dit over in het cuvet.
- 5 Dek het cuvet af met een dekglasje en zorg ervoor dat geen luchtbellen onder het dekglas gevangen blijven.
- 6 Zet het cuvet voor sedimentatie weg op een trillings- en tochtvrije plaats bij kamertemperatuur, gedurende minimaal vier uur per centimeter cuvethoogte.

Tip

Maak gebruik van temperatuurgeïsoleerde sedimentatieruimten wanneer gedurende een etmaal temperatuurschommelingen optreden van meer dan 2 °C (bijvoorbeeld met tempex beklede kistjes).

Tip

Zet de cuvetten aan het eind van de dag in voor analyse op de volgende dag. Dan kan sedimentatie overnacht plaatsvinden.

Opmerking

Kleine kolonies van sommige algen kunnen ook na vier uur sedimentatie door het cuvet gaan bewegen, op het moment dat de microscooplamp wordt aangezet. Dit verschijnsel lijkt zich vooral voor te doen in monsters uit zwak brakke tot brakke wateren. Een volledige afvulling van het cuvet en afdekking van het cuvet met een glasplaatje kunnen dit enigszins verminderen, maar een nauwkeurige telling is onder deze omstandigheden vaak niet goed mogelijk. Maak in dit geval een zo goed mogelijke schatting en geef in de resultaten aan dat de aantallen van de betreffende algensoorten geschat zijn in verband met 'drift'.

¹ Toereikend is een hoeveelheid groter dan 0,2 ml per cm² cuvetbodem, die een werkbare dichtheid van deeltjes op de cuvetbodem geeft. Werkbaar is een gemiddelde dichtheid tussen omstreeks twee en veertig deeltjes per beeldveld. Optimaal is een dichtheid tussen tien en twintig deeltjes per beeldveld (met deeltjes bedoelen wij algen, slibdeeltjes, detritus e.d.).

7B.9 Bepaling

Telstrategie

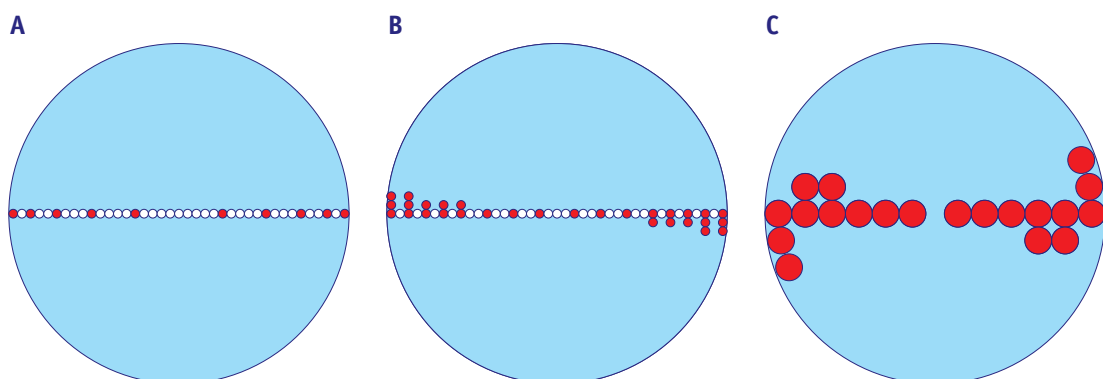
De telstrategie die wij in dit werkvoorschrift beschrijven is effectief voor een representatieve beschrijving van de soortensamenstelling (inclusief de soorten die relatief schaars zijn maar veel bijdragen aan het chlorofyl-a-gehalte). De achtergrond van deze strategie en de betrouwbaarheid van de abundantiebepaling staan in [bijlage 18](#).

Werkwijze

- 1 Kijk voor de telling met een zwakke vergroting het cuvet door om te zien of de algen gelijkmatig (volgens toeval) verdeeld zijn over de cuvetbodem. Is de verdeling ongelijkmatig (bijvoorbeeld een ophoping van algen langs de rand, in het centrum, of aan één kant van het cuvet), dan moet het monster opnieuw worden ingezet.
- 2 Tel alleen fototrofe en mixotrofe algen (algen in bezit van chlorofyl-a).
- 3 Noteer bij de telling het aantal waarnemingen en het aantal cellen per waarneming en vermijd het tellen van individuen² (zie [paragraaf 7.3.3](#)).
- 4 Verdeel de telling over drie fasen, die elk uit één of meer stappen kunnen bestaan (zie [tabel 7B.1](#)). De fasen en stappen verschillen in de sterkte van de gebruikte vergroting en de grootte van het onderzochte volume.
- 5 Verzamel per stap minimaal tien waarnemingen van de meest talrijke soort. Soorten waarvan voldoende waarnemingen zijn verzameld, of die te klein zijn om bij een zwakkere vergroting te kunnen zien, hoeven niet meer te worden geteld in een volgende stap.
- 6a Bij gebruik van een rechthoekig cuvet: tel random beeldvelden.
- 6b Bij gebruik van een rond cuvet: tel beeldvelden in segmenten (taartpunten) van het cuvet, waarbij de beeldvelden verdeeld worden over twee tegenover elkaar liggende taartpunten (zie [figuur 7B.1](#)).
- 7 Neem bij de telling de hieronder gemaakte opmerkingen 1 t/m 7 ter harte.

Fig 7B.1 Vaste keuze van te onderzoeken beeldvelden

Vaste keuze van te onderzoeken beeldvelden verdeeld over twee tegenover elkaar liggende taartpunten; de rood gekleurde beeldvelden worden onderzocht: A) vergroting 600x; twee keer vijf beeldvelden worden onderzocht, B) vergroting 600x; twee keer vijftien beeldvelden worden onderzocht, C) vergroting 200x; twee keer tien beeldvelden worden onderzocht. De schets met beeldvelden is gebaseerd op het werken met ronde cuvetten met een inwendige diameter van 1,25 cm, bij vergrotingen van 200x en 600x.



² Het tellen van individuen is een vorm van gegevensverwerking tijdens de gegevensvererving, die leidt tot informatieverlies, onvergelijkbare resultaten en minder interpretatiemogelijkheden.

Tabel 7B.1 Telstrategie voor bepaling soortensamenstelling en abundantie

FASE	OMSCHRIJVING	WERKWIJZE
1	Soortenlijst	Stel een soortenlijst op door globale scanning van het cuvet bij een sterke en een zwakke vergroting, bij voorkeur 200× en 600×.
2	Telling van relatief talrijke, veelal kleine soorten	Gebruik hierbij zo mogelijk een levend monster. Onderzoek een aantal beeldvelden bij een sterke vergroting van bijvoorbeeld 600×: <i>stap 1</i> onderzoek enkele beeldvelden (minimaal vijf) voor de zeer talrijke soorten; <i>stap 2</i> onderzoek enkele tientallen beeldvelden (bijvoorbeeld dertig) voor de talrijke soorten.
3	Telling van relatief minder talrijke tot zeer schaarse, grotere soorten	Onderzoek een geheel of een deel van het cuvet bij een zwakke vergroting van bijvoorbeeld 200×: <i>stap 3</i> onderzoek ca. acht beeldvelden voor de minder talrijke soorten; <i>stap 4</i> onderzoek ca. twintig beeldvelden voor de vrij schaarse soorten; <i>stap 5</i> onderzoek een half cuvet voor de schaarse soorten; <i>stap 6</i> onderzoek een heel cuvet voor de zeer schaarse soorten.

Opmerking 1

Niet alle zes stappen in tabel 7B.1 zullen voor elk monster doorlopen moeten worden. Dit hangt af van de abundanties van de afzonderlijke soorten in het monster en van het aantal waarnemingen dat men minimaal per soort wil verzamelen. Om een betrouwbare indruk te krijgen van de abundantieverhouding tussen de soorten, zijn minimaal tien waarnemingen van de meest talrijke soort in de stap voldoende.

Opmerking 2

De kleinste algen die als zodanig herkend zouden moeten kunnen worden, zijn algen met afmetingen van 1 à 2 µm (bijvoorbeeld de groenalg *Choricystis hindakii* en losse cellen van de blauwalg *Aphanothece*). Tel talrijke soorten in een relatief klein volume (= klein deel van het cuvet) en minder talrijke soorten in een relatief groot volume (= groot deel van het cuvet of meerdere cuvetten) en pas de gebruikte vergroting aan op de dichtheden per beeldveld van de betreffende soorten en op hun afmetingen (herkenbaarheid). Bij een zwakke vergroting worden kleine soorten gemakkelijk over het hoofd gezien, wanneer de hoeveelheid deeltjes in het beeldveld hoog is.

Opmerking 3

Men moet het gebruik van grootteklassen goed afstemmen op het gebruik van taxonomische categorieën. Het heeft geen zin om onder de naam *Cyclotella* sp. wel de cellen groter of gelijk aan 10 µm te tellen, maar niet de cellen kleiner dan 10 µm. Maak dan de indeling *Cyclotella* ≥ 10 µm en Centrales < 10 µm (of volgens de TWN-naamgeving: Coscinodiscophyceae < 10 µm).

Opmerking 4

Bij het scannen van banen (transecten) in plaats van beeldvelden (in de stappen 5 en 6), kunnen soorten die aan de buitenzijden van de baan liggen (tegen de rand van het beeldveld) over het hoofd gezien worden. Een hulpmiddel

om dit te voorkomen is een oculair met een rechthoekig veld, ruim binnen de begrenzing van het beeldveld. Alleen de soorten binnenin de rechthoek worden geteld.

Opmerking 5

Algen kunnen gedeeltelijk buiten het beeldveld liggen. De vraag is dan, tellen we deze mee en zo ja, hoe.

In het algemeen kan men het volgende uitgangspunt hanteren voor losse cellen, kolonies en filamenten: alleen meetellen als het zwaartepunt in het beeldveld ligt.

Wanneer het monster veel filamenten of kolonies bevat is het niet handig om voortdurend te moeten bepalen of het zwaartepunt binnen het beeldveld ligt. De telling wordt hierdoor teveel gestoord. Men kan dan kiezen om de filamenten of kolonies die in de ene helft van het beeldveld 'over de rand' liggen wel mee te tellen en die in de andere helft niet (zie ook NEN-EN 15204). Een alternatief is om alleen dat deel van de draad of kolonie mee te tellen, dat binnen het beeldveld ligt. Een eventuele berekening van de gemiddelde grootte van filament of draad is bij deze werkwijze natuurlijk niet meer zinvol.

Opmerking 6

Wanneer men de afzonderlijke cellen bij een zwakkere vergroting moeilijk kan onderscheiden, kan men deze cellen niet goed tellen. Men moet dan een schatting van het aantal maken.

Filamenteuze algen

Bij draadvormige (filamenteuze) algen zoals *Planktothrix agardhii*, bepaalt men de gemiddelde lengte van één cel bij een sterke vergroting. Tijdens de telling meet men dan de lengte van de filamenten. Uit deze lengte en de gemiddelde lengte van één cel, kan men vervolgens het aantal cellen per filament berekenen.

Als er veel draden aanwezig zijn, is het meten van elke draad afzonderlijk erg tijdrovend. Bovendien verstoort men door het meten en de daarmee samenhangende verschuiving van het beeldveld de nauwkeurigheid van de telling zelf. Beter in zo'n geval is om per soort eerst het aantal filamenten te tellen. Daarna bepaalt men per soort de gemiddelde lengte van een filament op basis van een meting van minimaal dertig filamenten. Hieruit kan men vervolgens de totale filamentlengte per soort berekenen en tenslotte, uit de gemiddelde cellengte, het totale aantal cellen.

Grote kolonies

Bij grote kolonies van bijvoorbeeld *Microcystis*, schat men de hoeveelheid cellen door eenheden van 10 of 100 cellen 'af te passen' en dit aantal met twee te vermenigvuldigen wanneer men slechts één helft van de kolonie telt. NB. een *Microcystis*-populatie kan in het monster voor meer dan de helft van zijn biovolume bestaan uit losse cellen. Ook deze cellen moeten worden geteld, gewoonlijk in een kleinere fractie en met een sterkere vergroting dan de kolonies. Een alternatieve mogelijkheid voor het bepalen van de hoeveelheid *Microcystis* is om een representatief deel van het monster te behandelen met KOH (zie bijlage 20). Hierdoor vallen de kolonies uit elkaar in losse cellen, die vervolgens nauwkeuriger geteld kunnen worden dan de cellen in de oorspronkelijke kolonies.

Opmerking 7

In sommige monsters kunnen vlokjes met algen aanwezig zijn. Vaak zijn dit flagellaten die moeilijk door schudden te resuspenderen zijn. Door een deelmonster te behandelen met ultrasone trillingen (zie bijlage 20), lukt het soms om deze vlokjes uit elkaar te laten vallen. Lukt dit niet, probeer de algen in de vlokjes dan zo goed mogelijk te determineren en te tellen en onderzoek voldoende vlokjes voor een betrouwbare dichtheidsbepaling (minimaal tien).

7B.10 Biovolumebepaling

Bepaal het biovolume van de alg op één van de volgende werkwijzen.

- A** Snel en globaal, door gebruik te maken van een standaardlijst van soortspecifieke, gemiddelde biovolumina per cel:
- 1 gebruik een standaardlijst die is goedgekeurd door het Planktonoverleg Nederland of een expert (zie [bijlage 2](#));
 - 2 bereken het biovolume per taxon (in mm^3/l) door het celvolume voor dat taxon in de standaardlijst te vermenigvuldigen met zijn dichtheid in cellen per l, berekend uit de telling;
 - 3 wanneer het taxon niet in de standaardlijst staat: bereken het biovolume van dat taxon volgens de onderstaande [werkwijze B](#)).
- B** Meer nauwkeurig, door de cellen in het monster te meten en het biovolume te berekenen via soortspecifieke, geometrische formules:
- 1 bepaal welke geometrische vorm het best overeenkomt met de vorm van de betreffende alg. Maak hierbij gebruik van [bijlage 19](#), van het overzicht van geometrische vormen per geslacht in de ontwerpnorm N108 (2008), in Thomsen (1992) voor marien fytoplankton of in andere werken die door het Planktonoverleg Nederland geaccepteerd zijn;
 - 2 meet de bij de geometrische vorm behorende dimensie(s) op bij de betreffende alg;
 - 3 bereken het volume volgens de formule die hoort bij de gekozen geometrische vorm, met gebruikmaking van de gemeten dimensie(s).

Opmerking 1

Er zijn veel standaardlijsten beschikbaar met gemiddelde biovolumina per cel van fytoplanktonsoorten. Sommige lijsten geven ranges.

Opmerking 2

Sommige soorten kunnen sterk verschillen in afmeting, in de loop van het seizoen en tussen wateren. Dit geldt vooral voor kiezelalgen en groenalgen. In het algemeen is de groottevariatie van cellen van blauwalgen en goudalgen veel beperkter. Wel kan de lengte van blauwalgdraden en het aantal cellen in kolonies sterk verschillen.

Opmerking 3

In veel gevallen kan men niet alle (en bij sommige soorten nooit alle) dimensies tegelijk zien en opmeten. Gebruik dan voor de 'onzichtbare' dimensie een schatting, die gebaseerd is op metingen aan exemplaren waar deze dimensie wel zichtbaar was. Leg een lijst aan van soortspecifieke dimensies en verhoudingen tussen deze.

7.11 Determinatie

Het determineren

- 1 Ga bij de naamgeving uit van de TWN-lijst.
- 2 Gebruik bij de determinatie eerst de in [bijlage 30](#) genoemde, noodzakelijke determinatieliteratuur.
- 3 Gebruik, zeker in het begin, de volledige determinatietabel om tot een soort te komen.
- 4 Bij twijfel over de keuze in de determinatietabel moeten beide mogelijkheden gevolgd worden; één van de twee blijkt dan vaak de meest waarschijnlijke.
- 5 Raadpleeg altijd de soortbeschrijving en controleer de zekerheid van de determinatie aan de hand van de habitustekeningen, de afmetingen en de milieuvorkeur. De vondst van een acidofiele soort in een voedselrijke laagveenplas is niet heel waarschijnlijk.

- 6 Beoordeel de bijzonderheid van de waarneming aan de hand van de verspreidingsindicatie in de flora. Is de soort algemeen, of zeldzaam.
- 7 Maak gebruik van de aanvullende determinatieliteratuur, wanneer de alg niet helemaal overeenkomt met de beschrijving en afbeeldingen in de noodzakelijke literatuur.
- 8 Wanneer de soort niet met zekerheid kan worden vastgesteld, determineer dan tot het eerstvolgende, hogere taxonomische niveau waarover wel zekerheid bestaat (meestal het geslachtsniveau).
- 9 Laat de volgende waarnemingen controleren door een expert (bijlage 2):
 - a soorten die niet met zekerheid gedetermineerd kunnen worden en een aandeel in de abundantie hebben van méér dan 10%;
 - b soorten die met aanvullende literatuur op naam zijn gebracht en niet uit Nederland bekend zijn;
 - c soorten die in Nederland bekend staan als zeer zeldzaam of uitgestorven.

Speciale technieken voor het determineren

Voor een goede determinatie van algen kan het nodig zijn om details van de celwand beter zichtbaar te maken. Bijvoorbeeld de plaatstructuur bij dinoflagellaten, of het streepjespatroon op het kiezelschaaltje bij kiezelwieren. Methoden om de zichtbaarheid van deze details te verbeteren zijn beschreven in [bijlage 20](#).

7B.12 Rapportage

Bij de analyse worden metadata vastgelegd die nodig zijn voor de interpretatie van de analyseresultaten (zie [hoofdstuk 2](#) voor het begrip metadata). Met deze data moeten de eigen resultaten vergeleken kunnen worden met resultaten van anderen en zo nodig omgezet kunnen worden naar resultaten van anderen. De metadata worden gekoppeld aan het unieke *monsternummer*.

Leg op het lab onder het monsternummer (of LIMS-nummer) de volgende gegevens vast op een laboratoriumformulier, in het LIMS-systeem, of in een andere database:

- naam van de analist;
- datum van de analyse;
- gehanteerde analysemethode;
- eventuele verdunnings- of concentratiefactor;
- eventuele afwijkingen van de gebruikelijke werkwijze (bijvoorbeeld gebrekkige conservering);
- eventuele bijzonderheden van het monster die de resultaten kunnen hebben beïnvloed (bijvoorbeeld hoge dichtheid groot zoöplankton);
- gebruikte determinatieliteratuur;
- analyseresultaten per monster met per soort aantal waarnemingen en cellen en grootte onderzocht volume deelmonster in ml;
- van soorten die bij de telling vaker dan éénmaal zijn waargenomen en niet (met zekerheid) op naam gebracht konden worden: een beschrijving in de vorm van een afbeelding (tekening, foto) en afmetingen (lengte, breedte, diameter).

7B.13 Kwaliteitszorg

Kwaliteitszorg op het gebied van de analyse moet:

- de betrouwbaarheid van de analyse bevorderen;
- de vergelijkbaarheid van de analyseresultaten bevorderen.

Eerstelijnscontrole

De eerstelijnscontrole is bedoeld om fouten in de uitvoering van de analyse te voorkomen. Voor onderzoek van fytoplankton betekent dit:

- werk volgens dit voorschrift;
- werk met een goede microscoop en een gekalibreerde oculair-micrometer;
- gebruik de standaardnaamlijst (TWN);
- documenteer te onderscheiden taxa in de vorm van een geannoteerde soortenlijst met afbeeldingen (tekeningen en/of foto's) van elk taxon;
- gebruik actuele determinatieliteratuur;
- laat onzekere determinaties controleren door een expert. Hieraan kunnen kosten verbonden zijn. Een lijst van hiervoor beschikbare experts staat in [bijlage 2](#);
- archiveer het monster voor een periode van tenminste vijf jaar voor eventuele controle op een later tijdstip;
- hou 'voeling' met de betrouwbaarheid van de telmethode, door tijdens de telling te toetsen op reproduceerbaarheid. Vergelijk tijdens de telling het aantal waarnemingen per beeldveld. Of, als beeldvelden worden onderzocht in twee segmenten van het cuvet, vergelijk voor de talrijkste soort het aantal waarnemingen in het ene segment, met het aantal waarnemingen in het andere segment. Zit er veel verschil tussen, of valt de variatie binnen de verwachting (zie [bijlage 18](#)).

Tweedelijnscontrole

De tweedelijnscontrole is bedoeld om de reproduceerbaarheid van onderzoeksresultaten binnen één laboratorium te testen. Voor de analyse van fytoplankton betekent dit:

- laat minimaal eens per jaar eenzelfde monster in duplo analyseren door alle, voor fytoplanktonanalyse bevoegde analisten;
- zorg voor een goede, interne opleiding van nieuwe collega-analisten.
- toon bijzondere vondsten aan collega's;
- raadpleeg collega's bij onzekerheid over een determinatie.

Zie [bijlage 21](#) voor een statistische toetsing van de resultaten van tweede-lijnscontroles.

Derdelijnscontrole

De derdelijnscontrole is bedoeld om de betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid van analyseresultaten tussen laboratoria te testen. Voor onderzoek van fytoplankton betekent dit:

- doe jaarlijks mee aan interlaboratoria ringonderzoeken (derde-lijnscontroles), wanneer bruikbare ringonderzoeken georganiseerd worden (zie [bijlage 2](#) voor suggesties);
- maak gebruik van email of discussiefora om collega-analisten te informeren over de ontdekking van bijzondere vondsten, (mogelijk) nieuwe soorten e.d.; stuur zo mogelijk een foto mee en vraag om commentaar;
- sluit je aan bij een landelijk overleg van collega-analisten en bespreek bijzondere vondsten, nieuwe literatuur en problemen uit de praktijk op het gebied van bemonstering, analyse en determinatie (zie [bijlage 2](#) voor adressen);
- neem deel aan nationale of internationale discussiefora die communiceren via internet (zie [bijlage 2](#)).

7B.14 Literatuurverwijzingen

- Evers CHM & Knoben RAE (red) (2007) *Omschrijving MEP en maatlatten voor sloten en kanalen voor de Kaderrichtlijn Water*. Rapport 2007-32b, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Utrecht. 144 pp.
- NEN-EN 14996 (2006) *Water quality - Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment*. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 14 pp.
- NEN-EN 15204 (2006) *Water quality - Guidance standard on the enumeration of phytoplankton using inverted microscopy (Utermöhl technique)*. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 42 pp.

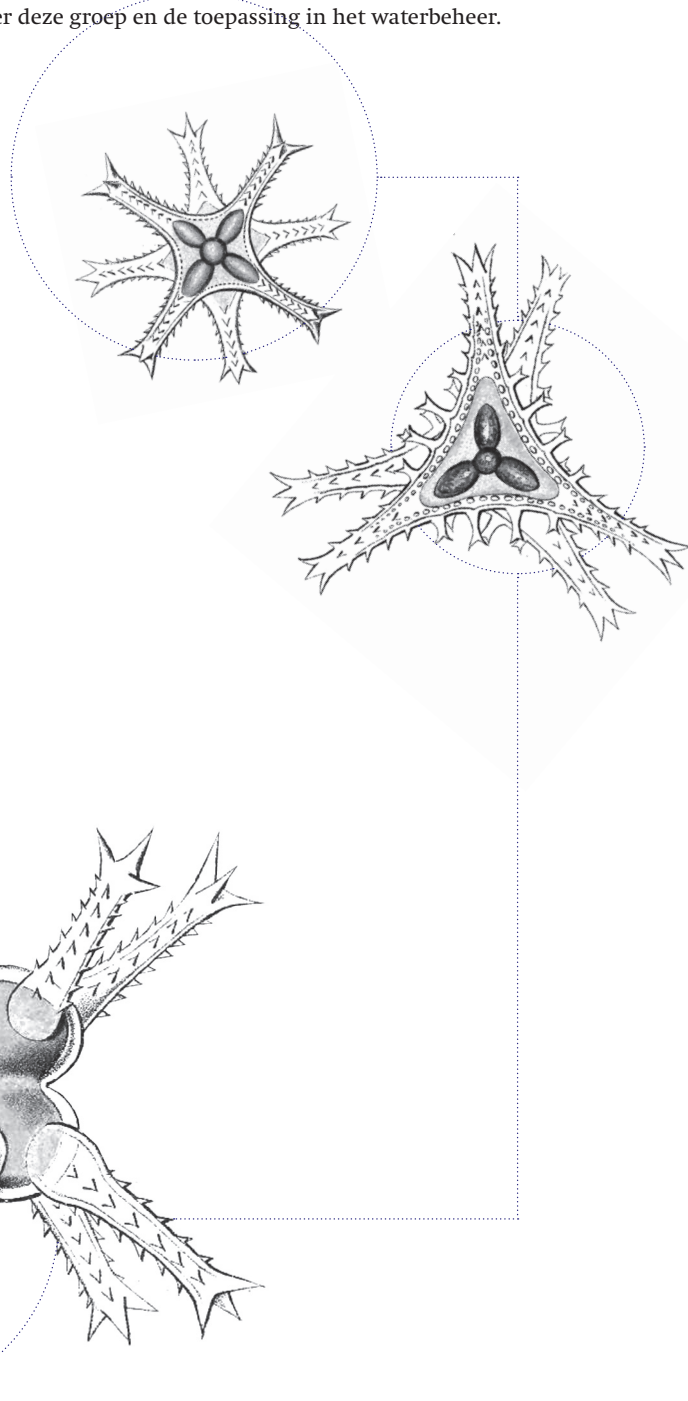
- N108 (2008) *Water quality – Phytoplankton biovolume determination by microscopic measurement of cell dimensions*. German draft proposal for CEN/TC 230WG 2/TG 3, d.d. 30 maart 2008.
- STOWA (2006) *Handboek Nederlandse ecologische beoordelingssystemen (EBeo-systemen). Deel A. Filosofie en beschrijving van de systemen*. Rapport 2006-04, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Utrecht. 255 pp.
- Thomsen HA (ed) (1992) *Plankton i de indre danske farvande*. Havforskning fra Miljøstyrelsen. Miljøstyrelsen Miljøministeriet, Copenhagen. 331 pp.
- Van der Molen DT & Pot R (red) (2007a) *Referenties en maatlatten voor natuurlijke watertypen voor de Kaderrichtlijn Water*. Rapport 2007-32, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Utrecht. 362 pp.
- Van der Molen DT & Pot R (red) (2007b) *Referenties en maatlatten voor natuurlijke watertypen voor de Kaderrichtlijn Water. Aanvulling kleine typen*. Rapport 2007-32 Aanvulling, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Utrecht. 166 pp.





HOOFDSTUK 8 SIERALGEN

Sieralgen worden nog niet zo veel toegepast in de waterkwaliteitsbeoordeling. Toch was dit de eerste groep waarvoor een beoordelingssysteem ontwikkeld werd, al in 1927. De meeste sieralgsorten zijn goed herkenbaar. Verder weten we veel van hun milieuvoorkeur en kennen we de sieralggemeenschappen in referentiesituaties. Dit hoofdstuk geeft het werkvoorschrift voor de bemonstering en analyse van sieralgen. Het begint met informatie over deze groep en de toepassing in het waterbeheer.



8.1 INLEIDING

8.1.1 Biologie en ecologie

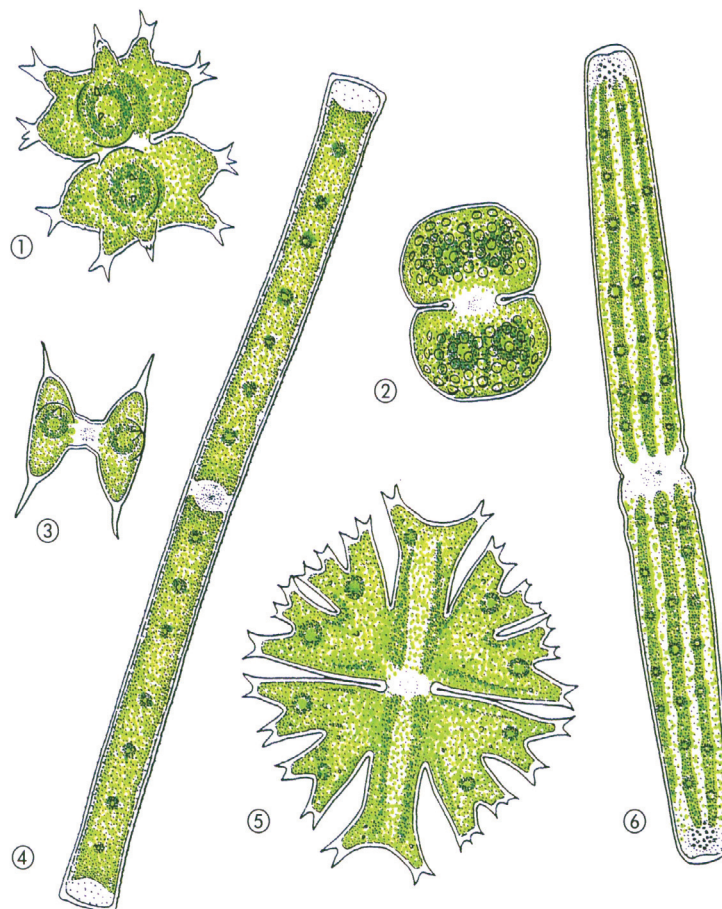
Een aparte groep groenwieren

Sieralgen of desmidiaceeën vormen een aparte groep binnen de groenwieren. In het algemeen zijn ze goed op naam te brengen. Op dit moment zijn iets meer dan vijfhonderd soorten sieralgen uit Nederland bekend. Vele vallen op door hun fraaie uiterlijk (figuur 8.1), waardoor zij al vroeg de aandacht trokken. In het verleden zijn vooral vennen en kleine laagveenwateren onderzocht. Na 1970 verdwenen de meest gevoelige sieralgen, door verzuring, verdroging en vermesting (eutrofiëring). Hieruit heeft Coesel (1998) af kunnen leiden hoe gevoelig de verschillende soorten zijn voor milieu-aantasting en, omgekeerd, in welke mate de verschillende soorten afhankelijk zijn van een ongestoord milieu. In de afgelopen tien jaar zijn sieralgen ook een rol gaan spelen in monitoringprogramma's voor de kwaliteit van oppervlaktewater. Hierdoor zijn wij steeds meer te weten gekomen over de verspreiding van sieralgen in andere watertypen, zoals de grotere meren en plassen, waar Nederland zo rijk aan is.

Fig 8.1 Enkele sieralgen

Enkele fraaie sieralgen die we kunnen vinden in gebufferde, voedselrijke wateren zoals petgaten, mits van een goede ecologische kwaliteit: 1. *Staurastrum furcigerum*; 2. *Cosmarium pseudoinsigne*; 3. *Staurodesmus cuspidatus*; 4. *Gonatozygon monotaenium*; 5. *Micrasterias crux-melitensis*; 6. *Pleurotaenium trabecula*.

Figuur overgenomen uit Coesel (1998).



Vorm en celdeling als onderscheidende kenmerken

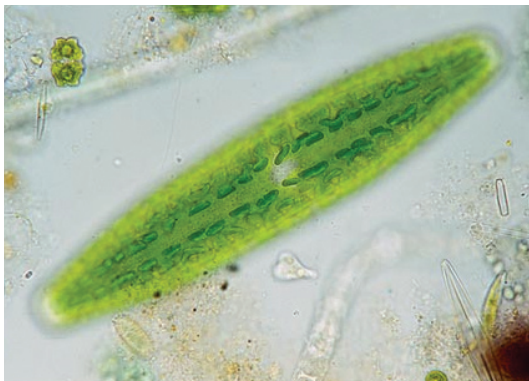
Er zijn twee orden van sialgalen. Deze kunnen van elkaar worden onderscheiden op uiterlijke vorm en celdeling.

- 1 De sialgalen uit de Zygnematales, ook wel 'saccoderme sialgalen' genoemd, bezitten een uit één stuk opgebouwde, doorgaans cilindervormige en gladde celwand zonder insnoering in het midden. Voorbeelden zijn *Cylindrocystis* en *Netrium* (figuur 8.2). Bij de celdeling ontwikkelen de twee dochtercellen zich binnen de moedercelwand, die naderhand verslijmt (figuur 8.3).
- 2 De Desmidiales of 'placoderme sialgalen' bezitten een cel die is opgebouwd uit twee semicellen. Deze zijn gescheiden door een vaak nauwelijks zichtbaar lijntje, zoals bij *Closterium* of *Penium*, of door een duidelijke insnoering die isthmus genoemd wordt, zoals bij *Cosmarium*, *Euastrum* en *Micrasterias* (figuur 8.4). De celwand bezit een poriënsysteem en is bij de meeste soorten versierd met knobbeltjes, wratjes en/of stekeltjes (ornamentatie). Bij de celdeling gaan de semicellen uit elkaar, na elk een nieuwe semicel te hebben gevormd (figuur 8.5). Als gevolg van deze wijze van celdeling verschillen de semicellen van één en dezelfde cel in leeftijd. Door groeistoornissen kunnen de semicellen ook uiterlijk enigzins van elkaar afwijken.

Figuren 8.2 | *Netrium digitus*

Een saccoderme sialgal uit de orde Zygnematales.

Foto: Wim van Egmond.



8.3 | *Spirotaenia condensata*

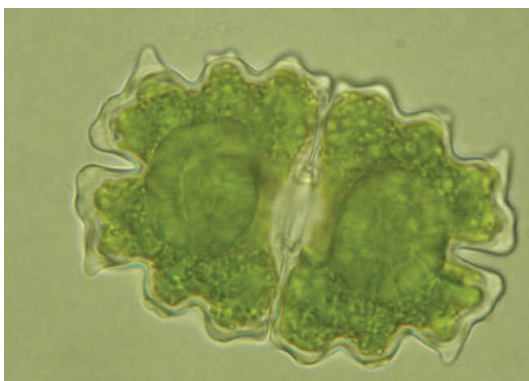
Twee dochtercellen van *Spirotaenia condensata*, net na de deling. Foto: Wim van Egmond



8.4 | *Euastrum bidentatum*

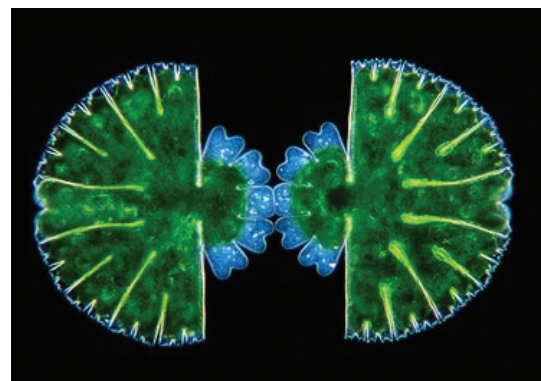
Een placoderme sialgal uit de orde Desmidiales.

Foto: Koeman en Bijkerk.



8.5 | *Micrasterias thomasiana*

De vorming van twee nieuwe semicellen bij *Micrasterias thomasiana*. Foto: Wim van Egmond.



Levenswijze

De meeste sieralgsorten hebben een metafytische of benthische levenswijze (tabel 8.1). Ze leven tussen waterplanten, tussen het aangroei op de bodem van heldere plassen of in natte delen van trilvenen. Vanuit die omgeving kunnen zij als tychoplankton terecht komen in het open water en daar enige tijd blijven circuleren. Slechts een klein deel (ca. 14%) van de Nederlandse sieralgsorten leeft geheel of gedeeltelijk planktisch. Er is ook nog een klein aantal soorten met een voorkeur voor tijdelijke regenplassen, voor dunne waterfilmpjes op uiteenlopende oppervlakten, of voor vochtig mos. Deze levenswijze wordt (sub)atmofytisch genoemd.

Tabel 8.1 Levenswijze van de Nederlandse sieralgsorten

Bron: Coesel & Meesters (2007) met aanvulling van R. Bijkerk.

LEVENSWIJZE	AANTAL SOORTEN
Planktisch	20
Planktisch-benthisch	53
Benthisch	362
Benthisch-atmofytisch	67
Atmofytisch	8
Totaal aantal soorten	510

Verspreidingsfactoren

De soortensamenstelling van sieralgen is op de eerste plaats afhankelijk van de alkaliniteit van het water. Deze eigenschap, met andere woorden het bufferend vermogen, is bepalend voor de zuurgraad. De meeste soorten hebben een voorkeur voor zuur, circumneutraal of alkalisch water. Slechts weinig soorten (7%) zijn indifferent (tabel 8.2). Omdat er een relatie is tussen de alkaliniteit en de natuurlijke voedselrijkdom, kan de voedselrijkdom als indirecte verspreidingsfactor gezien worden. Het is echter niet zo dat in een geëutrofeerd ven heel andere sieralgsorten aanwezig zijn dan in een voedselarm ven. Door eutrofiëring verdwijnen typische vennissoorten en gaan indifferente soorten overheersen. In het algemeen komen er echter geen soorten voor in de plaats, die thuishoren in plassen die van nature voedselrijk zijn.

Een tweede belangrijke factor is het lichtklimaat onder water. Net als kiezelalgen kunnen benthische sieralgen in het algemeen met weinig licht toe (Coesel & Wardenaar 1990, Pillsbury & Lowe 1999). Gemiddeld moet er wel voldoende licht doordringen tot op de bodem, of moeten er waterplanten aanwezig zijn waarin de sieralgen kunnen blijven hangen op een gunstige plek in het licht. In troebel water worden in de regel minder soorten aangetroffen dan in helder water en verder: hoe meer vegetatie hoe hoger de soortenrijkdom (Mulderij *et al.* 2008).

Aandeel in de gemeenschap

Veel sieralgsorten groeien langzaam en hebben daarom aanpassingen om sterfte door begrazing, sedimentatie of voedselgebrek te verminderen. Waarschijnlijk hierdoor spelen sieralgen in voedselarme

wateren over het algemeen een grotere rol dan in voedselrijke. In voedselrijke wateren worden sialgalen gedurende een groot deel van het seizoen overschaduwed door andere, snelgroeiende algen. De meeste sialgalen zijn relatief groot. Ondanks hun geringe talrijkheid kunnen zij hierdoor toch een belangrijk aandeel in de totale fytoplanktonbiomassa hebben.

Tabel 8.2 Milieuvoorkeur van de Nederlandse sialgalsoorten

Bron: Coesel & Meesters (2007) met aanvullingen van R. Bijkerk.

ZUURGRAAD	AANTAL SOORTEN	TROFIEGRAAD	AANTAL SOORTEN
Acidofiel	337	Oligotrafent	126
Acidofiel-circumneutraal	83	Oligo-mesotrafent	119
Circumneutraal	23	Mesotrafent	208
Circumneutraal-alkalifiel	22	Meso-eutrafent	35
Alkalifiel		Eutrafent	16
Indifferent (Acido-alkalifiel)	38	Indifferent (Oligo-eutrafent)	6
Totaal aantal soorten	510	Totaal aantal soorten	510

Let op!

Celwanden van sialgalen zijn moeilijk afbreekbaar. Vooral in zure wateren kunnen deze restanten nog lang aanwezig blijven. Bij de analyse van monsters moet onderscheid gemaakt worden tussen dergelijke restanten ('dode cellen') en cellen waarvan men kan aannemen dat zij leefden op het moment van bemonstering. Anders beoordeelt men niet alleen de huidige toestand, maar ook de toestand in het verleden.

Seizoensvariatie

Sialgalen kunnen het gehele jaar in het water worden aangetroffen, maar de hoeveelheid en soortenrijkdom nemen toe vanaf maart en dalen weer na augustus. De soortenrijkdom speelt een belangrijke rol in beoordelingssystemen. Daarom is het nodig om te weten in welke periode de kans het grootst is om de soorten aan te treffen. Deze optimale periode voor sialgalen is relatief lang in voedselarme wateren en korter in voedselrijke (zie figuur 8.6). In zure, voedselarme vennen is de soortenrijkdom vrij constant in het tijdvak mei-augustus, maar er kan zich een dip voordoen in de periode juni-juli. In meer voedselrijke wateren vertoont de soortenrijkdom een duidelijke piek in de zomer. In matig voedselrijke (mesotrofe) plassen kan deze piek vrij breed zijn en in voedselrijke (eutrofe) plassen betrekkelijk smal.

Ook al bemonstert men in de optimale periode, een heel seizoen bemonsteren levert 30 tot 70% meer soorten op dan een enkele bemonstering (Smit 1976, Mulderij *et al.* 2008). Sommige soorten treft men maar een enkele keer aan in het groeiseizoen.

Microhabitats

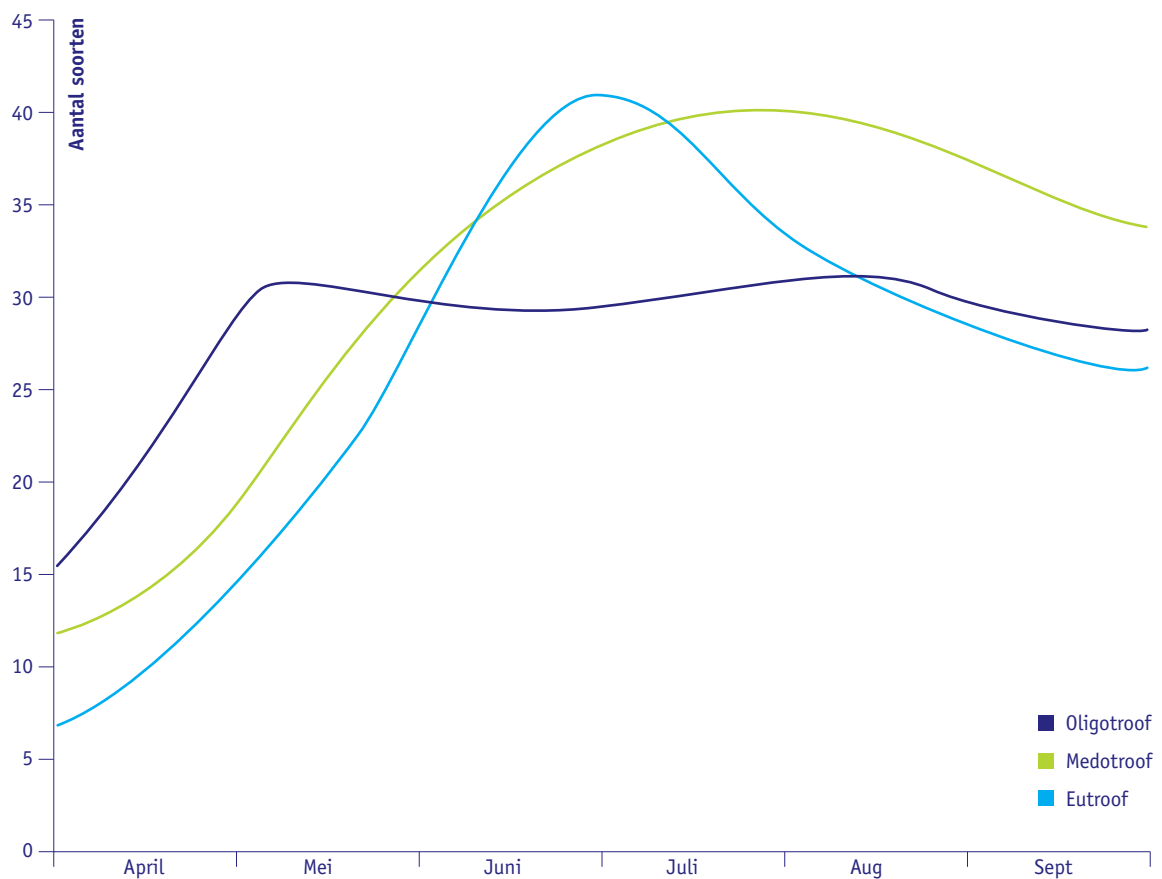
Binnen een plas kunnen we een aantal groeiplaatsen of microhabitats onderscheiden die voor sialgalen belangrijk zijn (figuur 8.7). Dit zijn:

- het open water;
- de oeverzone (soms met veenmosrandjes);
- het sedimentoppervlak;
- velden met ondergedoken waterplanten.

De hoeveelheid en soortensamenstelling van sialgalen kunnen sterk verschillen tussen microhabitats.

Fig 8.6 Seizoensverloop van de soortenrijkdom van sialgalen in drie watertypen

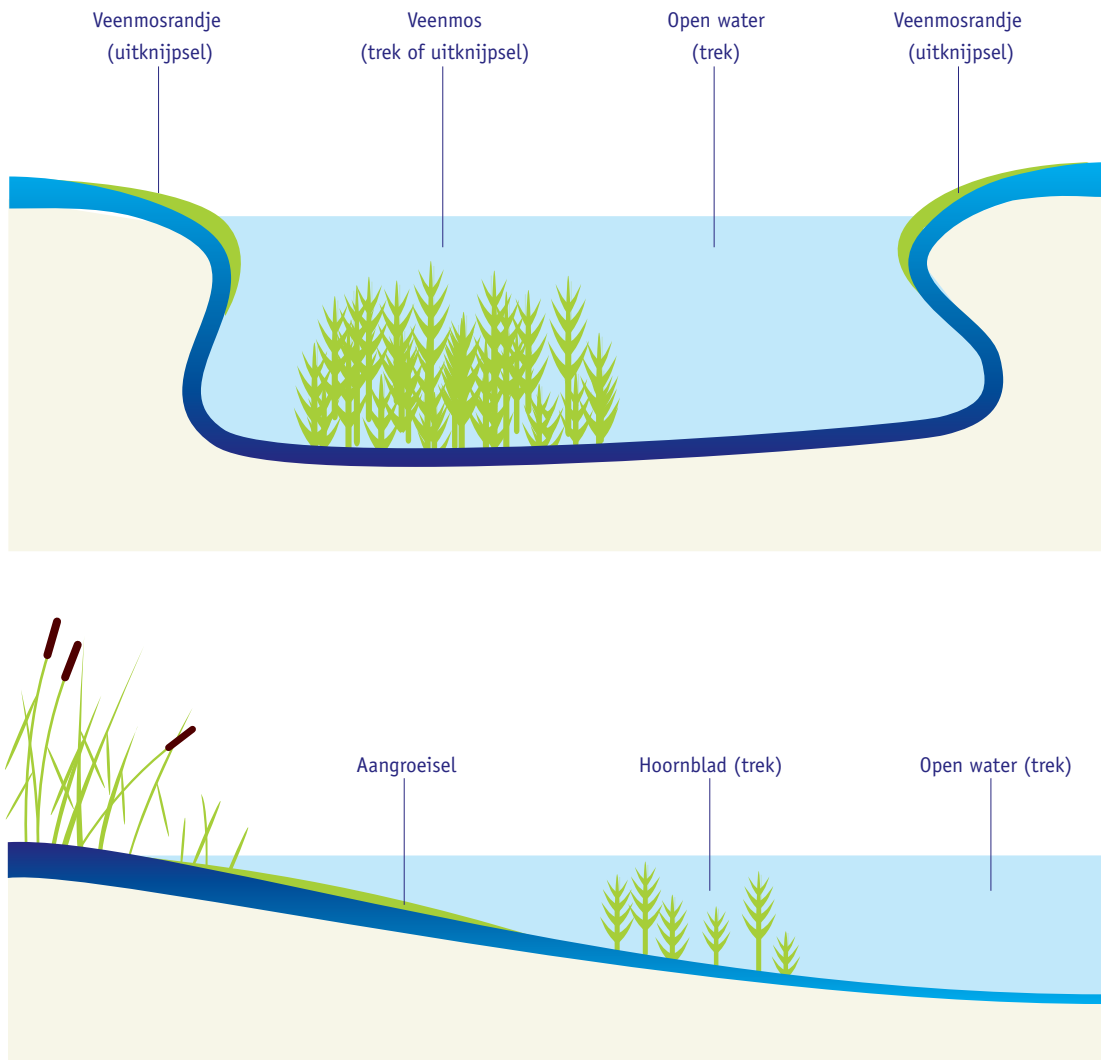
De grafiek is gebaseerd op resultaten van drie representatieve plassen: ven Hemelrijk (oligotroof), petgat Molenpolder (mesotroof), Exterplas (eutroof). Naar: Mulderij et al. (2008).



Typische planktonsoorten vinden we in het open water, maar worden ook ingevangen tussen ondergedoken waterplanten. De typische benthische soorten vinden we in heldere wateren op het sedimentoppervlak, in troebele wateren ook wel (spaarzaam) op stelen van bijvoorbeeld Gele plomp. Deze benthische soorten kunnen door opwerveling ook in het open water terecht komen en vervolgens eveneens ingevangen worden door waterplanten. Dit invangen van zwevend materiaal gebeurt vooral tussen waterplanten met fijn verdeelde bladeren, die tot aan het wateroppervlak reiken, zoals Aarvederkruid, Gewoon blaasjeskruid en Gedoornd hoornblad. Drijfbladplanten bezitten te weinig structuur voor sialgalen (Bland & Brook 1974).

Fig 8.7 Microhabitats

Microhabitats die voor sieralgen bemonsterd moeten worden in een hoogveenven (boven) en een gebufferde plas (onder).



Op en tussen ondergedoken waterplanten kunnen we dus zowel planktische als benthische soorten vinden. Bovendien zullen sieralgen door de vegetatie 'geconcentreerd' worden. Het aantal sieralgsoorten is in monsters van watervegetaties (bijvoorbeeld uitknijpsel) veel groter dan in monsters van het open water (zie tabel 8.3; Wade 1957; Bland & Brook 1974). In zure plassen vormen veenmosrandjes langs de oever eveneens een aparte groeiplaats. De soort *Netrium digitus* kan massaal aanwezig zijn in de oksels van de veenmosblaadjes. Minder opvallende microhabitats die in sommige plassen aanwezig zijn, ontstaan door hydrologische verschijnselen, zoals kwel.

Deze ruimtelijke variatie kan tot verschillen in bemonsteringsresultaat leiden. Om een representatief beeld te krijgen van de soortensamenstelling van sieralgen in een plas, moet men alle voor sieralgen belangrijke microhabitats bemonsteren. Wanneer men dit zorgvuldig doet is het bemonsteringsresultaat heel vergelijkbaar tussen verschillende onderzoekers, of tussen opeenvolgende jaren.

8.1.2 Sieralggemeenschappen

EMO-series gemeenschappen

Er worden drie hoofdgroepen van sieralggemeenschappen onderscheiden in de zoete wateren van Nederland (Coesel 1975, Joosten 1996):

- 1 serie E: een serie van electrolytrijke wateren, van nature (matig) eutroof;
- 2 serie M: een serie van matig electrolytrijke wateren, van nature mesotroof;
- 3 serie O: een serie van electrolytarne wateren, van nature oligotroof.

Binnen elke serie worden drie tot vier varianten onderscheiden, die verschillen in soortenrijkdom en aanwezigheid van kieskeurige soorten. Welke variant vóórkomt wordt bepaald door natuurlijke factoren (aanwezigheid van bijzondere milieu-omstandigheden) en door menselijke beïnvloeding. De varianten variëren van door milieu-aantasting verarmde gemeenschappen, tot onbedorven, deels uit Nederland verdwenen gemeenschappen.

Tabel 8.3 Soortenrijkdom in monsters van open water en vegetatie

Bron: Mulderij et al. (2008).

PLAS	WATERTYPE	OPEN WATER	VEGETATIE	PLANTENSOORT
Hemelrijk	Hoogveenven	17	26	Waterveenmos
Het Hol	Kleine, ondiepe laagveenplas	16	29	Blaasjeskruid
Ankeveense plas	Kleine, ondiepe laagveenplas	16	59	Blaasjeskruid
Eexterplas	Kleine, ondiepe gebufferde plas	22	44	Aarvederkruid
Spiegelplas	Matig grote, diepe gebufferde plas	5	14	Stijve waterranonkel
Wijde Blik	Matig grote, diepe gebufferde plas	7	13	o.a. Buigzaam glanswier

Gezelschappen

Coesel (1998) introduceert vijf typen gezelschappen die vanuit een vegetatiekundige invalshoek zijn afgebakend. De gezelschappen zijn aangegeven met de namen van de soorten die karakteristiek zijn voor de rijk ontwikkelde climaxtoestand:

Type 1 - *Cosmarium insigne* - *Staurastrum gladiusum* gezelschap.

Type 2 - *Euastrum oblongum* - *Micrasterias thomasiana* gezelschap

Type 3 - *Euastrum crassum* - *Micrasterias jenneri* gezelschap

Type 4 - *Cosmarium holmiense* - *Cosmarium crenatum* gezelschap

Type 5 - *Closterium aciculare* - *Staurastrum planctonicum* gezelschap

De eerste drie gezelschappen komen overeen met de hierboven genoemde EMO-series. Type 1 komt overeen met serie E, type 2 met serie M en type 3 met serie O. Type 4 is een gezelschap van (sub)atmofytische soorten, die leven op vochtige standplaatsen buiten het 'gewone' oppervlaktewater. Type 5 is het gezelschap van planktonische soorten, die thuishoren in de E-serie. Soorten met een brede ecologische amplitudo zijn niet in deze associaties opgenomen.

KRW-type gemeenschappen

De indeling in watertypen voor de KRW pakt voor sialgalen ongelukkig uit. De gehanteerde typebegrenzingen qua diepte (3 m) en alkaliniteit (0,1 en 1 meq/l), zijn voor sialgalen niet ecologisch relevant. Hierdoor is er overlap in soortensamenstelling tussen niet-gebufferde plassen (M13, M18) en zwak-gebufferde plassen (M12, M17 en M26) en aan de andere kant tussen zwak-gebufferde plassen en gebufferde plassen (M11, M14, M25, e.a.). Dit blijkt uit de synoptische tabel, die gebaseerd is op een databestand van 320 monsters uit diverse watertypen (tabel 8.4). Deze tabel toont ook dat de meeste sialgalen die in kleine, ondiepe wateren voorkomen, ook aangetroffen kunnen worden in grotere, diepere wateren. Voorwaarde is wel dat deze plassen helder zijn, zodat voldoende licht tot op de bodem doordringt, op zijn minst in een brede oeverzone.

8.2 TOEPASSING

8.2.1 Natuurwaardebeoordeling

In Nederland past men sialgalen toe in een beoordeling van de natuurwaarde van oppervlaktewater. De Engelse term hiervoor is conservation value (Coesel 2001, 2003). Coesel (1998) ontwikkelde dit beoordelingsstelsel voor gebruik in stilstaande, zoete wateren. Het stelsel is niet bedoeld voor stromende of brakke wateren, omdat sialgalen in deze milieus nauwelijks gedijen. Het is ook niet toepasbaar op periodiek droogvallende (temporaire) wateren. Het beoordelingsstelsel is geactualiseerd door Coesel & Meesters (2007).

Referentietoestand

De natuurwaarde zegt iets over de kwaliteit van het milieu in relatie tot de potentiële ontwikkeling van een sialgalenflora (Coesel 1998). Met kan dus zeggen dat de natuurwaarde de huidige toestand vergelijkt met een referentietoestand.

De beoordeling maakt gebruik van de rijkdom aan sialgalensoorten, de landelijke zeldzaamheid en de signaalwaarde van de aanwezige soorten. Soorten met een hoge signaalwaarde zijn gebonden aan uitgebalanceerde milieus, waarin zich in de loop van de tijd een grote verscheidenheid aan microhabitats heeft ontwikkeld. Dergelijke milieus zijn kwetsbaar en hebben na verstoring tientallen jaren nodig voor herstel van de oude toestand (Coesel 1998). In plaats van signaalwaarde kan men ook de term 'kieskeurigheid' gebruiken.

Soortensamenstelling


Om de natuurwaarde van een plas te kunnen bepalen moet men de soortensamenstelling van de sialgalengemeenschap zo volledig mogelijk inventariseren. Het is niet nodig om de abundantie van de soorten in het monster te bepalen. Om de juiste referentietoestand te kunnen kiezen, moet men weten wat de zuurgraad van de plas is. De 'natuurlijke' soortenrijkdom is namelijk verschillend tussen zure, zwak-zure en neutraal-alkalische wateren.

De natuurwaarde is een getal op de schaal van 0 tot 10. Vindt men geen enkele sialgalen, dan is de natuurwaarde 0. Bij een natuurwaarde van 10 hebben we te maken met een zeer goed ontwikkelde sialgalengemeenschap; een gemeenschap die we verwachten in een (nagenoeg) ongestoorde toestand. Voor de bepaling van de natuurwaarde is het softwarepakket DesmidValue ontwikkeld, dat meegeleverd wordt bij de nieuwe Nederlandse sialgalenflora (Coesel & Meesters 2007). Een voorbeeld van een natuurwaardebepaling is te vinden in tabel 8.5.

Tabel 8.4 Synoptische tabel van sieralggemeenschappen in KRW watertypen

De gekleurde balk links geeft de voorkeur voor zuurgraad aan, de achtergrondkleur van de tabel zelf geeft de voorkeur voor trofiegraad aan. De in deze tabel opgenomen soorten komen vóór in meer dan 10% van de algemene watertypen; het totale aantal aangetroffen soorten is twee keer zo groot. Bron: database Koeman en Bijkerk.

ZUURGRAAD

	Zuur
	Zuur-neutraal
	Neutraal
	Neutraal-alkalisch
	Alkalisch
	Indifferent

TROFIEGRAAD

	Oligotroof
	Oligo-mesotroof
	Mesotroof
	Meso-eutroof
	Eutroof
	Indifferent

FREQUENTIE

+	= in < 10% van de monsters
++	= in >10-50% van de monsters
+++	= in >50% van de monsters

Tabel 8.4 Vervolg

	Diepe ongebufferde plassen		Ondiepe ongebufferde plassen (vennen)		Ondiepe zwakgebufferde hoogveenvennen		Ondiepe zwakgebufferde plassen		Diepe zwakgebufferde plassen		Kleine ondiepe gebufferde plas		Kleine ondiepe laagveenplassen		Grote ondiepe laagveenplassen		Grote ondiepe gebufferde plas		Kleine diepe gebufferde plas		Middelgrote diepe gebufferde plas		Ondiepe kalkrijke plassen	
	M18	M13	M26	M12	M17	M11	M25	M27	M14	M16	M20	M23												
VOORKEUR VOOR																								
ZURE WATEREN																								
<i>Actinotaenium cucurbita</i>	+++	+++	+++	++		+																		
<i>Staurastrum punctulatum</i>	+++	++	++	+		+																		
<i>Spondylosium pulchellum</i>	++	+++	+++	++																				
<i>Staurodesmus spencerianus</i>	++	+++	++	++																				
<i>Actinotaenium geniculatum</i>	++	++	++	++																				
<i>Bambusina borteri</i>	++	++	+++	++		+																		
<i>Closterium archerianum</i> var. minus	++	++	++	+																				
<i>Staurastrum brachiatum</i>	++	++	++	++																				
<i>Staurastrum hirsutum</i>	++	++	++	++																				
<i>Staurodesmus omeareae</i>	++	++	+	++																				
<i>Closterium directum</i>		+++	++	++		+																		
<i>Staurastrum paradoxum</i>		+++	++	++																				
<i>Cosmarium amoenum</i>		++	+++	+																				
<i>Closterium abruptum</i>		++	++	+																				
<i>Cosmarium pyramidatum</i>		++	++	+																				
<i>Cosmarium sphagnicolum</i>		++	++	+																				
<i>Cosmarium subtumidum</i>		++	++	+																				
<i>Staurastrum furcatum</i>		++	++	+																				
<i>Staurastrum margaritaceum</i>		++	++	+																				
<i>Staurastrum simonyi</i>		++	++	+																				
<i>Tetmemorus brebissonii</i>		++	++	+																				
<i>Xanthidium antilopaeum</i> var. laeve		++	++	+																				
<i>Cosmarium pygmaeum</i>		+	++	+																				
<i>Xanthidium octocorne</i>		++	+	++	++																			
<i>Cosmarium tinctum</i>		+	+	++																				
<i>Cylindrocystis brebissonii</i>	++	+++	+++	++	++																			
<i>Closterium striolatum</i> / intermedium	+++	+++	+++	++														+					++	
<i>Euastrum binale</i>	++	+++	+++	++																				
<i>Euastrum ansatum</i>	++	++	+	++																				

Tabel 8.4 Vervolg

	Diepe ongebufferde plassen		Ondiepe ongebufferde plassen (vennen)		Ondiepe zwakgebufferde hoogveenvennen		Ondiepe zwakgebufferde plassen		Diepe zwakgebufferde plassen		Kleine ondiepe gebufferde plas		Kleine ondiepe laagveenplassen		Grote ondiepe laagveenplassen		Grote ondiepe gebufferde plas		Kleine diepe gebufferde plas		Middelgrote diepe gebufferde plas		Ondiepe kalkrijke plassen	
	M18	M13	M26	M12	M17	M11	M25	M27	M14	M16	M20	M23												
VOORKEUR VOOR																								
ZURE WATEREN - VERVOLG																								
<i>Closterium navicula</i>	++	++	++	++		+	+																	
<i>Cylindrocystis gracilis</i>	++	++	++	+		+															+			
<i>Micrasterias thomasiana</i>	++	++	++	++		+	+																	
<i>Tetmemorus laevis</i>	++	++	++	++																				
<i>Euastrum humerosum</i>	++	+	++	+																				
<i>Micrasterias truncata</i>		+++	+++	+																				
<i>Staurastrum micron</i>	++		+	++		+																		
<i>Closterium juncidum</i>	++		++	+		+	+																	
<i>Closterium setaceum</i>	++		++	+																				
<i>Netrium digitus</i>	++		++	++	++	+															+			
<i>Staurodesmus extensus</i>	++		++	++		+	+																	
<i>Closterium gracile</i>	+			++		+	+															++		
<i>Closterium cynthia</i>	+		+	++	++	+	+																	
<i>Staurastrum alternans</i>	+		+	+		++	++						+								++	+		
<i>Tetmemorus granulatus</i>		+	++	+		+																		
<i>Closterium lunula</i>	++	+	+	++	++	+	+						+											
<i>Euastrum denticulatum</i>	++	+	+	++		+																		
<i>Euastrum gayanum</i>	++	+	+	++																		++		
<i>Closterium calosporum</i>	++			++	++	++	++																	
<i>Pleurotaenium ehrenbergii</i>	++		+	++		+	++														+			
<i>Closterium costatum</i>	+			++		+	+																	
<i>Cosmarium regnesii</i>			+	+	++	+	+																	
<i>Closterium diana</i>	+		+	++	++	++	++														+			
<i>Micrasterias americana</i>				+	++	+	+																	
<i>Euastrum verrucosum</i>				+	++	+	+														+			
<i>Gonatozygon aculeatum</i>				+	++	+	+														+			
<i>Staurastrum lapponicum</i>	+		+	++		+	+														++			
<i>Staurastrum boreale</i>			++	++		++	++						++	+							++	++	++	
<i>Cosmarium difficile</i>	+		+			+	+						+								+	++	++	

Tabel 8.4 Vervolg

	Diepe ongebufferde plassen	Ondiepe ongebufferde plassen (vennen)	Ondiepe zwakgebufferde hoogveenvennen	Ondiepe zwakgebufferde plassen	Diepe zwakgebufferde plassen	Kleine ondiepe gebufferde plas	Kleine ondiepe laagveenplassen	Grote ondiepe laagveenplassen	Grote ondiepe gebufferde plas	Kleine diepe gebufferde plas	Middelgrote diepe gebufferde plas	Ondiepe kalkrijke plassen
VOORKEUR VOOR ZURE TOT NEUTRALE WATEREN	M18 M13	M26 M12 M17	M11 M25	M27 M14	M16 M20 M23							
<i>Closterium idiosporum</i>	+++	++ ++	+ ++									
<i>Cosmarium contractum</i>	+		++	+ +								
<i>Staurodesmus dejectus</i>	+	+ ++ ++		+ +								
<i>Staurastrum lunatum</i>			++	+ +				+				
<i>Staurastrum inflexum</i>			++	+ ++				++		+ ++		
<i>Cosmarium subspeciosum</i>			+ ++	+ ++						++ ++		
<i>Cosmarium sp. aff. tenue</i>	++	+ ++		++ ++				++ ++		++		
<i>Desmidium swartzii</i>	+	+ ++ ++		+ ++						++		
<i>Staurastrum striatum</i>	+	+ ++ ++		+ ++						+		
<i>Staurastrum furcigerum</i>		+ + ++		+ +				+		+		
<i>Cosmarium humile</i>	+	++ ++		+ ++				++		+ ++ ++		
<i>Staurastrum manfeldtii</i>	+	++		++ ++				++		++ ++		
<i>Closterium kuetzingii</i>	+	++		++ +								
<i>Closterium parvulum</i>	+	+		++ ++						++		
<i>Cosmarium portianum</i>	+	+		+ ++						+		
<i>Gonatozygon brebissonii</i>	+	+ ++		+						+ ++		
<i>Cosmarium abbreviatum</i>	+	+		++ ++				+ ++		++ ++ ++		
<i>Cosmarium botrytis</i>		++ ++		++ ++				+ ++		++ ++ ++		
<i>Cosmarium crenulatum</i>		+ ++		+ ++						+ ++		
<i>Cosmarium depressum</i>		+		+ ++				+		++ ++		
<i>Cosmarium granatum</i>		++ ++		++ ++				+ ++		++ ++ ++		
<i>Staurastrum hexacerum</i>		++		+ +								
<i>Staurastrum crenulatum</i>		+		++ ++				++ +		++ ++		
<i>Gonatozygon monotaenium</i>		+		+ ++						++ ++		
<i>Cosmarium tetraophthalmum</i>				+ ++				+		++		
<i>Staurastrum avicula</i>				+ ++				++		++ ++ ++		
<i>Cosmarium moniliforme</i>				+						++		
<i>Micrasterias crux-melitensis</i>				+						+		
<i>Xanthidium cristatum</i>				+								
<i>Closterium submoniliferum</i>		++ ++		++ ++				++				
<i>Xanthidium antilopaeum var. antilopaeum</i>		++		+ ++						+		
<i>Cosmarium praemorsum</i>				++				++		+ +		
<i>Cosmarium pseudoinsigne</i>				+ ++				+ ++		+ +		
<i>Cosmarium turpinii</i>		+ ++		++ ++				+		++ ++		
<i>Cosmarium bioculatum</i>		+ +		+ ++				++ ++		+		

Tabel 8.4 Vervolg

	Diepe ongebufferde plassen	Ondiepe ongebufferde plassen (vennen)	Ondiepe zwakgebufferde hoogveenvennen	Ondiepe zwakgebufferde plassen	Diepe zwakgebufferde plassen	Kleine ondiepe gebufferde plas	Kleine ondiepe laagveenplassen	Grote ondiepe laagveenplassen	Grote ondiepe gebufferde plas	Kleine diepe gebufferde plas	Middelgrote diepe gebufferde plas	Ondiepe kalkrijke plassen
VOORKEUR VOOR NEUTRALE TOT ALKALISCHE WATEREN	M18 M13	M26 M12 M17	M11 M25	M27 M14	M16 M20 M23							
Cosmarium klebsii			+	++								
Cosmarium protractum				+								
Euastrum lacustre				+								
Staurastrum gladiosum				+								
Cosmarium biretum			+									
Cosmarium didymoprotupsum												
Cosmarium obtusatum			++									
Staurastrum arcuatum			+									
Staurastrum micronoides			+									
Staurastrum pingue			+									
Staurastrum planctonicum												
Staurastrum smithii												
Closterium aciculare												
Closterium acutum var. variabile		+	+									
Closterium leibleinii			+									
Closterium limneticum	++	+	+									
Closterium strigosum												
Cosmarium denboeri												
Staurastrum longiradiatum sensu Scharf												
Cosmarium kjellmanii forma in Coesel												
Cosmarium ornatulum												
Cosmarium pseudowembaerense			+	++								
Staurastrum chaetoceras		+	+									

Tabel 8.4 Vervolg

	Diepe ongebufferde plassen		Ondiepe ongebufferde plassen (vennen)		Ondiepe zwakgebufferde hoogveenvennen			Ondiepe zwakgebufferde plassen		Diepe zwakgebufferde plassen		Kleine ondiepe gebufferde plas		Kleine ondiepe laagveenplassen		Grote ondiepe laagveenplassen		Grote ondiepe gebufferde plas		Kleine diepe gebufferde plas		Middelgrote diepe gebufferde plas		Ondiepe kalkrijke plassen	
	M18	M13	M26	M12	M17	M11	M25	M27	M14	M16	M20	M23													
GEEN DUIDELIJKE VOORKEUR																									
VOOR ZUURGRAAD (INDIFFERENT)																									
Hyalotheca dissiliens	++	++	+	++		+	+																		
Teilingia granulata		++	++	++	++	++	++		+																
Cosmarium boeckii		+	+	+		+	++		+	++	++	++									++	++			
Cosmarium polygonatum		+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++									+	++			
Cosmarium impressulum		+		++	+++	++	++		+		+	++									+	++	++		
Cosmarium subcostatum		+		++	+++	++	++		+		++	++									++	++			
Cosmarium subprotumidum		+		++	++	++	+++		++		++	++									++	++	++		
Cosmarium fontigenum						+	++																		
Cosmarium regnellii	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Cosmarium laeve	++	+		+	++	++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	++		
Closterium praelongum	++			+		++	+	+	++		+	++									+		++		
Closterium incurvum		+		++	++	++	++		+												++	++	++		
Closterium venus		+		++	++	++	++		+		++	++									++	++	++		
Cosmarium formosulum		+		++	+++	++	+++	++	++	++	++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	+++		
Cosmarium punctulatum		+		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++		
Cosmarium reniforme		+		++	+++	++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++		
Closterium moniliferum			+	++		++	+++	++	++	++	++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+++		
Closterium pritchardianum					++	+	++		++												++	++			
Closterium pseudolunula				+	++	+	++		++		++	++									++	++			
Cosmarium meneghinii				++	+++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++		
Cosmarium subgranatum				++	+++	++	++	++	++	++	++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	+++		
Cosmarium vexatum					++	+	++		++		++	++									++	++			
Euastrum germanicum							++															++			
Pleurotaenium trabecula				++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++		
Staurastrum cingulum						+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++			
Closterium acerosum				+		++	++		++		++	++									++	++			
Closterium tumidulum				++	++	++	++	+	++		++	++									++	++	++		
Closterium acutum var. acutum	+++	+++	++	+++		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+			
Closterium pronum		++	++	+		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++			
Staurastrum tetracerum		+	+	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+			
Stauroidesmus cuspidatus				++		++	++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++			
Geen sialgen			+			+		+													++	++			
Aantal monsters	3	49	60	40	4	52	43	12	18	14	17	7													

Tabel 8.5 Natuurwaardebepaling voor een zuur vennetje

Voorbeeld van een natuurwaardebepaling voor een zuur vennetje, met zeventien levend aangetroffen soorten en één uitsluitend gevonden in de vorm van een leeg celwandje ('dood'). Bron: database Koeman en Bijkerk.

Sasbrinksven, 2 Juli 2007

Zuur watertype (pH 4.1, EGV 5.3 mS/m)

EVALUATIE NATUURWAARDE		SOORTENLIJST		Zeldzaamheidswaarde	Signaalwaarde	Cell/ml
Totaal aantal soorten	17-18	1	Bambusina borrieri	0	0	46447
Som zeldzaamheidswaarden	5	2	Closterium navicula	1	2	1518
Som signaalwaarden	12	3	Closterium pronum	0	0	607
		4	Closterium striolatum	0	0	2
Natuurwaardebepaling		5	Cosmarium amoenum var. mediolaeve	1	2	27
Evaluatiecijfer diversiteit ¹	2	6	Cosmarium regnellii var. kerguelense	0	0	22845
Evaluatiecijfer zeldzaamheid ²	2	7	Cylindrocystis gracilis	0	0	7
Evaluatiecijfer signaalwaarde ³	2	8	Cylindrocystis brebissonii	0	0	12
		9	Euastrum binale var. gutwinskii	0	0	55
Natuurwaarde	6	10	Micrasterias truncata	0	1	2
		11	Spondylosium pulchellum	0	0	4159
		12	Staurastrum furcatum	1	2	1344
		13	Staurastrum hirsutum	1	2	105
		14	Staurastrum margaritaceum	0	0	10
		15	Staurastrum paradoxum var. reductum	0	1	55
		16	Staurastrum punctulatum	0	0	dood
		17	Staurodesmus spencerianus	0	1	55
		18	Xanthidium antilopaeum var. laeve	1	1	3122
		Som zeldzaamheids- en signaalwaarden		5	12	

TOELICHTING EVALUATIECIJFERS (ZIE COESEL 1998)

¹ 2 = Diversiteit 6-30 soorten

² 2 = Som zeldzaamheidswaarde 3-30

³ 2 = Som signaalwaarde 6-20

8.2.2 Typering van zuurgraad en trofiegraad

Van bijna alle sieraal soorten uit Nederland weten we hun voorkeur voor zuurgraad en voedselrijkdom (Coesel & Meesters 2007). Met deze kennis kunnen we het milieu typeren. De meeste soorten hebben een voorkeur voor (zwak) zure, voedselarme tot matig voedselrijke wateren. Relatief weinig soorten verkiezen alkalische, voedselrijke wateren (tabel 8.2).

Beschikt men over de soortenlijst van een plas dan kan de typering van zuurgraad en trofiegraad eenvoudig worden gemaakt. Dit kan handmatig, met behulp van de soortenlijst op de cd bij Coesel & Meesters (2007), of geautomatiseerd met eerdergenoemd softwarepakket DesmidValue. De typering is gebaseerd op de aanwezigheid van indicatorsoorten en niet op hun abundantie of biomassabijdrage. De typering is dus niet gewogen naar de mate waarin de soorten floreren onder de heersende condities.

8.2.3 KRW-maatlat

Voor de soortensamenstelling van fytoplankton zijn in Nederland twee deelmaatlaten ontwikkeld, een positieve en een negatieve (Van der Molen 2004; zie hoofdstuk 7). De positieve deelmaatlat is een toets op natuurlijkheid, of afstand tot de referentiesituatie en is gebaseerd op het vóórkomen van sieraalgen. Deze zijn ingedeeld in triviale, matig kieskeurige, kieskeurige en zeer kieskeurige soorten. De kieskeurigheid komt overeen met de signaalwaarde uit het natuurwaarde-beoordelingssysteem. Ofschoon de deelmaatlaten complementair zijn, is besloten om de sieraalgenmaatlat vooralsnog niet verplicht te stellen. Eerst moet deze maatlat beter onderbouwd worden met onderzoeksresultaten.

8.2.4 Waterkwaliteitsklasse-bepaling

Voor een beoordeling van de waterkwaliteit heeft Coesel recent een eenvoudig systeem ontwikkeld voor gebruik in Nederlandse oppervlaktewateren. In deze beoordeling bepaalt alleen de soortenrijkdom de kwaliteitsklasse. Er zijn vijf kwaliteitsklassen onderscheiden, overeenkomstig de vijf kwaliteitsklassen die men in de KRW hanteert. Net als bij de natuurwaardebeoordeling wordt onderscheid gemaakt tussen verschillende watertypen, omdat sterk gebufferde wateren van nature soortenarmer zijn dan zwak gebufferde. In dit systeem worden niet drie maar vier watertypen onderscheiden:

- 1 sterk gebufferde, alkalische wateren (> 15 soorten in de hoogste kwaliteitsklasse);
- 2 matig gebufferde, zwak-alkalische wateren (> 30 soorten in de hoogste klasse);
- 3 zwak gebufferde, zwak-zure wateren (>40 soorten in de hoogste kwaliteitsklasse);
- 4 ongebufferde, zure wateren (> 20 soorten in de hoogste kwaliteitsklasse).

Om de analyse te ondersteunen is voor elk van deze watertypen een document gemaakt met afbeeldingen van de soorten die veel in dit type voorkomen. Het complete beoordelingssysteem staat op de cd bij de Nederlandse sieraalgenflora van Coesel en Meesters (2007). Het beoordelingssysteem is nog niet echt beproefd. Het watertype 1 is eerder een door eutrofiëring verarmde variant van type 2, dan een duidelijk te onderscheiden, zelfstandig watertype. Daarnaast is het moeilijk om deze vier typen te koppelen aan de watertypen die in de KRW worden onderscheiden, op grond van alkaliniteit.

8.2.5 Voorwaarden voor toepassing beoordelingssystemen

De hiervoor beschreven beoordelingssystemen stellen dezelfde eisen aan bemonstering en analyse. Ook een nieuwe KRW-maatlat zal vanuit deze eisen ontwikkeld worden. De voorwaarden zijn als volgt:

- een voor het waterlichaam representatieve bepaling van de soortensamenstelling van sieraalgen die leefden op het moment van bemonstering. De verschillende microhabitats moeten alle zorgvuldig bemonsterd worden;
- determinatieniveau: soort. Algen die niet tot op soort gedetermineerd kunnen worden doen niet altijd volledig mee in de beoordeling;

- onderscheid tussen 'dode' (celrestanten) en 'levende' (op het moment van bemonstering) cellen. Soorten waarvan alleen restanten zijn aangetroffen doen niet mee in een beoordeling van de actuele toestand;
- abundantiebepaling: niet noodzakelijk, aanwezigheid van soorten is voldoende, met de volgende kanttekening: voor de voorlopige KRW-maatlat geldt dat van de meest kieskeurige categorie sieralgen minimaal twee individuen tijdens de analyse moeten zijn aangetroffen, wil deze categorie meedoen in de beoordeling. Dat betekent dat men de aanwezigheid moet vaststellen van, òf minimaal twee exemplaren van eenzelfde soort uit deze categorie, òf minimaal twee soorten uit deze categorie;
- voor de bepaling van de natuurwaarde moet de pH van het waterlichaam bekend zijn.

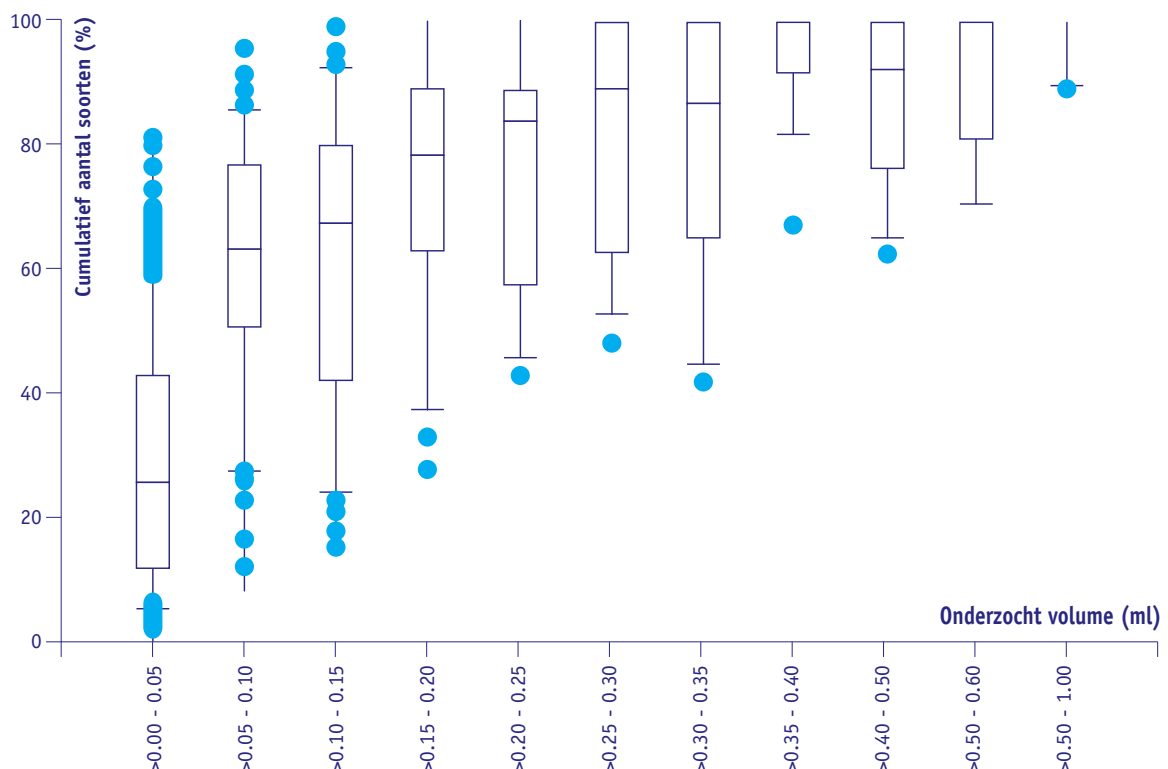
8.3 TOELICHTING OP DE WERKVOORSCHRIFTEN

8.3.1 Algemeen

Er zijn aparte werkvoorschriften voor bemonsteren en voor analyseren. De methoden in deze voorschriften zijn gericht op het verkrijgen van een representatief beeld van de soortensamenstelling van sieralgen in stilstaande wateren. De hierboven beschreven beoordelingssystemen staan enige vrijheid toe in de wijze van analyseren (Utermöhlmethode met omkeermicroscop dan wel voorwerp glas methode met rechtopstaande microscoop), omdat geen abundantiebepaling noodzakelijk is. Daarom zijn er twee werkvoorschriften voor de analyse. Om verschillende redenen raden wij het gebruik van een omkeermicroscop aan (zie [intermezzo 8.1](#)).

Fig 8.8 Aantal gevonden soorten afhankelijk van de analyse-inspanning

Relatie tussen grootte van het onderzocht volume en het aantal hierin gevonden soorten, als percentage van het totale aantal soorten in 0,6-1,0 ml. Bron: R. Bijkerk ongepubliceerde gegevens.



INTERMEZZO 8.1

DE VOORDELEN VAN EEN OMKEERMICROSCOOP

Bij de analyse van sialgalmonsters heeft een omkeermicroscop (Utermöhlmethode) grote voordelen boven een gewone, rechtopstaande microscop (objectglasmethode). Hieronder bespreken we de belangrijkste voordelen.

1 Beeldkwaliteit

Bij de Utermöhlmethode zakken de cellen naar de cuvetbodem en hebben daardoor de perfecte optische afstand tot de frontlens van het objectief (mits de cuvetbodem niet dikker is dan 0,2 mm). Bij gewone microscopen is een gelijke kwaliteit nauwelijks te bereiken. Grote soorten kunnen geplet worden onder het dekglas, of de cellen bevinden zich te ver van het dekglas en daarmee van de frontlens van het objectief.

Afstand tot het objectief

Bij het gebruik van een omkeermicroscop is de afstand van de sialgalen tot het objectief minimaal, zodat de theoretisch haalbare beeldkwaliteit benaderd wordt.

Bij gebruik van een conventionele microscop moet altijd een compromis gesloten worden tussen de beeldkwaliteit en het niet beschadigen van grote sialgalen. De beeldkwaliteit is namelijk beter naarmate het preparaat dunner is, maar grote sialgalen worden dan geplet. Als cellen maar een beetje geplet worden, kan dat over het hoofd gezien worden. Dan kunnen subtiele vormveranderingen erg misleidend zijn.

Keuze van het objectief

Voor een optimale beeldkwaliteit in helderveld hebben planapochromaat-objectieven de voorkeur. Ideaal is een combinatie van een 20x- en 60x-olie-immersieobjectief, beide planapochromatisch.

Planapochromatische olie-immersieobjectieven met een vergroting van 20x zijn een genot om mee te werken en ideaal voor screening van rijke preparaten. Voor bestudering van details, nodig voor sommige determinaties, kan dan tussendoor omgeschakeld worden naar het 60x-objectief.

De zeer korte werkafstand van sterke immersie-objectieven vormt geen probleem bij omkeermicroscopen, mits de dikte van de cuvetbodem kleiner is dan 0,2 mm. Men kan dan volstaan met één set objectieven.

Bij conventionele microscopen zijn sterke planapochromaten echter niet altijd bruikbaar. De werkafstand is te kort en de beeldkwaliteit is duidelijk minder bij dikke natte preparaten. In dat geval heeft men aanvullend minimaal één sterk immersieobjectief nodig met een langere werkafstand, bijvoorbeeld een 50x planachromaat. Sterke droge objectieven kunnen theoretisch dezelfde optische kwaliteit hebben als immersie-objectieven. In de praktijk is dat echter onmogelijk. Omdat lucht een heel andere brekingsindex heeft dan water, glas en immersie-olie, kan de theoretische beeldkwaliteit alleen bereikt worden als de afstand van het object tot het dekglas of cuvetbodem minimaal is en de dikte van het dekglas of cuvetbodem exact overeenkomt met de dikte die als uitgangspunt gehanteerd is bij het ontwerp van het objectief. Iedere afwijking leidt tot duidelijk verlies van optische kwaliteit.

Keuze van de condensor

Omkeermicroscopen zijn standaard meestal uitgerust met een condensor met lange werkafstand, met een numerieke apertuur van omstreeks 0,55. Ofschoon hier in de praktijk goed mee te werken is, is dat feitelijk te laag voor sterke objectieven met een numerieke apertuur boven 0,9. Voor optimale beeldkwaliteit wil men een condensor met korte werkafstand (numerieke apertuur maximaal 0,9 zonder immersie-olie). De meeste sedimentatiecuvetten zijn echter te hoog voor gebruik met een condensor met korte werkafstand. In plaats daarvan kan men objectglaspreparaten gebruiken of een speciaal cuvet met ongeveer de hoogte van een objectglaasje (zie Reize & Melkonian 1989). In

combinatie met planapochromaat-objectieven is de beeldkwaliteit van natte preparaten vervolgens fantastisch, beter dan ooit met een conventionele microscoop haalbaar is. Vanzelfsprekend moet dan wel de correcte belichting volgens Köhler regelmatig gecontroleerd worden.

2 Efficiëntie

Met een omkeermicroscoop kan in eenzelfde blikveld een vijf à tien keer zo groot volume onderzocht worden als bij een objectglaspreparaat. Hierdoor geeft de omkeermicroscoop tijdsbesparing in routinematig onderzoek. Voor het doorzoeken van minimaal 0,3 ml monster kan men doorgaans volstaan met één à twee sedimentatiecuvetten (totaal bijvoorbeeld 1,25 tot 2,50 cm²), maar heeft men bij identiek gehomogeniseerde monsters al gauw zes objectglaspreparaten nodig (totaal 58 tot 829 cm², afhankelijk van de grootte van het dekglas).

3 Ligging van de cellen

De meeste Staurastrum-soorten bezitten per semicel drie armpjes. In een preparaat liggen Staurastrum-soorten gewoonlijk 'op hun rug', waarbij één van de drie armpjes, een 'voorzijde', naar boven steekt. Met een omgekeerde microscoop ziet men daarom gewoonlijk de rugzijde en met een staande microscoop de voorzijde. Het meest informatief voor de determinatie zijn de rugzijden met hun korreelpatroon. Met een gewoon microscoop zal men deze dus niet gauw te zien krijgen.

4 Standaardisatie

Voor het beschrijven van trends is een standaard bemonstering en analyse nodig. Een standaard analyse is met de Utermöhlmethode eenvoudiger te bereiken dan met de objectglasmethode (bemonstering tot een vast monstervolume, analyse van een bekend volume).

8.3.2 Analyse-inspanning

Een algemeen gehanteerd principe is dat zoveel deelmonsters worden doorzocht dat geen nieuwe soorten meer worden aangetroffen. In beginsel zal het totale aantal gevonden soorten uitgezet tegen het onderzocht volume, de vorm hebben van een verzadigingskromme (figuur 8.8). Dit betekent dat men er nooit van kan uitgaan alle soorten in een monster te hebben gevonden, wanneer men enkele preparaten of deelmonsters onderzoekt.

Uit onderzoek is gebleken dat bij de analyse van 0,05 ml gehomogeniseerd monster (ongeveer het volume van één voorwerpglaspreparaat) meestal niet meer dan 40% van de soorten wordt gevonden die in een groter volume van 0,3 tot 0,6 ml aangetroffen worden (zie figuur 8.8). Uit deze figuur kunnen we afleiden dat de analyse van meer dan 0,3 ml monster niet veel meer toevoegd aan het beeld van de soortenrijkdom. Met de analyse van 0,3 ml zal men in 50% van de gevallen meer dan 80% van de soorten kunnen vinden.

8.3.3 Het determineren

Algemeen

De meeste sialgen hebben een zo karakteristiek uiterlijk dat verwarring met vertegenwoordigers uit andere algenklassen niet snel zal optreden. Er zijn twee belangrijke uitzonderingen:

- 1 *Closterium acutum* var. *acutum* en *Closterium acutum* var. *variabile*, worden wel eens verward met soorten uit de geslachten *Ankistrodesmus* of *Monoraphidium*;
- 2 *Spirotaenia*-soorten kunnen in gefixeerde toestand worden verward met soorten uit de geslachten *Elakatothrix* of *Fusola*.

Determinatiekenmerken

Bij diverse sialgen is het patroon van korreltjes of wratjes op de celwand een belangrijk determinatiekenmerk. Dit geldt bijvoorbeeld voor veel soorten uit het geslacht *Cosmarium*. Bij soorten uit het geslacht *Closterium* is de aanwezigheid van gordelbanden een kenmerk. Om deze kenmerken goed te kunnen zien is in veel gevallen een sterke vergroting nodig (omstreeks 600x). De ornamentatie is aan levende cellen doorgaans beter te zien dan aan Lugolgeconserveerde, maar het best kan men de celwand bestuderen aan lege cellen. Wanneer deze niet in voldoende aantal in het monster aanwezig zijn, kan men een deel van het monster behandelen met bleekwater, volgens een methode beschreven door Mann *et al.* (2007). Door deze behandeling verdwijnt de celinhoud geheel of voor het grootste deel, maar blijft de celwand intact. Een alternatieve methode, bruikbaar voor gordelbanden, is een kleuring met calcofluor, gevolgd door onderzoek met fluorescentiemicroscopie. Deze speciale technieken zijn beschreven in [bijlage 20](#).

Determinatieliteratuur

Het noodzakelijke determinatiewerk voor Nederland is Coesel & Meesters (2007). Dit werk is een geactualiseerde, mooiere uitgave van de serie 'De Desmidiaceën van Nederland' door P.F.M. Coesel (1982, 1983, 1985, 1991, 1994, 1997, 1998). Deze serie is nog steeds bruikbaar voor het determineren van Nederlandse sialgen, maar mist een aantal in de tussentijd ontdekte soorten (ruim veertig) en gebruikt voor enkele soorten een verouderde naam. De afbeeldingen in deze werken zijn doorgaans van hoge kwaliteit. De soortbeschrijvingen zijn wat beknopt en de sleutels voor een beginner niet altijd duidelijk. Hierdoor en omdat er altijd een kans is op verwarring met een niet behandelde dubbelgangersoort, is het raadplegen van aanvullende literatuur aan te bevelen.

De aanvullende determinatieliteratuur over sialgen is zeer omvangrijk. Een bevredigende monografie is op dit moment niet in de handel (Joosten 1996). Ruzicka (1977, 1981) komt nog het meest in de richting, maar behandelt niet alle geslachten (niet o.a. *Cosmarium*, *Staurastrum* en *Staurodesmus*). Lenzenweger (1996, 1997, 1999, 2003) biedt duidelijke sleutels voor een beginner en mooie figuren. Wat betreft naamgeving is deze flora niet heel kritisch. Mooie afbeeldingen, als aanvulling op Coesel & Meesters (2007) zijn te vinden in Kouwets (1987, 1988, 1998). Ook West & West (1904, 1905, 1908, 1912), West *et al.* (1923) en Krieger (1933-1939) zijn bruikbaar als aanvulling, maar deels verouderd. Het werk van Krieger behandelt niet de "moeilijke" geslachten *Cosmarium* en *Staurastrum*. Op dit moment wordt gewerkt aan een monografie van deze geslachten voor de serie Süßwasserflora von Mitteleuropa. Naar verwachting zal het nog wel enkele jaren duren voor deze beide delen te verkrijgen zijn.

Naamlijst

Voor uitwisseling van gegevens is het essentieel dat ieder laboratorium dezelfde naamlijst hanteert. De standaardnaamlijst is de TWN-lijst. De TWN-lijst is beschikbaar via de site van IDSW (InformatieDesk standdaarden Water; zie [bijlage 2](#)).

In de oudere IAWM-lijst zijn niet alle Nederlandse taxa opgenomen. Van sommige soorten is de naam verouderd en in enkele namen komen schrijffouten voor. In de TCN-lijst zijn deze schrijffouten eruit gehaald, maar deze lijst wordt niet meer geactualiseerd.

Beter geen naam dan een verkeerde

Om de maatlatten te kunnen toepassen is determinatie tot op soortsniveau vereist. Uit Nederland zijn 510 sialgsoorten bekend (Coesel & Meesters 2007). De laatste tijd echter, worden in ons land nog jaarlijks nieuwe soorten gevonden. Sommige hiervan zijn wel bekend uit andere landen, maar staan niet in de Nederlandse flora. Andere soorten zijn nieuw voor de wetenschap en in geen enkel determinatiewerk te vinden. Wees hierop bedacht bij het determineren.

Voor een juiste beoordeling en interpretatie is een correcte determinatie essentieel. Dit vergt een kritische blik met oog voor detail, inzicht en ervaring. Met het toenemen van de ervaring wordt het determineren op de duur ook door enige intuïtie gestuurd. Blijf altijd zorgvuldig en schat de betrouwbaarheid van de identificatie in. Wees bewust van het beginsel, beter geen naam dan een verkeerde naam.

8.3.4 Kritische stappen in bemonstering en analyse

De bemonstering en analyse van sialgalen kan op enkele punten misgaan. Besteed aandacht aan deze kritische stappen en voorkom dat ze de resultaten beïnvloeden.

Contaminatie

Contaminatie van een monster treedt op wanneer in het planktonnet cellen achterblijven van een vorige bemonstering. **Dit moet niet onderschat worden!** Net en zeefje moeten voor elke bemonstering **zorgvuldig** schoongemaakt worden met leidingwater en een borstelje.

Bederf

Sialgalmonsters zijn altijd rijk aan organisch materiaal. Hierdoor is het oxiderend vermogen van Lugol spoedig verdwenen. Om bederf tegen te gaan moet men in de eerste weken na bemonstering regelmatig opnieuw Lugol toevoegen, of moet men het monster direct nafxeren met formaline.

Soorten missen

Soortenlijsten kunnen onbetrouwbaar zijn als men alleen met zwakke vergroting (200x), of alleen met sterke vergroting (600x) telt. Bij een vergroting van 200x kunnen kleine soorten (bijvoorbeeld *Actinotaenium geniculatum*) over het hoofd gezien worden. In de praktijk kan 80% van de cellen van zo'n onopvallende soort over het hoofd gezien worden. Tenzij hun dichtheid laag is kan de detectiekans van deze kleine soorten vergroot worden door het gebruik van een 600x objectief.

Kijkt men alleen bij een sterke vergroting (600x) dan kunnen minder talrijke soorten gemissen worden omdat de grootte van het onderzochte volume hierbij relatief klein is. Een ideale combinatie voor analyse is een 200x en 600x olie-immersieobjectief (zie [bijlage 16](#) voor het gebruik van immersie-objectieven in een omkeermicroscop).

Analyse-inspanning

De analyse-inspanning (hoeveel preparaten worden onderzocht) is van grote invloed op de uiteindelijk vastgestelde soortenrijkdom. Bij een relatief lage analyse-inspanning mist men gegarandeerd soorten. Daarom moet men de analyse-inspanning standaardiseren en minimaal 0,3 ml van een gehomogeniseerd monster onderzoeken.

8.3.5 Alternatieve methoden

In het werkvoorschrift verzamelt men een mengmonster dat een kwalitatief beeld moet geven van de soortensamenstelling van het gehele water(lichaam). Voor bepaalde vragen kan het onderzoek op een alternatieve manier worden uitgevoerd, zonder dat de toepassing van de bovengenoemde beoordelings-systemen onmogelijk wordt. Hieronder worden er twee beschreven.

Soortensamenstelling microhabitats

In het algemeen komen sialgalen niet gelijkmatig verspreid over het water voor, maar zijn ze in meer of mindere mate gebonden aan microhabitats (zie [paragraaf 8.1.1](#)). Om inzicht te krijgen in de soortensamenstelling van microhabitats worden de submonsters niet verwerkt tot een mengmonster, maar apart gehouden en afzonderlijk geanalyseerd.

Verandering in soortensamenstelling

De plas wordt op een gestandaardiseerde wijze bemonsterd. Het monster wordt aangevuld tot een vast volume. Soortensamenstelling en abundantie in het monster worden bepaald om een beeld te krijgen van veranderingen over het seizoen of over meerdere jaren. Voor deze toepassing kan de abundantie het beste worden bepaald volgens de Utermöhlmethode (zie [hoofdstuk 7](#)) in cellen per ml monster. Naar behoeven kunnen deze dichtheden worden omgezet in klassen van relatieve abundanties (zie [intermezzo 8.2](#)).

8.4 KWALITEITSZORG

Opleiding

Iedereen die sieralgen gaat bemonsteren of analyseren moet een inwerkprogramma hebben doorlopen. Gecertificeerde hydrobiologische laboratoria moeten hiervoor een opleidingstraject hebben, dat doorlopen wordt onder supervisie van een ervaren bemonsteraar, respectievelijk analist (zie de norm NEN-EN-ISO/IEC 17025:2005). Bij zelfstudie moet men ondersteuning zoeken bij externe specialisten, door deel te nemen aan de excursies van de Nederlandse Sieralgenwerkgroep, of ondersteuning te vragen aan een ervaren bemonsteraar elders (zie [bijlage 2](#) voor adressen en links).

Lijnscontroles

Gecertificeerde hydrobiologische laboratoria moeten lijnscontroles uitvoeren, om de kwaliteit van hun resultaten te waarborgen. Er zijn drie lijnscontroles. Tezamen moeten zij de betrouwbaarheid van onderzoeksresultaten waarborgen. In de werkvoorschriften zijn richtlijnen en tips gegeven om deze lijnscontroles in te vullen.

INTERMEZZO 8.2

KWANTIFICERING VAN RELATIEVE ABUNDANTIE

Er zijn verschillende methoden om de relatieve abundantie van sieralgsoorten in monsters aan te geven. Afhankelijk van de vraagstelling zijn dit:

- scores van aan-/afwezigheid;
- abundantieklassen. Bij multivariate analyses (ordinaties, clusteranalyse) geven meerdere abundantieklassen een beter resultaat dan scores van aan-/afwezigheid. Abundantieklassen moeten een exponentiële reeks vormen, bijvoorbeeld: 'enkele', 'enkele tientallen', 'enkele honderden'. Het aantal klassen hoeft niet groot te zijn. Een systeem met drie klassen, bijvoorbeeld 'incidenteel', 'regelmatig' en 'massaal' geeft doorgaans eenzelfde resultaat als logaritmisch getransformeerde hoeveelheden cellen per volume-eenheid;
- getransformeerde aantallen (zoals kwadratische, wortel- of logaritmische transformatie van cellen per ml monster);
- een informele schaal op basis van aantal waarnemingen per beeldveld en preparaat (dekglas). Deze methode is bruikbaar binnen één rapportage, maar niet als standaard. Er zijn immers talloze combinaties van dekglasformaten en diameters van beeldvelden.

Wanneer men relatieve abundanties wil bepalen en werkt volgens de Utermöhlmethode, bevelen we aan om eerst de dichtheid van de soorten in het monster te bepalen (zie [hoofdstuk 7](#) voor telmethode en [tabel 8.6](#) voor een voorbeeld van een telresultaat). Vervolgens kan men deze dichtheden naar behoefte omzetten in procentuele abundanties, of in één van de bovengenoemde maten.

Omdat men uit gaat van de dichtheden per monster, kan men altijd een maat kiezen die aansluiting geeft met resultaten van anderen, of resultaten van voorgaande jaren.

Tabel 8.6 Voorbeeld van een telling in drie stappen

Elke stap is gekenmerkt door de gebruikte vergroting en het onderzochte volume, uitgedrukt in het percentage cuvetoppervlak dat bekeken is (300% cuvetoppervlak wil zeggen drie gehele cuvetten). Bron: database Koeman en Bijkerk.

STAP	SOORT	CEL PER ML MONSTER	VERGROTING	% CUVETOPPERVLAK
1	Spondylosium pulchellum	23756	23756	2
1	Staurastrum furcatum	1827	1827	2
1	Actinotaenium geniculatum	406	406	2
2	Closterium idiosporum	800	800	13
2	Micrasterias truncata	246	246	13
2	Spirotaenia	154	154	13
3	Staurastrum paradoxum	35	35	300
3	Closterium directum	32	32	300
3	Euastrum binale var. gutwinskii	32	32	300
3	Staurodesmus spencerianus	21	21	300
3	Actinotaenium cucurbita	5	5	300

8.5 TIJDSBESTEDING

Onderstaande begroting is gebaseerd op de inzet van ervaren monsternemers en analisten.

Bemonstering

Tijdsduur: 0,6 uur (range 0,4 tot 1,2 uur) per meetpunt. Dit is inclusief (de)mobilisatie, maar exclusief reistijd van en naar het meetpunt.

Analyse

Tijdsduur volgens Utermöhlmethode: 4 uur (range 2 tot 8 uur).

Tijdsduur volgens Objectglasmethode: range 8 tot 20 uur of langer.

De genoemde tijden zijn inclusief voorbehandeling van het monster, maar exclusief de uitvoering van speciale determinatietechnieken en literatuuronderzoek, datamanagement en rapportage. De tijdsduur van de analyse hangt sterk af van de soortenrijkdom.

8.6 LITERATUURVERWIJZINGEN

Bland RD & Brook AJ (1974). The spatial distribution of desmids in lakes in northern Minnesota, USA. *Freshwater Biology* 4: 543-556.

Coesel PFM (1975) The relevance of desmids in the biological typology and evaluation of fresh waters. *Hydrobiological Bulletin* 9: 93-101.

Coesel PFM (1982) *De Desmidiaceeën van Nederland – Sieralgen. Deel 1. Fam. Mesotaeniaceae, Gonatozygaceae, Peniaceae.* Wetensch Meded KNNV nr 153, KNNV, Hoogwoud. 32 pp.

Coesel PFM (1983) *De Desmidiaceeën van Nederland – Sieralgen. Deel 2. Fam. Closteriaceae.* Wetensch Meded KNNV nr 157, KNNV, Hoogwoud. 49 pp.

Coesel PFM (1985) *De Desmidiaceeën van Nederland – Sieralgen. Deel 3. Fam. Desmidiaceae (1).* Wetensch Meded KNNV

- nr 170, KNNV, Hoogwoud. 70 pp.
- Coesel PFM (1991) *De Desmidiaceeën van Nederland – Sieralgen. Deel 4. Fam. Desmidiaceae (2)*. Wetensch Meded KNNV nr 202, KNNV, Utrecht. 88 pp.
- Coesel PFM (1994) *De Desmidiaceeën van Nederland – Sieralgen. Deel 5. Fam. Desmidiaceae (3)*. Wetensch Meded KNNV nr 210, KNNV, Utrecht. 52 pp.
- Coesel PFM (1997) *De Desmidiaceeën van Nederland – Sieralgen. Deel 6. Fam. Desmidiaceae (4)*. Wetensch Meded KNNV nr 220, KNNV, Utrecht. 93 pp.
- Coesel PFM (1998) *Sieralgen en natuurwaarden. Handleiding ter bepaling van natuurwaarden van stilstaande, zoete wateren, op basis van het desmidiaceeënbestand*. Wetensch Meded KNNV nr 224, KNNV Uitgeverij, Utrecht. 56 pp.
- Coesel PFM (2001) A method for quantifying conservation value in lentic freshwater habitats using desmids as indicator organisms. *Biodiversity and Conservation* 10: 177-187.
- Coesel PFM (2003) Desmid flora data as a tool in conservation management of Dutch freshwater wetlands. *Biologia, Bratislava* 58: 717-722.
- Coesel PFM & Meesters K(J) (2007) *Desmids of the Lowlands. Mesotaeniaceae and Desmidiaceae of the European Lowlands*. KNNV Publishing, Zeist. 352 pp.
- Coesel PFM & Wardenaar K (1990) Growth responses of planktonic desmid species in a temperature-light gradient. *Freshwater Biology* 23: 551-560.
- Joosten AMT (1996) *Documentatie van desmidiaceeën uit Nederlandse binnenwateren*. Rapport 1996-01/B, Koeman en Bijkerk bv, Haren. 23 pp.
- Kouwets FAC (1987) Desmids from the Auvergne (France). *Hydrobiologia* 146: 193-263.
- Kouwets FAC (1988) Remarkable forms in the desmid flora of a small mountain bog in the French Jura. *Cryptogamie, Algologie* 9: 289-309.
- Kouwets FAC (1998) Contributions to the knowledge of the French desmid flora. 2. Rare and remarkable taxa from the regions of Sologne and Brenne. *Cryptogamie, Algologie* 19: 121-147.
- Krieger W (1933-1939) *Die Desmidiaceen Europas mit Berücksichtigung der außereuropäischen Arten*. Rabenhorst's Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz 13(2). 1 Teil: Lief 1: 1-223 (1933); Lief. 2: 225-375 (1935); Lief 3-4: 377-712 (1937); 2 Teil: 1-117 (1939). Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig.
- Lenzenweger R (1996) *Desmidiaceenflora von Österreich. Teil 1*. Bibliotheca Phycologica 101, J Cramer, Berlin, Stuttgart. 162 pp.
- Lenzenweger R (1997) *Desmidiaceenflora von Österreich. Teil 2*. Bibliotheca Phycologica 102, J Cramer, Berlin, Stuttgart. 216 pp.
- Lenzenweger R (1999) *Desmidiaceenflora von Österreich. Teil 3*. Bibliotheca Phycologica 104, J Cramer, Berlin, Stuttgart. 218 pp.
- Lenzenweger R (2003) *Desmidiaceenflora von Österreich. Teil 4*. Bibliotheca Phycologica 111, J Cramer, Berlin, Stuttgart. 87 pp.
- Mann DG, Bayer MM, Droop SJM, Hicks YA, Marshall AD, Martin RR & Rosin PL (2007) New methods for preparing, imaging and typifying desmids (Chlorophyta, Zygnematophyceae), including extended depth of focus and 3-D reconstruction. *Phycologia* 46: 29-45.
- Mulderij G., Bultstra CA, Bijkerk R & Ibelings BW (2008) *Biodiversiteit van sieralgen. Tussenrapportage onderzoeksresultaten 2007*. Rapport 2007-062, Koeman en Bijkerk bv, Haren. 59 pp + 12 bijl.
- NEN-EN-ISO/IEC 17025 (2005) *Algemene eisen voor de bekwaamheid van beproevings- en kalibratielaboratoria*. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 39 pp.
- Pillsbury RW & Lowe RL (1999) The response of benthic algae to manipulations of light in four acidic lakes in northern Michigan. *Hydrobiologia* 394: 69-81.
- Reize IB & Melkonian M (1989) A new way to investigate living flagellated/ciliated cells in the light microscope: immobilization of cells in agarose. *Botanica Acta* 102: 145-151.
- Růžička J (1977) *Die Desmidiaceen Mitteleuropas. Band 1. 1. Lieferung*. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung

- (Nägele und Obermiller), Stuttgart. pp 1-292 pp.
- Růžička J (1981) *Die Desmidiaceen Mitteleuropas. Band 1. 2. Lieferung.* E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele und Obermiller), Stuttgart. pp 293-736.
- Smit HDW (1976) *Desmidiaceen in zuid-west Drenthe. Veranderingen in de Desmidiaceenflora van een aantal Drentse vennen gedurende de laatste vijftig jaar.* Intern rapport nr 35. Hugo de Vries Laboratorium, Universiteit van Amsterdam 106 pp + bijl.
- Van der Molen DT (red) (2004) *Referenties en concept-maatlatten voor meren voor de Kaderrichtlijn Water.* Rapport 2004-42. Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer (STOWA)/RIZA, Utrecht. 450 pp.
- Wade WE (1957) Studies on the distribution of desmids in Michigan. *Transactions of the American Microscopical Society* 76: 80-86.
- West W & West GS (1904) *A monograph of the British Desmidiaceae, Vol I.* Ray Society, London. 224 pp.
- West W & West GS (1905) *A monograph of the British Desmidiaceae, Vol II.* Ray Society, London. 206 pp.
- West W & West GS (1908) *A monograph of the British Desmidiaceae. Vol III.* Ray Society, London. 274 pp.
- West W & West GS (1912) *A monograph of the British Desmidiaceae. Vol IV.* Ray Society, London. 191 pp.
- West W, West GS & Carter N (1923) *A monograph of the British Desmidiaceae. Vol V.* Ray Society, London. 300 pp.



WERKVOORSCHRIFT 8A BEMONSTERING VAN SIERALGEN IN OPPERVLAKTEWATER

8A.1 Doel en toepassingsgebied

Dit werkvoorschrift heeft betrekking op sieralgen uit stilstaande, zoete wateren. Het bevat op de eerste plaats richtlijnen voor het bemonsteren van deze algen. Op de tweede plaats geeft het aanwijzingen voor het verzamelen en verwerken van metagegevens. Op de derde plaats geeft het adviezen voor de kwaliteitszorg van de bemonstering. De beschreven bemonsteringsmethode is bedoeld voor de volgende toepassingen:

- natuurwaardebeoordeling volgens Coesel (1998);
- beoordeling ecologische kwaliteit volgens voorlopige KRW-maatlat (van der Molen 2004);
- beoordeling ecologische kwaliteit volgens Coesel & Meesters (2007).

8A.2 Beginsel

Men verzamelt sieralgen in de verschillende microhabitats van een oppervlaktewater met behulp van een aantal technieken en in de optimale bemonsteringsperiode. Het gaat om het vinden van zoveel mogelijk soorten, zodat men een representatief beeld krijgt van de sieralgflora in het gehele water.

8A.3 Normen

Onderdelen van dit voorschrift zijn gebaseerd op de volgende norm:

NEN-EN 14996:2006

Water quality - Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment (Richtlijn voor de kwaliteitsborging van biologische en ecologische beoordelingen in het aquatische milieu) - juni 2006.

8A.4 Termen en definities

De in dit voorschrift gebruikte termen en definities zijn verklaard in [bijlage 1](#).
Zie ook het normblad NEN-EN 14996.

8A.5 Chemicaliën

Voor het conserveren van monsters heeft men de volgende chemicaliën nodig:

- a alkalische Lugol: voor conservering van monsters (voor bereiding en gebruik zie [bijlage 12](#));
- b formaline: voor het nafixeren van Lugolgeconserveerde monsters (voor bereiding en gebruik zie [bijlage 12](#)).

8A.6 Apparatuur en hulpmiddelen

Voor het bemonsteren van sieralgen heeft men de volgende apparaten en hulpmiddelen nodig:

- a mengvaatje: een klein emmertje of een wijdhalsfles van 1 liter om de monsters van de verschillende microhabitats in te verzamelen en te mengen;
- b monsterpotjes: schone, vierkante wijdhalsflessen van glas of hard pvc, met een inhoud van 100 tot 250 ml en met een deksel en inlay die voor een waterdichte en vrijwel gasdichte afsluiting zorgen;
- c pasteurspipet: om aangroei van het sediment te kunnen bemonsteren. Met een opening van ca. 3 mm en bij voorkeur van kunststof in verband met breuk;
- d planktonnet: planktonnet met een maaswijdte van 30 µm, uitlopend in een zeeffe met identieke maaswijdte en voorzien van minimaal 10 m lijn (zie [bijlage 10](#)). Voorafgaand aan iedere bemonstering moet gecontroleerd worden of net en zeeffe intact zijn. Kleine gaatjes kunnen worden gedicht met nagellak;
- e pH-meter: meter voor in het veld om het watertype te kunnen bepalen voor een juiste beoordeling van de natuurwaarde.

8A.7 Bemonsteringsperiode

- 1 Sieralgen worden éénmaal in het zomerhalfjaar bemonsterd.
- 2 Bepaal aan de hand van [tabel 8A.1](#) met welk watertype men te maken heeft: ongebufferd tot zeer zwak gebufferd (zuur), dan wel zwak tot sterk gebufferd (zwak zuur tot alkalisch).
- 3 Kies het bemonsteringstijdstip in de periode die voor dat watertype in [tabel 8A.1](#) is aangegeven: mei-augustus, dan wel juni-juli.
- 4 Als het watertype niet bekend is, kies het bemonsteringstijdstip in de periode juni-juli.

Tabel 8A.1 Bemonsteringsperiode voor de verschillende watertypen

p.p. = behorend tot een deel van het betreffende KRW-type.

ALKALINITEIT (MEQ/L)	OMSCHRIJVING	WATERTYPE	KRW-TYPEN	MONSTERPERIODE
0,0-0,5	Ongebufferd tot zeer zwak gebufferd	Hoogveensloten Vennen Diepe zure meren	M9 p.p. M12 p.p., M13, M26 p.p. M17 p.p., M18	Mei-augustus
0,5-4,0	Zwak tot sterk gebufferd	Sloten Kanalen Ondiepe plassen Diepe plassen	M1, M2, M8, M9 p.p. M3, M4, M6, M7, M10 M5, M11, M12 p.p., M14, M15, M22, M23, M25, M27 M16, M17 p.p., M19, M20, M21, M24, M28, M29	Juni-juli

8A.8 Meetpuntkeuze

- 1 Kies het meetpunt zo dat de bemonstering monsters oplevert die representatief zijn voor het te beoordelen waterlichaam of deel van het waterlichaam¹. Dit betekent een meetpunt niet te dicht bij versturende elementen, zoals een zijwater, een brug, een sluis of een lozingspunt.
- 2 Kies binnen deze voorwaarden bij voorkeur een meetpunt dat in het verleden eerder is bemonsterd.

8A.9 Uitvoering

Algemeen

- 1 Beoordeel het watersysteem op de aanwezigheid van microhabitats die voor sieralgen belangrijk zijn (open water, vegetatie, sedimentoppervlak, oever; zie [figuur 8.7](#)).
- 2 Neem van elk microhabitat een submonster op de verder in deze paragraaf beschreven wijzen.
- 3 Verzamel de submonsters in een mengvaatje en verwerk ze tot een mengmonster.

¹ In sommige waterlichamen zal één meetpunt niet representatief kunnen zijn voor de toestand van het gehele waterlichaam, maar wel voor een deel ervan.

Open water

- 1 Gooi het planktonnet ver genoeg van je af voor de trek, laat het zinken tot net onder het wateroppervlak en trek het vervolgens langzaam naar je toe over een afstand van twee tot vier meter². Zorg hierbij dat het net niet de bodem raakt.
- 2 Laat het net via het zeefje leeglopen en breng de inhoud van het zeefje over in het mengvatje.
- 3 Maak na elke trek het zeefje schoon met behulp van een borsteltje en een spuitfles met leidingwater.
- 4 Herhaal dit tot je een totale lengte van omstreeks tien meter hebt bemonsterd.

Sedimentoppervlak

- 1 Verzamel in de beschutte oeverzone met een pasteurpipet enkele vlokjes aangroei of sedimentoppervlak.
- 2 Leeg de pasteurpipet in het mengvatje.

Opmerking

Het bemonsteren van sediment is niet nodig wanneer er ondergedoken waterplanten aanwezig zijn die slib invangen (vooral waterplanten met fijnverdeelde bladeren zoals hoornblad, vederkruid, blaasjeskruid). Het bemonsteren van deze watervegetatie heeft dan de voorkeur.

Watervegetatie

Met het planktonnet voor planten met grovere bladen

- 1 Gooi het planktonnet ver genoeg van je af voor de trek, laat het zinken tot in de toppen van de vegetatie en trek het langzaam naar je toe over een afstand van omstreeks twee meter.
- 2 Laat het net zoveel mogelijk leeglopen via het zeefje en breng de inhoud van het zeefje over in het mengvatje.
- 3 Wanneer meerdere vegetatietypen te onderscheiden zijn wordt in elk van de typen een trek gedaan (bijvoorbeeld één trek in het veld met het vederkruid en één trek in het veld met het smalbladige fonteinkruid).
- 4 Maak na elke trek het zeefje schoon met behulp van een borsteltje en een spuitfles met leidingwater.

Door uitknippen van planten met fijnverdeelde bladen

Planten als blaasjeskruid, vederkruid, hoornblad en veenmos kunnen ook bemonsterd worden door ze uit te knippen. Uitknippen is de enige manier om veenmosrandjes op de oever te bemonsteren.

- 1 Neem een handje vegetatie en knip het water eruit met de duim naar beneden. Het uitgeknepen water kan zo gemakkelijk opgevangen worden in het mengvatje.
- 2 Verzamel op deze wijze ongeveer vijftig milliliter water per vegetatietype (bijvoorbeeld vijftig milliliter in het vegetatietype blaasjeskruid en vijftig milliliter in het vegetatietype vederkruid).

Veenmosrandjes op de oever

Zie 'Uitknippen van watervegetatie'.

Verwerken tot een mengmonster

- 1 Homogeniseer de inhoud van het mengvatje door goed te schudden (zie [bijlage 13](#)).
- 2 Vul een monsterpotje voor 90% met de gehomogeniseerde inhoud van het mengvatje.
- 3 Vul eventueel een tweede monsterpotje met het restant uit het mengvatje, voor onderzoek van levende organismen.

² Planktonnetjes slibben dicht en bemonsteren dan niet meer effectief. Hoe troebeler het water, hoe sneller dit gebeurt en hoe kleiner de afstand die men in één keer kan bemonsteren. Alleen in heldere wateren kan een trek van tien meter in één keer worden uitgevoerd.

Veldmetingen

Voor toepassing van het natuurwaardebeoordelingssysteem: bepaal de pH van het water met behulp van de pH-velddmeter.

Opmerking

Incidentele pH-metingen in het veld moet men altijd kritisch bekijken. Waarden in de zomer kunnen relatief hoog zijn. Het verdient daarom de voorkeur om de pH-bepaling te baseren op meerdere metingen gedurende het jaar, bijvoorbeeld metingen in het kader van de monitoring waterkwaliteit. Kijk daarnaast ook naar de soortensamenstelling, in het bijzonder de pH-voorkeur van de gevonden soorten (acidofiel, circumneutraal, alkalifiel).

8A.10 Etikettering

Etiketeer de monsterfles op de voorgeschreven wijze (bijlage 11).

8A.11 Conservering en opslag

- 1 Conserveer het monster direct na monsterneming met alkalische Lugol, dosering: 0,4 ml Lugol per 100 ml monster.
- 2 Bewaar het geconserveerde monster gedurende de velddag in het donker, bij voorkeur in een koelbox met koelementen.
- 3 Sla het geconserveerde monster in het laboratorium op bij 4 à 5 °C in het donker, tenzij het monster binnen één week geanalyseerd wordt. Sla het monster in dat geval op bij kamertemperatuur in het donker.
- 4 Controleer de staat van conservering in de eerste maand van opslag wekelijks, wanneer alleen Lugol is gebruikt. Bij ontkleuring moet opnieuw Lugol worden toegevoegd.
- 5 Fixeer het monster voor langdurige opslag (langer dan 12 maanden) na met formaline (eindconcentratie 0,4% formaldehyde). Ook met formaline nagefixeerde monsters bewaart men bij 4 à 5 °C in het donker.³

Levend monster

Soorten uit de geslachten *Cosmocladium*, *Heimansia* en *Spirotaenia* zijn in levende toestand beter herkenbaar dan geconserveerd. Daarom bevelen we aan om uit het mengvatje een tweede submonster te nemen dat niet geconserveerd wordt, maar gekoeld en donker wordt opgeslagen. Dit monster wordt binnen twee dagen microscopisch onderzocht. Let hierbij vooral op bovengenoemde geslachten. Verwerk de resultaten van het onderzoek in de soortenlijst van het monster.

8A.12 Rapportage

Bij de bemonstering worden metadata vastgelegd die nodig zijn voor de interpretatie van de bemonsteringsresultaten (zie hoofdstuk 2 voor het begrip metadata).

De metadata worden gekoppeld aan het unieke *monster nummer*.

Leg in het veld onder het monster nummer de volgende gegevens vast op veldformulier of in veldcomputer:

- naam van de monsternemer(s);
- code van het meetpunt⁴;

³ Voor de kwaliteit van de conservering is het aan te raden om het monster zo snel mogelijk na te fixeren met formaline. Voor de microscopische analyse is formaline echter minder prettig. Voer naxiatie met formaline dus zo snel mogelijk uit na de analyse, of na de voorfixatie met Lugol wanneer de analyse niet binnen twaalf maanden plaats kan vinden.

⁴ Onder de meetpuntcode is bij veel beheerders al een grote hoeveelheid informatie over het meetpunt opgeslagen, zoals de naam van het water en de x,y-coördinaten. Toch is het goed om enkele aanvullende meetpuntidentificatiegegevens in het veld te noteren, om bij afwijkingen (schrijf- of aanwijfsfouten in de monstercode) toch de juiste gegevens te kunnen achterhalen.

- datum van bemonstering (in DD-MMM-JJJJ, dat wil zeggen: 12 aug 2008);
- tijdstip van bemonstering (in HH:MM, dat wil zeggen: 13:30);
- x,y-coördinaten van het meetpunt;
- naam van het water waarin het meetpunt ligt;
- gehanteerde werkvoorschrift;
- verzamelde submonsters (welke submonsters en gebruikte technieken);
- weersomstandigheden tijdens de bemonstering;
- bedekkingspercentage emergente, drijvende en ondergedoken watervegetatie;
- bijzonderheden tijdens de bemonstering (bijvoorbeeld sterke waterstandsval in de voorafgaande periode, aanwezigheid drijfslaag, aanwezigheid grote grazers in het water, ...).

8A.13 Kwaliteitszorg

Kwaliteitszorg op het gebied van bemonstering moet:

- de reproduceerbaarheid en betrouwbaarheid van de bemonstering bevorderen;
- de kwaliteit van de monsters op lange termijn bevorderen.

Overige punten die de kwaliteit van het veldwerk moeten bevorderen worden besproken in de [hoofdstukken 3 en 5](#).

Eerstelijnscontrole

De eerstelijnscontrole is bedoeld om fouten in de uitvoering van een onderzoek te voorkomen. Voor de bemonstering van sialgen betekent dit:

- werk volgens dit voorschrift;
- zorg dat het planktonnet schoon is voor iedere bemonstering;
- controleer de staat van het zeefje en het planktonnet voor iedere bemonstering;
- zorg voor schone monsterpotjes;
- zorg voor toereikende en zorgvuldige etikettering van de monsters.
- zorg voor een duurzame conservering van monsters gedurende de opslagperiode.

Tweedelijnscontrole

De tweedelijnscontrole is bedoeld om de reproduceerbaarheid van de bemonstering binnen één laboratorium te testen. Voor de bemonstering van sialgen betekent dit:

- zorg voor een goede, interne opleiding van nieuwe collega-bemonsteraars, waarvan een stage onder begeleiding van een ervaren collega deel uitmaakt;
- organiseer gezamenlijke bemonsteringen in verschillende watertypen (verschillend wat betreft aantal microhabitats).

Derdelijnscontrole

De derdelijnscontrole of ringonderzoek is bedoeld om de betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid van onderzoeksresultaten tussen laboratoria te testen. Het gebruikelijke ringonderzoek richt zich echter alleen op de analyse, niet op de bemonstering. Om inzicht te krijgen in de betrouwbaarheid van de bemonstering van de eigen organisatie is op dit moment de beste mogelijkheid: mee gaan met excursies van de Nederlandse Sialgenwerkgroep (zie [bijlage 2](#)) en de eigen resultaten vergelijken met die van anderen.

8A.14 Literatuurverwijzingen

Coesel PFM (1998) *Sialgen en natuurwaarden. Handleiding ter bepaling van natuurwaarden van stilstaande, zoete wateren, op basis van het desmidiaceëenbestand*. Wetensch Meded KNNV nr 224, KNNV Uitgeverij, Utrecht. 56 pp.

- Coesel PFM & Meesters K(J) (2007) *Desmids of the Lowlands. Mesotaeniaceae and Desmidiaceae of the European Lowlands*. KNNV Publishing, Zeist. 352 pp.
- NEN-EN 14996 (2006) *Water quality - Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment*. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 14 pp.
- Van der Molen DT (red) (2004) *Referenties en concept-maatlatten voor meren voor de Kaderrichtlijn Water*. Rapport 2004-42. Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer (STOWA)/RIZA, Utrecht. 450 pp.

WERKVOORSCHRIFT 8B

ANALYSE VAN SIERALGEN IN OPPERVLAKTEWATER MET EEN OMKEERMICROSCOOP

8B.1 Doel en toepassingsgebied

Dit werkvoorschrift heeft betrekking op sieralgen uit stilstaande, zoete wateren. Het bevat richtlijnen voor het analyseren van sieralgmonsters en het verwerken van de verzamelde gegevens. Ten slotte geeft het adviezen voor kwaliteitszorg voor deze analyse.

De beschreven methode is bedoeld voor de volgende toepassingen:

- natuurwaardebeoordeling volgens Coesel (1998);
- beoordeling ecologische kwaliteit volgens voorlopige KRW-maatlat (van der Molen 2004);
- beoordeling ecologische kwaliteit volgens Coesel & Meesters (2007).

8B.2 Beginsel

Een mengmonster van verschillende microhabitats onderzoekt men steekproefsgewijs met behulp van lichtmicroscopie (omkeermicroscopie). Het gaat om het vinden van zoveel mogelijk soorten, zodat men een representatief beeld krijgt van de sieralgflora in het monster. Een bepaling van de abundantie in cellen per milliliter monster is niet nodig.

8B.3 Normen

Onderdelen van dit voorschrift zijn gebaseerd op de volgende normen:

NEN-EN 14996:2006

Water quality - Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment (Richtlijn voor de kwaliteitsborging van biologische en ecologische beoordelingen in het aquatische milieu) - juni 2006.

NEN-EN 15204:2006

Water quality - Guidance standard on the enumeration of phytoplankton using inverted microscopy (Utermöhl technique) (Richtlijn voor het tellen van fytoplankton met behulp van omgekeerde microscopie (Utermöhl-techniek) - september 2006.

8B.4 Termen en definities

De in de voorschriften gebruikte termen en definities zijn verklaard in [bijlage 1](#).

Zie ook de normbladen NEN-EN 14996 en NEN-EN 15204.

8B.5 Chemicaliën

Voor het microscopisch analyseren van monsters heeft men de volgende chemicaliën nodig:

- a immersie-olie: middelmatig visceuze olie voor olie-immersie-objectieven zonder PCB's of epoxyhars (voor toelichting zie [bijlage 12](#));
- b verdunningsvloeistof: leidingwater waaraan Lugol is toegevoegd met eenzelfde dosering als bij fytoplanktonmonsters (voor bereiding zie [bijlage 12](#)).

8B.6 Apparatuur en hulpmiddelen

Voor het microscopisch analyseren van monsters heeft men de onderstaande apparaten en hulpmiddelen nodig:

- a omkeermicroscopie: zie [bijlage 16](#) voor specificatie en gebruik;
- b pipettips: voor gebruik met onderstaande volumepipetten en met een zodanig afgesneden tip dat de opening een diameter heeft van ca. 3 mm (zie [bijlage 14](#));

- c sedimentatiecuvet: met een bodemdikte van 0,15-0,17 mm; zie verder [bijlage 17](#);
- d volumepipetten: om volumina van 0,2 tot 5,0 ml of meer (afhankelijk van cuvette) te kunnen pipetteren¹.

8B.7 Voorbehandeling

Acclimatisatie

- 1 Zorg dat het monster, de verdunningsvloeistof en de sedimentatiecuvetten op gelijke temperatuur zijn. Dit bevordert een gelijkmatige verdeling van deeltjes over de cuvetbodem en voorkomt condensvorming op het dekglas. In de praktijk is kamertemperatuur het gemakkelijkst.
- 2 Neem het monster minimaal één dag vóór het inzetten uit de koeling en zet het weg bij kamertemperatuur, bijvoorbeeld in een donkere kast.

Homogenisatie

Voor men een deelmonster neemt moet het monster zo goed geschud zijn dat alle algen en andere deeltjes van de flesbodem zijn losgekomen en volledig gemengd zijn. Alleen dan kan men een representatief deelmonster onttrekken.

- 1 Schud het monster gedurende minimaal dertig seconden op drie verschillende wijzen (zie [bijlage 13](#)).

TIP

Vierkante monsterflesjes en de opeenvolgende schudbewegingen voorkomen het ontstaan van een kolk die tot onvolledige menging leidt.

Verdunning

Verdun het deelmonster als het pipetteren van 0,2 ml per cm² cuvetbodemoppervlak leidt tot een te grote dichtheid van deeltjes. Hierbij sedimenteren de sialgen niet meer goed op de cuvetbodem, maar komen ze bovenop elkaar te liggen of bovenop slibdeeltjes en detritus. Verdun een deelmonster op de volgende wijze.

- 1 Doe 1 ml van het gehomogeniseerde monster in een reageerbuis.
- 2 Voeg hieraan 4 ml (vijf keer verdund) of 9 ml (tien keer verdund) verdunningsvloeistof toe.
- 3 Sluit de reageerbuis af met parafilm en meng de vloeistof goed.

LET OP

We bevelen aan om een deelmonster te verdunnen en niet het gehele monster.

8B.8 Inzetten

- 1 Etiketteer het cuvet met gegevens van het monster.
- 2 Breng een bodempje verdunningsvloeistof aan in het cuvet.
- 3 Homogeniseer het monster in de monsterfles.
- 4 Neem met een volumepipet een toereikende² hoeveelheid van het gehomogeniseerde monster of verdunde deelmonster.
- 5 Laat de algen bezinken gedurende minimaal vier uur per centimeter hoogte van de waterkolom in het cuvet.

¹ De combinatie van pipet en pipettips moet gekalibreerd zijn wanneer men de abundantie van soorten per ml monster wil bepalen. Voor het onder 8B.1 beschreven toepassingsgebied is dat niet nodig.

² Toereikend is een hoeveelheid groter dan 0,2 ml per cm² cuvetbodem, die een werkbare dichtheid van deeltjes op de cuvetbodem geeft. Werkbaar wil zeggen: niet veel te veel deeltjes per beeldveld, maar ook niet te weinig (met deeltjes bedoelen wij algen, slibdeeltjes, detritus e.d.).

8B.9 Bepaling

De analysestrategie is afgestemd op het vaststellen van meerdere soorten met sterk uiteenlopende dichtheden.

- 1 Begin de analyse zo mogelijk met het opstellen van een soortenlijst met behulp van een levend monster. Let hierbij vooral op soorten uit de geslachten *Cosmocladium*, *Heimansia* en *Spirotaenia*.
- 2 Determineer de talrijke en de kleine soorten in een relatief klein volume (= klein deel van het cuvet) bij een sterke vergroting.
- 3 Zoek de minder talrijke soorten op in een relatief groot volume (= groot deel van het cuvet of meerdere cuvetten) bij een kleinere vergroting. Schakel zonodig een sterkere vergroting in voor de determinatie. Doorzoek minimaal 0,3 ml monster om ook de minder talrijke soorten te vinden.

OPMERKING

Raadpleeg [intermezzo 8.2](#) wanneer men de abundantieverhouding van de soorten wil bepalen. Raadpleeg [bijlage 18](#) wanneer men de dichtheid van iedere soort in het monster wil bepalen.

8B.10 Determinatie

Het determineren

- 1 Ga bij de naamgeving uit van de TWN-lijst. Deze lijst is taxonomisch beter onderbouwd dan de naamlijst van Nederlandse sialgalen op de cd bij Coesel & Meesters (2007). Bij sommige soorten zijn er dan ook verschillen tussen beide lijsten.
- 2 Baseer de determinatie op de in [bijlage 30](#) genoemde, noodzakelijke determinatieliteratuur.
- 3 Gebruik, zeker in het begin, de volledige determinatietabel om tot een soort te komen.
- 4 Bij twijfel over de keuze in de determinatietabel moeten beide mogelijkheden gevolgd worden; één van de twee blijkt dan vaak de meest waarschijnlijke.
- 5 Raadpleeg altijd de soortbeschrijving en controleer de zekerheid van de determinatie aan de hand van de habitustekeningen, de afmetingen en de milieuvoorkeur. De vondst van een acidofiele soort in een voedselrijke laagveenplas is niet heel waarschijnlijk.
- 6 Beoordeel de bijzonderheid van de waarneming aan de hand van de verspreidingsindicatie in de flora. Is de soort algemeen, of zeldzaam.
- 7 Maak gebruik van de aanvullende determinatieliteratuur, wanneer de sialgal niet helemaal overeenkomt met de beschrijving en afbeeldingen in de noodzakelijke literatuur.
- 8 Wanneer de soort niet met zekerheid kan worden vastgesteld wordt gedetermineerd tot het eerstvolgende, hogere taxonomische niveau waarover wel zekerheid bestaat (meestal geslachtsniveau).
- 9 Laat de volgende waarnemingen controleren door een expert ([bijlage 2](#)):
 - a soorten die niet met zekerheid gedetermineerd kunnen worden en een aandeel in de abundantie hebben van méér dan 10%;
 - b soorten die met aanvullende literatuur op naam zijn gebracht en niet uit Nederland bekend zijn;
 - c soorten die in Nederland bekend staan als zeer zeldzaam of uitgestorven.

Speciale technieken voor het determineren

Voor een goede determinatie van sialgalen kan het nodig zijn om details van de celwand beter zichtbaar te maken. Bijvoorbeeld het patroon van knobbeltjes bij *Cosmarium*, of gordelbanden bij *Closterium*. Methoden om de zichtbaarheid van deze details te verbeteren zijn een behandeling met bleekwater, of een behandeling met calcofluor. Deze technieken worden beschreven in [bijlage 20](#).

8B.11 Rapportage

Bij de analyse worden metadata vastgelegd die nodig zijn voor de interpretatie van de analyseresultaten (zie [hoofdstuk 2](#) voor het begrip metadata). Met deze data moeten de eigen resultaten vergeleken kunnen worden met resultaten van anderen en zo nodig omgezet kunnen worden naar resultaten van anderen. De metadata worden gekoppeld aan het unieke *monsternummer*.

Leg op het lab onder het monsternummer (of LIMS-nummer) de volgende gegevens vast op een laboratoriumformulier, in het LIMS-systeem, of in een andere database:

- naam van de analist;
- datum van de analyse;
- gehanteerde analysemethode;
- eventuele afwijkingen van de gebruikelijke werkwijze (bijvoorbeeld gebrekkige conservering);
- eventuele bijzonderheden van het monster die de resultaten kunnen hebben beïnvloed (bijvoorbeeld hoge dichtheid groot zoöplankton);
- gebruikte determinatieliteratuur;
- analyseresultaten per monster met soortenlijst en eventueel per soort aantal waarnemingen en cellen en grootte onderzocht volume deelmonster in ml;
- van soorten die bij de telling vaker dan éénmaal zijn waargenomen en niet (met zekerheid) op naam gebracht konden worden: een beschrijving in de vorm van een afbeelding (tekening, foto) en afmetingen (lengte, breedte, isthmusbreedte) en eventueel geraadpleegde experts (zie [paragraaf 8B.10 stap 9](#)).

8B.12 Kwaliteitszorg

Kwaliteitszorg op het gebied van de analyse moet:

- de betrouwbaarheid van de analyse bevorderen;
- de vergelijkbaarheid van de analyseresultaten bevorderen.

Eerstelijnscontrole

De eerstelijnscontrole is bedoeld om fouten in de uitvoering van de analyse te voorkomen. Voor de analyse van sialgalen betekent dit:

- werk volgens dit voorschrift;
- zorg dat de hulpmiddelen schoon zijn voor iedere analyse;
- werk met een goede microscoop en een gekalibreerde oculair-micrometer;
- gebruik de standaardnaamlijst (TWN);
- documenteer onderscheiden taxa in de vorm van een geannoteerde soortenlijst met afbeeldingen (tekeningen en/of foto's) van elk taxon;
- gebruik actuele determinatieliteratuur;
- laat onzekere determinaties controleren door een expert. Hieraan kunnen kosten verbonden zijn. Een lijst van hiervoor beschikbare experts staat in [bijlage 2](#);
- archiveer het monster voor een periode van tenminste vijf jaar voor eventuele controle op een later tijdstip.

Tweedelijnscontrole

De tweedelijnscontrole is bedoeld om de reproduceerbaarheid van de analyse binnen één laboratorium te testen. Voor de analyse van sialgalen betekent dit:

- laat regelmatig eenzelfde monster in duplo analyseren door alle, voor sialgalanalyses bevoegde analisten;
- zorg voor een goede, interne opleiding van nieuwe collega-analisten;
- toon bijzondere vondsten aan collega's;
- raadpleeg collega's bij onzekerheid over een determinatie.

Zie [bijlage 21](#) voor een statistische toetsing van de resultaten van tweedelijscontroles.

Derdelijnscontrole

De derdelijnscontrole of ringonderzoek is bedoeld om de vergelijkbaarheid en reproduceerbaarheid van analyseresultaten tussen laboratoria te testen.

Voor onderzoek van sialgalen betekent dit:

- doe jaarlijks mee aan interlaboratoria ringonderzoeken (derdelijnscontroles), wanneer bruikbare ringonderzoeken georganiseerd worden (zie [bijlage 2](#) voor suggesties).
- maak gebruik van email of discussiefora om collega-analisten te informeren over de ontdekking van bijzondere vondsten, (mogelijk) nieuwe soorten e.d.; stuur zo mogelijk een foto mee en vraag om commentaar (zie [bijlage 2](#) voor adressen en links).
- sluit je aan bij een landelijk overleg van collega-analisten/-onderzoekers en bespreek bijzondere vondsten, nieuwe literatuur en problemen uit de praktijk op het gebied van bemonstering, analyse en determinatie (zie [bijlage 2](#) voor adressen).

OPMERKING

Voor sialgalen zijn tot dusver geen interlaboratoria ringonderzoeken georganiseerd, maar raadpleeg [bijlage 2](#) voor actuele ontwikkelingen. De jaarlijkse excursies en determinatiedagen van de Nederlandse Sialgalenwerkgroep bieden een mogelijkheid om de eigen prestaties te vergelijken met die van anderen. Deze werkgroep houdt jaarlijks een excursie naar sialgrijke gebieden. De verzamelde monsters worden gemeenschappelijk geanalyseerd en de analyseresultaten worden samengevoegd tot een verslag. Deze determinatiedag bevordert niet alleen de soortenkennis, maar ook de standaardisatie van de naamgeving.

Daarnaast is een Nederlands discussieforum actief, waar vondsten gepresenteerd kunnen worden voor raad en commentaar (zie [bijlage 2](#)).

8B.13 Literatuurverwijzingen

- Coesel PFM (1998) *Sialgalen en natuurwaarden. Handleiding ter bepaling van natuurwaarden van stilstaande, zoete wateren, op basis van het desmidiaceëenbestand*. Wetensch Meded KNNV nr 224, KNNV Uitgeverij, Utrecht. 56 pp.
- Coesel PFM & Meesters K(J) (2007) *Desmids of the Lowlands. Mesotaeniaceae and Desmidiaceae of the European Lowlands*. KNNV Publishing, Zeist. 352 pp.
- NEN-EN 14996 (2006) *Water quality - Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment*. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 14 pp.
- NEN-EN 15204 (2006) *Water quality - Guidance standard on the enumeration of phytoplankton using inverted microscopy (Utermöhl technique)*. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 42 pp.
- Van der Molen DT (red) (2004) *Referenties en concept-maatlatten voor meren voor de Kaderrichtlijn Water*. Rapport 2004-42. Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer (STOWA)/RIZA, Utrecht. 450 pp.

WERKVOORSCHRIFT 8C

ANALYSE VAN SIERALGEN IN OPPERVLAKTEWATER MET STAANDE MICROSCOOP

8C.1 Doel en toepassingsgebied

Dit werkvoorschrift heeft betrekking op sieralgen uit stilstaande, zoete wateren. Het bevat richtlijnen voor het analyseren van sieralgmonsters en het verwerken van de verzamelde gegevens. Ten slotte geeft het adviezen voor kwaliteitszorg voor deze analyse.

De beschreven methode is bedoeld voor de volgende toepassingen:

- natuurwaardebeoordeling volgens Coesel (1998);
- beoordeling ecologische kwaliteit volgens voorlopige KRW-maatlat (van der Molen 2004);
- beoordeling ecologische kwaliteit volgens Coesel & Meesters (2007).

Dit werkvoorschrift is gericht op het gebruik van een staande microscoop. Om een aantal redenen geven wij de voorkeur aan het gebruik van een omkeermicroscoop aan (zie [intermezzo 8.1](#)). Hiervoor is Werkvoorschrift 8B geschreven.

8C.2 Beginsel

Een mengmonster van verschillende microhabitats onderzoekt men steekproefsgewijs met behulp van lichtmicroscopie (staande microscoop). Het gaat om het vinden van zoveel mogelijk soorten, zodat men een representatief beeld krijgt van de sieralgflora in het monster. Een bepaling van de abundantie in cellen per ml monster is niet nodig.

8C.3 Normen

Onderdelen van dit voorschrift zijn gebaseerd op de volgende norm:

NEN-EN 14996:2006

Water quality - Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment (Richtlijn voor de kwaliteitsborging van biologische en ecologische beoordelingen in het aquatische milieu) - juni 2006.

8C.4 Termen en definities

De in de voorschriften gebruikte termen en definities zijn verklaard in [bijlage 1](#).

Zie ook het normblad NEN-EN 14996.

8C.5 Chemicaliën

Voor het microscopisch analyseren van monsters heeft men de volgende chemicaliën nodig:

- a immersie-olie: zie [bijlage 12](#) voor specificatie;
- b glycerine (voor methode 1);
- c kleurloze nagellak (voor methode 2);
- d vaseline (voor methode 3).

8C.6 Apparatuur en hulpmiddelen

Voor het microscopisch analyseren van monsters heeft men de onderstaande apparaten en hulpmiddelen nodig:

- a dekglaasjes: dikte 0,15-0,17 mm, oppervlakte 24 mm bij 40-60 mm¹;

¹ Standaarddekglazen van 17×17 mm zijn ongeschikt. Ze hebben een zeer ongunstige ratio van randzone en centraal gebied en de oppervlakte is veel te klein. Het volume van één druppel is al te groot, zodat het preparaat eerst moet indrogen.

- b objectglasjes: bij voorkeur met beschrijfbaar deel;
- c pasteurspipet met tip met inwendige diameter van ca. 3 mm (zie [bijlage 14](#));
- d staande microscoop: zie [bijlage 15](#) voor specificatie en gebruik.

8C.7 Maken van een preparaat

Voor het maken van een microscopisch preparaat dat meerdere dagen houdbaar is geven wij drie methoden. Bepaal zelf welke methode het beste voldoet. De glycerinemethode ([8C.7.1](#)) heeft voordelen bij het bekijken van monsters die gefixeerd zijn met formaline. De celwanden kunnen iets contrastrijker zichtbaar zijn en preparaten drogen minder snel in. Daar staat tegenover dat omranden met nagellak veel lastiger is. Ieder spoortje glycerine verhindert een goede aanhechting van de lak. Voor levende monsters hebben de andere twee methoden ([8C.7.2](#) en [8C.7.3](#)) de voorkeur.

8C.7.1 Glycerinemethode

- 1 Neem een schoon objectglas.
- 2 Plaats een druppel glycerine op het objectglas.
- 3 Zuig met een pipet een beetje materiaal op van de bodem van het monsterpotje en laat een zo klein mogelijke druppel hiervan op de glycerinedruppel vallen (niet andersom!)².
- 4 Meng eventueel met een fijne naald de glycerine en het monster, maar nodig is dit niet; glycerine is zo hygroscopisch dat normaal gesproken ook zonder die extra handeling al een goed verdeeld preparaat verkregen wordt.
- 5 Laat op de druppel een dekglas zakken. Let op: laat dekglazen altijd horizontaal op de druppel zakken en niet vanuit een schuine stand op de druppel kantelen.

OPMERKING

Preparaten kunnen aanvankelijk een beetje troebel ogen, alsof er een wazige sluier overheen hangt. Deze is na één dag verdwenen.

8C.7.2 Nagellakmethode

- 1 Neem een schoon objectglas.
- 2 Zuig met een pipet een beetje materiaal op van de bodem van het monsterpotje en laat één druppel hiervan op het objectglas vallen.
- 3 Laat op de druppel een dekglas zakken. Het dekglas zal zich direct 'vastzuigen', zonder dat de vloeistof buiten de randen gedrukt wordt.
- 4 Controleer onder de microscoop of het preparaat nog verder moet indrogen totdat een optimale dikte bereikt wordt.
- 5 Voorkom verder indrogen door het dekglas te omranden met kleurloze nagellak. Breng de lak in een zo dun mogelijke laag aan. Breng na indrogen eventueel nog een tweede laag aan.

8C.7.3 Vaselinemethode

- 1 Neem een schoon objectglas.
- 2 Breng op het objectglas met een fijn penceeltje een rechthoekig kader aan van vaseline, met een afmeting die net binnen de maat van het dekglas valt.
- 3 Laat binnen het kader een druppel van het monster vallen.
- 4 Laat op het kader een dekglas zakken.

² Sieralgen zijn, zeker als ze gefixeerd zijn met formaline, stevig genoeg om direct overgebracht te worden in glycerine.

LET OP

Preparaten mogen niet te dik zijn bij het gebruik van hoogwaardige objectieven met korte werkafstand. Dit houdt in dat de vaseline zo dun mogelijk aangebracht moet worden.

TIP

Als de kamertemperatuur erg laag is kan het nodig zijn de vaseline eerst wat op te warmen. Doe hiervoor wat vaseline in een buisje en plaats dit in een warmwaterbadje.

OPMERKING

Eventueel ingesloten luchtbelletjes doen geen kwaad, zolang er maar geen lekken zijn in het kader van vaseline. Lekken in het kader van vaseline ontstaan vooral als men te veel monsterwater probeert in te sluiten. Als dit over de rand met vaseline geperst wordt, raakt die rand beschadigd. De kleefkracht van de vaseline is voldoende om het preparaat direct te bekijken.

8C.8 Bepaling

De analysestrategie is afgestemd op de detectie van meerdere soorten met sterk uiteenlopende dichtheden. Raadpleeg [intermezzo 8.2](#) wanneer men de abundantieverhouding van de soorten wil bepalen.

- 1 Begin de analyse zo mogelijk met het opstellen van een soortenlijst met behulp van een levend monster. Let hierbij vooral op soorten uit de geslachten *Cosmocladium*, *Heimansia* en *Spirotaenia*;
- 2 Determineer de talrijke en de kleine soorten in een relatief klein volume (= klein deel van het preparaat) bij een sterke vergroting;
- 3 Zoek de minder talrijke soorten op in een relatief groot volume (= groot deel van het preparaat of meerdere preparaten) bij een kleinere vergroting. Schakel zonodig een sterkere vergroting in voor de determinatie.
- 4 Doorzoek minimaal 0,3 ml monster (ca. zes preparaten) om ook de minder talrijke soorten te vinden.

8C.9 Determinatie

Zie [Werkvoorschrift 8B, paragraaf 8B.10 Determinatie](#).

8C.10 Rapportage

Zie [Werkvoorschrift 8B, paragraaf 8B.11 Rapportage](#).

8C.11 Kwaliteitszorg

Zie [Werkvoorschrift 8B, paragraaf 8B.12 Kwaliteitszorg](#).

8C.12 Literatuurverwijzingen

Coesel PFM (1998) *Sieralgen en natuurwaarden. Handleiding ter bepaling van natuurwaarden van stilstaande, zoete wateren, op basis van het desmidiaceeënbestand*. Wetensch Meded KNNV nr 224, KNNV Uitgeverij, Utrecht. 56 pp.

Coesel PFM & Meesters K(J) (2007) *Desmids of the Lowlands. Mesotaeniaceae and Desmidiaceae of the European Lowlands*. KNNV Publishing, Zeist. 352 pp.

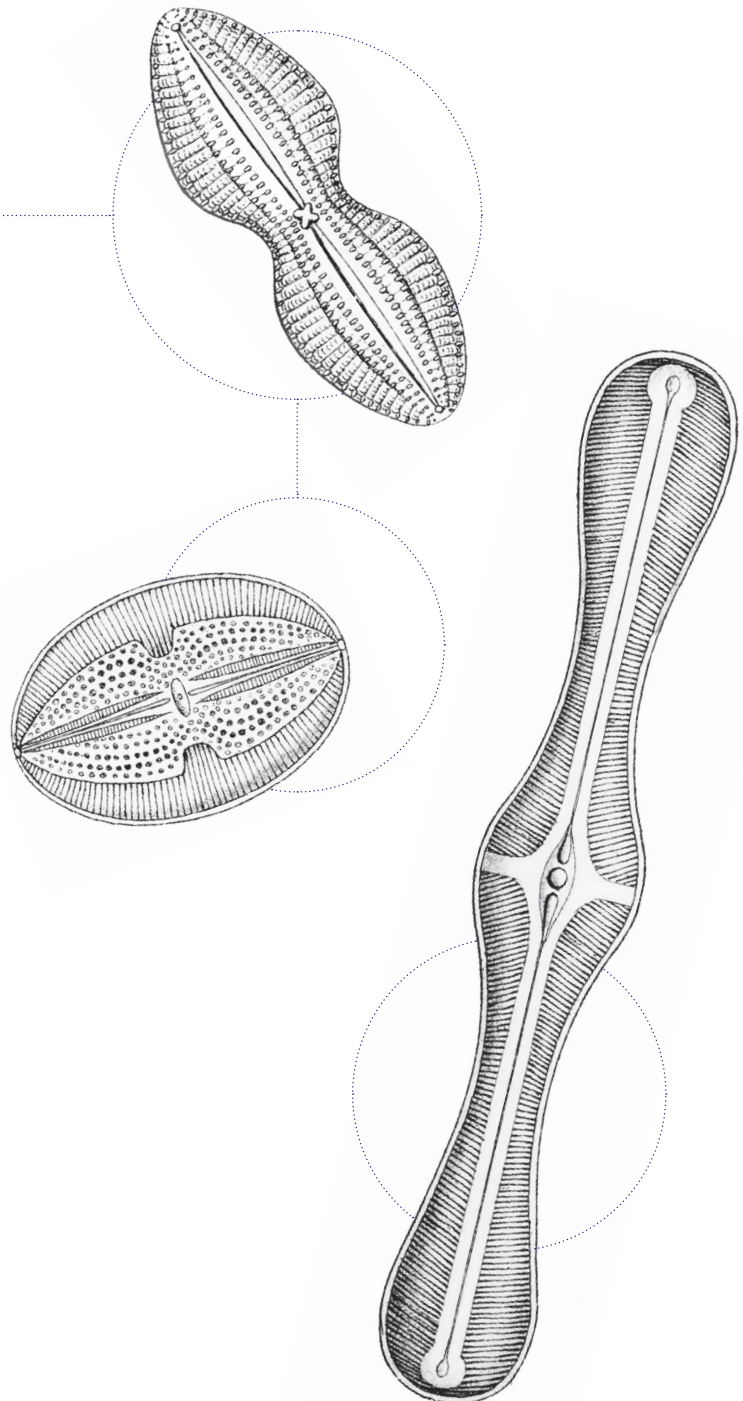
NEN-EN 14996 (2006) *Water quality - Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment*. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 14 pp.

Van der Molen DT (red) (2004) *Referenties en concept-maatlatten voor meren voor de Kaderrichtlijn Water*. Rapport 2004-42. Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer (STOWA)/RIZA, Utrecht. 450 pp.



HOOFDSTUK 9 KIEZELWIEREN

Dit hoofdstuk geeft het werkvoorschrift voor de bemonstering en analyse van kiezelwieren. De voorschriften zijn bedoeld voor een ecologische beoordeling met de KRW-maatlatten en de EBeo-systemen. Met de resultaten kan echter ook een ecologische typering met behulp van indicatorwaarden worden gemaakt. Om de voorschriften beter te kunnen begrijpen geven we eerst wat achtergrondinformatie over kiezelwieren. Wie meer over kiezelwieren wil lezen vindt tussen de tekst suggesties voor andere literatuur.



9.1 INLEIDING

9.1.1 Biologie

Wat zijn kiezelwieren

Kiezelwieren worden ook wel kiezelalgen of diatomeeën genoemd. De wetenschappelijke naam is Bacillariophyta. Het zijn eencellige, microscopisch kleine plantjes. De meeste soorten zijn tussen 10 en 30 μm lang. Sommige zijn minder dan 5 μm of meer dan 1 mm lang.

Kiezelwieren hebben enkele bijzondere eigenschappen. Het meest opvallende kenmerk is de bouw van de celwand, die verkiezeld is. Dit kiezelwandje wordt in de cel gevormd en komt uiteindelijk buiten de plasmamembraan te liggen, als een uitwendig skelet van kiezelzuur. De inhoud van de cel is meestal geelbruin van kleur, vooral in voor- en najaar. Dit komt door de aanwezigheid van speciale pigmenten, zoals fucoxanthine en diatoxanthine, die naast chlorofyl-*a* een rol spelen bij de fotosynthese.

Het kiezelschaaltje

Het kiezelskeletje bestaat uit twee delen (schaaltjes¹) die als doos en deksel op elkaar passen. De naam diatomee is afgeleid van het Griekse diatomos, dat in tweeën gesneden betekent. Tussen doos en deksel kunnen één of enkele gordels aanwezig zijn. Een externe coating van organisch materiaal houdt de afzonderlijke delen bij elkaar.

De schaaltes kunnen allerlei vormen hebben en op heel verschillende wijze versierd zijn met patronen van lijnen en stippels (figuur 9.1). Er zijn twee basisvormen van schaaltes, waardoor er twee klassieke hoofdgroepen onderscheiden worden:

- 1 centrische kiezelwieren met een ronde (radiaire) basisvorm;
- 2 pennate kiezelwieren met een langwerpige (bipolaire) basisvorm.

In de verouderde opvatting van Krammer & Lange-Bertalot (1986-1991) horen de centrische kiezelwieren tot de orde Centrales en de pennate tot de orde Pennales.

Veel pennate diatomeeën hebben op beide schaaltes in de lengterichting een lange sleuf die raphe genoemd wordt. Via deze raphe kunnen ze geleidelijk afscheiden waardoor een soort rupsbandsysteem ontstaat om zich voort te bewegen².

Voortplanting

Diatomeeën vermenigvuldigen zich in hoofdzaak door vegetatieve celdeling. Hierbij deelt de cel in twee dochtercellen. In de meeste gevallen worden de twee schaaltes van de moedercel het dekseltje van de dochtercellen en maakt elk van beide dochtercellen een nieuw doosje. Hierdoor blijft de ene dochtercel even groot als de moedercel, maar is de andere wat kleiner. Het gevolg van deze wijze van delen is dat er in de populatie meer en meer, steeds kleinere cellen komen. Dit gaat echter niet onbeperkt door; er is een minimale grootte die soorten kunnen hebben. Cellen die deze kritische grens bereiken delen niet langer en kunnen overstappen op geslachtelijke voortplanting. Hierbij smelt de inhoud van twee kleine cellen samen en ontstaat een zogenaamde auxospore. Hieruit ontwikkelt zich weer een grote cel, die zich vervolgens weer vele malen vegetatief kan delen (zie bijvoorbeeld Round *et al.* 1990).

Veel soorten kiezelwieren kunnen zich meerdere malen per dag delen. Daardoor is hun groeisnelheid hoog en kan de soortensamenstelling zich snel aanpassen aan veranderende milieuomstandigheden.

¹ Sommigen noemen het gehele kiezelskelet van de cel wel het schaalte. Wij gebruiken het begrip schaalte voor de deksel en de doos afzonderlijk; één kiezelwielcel bezit dus twee schaaltes.

² Ze bereiken snelheden tot 25 $\mu\text{m/s}$. Bij uitdroging kunnen ze zich hierdoor terugtrekken in de modder, zoals op droogvallende wadplaten en in tijdelijk droogvallende beken (Harper 1977).

Fig 9.1 Modellen van kiezelwieren

Uit zachte steen gesneden, enigszins geabstraheerde modellen van enkele soorten kiezelwieren. Foto: Manfred Rumrich.



Naamgeving

De naamgeving van kiezelwieren is grotendeels gebaseerd op de vorm en het patroon van de schaaltsjes. De eerste soort werd beschreven in 1786 door O.F. Müller. In de negentiende eeuw kwam de naamgeving goed op gang. Veel soorten werden beschreven door onderzoekers aan universiteiten (Ehrenberg 1838, Kützing 1844), maar ook door privégeleerden als A. Grunow. Grunow werkte voor diverse Duitse edellieden en trad later in dienst bij een Antwerpse industrieel (Van Heurck 1880-1885). Op zondagmiddag verwonderde hij de gasten met unieke microscopische beelden. In de twintigste eeuw heeft vooral F. Hustedt (1927-1966) zeer veel soorten beschreven. Van der Werff & Huls (1957-1974) maakten veel van de in het buitenland verzamelde taxonomische en ecologische kennis voor Nederland toegankelijk.

De onderzoekers ontdekten snel dat er in allerlei milieus, van droge bodems en kleine regenplasjes tot in de oceanen, verschillende soorten diatomeeën leven. Intussen zijn er uit Nederland ongeveer tweeduizend soorten en variëteiten bekend. Het aantal soorten over de hele wereld schat men op minstens tien keer zoveel (Andersen 1992, Van Dam *et al.* 1994). Mann en Droop (1996) schatten het aantal soorten kiezelwieren in de wereld op 200 000, maar deze auteurs hanteren een zeer eng soortconcept.

Verder lezen

Het boek van Round e.a. (1990) geeft veel informatie over de vorm, biologie en naamgeving van diatomeeën.

9.1.2 Ecologie

Habitatkeuze

De meeste soorten van de centrische diatomeeën (ronde basisvorm) leven in het plankton van het zoute water. Slechts enkele tientallen soorten van deze groep, voornamelijk uit de geslachten *Aulacoseira*, *Cyclotella* en *Stephanodiscus*, komen voor in het plankton van zoete en zwak brakke wateren. In het voorjaar kunnen zij zich massaal ontwikkelen. Deze planktonsoorten zijn soms zwak verkiezeld, waardoor ze minder snel zinken. Zie voor meer informatie [hoofdstuk 7](#).

De pennate soorten (langwerpige basisvorm) komen in alle watertypen voor, zowel in het plankton, als op de bodem, waterplanten en allerlei andere substraten. In het plankton vinden we maar weinig soorten pennate kiezelwieren. Algemeen zijn *Asterionella formosa*, *Diatoma tenuis*, *Fragilaria crotonensis* en *Nitzschia acicularis*. Deze soorten hebben hun zweefvermogen vergroot door een langgerekte celvorm of de vorming van kolonies. Ze komen soms in grote aantallen in planktonmonsters voor.

Verreweg de meeste pennate soorten leven als aangroeijsel op waterplanten en bodemmateriaal. Algen in het aangroeijsel noemen we ook wel perifyton (zie [intermezzo 9.1](#)). Ook enkele centrische soorten, zoals *Melosira varians*, leven vaak in dit milieu. Bij de meeste andere centrische soorten, zoals *Stephanodiscus hantzschii*, is de aanwezigheid op substraat toch meestal het gevolg van sedimentatie uit de waterkolom. Andersom kunnen veel pennate soorten door sterke waterbeweging los raken van hun substraat en dan nog lang in het plankton blijven leven. Dit noemen we dan tychoplankton.

Diatomeeën komen ook voor in tijdelijk droogvallende wateren. Kiezelschaaltjes kunnen goed tegen uitdroging. Wel kan de soortensamenstelling van tijdelijk droogvallende plaatsen sterk verschillen van die van permanente wateren.

INTERMEZZO 9.1

TERMINOLOGIE VAN PERIFYTON

De terminologie van de levensgemeenschap van micro-organismen op het oppervlak van waterplanten en andere min of meer vaste substraten, zoals steen, hout, ijzer en plastic, is nogal verwarrend. Min of meer uitgekristalliseerd is het gebruik van de term 'perifyton'. Een definitie hiervan is: 'Een complexe gemeenschap van microbiota (algen, bacteriën, schimmels, dieren inclusief microscopische vormen en organisch en anorganisch detritus) die is vastgehecht aan anorganische of organische, levende of dode substraten' (enigszins gewijzigd naar Wetzel 1983). Er zijn nauwelijks onderzoeksmethoden om de vastgehechte en vrij bewegende soorten in een dergelijke gemeenschap van elkaar te onderscheiden. Een goed Nederlands woord is 'aangroeijsel', te vergelijken met het Duitse 'Aufwuchs'.

Perifyton

Men kan het perifyton met het blote oog zien als een min of meer slijmerige laag op substraten, al dan niet met draderige uitlopers ([figuur 9.2](#)). Als die laag bruin gekleurd is bestaat hij voor een groot deel uit diatomeeën. In andere gevallen is de laag meer groenig van kleur, door de aanwezigheid van groen- en blauw-wieren. Ook daartussen kunnen dan diatomeeën leven. In schone beken en vennen kan men ook roodwieren in het aangroeijsel vinden, het zogenaamde kikkerdrilwier (*Batrachospermum*). Soms is geen laag aangroeijsel zichtbaar met het blote oog. Onder het microscoop blijken er dan toch nog kiezelwieren op het substraat aanwezig te zijn. De kans is heel klein dat er in een monster van aangroeijsel geen diatomeeën zitten.

Binnen het periphyton onderscheidt men verschillende groepen, naar de aard van het substraat (zie hiervoor [intermezzo 9.2](#)).

Fig 9.2 Rietstengels met aangroei

Foto's: Willem Kolvoort.



In de meeste beoordelingssystemen gebruikt men epifytische diatomeeën. Dit zijn kiezelwieren die leven op het oppervlak van ondergedoken waterplanten. Sommige zijn vastgehecht, andere kunnen zich vrij bewegen over de plantenstengels en bladen.

In de Kaderrichtlijn Water (KRW) wordt de term 'fytobenthos' gebruikt. Dit omvat eigenlijk alle algen die op een substraat leven (letterlijk: de bodem). In de meeste monitoringprogramma's wordt echter alleen naar diatomeeën gekeken. Vaak zijn dat diatomeeën op rietstengels, maar soms ook diatomeeën op stenen en andere harde substraten. Rietstengels zijn een heel goed substraat voor kiezelwieren. Daarom is in binnen- en buitenland veel onderzoek gedaan naar het aangroei van Riet. In dit hoofdstuk wordt dan ook veel aandacht besteed aan het periphyton van Riet. Over het aangroei van andere substraten kan men lezen in [intermezzo 9.2](#).

INTERMEZZO 9.2

ALGEN OP VERSCHILLENDE SUBSTRATEN

Op verschillende natuurlijke substraten (planten, stenen) kan men grotendeels dezelfde soorten kiezelwieren vinden. Alleen de gemeenschap die op zandkorrels te vinden is (het zogenaamde epipsammon) verschilt nogal. Dat komt omdat dit substraat is blootgesteld aan veel schurende krachten. Daarin overleven alleen zeer kleine, stevig vastgehechte soorten (vooral Achnanthaceae).

In en op de bovenste laag van de bodemmodder leven de epipelische diatomeeën. Om te overleven moeten zij zelf kunnen bewegen, door middel van het raphesysteem. Zij kruipen naar boven als ze bedolven dreigen te worden door het sediment en naar beneden in de nacht. Het zijn vaak grotere soorten uit de groep van de Biraphidinae, waaronder *Navicula*, *Nitzschia* en *Pinnularia* (Round 1981, Round *et al.* 1990).

Het aangroei van waterplanten noemt men epifyton. Tussen het aangroei van verschillende soorten waterplanten kunnen verschillen bestaan: op planten met fijn verdeelde bladeren is de biomassa van epifyten hoger dan op planten met minder fijn verdeelde bladeren (Roos 1983). Ook tussen riet en lisdodde kan de hoeveelheid diatomeeën verschillen, terwijl de soortensamenstelling vergelijkbaar is (Soesbergen 1992b).

Enkele belangrijke milieuvariabelen

De soortensamenstelling van kiezelwieren wordt bepaald door een aantal factoren, waarvan de belangrijkste hieronder genoemd worden.

- 1 Het zoutgehalte van het water. Het belang hiervan voor kiezelwieren zag men al in de 19^e eeuw. In de wat sterker brakke wateren (vanaf meer dan 1000 mg/l chloride) is die invloed zo groot, dat de invloed van andere factoren zeer moeilijk te onderkennen is (STOWA 2002).
- 2 De alkaliniteit (bufferend vermogen) van het water. In de meeste wateren is deze nauw gerelateerd aan de zuurgraad (pH) en het elektrisch geleidingsvermogen (een maat voor het totale ionengehalte).
- 3 Voedselrijkdom. Hierbij denken we vooral aan totaal-fosfaat en in mindere mate aan ammonium en totaal-stikstof. Silicium heeft natuurlijk ook een grote betekenis, als bestanddeel van het kiezelskeletje (Fisher *et al.* 2006, Soininen 2007). Voor planktonische diatomeeën is dit uitvoerig onderzocht (zie bijvoorbeeld Reynolds 2006), maar er bestaat weinig informatie over epifytische diatomeeën. Er is wel een lijst met optima van 348 diatomeeëntaxa uit sedimenten (Denys 2006).
- 4 De zuurstofhuishouding, zoals weerspiegeld in het biochemisch zuurstofverbruik (Soininen 2007). In natuurlijke wateren is deze afhankelijk van de voedselrijkdom. Door lozingen van rioolwater of afspoeling van mest verslechtert de zuurstofhuishouding.
- 5 Microverontreinigingen. De gevoeligheid van kiezelwieren voor zware metalen en bestrijdingsmiddelen kan niet alleen tot uiting komen in de soortensamenstelling, maar ook in misvorming van de schaaltes (zogenaamde teratologische vormen; zie Van de Vijver & Beijens 1996, Ivorra i Castellà 2000, Smol 2008, Falasco *et al.* 2009). Daarnaast zijn diatomeeën gevoelig voor de aanwezigheid van organische microverontreinigingen als PCB's en PAK's. Momenteel zijn er nog te weinig gegevens om kiezelwieren te classificeren, zodat ze als indicator voor microverontreinigingen gebruikt kunnen worden (Vos 1989, Guasch *et al.* 1999).
- 6 Begrazing. De soort *Cocconeis placentula* leeft plat aangehecht op het substraat. Daardoor wordt hij niet gemakkelijk weg geograasd door perifyton-etende slakken. Hierdoor treedt *C. placentula* 's zomers heel vaak op de voorgrond, bij de rekolonisatie van rietstengels in (matig) voedselrijke wateren. Andere grazers op het perifyton zijn kokerjuffers en muggenlarven. Deze voeden zich vooral met de grotere soorten uit de tweede en derde laag (Roos 1983).

Andere milieufactoren

Een relatie tussen diatomeeën en fysische en chemische variabelen is de basis van ecologische beoordelingssystemen. Toch tonen statistische analyses dat deze stuurfactoren hoogstens enkele tientallen procenten verklaren van de totale variatie in de datasets. Biotische factoren, zoals begrazing, beschimmeling, allelopathie en aard van het substraat, zijn minstens even belangrijk (Fisher *et al.* 2006). Ook het belang van biogeografische factoren is de laatste jaren steeds duidelijker geworden. Hieronder vallen zowel temperatuurverschillen over een geheel continent, als verschillen in historische ontwikkeling op landelijke schaal (Potapova & Charles 2002, Soininen 2007).

Verder lezen

Wetzel (2001) geeft een zeer uitvoerig overzicht van de ontwikkeling van het periphyton (vooral zijn stofwisseling en productiviteit), in relatie tot substraten. Een klassieke informatiebron is ook Round (1981). Een algemeen overzicht over de invloed van milieuvariabelen op de soortensamenstelling van diatomeeëngemeenschappen kan men vinden in Smol & Stoermer (2010). Ten Cate *et al.* (1993) en Denys (2006) geven voorbeelden voor Nederland en Vlaanderen.

9.1.3 Ruimtelijke variatie en seizoensvariatie**Variatie in bedekking en soortenrijkdom**

Diatomeeën zijn het hele jaar aanwezig, maar meestal zijn de aantallen individuen en soorten het hoogst in het vroege voorjaar (Soesbergen 1990). De bedekking en soortensamenstelling van aangroei- sel veranderen dus met het seizoen. Dit komt door het licht, maar ook door begrazing. Verder varieert het aangroei- sel met de ouderdom van de rietstengel (door kolonisatie en successie); er is een verschil in soortensamenstelling tussen éénjarige en tweejarige rietstengels (Roos *et al.* 1981). Tenslotte ver- schilt het aangroei- sel met de plaats op de rietstengel (hoger of lager ten opzichte van het waterop- pervlak), maar ook met de plaats van de rietstengel zelf (grenzend aan open water, of grenzend aan land).

Kolonisatie en successie

Voorwerpen in het water zijn aanvankelijk onbegroeid; maar na enkele weken is het aangroei- sel meestal al redelijk ontwikkeld. Ook van jonge rietstengels is de bedekking met aangroei- sel in de eerste twee weken nog laag. Daarna neemt de bedekking snel toe (figuur 9.3). De maximale bedekking was in de Grote Maars- seveense Plas al na vijf weken bijna bereikt (Soesbergen 1992a). Diatomeeën waren hier de soortenrijkste groep. Na vijf weken nam het aantal soorten kiezelwieren nog maar weinig toe, maar pas na ongeveer zeven weken was de soortenrijkdom min of meer constant.

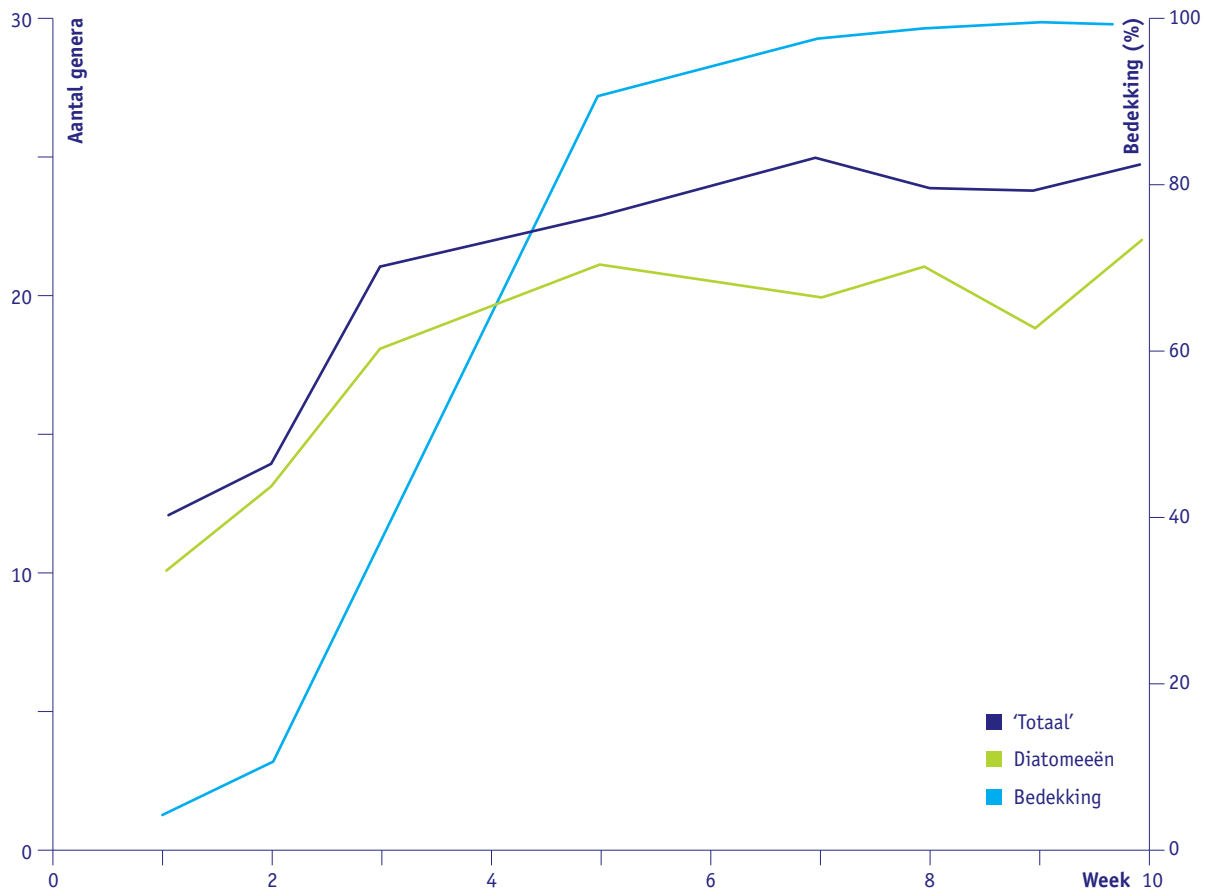
INTERMEZZO 9.3**KOLONISATIE DOOR PERIFYTON**

De ontwikkeling van aangroei- sel op substraten is een geleidelijk proces van meerdere weken. De ruimtelijke structuur van het aangroei- sel wordt hierbij steeds complexer.

Eerst is er een snelle kolonisatie door bacteriën (Soesbergen 1992a). Deze vormen een laag waarop andere or- ganismen zich vestigen. Dit zijn vooral diatomeeën met als eerste vaak de pioniersoort *Achnanthydium minutis- simum*, de algemeenste zoetwaterdiatomee ter wereld. Overal is dit een snelle kolonisor, mits het water niet te zuur is of te weinig zuurstof bevat. *A. minutissimum* zit dicht op de stengel, net als een andere algemene pioniersoort, *Cocconeis placentula*. Tussen zo'n laag van plat aangehechte soorten ontwikkelt zich vervolgens een laag van staande kiezelwieren, zoals *Ulnaria* en diatomeeën op geleisteeltjes, zoals *Gomphonema*. De twee lagen verweven zich tot een dichte mat. Bij de verdere kolonisatie kan na meer dan tien weken nog een derde laag ontstaan. Deze bestaat uit kiezelwieren die lange ketens vormen, zoals *Fragilaria*, *Melosira* en *Tabellaria* en uit groenwieren als *Mougeotia* en *Oedogonium*. In goed ontwikkeld periphyton gaan de diatomeeën ook op elkaar groeien. Op lange geleistelen van *Cymbella lanceolata* kunnen *Achnanthydium* en *Ulnaria* zich vestigen (Roos *et al.* 1981). Door de vorming van zo'n derde laag, die wel twee centimeter dik kan worden, kunnen de diatomeeën in de onderste laag gebrek aan licht krijgen (Meulemans 1987). In deze derde laag kunnen ook gemakkelijk planktondiatomeeën uit het open water worden ingevangen, zoals kleine *Cyclotella*- en *Stephano- discus*-soorten.

Fig 9.3 Aangroeijsel op eerstejaars rietstengels

Aangroeijsel op eerstejaars rietstengels in een kolonisatie-experiment in de Grote Maarsseveense Plas van november 1982 tot januari 1983. Het 'Totaal' omvat behalve de diatomeeën ook de groenwieren en ciliaten. Bron: Soesbergen 1992a.



In de loop van de successie ontwikkelen zich meerdere lagen van organismen op de rietstengel (zie [figuur 9.4](#)). Eerst ontstaat een laag van pioniersoorten. Vaak domineert hierin het kiezelwier *Achnanthes minutissimum*. Vervolgens ontwikkelen zich een tweede en een derde laag van veelal grotere soorten (zie [intermezzo 9.4](#)).

Door deze successie neemt de ruimtelijke verscheidenheid binnen het aangroeijsel toe. Als de gehele laag aangroeijsel te dik wordt, valt deze van de rietstengel af en begint de kolonisatie weer van voren af aan. Dat kan in voedselrijke wateren soms al na zes weken gebeuren, maar in voedselarme wateren duurt dat langer (Rosielle 2008).

Plaats op de rietstengel

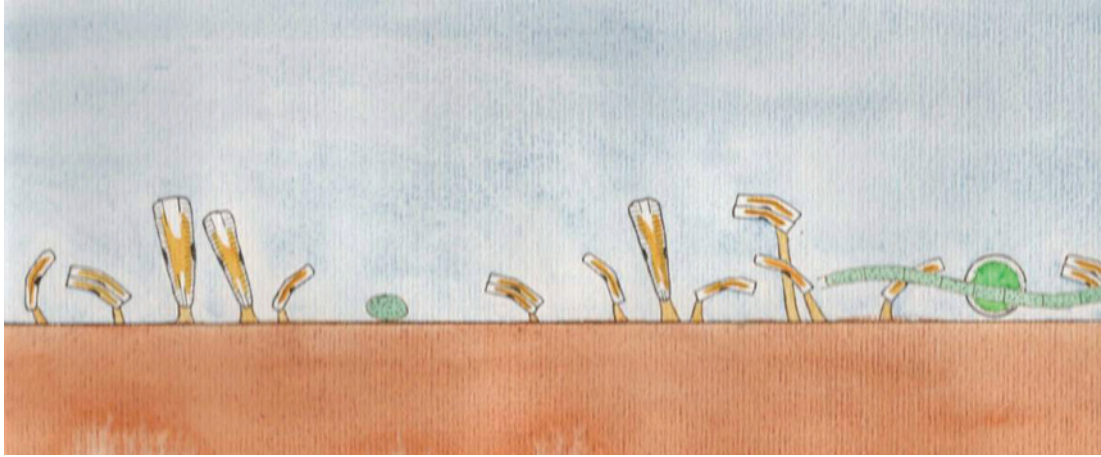
De soortensamenstelling van het aangroeijsel op rietstengels varieert sterk met de positie op de rietstengel. Van belang zijn:

- de diepte onder het wateroppervlak;
- de positie ten opzichte van de oever en het open water.

[Figuur 9.5](#) geeft een indruk van de verticale verdeling van de diatomeeën op rietstengels uit het IJperveld.

Fig 9.4 Vroegere (boven) en latere stadia (onder) in de successie van aangroei

Tekeningen: M. Kelly.



Plaats van de rietstengel

De soortensamenstelling en hoeveelheid van het aangroei op rietstengels verschillen ook met de plaats waar de rietstengel groeit. Van belang zijn:

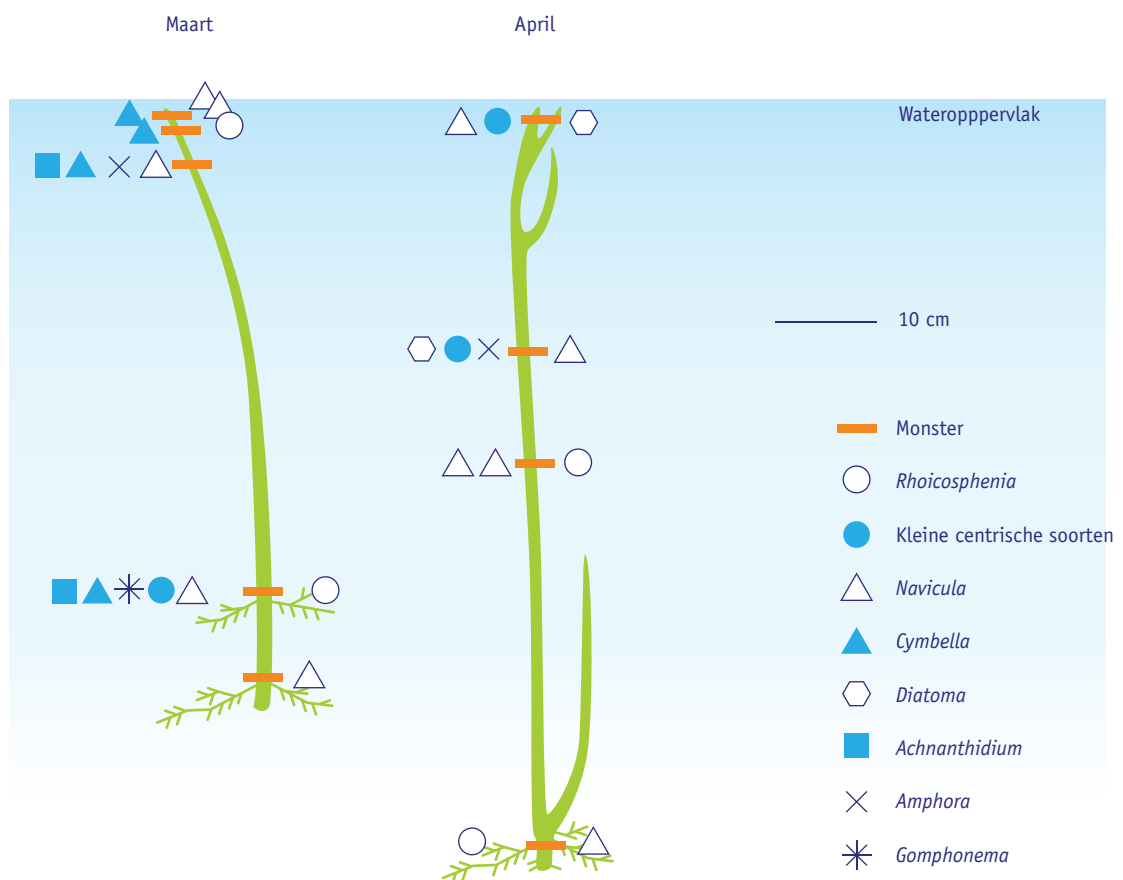
- de positie van de stengel in de rietkraag (ofwel: de afstand tussen de stengel en het open water; Roos *et al.* 1981);
- de positie van de rietkraag ten opzichte van de overheersende windrichting.

Op verschillende plekken in hetzelfde water zal de soortensamenstelling van diatomeeën dus niet precies gelijk zijn. Voor zover bekend is dit ruimtelijk verschil beperkt en kleiner dan de verschillen in de tijd. In

de Maarsseveense Plas bleek een grote overeenkomst in soortensamenstelling tussen rietstengels langs de noordoost- en de zuidwestoever (overeenkomst 67% in februari en 89% in mei; Roos 1983). In de Vecht bleek het verschil in soortensamenstelling tussen zeventien locaties kleiner te zijn dan de seizoensvariatie op de locaties afzonderlijk (Janmaat *et al.* 1993).

Fig 9.5 Verticale zonering van diatomeeën op rietstengels uit het Ilperveld

De geslachten aan de linkerkant van de stengels zijn abundantier dan die aan de rechterkant. Kleine centrische soorten zijn Cyclotella en/of Stephanodiscus. Bron: Klaassens 1977.



9.1.4 Soortenrijkdom en diversiteit

Soortenrijkdom

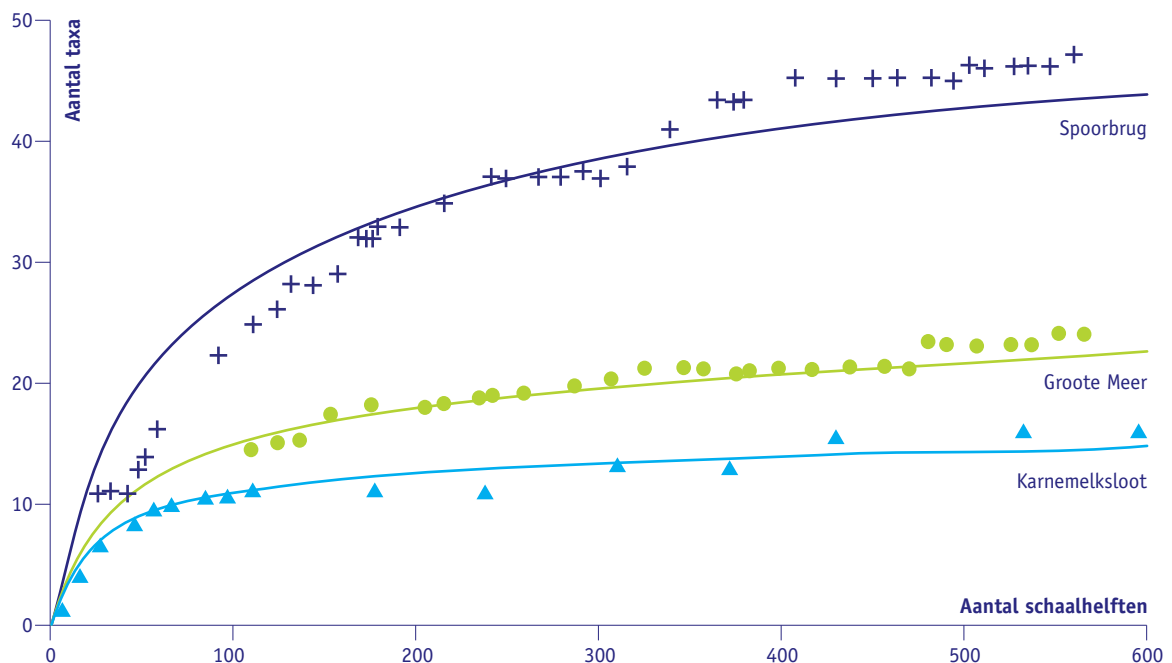
In de meeste monsters uit het Nederlandse oppervlaktewater komen in een telling van tweehonderd schaaltes enkele tientallen soorten kiezelwieren voor. Ons maximum is een monster van de Strijper Aa bij Leende uit 1982. In het preparaat hiervan vonden we in totaal 149 taxa. Hiervan kwamen we 47 tegen in een telling van tweehonderd exemplaren en zestig in een telling van vierhonderd exemplaren; 89 taxa kwamen dus alleen buiten de tellingen voor. Het minimum vormen diverse monsters uit sterk verzuurde vennen met maar één soort in de tellingen en ten hoogste nog een paar erbuiten.

Een preparaat is slechts een klein deel van het monster. Ga er daarom vanuit dat één preparaat nooit de volledige soortenrijkdom van een monster zal prijsgeven, laat staan de soortenrijkdom in een bepaald gebied. Bij de gebruikelijke tellingen van tweehonderd (tot vierhonderd) schaaltes wordt een redelijk goed kwantitatief beeld verkregen van over het algemeen de kleinere diatomeeën (< 50 µm). De grote soorten worden meer toevallig aangetroffen. Het is alsof in een bos alleen de algemeen voorkomende kruiden goed worden bekeken en de zeldzamere kruiden en de boomlaag buiten schot blijven. Voor het berekenen van kwaliteitsindices en het toepassen van multivariate analysetechnieken is dit echter geen bezwaar.

Het aantal soorten dat men vindt in een preparaat hangt sterk af van het aantal schaaltes dat men telt. Dit kan men zien in [figuur 9.6](#). In haast elk preparaat is er een klein aantal soorten dat in grotere hoeveelheden voorkomt en een groot aantal soorten met weinig individuen. De verdeling van het aantal schaaltes over de soorten komt het beste overeen met een log-series verdeling, zoals in de figuur getekend. Deze verdeling wordt vooral bepaald door het voorkomen van een beperkt aantal soorten met hoge abundantie (Van Dam 1982).

Fig 9.6 Relatie tussen de soortenrijkdom en het aantal getelde schaaltes van diatomeeën

Relatie tussen de soortenrijkdom en het aantal getelde schaaltes van diatomeeën op rietstengels uit het Naardermeer. De trendlijnen zijn logaritmische curven. Bron: Van Dam 1973.



Diversiteitsmaten

Vaak wordt de diversiteit van een monster uitgedrukt in een getal, bijvoorbeeld de diversiteitsindex van Shannon en Weaver (1949). Als maat voor de waterkwaliteit is de diversiteitsindex niet goed bruikbaar. Zowel in extreem schone als extreem vuile wateren kan de diversiteit van kiezelwieren laag zijn. Een hoge diversiteit kan duiden op onverstoorde, maar ook op matig verstoorde omstandigheden (Connell 1978, Van Dam 1982). In [intermezzo 9.4](#) kan men meer lezen over diversiteitsmaten.

INTERMEZZO 9.4 DIVERSITEITSMATEN

Het begrip diversiteit slaat niet alleen op het aantal soorten, maar ook op de relatieve abundanties van de soorten. Ook als is de soortenrijkdom hoog, als één soort de andere sterk overheerst is de diversiteit toch laag.

Het dominantiepercentage (D, de hoeveelheid van de meest voorkomende soort) is een dan ook een goede maat voor de diversiteit of verscheidenheid (Berger & Parker 1970, Van Dam 1982, Magurran 2004). Hoe lager het dominantiepercentage, hoe groter de diversiteit. Het kwadraat van het dominantiepercentage is de kans dat twee uit de populatie getrokken individuen tot de meest voorkomende soort behoren: hoe kleiner deze kans, hoe groter de diversiteit (Simpson 1949).

Een tweede aspect van de diversiteit is het aantal soorten (S). Dat is bij routinematig onderzoek moeilijk te bepalen, omdat het afhangt van het getelde aantal exemplaren (figuur 2). De bekende index H van Shannon & Weaver (1949) houdt wel rekening met dit aspect ($H = -\sum p_i \times \ln p_i$, waarin p_i de relatieve hoeveelheid van de i-de soort is). H is in de praktijk zodanig sterk met het dominantiepercentage gecorreleerd dat deze geen meerwaarde heeft (Van Dam 1982).

(Sub)fossiele schaaltsjes

Na sterfte van de cel kunnen de lege kiezelschaaltsjes in gunstige omstandigheden nog heel lang bewaard blijven. Dan kan men schaaltsjes van diatomeeën vinden in aardlagen en sedimenten die miljoenen jaren oud zijn. Ook in monsters kan men dus schaaltsjes vinden van diatomeeën die korter of langer geleden gestorven zijn. In sommige gevallen gaat het om soorten die al lang niet meer in het watertype thuishoren. Een mooi voorbeeld zijn de vondsten van brakwatersoorten in de zoete wateren van West-Nederland, die vroeger brak waren.

In een diatomeeënpreparaat, waarin de celinhoud is geoxideerd, kan men de soorten wel goed determineren, maar kan men de recente en fossiele soorten vaak niet van elkaar onderscheiden. Soms kan men dit wel, wanneer er van bepaalde soorten buitensporig veel gebroken of gedeeltelijk verweerde schaaltsjes aanwezig zijn. Bij de ecologische interpretatie van dergelijke monsters moet men daarom altijd rekening houden met een onbekende, grotere of kleinere historische contaminatie³ op verschillende tijdschalen (van enkele weken of maanden tot eeuwen). Onze indruk is dat het met deze historische contaminatie meestal nogal meevalt. Dit komt omdat de meeste ecologische beoordelingssystemen vooral gebruik maken van de soorten die in grotere hoeveelheden aanwezig zijn.

Schaaltsjes van elders

Naast lege schaaltsjes van kiezelwieren die vroeger ter plekke geleefd hebben, kunnen ook soorten van elders ingevangen worden in de dradenwirwar van het perifyton. Dit is gemakkelijk te constateren als er kleine, planktonische, centrische diatomeeën als *Stephanodiscus* en sommige *Cyclotella*-soorten in het preparaat zitten. In stromende wateren kan er contaminatie zijn met ingespoelde soorten uit de bovenloop. Dat is moeilijk te onderkennen, behalve als het om alpine soorten gaat die soms in de grote rivieren worden aangetroffen, zoals *Surirella spiralis*.

³ Hierbij bedoelen we 'verontreiniging' met soorten die vroeger leefden en allang dood waren op het moment van bemonstering of met soorten van elders.

9.1.5 Verspreiding in Nederland

In de Eco-atlas van waterorganismen staan verspreidingskaartjes van 250 algemene soorten diatomeeën uit sloten, kanalen en diepe plassen (Knoben & Peeters 1997). De meeste gegevens kwamen toen nog uit West-Nederland. Deze atlas is opgevolgd door de bestanden in Limnodata. Hierin zijn de resultaten te vinden van vrijwel alle recente diatomeeënanalyses, die in opdracht van de waterbeheerders zijn uitgevoerd. Er zijn gemakkelijk verspreidingskaartjes mee te maken. Omdat de naamgeving in deze bestanden niet eenduidig is, is het echter niet eenvoudig om alle gegevens van een willekeurige soort bij elkaar te krijgen.

9.1.6 Kiezelwiercombinaties

Elke soort reageert iets anders op milieufactoren. Toch kunnen we groepen van soorten onderscheiden, die veel in elkaars nabijheid gevonden worden in overeenkomstige wateren. Deze groepen noemen we soortencombinaties.

Als voorbeeld geven we de soortensamenstelling van dertien aangroeiemonsters uit enkele typisch Nederlandse zoete wateren (tabel 9.1). De monsters zijn van links naar rechts zo goed mogelijk gerangschikt naar de alkaliniteitsgradiënt: van een hoge alkaliniteit in een kleikanaal als de Harlingervaart, naar lage waarden in vennen en beken in het zandgebied. Daarnaast varieert de mate van menselijke beïnvloeding op de watersamenstelling. In de sloten en kanalen is deze uiteraard zeer sterk en in de Tongerense Beek is deze het laagst. Deze beek wordt namelijk beïnvloed door diep opkwellend grondwater van de Veluwe. De soorten zijn in tien verschillende ecologische groepen ingedeeld. Deze groepen zijn van boven naar beneden gerangschikt naar afnemende optima voor de hardheid en mate van vervuiling (saprobiëring en eutrofiëring).

In de voet van tabel 9.1 zijn nog gegevens vermeld over het aantal getelde schaalpjes en gevonden soorten. Het aantal gevonden soorten is niet goed vergelijkbaar tussen de monsters, omdat niet in alle monsters evenveel schaalpjes zijn geteld. Niettemin is duidelijk dat het aantal soorten in de verzuurde Gerritsfles zeer laag is en in het Naardermeer erg hoog. De soortenrijkdom in de beide beekmonsters is vergelijkbaar met het Naardermeer, maar het dominantiepercentage opvallend laag.

Voedselrijke plassen en sloten

De meeste soorten in deze wateren zijn gebonden aan de aanwezigheid van rietstengels of ander plantenmateriaal. In het perifyton van het Eemmeer komt ook een typische planktonsoort als *Aulacoseira granulata* voor. Deze wordt hier ingevangen tussen de draadwieren die zich ontwikkeld hebben op de rietstengels. In dit monster bevindt zich ook veel *Cocconeis placentula*, die vanaf de zomer op veel draadwieren is te vinden. De soort heeft verder een brede tolerantie voor allerlei milieuv variabelen en is daardoor niet heel erg geschikt als indicator.

In sloten, zoals die in Rotterdam, is het gehalte aan organisch afbreekbaar materiaal vaak hoog, waardoor de zuurstofconcentraties laag zijn. Er ontwikkelt zich dan een kenmerkende gemeenschap met soorten die aan deze omstandigheden zijn aangepast.

In het Naardermeer zijn in de jaren negentig van de twintigste eeuw veel maatregelen genomen om de waterkwaliteit te verbeteren. Er is gebaggerd en het inlaatwater wordt gedefosfateerd. Daardoor zijn bijzondere soorten uit zeer zuurstofrijke en soms zelfs matig gebufferde wateren weer teruggekeerd, zoals *Nitzschia lacuum* en *Brachysira neoexilis*; beide soorten werden hier ook in het begin van de vorige eeuw gevonden (Boosten 2006).

Vennen

De verandering in sommige vennen is spectaculair. Het Beuven in Zuidoost-Brabant, werd tot in de jaren tachtig verontreinigd door een beek, die vanuit het landbouwgebied door het ven stroomde. In het mineraal- en nutriëntrijke water van de soms droogvallende oevers, kon zich hier zelfs een brakwatersoort als *Fragilaria sopotensis* tot bloei komen. Na omleiding van de beek, verwijdering van de sliblaag en gecontroleerde toevoer van gebufferd oppervlaktewater, ontwikkelde zich hier weer een fraaie gemeenschap van soorten uit zwak tot matig gebufferde wateren, zoals dat ook in de vroege twintigste eeuw het geval was.

De Gerritsfles op de Veluwe wordt uitsluitend door regenwater gevoed. De verzuring van het regenwater bereikte rond 1980 een hoogtepunt. In die tijd bestond 99% van de diatomeeën uit de verzuringsindicator *Eunotia exigua*. Sindsdien is de depositie van sulfaat en stikstof met respectievelijk 75 en 35% afgenomen. Bovendien is de afbraak hiervan in het ven versneld door de gestegen jaartemperatuur. Hierdoor is de intensiteit van de verzuring zeer sterk verminderd. In 2006 werd *E. exigua* niet meer in het monster van de Gerritsfles aangetroffen (Van Dam & Mertens 2008).

Beken en sprengen

De diatomeeën uit de bovenlopen van de Veluwse sprengbecken, zoals de Tongerense Beek bij Epe, zijn voor Nederland zeer bijzonder. *Diatoma mesodon* is een van de weinige kiezelwieren die echt gebonden is aan stromende wateren. Elders in Europa is deze soort nog algemeen. Daarentegen zijn *Aulacoseira alpigena* en *A. crenulata* ook in de rest van Europa zeldzaam. Ze komen vooral in Noord-Europa en in berggebieden voor. Ze leven op de bodem van voedselarme, niet te zure sprengen met een zeer constante afvoer en temperatuur, zoals die op de Veluwe.

De diatomeeën uit de Drentse Aa wijzen op sterk voedselrijke omstandigheden. *Navicula slesvicensis* komt hier vrij veel voor. Het is een brakwatersoort, die ook veel gevonden wordt in de oeverzones van wateren met een sterk wisselende waterstand (droogval zorgt ook voor verhoging van de osmotische druk). In monsters van Drentse beken uit de dertiger jaren, toen de waterstand daar veel meer fluctueerde dan tegenwoordig, was deze soort daar nog veel algemener.

9.2 TOEPASSING

9.2.1 Inleiding

Geschikt als indicator

Diatomeeën hebben een aantal eigenschappen, die ze erg geschikt maken voor de biologische waterbeoordeling:

- kiezelwieren zijn in alle watertypen aanwezig;
- kiezelwieren zijn indicatief voor veel verschillende milieuvariabelen, zoals zoutgehalte, pH, waterdiepte, nutriëntenconcentraties, gehalte afbreekbaar organisch materiaal en zuurstofgehalte;
- kiezelwieren zijn meestal goed te determineren; bijna alle soorten uit zoetwatermonsters kunnen op naam worden gebracht;
- de preparaten van kiezelschaaltjes bederven niet en zijn blijvende referenties;
- kiezelwieren kunnen snel en eenvoudig bemonsterd worden.

De meeste Nederlandse wateren zijn sterk door de mens beïnvloed en hebben te lijden onder verdroging, verzuring, vermisting of verontreiniging met afbreekbaar organisch materiaal. Voor al deze factoren zijn diatomeeën in meerdere of mindere mate geschikt als indicator. Een mooi overzicht van de toepassingsmogelijkheden van diatomeeën als indicator kan men vinden in het boek Smol & Stoermer (2010).

Tabel 9.1 Variaties in diatomeeëncombinaties in Nederland

Procentuele hoeveelheden van diatomeeën in monsters uit enkele geselecteerde wateren. Er zijn alleen soorten vermeld met een hoeveelheid van minstens 2% in een van de monsters; 0 = hoeveelheid < 0,5%.

	Kanaal		Sloot		Meer			Ven				Beek	
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1. Taxa van voedselrijke, harde tot brakke wateren													
Navicula lanceolata	35												
Navicula margalithii	29												
Diatoma problematica	3												
Navicula vandamii var. mertensiae			2										
Amphora pediculus	2				3	3	0						
Gomphonema olivaceum	1					10	0						
Navicula tripunctata					12	16							
Cocconeis pediculus					3		1					1	
Fragilaria sopotensis							4	65				3	
Amphora copulata	1					0						4	
Navicula slesvicensis			1									10	
2. Taxa van wateren met belasting van organisch afbreekbaar materiaal													
Gomphonema parvulum f. saprophilum		1	13										
Nitzschia amphibia			3										
Nitzschia palea	0		28			0		1				1	1
Gomphonema parvulum		2	40	1		1	1	0				2	1
Nitzschia paleacea			3			0		1					
Navicula gregaria	2		2		1	1						14	
3. Taxa van voedselrijke wateren													
Ulnaria ulna	0	21	3			1							
Ulnaria acus		7				3							
Rhoicosphenia abbreviata	12	2	1		8	3	2	1					
Navicula veneta	0		2	3			0						
Cocconeis placentula (met var.'s)	6		56		55	28	5	5				3	
Aulacoseira granulata					5								
Diatoma vulgaris					5								
Fragilaria vaucheriae		9	6		5	2		1				2	2
Nitzschia dissipata	1				1	1	2					1	
Fragilaria capucina			1			4							
Navicula exilis						2							
Fragilaria famelica		1	3				3					1	
Navicula cryptotenelloides					2		7						
Nitzschia fonticola						2							1
Staurosirella pinnata							2					1	
Fragilaria capucina ssp. rumpens							9					3	
Nitzschia gracilis						1			3				
Navicula cryptocephala			2					1				6	
Planothidium lanceolatum				3						0		4	3
Hippodonta capitata	0		1	2		0						9	
Navicula rhynchocephala								0				3	
Staurosira construens var. venter								3				6	10
Ulnaria biceps												2	
Planothidium frequentissimum var. magnum												4	
Melosira varians												4	
4. Ubiquist													
Achnantheidium minutissimum		24		14		7	41		2	0		6	7

TOELICHTING

- A** Klei, Harlingervaart, april 2000
B Veen, Akkerwoudstervaart, april 1995
C Polysaproob, Rotterdam Pendrecht, mei 2002
D β -mesosaproob, Boornbergum, maart 1997
E Gebufferd, Eemmeer, sterk geëutrofeerd, juli 2002
F Gebufferd, Naardermeer, geëutrofeerd, maart 1988
G Gebufferd, Naardermeer, hersteld, april 2001
H Matig gebufferd, Beuven, geëutrofeerd, juni 1983
I Matig gebufferd, Beuven, hersteld, oktober 2007
J Ongebufferd, Gerritsfles, verzuurd, mei 1980
K Ongebufferd, Gerritsfles, bijgetrokken, mei 2006
L Benedenloop Drentse Aa, geëutrofeerd, mei 2004
M Bovenloop Tongerense Beek, schoon, november 1990

	Kanaal		Sloot		Meer			Ven				Beek	
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
5. Taxa van (zwak) gebufferde, zeer zuurstofrijke wateren													
Nitzschia lacuum							2						
Brachysira neoexilis							2	16					
6. Taxa van zwak tot matig gebufferde wateren													
Fragilaria capucina var. gracilis	33						3						
Encyonopsis cesatii							2						
Stausosira construens var. exigua								11	6				
Brachysira procera									55		1		
Tabellaria flocculosa								0	6		16		
Psammothidium helveticum													4
Fragilariforma virescens													6
7. Taxa uit van verzuring herstellende wateren													
Navicula mediocris									2				
Eunotia naegelii											9		
Eunotia nymanniana											2		
8. Taxa van zure, meestal ook voedselarme, wateren													
Frustulia crassinervia									2		1		
Eunotia rhomboidea								1	5		5		
Eunotia incisa											16		
Tabellaria quadrisepata											47		
Eunotia pectinalis												2	
Pinnularia perirrorata													3
Eunotia minor								1					7
Eunotia subarcuatoidea													9
9. Taxa van (stromende), zeer zuurstofrijke, (matig) voedselarme wateren													
Diatoma mesodon													3
Aulacoseira crenulata													13
Aulacoseira alpigena													20
10. Verzuringsindicator													
Eunotia exigua								1		99			1
Statistieken													
Geteld aantal schaalpjes	233	200	200	194	200	392	435	400	400	400	400	200	200
Dominantiepercentage	35	33	40	56	55	28	41	65	55	99	47	14	20
Aantal taxa in telling	26	13	17	19	21	42	44	30	15	4	14	42	36
Aantal taxa in deze tabel	14	9	9	13	10	19	20	15	9	1	8	23	15
Abundantie taxa in deze tabel (%)	93	97	94	93	92	88	90	92	95	99	96	87	86
Bron	1	1	2	1	3	4	4	2	2	5	5	6	7

BRONNEN

- 1 Van Dam & Wanink (2007)
2 Grontmij | AquaSense (ongepubl.)
3 AquaSense (2002)
4 Boosten (2006)
5 Van Dam & Mertens (2008)
6 AquaSense (2005)
7 Van Dam et al. (1993)

Historische referentie

De verkieselde schaaltes van diatomeeën blijven goed bewaard in het sediment van veel stilstaande wateren⁴. Dit is belangrijk historisch referentiemateriaal, dat gebruikt kan worden voor het opstellen van streefbeeld, het onderzoeken van milieuveranderingen, of het beschrijven van vroegere toestanden. De geoloog Harting (1852) gebruikte de fossiele diatomeeën al voor het onderscheiden van mariene, brakke, en zoetwatersedimenten onder Amsterdam.

Een bijzondere bron van historische informatie vormt herbariummateriaal van water- en oeverplanten. Ook op deze gedroogde planten zitten nog kiezelwieren die ons kunnen vertellen wat de waterkwaliteit was in de tijd dat de plant groeide.

Kwantificering

Alle hieronder besproken beoordelingssystemen maken gebruik van de relatieve abundanties (procentuele hoeveelheden) van de taxa. Het bepalen van de absolute abundantie (aantal cellen per eenheid van oppervlakte) is niet altijd mogelijk en indien wel mogelijk, niet kosteneffectief.

9.2.2 Ecologische beoordeling voor de KRW

Voor de Europese Kaderrichtlijn Water (KRW) moet de ecologische toestand van oppervlaktewater worden beoordeeld. Hiertoe zijn maatlatten ontwikkeld voor een aantal biologische groepen. Kiezelwieren spelen momenteel alleen een rol in maatlatten voor stromende wateren en ongebufferde plassen (vennen). Voor andere plassen en meren kon met de weinige beschikbare gegevens geen goede maatlat ontwikkeld worden (Evers *et al.* 2005). Daarom is het fytobenthos niet opgenomen in de ecologische beoordeling van deze meertypen (Van der Molen & Pot 2007a en b). Wel raadt men aan om het fytobenthos te blijven monitoren, zodat over enige tijd wel een goede maatlat gemaakt kan worden.

Maatlat stromende wateren

Voor de stromende wateren van de typen R1 tot en met R18 is een maatlat gemaakt, die gebaseerd is op de Franse 'Indice de Polluosensitivité Spécifique' (CEMAGREF 1982, Van Dam 2007, Van Dam *et al.* 2007). Deze IPS is een van de meest gebruikte indices in Europese stromende wateren, vooral om de volgende drie redenen:

- 1 de IPS is sterk gecorreleerd met eutrofiëring, organische vervuiling en ionenrijkdom (chloride, sulfaat, geleidbaarheid);
- 2 van bijna alle zoetwatertaxa zijn indicatiewaarden bekend;
- 3 de IPS heeft een goed onderscheidend vermogen, vooral in wateren die van nature eutroof zijn.

Voor de berekening van de IPS is er een lijst met taxa⁵ beschikbaar via de site van de Hydrotheek (zoeken op Van Dam 2007) en in Van der Molen en Pot (2007a: bijlage 7, tabel A). Aan elke soort zijn twee getallen toegekend:

- 1 een getal voor de gevoeligheid (s);
- 2 een getal voor de indicatiewaarde (v).

De gevoeligheid (s) kan elke waarde tussen 1 en 5 hebben en is te vergelijken met de saprobiegetallen uit oudere systemen (o.a. Sládeček 1973). De indicatiewaarde is een gewichtsgetal met de waarden 1, 2 of 3. Soorten met een indicatiewaarde 3 hebben een nauwe ecologische amplitude en tellen daarom zwaarder mee dan soorten met een lagere indicatiewaarde.

⁴ In sterk alkalische wateren lossen de kiezelschaaltjes op den duur soms op.

⁵ Deze lijst was op het moment van schrijven nog niet aangepast aan de TWN-naamgeving.

De originele IPS_o is een getal tussen 1 en 5. Dit getal wordt berekend als een gewogen gemiddelde met de formule:

$$IPS_o = \frac{\sum_{i=1}^n a_i \times s_i \times v_i}{\sum_{i=1}^n a_i \times v_i}$$

Hierin zijn a_i , s_i en v_i respectievelijk de relatieve abundantie, de gevoeligheid en de indicatiewaarde van de i -de soort en is n het aantal soorten waarvan de gevoeligheden en indicatiewaarden bekend zijn. De berekening wordt toegelicht in de volgende paragraaf.

Vervolgens berekent men de definitieve IPS om een getal tussen 0 en 20 te krijgen. Dit maakt de IPS vergelijkbaar met andere indices. Om de IPS te berekenen gebruikt men de volgende formule van Eloranta & Kwadrans (1996):

$$IPS = 4,75 \times IPS_o - 3,75$$

De EKR is een getal tussen 0 en 1. Deze berekent men uit de IPS via lineaire interpolatie (Van den Berg 2004). Hierbij gebruikt men de klassengrenzen uit [tabel 9.2](#).

Tabel 9.2 Klassengrenzen voor de IPS en de EKR in de maatlat voor stromende wateren

Bron: Van Dam (2007).

KWALITEIT	IPS	EKR
Zeer goed	$17 \leq IPS \leq 20$	$0,8 \leq EKR \leq 1$
Goed	$13 \leq IPS < 17$	$0,6 \leq EKR < 0,8$
Matig	$9 \leq IPS < 13$	$0,4 \leq EKR < 0,6$
Ontoereikend	$5 \leq IPS < 9$	$0,2 \leq EKR < 0,4$
Slecht	$IPS < 5$	$EKR < 0,2$

[Tabel 9.3](#) geeft een voorbeeld van de berekening. De gehele berekening kan men geautomatiseerd uitvoeren met het programma QBWat vanaf versie 4.21. De IPS alleen kan men ook laten berekenen met behulp van de Omnidia-software (Lecointe *et al.* 1993).

De met deze maatlat berekende EKR vertoont een goed verband met het gehalte van nutriënten (Van Dam 2007).

Tabel 9.3 Berekening van de IPS en EKR voor een monster uit de Maas bij Belfeld

Monsterdatum: 6 september 2002. Bron: Rijkswaterstaat, niet gepubliceerd.

S_i	V_i	TAXON	A_i	$A_i \times S_i \times V_i$	$A_i \times V_i$
4,0	2	Amphora copulata	1,5	12,0	3,0
4,0	2	Cocconeis pediculus	0,5	4,0	1,0
4,0	1	Cocconeis placentula	0,5	2,0	0,5
2,0	1	Cyclotella meneghiniana	0,5	1,0	0,5
4,0	1	Diatoma vulgare	16,5	66,0	16,5
2,2	1	Eolimna minima	0,5	1,1	0,5
3,0	1	Fragilaria capucina var. capucina	0,5	1,5	0,5
2,0	3	Fragilaria tabulata	0,5	3,0	1,5
3,4	1	Fragilaria vaucheriae	13,5	45,9	13,5
5,0	1	Gomphonema angustum	0,5	2,5	0,5
4,0	1	Gomphonema minutum	2,5	10,0	2,5
4,6	1	Gomphonema olivaceum	3,5	16,1	3,5
2,0	1	Gomphonema parvulum	2,0	4,0	2,0
4,0	1	Gomphonema truncatum	1,0	4,0	1,0
5,0	2	Karayevia ploenensis	1,0	10,0	2,0
4,0	1	Melosira varians	16,5	66,0	16,5
3,0	2	Navicula capitatoradiata	0,5	3,0	1,0
4,0	1	Navicula cryptotenella	3,0	12,0	3,0
3,6	1	Navicula reichardtiana	0,5	1,8	0,5
4,4	2	Navicula tripunctata	4,0	35,2	8,0
2,0	2	Nitzschia amphibia	2,0	8,0	4,0
3,4	1	Planothidium frequentissimum	0,5	1,7	0,5
3,0	1	Pseudostaurosira subsalina	0,5	1,5	0,5
4,0	1	Rhoicosphenia abbreviata	16,0	64,0	16,0
4,0	1	Staurosira construens var. venter	0,5	2,0	0,5
3,0	1	Ulnaria ulna	11,0	33,0	11,0
		Som	100,0	411,3	110,5
		IPS₀	$411,3 / 110,5 = 3,72$		
		IPS	$4,75 \times 3,72 - 3,75 = 13,93$		
		EKR	$0,6 + 0,2 \times (13,93 - 13) / (17 - 13) = 0,65$		

Maatlat voor vennen

Voor vennen was al eerder een maatlat ontwikkeld (Van Dam & Arts 1993, Arts *et al.* 2002). Deze maatlat is aangepast voor de KRW-beoordeling van de niet tot zwak gebufferde plassen en meren, zowel de ondiepe als de diepe (M12, M13, M17, M18 en M26). De maatlat maakt onderscheid tussen drie groepen indicatoren:

- 1 positieve indicatoren (P);
- 2 negatieve indicatoren voor verzuring (Z);
- 3 negatieve indicatoren voor verstoring en eutrofiëring (N).

Van der Molen en Pot (2007a: bijlage 7, tabel B) geven een overzicht van de indicatorsoorten. Hieruit men kan afleiden tot welke groep een bepaald soort kiezelwier hoort⁶. Soorten die niet in deze lijst voorkomen zijn triviale soorten uit zure wateren, of soorten waarvan we de indicatorwaarde nog niet weten.

Per groep telt men de procentuele abundanties van de indicatorsoorten in het monster op. Vervolgens kent men punten toe aan dit totaal per indicatorgroep, volgens het schema van [tabel 9.4](#).

Tabel 9.4 Puntentelling voor het aandeel van indicatorgroepen van diatomeeën uit vennen

Bron: Arts et al. (2002).

Percentages van het totaal aantal getelde exemplaren			
PUNTEN	VERZURINGSINDICATOREN	TROFIE- + STORINGSINDICATOREN	DOELSOORTEN
1	<1	<1	60-100
2	1-5	1-3	30-60
3	5-10	3-20	5-30
4	10-40	20-50	1-5
5	40-100	50-100	<1

De score berekent men door het totale aantal punten te middelen, het resultaat te delen door vijf en af te trekken van 1:

$$\text{score} = 1 - ((\text{punten P} + \text{punten Z} + \text{punten N})/3) / 5$$

Om de EKR te bepalen corrigeert men deze score om een getal tussen 0 en 1 te krijgen. De correctie is afhankelijk van de grootte van de score en gaat als volgt:

- als de score groter is dan 0,7: ophoging met het verschil tussen de waarde van de score en 0,7, daarna ophoging met 0,1:

$$\text{EKR} = \text{score} + (\text{score} - 0,7) + 0,1$$

⁶ Bij het schrijven van dit hoofdstuk was ons net duidelijk georden, dat onder de positieve indicatoren (P: de doelsoorten in Van Dam & Arts 1993), nog enkele soorten zitten die eigenlijk behoren tot de groep negatieve indicatoren voor eutrofiëring (N). Deze soorten zijn namelijk karakteristiek voor een verhoogde beschikbaarheid van fosfaten in van verzuring herstellende vennen (groep 7 uit tabel 9.1). De lijst moet daarvoor nog gecorrigeerd worden.

- als de score kleiner is dan 0,1: vermindering met het verschil tussen 0,1 en de waarde van de score, daarna ophoging met 0,1:

$$\text{EKR} = \text{score} - (0,1 - \text{score}) + 0,1$$

- als de score groter is dan 0,1 maar kleiner dan of gelijk aan 0,7 ophoging met 0,1:

$$\text{EKR} = \text{score} + 0,1$$

Tabel 9.5 geeft een voorbeeld van de berekening. De gehele berekening kan worden uitgevoerd met het programma QBWat vanaf versie 4.11.

Tabel 9.5 Berekening van de EKR voor een monster uit het Koopmansveentje

P = positieve indicator, Z = negatieve indicator voor verzuring, N = negatieve indicator voor eutrofiëring, - = triviale soort of indicatiewaarde onbekend. *Monsterdatum: 10 mei 2005. Bron: Koeman en Bijkerk.*

GROEP	TAXON	% SCHAALTJES
P	Achnanthydium minutissimum	0,4
-	Eunotia bilunaris	42,0
N	Eunotia naegeli ¹	16,3
-	Eunotia paludosa	3,0
-	Frustulia saxonica	37,1
-	Pinnularia silvatica	0,8
P	Tabellaria flocculosa	0,4
Som totaal		100,0
<hr/>		
Som P		0,8
Som Z		0,0
Som N		16,3
Som -		83,0
<hr/>		
Aantal punten voor P		5
Aantal punten voor Z		1
Aantal punten voor N		3
Score	$1 - ((5 + 1 + 3) / 3) / 5$	0,40
EKR	$0,40 + 0,1$	0,50

¹ E. naegeli was ooit positieve indicator, maar wordt sinds kort als negatieve indicator gezien.

9.2.3 Ecologische beoordeling volgens EBeo

In vijf van de zeven EBeo-systemen spelen kiezelwieren een rol als maat voor de karakteristieke brakarakter (zoutgehalte), zuurkarakter, trofie- en saprobiegraad (STOWA 2006; zie tabel 9.6). Alleen in de systemen voor ondiepe meren en stromende wateren zijn de diatomeeën niet opgenomen. Dit komt omdat er destijds onvoldoende gegevens beschikbaar waren⁷.

Tabel 9.6 Het gebruik van diatomeeën in de EBEO-systemen

De getallen bij de karakteristieken geven het aantal niveaus van indicatortaxa aan. VEK = variant-eigen-karakter, R = riet, S = stenen, O = objectglaasjes. Bron: STOWA 2006.

EIGENSCHAP	SLOTEN	KANALEN	DIEPE PLASSEN	STADS- WATEREN	BRAKKE BINNENWATEREN
JAAR VAN EERSTE PUBLICATIE	1993	1994	1994	2001	2002
AANTAL TAXA					
Centrales	2	0	0	30	47
Pennales	291	184	163	303	340
KARAKTERISTIEK					
zoutgehalte					7
brakarakter	2	2	3		
trofie	2		3	6	
saprobie	3	3	3	5	
zuurkarakter	2		2		
kenmerkendheid					
VEK brak	2	2			3
VEK zuur	2				
BEMONSTERINGSMETHODE					
substraat	R,S,O	R,S,O	R,S,O	R,S	R,S
kolonisatietijd (weken)	3-4	3-4	3-4	4	-

⁷ Omdat kiezelwieren niet in de eerste STOWA-systemen waren opgenomen zijn er vervolgens ook nauwelijks gegevens verzameld over diatomeeën in stromende wateren en ondiepe meren. Hierdoor is het ook niet mogelijk geweest om bestaande (buitenlandse) beoordelingssystemen voor deze watertypen te bewerken voor de Nederlandse situatie. In diverse Europese landen zijn diatomeeën in meren wel opgenomen in KRW-maatlatten (zie bijvoorbeeld King et al. 2006).

In de toepassing van kiezelwieren als indicator zijn er kleine verschillen tussen de oudere EBeo-systemen (de systemen ontwikkeld in 1992-1994) en de nieuwere (ontwikkeld na 2000). In de oudere beoordelings-systemen (sloten, kanalen, diepe plassen) worden voor de karakteristieken slechts twee of drie niveaus onderscheiden, bijvoorbeeld 'wel of niet indicatief', of 'oligosaproob, mesosaproob en polysaproob'. In de nieuwere systemen (brakke binnenwateren en stadswateren) zijn er drie tot zeven niveaus, in overeenstemming met de klassenindeling in [tabel 9.7](#). In deze nieuwere systemen is er ook een rol weggelegd voor centrische diatomeeën, naast de pennate.

Bij de bemonstering van kiezelwieren kan men volgens de EBeo-richtlijn gebruik maken van natuurlijk aanwezige of uitgezette rietstengels of stenen, of van uitgezette objectglasjes. Wij raden het gebruik van uitgezette rietstengels en objectglasjes echter af (zie [paragraaf 9.4.4](#) Substraatkeuze).

Tabel 9.7 Klassenindeling voor autecologische karakteristieken van diatomeeën

Vóór het berekenen van gewogen gemiddelden moet men de indifferente indicaties (zuurgraad 6 en trofie 7) eerst op nul stellen. Aangepast naar: Van Dam et al. 1994.

R - PH

1	acidobiont	optimaal bij pH < 5,5
2	acidofiel	voornamelijk bij pH < 7
3	circumneutraal	voornamelijk bij pH ~ 7
4	alkalifiel	voornamelijk bij pH > 7
5	alkalibiont	uitsluitend bij pH > 7
6	indifferent	geen duidelijk pH-optimum

H - ZOUTGEHALTE

		Cl ⁻ (mg/l)	SALINITEIT
1	zoet	< 100	< 0,2
2	zoet-brak	< 500	< 0,9
3	brak-zoet	500 - 1000	0,9 - 1,8
4	brak	1000 - 5000	1,8 - 9,0
5	brak-marien	5000 - 10000	9,0 - 18,0
6	marien-brak	10000 - 17000	18,0 - 30,0
7	marien	> 17000	> 30,0

N - STIKSTOFOPNAME

1	stikstofautotrofe soorten, tolerant voor zeer geringe concentraties organisch gebonden stikstof
2	stikstofautotrofe soorten, tolerant voor hogere concentraties organisch gebonden stikstof
3	facultatief stikstofheterotrofe soorten, hebben periodiek hogere concentraties organisch gebonden stikstof nodig
4	obligaat stikstofheterotrofe soorten, hebben voortdurend hogere concentraties organisch gebonden stikstof nodig

O - ZUURSTOFBEHOEFTE	1	voortdurend hoog (ca 100% verzadiging)
	2	vrij hoog (boven 75% verzadiging)
	3	matig (boven 50% verzadiging)
	4	laag (boven 30% verzadiging)
	5	zeer laag (ca 10% verzadiging)

		WATERKWALITEITS- KLASSE	O₂-VERZA- DIGING (%)	BOD₅²⁰ (mg/l)
S - SAPROBIE	1	oligosaproob	I, I-II	< 2
	2	β-mesosaproob	II	2 - 4
	3	α-mesosaproob	III	4 -13
	4	α-meso-/polysaproob	III-IV	13- 22
	5	polysaproob	IV	> 22

T - TROFIE	1	oligotrafent
	2	oligo-mesotrafent
	3	mesotrafent
	4	meso-eutrafent
	5	eutrafent
	6	hypereutrafent
	7	indifferent

M - VOCHT	1	nooit of slechts zeer zelden buiten het water voorkomend
	2	voornamelijk in het water, maar soms ook op vochtige plaatsen voorkomend
	3	voornamelijk in het water, maar regelmatig ook op natte en vochtige plaatsen voorkomend
	4	voornamelijk op natte en vochtige of tijdelijk droogvallende plaatsen voorkomend
	5	bijna uitsluitend buiten het water voorkomend

9.2.4 Typering van habitat

Belangrijk voor het waterbeheer zijn typering van habitatkenmerken als zuurgraad, trofiegraad en saprobiegraad en dergelijke. Omdat hier geen kwalificatie gemaakt wordt in termen van goed, matig of slecht, noemen we dit liever geen beoordeling, maar typering.

Om de habitatkenmerken te typeren gebruiken we de ecologische indicatiegetallen van kiezelwiersoorten. Dit zijn getallen tussen 1 en 7, die het optimum weergeven van de betreffende soort en corresponderen met de klassenindeling van het habitatkenmerk (zie [tabel 9.7](#)).

Veel gebruikt wordt de lijst van indicatiegetallen in Van Dam *et al.* (1994). Deze getallen zijn afgeleid uit een

groot aantal opgaven in de literatuur, eigen vondsten en deskundigenoordeel. Om het habitat te typeren berekent men het gewogen gemiddelde van de indicatiewaarden van de aangetroffen soorten (zie tabel 9.8). Niet altijd komt de typering mooi overeen met het resultaat van andere metingen. Soms echter kan men goede correlaties vinden, bijvoorbeeld tussen de zuurgraadtypering en de pH, of tussen de trofiegraadtypering en de concentratie van totaal-fosfaat (Denys 2004, Van Dam & Wanink 2007).

Tabel 9.8 Typering van de zuurgraad

Typering van de zuurgraad op basis van een monster uit Kliplou van 1 mei 2001; een indicatiewaarde van 2,0 betekent een gemeenschap van acidofiele soorten (zie tabel 7). R = ecologische indicatorwaarden voor zuurgraad zoals aangegeven in tabel 7; indifferente soorten (R = 6) doen niet mee in de berekening van de indicatiewaarde.

R	TAXON	% SCHAALTJES	R × %
6	Eunotia bilunaris	1,5	-
2	Eunotia implicata	0,4	0,7
2	Eunotia incisa	17,5	34,9
2	Eunotia nymanniana	+	0,0
4	Fragilaria ulna var. acus	0,4	1,5
3	Stauroneis anceps	+	0,0
2	Tabellaria flocculosa	80,2	160,4
1	Tabellaria quadrisepata	+	0,0
Subtotaal indicatorsoorten (1-5)		98,5	197,5
Subtotaal indifferent (6)		1,5	
Totaal		100,0	
Indicatiewaarde zuurgraad		197,5 / 98,5	= 2,0

9.2.5 Kwantificering van milieufactoren

Met diatomeeën kan men ook de waarde van sommige milieufactoren bepalen, bijvoorbeeld van de zuurgraad (pH). Om dit te kunnen doen moet men van de kiezelwiersoorten weten bij welke pH ze optimaal ontwikkeld zijn. Deze optima berekent men uit de soortensamenstelling en pH-gegevens van een groot aantal monsters (ten minste vijftig, maar liefst veel meer). Met behulp van zogenaamde transferfuncties kan men vervolgens uit de soortensamenstelling een schatting maken van de pH van een ander monster, waarvan de pH nog niet bekend is.

Met deze methode is de verzuringsgeschiedenis van Nederlandse vennen gereconstrueerd, met behulp van diatomeeënmonsters uit oude collecties (Ter Braak & Van Dam 1989). Naderhand zijn in Europa en Noord-Amerika ook transferfuncties ontwikkeld om veranderingen te kunnen onderzoeken in het totaal-fosfaatgehalte (in verband met eutrofiëring) en in het zoutgehalte (in verband met klimaatsverandering; zie bijvoorbeeld Schönfelder 1997, Schönfelder *et al.* 2002, Smol 2008).

In de European Diatom Database zijn transferfuncties beschikbaar voor geleidbaarheid, zuurgraad en

totaal-fosfaat. Dergelijke functies moeten echter voor elke regio apart gekalibreerd worden. De functies op basis van gegevens uit Noord-Europa, Afrika en berggebieden zijn daarom slecht bruikbaar in het Nederlandse laagland.

Waarschijnlijk wel bruikbaar voor diatomeeën uit sedimenten, zijn de optima die Denys (2006, 2007) heeft bepaald voor 375 kiezelwiertaxa uit sedimenten van stilstaande, Vlaamse oppervlaktewateren. Het betreft optimum- en tolerantiewaarden voor pH, anorganische koolstof, natrium, chemisch zuurstofverbruik, potentiële zuurstofproductie, calcium en silicium. Deze waarden kan men vergelijken met de optima⁸ die berekend zijn in de Eco-atlas van waterorganismen (Knoben & Peeters 1997).

9.2.6 Voorwaarden voor toepassing beoordelingssystemen

De hiervoor beschreven beoordelingssystemen stellen vrijwel dezelfde eisen aan de methoden van bemonstering en analyse. Alleen de meetfrequentie en tijdstippen van bemonstering kunnen verschillen. Hieronder worden de eisen per toepassing samengevat.

Eisen vanuit de KRW-deelmaatlat

- Een voor het meetpunt representatieve bepaling van de soortensamenstelling en relatieve abundantie van epifytische kiezelwieren, op basis van één monsterneming en analyse in april.
- Determinatieniveau: soort (soms variëteit).
- Abundantie bepaling: aantal schaaltes per steekproef.

Eisen vanuit de EBeo-systemen

- Een voor het meetpunt representatieve bepaling van de soortensamenstelling en relatieve abundantie van epifytische kiezelwieren op één of twee tijdstippen in het jaar, afhankelijk van het watertype.
- Determinatieniveau: soort (soms variëteit).
- Abundantie bepaling: aantal schaaltes per steekproef.

Eisen vanuit de habitatypering

- Een voor het meetpunt representatieve bepaling van de soortensamenstelling en relatieve abundantie van epifytische kiezelwieren.
- Determinatieniveau: soort (soms variëteit).
- Abundantie bepaling: aantal schaaltes per steekproef.

9.3 TOELICHTING OP DE WERKVOORSCHRIFTEN

9.3.1 Algemeen

Er is een apart werkvoorschrift voor bemonsteren en voor analyseren. De methoden in deze voorschriften zijn gericht op het verkrijgen van een representatief beeld van de soortensamenstelling van kiezelwieren in stilstaande en stromende wateren.

9.3.2 Meetpuntkeuze

Ruimtelijke variatie

Men kan zich voorstellen dat er verschillen zijn in het fyto bentos tussen de loef- en lijzijde van een meer.

⁸ Deze gegevens zijn weinig gebruikt, wellicht omdat er voor sommige soorten te weinig monsters waren om een betrouwbare schatting van het optimum te berekenen. Verder zaten in het gebruikte bestand weinig of geen monsters uit wateren van een goede tot zeer goede kwaliteit.

De omvang van een dergelijke ruimtelijke variatie binnen een waterlichaam is voor Nederlandse oppervlaktewateren onvoldoende bekend. Hierdoor is het niet goed mogelijk om aan te geven welk(e) punt(en) binnen een waterlichaam een representatief beeld van het fytobenthos geven⁹. Daarom raden we aan om bemonsteringen zoveel mogelijk uit te blijven voeren op vaste meetpunten, die ook in het verleden zijn bemonsterd. Daarvoor moet men oude rapportages en bestanden raadplegen, vóór het opstellen van het definitieve bemonsteringsplan.

Doelstelling

De keuze van meetpunten hangt ook af van het schaalniveau waarop men het onderzoek uitvoert en de vraagstelling. Om de belangrijkste milieuvariabelen voor het fytobenthos in het Nederlandse oppervlaktewater te kunnen vaststellen, kan men volstaan met een lage dichtheid van meetpunten. Voor meer regionale studies is vaak een hogere dichtheid van meetpunten noodzakelijk. Bijvoorbeeld om de invloed van overstorten op het fytobenthos van sloten in het Kromme-Rijngebied, te kunnen vaststellen.

9.3.3 Tijdstip van bemonstering

Voorkeurstijdstip

In het vroege voorjaar (maart-april) bereiken kiezelwieren de hoogste aantallen individuen en soorten. Daarom is deze periode het meest geschikt voor bemonstering. Ook binnen deze voorjaarsperiode vindt echter een successie plaats. Voor de vergelijkbaarheid raden wij daarom aan om de voorjaarsbemonstering van jaar tot jaar in april uit te voeren. Dit geldt ook voor de bemonsteringen voor EBeoKan en EbeoSlo, die mei of juni vroegen. Zorg er bij een afwijkende bemonsteringsperiode wel voor, dat de resultaten worden meegenomen in de geautomatiseerde beoordeling met EBeoSys.

Minder geschikt

Wanneer men slechts één monster per jaar kan nemen zijn de nazomer en herfst (circa half augustus tot half november) minder geschikt in voedselrijke wateren. Er is dan een grote kans op dominantie van *Cocconeis placentula*. Hierdoor worden veel ecologische verschillen gemaskeerd. Soms kan ook in het voorjaar dominantie van minder indicatieve soorten optreden, bijvoorbeeld van *Achnanthydium minutissimum*. In voedselarme tot matig voedselarme wateren doet dit bezwaar zich minder voor.

9.3.4 Substraatkeuze

Voorkeur

Voor de bemonstering van perifytische kiezelwieren geven wij de voorkeur aan Riet. Als dit niet aanwezig is bevelen wij andere oeverplanten en waterplanten aan. In laatste instantie, wanneer geen planten aanwezig zijn, kan men takjes of stenen bemonsteren. Het gebruik van onnatuurlijke substraten raden wij af.

Riet

Riet (*Phragmites australis*) komt in ruime hoeveelheden voor in de meeste Nederlandse meren, kanalen en sloten en in veel rivieren. Rietstengels zijn een uitstekend substraat voor het bemonsteren van diatomeeën. Daarom gebruikt men het in veel beoordelingssystemen in binnen- en buitenland (zie bijvoorbeeld King *et al.* 2006, STOWA 2006). We geven de voorkeur aan van nature aanwezige rietstengels, boven uitge-

⁹ Het voorschrift uit het 'Protocol toetsen en beoordelen voor de operationele monitoring en toestand- en trendmonitoring (Pot & Pelsma 2007, Pelsma 2008) om voor fytobenthos mengmonsters te maken van monsters die op één of op verschillende meetpunten genomen zijn, is daardoor onvoldoende gefundeerd.

zette (gepelde) rietstengels. Uitgezette rietstengels zorgen weliswaar voor een uniform substraat, waarvan de koloniseringsperiode precies bekend is. Een groot bezwaar is echter dat een deel van de uitgezette rietstengels op het moment van oogsten verdwenen blijkt te zijn. Daarbij komt dat de gebruikelijke koloniseringsperiodes van vier tot zeven weken in verhouding kort zijn (zie [figuur 4](#)). Verder zijn de bemonsteringskosten hoger, omdat men twee keer de meetpunten bezoeken moet. Ten slotte blijken de uit te zetten rietstengels niet altijd vrij te zijn van diatomeeën, waardoor contaminatie kan ontstaan.

Onze grotere Rijkswateren bezitten doorgaans een stenige oever, die is blootgesteld aan golven en vaak aanzienlijke waterstandschommelingen. Als hier al Riet van nature aanwezig is, is dit minder geschikt voor bemonstering door de dynamiek van het water. Op dit soort locaties maakt men wel gebruik van uitgezette stukjes riet, die bevestigd worden aan een drijver. Deze drijver wordt door een steen op zijn plaats gehouden ([figuur 9.7](#)). Men kan het verlies door vandalisme beperken door de drijvers te plaatsen in gebieden die niet voor het publiek toegankelijk zijn.

Fig 9.7 Drijver met stukjes gepeld riet, bevestigd aan een steen

Foto: RWS Waterdienst.



Andere oever- en waterplanten

Als Riet afwezig is bemonster dan bij voorkeur ondergedoken stengeldelen van andere oeverplanten, zoals lisdodden (*Typha*), biezen (*Bolboschoenus maritimus*, *Eleocharis*, *Schoenoplectus*) en Liesgras (*Glyceria maxima*). Bemonstering van Gele lis (*Iris pseudacorus*) raden wij af. Indien ook deze planten ontbreken kan men ondergedoken waterplanten verzamelen, zoals hoornblad (*Ceratophyllum*), waterpest (*Elodea*), fon-

teinkruiden (*Potamogeton*), vederkruid (*Myriophyllum*), sterrenkroos (*Callitriche*), waterranonkel (*Ranunculus*), bronmos (*Fontinalis*) of kranswieren (*Chara*, *Nitella*, *Nitellopsis*). Zijn ook deze afwezig, dan zijn de bladstengels van waterlelie (*Nymphaea*) of Gele plomp (*Nuphar lutea*) geschikt. Als werkelijk niets anders te vinden is, kan men de ondergedoken delen van overhangende grassen nemen, bijvoorbeeld van Fioringras (*Agrostis stolonifera*). In sloten waar alleen kroos (*Lemna*, *Spirodela*, *Wolffia*) of kroosvaren (*Azolla*) aanwezig is, kan men deze planten verzamelen. In zure vennen zijn ondergedoken mossen, vooral waterveenmos (*Sphagnum cuspidatum*) en vensikkelmos (*Warnstorfia fluitans*) en fijn verdeelde waterplanten zoals Knolrus (*Juncus bulbosus*) vaak het belangrijkste substraat voor diatomeeën.

Takjes en beschoeiing

Zijn oever- en waterplanten afwezig (bijvoorbeeld in beschaduwde beken), dan kan men gebruik maken van takjes van bomen die geruime tijd in het water hebben gelegen of gehangen. Dit kan men zien aan de glibberige aangroei. In watergangen met beschoeide oevers kan men het aangroei van de houten of betonnen beschoeiing verzamelen. Langs de oevers van vennen kan men op de bodem soms dode takjes vinden van bijvoorbeeld Gagel (*Myrica gale*), zichtbaar begroeid met fyto-benthos (o.a. de blauwgroene kolonies van het kikkerdrilwier, *Batrachospermum turfosum*).

Stenen

In sommige stromende wateren zijn veel stenen aanwezig, door menselijke activiteit of van nature. Kleinere stenen of grind (kleiner dan 64 millimeter) zijn niet geschikt als substraat, omdat ze sterk bewegen onder invloed van de stroming. Grotere stenen zijn wel geschikt. Ze worden zoveel mogelijk bemonsterd op plaatsen die permanent onder water staan, of in elk geval de laatste twee maanden onder water hebben gelegen. Dat is vaak te zien aan de aanwezigheid van een doorgaans bruin gekleurde, glibberige laag aangroei. Op tijdelijk droogvallende substraten groeien ook wel diatomeeën, maar dit zijn andere soorten dan op plaatsen die permanent onder water staan.

Bemonster niet de horizontale vlakken van stenen, maar schraap het aangroei af van de zijanten. De reden is dat op horizontale vlakken van stenen diatomeeën kunnen sedimenteren, die van elders zijn aangevoerd. Dit komt vooral voor in langzaam stromende wateren. In plaats van stenen kan men ook de verticale oppervlakten van kaden of pijlers van bruggen bemonsteren.

Bodem

In het sediment kan men aparte soorten diatomeeën aantreffen (het epipelon of epipsammon). Toch kan men deze beter niet verzamelen voor de waterkwaliteitsbeoordeling. In het sediment heersen namelijk heel andere fysisch-chemische omstandigheden dan in de waterkolom. Op kale zandbodems leven ook specifieke soorten, zoals *Tabellaria binalis* in Oeverkruidvennen. Afhankelijk van de vraagstelling van het onderzoek kunnen dergelijke bodems afzonderlijk worden bemonsterd.

Vanaf de oever kan men het oppervlakkige sediment verzamelen met een diepe soep- of juslepel. In dieper water bemonstert men het sediment met steekbuizen of eenvoudige boorapparatuur (zie onder andere Ali 1984 en Glew 1991).

Onnatuurlijke substraten

Over het gebruik van kunstmatige substraten, zoals glas en polystyreen, is veel literatuur. Een belangrijk verschil met natuurlijke substraten is dat de oppervlakten van kunstmatige substraten eenzijdig zijn en daardoor selectief. Op natuurlijke substraten komen juist veel microhabitats voor. Kunstmatige substraten vormen daarom geen alternatief voor natuurlijke substraten (Round 1981). Praktische bezwaren van

het gebruik van kunstmatige substraten zijn de hogere kosten (men moet twee keer het meetpunt bezoeken) en de kans op het mislukken van de bemonstering (omdat het substraat bij de bemonstering verdwenen blijkt te zijn). In uitzonderlijke situaties is kunstmatig substraat echter de enige mogelijkheid, door gebrek aan natuurlijk substraat (bijvoorbeeld in Limburgse beken). Het uitzetten van gepelde rietstengels heeft dan onze voorkeur, omdat deze vermoedelijk minder selectief zijn dan onnatuurlijke substraten.

Als onnatuurlijk substraat gebruikt men echter ook wel objectglazen. Hierbij zet men bijvoorbeeld vijf objectglazen uit in een kleurrekje. Dit rekje wordt vervolgens vastgemaakt aan een ijzeren staaf die in de bodem wordt gedrukt. Op deze manier kan men de glaasjes op elke gewenste hoogte in de waterkolom bevestigen. Een derde alternatief zijn stukken polypropyleen touw, die aan de uiteinden zijn gerafeld om een ondergedoken waterplant na te bootsen (Kelly *et al.* 1998).

Na een kolonisatieperiode van zeven weken kan men het substraat bemonsteren.

9.3.5 Conservering

Invriezen of formaline

Het conserveren door invriezen heeft de voorkeur boven formaline, in ieder geval voor kortdurende opslag (korter dan ongeveer één jaar). Men vermijdt hierdoor het gebruik van het schadelijke formaline. Bovendien scheelt het een stap in de voorbehandeling: men hoeft niet eerst de formaline uit het monster te verwijderen vóór de toevoeging van zoutzuur. Voor langduriger opslag kan men wel voor formaline kiezen. Het ingevroren houden vergt energie en een permanent functionerende vriezer. Dat is niet nodig bij het conserveren in formaline. Met formaline kunnen monsters in luchtdichte potjes, in het donker bij kamertemperatuur, ten minste een eeuw bewaard worden.

Zoutzuur

Het conserveren met zoutzuur (10%) is een nieuwe methode, die in elk geval geschikt is om kiezelwiermonsters enkele maanden te bewaren. Met het toevoegen van zoutzuur maakt men in feite al een begin met de verdere behandeling van het monster. Door het zoutzuur laten de algen los van het substraat en lossen eventueel aanwezige ijzer- en kalkverbindingen op.

Alkalische Lugol

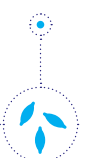
In de Richtlijnen Monitoring (Van Splunder *et al.* 2006) wordt conservering met alkalische (acetaatgebufferde) Lugol als mogelijkheid genoemd. Dit raden wij beslist af, omdat kiezelschaaltjes in alkalisch milieu langzaam oplossen.

Alcohol en andere methoden

Conserveren in alcohol (ethanol) is ook mogelijk. Verder kan het verzamelde materiaal ook aan de lucht worden gedroogd en, net als mossen, in een niet te vochtige omgeving worden bewaard in enveloppen ('convoluten'). De kiezelwandjes kunnen goed tegen uitdrogen en veel oud typemateriaal van diatomeeën heeft op deze manier de tand des tijds glansrijk getrotseerd. Ook vriesdrogen is een geschikte conserveringsmethode, maar is kostbaar.

9.3.6 Extractie

Bij de klassieke, mechanische methode wordt het aangroei van het substraat afgeschraapt, of wordt het materiaal met een mesje gefragmenteerd en daarna gewassen. Bij de modernere, chemische methode, worden de diatomeeën van het substraat losgeweekt in een 10%-oplossing van zoutzuur.



De chemische methode heeft vier voordelen boven de mechanische:

- 1 de chemische methode kost minder inspanning;
- 2 zouten van kalk en ijzer worden tegelijkertijd opgelost;
- 3 er is minder kans op contaminatie doordat er geen contact is met gereedschappen en handen;
- 4 de preparaten zijn minder verontreinigd met moeilijk oxideerbare plantenresten.

De chemische methode heeft als nadeel dat er meer chemicaliën worden gebruikt dan bij de mechanische methode.

9.3.7 Oxidatie

Gloeien

De oudste methode om het organisch materiaal in diatomeeën te verwijderen is het verbranden in de vlam (gloeien). Omdat de temperatuur daarvan slecht is te regelen, loopt deze al gauw te hoog op, waardoor de kiezelwandjes vervormen. Bovendien liggen de schaaltes dan vaak kriskras over elkaar. Een voordeel van gloeien is dat de schaaltes van één cel niet worden gescheiden. Voor een beginnende diatomist kan dat prettig zijn bij het determineren. De gloeimethode, kan zonodig als aanvulling op de hieronder beschreven methoden worden gebruikt¹⁰. Hij is beschreven door onder andere Van der Werff & Huls (1957-1974) en Krammer & Lange-Bertalot (1986-1991).

Chemische oxidatie

Al snel raakten methoden in zwang waarbij sterke oxidatiemiddelen als geconcentreerd zwavel- en salpeterzuur worden gebruikt (zie bijvoorbeeld Van Heurck 1880-1885). Het voordeel is dat men hiermee zeer schone preparaten kan maken. Het nadeel is dat deze sterke zuren gezondheids- en milieubezwaren kunnen opleveren. Van der Werff (1955) beschreef daarom een methode die gebaseerd is op de reactie van waterstofperoxide en kaliumpermanganaat.

De in het voorschrift beschreven methode maakt gebruik van waterstofperoxide als oxidatiemiddel. Eventueel kan men vóór de oxidatie het organische materiaal verkolen met zwavelzuur. Door een eerste verkolingsstap verloopt het oxidatieproces sneller en hoeft men minder peroxide toe te voegen. Bovendien zijn er aanwijzingen dat zwak verkieselde schaaltes hierdoor beter behouden blijven.

9.3.8 Concentratie

Tijdens de voorbehandeling moet men het monster herhaaldelijk wassen om formaline of zouten te verwijderen. Bij dit wassen worden de kiezelschaaltes opgenomen in een waterige oplossing, waarna ze weer geconcentreerd moeten worden. Dit concentreren kan door centrifugeren of door sedimenteren (bezinking). Omdat kleine, zwak verkieselde soorten bezinken met een snelheid van ongeveer 0,5 centimeter per uur, hanteren wij voor monsters in reageerbuisen een sedimentatietijd van 24 uur. Centrifugeren duurt slechts enkele minuten. Toch raden wij het centrifugeren af, om de volgende drie redenen:

- 1 centrifugeren kan leiden tot breuk, vooral van zwak verkieselde soorten;
- 2 centrifugeren leidt vaak tot klontering, waardoor geen mooie egale verdeling in het preparaat te krijgen is;
- 3 de verwerkingstijd bij centrifugeren is weliswaar korter, maar de arbeidstijd veel langer, omdat er meer handelingen verricht moeten worden dan bij het bezinken en omdat de wachttijd tijdens de verschillende centrifugerondes moeilijk productief te maken is.

¹⁰ Een vergelijkbaar resultaat kan worden verkregen door het gebruik van Pleurax als inbeddingsmedium. Materiaal kan worden gewassen in alcohol en opgebracht op deklazen. Bij insluiting in Pleurax zal de celinhoud oplossen maar de celvorm en koloniestructuur blijven intact.

9.3.9 Verwijderen van zand of slib

Bij het bezinken sedimenteren zandkorrels veel sneller (in enkele seconden), dan de diatomeeën (in minuten tot uren). Hiervan kunnen we gebruik maken om zand uit het monster te verwijderen. Fijne slib- of kleideeltjes hebben ongeveer dezelfde afmetingen en soortelijk gewicht als diatomeeën. Deze kunnen dus niet van elkaar gescheiden worden door middel van sedimentatie. Er bestaan wel chemische methoden om ze te scheiden, maar deze maken gebruik van zeer giftige chemicaliën. Wanneer men last heeft van kleideeltjes, raden wij aan om een wat meer verdund preparaat te maken. Hierdoor heeft men wel wat meer tijd nodig voor de determinatie en telling.

9.3.10 Inbedden

Dekglas

Het uiteindelijke preparaat bestaat uit een objectglaasje van één millimeter dik, met daarop een enkele tienden van millimeters dik harslaagje waarin de diatomeeën zo schoon mogelijk zijn ingebed, afgedekt door een dekglas van 0,15 tot 0,17 millimeter dik. Het dekglas moet beslist niet dikker zijn. Door een dikker dekglas verminderen de optische prestaties van het microscoop sterk (Sterrenburg 2002). Het dekglas moet ook brandschoon zijn, niet alleen vanwege de te leveren optische prestaties, maar ook voor het bereiken van een goede spreiding van de diatomeeën. Zet het daarom voor gebruik ten minste 48 uur in de week in 80% ethanol, of in een oplossing van enkele druppels oppervlaktespanningsverlager op tweehonderd ml water.

Inbedmiddel

Om de structuren van de diatomeeënschaaltjes goed te kunnen zien, worden de schaaltes ingebed in een sterk lichtbrekend middel, met een brekingsindex (RI = refractive index) van 1,67 of hoger. De beste inbedmiddelen zijn Zrax (RI = 1,72), Naphrax (1,72) en Pleurax (RI = 1,70 - 1,75; zie [bijlage 12](#)).

De Meltmount-varianten met RI-waarden 1,68 en 1,70, zijn geschikt voor het inbedden van diatomeeën. Meltmount hardt echter minder goed uit dan de overige genoemde inbedmiddelen. Dit kan bezwaren opleveren bij het voor zeer lange tijd bewaren van preparaten. Verder is het gelijkwaardig aan Naphrax (Haupt 1989).

Media met lagere brekingsindices, zoals Canadabalsem (1,50) en Styrax (1,58) zijn minder geschikt om zeer fijne structuren zichtbaar te maken.

Meerdere preparaten per monster

We bevelen aan om van elk monster meerdere preparaten te maken. Eén preparaat kan dan voor referentiedoeleinden in het archief van het laboratorium blijven. Hier kan men op terugvallen als het onderzoek in de toekomst herhaald wordt, bijvoorbeeld om de analyse te herhalen met nieuwe taxonomische inzichten.

Een ander preparaat kan men naar een eventuele opdrachtgever sturen. Eigenlijk is een opdrachtgever primair verantwoordelijk voor het bewaren van monsters of preparaten. Als men dan nog één of twee extra preparaten heeft kan men deze uitwisselen met andere laboratoria of onderzoeksinstellingen (o.a. voor kwaliteitscontroles), of laten opnemen in collecties, zoals het Nationaal Herbarium.

9.3.11 Bewaren van monstermateriaal

Geoxideerde monster

We raden aan om ook het resterende, geoxideerde materiaal, dat na het maken van de preparaten over is, duurzaam te bewaren. Dit materiaal kan later bijvoorbeeld worden gebruikt voor verificatie van determinaties door elektronenmicroscopisch onderzoek.

Ruwe monster

Het bewaren van het ruwe, ongereinigde materiaal, geconserveerd met formaline, is minder noodzakelijk voor aanvullend onderzoek van diatomeeën. Het kan echter wel waardevol zijn om later eventueel andere organismen uit het aangroei te bestuderen, bijvoorbeeld sialgen. De opslag van dit ruwe materiaal neemt veel ruimte in beslag en behoort ook niet tot de kerntaak van de meeste opdrachtgevers van diatomeeënonderzoek. Een verstandige tussenweg is om van de verzamelde monsters een representatieve selectie te maken. Deze selectie brengt men vervolgens onder bij een instelling die daarop is ingericht, zoals het Nationaal Herbarium. Van te voren moet men natuurlijk wel met de conservator overleggen.

9.3.12 Determinatie

Leren en documenteren

Een deel van het succes van het gebruik van de diatomeeën komt door het feit dat men ze gemakkelijk tot op de soort kan determineren, in vergelijking met de meeste andere groepen van algen. Toch is het leren determineren van diatomeeën tijdrovend. Zeker in het begin blijft de analist vaak onzeker over de juistheid van zijn/of haar determinaties. De beste oplossing is om zich in deze beginfase dagelijks te laten begeleiden door een ervaren analist. Ook later moet men determinaties waarvan men niet zeker is, voorleggen aan ervaren diatomisten. Dit kan men doen door preparaten op te sturen, of nog beter, foto's van een goede kwaliteit. Het is heel nuttig om binnen elk diatomeeënlaboratorium een referentiecollectie van door externe experts gecontroleerde preparaten en/of foto's op te bouwen.

Naamgeving

Een gestandaardiseerde naamgeving is uiterst belangrijk voor de vergelijkbaarheid van resultaten in het toegepaste diatomeeënonderzoek. Vóór 1985 moest er voor de meeste groepen met zeer verspreide en versnipperde determinatieliteratuur worden gewerkt. Voor Nederland waren de flora's van Hustedt (1930, 1927-1966) en Van der Werff & Huls (1957-1974) het belangrijkste. Ook met deze flora's was het voor verschillende analisten zeer moeilijk om tot vergelijkbare determinaties te komen. Dit verbeterde zeer sterk na het verschijnen van de werken van Krammer & Lange-Bertalot (1986-1991) en Lange-Bertalot (1993). In de laatste jaren is er als gevolg van elektronenmicroscopisch onderzoek een vloedgolf van nieuwe namen ontstaan, voornamelijk door het opsplitsen van genera. Voor de ecooloog hebben deze nieuwe namen niet altijd evenveel meerwaarde. Daarnaast zijn op grond van nieuwere inzichten ook soorten opgesplitst. In een aantal gevallen verschillen de afgesplitste, nieuwe soorten onderling ook in ecologische voorkeur. In dat geval zijn ontwikkelingen in de naamgeving wel belangrijk voor het gebruik van diatomeeën in de ecologische beoordeling.

Naamlijsten

De checklist van Van Dam *et al.* (1994) is nog gebaseerd op het soortconcept van Krammer & Lange-Bertalot (1986-1991). Door de vele afsplitsingen en naamsveranderingen in het laatste decennium is deze checklist minder bruikbaar geworden. De standaardnaamlijst voor Nederland is nu de TWN-lijst (Taxon Waterbeheer Nederland). Deze TWN-lijst is beschikbaar via de site van IDSW (InformatieDesk standaarden Water; zie [bijlage 2](#)).

Wanneer men taxa vindt die niet op de TWN-lijst staan, moet men deze met een formulier aanmelden bij de beheerder van deze lijst (zie [bijlage 2](#)). Na validatie van de correcte naamgeving wordt het taxon in de TWN-lijst opgenomen. De juistheid van de determinatie wordt niet gevalideerd. Daarom is de TWN-lijst alleen een naamlijst en geen checklist.

Determinatieliteratuur

De determinatieliteratuur voor diatomeeën staat in [bijlage 30](#). De vierdelige flora van Krammer & Lange-Bertalot (1986 - 1991, gedeeltelijk herdrukt in latere jaren) is een goed standaardwerk voor het zoete en

zeer zwak brakke water. Voor sterker brakke en mariene kustwateren is Witkowski *et al.* (2000) op dit moment een onmisbaar standaardwerk. Helaas is dit boek weinig kritisch en niet gemakkelijk te gebruiken als determinatiewerk.

Het eerste deel van Krammer & Lange-Bertalot (1986) begint met een algemene inleiding. Hierin behandelen zij bouw, levenswijze, ecologie en methoden voor onderzoek. Zeer belangrijk in deze inleiding is de verklarende woordenlijst (de Glossar op blz. 3-15). In deze lijst verklaart men de gebruikte vaktermen. Het is belangrijk om tijdens het determineren ook kennis te nemen van de algemene beschrijvingen van de betreffende families en geslachten. Hier staat informatie in die nodig is om de gebruikte termen in de determinatietabellen goed te kunnen begrijpen.

Veel van de Nederlandse zoetwatertaxa zijn ook te determineren met een recente sleutel voor de algemene soorten uit Groot-Brittannië en Ierland (Kelly *et al.* 2005; zie [bijlage 30](#)). Hiermee kan men taxa determineren via een traditionele 'dichotome' sleutel, maar ook met behulp van tientallen verschillende kenmerken. Deze sleutels waren echter nog niet goed uitgetoet voor de Nederlandse situatie, op het moment van schrijven van dit hoofdstuk. Daarom moet men de determinaties steeds bevestigen door een vergelijking met de klassieke, gedrukte determinatiewerken.

Determinatiekenmerken

In de determinatieliteratuur gebruikt men vooral kenmerken van het bovenaanzicht van het schaalpje (de valvazijde of schaalzijde). In de praktijk echter, liggen diatomeeën vaak op hun zijkant (de pleurazijde of gordelzijde). Voor een beginnend analist zijn deze niet of moeilijk te determineren. Als het een soort is die veel in het preparaat voorkomt, kan men leren om de verbinding tussen deze twee verschillende aanzichten te leggen, zeker als er scheef liggende exemplaren zijn.

Bij milde oxidatie blijven diatomeeënschaaltjes vaak verbonden en kan men doubletten en zelfs kolonies in het preparaat aantreffen. Deze kunnen het determineren vergemakkelijken. Door de aanwezigheid van complete doubletten (een ongescheiden dekselschaaltje en doosjeschaaltje), kan men soorten uit de orde Achnanthales makkelijker herkennen. Deze soorten hebben twee schaalpjes die er verschillend uitzien. Als de schaalpjes nog aan elkaar vastzitten kan men de verschillende structuren onderscheiden door goed te focuseren. Als de schaalpjes gescheiden zijn kunnen ze verward worden met die van andere orden. Voor gebroken schaalpjes biedt de determinatieliteratuur meestal geen uitkomst. Toch kan men deze vaak op naam brengen, door ze te vergelijken met intacte exemplaren.

9.3.13 Kwantificering

Telling

De basiseenheid van de telling is het schaalpje en niet de hele cel. Wanneer in het preparaat de twee schaalpjes van één cel nog aan elkaar vastzitten, telt dit doublet voor twee. Eventueel kan men dergelijke doubletten wel als enkele waarnemingen turven: één doublet is één waarneming van twee schaalpjes.

In het werkvoorschrift schrijven wij een telling van tweehonderd schaalpjes voor. Dit aantal is voldoende voor de meeste doeleinden. Afhankelijk van de vraag kan men grotere aantallen schaalpjes tellen, bijvoorbeeld vierhonderd, maar dit heeft meestal weinig meerwaarde. In alle gevallen raden we met klem aan om een rond aantal schaalpjes te tellen. Ook als het beoordelingssysteem enige vrijheid geeft. De reden is dat eventuele fouten in de dataverwerking makkelijker opgespoord kunnen worden, wanneer men kan controleren op een vaste som van tweehonderd, of desnoods een ander rond getal.

Een enkele keer zijn er maar heel weinig diatomeeën in het preparaat te vinden. Het tellen van tweehonderd schaalpjes kost dan heel veel tijd. In dit geval kan men kiezen voor een kleiner aantal, mits het een mooi rond getal is. Zo kan men besluiten om niet meer dan tien, twintig, vijftig of honderd schaalpjes te tellen. De resultaten van zulke tellingen zijn minder betrouwbaar. In de rapportage meldt men dit daarom als afwijking van de gebruikelijke werkwijze.

In enkele EBeo-systemen doen de centriscie diatomeeën niet mee in de ecologische beoordeling (zie tabel 9.6). Toch raden we aan om deze diatomeeën altijd mee te tellen binnen de som van tweehonderd. De analyseresultaten worden daardoor in breder kader toepasbaar. Bij de EBeo-berekeningen kan men ze zonder bezwaar weggelaten.

Soorten buiten de telling

Voor men gaat tellen stelt men een soortenlijst op, door het preparaat globaal te scannen. Deze lijst bevat de relatief veel voorkomende soorten, waarvan men de meeste ook in de telling zal tegenkomen. Aan het scoren van de minder abundante soorten buiten de telling, kan men meestal maar weinig tijd besteden (ten hoogste een uur per monster). Hierdoor zal men in de meeste gevallen toch geen volledig beeld van de soortenrijkdom kunnen krijgen. Dit geldt vooral voor soortenrijke monsters, waarin veel soorten maar met enkele individuen in het preparaat vertegenwoordigd zijn. Daarom zijn dergelijke soortenlijsten moeilijk reproduceerbaar. Om dezelfde reden bestaan er ook geen goede statistische methoden om de gegevens over de soorten buiten de telling te verwerken. Voor routinematige monitoring heeft het scoren van soorten buiten de telling daarom niet veel zin.

9.3.14 Kritische stappen in bemonstering en analyse

Beschadiging

Tijdens de voorbehandeling (conservering, extractie en oxidatie) kunnen zeer zwak verkiezelde diatomeeën gemakkelijk beschadigd worden of zelfs geheel verdwijnen, door breuk of oplossen. Enig verlies van bepaalde soorten zal men moeten accepteren, maar door een juiste keuze van de methoden kan men dit verlies wel minimaliseren. Dat betekent:

- conserveren door invriezen of zoutzuur, maar niet door alkalische Lugol;
- bij voorkeur extraheren met zoutzuur en niet door afschrappen;
- concentreren door sedimentatie en niet door centrifugeren;
- oxidatie door waterstofperoxide, zo mogelijk vooraf gegaan door een verkolingsstap met zwavelzuur, en niet door gloeien.

Contaminatie

Onder contaminatie verstaan we de besmetting van een monster met diatomeeën uit een ander monster, of uit een andere omgeving. In de praktijk blijkt dat in elk laboratorium dit gevaar voortdurend op de loer ligt. Ga daarom zeer zorgvuldig te werk. Bemonster van nature aanwezige substraten op de juiste wijze. Gebruik voor elk monster schoon gereedschap. Spoel pincetten en dergelijke steeds af met water of maak ze schoon met tissues. Gebruik nieuw (wegwerp)materiaal, zoals nieuwe monsterpotjes of -buisen, (plastic) pasteurpipetten en monsterbuisjes. Was steeds je handen. Contaminatie is moeilijk te constateren als men alleen gelijksoortige monsters uit eenzelfde gebied onderzoekt. Controleer daarom de effectiviteit van de voorzorgsmaatregelen door regelmatig blanco's in een serie mee te laten lopen.

Verwisseling van monsters

Andere bronnen van fouten zijn administratieve vergissingen, waardoor monsters worden verwisseld. Die



komen waarschijnlijk vaker voor dan men denkt. Gebruik daarom zoveel mogelijk controlemechanismen: voorzie monsters van nummers en namen.

9.4 KWALITEITSZORG

Opleiding

Iedereen die kiezelwieren gaat bemonsteren en/of determineren moet een inwerkprogramma hebben doorlopen. Gecertificeerde hydrobiologische laboratoria moeten hiervoor een opleidingstraject hebben, dat doorlopen wordt onder supervisie van een ervaren analist (zie NEN EN 17205). Bij zelfstudie moet men ondersteuning zoeken bij externe specialisten. (zie [bijlage 2](#) voor adressen).

Lijnscontroles

Gecertificeerde hydrobiologische laboratoria moeten lijnscontroles uitvoeren, om de kwaliteit van hun analyseresultaten te waarborgen. Er zijn drie lijnscontroles. Tezamen moeten zij de betrouwbaarheid van onderzoeksresultaten waarborgen. In de werkvoorschriften zijn richtlijnen en tips gegeven om deze lijnscontroles in te vullen.

9.5 TIJDSBESTEDING EN KOSTEN

9.5.1 Achtergrond

Aangekomen op de locatie kost de bemonstering van epifytische diatomeeën niet meer dan vijf tot tien minuten. Hierbij komt nog het vastleggen van de metagegevens, door bijvoorbeeld een veldformulier in te vullen. Dit kost ook vijf tot tien minuten. De bemonstering kan men combineren met bemonsteringen van de waterchemie, of van andere biologische kwaliteitselementen. De monsternemers moeten natuurlijk wel voldoende geïnstrueerd zijn¹¹. De kosten van de veldwerkzaamheden betreffen in hoofdzaak de reistijd van de monsternemer.

De voorbehandeling kan het meest efficiënt in series van enkele tientallen monsters uitgevoerd worden (een zogenaamde batchgewijze verwerking). De benodigde tijd per monster neemt daardoor aanzienlijk af. Per monster moet men dan rekenen op een klein uur, inclusief de administratie van het monster (invoeren metagegevens in de database en maken van labels).

Voor het determineren, tellen en het invoeren van de telgegevens in de database, heeft een ervaren analist ongeveer twee uur nodig, inclusief de eerste- en tweedelijnscontrole. Dat geldt voor monsters uit zoet en zeer zwak brak water. Analisten met minder dan een jaar ervaring doen daar soms vijf tot tien maal zolang over. Bovendien leggen deze dan ook nog beslag op de tijd van overige analisten, voor de controle van hun determinaties. In monsters uit brakke wateren komen nog veel slecht of niet beschreven soorten voor, waardoor het determineren aanzienlijk meer tijd kost. Zelfs de zeer ervaren analist heeft hier soms vier uur per monster voor nodig.

Voor het bijhouden van kennis moet men rekenen op een tijdsbesteding van ongeveer tien dagen per jaar per analist. Deze tijd gaat op aan het lezen van vaktijdschriften, het bezoeken van bijeenkomsten van

¹¹ Dit moet jaarlijks gecontroleerd worden, vóór de eerste bemonstering. Wij hebben meer dan eens series monsters opgezonden gekregen met weinig diatomeeën. Bij navraag bleek altijd dat deze waren genomen door onervaren mensen, die de bemonsteringstechniek niet in het veld gedemonstreerd hadden gekregen.



vakverenigingen, het (laten) analyseren van controlemonsters door externe experts en het deelnemen aan ringonderzoeken (derdelijnscontrole). Daarbij komen dan nog reis-, verblijf- en deelnamekosten (het laatste bijna alleen voor internationale bijeenkomsten). Al deze kosten moeten worden omgeslagen over de monsters die men analyseert.

Afgezien van de inrichtings- en exploitatiekosten van de werk- en archiefruimten, (inclusief zuurkast) vormt een geschikt microscoop de grootste investering (enkele tienduizenden euro's). Het verwerven van de benodigde basisliteratuur vergt een investering van tussen drie- en vierduizend euro. Het jaarlijks verwerven van nieuwe literatuur vraagt een bedrag van ongeveer vijfhonderd euro. De kosten van verbruiksmaterialen als potjes, buizen, preparaatglaasjes, overig glaswerk en chemicaliën bedragen enkele euro's per monster.

9.5.2 Tijdsbegroting

Onderstaande begroting is gebaseerd op de inzet van ervaren monsternemers en analisten.

Bemonstering

Tijdsduur: 0,25 uur (range 0,2 tot 0,3 uur) per meetpunt. Dit is inclusief (de)mobilisatie, maar exclusief reistijd van en naar het meetpunt.

Voorbehandeling

Tijdsduur: 0,8 tot 1,0 uur per monster, bij de batchgewijze behandeling van dertig tot vijftig monsters. Dit is inclusief de monsteradministratie.

Analyse

Tijdsduur voor monsters uit zoete tot zeer zwak brakke wateren: 2 uur.

Tijdsduur voor monsters uit brakke tot mariene wateren: 3 tot 4 uur.

Dit is inclusief het invoeren van de telgegevens in de database en controles.

9.6 LITERATUURVERWIJZINGEN

Andersen RA (1992) Diversity of eukaryotic algae. *Biodiversity and Conservation* 1: 267-292.

AquaSense (2002) *Diatomeeënonderzoek in de Rijkswateren 2002*. Rapport 02.1967. 17 pp.

AquaSense (2005) *Veranderingen in diatomeeëncombinaties in beken van het Drents plateau 1923-2004*. Rapport 05.2133. 75 pp.

Arts GHP, van Dam H, Wortelboer FG, van Beers PWM & Belgers JDM (2002) *De toestand van het Nederlandse ven*. Alterra-rapport 542 / AquaSense-rapport 02.171. Alterra, Wageningen / AquaSense, Amsterdam / RIVM, Bilthoven. 123 pp.

Berger WH & Parker FL (1970) Diversity of planktonic Foraminifera in deep-sea sediments. *Science* 168: 1345-1347

Boosten A (red) (2006) *Meer meer: 13 jaar herstelplan Naardermeer*. Vereniging Natuurmonumenten, 's-Graveland. 141 pp.

CEMAGREF (1982) *Étude des méthodes biologiques d'appréciation quantitative de la qualité des eaux*. Q.E. Lyon - Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée Corse. 218 pp.

Connell JH (1978) Diversity in tropical rain forests and coral reefs. *Science* 199: 1302-1310.

Denys L (2004) Relation of abundance-weighted averages of diatom indicator values to measured environmental conditions in standing freshwaters. *Ecological Indicators* 4: 255-275.

Denys L (2006) Calibration of littoral diatoms to water chemistry in standing fresh waters (Flanders, lower

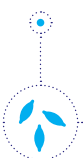
- Belgium): inference models for historical sediment assemblages. *Journal of Paleolimnology* 35: 763-787.
- Denys L (2007) Water-chemistry transfer functions for epiphytic diatoms in standing freshwaters and a comparison with models based on littoral sediment assemblages (Flanders, Belgium). *Journal of Paleolimnology* 38: 97-116.
- Ehrenberg CG (1838) *Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen. Ein Blick in das tiefere organische Leben der Natur*. Voss, Leipzig. 547 pp.
- Eloranta P & Kwandrans J (1996) Testing the use of diatoms and macroalgae for river monitoring in Finland. In: B.A. Whitton, E. Rott & G. Friedrich (eds) *Use of algae for monitoring rivers*. Institut für Botanik, Universität Innsbruck, Innsbruck. pp 119-125.
- Evers CHM, de Mars H, Van den Broek AJM, Buskens R, Klinge M & Jaarsma N (2005) *Validatie en verdere operationalisering van de concept KRW-maatlatten voor de natuurlijke rivier- en meertypen*. Project 9R3003. Haskoning, 's-Hertogenbosch.
- Falasco E, Bona F, Badino G, Hoffman L & Ector L (2009) Diatom teratological forms and environmental alterations: a review. *Hydrobiologia* 623: 1-35.
- Fisher J, James C & Moss B (2006) What determines the diatom communities of submerged freshwater plants? Implications for the use of community indices in determining ecological quality ordination. *Nova Hedwigia, Beihefte* 130: 51-72.
- Glew JR (1991) Miniature gravity corer for recovering short sediment cores. *Journal of Paleolimnology* 5: 285-287.
- Guasch H, Admiraal W, Blanck H, Ivorra N, Lehmann V, Paulsson M & Sabater S (1999) Use of lotic periphyton communities as indicators to certain toxicants. In: Prygiel J, Whitton BA & Bukowska J (eds) *Use of algae for monitoring rivers*. Proceedings of an International Symposium held at the Agence de l'Eau Artois-Picardie, Douai. Douai, France, 29 September - 1 October 1997. Prygiel, Douai. pp 245-252.
- Harper MA (1977) Movements. In: Werner D (ed) *The biology of diatoms*. Botanical Monographs 13. Blackwell, Oxford. p. 224-249.
- Harting P (1852) De bodem onder Amsterdam onderzocht en beschreven. *Verhandelingen der eerste klasse van het Koninklijk Nederlandsch Instituut van Wetenschappen, Letterkunde en Schone Kunsten*, 3e reeks 5: 73-232.
- Haupt PM (1989) Insluitmiddelen voor het diatomeeën onderzoek. *Diatomededelingen* 7: 11-12.
- Hustedt F (1927-1966) *Die Kieselalgen Deutschlands, Österreichs und der Schweiz unter Berücksichtigung der übrigen Länder Europas sowie der angrenzenden Meeresgebiete*. Dr. L. Rabenhorst's Kryptogamen-Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz 7. Akademische Verlagsgesellschaft / Geist & Portig, Leipzig.
- Hustedt F (1930) *Bacillariophyta (Diatomeae)*. In: Pascher A (ed) *Die Süßwasser-Flora Mitteleuropas* 10. Fischer, Jena. 466 pp.
- Janmaat L, Soesbergen M. & Tonkes M (1993) *Restauratieplan Vecht: epifytische diatomeeën in de Vecht, inventarisatie 1992*. Nota RPV 93.02. Initiatiefgroep Restauratieplan Vecht, Haarlem, 47 pp. + bijl.
- Kelly M, Bennion H, Cox EJ, Goldsmith B, Jamieson J, Juggins S, Mann DG & Telford RJ (2005) *Common freshwater diatoms of Britain and Ireland: an interactive key*. Environment Agency, Bristol (CD-ROM, ook op <http://craticula.ncl.ac.uk/EADiatomKey/html/>).
- Kelly MG, Cazaubon A, Coring E, Dell'Uomo A, Ector L, Goldsmith B, Guasch H, Hürlimann J, Jarlman A, Kawecka B, Kwandrans J, Laugaste R, Lindstrøm EA, Leitao M, Marvan P, Padisák J, Pipp E, Prygiel J, Rott E, Sabater S, van Dam H & Vizinet J (1998) Recommendations for the routine sampling of diatoms for water quality assessments in Europe. *Journal of Applied Phycology* 10: 215-224.
- King L, Clarke G, Bennion H, Kelly M & Yallop M (2006) Recommendations for sampling littoral diatoms in lakes for ecological status assessments. *Journal of Applied Phycology* 18, 15-25.
- Klaassens S (1977) *Enige oekologische aspecten van het perifyton van Phragmites australis (Cav.)*. Studentenverslag. Zoölogisch Laboratorium, Universiteit van Amsterdam, Amsterdam. 27 pp.
- Knoben RAE & Peeters ETHM (red) (1997) *Eco-atlas van waterorganismen. Deel III: epifytische diatomeeën*. Rapport 97-39. STOWA, Utrecht, 246 pp.
- Krammer K & Lange-Bertalot H (1986-1991) *Bacillariophyceae*. In: Ettl H, Gerloff J, Heynig H & Mollenhauer D

- (eds) Süßwasserflora von Mitteleuropa 2/1-4. Fischer, Stuttgart. Gewijzigde herdrukken zijn verschenen tussen 1997 en 2004. In het laatste jaar verscheen ook een vijfde deel, met uitsluitend de vertalingen van de sleutels in het Engels en het Frans.
- Kützing FT (1844) *Die kieselschaligen Bacillarien oder Diatomeen*. Kühne, Nordhausen, 152 pp.
- Lange-Bertalot H. (1993) 85 *Neue Taxa und über 100 weitere neu definierte Taxa ergänzend zur Süßwasserflora von Mitteleuropa Vol. 2/1-4*. Bibliotheca Diatomologica 27, Cramer, Berlin. 454 pp.
- Lecointe C, Coste M & Prygiel J (1993) Omnidia: a software for taxonomy, calculation of diatom indices and inventories management. *Hydrobiologia* 269/270: 509-514.
- Magurran AE (2004) *Measuring biological diversity*. Blackwell Publishing, Malden. 256 pp.
- Mann DG & Droop SJM (1996) Biodiversity, biogeography and conservation of diatoms. *Hydrobiologia* 336: 19-32
- Meulemans JTM (1987) A method for measuring selective light attenuation within a periphytic community. *Archiv für Hydrobiologie* 109: 139-145.
- Pelsma TAHM (2008) *Protocol toetsen en beoordelen voor de operationele monitoring en toestand- en trendmonitoring*. LBOW-wgMIR 200701. Arcadis, Apeldoorn / Rijkswaterstaat RIZA, Lelystad. 64 pp.
- Pot R & Pelsma TAHM (2007) *Toetsen en beoordelen: achtergronddocument met toelichting en voorbeelden voor de toepassing van de KRW-maatlatten biologie in Nederland*. Werkgroep MIR, Lelystad. 45p
- Potapova M & Charles DF (2002) Benthic diatoms in USA rivers: distribution along spatial and environmental gradients. *Journal of Biogeography* 29: 167-187.
- Reynolds CS (2006) *Ecology of phytoplankton*. Cambridge University Press, New York, 535 pp.
- Roos PJ (1983) Dynamics of periphyton. In: Wetzel RG (ed) *Periphyton of freshwater ecosystems*. Developments in Hydrobiology 17. Junk, Den Haag, pp 5-10.
- Roos PJ, Post AF & Revier JM (1981) Dynamics and architecture of reed periphyton. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für Limnologie* 21: 948-953.
- Rosielle M (2008) *Epifytische diatomeeën: invloed van substraat en aangroeitijd*. Het Waterlaboratorium, Haarlem. 38 pp.
- Round FE (1981) *The ecology of algae*. Cambridge University Press, Cambridge. 653 pp.
- Round FE, Crawford RM & Mann DG (1990) *The diatoms: biology and morphology of the genera*. Cambridge University Press, Cambridge. 747 pp. [reprinted 2007].
- Schönfelder I (1997) *Eine Phosphor-Diatomeen-Relation für alkalische Seen und Flüsse Brandenburgs und ihre Anwendung für die paläolimnologische Analyse von Auensedimenten der unteren Havel*. Dissertationes Botanicae 283. J. Cramer, Berlin. 148p. + Anh.
- Schönfelder I; Gelbrecht J; Schönfelder J & Steinberg CEW (2002) Relationships between littoral diatoms and their chemical environment in Northeastern German lakes and rivers. *Journal of Phycology* 38: 66-82.
- Shannon CE & Weaver W (1949) *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press, Urbana. 117 pp.
- Simpson EH (1949) Measurement of diversity. *Nature* 163: 688.
- Sládeček V (1973) System of water quality from the biological point of view. *Ergebnisse der Limnologie* 7: 1-218.
- Smol JP (2008) *Pollution of lakes and rivers: a paleoenvironmental perspective* 2nd ed. Blackwell, Malden. 383 pp.
- Smol JP & Stoermer EF (eds) (2010) *The diatoms: applications for the environmental and earth sciences*. Tweede herziene druk. Cambridge University Press, Cambridge.
- Soesbergen M (1990) Architectuur van het perifyton op riet in de Grote Maarsseveense Plas. *Diatomedelingen* 9: 8-11.
- Soesbergen M (1992a) Verloop van de kolonisatie van kale rietstengels door epifytische diatomeeën en het gebruik voor biologische waterkwaliteitsbeoordeling. *Diatomedelingen* 13: 3-12.
- Soesbergen M (1992b) De epifytische diatomeeëngesellschaften op riet en lisdodde in de Loenderveense Plas. *Diatomedelingen* 14: 8-13.
- Soininen J (2007) Environmental and spatial control of freshwater diatoms - a review. *Diatom Research* 22: 473-

490.

- Sterrenburg FAS (2002) Microscopy primer. www.microscopy-uk.org.uk/primer/. 57 pp.
- STOWA (2002) *Ecologische beoordeling van brakke binnenwateren*. Rapport 2002-01. STOWA, Utrecht. 103 pp + CD-ROM.
- STOWA (2006) *Handboek Nederlandse ecologische beoordelingssystemen (EBEO-systemen). Deel A. Filosofie en beschrijving van de systemen*. Rapport 2006-4. STOWA, Utrecht. 255 pp + CD-ROM.
- Ten Cate JH, Maasdam R & Roijackers RMM (1993) Perspectives for the use of diatom assemblages in the water management policy of Overijssel (The Netherlands). *Hydrobiologia* 269-270: 351-360.
- Ter Braak CJF & van Dam H (1989) Inferring pH from diatoms: a comparison of old and new calibration methods. *Hydrobiologia* 178: 209-223.
- Van Dam H (1973) *Oecologisch onderzoek aan epifytische diatomeeëngemeenschappen in het Naardermeer, speciaal in relatie tot watervervuiling*. Hugo de Vrieslaboratorium, Amsterdam / Rijksinstituut voor Natuurbeheer, Leersum. 158 pp.
- Van Dam H (1982) On the use of measures of structure and diversity in applied diatom ecology. *Nova Hedwigia, Beihefte* 73: 97-115.
- Van Dam H (2007) *Een herziene KRW-maatlat voor het fyto bentos van stromende wateren*. Rapport 618.2. Herman van Dam, Adviseur Water en Natuur, Amsterdam. 44 pp.
- Van Dam H & Arts GHP (1993) *Ecologische veranderingen in Drentse vennen sinds 1900 door menselijke beïnvloeding en beheer*. Provincie Drenthe, Assen / DLO-Instituut voor Bos- en Natuuronderzoek, Leersum / Grontmij Advies en Techniek, De Bilt. 144 pp.
- Van Dam H & Mertens A (2008) *Monitoring van vennen 1978-2006: effecten van klimaatverandering en vermindering van verzuring*. Grontmij-rapport 202542 / Adviseur Water en Natuur-rapport 606. Grontmij | AquaSense, Amsterdam / Herman van Dam, Adviseur Water en Natuur, Amsterdam / Amsterdam. 100 pp + bijl.
- Van Dam H & Wanink JH (2007) *Trendanalyse hydrobiologische gegevens Friesland*. Grontmij-rapport 210455 // Koeman en Bijkerk-rapport 2007-015 / Adviseur Water en Natuur-rapport 605. Grontmij | AquaSense, Amsterdam / Koeman en Bijkerk, Haren / Herman van Dam, Adviseur Water en Natuur, Amsterdam. 175 pp.
- Van Dam H, Mertens A & Janmaat LM (1993) *De invloed van atmosferische depositie op diatomeeën en chemische samenstelling van het water in sprengen, beken en bronnen*. IBN-rapport 52. DLO-Instituut voor Bos- en Natuuronderzoek, Wageningen. 124 pp.
- Van Dam H, Mertens A & Sinkeldam J (1994) A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from The Netherlands. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology* 28: 117-131.
- Van Dam H, Van den Berg, M, Portielje, R. & Kelly M (2007) Een herziene maatlat voor fyto bentos van stromende wateren. *H₂O* 40(21): 38-42.
- Van de Vijver B & Beyens L (1996) Diatomeeën en waterkwaliteit in het bekken van de Kleine Nete. *Diatomedelingen* 20: 30-37.
- Van den Berg M (red) (2004) *Achtergronddocument referenties en maatlaten waterflora*. Expertteam macrofyten en fytoplankton. STOWA, Utrecht / Rijkswaterstaat RIZA, Lelystad. 116 pp.
- Van der Molen DT & Pot R (2007a) *Referenties en maatlaten voor natuurlijke watertypen voor de Kaderrichtlijn Water*. Rapport 2007-32. STOWA, Utrecht. 361 pp.
- Van der Molen DT & Pot R (2007b) *Referenties en maatlaten voor natuurlijke watertypen voor de Kaderrichtlijn Water. Aanvulling kleine typen*. Rapport 2007-32B. STOWA, Utrecht. 166 pp.
- Van der Werff A (1955) A new method of concentrating and cleaning diatoms and other organisms. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie* 12: 276-277.
- Van der Werff A & Huls H (1957-1974) *Diatomeeënflora van Nederland*. 10 losbladige afleveringen. Van der Werff, Abcoude / De Hoef.
- Van Heurck H (1880-1885) *Synopsis des Diatomées de Belgique*. Anvers. 235 pp + 132 t.
- Van Splunder I, Pelsma TAHM & Bak A (red) (2006) *Richtlijnen monitoring oppervlaktewater Europese Kaderrichtlijn Water*. Versie 1.3, augustus 2006. Landelijk Bestuurlijk Overleg Water. 91 pp.

- Vos PC (1989) *Pilot studie naar microverontreinigingen in benthische diatomeeën*. Rijksuniversiteit Utrecht, Instituut voor Aardwetenschappen, afd. Vergelijkende Sedimentologie, Utrecht. 52 pp + bijl.
- Wetzel RG (ed) (1983) *Periphyton of freshwater ecosystems*. Proceedings of the first international workshop on periphyton of freshwater ecosystems held in Växjö, Sweden, 14-17 September 1982. Developments in Hydrobiology 17. Junk, Den Haag. 346 pp.
- Wetzel RG (2001) *Limnology: lake and river ecosystems* (3rd ed). Academic Press, San Diego. 1006 pp.
- Witkowski A, Lange-Bertalot H & Metzeltin D (2000) *Diatom flora of marine coasts 1*. Iconographia Diatomologica 7. Gantner, Russel, 925 pp.



WERKVOORSCHRIFT 9A BEMONSTERING VAN KIEZELWIEREN IN OPPERVLAKTEWATER

9A.1 Doel en toepassingsgebied

Dit werkvoorschrift heeft betrekking op kiezelwieren uit het aangroei van zoete tot brakke, stilstaande en stromende wateren. Het bevat op de eerste plaats richtlijnen voor het bemonsteren van deze algen. Op de tweede plaats geeft het aanwijzingen voor het verzamelen en verwerken van metagegevens. Op de derde plaats geeft het adviezen voor de kwaliteitszorg van de bemonstering.

De beschreven bemonsteringsmethode is bedoeld voor de volgende toepassingen:

- beoordeling ecologische kwaliteit volgens de KRW-maatlat (Van der Molen & Pot 2007a en 2007b);
- beoordeling ecologische kwaliteit volgens EBeo (STOWA 2006);
- habitattyping volgens Van Dam *et al.* (1994).

9A.2 Beginsel

Uit een oppervlaktewater neemt men een monster van aangroei van ondergedoken substraten, bij voorkeur oever- en waterplanten. De bemonstering voert men uit in de optimale periode. Men conserveert het monster zo snel mogelijk na monsterneming en bewaart het in de tussentijd koel en donker.

9A.3 Normen

Onderdelen van dit voorschrift zijn gebaseerd op de volgende normen:

NEN-EN 13946:2003

Water quality - Guidance standard for the routine sampling and pretreatment of benthic diatoms from rivers (Richtlijn voor de routinematige bemonstering en monstervoorbehandeling van benthische diatomeeën in rivieren) - juni 2003.

NEN-EN 14407:2004

Water quality - Guidance standard for the identification, enumeration and interpretation of benthic diatom samples from running waters (Richtlijn voor de determinatie, telling en interpretatie van monsters van benthische diatomeeën uit stromend water) - september 2004.

NEN-EN 14996:2006

Water quality - Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment (Richtlijn voor de kwaliteitsborging van biologische en ecologische beoordelingen in het aquatische milieu) - juni 2006.

9A.4 Termen en definities

De in dit voorschrift gebruikte termen en definities zijn verklaard in [bijlage 1](#). Zie ook de normbladen NEN-EN 13946, NEN-EN 14407 en NEN-EN 14996.

9A.5 Chemicaliën

Als men niet kan volstaan met invriezen (zie [paragraaf 12](#)) heeft men voor het conserveren van monsters de volgende chemicaliën nodig:

- a formaline: voor langdurige conservering van monsters (voor bereiding en gebruik zie [bijlage 12](#));
- b zoutzuur: voor kortdurende conservering van monsters, als alternatief voor invriezen.

9A.6 Apparatuur en hulpmiddelen

Voor het bemonsteren van kiezelwieren in aangroeiSEL heeft men de volgende apparaten en hulpmiddelen nodig:

- a ijskrabber: voor het verwijderen van aangroeiSEL van beschoeiing als alternatief voor het zakmes;
- b monsterbuizen of -potjes die goed afsluitbaar zijn; handig voor korte-termijnopslag (minder dan één jaar) zijn kunststof centrifugebuizen (50 ml) met schroefdoop (zie [bijlage 10](#)), waarin het materiaal ook verder behandeld kan worden; voor lange-termijnopslag met formaline hebben potjes de voorkeur;
- c stevige (snoei)schaar: voor het onder water afknippen van stengels van oever- en waterplanten;
- d spuitfles: gebruik een spuitfles met leidingwater of demiwater om afgeborsteld aangroeiSEL van stenen, tandenborstel en zakmes te spoelen;
- e tandenborstels: voor het verwijderen van fytoBenthos van stenen; neem een stevige tandenborstel en gebruik voor elk monster een nieuwe tandenborstel, om contaminatie te voorkomen;
- f vriezer: om monsters voor kortdurende conservering in op te slaan bij een temperatuur van -12 tot -18 °C, als alternatief voor conservering met zoutzuur;
- g zakmes: voor het verwijderen van fytoBenthos van stenen of beschoeiing (als alternatief voor de ijskrabber); maak het mes na elke bemonstering goed schoon, om contaminatie te voorkomen.

9A.7 Bemonsteringsperiode

- 1 Kiezelalgen worden één tot twee keer per jaar bemonsterd.
- 2a Bij één bemonstering per jaar: kies het tijdstip van de bemonstering in april;
- 2b Bij twee bemonsteringen per jaar: kies het tijdstip van de voorjaarsbemonstering in april en dat van de najaarsbemonstering in september.

Opmerking

Deze bemonsteringsperiodes zijn minder ruim dan die in de EBeo-systemen en in twee gevallen (EBeoKan en EBeoSlo) afwijkend van deze ([tabel 9A.1](#)). We hebben deze keuze gemaakt om de vergelijkbaarheid te vergroten.

Tabel 9A.1 Bemonsteringsperiodes per beoordelingssysteem

- Voorkeursperiode
- Maakt deel uit van de voorgeschreven periode in EBeo, maar wordt afgeraden in dit voorschrift

BEOORDELING-SYSTEEM	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	BEMONSTERINGS-TIJDSTIP(PEN)	AANTAL MONSTERS
KRW alle watertypen			1								april	1
EBeoBrak		1						1			april en september	2
EBeoGat		1						0-1			april en eventueel september	1 tot 2
EBeoKan		1						0-1			april en eventueel september	1 tot 2
EBeoSlo		1						0-1			april en eventueel september	1 tot 2
EBeoStad		1									april	1
Hatitattypering		1						0-1			apr en zo mogelijk september	1 tot 2

9A.8 Meetpuntkeuze

- 1 Kies het meetpunt zo dat de bemonstering monsters oplevert die representatief zijn voor het te beoordelen waterlichaam of deel van het waterlichaam¹. Dit betekent een meetpunt niet te dicht bij versturende elementen, zoals een zijwater, een brug, een sluis of een lozingspunt.
- 2 Kies binnen deze voorwaarden bij voorkeur een meetpunt dat in het verleden eerder is bemonsterd.

9A.9 Substraatkeuze

- 1 Kies van nature aanwezige substraten volgens het voorkeurslijstje van [tabel 9A.2](#).
- 2 Als geen geschikte substraten aanwezig zijn, kies dan voor uit te zetten, gepelde rietstengels bevestigd in een dobber.

Tabel 9A.2 Voorkeurslijstje voor substraatkeuze

EERSTE VORKEUR	Riet
TWEDE VORKEUR	Andere oeverplanten als Liesgras en Rietgras (geen Gele lis) Ondergedoken waterplanten als waterpest, fonteinkruid, veenmos Ondergedoken stengels van drijfbladplanten als Gele plomp, waterlelie
DERDE VORKEUR	Takjes die geruime tijd in het water hebben gehangen of gelegen Oeverbeschoeiing Stenen

9A.10 Uitvoering

Algemeen

- 1 Bemonster het aangroei op meerdere monsterpunten binnen een gebied tot maximaal 50 m van het meetpunt (tenzij men werkt met kunstmatig substraat).
- 2 Kies monsterpunten die grenzen aan open water.
- 3 Verzamel het materiaal in monsterbuizen wanneer de monsters binnen een jaar en in de buis voorbehandeld worden; verzamel het materiaal in monsterpotjes wanneer de monsters voor een langere termijn geconserveerd en opgeslagen worden (zie ook [paragraaf 9A.12](#)).
- 4 Sla de monsters tijdens het veldwerk op in een koelbox met koelementen, wanneer ze niet direct geconserveerd worden.

Oeverplanten

- 1 Kies stengels die in het water staan en grenzen aan het open water. Kies geen stengels aan de landzijde van een brede rietkraag (zie [figuur 9A.1](#)).

¹ In sommige waterlichamen zal één meetpunt niet representatief kunnen zijn voor de toestand van het gehele waterlichaam, maar wel voor een deel ervan.

- 2 Kies vier tot acht stengels van verschillende leeftijd uit en vermijd daarbij heel jonge stengels en groeipunten².
- 3 Knip de stengel onder water af met de snoeischaar, op een hoogte van vijftien à twintig centimeter onder de waterspiegel (zie [opmerking 1](#)).
- 4 Haal de afgeknipte stengel voorzichtig en rechtstandig omhoog uit het water, om te voorkomen dat los aangehechte algen er vanaf vallen.
- 5 Steek het onderste deel van de stengel in de monsterbuis of -pot en knip dit af op een hoogte van tien à vijftien centimeter, of zoveel korter dat het in de buis of pot past (zie [opmerking 2](#)). Op deze wijze verzamelt men stengeldelen die zich minimaal vijf en maximaal twintig centimeter onder de waterspiegel bevinden en voorkomt men contact met de handen (zie [figuur 9A.2](#)).

NB: voeg geen water toe aan een monster dat wordt ingevroren; aanhangend water vormt geen probleem.

Fig 9A.1 Plaatsen voor het bemonsteren van rietstengels

Ongeschikte plaats (links) en geschikte plaats (rechts). Foto's: Koeman en Bijkerk.



Opmerking 1

Houd bij het afknippen rekening met waterstandsveranderingen in de voorafgaande paar weken! Is de waterstand sterk gestegen knip de stengels dan op grotere diepte af. Als de waterstand onlangs sterk gedaald is kan men ook nog drooggevallen, maar tot voor kort onder water staande stengels bemonsteren. Deze opmerking is ook van toepassing op de bemonstering van takjes, beschoeiing en stenen.

Opmerking 2

Stop niet teveel materiaal in één buis of pot; de stengels moeten 'los' in de monsterbuis of -pot zitten.

² Van Splunder *et al.* (2006) bevelen aan om tien tot dertig rietstengels te verzamelen. Dat is in de dagelijkse praktijk veel meer dan nodig voor de analyse.

Fig 9A.2 Knippen van de stengels

Van enkele stengels aan de waterzijde van de rietgordel worden stukken van vijf tot tien centimeter lang afgeknipt.

Foto's: R. Torenbeek.



Waterplanten

- 1 Knip stukken van vijf tot tien centimeter lang van ondergedoken waterplanten of stengels van drijfbladplanten.
- 2 Ga verder als bij de bemonstering van oeverplanten stap 4.

Takjes

- 1 Kies takjes die zich geheel of gedeeltelijk onder water bevinden, op een plaats die volledig is blootgesteld aan het open water.
- 2 Knip met een snoeischaar stukken van vijf tot tien centimeter lang van de ondergedoken takjes.
- 3 Ga verder als bij de bemonstering van oeverplanten stap 4.

Stenen

- 1 Kies stenen of grof grind (groter dan 64 mm) die zich geheel onder water bevinden op een plaats die volledig is blootgesteld aan het open water.
- 2 Haal de stenen of het grind boven water en borstel en schraap de (vaak slijmerige) begroeiing van de zij-kanten af boven een bakje.
- 3 Spoel het aangroeijsel met wat demi- of kraanwater³ uit het bakje in het monsterpotje of de monsterbuis.

³ Gebruik geen oppervlaktewater, dit geeft kans op contaminatie met planktondiatomeeën.

Beschoeiing

- 1 Kies beschoeiing of houten substraten die zich geheel of gedeeltelijk onder water bevinden op een plaats die volledig is blootgesteld aan het open water.
- 2 Neem van de ondergedoken delen van de houten substraten net het bovenste flintertje hout mee, met een ijskrabber of zakmes, zodat alle aangehechte algen worden verzameld.
- 3 Spoel het aangroeijsel met een spuitfles met demi- of kraanwater van ijskrabber of zakmes in het monsterpotje of de monsterbuis.

Uitgezette rietstengels

- 1 Neem overjarige rietstengels zoals die gebruikt worden door rietdekkers.
- 2 Pel de rietstengels door de bladscheden te verwijderen.
- 3 Knip de stengels in stukken van de juiste lengte (minimaal vijftien centimeter moet zich onder het wateroppervlak bevinden).
- 4 Plaats minimaal tien stengels op het meetpunt, zodanig dat minimaal vijftien centimeter van de stengels zich onder het wateroppervlak bevindt en de rietstengels volledig zijn blootgesteld aan het open water. Voor de plaatsing van de rietstengels kan men het beste gebruik maken van een dobber (zie [paragraaf 9.4.4](#), [figuur 9.7](#)).
- 5 Oogst de rietstengels na zeven weken incubatie op een wijze als beschreven voor oeverplanten vanaf stap 3.

9A.11 Etikettering

Etiketdeer de monsterfles of -buis op de voorgeschreven wijze (zie [bijlage 11](#)).

9A.12 Conservering en opslag

Kortetermijnopslag (korter dan één jaar)

- 1 Sla de buis met het monster na aankomst in het laboratorium, maar in ieder geval binnen 12 uur na bemonstering, op in een vriezer bij een temperatuur van -12 tot -18 °C.

Als alternatief voor het invriezen kan men de buis voor de helft tot driekwart vullen met een 10% oplossing van zoutzuur. Hierdoor worden de diatomeeën alvast losgeweekt van het substraat (zie ook [Werkvoorschrift 9B Analyse van kiezelwieren](#), [paragraaf 9B.7](#)). Men kan de zoutzuuroplossing al in het veld toevoegen, mits de buis volkomen waterdicht afgesloten kan worden.

Langetermijnopslag (langer dan één jaar)

- 1 Vul de pot met het monster voor ongeveer driekwart met formaline tot een eindconcentratie van 1% formaldehyde.
- 2 Sla het geconserveerde monster op in het donker bij een temperatuur van 4 à 5 °C.

Opmerking

Formaldehyde levert gevaren op voor de gezondheid: voorkom inademing en werk met handschoenen.

Tip

Handig is om de monsterpotten voor aanvang van het veldwerk te voorzien van enkele milliliters 37% formaline. Bij de bemonstering brengt men de stengeldelen over in de pot en voegt men leidingwater toe tot een eindconcentratie van ongeveer 1% formaldehyde. Bij gebruik van 200 ml potjes volstaat een bodempje van 5 ml 37% formaline. NB: niet het hele monster hoeft in formaline te worden ondergedompeld.

9A.13 Rapportage

Bij de bemonstering legt men metadata vast die nodig zijn voor de interpretatie van de bemonsterings-

resultaten (zie [hoofdstuk 2](#) voor het begrip metadata).
De metadata worden gekoppeld aan het unieke *monsternummer*.

Leg in het veld onder het monsternummer de volgende gegevens vast op veldformulier of in veldcomputer:

- naam van de monsternemer(s);
- code van het meetpunt⁴;
- datum van bemonstering (in DD-MMM-JJJJ, dat wil zeggen: 12 aug 2008);
- tijdstip van bemonstering (in HH:MM, dat wil zeggen: 13:30);
- x,y-coördinaten van het meetpunt;
- naam van het water waarin het meetpunt ligt;
- gehanteerde werkvoorschrift;
- verzamelde of bemonsterde substraten;
- weersomstandigheden tijdens de bemonstering;
- bijzonderheden tijdens de bemonstering (bijvoorbeeld sterke waterstandsval in de voorafgaande periode, aanwezigheid drijfslaag, aanwezigheid grote grazers in het water, ...).

9A.14 Kwaliteitszorg

Kwaliteitszorg op het gebied van bemonstering moet:

- de reproduceerbaarheid en betrouwbaarheid van de bemonstering bevorderen;
- de kwaliteit van de monsters over lange termijn bevorderen.

Overige punten die de kwaliteit van het veldwerk moeten bevorderen worden besproken in de hoofdstukken 3 en 5.

Eerstelijnscontrole

De eerstelijnscontrole is bedoeld om fouten in de uitvoering van een onderzoek te voorkomen. Voor de bemonstering van kiezelwieren betekent dit:

- werk volgens dit voorschrift;
- zorg dat het materiaal schoon is voor iedere bemonstering;
- zorg voor schone monsterflessen en potjes;
- zorg voor toereikende en zorgvuldige etikettering van de monsters;
- zorg voor een duurzame conservering van monsters gedurende de opslagperiode;
- controleer of de monsters op de juiste plaats, het juiste moment en op de juiste wijze zijn verzameld en de veldwerkstaten volledig en correct zijn ingevuld.

Tweedelijnscontrole

De tweedelijnscontrole is bedoeld om de reproduceerbaarheid van de bemonstering binnen één laboratorium te testen. Voor de bemonstering van kiezelwieren betekent dit:

- zorg voor een goede, interne opleiding van nieuwe collega-bemonsteraars, waarvan een stage onder begeleiding van een ervaren collega deel uitmaakt;
- organiseer gezamenlijke bemonsteringen in verschillende watertypen, minimaal een keer per jaar.

⁴ Onder de meetpuntcode is bij veel beheerders al een grote hoeveelheid informatie over het meetpunt opgeslagen, zoals de naam van het water en de x,y-coördinaten. Toch is het goed om enkele aanvullende meetpuntidentificatiegegevens in het veld te noteren, om bij afwijkingen (schrijf- of aanwijsfouten in de monstercode) toch de juiste gegevens te kunnen achterhalen.

Derdelijnscontrole

De derdelijnscontrole is bedoeld om de betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid van onderzoeksresultaten tussen laboratoria te testen. Het gebruikelijke ringonderzoek richt zich echter alleen op de analyse, niet op de bemonstering.

Het beste alternatief op dit moment is je aansluiten bij een landelijk overleg van collega-analisten/onderzoekers (zie [bijlage 2](#) voor adressen). Hier kunnen problemen uit de praktijk van de bemonstering besproken worden. Nog beter is om minstens eens per jaar met collega's of experts van andere instanties het veld in te gaan om te zorgen dat de bemonstering op vergelijkbare wijze wordt uitgevoerd.

9A.15 Literatuurverwijzingen

- NEN-EN 13946 (2003) *Water quality - Guidance standard for the routine sampling and pretreatment of benthic diatoms from rivers*. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 14 pp
- NEN-EN 14407 (2004) *Water quality - Guidance standard for the identification, enumeration and interpretation of benthic diatom samples from running waters*. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 12 pp.
- NEN-EN 14996 (2006) *Water quality - Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment*. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 14 pp.
- STOWA (2006) *Handboek Nederlandse ecologische beoordelingssystemen (EBEO-systemen). Deel A. Filosofie en beschrijving van de systemen*. Rapport 2006-4. STOWA, Utrecht. 255 pp + CD-ROM.
- Van Dam H, Mertens A & Sinkeldam J (1994) A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from The Netherlands. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology* 28: 117-131.
- Van der Molen DT & Pot R (2007a) *Referenties en maatlatten voor natuurlijke watertypen voor de Kaderrichtlijn Water*. Rapport 2007-32. STOWA, Utrecht. 361 pp.
- Van der Molen DT & Pot R (2007b) *Referenties en maatlatten voor natuurlijke watertypen voor de Kaderrichtlijn Water. Aanvulling kleine typen*. Rapport 2007-32B. STOWA, Utrecht. 166 pp.
- Van Splunder I, Pelsma TAHM & Bak A (red) (2006) *Richtlijnen monitoring oppervlaktewater Europese Kaderrichtlijn Water*. Versie 1.3, augustus 2006. Landelijk Bestuurlijk Overleg Water. 91 pp.

WERKVOORSCHRIFT 9B ANALYSE VAN KIEZELWIERNEN IN OPPERVLAKTEWATER

9B.1 Doel en toepassingsgebied

Dit werkvoorschrift heeft betrekking op kiezelwieren uit het aangroei van zoete tot brakke, stilstaande en stromende wateren. Het bevat op de eerste plaats richtlijnen voor het prepareren en analyseren van kiezelwiermonsters. Op de tweede plaats geeft het aanwijzingen voor het verwerken van de verzamelde gegevens en de vastlegging van metagegevens. Op de derde plaats geeft het adviezen voor de kwaliteitszorg van de analyse.

De beschreven analysemethoden zijn bedoeld voor de volgende toepassingen:

- beoordeling ecologische kwaliteit volgens de KRW-maatlat (Van der Molen & Pot 2007a en 2007b);
- beoordeling ecologische kwaliteit volgens EBeo (STOWA 2006);
- habitattypering volgens Van Dam *et al.* (1994).

9B.2 Beginsel

Van een aangroeimonster uit oppervlaktewater scheidt men de kiezelwieren af en verwerkt deze tot een zo zuiver mogelijke suspensie van kiezelschaaltjes. Van een deelmonster van deze suspensie maakt men een preparaat waarin de structuren van de verkiezelde schaaltes van de diatomeeën onder het lichtmicroscopio zo goed mogelijk zichtbaar zijn. Aan dit preparaat bepaalt men de soortensamenstelling met behulp van lichtmicroscopie, op basis van een steekproef van tweehonderd schaaltes.

9B.3 Normen

Onderdelen van dit voorschrift zijn gebaseerd op de volgende normen:

NEN-EN 13946:2003

Water quality - Guidance standard for the routine sampling and pretreatment of benthic diatoms from rivers (Richtlijn voor de routinematige bemonstering en monstervoorbehandeling van benthische diatomeeën in rivieren) - juni 2003.

NEN-EN 14407:2004

Water quality - Guidance standard for the identification, enumeration and interpretation of benthic diatom samples from running waters (Richtlijn voor de determinatie, telling en interpretatie van monsters van benthische diatomeeën uit stromend water) - september 2004.

NEN-EN 14996:2006

Water quality - Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment (Richtlijn voor de kwaliteitsborging van biologische en ecologische beoordelingen in het aquatische milieu) - juni 2006.

9B.4 Termen en definities

De in dit voorschrift gebruikte termen en definities zijn verklaard in [bijlage 1](#). Zie ook de normbladen NEN-EN 13946, NEN-EN 14407 en NEN-EN 14996.

9B.5 Chemicaliën

Voor de analyse van kiezelwieren heeft men de volgende chemicaliën nodig:

- a antifoam: om eventuele schuimvorming tijdens de oxidatiestappen tegen te gaan;
- b ethanol 80%: voor het conserveren van gereinigde kiezelschaaltjes en voor het schoonmaken van voorwerp- en dekglasjes;

- c immersie-olie: middelmatig visceuze olie voor olie-immersie-objectieven zonder PCB's of epoxyhars (voor toelichting zie [bijlage 12](#));
- d inbedmiddel met brekingsindex tussen 1,65 en 1,75, bij voorkeur ZRax, Naphrax, of Pleurax (zie [bijlage 12](#));
- e oplosmiddel voor inbedmiddel (bijvoorbeeld toluen);
- f water (gedestilleerd water, gedemineraliseerd water, of milli-Q);
- g waterstofperoxide 30%: voor de oxidatie van organische stof;
- h zoutzuur 10%: voor het losmaken van kiezelwieren en het oplossen van kalk en ijzerzouten; en eventueel:
- i zwavelzuur 96%: voor het verkolen van organische stof, voorafgaand aan de oxidatie; dit is een facultatieve stap.

9B.6 Apparatuur en hulpmiddelen

Voor de analyse van kiezelwieren heeft men de volgende apparaten, hulpmiddelen en verbruiksartikelen nodig:

- a dekglasjes, dikte 0,15-0,17 mm, rond (diameter 18 tot 20 mm) of vierkant (18 x 18 mm);
- b etiketten: om preparaten te etiketteren; grootte ongeveer 20 x 22 mm;
- c flesjes of buisjes van kunststof die goed afsluitbaar zijn (inhoud 2 tot 10 ml): om suspensies van gereinigde schaaltes in op te slaan; zogenaamde safe-lock reactievaatjes van 2 ml voldoen ook;
- d handschoenen van kunststof: als persoonlijk beschermingsmiddel (zie [hoofdstuk 4](#));
- e graveerpen: voor het merken van reageerbuisen en objectglasjes (als alternatief voor de watervaste viltstift);
- f hevelaar: om bovenstaand water in reageerbuisen af te hevelen;
- g kookplaat: voor het inbedden van kiezelschaaltjes;
- h laboratoriumjas: als persoonlijk beschermingsmiddel (zie [hoofdstuk 4](#));
- i lenzenpapier
- j multi-blok heater of waterbad: voor het verwarmen van monsters tijdens de oxidatie;
- k objectglasjes, grootte 76 x 26 mm; handig is het gebruik van objectglasjes met een matte rand, waarop met potlood kan worden geschreven;
- l oppervlaktespanningsverlager: om te zorgen voor een goede spreiding van de kiezelschaaltjes over het dekglasje (als alternatief voor 80% ethanol);
- m pasteurpipetten;
- n pincetten en prepareernaalden;
- o preparatenmappen of -dozen;
- p reageerbuisen, inhoud ongeveer 15 tot 20 ml;
- q microscoop (zie [bijlage 15 en 16](#));
- r strekplaat: voor het drogen van preparaten (een kookplaat kan ook voldoen);
- s tissues: voor het schoonmaken van hulpmiddelen zoals pincetten;
- t watervaste stift: voor het merken van reageerbuisen en objectglasjes; viltstift is niet altijd bestand tegen warme dampen, een beter alternatief is daarom de graveerpen.

Extra benodigd, als men kiest voor de mechanische extractie van kiezelwieren (geen voorkeursmethode):

- u diep bord: voor het verzamelen van afgeschraapt aangroei;
- v scalpel: voor het afschrappen van aangroei.

9B.7 Prepareren

Bij het prepareren onderscheiden we de volgende drie stappen:

- 1 extractie: de diatomeeën worden uit een monster losgemaakt van hun substraat en gesuspendeerd in water;
- 2 oxidatie: de organische stof binnen en buiten de diatomeeëncellen wordt uit het materiaal verwijderd;
- 3 inbedding: van de resterende kiezelschaaltjes (en overig slecht oxideerbaar materiaal) wordt een preparaat gemaakt dat optimaal geschikt is voor microscopisch onderzoek.

Let op

Alle stappen moeten in de zuurkast worden uitgevoerd (figuur 9B.1). Formaline, zoutzuur en de oplosmiddelen van de harsen voor het inbedden, leveren bij inademing en huidcontact gevaar op voor de gezondheid. Bovendien reageert formaline met zoutzuur onder vorming van het kankerverwekkende bis(chloormethyl)ether.

In de eerste twee stappen worden ook kalk- en ijzerzouten opgelost. Om deze vervolgens te verwijderen wordt het monster meerdere keren gewassen. Met wassen bedoelen we het uitwassen van stoffen zoals zouten of formaline uit een monster. Dit doen we door de stappen 1 tot en met 5 in het voorschrift Wassen (paragraaf 9B.7.2) minimaal drie keer uit te voeren. Twee keer wassen is beslist onvoldoende. Bij de laatste wasstap voorafgaand aan het inbedden raden we vier keer wassen aan.

Tijdens het prepareren worden monsters overgebracht in andere buizen en tenslotte op dek- en objectglaasjes. De kans op het verwisselen van monsters is hierbij reëel. Voorkom verwisselingen door een vaste werkwijze, bijvoorbeeld door de monsters steeds op numerieke volgorde af te werken (zie ook paragraaf 9B.11 Kwaliteitszorg).

Fig9B.1 Werken bij de zuurkast

1: buisje voor bewaren geoxideerd materiaal, 2: buisje met knikker tijdens oxidatie, 3: Multi-blok heater, 4: buisje met thermometer, 5: inbedmiddel, 6: objectglaasjes, 7: strekplaat met dekglasjes en identificatiestroom, 8: bekeerglas met voor-geweekte dekglasjes, 9: hevelpompje, 10: buisjes met geoxideerd materiaal en pasteurpipetten, 11: demi-water, 12 hevel (pasteurpipet aan slang), 13: kunststof handschoen, 14 (veiligheids)bril.



9B.7.1 Extractie

Chemische extractie (voorkeursmethode)

- 1 Voorzie de buizen waarin men het substraat extraheert van monsternummers die bestand zijn tegen warme dampen, met een graveerpen of een watervaste viltstift¹.
- 2 Verwijder eventuele formaline door oxidatie met peroxide of door drie maal te wassen met water¹.
- 3 Dompel het substraat in de buis voor de helft onder in 10% zoutzuur².
- 4 Sluit de buis met de schroefdop goed af en schud een aantal keren zodat al het materiaal doorweekt is met zoutzuur.
- 5 Zet de buis in een rekje en draai de dop iets los zodat vrijkomend gas kan ontsnappen.
- 6 Laat de buis met het substraat zo minimaal twee dagen staan bij kamertemperatuur, maar schud de buis af en toe (denk eraan om de dop eerst goed dicht te draaien!).
- 7 Schud de buis goed en geef grove deeltjes enkele seconden om te bezinken.
- 8 Giet de bovenstaande vloeistof met het losgeweekte aangroei over in een schone, glazen reageerbuis (dit noemen we decanteren).
- 9 Zet de reageerbuis in een rekje, dek de buis af, bijvoorbeeld met een schone knikker om invallen van andere diatomeeën en stof te voorkomen en laat het materiaal ten minste 24 uur bezinken.
- 10 Verwijder zoveel mogelijk kalk, ijzer en zoutzurestanten, door het monster in de reageerbuis drie keer te wassen volgens het voorschrift Wassen (zie [paragraaf 9B.7.2](#)).
- 11 Verwijder na de laatste wasstap zoveel mogelijk water.

Mechanische extractie

- 1 Voorzie de buizen waarin men het extract zal overbrengen van monsternummers die bestand zijn tegen warme dampen, met een graveerpen of een watervaste viltstift.
- 2 Giet de inhoud van het monsterpotje met (ontdooid) plantenmateriaal, ander substraat en monstervloeistof uit op een diep bord met vlakke bodem.
- 3 Schraap van riet- en soortgelijke stengels de buitenste laag af (bijvoorbeeld met een scalpel of de scherpe kant van een objectglaasje) en gooi de binnenste lagen weg.
- 4 Snijd slappe stengels en bladeren (bijvoorbeeld van vederkruid) in stukjes van circa 1 cm lang.
- 5 Meng al het afschraapsel en gefragmenteerd substraat goed en breng een deel ervan (circa 1 cm³) met een pincet over in een reageerbuis. Doe de rest van het materiaal terug in het monsterpotje.
- 6 Neem met een pipet een even grote hoeveelheid monstervloeistof uit het bord en voeg dit toe aan de reageerbuis. Doe de rest van de vloeistof terug in het monsterpotje en maak het bord en het afschraap- en snijgerei goed schoon door ze te spoelen met kraanwater en af te drogen met tissues.
- 7 Zet de reageerbuis met het monster in een rekje en verwijder eventuele formaline door oxidatie met peroxide of door drie maal te wassen volgens het voorschrift Wassen (zie [paragraaf 9B.7.2](#)). Dek de reageerbuis tussendoor af met een schone knikker om het invallen van andere diatomeeën en stof te voorkomen.
- 8 Voeg enkele druppels 37% zoutzuur toe om kalk en ijzertzouten op te lossen (pas op voor het bruisen). Vul aan met water, dek de buis af met een knikker en laat het materiaal 24 uur bezinken.
- 9 Verwijder zoveel mogelijk kalk, ijzer en zoutzurestanten, door het monster in de reageerbuis drie keer te wassen volgens het voorschrift Wassen.
- 10 Verwijder na de laatste wasstap zoveel mogelijk water.

¹ Wanneer men het substraat al in het veld heeft verzameld in geschikte, gelabelde buizen en het monster heeft geconserveerd door invriezen of met zoutzuur, zijn de stappen 1 en 2 niet nodig.

² Deze stap is niet nodig wanneer men het monster in het veld heeft geconserveerd met zoutzuur.

9B.7.2 Wassen

Voorafgaand aan het wassen moet het materiaal in de reageerbuis minimaal 24 uur hebben kunnen bezinken.

- 1 Hevel zoveel mogelijk van de bovenstaande vloeistof (het supernatant) af.
- 2 Vul de reageerbuis voor 90% met water en meng de inhoud goed.
- 3 Zet de reageerbuis in een rekje op een trillingsvrije plaats.
- 4 Dek de buis af met een knikker om het invallen van stof of andere diatomeeën te voorkomen.
- 5 Laat de buis ten minste 24 uur staan zodat alle kiezelwieren kunnen bezinken.

Per wasbeurt voert men de stappen 1 tot en met 5 minimaal drie keer uit.

9B.7.3 Oxidatie

Men kan kiezen tussen een methode met en zonder voorafgaande verkoling van het organisch materiaal met zwavelzuur.

Let op

Blijf steeds aanwezig bij de reacties en let goed op (spontaan) overkokende monsters. In sommige buisjes is de reactie zo sterk dat materiaal over kan spatten naar andere buisjes. Zet deze daarom apart totdat de intensiteit van de reactie voldoende is afgenomen. De heftigheid kan vaak worden verminderd door wat antifoam toe te voegen, of door een pasteurpipet in het buisje te zetten. Daarmee kan geroerd worden, wat de heftigheid ook tempert.

Met verkoling

- 1 Voeg aan de buis met monstermateriaal 2 ml 96% zwavelzuur toe en dek de buis af met een schone knikker.
- 2 Verwarm het monster een uur bij 95 °C in waterbad of multi-blok heater.
- 3 Voeg vervolgens 2 ml 30% waterstofperoxide toe en laat de buis bij 95 °C staan zo lang als nodig om de zwarte kleur te doen verdwijnen (meestal gebeurt dit binnen een uur).
- 4 Laat de vloeistof afkoelen en vul aan met water. Dek de buizen weer af met een knikker en laat 24 uur bezinken.
- 5 Was het monster minstens drie keer volgens het voorschrift Wassen; verwijder na de eerste wasstap zonnig zand, volgens het voorschrift Verwijderen van zand (paragraaf 9B.7.4).
- 6 Voeg na de laatste wasstap aan het bezinksel een klein beetje water toe (gedestilleerd water, gedemineraliseerd water, of milli-Q) om een schone, geconcentreerde suspensie van kiezelschaaltjes te krijgen (de vloeistof ziet er dan licht troebel uit).

Zonder verkoling

- 1 Voeg aan de buis met monstermateriaal circa 1 ml 30% waterstofperoxide toe.
- 2 Voeg vijf tot tien druppels antifoam toe wanneer schuimvorming optreedt (vaak pas tijdens stap 3), of wanneer men schuimvorming verwacht (bij een dikke laag aangroei met blauwwieren, of bij het gebruik van boomwortels als substraat).
- 3 Dek de buis af met een knikker en verwarm ongeveer vier uur bij 80 °C. Voeg druppelsgewijs waterstofperoxide toe, zolang dit leidt tot een bruisreactie³.

³ Veel monsters zijn al na 1,5 uur uitgebruist, ook na het toevoegen van een paar verse druppels waterstofperoxide, maar sommige monsters blijven reageren. Na de heftige reacties kunnen deze monsters uitbruisen in de reageerbuisen, die dan aan het eind van de dag worden aangevuld met water. De volgende dag wordt dan verder gegaan met stap 4.

- 4 Verwijder na ongeveer een uur alle nog aanwezige grove stukjes materiaal (pincet na elke buis steeds goed schoonmaken!)⁴.
- 5 Laat de vloeistof afkoelen en vul aan met water. Dek de buizen weer af met een knikker en laat 24 uur bezinken.
- 6 Was het monster minstens drie keer volgens het voorschrift Wassen; verwijder na de eerste wasstap zand, volgens het voorschrift Verwijderen van zand (paragraaf 9B.7.4).
- 7 Voeg na de laatste wasstap aan het bezinksel een klein beetje water toe (gedestilleerd water, gedemineeraliseerd water, of milli-Q) om een schone, geconcentreerde suspensie van kiezelschaaltjes te krijgen (de vloeistof ziet er dan licht troebel uit).

9B.7.4 Verwijderen van zand

- 1 Vul de buis met het geoxideerde monster voor 90% met water en meng de inhoud goed.
- 2 Zet de buis in een rekje, laat de inhoud ca. vijf seconden bezinken.
- 3 Breng het supernatant onmiddellijk daarna over in een schone buis, door afzuigen, afhevelen, of voorzichtig decanteren.
- 4 Dek de buis af met een knikker om het invallen van stof of andere diatomeeën te voorkomen.
- 5 Laat de buis ten minste 24 uur staan zodat alle kiezelwieren kunnen bezinken.
- 6 Ga verder met de tweede en derde wasstap volgens het voorschrift Wassen.

9B.7.5 Inbedding

- 1 Zet voldoende object- en dekglasjes minimaal 48 uur voor de inbedding te week in 80% ethanol, om ze brandschoon te maken. Haal ze kort voor het gebruik uit de ethanol en leg ze te drogen op een schone tissue.
- 2 Breng op de objectglasjes een identificatiekenmerk aan, bijvoorbeeld het monsternummer, met potlood, graveerpen of viltstift⁵.
- 3 Maak eerst een proefpreparaat:
 - a laat met een pasteurpipet enkele druppels van de suspensie van kiezelschaaltjes op een dekglasje vallen en spreidt deze goed uit;
 - b laat de druppel opdrogen op een handwarme (ca. 45 °C) verwarmingsplaat of strekplaat;
 - c leg het gedroogde dekglasje met diatomeeën op een objectglasje;
 - d controleer in dit proefpreparaat microscopisch (kan al bij een vergroting van 200x) of de dichtheid van het materiaal goed is, of er geen klonten inzitten en of er niet te veel organisch materiaal is achtergebleven. Optimaal is een dichtheid van ongeveer vijf tot vijftien schaaltes per beeldveld bij een vergroting van 1250 - 1500x. Wanneer er veel (an)organische verontreinigingen in het materiaal zitten, is de dichtheid noodgedwongen lager;
 - e wanneer de dichtheid te groot is (schaaltjes liggen over elkaar heen), de suspensie verdunnen met water;
 - f wanneer de dichtheid te laag is (minder dan één schaalte per beeldveld), de suspensie concentreren door het materiaal te laten bezinken en iets van de bovenstaande vloeistof met een pasteurpipet af te zuigen;
 - g bij te veel organische verontreiniging moet men het materiaal nogmaals oxideren;
 - h klontering kan vaak worden opgeheven door de buis krachtig te schudden vóór het opbrengen van de suspensie op het dekglasje.

⁴ Deze stap is niet nodig na chemische extractie.

⁵ Als het te gebruiken dekglasje op de strekplaat óp het gelabelde objectglasje wordt gelegd is er een minimum aan etiketterwerk en minder kans op verwisseling van materiaal.

- 4 Maak zonnodig opnieuw een proefpreparaat en controleer de kwaliteit hiervan, volgens de bovenstaande stap 2.
- 5 Is de kwaliteit van het proefpreparaat goed dan kan men de 'echte' preparaten gaan maken (omdat de dichtheid van de monsters kan verschillen hoeft één goed proefpreparaat niet te betekenen dat de preparaten van alle monsters goed zijn).
- 6 Leg een dekglasje op een gelabeld objectglasje en breng enkele druppels gesuspendeerde diatomeeën-schaaltjes op het dekglasje. Maak zonnodig genummerde objectglasjes bij.
- 7 Droog de druppels op de verwarmingsplaat of strekplaat bij 45 °C (bij hogere temperaturen treden ongewenste stromingsverschijnselen op, waardoor de diatomeeën niet egaal over het preparaat verdeeld worden).
- 8 Breng op de ingedampde diatomeeën op het dekglasje een druppel inbedmiddel aan⁶ en leg het dekglasje omgekeerd op het objectglas.
- 9 Verhit het objectglasje zachtjes op de kookplaat, zodat het oplosmiddel van het inbedmiddel gaat koken (tolueen kookt bij 111 °C); bij te hoge verhitting verbrandt de hars! Werk hierbij in de zuurkast. Zodra er geen belletjes meer zichtbaar zijn, het dekglasje zo nodig aandrukken en het preparaat voorzichtig af laten koelen.
- 10 Etiketteer de preparaten (zie [bijlage 11](#)).
- 11 Bewaar de preparaten bij kamertemperatuur in daartoe bestemde mappen, dozen of kastjes. Leg de preparaten horizontaal, om uitzakken op de lange duur te voorkomen.
- 12 Bewaar de suspensie desgewenst in een klein, afsluitbaar kunststof buisje (2-10 ml), voorzie dit van de juiste monstergegevens ([bijlage 11](#)) en voeg een geschikt conserveermiddel toe (bijvoorbeeld 70% ethanol). Label de monsters, het liefst ook met een etiket in het flesje, geschreven met potlood of geprint met een laserprinter op transparant papier.
- 13 Gooi de gebruikte buizen en pasteurpipetten weg. Reinig de knikkers of gooi ze ook weg.

9B.8 Telling

De telstrategie is afgestemd op het bepalen van het aandeel van de meest abundanten soorten in een steekproef van precies tweehonderd schaaltes (of in speciale gevallen: een ander rond getal).

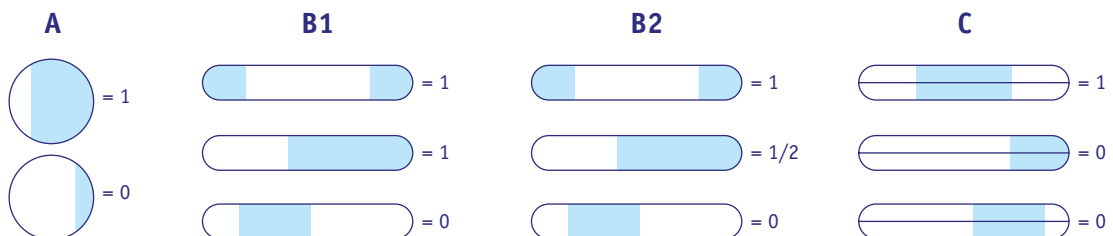
- 1 Leg een preparaat onder het microscoop en stel de belichting perfect in; bij helderveld- en fasecontrastbelichting moet men de instelling volgens het principe van Köhler gebruiken (zie [bijlage 15](#)). De optische kwaliteit is goed wanneer men de transapicale streepjes van *Frustulia saxonica* kan waarnemen.
- 2 Begin de bepaling met het opstellen van een soortenlijst door het preparaat globaal te scannen bij vergrotingen van 200x en 1000x. De soortenlijst hoeft niet uitputtend te zijn. Door deze kennismaking met het monster leer je gebroken schaaltes en op de zijkant liggende schaaltes herkennen.
- 3 Determineer en tel het door de opdrachtgever aangegeven aantal schaaltes, bij voorkeur precies tweehonderd, op de volgende wijze:
 - a gebruik een vergroting van minimaal 1000x;
 - b tel de schaaltes in minimaal tien aselekt gekozen beeldvelden of in transecten verdeeld over het preparaat. Zorg er voor dat transecten elkaar niet overlappen, zodat de schaaltes niet dubbel worden geteld;
 - c tel elk schaalte mee dat voor ten minste de helft in een beeldveld ligt, inclusief soorten die op de gordelzijde liggen (als men deze niet tot op de soort kan determineren, determineert men ze op een hoger taxonomisch niveau);

⁶ Indien de hars te dik is, verdun het dan door een scheutje verdunningsmiddel toe te voegen (bij Naphrax is dit tolueen). Als de hars met een pasteurpipet opgezogen kan worden is het dun genoeg.

- d tel gebroken schaaldelen mee, als volgt (zie [figuur 9B.2](#)):
- tel fragmenten mee die duidelijk groter zijn dan de helft van een schaalpje;
 - tel fragmenten die kleiner dan de helft van een schaalpje zijn alleen mee wanneer het centrale deel (bijvoorbeeld de rapheknoop) zichtbaar is; volg voor de rapheloze schalen de strategie van [figuur 9.12 B1](#), maar als er erg veel gebroken schalen zijn die van [figuur 9.12 B2](#);
 - als het centrale deel niet te onderscheiden is van de rest van het schaalpje (bijvoorbeeld bij *Asterionella*, *Eunotia* en sommige *Fragilaria*'s), tel dan de uiteinden van de schaalpjes en deel de som hiervan door twee;
 - tel gordelbanden (bijvoorbeeld van *Tabellaria*) niet mee.
- Indien bij het volledig tellen van het laatste beeldveld een groter aantal dan 200 zou worden bereikt wordt in dit veld van boven naar beneden geteld tot een totaal van 200.
 - Noteer de waargenomen soorten en de getelde aantallen daarvan op de werkstaat⁷ of voer deze direct in de computer in met daarvoor ontwikkelde programma's⁸;
 - Verwijder na de telling met een tissue de immersie-olie van het preparaat en met lenzenpapier van het objectief.
 - Bewaar de preparaten liggend in het donker, om uitzakking van hars en dekglaasje te voorkomen.

Fig 9B.2 Tellen van gebroken schaalpjes

Gekleurde delen worden geteld voor de fractie die ernaast staat aangegeven. A: centrische schalen, B1 en B2: pennate rapheloze schalen, C: pennate rapheschalen. Naar: Schrader & Gersonde 1978.



Opmerking

Let bij het tellen goed op de conditie van de schaalpjes. Wanneer veel misvormde exemplaren aanwezig zijn, is het de moeite waard om de getelde aantallen per soort uit te splitsen in normale en misvormde exemplaren. Ook bijzonder hoge breukpercentages, veel gecorrodeerde (gedeeltelijk opgeloste) of opvallend kleine of zwak verkiezelde schaalpjes zijn de moeite van het noteren waard.

⁷ De werkstaat is een formulier waarop in de eerste kolom (standaardafkortingen van) taxonnamen worden genoteerd en in de volgende kolommen ruimte is voor het turven van aantallen en het noteren van de totale aantallen per soort. In de kop worden kenmerken van het preparaat genoteerd, in elk geval preparaatnummer, monsternummer, analysedatum, monsterplaats, onderzoeker en daarnaast bij voorkeur nog projectnummer, monstervedatum en aard van het monster. Een blanco vakje van 18 × 18 mm in de kop dient als plattegrondje van het dekglas, om daar eventueel de positie van gemerkte individuen aan te geven.

⁸ Er is een kans dat de papieren werkstaten op de lange duur niet bewaard blijven. Essentiële gegevens moeten daarom ook nog op een andere manier duurzaam worden opgeslagen.

9B.9 Determinatie

In de meeste gevallen kan de ervaren analist alle schaaltes determineren tot op soort of een lagere categorie, op hooguit enkele procenten na. Het streven is dat de totale procentuele abundantie van schaaltes gedetermineerd op geslachtsniveau of hoger altijd minder is dan 5%.

- 1 Ga bij de naamgeving uit van de TWN-lijst, waar mogelijk.
- 2 Baseer de determinatie op de in [bijlage 30](#) genoemde, noodzakelijke determinatieliteratuur.
- 3 Gebruik, zeker in het begin, de volledige determinatietabel om tot een soort te komen.
- 4 Bij twijfel over de keuze in de determinatietabel moeten beide mogelijkheden gevolgd worden; één van de twee blijkt dan vaak de meest waarschijnlijke;
- 5 Raadpleeg altijd de soortbeschrijving en controleer de zekerheid van de determinatie aan de hand van de habitustekeningen, de afmetingen en de milieuvoorkeur. De vondst van een acidofiele soort in een voedselrijke plas is niet heel waarschijnlijk.
- 6 Beoordeel de bijzonderheid van de waarneming aan de hand van de verspreidingsindicatie in de flora. Is de soort algemeen, of zeldzaam;
- 7 Maak gebruik van de aanvullende determinatieliteratuur, wanneer de diatomee niet helemaal overeenkomt met de beschrijving en afbeeldingen in de noodzakelijke literatuur;
- 8 Vergelijk de determinaties zonedig met referentiemateriaal uit de eigen verzameling of externe bronnen;
- 9 Wanneer men de soort niet met zekerheid kan vaststellen, determineer dan tot het eerstvolgende, hogere taxonomische niveau waarover men wel zeker is (meestal geslachtsniveau);
- 10 Maak afbeeldingen van niet te determineren en bijzondere soorten.
- 11 Laat de volgende waarnemingen controleren door een expert ([bijlage 2](#)):
 - a soorten die niet met zekerheid gedetermineerd kunnen worden en een aandeel in de abundantie hebben van méér dan 5%;
 - b de meest voorkomende taxa wanneer de totale relatieve abundantie van de niet tot op soort gedetermineerde taxa meer dan 10% bedraagt;
 - c soorten die met aanvullende literatuur op naam zijn gebracht en nog niet uit Nederland bekend zijn;
 - d soorten die in Nederland bekend staan als zeer zeldzaam of uitgestorven.
- 12 Noteer op de werkstaat of in het computerbestand ook of er foto's of tekeningen zijn gemaakt van de aangetroffen taxa en bij voorkeur ook de nummers van deze documenten.
- 13 Maak notities over eventuele onzekerheden in de determinaties en geef aan hoe hiermee wordt omgegaan (bijvoorbeeld: 'ter bevestiging opgestuurd naar expert X'). Deze bijzonderheden kunnen daarnaast ook worden genoteerd in een logboek, waar de analist deze gegevens snel in kan terugvinden.

9B.10 Rapportage

Bij de analyse worden metadata vastgelegd die nodig zijn voor de interpretatie van de analyseresultaten (zie [hoofdstuk 2](#) voor het begrip metadata). Men kan dan bijvoorbeeld besluiten om bepaalde resultaten niet mee te nemen in een ecologische beoordeling. Tevens moet men met deze data de eigen resultaten kunnen vergelijken met de resultaten van anderen en ze zonedig omzetten naar resultaten van anderen. De metadata worden gekoppeld aan het unieke *monsternummer*.

Leg op het lab onder het monsternummer (of LIMS-nummer) de volgende gegevens vast op een laboratoriumformulier (werkstaat), in het LIMS-systeem, of in een andere database:

- naam van de analist;
- datum van de analyse;
- gehanteerde prepareermethode;
- gehanteerde analysemethode;

- eventuele afwijkingen van de gebruikelijke werkwijze;
- gebruikte determinatieliteratuur;
- analyseresultaten per preparaat met per taxon het aantal getelde schaaltes en eventueel het aantal waarnemingen per taxon (is doorgaans kleiner dan het aantal schaaltes);
- het totaal aantal getelde taxa in het preparaat⁹;
- het totaal aantal getelde schaaltes in het preparaat⁹;
- voor bijzondere soorten: verwijzingen naar afbeeldingen (tekening, foto), beschrijvingen van afmetingen (lengte, breedte, diameter) en geraadpleegde experts (zie [paragraaf 9B.9](#) stap 11).

Opmerking

Leg essentiële gegevens niet uitsluitend vast op een werkstaat, maar ook in een digitale database.

9B.11 Kwaliteitszorg

Kwaliteitszorg op het gebied van de analyse moet:

- de betrouwbaarheid van de analyse bevorderen;
- de vergelijkbaarheid van de analyseresultaten bevorderen.

Eerstelijnscontrole

De eerstelijnscontrole is bedoeld om fouten in de uitvoering van de analyse te voorkomen. De analist controleert zichzelf op de volgende punten:

- a prepareren;
 - werk volgens dit voorschrift;
 - controleer of de nummers van de monsters overeenkomen met die op de werklst;
 - ga na of de monsters in de juiste, numerieke of alfabetische volgorde, worden afgewerkt;
 - controleer of de buizen, dek- en objectglaasjes in bovengenoemde volgorde zijn neergelegd;
 - controleer of het overbrengen van het materiaal uit de monsterflesjes naar de buizen en van de buizen naar de dekglazen op de objectglazen ook in bovengenoemde volgorde geschiedt;
 - controleer of er bij verwarmen van de buizen geen materiaal overkookt of overspat naar andere buizen;
 - controleer of in proefpreparaten het materiaal voldoende is geoxideerd en of het goed is gespreid (er mogen geen klonten van over elkaar liggende diatomeeën zijn);
 - laat enkele malen per jaar een blanco monster meelopen en controleer de preparaten hiervan op contaminatie. Is de blanco gecontamineerd, neem dan maatregelen om dit in de toekomst te voorkomen.
- b tellen en determineren;
 - werk volgens dit voorschrift;
 - vergelijk de monstergegevens (nummer, datum, locatie e.d.) van de werkstaat met die op het preparaat;
 - verifieer de waarschijnlijkheid van waarnemingen aan de hand van de literatuur (is het voorkomen van bepaalde soorten in een monster al dan niet waarschijnlijk gezien hun ecologische preferenties);
 - raadpleeg eventueel een referentiecollectie (afbeeldingen en preparaten);
 - pleeg bij twijfel over de determinatie overleg met collega's;

⁹ Door deze getallen vast te leggen kan men altijd controleren of de analyseresultaten bij de gegevensverwerking correct zijn verwerkt en niet verminkt. Daartoe dienen de getallen apart ingevoerd te worden en niet via een formule die deze getallen berekent uit de ingevoerde analyse-resultaten.

- controleer de handgeschreven werkstaten en de hierop gebaseerde uitvoerlijsten van de database op tel- en invoerfouten;
- analyseer regelmatig twee keer een zelfde preparaat (met enige weken tussen beide analyses omdat anders het preparaat nog kan worden ‘herinnerd’) en vergelijk de resultaten kritisch. Stel zonodig de werkwijze bij;
- noteer de resultaten van de controles en raadplegingen op de werkstaat of in het computerbestand.

Tweedelijnscontrole

De tweedelijnscontrole is bedoeld om de reproduceerbaarheid van onderzoeksresultaten binnen één laboratorium te testen. De analist houdt rekening met opmerkingen van directe collega's over de kwaliteit van de werkzaamheden. Voor kiezelwieren betekent dit:

- a prepareren;
 - neem nota van opmerkingen van degenen die de preparaten analyseren over de kwaliteit van de preparaten. Pas de werkwijze zonodig aan;
 - laat regelmatig eenzelfde monster door twee verschillende mensen prepareren en kijk of beide analisten vergelijkbare preparaten maken; bespreek eventuele onderlinge verschillen en pas zonodig de werkwijze aan.
- b tellen en determineren;
 - zorg voor een goede, interne opleiding van nieuwe collega-analisten;
 - toon bijzondere vondsten aan collega's;
 - laat minimaal eens per jaar eenzelfde preparaat in duplo analyseren door alle, voor kiezelwieranalyse bevoegde analisten;
 - bespreek de onderlinge resultaten en neem maatregelen om geconstateerde systematische verschillen (meestal in determinatie) in de toekomst te voorkomen.

Derdelijnscontrole

De derdelijnscontrole is bedoeld om de betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid van analysesresultaten tussen laboratoria te testen. De analist houdt rekening met opmerkingen van externe deskundigen en houdt zich op de hoogte van belangrijke ontwikkelingen op het gebied van de taxonomie. Voor kiezelwieren betekent dit:

- a prepareren;
 - leg een aantal preparaten ten minste eens per jaar voor aan externe deskundigen, neem nota van hun opmerkingen over de kwaliteit van deze preparaten en pas de werkwijze zonodig aan;
 - laat jaarlijks delen van enkele eigen monsters ook prepareren door een ander laboratorium en koppel daaraan een kruistelling van de preparaten.
- b tellen en determineren;
 - doe jaarlijks mee aan interlaboratoria ringonderzoeken, wanneer bruikbare ringonderzoeken georganiseerd worden (zie [bijlage 2](#));
 - maak gebruik van email of discussiefora om collega-analisten te informeren over de ontdekking van bijzondere vondsten, (mogelijk) nieuwe soorten e.d.; stuur zo mogelijk een foto mee en vraag om commentaar;
 - sluit je aan bij een landelijk overleg van collega-analisten en bespreek bijzondere vondsten, nieuwe literatuur en problemen uit de praktijk van het bemonsteren, prepareren en determineren (zie [bijlage 2](#) voor adressen);
 - hou je op de hoogte van belangrijke recente ontwikkelingen op het gebied van de taxonomie en toets je determinaties regelmatig aan de meningen van collega's buiten het eigen lab, zo mogelijk tijdens (inter)nationale workshops;

- lees vaktijdschriften, zoals *Diatom Research* en *Diatomededelingen* en neem deel aan bijeenkomsten van vakverenigingen (zie [bijlage 2](#)), zoals in elk geval de Nederlands-Vlaamse Kring van Diatomisten (jaarlijks) en zo mogelijk de Central European Diatom Meeting (jaarlijks) en de International Society for Diatom Research (tweejaarlijks).

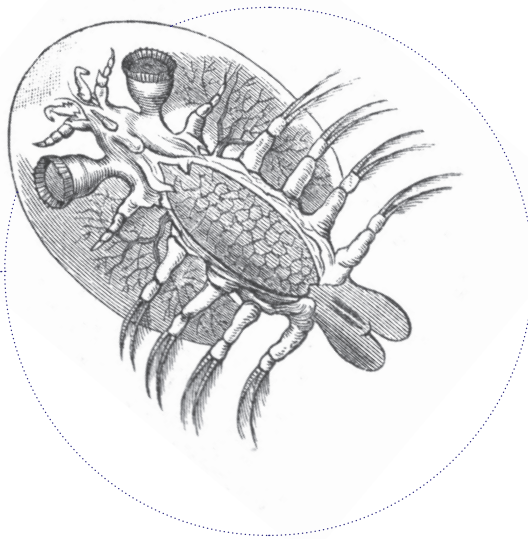
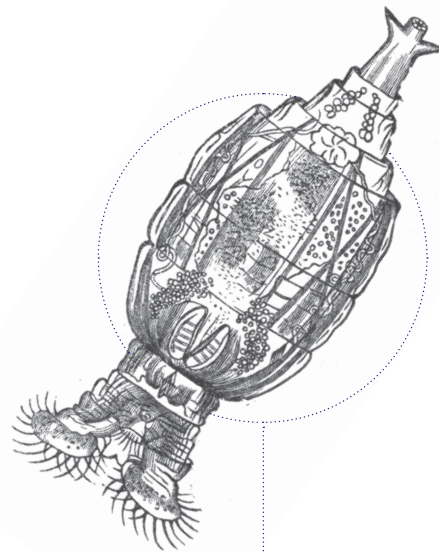
9B.12 Literatuurverwijzingen

- NEN-EN 13946 (2003) Water quality - Guidance standard for the routine sampling and pretreatment of benthic diatoms from rivers. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 14 pp
- NEN-EN 14407 (2004) Water quality - Guidance standard for the identification, enumeration and interpretation of benthic diatom samples from running waters. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 12 pp.
- NEN-EN 14996 (2006) Water quality - Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 14 pp.
- Schrader HJ & Gersonde R (1978) Diatoms and silicoflagellates. *Utrecht Micropaleontological Bulletins* 17: 129-176.
- STOWA (2006) Handboek Nederlandse ecologische beoordelingssystemen (EBEO-systemen). Deel A. Filosofie en beschrijving van de systemen. Rapport 2006-4. STOWA, Utrecht. 255 pp + CD-ROM.
- Van Dam H, Mertens A & Sinkeldam J (1994) A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from The Netherlands. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology* 28: 117-131.
- Van der Molen DT & Pot R (2007a) Referenties en maatlatten voor natuurlijke watertypen voor de Kaderrichtlijn Water. Rapport 2007-32. STOWA, Utrecht. 361 pp.
- Van der Molen DT & Pot R (2007b) Referenties en maatlatten voor natuurlijke watertypen voor de Kaderrichtlijn Water. Aanvulling kleine typen. Rapport 2007-32B. STOWA, Utrecht. 166 pp.



HOOFDSTUK 10 ZOÖPLANKTON

Zoöplankton is een belangrijke schakel in de voedselketen, tussen planktonalgen en vis. Toch is deze groep geen 'kwaliteitselement' in de Europese Kaderrichtlijn Water. Er is dus geen officiële KRW-maatlat voor zoöplankton. Alleen in het EBeo-systeem voor diepe plassen speelt zoöplankton een rol. In de loop der tijd zijn er wel verschillende andere methoden ontwikkeld, om de rol van het zoöplankton in het ecologische functioneren van meren te beoordelen. In dit hoofdstuk geven we achtergrondinformatie over zoöplankton en de toepassingen in de ecologische beoordeling van oppervlaktewater. Voor de diverse toepassingen zijn verschillende werkvoorschriften opgesteld.



10.1 INLEIDING

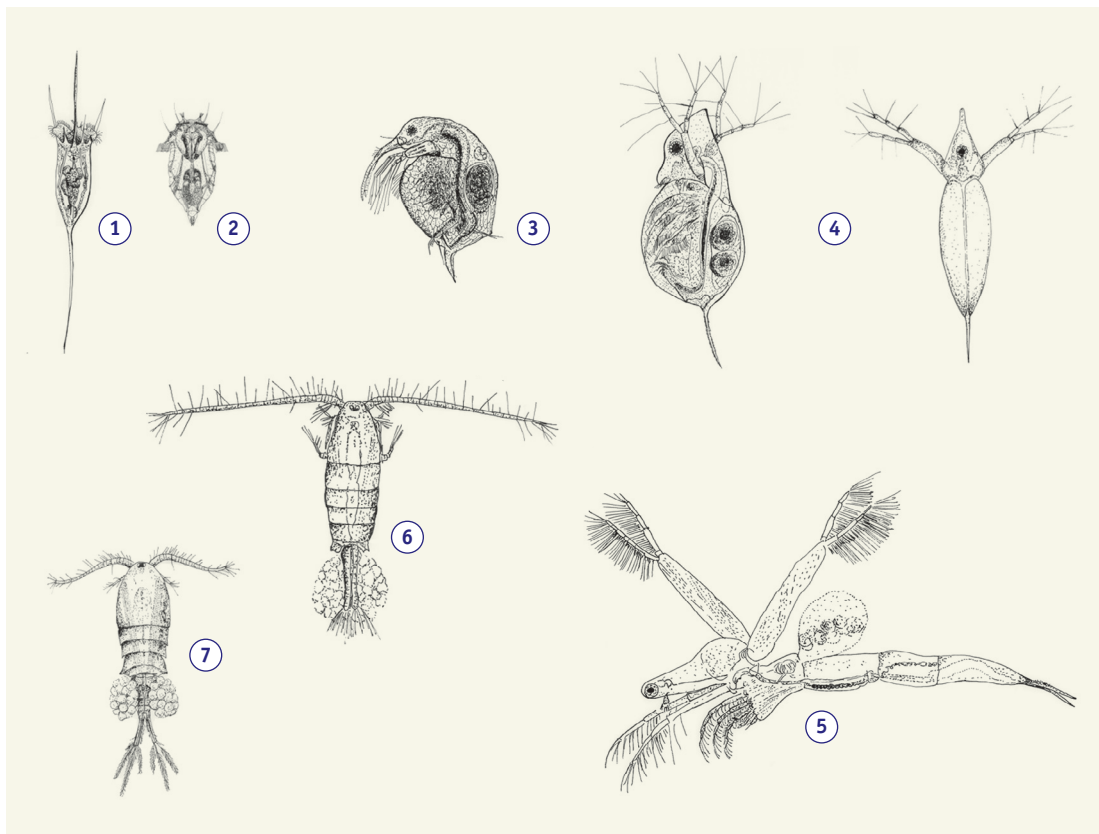
10.1.1 Biologie

Wat is zoöplankton?

Zoöplankton is een verzamelnaam voor kleine, dierlijke organismen die zich ophouden in de waterkolom van het oppervlaktewater (figuur 10.1). Voor hun voornaamste levensverrichtingen zijn ze niet afhankelijk van vast substraat, zoals bodem en waterplanten.

Fig 10.1 Enkele vertegenwoordigers van het zoöplankton

Raderdieren (1 Kelllicottia, 2 Synchaeta), watervlooïen (3 Bosmina, 4 Daphnia, 5 Leptodora) en roeipootkreeftjes (6 Calanoïde copepode, 7 Cyclopoïde copepode). Tekeningen: Henk Ketelaars.



Indeling

Het zoöplankton is een zeer diverse groep van dieren, met vertegenwoordigers uit de groep eencelligen (Protozoa) en de groep meercelligen (Metazoa) (Krause-Dellin 1997). Hun grootte loopt uiteen van 0,002 tot twintig millimeter. De kleinere dieren komen in het oppervlaktewater in relatief hoge dichtheden voor (tot een miljoen per liter), de grotere dieren in relatief lage (één per liter of minder). De grootste dieren, zoals aasgarnalen (Mysidae) en larven van de Spookmug (*Chaoborus*), rekent men ook wel tot de macrofauna (bijlage 26).

In verband met deze verschillen in grootte en dichtheid deelt men het zoöplankton voor het bemonsteren en analyseren vaak in drie grootteklassen in (tabel 10.1).

Tabel 10.1 Praktische indeling van zoöplankton in grootteklassen

GROOTTEKLASSE	GROOTTE (MM)	TAXONOMISCHE GROEPEN	VOORBEELDEN
Micro-zoöplankton	< 0,2	Protozoa kleine Rotatoria naupliuslarven van Copepoda	<i>Arcella, Diffflugia, Tintinnidium</i> <i>Colurella, Pompholyx</i>
Meso-zoöplankton	0,2 - 3,0	grote Rotatoria Cladocera volwassen Copepoda en copepodieten	<i>Asplanchna, Brachionus</i> <i>Bosmina, Daphnia</i> <i>Acanthocyclops, Cyclops,</i> <i>Diaptoma, Eurytemora,</i>
Macro-zoöplankton	> 3,0	Mysidae (aasgarnalen e.a.) Grote (roof)cladoceren Larven van Diptera	<i>Hemimysis, Neomysis</i> <i>Leptodora, Bythotrephes</i> <i>Chaoborus</i>

Diversiteit

Raderdieren, watervlooien (cladoceren) en roeipootkreeftjes (copepoden) gelden als de meest algemene vertegenwoordigers van het zoöplankton in stilstaande zoete wateren (Louette *et al.* 2007). Het ligt er een beetje aan hoe men de groep zoöplankton afgrenst, want heterotrofe algen- of bacterie-etende micro- en nanoflagellaten (o.a. kraagflagellaten, bodoniden, monaden), kunnen dichtheden bereiken in de orde van honderd tot honderdduizend exemplaren per milliliter (Sigeo 2005). In het waterbeheer zijn het in ieder geval de meest onderzochte vertegenwoordigers.

Van de groep raderdieren (Rotatoria) zijn uit Nederland ongeveer vierhonderd soorten bekend. Vermoedelijk is het aantal soorten in ons land veel groter. Niet al deze soorten kan men aantreffen in het zoete water. Het aantal soorten watervlooien (Cladocera) in het Nederlandse zoete water ligt rond negentig. In de laatste twee decennia zijn enkele nieuwe soorten ontdekt. Binnen de groep roeipootkreeftjes (Copepoda) komen er in het zoete en brakke water ook minstens negentig en wellicht 150 soorten voor; de Nederlandse copepodenfauna is nog slecht bekend (Mol 1984).

De soortensamenstelling en diversiteit van het zoöplankton in oppervlaktewater is afhankelijk van verschillende factoren. De belangrijkste zijn: hydromorfologie, voedselrijkdom, predatiedruk van planktivore vis en de hoeveelheid en samenstelling van de watervegetatie (Van Donk & Van de Bund 2002; Declerck *et al.* 2005, 2007).

In doorsnee zoöplanktonmonsters van onze ondiepe, voedselrijke meren vinden we gewoonlijk twintig tot dertig taxa, verdeeld over deze drie groepen: vijf tot vijftien taxa raderdieren, vijf tot tien taxa watervlooien en vijf tot tien taxa copepoden (zie ook [paragraaf 10.1.5](#)). Meestal kunnen de watervlooien tot op soort gedetermineerd worden, maar dat geldt niet voor sommige raderdieren en voor onvolwassen stadia van copepoden. De werkelijke soortenrijkdom zal dus meestal iets hoger zijn dan het aantal taxa.

Levenswijze

Raderdieren, roeipootkreeftjes en watervlooien, brengen hun hele leven in het plankton door, behalve

als ze overwinteren. De veligerlarven van de driehoeksmossel maken alleen tijdens hun eerste levensfase deel uit van het zoöplankton. Wat hun voedsel betreft zijn er binnen deze drie zoöplanktongroepen uitgesproken herbivoren (algen- en bacterieneters), carnivoren (zoöplanktoneters) en soorten die omnivoor zijn (alleseter).

De meeste raderdieren zijn herbivoor. Een uitzondering vormt het geslacht *Asplancha*, dat zich ook voedt met andere raderdieren. De bekende watervlooien van het geslacht *Daphnia* zijn ook herbivoor en voeden zich met algen en bacteriën. Dit geldt ook voor roeipootkreeften uit de orde Calanoida. In de andere orde, de Cyclopoida, vindt men alleen omnivoren en carnivoren. De cyclopoïde *Acanthocyclops* is een bekende predator van juveniele daphnia's. Ook aasgarnalen en de rovende watervlooien *Bythotrephes* en *Leptodora* hebben andere zoöplanktonorganismen op het menu staan.

Levenscyclus

De ontwikkeling van het zoöplankton wordt in belangrijke mate bepaald door de watertemperatuur. In de warmere maanden mei tot en met september is de zoöplanktondichtheid het hoogst.

Watervlooien en copepoden behoren tot de kreeftachtigen (Crustacea). Ze bezitten een hard chitine pantser. Om te kunnen groeien, moeten deze dieren van tijd tot tijd vervellen. In de vervellingsstadia van copepoden zijn twee uiterlijk sterk verschillende series te onderscheiden: de naupliuslarven (allerjongste stadia) en de copepodietstadia. Met iedere vervelling neemt de grootte van het dier toe en verandert het uiterlijk in meer op mindere mate. Er zijn zes naupliusstadia en vijf copepodietstadia (Einsle 1993). Met de vervelling van het vijfde copepodietstadium ontstaat het volwassen dier, dat niet meer vervelt.

Bij watervlooien vervellen ook de volwassen dieren nog van tijd tot tijd. Ieder stadium eindigt met het vrijkomen van de volgroeide jongen uit de broedruimte. Daarna vervelt de volwassen watervlo, groeit enigszins en vormt nieuwe eieren in haar broedruimte. In het leven van een watervlo kan deze cyclus zich tot meer dan twintig keer herhalen (Wetzel 2001).

Voortplanting

In populaties van raderdieren en watervlooien zijn een groot deel van het seizoen alleen vrouwelijke dieren aanwezig. Deze planten zich ongeslachtelijk voort (parthenogenese). De grootte van het broedsel neemt toe bij een hogere beschikbaarheid aan voedsel. Bij ongunstige omstandigheden ontstaan uit sommige broedsels mannelijke dieren. Ongunstige omstandigheden zijn bijvoorbeeld voedselschaarste, afnemende daglengte, een dalende watertemperatuur, of het droogvallen van een water. Deze mannetjes bevruchten de (haploïde) eieren waardoor zogenaamde rusteieren ontstaan. In de vorm van deze rusteieren overbrugt de populatie de ongunstige milieuomstandigheden (Wetzel 2001). Tevens vormen deze rusteieren een belangrijk verspreidingsmiddel naar nieuwe gebieden. Rusteieren kunnen lange tijd levensvatbaar blijven en ook na tientallen jaren nog uitkomen en bijdragen aan een nieuwe populatie.

In populaties van copepoden zijn het hele jaar door mannelijke en vrouwelijke dieren aanwezig. De voortplanting verloopt geslachtelijk. Vele soorten roeipootkreeftjes brengen de winter in of op de bodem door in de vorm van oudere copepodietstadia. Tijdens deze periode, ook wel diapauze genoemd, staat de ontwikkeling stil. Sommige soorten copepoden vormen aan het einde van de zomer rusteieren.

10.1.2 Ecologie

Zoöplankton in het voedselweb

Zoöplankton is de schakel tussen algen (de primaire producenten) en planktivore vis, die op zijn beurt weer ten prooi valt aan roofvis (o.a. Snoek en Snoekbaars) en vogels (o.a. Aalscholver, Fuut; zie [figuur 7.2](#)

in [hoofdstuk 7 Fytoplankton](#)). Het algenetende zoöplankton speelt een belangrijke rol in de zogenaamde top-down¹ controle van algen (Sommer *et al.* 1986, Scheffer 2004; [bijlage 22](#)).

Het herbivore microzoöplankton (protozoën en kleine raderdieren) voedt zich met kleine algen en bacteriën en wordt zelf gegeten door vislarven en carnivoor zoöplankton. Hoewel dit microzoöplankton heel talrijk kan zijn, neemt de algenbiomassa door hun graas gewoonlijk niet af. Wel kan de soortensamenstelling van het fytoplankton verschuiven, bijvoorbeeld van kleinere, naar grotere soorten, wanneer deze grazers een voorkeur hebben voor bepaalde grootteklassen van algen.

Door de graas van het grotere zoöplankton (cladoceren en copepoden) kan de algenbiomassa wel afnemen. Vooral soorten van het geslacht *Daphnia* kunnen een hoge graasdruk op het fytoplankton uitoefenen (Scheffer 2004). Ze grazen op algen met een grootte tot 25 à 50 µm, afhankelijk van de grootte van de *Daphnia* soort (Burns 1968). Grote soorten, zoals *D. magna* en *D. pulicaria*, grazen zeer efficiënt en kunnen de algenbiomassa reduceren tot dusdanig lage niveaus, dat de meeste concurrenten niet kunnen overleven (Brooks & Dodson 1965; Lampert & Sommer 2007). Zodoende kunnen daphnia's zorgen voor een periode van vrijwel algenloos water na de voorjaarsbloei, de zogenaamde helderwaterperiode (Lampert & Sommer 2007; [bijlage 22](#)). Deze effectieve graas is één van de peilers onder het actief biologisch beheer (zie [intermezzo 10.1](#)).

Bij een hoge dichtheid van *Daphnia* is de hoeveelheid kleiner zoöplankton vaak laag (Vijverberg & Boersma 1997, Gulati & Van Donk 2002). Het dichtheidsverloop van raderdieren is meestal het spiegelbeeld van de fluctuaties van de *Daphnia*-populaties.

Zoöplankton vormt een belangrijke voedselbron voor de zogenaamde planktivore vis. Planktivoor zijn heel veel vissoorten in hun eerste levensjaar. Deze jonge vis jaagt op zicht, waarbij ze het grotere, meest opvallende zoöplankton als eerste selecteren. Vaak zijn dit grote soorten (*Bythotrephes*, *Daphnia*, *Leptodora*), of dieren met een opvallend gepigmenteerd broedsel. Van enkele vissoorten kan ook de oudere vis nog gedeeltelijk planktivoor zijn, bijvoorbeeld Brasem. Deze oudere vis vergaart het grote zoöplankton (lengte meer dan één millimeter) door het te filteren over de kieuwbogen (Hoogenboezem 2000). Ook deze vorm van predatie is grootselectief, want de minimumgrootte van het zoöplankton dat kan worden opgenomen hangt af van de afstand tussen de kieuwbogen.

Bij een sterke predatie door vis kan de dichtheid van grotere *Daphnia* soorten daarom sterk teruglopen. Hierdoor daalt de graasdruk op het fytoplankton en kan de algenbiomassa sterk toenemen.

Naast planktivore vis is er ook zoöplankton dat zich geheel of gedeeltelijk voedt met andere dieren, het zogenaamde carnivore zoöplankton. Ook door deze predatie kan de algenbiomassa toenemen.

Kleiner zoöplankton kan ten prooi vallen aan het raderdier *Asplanchna* en aan rovende copepoden (*Acanthocyclops*) en watervlooien (*Leptodora kindti* en *Bythotrephes longimanus*). Deze carnivoren eten vooral de kleine prooidieren (Burkhardt & Lehman 1994, Gille 1995). Hierdoor neemt de dichtheid van de prooi populatie af en verandert de grootteverdeling.

In sommige wateren zorgen aasgarnalen (Mysidacea) en spookmuggen (*Chaoborus*-soorten) voor een sterke afname van het (meso)zoöplankton. Deze predatoren kunnen hun prooidieren geheel verdringen (Ketelaars *et al.* 1999; Louette *et al.* 2006; Louette & De Meester 2007, Moss *et al.* 1997, Ketelaars *et al.* in voorbereiding). Eerst werd alleen de Brakwateraasgarnaal, *Neomysis integer*, als grootste bedreiging gezien voor het ecologisch herstel in meren. Sinds het einde van de twintigste eeuw speelt een aantal exotische soorten aasgarnalen een steeds grotere rol in de voedselketen. Dit zijn o.a. *Hemimysis anomala* en *Limnomysis benedeni*. Aasgarnalen eten zowel kleine als grote watervlooien.

¹ Top down wil zeggen van boven af (in dit geval: gecontroleerd worden door grazers). De andere mogelijkheid is bottom up: van onder af (in deze context: gecontroleerd worden door de beschikbaarheid van voedingsstoffen).

INTERMEZZO 10.1**ACTIEF BIOLOGISCH BEHEER**

Onder actief biologisch beheer (ABB) verstaat men ingrepen in het voedselweb om de ecologische kwaliteit van oppervlaktewater te verbeteren (Hosper *et al.* 1992; Moss *et al.* 1997). Zoöplankton speelt een belangrijke rol in dit actief biologisch beheer. Door het bevorderen van de graasdruk van zoöplankton probeert men de algenbloei te verminderen om daarmee het water helder te kunnen maken. Om het grotere zoöplankton (met name *Daphnia*) te stimuleren, is uitdunning van het bestand aan planktivore vis een veel toegepaste maatregel (Shapiro & Wright 1984; Van Donk *et al.* 1990; Lampert & Sommer 2007). Een andere is het uitzetten of stimuleren van roofvis die zich voedt met planktivore vis. Ook dan gaan grote cladoceren domineren en blijft de algenbiomassa in de zomer laag (Hambright 1994). Het idee achter ABB is dan ook simpel: beperk de zoöplanktonetende visstand en het fytoplankton zal worden weggegraasd door een sterk in biomassa toegenomen *Daphnia*-gemeenschap. ABB kan echter alleen succesvol zijn als de fosfaatbelasting voldoende laag is. Is deze te hoog, dan kunnen op korte termijn voor *Daphnia* moeilijk eetbare blauwalgen de overhand krijgen (Peschar & Fott 1991). En op de langere termijn zal een stabiliserende, waterplantrijke situatie zich niet in stand kunnen houden.

Enkele belangrijke milieufactoren

Ook zoöplanktonsoorten hebben bepaalde milieuvorkeuren. Enkele belangrijke abiotische en biotische factoren noemen we hieronder:

- 1 Saliniteit en alkaliniteit (zuurgraad). In een zuur vennetje vinden we andere raderdieren dan in een neutraal tot alkalische plas (bijvoorbeeld *Keratella serrulata* respectievelijk *Keratella cochlearis*).
- 2 Hydromorfologie (diepte, stroming, turbulentie). De watervlooien *Daphnia magna* en *Daphnia pulex* vinden we vooral in 'litorale milieu's (kleine ondiepe poelen, of de oeverzone van grotere plassen). Hun verwanten *Daphnia cucullata* en *Daphnia galeata* geven de voorkeur aan het open water.
- 3 Trofiegraad; hoe hoger de voedselrijkdom, hoe meer planktonalgen, hoe meer mogelijkheden voor planktische filtreerders zoals *Daphnia* (zie ook [tabel 10.2](#)).
- 4 Saprobiegraad; hoe hoger de saprobiegraad, hoe lager de zuurstofgehalten 's nachts.
- 5 Zwevende stofgehalten; hoe hoger het anorganische zwevende stofgehalte, hoe moeilijker het filtreren van voedsel voor watervlooien. Raderdieren en copepoden zijn daar niet gevoelig voor (van Donk 1991).
- 6 Voedselkwaliteit; hoe beter de kwaliteit, hoe hoger de conditie en reproductie; dit hangt samen met de soortensamenstelling van het fytoplankton. Filterfeeders (zoals *Daphnia*) stellen andere eisen aan het voedsel dan selectieve eters (zoals veel copepoden; zie ook [bijlage 22](#)).
- 7 Waterplanten. De bedekking en aard van de watervegetatie bepaalt in belangrijke mate welke soorten in een bepaald waterlichaam aanwezig kunnen zijn. De watervlo *Simocephalus* bijvoorbeeld, is kenmerkend voor waterplantrijke plassen en meren. Naarmate de vegetatiebedekking in ondiepe meren toeneemt, verschuift de soortensamenstelling van watervlooien, van *Daphnia*, via *Ceriodaphnia*, naar *Simocephalus* (Perrow *et al.* 1999).
- 8 Planktivore vis. Vispredatie is een belangrijke factor achter verschuivingen in de soortensamenstelling en de structurele samenstelling (grootte) van watervlo-gemeenschappen (zie [Seizoensdynamiek](#) en [bijlage 22](#)).

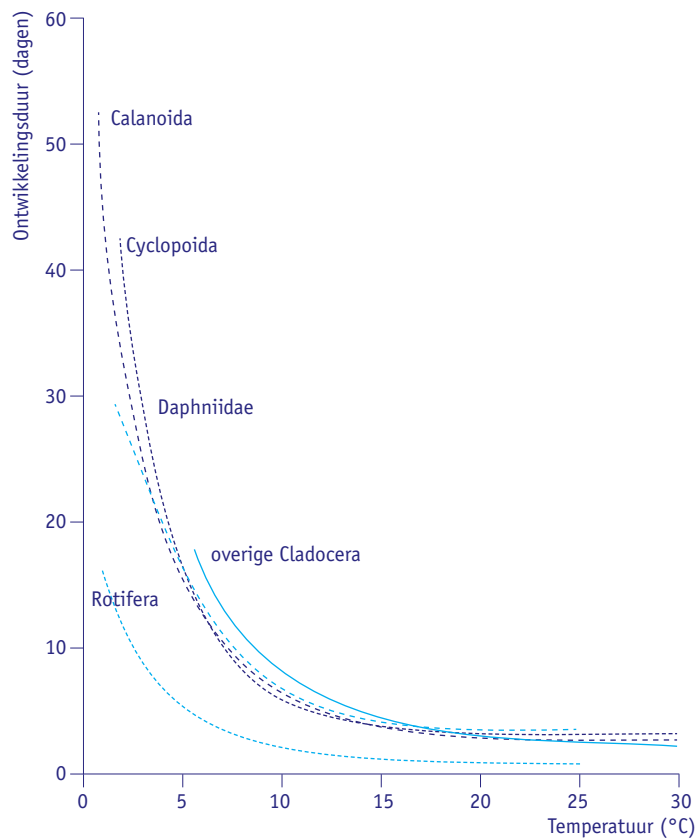
Seizoensdynamiek (temporele variatie)

De meeste zoöplanktonsoorten zijn maar een deel van het jaar actief. In de loop van het jaar variëren soortensamenstelling en biomassa van het zoöplankton dan ook sterk. Net als bij het fytoplankton ([hoofdstuk 6](#)) verloopt deze variatie volgens een jaarlijks terugkerende cyclus, die het gevolg is van de wisseling van de seizoenen.

In de wintermaanden is de dichtheid van zoöplankton in het algemeen laag. De dieren overwinteren dan in de vorm van rusteieren (cladoceren), of als juveniele ruststadia (copepoden en aasgarnalen). In de loop van het voorjaar en de zomer neemt de populatiedichtheid van de verschillende soorten toe. De snelheid waarmee dit gebeurt, hangt voornamelijk af van de watertemperatuur en de grootte van de soort (Bottrell *et al.* 1976; [figuur 10.2](#)). In het algemeen is de ontwikkelingsduur van kleine soorten (protozoën en raderdieren) korter dan van grotere soorten (copepoden en cladoceren). De maximale dichtheid en biomassa worden in voedselrijke en gematigd warme systemen meestal in het voorjaar en de nazomer of herfst bereikt. In voedselarme en relatief koele wateren treedt deze piek in het midden van de zomer op.

Fig 10.2 De ontwikkelingsduur bij verschillende groepen zoöplankton

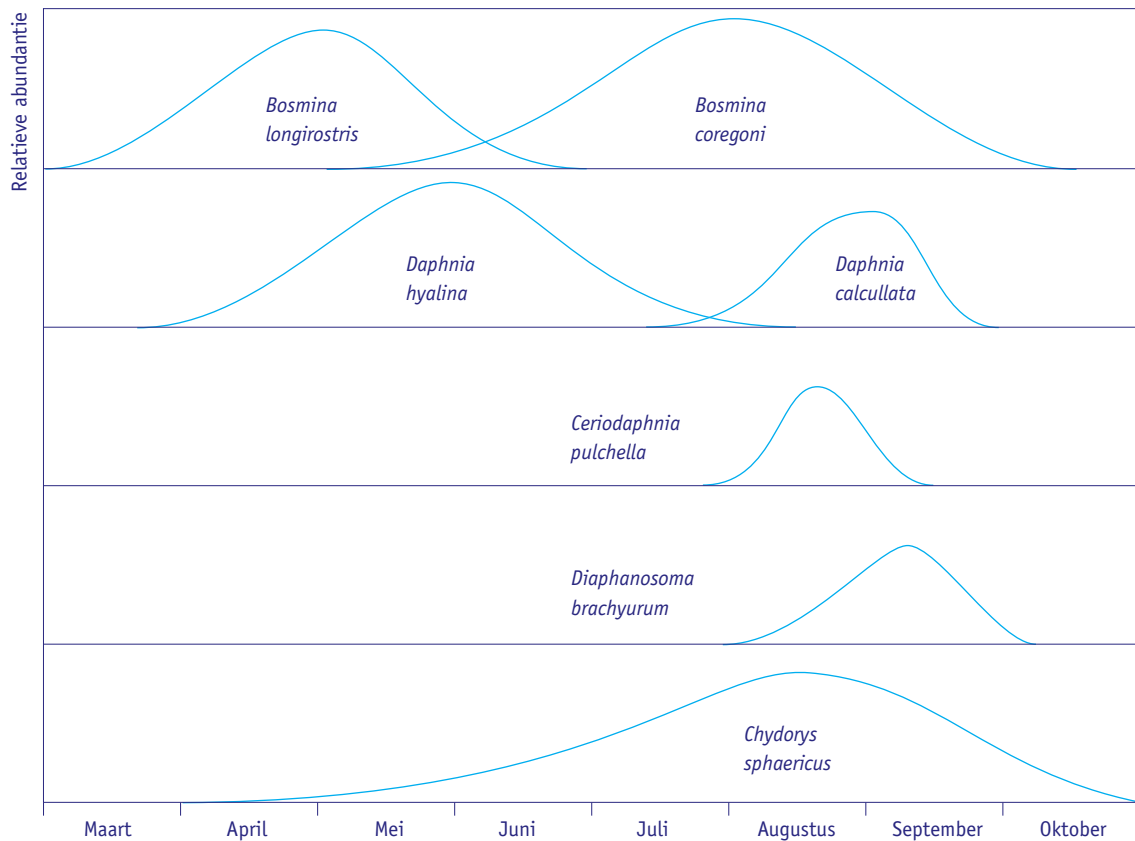
De ontwikkelingsduur van ei naar volwassen dier bij verschillende groepen zoöplankton, afhankelijk van de watertemperatuur (naar: Bottrell *et al.* 1976).



In het model van de Plankton Ecology Group (het PEG-model), wordt in 24 stappen de seizoensontwikkeling van het plankton in een meer beschreven, onder invloed van biotische en abiotische factoren (Sommer *et al.* 1986, [bijlage 22](#)). Een belangrijke factor is de planktivore vis. Als deze vis talrijk aanwezig is, verloopt de ontwikkeling van de planktongemeenschap geheel anders dan bij een lagere abundantie van deze vis. Planktivore vis jaagt op het oog en kiest eerst het grootste zoöplankton. Hierdoor kan een grote soort als *Daphnia galeata* in de loop van de zomer geheel verdrongen worden door kleinere soorten, zoals *Bosmina* soorten, *Ceriodaphnia pulchella*, *Chydorus sphaericus* en *Daphnia cucullata* (Beattie *et al.* 1978, [figuur 10.3](#)).

Fig 10.3 De opeenvolging van verschillende soorten cladoceren in Friese meren

(Beattie et al. 1978). In het voorjaar domineert de grote cladoceer *Daphnia galeata* (*Daphnia hyalina* in de figuur). Mede als gevolg van selectieve predatie op grootte door planktivore vis, wordt deze soort in de zomer verdrongen door kleinere watervlooien, zoals *Bosmina*, *Ceriodaphnia pulchella*, *Chydorus sphaericus* en *Daphnia cucullata*.



10.1.3 Ruimtelijke variatie

Planktivore vis is een belangrijke oorzaak van ruimtelijke verschillen in de hoeveelheid zoöplankton in plas of meer. Om planktivore vis te ontwijken ondernemen watervlooien en copepoden een dagelijkse verticale of horizontale migratie (Gliwicz 1986). Als er geen planktivore vis aanwezig is, vindt deze migratie niet plaats.

Variatie in verticale richting

Bij de verticale migratie bevinden de dieren zich overdag in de diepere, donkere delen van een meer (Gliwicz 1986). 's Nachts verdelen ze zich over de waterkolom om te foerageren. In helder water kan de migratie nog verder gaan en concentreren daphnia's zich overdag in een laag op, of zelfs in het sediment (Ketelaars et al. 1995). Ook door zomerstratificatie kan het zoöplankton ongelijk verdeeld zijn over de waterkolom (Kalf 2003).

Variatie in horizontale richting

Om predatie te ontwijken kunnen watervlooien ook een horizontale migratie ondernemen, tussen open water en vegetatie. Overdag houden de dieren zich schuil tussen een dichte begroeiing van waterplanten. 's Nachts zoeken ze het open water op, om zich te voeden met algen (Lauridsen et al. 1996 in Kalf 2003,

Perrow *et al.* 1999).

Zwermvorming is een vorm van horizontale migratie. Hierbij groeperen de dieren zich in dichte wolken, bijvoorbeeld aan de rand van watervegetaties. In de meeste gevallen gaat het om soorten uit het geslacht *Daphnia*.

Tenslotte kan ook de wind oorzaak zijn van ruimtelijke verschillen in de hoeveelheid zoöplankton, door haar invloed op stromingspatronen in een meer (zie [figuur 7.3](#) in [hoofdstuk 7 Fytoplankton](#)).

10.1.4 Verspreiding in Nederland

Over de verspreiding van zoöplanktonsoorten in Nederland bestaan geen recente overzichtswerken. Van afzonderlijke taxa kan men verspreidingskaartjes maken op grond van de gegevens opgeslagen in Limnoda Neerlandica (zie [bijlage 2](#)). Men kan er alleen niet van uitgaan dat deze data een volledig beeld geven van de verspreiding van een soort, omdat bij waterbeheerders weinig aandacht is voor de monitoring van zoöplankton. De Werkgroep Kieuwpootkreeften (Branchiopoda) van EIS-Nederland (zie [bijlage 2](#)) is al enige tijd bezig met het digitaliseren van verspreidingsgegevens uit de literatuur. Oudere verspreidingsgegevens kan men vinden in: Redeke (1935), Dresscher (1976), Notenboom-Ram 1980 en STOWA (1997).

10.1.5 Zoöplanktongemeenschappen

[Tabel 10.2](#) geeft een overzicht van zoöplanktonsoorten die men gedurende het groeiseizoen (mei tot en met september) kan aantreffen in een aantal Nederlandse watertypen. Bij soorten die zich in ondiep en vegetatierijk water ophouden, is aangegeven welke waterplanten de voorkeur hebben. De lijst per watertype is indicatief en niet uitputtend.

10.2 TOEPASSING

Zoöplanktononderzoek vindt zijn toepassing in de volgende onderwerpen:

10.2.1 Beoordeling ecologische kwaliteit volgens Ebeo

In de ecologische beoordeling van oppervlakte volgens de EBeo-systemen (zie [bijlage 6](#)), wordt het zoöplankton slechts voor één watertype gebruikt, namelijk voor de beoordeling van diepe meren (o.a. zandwinputten) volgens EBeoGat (STOWA 2006). Diepe meren zijn meren met een gemiddelde diepte van minstens zes meter.

In EbeoGat gebruikt men de soortensamenstelling van het zoöplankton naast die van de epifytische diatomeeën (kieselwieren), voor een beoordeling van de saprobiegraad, de zuurgraad en het brakarakter. Beide groepen vullen elkaar aan: de kieselwieren bemonstert men in de oeverzone en het zoöplankton in het open water. Voor de analyse geeft EBeoGat een lijst van indicatororganismen, in de meeste gevallen op soortsniveau ([tabel 10B.1](#)). Voor de beoordeling moet de relatieve abundantie van deze indicatorsoorten worden bepaald. Een bepaling van de dichtheid per liter oppervlaktewater is dus niet strikt noodzakelijk. De meeste waterschappen bemonsteren tot dusver alleen zoöplankton voor deze toepassing.

10.2.2 Bepaling Potentiële Graasdruk (PGP)

Deze bepaling is ontwikkeld om het resultaat van de interactie tussen vis, zoöplankton en fytoplankton te beschrijven (Schriver *et al.* 1995). De PGP is in Nederland gebruikt om het effect van Actief Biologisch Beheer te evalueren (Meijer *et al.* 1999).

De PGP (Potential Grazing Pressure) is de verhouding tussen de biomassa van algenetend zoöplankton en die van fytoplankton, uitgedrukt in milligram koolstof (mg C). In de praktijk bepaalt men alleen de biomassa van de meest effectieve grazers van het open water, *i.c.* *Bosmina* en *Daphnia*, of in veel gevallen zelfs alleen *Daphnia*. Bij een *Daphnia*-biomassa groter dan 0,2 mg C/l is de fytoplanktonbiomassa gemiddeld lager (Portielje & van der Molen 1999). Een zomergemiddelde PGP groter dan 0,1 mg C/mg C vormt een

belangrijk omslagpunt in Nederlandse meren. De graasdruk is dan voldoende hoog om de algenbiomassa significant te reduceren (Portielje & van der Molen 1998). Een lage PGP in de zomermaanden kan een aanwijzing zijn voor predatie door planktivore vis, of carnivoor zoöplankton, maar ook voor een lage kwaliteit van het fytoplankton als voedselbron (eigenlijk van het zwevend materiaal als geheel).

10.2.3 Evaluatie vispredatie

In een door algenbloei troebel meer is het belangrijk om predatie door planktivore vis vast te stellen. Uit dergelijke informatie kan men afleiden welke vorm van Actief Biologisch Beheer gewenst is. De predatiedruk kan men op twee maniere bepalen:

- 1 uit de lengte-frequentieverdeling van het zoöplankton (LF);
- 2 uit de grootte bij de eerste voortplanting (SFR).

Lengte-frequentieverdeling (LF)

Planktivore vis selecteert eerst het grotere zoöplankton, of het nu gaat om eerstejaars vis of oudere (zie [paragraaf 10.1.2](#)). Bij een sterke predatie door vis neemt de dichtheid van de grotere planktondieren dan ook waarneembaar af. Dit komt tot uiting in de lengte-frequentieverdeling van het zoöplankton. Deze verdeling toont hoeveel dieren er zijn in de verschillende, onderscheiden grootteklassen. Meestal meet men alleen dieren uit een bepaalde taxonomische groep, gewoonlijk *Daphnia*, of Copepoden. Voor de interpretatie is een lengte van één millimeter een belangrijke grens. Als de klasse 'groter dan één millimeter' gedurende de hele zomer aanwezig is met dichtheden van minimaal twintig dieren per liter, vormt dit een aanwijzing dat de predatiedruk door vis op het zoöplankton laag is (Van Densen & Vijverberg 1982; Mills *et al.* 1987). Bij wekelijkse bepalingen van de lengte-frequentieverdeling kan men in de loop van mei soms een snelle daling zien van het aantal dieren in de klasse 'groter dan één millimeter'. Dit kan het gevolg zijn van een hogere activiteit van planktivore vis, maar ook van ontwikkelingen in het voedselaanbod voor het zoöplankton.

Grootte bij eerste voortplanting (SFR)

De watervlo *Daphnia* is een algemeen voorkomende grazer in het zoöplankton van plassen en meren. Daarom is de groottestructuur van *Daphnia*-populaties bij uitstek geschikt om de mate van vispredatie uit te drukken, met name de lengte waarbij *Daphnia* voor het eerst eieren in de broedkamer heeft, de SFR (= Size at First Reproduction). Deze lengte neemt af onder invloed van vispredatie, zowel als gevolg van de grootselectie van de vis, als door de reactie van *Daphnia* op chemische signaalstoffen (infochemicals) die de vissen uitscheiden (Zaret 1980; Gliwicz & Pijanowska 1989; Seda *et al.* 1989; Wagenvoort 1997). Vaak gaat een afname van de SFR door vispredatie ook gepaard met een duidelijke afname van de dichtheid van *Daphnia* met een sterke variatie in lichaamsgrootte ([figuur 10.4](#)).

10.2.4 Evaluatie predatie door carnivoor zoöplankton

Het herbivore zoöplankton kan ook onderdrukt worden door ongewervelde predatoren zoals carnivore raderdieren, copepoden, watervlooien en aasgarnalen.

Het carnivore mesozoöplankton (de drie eerstgenoemde groepen) voedt zich in het algemeen met klein zoöplankton. Hierdoor zal de lengtefrequentieverdeling van de prooidieren een tweetoppig patroon gaan vertonen ([figuur 10.5](#)). De grootste lengteklassen bestaan uit volwassen dieren. Deze produceren volop jongen, die de prooi vormen voor het carnivore zoöplankton. Bij een hoge predatiedruk worden alle dieren kleiner dan 1,2 millimeter gegeten (Gille 1995; Burkhardt & Lehman 1994). De oudere dieren groeien door en worden geleidelijk groter; tussenliggende lengteklassen zijn afwezig (De Bernardi 1974; Zaret 1975; Petersen 1983; Gliwicz & Pijanowska 1989; Wagenvoort 1997). Aasgarnalen eten zowel kleine als grote watervlooien, maar laten de copepoden ongemoeid (Ketelaars *et al.* 1999). Hierdoor vertoont de lengtefrequentieverdeling geen duidelijke selectiviteit. De dichtheid van de prooidieren daalt wel dramatisch (Wagenvoort 2008a en b).

Tabel 10.2 Overzicht van de zoöplanktensamenstelling

Overzicht van de zoöplanktensamenstelling in een aantal algemene Nederlandse stilstaande watertypen (bronnen: de Bie et al. 2008, Dekker & Zwerver 1997, Flößner 2000, Kelleher et al. 1999; Limnodata Neerlandica, Lock et al. 2007, Rijkswaterstaat, A. Wagenvoort ongepubl.). ± = (ook) aanwezig tijdens vispredatie.

(A = Open water oligo- tot mesotroof, B = Open water eutroof, C = Ondiepe wateren oligo- tot mesotroof, D = Ondiepe wateren eutroof, E = Zure wateren, F = Zwak brakke wateren, G = Brakke wateren = Brakke wateren)

GROEP / TAXON	A	B	C	D	E	F	G	VOORKEUR VOOR WATERPLANTEN
Raderdieren (Rotifera)								
Asplanchna	+	+	+	+			+	
Brachionus caliciflorus	+	+	+	+				
Brachionus urceolaris								
onochilus hippocrepis	+		+					
Filinia longiseta	+	+		+				
Gastropus			+					
Kellicotia longispina	+		+					
Keratella cochlearis-groep	+	+		+			+	
Keratella quadrata	+	+		+				
Keratella surrulata						+		
Lecane					+			
Mytilina macronata			+	+				ja
Platylas			+	+				ja
Polyrthra major			+					
Polyarthra vulgaris	+	+						
Pompholyx sulcata		+		+				
Synchaeta	+	+		+			+	
Trichocerca longiseta		+		+				
Trichocerca marina							+	
Trichocerca similis		+		+				
Roeipootkreeftjes (Copepoda)								
Acanthocyclops robustus		+		+			+	
Acanthocyclops vernalis								+
Cyclops vicinus		+					+	
Diacyclops bicuspidatus							+	
Diacyclops nanus					+			
Eucyclops serrulatus			+					
Eudiaptomus gracilis	+							
Eurytemora affinis							+	+
Eurytemora lacustris		+					+	
Eurytemora velox		+					+	+
Megacyclops viridis				+			+	+
Mesocyclops leukarti	+	+					+	
Microcyclops	+		+					
Thermocyclops crassus		+		+			+	

Watervlooien (Cladocera)

Acantholeberis curvirostris		+		+	Sphagnum	
Acroperus harpea		+		+	Ceratophyllum, Elodea en Potamogeton	
Alona affinis				+		
Alona elegans		+		+	Sphagnum	
Alona gutta		+		+	Ceratophyllum, Elodea en Potamogeton	
Alona quadrangularis				+	ja	
Alona rectangularis		+		(+)	Myriophyllum en Ceratophyllum	
Alonella nana		+		+	ja	
Bosmina coregoni		+	+	+		
Bosmina cornuta					+	(+)
Bosmina longirostris		±		±		
Bythotrephes longimanus		+		(+)		
Ceriodaphnia pulchella		+		+		
Ceriodaphnia quadrangula				+	ja	
Chydorus (geen C. sphaericus)		+		+	Potamogeton en Chara	
Chydorus ovalis				+	Sphagnum	
Chydorus sphaericus		±		+	+	
Daphnia cucullata		(±)		±	+	
Daphnia galeata		+	+	+	+	
Daphnia hyalina		+		+		
Daphnia magna				+		
Daphnia obtusa				+		
Daphnia pulex				+		
Daphnia pulicaria		+		+		
Diaphanosoma			+	+	+	
Disparalona rostrata				+	ja	
Eurycerus glacialis					(+)	ja
Eurycerus lamellatus			+	+	Chara en Elodea	
Graptoleberis testudinaria			+	+	Ceratophyllum en Elodea	
Leptodora kindti		±		±	+	
Pleuroxus aduncus				+	Chara en Potamogeton	
Pleuroxus denticulatus				+	ja	
Pleuroxus truncatus				+	Ceratophyllum, Elodea en Potamogeton	
Pleuroxus uncinatus			+	+	Chara en Potamogeton	
Polyphemus pediculus		+	+	+	+	Potamogeton
Scapholeberis microcephala			+	+	+	Sphagnum
Scapholeberis mucronata			+	+	+	
Sida crystallina		+		+	+	
Simocephalus				+	ja	
Simocephalus expinosus				+	Ceratophyllum, Elodea en Potamogeton	
Simocephalus vetulus		+		+	ja	

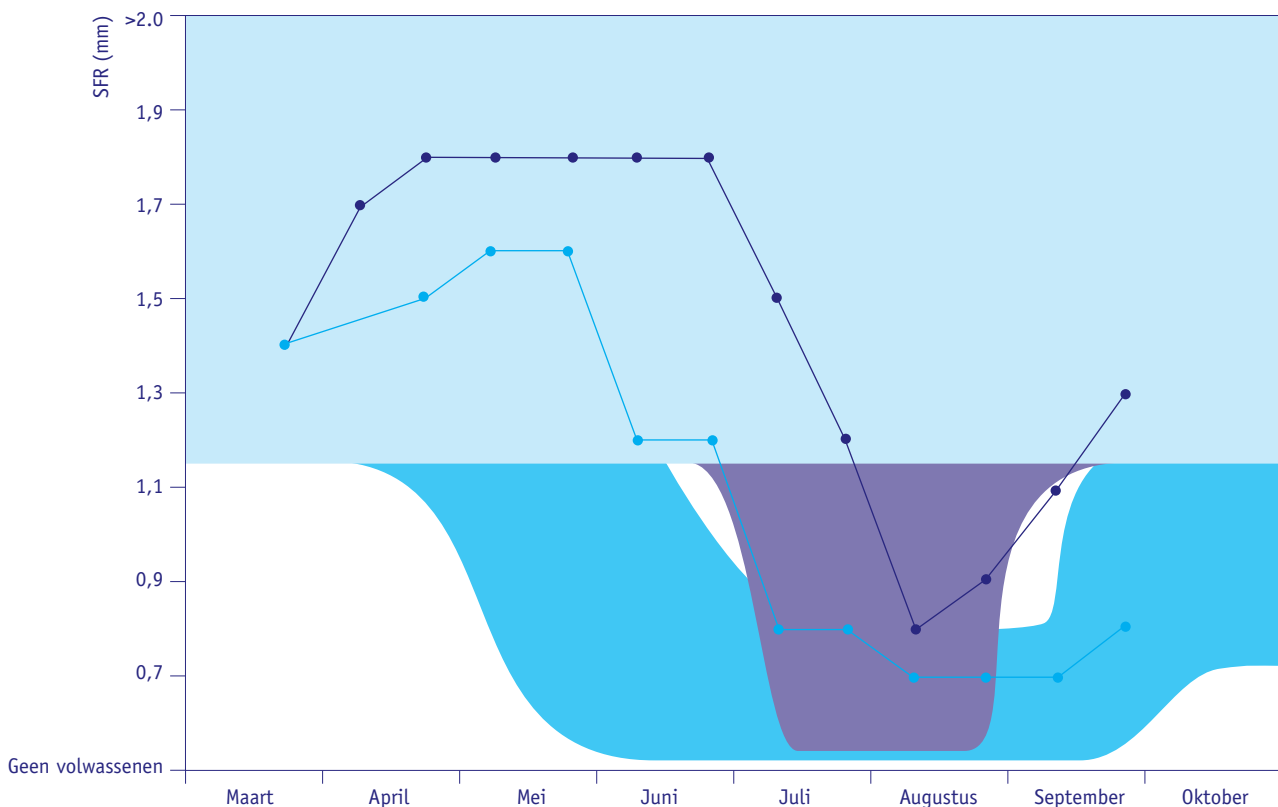
Aasgarnalen (Mysidacea)

Hemimysis anomala		+	+		+	+	(ja)
Limnomysis benedeni			+	+	+		Ceratophyllum, Elodea en Potamogeton
Mysis relicta		+					
Neomysis integer					+	+	

Fig 10.4 De invloed van de predatie door vis op *Daphnia*

De invloed van de predatie door vis op *Daphnia* (uitgedrukt in de grootte bij eerste voortplanting: SFR) in twee gescheiden gedeelten van een Limburgse zandafgraving bij Heel, zomer 2006 (bewerkt naar: Wagenvoort et al. 2003, Wagenvoort 2006).

- Geen invloed van predatie door vis
- Vispredatie gedurende een korte periode (eerstejaars vis)
- Vispredatie gedurende het gehele seizoen (eerstejaars en oudere vis)
- Systeem met veel oudere witvis (met name Brasem)
- Systeem met veel roofvis en sterke aanwas van jonge Baars en Blankvoorn die kortdurend de dichtheid van *Daphnia* decimeren

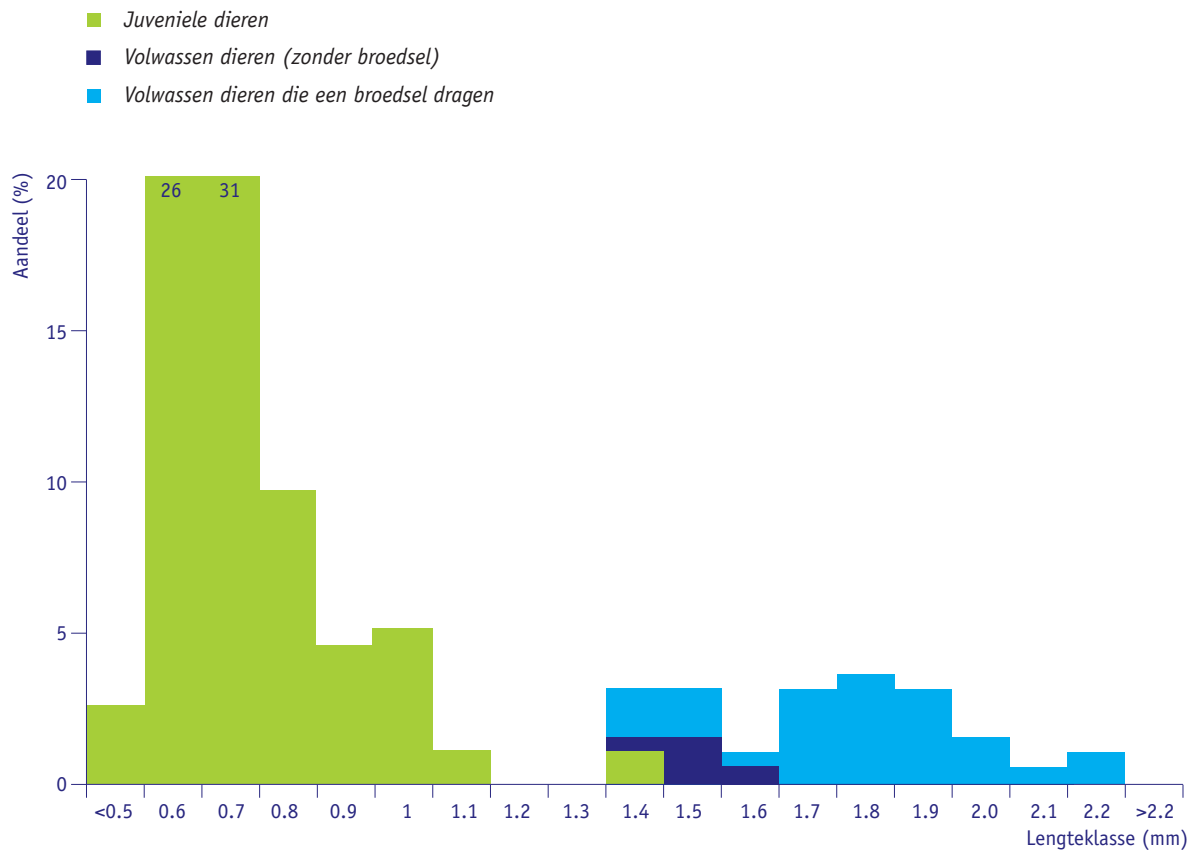


10.2.5 Nieuwe maatlatten

In de Europese Kaderrichtlijn Water is zoöplankton geen kwaliteitselement voor de bepaling van de ecologische toestand van oppervlaktewater. Daarom is voor deze groep geen officiële KRW-maatlat ontwikkeld. De komst van de KRW is wel een stimulans geweest voor de ontwikkeling van een aantal nieuwe indices, om de ecologische kwaliteit van oppervlaktewater met behulp van zoöplankton te bepalen (Lougheed & Chow-Fraser 2002, Moss *et al.* 2003, Boix *et al.* 2005, Søndergaard *et al.* 2005). Ook het zoöplankton bezit een aantal eigenschappen die het geschikt maakt als biologische indicator. Bovendien vervult het een sleutelrol in het voedselweb van plassen en meren. De maatlatten van Moss *et al.* (2003) en Søndergaard *et al.* (2005) zijn gebaseerd op gegevens uit respectievelijk Europese (waaronder Nederlandse) en Deense wateren. Daardoor zijn alleen deze vermoedelijk toepasbaar voor onze wateren. Tabel 10.3 geeft een overzicht van beide maatlatten.

Fig 10.5 De lengte-frequentieverdeling van Daphnia (n=195)

De lengte-frequentieverdeling van *Daphnia* (n=195) bij een hoge predatiedruk door carnivoor zoöplankton in een Limburgs zandafgraving nabij Heel (8 augustus 2007, naar: Wagenvoort 2008a en b). De dichtheid van de carnivore watervlooien, *Leptodora kindti* en *Bythotrephes longimanus*, bedraagt respectievelijk 150 en 300 per m³.



10.2.6 Voorwaarden voor toepassing beoordelingssystemen

De hiervoor genoemde toepassingsmogelijkheden stellen verschillende eisen aan bemonstering- en analysemethoden. Daarom kan men niet volstaan met één methode. Tabel 10.4 geeft een overzicht van de toepassingen met de bijbehorende richtlijnen voor monsterneming en analyse. De belangrijkste verschillen tussen EBeoGat en de overige toepassingen zijn de frequentie van bemonstering, de gebruikte maaswijdten voor monsterneming of concentratie, en de wijze van kwantificeren.

Eisen vanuit de EBeo-systemen (EBeoGat)

- Een voor het water representatieve bemonstering van zoöplankton groter dan vijftig micrometer, op minimaal één tijdstip in het zomerhalfjaar.
- Determinatieniveau: soort (met uitzondering van enkele geslachten).
- Kwantificering: relatieve abundantie op basis van individuen.

Eisen vanuit de overige toepassingen

- Een voor het water representatieve bemonstering van meso- en macrozoöplankton, op drie tot twaalf tijdstippen in het zomerhalfjaar.
- Determinatieniveau: soort of geslacht.
- Kwantificering: aantal dieren per volume-eenheid, lengte, biovolume of biomassa.

Tabel 10.3 Twee nieuwe maatlaten voor een beoordeling van de ecologische kwaliteit

Twee nieuwe maatlaten voor een beoordeling van de ecologische kwaliteit met behulp van zoöplankton, met een kwaliteitsklasse-indeling volgens de KRW-maatlaten (*S* = slecht, *O* = ontoereikend, *M* = matig, *G* = goed en *ZG* = zeer goed).

MAATLAT	PARAMETER	S	O	M	G	ZG
Moss et al. 2003	Cladoceren > 0,5 mm : Cladoceren totaal (mm ³ /L of µg DW/L)	< 0,2	< 0,2	≥ 0,2	> 0,5	> 0,5
	Potentiele graasdruk: biomassa copepoden+cladoceren : biomassa fytoplankton (in mm ³ /L of µg DW/L)	< 0,3	< 0,3	≥ 0,3	> 0,7	> 0,7
Søndergaard et al. 2005						
Ondiepe meren (< 3 m)	Totale biomassa zoöplankton (µg DW/L)	< 1024	< 487	< 342	< 164	< 164
	Biomassa Cyclopoida (µg DW/L)	< 237	< 98	< 60	< 25	< 7
	Biomassa Calanoida (µg DW/L)	< 2,3	< 2,3	< 1,7	< 1,1	
	Biomassa cladoceren (µg DW/n)	> 1,1	> 1,6	> 2,6	> 2,6	> 3,0
	Zoöplankton : Fytoplankton (µg DW/L : µg DW/L)	> 0,11	> 0,13	> 0,19	> 0,27	> 0,41
Diepe meren (> 3 m)	Totale biomassa zoöplankton (µg DW/L)	> 615	< 615	< 436	< 280	< 227
	Biomassa Cyclopoida (µg DW/L)	> 237	< 237	< 98	< 67	< 47
	Zoöplankton : Fytoplankton (µg DW/L : µg DW/L)	< 0,16	> 0,16	> 0,21	> 0,40	> 0,48

TOELICHTING METHODE

Moss

Onderzoeksperiode	mei tot en met september
Bemonstering	mengmonster (10 liter) gefilterd over 50 µm
Determinatie	genusniveau
Analyse	bepaal biovolume of biomassa.

Søndergaard

Onderzoeksperiode	mei tot en met september - tweewekelijks
Bemonstering	niet vermeld; vermoedelijk is een mengmonster (25 liter) gefilterd over 100 µm voldoende
Determinatie	genusniveau
Analyse	bepaal DW op basis van lengte-gewicht relaties (McCauly 1984) of uit biovolume

10.3 TOELICHTING OP DE WERKVOORSCHRIFTEN

10.3.1 Algemeen

Voor de verschillende toepassingen van zoöplankton zijn vier combinaties van werkvoorschriften nodig (vergelijk [tabel 10.4](#)):

- 1 bemonstering en analyse voor EBeoGat;
- 2 bemonstering en analyse *Daphnia* voor PGP, LF en SFR;
- 3 bemonstering en analyse mesozoöplankton voor nieuwe maatlatten;
- 4 bemonstering en analyse van macrozoöplankton.

De werkvoorschriften voor EBeoGat zijn gepresenteerd in de versie september 2010 van dit handboek.

10.3.2 Bemonstering

De keuze van het monsterpunt en de bemonstering zelf zijn kritische stappen in het onderzoek, omdat zoöplankton in het algemeen niet gelijkmatig verdeeld is. De werkvoorschriften bemonstering geven richtlijnen hiervoor. Daarnaast zijn er richtlijnen voor de frequentie en tijdstippen van bemonstering. Hieronder een korte toelichting.

Plassen, meren

Voor EBeoGat en de mesozoöplanktontoepassingen bemonstert men bij voorkeur op de punten waar ook monsters voor andere parameters worden genomen (chemische en fysische parameters en fytoplankton; zie [hoofdstuk 7](#)). In grote meren met een oppervlak van meer dan tien vierkante kilometer (KRW-typen M15 en M21) zal de ruimtelijke variatie het wenselijk maken om het meer op te splitsen in twee of meer deelgebieden, met in elk gebied één meetpunt. In alle gevallen gaat men bij de bemonstering uit van een niet-homogene verdeling over de waterkolom.

Van het macrozoöplankton kan de ruimtelijke verdeling zeer heterogeen zijn, met name overdag. Daarom kan men niet volstaan met een paar monsterpunten. Om een representatieve bemonstering uit te kunnen voeren is een vooronderzoek of ondersteuning door SCUBA-duikers heel nuttig. Deze kunnen de verspreiding van de dieren beter beoordelen, zodat de bemonstering effectiever uitgevoerd kan worden (zie ook *Keuze van het bemonsteringstijdstip*).

Beken en rivieren

In stromende wateren is de waterkolom goed gemengd. Per meetpunt kan men daarom volstaan met twee monsterpunten op één diepte. Omdat de ruimtelijke verdeling over het dwarsprofiel wel heterogeen kan zijn, kiest men de monsterpunten in de stroomdraad, net als bij fytoplankton ([hoofdstuk 7](#)).

Kanalen

In druk bevaren kanalen is de waterkolom gemengd, zodat men ze kan bemonsteren als een rivier. Minder druk bevaren kanalen moet men bemonsteren als een meer.

Frequentie van bemonstering

De ontwikkeling van het zoöplankton wordt in belangrijke mate bepaald door de watertemperatuur. Daardoor is de zoöplanktondichtheid het hoogst in de periode mei tot en met september. In ieder geval in deze periode moet men zoöplanktononderzoek uitvoeren. Vaak begint men al in april. Voor EBeoGat moet men in deze periode één of twee bemonsteringen uitvoeren. Voor de andere toepassingen van mesozoöplankton ligt de frequentie hoger. Dit is nodig gezien de grote populatiedynamiek (door variatie in het voedselaanbod en variatie in predatie; zie [bijlage 22](#)). Een representatieve beschrijving van de graas-

druk vraagt minstens een maandelijks, maar bij voorkeur een tweewekelijkse bemonstering. Onderzoek naar de lengte-frequentieverdeling van *Daphnia* (LF of SFR) voert men bij voorkeur uit door een tweewekelijkse bemonstering tijdens de periode april tot en met oktober. Vóór de maand juni en na augustus is predatie door kleine vis gewoonlijk van weinig belang, maar kan wel predatie door oudere vis optreden (figuur 10.4). Om dit te kunnen vaststellen dient de onderzoeksperiode enigszins langer te zijn. Voor de maatlaten van Moss *et al.* (2003) en Søndergaard *et al.* (2005) hanteert men een zelfde bemonsteringsperiode en -frequentie.

Voor meer gedetailleerde, jaarronde studies naar de populatiedynamiek van mesozoöplankton of de graasdruk van *Daphnia*, kan men uitgaan van de volgende bemonsteringsintervallen, afhankelijk van de watertemperatuur:

- watertemperatuur lager dan 10 °C: eens per acht weken of vaker;
- watertemperatuur tussen 10 °C en 15 °C: eens per vier weken of vaker;
- watertemperatuur hoger dan 15 °C: eens per twee weken of vaker.

De bemonstering van aasgarnalen kan men uitvoeren op twee tijdstippen in het groeiseizoen, een keer in het voorjaar (mei) en een keer in de nazomer (eind augustus/begin september).

Tabel 10.4 Toepassing en opzet van monsterneming en analyse van de verschillende groepen

GROEP / TAXA	GROOTTE (µm)	TOEPASSING					BEMONSTERING			ANALYSE				
		EBEOGAT	GRAASDRUK (PGP)	PREDATIE VIS (LF EN SFR)	PREDATIE ZOOPLANKTON (LF)	MOSS ET AL. 2003	SØNDERGAARD ET AL. (2005)	WATERHAPPER	TREKMONSTER	MAASWIJDTE NET (µm)	VOLUME MENGMONSTER (l)	CONSERVERING	SEDIMENTATIEKAMER	KAMER VOLGENS BOGOROV
Microzoöplankton														
Rotozoa	2 - 200	+					+	nvt	≥ 1		Lugol	+		
Rotifera	30 - 200	+					+	nvt	≥ 1		formaline		+	
Naupliuslarven	150 - 200						+	nvt	≥ 1		formaline		+	
Mesozoöplankton														
Rotifera	100 - 2 000	+				+	+	100	≥ 10		formaline	+		
Cladocera	200 - 15 000	+				+	+	100	≥ 10		met sucrose	+		
Copepoda	100 - 5 000	+				+	+	100	≥ 10			+		
Daphnia	300 - 4 000		+	+	+		+	+	250	≥ 10	ethanol		+	+
Macrozoöplankton														
Mysidacea / Chaoborus	500 - 10 000					+		+	500	≥ 10 000	ethanol			+

Tijdstip van bemonstering

Mesozoöplankton kan migreren onder invloed van planktivore vis. Hierdoor zou de populatiedichtheid 's nachts over het algemeen nauwkeuriger geschat kunnen worden dan overdag. Om logistieke redenen vindt de bemonstering van het mesozoöplankton echter vrijwel altijd overdag plaats. Met verticale migratie houden we rekening door de gehele, of in diepe plassen een groot deel van de waterkolom te bemonsteren. Met horizontale migratie is het moeilijker rekening te houden, ook al bemonsteren we op meerdere punten. Voor het opbouwen van een consistente tijdreeks voor bijvoorbeeld trendanalyse, is het daarom van belang om dezelfde punten zoveel mogelijk op eenzelfde tijdstip te bemonsteren. Datzelfde geldt voor onderzoek waarbij men het zoöplankton tussen meerdere wateren wil kunnen vergelijken.

Aasgarnalen houden zich overdag uitsluitend bij de bodem op. Daarbij kan de verspreiding ook in horizontale richting erg heterogeen zijn. 's Nachts zwermen de dieren uit over de gehele waterkolom. Voor een goede en efficiënte bestandsopname van dit macrozoöplankton, is een nachtelijke bemonstering daarom aan te raden.

Bemonsteringsapparatuur

Kwantitatieve zoöplanktonmonsters neemt men bij voorkeur met een waterhapper (type Ruttner, Friedringer of Niskin). Bijlage 10A geeft beschrijvingen van deze happers.

Voor de bemonstering van zeer ondiepe wateren (diepte minder dan 0,3 meter) kan men gebruik maken van een horizontale geplaatste waterhapper (type Niskin of Friedringer) of een steekbuis.

Voor de bemonstering van zeer voedselarme wateren is een Schindler-Patalas waterhapper handig. Deze waterhapper bemonstert per keer veertig liter water en loopt bij het ophalen aan het oppervlakte leeg door een planktonnet. Daardoor is de happer ondanks het grote volume toch betrekkelijk gemakkelijk te hanteren.

Voor de meeste toepassingen is het belangrijk om het bemonsterde volume te weten. Alleen voor de EBeo-beoordeling en de SFR- en lengte-frequentie-bepaling van *Daphnia* is dat niet strikt noodzakelijk (maar raden we wel aan met het oog op een verruiming van de interpretatiemogelijkheden). Daarom moet men de inhoud van de waterhappers vóór het gebruik nauwkeurig meten. In het veld kan men dan direct het monstervolume berekenen door het aantal happen te vermenigvuldigen met het volume van de waterhapper.

Bij het gebruik van steekbuizen is het volume van een steekmonster nooit constant maar afhankelijk van de 'steekdiepte'. Het volume van het totale monster bepaalt men in dit geval door alle steekbuismonsters te verzamelen in een vat met een gekalibreerde maatverdeling en vervolgens het volume af te lezen.

Om de diepte van bemonstering te kunnen bepalen is de waterhapper vastgemaakt aan een lijn met een maatverdeling in meters. De lijn moet natuurlijk niet elastisch zijn en ook niet krimpen wanneer hij nat wordt. Daarom raden we een lijn aan met een kevlar binnenkern of een staalkabel.

Trekmonsters met planktonnetten met een maaswijdte kleiner dan 250 micrometer, leveren geen kwantitatieve monsters op. Ook al bepaalt men de lengte van de trek en de diameter van de netopening, door de stuwung van het net kan men het volume van het monster niet exact vaststellen. Bovendien, omdat het net geleidelijk dichtslibt is het aandeel van de verschillende waterlagen in het monster niet gelijk.

Voor de bepaling van de lengte-frequentieverdeling van *Daphnia* hoeft dit niet bezwaarlijk te zijn. Hiervoor kan een trekmonster bij gebruik van een maaswijdte van 250 micrometer of meer bruikbaar zijn.

Voor een bestandsopname van aasgarnalen zijn waterhappers niet werkbaar, omdat de dieren deze makkelijk ontvluchten en hun dichtheid laag is. Daarvoor zet men grote planktonnetten in met een grote diameter (0,6 meter of meer) en een grote maaswijdte (vijfhonderd micrometer of meer; Ketelaars *et al.* 1999). De stuwung bij deze netten is relatief gering, maar de dichtheidsbepaling zal toch altijd wat minder nauwkeurig zijn.

Monstervolume en concentratie

Het monstervolume en de maaswijdte waarover de monsters worden geconcentreerd, zijn afhankelijk van de groep waarop men het onderzoek richt:

- 1 microzoöplankton: deze groep kan in hoge dichtheden voorkomen, van enkele honderden tot duizenden per *milliliter* oppervlaktewater. Daarom kan men volstaan met een ongeconcentreerd monster van één tot vijf liter;
- 2 mesozoöplankton: van deze groep is de dichtheid gewoonlijk veel lager, in de orde van enkele tot enkele honderden (cladoceren) tot duizenden (raderdieren) per *liter*. Op het oog kan men in het veld de dichtheid van de copepoden en cladoceren redelijk schatten en kan men het volume daarop aanpassen. In (zeer) voedselrijke plassen liggen de monstervolumina in dat geval meestal tussen zes en 24 liter. Sommigen bemonsteren standaard een groter volume, van vijftig liter of meer. Bij de analyse zal dit kunnen leiden tot veel splitswerk dat de nauwkeurigheid van de dichtheidsbepaling niet bevordert. In het algemeen is het beter om voldoende maar zeker niet teveel te bemonsteren. Monsters van mesozoöplankton concentreert men in het veld over planktongaas met een maaswijdte van honderd micrometer. Dit planktongaas slibt minder snel dicht dan vijftig micrometer gaas en het monster bevat minder algen en detritus die de analyse bemoeilijken;
- 3 macrozoöplankton: hiervoor bemonstert men zeer grote volumina van duizenden tot tienduizenden liters. De monsters concentreert men over planktongaas met een maaswijdte van vijfhonderd micrometer of meer.

Opmerking

Bij veel zoöplanktononderzoek combineert men de bemonstering van het micro- en mesozoöplankton. Daarbij neemt men een watermonster van vijf tot 25 liter en concentreert dat over planktongaas met een maaswijdte van dertig of vijftig micrometer. In deze monsters bepaalt men ook de dichtheid van het micro-zoöplankton. De kleinste vertegenwoordigers van deze groep zal men echter niet kwantitatief bemonsteren, omdat ze deels door de mazen van het planktongaas spoelen (Vannucci 1979).

Daarnaast kan de dichtheid van het grote zoöplankton in minder voedselrijke wateren (sommige wingaten...) te laag zijn voor een nauwkeurige analyse.

Bemonstering van gestratificeerde meren

Meren dieper dan zes meter zijn in de periode mei-september gewoonlijk gestratificeerd door opwarming. Dat betekent dat er een relatief warme bovenlaag is van een meter of vijf à zes diep (het epilimnion) en een relatief koude onderlaag (het hypolimnion). Beide lagen zijn gescheiden door een spronglaag van ongeveer een meter (het metalimnion), waarin de temperatuur snel afneemt (bijvoorbeeld van twintig graden Celsius naar zeven).

Zoöplankton laat zich niet tegenhouden door een spronglaag en zal men ook in het hypolimnion aantreffen. Daarom bemonstert men de hele waterkolom. In sommige gevallen echter kan het hypolimnion zeer arm zijn aan zuurstof. In zo'n geval kan men in het hypolimnion wel veel heterotrofe flagellaten vinden, maar heel weinig mesozoöplankton. We raden daarom aan om in gestratificeerde plassen standaard zowel het epi- als het hypolimnion te bemonsteren, maar de monsters van beide lagen apart te houden en te verwerken. Vóór de bemonstering meet men het verloop van temperatuur en zuurstofgehalte, zodat men de diepte van de spronglaag kan bepalen, en de zuurstofrijkdom van het hypolimnion.

10.3.3 Conservering

Door het monster goed te conserveren voorkomt men afbraak van het organische materiaal. In Nederland zijn formaline, ethanol en Lugol de meest gebruikte conserveringsmiddelen voor zoöplankton (zie [bijlage 12](#)). Van oudsher werd meestal formaline voorgeschreven, maar vanwege de schadelijkheid proberen we

het gebruik hiervan in dit handboek zoveel mogelijk te beperken. Voordelen van formaline zijn de betere conservering op langere termijn en de afwezigheid van verlies van biomassa. Voor de toepassing EBeoGat is dit laatste echter geen punt.

Daarom raden we het gebruik van Lugol aan voor monsters voor EBeo, mits men deze binnen zes maanden analyseert. Bovendien moet men de monsters koel en donker bewaren en in de eerste maand wekelijks controleren op ontkleuring.

Lugol wordt verder wel gebruikt voor de conservering van microzoöplankton.

Het gebruik van Lugol voor meso- en macrozoöplankton raadt men af. Voor deze groepen geeft men de voorkeur aan formaline met sucrose.

10.3.4 Analyse

Deelmonsters

Binnen de groep mesozoöplankton hebben we meestal te maken met grote verschillen in dichtheid tussen taxa (bijvoorbeeld tussen raderdieren/nauplii en cladoceren, en binnen de cladoceren tussen *Bosmina* en *Daphnia*). Om de verschillende taxa goed te kunnen tellen, is het doorgaans nodig om een goede splitsing in deelmonsters te maken, voorafgaand aan de analyse. Dit is temeer noodzakelijk, omdat we aanbevelen om gehele telkamers te onderzoeken, en niet delen van telkamers, zoals beeldvelden. De reden is de veelal geclusterde verdeling van organismen in sedimentatiecuvetten.

Om een monster te splitsen in deelmonster gebruiken we monstersplitters. Hiervan zijn twee typen bekend, waarvan de splitter volgens Folsom in de handel verkrijgbaar is. De andere, de splitter volgens Kott (1953; zie ook De Nie & Vijverberg 1985), is aanbevolen door de Zooplankton Monitoring Expert Workshop van HELCOM MONAS (2005). Deze zou iets nauwkeuriger zijn dan de Folsom, maar het gebruik kost wel heel veel tijd.

Het gebruik van de Folsom-splitter vereist enige handigheid (Longhurst & Seibert 1967) en men moet het apparaat van tijd tot tijd valideren. Dit geldt ook voor de splitter volgens Kott. Dit gaat het beste met een standaardmengsel van grotere watervlooiën.

Om de introductie van fouten te beperken moet men zo weinig mogelijk splitsen. Ook daarom is het zaak om zorgvuldig en niet teveel te bemonsteren. Betrouwbare resultaten kan men met de Folsom splitter in ieder geval nog verkrijgen tot een aantal van vijf splitsingen (dat geeft een 32^e deel van het monster). Bij een monstervolume van zes tot 24 liter zijn doorgaans niet meer dan drie tot vier splitsingen nodig.

Tellen en meten

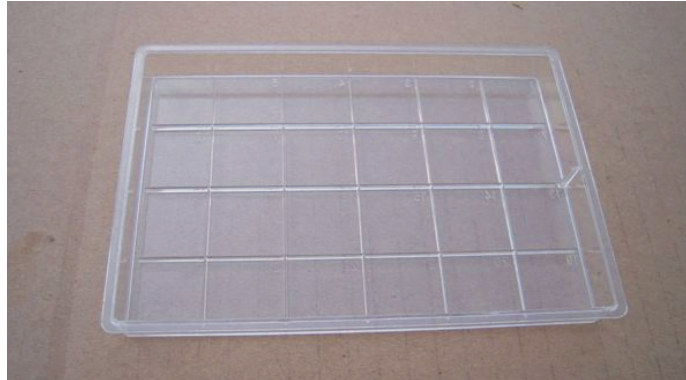
Voor het tellen van microzoöplankton kan men de methoden en cuvetten gebruiken die we voor fytoplankton hebben beschreven ([hoofdstuk 7](#)).

Voor mesozoöplankton gebruiken we grotere sedimentatiekamers (cuvetten; [bijlage 17](#)), die onderzocht worden met een omkeermicroscop. Door het gebruik van een gelinieerde bodemplaat is het gemakkelijker om de telling in banen uit te voeren, zonder te hoeven twijfelen of een organisme al niet eerder zou zijn geteld. Zoals we hierboven al opmerkten, raden we het tellen van een deel van een telkamer (of enkele banen) voor mesozoöplankton beslist af. De reden is dat men niet kan aannemen dat de grotere organismen volgens het toeval (*at random*) over de telkamerbodem verdeeld zijn. Na de telling kan men de dieren in de telkamer manipuleren met een fijn naaldje, wanneer dit nodig is voor de determinatie. Voor het tellen of meten van grote zoöplanktonsoorten (groter dan 0,5 millimeter) en macrozoöplankton, gebruikt men ook wel telkamers volgens Bogorov of weefselkweekbakjes met een vakverdeling ([figuur 10.6](#)). Deze open telkamers onderzoekt men meestal niet met een omkeermicroscop, maar met een stereomicroscop.

[Tabel 10.5](#) geeft specificaties van de microscopen die men voor zoöplanktononderzoek nodig heeft.

Fig 10.6 Twee hulpmiddelen voor het tellen van groter zoöplankton

Links een telkamer volgens Bogorov. Foto Hydro-Bios, Kiel. Rechts een weefselweekbakje met vakverdeling. Foto Ad Kuipers, Aqualab.



Bepaling van biovolume en biomassa

Voor een beoordeling van de graasdruk (PGP) of toepassing van de maatlatten volgens Moss of Søndergaard (paragraaf 10.2.5), is een bepaling van het biovolume of de biomassa nodig. Hiertoe meet men de lengte van het organisme zo nauwkeurig mogelijk. Vervolgens berekent men het biovolume als functie van deze lengte, met behulp van een vergelijking die speciaal voor deze soort is afgeleid. In plaats van de lengte kan het ook een andere dimensie zijn.

De dimensiemetingen kan men zowel met een oculairmicrometer als met beeldverwerkingsapparatuur uitvoeren. Het gebruik van beeldverwerkingsapparatuur werkt makkelijker, sneller en nauwkeuriger en leidt daarom tot een betere dataset dan een oculairmicrometer. Dit komt omdat:

- de meetresolutie bij beeldverwerkingsapparatuur veelal hoger is dan bij het gebruik van een oculairmicrometer;
- er bij het gebruik van beeldverwerkingsapparatuur geen afleesfouten zijn;
- de dataverwerking bij beeldverwerkingsapparatuur geautomatiseerd gaat, waardoor handmatige invoer als foutenbron wordt uitgesloten;
- het gebruik van beeldverwerkingsapparatuur minder snel leidt tot vermoeidheid van de analist;
- de analysetijd van metingen uitgevoerd met beeldverwerkingsapparatuur aanzienlijk korter is dan met een oculairmicrometer (McCauley 1984).

Ook voor het bepalen van lengte-frequentieverdelingen en de SFR, biedt het gebruik van beeldverwerkingsapparatuur voordelen boven de oculair micrometer.

Determinatie

Men determineert de organismen tot verschillende taxonomische niveaus, afhankelijk van de vraagstelling en de mogelijkheden die de taxonomie en de conservering bieden. Baseer de determinatie op de werken die in bijlage 31 zijn genoemd. Hierin staan ook aanvullende werken, die niet noodzakelijk zijn, maar wel bruikbare aanvullende informatie kunnen geven. Het is aan te raden om de telling te beginnen met het opstellen van een soortenlijst (of taxonlijst, aangezien men sommige soorten niet met zekerheid tot op soort zal kunnen determineren). Men heeft dan de kans om meerdere exemplaren van een soort te bestuderen en hoeft de telling zelf minder vaak te onderbreken voor een determinatie.

Gebruik de determinatiesleutels maar raadpleeg ook de beschrijving en ga na of de soort in het betreffende milieu te verwachten is (zie ook tabel 10.2). Maak foto's van bijzondere soorten en raadpleeg een specialist bij twijfel over de determinatie van een soort die relatief abundant in het monster aanwezig is. Gebruik zo mogelijk een levend monster en gebruik open telkamers om de organismen onder het microscoop te kunnen manipuleren.

Hou ook rekening met de toelichting in bijlage 31 en de volgende opmerkingen per taxonomische groep.

Raderdieren

Alle determinatiewerken zijn gebaseerd op de kenmerken van vrouwelijke exemplaren. Mannelijke exemplaren kan men niet of slechts zeer moeilijk op naam brengen.

Watervlooien

In alle determinatiewerken zijn de sleutels gebaseerd op de kenmerken van volwassen vrouwelijke exemplaren. Mannelijke exemplaren kunnen veel moeilijker op naam worden gebracht. In Flößner (2000) zijn wel afbeeldingen van de mannetjes opgenomen.

Tabel 10.5 Aanbevolen configuratie van microscopen voor zoöplanktononderzoek

GROEP	OMKEER	STEREO	STERKSTE VERGROTING	APERTUUR CONDENSOR	APERTUUR OBJECTIEVEN	MEETNAUW- KEURIGHEID (in μm)
Microzoöplankton						
Protozoën, rotiferen en nauplius-larven	+		400×	$\geq 0,5$	0,85	1
Mesozoöplankton						
Rotiferen	+		200×	$\geq 0,5$	0,70	5
Cladoceren en copepoden	+	+	100×	$\geq 0,3$	0,10	5
Daphnia (LF en SFR)	+	+	100×	$\geq 0,3$	0,10	10
Macrozoöplankton						
Mysidacea en Chaoborus		+	60×	nvt	0,10	10

Een cladoceer is volwassen als het een goed ontwikkelde broedkamer heeft (al dan niet gevuld met een broedsels), of duidelijke achterlijfaanhangsels (Zwerver & Dekker 1996, Anonymus 2003). Juveniële cladoceren bezitten nog niet alle determinatiekenmerken en kunnen niet altijd op soort worden gebracht. Indeling in morfologische groepen (soortgroepen, bijvoorbeeld bij *Daphnia* in de groepen *Ctenodaphnia*, *Daphnia pulex*-groep, *Daphnia longispina*-groep) is wel goed mogelijk.

Copepoden

Met de determinatiewerken voor copepoden kunnen volwassen vrouwelijke en mannelijke dieren op naam worden gebracht. Dekker & Zwerver (1997) behandelt de soorten die men in Nederland kan aantreffen (Calanoidea en Cyclopoidea). De determinatiesleutel is gebaseerd op een aantal basiskenmerken die goed (en relatief eenvoudig) onder de microscoop zijn te onderscheiden. Andere werken zoals onder meer Dussart (1967 en 1969) en Einsle (1993) zijn voor een groot deel gebaseerd op kenmerken van pootparen. Deze kenmerken zijn vaak moeilijk zichtbaar als het dier niet gemanipuleerd kan worden (Krause-Dellin 1997).

Aasgarnalen

Aan het einde van de twintigste eeuw hebben twee soorten aasgarnalen zich verspreid vanuit het Pontokaspisch gebied naar West-Europa (en inmiddels ook naar Noord-Amerika). Faase (1998) en Kelleher *et al.* (1999) hebben deze invasies gemeld en geven afbeeldingen en kenmerken van de exoten en de inheemse soorten. Ook Eggers *et al.* (1999) is geschikt. Het is goed mogelijk dat in de komende jaren meer soorten aasgarnalen uit Oost-Europa zich vestigen in West-Europa. Voor deze potentiële nieuwkomers is het werk van Komarova (1991) geschikt.

10.4 KRITISCHE STAPPEN IN BEMONSTERING EN ANALYSE

Opwerveling

Wanneer men de waterhapper te gehaast en te ver laat zakken belandt hij op de bodem en zorgt daar voor opwerveling van sediment. Dit levert monsters op die moeilijk te analyseren zijn zonder extra voorbehandeling. Vermijd deze opwerveling daarom. Bepaal eerst de diepte (in diepe plassen tijdens de temperatuursmeting in de verticaal) en laat de happer voorzichtig zakken. Bij veel opwerveling in ondiepe meren laat men de happer zakken tot hij de bodem raakt, haalt hem dan weer een halve meter omhoog en laat hem vervolgens enkele meters verder dicht klappen.

Contaminatie

In planktonnetjes blijven gemakkelijk organismen hangen. Maak het netje goed schoon vóór elke bemonstering met een afwasborstel, en het zeefje met een stevig kwastje of in een ultrasoon bad.

Conservering

Geconcentreerde monsters van zoöplankton bevatten veel organisch materiaal. Bij het gebruik van Lugol kan daardoor binnen één week ontkleuring optreden. Controleer de staat van conservering daarom regelmatig, de eerste maand wekelijks.

Zorg bij gebruik van formaline dat dit vers is. Onder invloed van licht kan formaldehyde langzaam omgezet worden in mierzuur. Hierdoor kan het monster volledig geruïneerd worden.

Verdeling

De verdeling van het microzoöplankton over de bodem van het sedimentatiecuvet is van grote invloed op de reproduceerbaarheid van het analyseresultaat, met name van de dichtheidsbepaling. De verdeling moet 'volgens het toeval zijn', met andere woorden: volgens een Poisonverdeling (zie [bijlage 18](#)).

Voor mesozoöplankton heeft deze verdeling geen invloed op het resultaat, omdat men standaard gehele telkamers onderzoekt.



10.5 KWALITEITSZORG

Opleiding

Iedereen die zoöplankton gaat bemonsteren of analyseren moet een inwerkprogramma hebben doorlopen. Dit opleidingstraject moet worden afgelegd en gedocumenteerd onder supervisie van een ervaren analist (NEN EN 17205). Hierbij kan men ondersteuning zoeken bij een externe specialist. Bij zelfstudie moet men dat zeker doen (zie [bijlage 2](#) voor adressen).

Lijnscontroles

Gecertificeerde hydrobiologische laboratoria moeten lijnscontroles uitvoeren, om de kwaliteit van hun analyseresultaten te waarborgen. Er zijn drie lijnscontroles. Tezamen moeten zij de betrouwbaarheid van onderzoeksresultaten waarborgen. In de werkvoorschriften zijn richtlijnen en tips gegeven om deze lijnscontroles in te vullen.

Kalibraties

Kalibraties kan men beschouwen als onderdeel van de eerstelijnscontrole. Ze hebben immers directe invloed op de betrouwbaarheid van de eigen resultaten. In het zoöplanktononderzoek gebruikt men diverse apparatuur en hulpmiddelen, die men op gezette tijden moet kalibreren (waterhapper, lengte van zijn lijn, zuurstofmeter, Folsomsplitter, oculair-micrometer, e.a.). Aanwijzingen voor deze kalibraties vindt men in de betreffende bijlagen in dit handboek of in de gebruikershandleiding van het instrument.

10.6 TIJDSBESTEDING EN KOSTEN

10.6.1 Achtergrond

Onderzoek aan zoöplankton vraagt tijd voor voorbereiding, bemonstering, determinatie, telling, biovolumebepaling en voor invoer en controle van de gegevens.

De algemene voorbereiding richt zich op de planning van routes en zonodig het regelen van toestemming om bepaalde meetpunten te mogen bemonsteren. Deze voorbereidingstijd is afhankelijk van de omvang van het bemonsteringsprogramma en niet in [paragraaf 10.6.2](#) gespecificeerd.

De voorbereiding per monstertocht omvat het verzamelen, controleren/kalibreren en in- en uitladen van het benodigde materiaal (mobilisatie en demobilisatie), het te water laten van een boot en de vaartijd naar het meetpunt, die natuurlijk sterk kan variëren. Deze voorbereidingstijd, inclusief een gemiddelde vaartijd, is, grof geschat, verwerkt in de tijdsbegroting voor het bemonsteren.

In de kosten van zoöplanktononderzoek zitten naast de onderzoekstijd ook de tijd die nodig is om kennis te verwerven (inwerktijd) en bij te houden, de tijd die besteed wordt aan ringonderzoeken en verder alle kosten die voortvloeien uit de exploitatie en inrichting van een laboratorium (zie [hoofdstuk 9](#) voor een uitgebreidere beschrijving hiervan). Deze tijd is niet verrekend in de begroting van [paragraaf 10.6.2](#).

Het overzicht in [paragraaf 10.6.2](#) is gebaseerd op de kengetallen uit Hosper *et al.* (1992) en eigen ervaring.

10.6.2 Tijdsbegroting

Onderstaande begroting is gebaseerd op de inzet van ervaren monsternemers en analisten. Aangegeven is de tijdsduur voor één persoon. Met het oog op de veiligheid zal het in de meeste gevallen nodig zijn om de bemonstering met twee personen uit te voeren.

Bemonstering

Tijdsduur: 1,5 tot 2,5 uur per meetpunt (drie monsterpunten). Dit is inclusief (de)mobilisatie, veldmetingen en een vaartijd van dertig minuten, maar exclusief reistijd naar het water.

Determinatie en telling

Tijdsduur:

- dichtheid microzoöplankton: 2 uur;
- dichtheid mesozoöplankton: 1,8 uur;
- biovolume mesozoöplankton: 0,8 uur;
- lengte-frequentieverdeling *Daphnia* en SRF: 0,8 tot 1,2 uur;
- graasdruk (PGP): 1,8 tot 2,2 uur;
- dichtheid macrozoöplankton: 1 uur

Invoer en controle van gegevens

Tijdsduur: 0,5 uur per monster.

10.7 LITERatuurVERWIJZINGEN

- Anonymus (2003) *Bepaling van de lengtefrequentieverdeling en het biovolume van Daphnia spp.* Oppervlakte-, drink- en proceswater Analysevoorschrift H7105-01. Aqualab bv, Werkendam.
- Beattie DM, Golterman HL & Vijverberg J (1978) An introduction to the limnology of the Friesian lakes. *Hydrobiologia* 58: 49-64.
- Boix D, Gacon S, Sala J, Martinoy M, Gifre J & Wuintana XD (2005) A new index of water quality assessment in Mediterranean wetlands based on crustacean and insect assemblages: the case of Catalunya (NE Iberian peninsula). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 15: 635-651.
- Bottrell HH, Duncan A, Gliwicz ZM, Grygierek E, Herzig A, Hillbricht-Ilkowska A, Kurasawa H, Larsson P & Weglenska T (1976). A review of some problems in zooplankton production studies. *Norw. J. Zool.* 24: 419-456.
- Brooks JL & Dodson SI (1965) Predation, body size and composition of plankton. *Science* 150: 25-35.
- Burkhardt S & Lehman JT (1994) Prey consumption and predatory effects on an invertebrate predator (*Bythotrephes*: Cladocera, Cercopagidae) based on phosphorus budgets. *Limnology and Oceanography* 39: 1007-1019.
- Burns C (1968) The relationship between body size of filterfeeding Cladocera and the maximum size of particles ingested. *Limnology and Oceanography* 13: 675-678.
- De Bernardi R (1974) The dynamics of a population of *Daphnia hyalina* LEYDIG in Lago Maggiore, Northern Italy. *Memorie dell'Istituto Italiano di Idrobiologia (Mem Ist Ital Idrobiol)* 31: 221-243.
- De Bie T, Declerck S, Martens K, De Meester L & Brendonck L (2008) A comparative analysis of cladoceran communities from different water body types: patterns in community composition and diversity. *Hydrobiologia* 597: 19-27.
- Declerck S, Vandekerckhove J, Johansson L, Muylaert K, Conde-Porcuna JM, Van Der Gucht K, Perez-Martinez C, Lauridsen T, Schwenk K, Zwart G, Rommens W, Lopez-Ramos J, Jeppesen E, Vyverman W, Brendonck L & De Meester L (2005) Multi-group biodiversity in shallow lakes along gradients of phosphorus and water plant cover. *Ecology* 86: 1905-1915.
- Declerck S, Vanderstukken M, Pals A, Muylaert K & De Meester L. (2007) Plankton biodiversity along a gradient of productivity and its mediation by macrophytes. *Ecology* 88: 2199-2210.
- Dekker P & Zwerver S (1997) *Copepoden van het open water*. Handleiding bij de cursusdag. Koeman & Bijkerk bv, Haren. 53 pp.
- de Nie HW & J Vijverberg (1985) The accuracy of population density estimates of copepods and cladocerans,

- using data from Tjeukemeer (the Netherlands) as an example. *Hydrobiologia* 124: 3-11.
- Dresscher TGN (1976) *Index van de namen en vindplaatsen die betrekking hebben op in Nederlandse wateren aangetroffen algen en enige groepen van micro-organismen*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam. 808 pp.
- Dussart B (1967) *Les Copépodes des eaux continentales d'Europe occidentale. Tome I : Calanoïdes et Harpacticoides*. Editions N. Boubee & Cie, Paris.
- Dussart B (1969) *Les Copépodes des eaux continentales d'Europe occidentale. Tome II : Cyclopoïdes et Biologie*. Editions N. Boubee & Cie, Paris.
- Eggers TO, Martens A & Grabow K (1999) *Hemimysis anomala Sars im Stichkanal Salzgitter* (Crustacea: Mysidacea). *Lauterbornia* 35: 43-47.
- Einsle U (1993) Crustacea: Copepoda: Calanoïda und Cyclopoïda. *Süßwasserfauna von Mitteleuropa* 8/4-1. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. 208 pp.
- Faase MA (1998) The Pontocaspian mysid *Hemimysis anomala* Sars, 1907, new to the fauna of the Netherlands. *Bulletin Zoologisch Museum* 16(10): 73-76.
- Flößner D (2000). *Die Haplopoda und Cladocera (ohne Bosminidae) Mitteleuropas*. Backhuys Publishers, Leiden. 428 pp.
- Gille L (1995) *Limiterende factoren voor grazend zoöplankton in een spaarbekken voor drinkwatervoorziening*. Thesis, Universitaire Instelling Antwerpen.
- Gliwicz ZM (1986) Predation and the evolution of vertical migration in zooplankton. *Nature* 320: 746-748.
- Gliwicz Z & Pijanowska J (1989) The role of predation in zooplankton succession. In: Sommer U (red) *Plankton ecology. Succession in plankton communities*. Springer-Verlag, Berlin. pp 253-296.
- Gulati RD & Van Donk E (2002) Lakes in the Netherlands, their origin, eutrophication and restoration: state-of-the-art review. *Hydrobiologia* 478: 73-106.
- Hambright KD (1994) Can zooplanktivorous fish really affect lake thermal dynamics? *Archiv für Hydrobiologie* 130: 429-438.
- HELCOM MONAS (2005) Outcome of the first HELCOM MONAS Zooplankton Monitoring Expert Workshop, Warnemünde, Germany, 9-11 March 2005. Document 7/2, Monitoring and Assessment Group, Helsinki Commission.
- Hoogenboezem W (2000) On the feeding biology of bream (*Abramis brama*). *Netherlands Journal of Zoology* 50: 225-232.
- Hosper SH, Leijer ML & Walker PA (1992) *Handleiding Actief Biologisch Beheer*. Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling (thans Rijkswaterstaat Waterdienst), Lelystad. 102 pp.
- Kalff J (2003) *Limnology*. Prentice Hall, New Jersey. 592 pp.
- Kelleher B, Van der Velde G, Wittmann, KJ, Faase MA & Bij de Vaate A (1999) Current status of freshwater Mysidae in the Netherlands, with record of *Limnomysis benedeni* Czerniavsky, 1882, a Pontocaspian species in Dutch Rhine branches. *Bulletin Zoologisch museum* 16(13): 89-93.
- Ketelaars HAM, Wagenvoort AJ, Herbst RF, Van der Salm PAW & De Jonge -Pinkster GJ (1995) Life history characteristics and distribution of *Bythotrephes longimanus* Leydig (Crustacea, Onychopoda) in the Biesbosch reservoirs. *Hydrobiologia* 307: 239-251.
- Ketelaars HAM, Lambregts-Van de Clundert FE, Carpentier CJ, Wagenvoort AJ & Hoogenboezem W (1999) Ecological effects of the mass occurrence of the Ponto-Caspian invader, *Hemimysis anomala* G.O. Sars, 1907 (Crustacea: Mysidacea), in a freshwater storage reservoir in the Netherlands, with notes on its autecology and new records. *Hydrobiologia* 394: 233-248.
- Ketelaars HAM, Wagenvoort AJ, Vernooij AMA, Van de Made-Engelberts A, De Jonge-Pinkster GJ & Pikaar-Schoonen CPR (in voorbereiding) *Dramatic decline of Daphnia-populations due to predation by Hemimysis anomala*.
- Komarova TI (1991) Mysidacea. *Fauna Ukrainy* 26.
- Kott P (1953) Modified whirling apparatus for the subsampling of plankton. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 4: 387-393.

- Krause-Dellin D (1997) Die Bestimmung des Zooplanktons in Flüssen und Seen. *Lauterbornia* 30, pp. 1-60.
- Lampert W & Sommer U (2007) *Limnoecology – The ecology of lakes and streams*. Oxford University Press. 324 pp.
- Lock K, van Wichelen J, Packet J, Simoens I, Van Looy K, Louette G, Warmoes T & Denys L (2007). *Bepalen van het maximaal en het goed ecologisch potentieel, als ook de huidige toestand, voor een aantal Vlaamse (gewestelijke) waterlichamen die vergelijkbaar zijn met de categorie meren - Deel 1*. Rapport. Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel. 192 pp.
- Longhurst AR & Seibert DLR (1967) Skill in the use of Folsom's plankton sample splitter. *Limnology and Oceanography* 12: 334-335.
- Louette G & De Meester L (2007) Predation and priority effects in experimental zooplankton communities. *Oikos* 116: 419-426.
- Louette G, Vander Elst M & De Meester L (2006) Establishment success in young cladoceran communities: An experimental test. *Limnology and Oceanography* 51: 1021-1030.
- Louette G, De Bie T, Vandekerckhove J, Declerck S & De Meester L (2007) Watervlooiën in Vlaanderen: verspreiding, status en trends. *Water* 29, 7 maart 2007. 3 pp.
- Lougheed VL & Chow-Fraser P (2002) Development and use of a zooplankton index of wetland quality in the Laurentian Great Lakes basin. *Ecological Applications* 12: 474-486.
- McCauley E (1984) The estimation of the abundance and biomass of zooplankton in samples. In: Downing JA & Rigler FH (red) *A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters*. IBP handbook 17, Blackwell Scientific Publications, Oxford. pp 228-265.
- Meijer M-L, de Boois I, Scheffer M, Portielje R & Hosper H (1999) Biomanipulation in shallow lakes in The Netherlands: an evaluation of 18 case studies. *Hydrobiologia* 408/409: 13-30.
- Mills EL, Green DM & Schiavone AS (1987) Use of zooplankton size to assess the community structure of fish populations in freshwater lakes. *North American Journal of Fisheries Management* 7: 369-378.
- Mol AWM (1984) *Limnofauna Neerlandica. Een lijst van meercellige ongewervelde dieren aangetroffen in binnenwateren van Nederland*. Nieuwsbrief 15, European Invertebrate Survey - Nederland, Leiden. 124 pp.
- Moss B, Madgwick J & Philips G (1997) *A guide to the restoration of nutrient-enriched shallow lakes*. WW Hawes, United Kingdom. 180 pp.
- Moss B, Stephen D, Alvarez C, Becares E, Van de Bund W, Collings SE, Van Donk E, De Eyto E, Feldmann T, Fernández-Aláez C, Fernández-Aláez M, Franken RJM, García-Criado F, Gross EM, Gyllström M, Hansson L-A, Irvine K, Järvalt A, Jensen JP, Jeppesen E, Kairesalo T, Kornijów R, Krause T, Künnap H, Laas A, Lill E, Lorens B, Luup H, Miracle MR, Nöges P, Nöges T, Nykänen M, Ott I, Peczula W, Peeters ETHM, Phillips G, Romo S, Russell V, Salujõe J, Scheffer M, Siewertsen K, Smal H, Tesch C, Timm H, Tuvikene L, Tonno I, Virro T, Vicente E & Wilson D (2003) The determination of ecological status in shallow lakes: a tested system (ECOFRAME) of the European Water Framework Directive. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 13: 507-549.
- NEN-EN-ISO/IEC 17025 (2006) *Algemene eisen voor de bekwaamheid van beproevings- en kalibratielaboratoria*. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 28 pp.
- Notenboom-Ram E (1980) *Verspreiding en ecologie van de Branchiopoda in Nederland*. RIN-rapport 81/14, Rijksinstituut voor Natuurbeheer, Arnhem. 95 pp.
- Perrow MR, Jowitt AJD, Stansfield JH & Philips GL (1999) The practical importance of the interactions between fish, zooplankton and macrophytes in shallow lake restoration. In: Harper DM, Brierley B, Ferguson AJD & Philips G (eds) *The ecological bases for lake and reservoir management*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 199-210.
- Peschlar L & Fott J (1991) On the occurrence of *Aphanizomenon flos-aquae* var. *flos-aquae* in fish ponds. *Internationale Revue gesamte Hydrobiologie* 76: 57-66.
- Petersen F (1983) Population dynamics and production of *Daphnia galeata* (Crustacea, Cladocera) in Lake Esrom. *Holarctic Ecology* 6: 285-294.

- Portielje R & Van der Molen DT (1998) *Relaties tussen eutrofiëringsvariabelen en systeemkenmerken van de Nederlandse meren en plassen. Deelrapport II voor de Vierde Eutrofiëringsenquête*. RIZA rapport 98.007, Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, Lelystad. 98 pp.
- Portielje R & Van der Molen DT (1999) Relationships between eutrophication variables: from nutrient loading to transparency *Hydrobiologia* 408/409: 375–387.
- Redeke HC (1935) *Synopsis van het Nederlandse zoet- en brakwater-plankton*. Publicatie no. 2, Hydrobiologische Club, Amsterdam.
- Scheffer M (2004) *Ecology of Shallow Lakes*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 357 pp.
- Schriver P, Bogestrand J, Jeppesen E & Søndergaard M (1995) Impact of submerged macrophytes on fish-zooplankton interactions: large-scale enclosure experiments in a shallow lake. *Freshwater Biology* 33: 225-270.
- Seda J, Kubecka J & Brandl Z (1989) Zooplankton structure and fish population development in the Rimov Reservoir. *Archiv für Hydrobiologie, Beihefte Ergebnisse der Limnologie* 33: 605-609.
- Shapiro J & Wright DI (1984) Lake restoration by biomanipulation: Round Lake, Minnesota, the first two years. *Freshwater Biology* 14: 371-383.
- Sigeo DC (2005) *Freshwater microbiology: biodiversity and dynamic interactions of microorganisms in the freshwater environment*. John Wiley & Sons, Chichester. 525 pp.
- Sommer U, Gliwicz ZM, Lampert W & Duncan A (1986) The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters. *Archiv für Hydrobiologie* 106: 433-471.
- Søndergaard M, Jeppesen E, Jensen JP & Lildal Amsinck S (2005) Water Framework Directive: ecological classification of Danish lakes. *Journal of Applied Ecology* 42: 616-629.
- STOWA (1997) *Eco-atlas van waterorganismen. Deel IV: zoöplankton en macrofauna (exclusief insecten)*. Rapport 97-40, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Utrecht. 186 pp.
- STOWA (2006) *Handboek Nederlandse ecologische beoordelingssystemen (EBeo-systemen). Deel A. Filosofie en beschrijving van de systemen*. Rapport 2006-04, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Utrecht. 255 pp.
- van Densen WLT & Vijverberg J (1982) The relations between 0+ fish density, zooplankton size and the vulnerability of pikeperch, *Stizostedion lucioperca*, to angling in the Frisian lakes. *Hydrobiologia* 95: 321-336.
- van Donk E (1991) *Interactions between suspended solids and zoöplankton: a literature study*. Intern rapport, Sectie Aquatische ecologie, Landbouwniversiteit, Wageningen. 14 pp + fig.
- Van Donk E & van de Bund W (2002) Impact of submerged macrophytes including charophytes on phyto- and zooplankton communities: allelopathy versus other mechanisms. *Aquatic Botany* 72: 261-274.
- van Donk E, Grimm MP, Gulati RD & Klein Breteler JPG (1990) Whole-lake food-web manipulation as a means to study community interactions in a small ecosystem. *Hydrobiologia* 200: 275-289.
- Vannucci M (1979) Loss of organisms through the meshes. In: *Zooplankton sampling*. Monographs on oceanographic methodology 2. Unesco, Paris. pp 19-26.
- Vijverberg J & Boersma M (1997) Long-term dynamics of small-bodied and large-bodied cladocerans during eutrophication of a shallow reservoir, with special attention for *Chydorus sphaericus*. *Hydrobiologia* 360: 233-242.
- Wagenvoort AJ (1997) *Voedselaanbod en predatie door Bythotrephes longimanus als belangrijke factoren voor de successie van Daphnia populaties in het spaarbekken De Gijster*. Afstudeerverslag. NV WBB, Werkendam, RU, Utrecht.
- Wagenvoort A (2006) *Limnologische toestand van spaarbekken De Lange Vlieter in 2005 – Lage fosfaatgehalten door effectieve binding in bodem verklaart helder water*. Rapport. AqWa – ecologisch advies, Goes.
- Wagenvoort A (2008a) *Geoptimaliseerde belichting analysebekken succesvol - De limnologische toestand van De Lange Vlieter in 2007*. Rapport. AqWa – ecologisch advies, Goes.
- Wagenvoort A (2008b) *Lengtefrequentie Daphnia als maat voor graas en predatie door vis en invertebraten op het zoöplankton*. Rapport. AqWa – ecologisch advies, Goes.
- Wagenvoort A, Ketelaars H, Engels P & Diepenbeek P (2003) *Limnologie van het nu nog heldere spaarbekken*

De Lange Vlieter. *H₂O* 13: 26-29.

Wetzel RG (2001) *Limnology – Lakes and river ecosystems*. Academic Press, New York. 1006 pp.

Zaret TM (1975) Strategies for existence of zooplankton prey in homogeneous environments. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für Limnologie* 19: 1484-1489.

Zaret TM (1980) *Predation and freshwater communities*. Edwards Brothers Inc., Ann Arbor, Michigan.

Zwerver S & Dekker P (1996) *Het gebruik van achterlijfaanhangsels bij het bepalen van volwassenheid bij Daphnia*. Rapport 96-13, Koeman en Bijkerk bv, Haren. 5 pp.



WERKVOORSCHRIFT 10A BEMONSTERING VAN ZOÖPLANKTON VOOR EBEO

10A.1 Doel en toepassingsgebied

Dit werkvoorschrift heeft betrekking op zoöplankton uit stilstaande zoete wateren met een gemiddelde diepte van minstens zes meter. Het bevat richtlijnen voor het bemonsteren van zoöplankton en de vastlegging van (meta)gegevens. Ten slotte geeft het adviezen voor de kwaliteitszorg van de bemonstering. De beschreven bemonsteringsmethode is bedoeld voor de volgende toepassing:

- beoordeling ecologische kwaliteit van diepe plassen volgens EBeoGat (STOWA 2006; zie ook [bijlage 6](#)).

10A.2 Beginsel

Uit een oppervlaktewater neemt men een monster van de waterkolom. Het monster wordt direct na monsterneming geconserveerd met Lugol, ethanol of formaline.

10A.3 Normen

Onderdelen van dit voorschrift zijn gebaseerd op de volgende normen:

NEN-EN 14996:2006

Water quality - Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment (Richtlijn voor de kwaliteitsborging van biologische en ecologische beoordelingen in het aquatische milieu) - juni 2006.

NEN-EN 15110:2006

Water quality - Guidance standard for the sampling of zooplankton from standing waters (Water - Richtlijn voor de bemonstering van zoöplankton in stilstaand water) - juni 2006.

Verder is rekening gehouden met het volgende voorstel voor een norm:

N109 2007/04/28

Water Quality - Guidance on quantitative and qualitative sampling of phytoplankton from inland waters (draft proposal for CEN/TC 230) - april 2007.

Opmerking

In tegenstelling tot het normvoorstel N109 2007/04/28, bevelen wij aan om een meetpunt te kiezen op een plaats waar de waterdiepte minstens gelijk is aan de gemiddelde diepte van de plas. Het normvoorstel kiest het meetpunt op de plek waar de plas het diepst is.

10A.4 Termen en definities

De in de voorschriften gebruikte termen en definities zijn verklaard in [bijlage 1](#). Zie ook de normbladen NEN-EN 14996 en NEN-EN 15204 en de ontwerpnorm N109 2007/04/28.

10A.5 Chemicaliën

Voor het conserveren van monsters heeft men de volgende chemicaliën nodig:

- a alkalische Lugol: voor conservering van monsters (voor bereiding en gebruik zie [bijlage 12](#));
- b formaline met sucrose (sacharose): als alternatief voor Lugol en voor het nafxieren van Lugolgeconserveerde monsters (voor bereiding en gebruik zie [bijlage 12](#));
- c ethanol 96%: als alternatief voor Lugol (zie [bijlage 12](#)). Let op: ethanol tast perspex (acrylaat) aan en zal zonder voorzorgsmaatregelen leiden tot barsten in de Folsom planktonsplitter en de perspex sedimentatiecuvetten!

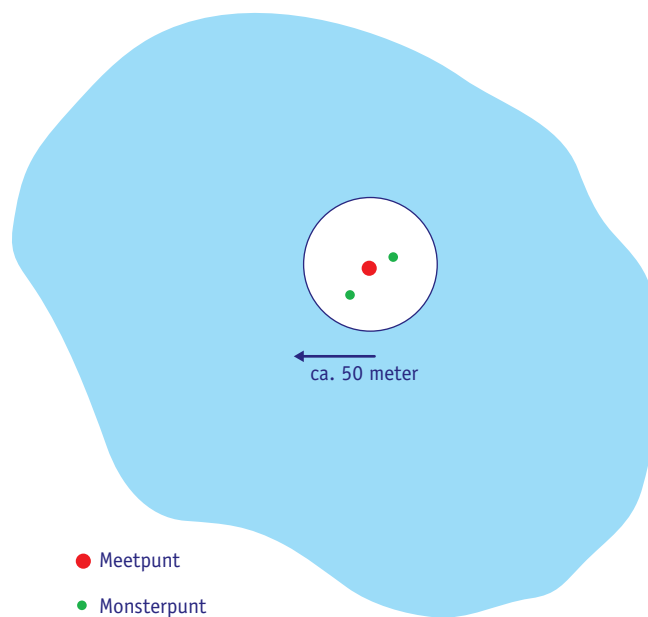
10A.6 Apparatuur en hulpmiddelen

Voor het bemonsteren van zoöplankton heeft men de volgende apparaten en hulpmiddelen nodig:

- a mengvat: een schone, grote emmer, een koelbox of een jerrycan waarin men submonsters verzamelt om ze te kunnen mengen tot een mengmonster. De inhoud moet ruim voldoende zijn voor alle submonsters op het meetpunt;
- b monsterpotjes: schone, bijvoorkeur vierkante wijdhalspotjes van glas, hard pvc of pp, met een deksel en inlay die een waterdichte en gasdichte afsluiting waarborgen. Een potje met een inhoud van 200 ml is in de praktijk goed toepasbaar;
- c waterhapper: een apparaat om watermonsters te verzamelen op nauwkeurig te bepalen diepten in de waterkolom. Geschikte waterhappers zijn de happers volgens Ruttner, Friedinger of Niskin (zie [bijlage 10](#) voor beschrijving en instructie). De happer moet gekalibreerd zijn en vastgemaakt aan een niet-elastische lijn (bij voorkeur met een kevlar binnenkern) of staalkabel, met een lengte die minimaal vijf meter groter is dan de maximale diepte van bemonstering. De lijn moet voorzien zijn van een duurzame maatverdeling per meter.
- d planktonnet volgens Apstein met een maaswijdte van 50 μm ([bijlage 10](#));
- e zeefje met een maaswijdte van 30 μm : om oppervlaktewater te filteren;
- f spuitfles met gefilterd oppervlaktewater: om planktonzeefje leeg en schoon te spuiten; verzamel voorafgaand aan de bemonstering op het meetpunt een liter oppervlaktewater, filter dit over een zeefje met een maaswijdte van 30 μm , vang het gefilterde water op in een bekeerglas en breng het water daarna over in de spuitfles;
- g groot kunststof bekeerglas: om gefilterd oppervlaktewater te verzamelen en om het mengvat leeg te schepen wanneer het volume te groot is om het in één keer door het net te gooien.

Fig 10A.1 Ligging van de meet- en monsterpunten in een diepe plas

Het meetpunt bevindt zich ongeveer in het midden van de plas, op een plaats waar de waterdiepte minstens zo groot is als de gemiddelde diepte van de plas.



10A.7 Bemonsteringsfrequentie en -tijdstip

In EBeoGat kan men de biologische bemonstering uitvoeren in de perioden april-juni en augustus-oktober. Omdat de zoöplanktondichtheid het hoogst is in de periode mei-september, raden wij aan om niet te bemonsteren in de maanden april en oktober.

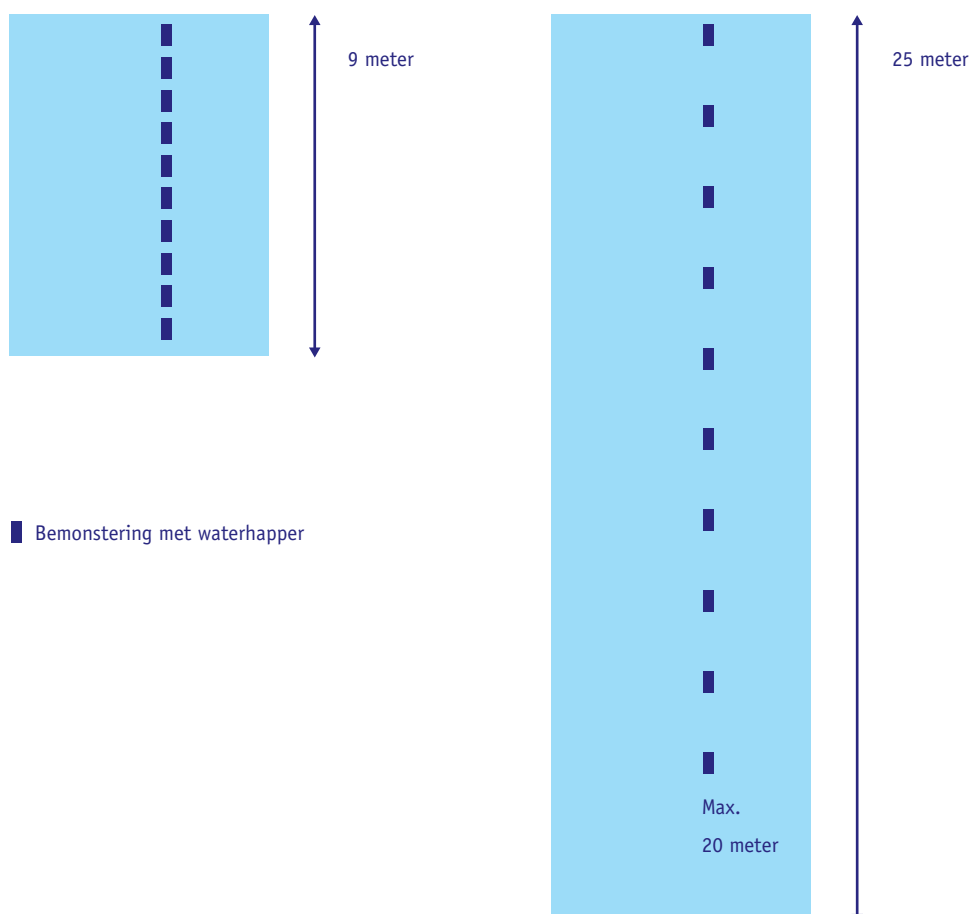
- 1 Bemonster één keer in de periode mei-juni en/of één keer in de periode augustus-september.
- 2 Als men maar één keer per jaar kan bemonsteren, kies dan bij voorkeur voor de periode augustus-september.

10A.8 Meetpuntkeuze

- 1 Kies het meetpunt en de monsterpunten op een plaats in het midden van de plas, waar de waterdiepte minimaal gelijk is aan de gemiddelde diepte in de plas.
- 2 Kies binnen deze voorwaarden bij voorkeur een meetpunt dat in het verleden eerder is bemonsterd.
- 3 Voer de bemonstering uit op twee monsterpunten, die liggen binnen een straal van ongeveer vijftig meter rond het meetpunt en op een onderlinge afstand van ongeveer vijftig meter (zie [figuur 10A.1](#)).

Fig 10A.2 Bemonstering zoöplankton

Voor zoöplankton bemonsteren we de waterkolom vanaf het wateroppervlak tot op ca. één meter boven de bodem, of tot een diepte van twintig meter bij plassen die dieper zijn dan 21 meter. Met de waterhapper nemen we monsters op tien diepten, gelijkmatig verdeeld over de waterkolom.



10A.9 Uitvoering

- 1 Bemonster de plas vanaf een boot met behulp van een waterhapper.
- 2 Bemonster de waterkolom vanaf het wateroppervlak tot circa één meter boven de waterbodem, of tot maximaal twintig meter diep wanneer de diepte op het meetpunt groter is dan twintig meter (zie [figuur 10A.2](#)).
- 3 Bemonster de waterkolom op tien diepten gelijkmatig verdeeld over de waterkolom, zodat men per monsterpunt tien deelmonsters verzamelt ([figuur 10A.2](#)). Verzamel de deelmonsters in het mengvat (zie [opmerking 1](#)).
- 4 Giet de inhoud van het mengvat voorzichtig door het planktonnet, of gebruik een groot bekeerglas om het monster in het planktonnet te scheppen. Maak het zeefje onder in het net vooraf goed vochtig en houd het tijdens het filtreren juist onder water.
- 5 Spoel het mengvat goed om met een beetje gefilterd oppervlaktewater en giet dit spoelwater ook door het planktonnet.
- 6 Breng het residu op de zeef over in een monsterpotje, met behulp van een spuitfles met gefilterd oppervlaktewater.
- 7 Herhaal de bemonstering op het andere monsterpunt (maar zie [opmerking 2](#)).
- 8 Vul het monsterpotje voor maximaal negentig procent, maar het is niet nodig om het monsterpotje tot dit niveau af te vullen met water.
- 9 Noteer het totale volume dat men heeft bemonsterd in het veldboekje of op het veldformulier.

Opmerking 1

Met het oog op een gecontroleerde bemonstering raden we af om elk deelmonster direct door het planktonnet te gooien. Door deelmonsters eerst te verzamelen in een mengvat kan men het volume van het uiteindelijke monster beter in de hand houden (maximaal 90% van 200 milliliter).

Opmerking 2

Beoordeel per bemonsterde waterkolom (verticaal) of de bemonstering voldoende dieren heeft opgeleverd (niet te veel, niet te weinig) aan de hand van een visuele inspectie van het grotere zoöplankton (copepoden en daphnia's). Het is beter om zorgvuldig te bemonsteren dan veel te moeten splitsen. Volsta met één verticaal (één monsterpunt) als de dichtheid in het monsterpotje al zeer groot lijkt. Bemonster een derde verticaal als de dichtheid na de tweede nog laag lijkt. Het bemonsterd volume per verticaal kan men variëren door te kiezen voor een één, dan wel twee liter waterhapper.

10A.10 Etikettering

Etiket de monsterfles op de voorgeschreven wijze (zie [bijlage 11](#)). Schrijf tevens het bemonsterde volume op het etiket.

10A.11 Conservering en opslag

- 1a Conserveer het monster direct na monsternamen met alkalische Lugol. Let goed op dat geen dieren boven het vloeistofniveau aan de wand blijven kleven.
- 1b Conserveer het monster met 96% ethanol (eindconcentratie 70% ethanol), of met formaline met saccharose, wanneer men het monster niet binnen zes maanden kan analyseren. Let goed op dat geen dieren boven het vloeistofniveau aan de wand blijven kleven.
- 2 Sla het monster op bij 4 à 5 °C in het donker, tenzij men het monster binnen één week gaat analyseren. Sla het monster in dat geval op bij kamertemperatuur in het donker.
- 3 Bij conservering met Lugol: controleer de staat van conservering in de eerste maand van opslag wekelijks. Voeg bij ontkleuring opnieuw Lugol toe.

- 4 Fixeer het Lugolgeconserveerde monster na met formaline met sucrose, wanneer het monster langer dan zes maanden bewaard moet blijven. Ook met formaline nagefixeerde monsters bewaart men bij 4 à 5 °C in het donker¹.

10A.12 Rapportage

Bij de bemonstering worden (meta)data vastgelegd die nodig zijn voor de interpretatie van de bemonsteringsresultaten (zie [hoofdstuk 2](#) voor het begrip metadata). De metadata worden gekoppeld aan het unieke *monsternummer*.

Leg in het veld onder het monsternummer de volgende gegevens vast op veldformulier of in veldcomputer:

- naam van de monsternemer(s);
- code van het meetpunt²;
- datum van bemonstering (in DD-MMM-JJJJ, dat wil zeggen: 12 aug 2008);
- tijdstip van bemonstering (in 24-uursnotatie, HH:MM, dat wil zeggen: 13:30 en niet 01:30);
- x,y-coördinaten van het meetpunt;
- naam van het water waarin het meetpunt ligt;
- gehanteerde werkvoorschrift en waterhapper;
- bemonsterd volume;
- maximale diepte van bemonstering;
- diepte-interval van bemonstering;
- weersomstandigheden tijdens de bemonstering;
- bedekkingspercentage drijvende en ondergedoken watervegetatie;
- bijzonderheden tijdens de bemonstering (bijvoorbeeld aanwezigheid drijfslag).

10A.13 Kwaliteitszorg

Kwaliteitszorg op het gebied van bemonstering moet:

- de reproduceerbaarheid en betrouwbaarheid van de bemonstering bevorderen;
- de kwaliteit van de monsters op lange termijn bevorderen.

Overige punten die de kwaliteit van het veldwerk moeten bevorderen worden besproken in de hoofdstukken 3 en 5.

Eerstelijnscontrole

De eerstelijnscontrole is bedoeld om fouten in de uitvoering van een onderzoek te voorkomen. Voor de bemonstering van zoöplankton betekent dit:

- werk volgens dit voorschrift;
- controleer het planktonnet en het zeefje op scheurtjes voor iedere monsterdag; bij beschadigingen, repareer afdoende of gebruik een ander net of zeefje;
- controleer of het materiaal schoon is voor iedere bemonstering;

¹ Voor de kwaliteit van de conservering is het aan te raden om het monster zo snel mogelijk na te fixeren met formaline. Voor de microscopische analyse is formaline om gezondheidsredenen echter minder prettig. Voer nafxatie met formaline dus zo snel mogelijk uit na de analyse. Alleen als de analyse niet binnen twaalf maanden plaats kan vinden, doe de nafxatie met formaline dan zo snel mogelijk na de voorfixatie met Lugol.

² Onder de meetpuntcode is bij veel beheerders al een grote hoeveelheid informatie over het meetpunt opgeslagen, zoals de naam van het water en de x,y-coördinaten. Toch is het goed om enkele aanvullende meetpuntidentificatiegegevens in het veld te noteren, om bij afwijkingen (schrijf- of aanwijfsfouten in de monstercode) toch de juiste gegevens te kunnen achterhalen.

- zorg voor toereikende en zorgvuldige etikettering van de monsters;
- zorg voor een duurzame conservering van monsters gedurende de opslagperiode.

Tweedelijnscontrole

De tweedelijnscontrole is bedoeld om de reproduceerbaarheid van de bemonstering binnen één laboratorium te testen. Voor de bemonstering van zoöplankton betekent dit:

- zorg voor een goede, interne opleiding van nieuwe monsternemers, waarvan een stage onder begeleiding van een ervaren collega deel uitmaakt;
- zorg dat monsternemers hun vaardigheden op peil houden, door ze tenminste vier maal per jaar een bemonstering te laten uitvoeren;
- organiseer gezamenlijke bemonsteringen in verschillende watertypen, voer daarbij een collegiale toetsing uit en documenteer het resultaat.

Derdelijnscontrole

De derdelijnscontrole is bedoeld om de betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid van onderzoeksresultaten tussen laboratoria te testen. Het gebruikelijke ringonderzoek richt zich echter alleen op de analyse, niet op de bemonstering.

Het beste alternatief op dit moment is je aansluiten bij een landelijk overleg van collega-analisten/onderzoekers (zie [bijlage 2](#) voor adressen). Hier kunnen problemen uit de praktijk van de bemonstering besproken worden.

10A.14 Literatuurverwijzingen

- NEN-EN 14996 (2006) *Water quality - Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment*. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 14 pp.
- NEN-EN 15110 (2006) *Water quality - Guidance standard for the sampling of zooplankton from standing waters*. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 23 pp.
- N109 (2007) *Water Quality - Guidance on quantitative and qualitative sampling of phytoplankton from inland waters*. German draft proposal for CEN/TC 230 d.d. 28 april 2007.
- STOWA (2006) *Handboek Nederlandse ecologische beoordelingssystemen (EBeo-systemen). Deel A. Filosofie en beschrijving van de systemen*. Rapport 2006-04, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Utrecht. 255 pp.

WERKVOORSCHRIFT 10B ANALYSE VAN ZOÖPLANKTON VOOR EBeO

10B.1 Doel en toepassingsgebied

Dit werkvoorschrift heeft betrekking op zoöplankton uit stilstaande zoete wateren met een gemiddelde diepte van minstens zes meter. Het bevat richtlijnen voor het analyseren van zoöplanktonmonsters, het verwerken van de verzamelde gegevens en de vastlegging van (meta)gegevens. Ten slotte geeft het adviezen voor de kwaliteitszorg van de analyse.

De beschreven methode is bedoeld voor de volgende toepassing:

- beoordeling ecologische kwaliteit volgens EBeO (STOWA 2006).

10B.2 Beginsel

Van een goed gemengd, geconserveerd monster van geconcentreerd oppervlaktewater brengt men alles of een bekend deel over in een sedimentatiecuvet. Na bezinking telt en determineert men het zoöplankton met behulp van een omgekeerd microscoop. Hierbij noteert men het aantal waarnemingen en het aantal dieren per onderscheiden taxon. Na de analyse berekent men voor elk taxon de dichtheid in aantal dieren per liter monster.

10B.3 Normen

Onderdelen van dit voorschrift zijn gebaseerd op de volgende normen:

NEN-EN 14996:2006

Water quality - Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment (Richtlijn voor de kwaliteitsborging van biologische en ecologische beoordelingen in het aquatische milieu) - juni 2006.

NEN-EN 15204:2006

Water quality - Guidance standard on the enumeration of phytoplankton using inverted microscopy (Utermöhl technique) (Richtlijn voor het tellen van fytoplankton met behulp van omgekeerde microscopie (Utermöhl-techniek)) - september 2006.

Verder is rekening gehouden met de volgende voornorm:

NVN 6517:2000

Water - Tellen, determineren en biovolumebepaling van zoöplankton (Cladocera, Copepoda, Rotifera) > 50 µm en het bepalen van de groottestructuur van *Daphnia* - augustus 2000.

10B.4 Termen en definities

De in dit voorschrift gebruikte termen en definities zijn verklaard in [bijlage 1](#). Zie ook de normbladen NEN-EN 14996, NEN-EN 15204 en NVN 6517.

10B.5 Chemicaliën

Voor het microscopisch analyseren van zoöplanktonmonsters heeft men geen chemicaliën nodig.

10B.6 Apparatuur en hulpmiddelen

Voor het microscopisch analyseren van zoöplanktonmonsters heeft men de onderstaande apparaten en hulpmiddelen nodig:

- a omkeermicroscop: zie [bijlage 16](#);
- b sedimentatiekamer met opzetstuk (cuvet), bij voorkeur met een bodemdikte van niet meer dan 0,17 millimeter: zie [bijlage 17](#);
- c planktonsplitter volgens Folsom of Kott: voor het opsplitsen van het monster in deelmonsters;
- d afzuigapparaat of grote pipet: om het bovenstaande water uit sedimentatiekamers met opzetstukken te verwijderen;
- e zeefje voorzien van planktongaas met een maaswijdte van hoogstens 30 μm (inwendige diameter circa 5 tot 10 cm en een opstaande rand van circa 5 cm): om monsters te wassen of te concentreren; een planktonzeefje voldoet ook.
- f bekeerglazen: als hulpmiddel bij het wassen, concentreren en splitsen; handig zijn bekeerglazen met een inhoud van 300 ml en 500 ml;
- g spuitfles met vers, gefilterd leidingwater: het leidingwater is gefilterd over 30 μm , om eventuele organismen die binnen de groep vallen die men onderzoekt kwijt te raken; NB: waar we in dit voorschrift spreken van gefilterd leidingwater bedoelen we vers leidingwater en gefilterd over 30 μm .

10B.7 Voorbehandeling

Voor men kan gaan tellen en determineren moet men een zoöplanktonmonster vaak voorbehandelen. Deze voorbehandeling kan bestaan uit wassen, concentreren of splitsen.

Wassen doet men om formaline of ethanol kwijt te raken uit monsters die hiermee geconserveerd zijn. Concentreren doet men om het monstervolume te verkleinen, zodat het monster in de sedimentatiekamer past of in de monstersplitter. Concentreren doet men op dezelfde wijze als wassen.

Splitsen doet men om een monster te verdelen in twee of meer deelmonsters, wanneer het monster zelf teveel organismen bevat om goed te kunnen tellen.

Wassen en concentreren

- 1 Giet het monster door een met gefilterd leidingwater bevochtigde zeef met een maaswijdte van hoogstens 30 μm . Vang de vloeistof op in een voor het conserveermiddel bestemd afvalvatje. Voer de handeling uit in een afzuigkast wanneer het monster geconserveerd is met formaline.
- 2 Spuit de inhoud van het zeefje voorzichtig naar één kant van de zeef en vervolgens in een bekeerglas, met behulp van een spuitfles met gefilterd leidingwater.
- 3 Probeer het volume van het gespoelde monster te beperken tot 100 ml.

Splitsen

Splitsen met de monstersplitter volgens Folsom

- 1 Zet de monstersplitter waterpas op een stevige ondergrond.
- 2 Zet beide bakjes naast elkaar op een juiste positie onder het rad.
- 3 Breng het monster over in een bekeerglas en vul het volume zonedig aan tot circa 100 ml met gefilterd leidingwater (bij een kleiner of groter volume is het monster moeilijker te verdelen of te hanteren bij het bewegen van het rad).
- 4 Giet de inhoud van het bekeerglas in een vloeiende beweging in het rad van monstersplitter. Spoel het bekeerglas na met behulp van een spuitfles met gefilterd leidingwater en giet de spoelvloeistof eveneens in de monstersplitter.
- 5 Beweeg het rad van de monstersplitter zo, dat het monstermateriaal gelijk verdeeld wordt over beide vakken in het rad. Gebruik aanvullend een glazen roerstaaf om het monster te mengen in het niet-verdeelde gedeelte van het rad.
- 6 Kiep het rad zodanig, dat de inhoud in de bakjes onder het rad stroomt. Houd het rad in deze stand en spoel de vakken goed uit met een spuitfles met gefilterd leidingwater.

- 7 Giet beide bakjes leeg in aparte bekeerglazen en spoel de bakjes na met behulp van een spuitfles met gefilterd leidingwater. Men heeft het monster dan kwantitatief gesplitst in twee deelmonsters.
- 8 Controleer of de deelmonsters nog een keer gesplitst moeten worden. Dit kan men met enige ervaring visueel beoordelen en bij twijfel met behulp van een stereomicroscop (vergroting tien tot twintig maal). Zo ja, herhaal de stappen 2 tot en met 8, met één of beide deelmonsters; neem kennis van opmerking 1 hieronder. Zo nee, ga door met stap 9.
- 9 Houd van elk deelmonster de grootte bij als fractie van het totale monster (één keer splitsen is 1/2, twee keer is 1/4, drie keer is 1/8, enz.).

Opmerking 1

Om de fout door het splitsen zo klein mogelijk te houden, moet men het aantal splitsingen beperken tot maximaal vijf (Longhurst & Seibert 1967).

Tip

Het op de juiste wijze kiepen van het rad is een handigheidje waarvoor ervaring nodig is. Kiept men te snel dan vloeien de stromen uit beide vakken samen en komt een deel van het monster tussen de bakjes terecht in plaats van erin. We raden daarom aan om de monstersplitter, zeker in het begin, in een platte bak te plaatsen (bijvoorbeeld een uitzoekbak voor macrofauna). Wanneer een deel van het monster buiten de bakjes terecht komt, kan men het monster toch weer compleet maken door de splitter boven de bak schoon te spoelen, de Folsom-bakjes eveneens leeg te gieten in de bak, en de inhoud van de bak kwantitatief over te brengen in een groot bekeerglas. Vaak is het dan eerst weer nodig om het monster te concentreren. Zie ook: Longhurst en Seibert (1967).

Splitsen met de monsterverdeler volgens Kott

De monstersplitter volgens Kott verdeelt een monster in een vast aantal deelmonsters (meestal tien). Deze splitter is niet in de handel te verkrijgen en moet dus zelf vervaardigd worden. De constructie is beschreven door Kott (1953). De Nie en Vijverberg (1982) beschrijven hoe dit apparaat werkt en gebruikt moet worden. Voor het werkvoorschrift volstaan we hier met een verwijzing naar dit artikel.

10B.8 Inzetten

Bij het inzetten gaan we er vanuit dat het monster afdoende voorbehandeld is (zie [paragraaf 10B.7](#)) en dat het monster of de deelmonsters zijn overgebracht in bekeerglazen.

- 1 Zorg dat (deel)monster en sedimentatiekamer een overeenkomstige temperatuur bezitten; het meest praktisch is kamertemperatuur.
- 2 Etiketteer de sedimentatiekamer met gegevens van het (deel)monster: locatie, monsterdatum, fractie.
- 3 Breng op de bodem van de kamer een dun laagje gefilterd leidingwater aan.
- 4 Zet de kamer op een vlakke, trillingsvrije ondergrond en plaats het opzetstuk zo op de kamer, dat een waterdichte aansluiting ontstaat.
- 5 Meng het (deel)monster in het bekeerglas goed met een glazen roerstaaf en giet de inhoud voorzichtig in de cuvet. Spoel het bekeerglas na in het cuvet, met behulp van een spuitfles met gefilterd leidingwater.
- 6 Zet het cuvet voor sedimentatie weg op een trillings- en tochtvrije plaats bij kamertemperatuur, gedurende minimaal een half uur per centimeter hoogte van de vloeistofkolom (dat is dus minimaal vijf uur wanneer het cuvet tien centimeter vloeistof bevat).
- 7 Controleer na sedimentatie visueel of alle organismen zijn bezonken.
- 8 Zuig wanneer de hoogte van de sedimentatiekamer dat vereist, de bovenstaande vloeistof voorzichtig af tot juist onder de aansluiting van het opzetstuk, met behulp van een grote pipet of afzuigapparaat. Verwijder het opzetstuk. Verzamel de afgezogen vloeistof in het oorspronkelijke monsterpotje.

9 Dek de sedimentatiekamer af met een glaasje.

10a Draag de kamer voorzichtig naar de microscoop voor de bepaling.

10b Begint men niet direct met de bepaling, zet dan de kamer weg op een trillingsvrije, donkere plaats, vrij van tocht en temperatuurswisselingen.

Tabel 10B.1 Overzicht van indicatortaxa¹ in het beoordelingssysteem EBeoGat

RADERDIEREN

Ascomorpha	Filinia cornuta	Polyarthra dolichoptera
Asplanchna	Filinia longiseta	Polyarthra euryptera
Brachionus angularis	Filinia terminalis	Polyarthra luminosa
Brachionus bidentata bidentata	Gastropus	Polyarthra major
Brachionus calyciflorus anuraeiformis	Kellicottia	Polyarthra minor
Brachionus calyciflorus pala	Keratella cochlearis	Polyarthra remata
Brachionus calyciflorus spinosa	Keratella cochlearis tecta	Polyarthra vulgaris
Brachionus calyciflorus var. dorcas	Keratella paludosa	Pompholyx
Brachionus diversicornis	Keratella quadrata	Proales
Brachionus leydigi	Keratella serrulata	Ptygura
Brachionus quadridentatus	Keratella ticinensis	Rhinoglena frontalis
Brachionus unoglena	Lecane clostercerca	Synchaeta
Brachionus urceolaris	Lecane luna	Testudinella
Brachionus variabilis	Lecane lunaris	Trichocerca capucina
Cephalodella	Lecane stichaea	Trichocerca cylindrica
Colurella	Lepadella	Trichocerca longiseta
Conochilus	Notholca acuminata	Trichocerca marina
Elosa	Notholca squamula	Trichocerca similis
Epiphanes	Notommata	
Euchlanis	Ploesoma	

WATERVLOOIEN

Acantholeberis curvirostris	Ceriodaphnia quadrangula	Daphnia pulex
Acroperus elongatus	Ceriodaphnia reticulata	Diaphanosoma brachyurum
Alona quadrangularis	Chydorus sphaericus	Eurycercus lamellatus
Alona rectangula	Daphnia cristata	Leptodora kindtii
Alonella	Daphnia cucullata	Polyphemus pediculus
Anuraeopsis	Daphnia galeata	Scapholeberis mucronata
Bosmina coregoni	Daphnia hyalina	Sida crystallina
Bosmina longirostris	Daphnia longispina	Simocephalus vetulus
Bosmina longispina	Daphnia magna	
Ceriodaphnia pulchella	Daphnia parvula	

ROEIPOOTKREEFTEN

Acanthocyclops venustus	Eucyclops serrulatus	Megacyclops viridis
Canthocamptus staphylinus	Eudiaptomus	Mesocyclops leuckarti
Cryptocyclops bicolor	Eurytemora affinis	Microcyclops
Cyclops	Eurytemora lacustris	
Diaptomus	Eurytemora velox	

CILIATEN, (SCHAAL)AMOEBEN, E.A.

Arcella	Diffugia	Pseudochlamis patella
Arcella catenata	Epistylis	Pseudodiffugia gracilis
Arcella discoïdes	Hyalosphenia papilio	Stentor
Centropxyxis aculeata	Hydra	Tintinnidium fluviatile
Centropxyxis constricta	Lesquereusia spiralis	Tintinnopsis
Cyphoderia laevis	Nebela	Vorticella
Didinium nasutum	Pontigulasia spectabilis	Zoothamnium limneticum

¹ In de lijst in EBeoGat staan soms een of enkele soorten genoemd naast het geslacht (bijvoorbeeld *Epistylis rotans* naast *Epistylis*, en *Cyclops vicinus* naast *Cyclops*); wanneer er geen verschil in indicatorwaarde is, zijn deze lagere taxa in tabel 10B.1 weggelaten.

10B.9 Bepaling**Telstrategie**

De telstrategie die wij in dit werkvoorschrift beschrijven is effectief voor een beschrijving van de soortensamenstelling in een gemeenschap van soorten met uiteenlopende grootte en dichtheid. De achtergrond van deze strategie en de betrouwbaarheid van de abundantiebepaling staan in [bijlage 18](#).

Werkwijze

Zoöplankton vertoont een veel sterkere neiging tot clustering dan fytoplankton. Daarom gaan we uit van een *niet random* verdeling van organismen over de bodem van de sedimentatiekamer en tellen we altijd een *heel* cuvet. Door verschillend gesplitste deelmonsters te onderzoeken (bijvoorbeeld de fractie 1/2 en de fractie 1/4), verzamelen we voldoende waarnemingen binnen de groep microzoöplankton en mesozoöplankton.

- 1 Determineer en tel minimaal de indicatortaxa van EBeo ([tabel 10B.1](#)), maar bij voorkeur ook niet genoemde zoöplanktontaxa uit deze vier groepen, inclusief naupliuslarven van roeipootkreeftjes.
- 2 Noteer bij de telling het aantal waarnemingen en (bij kolonievormende soorten) het aantal dieren per waarneming.
- 3 Verdeel de telling over meerdere stappen wanneer dit nodig is om een goed beeld te krijgen van de soortensamenstelling en dichtheid van de verschillende grootteklassen (zie [tabel 10B.2](#)). De stappen verschillen in de sterkte van de gebruikte vergroting en de grootte van de onderzochte fractie van het monster.
- 4 Determineer en tel altijd gehele sedimentatiekamers/cuvetten.
- 5 Determineer in totaal ongeveer tweehonderd organismen. Verdeel dit aantal over de telstappen ([tabel 10B.2](#)). Verzamel per stap minimaal tien waarnemingen van de meest talrijke soort. Soorten waarvan

voldoende waarnemingen zijn verzameld, of die te klein zijn om bij een zwakkere vergroting te kunnen zien, hoeven niet meer te worden geteld in een volgende stap.

- 6 Neem bij de telling de hieronder gemaakte opmerkingen 2 t/m 4 ter harte.

Opmerking 2

Bij het scannen van banen (transecten) in plaats van beeldvelden kunnen soorten die aan de buitenzijden van de baan liggen (tegen de rand van het beeldveld) over het hoofd gezien worden. Een hulpmiddel om dit te voorkomen is een gelinieerde cuvetbodemp, of een oculair met een rechthoekig veld binnen de begrenzing van het beeldveld. Alleen de soorten binnen bepaalde lijnen of binnen de rechthoek (het telgebied) worden geteld.

Opmerking 3

Zoöplanktonorganismen kunnen gedeeltelijk buiten het beeldveld of andere telgebied liggen. De vraag is dan, tellen we deze mee en zo ja, hoe. Bij zoöplankton kan men het beste uitgaan van het zwaartepunt-criterium: als het zwaartepunt van het dier binnen het telgebied ligt telt men het mee, anders niet.

Opmerking 4

Ofschoon de toepassing van EBeoGat richtinggevend is voor de analyse kan het nooit kwaad om oog te hebben voor andere zaken die ecologisch of maatschappelijk interessant kunnen zijn, zoals waarnemingen van ander zoöplankton, ve-ligerlarven van Driehoeksmossel, parasieten bij watervlooien (bijvoorbeeld *Bosmina*) of cercariën van *Trichobilharzia*.

Tabel 10B.2 Telstrategie voor bepaling soortensamenstelling en abundantie.

STAP	OMSCHRIJVING	WERKWIJZE
1	Soortenlijst	Stel een soortenlijst op door globale scanning van de telkamer bij een zwakke en sterkere vergroting, bijvoorbeeld 40× en 200×.
2	Telling van relatief talrijke, veelal kleine soorten	Onderzoek een hele telkamer met een klein deelvolume (kleine fractie) bij een sterke vergroting van bij voorkeur 200×.
3	Telling van relatief schaarse, grotere soorten	Onderzoek een hele telkamer met een groot deelvolume (grote fractie), of meerdere telkamers met kleinere fracties, bij een zwakke vergroting van bij voorkeur 100×.

10B.10 Determinatie

- 1 Houd rekening met het voor de beoordeling gewenste determinatieniveau (zie tabel 10B.1). Verder determineren mag, maar niet ver genoeg determineren plaatst de waarneming buiten spel in de beoordeling.
- 2 Ga bij de naamgeving uit van de TWN-lijst, maar zorg voor een goede koppeling met de naamgeving volgens EBeoGat (tabel 10B.1).
- 3 Gebruik bij de determinatie de in bijlage 31 genoemde determinatieliteratuur.
- 4 Gebruik de volledige determinatietabel om tot een soort te komen, tenzij men de soort goed kent.
- 5 Bij twijfel over de keuze in de determinatietabel moeten beide mogelijkheden gevolgd worden; één van de

twee blijkt dan vaak de meest waarschijnlijke.

- 6 Raadpleeg altijd de soortbeschrijving en controleer de zekerheid van de determinatie aan de hand van de habitustekeningen, de afmetingen en de milieuvoorkeur.
- 7 Maak gebruik van aanvullende determinatieliteratuur, wanneer het dier niet helemaal overeenkomt met de beschrijving en afbeeldingen in de primaire literatuur.
- 8 Beoordeel de bijzonderheid van de waarneming aan de hand van de verspreidingsindicatie in de literatuur. Is de soort algemeen of zeldzaam in Nederland?
- 9 Wanneer men de soortnaam niet met zekerheid kan vaststellen, determineer dan tot het eerstvolgende, hogere taxonomische niveau waarvan men wel zeker is (meestal het geslachtsniveau).
- 10 Laat de volgende waarnemingen controleren door een expert (bijlage 2):
 - a soorten die niet met zekerheid gedetermineerd kunnen worden en een aandeel in de abundantie hebben van méér dan 10%;
 - b soorten die met aanvullende literatuur op naam zijn gebracht en niet uit Nederland bekend zijn;
 - c soorten die in Nederland bekend staan als zeer zeldzaam of uitgestorven.

10B.11 Rapportage

Bij de analyse worden analyseresultaten en metagegevens vastgelegd. De laatste zijn nodig voor de interpretatie van de analyseresultaten (zie hoofdstuk 2 voor het begrip metagegevens of metadata). Met deze data moeten de eigen resultaten vergeleken kunnen worden met resultaten van anderen en zo nodig omgezet kunnen worden naar resultaten van anderen.

De analyseresultaten en metadata worden gekoppeld aan het unieke *monsternummer*.

Leg op het lab onder het monsternummer (of LIMS-nummer) de volgende gegevens vast op een laboratoriumformulier, in het LIMS-systeem, of in een andere database:

- naam van de analist;
- datum van de analyse;
- gehanteerde analysemethode;
- grootte van de onderzochte fractie (deel van het gesplitste monster);
- eventuele afwijkingen van de gebruikelijke werkwijze (bijvoorbeeld gebrekkige conservering);
- eventuele bijzonderheden van het monster die de resultaten kunnen hebben beïnvloed (bijvoorbeeld hoge dichtheid zand, algen);
- gebruikte determinatieliteratuur;
- analyseresultaten met per onderscheiden taxon het aantal waarnemingen en het aantal afzonderlijke organismen tijdens de telling (bij kolonievormende ciliaten zijn deze aantallen niet gelijk!) en de dichtheid in dieren per liter monster en/of per liter oppervlaktewater;
- van soorten die bij de telling vaker dan éénmaal zijn waargenomen en niet (met zekerheid) op naam gebracht konden worden: een beschrijving in de vorm van een afbeelding (tekening, foto) en afmetingen (lengte, breedte, diameter).

10B-12 Kwaliteitszorg

Kwaliteitszorg op het gebied van de analyse moet:

- de betrouwbaarheid van de analyse bevorderen;
- de vergelijkbaarheid van de analyseresultaten bevorderen.

Eerstelijnscontrole

De eerstelijnscontrole is bedoeld om fouten in de uitvoering van de analyse te voorkomen. Voor onderzoek van zoöplankton betekent dit:

- werk volgens dit voorschrift;
- zorg dat de gebruikte hulpmiddelen (planktonsplitter, zeven, bekeerglazen) in goede staat en schoon zijn;
- onderzoek de eigen prestatie met de planktonsplitter minimaal eens per jaar; gebruik hiervoor een testmonster met bijvoorbeeld veertig grote daphnia's, voer tien keer een splitsing uit van dit testmonster en test de verschillen tussen beide bakjes met bijvoorbeeld een Wilcoxon toets voor gepaarde waarnemingen.
- werk met een goede microscoop en een gekalibreerde oculair-micrometer;
- gebruik de standaardnaamlijst (TWN);
- documenteer te onderscheiden taxa in de vorm van een geannoteerde soortenlijst met afbeeldingen (tekeningen en/of foto's) van elk taxon;
- gebruik actuele determinatieliteratuur ([bijlage 31](#));
- laat onzekere determinaties controleren door een expert. Hieraan kunnen kosten verbonden zijn. Een lijst van hiervoor beschikbare experts staat in [bijlage 2](#);
- archiveer het monster voor een periode van tenminste vijf jaar voor eventuele controle op een later tijdstip;
- houd 'voeling' met de betrouwbaarheid van de analysemethode door tijdens de telling te toetsen op reproduceerbaarheid. Vergelijk bij het tellen van meerdere telkamers het aantal waarnemingen per telkamer. Zit er veel verschil tussen, of valt de variatie binnen de verwachting (zie [bijlage 18 en 21](#)).

Tweedelijnscontrole

De tweedelijnscontrole is bedoeld om de reproduceerbaarheid van onderzoeksresultaten binnen één laboratorium te testen. Voor de analyse van zoöplankton betekent dit:

- zorg voor een goede, interne opleiding van nieuwe analisten;
- laat minimaal eens per jaar eenzelfde monster in duplo analyseren door alle, voor zoöplanktonanalyse bevoegde analisten;
- toon bijzondere vondsten aan collega's;
- raadpleeg collega's bij onzekerheid over een determinatie.

Zie [bijlage 21](#) voor een statistische toetsing van de resultaten van tweedelijnscontroles.

Derdelijnscontrole

De derdelijnscontrole is bedoeld om de betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid van analyseresultaten tussen laboratoria te testen. Voor onderzoek van zoöplankton betekent dit:

- doe jaarlijks mee aan interlaboratoria ringonderzoeken (derde-lijnscontroles), wanneer bruikbare ringonderzoeken georganiseerd worden (zie [bijlage 2](#) voor suggesties);
- maak gebruik van email of discussiefora om collega-analisten te informeren over de ontdekking van bijzondere vondsten, (mogelijk) nieuwe soorten e.d.; stuur zo mogelijk een foto mee en vraag om commentaar;
- sluit je aan bij een landelijk overleg van collega-analisten en bespreek bijzondere vondsten, nieuwe literatuur en problemen uit de praktijk op het gebied van bemonstering, analyse en determinatie (zie [bijlage 2](#) voor adressen);
- neem deel aan nationale of internationale discussiefora die communiceren via internet (zie [bijlage 2](#)).

10B.13 Literatuurverwijzingen

de Nie HW & Vijverberg J (1985) The accuracy of population density estimates of copepods and cladocerans, using data from Tjeukemeer (the Netherlands) as an example. *Hydrobiologia* 124: 3-11.

Kott P (1953) Modified whirling apparatus for the subsampling of plankton. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 4: 387-393.

- Longhurst AR & Seibert DLR (1967) Skill in the use of Folsom's plankton sample splitter. *Limnology and Oceanography* 12: 334-335.
- NEN-EN 14996 (2006) *Water quality - Guidance on assuring the quality of biological and ecological assessments in the aquatic environment*. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 14 pp.
- NEN-EN 15204 (2006) *Water quality - Guidance standard on the enumeration of phytoplankton using inverted microscopy (Utermöhl technique)*. Nederlands Normalisatie-instituut, Delft. 42 pp.
- NVN 6517 (2000). *Water - Tellen, determineren en biovolumebepaling van zoöplankton (Cladocera. Copepoda. Rotifera) > 50 µm en het bepalen van de groottestructuur van Daphnia*. Nederlands Normalisatie Instituut, Delft. 29 pp.
- STOWA (2006) *Handboek Nederlandse ecologische beoordelingssystemen (EBeo-systemen). Deel A. Filosofie en beschrijving van de systemen*. Rapport 2006-04, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Utrecht. 255 pp.

