

INHOUD

1 DOEL EN TOEPASSINGSGBIED	1
Toepassingsgebied	2
Andere belangrijke voorschriften voor dit toepassingsgebied	2
2 TERMEN EN DEFINITIES	2
3 BEGINSSEL	2
4 CHEMICALIËN EN REAGENTIA	2
Chemicaliën	2
Reagentia	3
5 TOESTELLEN EN HULPMIDDELEN	4
Toestellen	4
Hulpmiddelen	4
6 ANALYSEMONSTERS	4
7 WERKWIJZE	5
Uitzoeken	5
Determineren	9
Kalibratie	10
Referentiecollectie	10
8 BEREKENING	10
Berekenen factoren monster	10
9 KWALITEIT	11
Eerstelijnscontrole	11
Tweedelijnscontrole	11
Derdelijnscontrole	11
Controlestandaarden	11
Overige borgingspunten	12
10 INVOEREN EN RAPPORTAGE	12
Invoer 12	
Rapportage	12
11 AFRONDING EN RAPPORTAGEGRENSEN	12
12 ARBO, VEILIGHEID EN MILIEU	12
ARBO en Veiligheid	12
Milieu 13	
13 DOCUMENTEN	13
14 FORMULIEREN	13
15 LITERATUUR	13
Externe documenten/literatuur	13
16 WIJZIGINGEN T.O.V. VORIGE VERSIE	13
17 BIJLAGEN	14
Bijlage 1 Kwantitatief uitzoeken met verdelingscheck	14

1 DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

Dit voorschrift beschrijft het uitzoeken, determineren en rapporteren van macrofauna. De beschreven methode is gebaseerd op Hoofdstuk 12 - Macrofauna, uit het Handboek Hydrobiologie (STOWA, februari

2014). De analyse van macrofauna heeft als doel de ecologische kwaliteit van het oppervlaktewater te bepalen.

In de scope staat de verrichting als volgt omschreven: "Het bepalen van de soortensamenstelling van de macro-evertebraten; zoekmethode (lichtbak en microscopie)"

1.1 Toepassingsgebied

Dit voorschrift is van toepassing op macrofaunamonsters afkomstig uit het oppervlaktewater en de waterbodem. Dit voorschrift beschrijft het uitzoeken en determineren van macrofauna. De beschreven zoekmethoden zijn geschikt voor het uitzoeken van levende monsters die verzameld zijn volgens de multihabitatmethode (of vergelijkbaar) uit oppervlaktewater. De analyseresultaten geven een betrouwbaar semi-kwantitatief beeld van de soortensamenstelling en zijn geschikt voor het uitvoeren van ecologische beoordelingen.

Voor een puur kwantitatieve vraagstelling (bepalen van aantal individuen per oppervlak) dient voor het uitzoeken de splitsingsmethode met verdelingscheck gebruikt te worden. Deze is beschreven in bijlage 1 (§17.1 Kwantitatief uitzoeken met verdelingscheck).

1.2 Andere belangrijke voorschriften voor dit toepassingsgebied

- Het bemonsteren van macrofauna is beschreven in [V HYB 002 Bemonsteren macrofauna](#).
- Opleiding voor het uitzoeken en determineren van macrofauna is beschreven in [P017 Werving, selectie en opleiding van personeel](#) in paragraaf 5.3.2 onder het kopje Hydrobiologisch analist.
- 2^e- en 3^e Lijnscontrole van de analyse van macrofauna zijn beschreven in [P023 Lijncontroles en controlekaarten](#) in paragraaf 5.4 en 5.5.

2 TERMEN EN DEFINITIES

TABEL 1. TERMEN EN DEFINITIES

Macrofauna:	Verzamelnaam voor met het blote oog zichtbare, aan het water gebonden levensstadia van ongewervelde dieren, afgebakend aan de hand van een vastgestelde lijst van taxonomische soortgroepen (zie tabel 7). Synoniem van Macro-evertebraten.
Uitzoeken:	De monsters uitspoelen en organismen die behoren tot de macrofauna verzamelen en sorteren.
Determineren:	Het op naam brengen van de macrofauna.
Analyserapport:	Soortenlijst met aantallen en locatie-informatie.
Uitzoekformulier:	Formulier waarop de analist tijdens het uitzoeken bijhoudt hoeveel exemplaren er verzameld en geteld (of geschat) zijn van de aanwezige soortgroepen of soorten.
AquaDesk	Een database-applicatie voor de registratie van biologische en fysisch-chemische meetgegevens.

3 BEGINSEL

Monsters die volgens werkvoorschrift [V HYB 002 Bemonsteren macrofauna](#) zijn verzameld, worden op het lab uitgezocht. De aanwezige macrofauna wordt volgens dit voorschrift verzameld, gesorteerd en gefixeerd. Op een later tijdstip worden de verzamelde dieren zoveel mogelijk tot op soort gedetermineerd.

4 CHEMICALIËN EN REAGENTIA

4.1 Chemicaliën

In tabel 2 staan de chemicaliën genoemd die nodig zijn voor het uitzoeken en determineren van macrofauna of voor het bereiden van reagentia.

TABEL 2. CHEMICALIËN

Nummer	Chemicaliën	Artikelnummer	Houdbaarheid
4.1.1	Ethanol 96%, niet gedenatureerd	84050062 bij www.boomlab.nl	Ongeopend: 5 jaar Geopend: 1 jaar

4.1.2	Koenikevloestof*	718014.11 bij www.boomlab.nl	Ongeopend: 5 jaar Geopend: 2 jaar
4.1.3	Melkzuur 72% *	80011169 bij www.boomlab.nl	Ongeopend: 5 jaar Geopend: 2 jaar
4.1.4	DMHF *	Verkrijgbaar bij Eurofins AquaSense (T. van Haaren)	Ongeopend: 5 jaar Geopend: 2 jaar
4.1.5	Nagellak *	Verkrijgbaar bij de drogist	Ongeopend: 5 jaar Geopend: 2 jaar
4.1.6	D-fructose *	1.04007.0250 bij nl.vwr.com of www.sigmaaldrich.com	Ongeopend: 5 jaar Geopend: 2 jaar

* Bij overschrijding van de houdbaarheidsdatum kan een houdbaarheidstest worden gedaan volgens procedure P012.

De toepassing van pure chemicaliën (ongewijzigd voor gebruik) staat in tabel 3.

TABEL 3. TOEPASSING VAN PURE CHEMICALIËN

Chemicaliën	Toepassing
Ethanol 96% 4.1.1	Conserveren van wormen.
Melkzuur 72% 4.1.3	Het ophelderen van wormen en andere (delen van) organismen.
DMHF 4.1.4	Het maken van houdbare preparaten die minimaal vijf jaar bewaard kunnen worden. DMHF heeft ook een ophelderend effect.
Nagellak 4.1.5	Het aflakken van preparaten, zodat die, voor de duur van het determinatieseizoen niet uitdrogen (bijvoorbeeld wormenpreparaten).

4.2 Reagentia

AQUON gebruikt voor het prepareren en conserveren van macrofauna de volgende reagentia (bereid voor gebruik):

TABEL 4. BEREIDING EN TOEPASSING VAN REAGENTIA

Reagentia	Toepassing	Bereiding	Houdbaarheid
Ethanol 70% 4.2.1	Het conserveren van alle macrofauna behalve watermijten, wormen en platwormen.	Voeg samen: 730 ml ethanol 96% (4.1.1) 270 ml leiding- of demiwater	1 jaar
Ethanol 30% 4.2.2	Het doden van bloedzuigers voorafgaand aan het conserveren.	Voeg samen: 310 ml ethanol 96% (4.1.1) 690 ml leiding of demiwater	1 jaar
Levulosesiroop* 4.2.3	Het ophelderen en prepareren van wormen bij het determineren. Voor het ophelderen van andere (delen van) organismen.	Voeg samen: 50 g D-fructose 50 ml demiwater Enkele druppels melkzuur 72% (4.1.3) Verwarm dit 24 uur bij 50 °C voeg daarna 50 ml melkzuur 72% (4.1.3) toe	2 jaar

* Bij overschrijding van de houdbaarheidsdatum kan een houdbaarheidstest worden gedaan volgens procedure P012.

5 TOESTELLEN EN HULPMIDDELEN

5.1 Toestellen

TABEL 5. TOESTELLEN T.B.V. UITZOEKEN EN/OF DETERMINEREN

5.1.1	Stereozoommicroscoop met lichtbron (minimaal zoombereik 10 tot 60x)
5.1.2	Microscoop met lensrevolver (minimaal aanwezige lenzen: 10, 20 en 40x of 60x)
5.1.3	Lichtbron met 1 of 2 verstelbare armen
5.1.4	Lichtbron met aan de onderste lens te bevestigen lichtring (optioneel)
5.1.5	Camera voor een microscoop (optioneel)
5.1.6	Uitzoektafels met onderverlichting en of lichtbakken
5.1.7	Telmachine
5.1.8	Kookplaatje of waterkoker

Ten behoeve van de determinatie zijn meerdere microscopen (5.1.1, 5.1.2) in omloop. Zie voor registratienummers de actuele versie van het digitale logboek macrofauna of de inventarislijst [IL 001 Inventarislijst AQUON](#). De bediening van de microscopen met lensrevolver (5.1.2) komt aan de orde in bedieningsvoorschrift [B HYB 008 Bedieningsvoorschrift lichtmicroscopen](#). De bediening van de stereozoommicroscopen (5.1.1) komt aan de orde in bedieningsvoorschrift [B HYB 03 Bedieningsvoorschrift Stereomicroscoop](#). Met verschillende firma's heeft AQUON een onderhoudscontract afgesloten voor het jaarlijks onderhoud van de stereomicroscopen en lichtmicroscopen. AQUON laat de zeven extern kalibreren volgens procedure [P022 Controle uitrusting](#).

5.2 Hulpmiddelen

TABEL 6. HULPMIDDELEN T.B.V. UITZOEKEN EN/OF DETERMINEREN.

5.2.1	Afsluitbare emmers (10 liter)
5.2.2	Uitzoektafels met onderverlichting en/of lichtbakken
5.2.3	Uitzoekbakken
5.2.4	Monstersplitser
5.2.5	Gekalibreerde zeven (maaswijdte 500 µm)
5.2.6	Zeven (maaswijdte >500 µm)
5.2.7	Uitzoekpotjes
5.2.8	Etiketten (bij voorkeur uit Sample Manager, anders handmatig)
5.2.9	Pipetten
5.2.10	Pipetspenen
5.2.11	Pincetten, met harde en slappe punt
5.2.12	Petrischalen
5.2.13	Theezeefje
5.2.14	Gaas (kunststof, stevig en zelf op maat te knippen)
5.2.15	Objectglazen
5.2.16	Dekglaasjes
5.2.17	Veldformulieren (digitaal)
5.2.18	Uitzoekformulieren (zie punt 3 in paragraaf 7.1)
5.2.19	Prepareernaalden
5.2.20	Rekjes voor uitzoekpotjes
5.2.21	Rekken of ladekasten om uitgezochte monsters op te slaan

6 ANALYSEMONSTERS

Dit hoofdstuk beschrijft bijzonderheden voor de te analyseren monsters.

- Zie [P020 Transport, ontvangst, beheer, opslag en afvoer van monsters](#) voor algemene informatie.
- Sla uit te zoeken monsters op bij een temperatuur tussen de 2° en 7°C totdat ze in behandeling genomen worden.
- Uitzoeken dient uiterlijk binnen 48 uur na monsternam plaats te vinden, het streven is binnen 24 uur. Bij overschrijding van de 48 uur volgt herbemonstering.

- Zie hoofdstuk 4 en 7 voor het conserveren en bewaren van uitgezochte monsters.

7 WERKWIJZE

7.1 Uitzoeken



FOTO 1. HET UITZOEKEN VAN MACROFAUNA

Het uitgangspunt is om monsters geheel uit te zoeken. Bij hoge uitzondering en in overleg met een ervaren analist kan men beslissen om hiervan af te wijken. Zie § 7.1.2 onderaan.

1. Controleer de zeven (5.2.5 en 5.2.6). Ze moeten schoon, vrij van achtergebleven organismen en onbeschadigd zijn.
2. Spoel het monster. De onderste zeef is altijd een gekalibreerde zeef (5.2.5) met een maaswijdte van 500 µm. Als er veel grof organisch materiaal aanwezig is, kun je één of meer zeven met grovere maaswijdte (5.2.6) bovenop de gekalibreerde zeef (5.2.5) plaatsen. Op deze wijze ontstaat een grove- en fijne fractie.
3. Gebruik tijdens het uitzoeken het tabblad "Uitzoekformulier" in het ingevulde veldformulier voor de betreffende locatie. Zoek het bijbehorende veldformulier MAFA in de synchromap en sla het op in de juiste projectmap onder Y:\Hydrobiologie\Waterschap\OMSxx-xxx project\ld. Meetgegevens\MAFA Etiketter elk uitzoekpotje (5.2.7). Op het etiket (5.2.8) staat in ieder geval de locatie, de bemonsteringsdatum en de soortgroep(en).
4. Uitzoeken gebeurt op een uitzoektafel met onderverlichting of op een lichtbak (5.1.6).
5. Verzamel de aanwezige macrofauna met pincetten (5.2.11) of met pipet en pipetspeen (5.2.9 en 5.2.10).
6. Tel op het uitzoekformulier per soortgroep hoeveel individuen je verzameld hebt.
7. Verzamel geen dieren die al dood waren ten tijde van de bemonstering, zoals lege slakkenhuisjes en lege schelpen. Verzamel geen dieren zonder kop, behalve aasgarnalen. (Aasgarnalen verliezen gemakkelijk hun kop en zijn goed te determineren aan de staart).
8. Verzamel de uitgezochte macrofauna in uitzoekpotjes (5.2.7). Vul deze maximaal voor 40% met macrofauna om kwaliteitsverlies door verdrukking te voorkomen. Gebruik, indien nodig, een extra potje of een grotere pot. Noteer dit duidelijk op het uitzoekformulier en op de potjes (bijvoorbeeld "1 van 2").
9. Sorteert per monster de soortgroepen in aparte uitzoekpotjes (5.2.7). Meerdere soortgroepen mogen samen in één potje worden verzameld, indien dit geen nadelige gevolgen heeft voor de conservering of het determineren.
10. Determineer platwormen tijdens het uitzoeken zoveel mogelijk tot op soort. Bij een aantal soorten is platdrukken en bekijken onder de microscoop noodzakelijk. Noteer eventuele aanwezigheid van mosdierpjes* en sponzen*. Dieren die je tijdens het uitzoeken direct tot op het gewenste

niveau kunt determineren (Voorbeeld: *Plea minutissima*, *Ceratopogonidae*, staafwants, poelslak) hoeft je niet te verzamelen, maar mag je tellen of schatten. Noteer hun aantal duidelijk op het uitzoekformulier.

11. Verzamel alle soortgroepen in ethanol 70% (4.2.1), met uitzondering van:
 - Mijten: verzamelen en conserveren in koenikevloeistof (4.2.3).
 - Borstelwormen: verzamelen in ethanol 96% (4.1.1), in praktijk blijken bij een eindconcentratie ethanol van 70-90% de wormen het best gedetermineerd te kunnen worden. Indien weinig wormen verzameld zijn, kan de ethanol iets worden verdund.
 - Bloedzuigers: laten sterven in ethanol 30% (4.2.2) vervolgens conserveren in ethanol 70% (4.2.1).
12. Draai dopjes goed dicht. Sla de potjes van een monster bij elkaar op in een rek of lade (5.2.21) tot determinatie plaatsvindt.

In dit voorschrift staan twee uitzoekmethodes beschreven die gebruikt kunnen worden voor een **semi-kwantitatieve** analyse. De uitzoeker kiest een van deze methodes.

UITZOEKEN MET SCHATTEN

Deze methode is handig bij monsters met een klein aantal individuen en monsters die zich slecht over de zeef laten verdelen.

UITZOEKEN NA SPLITSSEN OP DE ZEEF

Deze methode is handig bij monsters met een groot aantal individuen die zich goed laten verdelen over de zeef.

In bijlage 1 staat een methode die geschikt is voor een **kwantitatieve analyse** (waarin bijvoorbeeld wordt teruggerekend naar aantal individuen per m². Deze monsters zijn genomen van een oppervlak met een bekende afmeting).

7.1.1 Uitzoeken met schatten

1. Indien binnen een taxonomische groep veel individuen in het monster voorkomen, verzamel het aantal individuen voor die groep volgens de richtlijn, eventueel aangevuld met eigen inzicht (zie punten en voorbeelden na tabel 7, overleg eventueel met een ervaren collega). Het aantal te verzamelen individuen per groep volgens de richtlijn staat in tabel 7.
2. De verzamelde dieren moeten een representatief beeld geven van de verschillende soorten en hun onderlinge verhouding in het hele monster. Verzamel daarom zoveel mogelijk willekeurig. Opvallende grootte of kleur van een bepaalde soort mogen er niet voor zorgen dat die soort méér vertegenwoordigd raakt dan andere soorten. (Een uitzondering geldt voor nog-niet-verzamelde-organismen, zie punt 4). De verzamelde individuen mogen niet uit één fractie afkomstig zijn, maar dienen uit verschillende fracties (grof, fijn) en dus uitzoekbakken te worden verzameld. Zorg, als je monstermateriaal uit een emmer schenkt, dat de inhoud van je uitzoekbak een afspiegeling is van de inhoud van de emmer. Meng de inhoud van de emmer voor het schenken. Anders bestaat de kans (zwaardere) bodembewoners te onderschatten. Binnen de dansmuggen, borstelwormen, mijten en slakken kan dit optreden.
3. Tel of schat de achtergebleven individuen op het uitzoekformulier per soortgroep of een specifiek niveau.
4. Een uitzondering geldt voor taxa die je nog niet verzameld hebt.

Voorbeeld : je komt een rode mijt tegen nadat je al 100 zwarte verzameld hebt.
Verzamel de rode nog. Als het er 1 is, kun je hem wel binnen de factor rekenen, maar als je selectief meerdere andersoortige individuen extra verzamelt, noteer dan "rode mijten buiten factor" o.i.d. om te voldoen aan punt 2. Je kunt ook een apart factor-1-potje maken voor de extra's.
5. Vul het uitzoekformulier goed in. Noteer duidelijk hoeveel individuen je verzamelt en hoeveel je schat of direct determineert. Voor een andere analist moet duidelijk zijn wat je precies hebt gedaan.

TABEL 7. RICHTLIJNEN VOOR HET AANTAL TE VERZAMELEN INDIVIDUEN PER SOORTGROEP IN MONSTERS MET ZEER VEEL EXEMPLAREN (DE GETALLEN ZIJN AFKOMSTIG UIT DE LITERATUUR EN EIGEN ERVARING).

Soortgroep	Nederlandse naam	Richtlijn te verzamelen aantal
<i>Tricladida</i>	platwormen	25 (direct determineren en

		noteren)
<i>Oligochaeta</i>	borstelwormen met weinig haar	100
<i>Polychaeta</i>	borstelwormen met veel haar	25
<i>Hirudinea</i>	bloedzuigers	50
<i>Mollusca</i>	weekdieren	
<i>Sphaeriidae</i>	(erwten)mosseltjes	50
• <i>Dreissena</i>	driehoeksmosselen	25 (direct determineren en noteren)
• <i>Gastropoda</i>	slakken	100
<i>Arachnida</i>	spinachtigen	100
<i>Crustacea</i>	kreeftachtigen	
• <i>Isopoda</i>	pisbedden	50
• <i>Gammaridea</i>	vlokreeften	50
• <i>Mysidae</i>	aasgarnalen	25 (ook staarten)
• <i>Corophiidae</i>	slijkgarnalen	50
<i>Ephemeroptera</i>	eendagsvliegen	
• <i>Baetidae</i>		50
• <i>Caenidae</i>		50
• Overige groepen		50
<i>Odonata</i>	libellen	
• <i>Zygoptera</i>	juffers	50
• <i>Anisoptera</i>	echte libellen	50
<i>Heteroptera</i>	wantsen	100
<i>Sialis lutaria</i>	slijkvlieg	Tellen of 25 verzamelen als <i>S. fuliginosa</i> of <i>S. nigripes</i> verwacht kunnen worden.
<i>Coleoptera</i>	kevers	
	• adulten	100
	• larven	50
<i>Trichoptera</i>	kokerjuffers	100
<i>Lepidoptera</i>	vlinders (rupsen)	25
<i>Plecoptera</i>	steenvliegen	50
<i>Diptera</i>	tweevleugeligen	
• <i>Culicidae</i>	steekmuggen	25
• <i>Ceratopogonidae</i>	knutten	Tellen/schatten en noteren
• <i>Chaoboridae</i>	spookmuggen	25
• <i>Chironomidae</i>	dansmuggen	100
• <i>Simuliidae</i>	kriebelmuggen	50
• Overige Diptera	vliegen	50
<i>Podura aquatica</i>	waterspringstaart	Niet verzamelen / rapporteren.
<i>Porifera</i>	sponzen*	Aanwezigheid noteren en invoeren
<i>Bryozoa</i>	mosdierpjes*	(met aantal 1)
<i>Cnidaria</i>	neteldieren	25

De richtlijnen zijn een aanbeveling. Slim en efficiënt uitzoeken, met inzicht van de analist zelf, heeft de voorkeur. Probeer zo veel mogelijk verschillende soorten te verzamelen. Verzamel geen 50 of 100 individuen van dezelfde soort, als je dit door slim uitzoeken kunt voorkomen.

- **Voorbeeld 1:** In een monster met veel slakken kan het slim zijn om plat- en ruimtelijk gewonden apart te tellen/schatten.
- **Voorbeeld 2:** Bij wantsen is het handig om zwemmende wantsen en andere wantsen apart te tellen. De stadia (nimf of adult) apart tellen kan ook efficiënt zijn. Dit betekent soms dat alle adulten worden verzameld, maar dat de schatting/telling alleen betrekking heeft op de nimfen.

- **Voorbeeld 3:** Je hebt veel *Baetidae* in je monster. Je weet dat in het te onderzoeken watertype/gebied slechts 2 soorten *Baetidae* voorkomen. Het volstaat om 25 *Baetidae* te verzamelen.
- **Voorbeeld 4:** Je analyseert een monster van een locatie met hoge natuurwaarde waar je veel dansmugsoorten verwacht. Verzamel extra dansmuggenlarven, bijvoorbeeld totaal 150.

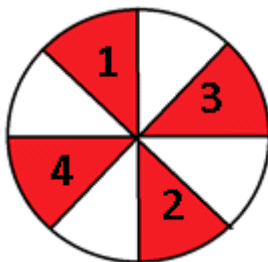
Overleg eventueel met een ervaren collega. Noteer duidelijk op de lijst wat je precies verzamelt en schat.

*Sponzen en mosdiertjes zijn sessiele kolonievormende diertjes. Ze zijn in positieve zin belangrijk voor het ecosysteem. Ze vormen een habitat voor andere dieren. Zo zijn er mijten die hun eitjes alleen in sponzen leggen en dansmuggen die in kolonies van mosdiertjes leven. Zorg dat je de kolonievormers herkent tijdens het uitzoeken. Noteer aanwezigheid en voer ze in met aantal 1.

7.1.2 Uitzoeken met splitsen op de zeef

Het is bij individuenrijke monsters toegestaan om het gespoelde monster op de zeef in gelijke parten (bijvoorbeeld achtsten) te splitsen. De analist mag de verzamelde aantallen uit een bekend deel met een factor extrapoleren naar aantallen in het hele monster. De verdeling over de zeef moet evenwichtig zijn (visuele check, afvinken) en de verzamelde aantallen moeten afkomstig zijn uit minimaal twee tegenoverliggende partjes (afvinken).

- Verdeel het gespoelde monstermateriaal evenwichtig over de zeef (of zeven).
- Splits de fijne fractie in de zeef in achtsten met een monstersplitser (5.2.4). Indien nodig kan de monstersplitser opnieuw gebruikt worden om zestienden te creëren.
- Indien de grove fractie veel individuen bevat, splits deze dan in achtsten met de hand. Eventueel mag een schaar gebruikt worden.
***Tip!** Indien het grove materiaal goed gespoeld is en nauwelijks nog individuen bevat is een evenwichtige verdeling van grof niet belangrijk. Men kan ervoor kiezen om nadat al het fijne materiaal is uitgezocht het grove materiaal in zijn geheel snel uit te zoeken op de nog niet voldoende verzamelde groepen/soorten.*
- Controleer visueel of het monster homogeen verdeeld is over de parten. Zo nee, verdeel opnieuw volgens bovenstaande stappen.
- Dek de zeven steeds af met een deksel om wegvliegen van fauna te voorkomen. Zet de zeven altijd in een bak (nooit op het aanrecht!) om verlies van individuen door wegkruipen door de mazen te voorkomen.
- Neem met een lepel 1/8 (of 1/16 of 1/32 of ...) fijn materiaal in de uitzoekbak. (***Tip!** begin met een kleine hoeveelheid om een beeld te krijgen van het monster en de individuen aantallen per groep*). Zoek dit deel uit. Zoek hierna 1/8 (of een overeenkomende hoeveelheid) grof uit.
- Herhaal bovenstaande stap voor het tegenoverliggende part.
- Tel op het veldformulier het aantal organismen dat je verzamelt per groep.
- Indien binnen een taxonomische groep veel individuen in het monster voorkomen, verzamel voldoende individuen voor die groep volgens de richtlijn. Het aantal te verzamelen individuen per groep volgens de richtlijn staat in tabel 7.
- Herhaal het uitzoeken van parten, verspreid over de zeef, tot je het uit te zoeken aantal van een groep haalt.
- Controleer of het gewenste aantal individuen van een groep afkomstig is uit minimaal twee tegenoverliggende partjes (part 1 en part 2). Als in part 1 en 2 meer dan genoeg individuen zitten, schat dan het teveel aan individuen.



FIGUUR 1. SCHEMATISCHE WEERGAVE VAN DE UITZOEKVOLGORDE VAN PARTEN OP DE ZEEF

De parten die je uitzoekt moeten verdeeld over de zeef genomen worden. Zie figuur 1. Schematisch gezien zoek je op deze volgorde uit: 1 t/m 4, daarna volgen de witte parten. De parten 1 t/m 4 kunnen achtsten zijn, maar mogen ook bijvoorbeeld 32sten zijn.

- Noteer op de uitzoeklijst hoeveel individuen per groep zijn verzameld, zijn geschat en uit welk deel van het monster de geschatte en verzamelde individuen afkomstig zijn.
- Verzamel alle organismen van de te verzamelen soortgroepen uit de parten, tot het uit te zoeken aantal bereikt is. Als nog veel individuen achterblijven van een voldoende verzamelde groep in een part, mogen de achtergebleven individuen geschat en genoteerd worden. Als er enkele individuen achterblijven kun je ze beter verzamelen.
- Noteer per groep op het uitzoekformulier bij "Uitgezocht deel" uit welk deel (bijvoorbeeld 3/8) die groep verzameld/geschat is.
Verzamel taxa die je nog niet verzameld hebt altijd nog wel (*Voorbeeld 1: je komt een rode mijt tegen nadat je 100 zwarte verzameld hebt. Verzamel de rode mijt nog. Noteer "rode mijt buiten factor" o.i.d. om een overschatting tegen te gaan.*

Uitzoeken met splitsen op de zeef is ook geschikt voor monsters die wegens omstandigheden niet geheel uitgezocht kunnen- of hoeven te worden. Ze kosten bijvoorbeeld extreem veel uitzoektijd of zijn zeer individuenrijk. Overleg zo'n beslissing altijd met de trekker van het project en met een ervaren analist. Noteer dan voor alle tot dan toe aangetroffen groepen uit welk deel ze afkomstig zijn. Screen het resterende monstermateriaal op nog niet verzamelde groepen/soorten. Probeer, slim uitzoeken, zo veel mogelijk verschillende soorten te verzamelen. Besteed ongeveer een half uur aan het screenen, plan dit binnen de maximaal besteedbare uitzoektijd. Delen van monsters mogen nooit weggegooid worden zonder dat ze bekeken zijn!

Tip! Verzamel de dieren uit het gescreende deel in een apart potje. Je kunt ze op die manier buiten de factor houden en een overschatting voorkomen.

7.2 Determineren



FOTO 2. HET DETERMINEREN VAN EEN LIBELLENLARVE

De literatuur die gebruikt wordt bij het determineren, staat beschreven in [B HYB 002 Determinatie literatuur macrofauna](#).

- Determineren vindt plaats met behulp van diverse microscopen en aan de hand van [B HYB 002 Determinatie literatuur macrofauna](#).
- Noteer de resultaten direct in [AquaDesk](#). (Mocht AquaDesk niet beschikbaar zijn, gebruik tijdelijk [F V HYB 001-02 Blanco determinatieformulier](#) of [F V HYB 001-03 Determinatieformulier vooringevuld](#).)

- Determineer alle individuen tot op soort. Als dit niet lukt, determineer dan tot een hoger niveau, maar determineer aan de hand van de aanwezige kenmerken zo ver mogelijk door. Volg hierbij de determinatieafspraken zoals vastgelegd in document [Y:\AQUON\Medewerkers Data\Hydrobiologie\0.0 Algemeen\Kwaliteit\Macrofauna\12 Afspraken en actielijst\determinatie afspraken\2017 11 23 Determinatie afspraken mafa.xlsx](#)
- Volg de naamgeving van de [TWN-lijst](#).
- Maak duidelijk dat de inhoud van het potje is gedetermineerd. Teken het dopje af of doe gedetermineerde dieren in een verzamelpot.
- Vul de referentiecollectie aan met nieuwe soorten en vervang soorten die aan vervanging toe zijn. Volg daarbij de regels in [Onderhoud referentiecollectie](#).
- Raadpleeg bij twijfel over een determinatie een collega-analist. Leg dit vast in AquaDesk met de code *Cont-int*. Dit betekent dat er minimaal 2 analisten naar deze soort hebben gekeken. Zet in de opmerking wie gecontroleerd heeft.

7.3 Kalibratie

Zie procedure [P 022 Controle uitrusting](#) voor de zeven.

Zie procedure [B HYB 008 Bedieningsvoorschrift lichtmicroscopen](#) voor de meetoculair en camera software.

7.4 Referentiecollectie

Zie hoofdstuk 9.4 controlestandaarden

8 BEREKENING

8.1 Berekenen factoren monster

Gedetermineerde soortenaantallen kunnen middels een **factor** omgerekend worden naar het totale aantal van die soort in het monster. De berekening van de factoren gebeurt automatisch op het uitzoekformulier. Blijf wel alert bij grote verschillen tussen verzameld- en gedetermineerd aantal. De factor voor een diergroep verzameld uit een uitgezocht deel is te berekenen door het uitgezochte deel om te keren (1/uitgezochte deel).

Rekenvoorbeeld 1:

Als 3/8 is uitgezocht, is de factor $8/3 = 2,667$

Als er zowel uitgezocht is als geschat, is de factor als volgt te berekenen:

$$F_{\text{monster}} = ((N_{\text{gedetermineerd}} + N_{\text{geschat}}) \times (\text{omgekeerde uitgezochte deel})) / N_{\text{gedetermineerd}}$$

Hierin is:

F_{monster} :	Factor om taxon behorende tot een bepaalde diergroep om te rekenen naar totaal aantal van dat taxon in het monster
$N_{\text{gedetermineerd}}$:	Het aantal dieren van een bepaalde diergroep dat is gedetermineerd. Dit is in principe gelijk aan het verzamelde aantal.
N_{geschat} :	Het aantal geschatte of getelde dieren van een bepaalde diergroep exclusief de verzamelde dieren
Omgekeerde uitgezochte deel:	Het omgekeerde van de breuk die het uitgezochte deel weergeeft. (3/8 uitgezocht wordt 8/3)

Opmerking: Zit er een groot verschil tussen verzameld en gedetermineerd aantal? Bedenk dan wat er aan de hand kan zijn.

- Als er meer individuen gedetermineerd dan volgens de lijst verzameld zijn, is het juister om het gedetermineerde aantal te gebruiken. Dat is immers werkelijk verzameld.
- Zijn er juist minder individuen gedetermineerd (bij veel lege slakken of halve wormen), dan is het juister om het verzamelde aantal van de uitzoeklijst te gebruiken. De analist heeft dan zijn schattingen immers ook gebaseerd op de lege huisjes of halve wormen.
- Indien soorten bij een verkeerde groep terecht zijn gekomen, bijvoorbeeld muggen in koker bij de kokerjuffers, beschouw de kokermug dan als kokerjuffer voor de factorberekening.

Rekenvoorbeeld 2:

Als uit 3/8 100 slakken zijn verzameld en nog eens 60 geschat, dan is de factor:

$$F_{\text{monster}} = ((100+60) \times 8/3) / 100 = 4,267$$

Als er niet gesplitst is, is “omgekeerde uitgezochte deel” 1. De formule wordt dan:

$$F_{\text{monster}} = (N_{\text{gedetermineerd}} + N_{\text{geschat}}) / N_{\text{gedetermineerd}}$$

- Controleer op het veldformulier of het aantal bemonsterde meters klopt met de opdracht van de klant. Als extra of minder bemonsterd is, en het waterschap wil hiervoor corrigeren, vermenigvuldig dan met de volgende factor:
- $F_{\text{veld}} = (m_{\text{te bemonsteren}} / m_{\text{bemonsterd}})$
- Hierin is:
- F_{veld} : Factor om aantallen individuen terug te rekenen naar het standaard aantal opdrachtmeters
- $m_{\text{bemonsterd}}$: Het daadwerkelijke aantal bemonsterde meters
- $m_{\text{te bemonsteren}}$: Het aantal meters volgens de opdracht (meestal 5, soms 10)
- Vermenigvuldig de veldfactor F_{veld} met de factoren van het monster voor alle soortgroepen.
- **Let op!** Niet alle waterschappen willen de monsterlengte verrekend hebben.

9 KWALITEIT

9.1 Eerstelijnscontrole

Een standaard eerstelijnscontrole is bij de analyse van macrofauna niet uitvoerbaar. Volg wel de volgende punten:

- Werk ten alle tijden volgens de geldende werkvoorschriften.
- Controleer jezelf goed. Kunnen de soorten die je aantreft voorkomen in dat water? Heb je de [determinatieafspraken](#) gevolgd? Loop de soortenlijst nog eens door nadat je klaar bent met een monster en controleer of er niets vreemds in staat.
- Maak, waar nodig, gebruik van bevestigd referentiemateriaal. Dit kan met behulp van tastbare exemplaren uit de referentiecollectie of digitaal in de vorm van gecontroleerde referentiefoto's.

9.2 Tweedelijnscontrole

Afspraken omtrent tweedelijnscontroles, frequentie, eisen, gevolgen zijn opgenomen in [procedure P023 Lijncontroles en controlekaarten](#).

9.3 Derdelijnscontrole

AQUON neemt deel aan beschikbare ringonderzoeken. Zie: [procedure P023 Lijncontroles en controlekaarten](#).

[Volg ook de volgende richtlijnen:](#)

- AQUON neemt deel aan landelijke overleggen waar afstemming plaats vindt (zoals PHM NAP en groot macrofauna overleggen).
- Mocht er na een tweedelijnscontrole twijfel blijven bestaan over de determinatie van een soort, laat er dan een externe specialist naar kijken en leg dit vast.
- Indien een (zeldzame) soort nog niet in de referentiecollecties van AQUON aanwezig is, laat er dan ter controle een externe specialist naar kijken. Leg dit vast in AquaDesk met behulp van een opmerking. Zet, tot dit daadwerkelijk gebeurd is, de subset nog niet op 'gereed'. Als gegevens eerder opgeleverd moeten worden, stuur dan een opmerking mee naar de opdrachtgever.
- Tijdens cursussen is vaak ruimte voor controle door specialisten. Maak hier gebruik van.

9.4 Controlestandaarden

9.4.1 Referentiecollectie

De referentiecollectie is de controlestandaard voor het determineren van macrofauna. Een overzicht van de soorten in de referentiecollectie is te vinden op Y:\Hydrobiologie in de map kwaliteit.

Onderhoud de referentiecollectie zoals beschreven in [B HYB 011 Onderhoud referentiecollectie macrofauna](#).

Naast de fysieke referentiecollectie kunnen gecontroleerde afbeeldingen, al dan niet uit literatuur, als controlestandaard dienen.

9.5 Overige borgingspunten

9.5.1 Invoercontrole

Een ervaren tweede analist controleert de subsets in AquaDesk op onwaarschijnlijkheden en keurt ze goed of af. Stuur bij afkeuren een bericht naar de eerste analist. Een tweede analist controleert de invoer van handgeschreven formulieren, zoals het uitzoekformulier, 100% op juistheid.

10 INVOEREN EN RAPPORTAGE

10.1 Invoer

- Voer de soorten en hun aantallen tijdens het determineren in [AquaDesk](#) in. Plaats groepen met een factor in een aparte subset.
- Afspraken en handigheidjes voor AquaDesk staan voorlopig in: [Verbetervoorstellen Aquadesk.xlsx](#)
- Bereken eventuele factoren (zie hoofdstuk 8) en voer ze in bij de betreffende subset in AquaDesk.
- Neem de relevante gegevens van het veldformulier en uitzoekformulier over in AquaDesk.

10.2 Rapportage

- Het standaard analyserapport is een soortenlijst met bijbehorende aantallen, datums en locatie-informatie.
- Enkele waterschappen hebben zelf AquaDesk en krijgen na vrijgave de gegevens in hun AquaDesk-account.
- AQUON voorziet andere klanten van een export uit AquaDesk.
- Afhankelijk van de opdracht kan AQUON daarnaast een vakinhoudelijke rapportage leveren.

11 AFRONDING EN RAPPORTAGEGRENSEN

- AquaDesk rondt af tot 3 cijfers achter de komma.
- Rond soortenaantallen af tot hele getallen in een vakinhoudelijke rapportage.

Een rapportagegrens is niet van toepassing.

12 ARBO, VEILIGHEID EN MILIEU

12.1 ARBO en Veiligheid

Bij de microscopen is puntafzuiging aanwezig, gebruik deze. Er zijn labjassen, zuurkasten, wegwerphandschoenen en veiligheidsbrillen beschikbaar, gebruik deze indien nodig. Tabel 8 geeft een opsomming van de chemicaliën die gevaar kunnen opleveren bij blootstelling.

TABEL 8. : CHEMICALIËN EN VEILIGHEID

Nummer	Chemicaliën en reagentia	Risico's gezondheid
4.1.1 4.2.1 4.2.2	Ethanol, niet gedenatureerd	Irritatie huid/ogen Licht ontvlambaar
4.1.2	Koenike-vloeistof	Irritatie huid/ogen
4.2.3	Levulose	Bevat melkzuur, irriterend voor huid en ogen
4.1.3	Melkzuur	Irriterend voor huid en ogen
4.1.4	DMHF	Bevat 0,3% vrije formaldehyde. Formaldehyde is giftig bij inademing, opname door de mond en aanraking met de huid. Carcinogene effecten zijn niet uitgesloten, huidcontact kan overgevoeligheid veroorzaken.
4.1.5	Nagellak	Kan schadelijke vluchtige oplosmiddelen bevatten en stoffen die aanleiding geven tot allergie of huidsensitisatie

Zie procedure P025 ARBO en veiligheid voor veiligheid bij het gebruik van chemicaliën. Werk in de zuurkast bij de aanmaak van reagentia. Draag handschoenen, labjas en een veiligheidsbril.

12.2 Milieu

Chemicaliën worden afgevoerd volgens [P020 Transport, ontvangst, beheer, opslag en afvoer van monsters](#)

13 DOCUMENTEN

- B HYB 002 Determinatie literatuur macrofauna
- B HYB 003 Bedieningsvoorschrift Stereomicroscoop
- B HYB 008 Bedieningsvoorschrift lichtmicroscopen
- B HYB 011 Onderhoud referentiecollectie macrofauna
- V HYB 002 Bemonsteren macrofauna
- P015 Corrigerende maatregelen
- P017 Werving, selectie en opleiding van personeel
- P020 Transport, ontvangst, beheer, opslag en afvoer van monsters
- P022 Controle uitrusting
- P025 ARBO en veiligheid

14 FORMULIEREN

- Digitaal veldformulier op Instrument Connect / Tablets

15 LITERATUUR

15.1 Externe documenten/literatuur

- Bijkerk R (red) (2010) Handboek Hydrobiologie. Biologisch onderzoek voor de ecologische beoordeling van Nederlandse zoete en brakke oppervlaktewateren. Rapport 2010 – 28, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, Amersfoort.
- Bijl HYB 002 (X) Werkvoorschrift 12B (X)
- Bijl HYB 001 (X) Primaire literatuur (van Maanen & van Haaren 2010) (X): Geannoteerde standaardlijst voor determinatieliteratuur voor Nederlandse aquatische macro-invertebraten.
- Bijl HYB 003 (X) WEW themanummer 21 (X): Werkgroep Standardisatie Macro-invertebraten Methoden en Analyse, Werkgroep Ecologisch Waterbeheer.
- [TWN-lijst](#)

16 WIJZIGINGEN T.O.V. VORIGE VERSIE

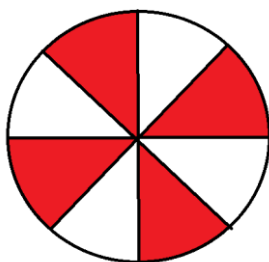
- 4.2.3 Toegevoegd * bij Levulosesiroop Bij overschrijding van de houdbaarheidsdatum kan een houdbaarheidstest worden gedaan volgens procedure P012.
- 5.2.17 Veldformulieren digitaal.
- 7.1 bijgewerkt: uitzoeken met digitaal veldformulier ipv op papier.
- 7.1.1, 7.1.2 idem kleine aanpassingen naar digitaal formulier.
- 7.3 verwijzing naar P 022 en B HYB 008 ingevoerd.
- 8.1 bijgewerkt naar nieuwe veldformulier:
 - De berekening van de factoren gebeurt automatisch op het zoekformulier. Blijf wel alert bij grote verschillen tussen verzameld- en gedetermineerd aantal.
 - N-verzameld in formules vervangen door N-gedetermineerd (zo werkt het ook op formulier)
- 9.2 Grotendeels verwijderd (verplaatst naar P 023)
- 9.3 Heringedeeld
- 10.1 verwijzingen aangepast
- 14 Formulieren verwijderd, veldformulier bijgewerkt

17 BIJLAGEN

17.1 Bijlage 1 Kwantitatief uitzoeken met verdelingscheck

Het is bij individuenrijke monsters toegestaan om het gespoelde monster op de zeef in gelijke parten (bijvoorbeeld achtsten) te splitsen. De analist mag de gevonden aantallen extrapoleren naar het hele monster, als aangetoond kan worden dat de individuen gelijkmatig over de parten verdeeld zijn. De analist noteert op het uitzoekformulier hoeveel individuen van een groep er per part (bijvoorbeeld uit 1/8 monster) verzameld en/of geschat zijn. Wanneer het aantal individuen binnen een groep uit 3 afzonderlijke parten, verspreid over de zeef (parten mogen niet naast elkaar liggen!), niet meer dan een factor twee van elkaar verschilt, is het uitgezochte deel representatief voor het hele monster. Als het verschil in aantal individuen tussen de afzonderlijke parten groter dan een factor twee is, kan de analist extra delen schatten, tot er 3 parten zijn uitgezocht/geschat waarin de aantallen individuen minder dan een factor 2 verschillen.

- Verdeel het gespoelde monstermateriaal evenwichtig over de zeef (of zeven).
- Splits de fijne fractie in de zeef in achtsten met een monstersplitser (5.2.4). Indien nodig kan de monstersplitser opnieuw gebruikt worden om zestienden te creëren.
- Splits de grove fractie in achtsten met de hand. Eventueel mag een schaar gebruikt worden.
- Laat de splitser, indien nodig, in de fijne zeef staan, om overlopen naar andere parten te voorkomen. Dek de zeven steeds af met een deksel om wegvliegen van fauna te voorkomen. Zet de zeven altijd in een bak (nooit op het aanrecht!) om wegkruipen door de mazen te voorkomen.
- Neem met een lepel 1/8 (of 1/16 of 1/32 of ...) fijn materiaal in de uitzoekbak. (tip: begin met een kleine hoeveelheid om een beeld te krijgen van het monster en de individuen aantallen per groep). Zoek dit deel uit. Zoek hierna 1/8 (of een overeenkomende hoeveelheid) grof uit.
- Noteer op het uitzoekformulier hoeveel individuen je uit elke 1/8 (of 1/16 of 1/32 of ...) van het monster verzameld hebt van de soortgroepen die je denkt te gaan extrapoleren.
- Herhaal bovenste twee stappen voor de volgende parten, die je verspreid over de zeef neemt.
- Verzamel alle organismen van de te verzamelen soortgroepen uit de parten, tot het uit te zoeken aantal bereikt is (Tabel 2 of eigen inzicht). Als er nog veel individuen achterblijven van een te verzamelen groep in een part, mogen ze geschat en genoteerd worden.
- Verzamel/schat individuen uit soortgroepen die je wilt extrapoleren altijd uit minimaal 3 parten.
- Controleer of het individuen aantal tussen het individuenrijkste part en het individuenarmste part van de 3 niet meer dan een factor 2 verschilt. Is het verschil tussen die 2 parten groter dan een factor 2, schat dan de individuen uit een volgend part, net zo lang tot er drie parten zijn, waarbinnen de individuenrijkste en -armste minder dan een factor 2 van elkaar verschillen.
- Is het verschil tussen drie parten minder dan een factor 2 en zijn er voldoende individuen van een groep verzameld (tabel 2), stop dan met uitzoeken/tellen/schatten van die groep.
- Indien de helft of een groter deel van het monster is uitgezocht (figuur 2), mag men ongeacht de verdeling van de individuen extrapoleren en dus stoppen met uitzoeken/tellen/schatten van de groepen waarvan voldoende individuen zijn verzameld.



FIGUUR 2. SCHEMATISCHE WEERGAVE VAN UITZOEKEN 'VERDEELD OVER DE ZEEF'

Als de helft van het monster 'verdeeld over de zeef' is uitgezocht ziet dat er schematisch zo uit als figuur 2.

- Noteer duidelijk op het uitzoekformulier wanneer (bij welk part) je voor welke groep stopt met uitzoeken.
- Een uitzondering geldt voor taxa die je nog niet gezien hebt. (Voorbeeld je komt een rode mijt tegen nadat je 100 zwarte verzameld hebt). Verzamel die dan nog en noteer "rode mijt buiten factor".