

INVLOED VAN HET HERBICIDE DICHLOBENIL OP DE
VOEDSELOPNAMEN VAN DAPHNIA MAGNA STRAUSS
BIJ VERSCHILLENDE VOEDSELCONCENTRATIES

DAPHNIA MAGNA ALS BIOINDICATOR

(februari - oktober 1982)

Machteld Rijkeboer

Vakgroep Aquatische Oecologie
Universiteit van Amsterdam
doctoraalonderwerp

Rijksinstituut voor
Natuurbeheer
Leersum
afd. Hydrobiologie
projectleider
dr. K. Kersting

1983

Overneming van gegevens is alleen
toegestaan na overleg met de projectleider

DE WATERVLO

DE WATERVLO HEEFT HAAR NAAM NIET MEE
ROOD, KLEIN EN HORTEND VOORTBEWEGEND
DOET ZIJ ONS TEVEEL AAN ONZE AARDSE
KWELGEESTJES DENKEN
ZONDER ENIGE WROEGING VOEREN WE HAAR
DAN OOK AAN GOUDVIS EN GUP
TOCH ZIJN ER NAUWELIJKS LEUKER DIER-
TJES DAN WATERVLOOIEN TE BEDENKEN

naar Het Beest
Midas Dekkers

In dit verslag komen een tweetal vraagstellingen aan de orde. Deel 1 handelt over de invloed van het herbicide dichlobenil op de voedselopname van *Daphnia magna*, gemeten bij verschillende voedselconcentraties. In zgn. kortdurende statische graasexperimenten wordt de filteringrate en Feedingrate van *Daphnia magna* bepaald met behulp van de Coulter Counter, volgens de methode Kersting & van der Leeuw. (1976). Als voedsel wordt de ééncellige alg *Chlorella vulgaris* gebruikt.

Van der Honing (1980) vond bij toenemende dichlobenil concentratie een sterke reductie van zowel de filteringrate als de Feedingrate. Bij een concentratie van 1 ppm. trad een halvering van de voedselopname op ten opzichte van de blanco bepaling. Hij veronderstelde een mogelijke verschuiving van het Incipient Limiting Level.

Voortbouwend op dit idee, zijn graasexperimenten uitgevoerd bij een relatief lage dichlobenil reeks. De geteste dichlobenil concentraties zijn resp. 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.7 en 1.3 ppm. Door allerlei storende factoren was het niet mogelijk om met behulp van de max. filteringrate en max. Feedingrate een eventuele verschuiving van het Incipient Limiting Level aan te tonen.

Wel is er een duidelijke tendens aanwezig van een steeds

sterkere remming van zowel filteringrate als Feedingrate onder invloed van toenemende dichlobenil concentratie. Voor de filteringrate werd een reductie van resp. 68 - 24 % bij de gebruikte dichlobenil concentratiereeks ten opzichte van de blanco bepalingen gevonden. Ook de Feedingrate vertoonde een sterke reductie.

In deel 2 wordt het mogelijke gebruik van *Daphnia magna* als bio-indicator voor het aantonen van vervuilingen in het oppervlaktewater uitgewerkt. Een testopzet wordt beschreven waarbij de voedselopname als parameter voor bioindicatie gebruikt wordt. Aan de hand van enkele graasexperimenten wordt dit idee in het kort uitgewerkt.

De voedselopname is bepaald in gefiltreerd "vervuild" buitenwater en wordt vergeleken met de voedselopname in *Daphnia* kweekmedium. Hieruit bleek dat met name de filteringrate een goede indicatie kan zijn voor de kwaliteit van het buitenwater.

Opvallend is de goede reproduceerbaarheid van de filteringrate gevonden binnen één type testwater. Het verdient dan ook aanbeveling om een algemeen geldende kortdurende test te ontwikkelen waarbij de filteringrate als parameter voor de kwaliteit van het oppervlaktewater gebruikt wordt.

Met dank aan Kees Kersting, Ben Flik, Joop Ringelberg, Koen Royackers, Elze de Ruyter en anderen die mij geholpen hebben.

INHOUD

1.	Inleiding	-1-
1.1	Algemeen	-1-
1.2	Dichlobenil	-4-
1.3	Daphnia magna Strauss	-6-
1.4	Vraagstelling	-13-
2.	Materiaal en Methode	-15-
2.1	Daphnia magna kweek	-15-
2.2	Chlorella culture	-16-
2.3	Graasexperiment	-16-
2.4	Bepaling drooggewicht	-18-
2.5	Dichlobenil bepaling	-19-
2.6	Coulter Counter / Coulter Channelyzer	-19-
2.7	Matrix experiment	-21-
2.8	Inhibitie Chlorella cultuur	-22-
3.	Resultaten en Discussie	-24-
3.1	Drooggewicht Daphnia's	-24-
3.2	Dichlobenil bepaling	-26-
3.3	Spreading tussen Coulter Counter tellingen	-27-
3.4	Matrix experiment	-28-
3.5	Inhibitie Chlorella cultuur	-51-
4.	Literatuur	-55-
5.	Appendix	-A1-
	- Samenstelling Chlorella kweekmedium	-A1-
	- Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate en gecorrigeerde Feedingrate, verkregen uit matrix experimenten 3 t/m 23	-A2-
	- Concentratie Chlorella vulgaris op tijdstip T_0 en T_4 , behorend bij experiment 2 t/m 23	-A13-

INHOUD DEEL 2

1.	Inleiding	-1-
1.1	Algemeen	-1-
1.2	Polder Stedelijk	-2-
2.	Materiaal en Methode	-5-
2.1	Daphnia magna kweek	-5-
2.2	Chlorella culture	-5-
2.3	Graasexperimenten	-5-
2.4	Bepaling drooggewicht	-5-
2.5	Bepaling dichlobenil	-5-
2.6	Coulter Counter / Coulter Channelyzer	-6-
2.7	Graasexperimenten als bioindicatie	-6-
3.	Resultaten en Discussie	-10-
3.1	Drooggewicht Daphnia's	-10-
3.2	Dichlobenil bepaling	-11-
3.3	Chemische analyses	-12-
3.4	Graasexperimenten als bioindicatie	-14-
4.	Literatuur	-25-
5.	Appendix	- 26-

1. INLEIDING

1.1 Algemeen.

Nederland bezit vele watergangen, zoals sloten, kanalen en brede greppels. Deze veelal speciaal gegraven watergangen hebben een functie bij het watertransport en de grondwaterpeil beheersing ten behoeve van de landbouw.

Bij neerslag overschotten moet waterafvoer verzekerd zijn en de grondwaterstand moet voldoende laag gehouden kunnen worden.

Een vereiste om dit watertransport ongestoord te laten verlopen, is het openhouden van deze wateren. Dit heeft tot gevolg dat zij verplicht één- of tweemaal per jaar "geschoond" worden. Wordt dit nagelaten, dan zullen deze wateren binnen enkele jaren dichtgroeien.

Dit "schonen" kan op vele manieren gebeuren;

- handkracht: Deze wijze wordt tegenwoordig niet veel meer toegepast. Vanwege de grote arbeidsintensiviteit wordt dit economisch niet haalbaar geacht.
- mechanisch: M.b.v. grote machines met grijparm of bak wordt de slootvegetatie verwijderd en/of worden de watergangen uitgebaggerd. Deze methode wordt op grote schaal toegepast, maar brengt ook aanzienlijke kosten met zich mee.
- biologisch: We kunnen hierbij denken aan het uitzetten van de graskarper. Deze manier van "schonen" bevindt zich nog in een experimentele fase en wordt nog niet op grote schaal toegepast.
- chemisch: Deze manier berust op het gebruik van herbicides. Dit wordt als relatief goedkoop beschouwd. Het is op grote schaal te gebruiken, waarbij een eventuele selectieve bestrijding mogelijk is. Toch kleven aan deze methode vele bezwaren, waarop ik in het kort wil ingaan.

Bezwaren van herbicide gebruik:

De effecten die optreden zijn uiteraard afhankelijk van het gebruikte herbicide, het behandelingsniveau en de frequentie van behandeling.

De effecten zijn onder te verdelen in:

Acute effecten: Dit zijn effecten die op korte termijn reeds optreden.

- reductie van O_2 door afbraak van plantenmateriaal en samenhangend hiermee een verhoging van CO_2 en van de bacterie populatie.
- een verhoogde CO_2 concentratie induceert een verlaging van de zuurgraad.
- verandering van nutrientsamenstelling, waardoor algenbloei en een versnelde groei van niet voor het herbicide ontvankelijke macrofyten op kan treden.
- habitat verandering of zelfs destructie, waardoor voedsel en schuilplaatsen voor de fauna verloren gaan.

Chronische effecten: Hieronder verstaan we effecten die op de langere termijn van belang zijn. Afhankelijk van de mate van habitat destructie en persistentie van het herbicide zal er een onderdrukking van de oorspronkelijke plantengroei plaatsvinden. De oorspronkelijke fauna kan als gevolg hiervan verdwijnen en de gehele voedselketen zal hierdoor drastisch ontregeld worden.

Naast deze indirecte effecten is er ook sprake van directe effecten. Hieronder verstaan we allerlei toxische effecten t.a.z. van aquatische organismen, veroorzaakt door het herbicide gebruik. Ook deze effecten zijn onder te verdelen in zgn. acute en chronische effecten.

Bij acute effecten kunnen we denken aan o.a. directe mortaliteit en verminderde reproductie.

Afhankelijk van de bestendigheid in het water en absorptie aan bodem en andere materialen kunnen echter vele chronische, sublethale effecten optreden, zoals blijvend verminderde reproductie, gestoord gedrag, verminderde voedselopname. Hierdoor kunnen bepaalde soorten uit het milieu verdwijnen.

Door het wegvallen van soorten en door accumulatie van de herbiciden of hun derivaten in organismen kan de voedselketen volledig ontregeld worden. De ecologie van de watergangen zal hierdoor ernstig verstoord raken.

Bij het toelatingsbeleid van herbicides wordt in de regel gebruik gemaakt van experimenten gebaseerd op de directe toxiciteit. Hierbij staan experimenten m.b.t. reproductie en LC_{50} -bepalingen centraal.

$LC_{50,t}$ (zgn. "lethale" concentratie); dit is de concentratie, waarbij 50 % van de testorganismen binnen een bepaalde tijd t doodgaan. Een voordeel van LC_{50} -bepalingen is dat het snel en makkelijk te constateren is.

Een bezwaar is dat chronische effecten niet zichtbaar worden. We kunnen ons voorstellen dat zelfs een éénmalig herbicide gebruik voor de organismen een chronische stress opleverd, doordat het herbicide of z'n metaboliëten langzaam vrijkomt. Het is dan ook zeer de vraag in hoeverre LC_{50} -bepalingen een ecologische waarde hebben.

Veel gebruikte herbicides tegen aquatische vegetatie zijn Chloorthiamide, Dichlobenil, Diquat, Paraquat, Terbutryne.

De laatste tijd worden aan de watergangen bijkomende functies toebedacht, zoals omschreven wordt in het IMP. (Indicatief Meerjarenplan van het Ministerie van Verkeer en Waterstaat '75) De watergangen behoren niet alleen een functie te vervullen ten behoeve van de landbouw (watertransport), maar worden ook in toenemende mate van belang voor eventuele drinkwatervoorziening. Tevens krijgen ze een landschaps en natuurwaarde. Het accent behoort dan ook gelegd te worden op het instandhouden en eventueel terugwinnen van het natuurlijk ecosysteem. Mn. sublethale effecten geïnduceerd door het herbicide gebruik worden dan van groot belang.

Onderzoekers als Cope ('69), van Valin ('69), Tooby ('72), Schober & Lampert ('77) Canton & Adema ('78) hebben zich bezig gehouden met deze sublethale effecten veroorzaakt door herbicides.

Hierbij stonden parameters als enzymactiviteit, bloed & urine-samenstelling, weefselbeschadiging en orgaangewicht, groei en reproductie centraal.

Een andere belangrijke parameter is de voedselopname, zoals

deze door o.a. Kees Kersting gehanteerd wordt. De voedselopname geeft de gesteldheid van het individu weer. Dit is van grote invloed op de groei en reproductie. Deze factor is zeer belangrijk voor de mate waarin een populatie zich ten opzichte van andere populaties kan handhaven. Hierin zien we een duidelijke ecologische factor, die van grote betekenis is voor het natuurlijk ecosysteem.

1.2 Dichlobenil.

Koopmans & Daans (1960) hebben Dichlobenil voor het eerst beschreven. Dichlobenil (2,6-dichloorbenzonitril) wordt door Philips-Duphar B.V. onder de merknaam Casoron op de markt gebracht.

Het werkt in het aquatische milieu in op vrijwel alle macrofyten, het is dus een zgn. totaal herbicide. Dichlobenil wordt door de wortels opgenomen en heeft een remmende werking op delend plantenweefsel. Het werkt mn. kiemingsremmend, doodt jonge zaailingen en kiemende spruiten van o.a. rhizomen. (Verloop 1972, Newbold 1975). Volgroeide planten worden pas beschadigd bij tamelijk hoge dosering. Algen en enkele drijvende waterplanten worden niet aangetast. Vaak treedt na een Dichlobenil behandeling algenbloei op. (Cope et al. 1969)

Dichlobenil kan in twee vormen in het aquatische milieu gebracht worden;

- als wettable powder. (Casoron 133W).
- in granulaire vorm (Casoron G). Deze vorm is speciaal ontworpen om de stof langzaam in oplossing te laten gaan, zodat de werkingstijd aanzienlijk verlengd wordt.

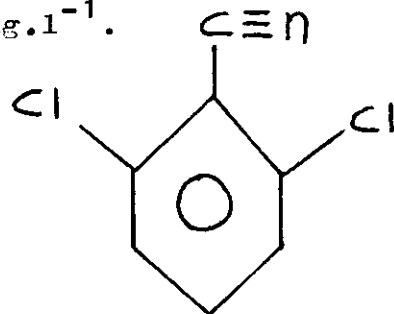
De dosering hangt af van het doel waarvoor het gebruikt wordt. Tegen waterplanten wordt 6 - 12 kg. actieve stof per ha wateroppervlak toegevoegd. Bij een waterdiepte van 1 m. en 10 kg.ha⁻¹ komt dit neer op een concentratie van 1 mg.l⁻¹ (Verloop 1972). De maximale toegestane doses bedraagt 3 mg.l⁻¹.

Structuurformule

Molecuulgewicht: 172

Smeltpunt: 145 - 146 °C

Kookpunt: 270 C bij 1.013 bar.



De oplosbaarheid in water is vrij slecht, 18 mg.l^{-1} bij 20°C (Verloop 1972). De verdamping is vrij groot. (dampdruk bij 20°C is $5.5 \cdot 10^{-4} \text{ mm Hg}$).

De stof vertoont absorptie aan o.a. lignine, humus en lipiden. Eveneens treedt adsorptie op aan bodem- en modderdeeltjes, waar het lange tijd (zo'n 6 mnd.) kan blijven. (Frank & Comes 1967). Terwijl de afbraak in water ca. 2 à 3 mnd. bedraagt.

Van Busshbach & Elings (European Weed Research Council:2 1967). noemen voor de nederlandse situatie een verblijftijd aan bodemdeeltjes van 3 mnd. Het verschil met Frank & Comes wordt mogelijk veroorzaakt door verschillen in bodem en klimaat.

Micro-organismen in de bodem kunnen Dichlobenil omzetten tot BAM (2,6-dichloorbenzamide). Toch is lange tijd na toediening de stof nog in het water aan te tonen.

Dichlobenil is thermisch zeer stabiel, zelfs in minerale zuren blijft de stof stabiel. Fotochemische reacties treden niet op. In een basis-waterige oplossing wordt BAM gevormd, dit is een erg stabiele stof.

Een andere belangrijke eigenschap van Dichlobenil is de sterke affiniteit voor Polytheen, PVC-rubber en Pararubber, zowel vanuit de waterige oplossing als vanuit de dampfase. (Verloop 1972). Bij het doen van experimenten met Dichlobenil, dient hiermee rekening gehouden te worden.

De acute toxiciteit lijkt voor bepaalde organismen erg mee te vallen. Voor de meeste evertibraten heeft Dichlobenil een lage acute toxiciteit. Voor vissen wordt soms wel een hoge acute toxiciteit gevonden, vaak samenhangend met ophoping in weefsels. (Cope 1969).

Ook treedt beschadiging van weefsels o.a. van kieuwen op. (Wiersma-Roem 1978). Beynon & Wright (1972) vonden dat de toxiciteit voor warmbloedige dieren erg laag is en er treedt geen accumulatie op. Dichlobenil wordt vrij snel via faeces en urine weer uitgescheiden.

1.3 *Daphnia magna* Strauss.

De soort *Daphnia magna* is taxonomisch als volgt in te delen:

Phylum	Arthropoda
Klasse	Crustacea
Subklasse	Branchipoda
Orde	Cladocera
Subfamilie	Daphnoidea
familie	Daphnidae

Gulatti (1978) noemt deze groep één van de belangrijkste in het waterige milieu. Ze zijn wijd verspreid aanwezig. Van het genus *Daphnia* komen 30 soorten in de wereld voor, waarvan 5 verschillende in Nederland. In vrijwel ieder water, variërend van kleine sloten tot meren, is de familie Daphnidae vertegenwoordigd.

Biologie:

Een afbeelding van een vrouwelijke *Daphnia magna* (Green 1957) is te zien in fig 1.

Een populatie *Daphnia*'s bestaat voor het grootste deel van de tijd uit vrouwelijke exemplaren. Ze kunnen max. 5 à 6 mm. groot worden. *Daphnia magna* is de grootste van de in Nederland voorkomende soorten. De mannetjes zijn altijd kleiner en komen slechts in bepaalde perioden van het jaar voor. Het dier is omgeven door een harde, chitineuse carapax, die haar als twee kleppen omgeeft. Aan de ventrale zijde is de carapax open. De carapax kan niet met het dier meegroeien, zodat *Daphnia*'s gedurende hun leven diverse vervellingen doormaken.

Het juveniele stadium bedraagt 4 à 6 instars, dit zijn perioden tussen twee vervellingen. Hierna is het dier volwassen. Gedurende het adulte, sexuele levensstadium maken ze nog eens ca. 25 vervellingen door.

De omgevingstemperatuur is een belangrijke factor voor de levensverwachting van *Daphnia*'s.

Anderson (1942) vond;	8°C	108 dg.
	18°C	45 dg.
	28°C	29 dg.

Ringelberg (1970) vermeldt een max. levensverwachting bij 10°C.

Aan de dorsale zijde van het lichaam hebben de vrouwtjes een soort broedbuis. Hierin worden de eieren gedeponeerd, die na een periode van 2 à 4 dagen zich ontwikkeld hebben tot zelfstandig levende juvenielen. Op een leeftijd van ca. 10 à 14 dagen zijn de vrouwtjes sexueel volwassen. De reproductie beperkt zich hoofdzakelijk tot de productie van vrouwe-

lijke exemplaren via diploïde parthenogenese. De populatie is dan ook opgebouwd uit genetisch constante individuen. Pas als de milieuomstandigheden verslechteren worden er mannetjes geboren. Daarnaast krijgen de vrouwtjes een twaantal eieren, die bevrucht moeten worden. Deze zgn. winter-eieren, omgeven door een zwart ephipium, komen pas tot ontwikkeling als de milieuomstandigheden weer gunstig worden. Zij vormen zodoende de basis voor nieuwe generaties vrouwelijke individuen.

Voedselopname:

Daphnia's zijn filter feeders. De voedselopname gaat als volgt: Door de thoracale aanhangsels wordt water in de kamer tussen de beide carapax helften gepompt. Met behulp van de filter-setae wordt het voedsel verzameld en naar de voedselgroeve gebracht. De maxille en mandibels transporteren het voedsel naar de orale holte, alwaar de voedselpakketjes via peristaltische bewegingen van de oesophagus ingeslikt worden. Binnen 30 minuten doorloopt het voedsel de darm en de restan-

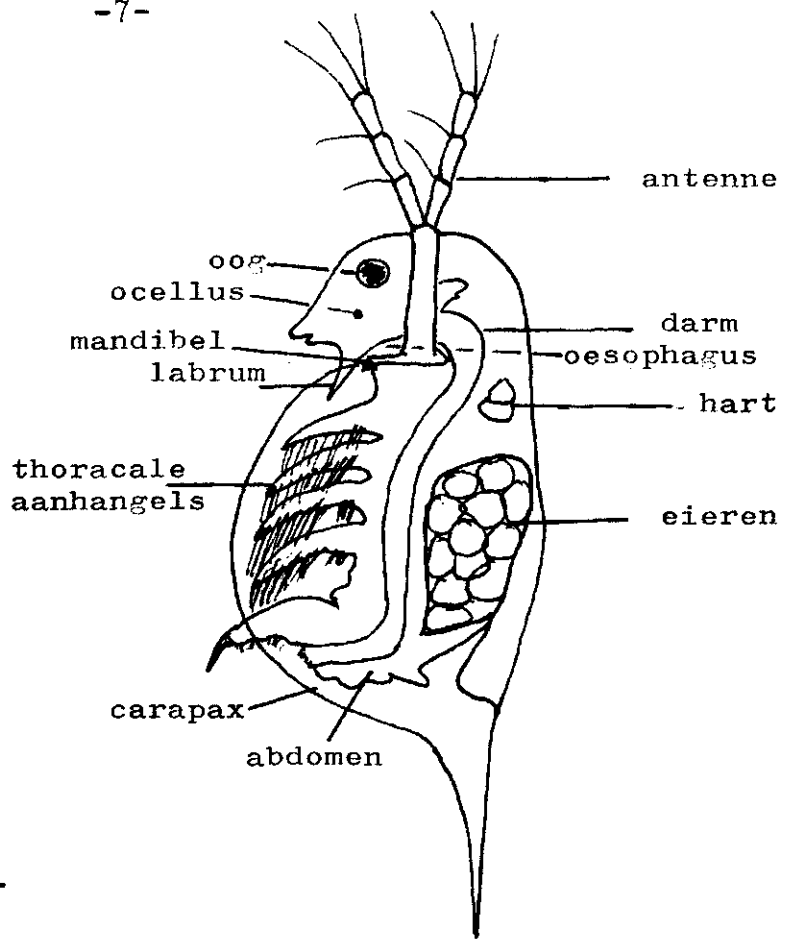


fig. 1 Daphnia magna

ten worden uitgescheiden. De vertering is niet volledig, zodat de uitgescheiden deeltjes opnieuw opgenomen kunnen worden.

Aan de voedselopname van Daphnia's is veel onderzoek gedaan. Factoren als voedselconcentratie, temp, lichaamsgewicht/grootte, toxische stoffen oefenen invloed uit op de hoeveelheid voedsel die door een Daphnia gegeten wordt.

Rijther toonde al in 1954 aan dat de voedselopname proportioneel toeneemt bij een stijgende voedselconcentratie, tot een bepaalde grenswaarde. Boven deze grenswaarde werd de stijging minder. Hij voerde zijn Daphnia's met Chlorella vulgaris en hij wist deze afgenomen stijging aan de stof Chlorelline. Een stof die aanwezig is in de Chlorella suspensie. De grenswaarde lag op $2 \cdot 10^5$ cellen. ml^{-1} .

Rigler (1961) constateerde in ^{32}P -experimenten met Daphnia magna en Saccharomyces cerevisacea dat de voedselopname beperkt kon worden door o.a.

- minder water langs de filterapparaat te pompen.
- niet continue pompen.
- voedsel uit voedselgroeve te stoten.

Dit wordt onderbouwd door visuele waarnemingsexperimenten van Mc. Mahon & Rigler (1963, 1965). Zij zagen dat enerzijds de filtersnelheid gereduceerd werd door een afname in de beweging van de thoracale aanhangsels en anderzijds door het uitstoten van voedsel uit de voedselgroeve.

Het werkingsmechanisme volgens Mc. Mahon & Rigler komt neer op het volgende:

Bij toenemende voedselconcentratie;

- de beweging van de thoracale aanhangsels is maximaal, de filtersnelheid is maximaal.
- de mandibelbeweging wordt steeds groter.
- de slikfrequentie wordt groter.
- de grootte van het door te slikken voedselpakket neemt toe.

Dit resulteert in een toename van de voedselopname.

Bij voedselconcentratie boven een bepaalde grensconcentratie;
- de slikfrequentie en de grootte van het voedselpakket zijn maximaal.

- de beweging van de thoracale aanhangsels wordt minder.

- voedsel wordt uit de voedselgroeve gestoten.

Dus kort gezegd: Het aanwezige voedsel is eerst beperkt. Dit resulteert in een maximale beweging van de thoracale aanhangsels, om zoveel mogelijk voedsel binnen te krijgen. Bij deze voedselconcentraties treedt nooit ophoping van voedsel in de voedselgroeve op.

Bij hogere voedselconcentraties ontstaat een overschot aan voedsel. Het resultaat hiervan is een uitstoten van voedsel en langzamer filtreren.

Aan de hand van experimenten, waarbij hongerige Daphnia's geobserveerd werden, is het idee gegroeid dat de filtersnelheid afneemt als reactie op de mate van gevuldheid van de darm. De stof Chlorelline speelt hierbij geen rol.

Kersting & van der Leeuw (1976) vonden overéénkomstige verschijnselen en formuleerden deze als volgt:

Tot een bepaalde grenswaarde, het Incipient Limiting Level (ILL) neemt de Feedingrate proportioneel toe bij toenemende voedselconcentratie.

De Feedingrate (F) is het totaalvolume aan voedsel dat per tijdseenheid door een Daphnia gegeten wordt.

Boven de kritieke voedselconcentratie wordt de Feedingrate onafhankelijk van de voedselconcentratie en bereikt een maximale waarde. Een andere term, die hierbij gebruikt wordt, is de filteringrate (f). Dit is het volume water met het daarin aanwezige voedsel dat in een bepaalde tijdseenheid door een Daphnia gefiltreerd wordt. Volgens onderstaande formule zijn beide termen aan elkaar gerelateerd.

$$F = f \times \text{voedselconcentratie}$$

De filteringrate is constant beneden het Incipient Limiting Level en neemt af bij voedselconcentraties boven deze grenswaarde.

Kersting & van der Leeuw vonden mbv. de Coulter Counter techniek een Incipient Limiting Level van $2.9 \times 10^6 \mu^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ (bij 18°C).

Mc. Mahon & Rigler (1965) vermelden dat de filter efficiency bij *Daphnia magna* onafhankelijk is van de grootte van de voedseldeeltjes, gemeten tussen $0.9 - 1.8 \times 10^4 \mu^3$. De voedselopname wordt waarschijnlijk niet bepaald door de grootte, maar door de verteerbaarheid van de deeltjes.

Uit onderzoek van Kersting & Holterman (1973) bleek dat geen selectiviteit optrad t.a.z. van de opname van *Chlorella* deeltjes $> 15 \mu^3$ door *Daphnia magna*. Over de al dan niet selectieve opname van *Chlorella* deeltjes $< 15 \mu^3$ is moeilijk uitspraken te doen, omdat deze na uitscheiding weer opgenomen kunnen worden.

Lampert (1974) vond geen selectiviteit in opname tussen algen en bacteriën bij *Daphnia pulex*.

Ook andere factoren dan voedselconcentratie hebben invloed op de voedselopname.

Zo is gevonden dat bij toenemende lichaamsgrootte/gewicht zowel de filteringrate als de Feedingrate toenemen. Ook het Incipient Limiting Level wordt groter. De filteringrate is via een kwadraatfunctie gecorreleerd met de lichaamsgrootte. (Mc. Mahon 1965, Burns 1969).

Ook heeft de omgevingstemperatuur invloed. Bij toenemende temperatuur worden de maximale filteringrate en Feedingrate hoger. Mc. Mahon (1965) vond een optimumtemperatuur van 24°C . Een maximale filteringrate voor *Diaptomus* en *Daphnia longispina* werd verkregen bij $16 - 18^\circ\text{C}$. (Nauwerck 1959). Hij vermeldt zelfs een zekere seizoensinvloed voor *Daphnia longispina*. In de maanden mei - augustus trad een hogere maximale filteringrate op, samenhangend met de hogere temperatuur, het lichtregiem en het reproductie stadium.

Al stelt Schindler (1968) dat het reproductie stadium geen invloed heeft op de voedselopname.

Een andere factor van belang voor de voedselopname is de invloed van toxische stoffen. Onder invloed van allerlei "toxische" stoffen worden de filteringrate en de Feedingrate gereduceerd. Moraitou-Apostolopoulou (1979) vond o.i.v. toenemende concentratie Koper een afname in de voedselopname van *Acartia clausi*. Tegerlijkertijd trad een verhoging van de respi-

ratie op. Ook bij de planktonische copepoden *Euphausia spec.* en *Pleurobranchia spec.* resulteerde een toenemende koper concentratie in een afname van de Feedingrate. (Reeve et al. 1977). Zowel gebonden als vrije Chloride veroorzaakte een reductie van de filteringrate. (Capuzzo 1979).

Kees Kersting en Henk van der Honing (1981) zagen o.i.v. het herbicide Dichlobenil een sterke reductie van de filteringrate optreden. Ook de Feedingrate vertoonde een afname. Het Incipient Limiting Level leek te verschuiven.

Een soortgelijk idee werd geopperd door Mc. Mahon & Rigler (1965). Onder invloed van verouderde *Chlorella vulgaris* cellen veranderen de filteringrate en Feedingrate zodanig dat het Incipient Limiting Level verschuift.

Niet alleen zuivere stoffen veroorzaken een afname in de voedselopname. Ook combinaties van stoffen, bijmiddelen (o.a. toegevoegd aan herbicides) en afbraakproducten van de zuivere stoffen vertonen soortgelijke effecten.

Pott (1982) onderzocht o.a. de invloed van het herbicide Tributon op de voedselopname. Deze stof is opgebouwd uit twee herbicides; 2,4.D en 2,4,5.T. Afzonderlijk hebben beide stoffen geen effect, maar tesamen in de stof Tributon is het effect erg sterk. Niet duidelijk is of dit te wijten is aan de combinatie van beide stoffen dan wel aan een bijproduct dat in Tributon aanwezig is.

De Wit & van Genderen (1966) onderstrepen de mogelijkheid dat niet het herbicide Dichlobenil, maar z'n derivaten verantwoordelijk zijn voor de verandering in voedselopname. Zij toonden aan dat bij omzetting van Dichlobenil in de derivaten 3-hydroxy 2,6 dichlorobenzonitril en 4-hydroxy 2,6 dichlorobenzonitril de oxydatieve fosforilering ontkoppeld wordt.

In het proces van gekoppelde oxydatieve fosforilering is de ademhalingsketen gekoppeld aan de ATP-vorming. Dit heeft tot gevolg dat de voedselomzetting uiterst efficiënt en dus energetisch gunstig verloopt. Bij ontkoppeling van dit proces wordt de voedselomzetting energetisch negatief beïnvloed.

Dit resulteert in een grotere energie behoefte en een stijging van de zuurstofconsumptie.

Stel dat Daphnia's beschikken over de hydroxyleringsenzymen, nodig voor de omzetting van Dichlobenil in de betreffende derivaten. We kunnen ons dan voorstellen dat onder invloed van Dichlobenil de oxydatieve fosforilering ontkoppeld wordt. Ook andere onderzoekers hebben ideeën in deze richting.

Borgman (1976) stelt voor het electronen transportsysteem te gebruiken als parameter voor het meten van de invloed van toxische stoffen. Een en ander in relatie tot een verhoogde zuurstofconsumptie.

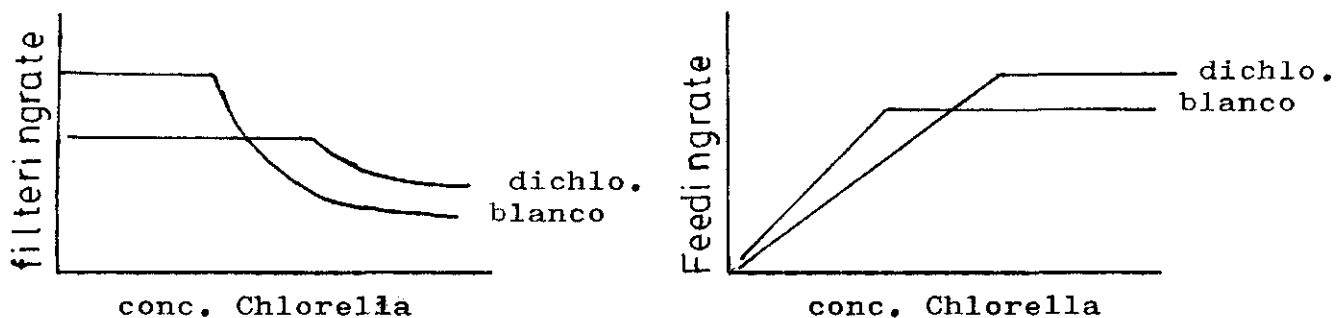
Ook Moraitou-Apostolopoulou (1979) vond een stijging in de zuurstofconsumptie bij toevoeging van Koper aan *Acartia clausi*.

mechanisme voedselopname bij D.magna en de invloed hierop van Dichlobenil volgens Kees Kersting en Henk van de Honing:

Bij lage voedselconcentraties zullen de Daphnia's maximaal filtreren om zo veel mogelijk voedsel binnen te krijgen. Bij overmaat aan voedsel daalt de filtratie snelheid, de filteringrate is als het ware submaximaal. De voedselopname wordt gereguleerd door een ander mechanisme o.a. de slikfrequentie. Zou de filteringrate bij hoge voedselconcentraties maximaal zijn, dan hoopt voedsel zich op in de voedselgroeve en wordt uitgestoten. Dit is een verspilling van energie en zal dien-tengevolge achterwege blijven.

Bij ontkoppeling van de oxydatieve fosforilering wordt de voedsel behoefte groter als gevolg van de gestegen energie behoefte. De Daphnia's zullen hierop reageren door een toename van de filteringrate, binnen de range die nog over is. De filteringrate zal dus bij hoge voedselconcentraties langer op z'n maximale waarde blijven. Echter doordat er minder energie vrijkomt per hoeveelheid opgenomen voedsel, zal deze maximale filteringrate wel kleiner zijn dan de maximale filteringrate bij gekoppelde oxydatieve fosforilering.

Schematisch levert dit onderstaand beeld:



De maximale filteringrate zal sneller afnemen dan de maximale Feedingrate bij toenemende Dichlobenil concentratie. Het gevolg hiervan zou het verschuiven van het Incipient Limiting Level kunnen zijn. (Henk van der Honing 1980).

Uiteraard is dit zgn. compensatie proces mogelijk tot een bepaald niveau. De range waarbinnen de filteringrate nog toe kan nemen (bij hoge voedselconcentraties) is beperkt. Deze zal steeds minder worden naarmate er minder energie per opgenomen voedselhoeveelheid beschikbaar komt.

Uiteindelijk zal bij zeer hoge Dichlobenil concentraties de voedselopname onvoldoende worden om in de minimale onderhouds-energie te voorzien. Dan zullen lethale effecten van het toegevoegde herbicide zichtbaar worden.

1.4 Vraagstelling.

Aan de basis van dit eerste deel van mijn onderzoek staat het onderzoek van Henk van der Honing. Hij werkte met een statische testopstelling. In 100 ml. erlemeyers bepaalde hij de voedselopname van *Daphnia magna* (gedurende 4 uur) o.i.v. diverse Dichlobenil concentraties.

De Dichlobenil concentraties waren ca. 0.1 , 0.25 , 0.5 , 1.0 , 2.0 en 4.0 mg.l^{-1} . Hij vond bij toenemende concentraties een duidelijke daling in de voedselopname t.o.v. de voedselopname zonder Dichlobenil toevoeging.

Dit zowel voor een Chlorella concentratie onder als boven het Incipient Limiting Level. Bij een Dichlobenil concentratie van 1 mg.l^{-1} trad een halvering van de voedselopname op t.o.v. de blanco bepaling.

Een concentratie van 1 mg.l^{-1} is een concentratie die gebruikt

wordt bij de bestrijding van waterplanten. Bij een concentratie hoger dan 1 mg.l^{-1} trad een nog snellere reductie op.

Henk van der Honing opperde de mogelijkheid dat wellicht het Incipient Limiting Level onder invloed van Dichlobenil toevoeging hoger wordt. Vooral bij relatief lage concentraties wezen zijn resultaten in die richting.

Voortvloeiend uit dit onderzoek ben ik met Kees Kersting tot de volgende vraagstelling gekomen.

- Wat is de invloed van het herbicide Dichlobenil op de voedselopname van *Daphnia magna* bij verschillende voedselconcentraties, waarbij gekozen is voor een relatief lage concentratie reeks mbt. Dichlobenil.

2. MATERIAAL EN METHODE

2.1 *Daphnia magna* kweek.

Het kweken van de watervlooien die in de diverse experimenten als testorganismen dienden, gebeurde op de volgende wijze:

Uitgaande van de *Daphnia* kweek van prof. Ringelberg, verbonden aan de vakgroep Aquatische Oecologie, heb ik ca. 40 adulte vrouwtjes in een 500 ml. bekerglas met kweekmedium geplaatst. Wekelijks werden op resp. maandag-, woensdag- en vrijdagmiddag de adulte vrouwtjes mbv. een zuigbuis overgeplaatst naar een ander bekerglas.

De juveniele dieren, geboren tussen vrijdag- en maandagmiddag, werden meestal niet opgekweekt. Juvenielen, geboren op de dinsdag/woensdag en de donderdag/vrijdag, werden opgekweekt tot het moment waarop ze een bepaalde leeftijd bereikten. De leeftijd, waarop de dieren in de diverse experimenten gebruikt werden, bedroeg meestal 19 à 22 dagen.

Bij gebrek aan voldoende dieren van de gewenste leeftijd, was het soms noodzakelijk om *Daphnia*'s met een enigszins afwijkende leeftijd te gebruiken. Volgens Adema (1978) treedt er geen verschil in gevoeligheid op mbt. leeftijd. Zij werkte echter met *Daphnia*'s variërend in leeftijd van 1 - 7 dagen.

Het medium waarin de *Daphnia*'s opgroeiden is een *Chlorella* kweekmedium, dat 1 : 1 met aquadest verdund werd. (Zie appendix voor samenstelling *Chlorella* kweekmedium).

De bekerglazen werden geplaatst in een waterbad, dat mbv. een kryomaat, op 18 °C gehouden werd. Deze temperatuur kwam overéén met de temperatuur waarbij de experimenten uitgevoerd werden.

Ringelberg (1973) vermeld 20 °C als goede kweektemperatuur. Kersting (1978) toont aan dat deze temperatuur iets te hoog is voor een optimale levensduur. Dit optimum ligt bij 10 °C. In ieder geval is het noodzakelijk de *Daphnia*'s te kweken, bij dezelfde temperatuur als de temperatuur die gebruikt wordt in de experimenten. Een temperatuur van 18 °C heeft dan praktische voordelen.

De *Daphnia*'s werden gekweekt bij daglicht, zodat ze onder invloed stonden van het op dat moment heersende dag- en nachtritme.

Als voer werd de ééncellige alg *Chlorella vulgaris* gebruikt.

2.2 *Chlorella* culture.

De *Chlorella vulgaris* werd gekweekt in een soort continue cultuur bij kamertemperatuur, in daglicht met daarnaast TL-verlichting, met een ritme van 12 uur licht/donker.

In eerste instantie werd deze cultuur gebruikt als voer in de *Daphnia* kweek en als voedselbron in de diverse experimenten. Op een later tijdstip werd als voedselbron in de experimenten gekozen voor een andere *Chlorella vulgaris* cultuur. Ook deze cultuur werd gekweekt in een continue cultuur echter met alleen zwak TL-licht, zodat deze culture meer donker geadapteerd was dan de eerste cultuur. (Steemann-Nielsen & Jørgensen 1968a, Rijkeboer 1981).

De reden hiervan wordt elders in dit verslag besproken.

2.3 Graasexperiment.

De graasexperimenten werden uitgevoerd in 100 ml. flesjes, de zgn. zuurstofflesjes met ingeslepen stop. Ieder flesje werd gevuld met 80 ml. *Daphnia* kweekmedium. Hieraan werd een bepaalde hoeveelheid *Chlorella* suspensie en Dichlobenil oplossing toegevoegd.

De *Chlorella* suspensie was afkomstig van de onder punt 2.2 beschreven cultuur. Hiervan werd van te voren steeds de concentratie bepaald met de Coulter Counter.

De Dichlobenil oplossing kwam uit een Stock oplossing.

Vervolgens werd mbv. een zuigbuis in ieder flesje een aantal *Daphnia*'s van de gewenste leeftijd gestopt. Hierbij werd er voor gezorgd, dat de watervlooien met zo weinig mogelijk vloeistof (3 - 7 ml.) overgebracht werden.

De flesjes werden in een grote bak water bij 18°C geplaatst onder TL-verlichting.

Naast de flesjes, waaraan watervlooien toegevoegd werden, werden 2 zgn. blanco flesjes gevuld.

Aan één blanco flesje werd Chlorella suspensie en Dichlobenil toegevoegd met een concentratie die overéén kwam met de hoogste concentratie uit dat betreffende experiment.

Aan het andere blanco flesje werd alleen Chlorella in de hoogste concentratie toegevoegd.

Het eigenlijke graasexperiment komt op het volgende neer:

Op $t = 0$ werd mbv. een finnpipet tweemaal 3 ml. vloeistof gepipeteerd voor de bepaling van de Chlorella concentratie. (mbv. Coulter Counter).

Na 4 uur werd wederom tweemaal 3 ml. vloeistof gepipeteerd om de eindconcentratie te bepalen. Tevens werd 2 ml. vloeistof uit de flesjes gepipeteerd tbv. de Dichlobenil bepaling.

Tussendoor en voor het monstereen werden alle flesjes enkele malen gekiept om het uitzakken van de Chlorella deeltjes tegen te gaan.

Na afloop van het experiment werd het drooggewicht van de Daphnia's bepaald. Ook werd af en toe gekeken of er sterfte of afwijkend gedrag optrad.

Uit het verloop van de Chlorella concentratie gedurende de 4-urige graasproeven zijn de filteringrate en de Feedingrate te berekenen.

Dit is te doen mbv. onderstaande formules:

Filteringrate (f):

Bij Chlorella concentraties op $t = 0 < \text{Incipient Limiting Level (ILL)}$ wordt formule 1a gebruikt. Bij Chlorella concentratie $> \text{ILL}$ gebruiken we formule 1b.

$$1a \quad f = V \cdot (\ln c_0^{15} - \ln c_t^{15}) \cdot t^{-1}$$

$$1b \quad f = 2V \cdot t^{-1} \cdot (c_0^{15} - c_t^{15}) / (c_0^{15} + c_t^{15})$$

V = volume medium; hoeveelheid vloeistof per flesje, waar de op $t = 0$ opgepipeteerde hoeveelheid vanaf getrokken is.

c_0^{15} = concentratie Chlorella deeltjes $> 15 \mu^3$ op $t = 0$

c_t^{15} = concentratie Chlorella deeltjes $> 15 \mu^3$ op t

t = graastijd (in hr.)

Feedingrate (F):

$$F = f \cdot \frac{1}{2} (C_0 + C_t)$$

C_0 = Chlorella concentratie op tijdstip 0

C_t = Chlorella concentratie op tijdstip t

Blanco correctie:

Voor eventuele groei dan wel afname van de Chlorella concentratie in de blanco flesjes werd de filteringrate gecorrigeerd. Uit beide blanco bepalingen werd een gemiddelde "filteringrate" berekend. Al naar gelang deze een negatieve (groei) dan wel positieve waarde opleverde, werd hij bij de filteringrate opgeteld of ervan af getrokken.

Voorbeeld; bij groei: $f + \text{gem. } f_{\text{blanco}} = f_{\text{gecorrigeerd}} (f_{\text{cor.}})$

Hierdoor wordt $F_{\text{cor.}} = f_{\text{cor.}} \cdot \frac{1}{2} (C_0 + C_t)$

2.4 Bepaling drooggewicht.

Verschillende onderzoekers, waaronder Mc. Mahon & Rigler (1965) vermelden dat bij toenemende lichaamsgrootte/gewicht, zowel de filteringrate als de Feedingrate toenemen.

Daarom is na afloop van ieder experiment het drooggewicht van de Daphnia's bepaald.

Dit gebeurde op de volgende wijze:

Na afloop van de graasexperimenten werden de Daphnia's afgezogen op een voorgewogen 8 μ Sartorius membraanfilter.

Door de Daphnia's met zo weinig mogelijk vloeistof over te brengen in de afzuiginstallatie, werd er voor gezorgd dat er heel weinig Chlorella deeltjes mee werden afgezogen. De bijdrage van de Chlorella deeltjes is dan ook te verwaarlozen t.o.v. het Daphnia gewicht.

De filters met Daphnia's werden 24 uur in een droogstoof bij 60 °C weggezet. Alvorens de filters met Daphnia's te wegen, werden ze gedurende een uur in een exciccator geplaatst. Het wegen werd uitgevoerd op een Sartorius 2474 balans. (tot 0.01 mg)

2.5 Dichlobenil bepaling.

Na afloop van elk experiment werd in alle flesjes, waaraan Dichlobenil was toegevoegd, de concentratie van Dichlobenil bepaald.

Dit gebeurde op de volgende manier:

Uit de betreffende oplossing werd mbv. een finnpipet 2 ml. gepipeteerd in een 10 ml. schudcilinder met ingeslepen stop. Via een dispensette werd hieraan resp. 2 ml. 4 % Na_2SO_4 en 2 ml. extra gedestilleerde Petroleumether toegevoegd. Vervolgens werd de schudcilinder gedurende 2 minuten krachtig met de hand geschud.

Na scheiding van de lagen, werd de bovenliggende organische laag (bestaande uit Petroleumether met het erin opgeloste Dichlobenil) voorzichtig opgezogen met een pasteurpipet en overgebracht in een speciaal daarvoor bestemd buisje.

Deze monsterbuisjes werden voor verdere verwerking naar het RIN in Arnhem opgestuurd. Daar werd mbv. gaschromatografie het Dichlobenil gehalte bepaald. Deze bepalingen werden uitgevoerd door Elze de Ruyter.

Voor verdere informatie verwijs ik naar het artikel van Kersting & van der Honing. (1981)

2.6 Coulter Counter / Coulter **Channelyzer**.

De concentratie van de Chlorella suspensie werd bepaald met de Coulter Counter / Coulter **Channelyzer**. Deze apparatuur maakt het mogelijk om het aantal Chlorella deeltjes en de grootte van de diverse deeltjes in de oplossing te bepalen.

Dit wordt gerealiseerd op de volgende wijze:

Uit de oplossing werd mbv. een finnpipet 3 ml. vloeistof opgezogen en overgebracht in een telvaatje.

Door middel van een spuit, met een 0.3μ Sartorius membraanfilter, werd 20 ml. 0.9 % partikelvrije NaCl aan het telvaatje toegevoegd. Na voorzichtig mengen werd het vaatje onder de telbuis van de Coulter Counter geplaatst.

De telbuis heeft een opening met een doorsnede van 70μ .

Per meting werd tweemaal 0.5 ml. vloeistof opgezogen en doorgeteld.

De werking van de Coulter Counter / Coulter Channelyzer berust op het volgende:

De vloeistof in het telvaatje wordt met behulp van een manometer en een pomp door het gaatje van de telbuis gezogen. Aan weerszijden van deze opening bevinden zich electroden. Eén bevindt zich in de door te tellen vloeistof en de andere bevindt zich in de telbuis.

Tussen beide electroden wordt een constante stroom gestuurd. De spanning die hiervoor nodig is, is afhankelijk van de elektrische weerstand tussen de electroden. Aangezien de opening in de telbuis zeer klein is t.o.v. de electroden, wordt de totale weerstand geheel bepaald door de weerstand in de telbuis opening. De spanning, nodig voor het handhaven van een constante elektrische stroom, wordt vrijwel volledig bepaald door de in de telbuis opening heersende weerstand.

Passeert nu de 0.9 % NaCl oplossing, dan blijft de weerstand tussen de electroden laag. Zo gauw echter een Chlorella deeltje de opening passeert, wordt de weerstand iets hoger. Om de constante stroom te handhaven, moet de spanning dus iets omhoog.

Deze elektrische puls wordt door de Coulter Counter geregistreerd en de grootte hiervan is evenredig met het volume van het passerende deeltje. (Volgens onderstaande formule)

$$V = K \cdot A \cdot I \cdot (T + \frac{1}{2}) \times WW/100 + BC$$

V = volume van het deeltje in μ^3

K = Kalibratie factor in μ^3

A = Versterkings factor

I = Stroomsterkte factor

T = Kanaalnummer (tussen 0 en 99)

WW= Window width

BC= Base channel

De Coulter Counter is gekoppeld aan een Coulter Channelyzer, die de pulsen van verschillende grootte in 100 kanalen indeelt en in een geheugen opslaat.

De volumeklassen, overéénkomstig deze kanalen, worden bepaald door instelling van de stroomsterkte I en versterking A van

de Coulter Counter. Ik heb steeds gebruik gemaakt van $I = 1/4$ en $A = 1/2$. De Kalibratie constante K was 6.25.

De gegevens van de Coulter Channelyzer zijn op ponsband gezet en mbv. een PDP-8 computer verder omgerekend.

Op de computer uitdraai heb ik voor iedere meting laten uitprinten;

- totaal aantal Chlorella deeltjes.
- totaal volume van alle Chlorella deeltjes.
- volume van deeltjes $> 15 \mu^3$.

NB van de Coulter Counter / Coulter Channelyzer tellingen wordt altijd een blanco waarde afgetrokken. Als blanco waarde werd 0.9 % NaCl oplossing gebruikt.

2.7 Matrix experiment.

Om de effecten op de voedselopname van een aantal combinaties van Dichlobenil concentratie en Chlorella concentratie met elkaar te kunnen vergelijken, was het noodzaak om ad random de combinaties te kiezen. Dit omdat het praktisch niet mogelijk is om alle combinaties op één dag te verwerken.

Ik heb alle gewenste combinaties van de Dichlobenil-Chlorella concentratie in onderstaande matrix uitgezet en van een code voorzien.

		conc. Chlorella ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$)								
		0.5	1	2	3	4	6	9	15	20
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
0.1	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
0.2	19	20	21	22	23	24	25	26	27	
0.4	28	29	30	31	32	33	34	35	36	
0.8	37	38	39	40	41	42	43	44	45	
1.6	46	47	48	49	50	51	52	53	54	

Door loting werd voor elk experiment bepaald, met welke combinatie gewerkt zou worden. De loting was gebaseerd op een trekking zonder teruglegging.

Op deze manier werden voor ieder experiment 9 combinaties uit-

geloot, tot alle combinaties aan bod waren gekomen.

In de serie van de tweede matrix is op dezelfde manier gewerkt.

De combinaties uit matrix 1 en 2 leverden echter verschillende resultaten op. Het leek mij dan ook raadzaam om de combinaties uit matrix 3 in duplo uit te voeren. De experimenten, behorend bij matrix 3, bestonden uit 5 à 6 duplo combinaties. (Het aantal combinaties per experiment was afhankelijk van het aantal beschikbare Daphnia's).

De matrix is opgesteld met het oog op een "ideale" combinatie van concentraties. In de praktijk schommelden de werkelijke concentraties van beide toegevoegde bestanddelen rond deze gewenste concentraties.

In de diverse tabellen en grafieken is de Chlorella concentratie steeds verwerkt als gemiddelde waarde van begin en eind concentratie.

De Dichlobenil concentratie is in concentratie klassen ingedeeld.

De volgende begrippen zijn van belang:

- Matrix element: Combinatie Dichlobenil / Chlorella concentratie gebruikt in een graasexperiment.
- Experiment: Een serie graasexperimenten die op één dag uitgevoerd werden.

2.8 Inhibitie Chlorella cultuur mbv. een sterke lichtbron.

Als correctie voor de groei van Chlorella vulgaris gedurende de graasexperimenten, werden telkens twee "blanco" flesjes ingezet. Aan deze flesjes werd op dezelfde manier als bij de graasflesjes, de begin en eind concentratie van de Chlorella bepaald. Hieruit werd als het ware ook de "filteringrate" bepaald.

De groei in de blanco flesjes was soms aanzienlijk. Dit heeft ernstige consequenties bij correcties tov. graasexperimenten, waarbij een zeer lage filteringrate gemeten werd.

Daarom besloot ik de Chlorella suspensie in haar groei te remmen. Uit vorig onderzoek, door mij gedaan bij de vakgroep

Aquatische Oecologie, was o.a. gebleken dat groeiremming optreedt als een Chlorella cultuur blootgesteld wordt aan hoge lichtintensiteiten. Na één uur incubatie bij een lichtintensiteit van $279 \text{ W.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, neemt de ^{14}C -opname door Chlorella niet meer toe bij voortdurende blootstelling aan deze lichtintensiteit. Ook niet als de Chlorella cultuur teruggeplaatst wordt naar niet foto-inhiberende lichtintensiteiten. (intern verslag Rijkeboer 1981).

Voortbouwend op dit verschijnsel, heb ik de Chlorella oplossing alvorens in de graasexperimenten te gebruiken, 1.5 uur blootgesteld aan een hoge lichtintensiteit.

3. RESULTATEN EN DISCUSSIE

3.1 Drooggewicht Daphnia's.

Het drooggewicht van de Daphnia's is op de volgende wijze berekend.

Gewicht filter met Daphnia's - filter gewicht = gewicht Daph. (mg)

Dit gewicht wordt gedeeld door het aantal op het filter aanwezige Daphnia's. Dit levert een Daphnia gewicht behorend bij een matrix element.

Stel een experiment bestaat uit 9 matrix elementen, dan worden op bovengenoemde wijze 9 verschillende Daphnia gewichten verkregen. Deze Daphnia gewichten worden gesommeerd en gedeeld door het aantal matrix elementen. Op deze wijze wordt een gemiddeld Daphnia gewicht per experiment verkregen.

tabel 1

Voor ieder experiment is uitgezet; het gemiddelde Daphnia gewicht (GG), het kleinste (K) en het grootste (G) Daphnia gewicht per matrix element (in mg.), tesamen met de resp. leeftijd (in dg.) en het aantal Daphnia's per matrix element.

exp.	datum	leeft.	aantal	G.G.	K.	G.
2	1-3-82	19	6	0.15	0.12	0.18
3	2-3-82	19	6	0.26	0.23	0.29
4	8-3-82	19	6	0.22	0.16	0.30
5	9-3-82	19 20	6	0.30	0.28	0.34
6	15-3-82	19	6	0.22	0.20	0.23
7	16-3-82	20	6	0.20	0.17	0.22
8	22-3-82	19	6	0.21	0.18	0.24
9	29-3-82	19	6	0.14	0.12	0.20
10	2-4-82	13 19	6	0.22	0.19	0.25
11	5-4-82	16 20	6	0.14	0.12	0.17
12	8-4-82	16 21	6	0.20	0.18	0.23
13	16-4-82	21 23	6	0.17	0.12	0.19
14	20-4-82	18 19	9	0.18	0.14	0.22
15	23-4-82	18 20	9	0.11	0.09	0.13
16	26-4-82	18 19	9	0.13	0.11	0.15
17	27-4-82	17 18	9	0.14	0.13	0.16

exp.	datum	leeft.	aantal	G.G.	K.	G.	
18	27-4-82	17	18	9	0.13	0.10	0.17
19	4-5-82	19	20	9	0.08	0.06	0.12
20	10-5-82	20	24	9	0.06	0.04	0.08
21	11-5-82	21	23	9	0.06	0.04	0.09
22	12-5-82	16	19	9	0.09	0.08	0.10
23	15-5-82	19	21	9	0.14	0.08	0.18

*balans niet geheel zuiver.

NB. Bij de berekening filteringrate en Feedingrate / mg. Daph., wordt dus gerekend met het gemiddelde Daphnia gewicht vermenigvuldigd met het aantal Daphnia's.

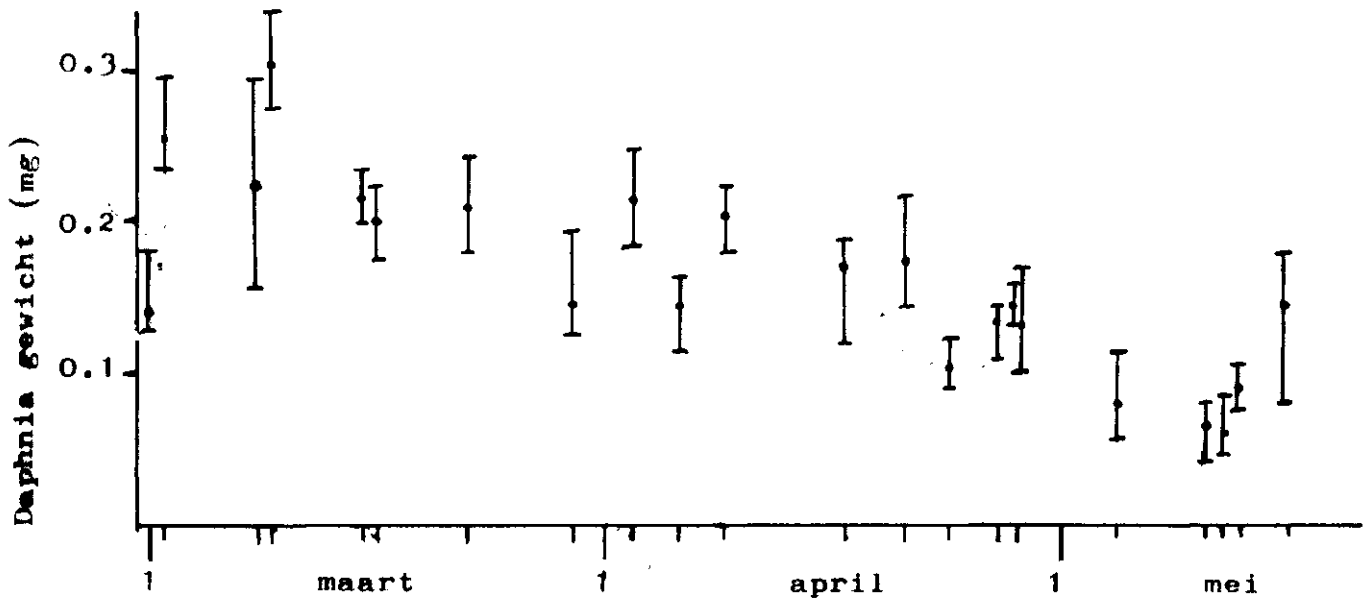


fig 2; het gemiddelde Daphnia gewicht, met het daarbij behorende kleinste en grootste Daphnia gewicht per matrix element, uit tabel 1 is uitgezet tegen de datum van het betreffende experiment.

Bekijken we tabel 1 en grafiek 2, dan valt op dat het gemiddelde drooggewicht in de maand mei aanzienlijk lager is, dan in de voorgaande maanden. Halverwege de maand april begint deze ten-

dens al enigzins zichtbaar te worden. Ik wijt deze afname in gewicht aan een seizoens invloed, omdat de leeftijd van de Daphnia's ongeveer gelijk was. De manier van wegen is ook altijd dezelfde geweest.

De consequentie van deze gemiddelde gewichts afname, met betrekking tot m'n experimenten, kan ik niet precies inschatten. Bekend is wel, dat de grootte-/lichaamsgewicht positief gecorreleerd is met de voedselopname.

Daarom heb ik de filteringrate en de voedselopname steeds uitgedrukt per mg. Daphnia. Hierbij moeten we wel bedenken dat een tweemaal zo zwaar wegende Daphnia, niet een factor tweemaal zo veel opeet. Ik neem dan ook aan, dat deze afname in gewicht een enigzins verstorend effect heeft bij de vergelijking van alle matrix experimenten.

3.2 Dichlobenil bepaling.

De Dichlobenil oplossing, toegevoegd aan de graasexperimenten, was afkomstig uit een Stockoplossing. Om deze te verkrijgen, heb ik 16 gr. Dichlobenil (Casoron G) ingewogen in 1 l. aqua-dest.

In eerste instantie is het Dichlobenil gehalte van de Stockoplossing bepaald. (Volgens de onder pnt. 2.5 beschreven methode). De Stockoplossing bevatte 16.088 ppm. (1-3-82). De recovery is dus erg hoog.

Op 22-3-82 is het Dichlobenil gehalte uit de Stockoplossing nogmaals bepaald. De concentratie was toen al terug gelopen tot 12.5 ppm.

tabel 2

De gemiddelde Dichlobenil concentratie (in mg.l^{-1}) van alle 3 matrices is per concentratie klasse aangegeven, tesamen met de laagste en hoogste concentratie per klasse. Eveneens wordt de log. Dichlobenil concentratie vermeld.

gemidd. conc. (in ppm)	log. conc.	laagste (in ppm)	hoogste (in ppm)
0.082	-1.09	0.069	0.110
0.178	-0.75	0.155	0.215
0.326	-0.49	0.253	0.392
0.661	-0.18	0.562	0.793
1.318	0.12	1.186	1.537

NB. De Dichlobenil concentratie van de afzonderlijke matrix elementen staan vermeld in de **appendix**.

Bij het opstellen van de matrix ben ik uitgegaan van een vijftal Dichlobenil concentraties. Uiteraard is er een bepaalde spreiding te vinden voor de afzonderlijke matrix elementen. Er treedt echter geen overlap op tussen de klassen, zodat ik kan werken met 5 verschillende gemiddelde Dichlobenil concentratie klassen.

3.3 Spreiding tussen Coulter Counter tellingen.

Om een indruk te krijgen van de "normale" spreiding, die optreedt tussen duplo bepalingen per matrix element, is voor zowel een relatief lage Chlorella concentratie (conc.<ILL) als voor een Chlorella concentratie >ILL, de spreiding tussen 10 subsamples bepaald.

tabel 3

Spreiding tussen 10 subsample tellingen met de Coulter Counter bij een lage en een hoge Chlorella conc.

subsample	tot. volume ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$)	subsample	tot. volume ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$)
1	0.645	1	16.3
2	0.649	2	16.1
3	0.653	3	16.1
4	0.617	4	16.3
5	0.621	5	15.6
6	0.622	6	16.3
7	0.631	7	15.8
8	0.619	8	16.2
9	0.606	9	15.7
10	0.639	10	15.7
gemid.	0.630		16.0
spreiding	0.016		0.28
rel. spreid.	2.5 %		1.75 %

Uit tabel 3 blijkt, dat het 95 % betrouwbaarheids interval van de Coulter Counter tellingen 3 à 5 % bedraagt. Deze spreiding zal in matrix elementen, waarbij gewerkt wordt met een hoge Chlorella en een hoge Dichlobenil concentratie een aanzienlijk verstorend effect hebben.

Onder invloed van deze hoge concentraties is de afname van de Chlorella concentratie erg klein. De spreiding in de tellingen kan deze afname geheel overschaduwten.

Vermoedelijk treedt de grootste onnauwkeurigheid op bij het vullen van de telpotjes met de 20 ml. NaCl oplossing. (door gebruik van spuit). Hiervoor zijn betere methoden te bedenken. Het werken met een pipet of een dispensette is waarschijnlijk veel nauwkeuriger.

Tevens treden er onnauwkeurigheden op bij het doormeten van de telvloeistof. Deze zijn echter inherent aan de Coulter Counter zelf en zijn dus niet te verhelpen. Ik verwacht dat deze fout veel geringer is, dan de voorgaande.

3.4 Matrix experimenten.

Uitgaande van de Coulter Counter / Coulter Channelyzer uitkomsten, is voor ieder matrix element resp. de filteringrate, de gecorrigeerde filteringrate en de gecorrigeerde Feedingrate berekend.

De filteringrate en de Feedingrate zijn berekend met de formules vermeld onder pnt 2.3.

Spreiding in subsamples: Per matrix element is steeds een duplo bepaling voor de Chlorella concentratie gedaan. Bij een verschil van meer dan 5 % tussen de duplo tellingen, is met behulp van beide tellingen de filteringrate berekend. Voor de verdere verwerking is een keuze tussen deze twee filteringrates gemaakt.

Bij matrix 1 en 2 is gekozen voor die waarde, die het beste in de reeks van overige filteringrates paste.

Bij matrix 3 is als volgt te werk gegaan:

Bij een spreiding > 5 % in tellingen van de beginconcentratie, van de Chlorella suspensie, is gekeken naar de "beste" beginconcentratie.

Wanneer de Coulter Counter tellingen van de eindconcentratie meer dan 5 % van elkaar verschilden, is op grond van de "beste" duplo bepaling gekozen voor een bepaalde filtering-rate.

In tabel 4 is een voorbeeld gegeven van de bij een experiment behorende filteringrate, gecorrigeerde filteringrate en de gecorrigeerde Feedingrate. De uit de overige experimenten berekende filteringrate, gecorrigeerde filteringrate en gecorrigeerde Feedingrate staan vermeld in de appendix.

tabel 4

De filteringrate, gecorrigeerde filteringrate en gecorrigeerde Feedingrate verkregen uit de matrix elementen behorend bij exp. 2 (1-3-1982).

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.Fr. rate ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{hr.}^{-1}$)
4	1.92	4.16	14.52
7	-1.52/2.72	0.72/4.96	6.66/43.18
9	-2.42	-0.18	-3.19
15	-1.30	0.94	6.66
33	-2.42	-0.18	-1.33
45	-0.12	2.12	38.50
46	0.18	2.42	2.04
49	-0.20	2.04	7.82
53	-2.06	0.18	2.65
b1.-	-2.42	-2.24	
b1.+	-2.06		

tabel 5a

Het gemiddelde van begin- en eindconcentratie van Chlorella, de gecorrigeerde filteringrate.mg.D⁻¹ en de gecorrigeerde Feedingrate.mg.D⁻¹, uit de graasexperimenten waaraan geen Dichlobenil is toegevoegd.

VOEDSEL CONCENTRATIE u!3.10!6/NL	FILTERING RATE NL/mg Daphnia/uur	FEEDING RATE u!3.10!6/mg Daphnia/uur
0.00	-1.00	0.00
0.00	-1.00	0.00
0.48	27.79	13.58
0.62	26.22	16.26
0.84	15.07	12.79
0.86	11.13	9.64
0.87	11.95	12.42
0.98	8.46	8.36
1.40	10.65	15.01
1.84	7.48	13.82
1.90	14.01	26.74
2.14	9.35	20.04
2.26	4.95	11.19
2.54	17.41	44.23
2.96	6.42	19.06
3.49	4.65	16.24
3.49	6.79	23.74
3.60	11.66	41.99
3.66	8.41	30.85
4.61	5.51	25.43
4.85	8.49	41.20
5.42	4.59	24.90
5.85	4.83	28.28
6.44	4.50	29.01
7.54	3.68	27.75
8.70	5.55	48.30
8.86	3.24	28.71
8.87	3.40	30.16
11.50	2.15	24.73
11.74	2.66	31.25
14.10	1.31	18.48
14.12	2.27	32.06
14.18	1.53	21.70
14.43	2.34	33.78
15.66	1.86	29.13
17.85	-0.20	-3.57

De blanco regel in de tabel geeft de ligging aan van het door mij berekende Incipient Limiting Level.

tabel 5b

Het gemiddelde van begin- en eindconcentratie van Chlorella, de gecorrigeerde filteringrate. mg.D^{-1} en de gecorrigeerde Feedingrate. mg.D^{-1} , voor Dichlobenil conc.klasse 0.082 ppm.

VOEDSEL CONCENTRATIE u!3.10!6/ML	FILTERING RATE ML/mg Daphnia/uur	FEEDING RATE u!3.10!6/mg Daphnia/uur
0.00	-1.00	0.00
0.00	-1.00	0.00
0.00	-1.00	0.00
0.56	7.56	4.28
0.66	2.40	1.59
0.76	1.37	1.05
1.04	7.82	8.16
1.04	5.94	6.20
1.06	16.49	17.50
1.65	9.21	15.28
1.71	7.64	13.12
1.90	6.72	13.38
2.34	3.72	8.74
2.73	7.03	19.24
2.84	4.83	13.72
3.38	1.85	6.27
3.50	3.24	11.34
3.82	2.73	10.44
3.85	0.07	0.27
4.54	1.98	9.00
6.18	2.43	15.03
6.67	3.47	23.16
6.78	3.22	21.84
7.09	1.05	7.45
7.28	2.64	19.22
7.81	0.38	2.97
7.92	2.20	17.01
7.94	0.71	5.64
14.02	1.16	16.27
14.18	0.80	11.35
14.29	1.00	14.20
15.02	2.41	38.38
16.16	-0.36	-5.82
16.33	1.36	22.22
17.37	-0.08	-1.30
17.72	1.13	20.03

tabel 5c

Het gemiddelde van begin- en eindconcentratie van Chlorella, de gecorrigeerde filteringrate.mg.D⁻¹ en de gecorrigeerde Feedingrate.mg.D⁻¹, voor Dichlobenil conc.klasse 0.178ppm.

VOEDSEL CONCENTRATIE u!3.10!6/ML	FILTERING RATE ML/mg Daphnia/uur	FEEDING RATE u!3.10!6/mg Daphnia/uur
0.44	19.42	8.56
0.53	14.86	7.91
0.57	13.17	7.63
0.80	8.83	7.10
1.00	7.43	7.49
1.03	13.11	13.52
1.06	6.17	6.55
1.35	6.32	8.57
1.80	7.05	13.34
2.02	4.33	8.76
2.03	3.04	6.20
2.63	6.59	17.38
2.68	5.36	14.40
2.71	4.19	11.36
2.81	3.41	9.60
3.37	12.30	41.56
3.38	11.61	39.26
4.58	2.41	11.05
4.70	4.64	21.85
4.84	3.78	18.32
5.23	2.60	14.08
5.26	2.38	12.53
5.24	3.88	23.05
7.08	6.62	46.88
8.10	5.22	42.77
8.34	2.57	21.44
9.10	1.82	16.58
9.22	1.32	12.18
12.86	1.91	24.58
13.04	0.98	12.78
13.34	0.96	12.81
14.07	1.46	20.55
16.00	0.07	1.12
16.16	-0.01	-14.71
17.24	1.46	25.18
22.52	0.17	3.83

tabel 5d

Het gemiddelde van begin- en eindconcentratie van Chlorella, de gecorrigeerde filteringrate.mg.D⁻¹ en de gecorrigeerde Feedingrate.mg.D⁻¹, voor Dichlobenil conc.klasse 0.326 ppm.

VOEDSEL CONCENTRATIE u!3.10!6/ML	FILTERING RATE ML/mg Daphnia/uur	FEEDING RATE u!3.10!6/mg Daphnia/uur
0.00	-1.00	0.00
0.52	11.34	5.95
0.68	4.51	3.09
0.71	4.15	2.97
0.76	4.14	3.18
1.00	11.31	12.42
1.74	3.31	6.64
1.96	5.22	10.27
2.07	4.22	8.75
2.13	3.26	6.05
2.42	3.69	8.93
2.48	2.89	7.18
2.55	5.15	13.18
3.20	1.96	6.29
3.35	2.98	9.99
3.38	2.97	10.06
3.47	3.49	12.13
4.07	1.64	6.69
4.21	1.89	7.97
4.56	0.71	3.24
6.16	0.60	3.70
6.25	2.82	17.64
6.62	1.32	8.74
7.45	-0.20	-1.49
7.68	2.69	20.68
8.51	2.79	23.77
9.08	2.24	20.35
9.16	1.29	11.82
13.01	1.26	16.40
13.36	0.44	5.88
13.55	1.48	20.06
14.79	-2.26	-33.43
15.27	0.37	5.65
17.91	0.73	13.08
18.03	0.65	11.72
21.10	0.90	18.99

tabel 5e

Het gemiddelde van begin- en eindconcentratie van Chlorella, de gecorrigeerde filteringrate, mg.D^{-1} en de gecorrigeerde Feedingrate, mg.D^{-1} , voor Dichlobenil conc.klasse 0.661 ppm.

VCEDSEL CONCENTRATIE u!3.10!6/NL	FILTERING RATE NL/mg Daphnia/uur	FEEDING RATE u!3.10!6/mg Daphnia/uur
0.00	-1.00	0.00
0.42	32.70	13.98
0.44	32.02	14.38
0.66	3.98	2.65
0.96	3.58	3.44
1.19	4.02	4.79
1.19	4.52	5.40
1.46	5.32	7.79
1.56	2.38	3.72
1.91	6.43	12.29
1.90	8.20	16.33
2.24	5.85	13.13
2.35	4.98	11.71
2.60	2.94	7.66
2.91	2.90	8.44
2.93	1.27	3.73
2.97	3.19	9.49
4.11	2.47	10.16
4.35	2.84	12.38
4.57	3.33	15.22
5.68	7.38	41.93
5.78	2.21	12.79
6.21	0.66	4.10
6.67	1.54	10.28
7.07	1.14	8.06
9.06	1.97	17.85
9.18	0.32	2.94
12.55	0.40	5.02
13.28	0.38	5.05
13.36	0.41	5.48
13.76	2.32	31.94
14.14	2.02	28.58
14.35	-0.51	-7.32
15.07	0.56	8.44
16.75	2.24	37.54
18.16	2.37	43.06

tabel 5f

Het gemiddelde van begin- en eindconcentratie van Chlorella, de gecorrigeerde filteringrate.mg.D⁻¹ en de gecorrigeerde Feedingrate.mg.D⁻¹, voor Dichlobenil conc.klasse 1,318 ppm.

VOEDSEL CONCENTRATIE u!3.10!6/μL	FILTERING RATE μL/mg Daphnia/uur	FEEDING RATE u!3.10!6/mg Daphnia/uur
0.00	-1.00	0.00
0.00	-1.00	0.00
0.00	-1.00	0.00
0.50	13.31	6.78
0.57	13.58	7.77
0.64	1.94	1.26
0.84	2.71	2.28
0.99	19.55	19.39
1.01	10.56	10.74
1.81	2.70	4.91
1.86	2.19	4.08
2.05	11.38	23.33
2.23	-1.86	-4.15
2.31	1.32	3.05
2.89	0.74	2.14
3.08	0.50	1.54
3.57	-0.28	-1.00
3.67	3.63	13.34
3.83	2.28	8.75
3.90	7.86	30.67
5.07	-4.94	-25.05
5.22	1.45	7.57
5.27	5.51	29.08
5.47	0.38	2.08
5.55	0.97	5.39
7.19	0.73	5.25
7.78	0.74	5.76
8.01	4.17	33.41
8.08	4.41	35.66
9.06	1.97	17.86
13.31	0.76	10.12
13.54	1.15	15.58
13.59	1.53	20.80
14.80	0.20	2.96
17.19	1.76	30.26
22.01	0.37	8.48

De gecorrigeerde filteringrate.mg D⁻¹ en de Feedingrate.mg D⁻¹ uit tabellen 5a - 5f, zijn in de fig.3a - 3l uitgezet tegen de gemiddelde waarde van de begin-en eindconcentratie van het toegevoegde voedsel.

* resp. filteringrate en Feedingrate.

! waarde van filteringrate en Feedingrate, die de gebruikte grafische schaal in pos. dan wel neg. zin overschrijden.
- de getrokken lijn geeft de met de computer berekende mediane maximale filteringrate en Feedingrate weer.

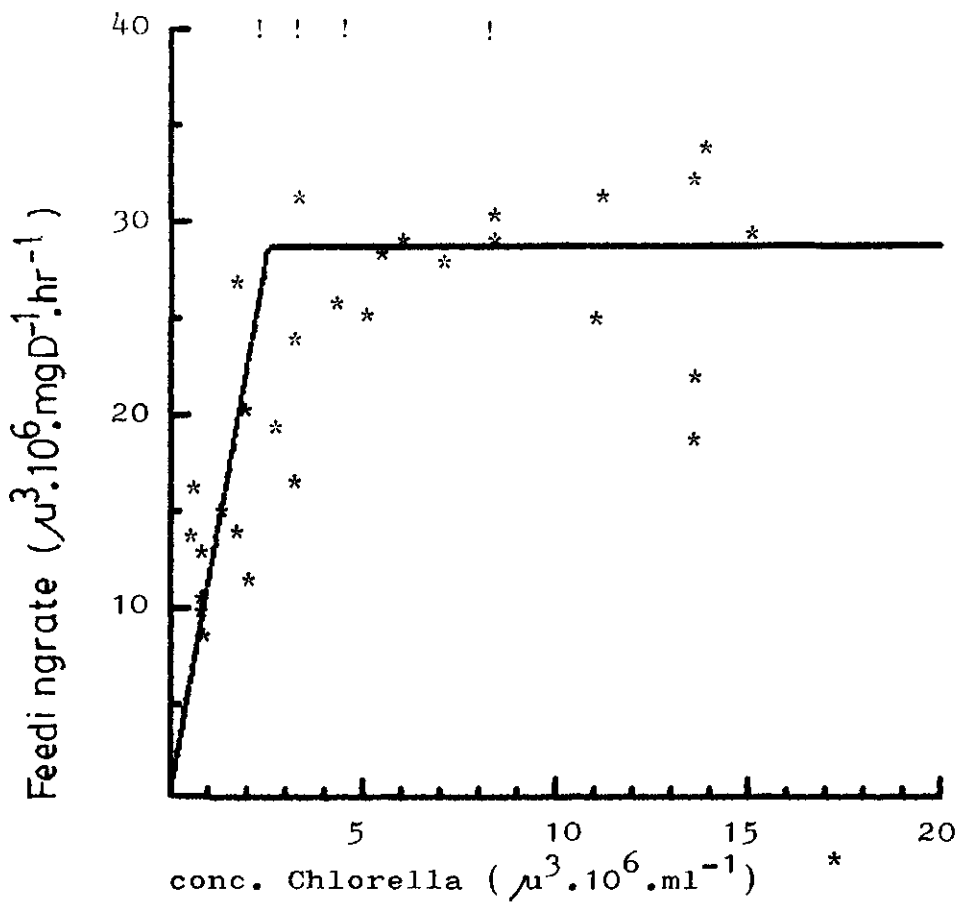


fig. 3a Gecorrigeerde Feedingrate. $mg D^{-1}$ (uit tabel 5a)
uitgezet tegen het gemidd. van begin- en eind-
conc. van het toegevoegde voedsel.

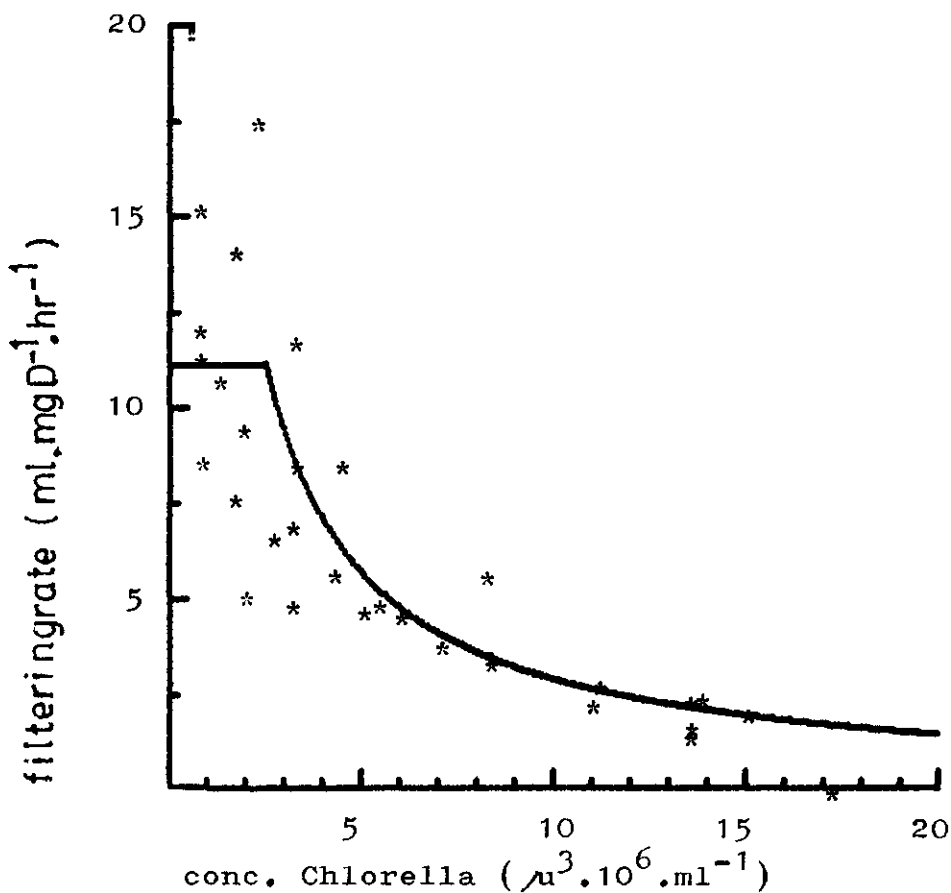


fig. 3b Gecorrigeerde filteringrate. $mg D^{-1}$ (uit tabel 5a)
uitgezet tegen het gemidd. van begin- en eind-
conc. van het toegevoegde voedsel.

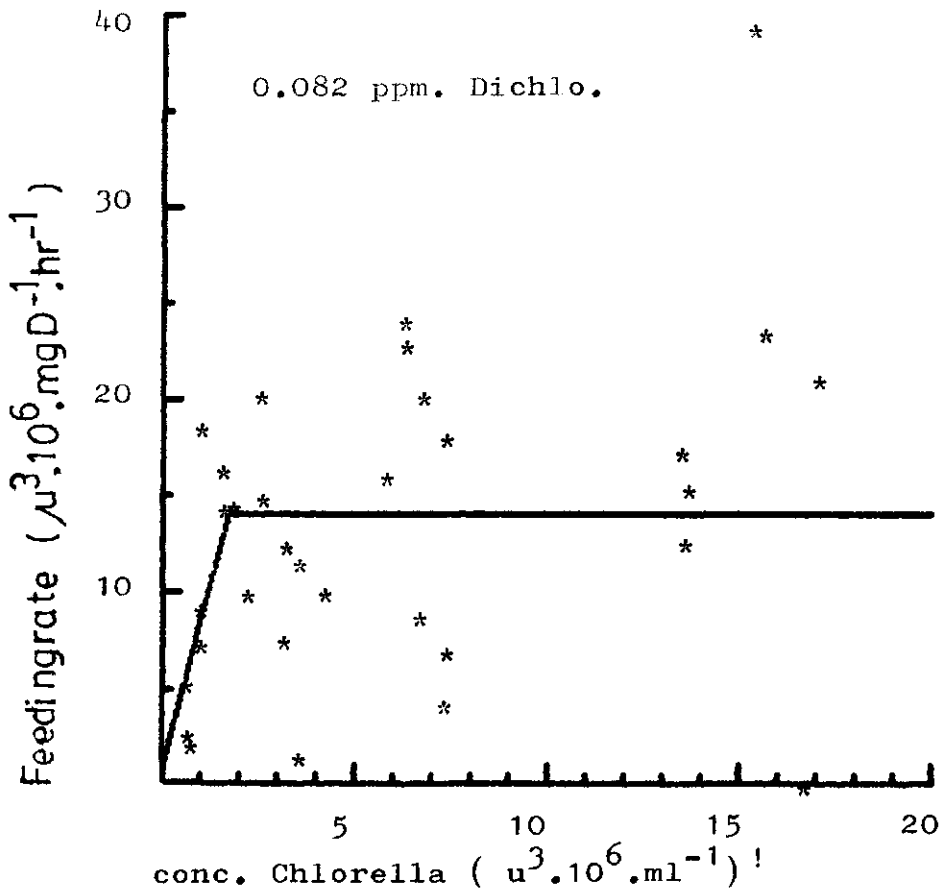


fig. 3c Gecorrigeerde Feedingrate. mg D^{-1} (uit tabel 5b)
uitgezet tegen het gemidd. van begin- en eind-
conc. van het toegevoegde voedsel.

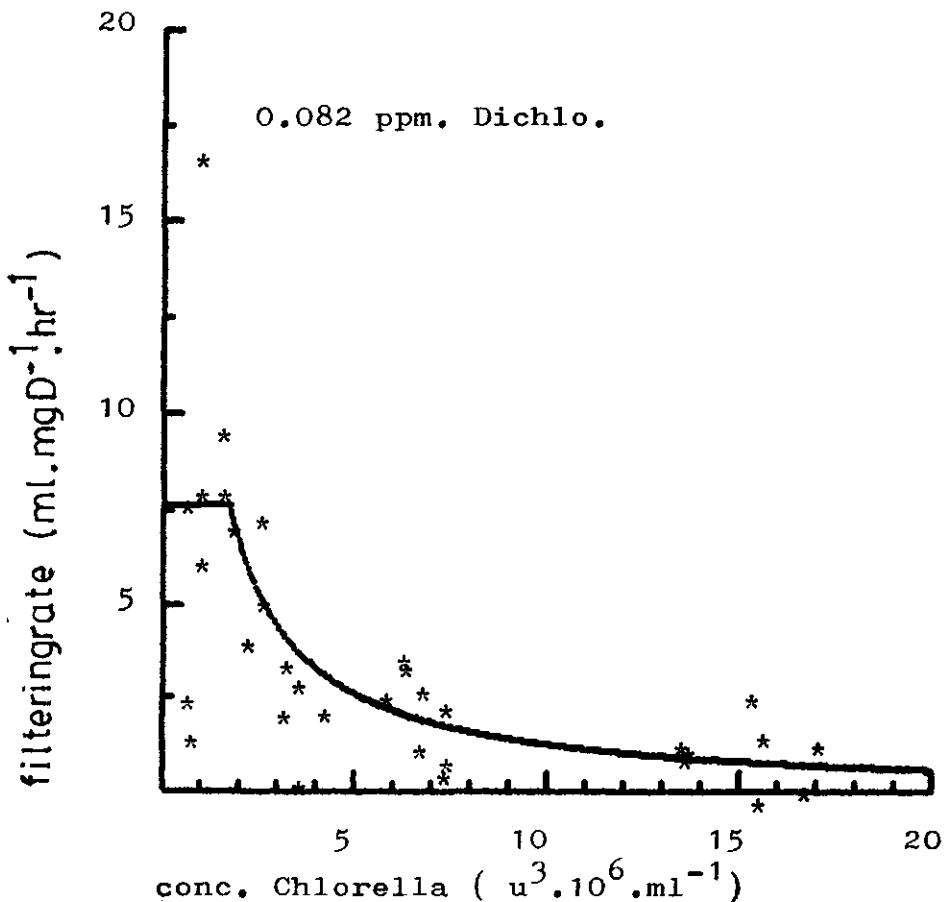


fig. 3d Gecorrigeerde filteringrate. mg D^{-1} (uit tabel 5b)
uitgezet tegen het gemidd. van begin- en eind-
conc. van het toegevoegde voedsel.

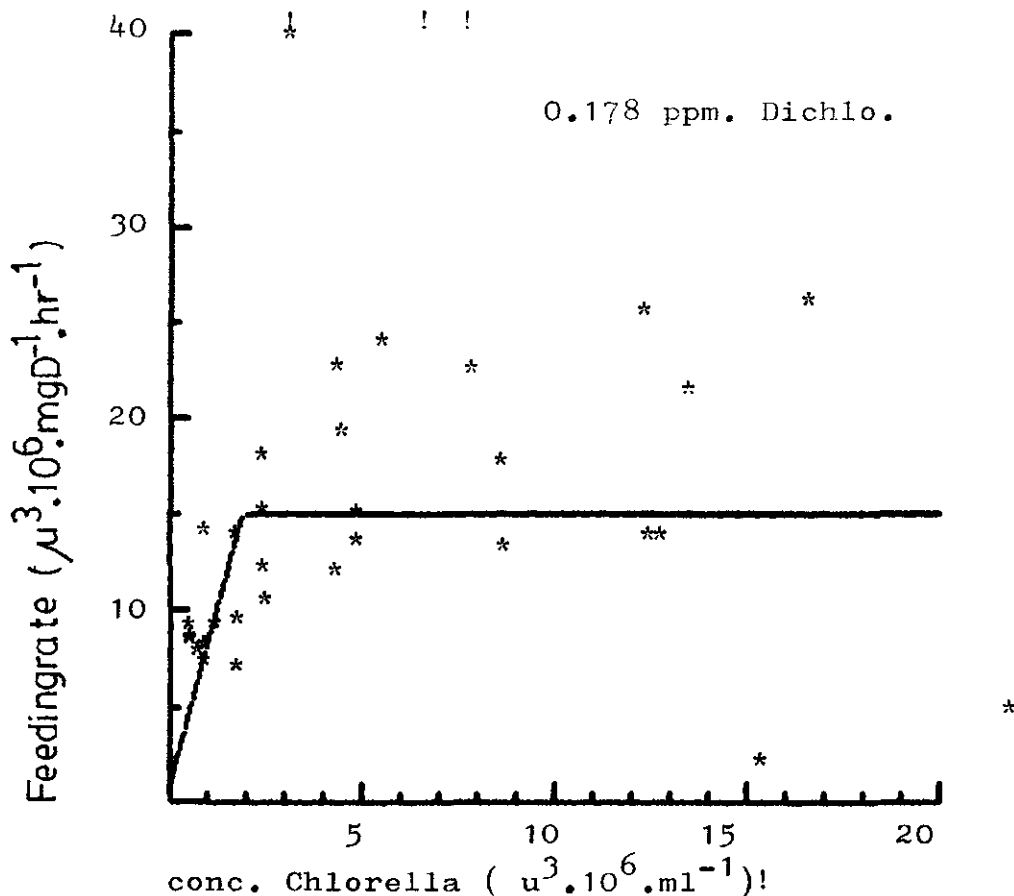


fig. 3e Gecorrigeerde Feedingrate. mg.D^{-1} (uit tabel 5c)
uitgezet tegen het gemidd. van begin- en eind-
conc. van het toegevoegde voedsel.

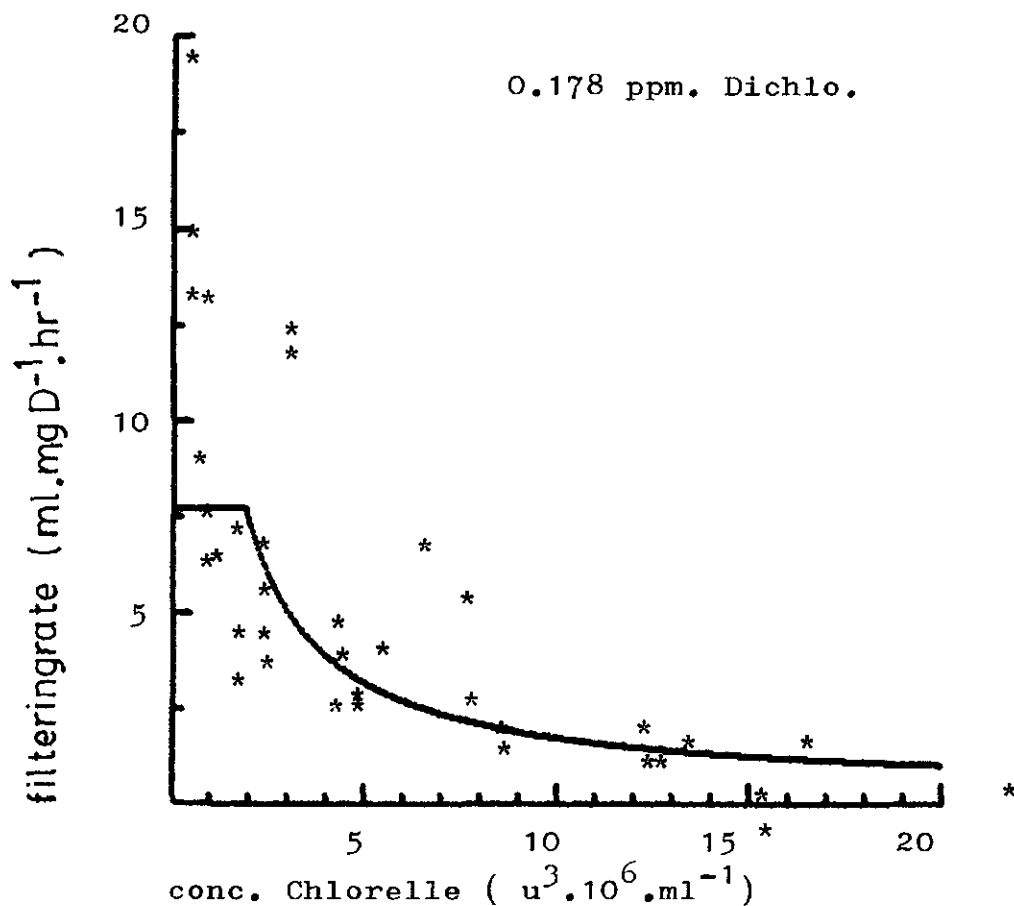


fig. 3f Gecorrigeerde filteringrate. mg D^{-1} (uit tabel 5c)
uitgezet tegen het gemidd. van begin- en eind-
conc. van het toegevoegde voedsel.

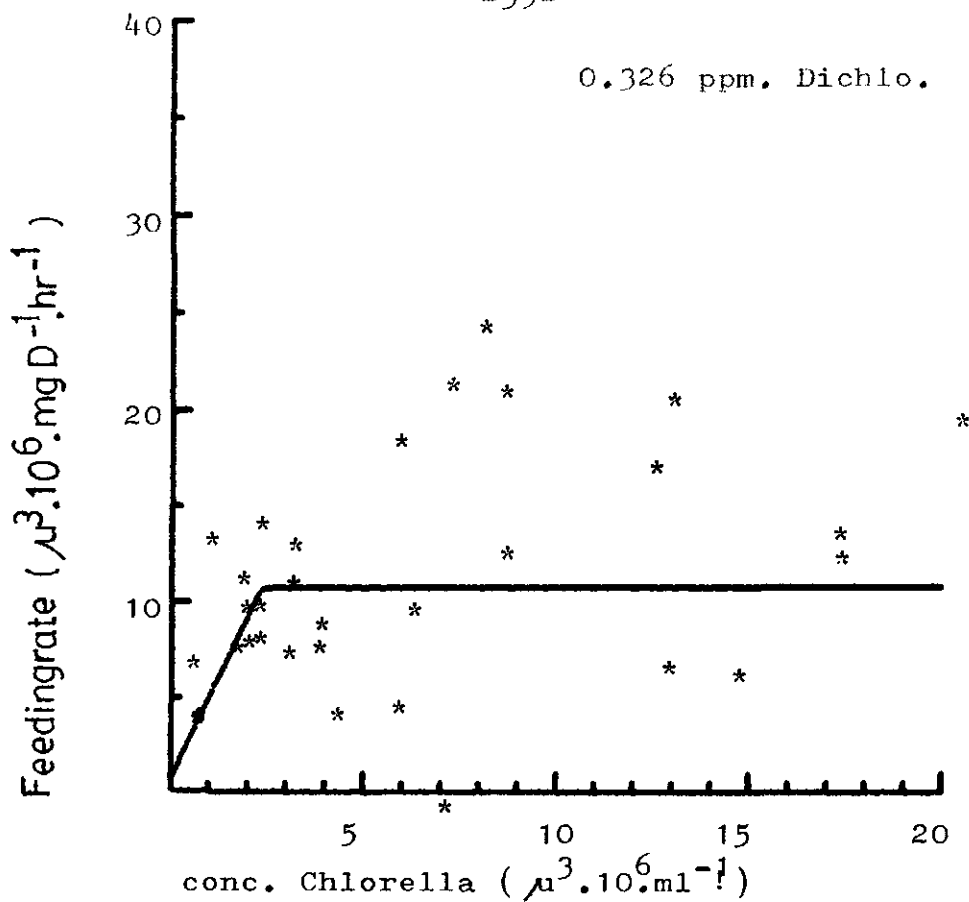


fig. 3g Gecorrigeerde Feedingrate, mg D^{-1} (uit tabel 5d) uitgezet tegen het gemidd. van begin- en eindconc. van het toegevoegde voedsel.

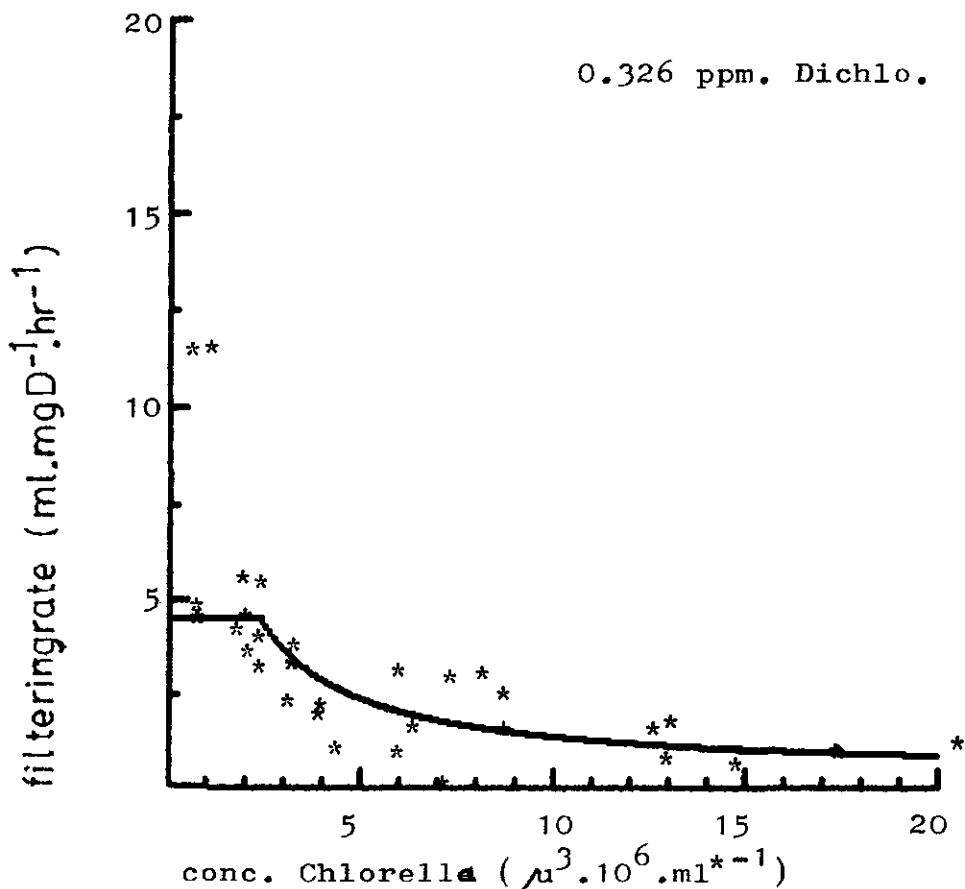


fig. 3h Gecorrigeerde filteringrate, mg D^{-1} (uit tabel 5d) uitgezet tegen het gemidd. van begin- en eindconc. van het toegevoegde voedsel.

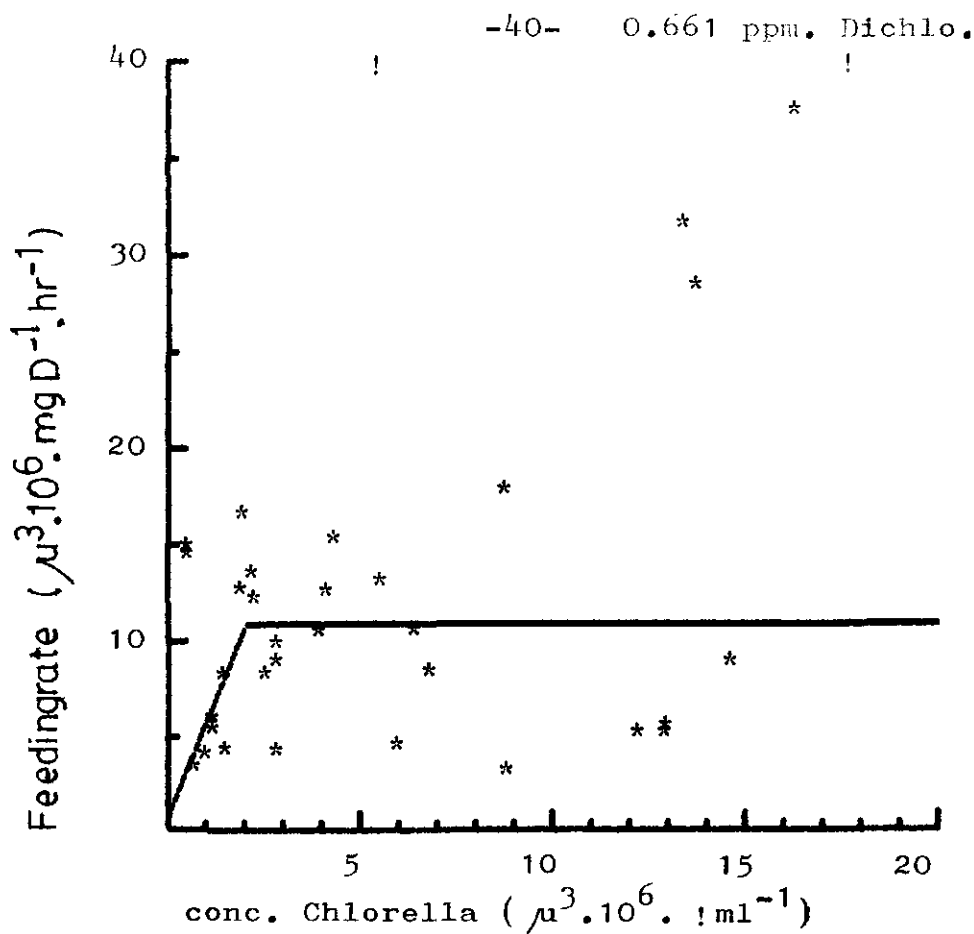


fig. 3i Gecorrigeerde Feedingrate.mg D⁻¹ (uit tabel 5e)
uitgezet tegen het gemidd. van begin- en eind-
conc. van het toegevoegde voedsel.

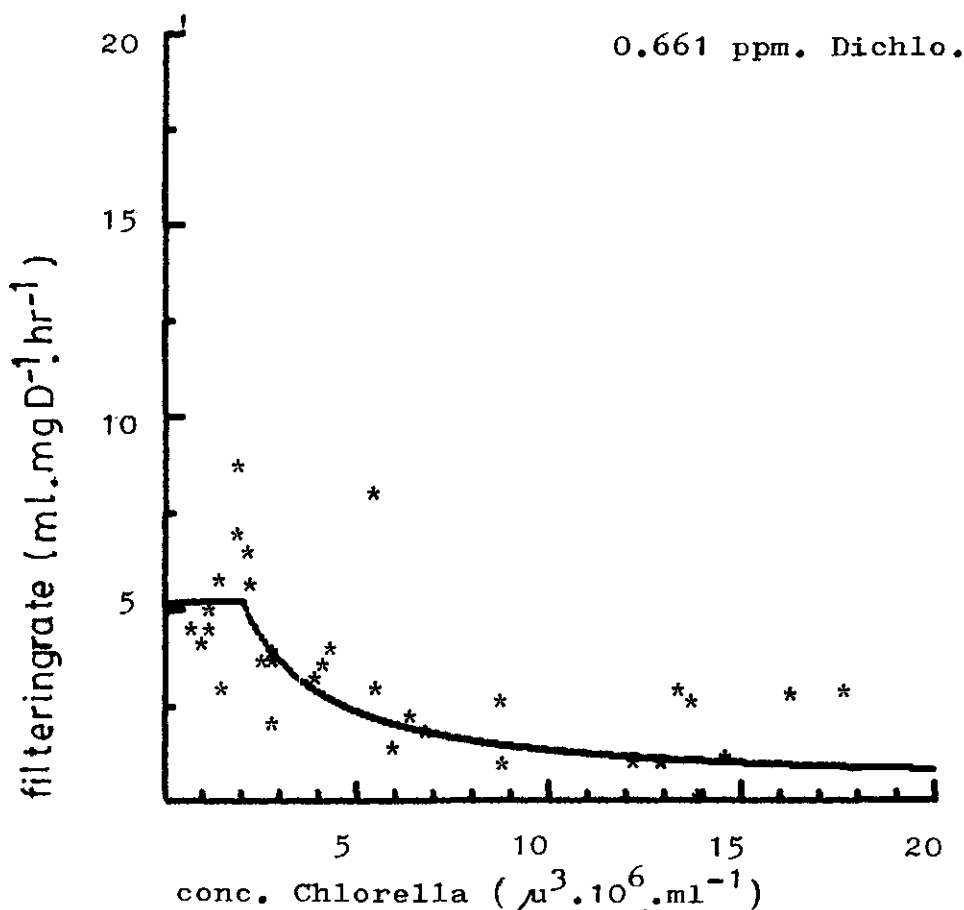


fig. 3j Gecorrigeerde filteringrate.mg D⁻¹ (uit tabel 5e)
uitgezet tegen het gemidd. van begin- en eind-
conc. van het toegevoegde voedsel.

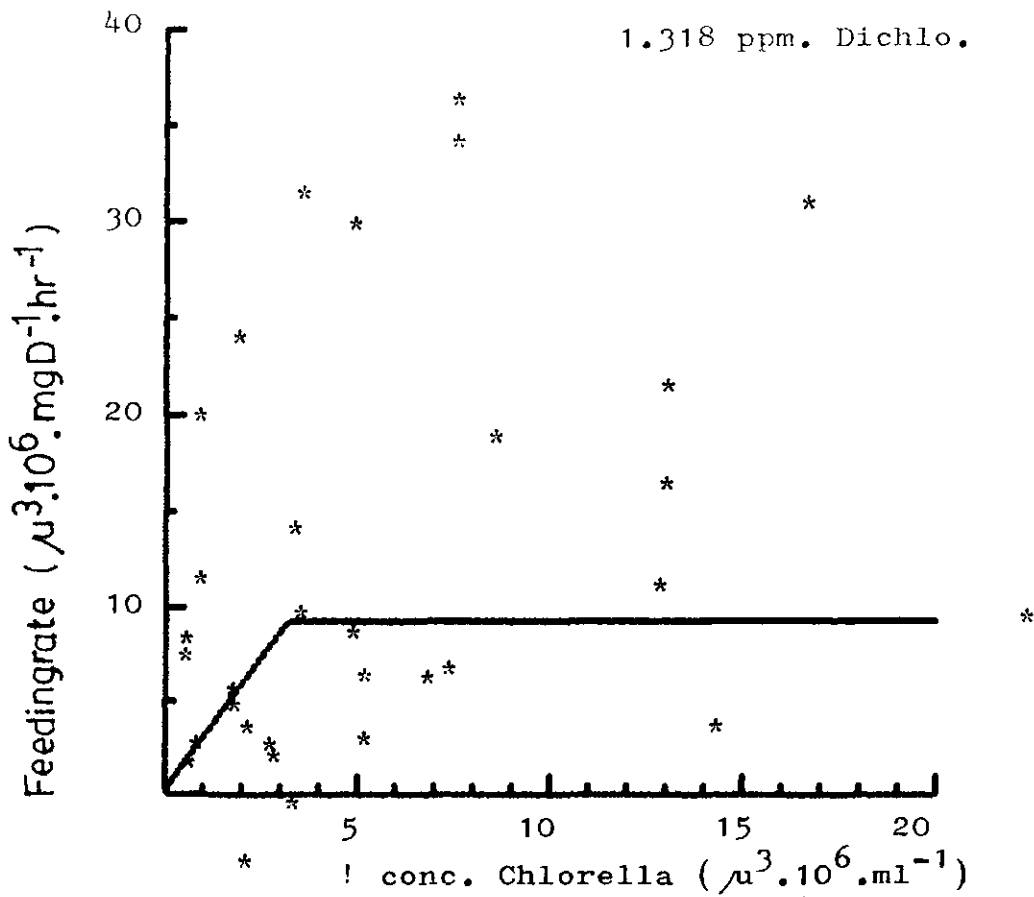


fig. 3k Gecorrigeerde Feedingrate. $mg D^{-1}$ (uit tabel 5f)
uitgezet tegen het gemidd. van begin- en eind-
conc. van het toegevoegde voedsel.

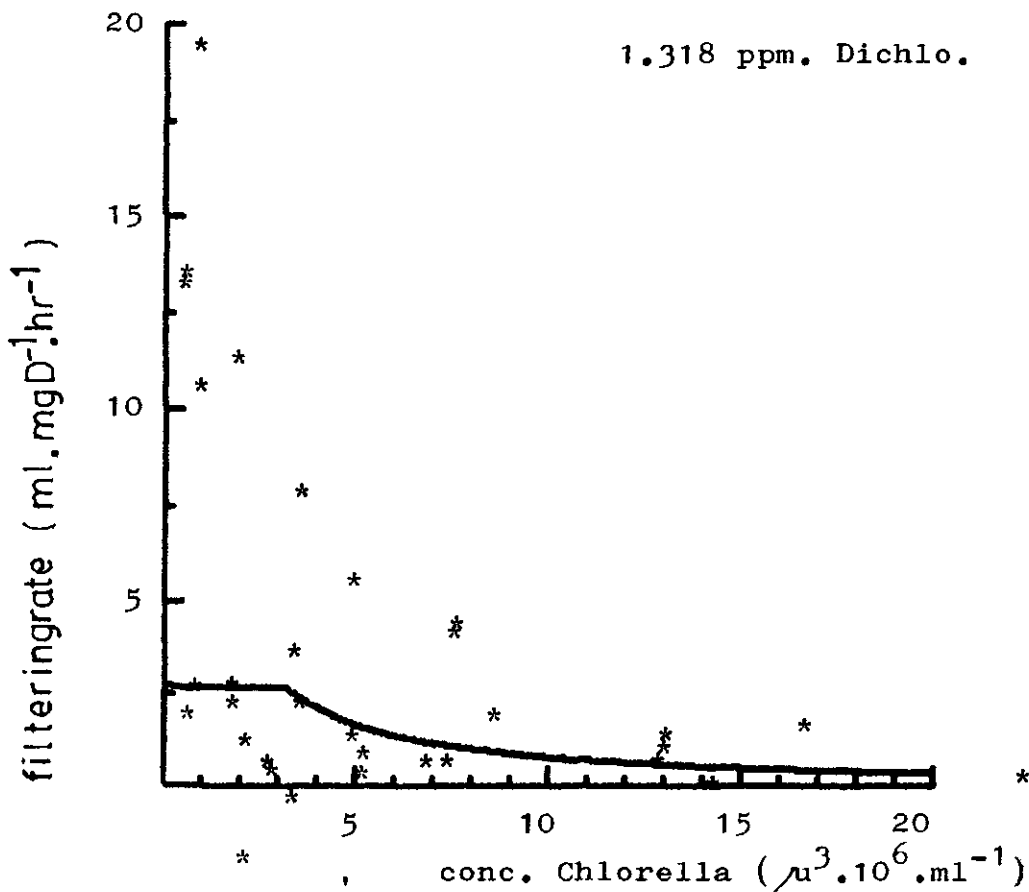


fig. 3l Gecorrigeerde filteringrate. $mg D^{-1}$ (uit tabel 5f)
uitgezet tegen het gemidd. van begin- en eind-
conc. van het toegevoegde voedsel.

Ik zal nu in het kort de voorgaande figuren bespreken.

In fig. 3b (graasexperimenten zonder Dichlobenil toevoeging) is te zien dat bij relatief lage voedselconcentraties, de filteringrate hoog is. Deze voedselconcentraties liggen onder het zgn. Incipient Limiting Level, zoals bepaald door Kersting & van der Leeuw (1976).

Volgens de theorie is de filteringrate bij deze voedselconcentraties maximaal en dus onafhankelijk van deze voedselconcentratie. Mijn resultaten laten inderdaad een hoge filteringrate zien, echter de variatie tussen de diverse punten is groot. Een duidelijk plateau tengevolge van een maximale filteringrate, zoals Kees Kersting vermeld is slechts met de nodige fantasie te ontdekken. Dit maakt het erg moeilijk de maximale filteringrate in één getal te vatten.

Bij voedselconcentraties boven het Incipient Limiting Level vinden we een duidelijke afname in de filteringrate als gevolg van de toegenomen voedselconcentratie.

Nemen we nu de overige figuren met betrekking tot de filteringrate (fig.3b,d,f,h,i) in ogenschouw, dan zien we dat in feite alle figuren een rommelig beeld vertonen. De variatie tussen de metingen is vaak groot, zodat het moeilijk is een lijn tussen de punten te trekken.

Toch meen ik een tweetal tendenzen te ontdekken:

- Bij toenemende voedselconcentratie neemt de filteringrate af.
- De maximale filteringrate bij voedselconcentraties onder het Incipient Limiting Level is lager in aanwezigheid van Dichlobenil, dan de maximale filteringrate in graasexperimenten waarbij geen Dichlobenil is toegevoegd.

In de figuren 3a,c,e,g en i, waarin de Feedingrate.mg D⁻¹ met de bijbehorende voedselconcentratie is uitgezet, zien we éénzelfde tendens.

In fig. 3a (geen Dichlobenil toegevoegd) zien we heel duidelijk, dat de voedselopname bij lage voedselconcentraties proportioneel toeneemt bij toenemende voedselconcentratie. Bij voedselconcentraties boven het Incipient Limiting Level is de voedselopname maximaal en dus onafhankelijk van de voedselconcentratie.

De overige figuren met betrekking tot de Feedingrate vertonen een veel rommeliger beeld. De figuren zijn erg onderhevig aan variatie, zowel tussen de verschillende matrix-elementen als bij de duplo bepalingen uit matrix 3. Dit maakt het bijzonder moeilijk om uitspraken te doen over het effect van Dichlobenil op de voedselopname.

Vergelijken we fig. 3a met de overige figuren dan zien we:

- Onder toevoeging van Dichlobenil lijkt de variatie tussen de punten groter en het beeld dus rommeliger te worden.
- De maximale Feedingrate met Dichlobenil toevoeging is lager dan de maximale Feedingrate in afwezigheid van Dichlobenil.

Samenvattend kunnen we naar aanleiding van de figuren 3a t/m 3l stellen:

- Bij lage voedselconcentraties is de filteringrate onder Dichlobenil toevoeging lager dan bij graasexperimenten waarin geen Dichlobenil is toegevoegd.
- Bij hoge voedselconcentraties is de Feedingrate in experimenten met Dichlobenil toevoeging lager dan de maximale Feedingrate zonder Dichlobenil toevoeging.

Maar door het rommelige beeld is het heel moeilijk de gemid. maximale filteringrate en de gemid. maximale Feedingrate per Dichlobenil concentratie klasse, in een getal uit te drukken.

Wat de oorzaak is van de grote variatie tussen de punten, weet ik niet precies. Deze variatie treedt niet alleen op tussen de verschillende matrixelementen, maar treden ook op tussen duplo bepalingen uit matrix 3.

Een mogelijke oorzaak is de voedselvoorgeschiedenis van de Daphnia's. De Daphnia's werden steeds gekweekt onder gestandaardiseerde omstandigheden. (zie pnt. 2.1)

De hoeveelheid Chlorella, die als voedsel werd toegediend, was meestal hetzelfde. De concentratie hiervan was groter dan de Incipient Limiting Level concentratie, zodat de voedselopname maximaal mag worden verondersteld.

Een uitzondering hierop, was het voeren tijdens het weekend. De Daphnia's werden dan door de dierverzorger gevoerd en de

tijd van voeren varieerde aanzienlijk. Soms werd op zaterdagochtend gevoerd, soms zelfs op zondagavond. Ik kan me voorstellen dat als de Daphnia's op zaterdag gevoerd werden, de voedselconcentratie in het kweekmedium dusdanig terugliep, dat deze concentratie op zondagavond en maandagochtend tot onder het Incipient Limiting Level gezakt was.

Om praktische redenen heb ik een deel van de graasexperimenten op de maandag gedaan. De Daphnia's werden door mij op maandagochtend altijd direct gevoerd, zodat ze enkele uren voordat de experimenten begonnen in dezelfde voedselomstandigheden verkeerden, als die waarin de graasexperimenten werden uitgevoerd.

Dat de voedselvoorgeschiedenis, m.n. door het afwijkend voeren in het weekend veel invloed zou hebben op m'n graasexperimenten, heb ik mij niet zo sterk gerealiseerd. Vooral omdat onderzoekers als Rijther (1954) en Mc.Mahon (1965) aantoonde dat de invloed van het voorgaande voedselniveau niet zoveel effect had op de voedselopname.

Onlangs hoorde ik echter van prof. Ringelberg het volgende: Hij heeft graasexperimenten gedaan, waarbij hij de voedselopname van individuele Daphnia's bepaalt. Steeds op tijdsintervallen van 30 minuten. Eén dag voor aanvang van de graasexperimenten standaardiseert hij de Daphnia's met een bepaalde voedselconcentratie.

Nu is gebleken dat de Daphnia's per experimentdag hetzelfde beeld van voedselopname vertonen. Echter tussen de verschillende experimenten treden aanzienlijke verschillen op.

Hij wijt deze verschillen aan de voedselvoorgeschiedenis. Deze reikt verder dan de voedselconcentratie, waaraan de Daphnia's één dag van te voren zijn geadapteerd. De voedselconcentratie tot 3 dagen voor aanvang van de experimenten bleek van invloed op de voedselopname in zijn graasexperimenten.

Bedenken we hierbij mijn opmerkingen omtrent het voeren in het weekend, dan mag ik aannemen dat dit verschijnsel zeer zeker van invloed is geweest in mijn graasexperimenten.

Dit zou een deel van de gevonden variatie kunnen verklaren.

Als ik de aparte experimentdagen met elkaar vergelijk, dan zijn er inderdaad experimenten aan te wijzen, waarbij alle matrixelementen een duidelijk hogere of juist extreem lagere waarde aangeven dan de rest van de experimenten.

Dit verschijnsel verklaart echter niet alles. De variatie in duplo bepalingen uit matrix 3 is hiermee niet te verklaren.

Een andere mogelijke oorzaak is de gewichtsafname in het seizoen. De filteringrate en de Feedingrate is afhankelijk van de lichaamsgrootte/gewicht. Daarom zijn beide uitgedrukt per mg. *Daphnia*. We moeten hierbij wel bedenken dat een watervlo die tweemaal zo zwaar is, niet precies een factor tweemaal zoveel zal eten.

Een derde mogelijke verklaring van de variatie is misschien een seizoensafhankelijke voedselopname.

Nauwerk (1959) vond in de mnd. mei - aug. een verhoogde filteringrate voor *Daphnia longispina*. Deze werd waarschijnlijk veroorzaakt door de hogere temperatuur en het reproductie stadium.

Dit varieerde in mijn graasexperimenten echter niet, maar een intern ritme ten aanzien van de voedselopname gekoppeld aan de daglengte is niet uit te sluiten.

Deze drie mogelijke verklaringen zijn echter niet afdoende om de verschillen in de duplo bepalingen uit matrix 3 te verklaren. Zodat alleen een individuele variatie tussen de *Daphnia*'s en de manier van experimenteren overblijft.

Indeling filteringrate en Feedingrate in grootte klassen:

Ik heb voor iedere Dichlobenil concentratie klasse resp. de filteringrate en de Feedingrate in grootte klassen ingedeeld, om te kijken of er een min of meer normale verdeling in de resultaten op zou treden. Bij een geleidelijke afname/toename van de filteringrate/Feedingrate onder invloed van de voedsel conc. verwacht ik dat de waarden van beide redelijk normaal verdeeld zijn. Dit omdat ze gelijkelijk over een brede range van voedselconcentraties bepaald zijn.

Ik hoopte op deze manier de echte uitschieters te ontdekken, zodat ik deze niet in de berekening van het Incipient Limiting Level hoefte te betrekken.

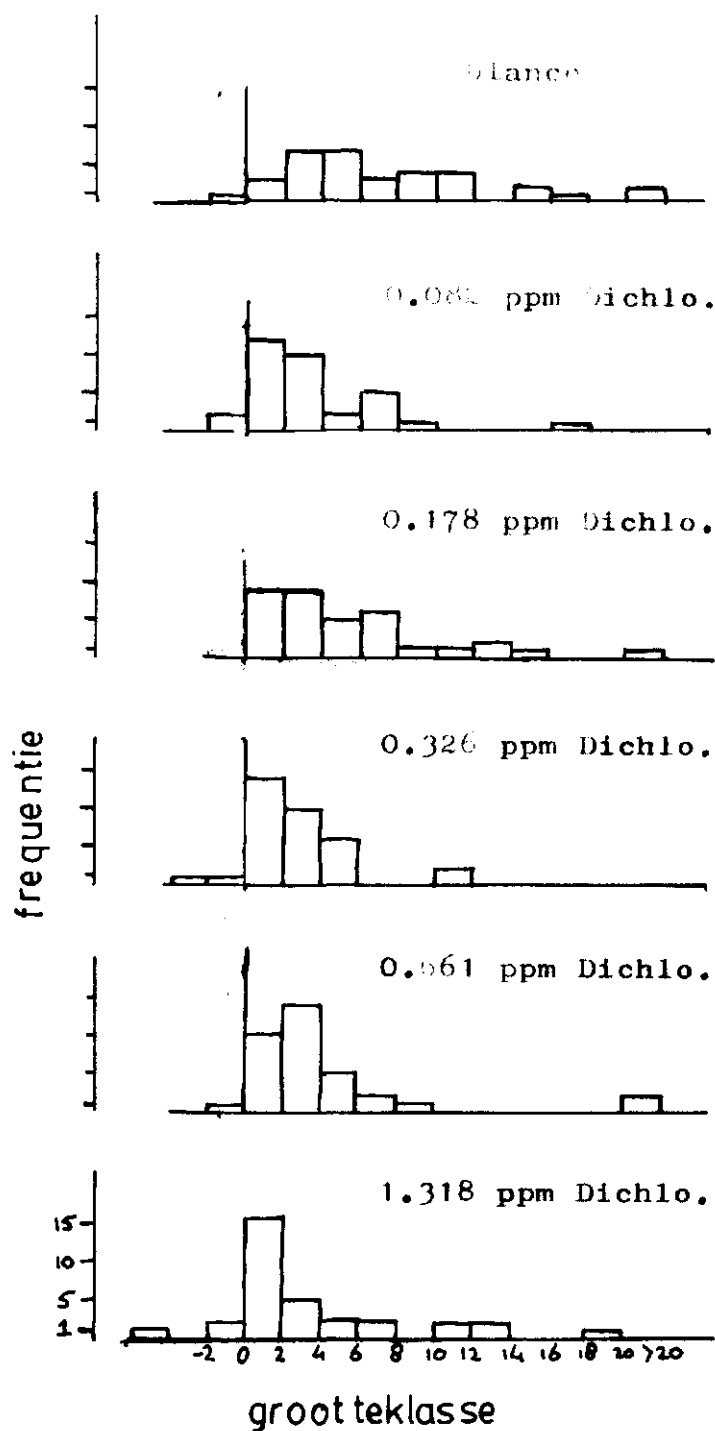


fig. 4a De frequentie van de filteringsrate, ingedeeld in grootteklassen per Dichlobenil concentratie.

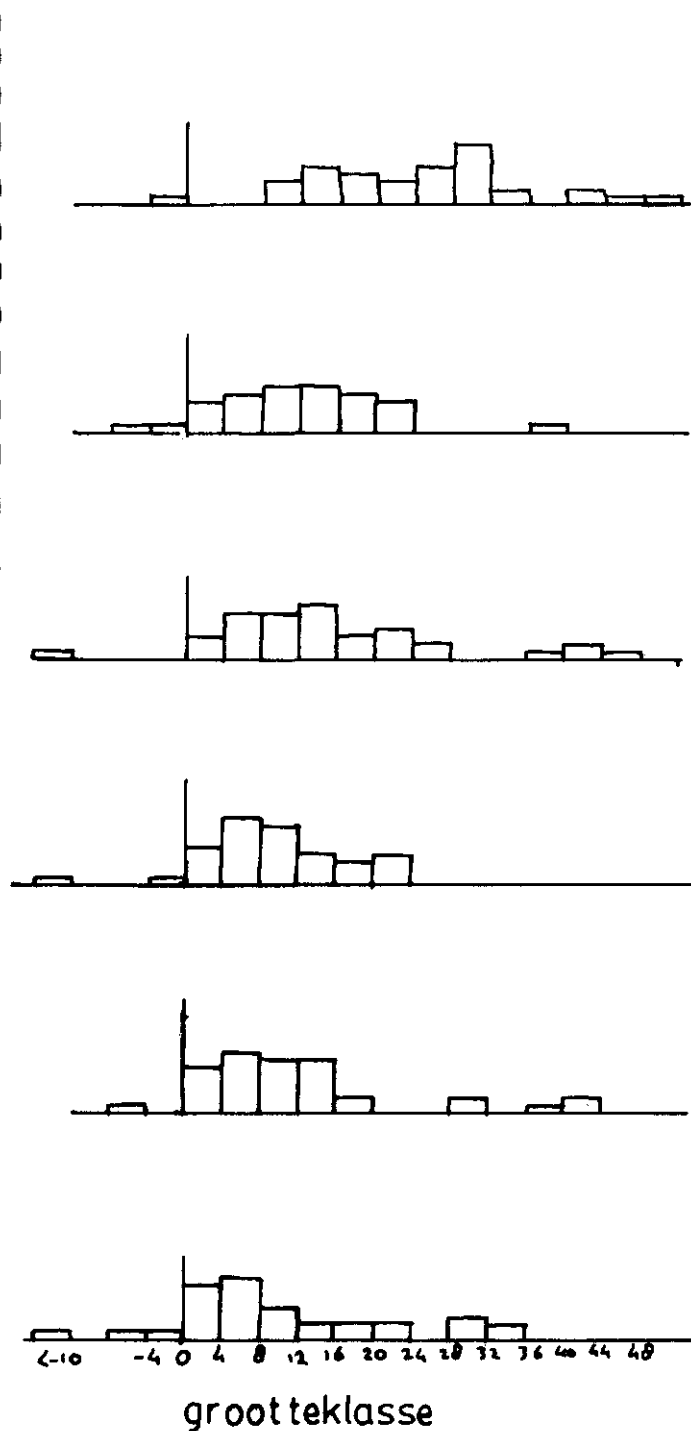


fig. 4b De frequentie van de Feedingrate, ingedeeld in grootteklassen per Dichlobenil concentratie.

Uit bovenstaande frequentie verdelingen wordt duidelijk, dat onder invloed van een toenemende Dichlobenil concentratie, een steeds schevere verdeling ten aanzien van de grootteklassen optreedt. De waarden van zowel de filteringsrate als de Feedingrate worden

steeds lager en de onderlinge verschillen vallen steeds meer weg. Er gaat dus een sterk nivellerende werking uit van Dichlobenil op de voedselopname.

Ondanks het verwerpen van een aantal uitschieters in de filteringrate en Feedingrate, lukte het mij niet om vanuit een gemid. maximale filteringrate en Feedingrate het Incipient Limiting Level te berekenen.

Om een duidelijke concentratie-effect relatie en een mogelijke verschuiving van het Incipient Limiting Level, zoals aangegeven door Henk van de Honing, te vinden is het toch noodzakelijk om de resultaten kwantitatief te vergelijken.

Door Kersting & van der Leeuw (1976) is een methode gegeven om uitgaande van het Feeding model, zoals beschreven in de inleiding, de gemiddelde maximale filteringrate en Feedingrate en het Incipient Limiting Level te berekenen. Door de enorme uitschieters bleek deze iteratieve methode gebaseerd op gemiddelde bepalingen niet mogelijk.

Daarom heb ik via hetzelfde principe, maar met de mediane waarde ipv. de gemiddelde waarde, de ligging van het Incipient Limiting Level bepaald.

Aan de hand van een voorbeeld zal ik dit uitleggen. Als voorbeeld neem ik de filteringrate en Feedingrate uit de graasexperimenten waaraan geen Dichlobenil is toegevoegd.

Stel Incipient Limiting Level = $3 \cdot 10^6 \mu^3 \cdot \text{ml}^{-1}$. Ik tel alle filteringrates gevonden bij een voedselconcentratie, die kleiner is dan deze veronderstelde Incipient Limiting Level waarde. In dit geval zijn dit 13 stuks. De mediane waarde is dus het 7^e getal in aflopende volgorde bij voedselconcentraties beneden het Incipient Limiting Level. (Hierbij is het eerste getal het getal met de hoogste waarde, het tweede getal de één na hoogste en zo verder). De mediane filteringrate heeft dan een waarde 11,13.

Dit gebeurt op dezelfde manier voor de mediane Feedingrate, maar nu wordt gekeken bij voedselconcentraties die boven de waarde van $3 \cdot 10^6 \mu^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ liggen. In dit geval zijn er 21 stuks, zodat de mediane waarde bepaald wordt door het 11^e getal in aflopende volgorde. Op deze manier vind ik een Feedingrate met een waarde 28,71.

Het Incipient Limiting Level wordt berekend volgens formule:

$$\frac{F_{med.}}{f_{med.}} = ILL \quad \frac{28.71}{11.13} = 2.58$$

Uitgaande van deze nieuwe waarde voor het Incipient Limiting Level wordt de procedure opnieuw gestart. Dit wordt net zolang herhaald tot het Incipient Limiting Level zo nauwkeurig mogelijk is bepaald.

tabel 6a

De waarden van het Incipient Limiting Level, berekend volgens bovengenoemde procedure, per Dichlo. concentratieklasse

Dichlo. conc.	ILL
0	2.53
0.082	1.76
0.178	1.94
0.326	2.38
0.661	2.07
1.318	3.19

De berekende Incipient Limiting Level waarden geven een erg wisselend beeld te zien. Hieruit is geen conclusie te trekken omtrent een eventuele verschuiving van het Incipient Limiting Level in een bepaalde richting.

Naast de mediane waarde, zijn ook de zgn. 100, 75, 25 en 0 percentielen van de filteringrate en de Feedingrate bepaald. Deze staan vermeld in tabel 7a en 7b en zijn in zgn. box plots weergegeven in fig 5a en 5b.

tabel 7a

De 50, 100, 75, 25 en 0 percentielen van de filteringrate.

Di.conc.(ppm)	50	75	25	100	0	mediaan (%)
0	11.13	14.01	8.46	27.79	-0.20	100
0.082	7.6	7.82	5.94	16.49	1.37	68
0.178	7.43	13.17	7.05	19.42	3.11	67
0.326	4.22	5.22	4.15	11.34	-2.26	38
0.661	4.92	8.20	3.98	32.70	2.38	44
1.318	2.70	11.38	1.32	19.55	-1.86	24

tabel 7b

De 50, 100, 75, 25 en 0 percentielen van de Feedingrate.

Di.conc.(ppm)	50	75	25	100	0	mediaan (%)
0	28.71	31.25	24.73	48.30	- 3.57	100
0.082	13.38	19.22	7.45	38.38	- 5.82	47
0.178	14.40	21.85	11.36	46.88	-14.71	50
0.326	10.03	16.40	6.29	23.77	-33.43	35
0.661	10.16	15.22	5.48	43.06	- 7.32	35
1.318	8.62	10.21	5.39	35.66	-25.05	30

Bekijken we de mediane waarde van de filteringrate en de Feedingrate in tabel 7a en 7b, dan zien we een duidelijke afname optreden bij toenemende Dichlobenil concentratie. De concentratie-effect relatie is niet zo duidelijk. Een Dichlobenil concentratie klasse van 0.082 - 0.178 ppm. levert een gelijke remming op. Dit zelfde verschijnsel vinden we bij de Dichlobenil concentratie klasse van 0.326 en 0.661 ppm. De percentuele waarde van de filteringrate ten opzichte van de filteringrate in graasexperimenten zonder Dichlobenil toevoeging bedraagt tussen de 68 - 24 % bij toenemende Dichlobenil concentratie.

De Feedingrate neemt ten opzichte van de blanco experimenten af van 47 - 30 %.

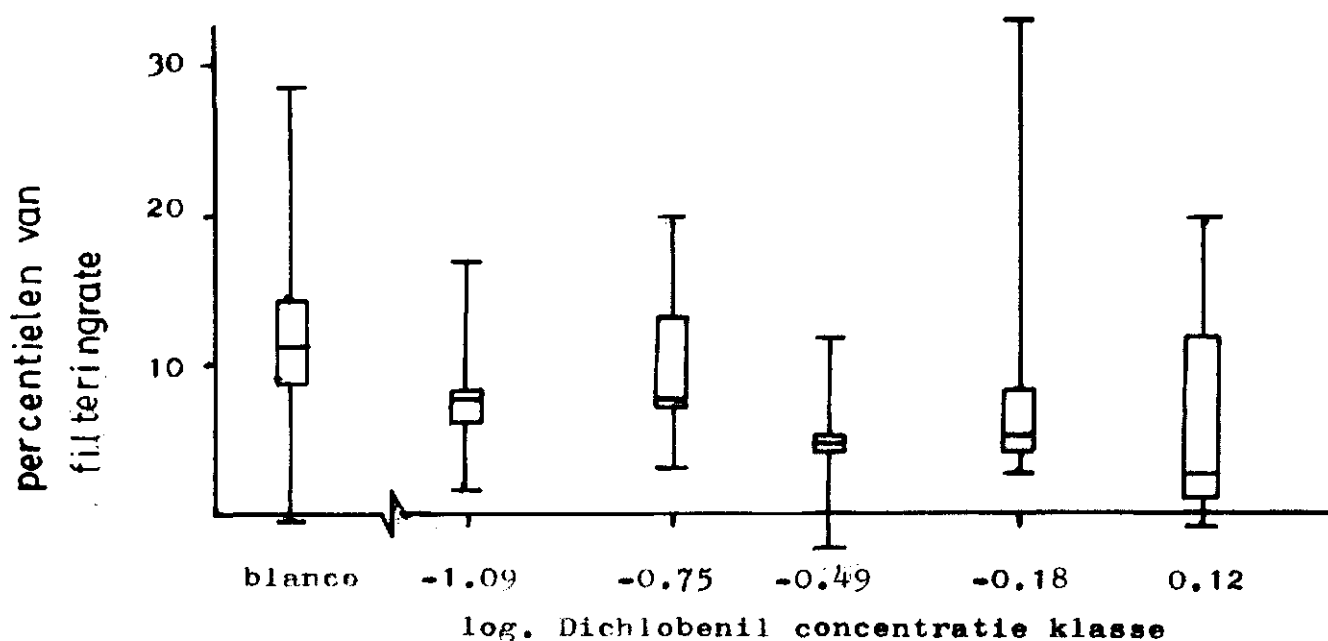


fig.5a De 100, 75, 50, 25 en 0 percentielen van de filteringrate zijn als box plots weergegeven per logaritme van de Dichlobenil concentratie.

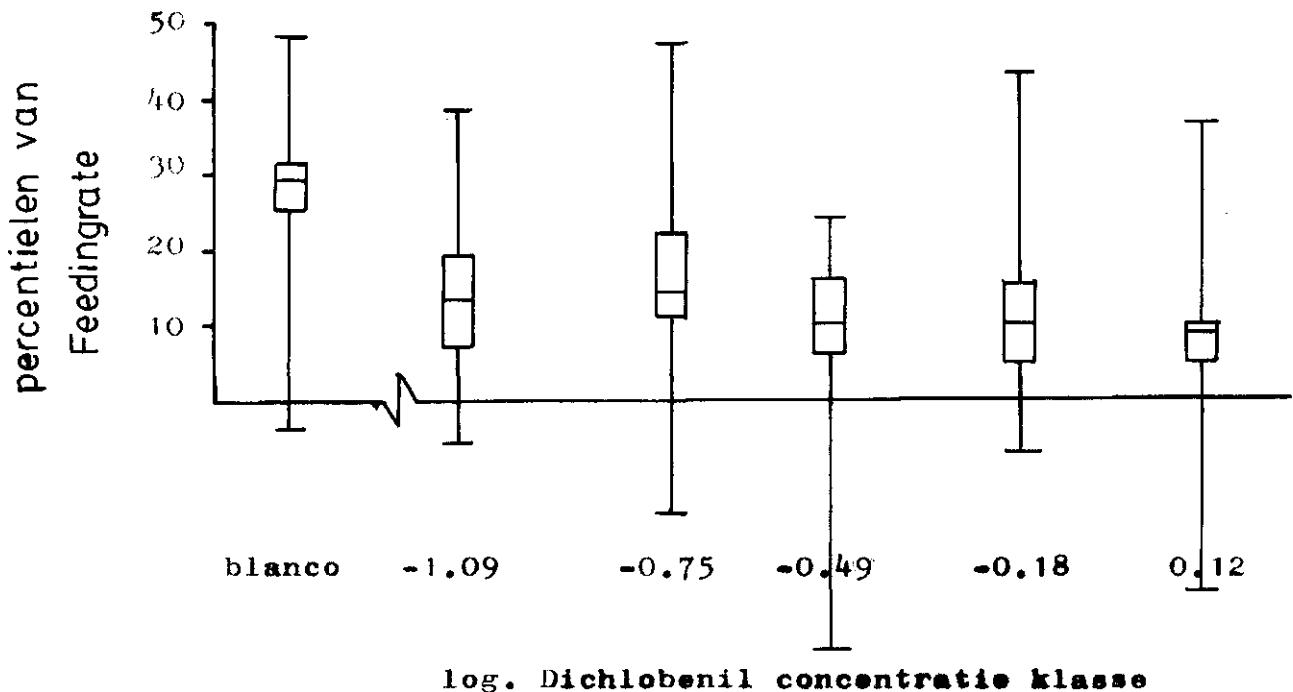


fig.5b De 100, 75, 50, 25 en 0 percentielen van de Feedingrate zijn als box plots weergegeven per logaritme van de Dichlobenil concentratie.

NB. De Dichlobenil concentratie is uitgezet op een logaritmische schaal. Dit is een veel gebruikte manier omdat de respons op een stof vaak op logaritmische wijze beïnvloed wordt.

Bekijken we de figuren 5a en 5b, dan is hierin wel degelijk een lijn te zien die de concentratie - effect relatie aangeeft. We vinden duidelijk een tendens van afnemende filteringrate en Feedingrate onder invloed van toenemende Dichlobenil concentratie.

Samenvattend blijkt uit de graasexperimenten dat onder invloed van Dichlobenil een remming optreedt in zowel filteringrate als Feedingrate. De remming is sterker dan die gevonden door Henk van de Honing. (Halvering van voedselopname bij concentratie van 1 mg.l^{-1})

Door de grote variatie in de graasexperimenten is echter geen

kwantitatieve concentratie - effect relatie aan te geven. Hierdoor bleek het niet mogelijk om een eventuele verschuiving van het Incipient Limiting Level te ontdekken.

3.5 Inhibitie Chlorella cultuur mbv. een sterke lichtbron.

Om de Chlorella suspensie in haar groei te kunnen remmen, heb ik deze alvorens in de graasexperimenten te gebruiken, c.a. $1\frac{1}{2}$ uur aan een hoge lichtintensiteit blootgesteld. Dit heb ik bij exp. 8 en de daarop volgende experimenten gedaan. Vanaf exp. 15 is gebruik gemaakt van een mogelijk nog lichtgevoeliger Chlorella cultuur.

In onderstaande tabel 8 heb ik alle "filteringrates" afkomstig uit de blanco bepalingen gezet. Met behulp van deze waarden is steeds de filteringrate uit de graasexperimenten gecorrigeerd.

tabel 8

"Filteringrate" gemeten in de blanco flesjes per experiment.

exp.	voedsel conc. ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$)	-/+ Dichl.toevoeg.	totale "f.rate" ($\text{ml} \cdot \text{hr}^{-1} \cdot \text{fles}^{-1}$)
2	19	-	-2.42
	19	+	-2.06
3	16	+	-3.08
4	24	-	-1.75
	24	+	-1.58
5	22	-	-3.40
	21	+	-3.86
6	7	-	-1.21
	7	+	-1.60
7	17	-	-0.61
	17	+	-0.27
8	18	-	-0.73
	18	+	-0.54
9	17	-	-0.61
	17	+	-0.28
10*	17	-	-1.96
	17	+	-2.19

exp.	voedsel conc. ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$)	-/+ Dichl.toevoeg.	totale "f.rate" ($\text{ml} \cdot \text{hr}^{-1} \cdot \text{fles}^{-1}$)
11	7	+	0.48
12	2	-	-0.55
	16	+	-1.00
13	4	-	-0.74
	17	+	-0.90
14	4	-	0.46
	4	+	0.27

15	10	-	0.93
	10	+	-0.37
	27	-	0.47
16	10	-	0.22
	10	+	0.38
17	9	-	1.22
	9	+	1.31
18	4	-	0.68
19	15	-	1.52
	15	+	0.72
20	14	-	-0.05
	14	+	-0.08
21	9	-	-0.24
	9	+	0.15
22	14	-	-0.02
	14	+	-0.74
23	17	-	-1.67
	17	+	-0.55

* slechte duplo's, waarschijnlijk foutief

- "f.rate" = groei van de Chlorella cultuur.

+ "f.rate" = afname van de Chlorella suspensie in de flesjes.

NB. een totale "filteringrate" per blanco flesje variërend tussen de waarden -1.0 en +1.0 betekent in feite dat het verschil tussen begin- en eindconcentratie binnen het 95% betrouwbaarheids interval valt. (Dit geldt bij een volume-medium van 80 ml.)

In fig.6 zijn de "filteringrate" waarden uit tabel 8 in beeld gebracht. Ze staan gepresenteerd in volgorde van oplopende Chlorella concentratie in plaats van in experiment volgorde. Uiteraard blijven de grenzen exp.8 en exp.15 gehandhaafd. Ik heb tevens het 95% betrouwbaarheids interval aangegeven.

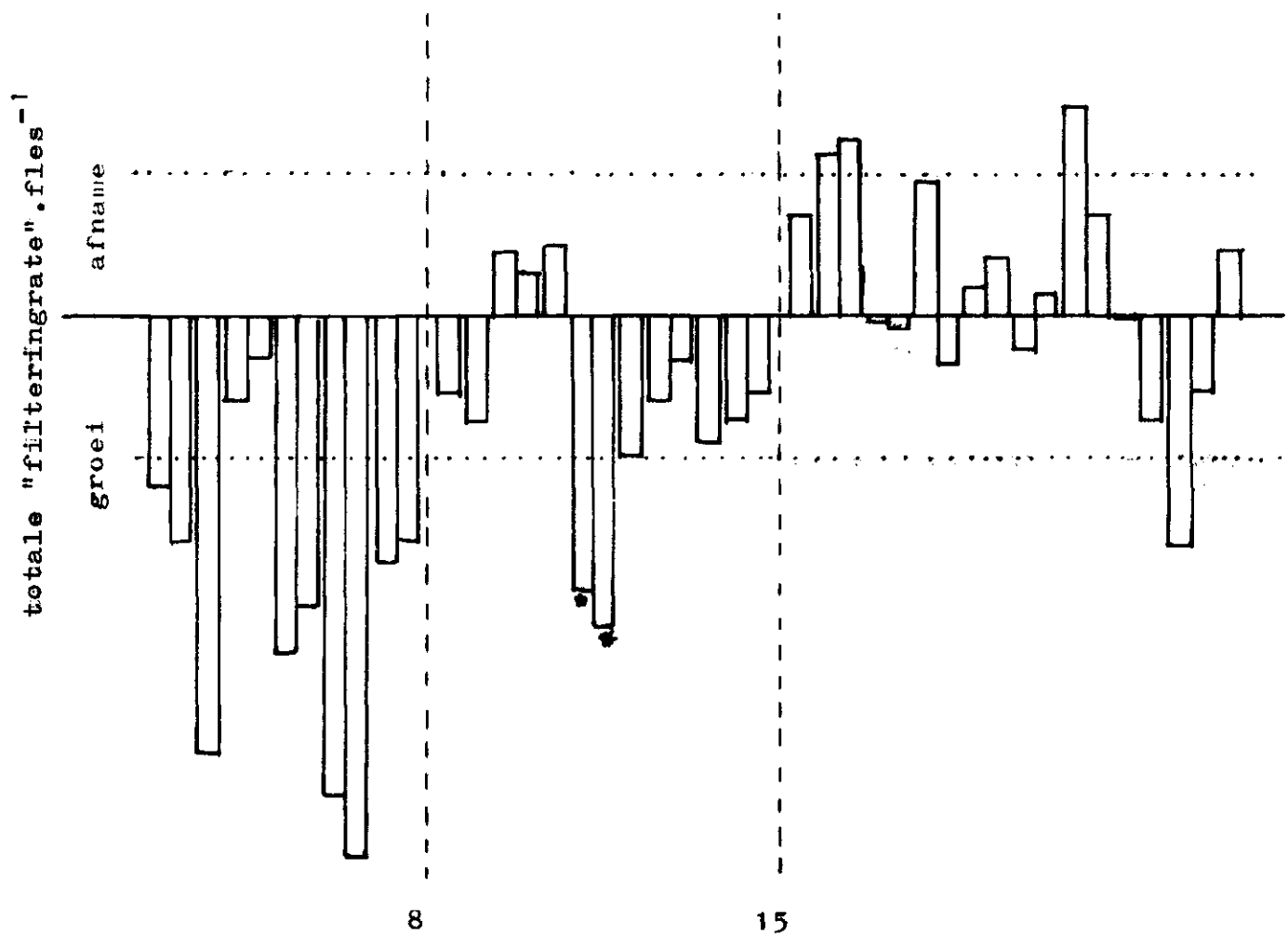


fig.6 "Filteringrate" gemeten in de blanco flesjes.

Door blootstelling aan hoge lichtintensiteit wordt de Chlorella suspensie in haar groei geremd. Dit blijkt duidelijk uit fig.6 . De "filteringrate" van de blanco flesjes vallen nu bijna allemaal binnen de 5% spreiding. De factor waarmee de filteringrate uit de graasexperimenten gecorrigeerd moet worden, is bij lichtremming gelukkig een stuk kleiner geworden. Het eventuele storende effect dan hiervan uitging zal nu veel kleiner zijn. In tegenstelling tot de blanco bepalingen zonder lichtremming, is de "filteringrate"

in de latere experimenten vaak positief. Dit betekent dat er negatieve groei optreedt in de blanco flesjes. Waarschijnlijk wordt dit veroorzaakt doordat ondanks het tussendoor omschudden van de flesjes, toch uitzakken van Chlorella deeltjes optreedt.

Wat betreft deze manier van groeiremming, heb ik één aanname gemaakt. Ik ben er van uitgegaan dat de lichtremming van de Chlorella geen invloed heeft op de voedselopname van de Daphnia's. Het is niet precies bekend wat er met de Chlorella deeltjes gebeurt na een lichtschok.

Ik heb echter geen aanwijzingen dat de Chlorella zodanig verandert, waardoor ze voor Daphnia's minder aantrekkelijk wordt als voedsel.

Ik heb dit niet expliciet uitgetest. Als dit in zekere mate het geval zou zijn, dan maakt dat in het kader van mijn graasexperimenten niet zo veel uit, omdat dit effect in alle matrixelementen op zou treden.

Uit fig.6 en tabel 8 blijkt tevens, dat er geen verschil is tussen blanco bepalingen met en zonder Dichlobenil toevoeging. Hieruit mogen we afleiden dat Dichlobenil noch een remmend noch een stimulerend effect heeft op de groei van Chlorella.

Ditzelfde is ook gevonden door Daams & Barnstey (1961). Zij vonden geen inhibitie van de fotosynthes bij Chlorella en Scenedesmus onder invloed van Dichlobenil.

4. LITERATUUR

- Adema, D.M.M., 1978. *Daphnia magna* as a test animal in acute and chronic toxicity test. *Hydrobiologia* 59 (2); 125 - 134.
- Anderson, B.G. & J.C. Jenkins, 1942. A time study of events in the life span of *Daphnia magna*. *Biological Bull.* 83: 260 - 271.
- Beynon, K.I. & A.N. Wright, 1972. The fates of the herbicides Chlorthiamid and dichlobenil in relation to residues in crops, soils and animals. *Residue Reviews* 43: 23 - 53.
- Borgmann, U., 1977. Electron transport system activity in *Daphnia* and crayfish. *Can. J. Zool.* 55: 847 - 854.
- Burns, C.W., 1969. Relation between filtering rate, temperature, and bodysize in four species of *Daphnia*. *Limnol. and Oceanogr.* 14: 693 - 700.
- Busschbach, E.J. van & H. Elings, 1967. The use of dichlobenil against aquatic weeds in ditches and ponds. *Proc. EWRS 2nd Symp. on Aquatic Weeds*; 130 - 138.
- Capuzzo, J.M., 1979. The effects of halogen toxicants on survival, feeding, and egg production of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Estuarine Coastal Mar. Sci.* 8: 307 - 316.
- Cope, O.B., J.P. McCraren & E. Lafayette, 1969. Effects of dichlobenil on two fishpond environments. *Weed Sci.* 17: 158 - 165.
- Canton, J.H. & D.M.M. Adema, 1978. Reproducibility of short-term and reproduction toxicity experiments with *Daphnia magna*, *Daphnia pulex* and *Daphnia cucullata* in shortterm experiments. *Hydrobiologia* 59 (2): 135 - 140.
- Daams & Barnstey, 1961. In Busschbach, E.J. van & H. Elings, 1967. The use of dichlobenil against aquatic weeds in ditches and ponds. *Proc. EWRS 2nd. Symp. on Aquatic Weeds.*, 130 - 138.
- Frank, P.A. & R.D. Gomes, 1967. Herbicidal residues in pond-water and hydrosol. *Weeds* 15: 210 - 213.
- Green, J., 1957. *Daphnia* the waterflea. *New Biology* 23: 48 - 64.
- Gulatti, R.D., 1978. The ecology of common planktonic Crustacea of the freshwaters in the Netherlands. *Hydrobiologia* 59 (2): 101 - 112.
- Honing, H. van der, 1979. De voedselopname van *Daphnia magna* onder invloed van het herbicide dichlobenil (2,6 dichloorbenzonitril); Doctoraal Stageverslag. Rijksinstituut voor Natuurbeheer, Leersum. 72 p.

- Kersting, K., 1978c. The growth efficiency of *Daphnia magna* II. The effect of temperature. *Hydrobiol. Bull.* 12 (2): 99 - 106.
- Kersting, K. & W. Holterman, 1973. The feeding behavior of *Daphnia magna* studied with the Coulter Counter. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 18: 1434 - 1440.
- Kersting, K. & H. van der Honing, 1981. Effect of the herbicide dichlobenil on the feeding and filtering rate of *Daphnia magna*. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 21: 1135 - 1140.
- Kersting, K. & W. van der Leeuw, 1976. The use of the Coulter Counter for measuring the feeding rates of *Daphnia magna*. *Hydrobiologia* 49 (3): 233 - 237.
- Koopmans, H. & J. Daams, 1960. 2,6 dichlorobenzonitril, a new herbicide. *Nature* 186: 89 - 90.
- Lampert, W., 1974. A method for determining food selection by zooplankton. *Limnol. Oceanogr.* 19: 995 - 998.
- McMahon J.W., 1965. Some physical factors influencing the feeding behavior of *Daphnia magna* Str. *Can. J. Zool.* 43: 603 - 611.
- McMahon, J.W. & F.H. Rigler, 1963. Mechanisms regulating the feeding rate of *Daphnia magna* Str. *Can. J. Zool.* 41: 321 - 332.
- McMahon, J.W. & F.H. Rigler, 1965. Feeding rate of *Daphnia magna* Str. in different foods labelled with radioactive phosphorus. *Limnol. Oceanogr.* 10 (1): 105 - 113.
- Moraitou-Apostolopoulou, M. & G. Verriopoulous, 1979. Some effects of sublethal concentrations of copper on a marine copepod. *Mar. Pollut. Bull.* 10: 88 - 92.
- Nauwerk, A., 1959. Zur Bestimmung der Filtrier rate limnischer Planktontiere. *Arch. Hydrobiol.* 25: 83 - 101.
- Newbold, C., 1975. Herbicides in aquatic systems. *Biol. Conserv.* 7: 98 - 118.
- Pott, E., 1982. Experimentelle Untersuchungen zur Wirkung von Herbiziden auf die Futteraufnahme von *Daphnia pulex* Forbes. *Arch. Hydrobiol.* 59 (4): 330 - 358.
- Reeve, M.R., M.A. Walter, K. Darcy & T. Ikeda, 1977. Evaluation of potential indicators of sublethal toxic stress on marine zooplankton (feeding, fecundity, respiration, and excretion): Controlled ecosystem pollution experiment. *Bull. Mar. Sci.* 27: 105 - 113.

- Reeve, M.R., J.C. Gamble & M.A. Walter, 1977. Experimental observations on the effects of copper on copepods and other zooplankton: Controlled ecosystem pollution experiment. *Bull.Mar.Sci.* 27 (1) 92 - 104.
- Rigler, F.H., 1961. The relation between concentration of food and feedingrate of *Daphnia magna* Strauss. *Can.J.Zool.* 39: 857 - 868.
- Ringelberg, J., 1970. Het temperatuur optimum van *Daphnia magna*. *Med. Hydrobiol. Ver.* 4: 153 - 157.
- Ringelberg, J., 1973. Parameter dependant (temperature) tolerance levels and the influence of the complexity of the biological system. *Hydrobiol.Bull.* 7: 106 - 115.
- Rijkeboer, M., 1981. Primaire productie metingen met de incubator; Doctoraal Stageverslag. Vakgroep Aquatische Oecologie, Univ. v. Amsterdam. 65 p.
- Rijther, J.H., 1954. Inhibitory effects of phytoplankton upon the feeding of *Daphnia magna* with reference to growth, reproduction and survival. *Ecology* 35: 522 - 533.
- Schindler, D.W., 1968. Feeding, assimilation, and respiration rate of *Daphnia magna* under various environmental concitions and their relation to production estimates. *J.Anim. Ecology* 37: 369 - 385.
- Schober, U. & W. Lampert, 1977. Effects of sublethal concentrations of the herbicide Atrazin on growth and reproduction of *Daphnia pulex*. *Bull.Environ.Contam.Toxicol.* 17: 269 - 277.
- Steemann-Nielsen, E. & E.G. Jørgensen, 1968 a. The adaptation of plankton algae. *Physiol.Plant.* 21: 401 - 413, 647 - 654.
- Tooby, T.E., 1972. Pollution studies: Toxicity of dichlobenil to roach *Rutilus rutilus*. Annual report Salmon and Freshwater Fisheries Laboratories. (MAFF) 24 - 25.
- Valin, C.C. van, 1966. Persistence of 2,6 dichlorobenzonitril in aquatic environments. *Adv. in Chem.Ser.* 60: 271 - 279.
- Verloop, A., 1972. Fate of dichlobenil in plants and soils. *Residue Reviews* 43: 55 - 99.
- Wiersma-Roem, W.J. et al, 1978. Sub-acute toxicity of the herbicide dichlobenil in rainbowtrout. *Proc.EWRS 5th. Symp.* on aquatic weeds.
- Wit, J.G. & H. van Genderen, 1966. The monophenolic metabolites of the herbicide 2,6 dichlorobenzonitril in animals as uncouplers of oxidative phosphorylation. *Bioch.J.* 101: 707-709.

5. APPENDIX

Samenstelling Chlorella kweekmedium.

per liter gedestilleerd water.

- 1 30 mg NH_4NO_3
- 2 10 mg $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
- 3 5 mg $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- 4 2.5 ml Fe-EDTA oplossing
 - 400 mg EDTA
 - 500 mg $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4) \cdot 12\text{H}_2\text{O}$
- 5 2.0 ml spore oplossing
 - 2 gr $\text{Na}_2(\text{B}_2\text{O}_4) \cdot 10\text{H}_2\text{O}$
 - 300 mg $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
 - 200 mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
 - 20 mg $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
 - 250 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
 - 200 mg $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$
 - 500 mg $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
 - 4.3 gr EDTA
- 6 70 mg NaHCO_3
- 7 5 mg KH_2PO_4

pH $\pm$ 8

EXP.3; 2 maart 1982.

MATRIX 1: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate
en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{hr.}^{-1}$)
8	0.51	3.59	51.86
10	6.03	9.11	9.52
21	5.15	8.23	22.10
25	-0.29	2.79	25.45
35	-2.51	0.57	8.67
37	5.09	8.17	11.96
44	-2.22	0.86	12.96
47	0.28	3.36	6.27
50	-0.86	2.22	11.62
b1.+	-3.08		

EXP.4; 8 maart 1982.

MATRIX 1: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate
en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{hr.}^{-1}$)
1	9.76	11.42	11.28
13	1.02	2.68	12.15
22	1.59	3.25	14.92
27	-1.43	0.23	5.17
29	3.48	5.14	8.96
30	0.99	2.65	8.49
41	-0.77	0.89	5.54
43	-1.12	0.54	6.77
54	-1.16	0.50	11.45
b1.-	-1.75	} -1.66	
b1.+	-1.58		

EXP.5; 9 maart 1982.

MATRIX 1: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate
en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6$.hr. ⁻¹)
5	11.86	15.49	75.15
14	3.15	6.78	15.94
17	- 1.15	2.48	40.54
19	12.48	16.11	12.96
20	7.89	11.52	15.63
23	3.27	6.90	33.42
36	- 1.99	1.64	34.63
38	0.72	4.35	6.78
51	- 2.29	1.34	10.50
b1.-	- 3.40	} - 3.63	
b1.+	- 3.86		

EXP.6; 15 maart 1982.

MATRIX 1: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate
en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6$.hr. ⁻¹)
2	17.43	18.83	18.41
3	12.47	13.87	19.55
16	2.04/6.51	3.44/7.91	25.02/44.91
31	5.31	6.71	17.16
32	2.47/8.28	3.87/9.68	13.10/29.72
34	0.16/2.10	1.56/3.50	11.37/26.93
40	2.43	3.83	9.97
48	2.12	3.52	6.39
52	- 0.45	0.95	6.83
b1.-	- 1.21	} - 1.40	
b1.+	- 1.60		

EXP.7; 16 maart 1982.

MATRIX 1: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate
en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{hr.}^{-1}$)
6	5.07	5.51	29.88
11	8.94	9.38	9.79
12	7.62	8.06	16.05
18	-0.21/2.45	0.23/2.89	3.92/46.06
24	4.41	4.85	26.22
26	-0.14/1.85	0.30/2.29	4.06/29.49
28	13.17	13.61	7.14
39	7.28	7.72	14.75
42	2.21	2.65	15.35
b1.-	-0.61	-0.44	
b1.+	-0.27		

EXP.8; 22 maart 1982.

MATRIX 2: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate
en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{hr.}^{-1}$)
8	1.29	1.93	27.34
17	0.82	1.46	20.50
24	4.25	4.89	29.04
26	1.20	1.84	25.89
27	1.20	1.84	31.72
33	2.92	3.56	22.23
34	2.87	3.51	29.95
35	1.22	1.86	25.27
53	1.29	1.93	26.21
b1.-	-0.73	-0.64	
b1.+	-0.54		

EXP.9: 28 maart 1982.

MATRIX 2: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate
en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6$.hr. ⁻¹)
23	5.28	5.72	40.50
29	9.33	9.77	10.73
31	10.76	11.20	30.95
38	8.34/10.76	8.78/11.20	9.60/11.70
42	5.94	6.38	36.23
45	1.50	1.94	32.43
48	9.39	9.83	20.16
54	1.08	1.52	26.14
b1.-	-0.61	-0.44	
b1.+	-0.28		

EXP.10: 2 april 1982.

MATRIX 2: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate
en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6$.hr. ⁻¹)
3	7.62	9.70	17.91
9	0.33	2.41	37.75
16	0.77	2.85	22.05
20	5.92	8.00	8.49
22	3.35	5.43	14.71
30	4.69	6.77	13.31
32	1.74	3.82	10.56
37	3.08/5.26	5.16/7.34	3.43/4.68
46	0.44	2.52	1.63
b1.-	-1.96	-2.08	
b1.+	-2.19		

EXP.11: 5 april 1982.

MATRIX 2: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate
en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{hr.}^{-1}$)
1	2.56	2.08	1.07
2	13.05	12.57	10.67
5	10.20	9.72	35.02
6	4.51	4.03	23.59
11	14.23	13.75	14.67
19	16.68	16.20	7.14
39	7.32	6.84	13.62
47	-	-	-
50	6.74	6.26	24.25
b1.+	0.48		

EXP.12: 8 april 1982.

MATRIX 2: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate
en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{hr.}^{-1}$)
4	5.28	6.06	17.37
7	3.72	4.50	33.97
12	-	-	-
14	3.19/-0.09	3.97/0.69	13.88/2.14
21	2.94	3.72	7.59
28	4.29	5.07	3.89
36	-3.56	-2.78	-40.91
40	0.77	1.55	4.56
51	-6.83	-6.05	-30.66
b1.-	-0.55	-0.78	
b1.+	-1.00		

EXP.13: 16 april 1982.

MATRIX 2: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{hr.}^{-1}$)
10	3.87/6.86	4.69/7.68	2.47/4.35
13	1.06	1.88	6.37
15	-1.74/1.65	-0.92/2.47	- 5.32/15.27
18	0.33	1.15	20.35
25	0.52	1.34	12.38
32	-0.10	0.72	3.29
41	1.69	2.51	10.32
43	-0.50	0.32	2.99
44	-1.34	-0.52	- 7.44
38	1.86/2.82	2.68/3.64	2.65/3.50
49	-1.10	-0.28	- 1.02
b1.-	-0.74	-0.82	
b1.+	-0.90		

EXP.14: 20 april 1982.

MATRIX 3: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{hr.}^{-1}$)
3	22.43/20.50	22.07/20.14	42.11/35.89
3	15.08	14.72	31.57
31	5.05	4.69	15.74
31	5.85	5.49	19.10
39	6.26/8.21	5.90/7.85	13.16/18.44
39	9.58	9.22	20.68
41	4.83	4.47	19.49
41	5.60	5.24	23.98
42	2.16	1.80	12.70
42	2.79	2.43	16.19
b1.-	0.46	0.36	
b1.+	0.27		

EXP.15: 23 april 1982.

MATRIX 3: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate
en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{hr.}^{-1}$)
13	-3.22/0.70	-3.56/0.36	-26.07/2.84
13	1.02	0.68	5.39
29	3.87	3.53	8.54
29	3.10	2.76	6.86
35	0.76	0.42	5.62
35	1.54	1.20	15.68
44	0.70	0.36	4.83
44	0.73	0.39	5.24
b1.-	0.93	0.34	
b1.-	0.47		
b1.+	-0.37		

EXP.16: 26 april 1982.

MATRIX 3: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate
en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{hr.}^{-1}$)
6	6.93	6.63	30.59
6	5.72	5.42	34.90
7	4.20	3.90	34.54
7	4.39	4.09	36.28
15	4.47	4.17	27.86
15	4.17	3.87	26.28
34	3.00	2.70	24.48
34	1.85	1.55	14.22
36	1.08	0.78	14.10
36	1.18	0.88	15.73
43	2.67	2.37	21.48
43	-	-	-
b1.-	0.22	0.30	
b1.+	0.38		

EXP. 17: 27 april 1982.

MATRIX 3: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate
en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{hr.}^{-1}$)
2	16.94/15.63	15.68/14.37	14.26/12.44
2	14.78/16.69	13.52/15.43	12.09/13.45
8	4.03	2.77	31.93
8	4.70	3.44	40.29
12	11.13	9.87	16.94
12	13.15	11.89	19.72
24	4.73	3.47	18.18
24	4.33	3.07	16.18
49	1.90	0.64	1.99
49	2.22	0.96	2.76
51	2.51	1.25	6.96
51	1.75	0.49	2.69
b1.-	1.22	1.26	
b1.+	1.31		

EXP. 18: 27 april 1982.

MATRIX 3: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate
en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{hr.}^{-1}$)
5	10.34	9.66	35.45
5	8.48	7.80	27.28
19	17.76/11.84	17.08/11.16	9.09/6.67
19	15.81/28.88	15.13/28.20	8.77/13.48
21	5.66	4.98	10.06
21	8.78	8.10	15.33
30	5.53	4.85	10.05
30	4.42	3.74	7.99
b1.-	0.68		

EXP.19: 4 mei 1982.

MATRIX 3: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate
en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{hr.}^{-1}$)
10	2.81/5.58	1.69/4.46	1.12/3.02
10	2.08	0.96	0.74
14	1.17	0.05	0.19
14	3.04	1.92	7.34
18	1.06	-0.06	-0.98
18	0.87	-0.25	-4.09
27	0.48	-0.64	-10.34
27	1.17	0.05	0.79
28	4.08/1.80	2.92/0.68	2.09/0.51
28	4.29	3.17	2.17
bl.-	1.52	} 1.12	
bl.+	0.72		

EXP.20: 10 mei 1982.

MATRIX 3: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate
en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{hr.}^{-1}$)
9	1.25	1.31	18.53
9	0.70/4.02	0.76/4.08	10.68/53.44
23	7.05	7.11	24.02
23	6.65	6.71	22.69
37	12.59/18.45	12.65/18.51	6.41/8.31
37	18.84	18.90	8.08
45	1.11	1.17	16.52
45	1.28	1.34	18.46
52	2.35	2.41	19.31
52	2.49	2.55	20.61
bl.-	-0.05	} -0.06	
bl.+	-0.08		

EXP.21: 11 mei 1982.

MATRIX 3: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate
en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{hr.}^{-1}$)
1	15.41	15.45	7.55
1	12.52/14.54	12.56/14.58	8.05/9.04
4	9.64	9.68	24.59
4	3.53	3.57	10.60
25	2.86	2.90	23.78
25	1.39	1.43	11.92
46	7.36	7.40	3.77
46	7.51	7.55	4.32
47	-1.94/5.83	-1.90/5.87	-1.67/5.97
47	10.83	10.87	10.78
50	-2.50/1.98	-2.46/2.02	-8.73/7.42
50	4.33	4.37	17.05
bl.-	-0.24	-0.04	
bl.+	0.15		

EXP.22: 12 mei 1982.

MATRIX 3: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate
en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{hr.}^{-1}$)
17	2.00/0.27	2.38/0.65	32.57/9.26
17	0.44	0.82	11.66
32	-0.10	0.28	1.18
32	0.96	1.34	5.46
33	1.20	1.58	9.64
33	5.06/0.11	5.44/0.49	30.56/3.02
37	-1.51/2.90	-1.13/3.28	- 1.25/3.91
37	3.31/7.52	3.69/7.90	4.41/8.81
48	-1.90	-1.52	-3.39
48	0.70	1.08	2.49
bl.-	-0.02	-0.38	
bl.+	-0.74		

EXP.23: 15 mei 1982.

MATRIX 3: Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate
en gecorrigeerde Feedingrate.

code	f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.f. rate (ml.hr. ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{hr.}^{-1}$)
13	8.01	9.12	24.98
13	5.16	6.27	17.81
20	2.93	4.04	4.57
20	8.54	9.65	9.72
22	7.44	8.55	22.56
22	3.32	4.43	12.46
26	0.16	1.27	16.59
26	-1.02/0.13	0.09/1.24	1.15/16.63
40	3.03	4.14	12.32
40	2.66	3.77	10.95
53	0.38	1.49	20.22
53	-0.13	0.98	13.14
b1.-	-1.67	-1.11	
b1.+	-0.55		

EXP.2; 1 maart 1982.

MATRIX 1: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $> 15 \mu^3$ in $\mu^3 \text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr. (T_0) en tijdstip 4 hr. (T_4).

T_0			T_4	
CODE	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$
4	3.641103E+06	3.240905E+06	3.307831E+06	2.941445E+06
	3.633768E+06	3.222816E+06	3.385169E+06	3.008370E+06
7	8.852732E+06	7.989007E+06	9.464075E+06	8.731480E+06
	9.232780E+06	8.360214E+06	8.368188E+06	7.263190E+06
9	17.176250E+06	15.650280E+06	18.186840E+06	16.981510E+06
	16.845960E+06	15.369330E+06	18.639260E+06	17.462040E+06
15	6.887949E+06	6.214301E+06	7.248151E+06	6.672589E+06
	7.020435E+06	6.339184E+06	7.185109E+06	6.611696E+06
33	6.998024E+06	6.328110E+06	7.602486E+06	7.022699E+06
	7.135633E+06	6.446111E+06	7.766887E+06	7.163594E+06
45	17.154290E+06	15.677620E+06	18.689610E+06	17.497350E+06
	17.473970E+06	16.112010E+06	19.317080E+06	18.071560E+06
46	0.850747E+06	0.687930E+06	0.824270E+06	0.674591E+06
	0.852528E+06	0.693206E+06	0.850304E+06	0.696173E+06
49	3.669360E+06	3.293940E+06	3.818899E+06	3.494478E+06
	3.819765E+06	3.427775E+06	4.010360E+06	3.664156E+06
53	14.064240E+06	12.847010E+06	14.940050E+06	13.938710E+06
	14.352340E+06	13.123980E+06	15.493980E+06	14.464140E+06

b1.-	17.795190E+06	16.272380E+06	19.671700E+06	18.565310E+06
	17.948470E+06	16.442080E+06	19.878440E+06	18.731580E+06
b1.+	18.008410E+06	16.587390E+06	19.708510E+06	18.580900E+06
	18.674660E+06	17.196560E+06	20.274570E+06	19.108320E+06

EXP.3; 2 maart 1982.

MATRIX 1: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $> 15 \mu^3$ in $\mu^3 \text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr. (T_0) en tijdstip 4 hr. (T_4).

CODE	T_0		T_4	
	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$
8	14.773730E+06	13.263240E+06	14.234170E+06	12.928380E+06
	14.619390E+06	13.097980E+06	14.163190E+06	12.879750E+06
10	1.139374E+06	0.875983E+06	0.736977E+06	0.524007E+06
	1.125012E+06	0.862470E+06	1.176554E+06	0.815235E+06
21	2.997730E+06	2.556322E+06	2.430590E+06	2.026163E+06
	2.942454E+06	2.507916E+06	2.368550E+06	1.986075E+06
25	9.294863E+06	8.232420E+06	9.334263E+06	8.433795E+06
	8.996095E+06	7.997380E+06	8.857020E+06	7.998635E+06
35	14.740990E+06	13.267860E+06	16.250880E+06	15.119740E+06
	14.458200E+06	13.046770E+06	15.374680E+06	14.276230E+06
37	1.369888E+06	1.023957E+06	1.089798E+06	0.799175E+06
	1.323659E+06	1.000166E+06	1.117941E+06	0.828561E+06
44	14.701410E+06	13.233490E+06	15.821120E+06	14.641040E+06
	14.401960E+06	12.984280E+06	15.377180E+06	14.233990E+06
47	1.909435E+06	1.526156E+06	1.889298E+06	1.537993E+06
	1.856710E+06	1.499888E+06	1.805819E+06	1.452015E+06
50	5.212012E+06	4.558960E+06	5.349940E+06	4.752442E+06
	5.121023E+06	4.471831E+06	5.193124E+06	4.623062E+06

bl.+	15.157310E+06	13.755810E+06	16.797760E+06	15.813100E+06
	14.814750E+06	13.470150E+06	16.394880E+06	15.442220E+06

EXP.4; 8 maart 1982.

MATRIX 1: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $> 15 \mu^3$ in $\mu^3 \text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr. (T_0) en tijdstip 4 hr. (T_4).

T_0			T_4	
CODE	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$
1	1.191038E+06	0.953552E+06	0.779555E+06	0.548321E+06
	1.154626E+06	0.918691E+06	0.824634E+06	0.594196E+06
13	4.617041E+06	4.071321E+06	4.414779E+06	3.914719E+06
	4.699067E+06	4.154698E+06	4.399710E+06	3.909498E+06
22	4.800379E+06	4.251496E+06	4.237770E+06	3.778045E+06
	4.778005E+06	4.238542E+06	4.544905E+06	4.063664E+06
27	21.717060E+06	19.721020E+06	23.179620E+06	21.491720E+06
	22.031240E+06	20.057040E+06	22.915630E+06	21.237810E+06
29	1.885632E+06	1.629702E+06	1.596739E+06	1.350933E+06
	1.877259E+06	1.606568E+06	1.612305E+06	1.362048E+06
30	3.291839E+06	2.894260E+06	3.068665E+06	2.710266E+06
	3.293990E+06	2.881828E+06	3.148721E+06	2.778842E+06
41	6.167536E+06	5.497805E+06	6.349833E+06	5.778214E+06
	6.160214E+06	5.519120E+06	6.251191E+06	5.679369E+06
43	12.362320E+06	11.259340E+06	12.734680E+06	11.793370E+06
	12.244770E+06	11.109210E+06	12.823810E+06	11.868310E+06
54	22.513720E+06	20.598360E+06	23.292910E+06	21.701440E+06
	22.310290E+06	20.397960E+06	23.414040E+06	21.763650E+06

b1.-	22.934390E+06	21.062370E+06	24.672910E+06	23.164260E+06
	23.164740E+06	21.235450E+06	24.672990E+06	23.238320E+06
b1.+	23.095460E+06	21.193900E+06	24.241470E+06	22.724350E+06
	22.704030E+06	20.857390E+06	24.525950E+06	22.987270E+06

EXP.5; 9 maart 1982.

MATRIX 1: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $>15\mu^3$ in $\mu^3\text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr. (T_0) en tijdstip 4 hr. (T_4).

T_0			T_4	
CODE	TOT. VOL.	VOL. $>15\mu^3$	TOT. VOL.	VOL. $>15\mu^3$
5	5.911007E+06	5.285341E+06	3.192378E+06	2.736634E+06
	5.449942E+06	4.920706E+06	-	-
14	5.449236E+06	4.949435E+06	4.816424E+06	4.294236E+06
	5.390979E+06	4.903412E+06	4.578137E+06	4.109163E+06
17	16.043600E+06	14.808340E+06	16.718630E+06	15.686310E+06
	15.980550E+06	14.755440E+06	16.643820E+06	15.626900E+06
19	0.941513E+06	0.783081E+06	0.526905E+06	0.418499E+06
	0.945803E+06	0.802750E+06	-	-
20	1.600820E+06	1.400634E+06	1.099770E+06	0.912782E+06
	1.585574E+06	1.384353E+06	1.138156E+06	0.951129E+06
23	5.209017E+06	4.724183E+06	4.430792E+06	3.986940E+06
	5.227684E+06	4.763667E+06	4.503162E+06	4.060615E+06
36	20.303500E+06	18.783650E+06	21.787750E+06	20.539090E+06
	20.230140E+06	18.725450E+06	22.156780E+06	20.956860E+06
38	1.594765E+06	1.419747E+06	1.598324E+06	1.380880E+06
	1.550776E+06	1.372829E+06	1.493381E+06	1.311410E+06
51	7.459718E+06	6.811369E+06	8.211649E+06	7.666475E+06
	-	-	-	-

b1.-	20.112940E+06	18.475680E+06	23.237050E+06	22.158090E+06
	20.155270E+06	18.693660E+06	23.396750E+06	22.297620E+06
b1.+	19.083160E+06	17.235860E+06	22.757190E+06	21.640560E+06
	19.744430E+06	18.253200E+06	23.000040E+06	21.847940E+06

EXP.6; 15 maart 1982.

MATRIX 1: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $>15\mu^3$ in $\mu^3\text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr.(T₀) en tijdstip 4 hr.(T₄).

	T ₀		T ₄	
CODE	TOT. VOL.	VOL.>15 μ^3	TOT. VOL.	VOL.>15 μ^3
2 *	1.495105E+06	1.322687E+06	0.648548E+06	0.510850E+06
	1.216884E+06	1.123039E+06	0.550022E+06	0.451121E+06
3	1.799053E+06	1.732620E+06	0.997433E+06	0.885764E+06
	1.823303E+06	1.729633E+06	1.017852E+06	0.908168E+06
16	7.727883E+06	7.535481E+06	6.913503E+06	6.682805E+06
	7.540101E+06	7.364794E+06	5.753117E+06	5.244797E+06
31	2.971410E+06	2.878176E+06	2.223806E+06	2.079729E+06
	2.787092E+06	2.707695E+06	2.245972E+06	2.123836E+06
32	3.662018E+06	3.558976E+06	3.188945E+06	3.047293E+06
	3.498850E+06	3.389737E+06	2.560980E+06	2.224484E+06
34	7.313449E+06	7.146988E+06	7.196832E+06	7.021752E+06
	8.127718E+06	7.934060E+06	7.324446E+06	7.154111E+06
40	2.738202E+06	2.658092E+06	2.444588E+06	2.303119E+06
	2.715896E+06	2.639646E+06	2.511398E+06	2.352033E+06
48	1.966470E+06	1.896171E+06	1.770919E+06	1.679120E+06
	1.840965E+06	1.772003E+06	1.684429E+06	1.598462E+06
52	7.043303E+06	6.869709E+06	7.290428E+06	7.107353E+06
	7.157887E+06	6.994383E+06	7.268254E+06	7.093701E+06

b1.-	7.261198E+06	7.115707E+06	7.496405E+06	7.391355E+06
	6.822984E+06	6.691841E+06	7.408944E+06	7.296097E+06
b1.+	6.641052E+06	6.504460E+06	7.228774E+06	7.125355E+06
	-	-	6.910414E+06	6.812024E+06

EXP.7; 16 maart 1982.

MATRIX 1: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $> 15 \mu^3$ in $\mu^3 \text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr. (T_0) en tijdstip 4 hr. (T_4).

T_0			T_4	
CODE	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$
6	6.234077E+06	5.984290E+06	4.927486E+06	4.613247E+06
	5.907897E+06	5.688422E+06	4.623851E+06	4.318433E+06
11	1.254515E+06	1.165986E+06	0.860989E+06	0.754221E+06
	1.251237E+06	1.158399E+06	0.808385E+06	0.698803E+06
12	2.224780E+06	2.101693E+06	1.687730E+06	1.526092E+06
	2.430134E+06	2.300957E+06	1.621143E+06	1.453206E+06
18	17.063340E+06	16.623920E+06	17.135090E+06	16.682470E+06
	16.805420E+06	16.370270E+06	14.946500E+06	14.492410E+06
24	5.976024E+06	5.781878E+06	4.913004E+06	4.620144E+06
	5.906931E+06	5.701962E+06	4.828839E+06	4.517056E+06
26	13.444810E+06	13.090620E+06	13.576640E+06	13.152860E+06
	13.431340E+06	13.030610E+06	12.320310E+06	11.887440E+06
28	0.692263E+06	0.615046E+06	0.384330E+06	0.293772E+06
	0.638852E+06	0.560386E+06	0.383876E+06	0.295048E+06
39	2.172234E+06	2.072344E+06	1.627926E+06	1.497003E+06
	2.300506E+06	2.190823E+06	1.542369E+06	1.418299E+06
42	6.158209E+06	5.970313E+06	5.414174E+06	5.095620E+06
	6.991976E+06	5.798095E+06	5.608473E+06	5.396815E+06

b1.-	17.416520E+06	17.025780E+06	17.806560E+06	17.534540E+06
	17.294300E+06	16.892350E+06	-	-
b1.+	17.064160E+06	16.670690E+06	17.032620E+06	16.759950E+06
	16.650740E+06	16.229000E+06	16.883200E+06	16.606830E+06

EXP.8; 22 maart 1982.

MATRIX 2: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $> 15 \mu^3$ in $\mu^3 \text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr. (T_0) en tijdstip 4 hr. (T_4).

CODE	T_0		T_4	
	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$
8	14.846250E+06	13.999010E+06	13.841570E+06	12.959130E+06
	14.388980E+06	13.558120E+06	13.603870E+06	12.811410E+06
17	14.445220E+06	13.577280E+06	14.148550E+06	13.315860E+06
	14.299280E+06	13.408100E+06	13.255070E+06	12.471390E+06
24	6.533751E+06	6.095086E+06	5.317130E+06	4.867757E+06
	6.584308E+06	6.097927E+06	5.323231E+06	4.877121E+06
26	14.674450E+06	13.780340E+06	13.642150E+06	12.794030E+06
	14.406020E+06	13.489400E+06	13.557890E+06	12.744030E+06
27	17.909800E+06	16.904870E+06	16.605920E+06	15.316300E+06
	17.603950E+06	16.438790E+06	16.816690E+06	15.937670E+06
33	6.675343E+06	6.272536E+06	5.892566E+06	5.498238E+06
	6.688596E+06	6.294143E+06	5.727429E+06	5.336694E+06
34	9.278527E+06	8.624025E+06	7.931289E+06	7.334056E+06
	9.044107E+06	8.432419E+06	7.879907E+06	7.295821E+06
35	13.958680E+06	13.042210E+06	13.201180E+06	12.314620E+06
	14.039090E+06	13.112390E+06	13.146580E+06	12.267050E+06
53	14.021160E+06	13.120850E+06	13.476210E+06	12.673850E+06
	14.049360E+06	13.174910E+06	12.775360E+06	11.867350E+06

b1.-	18.278290E+06	17.134920E+06	18.352510E+06	17.505300E+06
	17.800550E+06	16.677750E+06	18.562410E+06	17.707030E+06
b1.+	18.133700E+06	17.005580E+06	18.245540E+06	17.407040E+06
	17.980440E+06	16.721390E+06	18.301890E+06	17.354650E+06

EXP.9; 28 maart 1982.

MATRIX 2: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $> 15 \mu^3$ in $\mu^3 \text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr. (T_0) en tijdstip 4 hr. (T_4).

CODE	T_0		T_4	
	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$
23	7.867735E+06	7.616456E+06	6.223207E+06	5.869151E+06
	7.984974E+06	7.748654E+06	6.244622E+06	5.904210E+06
29	1.355093E+06	1.255363E+06	0.850420E+06	0.760053E+06
	1.329472E+06	1.232436E+06	0.861894E+06	0.765418E+06
42	6.467912E+06	6.293283E+06	4.926460E+06	4.699611E+06
	6.506941E+06	6.324375E+06	4.814869E+06	4.524140E+06
45	16.909460E+06	16.421800E+06	15.713970E+06	15.150580E+06
	17.728410E+06	17.261590E+06	16.499370E+06	16.019830E+06
48	2.528773E+06	2.409213E+06	1.577866E+06	1.432558E+06
	2.478596E+06	2.325607E+06	1.620642E+06	1.471844E+06
54	17.516300E+06	17.031830E+06	16.664970E+06	16.222120E+06
	17.844850E+06	17.397970E+06	16.754800E+06	16.310760E+06
b1.-	17.059790E+06	16.637040E+06	17.522190E+06	17.195420E+06
	16.941560E+06	16.512370E+06	17.375120E+06	17.086510E+06
b1.+	17.792330E+06	17.375180E+06	17.977430E+06	17.670070E+06
	17.387710E+06	16.977920E+06	17.556500E+06	17.216090E+06

EXP.10; 2 april 1982.

MATRIX 2: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $> 15 \mu^3$ in $\mu^3 \text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr. (T_0) en tijdstip 4 hr. (T_4).

T_0			T_4	
CODE	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$
3	2.151757E+06	1.886220E+06	1.509213E+06	1.310431E+06
	2.214122E+06	1.952933E+06	-	-
9	15.741430E+06	14.140430E+06	15.228350E+06	13.842410E+06
	16.125070E+06	14.461210E+06	15.543610E+06	14.272990E+06
16	8.064188E+06	7.192462E+06	7.553996E+06	6.790622E+06
	7.783760E+06	6.937886E+06	-	-
20	1.204961E+06	1.058376E+06	0.898346E+06	0.775126E+06
	1.222914E+06	1.071546E+06	0.919382E+06	0.801420E+06
22	2.858619E+06	2.535577E+06	2.488816E+06	2.205644E+06
	3.018896E+06	2.688379E+06	2.470884E+06	2.204230E+06
30	2.131174E+06	1.893001E+06	1.769208E+06	1.549399E+06
	2.234143E+06	1.992805E+06	1.726722E+06	1.518055E+06
32	2.973483E+06	2.637737E+06	2.623997E+06	2.361690E+06
	2.847061E+06	2.522570E+06	-	-
37	0.732081E+06	0.619666E+06	0.612046E+06	0.520729E+06
	0.705564E+06	0.601718E+06	0.554628E+06	0.465501E+06
46	0.661307E+06	0.571084E+06	0.637838E+06	0.556265E+06
	0.655656E+06	0.558371E+06	0.635854E+06	0.557053E+06
-----			-----	
b1.-	16.574210E+06	14.989580E+06	17.220620E+06	16.051480E+06
	15.518330E+06	13.933700E+06	-	-
b1.+	16.520060E+06	14.943990E+06	17.542550E+06	16.234460E+06
	15.516110E+06	13.980690E+06	-	-

EXP.11; 5 april 1982.

MATRIX 2: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $>15\mu^3$ in $\mu^3\text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr.(T₀) en tijdstip 4 hr.(T₄).

CODE	T ₀		T ₄	
	TOT. VOL.	VOL.>15 μ^3	TOT. VOL.	VOL.>15 μ^3
1	0.524288E+06	0.407043E+06	0.516504E+06	0.342258E+06
	0.497235E+06	0.374964E+06	-	-
2	1.204538E+06	1.104911E+06	0.683068E+06	0.572236E+06
	-	-	0.658179E+06	0.548733E+06
5	4.431848E+06	4.204649E+06	2.755919E+06	2.449559E+06
	-	-	2.793009E+06	2.490020E+06
6	6.462272E+06	6.158647E+06	5.270878E+06	4.918381E+06
	-	-	5.219923E+06	4.860670E+06
11	1.401518E+06	1.304446E+06	0.731470E+06	0.624662E+06
	-	-	-	-
19	0.593548E+06	0.528464E+06	0.294752E+06	0.231559E+06
	0.603973E+06	0.532724E+06	0.271454E+06	0.212020E+06
39	2.349392E+06	2.212758E+06	1.694420E+06	1.520989E+06
	2.279245E+06	2.147993E+06	1.647820E+06	1.477113E+06
47	-	-	0.769609E+06	0.655753E+06
	-	-	0.736749E+06	0.625073E+06
50	4.463750E+06	4.245426E+06	3.341497E+06	3.053710E+06
	4.468458E+06	4.230154E+06	3.217030E+06	2.942615E+06

b1.-	-	-	6.556023E+06	6.369488E+06
	-	-	6.166031E+06	5.981155E+06
b1.+	6.522211E+06	6.264426E+06	6.649952E+06	6.438918E+06
	6.754483E+06	6.493641E+06	6.184580E+06	5.987211E+06

EXP.12; 8 april 1982.

MATRIX 2: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $> 15 \mu^3$ in $\mu^3_{ml^{-1}}$, op tijdstip 0 hr.(T₀) en tijdstip 4 hr.(T₄).

CODE	T ₀		T ₄	
	TOT. VOL.	VOL.>15 μ^3	TOT. VOL.	VOL.>15 μ^3
4	3.144116E+06	3.031016E+06	2.444717E+06	2.281022E+06
	3.256710E+06	3.145514E+06	2.615520E+06	2.436272E+06
7	8.268514E+06	8.032314E+06	7.079382E+06	6.717806E+06
	8.077400E+06	7.841246E+06	6.772718E+06	6.412355E+06
12	2.226939E+06	2.131526E+06	-	-
	2.124452E+06	2.037692E+06	-	-
14	3.741385E+06	3.607851E+06	3.375155E+06	3.194897E+06
	2.933137E+06	2.622953E+06	3.125688E+06	2.946126E+06
21	2.155440E+06	2.066208E+06	1.946908E+06	1.841491E+06
	2.202791E+06	2.109896E+06	1.862779E+06	1.760061E+06
28	0.822540E+06	0.761726E+06	0.710249E+06	0.635951E+06
	0.851590E+06	0.788685E+06	0.688905E+06	0.613612E+06
36	13.303420E+06	12.498370E+06	15.928880E+06	15.593010E+06
	13.903830E+06	13.342140E+06	15.772870E+06	15.442920E+06
40	3.042262E+06	2.933100E+06	2.917597E+06	2.796232E+06
	2.930477E+06	2.830068E+06	2.866107E+06	2.741110E+06
51	4.357100E+06	3.976091E+06	5.924116E+06	5.744398E+06
	-	-	5.634455E+06	5.474460E+06

b1.-	1.869456E+06	1.806509E+06	1.819609E+06	1.769588E+06
	1.831734E+06	1.775424E+06	1.071287E+06	1.919759E+06
b1.+	15.667620E+06	15.272490E+06	16.967980E+06	16.646870E+06
	16.425720E+06	16.043490E+06	16.763800E+06	16.426630E+06

EXP.13; 16 april 1982.

MATRIX 2: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $> 15 \mu^3$ in $\mu^3 \text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr. (T_0) en tijdstip 4 hr. (T_4).

T_0			T_4	
CODE	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$
10	0.573534E+06	0.447449E+06	0.472163E+06	0.356731E+06
	0.651601E+06	0.523457E+06	0.491992E+06	0.374207E+06
13	3.441592E+06	3.160324E+06	3.302876E+06	3.034972E+06
	3.497732E+06	3.254710E+06	-	-
15	5.652086E+06	5.088146E+06	5.927371E+06	5.562147E+06
	6.440781E+06	6.041865E+06	5.909090E+06	5.553203E+06
18	18.068950E+06	17.208710E+06	17.849340E+06	17.143570E+06
	17.748760E+06	16.908300E+06	17.094520E+06	16.373220E+06
25	9.476615E+06	8.983880E+06	8.999897E+06	8.467285E+06
	9.242524E+06	8.753550E+06	9.223930E+06	8.784848E+06
32	4.525589E+06	4.212274E+06	4.599255E+06	4.322718E+06
	4.626865E+06	4.310310E+06	4.527084E+06	4.243491E+06
41	4.309134E+06	3.990994E+06	3.988613E+06	3.666682E+06
	4.235717E+06	3.921836E+06	3.905128E+06	3.590215E+06
43	9.337649E+06	8.846640E+06	9.566705E+06	9.156969E+06
	9.220834E+06	8.703885E+06	9.273669E+06	8.860044E+06
44	14.008280E+06	13.300120E+06	14.733760E+06	14.180160E+06
	13.862660E+06	13.037380E+06	14.621220E+06	14.066760E+06
38	1.039602E+06	0.915432E+06	0.944499E+06	0.824060E+06
	1.026312E+06	0.902770E+06	0.889994E+06	0.769801E+06
49	3.544775E+06	3.294185E+06	3.735186E+06	3.507760E+06
	3.557917E+06	3.309179E+06	3.726815E+06	3.489478E+06

b1.-	4.106469E+06	3.918423E+06	4.306175E+06	4.168875E+06
	4.241351E+06	4.042506E+06	4.266979E+06	4.124729E+06
b1.+	16.984680E+06	16.252250E+06	17.810320E+06	17.283330E+06
	16.717580E+06	15.994230E+06	17.091750E+06	16.580360E+06

EXP.14; 20 april 1982.

MATRIX 3: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $>15\mu^3$ in $\mu^3\text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr.(T₀) en tijdstip 4 hr.(T₄).

CODE	T ₀		T ₄	
	TOT. VOL.	VOL. $>15\mu^3$	TOT. VOL.	VOL. $>15\mu^3$
3	2.712772E+06	2.632527E+06	1.106149E+06	0.817437E+06
	2.461207E+06	2.382427E+06	1.100253E+06	0.839497E+06
3	2.715031E+06	2.603735E+06	1.498788E+06	1.279939E+06
	2.882689E+06	2.783224E+06	1.481221E+06	1.273592E+06
31	3.701249E+06	3.589964E+06	2.965803E+06	2.729721E+06
	3.719564E+06	3.628949E+06	3.041832E+06	2.803483E+06
31	3.876115E+06	3.780965E+06	3.050738E+06	2.832895E+06
	3.935911E+06	3.841353E+06	-	-
39	2.528164E+06	2.429048E+06	1.941494E+06	1.787045E+06
	2.764861E+06	2.679360E+06	1.923629E+06	1.761134E+06
39	2.737832E+06	2.648453E+06	1.802958E+06	1.623475E+06
	2.647040E+06	2.561110E+06	1.781163E+06	1.599758E+06
41	4.732024E+06	4.603128E+06	3.981160E+06	3.766976E+06
	4.905077E+06	4.785942E+06	3.825060E+06	3.614961E+06
41	5.156944E+06	5.035036E+06	4.101113E+06	3.877466E+06
	5.114611E+06	5.000777E+06	3.933102E+06	3.714502E+06
42	7.446285E+06	7.317730E+06	6.749818E+06	6.548278E+06
	7.344778E+06	7.226207E+06	6.693421E+06	6.485730E+06
42	7.098951E+06	6.971598E+06	6.290362E+06	6.070547E+06
	7.002542E+06	6.883573E+06	6.261274E+06	6.044462E+06

b1.-	3.672683E+06	3.611159E+06	3.518362E+06	3.461226E+06
	-	-	3.648235E+06	3.588272E+06
b1.+	3.580917E+06	3.510588E+06	3.529825E+06	3.474733E+06
	3.531425E+06	3.483168E+06	3.472980E+06	3.423347E+06

EXP.15; 23 april 1982.

MATRIX 3: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $>15 \mu^3$ in $\mu^3 \text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr.(T₀) en tijdstip 4 hr.(T₄).

CODE	T ₀		T ₄	
	TOT. VOL.	VOL. $>15 \mu^3$	TOT. VOL.	VOL. $>15 \mu^3$
13	6.894009E+06	6.272352E+06	7.762991E+06	7.395305E+06
	8.026235E+06	7.667890E+06	7.743926E+06	7.400634E+06
13	8.137869E+06	7.767338E+06	7.785602E+06	7.360346E+06
	8.103239E+06	7.728752E+06	7.723115E+06	7.334119E+06
29	2.615072E+06	2.402972E+06	2.219125E+06	1.995366E+06
	2.662319E+06	2.463363E+06	2.188821E+06	1.962825E+06
29	2.653427E+06	2.438322E+06	2.328274E+06	2.101490E+06
	2.668739E+06	2.453012E+06	2.295209E+06	2.068996E+06
35	13.637530E+06	13.101620E+06	13.233810E+06	12.767800E+06
	13.705830E+06	13.154380E+06	12.976210E+06	12.489320E+06
35	13.622840E+06	13.057260E+06	12.849100E+06	12.320020E+06
	13.459150E+06	12.934800E+06	12.351320E+06	11.719140E+06
44	13.638080E+06	13.118580E+06	13.134500E+06	12.658040E+06
	13.713570E+06	13.188650E+06	13.226940E+06	12.737990E+06
44	13.629990E+06	13.107950E+06	13.026070E+06	12.542510E+06
	13.751230E+06	13.232310E+06	13.270230E+06	12.799390E+06
b1.-	10.011080E+06	9.703082E+06	9.576837E+06	9.336709E+06
	10.142330E+06	9.830978E+06	9.456012E+06	9.219780E+06
b1.+	10.256280E+06	9.941722E+06	10.489610E+06	10.241790E+06
	10.314190E+06	9.988405E+06	10.344190E+06	10.099120E+06

EXP.16; 26 april 1982.

MATRIX 3: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $> 15 \mu^3$ in $\mu^3 \text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr. (T_0) en tijdstip 4 hr. (T_4).

	T_0		T_4	
CODE	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$
6	5.326569E+06	5.187787E+06	4.005093E+06	3.739866E+06
	5.088956E+06	4.945342E+06	4.032167E+06	3.766695E+06
6	7.343819E+06	7.159473E+06	5.825099E+06	5.395982E+06
	7.135818E+06	6.935857E+06	5.456632E+06	5.061500E+06
7	9.571772E+06	9.340572E+06	8.210146E+06	7.799272E+06
	9.804183E+06	9.582378E+06	7.842495E+06	7.442633E+06
7	10.022190E+06	9.800010E+06	8.118378E+06	7.687034E+06
	9.488994E+06	9.265322E+06	7.855144E+06	7.436642E+06
15	7.296608E+06	7.097977E+06	6.136046E+06	5.777798E+06
	7.372053E+06	7.176242E+06	5.925025E+06	5.567509E+06
15	7.500517E+06	7.314811E+06	6.220030E+06	5.934119E+06
	7.389561E+06	7.204906E+06	6.046505E+06	5.777776E+06
34	9.545416E+06	9.330211E+06	8.315310E+06	7.983890E+06
	9.824916E+06	9.603504E+06	8.577820E+06	8.235369E+06
34	9.438355E+06	9.207620E+06	8.779421E+06	8.452074E+06
	9.646985E+06	9.418635E+06	8.820763E+06	8.502589E+06
36	18.367500E+06	17.974970E+06	17.289000E+06	16.816450E+06
	18.701610E+06	18.303770E+06	17.979260E+06	17.503880E+06
36	18.288950E+06	17.898970E+06	17.462410E+06	16.963920E+06
	18.499660E+06	17.983830E+06	17.264190E+06	16.755930E+06
43	9.611170E+06	9.381870E+06	8.652418E+06	8.325738E+06
	9.625290E+06	9.394828E+06	8.355939E+06	8.035273E+06
43	-	-	9.443586E+06	9.192559E+06
	-	-	9.207895E+06	8.950405E+06

b1.-	9.909598E+06	9.715493E+06	9.793888E+06	9.626768E+06
	-	-	9.741426E+06	9.574017E+06
b1.+	9.722865E+06	9.529468E+06	9.762996E+06	9.586067E+06
	9.909700E+06	9.707067E+06	9.425141E+06	9.258786E+06

EXP.17; 27 april 1982.

MATRIX 3: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $> 15 \mu^3$ in $\mu^3 \text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr. (T_0) en tijdstip 4 hr. (T_4).

T_0			T_4	
CODE	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$
2	1.225952E+06	1.134818E+06	0.587022E+06	0.456863E+06
	1.138219E+06	1.058230E+06	0.600635E+06	0.466901E+06
2	1.159514E+06	1.082720E+06	0.622200E+06	0.506893E+06
	1.175377E+06	1.101962E+06	0.575188E+06	0.459064E+06
8	12.730850E+06	12.410860E+06	10.585360E+06	10.044980E+06
	12.398840E+06	12.069950E+06	10.410860E+06	9.871161E+06
8	13.247820E+06	12.910740E+06	10.497220E+06	9.984928E+06
	12.873130E+06	12.546850E+06	10.315820E+06	9.818441E+06
12	2.128868E+06	2.028398E+06	1.336813E+06	1.162991E+06
	2.114080E+06	2.013320E+06	1.285155E+06	1.124433E+06
12	2.107939E+06	2.008558E+06	1.184955E+06	1.016826E+06
	2.130395E+06	2.022576E+06	1.211997E+06	1.037340E+06
24	5.823745E+06	5.628470E+06	4.708549E+06	4.421910E+06
	5.777278E+06	5.588714E+06	4.638699E+06	4.368365E+06
24	5.727787E+06	5.553816E+06	4.785522E+06	4.481804E+06
	5.800446E+06	5.620956E+06	4.757994E+06	4.436460E+06
49	3.224795E+06	3.107338E+06	3.028014E+06	2.856992E+06
	-	-	2.939819E+06	2.785750E+06
49	3.006792E+06	2.896972E+06	2.767716E+06	2.624945E+06
	3.034792E+06	2.919341E+06	2.687123E+06	2.543302E+06
51	5.909101E+06	5.735528E+06	5.346301E+06	5.116505E+06
	5.899012E+06	5.728725E+06	5.140107E+06	4.919897E+06
51	5.682134E+06	5.489247E+06	5.265703E+06	5.060551E+06
	5.713145E+06	5.525150E+06	5.243618E+06	5.038527E+06
b1.-	9.156235E+06	8.965514E+06	8.513735E+06	8.333786E+06
	8.663469E+06	8.477621E+06	8.159544E+06	7.995763E+06
b1.+	8.990945E+06	8.801966E+06	8.410079E+06	8.244645E+06
	8.947360E+06	8.758379E+06	8.309579E+06	8.147977E+06

EXP.18; 27 april 1982.

MATRIX 3: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $> 15 \mu^3$ in $\mu^3 \text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr. (T_0) en tijdstip 4 hr. (T_4).

CODE	T_0		T_4	
	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$
5	4.595587E+06	4.405617E+06	2.787118E+06	2.455139E+06
	4.423709E+06	4.258435E+06	2.874234E+06	2.513441E+06
5	4.212772E+06	4.037408E+06	2.771475E+06	2.440644E+06
	4.117344E+06	3.938303E+06	2.885400E+06	2.516229E+06
19	0.697974E+06	0.609714E+06	0.350069E+06	0.240462E+06
	0.730406E+06	0.641920E+06	0.481052E+06	0.330620E+06
19	0.754116E+06	0.649856E+06	0.408555E+06	0.280358E+06
	0.746767E+06	0.646078E+06	0.205940E+06	0.140291E+06
21	2.288114E+06	2.157614E+06	1.757138E+06	1.576661E+06
	2.251851E+06	2.119839E+06	1.789805E+06	1.592129E+06
21	2.221560E+06	2.100294E+06	1.574584E+06	1.348177E+06
	2.248877E+06	2.120551E+06	1.522870E+06	1.296135E+06
30	2.283249E+06	2.120652E+06	1.791082E+06	1.577363E+06
	2.351640E+06	2.168241E+06	1.860028E+06	1.638206E+06
30	2.263249E+06	2.095019E+06	1.939942E+06	1.702171E+06
	2.376088E+06	2.202506E+06	1.967547E+06	1.711368E+06
b1.-	3.900179E+06	3.814089E+06	3.933580E+06	3.854121E+06
	3.998076E+06	3.915934E+06	3.765375E+06	3.600269E+06

EXP.19; 4 mei 1982.

MATRIX 3: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $>15\mu^3$ in $\mu^3\text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr. (T_0) en tijdstip 4 hr. (T_4).

T_0			T_4	
CODE	TOT. VOL.	VOL. $>15\mu^3$	TOT. VOL.	VOL. $>15\mu^3$
10	0.740822E+06	0.662126E+06	0.658974E+06	0.579475E+06
	0.750858E+06	0.676302E+06	0.605094E+06	0.503218E+06
10	0.824595E+06	0.731741E+06	0.739358E+06	0.646958E+06
	0.795143E+06	0.704530E+06	-	-
14	3.893242E+06	3.671820E+06	3.830949E+06	3.648146E+06
	4.013430E+06	3.840985E+06	3.623066E+06	3.428962E+06
14	4.107136E+06	3.933782E+06	3.471596E+06	3.259755E+06
	4.097355E+06	3.923303E+06	3.623533E+06	3.415834E+06
18	16.716170E+06	16.157690E+06	15.524220E+06	14.911090E+06
	16.529830E+06	15.972520E+06	16.037920E+06	15.527020E+06
18	16.729020E+06	16.180000E+06	16.123120E+06	15.595700E+06
	-	-	15.893950E+06	15.375820E+06
27	16.395880E+06	15.803820E+06	15.953470E+06	15.310850E+06
	16.281480E+06	15.732450E+06	15.991020E+06	15.476670E+06
27	16.203160E+06	15.650010E+06	15.744870E+06	15.237410E+06
	16.436270E+06	15.865520E+06	15.003570E+06	14.505660E+06
28	0.788426E+06	0.708362E+06	0.647716E+06	0.568264E+06
	0.772662E+06	0.689789E+06	0.720571E+06	0.637480E+06
28	0.748485E+06	0.663099E+06	0.615178E+06	0.524831E+06
	-	-	0.630468E+06	0.541978E+06

b1.-	15.865150E+06	15.352440E+06	14.772070E+06	14.370360E+06
	15.878530E+06	15.383100E+06	14.323730E+06	13.914790E+06
b1.+	15.550440E+06	15.062320E+06	14.902620E+06	14.476400E+06
	15.852950E+06	15.347350E+06	15.180960E+06	14.759100E+06

EXP.20; 10 mei 1982.

MATRIX 3: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $> 15 \mu^3$ in $\mu^3 \text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr. (T_0) en tijdstip 4 hr. (T_4).

T_0			T_4	
CODE	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$
9	14.590390E+06	14.045170E+06	13.791530E+06	13.227750E+06
	14.550960E+06	14.009680E+06	13.624970E+06	13.064690E+06
9	14.109100E+06	13.584830E+06	13.806000E+06	13.294780E+06
	14.494890E+06	13.964530E+06	-	-
23	4.008437E+06	3.831691E+06	2.873220E+06	2.643991E+06
	3.865574E+06	3.700162E+06	2.762361E+06	2.555691E+06
23	3.861932E+06	3.680248E+06	2.959373E+06	2.756844E+06
	3.986279E+06	3.814351E+06	2.714505E+06	2.512542E+06
37	0.500248E+06	0.425467E+06	0.259698E+06	0.203288E+06
	0.632871E+06	0.585751E+06	0.268633E+06	0.224740E+06
37	0.602757E+06	0.554531E+06	0.234164E+06	0.196459E+06
	0.622403E+06	0.579610E+06	0.252498E+06	0.215969E+06
45	14.473160E+06	13.935900E+06	13.525120E+06	12.980020E+06
	14.555040E+06	14.001560E+06	13.927050E+06	13.370130E+06
45	13.991180E+06	13.449800E+06	13.636990E+06	13.099350E+06
	14.441130E+06	13.891110E+06	13.021420E+06	12.495860E+06
52	8.447997E+06	8.104612E+06	7.520694E+06	7.156403E+06
	8.511360E+06	8.171645E+06	7.571137E+06	7.222481E+06
52	8.429455E+06	8.093578E+06	7.478221E+06	7.059304E+06
	8.711476E+06	8.363535E+06	7.718156E+06	7.345769E+06

b1.-	14.268620E+06	13.742760E+06	14.270050E+06	13.801830E+06
	14.543540E+06	14.025900E+06	14.496480E+06	14.033230E+06
b1.+	14.354620E+06	13.841130E+06	13.938880E+06	13.464710E+06
	14.120640E+06	13.492400E+06	14.487500E+06	13.983590E+06

EXP.21; 11 mei 1982.

MATRIX 9: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $> 15 \mu^3$ in $\mu^3 \text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr. (T_0) en tijdstip 4 hr. (T_4).

	T_0		T_4	
CODE	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$
1	0.656432E+06	0.590610E+06	0.323188E+06	0.249332E+06
	0.646708E+06	0.576575E+06	0.328829E+06	0.262520E+06
1	0.807266E+06	0.748087E+06	0.470306E+06	0.396024E+06
	0.814325E+06	0.755710E+06	0.428776E+06	0.357072E+06
4	3.100866E+06	2.937654E+06	2.012400E+06	1.776032E+06
	3.062672E+06	2.886215E+06	1.987063E+06	1.755392E+06
4	3.242167E+06	3.077270E+06	2.750281E+06	2.563600E+06
	3.183870E+06	3.017498E+06	2.694429E+06	2.502050E+06
25	8.764309E+06	8.377865E+06	7.551974E+06	7.017413E+06
	8.696289E+06	8.298561E+06	7.789600E+06	7.356505E+06
25	8.540926E+06	8.167610E+06	7.984204E+06	7.519179E+06
	8.595613E+06	8.221817E+06	8.226281E+06	7.758043E+06
46	0.599198E+06	0.500169E+06	0.405748E+06	0.332331E+06
	-	-	0.435277E+06	0.352696E+06
46	0.678946E+06	0.595040E+06	0.489736E+06	0.416145E+06
	0.665512E+06	0.581167E+06	0.456315E+06	0.382323E+06
47	0.875592E+06	0.689887E+06	0.892956E+06	0.771281E+06
	1.155568E+06	1.029418E+06	0.868854E+06	0.753409E+06
47	1.237244E+06	1.149089E+06	0.753880E+06	0.641188E+06
	1.222018E+06	1.127156E+06	-	-
50	4.068678E+06	3.812843E+06	3.696164E+06	3.453602E+06
	3.426372E+06	3.012972E+06	3.643965E+06	3.418144E+06
50	4.300638E+06	4.081687E+06	3.571904E+06	3.312750E+06
	4.269037E+06	4.059071E+06	3.465244E+06	3.202708E+06

b1.-	8.486632E+06	8.158325E+06	8.622199E+06	8.321974E+06
	8.609828E+06	8.279664E+06	-	-
b1.+	8.719094E+06	8.376080E+06	8.379809E+06	8.071169E+06
	8.613459E+06	8.272882E+06	8.768186E+06	8.453259E+06

EXP.22; 12 mei 1982.

MATRIX 3: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $> 15 \mu^3$ in $\mu^3 \text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr. (T_0) en tijdstip 4 hr. (T_4).

CODE	T_0		T_4	
	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$
37	1.091258E+06	0.897838E+06	1.093169E+06	0.947496E+06
	1.267339E+06	1.135505E+06	1.141046E+06	0.998446E+06
37	1.281334E+06	1.118906E+06	0.947187E+06	0.756637E+06
	1.281088E+06	1.123857E+06	1.112058E+06	0.942424E+06
17	14.350060E+06	13.741050E+06	13.049430E+06	12.338850E+06
	14.287340E+06	13.694260E+06	14.171510E+06	13.523960E+06
17	14.343500E+06	13.749320E+06	13.862010E+06	13.104220E+06
	-	-	14.334650E+06	13.752470E+06
32	4.417268E+06	4.160257E+06	4.383788E+06	4.109816E+06
	-	-	4.028714E+06	3.724848E+06
32	4.235028E+06	3.956295E+06	3.869031E+06	3.603735E+06
	4.096669E+06	3.829871E+06	4.090691E+06	3.799761E+06
33	6.125498E+06	5.823868E+06	6.101381E+06	5.776346E+06
	6.438183E+06	6.126091E+06	5.741045E+06	5.432222E+06
33	6.291365E+06	5.989856E+06	5.064149E+06	4.502092E+06
	6.055295E+06	5.764712E+06	6.182110E+06	5.844080E+06
48	2.136154E+06	1.960321E+06	2.262328E+06	2.066460E+06
	2.138025E+06	1.899324E+06	2.393136E+06	2.202907E+06
48	2.273819E+06	2.090159E+06	2.265451E+06	2.075909E+06
	2.414942E+06	2.217436E+06	2.271560E+06	2.076156E+06

b1.-	13.912010E+06	13.417480E+06	13.914390E+06	13.459730E+06
	13.562020E+06	13.045160E+06	13.665140E+06	13.022040E+06
b1.+	13.469180E+06	12.975280E+06	14.282630E+06	13.819520E+06
	14.119150E+06	13.588210E+06	14.281540E+06	13.748460E+06

EXP.23; 15 mei 1982.

MATRIX 3: Totale conc. C.vulgaris en conc. C.vulgaris $> 15 \mu^3$ in $\mu^3 \text{ml}^{-1}$, op tijdstip 0 hr. (T_0) en tijdstip 4 hr. (T_4).

	T_0		T_4	
CODE	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$	TOT. VOL.	VOL. $> 15 \mu^3$
13	3.205657E+06	3.004727E+06	2.241657E+06	1.991868E+06
	3.246085E+06	3.029038E+06	2.264690E+06	2.019125E+06
13	3.185052E+06	3.005253E+06	2.489745E+06	2.259655E+06
	3.162917E+06	2.980087E+06	2.526357E+06	2.309052E+06
20	1.232191E+06	1.128538E+06	1.071306E+06	0.954002E+06
	1.172065E+06	1.066930E+06	1.046596E+06	0.931514E+06
20	1.206683E+06	1.111573E+06	0.806299E+06	0.708720E+06
	1.210540E+06	1.110823E+06	-	-
22	3.087274E+06	2.907738E+06	2.175668E+06	1.939053E+06
	3.177310E+06	3.002280E+06	2.314367E+06	2.074070E+06
22	3.044221E+06	2.844734E+06	2.608624E+06	2.408047E+06
	3.019093E+06	2.830966E+06	2.581210E+06	2.380905E+06
26	12.854000E+06	12.207980E+06	13.025720E+06	12.467630E+06
	13.425730E+06	12.872550E+06	12.962020E+06	12.415710E+06
26	12.206420E+06	11.419380E+06	13.406240E+06	12.888630E+06
	13.480730E+06	12.925330E+06	13.283940E+06	12.783430E+06
40	3.190744E+06	2.996376E+06	2.725991E+06	2.526868E+06
	3.178182E+06	3.003145E+06	2.803119E+06	2.595123E+06
40	3.134599E+06	2.949138E+06	2.678619E+06	2.474059E+06
	3.044420E+06	2.817034E+06	2.762750E+06	2.551612E+06
53	13.767440E+06	13.106600E+06	13.422650E+06	12.807910E+06
	13.679870E+06	13.029560E+06	13.425490E+06	12.819980E+06
53	13.337880E+06	12.798220E+06	13.441760E+06	12.897160E+06
	13.411190E+06	12.826410E+06	-	-
b1.-	15.920290E+06	15.295420E+06	17.557480E+06	17.013030E+06
	-	-	17.095000E+06	16.542530E+06
b1.+	17.812660E+06	17.158120E+06	17.348580E+06	16.642170E+06
	16.399060E+06	15.748600E+06	17.867050E+06	17.310430E+06

DEEL 2

DAPHNIA MAGNA ALS BIOINDICATOR

INHOUD

1.	Inleiding	-1-
1.1	Algemeen	-1-
1.2	Polder Stedelijk	-2-
2.	Materiaal en Methode	-5-
2.1	Daphnia magna kweek	-5-
2.2	Chlorella culture	-5-
2.3	Graasexperimenten	-5-
2.4	Bepaling drooggewicht	-5-
2.5	Bepaling dichlobenil	-5-
2.6	Coulter Counter / Coulter Channelyzer	-6-
2.7	Graasexperimenten als bioindicatie	-6-
3.	Resultaten en Discussie	-10-
3.1	Drooggewicht Daphnia's	-10-
3.2	Dichlobenil bepaling	-11-
3.3	Chemische analyses	-12-
3.4	Graasexperimenten als bioindicatie	-14-
4.	Literatuur	-25-
5.	Appendix	-26-

1. INLEIDING

1.1 Algemeen.

Momenteel is er een sterke belangstelling voor het verschijnsel bioindicatie; getuige ook het Symposium "Bioindicatoren" van 14 en 15 oktober 1982.

Al in 1954 bracht Wassenburger het belang van bioindicatie naar voren. Deze gedachtengang kwam voort uit het feit dat allerlei toxische stoffen vaak in zeer lage concentraties voorkomen, zodat chemische analyses ontoereikend zijn. Terwijl concentraties van enkele parts per triljoen (ppt) bij *Daphnia magna* al effect kan geven.

Ook Frear & Boyd (1967) onderschrijven het voordeel van bioassays boven conventionele chemische methoden. Bioassays zijn minder specifiek, hierdoor kunnen ze goed gebruikt worden om de aan-of afwezigheid van toxische derivaten op te sporen zowel kwalitatief als kwantitatief. Een tweede reden die zij vermelden is dat bepaalde organismen een vaak veel gevoeliger "meetbereik" hebben dan chemische bepalingen. Vooral *Daphnia magna* staat hierbij sterk in de belangstelling. Ten Berge (1978) en Slooff (1982) toonden aan dat *Daphnia*'s zeer gevoelig zijn voor diverse toxische stoffen. Een andere belangrijke factor is dat deze zogenaamde graasdieren of primaire consumenten een hele belangrijke rol in de voedselketen innemen. Ze zijn zowel voor de primaire als voor de secundaire productie van groot belang.

Gulatti (1978, mond. med. 1982) toonde aan dat filter feeders in het plasje Vechten gemiddeld 20 % van het water per dag filtereerden. Dit betekent dat het grazen op fytoplankton een zeer belangrijke informatie bron kan zijn, omdat deze sterk afhankelijk is van de milieu omstandigheden. De filteringrate kan binnen een factor 100 variëren.

Daarnaast toonde hij aan dat de $\text{filteringrate} \cdot \text{hr} \cdot \text{ind.}^{-1}$ van het totale zooplankton uit een bepaald water hetzelfde beeld oplevert als de $\text{filteringrate} \cdot \text{hr} \cdot \text{ind.}^{-1}$ van de *Daphnia*'s alleen uit dat zelfde water, als beide uitgezet werden tegen de voedselconcentratie.

Bedenken we hierbij dat de fam. Daphnidae in bijna ieder nederlands water vertegenwoordigd is, dan zijn Daphnia's bij uitstek geschikt om experimenten ten aanzien van bioindicatie mee te ontwikkelen.

Ook Mc. Mahon & Rigler (1965) stelden naar aanleiding van hun bevindingen dat een "abnormale" filteringrate een eenvoudige aanwijzing kan zijn van remming onder invloed van o.a. toxische stoffen.

Mij leek het dan ook aardig om te kijken of de voedselopname van Daphnia magna als parameter voor bioindicatie bruikbaar is. Een voorwaarde hierbij is dat de experimenten van korte duur en eenvoudig van opzet zijn. Dit omdat ze goedkoop moeten zijn om te kunnen concurreren met de bestaande chemische analyses.

Mijn streven is naar een algemene indicatie dat er iets mis is. Daarna kunnen meer specifieke bepalingen gedaan worden. De experimenten komen in het kort op het volgende neer. De graasactiviteit van Daphnia's uit eigen kweek wordt bepaald, in van te voren gefiltreerd buitenwater. De experimenten worden uitgevoerd onder standaard condities, overeenkomstig de omstandigheden waaronder de Daphnia's zijn opgekweekt. Dus o.a. zelfde voedsel, temperatuur, licht.

Deze experimenten dienen alleen gezien te worden als eerste stap op weg naar de ontwikkeling van experimenten, waarbij Daphnia magna als bioindicator gebruikt kan worden.

1.2 Polder Stededijk.

Het buitenwater dat ik in de graasexperimenten gebruikt heb, was afkomstig uit de polder Stededijk.

Ik heb voor deze polder gekozen, omdat enkele vrienden en medestudenten in de periode mrt. - sept. 1982 in dit gebied een onderzoek verricht hebben. Hierbij stond als vraagstelling centraal "het doen van uitspraken aan de hand van bio-indicatoren over de invloed van een vuilstort in deze polder". Dit onderzoek viel uit één in twee delen:

Koosje Lever en Emiel de Koekoek keken in een aantal sloten

in de directe omgeving van deze vuilstort naar het voorkomen of ontbreken van macrofauna.

Daarnaast hebben Maarten Kramer en Theo Mulder een zeer uitgebreid vegetatiekundig onderzoek met betrekking tot de slootvegetatie in deze polder verricht.

Polder Stededijk is een polder gelegen tussen de Beneden Merwede en de Doode Kivorskil, ter hoogte van het plaatsje Sliedrecht. (zie fig.1)

In deze polder met een oppervlakte van ca. 15 ha. is sinds 1962 een bedrijfs- en industrieelafval vuilstort gelegen. Momenteel wordt er nog steeds gestort.

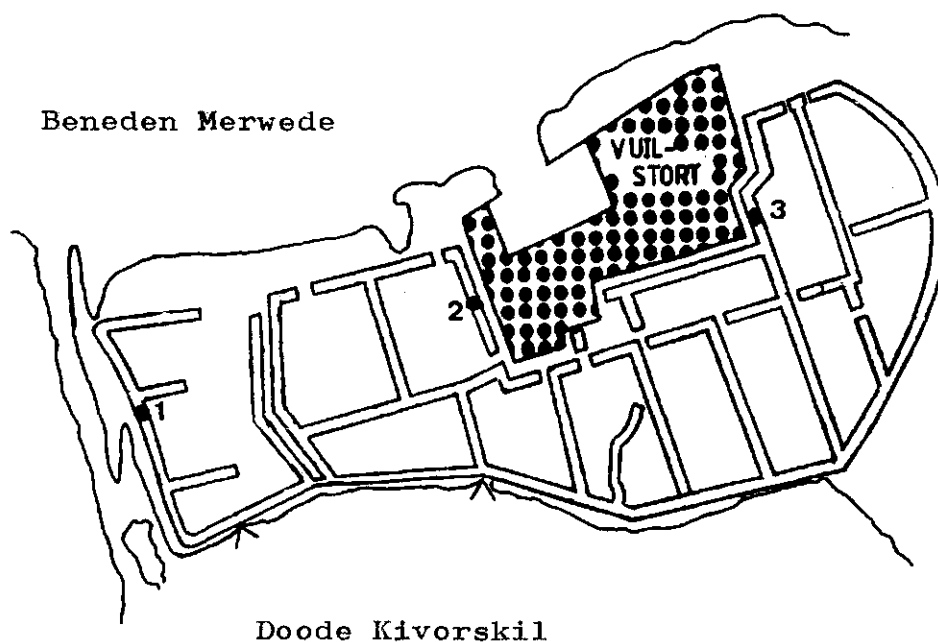


fig.1 Polder Stededijk (overgenomen Kramer & Mulder 1982)

Op advies van Theo Mulder is in juli gekozen voor monsterpunt 3. Dit punt is gelegen in de ringsloot direct ten oosten van de vuilstort. Dit deel van de stort wordt niet meer gebruikt en is afgedekt met een kleilaag. Gebleken was echter dat vanuit de stort, water direct in de ringsloot siepelde.

De resultaten afkomstig van dit monsterpunt waren zeer positief. Daarom besloot ik nog enkele experimenten te doen met het buitenwater uit dit gebied. Dat zijn exp. B en C.

Hierbij is gekozen voor nogmaals punt 3 (exp.C) en de punten 1 en 2. Punt 1 moest dienen als relatief "schoon" water door de ligging ten opzichte van de vuilstort. Punt 2 daarentegen als relatief "vuil", omdat dit punt gelegen is in de ringsloot, rond het deel van de stort dat momenteel nog in gebruik is.

2. MATERIAAL EN METHODE

2.1 *Daphnia magna* kweek.

Het kweken van de watervlooien gebeurde op de wijze zoals beschreven onder pnt. 2.1 (deel 1). Alleen de leeftijd waarop de *Daphnia*'s in de diverse experimenten gebruikt werden, verschilde van de leeftijd zoals vermeld in voorgaande beschrijving.

2.2 *Chlorella* culture.

De alg *Chlorella vulgaris* werd gebruikt als voedselbron voor de watervlooien. Voor de kweekwijze van *Chlorella vulgaris* wordt verwezen naar pnt. 2.2 (deel 1).

Voordat de *Chlorella* in de graasexperimenten werd gebruikt, werd zij door blootstelling aan een sterke lichtbron in haar groei geremd.

2.3 Graasexperimenten.

Hieronder worden kortdurende experimenten verstaan, waarbij *Daphnia*'s gedurende een bepaalde tijd kunnen eten van een voedselbron. De voedselbron wordt aan het begin en aan het eind van het experiment gemeten met de Coulter Counter. Aan de hand van deze begin- en eindconcentratie wordt de filteringrate en de Feedingrate van de *Daphnia*'s onder invloed van een bepaald medium bepaald.

Voor een uitgebreide beschrijving verwijs ik naar deel 1 van dit verslag, pnt. 2.3

2.4 Bepaling drooggewicht.

Het drooggewicht van de *Daphnia*'s is op dezelfde manier gedaan als beschreven onder pnt. 2.4 (deel 1).

2.5 Bepaling Dichlobenil.

Uit de chemische wateranalyses, gedaan in opdracht van het Zuiveringschap Mollandse Eilanden en Waarden, bleek dat het herbicide Dichlobenil gevonden was op monsterpunt 3. Daarom is aan elk onderzochte buitenmonster een Dichlobenil bepaling gedaan. Doordat een lage concentratie verwacht werd, is naast

de "normale" 1 : 1 verhouding van waterige oplossing - petroleumether, ook gewerkt met een 10 : 1 verhouding. Dit houdt in dat 100 ml. buitenwater, waaraan 2 gr. Na_2SO_4 was toegevoegd, werd uitgeschud met 10 ml. petroleumether. Al deze monsters werden onverdund in de gaschromatograaf geïnjecteerd.

Voor verdere informatie verwijs ik naar pnt. 2.5 van deel 1.

2.6 Coulter Counter / Coulter Channelyzer.

De *Chlorella vulgaris* concentratie in de graasexperimenten werd bepaald met behulp van de Coulter Counter / Coulter Channelyzer. Hiermee is het mogelijk zowel het aantal *Chlorella* deeltjes als het volume van deze deeltjes te bepalen. Zie voor de werking van deze apparatuur en de manier van monsternamen pnt. 2.6 (deel 1).

Als blanco waarde, ter correctie van de Coulter Counter tellingen, heb ik gebruik gemaakt van;

3 ml. gefilt. buitenwater (van het betreffende monsterpunt) + 20 ml. 0.9% partikelvrije NaCl.

Ik heb voor deze correctiefactor gekozen omdat ik dit juist acht, dan te corrigeren met alleen NaCl. Ik heb deze waarden vergeleken met de achtergrondruis veroorzaakt door de NaCl alleen.

De waarden van NaCl en de door mij gebruikte correctiefactor lagen in dezelfde grootte orde, zodat ik kan stellen dat het buitenwater voldoende van eventuele "voedsel" resten gezuiverd was.

2.7 Graasexperimenten als bioindicatie.

Het was mijn bedoeling om een beetje te experimenteren met de mogelijkheden om de voedselopname van *Daphnia magna* als parameter voor bioindicatie te gebruiken, bij het opsporen van verontreinigd buitenwater. Daarom heb ik een aantal verschillende typen experimenten opgezet.

Hierbij heb ik steeds gestreeft naar een verbeterde aanpak.

Experiment A is in eerste instantie opgezet om te kijken of de verwachte afname van de filteringrate optreedt, bij verondersteld vervuild buitenwater.

Experiment B is een verbeterde versie van dit idee. Zowel bij een relatief hoge als een relatief lage *Chlorella* concentratie werd de filteringrate bepaald.

In experiment C is gewerkt met een verdunningsreeks. De grondgedachte hierbij was; hoe geconcentreerder het buitenwater, des te sterker het effect op de filteringrate. (Concentratie - effect relatie).

Uitvoering: Experiment A.

De graasactiviteit werd getest in enerzijds *Daphnia* kweekmedium en anderzijds slootwater uit polder Stedelijk monsterpunt 3.

De watervlooiën waren afkomstig uit eigen kweek en hadden een leeftijd van 15 - 17 dg. Er werd gewerkt met een *Chlorella* concentratie van $1.2 \times 10^6 \mu^3 \cdot \text{ml}^{-1}$, dit is een concentratie beneden het Incipient Limiting Level.

Het slootwater werd van te voren gefiltreerd over een 0.45μ Sartorius filter, zodat geen algen en bacteriën uit het oorspronkelijke water aanwezig konden zijn.

Zeven zuurstofflesjes werden gevuld met 80 ml. medium (M). Evenzo werd aan 7 zuurstofflesjes gefiltreerd Stedelijk slootwater toegevoegd (S_3). Aan alle flesjes werd de gewenste hoeveelheid *Chlorella* suspensie uit de continue cultuur toegevoegd.

Met een zuigbuis werd voor ieder watertype in 5 van de 7 flesjes steeds negen *Daphnia*'s overgebracht.

Voor ieder watertype draaide dus een duplo blanco bepaling mee.

Het graasexperiment werd verder uitgevoerd op de wijze zoals beschreven onder punt 2.3

NB. de duur van het graasexperiment was in dit geval 3 uur.

Experiment B.

Dit experiment bestond uit 2 deelexperimenten. Experiment B₁ (3 nov. 1982) werd uitgevoerd bij een Chlorella concentratie van ca. $1 \times 10^6 \mu^3 \cdot \text{ml}^{-1}$. (beneden het Incipient Limiting Level). In experiment B₂ (4 nov. 1982) werd gewerkt met een tien-voudige Chlorella concentratie, dus boven het Incipient Limiting Level.

De graasactiviteit in drie verschillende watertypen werden naast elkaar getest, Daphnia kweekmedium en tweemaal slootwater uit polder Stededijk (punt 1 en 2).

De watervlooiën waren afkomstig uit eigen kweek en hadden een leeftijd van 18 - 22 dg. In exp. B₁ werd gewerkt met 13 Daphnia's, terwijl in exp. B₂ 10 Daphnia's gebruikt werden. Voorafgaand aan de experimenten hadden deze watervlooiën twee dagen in het watertype en de Chlorella concentratie doorgebracht, zoals ze in de experimenten gebruikt zouden worden.

Al het gebruikte water was van te voren gefiltreerd over een 0.2μ Sartorius filter. Voor ieder watertype werden weer 7 zuurstofflesjes gevuld met ca. 80 ml. vloeistof en de gewenste hoeveelheid Chlorella. Aan 5 van deze flesjes werden Daphnia's toegevoegd.

Twee flesjes dienden steeds als blanco correctie.

De uitvoering van de graasexperimenten geschiedde op de onder punt 2.3 beschreven manier.

Tevens werd aan het slootwater een Dichlobenil bepaling gedaan.

Experiment C.

Ook dit experiment bestond uit 2 deelexperimenten. Experiment C₁ (12 nov. 1982) werd weer uitgevoerd bij een Chlorella concentratie van ca. $1 \times 10^6 \mu^3 \cdot \text{ml}^{-1}$. In C₂ (15 nov. 1982) werd gewerkt met een tien maal zo hoge Chlorella concentratie.

In dit experiment is gebruik gemaakt van een verdunningsreeks van het slootwater, afkomstig van monsterpunt 3. Gewerkt werd

met de volgende verdunningen:

$1/8 S_3$	:	$7/8$	Daphnia	kweekmedium
$1/4 S_3$	:	$3/4$	"	"
$1/2 S_3$	:	$1/2$	"	"
$1 S_3$	:	0	"	"

Al dit water werd van te voren gefiltreerd over een 0.2μ Sartorius filter.

De watervlooien hadden een leeftijd van 7 - 10 dg. en in beide deelexperimenten werden 9 stuks toegevoegd per flesje. Om praktische redenen was het noodzaak om te werken met Daphnia's van een afwijkende leeftijd. (nog sexueel onvolwassen exemplaren.) Maar aangezien Adema (1978) vermeldt dat er weinig verschil in gevoeligheid met betrekking tot leeftijd optreedt, leek mij dit geen bezwaar.

Van iedere verdunning werden 6 flesjes ingezet, waarbij aan 4 flesjes Daphnia's werden toegevoegd. Ook deze Daphnia's waren van te voren geadapteerd aan de verdunning zoals in het experiment gebruikt zou worden.

Het volume medium bedroeg in dit geval 50 ml., om bij deze kleinere exemplaren toch voldoende verschillen in voedselopname te kunnen meten.

De graasexperimenten werden weer op de onder punt 2.3 vermelde wijze uitgevoerd.

Aan het onverdunde slootwater werd een Dichlobenil bepaling gedaan.

NB. Bij de voorgaande experimenten werden de flesjes, alvorens de Daphnia's toe te voegen, 1.5 à 2 uur bij een hoge lichtintensiteit geplaatst, om de Chlorella suspensie te remmen in haar groei. (zie deel 1).

3. RESULTATEN EN DISCUSSIE

3.1 Drooggewicht Daphnia's.

Het drooggewicht van de Daphnia's is op onderstaande wijze berekend.

Gewicht filter met Daphnia's - filtergewicht = gewicht Daph, (mg)

Voor ieder graasexperiment is dit gedaan. Per watertype werden de gewichten gesommeerd en gedeeld door het aantal graasexperimenten.

Op deze wijze werd per experiment, voor ieder watertype een gemiddeld gewicht voor het aantal gebruikte Daphnia's verkregen. Tevens is het gemiddelde Daphnia gewicht berekend, door het gemiddelde gewicht te delen door het aantal Daphnia's dat per graasexperiment gebruikt werd.

tabel 1

Voor ieder experiment is uitgezet; het gemiddelde gewicht van het aantal per graasexperiment gebruikte Daphnia's, het gemiddeld Daphnia gewicht, de leeftijd (in dg) en het aantal Daphnia's per graasexperiment.

exp.	watertype	leeft.	aant.	gem.Gew.	gem.Daph.Gew.
A	M	15-17	9	0.98	0.11
	S ₃	15-17	9	0.98	0.11
B ₁	M	18-22	13	0.80	0.06
	S ₁	18-22	13	1.34	0.10
	S ₂	18-22	13	1.50	0.12
B ₂	M	18-22	10	0.97	0.10
	S ₁	18-22	10	1.43	0.14
	S ₂	18-22	10	1.15	0.12
C ₁	1/8 S ₃ -7/8 M	7-10	9	0.94	0.10
	1/4 S ₃ -3/4 M	7-10	9	1.05	0.12
	1/2 S ₃ -1/2 M	7-10	9	1.11	0.12
	S ₃	7-10	9	0.99	0.11
C ₂	1/8 S ₃ -7/8 M	7-10	9	0.86	0.10
	1/4 S ₃ -3/4 M	7-10	9	0.83	0.09
	1/2 S ₃ -1/2 M	7-10	9	0.86	0.10
	S ₃	7-10	9	0.91	0.10

Uit tabel 1 blijkt dat de Daphnia gewichten relatief laag zijn. Hetzelfde vond ik bij de laatste matrix experimenten. (Zie deel 1). Ik vermoed dat dit te maken heeft met het seizoen, mogelijk onder invloed van de daglichtlengte geïnduceerd. Ik denk niet dat dit te wijten is aan verslechterde omstandigheden in het kweekmedium. Het gebeurde slechts zelden dat er vrouwtjes met wintereieren voorkwamen. In de maanden juli-sept. trad dit verschijnsel wel af en toe op. Daarna heeft de populatie zich hersteld, zodat ik aanneem dat dit geen invloed heeft gehad op mijn experimenten. Een ander opvallend verschijnsel is, dat het gewicht van de Daphnia's, gebruikt in de slootwater experimenten altijd een iets hoger gemiddeld gewicht hadden dan de Daphnia's gebruikt in het medium. Terwijl alle Daphnia's, nodig in een bepaald experiment, ad random opgezogen werden uit één leeftijdsgroep. Ze werden om en om verdeeld over bekerglazen met resp. medium en slootwater.

3.2 Dichlobenil bepaling.

tabel 2 Dichlobenil concentratie "gevonden" in slootwater uit polder Stededijk.

Code	verh.water:P.E.	conc. mg/ml in P.E.	conc.Dich.(ppm)
S ₁	2 : 2	2.2 x 10 ⁻⁶	n.a.
	2 : 2	3.8 x 10 ⁻⁶	n.a.
	100 : 10	2.2 x 10 ⁻⁶	n.a.
	100 : 10	2.5 x 10 ⁻⁶	n.a.
S ₂	2 : 2	1.9 x 10 ⁻⁶	n.a.
	2 : 2	1.8 x 10 ⁻⁶	n.a.
	100 : 10	7.8 x 10 ⁻⁶	n.a.
	100 : 10	7.8 x 10 ⁻⁶	n.a.
S ₃	2 : 2	3.5 x 10 ⁻⁶	0.00389
	2 : 2	3.6 x 10 ⁻⁶	
	100 : 10	39.6 x 10 ⁻⁶	
	100 : 10	38.2 x 10 ⁻⁶	

Ik heb de Dichlobenil concentratie met betrekking tot de monsterpunten S_1 en S_2 niet uitgerekend, omdat de "gevonden" waarde enkel door ruis bepaald wordt. Bij een tienvoudige concentrering van de te onderzoeken oplossing, blijkt dat de uitslag van dezelfde grootte orde blijft. De "gevonden" concentratie bevindt zich dan ook in het gebied van de detectiegrens van de gaschromatograaf. Een tienvoudige concentrering van de oplossing van punt S_3 , levert een tien maal zo grote waarde op. Dit doet vermoeden dat er inderdaad dichlobenil aanwezig was in het slootwater. De Dichlobenil concentratie is op onderstaande wijze berekend:

$$\begin{array}{l} 39.6 \\ 38.2 \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} 39.6 \\ 38.2 \end{array}} \right\} 38.9 \times 10^{-6} \text{ mg.ml}^{-1} \text{ in Petroleumether}$$
$$389 \times 10^{-6} \text{ mg.ml}^{-1} \text{ in 100 ml slootwater}$$
$$3.89 \times 10^{-3} \text{ mg.l}^{-1} = 0.00389 \text{ ppm Dichlobenil.}$$

We moeten hierbij wel bedenken dat ook deze Dichlobenil concentratie zo gering is, dat ook deze bepaling zich afspeelt rond de detectiegrens van de gebruikte apparatuur.

3.3 Chemische analyses.

Van de drie monsterpunten in polder Stedelijk waren diverse chemische analyse rapporten beschikbaar. Een viertal rapporten hebben betrekking op de periode, die van belang is voor mijn graasexperimenten.

- Monstername RIZA/Rijkswaterstaat; meetpunt Gorichem (Rijn), 2^e en 3^e kwartaal 1982.
- Monstername van 22 april 1982 werd verricht door Henk van der Honing in opdracht van het Zuiveringschap Hollandse Eilanden en Waarden.
- Monstername van 2 juli 1982 werd verricht door Maarten Kramer en Theo Mulder, ten behoeve van hun vegetatiekundige onderzoek. De analyses zijn verricht deels bij het Internationaal Watertribunaal en deels bij het Hugo de Vries laboratorium. (univ. van A'dam)
- De monsternames van 1 november 1982 heb ik zelf genomen, tesamen met Theo Mulder. Deze monsters werden speciaal

genomen in het kader van mijn graasexperimenten. De analyses zijn verricht door het Waterleiding Bedrijf Midden Nederland.

tabel 3

Uitkomst Chemische analyses met betrekking tot monsterpunten S₁, S₂ en S₃ (polder Stedelijk) en meetpunt Gorichem (Rijn).

	2 ^e kw.1982		23-4-1982		2-7-1982		1-11-1982	
	opgel.	tot.	S ₂	S ₃	S ₂	S ₃	S ₁	S ₂
Cadmium ug.l ⁻¹	0.1	0.6	0.2	0.2	-	1		
Chroom "	2	6	41	2	21	24		
Koper "	3	6	6	3	12	31		
Kwik "	0.02	0.13	1.6	0.2				
Lood "	1	5	8	8	102	122		
Mangaan "	86				308	738		
Nikkel "	3	5	8	8				
IJzer "		1970			967	4721	850	500
Zink "	8	75	14	12	16	30		
Natrium mg.l ⁻¹	80				480	640	67	240
Kalium "	5.5				190	150	1.1	78
Magnesium "	10.7				50	48	14	29.5
Calcium "	76				120	119	137	178
pH	7.93		7.45	7.60	8.3	7.1	7.4	7.6
COD mg.l ⁻¹	21		145	91				
BOD ₅ ²⁰ "	3.6		9	6				
EGV _{25°C} uS	750		3300	3600	5000	4400	940	2100
Hardh. mmol.l ⁻¹					8.4	4.6	4.0	5.66
Cl ⁻ mg.l ⁻¹	133		765	945	850	1430	130	430
HCO ₃ ⁻ "							410	585
CO ₃ ²⁻ "							0	0
N(kjeldah) "	1.1		3.0	3.5				
NH ₄ ⁺ "							0.3	0.55
NH ₄ ⁺ "	0.12		0.3	1.9	0.24	0.16	0.12	5.3
NO ₂ ⁻ "	0.057				0.01	0.02	0.01	0.28
NO ₃ ⁻ "					0.03	0.01	0.2	0.5
ortho P "			0.01	0.01	0.48	0.05	0.03	0.11
P tot. "	0.5		0.18	0.04	0.55	0.15	0.29	0.29
SO ₄ ²⁻ "	65				60	68	25	96

		2 ^e kw. 1982	23-4-1982	2-7-1982	1-11-1982
			S ₂	S ₃	
HCH	ug.l ⁻¹		n.a.	n.a.	
HCH	"		n.a.	n.a.	
HCH	"		n.a.	10	
HCB	"		10	10	
Dichlo.	"		n.a.	10	
Heptachl.	"		n.a.	n.a.	
Aldrin	"		n.a.	n.a.	
Malathion	"		n.a.	n.a.	
Parathion	"		n.a.	n.a.	
Dieldrin	"		n.a.	n.a.	
Endrin	"		n.a.	n.a.	
PP DDE	"		n.a.	n.a.	
PP DDD	"		n.a.	n.a.	
PP DDT	"		n.a.	n.a.	
Fenol	mg.l ⁻¹	5	41	0.1	
Oliën	"	0.1	0.83	0.60	

* mengmonster

In een later deel (3.4) wordt op deze chemische analyses nader ingegaan.

3.4 Graasexperimenten als bioindicatie.

Uitgaande van de Coulter Counter/Coulter Channelyzer uitkomsten is voor ieder graasexperiment resp. de filteringrate, de gecorrigeerde filteringrate en de gecorrigeerde Feedingrate berekend.

De filteringrate en de Feedingrate zijn berekend met de formules vermeld onder punt 2.3 (deel 1). Deze waarden staan vermeld in de appendix.

Spreiding in subsamples: Per graasexperiment is steeds een duplo telling uitgevoerd met betrekking tot de Chlorella concentratie. Wanneer in de Coulter Counter tellingen een verschil van meer dan 5 % optrad, is voor beide tellingen een filteringrate berekend. De keuze van filteringrate, waarmee verder gerekend is, is veelal gebaseerd op de

beste nominale beginconcentratie van de Chlorella suspensie. Een enkele maal is gekozen op grond van de "beste" waarde in het geheel van tellingen. Dit was noodzakelijk wanneer Coulter Counter tellingen van de eindconcentratie meer dan 5 % van elkaar verschilden.

Met behulp van het gemiddelde gewicht van de Daphnia's zijn de gecorrigeerde filteringrate en de gecorrigeerde Feedingrate omgerekend tot de gecorrigeerde filteringrate. mg.D^{-1} en de gecorrigeerde Feedingrate. mg.D^{-1} .

Kersting & van der Leeuw (1976) geven een methode om met behulp van de maximale Feedingrate en de maximale filteringrate het Incipient Limiting Level te berekenen. (zie Feedingmodel, Inleiding deel 1)

$$\text{I.L.L.} = \frac{\text{max. Feedingrate}}{\text{max. filteringrate}}$$

In experiment B en C is de voedselopname bepaald bij zowel een relatief hoge als een relatief lage voedselconcentratie. Dit maakt het in principe mogelijk de ligging van het Incipient Limiting Level te bepalen, onder aanname dat de Feedingrate maximaal is bij hoge voedselconcentratie en de filteringrate maximaal is bij relatief lage voedselconcentratie.

tabel 4

De gemiddelde waarde van de gecorrigeerde filteringrate. mgD^{-1} en de gecorrigeerde Feedingrate. mgD^{-1} en het hieruit berekende Incipient Limiting Level zijn getabelleerd tesamen met het gemiddelde van begin en eindconcentratie van het toegevoegde voedsel. Tevens is aangegeven de standaard deviatie en het aantal waarnemingen, waarop de gemiddelde waarden zijn gebaseerd.

exp	voedselcon. ($\mu\text{.}10^6.\text{ml}^{-1}$)	gem. filter. ($\text{ml.mgD}^{-1}.\text{h}^{-1}$)	Sd	gem. Feeding ($\mu\text{.}10^6.\text{mgD}^{-1}.\text{h}^{-1}$)	I.L.L. ($\mu\text{.}10^6.\text{ml}^{-1}$)
A M	0.93	27.94	3.04 5	26.01	
S ₃	1.15	10.94	1.07 5	12.51	
B M	0.81	29.44	3.01 5	23.62	
M	9.96	2.85/ 3.48	1.13/0.3 2	28.20/ 34.64	0.96/1.18
S ₁	0.87	16.72	3.36 5	14.37	
S ₁	9.27	4.14	0.70 5	38.24	2.29

exp	voedselcon. ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$)	gem. filter. ($\text{ml} \cdot \text{mgD}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	Sd	wrn	gem. Feeding ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{mgD}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	I.L.L. ($\mu^3 \cdot 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$)
B	S_2	0.77	15.07	3.70	5	11.43
	S_2	9.54	3.60	0.72	4	34.26
						2.27
C	S_3	1/8 0.74	21.80	2.47	4	16.10
	1/8	7.62	6.81	0.86	4	51.93
						2.38
	1/4	0.61	23.23	1.43	4	14.29
	1/4	7.63	7.03	0.35	3	53.61
						2.31
	1/2	0.67	20.02	1.73	4	13.43
	1/2	7.48	8.22	0.78	4	61.46
						3.07
	1	0.52	23.75/	6.78/	4	12.03/
			26.94	2.86	3	13.24
						2.41/2.12
	1	6.87	8.33	0.65	4	57.20

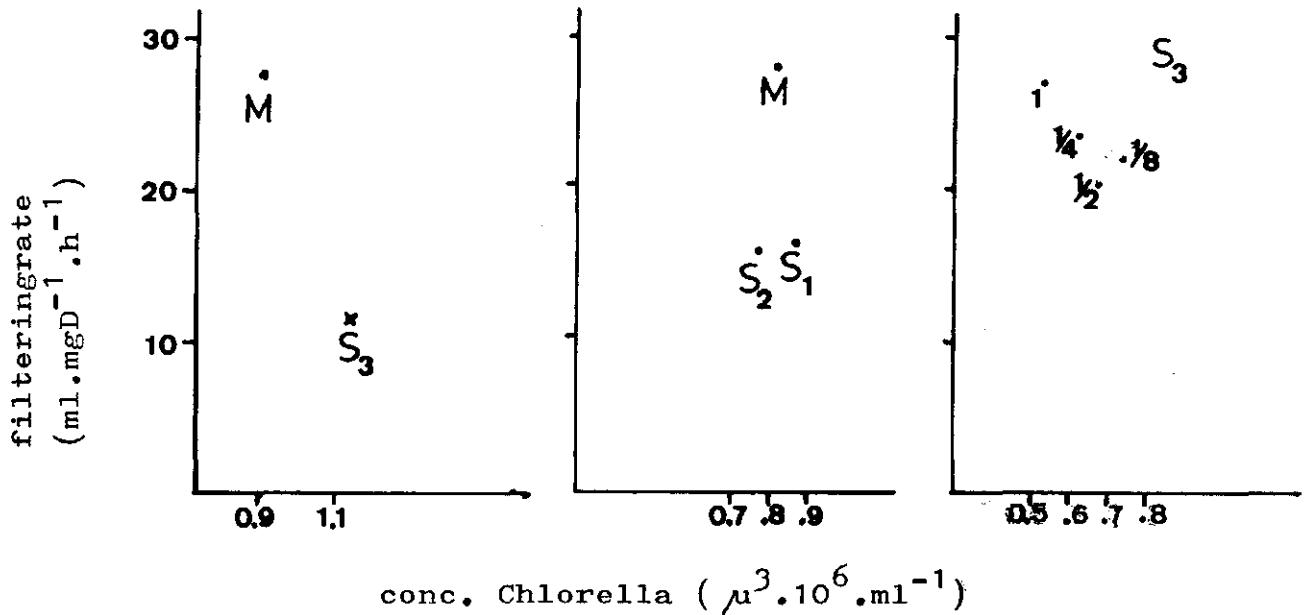


fig. 2a De filteringrate gevonden bij relatief lage voedselconcentratie (exp. A, B₁ en C₁).

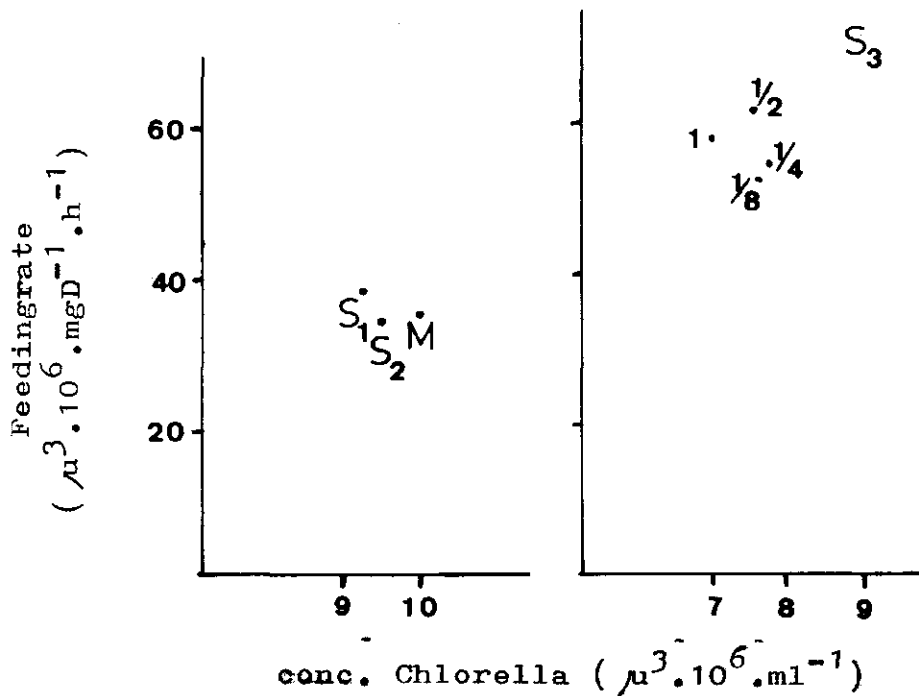


fig. 2b De Feedingrate gevonden bij relatief hoge voedselconcentratie (exp. B₂ en C₂).

Eén van de eerste dingen, die opvalt bij het bekijken van tabel 4 is de goede reproduceerbaarheid van de filtering- en Feedingrate zoals deze gevonden zijn in de diverse watertypen.

De gemiddelde spreiding per watertype is zeer gering. Dit staat in sterk contrast met de resultaten afkomstig uit de matrix-experimenten vermeld in deel 1 van dit verslag.

Mogelijk houdt dit verband met de voedselvoorgeschiedenis. Per experimentdag was deze hetzelfde en we zien dat de responsie van de Daphnia's op een bepaald watertype dan ook vrijwel gelijk is.

Ik zal nu overgaan tot het bespreken van de afzonderlijke experimenten A, B en C.

In experiment A vindt een duidelijke remming plaats van de filteringrate bij Daphnia's die grazen in het water afkomstig uit sloot 3. Ten opzichte van het medium treedt een remming op

van maar liefst 60 %. Omdat bij dit experiment enkel gewerkt is met een lage voedselconcentratie, is het niet mogelijk om na te gaan wat er met de maximale Feedingrate en het Incipient Limiting Level gebeurt.

Uit het chemisch analyse rapport genomen zo'n anderhalve maand voor uitvoer van dit experiment, bleek o.a. dat een lage concentratie van het herbicide Dichlobenil aanwezig was. Andere herbicides en pesticiden, waarvan verondersteld mag worden dat ze een soortgelijk remmend effect op de filtering-rate hebben, werden niet aangetoond.

Tevens bleek uit de analyses dat de metalen Chroom, Koper, Lood, Mangaan en IJzer in hoge concentraties voorkwamen. Ook werd een opvallend hoge waarde voor het electrisch geleidingsvermogen gevonden.

Het lijkt dan ook juist, de gevonden remming in de filtering-rate toe te schrijven aan de "slechte" kwaliteit van het slootwater.

Een vervelende bijkomstigheid is, dat de Daphnia's niet enkele dagen aan het slootwater hebben kunnen wennen, zoals wel gebeurd is bij de overige experimenten. Slechts een half uur voor het begin van het experiment, kwamen ze voor het eerst in contact met dit water. Hierdoor is het mogelijk, dat de remming niet zozeer geïnduceerd wordt door de kwaliteit van het water, maar meer door het "vreemd" zijn van dit water voor mijn watervlooien. Ze zijn immers opgekweekt in medium. Of een dergelijk schokeffect een remming van ca. 60 % te weeg kan brengen vraag ik me af. Zodat ik toch vermoed dat deze remming grotendeels door de kwaliteit van het slootwater bepaald wordt.

Experiment B is de verbeterde versie van A. De Daphnia's zijn nu van te voren met het slootwater in contact gebracht.

In experiment B treedt bij een lage voedselconcentratie weer een duidelijke reductie op van de filteringrate gemeten in het slootwater S_1 en S_2 ten opzichte van de filteringrate in het medium. De reductie bedraagt ca. 45 %.

Het feit dat de watervlooien in het medium iets lichter van

gewicht waren, versterkt uiteraard de verhouding van de filteringrate ten opzichte van die gevonden in het slootwater. Doordat de filteringrate uitgedrukt wordt per mg Daphnia. Dit kan echter de sterke reductie niet geheel verklaren. Zeker niet als we de filteringrate in het medium van experiment A vergelijken met die uit experiment B. Deze zijn nagenoeg hetzelfde, terwijl ook hier de Daphnia gewichten van elkaar verschillen.

Opvallend is verder dat er geen wezenlijk verschil optreedt tussen de filteringrate gemeten in de twee typen slootwater. In dit experiment werden de watervlooien twee dagen voor aanvang van het graasexperiment, in contact met de verschillende watertypes gebracht. De afname in filteringrate kan dus niet verklaard worden door een schokeffect, geïnduceerd door het "vreemd" zijn van het water voor de watervlooien, zoals aangegeven in experiment A.

Een vervelende bijkomstigheid is dat de duplo Coulter Counter tellingen af en toe erg slecht zijn. Ze overschreiden soms ruimschoots de 5 % spreiding. (zie punt 3.3 deel 1; spreiding in Coulter Counter bepalingen). Wat hiervan de oorzaak is, weet ik niet.

Uitgaande van het Feedingmodel van Kersting & van der Leeuw, 1976 mogen we aannemen dat de Feedingrate maximaal is bij de hoge voedselconcentratie. De Feedingrate lijkt voor alle drie de watertypen gelijk te zijn. De Feedingrate in het slootwater lijkt zelfs nog iets hoger uit te komen, dan die gevonden in het medium.

Bij de gemiddelde Feedingrate in het medium, moeten we wel bedenken dat deze slechts berekend is uit drie waarnemingen. De overige twee hadden een dusdanig afwijkende beginconcentratie, zodat ik deze niet in de berekening betrokken heb. Daarnaast vertoonde één van de drie overgebleven metingen ook een sterke afwijking ten opzichte van de andere twee. In feite beschouw ik de Feedingrate zoals gevonden in het medium als foutief.

De voor het medium berekende Incipient Limiting Level waarde bedraagt 1.23 of $0.94 \cdot 10^6 \mu^3 \cdot \text{ml}^{-1}$. De waarde 1.23 moet als "beste" Incipient Limiting Level waarde beschouwd worden, omdat deze berekend is met behulp van twee graasproeven die dezelfde Feedingrate opleverden.

Deze Incipient Limiting Level waarde is opvallend laag in vergelijking met eerder gevonden waarden.

Kersting & van der Leeuw 1976 vonden een Incipient Limiting Level waarde van $2.9 \cdot 10^6 \mu^3 \cdot \text{ml}^{-1}$, ik zelf vond een waarde $2.53 \cdot 10^6 \mu^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ voor het gebruikte medium. (deel 1 van dit verslag)

Uitgaande van een Incipient Limiting Level waarde van $2.53 \cdot 10^6 \mu^3 \cdot \text{ml}^{-1}$ en een gevonden maximale filteringrate van $28 \text{ ml} \cdot \text{mg D}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$, is het mogelijk de maximale Feedingrate te schatten met onderstaande formule:

$$\frac{\text{max. Feedingrate}}{\text{max. filteringrate}} = \text{I.L.L.} \quad F_{\text{max.}} = 28 \times 2.53$$

De maximale Feedingrate zou dan ca. $70 \mu^3 \cdot 10^6 \text{ mg} \cdot \text{D}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1}$ bedragen. Deze waarde is twee maal zo hoog als die gevonden werd.

Voor de beide sloottypen vind ik gelijke Incipient Limiting Level waarden, resp. 2.29 en $2.24 \cdot 10^6 \mu^3 \cdot \text{ml}^{-1}$.

Wat betreft de chemische samenstelling van het slootwater het volgende: Omdat ik zelf weinig kennis heb, omtrent de "natuurlijk" voorkomende concentraties van de ionen die in de chemische analyse bepaald zijn, maak ik gebruik van de Rijn als referentie water. RIZA/Rijkswaterstaat hebben op meetpunt Gorichem het Rijnwater bemonsterd. Van de Rijn is bekend dat het water een sterke mate van verontreiniging vertoont.

Uit het analyse rapport (Waterleiding Bedrijf Midden Nederland) waarbij water van zowel monsterpunt S_1 en S_2 geanalyseerd zijn, blijken wel degelijk verschillen op te treden tussen de beide punten.

Het gehalte Na^+ , K^+ , Ca^{2+} en Mg^{2+} is in S_2 hoger dan in S_1 . De Na^+ / K^+ verhouding in S_1 is 60, terwijl deze verhouding in

sloot S₂ een factor 3 bedraagt. De verhouding Na^+ / K^+ in S₁ vertoont gelijkenis met die gevonden in de Rijn. Het gehalte Natrium en Kalium in S₂ is veel hoger dan in de Rijn.

Met name een te hoog Kalium gehalte ten opzichte van het gehalte Natrium kan toxische effecten hebben.

Het electrisch geleidingsvermogen is in S₂ duidelijk hoger (2100 uS) dan in S₁ (940 uS). Evenzo is de Chloride concentratie in S₂ veel hoger dan in S₁. Sloop S₁ heeft een Chloride concentratie overeenkomstig het Rijnwater.

Uit de analyse rapporten van 23 april en 2 juli 1982 blijkt dat stoffen als Chroom, Koper, Kwik, Lood, Magnesium en Mangaan op punt S₂ in veel hogere concentraties voorkomen dan in de Rijn. Van sloot S₁ zijn omtrent deze stoffen helaas geen verdere gegevens bekend.

Toch blijkt uit de diverse wateranalyses dat zowel sloot S₁ als sloot S₂ sterk vervuilde wateren zijn, tenminste in vergelijking met de Rijn.

Door de ligging van S₁ ten opzichte van de vuilstort, was m'n oorspronkelijke verwachting dat deze sloot als een "schoon" referentie water dienst kon doen. De invloed van de vuilstort is op dit punt ook duidelijk minder dan op punt S₂. (Sloop S₁ vertoont grote gelijkenis met de kwaliteit van het Rijnwater.) Echter S₁ kan niet doorgaan als schoon punt, dit verklaart waarschijnlijk waarom de filteringrate gevonden in S₁ niet wezelelijk verschilt van die gevonden in S₂.

Over de invloed van diverse stoffen op de filteringrate is nog weinig bekend.

Van een stof als Koper is bekend dat het de maximale filteringrate reduceerd (Moraitou-Apostopoulou 1979). Dit zelfde gebeurt onder invloed van Chloor verbindingen (Capuzzo 1979). Waarschijnlijk veroorzaken vele stoffen soortgelijke effecten op de voedselopname.

Naast de chemische gegevens heb ik in iedere sloot, enkele Cladocera gevangen en laten determineren. Het aantal is echter te klein geweest om hierover uitspraken te doen. In beide slo-

ten werd alleen de soort *Simocephalus vetulus* gevonden, deze soort kan vervuild water goed verdragen. (mondelinge mededeling Kees Davids).

Als conclusie is te stellen dat zowel S_1 als S_2 duidelijk verontreinigde sloten zijn. Dit blijkt uit de chemische analyse rapporten in vergelijking met het Rijnwater. De filteringrate van *Daphnia magna* in beide watertypen vertoont een evengrote afname ten opzichte van de maximale filteringrate in medium.

Het laatste experiment in deze reeks is experiment C.

Uit tabel 4 en de figuren 2a en 2b blijkt dat bij toenemende concentratie slootwater geen echte verschillen optreden in de filteringrate, bij lage voedselconcentraties. Ook de Feedingrate, gemeten bij hoge voedselconcentraties, vertoont geen essentiële verschillen.

Dit is nogal merkwaardig. De filteringrate ligt in dezelfde grootte orde als de filteringrate, zoals gevonden in het medium in experiment A en B.

Dit zelfde treedt op bij de Feedingrate. Als ik de hier gevonden Feedingrate vergelijk met de geschatte Feedingrate uit experiment B (onder aanname dat $I.L.L. = 2.53 \cdot 10^6 \mu^3.ml^{-1}$), dan blijkt dat ze in dezelfde grootte orde liggen.

Ik moet hieruit dus concluderen dat het slootwater met betrekking tot de voedselopname van de watervlooien kwalitatief niet wezenlijk verschilt van het medium. Puur of verdund slootwater geeft eenzelfde voedselopname als kweekmedium.

De oorspronkelijke verwachting was, dat bij toenemende concentratie water uit sloot S_3 een steeds sterkere reductie van zowel de filteringrate als de Feedingrate op zou treden. Vooral gezien het effect dat het water uit S_3 veroorzaakte in experiment A.

Waarom het verwachte effect uitgebleven is, weet ik niet. Het enige opvallende verschil met de overige experimenten is de leeftijd van de gebruikte *Daphnia*'s. Het waren nog juveniele dieren. Wel hadden ze hetzelfde gewicht bereikt als de oudere *Daphnia*'s. (zie tabel 1) Het lijkt dus dat de

gevoeligheid van de juveniele dieren minder is dan bij de adulte *Daphnia*'s.

Mevr. Adema (1978) vermeld juist dat juveniele dieren gevoeliger zijn voor toxische stoffen. Zij vergeleek echter de gevoeligheid van juveniele dieren onderling. Binnen de leeftijdsgroep 0 - 7 dagen vond zij een leeftijdsgebonden gevoeligheid. (Hoe jonger, hoe gevoeliger.) Of deze relatie bij adulte *Daphnia*'s ook opgaat, weet ik niet.

Ook in deze sloot is in november gekeken naar het voorkomen van Cladocera. Hierin werden een drietal soorten aangetroffen.

-*Daphnia longispina*

-*Daphnia pulex*

-*Simocephalus vetulus*

Bij vergelijking van alle chemische analyses blijkt het water uit sloot S₃ het meest vervuild van alle drie te zijn, terwijl hier de meeste soorten Cladocera voorkomen. We moeten hierbij wel bedenken dat de chemische analyses van een heel ander tijdstip afkomstig zijn dan de gevangen Cladocera. Het is zeer goed mogelijk dat er zich in dit tijdsbestek een verandering heeft voorgedaan. Onder andere was de afwatering bij dit punt veranderd in vergelijking met de situatie in juli 1982.

Naar aanleiding van het voorgaande, zal ik trachten een eindconclusie te geven. De resultaten verkregen in experiment C, laat ik hierbij buiten beschouwing omdat ik hiermee geen raad weet.

Ondanks dat ik slechts enkele metingen verricht heb in het kader van de vraagstelling, lijkt zich hierin toch een bepaalde tendens af te tekenen. De maximale filteringrate van *Daphnia magna* in "slechte" kwaliteit buitenwater is sterk geremd (ca. 50 % reductie) in vergelijking met deze gemeten in kweekmedium. Hoogst waarschijnlijk daalt de maximale Feedingrate ook. De in experiment B "geschatte" Feedingrate voor het medium is hoger dan die gevonden in het water van monsterpunt S₁ en S₂. Zekerheid omtrent deze aanname moet blijken uit herhalingen van dergelijke experimenten.

Het was jammer dat de punten S_1 en S_2 beide een "slechte" kwaliteit hadden. Sloot S_1 diende een relatief goede waterkwaliteit te vertegenwoordigen, waarbij m'n verwachting was dat er geen of een geringe reductie van de filteringrate en de Feedingrate op zou treden. Dan was ook duidelijker naar voren gekomen of de voedselopname als parameter gevoelig genoeg is als graadmeter voor de kwaliteitstoestand van het buitenwater.

Erg hoopvol is de goede reproduceerbaarheid van de testen. De spreiding binnen één testwater is klein. Dit is van essentieel belang bij de ontwikkeling van toetsen.

Ik wil dan ook stellen dat het de moeite waard is m.n. de filteringrate als testparameter verder te onderzoeken. Zeker voor extrapolatie naar de buitensituatie zal de maximale filteringrate van belang zijn. In het buitenwater zal eerder een beperkt voedselaanbod (voedselconcentratie beneden het Incipient Limiting Level) optreden, dan een overschot. Een remming van de filteringrate is dan essentieel.

4. LITERATUUR

- Adema, D.M.M., 1978. *Daphnia magna* as a test animal in acute and chronic toxicity test. *Hydrobiologia* 59 (2): 125 - 134.
- Capuzzo, J.M., 1979. The effects of halogen toxicants on survival, feeding, and egg production of the rotifer *Branchionus plicatilis*. *Estuarine Coastal Mar. Sci.* 8: 307 - 316.
- Frear, D.E.H. & J.E. Boyd, 1967. Use of *Daphnia magna* for the microbiassay of pesticides 1. Development of standardized techniques for rearing *Daphnia* and preparation of dosage-mortality curves for pesticides. *Journ. Economic. Entom.* 60 (5): 1228 - 1236.
- Gulatti, R.D., 1978. The ecology of common planktonic Crustacea of the freshwaters in the Netherlands. *Hydrobiologia* 59 (2): 101 - 112.
- Kersting, K. & W.van der Leeuw, 1976. The use of the Coulter Counter for measuring the feedingrates of *Daphnia magna*. *Hydrobiologia* 49 (3): 233 - 237.
- Kramer, M. & Th. Mulder, 1983. Onderzoek naar de invloed van de vuilstort in polder Stedelijk op de slootvegetatie; Doctoraal Stageverslag, Vakgroep Byzondere Plantkunde, afd. Vegetatiekunde, Univ. van Amsterdam.
- McMahon, J.W. & F.H. Rigler, 1965. Feedingrate of *Daphnia magna* Str. in different foods labelled with radioactive phosphorus. *Limnol. Oceanogr.* 10 (1): 105 - 113.
- Moraitou-Apostopoulou, M. & G. Verriopoulous, 1979. Some effects of sublethal concentrations of copper on marine copepod. *Mar. Pollut. Bull.* 10: 88 - 92.
- Sloof, W., 1982. Bioindicatoren en chemische verontreiniging van het oppervlaktewater. Symposium Ecologische Indicatoren voor de Kwaliteitsbeoordeling van lucht, water, bodem en ecosystemen. 14 - 15 oktober 1982. Ecologische Kring.
- Ten Berge, W.F., 1978. Breeding *Daphnia magna*. *Hydrobiologia* 59 (2): 121 - 123.
- Wassenburger, H.J., 1954. *Daphnia magna* als Tasttier zum Nachweis von Kontakt insektizid-spuren. *Pharmazie* 7: 731 - 734.

EXP. A: 3 juli 1982.

Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate.mg.D⁻¹ en gecorrigeerde Feedingrate.mg.D⁻¹, gemeten bij lage voedselconcentratie.

code	f.rate (ml.hr ⁻¹)	cor.f. rate (ml.mgD ⁻¹ .hr ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3.10^6$.mgD ⁻¹ .hr ⁻¹)
M	26.96	32.17	29.55
	21.35	26.45	25.78
	22.17	27.29	25.17
	24.38/20.66*	29.54	27.39
	19.17	24.23	22.14

bl.	-4.85/-2.16*	-4.60	
	-4.36/3.42*		

S ₃	11.02	12.48	14.05
	9.41	10.84	12.54
	8.22	9.62	10.86
	8.98	10.40	12.31
	9.94	11.38	12.78

bl.	-1.39/-8.31*	-1.22	
	-2.87*/-1.05		

NB. *verworpen op grond van slechtste nominale beginconcentratie of doordat waarde het slechtst past in de reeks.

EXP. B: 3 november 1982.

Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate.mg.D⁻¹ en gecorrigeerde Feedingrate.mg.D⁻¹ gemeten bij lage voedselconcentratie.

code	f.rate (ml.hr ⁻¹)	cor.f. rate (ml.mgD ⁻¹ .hr ⁻¹)	cor.F. rate (μ ³ .10 ⁶ .mgD ⁻¹ .hr ⁻¹)
M	22.78 19.43/21.68 22.44/21.14* 21.76/19.53* 27.46/33.97* 25.93*/32.44*	28.89 27.52 28.46 27.62 34.73	24.01 22.30 22.22 22.92 26.67
b1.	-0.45 -0.26 }	-0.36	
S ₁	18.29 23.09/21.08* 17.75 28.61/27.14* 19.52/15.88*	14.36 17.94 13.96 22.05 15.28	13.74 14.48 12.63 17.06 13.93
b1.	-1.46 -0.51 }	-0.98	
S ₂	16.35 21.25 31.21 20.23 20.65	11.41 14.67 21.30 13.99 13.99	10.14 11.53 13.69 11.19 10.60
b1.	-0.78 -0.82 }	-0.80	

EXP. B; 4 november 1982.

Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate.mg.D⁻¹ en gecorrigeerde Feedingrate.mg.D⁻¹ gemeten bij hoge voedselconcentratie.

code	f.rate (ml.hr ⁻¹)	cor.f. rate (ml.mgD ⁻¹ .hr ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3 \cdot 10^6$.mgD ⁻¹ .hr ⁻¹)
M	1.03 *		
	2.58	3.23	32.29
	-5.43 *		
	3.07	3.73	36.98
	0.98	1.58	15.33
bl.	-0.55		
	-4.50 *		
S ₁	4.02	3.10	29.52
	5.15	3.89	36.92
	5.65	4.24	39.58
	6.10	4.55	41.59
	6.63	4.92	43.57
bl.	-0.74 } -0.08 }	-0.41	
S ₂	3.03 *		
	5.48	4.36	40.64
	4.25	3.30	31.97
	3.64	2.76	27.36
	5.06	4.00	37.05
bl.	0.13 } 0.79 }	0.46	

EXP. C: 12 november 1982.

Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate.mg.D⁻¹ en gecorrigeerde Feedingrate.mg.D⁻¹, gemeten bij lage voedselconcentratie.

code	f.rate (ml.hr ⁻¹)	cor.f. rate (ml.mgD ⁻¹ .hr ⁻¹)	cor.F. rate (μ ³ .10 ⁶ .mgD ⁻¹ .hr ⁻¹)
1/8 S ₃	20.15	21.57	15.94
	17.02 [*] /17.92	19.20	15.06
	23.54	25.16	17.74
	19.89	21.29	15.66

b1.	0.26 } -0.64 }	-0.19	

1/4 S ₃	25.78	24.43	15.50
	23.04	21.79	13.28
	23.47	22.22	13.60
	25.85	24.49	14.78

b1.	0.28 } 0.07 }	0.18	

1/2 S ₃	22.72	19.37	13.11
	25.35	21.74	14.19
	24.63	21.09	13.86
	21.10	17.90	12.56

b1.	1.77 } 0.79 }	1.28	

S ₃	32.56	30.06	14.02
	28.85	26.31	13.48
	27.00	24.44	12.31
	16.86	14.20	8.39

b1.	3.03 } 2.57 }	2.80	

EXP. C: 15 november 1982.

Filteringrate, gecorrigeerde filteringrate.mg.D⁻¹ en gecorrigeerde Feedingrate.mg.D⁻¹, gemeten bij hoge voedselconcentratie.

code	f.rate (ml.hr ⁻¹)	cor.f. rate (ml.mgD ⁻¹ .hr ⁻¹)	cor.F. rate ($\mu^3.10^6$.mgD ⁻¹ .hr ⁻¹)
1/8 S ₃	4.93	6.03	45.00
	7.99/6.62	8.00	60.78
	5.22	6.37	48.51
	5.62	6.84	53.43

b1.	-0.27	-0.24	
	-0.21		
1/4 S ₃	5.23	6.63	50.48
	5.78	7.30	54.77
	5.67	7.16	55.57
	-		

b1.	-0.26		
	-		
1/2 S ₃	6.83	8.60	65.70
	5.51	7.06	53.52
	6.95	8.74	63.62
	6.72	8.47	62.98

b1.	-0.38	-0.58	
	-0.78		
S ₃	7.08/6.31*	7.62	52.48
	6.13*/7.38	7.94	54.21
	8.16	8.78	61.74
	8.90/8.33*	8.97	60.36

b1.	0.00		
	0.00		