

WEW- THEMANUMMER 18

Juni 2001

Handleiding
uitzoeken en determineren
aquatische
macro-invertebraten

WSMMA
Werkgroep
Standaardisatie
Macro-invertebraten
Methoden &
Analyse

Juli 2001

Beste WEW leden,

Hierbij biedt de WSMMA themanummer 18: "Handleiding uitzoeken en determineren aquatische macro-invertebraten" aan. Deze handleiding is het vervolg op WEW-themanummer 17: handleiding bemonsteringsapparatuur aquatische macro-invertebraten.

De Werkgroep Standaardisatie Macro-invertebraten Methode en Analyse (WSMMA) stelt zich tot doel zodanige handreikingen te geven voor de bemonstering en analyse van macro-invertebraten voor (beginnende) laboratoria dat het resultaat van de verschillende laboratoria vergelijkbaar is. Momenteel is het vaak moeilijk om gegevens van verschillende instituten te vergelijken omdat ieder zijn eigen manier van bemonsteren heeft. Ook bij de analyse treden verschillen op doordat al dan niet levend of al dan niet onder de binoc uitgezocht wordt. Verschil in gebruikte literatuur bij de determinatie of het uit het hoofd determineren levert verschil in uiteindelijke soortenlijsten op.

De handleiding: een handreiking

In de handleiding wordt beschreven hoe monsters met macro-invertebraten **kunnen** worden uitgezocht en gedetermineerd. De nadruk ligt op **kunnen** omdat het niet bedoeld is als dwingend voorschrift maar als voorbeeld van de manier waarop monsters over het algemeen geanalyseerd worden. Ieder laboratorium of elk onderzoek stelt zijn eigen specifieke eisen. Aan de hand van deze handleiding kan een intern analysevoorschrift gemaakt worden. Hiervoor is een criteria-lijst van de macro-invertebratenanalyse opgesteld waaraan de bepaling minimaal moet voldoen.

In de handleiding wordt verwezen naar een literatuurlijst waarvan we binnenkort de eerste versie hopen uit te brengen. We hebben er bewust voor gekozen de literatuurlijst niet in de handleiding op te nemen omdat deze in ontwikkeling is en blijft. Er wordt getracht jaarlijks een update van de determinatieliteratuurlijst uit te geven als onderdeel van de WEW nieuwsbrief of als themanummer. Verder houden macrofaunologen elkaar op de hoogte van nieuwe beesten/ontwikkelingen en literatuur via de macrofauna-nieuwsmail (macrofauna@hotmail.com). De meest actuele naamgeving van de organismen is te vinden op www.taxonomica.com.

De WSMMA hoopt met het uitbrengen van deze handleiding op een stukje standaardisatie van het werken met macro-invertebraten.

Met vriendelijke groet:

Leden WSMMA: Ad Kuijpers (WBB), Barend van Maanen (ZL), Birgitta Brans(WF), Jan de Rooij(ZSR), Jeff Samuels(WS-HWB), Jeroen Meeuse(WS-H&A) Marianne Greijdenus(RIZA), Minke de Vries(WF), Myra Swarte(RIZA), Rienk Gene(Aquasense)

Inhoud:

Inleidend	2
Het ontstaan van de wekgroep	
Samenstelling van de werkgroep	
Doelstelling van de werkgroep	
Keuze analyse-methode	3
De handleiding: een handreiking	4
Stroomschema macro-invertebratenanalyse	5
Criteria van de macro-invertebratenanalyse	6
1. Onderwerp	7
2. Toepassingsgebied	
3. Definities	8
4. Beginsel	
5. Veiligheid en milieu	
6. Kwaliteitscontroles	
7. Reagentia en hulpstoffen	9
8. Apparatuur en hulpmiddelen	10
9. Werkwijze	11
9a: Levende monsters	
9a1 Transport en opslag van levende monsters	
9a2 Voorbehandeling (zeven, decanteren en splitten)	
9a3 Uitzoeken levende monsters	12
9b: Gefixeerde monsters	
9b1 Transport en opslag	
9b2 Voorbehandeling	13
9b3 Uitzoeken gefixeerde monsters	
9.4 Determineren	
10. Identificering en kwantificering	14
11. Verslag	
12. Literatuur	
13. Bijlagen	
1. Stroomschema goedkeuring binnegebracht monster	15
2. Gebruik van de Folsom monstersplitter	16

Inleidend:**Het ontstaan van de werkgroep**

In 1991 heeft de subgroep Standaardisatie van de Werkgroep Ecologisch Waterbeheer (WEW) het initiatief genomen om een werkgroep samen te stellen. Deze werkgroep houdt zich bezig met het schrijven van gestandaardiseerde voorschriften met betrekking tot de bemonstering en analyse van macro-invertebraten en de verwerking van de daarbij verkregen gegevens. De Werkgroep Standaardisatie Macro-invertebraten Methode en Analyse (WSMMA) stelt zich tot doel zodanige handreikingen te geven voor (beginnende) laboratoria dat het resultaat van de verschillende laboratoria vergelijkbaar is. Momenteel is het moeilijk om gegevens van verschillende instituten uit te wisselen omdat ieder zijn eigen manier van bemonsteren heeft, ondanks dat er met dezelfde apparatuur gewerkt wordt. Ook bij de analyse treden grote verschillen op doordat al dan niet levend of al dan niet onder de binoc uitgezocht wordt. Verschil in gebruikte literatuur bij de determinatie of het uit het hoofd determineren levert verschil in uiteindelijke soortenlijsten op.

Het gebruik van standaard voorschriften is in het kader van accreditatie (STER-lab certificering) aan te bevelen omdat het de procedures voor acceptatie vereenvoudigt. Ook kan door het aanbieden van de voorschriften aan het Nederlands Normalisatie Instituut (NNI) invloed worden uitgeoefend op de internationale normalisatie, zodat ook internationaal de gegevens uitwisselbaar zijn.

Samenstelling van de werkgroep

Voor de werkgroep die zichzelf Werkgroep Standaardisatie Macro-invertebraten Methode en Analyse oftewel WSMMA doopte, zijn met name mensen met praktijk ervaring gezocht uit het gehele land. Water- en zuiveringschappen, provincies, waterwinningbedrijven, ingenieursbureau AquaSense en RIZA (Rijksinstituut Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling) vormen tezamen de huidige werkgroep.

Doelstelling van de werkgroep

Als eerste doel werd gesteld een handleiding bemonsteringsapparatuur te schrijven, deze is in december 1999 als themanummer 17 van de WEW uitgekomen. Voor u ligt het vervolg, namelijk de handleiding uitzoeken en determineren van macro-invertebraten. Als uitgangspunt is het eindpunt van de vorige handleiding genomen, nl. het moment dat het monster in de emmer langs de waterkant staat. Dit houdt in dat transport, eventuele conservering, voorbehandeling, uitzoeken, determineren, verslaglegging en opslag aan de orde komen. Als richtlijn voor de indeling is het "Raamvoorschrift voor het opstellen van een voorschrift" van de KIWA gebruikt. Dit raamvoorschrift is door de commissie waterkwaliteit van het NNI geaccepteerd als hulpmiddel voor het opstellen van normen.

Keuze analysemethode

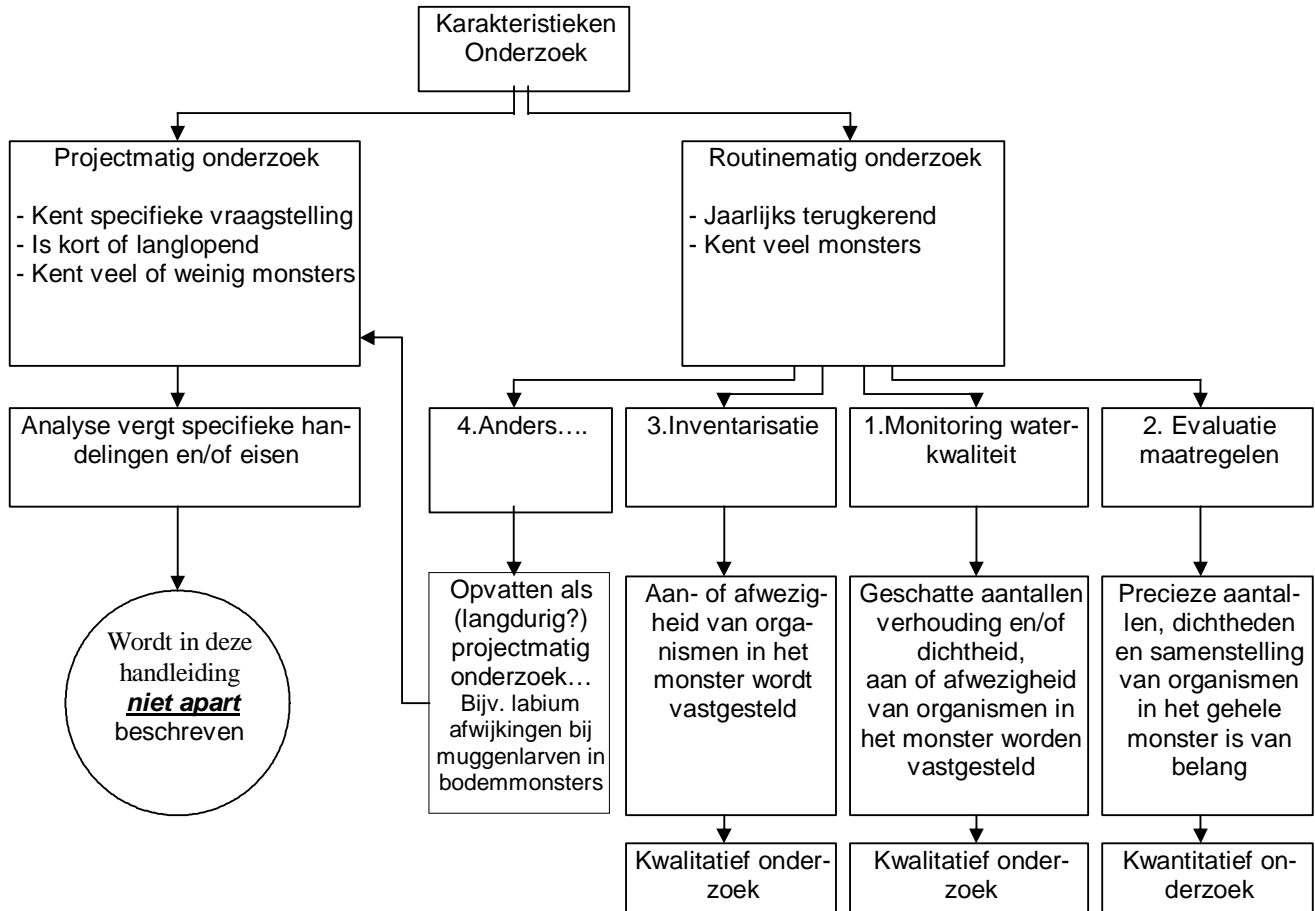
De keuze van de analysemethode wordt bepaald door het doel van de bemonstering en analyse. Wil men een compleet overzicht van het aantal organismen van alle soorten op een bepaalde locatie dan zal de analyse nauwkeuriger uitgevoerd worden dan indien er een indicatie van dominante groepen op een locatie gegeven moet worden. Om de keuze te vereenvoudigen kan gebruik gemaakt worden van het volgende schema.

In de meeste gevallen wordt onderzoek met behulp van macroinvertebraten uitgevoerd in het kader van:

1. monitoring waterkwaliteit (toetsen waterkwaliteit)
2. evaluatie (te nemen of genomen) maatregelen
3. inventarisatie (aan- of afwezigheid van organismen)
4. specifieke vraagstukken (projecten)

Let wel! Deze keuze dient voorafgaand aan de bemonstering gemaakt te worden, mocht de keuze ten tijde van de bemonstering nog niet bekend zijn dan dient de bemonstering kwantitatief uitgevoerd te worden.

Schema 1: Vaststelling analysemethode op basis van het doel:

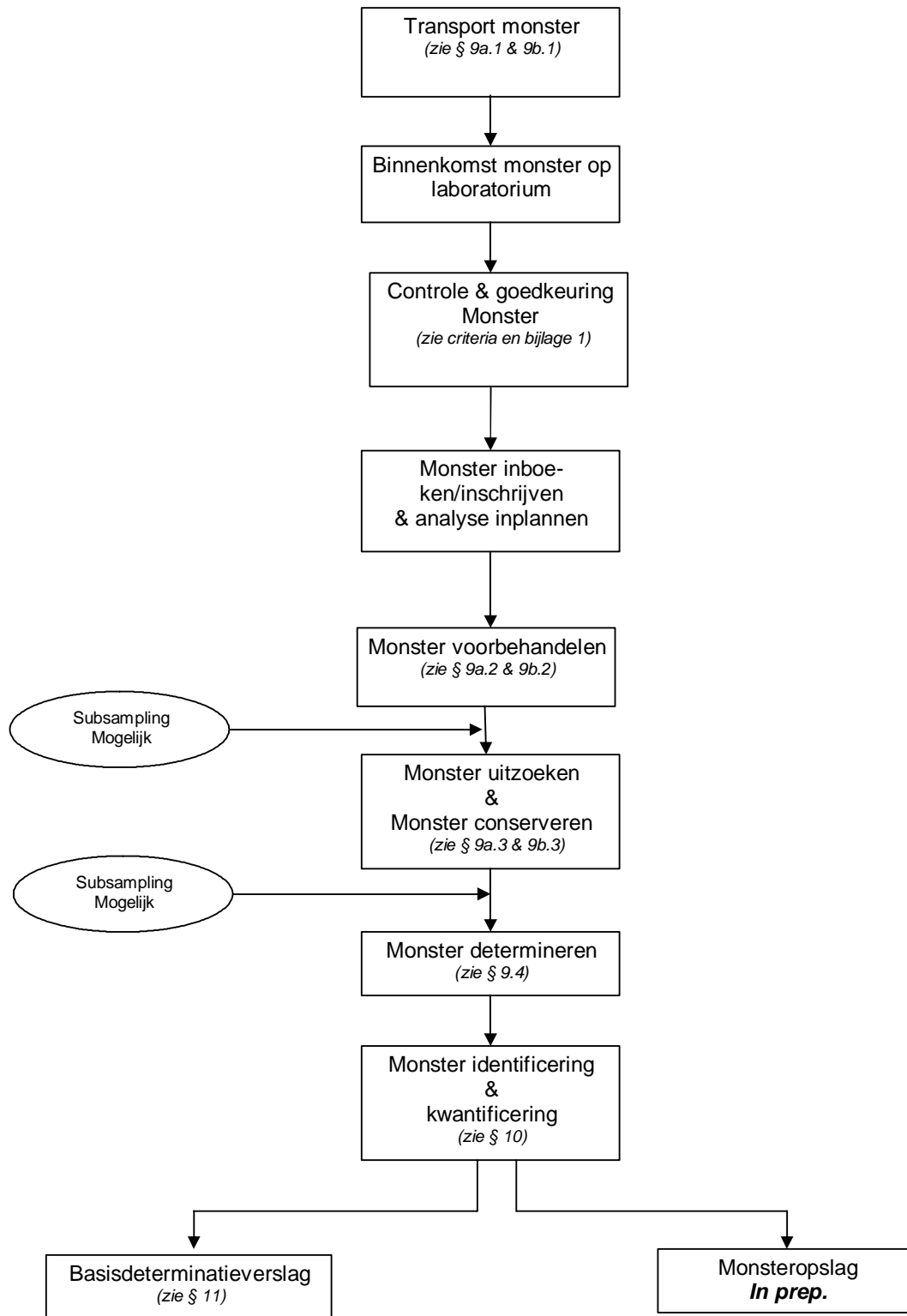


De handleiding: een handreiking

In deze handleiding wordt beschreven hoe monsters met macro-invertebraten **kunnen** worden uitgezocht en gedetermineerd. De nadruk ligt op **kunnen** omdat het niet bedoeld is als dwingend voorschrift maar als voorbeeld van de manier waarop monsters over het algemeen geanalyseerd worden. Ieder laboratorium of elk onderzoek stelt zijn eigen specifieke eisen. Aan de hand van deze handleiding kan een intern analysevoorschrift gemaakt worden. Hiervoor is een criteria-lijst van de macro-invertebratenanalyse opgesteld waaraan de bepaling minimaal moet voldoen. Opgemerkt moet worden dat de opgenomen literatuurlijst van medio 2000 is. Rienk Geene en Barend van Maanen hebben de taak op zich genomen deze lijst actueel te houden. Er wordt getracht jaarlijks een update van de determinatieliteratuurlijst uit te geven als onderdeel van de WEW nieuwsbrief of als themanummer. Verder houden macrofaunologen elkaar op de hoogte van nieuwe beesten/ontwikkelingen en literatuur via de macrofauna-nieuwsmail (macrofauna@hotmail.com). De meest actuele naamgeving van de organismen is te vinden op www.taxonomica.com.

De WSMMA hoopt met het uitbrengen van deze handleiding op een stukje standaardisatie van het werken met macro-invertebraten. Een volgende stap is een beschrijving te maken van de verschillende manieren waarop de verkregen data kunnen worden verwerkt.

Stroomschema macrofauna-invertebraten analyse: Monsterverwerking



Criteria van de macro-invertebratenanalyse

Doelstelling van het opstellen van criteria is het er voor zorgdragen dat de organismen determineerbaar en in dezelfde aantalsverhouding als het oorspronkelijke monster zijn en blijven. Bovendien wordt beoogd d.m.v. de analyse een representatief beeld van de macrofaunalevensgemeenschap in het oorspronkelijke monster weer te geven.

De aangeleverde monsters en de analyseresultaten moeten aan de volgende criteria voldoen:

Transport

Tijdens het transport mag geen afbraak van organismen en geen verwisseling van monsters plaatsvinden (bijlage 1).

- Indien het monster in het veld gefixeerd wordt, dient de eindconcentratie dusdanig te zijn dat rotten en vraat voorkomen worden.
- Gefixeerde monsters dienen in goed geëtiketteerde dampdichte potten vervoerd te worden.
- Niet gefixeerde monsters dienen in goed geëtiketteerde afsluitbare bakken, in water (of met alleen aanhangend water) en met minimaal 25% lucht gekoeld vervoerd te worden.
- Niet gefixeerde monsters kunnen maximaal 36 uur gekoeld (5-7°C) bewaard worden.

Uitzoeken

Voorkom beschadigen en verlies van organismen.

- Alleen gecertificeerde (ISO-/NEN-certificaat), schone en onbeschadigde zeven kunnen gebruikt worden voor de voorbehandeling.
- Deelmonsters dienen zodanig genomen te worden dat ze een representatief beeld geven van de soortsaanstelling in het oorspronkelijke monster.
- Deelmonsters dienen zodanig genomen te worden dat het uitgezochte deel teruggerekend kan worden naar de oorspronkelijke aantallen.

Determineren

Determineer zodanig dat het resultaat reproduceerbaar is.

- Een gedetermineerd individu moet een kop hebben.
- De organismen moeten gedetermineerd zijn gebruik makend van de laatste versie van de determinatieliteratuurlijst (WEW themanummer ..)
- De kwaliteitsborging vindt plaats d.m.v. overleg met collegae, andere instellingen of experts en door het deelnemen aan ringonderzoeken.
- Van de gevonden organismen wordt een referentiecollectie aangelegd.
- Alleen microscopen met gekalibreerde meetocularen zijn geschikt voor determinaties.
- De eindresultaten (soorten en aantallen) worden vastgelegd en eventuele schattingen worden verwerkt tot de oorspronkelijke aantallen in het monster.
- De monsters worden opgeslagen onder optimale condities.

1. ONDERWERP

Deze handleiding beschrijft een methode voor de kwantitatieve - en kwalitatieve bepaling van de soortsaamenstelling van aquatische macro-invertebraten. Hiertoe worden de organismen geteld en geïdentificeerd.

2. TOEPASSINGSGBIED

De handleiding is van toepassing bij het analyseren van monsters met macro-invertebraten van diverse substraten in oppervlaktewater zoals stenen, bodems, waterplanten, kunstmatig substraat enz. Macro-invertebraten zijn kleine (ca 500 μm - ca 15 cm) ongewervelde dieren. Hiertoe behoren¹ volgens De Pauw en Vannevel (1991²) aquatische stadia van:

Porifera (sponzen) **Coelenterata** (holtedieren) **Bryozoa** (mosdiertjes)

Plathelminthes (platwormen)

Nemertea (snoer-) **Nematoda** (draad-) **Nematomorpha** (paardehaarwormen)

Annelida (gelede wormen waaronder borstelwormen en bloedzuigers)

Mollusca (weekdieren waaronder slakken en tweekleppigen)

Arachnida (geleedpotigen waaronder spinnen en mijten)

Crustacea (kreeftachtigen)² de volgende groepen:

Branchiopoda (blad - of kieuwpotigen) uitgezonderd *Cladocera*

Maxillopoda (karperluizen, roeipootkreeftjes) uitgezonderd *Copepoda*

Mysidacea (aasgarnalen)

Amphipoda (vlokkreeften waaronder ook slijkgarnalen)

Isopoda (pissebedden)

Decapoda (garnalen, kreeften en krabben)

Insecta (insecten) waaronder de volgende groepen:

Collembola (springstaarten)

Ephemeroptera (haften/eendagsvliegen)

Odonata (libellen)

Plecoptera (steenvliegen)

Hemiptera (wantsen)

Neuroptera (netvleugeligen)

Megaloptera (slijkvliegen)

Coleoptera (kevers)

Trichoptera (kokerjuffers)

Lepidoptera (vlinders)

Diptera (vliegen en muggen)

Hymenoptera (vliesvleugeligen)

¹ Vetgedrukt zijn de (sub)phylumnamen, cursief de bijbehorende klassen.

² Aangezien de Cladocera, Ostracoda en Copepoda onder het zoöplankton vallen zijn ze niet in deze lijst opgenomen.

3. DEFINITIES

In deze alinea worden definities van begrippen gegeven zoals ze voor deze handleiding bedoeld zijn:

kwantitatief: het uitzoeken en determineren wordt zodanig uitgevoerd dat met de uiteindelijke soortenlijst aantalsverhoudingen en dichtheden van het oorspronkelijke monster berekend kunnen worden.

kwitatief: een schatting van het aantal organismen per taxon is voldoende, afhankelijk van de doelstelling van het onderzoek wordt vooraf een grofheid van schatting bepaald (bijvoorbeeld 0,1,1-10,10-50, 50-100, 100-500, 500-1000, >1000). Soms kan ook alleen de aan- of afwezigheid van belang zijn en worden vastgesteld.

Decanteren: het zodanig roeren en afgieten van een monster met veel zand, dat het zand achterblijft in de emmer en de organismen in een zeef worden opgevangen.

4. BEGINSEL

Organismen worden bij voorkeur per taxonomische groep gesorteerd en gefixeerd. Kwetsbare organismen worden apart bewaard. Organismen van verschillende subsample groottes worden ook apart in potjes bewaard om verwarring in het terugrekenen te voorkomen. De organismen worden met behulp van een microscoop en determinatieliteratuur afhankelijk van de doelstelling en indien mogelijk tot op soort gedetermineerd.

5. VEILIGHEID EN MILIEU

- Raadpleeg de desbetreffende chemiekaarten.
- Het fixatiemiddel ethanol is brandgevaarlijk en irriterend voor de slijmvliezen. Sluit de flessen goed af. Werk in de afzuigkast of met puntafzuiging.
- Formaldehyde is schadelijk voor de gezondheid. Sluit de flessen goed af. Werk met formaldehyde in de afzuigkast. Let op de combinatie formaldehyde-zoutzuur i.v.m. vorming van chloorgas!
- Koenike-vloeistof bevat ijszijn dat brandgevaarlijk en bijtend is.
- Levulose siroop bevat melkzuur dat bijtend is.
- Voer afvalstoffen op een verantwoorde wijze af.

6. KWALITEITSCONTROLES

De hier beschreven controles vormen een minimum en zijn noodzakelijk voor een betrouwbare uitvoering van de analyse.

6.1 Algemeen

Het bijhouden van vakliteratuur is een vereiste.

6.2 Zeven

Gebruik alleen gecertificeerde (ISO-/NEN-certificaat), schone en onbeschadigde zeven.

6.3 Uitzoeken

Laat minimaal 10 % van de uitgezochte monsters controleren op achtergebleven organismen.

6.4 Determinatie

Gebruik microscopen met gekalibreerde meetocularen.

Bouw om de juistheid van determinaties te controleren een referentiecollectie op. Alleen door een expert gecontroleerde exemplaren kunnen in de referentie-collectie worden opgenomen. Afhankelijk van de soorten kan de referentiecollectie uit één of meerdere van onderstaande vormen bestaan: complete (ongeprepareerde) organismen + eventueel (losgeprepareerde) onderdelen; geprepareerde organismen; foto's/tekeningen van organismen.

6.5 Eerstelijns controle

Een eerstelijnscontrole bestaat in principe uit het meebepalen van een standaard monster. Bij biologische analyses wordt dit als volgt gedaan.

Overleg regelmatig met collega's en laat determinaties verifiëren. Maak deze acties aantoonbaar door bijvoorbeeld op de tellijst hiervoor te laten paraferen en eventuele opmerkingen te noteren.

Nieuw aangetroffen soorten worden eerst door alle uitvoerende analisten bekeken alvorens ze ter controle naar een extern expert worden opgestuurd.

6.6 Interne controle en afstemming (tweedelijns controle)

Alle uitvoerenden determineren enkele keren per jaar hetzelfde (samengestelde) monster. Dit om te bepalen of de naamgeving van de verschillende organismen gelijk is en of onderling vergelijkbare tellingen worden verkregen. Leg dit schriftelijk vast.

Overleg regelmatig met andere instellingen over taxonomische en methodologische problemen met betrekking tot macro-invertebraten analyses en nieuwe literatuur. Dit kan met name door deel te nemen aan overleggroepen.

6.7 Derdelijns controle

Derdelijns controle vindt plaats door deelname aan ringonderzoeken.

7. REAGENTIA en HULPSTOFFEN

7.1 Overzicht benodigde chemicaliën

Stofnaam	formule	concentratie	Kwaliteit
Ethanol	C_2H_5OH	96%	gedenatureerd
IJsazijn	CH_3COOH		reinst
Glycerol	$HOCH_2HOCH_2CH_2OH$	84 - 88%	reinst
Formaldehyde	$HCHO$	37%	reinst
Fructose	$C_6H_{12}O_6$		
Melkzuur	$CH_3CHOHCOOH$		reinst

7.2 Ethanol, 70% volumepercentage

730 ml ethanol 96% aanvullen met water tot 1000 ml.

Opmerking: deze oplossing is in een afgesloten dampdichte fles onbeperkt houdbaar.

7.3 Koenike-vloeistof

50 ml glycerol (84-88%) + 30 ml demi-water + 20 ml ijsazijn.

Opmerking: deze oplossing is onbeperkt houdbaar.

7.4 Formaldehyde-oplossing, 3 - 4%

10 ml formaldehyde (37%) aanvullen met demi-water tot 100 ml.

Opmerking: deze oplossing is onbepaald houdbaar, mits niet gekristalliseerd.

7.5 Levulose-siroop

Samenstelling per 1000 ml:

50 g D-fructose + 50 ml demi-water 24 uur verwarmen bij 50°C (enkele druppels melkzuur toevoegen). Daarna 50 ml melkzuur toevoegen.

Opmerking: deze oplossing is in een donkere fles 1 jaar houdbaar.

8. APPARATUUR EN HULPMIDDELEN

vereist:

Zeven met verschillende maaswijdte (bijv. 250, 300, 500 μm en 1, 2 en 10 mm)

Ondiepe lichtdoorlatende bak (bij gebruik lichtbak) of foto-uitzoekbak.

(Chirurgische) pincetten

Dampdichte potjes

Petrischalen, \varnothing 30, 60 en 90 mm

Objectglazen

Dekglasjes

Prepareernaalden (minutienaalden in houder)

Preparaatdozen

Stereozoommicroscop, voorzien van opvallend licht (in de vorm van ring- of staafverlichting) en met een aanbevolen bereik van 6-100 maal, waarvan één oculair is uitgerust als meetoculair. De stereozoommicroscop kan eventueel worden uitgevoerd met helder-/donkerveldstatief om bepaalde structuren zoals haren beter waar te kunnen nemen.

Doorvallend licht microscop met helderveld met vergrotingen van 40-400 maal, uitgerust met een meetoculair en eventueel uitgevoerd met fase- of interferentie-contrast om bepaalde structuren zoals haren beter waar te kunnen nemen.

Aanbevolen:

Folsom splitter (gemodificeerd, zie bijlage 2)

Lichtbak met melkglazenplaat

Penseel (zacht)

Bekerglas 1500 ml

10 L emmer (decanteren)

Strekplaatje (ophelderen preparaten)

Veldformulier

Een fotografie-/video-uitrusting of tekenspiegel, geschikt voor gebruik van de doorvallend licht microscoop en/of stereozoommicroscoop is een nuttig hulpmiddel voor het opbouwen van bijvoorbeeld een refentiecollectie.

9. WERKWIJZE

De werkwijze van voorbehandelen, uitzoeken en determineren is afhankelijk van het vooraf gestelde doel. Afhankelijk van dit doel wordt kwalitatief of kwantitatief uitgezocht.

*Bij *kwantitatief onderzoek* dient zodanig uitgezocht te worden dat teruggerekend kan worden naar de oorspronkelijke aantallen. Bij gefixeerde monsters wordt hiervoor het uitzoeken onder een stereozoommicroscoop aanbevolen.

*Bij *kwalitatief onderzoek* kan volstaan worden met het schatten van het aantal organismen door bijvoorbeeld een achtste deel van de inhoud van de zeef of uitzoekbak te schatten of te tellen en dit om te rekenen naar het gehele monster.

Vermeld op het uitzoekformulier welk schattingsinterval gebruikt is (tientallen, honderdtallen) of volgens bijvoorbeeld De Pauw en Vannevel (1991).

Bepaal vóór de bemonstering of de monsters levend of gefixeerd moeten worden uitgezocht. Zorg dat alle monsters voorzien zijn van duidelijke etiketten met relevante gegevens.

In onderstaande werkwijze worden beide methoden apart beschreven, 9a voor levende monsters en 9b voor gefixeerde monsters.

9a Werkwijze voor levende monsters

9a.1 Transport en opslag van het monster

Levende monsters dienen in afsluitbare bakken, in water (of met aanhangend water) en met minimaal 25% lucht gekoeld vervoerd te worden.

De monsters kunnen maximaal 36 uur gekoeld (5-7°C) bewaard worden.

Eventueel kan een zuurstofsteentje in het water gehangen worden. Monsters met veel slib, die niet meteen kunnen worden uitgezocht, kunnen ook eerst worden uitgezeefd om rotting te voorkomen. Goedkeuring van het binnengebrachte monster wordt beschreven in bijlage 1.

9a.2 Voorbehandeling (zeven, decanteren, splitten)

Breng het monster op de zeef en spoel het zorgvuldig uit onder een zachte waterstraal. Als maaswijdte geldt de maaswijdte die voor het onderzoeksdoel is afgesproken en in het veld is gebruikt.

Als er veel grof materiaal, zoals grote stenen, lege schelpen, plantenstengels e.d., in het monster aanwezig is, kan er over meerdere zeven worden gespoeld. Dit gebeurt oplopend van de afgesproken maaswijdte naar een grotere maaswijdte.

Bij veel zand of planten kan een monster als volgt gedecanteerd worden.

- Breng het monster in delen over in een 10 L emmer zodanig dat de emmer voor 1/10 gevuld is met monstermateriaal.
- Vul de emmer met water aan totdat deze half vol is.

- Roer met de hand, lepel of zwenk de emmer en giet, terwijl het water nog in beweging is, het bovenstaande water met daarin de organismen af over de zeef.
- Herhaal deze handeling 5 tot 7 maal, en controleer vervolgens of er nog organismen in het bodem/planten materiaal zijn achtergebleven. Zo ja dan nogmaals decanteren. Het uiteindelijke monster bestaat uit dat deel van het monster wat op de zeef achterblijft.

Schat het aantal organismen per hoofdgroep.

Indien er veel organismen van een hoofdgroep aanwezig zijn, kan het monster verdeeld worden in deelmonsters. Verdeel hiervoor het monster gelijkmatig over de zeef of uitzoekbak. Breng een bekend deel (taartpunt) hiervan over in een bak en zoek dit als eerste geheel uit. Controleer of het genomen deelmonster representatief is. Noteer de deelmonster grootte die voor de verschillende groepen gebruikt is. Zoek de rest van het monster door op alle andere groepen.

9a.3 Uitzoeken levende monsters

De zeeffracties worden uitgezocht in (foto)bakken. Voor het uitzoeken is een goede boven- of onderverlichting minimaal noodzakelijk. Eventueel kan dit gecombineerd worden. Van groot belang is, dat uit alle (zeef)fracties de organismen en soorten worden uitgezocht of, indien er veel organismen van een soort(groep) zijn, een representatief deel ervan. Indien een representatief deel wordt uitgezocht wordt afhankelijk van de doelstelling van het onderzoek de rest van de dominante organismen geschat (kwalitatief) of geteld (kwantitatief). Zoek wel het hele monster uit op overige organismen.

Zoek alleen individuen uit die een kop hebben.

Verwijder de Tricladida en Polychaeta voorzichtig met een penseel uit de bak en breng deze over in een petrischaal met leidingwater (evt. met ijsblokjes). De Tricladida worden levend gedetermineerd.

Breng Oligochaeta over in formaldehydeoplossing en breng Hydracarina over in Koenike-vloeistof.

Breng, indien alle organismen op hoofdgroepen worden gesorteerd, de organismen per onderscheiden groep (behalve de hierboven genoemde groepen) over in dampdichte potjes met ethanol, zodanig dat de eindconcentratie 70% is. Levende organismen kunnen snel gedood worden in heet water voordat ze in ethanol gefixeerd worden. Vooral bij het fixeren van grote kevers, kreeften, slakken, muggenlarven en bloedzuigers is dit aan te bevelen.

De dampdichte potjes mogen maximaal voor 1/3 met organismen gevuld worden. De potjes waarin de organismen zijn opgeslagen moeten regelmatig ververs worden om rotten te voorkomen. Vang de ververs ethanol op in het daarvoor bestemde afvalvat.

9b **Werkwijze voor gefixeerde monsters**

9b.1 Transport en opslag van het monster

Breng het monster over in 30% ethanol of in (kokend) heet water (bloedzuigers en platwormen krimpen minder en zijn daardoor beter te determineren). Breng de eindconcent-

tratie met 96% alcohol uiteindelijk op ca. 70%. Om het monster te fixeren mag de pot maximaal voor 1/3 deel gevuld zijn met monstermateriaal en voor de rest met alcohol. Gebruik uitsluitend goed afsluitbare dampdichte potten. Goedkeuring van het binnengebrachte monster wordt beschreven in bijlage 1.

9b.2 Voorbehandeling (zeven, decanteren, splitten)

Voor spoelen en zeven zie 9a.2. Vang daarbij de alcohol op in het daarvoor bestemde afvalvat.

Het maken van deelmonsters.

Schat het aantal organismen per hoofdgroep.

Indien er veel organismen van een hoofdgroep aanwezig zijn, kan het monster verdeeld worden in deelmonsters zoals onder 9a.2 wordt beschreven. Bij gefixeerde monsters kan tevens gebruik gemaakt worden van een 2- of 4- Folsom monstersplitter (gemodificeerd). In bijlage 2 wordt deze splitter beschreven.

9b.3 Uitzoeken gefixeerde monsters

Breng het materiaal over in een uitzoekbakje met een laagje water. Zorg dat er geen kwaliteitsverlies optreedt (uitdrogen/rotten van het monstermateriaal).

Zoek alleen individuen uit die een kop hebben.

Als een monster is verdeeld in deelmonsters, begin dan met uitzoeken van het kleinste deelmonster.

Indien een representatief deel wordt uitgezocht wordt afhankelijk van de doelstelling van het onderzoek de rest van de dominante organismen geschat (kwalitatief) of geteld (kwantitatief). Noteer de deelmonster grootte per groep. Zoek wel het hele monster uit op overige organismen.

Breng de aangetroffen organismen over in goed geëtiketteerde dampdichte potjes met ethanol, zodanig dat de eindconcentratie minimaal 70% is.

9.4 **Determineren**

Voor de determinatie van de verschillende taxa dient minimaal gebruik gemaakt te worden van de primaire determinatieliteratuur vermeld in WEW themanummer ... Gebruik altijd de laatste versie.

In desbetreffende determinatieliteratuur zijn de verschillende preparatie-technieken beschreven voor de afzonderlijke hoofdgroepen.

De naamgeving van de macro-invertebraten is conform de laatste inzichten en/of gebruikte determinatieliteratuur. Binnenkort op www.taxonomica.com

10 IDENTIFICERING EN KWANTIFICERING

Indien het monster verdeeld is moeten de aantallen teruggerekend worden naar de aantallen in het oorspronkelijke monster. Noteer dit op het analyse formulier en laat het analyseformulier valideren

11. VERSLAG

Vermeld in het verslag/rapport de resultaten (soortnaam, aantal, stadium, geslacht, determinant) en ook:

- a) de gegevens die noodzakelijk zijn voor het identificeren van het monster zoals:
 - monsternummer;
 - monsterlokatie en coördinaten;
 - monsterdatum.
- b) de toegepaste methodieken van uitzoeken en determineren: Volgens...
- c) afwijkingen van de voorschriften
- d) eventuele bijzonderheden die tijdens de bepaling zijn waargenomen (bijv. erg veel organisch materiaal, monster ruikt naar olie)
- e) bij kwalitatieve bepaling de schattingsfactor (tientallen of bijv. volgens De Pauw en Vannevel, 1991)
- f) bij kwantitatieve bepaling de deelfactor per hoofdgroep
- g) literatuur

In het basisdeterminatieverslag wordt alle extra detailinformatie genoteerd.

12. LITERATUUR

De Pauw, N. & Vannevel, R., 1991. Macro-invertebraten en waterkwaliteit. Antwerpen. Dossiers Stichting Leefmilieu 11.

Nederlands Instituut voor Arbeidsomstandigheden (NIA) & Vereniging van de Nederlandse Chemische Industrie (VNCI). 1997. Chemiekaarten - Gegevens voor veilig werken met chemicaliën. Alphen aan de Rijn. Samson H.D. Tjeenk Willink

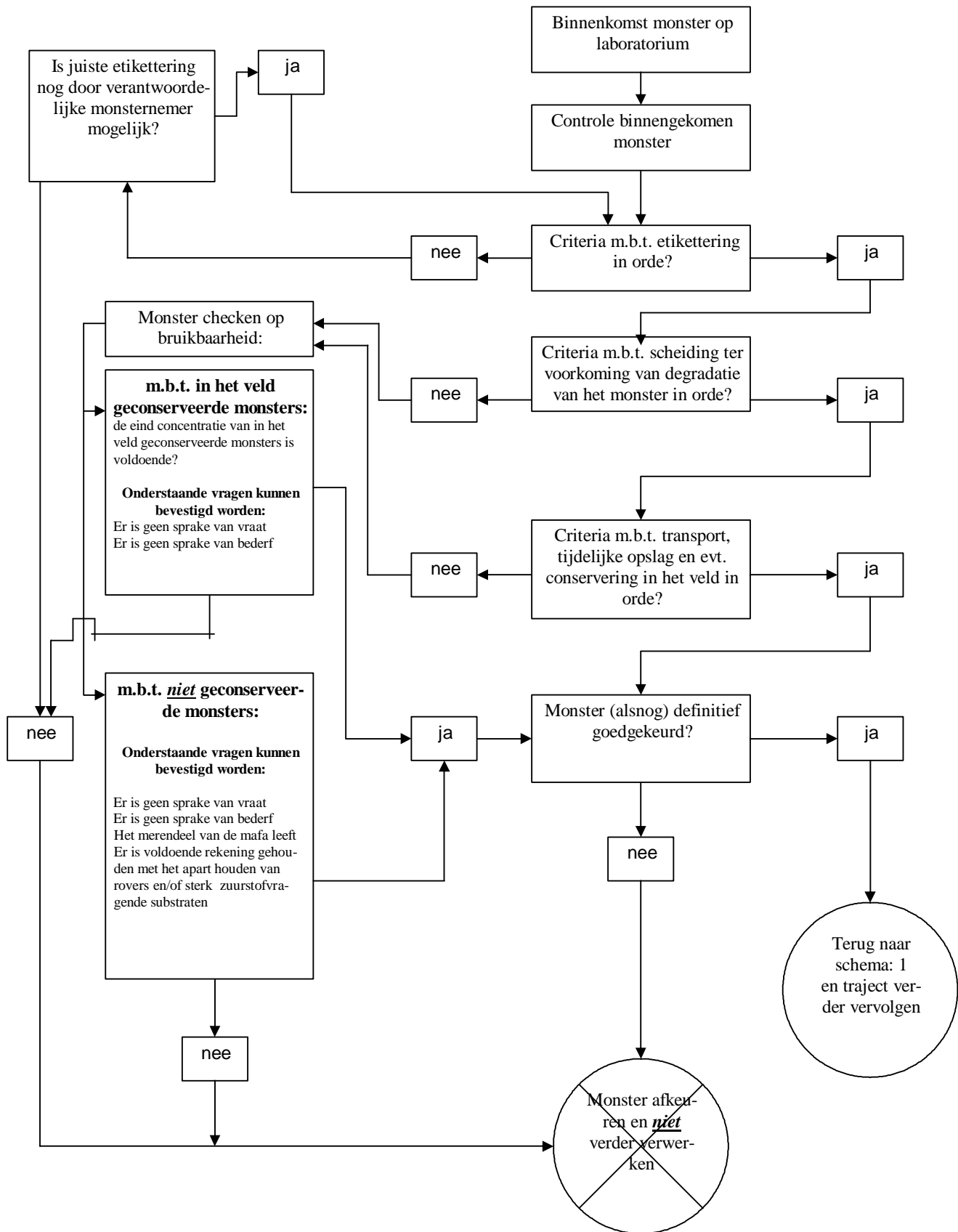
13. BIJLAGEN

Bijlage 1 Stroomschema goedkeuring binnengebracht monster

Bijlage 2 Gebruik van de Folsom monstersplitter

Bijlage 3 Determinatieliteratuurlijst

BIJLAGE 1. STROOMSCHEMA GOEDKEURING BINNENGEBRACHT MACROFAUNA-MONSTER



BIJLAGE 2: GEBRUIK VAN DE FOLSOM MONSTERSPLITTER

De monstersplitter moet op een ondergrond staan die waterpas is.

Breng het gespoelde monster van 9b.2 over in een bekeerglas van 1500 ml.

Vul het bekeerglas tot de helft met kraanwater, zodat het monster goed te verdelen is.

Meng de inhoud van het bekeerglas zodat het monster goed verdeeld is.

Giet het monster zo snel mogelijk in de monstersplitter.

Beweeg het rad van de monstersplitter zo, dat het monster gelijk verdeeld wordt over de vakken in het rad.

Kiep het rad zodanig dat de inhoud in de bakken onder het rad wordt overgebracht.

Leeg de bakken over de zeef en breng de deelmonsters over in afzonderlijke potten. Doe hier alcohol bij zodat de eindconcentratie 70% is.

Houd de inhoud van 1 bak apart.

Noteer op de potten monsternummer en deelmonstergrootte.

Controleer of het materiaal van de bak die apart gehouden is, nog een keer verdeeld moet worden in deelmonsters. Als dit het geval is herhaal dan de procedure.

-Bij gebruik van deelmonsters geldt de volgende berekening:

X_n = totale aantal individuen van een soort

N = aantal individuen uit deelmonster

s = deelmonstergrootte als breuk weergegeven

$X_n = N \cdot 1/s$

