

**BEMONSTERINGS- EN BEWERKINGSMETHODIEK VAN HARPACTICIDEN  
EN NEMATODEN, VOORKOMEND IN DE BODEM VAN HET  
GREVELINGENMEER**

door

**A.J.J. Sandee**



Delta Instituut voor Hydrobiologisch Onderzoek  
Vierstraat 28, 4401 EA Yerseke

Rapporten en Verslagen nr. 1979-6.

Rechten voorbehouden. Van "Rapporten en Verslagen" is herdruk of  
aanhaling slechts toegestaan met uitdrukkelijke toestemming van  
de auteur.

Inhoud	pag.
I. Inleiding	1
II. Monstername	1
III. Fixeren monsters	2
IV. Opspoelen monster (methode van Barnett, 1968)	2
V. Sorteren	2
VI. Centrifugeren	3
VII. Sorteren en verwerken	3
VIII. Samenvatting - Summary	4
IX. Literatuur	4
Figuren	6

## I. Inleiding

Het Grevelingenbekken is een stagnant zout meer dat ontstond na de afsluiting van de Grevelingen (1964) en het Brouwershavense gat (1971). In 1972 is in samenwerking met medewerkers van de Deltadienst van Rijkswaterstaat de Grevelingenwerkgroep opgericht. Het doel van deze werkgroep is de bestudering van de koolstofkringloop in het Grevelingenmeer. Eén aspect hiervan is het onderzoek naar de biomassa van het meiozoöbenthos (Nematoden en Harpacticiden); de bestudering is eind 1975 begonnen.

Nematoden zijn wormpjes, in de landbouw beter bekend als "aaltjes"; Harpacticiden zijn kleine "kreeftachtigen", die wat vorm en levenswijze aangaat goed kunnen verblijven tussen de zandkorrels. Het grootste percentage dieren komt voor in de bovenste centimeters van de bodem.

De rol van de meiozoöbenthos groepen in de koolstofkringloop is aanzienlijk; ze helpen mee aan de afbraak van plantaardig organisch materiaal; verder fungeren ze als voedsel voor carnivore wormen en vele andere bodembewoners.

## II. Monstername

De monsters, verspreid over de gehele Grevelingen, werden door Scuba-duikers genomen vanaf de onderzoekingsvaartuigen "Maris Stella" en "Jan Verwey". Er werd gebruik gemaakt van plexiglas monsterpijpen (Opp. doorsnede  $10,18 \text{ cm}^2$ ,  $L = 40 \text{ cm}$ ). Er werd een methode ontwikkeld om ongestoorde bodemmonsters (cores) te krijgen. De monsterpijpen worden 25 à 28 cm diep in de bodem gedrukt, aan de bovenzijde afgesloten met een plastic dop, rechtstandig naar boven gehaald en ten slotte aan de onderzijde afgesloten met een plastic dop op het moment dat de monsterbuis nog 1 à 2 cm diep in de bodem is. Op deze manier kan een ongestoord bodemmonster worden verkregen.

Door de monsterbuizen te plaatsen in de voor deze methode ontwikkelde verzamelstandaard (Fig. 1) kunnen ze gemakkelijk rechtstandig meegenomen worden naar het schip voor verdere afwerking.

### III. Fixeren monsters

De diepte van de reductielaag wordt eerst op het zicht bepaald. Het bovenstaande water wordt afgezogen en vervolgens wordt het monster tijdens het langzaam uitzakken in schijven van 2 cm verdeeld. Deze worden overgebracht in genummerde monsterflesjes van 100 cc waarin we warm fixeren met 4% formaline (70/80°C). Het fixatief wordt bereid met gefiltreerd omgevingswater.

### IV. Opspoelen monster (methode van Barnett, 1968)

In het laboratorium worden de gefixeerde monsters, geheel in een spoelgoot gebracht (Fig. 2) (L = 950 mm, B = 25 mm, H = 15 mm). Het opgespoelde materiaal wordt opgevangen in drie zeven van 1,0; 0,210 en 0,038 mm.

Tijdens het inbrengen van het monster is het noodzakelijk dat het leidingwater reeds langzaam door de goot stroomt, dit om een goede verdeling van het monster in de spoelgoot te bevorderen. De spoelgoot behoort horizontaal opgesteld te staan.

Tijdens het spoelen wordt het monster elke 5 min. enkele keren opgewerveld door een krachtige waterstraal uit een spuitfles met een kleine mondopening.

Elke zeef-fractie wordt afzonderlijk in een 4%-formaline oplossing gebracht en gekleurd met Bengaalsrose (0,2 gram per 100 cc). Het geheel verblijft hierin minimaal 24 uur. Het Bengaals rose is dan voldoende ingewerkt, en praktisch al het dierlijke materiaal heeft een lichtrose kleur aangenomen, dit om ook de jonge Nematoden te kunnen onderscheiden. Het geheel moet in het donker bewaard worden om ontkleuring door daglicht te voorkomen.

### V. Sorteren

Het materiaal van de 1 mm en de 0,210 mm-fractie wordt volledig en manueel op Harpacticiden en Nematoden uitgesorteerd in schaaltes met lichthellende zijvlakken van 50 x 50 mm. Op deze manier kan het monster volledig worden doorgewerkt onder Wild M 5 microscoop, voorzien van een

speciale kruistafel waar precies alle gezichtsvelden van 50 x 50 mm één voor één te overzien zijn. De Nematoden en Harpacticiden worden uitgesorteerd en in buisjes gebracht met 4% formaline.

## VI. Centrifugeren

Het fijne materiaal (zeef 0,038 mm) wordt met leidingwater  $\pm$  3 minuten opgespoeld om de formaline te verwijderen. Daarna wordt het in een centrifugebeker gebracht van 275 cc, samen met water en een halve spatel Kaolinepoeder dat de veen- en slibdeeltjes vastlegt tijdens het centrifugeren.

De snelheid is 6000 toeren per minuut bij een temperatuur van 20°C over een tijdsduur van 6 minuten in de rotor van de centrifuge ("Sorval" Newton con. U.S.A.; rotor G.S.A. Nr. 9882). Het monster wordt na het centrifugeren afgeschonken op de 0,038 mm zeef, waarna alles weer samen gevoegd wordt in een centrifugebeker gevuld met een oplossing van 50% Ludox H.S.

De volgende procedure is: Het monster voldoende roeren zodat alle materiaal in suspensie komt, in de centrifuge plaatsen en behandelen als hiervoor beschreven. Vervolgens deze behandeling twee keer herhalen. Na het centrifugeren wordt alle Ludox H.S. zorgvuldig verwijderd door ruim te spoelen met water. Menging van Ludox H.S. resten en formaline veroorzaakt een slijm waar de dieren heel moeilijk uit te verwijderen zijn.

## VII. Sorteren en verwerken

Uit de centrifuge-afschenkels worden eerst alle Harpacticiden gesorteerd. De Nematoden worden samengevoegd met de exemplaren van de zeven 1 en 0,210 mm, gekleurd met Bengaals rose (24 h), opgespoeld met aquadest, en tenslotte in een sorteerschaaltje van 50 x 50 mm gebracht, aangevuld met de nodige aquadest.

Nadat de dieren over het gehele telbakje gelijkmatig werden verdeeld worden ze "at random" uitgesorteerd tot een totaal van  $\pm$  200 exemplaren. Ze worden daarna in een aluminium bootje overgebracht (13 x 4 x 4 mm, gewicht van  $\pm$  0,005 g). Deze aluminium schaaltes worden vooraf 2 uur gedroogd bij een temperatuur van 110°C en gewogen op een Mettler digitale balans. Na

inbrengen dieren, schuitje drogen als vooraf beschreven, in een exsiccator plaatsen en na afkoeling wegen. Het totaal aantal Nematoden wordt bepaald door 40 vakjes "at random" te tellen en te vermenigvuldigen met  $2\frac{1}{2}$  voor het bepalen van het totaal aantal Nematoden per telbakje.

Heip, Willems en Goossens (1977) vermeldden resultaten die met de hier beschreven methode verkregen zijn. Enkele voorbeelden staan in Fig. 3. In de figuur is duidelijk te zien dat er een fundamenteel verschil is in de verticale verspreiding van de Harpacticiden en Nematoden. Het gemiddelde aantal is in lagen van 2 cm aangegeven, genomen met een aantal lange monsterpijpen als in Fig. 1. Conclusie hieruit is dat het erg belangrijk is om ongestoord verschillende lagen te onderzoeken.

Ofschoon beide groepen hun grootste aantallen individuen aan de oppervlakte hebben, dringen de Nematoden in aantal en soorten veel dieper door in het sediment dan de Harpacticiden.

#### VIII. Samenvatting - Summary

Een methodiek wordt beschreven om meiozoöbenthos elementen (Harpacticiden en Nematoden) in de onderwaterbodem van het Grevelingenmeer te bemonsteren, en in het laboratorium te verwerken en te kwantificeren. Enkele resultaten over de verticale verspreiding in de bodem worden gegeven.

A method has been described to sample meiozoobenthos elements (Harpacticoids and Nematodes) in the underwater bottom of saline Lake Grevelingen, and to work up the material in the laboratory and to quantify the densities of the animals. Some results on the vertical distribution in the sediment are given.

#### IX. Literatuur

Barnett, P.R.O., 1968. Distribution and ecology of Harpacticoid copepods of an intertidal mudflat. *Int. Revue ges. Hydrobiol.* 53: 117-209.

Heip, C., K.A. Willems and A. Goossens, 1977. Vertical distribution of meiofauna and the efficiency of the van Veen grab on sandy bottoms in Lake Grevelingen (The Netherlands). *Hydrobiol. Bull.* 11(2): 35-45.



### Legenda Figuren

- Fig. 1 : De monsterpijpen met hun standaard. H = handvat; A = standaard; B = monsterpijp (steekbuis); C = klem; D = afsluitdop. De linkerbuis is gevuld met sediment: de grenslaag tussen geoxideerd (licht raster) en gereduceerd (donker raster) sediment is aangegeven.
- Fig. 2 : Spoelgoot met zeefinstallatie. A = toevoer leidingwater; B = bodemmonster; C = trechter; D = spoelgoot; E = zeven; F = spuit fles.
- Fig. 3a : Verticale verspreiding van Harpacticiden en Nematoden in de bodem van het Grevelingenmeer; 3b. Cumulatieve percentages van het gemiddeld aantal in elke laag (uit Heip, Willems & Goossens, 1977).

Fig. 1

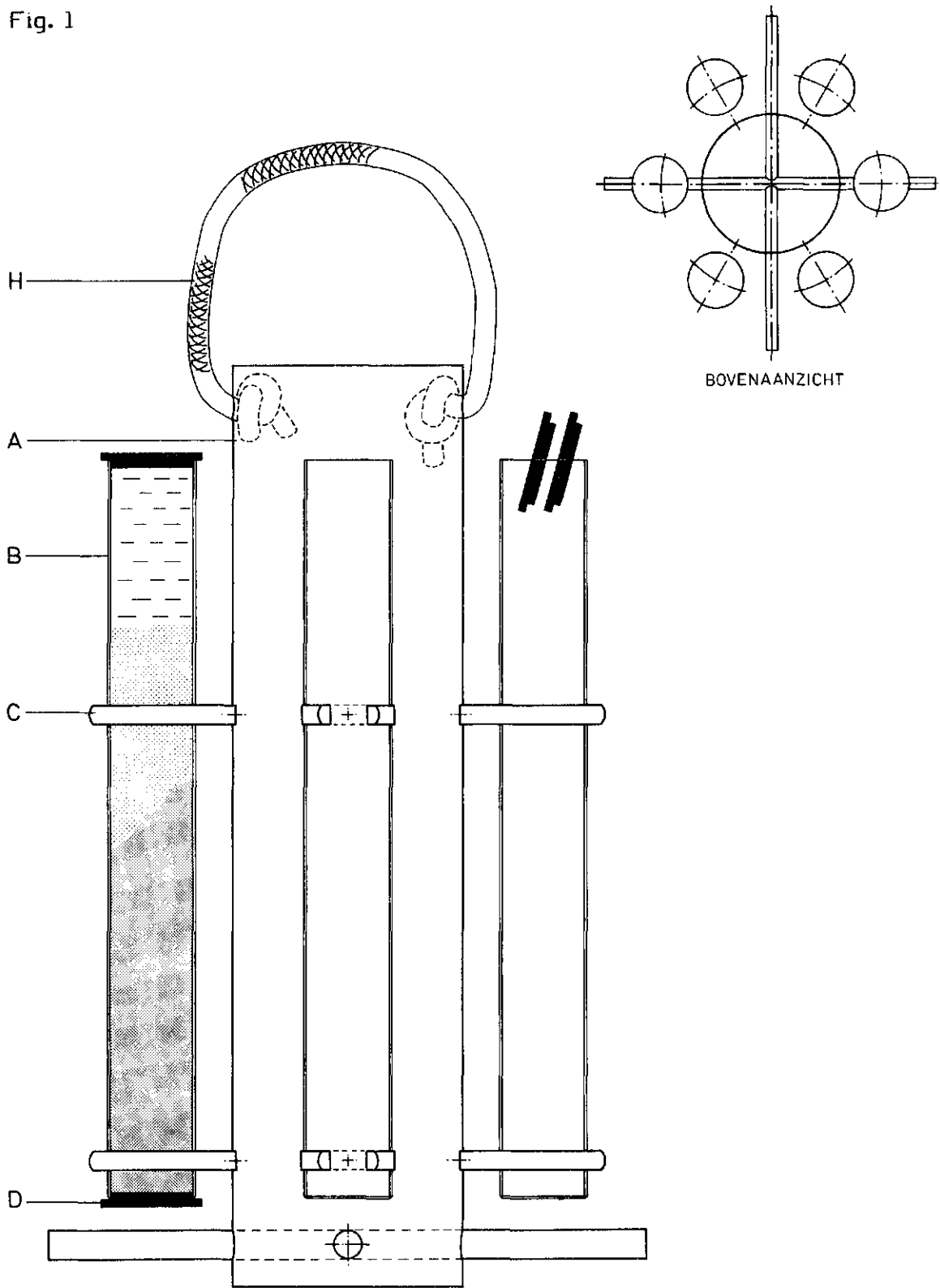


Fig. 2

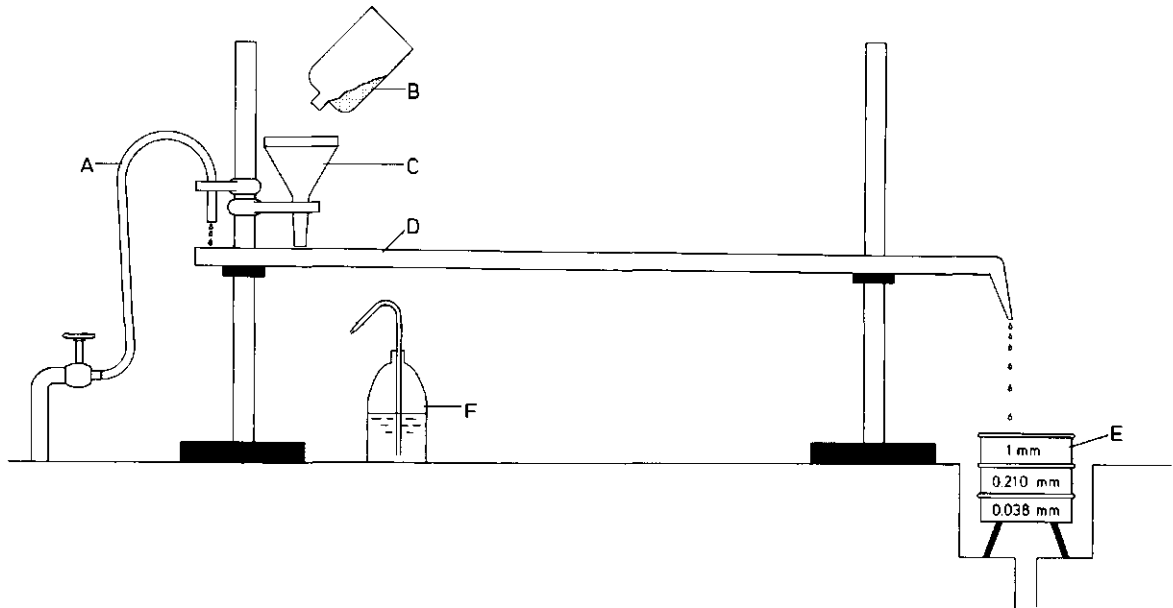


Fig. 3

