

SIERALGEN ANALYSE

Eigen methode

1 INLEIDING

In dit voorschrift wordt de analyse van sieralgen beschreven zoals deze door Aqualysis wordt uitgevoerd. Dit voorschrift is gebaseerd op de voorschriften zoals deze zijn opgenomen in het Handboek hydrobiologie (STOWA 2014), Hoofdstuk 8 en Werkvoorschrift 8B, aangevuld met wensen van de opdrachtgever en adviezen van leden van de Sieralgen-werkgroep.

2 DOELSTELLINGEN

De analyseresultaten zijn geschikt voor:

- Beoordeling ecologische kwaliteit volgens officiële KRW-maatlat (van der Molen 2004)
- Natuurwaardebeoordeling volgens Coesel (1998), geactualiseerd in 2007.
- Het verkrijgen van een indruk van de ecologische kwaliteit.

3 ACHTERGRONDINFORMATIE

Voor meer (achtergrond)informatie wordt verwezen naar onder andere:

- Handboek hydrobiologie (2014), hoofdstuk 8 en werkvoorschrift 8B.
- Specifiek voor WDOD wordt de methode aangehouden beschreven in onderstaande publicatie. Bultstra CA, Verweij GL & Bijkerk R (2016) KRW monitoring Waterschap Reest en Wieden: microfyten in 2015. Rapport 2016-014. Koeman en Bijkerk bv, Haren.
- Coesel, P.1998: Sieralgen en Natuurwaarden. Wetenschappelijke mededelingen KNNV 224:1 – 56, Utrecht.

4 GERELATEERDE KWALITEITSDOCUMENTEN

- fm06.017 Veldformulier - sieralgen
- C00.137 Controle elektronische en mechanische pipetten

5 OVERIGE DOCUMENTEN

- Foto-Referentiebestand Fytoplankton

6 BENODIGDHEDEN ANALYSE

De benodigdheden zijn:

- Omkeermicroscoop volgens NEN-EN 15204 (helderveld)
- Binoculair
- Olie immersie-objectieven met een vergroting van 20x en 60x
- Condensor NA van 0,55
- Bezinkcuvet, inhoud 0,50 ml (volgens Waardenburg Ecology), hoogte 4mm, doorsnede 12mm, met bodemdikte van 0,15 – 0,17 mm
- Dekglasjes (dikte 0,17mm)
- Immersie-olie $n_d = 1,515$, 23 °C
- Pipetteerapparaat diverse volumina (0,1 – 1ml)
- Pipettips met opening van 3 – 4 mm.

- Pipettips met standaard opening voor de verdunningsvloeistof
- Verdunningsvloeistof; leidingwater met dezelfde dosering basische lugol als gebruikt in de monsters.
- Petrischaal
- Geïsoleerde sedimentatiebox (tempex doos)

7 CHEMICALIËN

De volgende chemicaliën worden gebruikt:

- Basische lugol (Boom: Lugoloplossing, globale fytoplanktonanalyse)
- Natriumthiosulfaat.
- Geconcentreerde formaldehyde (37%), eventueel voor nafxatie.

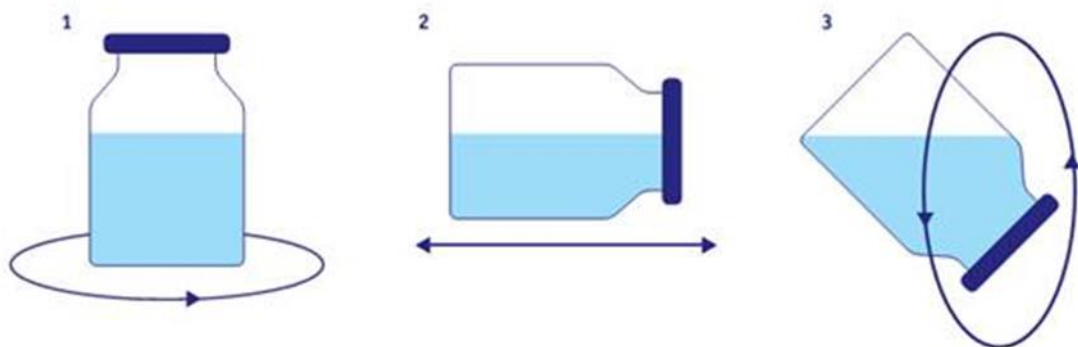
8 CONSERVERING EN OPSLAG

Bij de bemonstering wordt het monster verdeeld over 2 monsterflesjes. Een monsterflesje wordt in het veld of direct bij binnenkomst op het laboratorium geconserveerd met 1 ml basische lugol per 250ml monster. Het tweede monsterflesje wordt NIET geconserveerd, maar zo snel mogelijk en binnen twee dagen gecontroleerd op de geslachten *Cosmocladium*, *Heimansia*, *Cylindrocystis*, *Mesotaenium* en *Spirotaenia*. Deze algen zijn levend(en vers) beter op naam te brengen. Indien het geconserveerde monster binnen 1 week wordt geanalyseerd wordt deze weggezet op een donkere plaats bij kamertemperatuur. Indien het geconserveerde monster niet binnen deze periode wordt geanalyseerd wordt het donker opgeslagen in een koelkast bij een temperatuur tussen de 4°C en 10°C. Als het monster behouden dient te blijven wordt het eerst geconcentreerd waarna wat formaldehyde (37%) wordt toegevoegd zodanig dat een eindconcentratie van 3 a 4% wordt bereikt. Dit komt neer op 0,6 – 0,8 ml formaldehyde(37%) op 15 a 20 ml lugol geconserveerd monster.

9 INZETTEN VAN HET MONSTER

Laat het monster met een temperatuur anders dan kamertemperatuur buiten de koelkast maar in het donker gedurende minimaal één dag acclimatiseren. Laat het monster niet langer dan twee weken buiten de koelkast en zet niet in direct zonlicht.

Homogeniseer het monster gedurende minimaal 30 seconden door de fles op verschillende manieren te kantelen en te roteren. Doe dit voorzichtig zodat kolonies niet uit elkaar vallen.



Bij de analyse wordt gestreefd naar een dusdanige dichtheid aan waarnemingen per beeldveld dat deze homogeen verdeeld zijn, niet over elkaar heen liggen en dat deze goed zijn te onderscheiden. In principe dient minimaal 0,3ml monster te worden bekeken en geteld (Handboek hydrobiologie, 2014), verdeeld over twee a drie cuvetten afhankelijk van het monster. Voor voormalig Waterschap Reest en Wieden is altijd minimaal 0,4ml aangehouden door Waardenburg Ecology. Als de dichtheid van cellen en/of organisch materiaal te groot is in 0,2ml monster, zal er meer verdund moeten worden en dus meerdere cuvetten bekeken

moeten worden. Pipetteer in principe 0,2 ml monster in een cuvet en vul aan met lugol geconserveerd leidingwater. Plaats de cuvetten in een afgedekte petrischaal met vochtige tissue. Laat minimaal 4 uur bezinken per cm cuvethoogte in een donkere trillingsvrije omgeving (tempex doos). Het gaat om de soortendiversiteit en niet zo zeer om de abundanties.

10 ANALYSE VAN HET MONSTER

- 1) Stel een soortenlijst op, in eerste instantie met behulp van het NIET geconserveerde monster. Let hierbij vooral op soorten uit de geslachten Cosmocladium, Heimansia, Cylindrocystis, Mesotaenium en Spirotaenia. Soorten die niet meer worden gezien in het geconserveerde monster (die op een later moment wordt geteld) worden als soort met abundantie 1 meegenomen in de lijst.
- 2) Scan een deel van het geconserveerde monster uit de monsterfles in een petrischaal onder geringe vergroting m.b.v een binoculair op het voorkomen van grote soorten (Micrasterias, Euastrum, Closterium etc.). Indien deze soorten niet worden gezien in het te tellen deelmonster (geconserveerd) worden ze als soort met abundantie 1 meegenomen in de lijst.
- 3) De analyse van het geconserveerde deelmonster wordt uitgevoerd volgens de Utermohlmethode (Handboek hydrobiologie (2014)).
- 4) Determineer indien mogelijk tot op soort. Bij twijfel is geen naam beter dan een verkeerde naam. Raadpleeg bij twijfel altijd een expert en maak foto's met de afmetingen, meetlocatie en datum er bij.

Afhankelijk van de wens van de opdrachtgever worden de sieralgen als volgt geteld:

10.1 Methode 1: In cellen per ml.

Met deze telwijze kan de telstrategie voor elk monster anders zijn afhankelijk van de algensamenstelling en dichtheid. Als er 1 of meerdere soorten zeer dominant (komen nagenoeg in elk beeldveld voor) aanwezig zijn kan er in aantal beeldvelden geteld worden. Bij minder massaal, maar toch frequent voorkomende soorten gaat de voorkeur uit in tellen van minimaal een half cuvet bij 200 of 600x vergroting. Voor soorten die minder frequent aanwezig zijn en schaarse soorten moet tenminste 0,4ml monster bekeken worden in minimaal twee cuvetten. Scan de cuvetten na beëindiging van de telling nog even door op mogelijk gemiste soorten en noteer deze met abundantie 1 op de lijst. Lege cellen waarvan verder geen gevulde exemplaren (met chloroplast) worden gevonden, worden als 0-soort opgevoerd met een notitie in het opmerkingenveld dat het een lege cel betreft.

10.2 Methode 2: Middels een abundantiecode.

Afgeleid van de gebruikte abundantiecode in Coesel PFM (1998) Sieralgen en Natuurwaarden, is met een expert (Marien van Westen) deze enigszins aangepast aan de manier waarop bij Aqualysis de sieralgen worden geanalyseerd (omkeermicroscoop, type cuvetten). Deze is als volgt:

- 3 = Bij een vergroting van 100x in nagenoeg elk beeldveld aanwezig.
2 = Niet in elk beeldveld, maar met 3 of meer exemplaren in 0.2 ml.
1 = Incidenteel aanwezig met minder dan 3 exemplaren in 0.2 ml.
0 = Alleen lege cellen (dood) aangetroffen.

Soorten die wel in het NIET geconserveerde monster zijn aangetroffen (pre-scan), maar niet in het geconserveerde monster krijgen een abundantiecode 1 met in het opmerkingenveld "Alleen in het levend monster gevonden". Soorten met een abundantiecode 0 worden niet meegenomen in de natuurwaardering en/of de krw-matrix (officiële krw-maatlat)

11 VERWERKING VAN GEGEVENS

De analyse van het monster vindt rechtstreeks plaats in de biologische database (Dawaco) indien deze wordt uitgevoerd volgens methode2 (middels een abundantiecode).

Indien wordt gewerkt met methode 1 (cellen per ml) is de werkwijze als volgt:

- 1) Noteer het aantal cellen en waarnemingen per ml onderzocht monster op het analyseformulier
- 2) Geef per taxon aan bij hoeveel ml of beeldvelden en bij welke vergroting is onderzocht.
- 3) De analyselijst-sieralgen wordt in de database geïmporteerd nadat deze door de analist is gecontroleerd en vrijgegeven.

12 AFVAL EN RESTMATERIAAL

Met lugol geconserveerde monsters worden in principe na analyse door het riool weggespoeld. Het monster wordt eerst geneutraliseerd met natriumthiosulfaat. Er wordt natriumthiosulfaat toegevoegd totdat de kleur van het monster kleurloos is. Zorg voor een juiste verwerking van met formaldehyde geconserveerde monsters indien deze op termijn worden afgevoerd.

13 DETERMINATIELITERATUUR

Nieuwe literatuur wordt beoordeeld op betrouwbaarheid en toepasbaarheid voordat tot gebruik zal worden overgegaan. Bij de naamgeving wordt uitgegaan van de meest recente TWN-lijst. In eerste instantie wordt gebruik gemaakt van onderstaande determinatiewerken:

- Coesel PFM & Meesters K(J) (2023): *Desmids of the Lowlands. 2nd revised and extended edition*, KNNV Publishing, Zeist.
- Coesel, P.F.M. & Meesters, K. (J.) (2013): *European flora of the desmid genera Staurastrum and Staurodesmus*. – KNNV Publishing, Zeist, 357

Daarnaast wordt gebruik gemaakt van de referentie-fotodatabase fytoplankton waarin ook sieralgen zijn opgenomen en overige determinatieliteratuur en artikelen (o.a. Bijlage 30 Handboek Hydrobiologie (2014)). Ook diverse digitale sites van leden van de Sieralgen-werkgroep worden gebruikt.

- www.desmids.nl
- <http://desmids.science4all.nl>
- <http://www.digicodes.info>

14 ADMINISTRATIE

Zorg voor een juiste administratieve afhandeling.