

SV-315

Analyse Nematoden Bestand

Eindrapport 2.0

drs. J.J. van der Waarde (Bioclear B.V.)
M. Wagelmans (Bioclear B.V.)
ir. R.A.E. Knoben (Royal Haskoning)
T. Schouten (RIVM)
J. Bogte (RIVM)
dr. R.G.M. de Goede (Wageningen Universiteit, Sectie Bodemkwaliteit)
dr. W.A.M. Didden (Wageningen Universiteit)
dr.ir. A.M.T. Bongers (Wageningen Universiteit, Vakgroep Nematologie)
dr.ir. P. Doelman (Wageningen Universiteit)
ir. H. Keidel (Bedrijfslaboratorium voor Grond- en Gewasonderzoek)
F.C.M. Kerkum (Rijkswaterstaat, RIZA)
J. de Jonge (Rijkswaterstaat, RIZA)

december 2002

Gouda, SKB

Stichting Kennisontwikkeling Kennisoverdracht Bodem

Auteursrechten

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze opgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of op enige andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van SKB.

Het is toegestaan overeenkomstig artikel 15a Auteurswet 1912 gegevens uit deze uitgave te citeren in artikelen, scripties en boeken mits de bron op duidelijke wijze wordt vermeld, alsmede de aanduiding van de maker, indien deze in de bron voorkomt, "©"Analyse Nematoden Bestand – Eindrapport 2.0", december 2002, SKB, Gouda."

Aansprakelijkheid

SKB en degenen die aan deze publicatie hebben meegewerkt, hebben een zo groot mogelijke zorgvuldigheid betracht bij het samenstellen van deze uitgave. Nochtans moet de mogelijkheid niet worden uitgesloten dat er toch fouten en onvolledigheden in deze uitgave voorkomen. Ieder gebruik van deze uitgave en gegevens daaruit is geheel voor eigen risico van de gebruiker en SKB sluit, mede ten behoeve van al degenen die aan deze uitgave hebben meegewerkt, iedere aansprakelijkheid uit voor schade die mocht voortvloeien uit het gebruik van deze uitgave en de daarin opgenomen gegevens, tenzij de schade mocht voortvloeien uit opzet of grove schuld zijdens SKB en/of degenen die aan deze uitgave hebben meegewerkt.

Copyrights

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording and/or otherwise, without the prior written permission of SKB.

It is allowed, in accordance with article 15a Netherlands Copyright Act 1912, to quote data from this publication in order to be used in articles, essays and books, unless the source of the quotation, and, insofar as this has been published, the name of the author, are clearly mentioned, "©" Analysis of Nematode Levels – Final report 2.0", December 2002, SKB, Gouda, The Netherlands."

Liability

SKB and all contributors to this publication have taken every possible care by the preparation of this publication. However, it can not be guaranteed that this publication is complete and/or free of faults. The use of this publication and data from this publication is entirely for the user's own risk and SKB hereby excludes any and all liability for any and all damage which may result from the use of this publication or data from this publication, except insofar as this damage is a result of intentional fault or gross negligence of SKB and/or the contributors.

Titel rapport
Analyse Nematoden Bestand

Eindrapport 2.0

SKB rapportnummer
SV-315

Project rapportnummer
SV-315

Auteur(s)

drs. J.J. van der Waarde, M. Wagelmans
ir. R.A.E. Knobens
T. Schouten, J. Bogte
dr. R.G.M. de Goede
dr.ir. A.M.T. Bongers
dr. W.A.M. Didden, dr.ir. P. Doelman
ir. H. Keidel
F.C.M. Kerkum, J. de Jonge

Aantal bladzijden

Rapport: 30
Bijlagen: 6

Uitvoerende organisatie(s) (Consortium)

Bioclear B.V. (drs. J.J. van der Waarde, M. Wagelmans, tel.: 050-5718455)
Royal Haskoning (ir. R.A.E. Knobens, tel.: 073-6874111)
Wageningen Universiteit (dr.ir. A.M.T. Bongers, dr. W.A.M. Didden, dr.ir. P. Doelman,
dr. R.G.M. de Goede, tel.: 0317-482197, -, 0317-410148, 0317-485048)
RIVM (J. Bogte, T. Schouten, tel.: 030-2742245, 030-2743015)
Bedrijfslaboratorium voor Grond- en Gewasonderzoek (ir. H. Keidel, tel.: 026-3346490)
Doelman Advies
VROM
Provincie Gelderland
Rijkswaterstaat RIZA (J. de Jonge, F.C.M. Kerkum)

Uitgever

SKB, Gouda

Samenvatting

Voor het interpreteren en beoordelen van resultaten van nematodenanalyses uit verontreinigde bodems is een referentiesysteem ontwikkeld. Hierin zijn referentiebeelden opgenomen voor 14 (clusters van) habitattypen landbodems en 6 (clusters van) habitattypen waterbodems. De nematodensamenstelling in de referentiebeelden is statisch aantoonbaar verschillend van de overige referentiebeelden. Met behulp van de referentiebeelden is het mogelijk bodemonsters uit verschillende habitattypen met elkaar te vergelijken. De nematodenfauna in verontreinigde monsters bleek in 80% van de geteste monsters significant af te wijken van het referentiebeeld waaraan getoetst was. Hiermee is aangetoond dat de nematodenfauna kan worden toegepast en geïnterpreteerd op basis van de ontwikkelde referentiebeelden. Het verder voltooien en verfijnen van de referentiedatabase is gewenst, evenals het onderbrengen van de database bij een centrale instantie. Voor een breed gebruik van de database zou deze moeten worden omgezet in een gebruikersvriendelijke publieksversie.

Trefwoorden

Gecontroleerde termen:

biomonitoring, ecologie, ecotoxicologie
nematoden, veldonderzoek

Vrije trefwoorden:

database, ecologische risicobeoordeling, referentiebeelden, streefwaarde, TRIADE, veldinventarisatie

Titel project

Analyse Nematoden Bestand

Projectleiding

Bioclear BV (drs. J.J. van der Waarde, 050-5718455)

Dit rapport is verkrijgbaar bij:
SKB, Postbus 420, 2800 AK Gouda

Report title
Analysis of Nematode Levels

SKB report number
SV-315

Final report 2.0

Project report number
SV-315

Author(s)

J.J. van der Waarde, M. Wagelmans
R.A.E. Knoben
T. Schouten, J. Bogte
R.G.M. de Goede
A.M.T. Bongers
W.A.M. Didden, P. Doelman
H. Keidel
F.C.M. Kerkum, J. de Jonge

Number of pages

Report: 30
Appendices: 6

Executive organisation(s) (Consortium)

Bioclear B.V. (J.J. van der Waarde, M. Wagelmans, tel.: 050-5718455)
Royal Haskoning (R.A.E. Knoben, tel.: 073-6874111)
Wageningen Universiteit (A.M.T. Bongers, W.A.M. Didden, P. Doelman, R.G.M. de Goede, tel.: 0317-482197, -, 0317-410148, 0317-485048)
RIVM (J. Bogte, T. Schouten, tel.: 030-2742245, 030-2743015)
Bedrijfslaboratorium voor Grond- en Gewasonderzoek (H. Keidel, tel.: 026-3346490)
Doelman Advies
VROM
Provincie Gelderland
Rijkswaterstaat RIZA (J. de Jonge, F.C.M. Kerkum)

Publisher

SKB, Gouda

Abstract

A reference system has been developed for the interpretation and evaluation of results of nematode analyses from contaminated soil. This system contains reference images for 14 (clusters of) habitat types in soil and 6 (clusters of) habitat types in the beds of rivers and water areas. The nematode compositions in the reference images have static visible differences. Soil samples from different habitat types can be compared using the reference images. The nematode fauna in the contaminated samples in 80% of the tested samples deviated significantly from the comparative reference images. This shows that the nematode fauna can be applied and interpreted on the basis of the reference images that have been developed. Further completion and refinement of the reference database is desired, as is the housing of the database at a central organisation. This database must be converted into a user-friendly public version in order to allow wider use.

Keywords

Controlled terms:

bio-monitoring, ecology, ecotoxicology
field research, nematodes

Uncontrolled terms

database, ecological risk assessment
field inventory, reference images,
target value, TRIADE

Project title

Analysis of Nematode Levels

Projectmanagement

Bioclear BV (drs. J.J. van der Waarde,
050-5718455)

This report can be obtained by: SKB, PO Box 420, 2800 AK Gouda, The Netherlands
Netherlands Centre for Soil Quality Management and Knowledge Transfer (SKB)

INHOUD

		SAMENVATTING.....	V
		SUMMARY.....	VII
Hoofdstuk	1	INLEIDING	1
	1.1	Achtergrond	1
	1.2	Probleemstelling en knelpunten	2
	1.3	Doelstelling project.....	2
	1.4	Opbouw van het rapport.....	3
Hoofdstuk	2	WERKZAAMHEDEN	5
Hoofdstuk	3	RESULTATEN.....	9
	3.1	Werkpakket 1: Verzamelen datasets en inventarisatie beschikbare software	9
	3.1.1	Verzamelen datasets	9
	3.1.2	Inventarisatie en beoordeling bestaande nematodendatabases ..	11
	3.1.3	Beoordeling ecologische databases	11
	3.2	Werkpakket 2: Vaststellen relevante parameters.....	12
	3.3	Werkpakket 4: Opzetten van de database	13
	3.4	Werkpakket 5: Dataopslag en kwaliteitscontrole.....	13
	3.5	Werkpakket 6: Evaluatie uitvoering bemonstering, monsterbewerking en analyse nematodenfauna.....	14
	3.6	Werkpakket 7: Ontwikkeling referentiesysteem	14
	3.7	Werkpakket 8: Relatie nematodenfauna en bodemgebruikswaarden.....	17
	3.8	Werkpakket 9: Betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid referentiesysteem	18
	3.9	Werkpakket 10: Toetsing resultaten verontreinigde bodems	20
	3.9.1	Gegevens en toetsresultaten	20
	3.9.2	Koppeling met fysisch-chemische parameters.....	22
Hoofdstuk	4	CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN	25
	4.1	Database.....	25
	4.2	Monstername	25
	4.3	Referentiebeeld.....	25
	4.4	Toetsing verontreinigde monsters	25
	4.5	Inpassing in beleid	26
	4.6	Perspectieven voor de toekomst.....	26
Hoofdstuk	5	VERKLARENDE WOORDENLIJST	27
		LITERATUUR	29
Bijlage	A	PROTOCOL LOCATIE-INFORMATIE, MONSTERNAME, EXTRACTIE EN ANALYSE VAN VRIJLEVENDE NEMATODEN	
Bijlage	B	BODEMTYPE CODES	

SAMENVATTING

Analyse Nematoden Bestand

Doel

Het doel van het project is het ontwikkelen van een referentiesysteem voor het interpreteren en beoordelen van resultaten van nematodenanalyses uit verontreinigde bodems en zo een betere en objectievere beoordeling mogelijk te maken van de ecologische risico's.

Knelpunten

De TRIADE-benadering wordt steeds vaker toegepast bij het beoordelen van ecologische risico's van bodemverontreiniging. De interpretatie van resultaten van de TRIADE wordt echter bemoeilijkt door het ontbreken van duidelijke referentiebeelden, gebaseerd op niet verontreinigde situaties, die als standaard gebruikt kunnen worden bij de beoordeling van ecologische effecten. Dit geldt ook voor de nematodenfauna.

Onduidelijk is of voor ieder habitatype en/of bodemtype een andere streefwaarde, op basis van nematodenanalyses, moet worden geformuleerd. Beschikbare analysegegevens van nematoden uit niet-verontreinigde gebieden zijn niet direct toegankelijk en verspreid gedocumenteerd. Daarnaast zijn er enkele technische knelpunten met betrekking tot monstername en analyse van nematoden, waardoor onzeker is tot in welk detail verschillende data met elkaar kunnen worden vergeleken.

Plan van aanpak

De knelpunten zijn opgelost door het verzamelen van beschikbare analysegegevens van nematoden uit verschillende milieus en deze te ordenen in een database. De database is gebruikt om correlaties tussen de nematodenfauna en habitatype of bodemtype vast te stellen. Op basis van deze relaties zijn referentiebeelden opgesteld voor de nematodenfauna als functie van habitatype en/of bodemtype. De volgende activiteiten zijn achtereenvolgens uitgevoerd:

- Keuze opzet database;
- Vaststellen relevante parameters voor database;
- Toetsing aan deskundig panel;
- Opzetten en vullen van de database met beschikbare nematodenanalyses;
- Evaluatie van verschillen in monsterneming en analyse;
- Uitvoeren van een betrouwbaarheidsanalyse op de ingevoerde data;
- Vergelijking van de analyseresultaten met de ingevoerde variabelen, leidend tot een referentiesysteem;
- Onderzoek koppeling referentiewaarden en bodemgebruikswaarden;
- Vaststellen van de relatie tussen verontreinigingsgraad van de bodem en de nematodenanalyses.

Resultaten

Alle beschikbare nematodengegevens uit voornamelijk Nederlandse monsters, die binnen het projectteam aanwezig waren of waar de hand op kon worden gelegd, zijn verzameld en de kwaliteit van de data is gecontroleerd. Na selectie zijn in totaal gegevens van ±1600 monsters opgenomen in een database. Deze database, de nematoden database in Dawaco-ecologie, is op maat gemaakt voor dit project en maakt het mogelijk ecologische en chemische data in te voeren en te kunnen bewerken. Alle monsters zijn ingedeeld naar het habitatype van herkomst, bijvoorbeeld weiland, naaldbos of loofbos op droge voedselrijke grond. Deze zogenaamde habitatypen worden beschreven door IPI (InterProvinciale Inventarisatie) codes, codes die worden gebruikt bij provinciale karteringen om habitatypen te beschrijven.

Voor 20 (clusters van) IPI-codes is vervolgens een referentiebeeld voor de nematodenfauna opgezet op basis van beschikbare gegevens uit niet-verontreinigde milieus. Hiervoor zijn data van in totaal 575 locaties gebruikt. Deze referentiebeelden hebben een nematodensamenstelling die statistisch aantoonbaar verschillend is van overige referentiebeelden. Het is mogelijk om bodemonsters uit verschillende habitattypen te onderscheiden op basis van de samenstelling van de nematodenfauna. Verwacht wordt dat de nematodenfauna in verontreinigde monsters afwijkt van de referentiebeelden. Dit werd bevestigd door een eerste toetsing van verontreinigde monsters aan de referentiebeelden; 80% van de geteste monsters uit verontreinigde milieus had een nematodensamenstelling die afweek van het bijbehorende referentiebeeld.

De nematodenfauna kan dus worden toegepast en, mits met beleid gehanteerd, worden geïnterpreteerd op basis van de ontwikkelde referentiebeelden voor het beoordelen van de (water)bodemkwaliteit.

Gewenste vervolgstappen zijn nu het voltooien en verder verfijnen van de referentiebeelden, het implementeren van de database bij een centrale instantie en het omzetten van de database in een gebruikersvriendelijke publieksversie.

SUMMARY

Analysis of Nematode Levels

Aim

The aim of the project is to develop of a reference system for the interpretation and evaluation of the results of nematode analysis from contaminated soil and thereby facilitate better and more objective assessment of ecological risks.

Problems

The TRIADE approach is being used increasingly often for the evaluation of ecological risks associated with soil contamination. However, the interpretation of results from TRIADE is hindered by the lack of clear reference images, based on non-contaminated situations, which can be used as standards when evaluating ecological effects. This also applies to the nematode fauna.

It is unclear whether specific target values should be formulated for each habitat type and/or soil type on the basis of nematode analyses. Available analysis data of nematodes from non-contaminated areas can not be accessed directly and the documentation is not centralised. There are also several technical problems relating to sampling and the analysis of nematodes, and this makes the level of detail at which different data can be compared uncertain.

Plan of approach

The problems were solved by gathering the available nematode analysis data from various environments and categorising it in a database. The database was used to identify correlations between the nematode fauna and habitat type or soil type. These relationships were used as the basis for the formulation of reference images as functions of habitat type and/or soil type. The following activities were then carried out in succession:

- Selection of the set-up of the database;
- Determination of the relevant parameters for the database;
- Assessment by a panel of experts;
- Creation and filling of the database with available nematode analyses;
- Evaluation of differences in sampling and analysis;
- Implementation of a reliability analysis of the data entered;
- Comparison of the analysis results with the variables, resulting in a reference system;
- Study of the link between reference values and soil use values;
- Determination of the relationship between the level of soil contamination and the nematode analyses.

Results

All available nematode data from primarily Dutch samples, present within the project team or that were readily available, were collected and the quality of the data was checked. Subsequent to selection, data from a total of ± 1600 samples was entered in a database. This database, the nematodes database in Dawaco-ecology, was custom-made for this project and makes it possible to enter and process ecological and chemical data. All the samples are categorised according to habitat type – for example meadows, coniferous forest, deciduous forest or dry nutrient-rich soil. These habitat types are identified with IPI-(InterProvincial Inventarisatie)codes, codes that are used to describe habitat types in provincial mapping.

A reference image for the nematode fauna was then formulated for 20 (clusters of) IPI-codes on the basis of available data from non-contaminated environments. A total of 575 locations were used. These reference images have a nematode composition that is static and visibly different to other reference images. It is possible to distinguish soil samples from different habitats on the basis of the composition of the nematode fauna.

The expectation is that nematode fauna in contaminated samples will differ from reference images. This was confirmed by an initial assessment of the contaminated samples in relation with the reference images.

80% of the tested samples from contaminated environments had nematode compositions that differed from the associated reference image. The nematode fauna can therefore be used (with due care and attention) and interpreted on the basis of the reference images developed for the evaluation of the soil quality on land and in the beds of rivers and water areas.

The following steps are now desired: completion and further refinement of the reference images, the implementation of the database in a central organisation and the conversion of the database into a user-friendly public version.

HOOFDSTUK 1

INLEIDING

1.1 Achtergrond

Recente ontwikkelingen in het beleid ten aanzien van bodemsanering maken het mogelijk de beslissing over het uitvoeren van bodemsanering en de wijze waarop dit gebeurt mede te laten bepalen op basis van het huidige of gewenste bodemgebruik, het zogenaamd functiegericht saneren. Wanneer bij dit bodemgebruik ecologische waarden relevant zijn, zoals in bijvoorbeeld natuurgebieden, agrarische gronden etc, is behoefte aan ecologische indicatoren voor het bepalen van de kwaliteit, en dus de gezondheid, van de bodem. In de circulaire bodembescherming is hiervoor ruimte gelaten in de vorm van gericht onderzoek, bijvoorbeeld veldonderzoek of onderzoek met bioassays, om de saneringsurgentie van een (water)bodemverontreiniging te bepalen. Eén van de indicatoren die hierbij vaak gebruikt wordt, is de samenstelling van de nematodenfauna omdat nematoden een belangrijke schakel zijn in het voedselweb (figuur 1). Bij verschillende onderzoeksinstellingen zijn onderzoeksgegevens beschikbaar over de nematodenfauna in land- en waterbodems. Door deze informatie te ordenen zou een relatie gelegd kunnen worden tussen habitattype, bodemeigenschappen en de nematodensamenstelling. Dit kan gebruikt worden om ecologische streefbeelden of referentiebeelden op te stellen voor de samenstelling van de nematodenfauna in niet-verontreinigde bodems. Op die manier ontstaat een waardevol instrument voor het beoordelen van de ecologische kwaliteit van verstoorde bodems. Het project Analyse Nematoden Bestand is gericht op het opzetten van een database met referentiedata voor nematodenanalyses in een zo breed mogelijk spectrum van bodemtypen.

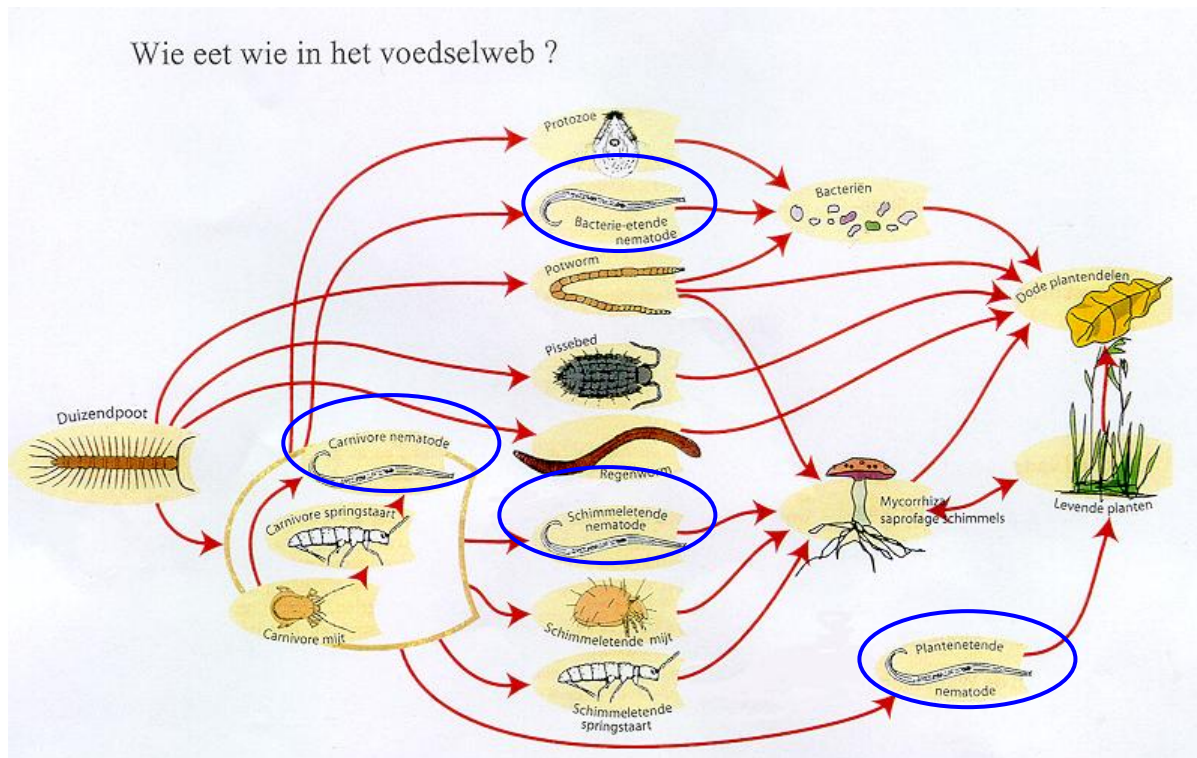


Fig. 1. Positie van nematoden in het voedselweb (bron: Van der Meer [2000] Vakblad voor de Bloemisterij 36: 42-44).

1.2 Probleemstelling en knelpunten

De beoordeling van ecologische risico's van bodemverontreiniging wordt in de praktijk doorgaans gebaseerd op de SUS-methodiek (Sanering Urgentie Systematiek). Deze aanpak is gebaseerd op gemeten concentraties bodemverontreinigingen gecombineerd met oppervlakte- en dieptecriteria en geeft een maat voor het potentieel ecologisch risico. Deze beoordeling voldoet in de praktijk vaak niet omdat er twijfel is over de vertaalbaarheid van potentiële risico's in SUS naar de werkelijke actuele risico's in het veld. Als aanvulling op- en alternatief voor SUS is de actuele ecologische risicobeoordeling ontwikkeld die uitgaat van actuele effecten gemeten middels analyses uit de TRIADE-aanpak [Van der Waarde et al., 2001].

Deze TRIADE is een praktische invulling van het gericht onderzoek, zoals genoemd in de circulaire bodembescherming, om de saneringsurgentie van een (water)bodemverontreiniging te bepalen. Deze actuele ecologische risicobeoordeling wordt steeds vaker toegepast, bijvoorbeeld in natuurgebieden of locaties in het buitengebied met een recreatieve 'groene' functie [Van der Waarde en Holwerda, 2000]. Een probleem hierbij is het ontbreken van duidelijke referentiebeelden die, gebaseerd op niet verontreinigde situaties, als standaard gebruikt kunnen worden bij de beoordeling van ecologische effecten. In dit project zal aan dit laatste knelpunt worden gewerkt. Voor één van de ecologische parameters, de samenstelling van de nematodenfauna, worden referentiewaarden gecreëerd die als dergelijke standaarden kunnen worden gebruikt.

Een belangrijk knelpunt hierbij is dat onduidelijk is of voor ieder habitatype of bodemtype een aparte referentie, op basis van nematodenanalyses, moet worden geformuleerd. Er zijn meerdere factoren die de nematodenfauna beïnvloeden en de vraag is of binnen deze variatie toch een eenduidige relatie bestaat tussen habitatype en de samenstelling van de nematodenfauna. De gegevens die hierover meer duidelijkheid kunnen geven zijn zelfs voor de specialisten op dit gebied niet direct toegankelijk en dienen te worden geordend en beschikbaar gemaakt. Op dit moment kunnen alleen specialisten op het gebied van de nematodentaxonomie en ecologie aan de hand van de nematodensamenstelling zien of de grond een bepaalde acceptabele biologische kwaliteit heeft. Dit beperkt de toepasbaarheid van de methode. Onduidelijk is ook of de beschikbare gegevens over nematoden kunnen worden gerangschikt naar gebruiksfuncties zoals die zijn geformuleerd bij de BGW's (Bodem Gebruikswaarden). Hoewel dit laatste niet noodzakelijk is, zou het aantrekkelijk zijn om bijvoorbeeld voor wonen met tuin, industrie of natuur verschillende referentiesets met nematodendata te hebben.

Daarnaast zijn er enkele technische knelpunten. De beschikbare databases met resultaten van nematodenanalyses zijn verschillend van opzet en onduidelijk is nog tot in welk detail de verschillende data met elkaar kunnen worden vergeleken. De wijze van bemonstering, nematodenextractie en -analyse is niet altijd identiek wat problemen kan opleveren bij de interpretatie. Als de bestanden zijn samengevat kunnen ze als spiegel gebruikt worden voor de (veel beperkter aantal) sets met nematodengegevens uit verontreinigde gebieden en wordt duidelijk of de nematodenfauna inderdaad wordt beïnvloedt door de aanwezigheid van verontreiniging. Tevens volgt hieruit of er aanvullende informatie nodig is om tot referentiebeelden te komen en welke onderzoeksvragen vooralsnog onbeantwoord blijven.

1.3 Doelstelling project

De doelstelling van het project is het ontwikkelen van een referentiesysteem voor het interpreteren en beoordelen van resultaten van nematodenanalyses uit verontreinigde bodems. Dit referentiesysteem moet een betere beoordeling mogelijk maken van ecologische risico's van verontreinigde bodems. Dit beoordelingskader moet zijn gebaseerd op beschikbare informatie over nematodenanalyses in niet-verontreinigde milieus.

Het beoordelingskader moet geschikt zijn voor monsters uit terreinen met verschillende habitatypen en bodemtypen. Het project dient te leiden tot een beter begrip en daardoor vaker gebruik van ecologische parameters bij risicobeoordeling van verontreinigde bodems.

Op dit moment is de nematodenfauna het meest geschikt om een voortrekkersrol te vervullen bij deze nieuwe ontwikkeling. Op de langere termijn kunnen meerdere groepen organismen (microorganismen, regenwormen, mijten) worden gebruikt om een betere representatie te krijgen van het bodemecosysteem.

1.4 Opbouw van het rapport

In hoofdstuk 2 worden de werkzaamheden die zijn uitgevoerd in het project toegelicht. In hoofdstuk 3 worden de resultaten van de verschillende werkpakketten besproken. De conclusies en aanbevelingen volgen in hoofdstuk 4. In de bijlagen is een voorstel voor een protocol voor het bemonsteren en analyseren van nematoden opgenomen.

HOOFDSTUK 2

WERKZAAMHEDEN

In dit eindrapport staan de resultaten beschreven van fase 1 en 2 van het basisprojectplan "Analyse Nematoden bestand", december 2000. De uitgevoerde werkzaamheden worden per werkpakket beschreven.

Werkpakket 1: Verzamelen datasets, inventarisatie beschikbare software

De eerste stap in het project was het verzamelen van alle beschikbare resultaten van nematodenanalyses, zowel in verontreinigde als in niet-verontreinigde landbodems en waterbodems. Deze actie heeft een groot aantal gegevens opgeleverd, waarvan de kwaliteit en compleetheid van de datasets echter sterk konden verschillen. Door controle van de gegevens in de datasets, eventueel met navraag bij de originele uitvoerende van de analyses of leider van het onderzoek, is een selectie gemaakt uit de beschikbare gegevens. Het voordeel bij deze actie was dat de meeste onderzoekers die actief zijn op het gebied van nematodenanalyses direct of indirect bij het Analyse Nematoden Bestand (ANB)-project betrokken zijn.

De volgende stap in het project was het selecteren van een geschikt databaseprogramma om de nematodendata in op te slaan en om bewerkingen mee uit te voeren. Hiervoor zijn diverse softwarepakketten geëvalueerd. Naast de software die bij leden van het consortium in gebruik was, zoals bijvoorbeeld Nemabase, is gekeken naar andere databases voor ecologische informatie, zoals die bijvoorbeeld bij de waterschappen in gebruik zijn. Mogelijkheden zijn: EcoLims, EcoBase en Dawaco-ecologie. Bij het selecteren van de meest geschikte database zijn de volgende eisen geformuleerd:

- Koppeling van de uitvoer van het programma met andere software moet mogelijk zijn;
- Complexe bewerkingen op soort- en genusniveau in combinatie met datareeksen van biologische en bodemchemische parameters moeten mogelijk zijn;
- Directe koppeling met GIS-applicaties zijn wenselijk.

Werkpakket 2: Vaststellen relevante parameters

Na het verzamelen van de nematodengegevens in werkpakket 1, is vastgesteld welke (milieu)-parameters in de verschillende datasets opgenomen zijn. Niet in alle aangeleverde datasets zijn dezelfde parameters aangetroffen en voor het referentiesysteem is dan ook een keuze gemaakt tussen welke parameters gewenst zijn in het referentiesysteem en welke reeds beschikbaar zijn.

Werkpakket 3: Workshop 1

Het doel van de eerste workshop was het presenteren van de opzet van de database, de wijze van dataverwerking te bespreken en feedback te krijgen van uitgenodigde eindgebruikers, specialisten en belanghebbenden op de gekozen opzet van de database. De resultaten hiervan worden niet in deze rapportage beschreven.

Werkpakket 4: Opzetten van de database

De database voor nematoden is opgebouwd in Dawaco-ecologie en waar nodig aangevuld met nieuwe, gewenste functionaliteit. De gewenste functionaliteit is tot stand gekomen in een bijeenkomst van het consortium, waarbij de op dat moment beschikbare functionaliteit is beoordeeld en waarbij wensen zijn aangegeven.

Werkpakket 5: Dataopslag en kwaliteitscontrole

De dataopslag van de gegevens heeft met behulp van de importopties plaatsgevonden. In totaal zijn 1595 monsters opgenomen in de database. Echter, in veel gevallen bleek de informatie wat betreft de omgevingskenmerken van de monsters onvolledig. Dergelijke informatie is echter cruciaal bij een analyse van nematodengegevens waarbij de ecologische context een rol moet spelen. Voor het merendeel van de in de database aanwezige monsters is deze informatie toegevoegd door in eerste instantie ontbrekende coördinaten toe te voegen; hetzij door deze informatie te betrekken van de oorspronkelijke monsternemer, hetzij door gebruik te maken van de oorspronkelijke beschrijvingen in combinatie met de topografische atlas van Nederland. Vervolgens is de database aangevuld met standplaatsinformatie uit gedigitaliseerde bestanden.

Werkpakket 6: Evaluatie uitvoering bemonstering, monsterbewerking en analyse nematodenfauna

In dit werkpakket is per onderdeel, (monstername, monstervoorbehandeling en determinatie) voor zowel landbodems als sedimenten, besproken wat de overeenkomsten en verschillen zijn tussen de nematodenanalyses bij de verschillende partijen (Bedrijfslaboratorium voor Grond- en Gewasonderzoek en Wageningen Universiteit) en hoe deze zijn vertegenwoordigd in de database. Er is in dit werkpakket een voorstel gemaakt voor standaardisatie van monstername en analyse van nematoden.

Werkpakket 7: Ontwikkeling referentiesysteem

De database is geanalyseerd op relaties tussen nematodengegevens en habitatype zoals die ingedeeld zijn in het IPI-systeem. Het doel hierbij was een aantal categorieën (referentiebeelden) te onderscheiden op basis van samenstelling van nematodenfauna. De gemiddelde samenstelling (centroïde) van een dergelijke groep werd als 'normaal' voor een bepaald habitat gesteld en vormt daarmee een referentie. Per referentiebeeld is vervolgens een beschrijving gegeven van de nematodenfauna en de afgeleide ecologische indicatoren.

De classificatie van nematodenmonsters is tot stand gekomen in 5 aparte analysestappen:

1. Indirecte ordinatie van de nematodentaxadataset uit de database. Hierbij werden alle monsters met elkaar vergeleken op basis van verschillen en overeenkomsten in de samenstelling van de nematodenfauna;
2. Vergelijking van habitatkenmerken met de ordinatieresultaten van analysestap 1. Hierbij werd gekeken of monsters die bij elkaar werden ingedeeld op basis van nematodengegevens, nog verder konden worden onderverdeeld op basis van bodemeigenschappen;
3. Het, op grond van ordinatieresultaten, identificeren van monsterpunten die zowel op grond van hun nematodentaxasamenstelling als op grond van omgevingseigenschappen overeenkomst vertonen. Dit waren de "concept"-referentiebeelden;
4. Van de bij 3 gedefinieerde clusters van monsterpunten is vervolgens onderzocht of het onderlinge onderscheidend vermogen voldoende groot was om de cluster als aparte eenheid te handhaven. In enkele gevallen leken referentiebeelden onderscheidend, maar bij nadere analyse was er teveel overlap tussen de referentiebeelden om ze apart te handhaven. De overblijvende aparte eenheden vormen de uiteindelijke referentiebeelden;
5. Nematologische beschrijving van de bij 4 vastgestelde referentiebeelden.

Werkpakket 8: Relatie nematodenfauna en bodemgebruikswaarden

In dit werkpakket is gekeken naar hoe het referentiesysteem voor nematodenfauna ingepast zou kunnen worden in huidige beoordelingssystematieken voor bodems (BEVER).

Werkpakket 9: Betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid referentiesysteem

Met behulp van statische onderzoeksmethoden is in dit werkpakket bepaald hoeveel monsters minimaal nodig zijn om een representatief referentiebeeld op te stellen.

Werkpakket 10: Toetsing resultaten verontreinigde bodems

Met het gereedkomen van referentiebeelden voor de nematodenfauna in niet-verontreinigde bodems, werd het mogelijk om te bepalen in hoeverre de nematodenfauna in verontreinigde monsters hiervan afwijkt. Met behulp van de toetsingsmodule die is ingebouwd in Dawaco-ecologie, is de waarschijnlijkheid berekend dat een verontreinigd monster, op basis van de nematodengemeenschap die er voorkomt, tot een bepaald cluster van ongestoorde bodems kan worden gerekend. Omdat bekend is tot welk cluster de getoetste monsters behoren, geeft de waarschijnlijkheid een indicatie over verstoring van de nematodengemeenschap.

Na de toetsing is aan elk monster een oordeel toegekend, variërend van "OK", "enige afwijking" tot "niet OK" bij toenemende afwijking.

Na de toetsing is in de gegevensset van fysisch-chemische parameters van de locaties die "niet OK" of "enige afwijking" scoren, gekeken welke stoffen in verhoogde concentraties aanwezig waren en dus de oorzaak van het afwijkende nematodenbeeld kunnen zijn. Dit is niet mogelijk geweest voor alle locaties, omdat niet van alle meetpunten fysisch-chemische gegevens voor handen waren.

HOOFDSTUK 3

RESULTATEN

3.1 Werkpakket 1: Verzamelen datasets en inventarisatie beschikbare software

3.1.1 Verzamelen datasets

Allereerst zijn de aanwezige nematodendata geïnteriseerd. Het resultaat van deze actie is verzameling van data van nematodenanalyses die nog niet eerder op deze schaal gebundeld was (tabel 1).

Vervolgens zijn in een workshop de functionele eisen die aan een nematodendatabase gesteld zouden moeten worden, besproken met het consortium. Voor de database zijn op twee niveaus specificaties van de functionaliteit op te stellen: algemene eisen en specifieke eisen die speciaal voor de nematoden gelden.

De algemene eisen voor een database zijn als volgt:

- Gebruik maken van een relationeel database management systeem: dit houdt in een aantal onderling gekoppelde (genormaliseerde) tabellen voor gegevens met voorzieningen die de integriteit van de gegevens waarborgen;
- Handmatige invoer van meetpunten, monsters en biologische waarnemingen, beveiligd tegen inconsistenties en invoer van niet bestaande codes;
- Idem voor milieufactoren alsmede koppeling van biologische gegevens aan deze factoren;
- Beveiligde (tegen inconsistenties, dubbelingen etc) import van gegevens uit bestanden van verschillende formaat;
- Communicatie- of exportfuncties voor gebruik van gegevens in andere pakketten (bijv. statistische);
- Uitvoer- of printopties voor het afdrukken van lijsten, codetabellen etc.;
- Gebruikersvriendelijke user-interface die aansluit op gangbare platforms (Windows).

Specifieke functionele eisen voor de nematoden zijn tijdens de eerste workshop (werkpakket 3) aan de orde gekomen. Gedurende het verdere proces van het project zijn daarin nog nieuwe keuzes en verdere verfijningen aangebracht. Deze zijn gestuurd door de ontwikkeling van het referentiesysteem. Het is daarom een stapsgewijs proces geworden waarbij in eerste instantie de bestaande software binnen en buiten het consortium in kaart is gebracht en op hoofdlijnen bekeken op geschiktheid. Vervolgens zijn voor het gekozen pakket de functionele eisen verder aangescherpt en ingevuld.

Tabel 1. Verzamelde data in ANB project.

Leverancier	aantal	Titel
Royal Haskoning	3 projecten	Betuwelocatie NAM Nigtevecht
RIVM	12 sets	Setcode: <i>B6B</i> , 6 bossen Veluwe Setcode: <i>bud</i> , Budel Setcode: <i>cu</i> , Kopervelden, Wildekamp Setcode: <i>dre</i> , Drentsche Aa Setcode: <i>peg88</i> , Data Peel Grove Den Verzuringproject 1988-1990 Setcode: <i>pez88</i> Data bekalkingsproject Eik 1988-1990 Setcode: <i>rt</i> Data combinatie set van Ron de Goede en Tom Bongers Setcode: <i>suc</i> Hulsthoesterzand en Leuvenumse bos (De Goede) Setcode: <i>swb</i> Snelwegenproject 1991 Setcode: <i>ter</i> Nematodeninventarisatie Terschelling (De Goede) Setcode: <i>zh</i> Zuid-Holland (Bongers) Setcode: <i>l mb</i> Landelijk Meetnet Bodemkwaliteit Monsters LMB 1994 Bossen Monsters LMB 1995 Akkerbouw op zand Monsters LMB 1995 Grasland op veen Monsters LMB 1996 Akkerbouw op zeeklei Monsters LMB 1996 Grasland op rivierklei Monsters LMB 1997 Grasland op zeeklei Monsters LMB 1997 Tuinbouw op zand en zeeklei
RIZA	7 projecten	TYPOSED, Referentie Rivieren, Leereffecten sanering Ketelmeer (LSK), OER, Organisch C. als voedsel voor macro- en meiofauna, Saneren Natuurlijk? Monitoring oevers Hollandsche IJssel, Monitoring Nematoden
WU-BOD	12 sets	Budel (GK) Dwingeloo (RdG) Plan Goudplevier (RdG) Plantage Willem III (RdG) Schiermonnikoog (BV) Terschelling (RdG) Vel en Vanla (RdG) Degree (TB) Harderwijk (RdG) Drentse Aa (RdG) Bostypen op zandgrond (RdG) Natuurgebieden NL (TB)
Tauw ¹	2 onderzoeken	Diempolder Ilperveld
Bioclear	6 locaties	Schietterrein Bornia Rangeerterrein Spekholzerheide Spoor NAM Schoonebeek Kollum chemie Driehoek Rozenburg Voormalig vloeivelden te Loon op Zand
Blgg	2 onderzoeken	Donkes Laagte De Wick

¹ extra set data, geen consortiumpartner

3.1.2 *Inventarisatie en beoordeling bestaande nematodendatabases*

De inventarisatie van de beschikbare databases bij verschillende instanties heeft opgeleverd dat in Nederland het meeste materiaal over nematoden in spreadsheets aanwezig is. De organisatie van het materiaal is gerangschikt naar afzonderlijke projecten en de opbouw van elke spreadsheet is verschillend.

Het materiaal dat bij RIVM aanwezig is, is in Excel-spreadsheets als volgt opgenomen: gegevens op soortniveau en per individuele waarneming zijn per veldonderzoek of project in aparte sheets opgeslagen. Ze zijn vervolgens op genusniveau, en geclusterd naar locatie, samengevoegd in één sheet (o.a. omdat de totale soortenlijst hier niet meer in past). Deze gebundelde gegevens zijn gebruikt voor verdere toepassingen, zoals het maken van responscurven van genera op abiotische omstandigheden die de basis vormen voor (in ontwikkeling zijnde) prognostische modellen.

De gegevens van Wageningen Universiteit van verschillende (historische) onderzoeken zijn in spreadsheets per project opgeslagen. De gegevens zijn soms als absolute en soms als relatieve frequenties opgenomen. De abiotische informatie verschilt sterk per onderzoek en is fragmentarisch. De opbouw van de sheets is verschillend per onderzoek.

In algemene zin kan gesteld worden dat de geleverde spreadsheets niet geschikt zijn om als database te dienen om de volgende redenen:

- Tijdens invoer is er geen controle op consistentie van locaties, methoden en naamgeving van nematoden (niet relationeel);
- Er is geen scheiding tussen originele gegevens en bewerkingen, met als gevaar verschuivingen en overschrijvingen van gegevens;
- Berekening zijn weliswaar te programmeren, maar zijn ook gevoelig voor introductie van fouten;
- Fysieke beperkingen in het aantal kolommen dat in een sheet past;
- Geen directe koppeling naar GIS beschikbaar.

De database van het RIZA (Nemabase) in Access2000 is in een kortlopend project tot stand gekomen en heeft het kenmerk van een gesloten toepassing. De resultaten van bewerkingen met multivariate analysetechnieken zijn in de database opgenomen en gekoppeld. Er zijn geen andere uitvoermogelijkheden dan "bekijken op scherm" beschikbaar. Er is geen taxonomische hiërarchie aanwezig om te aggregeren op bijvoorbeeld genusniveau en ook de replica's kunnen niet geaggregeerd worden.

3.1.3 *Beoordeling ecologische databases*

Naast de bestaande nematodensoftware van de leden van het consortium, is gekeken naar databases voor algemene ecologische informatie, zoals die bijvoorbeeld bij de waterschappen in gebruik zijn. Mogelijkheden zijn: EcoLims, EcoBase en Dawaco-ecologie. In tegenstelling tot de hierboven genoemde software, zijn deze alle gebaseerd op een daadwerkelijk relationeel database managementsysteem.

EcoLims

EcoLims is een laboratoriuminformatie managementsysteem. Dit richt zich sterk op de planning en opslag van biologische monsternamen voor watersystemen. Het systeem is bij circa 20 waterbeheerders in gebruik. In beginsel kunnen nematoden daarin opgenomen worden, maar de specifieke functionaliteit voor berekeningen is niet aanwezig. Ook ontbreekt de mogelijkheid tot het opnemen van meta-informatie en omgevingskenmerken. Daarnaast is geen GIS-koppeling aanwezig. Er is geen functionaliteit aanwezig om taxa naar een hoger niveau te aggregeren tijdens de uitvoer.

EcoBase

EcoBase wordt door 6 waterbeheerders toegepast voor de opslag en verwerking van gegevens uit biologische monsternamen. EcoBase draait onder Oracle en vereist de aanwezigheid van een licentie alsmede kennis op het niveau van DBA (Database Administrator). De invoer van omgevingskenmerken is niet flexibel: de kenmerken zijn hard voorgeprogrammeerd in de schermen en zijn niet te wijzigen. De kenmerken zijn sterk op waterbeheer gericht. Momenteel is een revisie gaande waarbij het gegevensmodel gebaseerd wordt op de Adventus-standaard; de gegevensstandaard van de Unie van Waterschappen. Een koppeling met GIS ontbreekt nog. Er is geen functionaliteit aanwezig om taxa naar een hoger niveau te aggregeren tijdens de uitvoer.

Dawaco-ecologie

Dawaco-ecologie is in gebruik bij Waterschap de Maaskant en is door de STOWA gekozen als database voor de Limnodata Neerlandica: de landelijke databank waarin alle aquatisch-ecologische informatie van de waterschappen over de afgelopen 20 jaar zijn opgenomen. Dawaco-ecologie kent flexibele mogelijkheid van het definiëren van omgevingskenmerken zoals bodemkarakteristieken, grondgebruik etc. Daarnaast kent Dawaco-ecologie een interactieve koppeling met GIS. Hierdoor is het mogelijk selecties binnen GIS te maken en aanvullende informatie uit andere digitale kaartbronnen, zoals bodemgebruik, op te nemen. De mogelijkheid van het onderscheiden van verschillende methoden van monstername en analyse is aanwezig. Ontbrekende functionaliteit is eenvoudig aan te vullen omdat de programmeerkennis en eigendom binnen het consortium aanwezig is. De koppeling met alle mogelijke andere pakketten en (geografische) informatiebronnen geschiedt via de ArcView koppeling van Dawaco-ecologie.

Hoofdconclusie van werkpakket 1 was dat van de bestudeerde opslagsystemen Dawaco-ecologie het meest geschikte pakket is om de nematodendatabase in op te bouwen, omdat daar een belangrijk deel van de benodigde functionaliteit in aanwezig is en 'de ontbrekende' eenvoudig toe te voegen is.

3.2 Werkpakket 2: Vaststellen relevante parameters

Na de selectie van de database zijn alle inputdata gecontroleerd op kwaliteit, zoals bijvoorbeeld correcte naamgeving en opgenomen in de database. De volgende data zijn per monster, voor zover beschikbaar, ingevoerd in de nematodendatabase in Dawaco-ecologie:

- Nematoden (aantallen per soort);
- Trofisch niveau (voorbeelden zie figuur 2);
- Fysische parameters (pH, organisch stof etc);
- Bodemtype;
- Gehaltes van verontreinigende stoffen (mg/kg ds);
- IPI-code (InterProvinciale Inventarisatie code): een typologie die gebruikt maakt van informatie over landgebruik en vegetatie;
- Natuurdoeltypes;
- Landgebruik;
- Bodemtype volgens de Stiboka-classificatie;
- Bodemgroep;
- Grondwatertrap.

Bovenstaande opsomming van, in de database, opgenomen informatie geeft een uitputtend overzicht van alle informatie die in principe beschikbaar was of beschikbaar gemaakt kon worden voor een bodemonmonster. Het bestaat in feite uit verschillende typen data. Allereerst zijn de primaire nematodenanalysegegevens, inclusief alle op dit moment voorhanden zijnde nematologi-

sche indicatoren (indeling in trofische- en cp-groepen, maturity Index), opgenomen. Deze informatie was voor alle monsters beschikbaar en vormt de basis voor het referentiesysteem.

3.3 **Werkpakket 4: Opzetten van de database**

De database voor nematoden is opgebouwd in Dawaco-ecologie en waar nodig aangevuld met nieuwe, gewenste functionaliteit. De gewenste functionaliteit is tot stand gekomen in een workshop van het consortium met een aantal uitgenodigde specialisten, waarbij de op dat moment beschikbare functionaliteit is beoordeeld en waarbij wensen zijn aangegeven.

Naast de bovengenoemde algemene eisen zijn de volgende specifieke eisen voor nematoden geformuleerd:

- Er dient een koppeling tussen biologische gegevens en milieufactoren beschikbaar te zijn;
- Onderscheiden van meerdere methoden van nematoden monsternamen;
- Onderscheiden van taxa van verschillende taxonomische niveaus;
- Onderscheiden van replica bemonsteringen en mogelijkheid tot samenvoegen tot gemiddelden daarvan (nieuw);
- Zowel informatie van droge bodems als waterbodems moet op te nemen zijn;
- Aggregeren van nematodenwaarnemingen naar hogere taxonomisch niveaus (nieuw);
- Exporteren van gegevens naar in Excel inleesbare bestanden;
- Geven van landelijk overzicht van referentielocaties;
- Weergeven van het voorkomen van soorten over het land;
- Berekeningen van maturity index op basis van soortspecifieke indicatiewaarden (nieuw);
- Mogelijkheid bevatten om referenties op te nemen en monsters mee te vergelijken (nieuw).

Voor zover deze functies niet aanwezig waren zijn deze in Dawaco-ecologie gebouwd.

3.4 **Werkpakket 5: Dataopslag en kwaliteitscontrole**

Naast de relevante parameters vastgesteld, in werkpakket 2, is alle, door de monsternemer aangeleverde, informatie over de monsterlocatie (geografische ligging, habitatbeschrijving, resultaten van chemische en fysische analyses van de bemonsterde locatie, etc.) in de database opgenomen. Al deze parameters kunnen een effect hebben op de samenstelling van de nematodenfauna en zijn daarom meegenomen. Deze hoeveelheid zogenaamde meta-informatie wisselde echter sterk per monster. Voor een groot aantal bodem en habitateigenschappen is het momenteel niet mogelijk om achteraf op betrouwbare wijze ontbrekende informatie aan te vullen. Van een selectie van parameters is het wel mogelijk om deze informatie achteraf te genereren. Indien er geen gegevens beschikbaar waren ten aanzien van bodemtype, IPI-code, natuurdoeltypen, landgebruik en grondwatertrap, dan werd deze toegevoegd uitgaande van de meest actuele bodemkaarten en GIS-bestanden. Kennis ten aanzien van deze parameters is essentieel voor een (minimale) karakterisering van de bemonsterde locaties en was bovendien voor elke locatie redelijk betrouwbaar achteraf te verkrijgen.

Grofweg zijn in totaal de volgende gegevens opgenomen de database:

- 580 taxa;
- 1000 meetlocaties;
- 1600 nematodenmonsters;
- 28000 nematoden waarnemingen;
- 12000 fysisch-chemische waarnemingen;
- 14000 kenmerken van monsters of meetpunten.

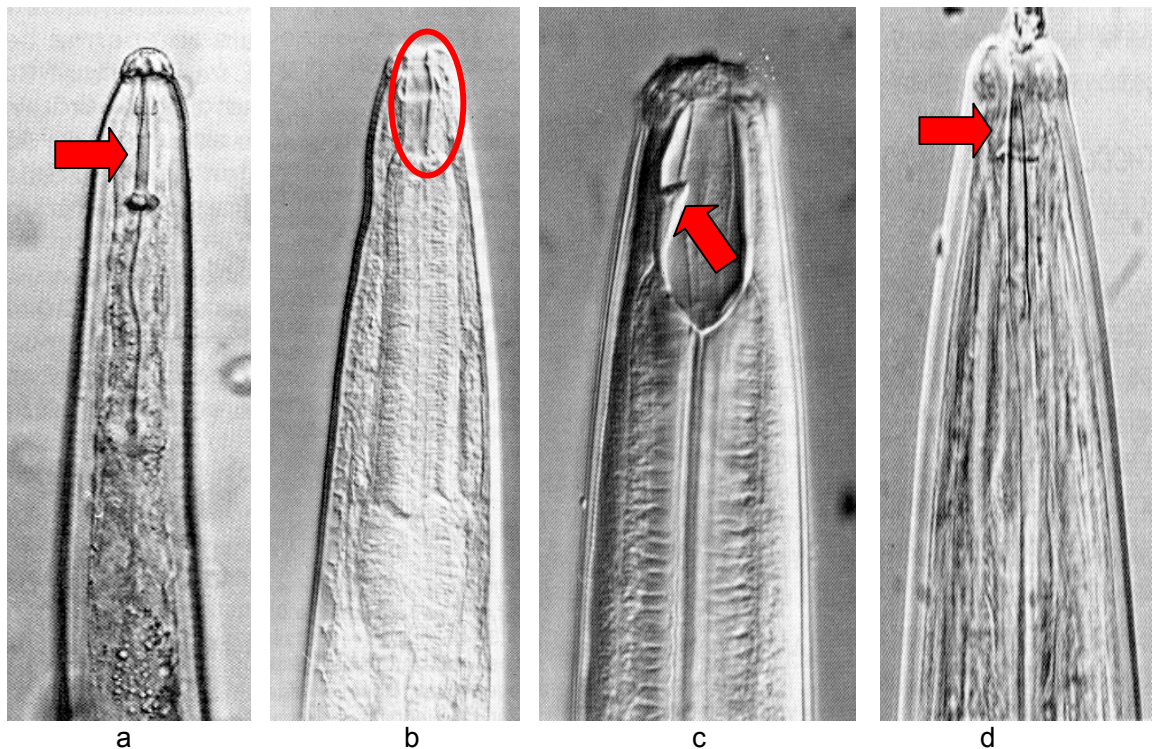


Fig. 2. Voorbeelden van nematoden van verschillende trofische niveaus, a: planten/schimmeleter, b: bacterie-eter, c: predator en d: omnivoor.

3.5 Werkpakket 6: Evaluatie uitvoering bemonstering, monsterbewerking en analyse nematodenfauna

In de praktijk blijkt dat nematodenonderzoek niet door iedereen op een gelijke wijze wordt uitgevoerd. Er bestaan geen duidelijke voorschriften voor monsternamen en analyse. Dit betekent dat het niet altijd mogelijk is om de resultaten van de verschillende onderzoeken één op één met elkaar te vergelijken. Voor een betrouwbaar gebruik van het referentiekader is het noodzakelijk dat cijfers eenduidig verzameld zijn, of in ieder geval vergelijkbaar zijn. De verschillen tussen de toegepaste methoden zijn echter klein en er wordt niet verwacht dat deze een groot effect zullen hebben op de uitkomst van de analyse. Toch verdient het aanbeveling te komen tot één algemeen geaccepteerde en gebruikte norm voor monsternamen, monstervoorbewerking en analyse van nematoden. Daarom is een voorstel gemaakt voor een dergelijk protocol (bijlage A). Een ringonderzoek, zoals dat bij het plantenparasitaire onderzoek gebruikelijk is, kan worden ingezet om te toetsen of dit leidt tot vergelijkbare resultaten bij verschillende analyselaboratoria.

3.6 Werkpakket 7: Ontwikkeling referentiesysteem

De database is geanalyseerd op relaties tussen nematodengegevens en habitateigenschappen die beschikbaar waren voor alle, of vrijwel alle, nematodenmonsters, zoals een indeling volgens het IPI-systeem, bodemtype, grondwatertrap en bodem pH. Het doel hierbij was een aantal categorieën (referentiebeelden) te onderscheiden op basis van samenstelling van nematodenfauna en een combinatie van habitateigenschappen. De gemiddelde (centroïde) samenstelling van de nematodengemeenschap van een dergelijke groep werd als 'normaal' voor een bepaald habitat gesteld en vormt daarmee een referentie. Per referentiebeeld wordt een beschrijving gegeven van de nematodenfauna en de afgeleide ecologische indicatoren.

Deze classificatie van nematodenmonsters is tot stand gekomen in 5 aparte analysestappen:

1. Selectie van monsters afkomstig van ongestoorde, niet-verontreinigde locaties. Onderstaande analyses werden uitgevoerd op monsters waarvan vast stond dat ze niet afkomstig waren van verontreinigde locaties en geen deel uitmaakten van een (wetenschappelijke) experiment.
2. Indirecte ordinatie van de nematodentaxadataset uit de database. Hierbij werden alle monsters met elkaar vergeleken op basis van uitsluitend verschillen en overeenkomsten in de samenstelling van de nematodenfauna. De analyses werden uitgevoerd in het ordinatieprogramma Canoco, waarbinnen ze werden geanalyseerd met behulp van Detrended Correspondentie Analyse (DCA) en Principale Componenten Analyse (PCA).
3. Vergelijking van habitatkenmerken met de ordinatieresultaten van analysestap 2. Hierbij werden de resultaten van de indirecte ordinatie-analyses vergeleken met de habitatkenmerken, waarbij naar patronen tussen beide kenmerken werd gezocht. Hieruit bleek bijvoorbeeld dat in het merendeel van de analyses duidelijke verbanden vastgesteld konden worden tussen de samenstelling van de nematodengemeenschap en de habitatindeling volgens het IPI systeem. Op grond van deze verbanden werden subgroepen van monsters samengesteld. Vervolgens konden deze subgroepen opnieuw worden onderworpen aan ordinatie-analyses, waarna onderzocht werd of de subgroep verder opgedeeld kon worden in kleinere clusters van monsters die weer op grond van zowel de nematodenfaunasamenstelling als de habitatkenmerken een eenheid vormden. De zo gedefinieerde (sub)groepen werden beschouwd als 'concept' referentiebeelden.
4. Van de bij 3 gedefinieerde clusters van monsterpunten is vervolgens onderzocht of het onderlinge onderscheidend vermogen voldoende groot was om de cluster als aparte eenheid te handhaven. Van elke cluster werd de gemiddelde nematodenfaunasamenstelling bepaald (de centroïde). Voor elk monster, dat deel uitmaakt van een cluster, werd vervolgens de dissimilariteit ten opzichte van de clustercentroïde bepaald. Deze dissimilariteit kan worden gezien als de afstand van het betreffende monster tot de centroïde. De statistische verdeling van deze afstanden om een centroïde volgt een normale verdeling die werd beschreven. Hiermee werd het mogelijk, op basis van de afstand van een willekeurig monster (of groep van monsters) tot de centroïde, de waarschijnlijkheid te bepalen waarmee dit monster (of deze groep van monsters) als behorend tot de cluster kan worden beschouwd. Volgens deze methode is het onderscheidend vermogen tussen de "concept"-clusters onderling bepaald. In die gevallen waarbij één of meerdere "concept"-clusters een laag onderscheidend vermogen bleken te hebben, werden deze clusters samengevoegd tot een nieuwe eenheid. De uiteindelijk overblijvende aparte eenheden vormen de uiteindelijke referentiebeelden.
5. Nematologische beschrijving van de bij 4 vastgestelde referentiebeelden.

In een eerste analyse van de nematodengegevens bleek dat alle beschikbare monsters puur op basis van hun nematodensamenstelling onderverdeeld konden worden in drie groepen: de waterbodemonsters, de agrarische gronden en de niet-agrarische gronden (figuur 3).

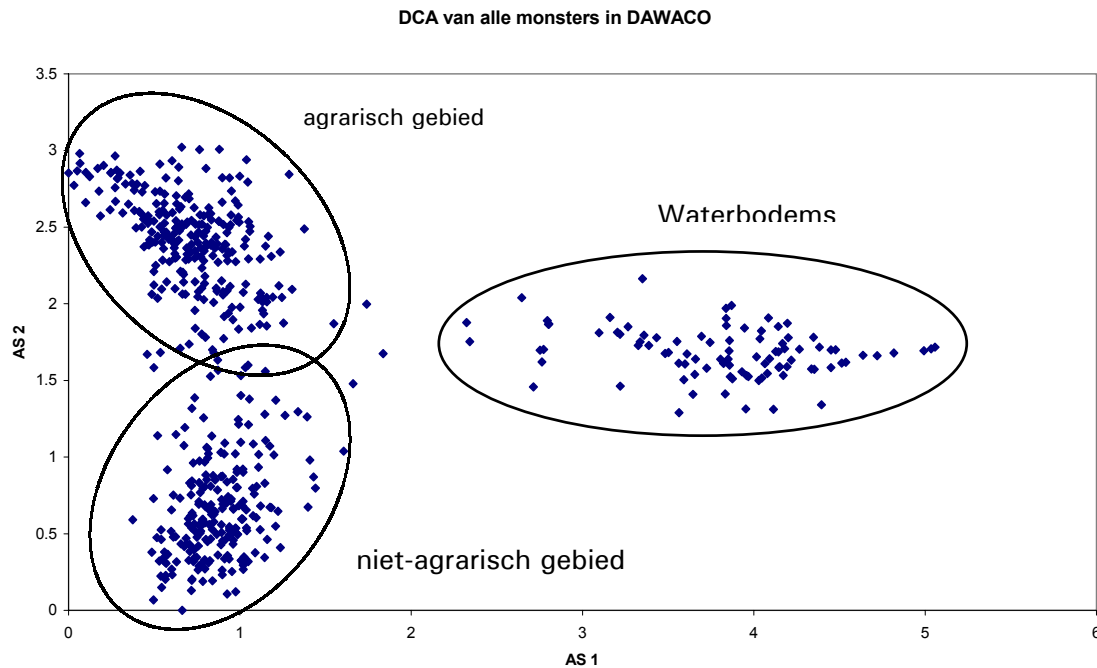


Fig. 3. Eerste globale onderverdeling van alle onverdachte monsters in de database op basis van nematodensamenstelling.

Dit betekent dat de nematodenfauna in waterbodems duidelijk een andere samenstelling heeft dan landbodems. Binnen de landbodems heeft agrarisch gebruik een sterk effect op de samenstelling van de nematodenfauna, zodat monsters uit agrarisch gebied zich duidelijk onderscheiden van die uit natuurgebieden. Vervolgens is voor ieder van deze drie groepen een verdere indeling gemaakt naar subgroepen, volgens de procedure zoals hierboven werd beschreven. Hierbij werd bij elke analyse als eerste de correlatie tussen de samenstelling van de nematodenfauna en het habitatype onderzocht. Het habitatype werd gedefinieerd met de IPI-code, codes die worden gebruikt bij provinciale karteringen om habitatypes te beschrijven. Ook werden, indien voldoende data beschikbaar waren, correlaties met bodemtype, pH en grondwatertrap berekend.

Deze analyse (zie hierboven onder punt 1-5) heeft uiteindelijk geleid tot de identificatie van 14 referentiebeelden voor (clusters van) landbodems en 6 referentiebeelden voor (clusters van) waterbodems (tabel 2). Deze referentiebeelden zijn onderscheidend van elkaar. Dat betekent dat de nematodenfauna in bijvoorbeeld een bollenveld significant afwijkt van die in een pinus (denen)bos. Dit werd ook verwacht maar is nu voor het eerst op objectieve wijze aangetoond. Dit biedt voldoende basis om verder te gaan met het afleiden van referentiebeelden en het toetsen van monsters uit verontreinigde milieus op afwijkende nematodenfauna.

Tabel 2. Omschrijving van de 20 referentieclusters uit het terrestrische en aquatische gebied.

Clusternr.	IPI-code	Bodemtype ¹	Leden	s.d. ²	Omschrijving
<i>Terrestrisch</i>					
1	420	<5	24	0.34	akkers op zand of veen
2	420	>4	25	0.29	akkers op klei of loess/krijt
3	410	<5	103	0.31	gras op zand of veen
4	410	>4	59	0.30	gras op klei of loess/veen
5	425		12	0.41	bollenveld
6	426		7	0.23	overhoek
7	511		22	0.54	braakliggende gebieden
8	121		39	0.30	Pinusbos
9	210-244		24	0.25	Open gebieden buiten agrarische productiesfeer: duinvegetaties, heide, stuifzand
10	112-114		3	0.24	broekbos
11	131		42	0.35	loofbos op droge relatief voedselarme gronden
12	132		38	0.27	loofbos op droge relatief voedselrijke gronden
13	143		18	0.29	loofbos op vochtige voedselrijke gronden
14	147		23	0.29	loofbos op vochtige voedselarme gronden
<i>Aquatisch</i>					
15	IPI-312		12	0.28	IJsselmeer
16	IPI-314		9	0.39	Randmeer
17	IPI-261, 325, 350, 353, 712		44	0.34	Kleine wateren met slibbodem
18	711		16	0.37	Grote rivier
19	741		6	0.41	Kanaal
20	311		3	0.47	Afgesloten zeearm

¹ Bodemtype, zie bijlage B.

² s.d. is de standaard deviatie om de centroïde van de cluster.

3.7 Werkpakket 8: Relatie nematodenfauna en bodemgebruikswaarden

De ontwikkelde methode voor het beoordelen van bodemkwaliteit op basis van een biologische parameter sluit goed aan bij de beleidsvernieuwing bodembeleid (BEVER). Bij functiegericht en kosteneffectief saneren wordt o.a. onderscheid gemaakt naar bodemgebruiksvorm, en boven- of onderlaag.

De vier bodemgebruiksvormen zijn:

1. wonen en intensief gebruikt openbaar groen;
2. extensief gebruikt (openbaar) groen;
3. bebouwing en verharding;
4. landbouw en natuur.

Voor iedere bodemgebruiksvorm is een terugsaneerwaarde afgeleid of in ontwikkeling, de bodemgebruikswaarde (BGW). In principe zouden alle nematodenmonsters ingedeeld kunnen worden naar de vier bodemgebruikscategorieën die voor functiegericht saneren zijn gekozen om zodoende een directe link te leggen tussen de samenstelling van de nematodenfauna en het mogelijke bodemgebruik. Dit bleek echter niet mogelijk, omdat het resulteert in een zeer grove

indeling die per categorie een aanzienlijke bandbreedte aan soortensamenstellingen heeft. Het onderscheidend vermogen zal hierdoor klein zijn. De categorieën 1, 2 en 3 komen bovendien weinig (tot niet) voor in de database, terwijl 4 zeer divers is en uitersten in zich heeft (natuur versus intensieve landbouw).

In de huidige versie van de database kan dus nog niet goed beoordeeld worden wat de ecologische effecten zijn bij overschrijding van BGW's. Hierbij staan twee sporen open: het gebruik van een locale referentie zoals wordt toegepast voor de beoordeling van locatiespecifieke actuele risico's [Van der Waarde et al., 2001]; [Rutgers et al., 2001] of het toetsen aan een referentiebeeld, anders dan de BGW. De laatste aanpak is in het ANB project gevolgd, waarbij is gekeken naar afwijkingen in monsters van verontreinigde locaties ten opzicht van de referentiebeelden. Uit deze analyse is gebleken dat de nematodenfauna op verontreinigde locaties duidelijk afwijkt van de nematodenfauna van de referentiebeelden. Dit maakt het mogelijk om effecten van verontreiniging in het veld op nematodenfauna aan te kunnen tonen.

In het NMP4 [2001] wordt uitdrukkelijk een aanzet gegeven voor een integrale aanpak van milieuproblemen. Dit krijgt gestalte in vier z.g. transities (veranderingen naar de gewenste situatie). Behoud van biodiversiteit en duurzaam gebruik van natuurlijke hulpbronnen wordt bij drie van de vier transities van groot belang geacht. Het NMP4 vermeldt letterlijk: "In het beleid zal in de komende jaren aandacht worden besteed aan bodembioologische doelen" (NMP4, hoofdstuk 6.1).

In een recent rapport heeft de Technische Commissie Bodembescherming (TCB) een probleemverkenning en -analyse gemaakt, waarin een strategisch raamwerk wordt gegeven voor ecologische inbreng op de beleidsterreinen bodembescherming, biodiversiteit en ruimtelijke ordening [TCB, 2000]. Dit kan beschouwd worden als een aanzet voor nadere uitwerking en concretisering van het NMP4. Aanbevolen wordt o.a. voorkomen dat soorten en processen in ecologische meetnetten worden gemonitord, en eisen op te stellen voor ecologische kwaliteit in relatie tot landgebruik. De meest concrete vraag naar een bodemecologische kwaliteitsmaat komt momenteel voort uit de "Bestuursovereenkomst ruimtelijke inrichting landelijk gebied". Deze overeenkomst wordt vanaf 2002 jaarlijks gesloten tussen het rijk en de provincies. Hierin worden z.g. procesafspraken en inhoudelijke afspraken vastgelegd ter realisatie van het gebiedsgericht beleid. Binnen de functie landbouw is momenteel expliciet een doel "verbeterd bodemleven" opgenomen. Er wordt nog gezocht naar de concrete uitwerking hiervan in de vorm van een bodemecologische indicator voor duurzame landbouw. De doelen/middelenlijst zou ook bij de functies natuur en bos & landschap aangevuld kunnen worden met bodembioologische kwaliteitsdoelen.

Gezien de stand van kennis en ontwikkeling van beoordelingsmethoden, komt de nematodenfauna het meest in aanmerking om als eerste deel uit te gaan maken van de bestuursovereenkomst. In het voorjaar van 2002 wordt een voorstel daartoe uitgewerkt.

Daarnaast blijft natuurlijk de mogelijkheid bestaan om de ernst en urgentie van ecologische risico's, naast een modelmatige berekening, te bepalen op basis van specifiek onderzoek, zoals bioassays en meten van veldeffecten. In dit kader wordt de nematodenanalyse genoemd, zoals toegepast als onderdeel van de actuele ecologische risicobeoordeling middels de TRIADE-benadering [o.a. Van der Waarde en Wagelmans, 2001]; [Van der Waarde en Holwerda, 2000]. Tenslotte kan de nematodenanalyse een bruikbaar instrument blijken als indicator van biologische bodemkwaliteit en biodiversiteit.

3.8 Werkpakket 9: Betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid referentiesysteem

Het referentiesysteem is in eerste instantie gebaseerd op habitattypen, met in enkele gevallen een verdere onderverdeling naar bodemkarakteristieken, zoals pH, vochtgehalte, kalkgehalte etc. Een alternatieve aanpak gaat uit van een primaire relatie tussen samenstelling van nematodenfauna en bodemtype en pas secundair van een relatie met habitattypen. Onderzocht is welke van de twee methoden leidt tot een beter onderscheid tussen de referentiebeelden.

Bij wijze van steekproef werd één bodemtype, de kalkarme zandgronden (bodemtype = 3), onderzocht omdat voldoende (268) referentiemonsters tot dit bodemtype behoren. Er werd een referentiecluster opgesteld op identieke wijze als in paragraaf 3.6 beschreven, met als verschil dat het referentiecluster werd gebaseerd op bodemeigenschappen en niet op habitatype.

Er bleken in totaal 317 niet-verontreinigde monsters in de database aanwezig te zijn die niet tot het bodemtype kalkarm zand behoren. Verwacht werd dat deze monsters niet goed zouden passen in het referentiecluster kalkarm zand. Echter, bij toetsing aan het referentiecluster kalkarme zandgronden bleken toch 190 (dat is 60%) van de monsters te kunnen worden ingedeeld bij deze cluster.

Onder die 190 was geen enkele waterbodem aanwezig. Alle waterbodemmonsters zijn dus goed gescheiden van de kalkarme zandgronden, maar landbodems bleken onderling niet goed te onderscheiden.

Het is dus duidelijk dat een indeling op grond van bodemtype alleen niet voldoende is om tot een beschrijving van “homogene” clusters te komen. Het is dus noodzakelijk om binnen de kalkarme zandbodems subgroepen te onderscheiden, bijvoorbeeld op basis van habitatype. Dit is weer een vergelijkbare aanpak als de werkwijze die heeft geresulteerd in de beschrijving van 20 referentiebeelden. Het voordeel van de benadering met habitatypen is dat habitat/vegetatie typeringen beschikbaar zijn voor alle monsters in de database en zo referentiebeelden kunnen worden gebaseerd op de volledige dataset. Dit is niet mogelijk als gestart wordt met bodemtype, omdat voor veel monsters deze informatie (bijvoorbeeld pH, organisch stof) ontbreekt.

Het opstellen van een referentiecluster op basis van habitatypen verdient daarom op dit moment de voorkeur boven het opstellen van referentieclusters op basis van bodemtypen. Bodemeigenschappen kunnen wel worden gebruikt voor een verdere verfijning van referentiebeelden die zijn afgeleid op basis van habitatypen. Indien echter wel alle fysisch/chemische gegevens van de monsters bekend zijn, is het opstellen van een referentiebeeld op basis van bodemeigenschappen wellicht wel mogelijk.

De 20 afgeleide referentieclusters zijn gebaseerd op een totaal van 575 unieke nematodenmonsters. De aantallen monsters die beschikbaar waren voor de beschrijving van de individuele referentieclusters liep sterk uiteen en varieerde tussen de 3 en 103 monsters. De berekening van de referentieclusters was gebaseerd op de bepaling van “centroïdes”, waarbij de centroïde werd berekend als het gewogen gemiddelde van de relatieve abundantie van alle in de, tot de cluster behorende, monsters aangetroffen taxa. Hierdoor werd het mogelijk voor elk van de bij de cluster betrokken monsters een afstand (dissimilariteit) tot de centroïde te bepalen. Uit deze benadering volgt dat wanneer voldoende monsters (± 10) in de cluster zijn opgenomen, de verzameling van deze afstanden in hoge mate de karakteristieken van de normale verdeling heeft. Er zijn dus minimaal 10 monsters nodig om een referentiebeeld te kunnen afleiden.

Referentiecluster 7 - braakliggend gebied - blijkt sterk heterogeen van samenstelling. Deze cluster vormt de overgang tussen het agrarisch gebied en de natuurlijke vegetaties. Juist deze twee groepen bleken een onderling zeer sterk van elkaar verschillende nematodenfauna te bezitten. Aangezien binnen referentiecluster 7 zowel nematodenmonsters voorkomen afkomstig van zeer recent braakgelegde akkers, als van akkers die al enig jaren (tot maximaal 4 jaar) braak waren, kan een verdere onderverdeling van deze cluster mogelijk resulteren in een beter onderscheidend vermogen. Het volgen van veranderingen in de nematodenfauna kan wellicht een goed instrument zijn bij het monitoren van natuurontwikkeling op voormalige landbouwgronden.

Binnen zowel het agrarisch gebied als de natuurlijke vegetaties blijkt een relatief grote overlap te bestaan tussen de diverse onderscheidde referentieclusters. Ook na combinatie van diverse habitateigenschappen, zoals habitatype, bodemtype, bodem-pH en grondwaterdynamiek bleef deze overlap optreden. Een dergelijke overlap tussen clusters was kleiner voor de beschreven

waterbodems. Het wordt vooralsnog toch zinvol geacht om de 20 geselecteerde clusters apart te onderscheiden. Nader onderzoek naar specifieke habitateigenschappen van de afzonderlijke leden zou kunnen leiden tot een optimalisering van het referentiebeeld. Dat dit inderdaad het geval kan zijn bleek uit ervaringen binnen het huidige onderzoeksproject. Voor bijvoorbeeld de loofbossen en voor de waterbodems werd ontdekt dat een toename van het aantal relevante habitatgegevens resulteerde in een verbetering van de beschrijving van de referentiebeelden. Een dergelijke verdieping bleek binnen het huidige project niet te kunnen worden gerealiseerd voor alle monsterpunten.

Het is een uitermate tijdrovend proces waarbij oorspronkelijke brongegevens over habitatomstandigheden bij onderzoekers moeten worden opgevraagd. In de toekomst dienen deze gegevens standaard te worden meegenomen bij het uitvoeren van nematodenanalyses om de kwaliteit van de referentiebeelden verder te verbeteren.

3.9 Werkpakket 10: Toetsing resultaten verontreinigde bodems

Bij de afleiding van de referentiebeelden is een statistische methode ontwikkeld die aan de hand van de aangetroffen nematodengemeenschap de 'afstand' tussen een willekeurig monster en een gekozen referentie bepaalt en de waarschijnlijkheid dat het monster tot die referentie behoort.

Omdat vooraf bekend moet zijn tot welke cluster de getoetste monsters behoren, geeft de waarschijnlijkheid een indicatie over verstoring van de nematodengemeenschap. Als een getoetst monster bijvoorbeeld tot referentiebeeld 12 hoort, maar de berekende waarschijnlijkheid dat dit monster tot referentiebeeld 12 behoort zeer laag is, dan is de nematodengemeenschap niet in overeenstemming met de nematodengemeenschap die bij dat referentiebeeld hoort en is het milieu waaruit het monster afkomstig is waarschijnlijk verstoord.

Na de toetsing is aan elk monster een oordeel toegekend. Deze staan vermeld in tabel 3.

Tabel 3. Oordeel van de toetsing in Dawaco-ecologie.

Waarschijnlijkheid	Oordeel	Betekenis
0,01	Niet OK	Sterke afwijking ten opzichte van het referentiebeeld. Het monster is verstoord
0,1	Enige afwijking	Het monster is licht verstoord
> 0,1	OK	Het monster lijkt sterk op het referentiebeeld

De keuze van de grenzen 0,1 en 0,01 zijn arbitrair. Ze zijn gekozen naar analogie van veel gebruikte betrouwbaarheidsgrenzen in de statistiek, namelijk 90 en 99% betrouwbaarheid.

3.9.1 Gegevens en toetsresultaten

De nematodendatabase bevat vooral informatie over onverdachte locaties die gebruikt zijn voor het afleiden van referenties. Daarnaast zijn er gegevens over projecten opgenomen waarin de bodemverontreiniging bekend (gemeten) of tenminste verdacht is (zie tabel 4).

Tabel 4. Verdachte onderzoekslocaties.

Onderzoek	Aantal monsters	Opm.
Bornia	12	
Schoonebeek	11	Referentiebeeld misschien niet representatief
Diemerpolder	10	
Ilperveld	7	
Kerkrade	12	Referentiebeeld misschien niet representatief
Kollum chemie	12	
Petroleumhaven	12	Geen habitatype: niet toetsbaar
Swb	10	
Rozenburg	5	
Betuwelijn/PAK	91	Geen habitatype: niet toetsbaar

In tabel 5 is de toetsing van de verdachte monsters samengevat.

Tabel 5. Toetsing verdachte locaties.

Oordeel	Aantal	Aandeel
<i>Niet OK</i>	51	62 %
Enige afwijking	17	21 %
OK	14	17 %
Totaal toetsbaar	79	100%
Niet toetsbaar	103	

Bij de uitvoering van de toetsing en de bijbehorende interpretatie zijn de volgende knelpunten naar boven gekomen:

- Het is vaak niet exact bekend in welk habitatype het monster genomen is: volgens de systematiek kan in dat geval niet bepaald worden tegen welk referentiecluster getoetst moet worden. Dit geldt bijvoorbeeld voor de Betuwelijnmonsters. Omdat dit een groot aantal monsters betreft en het gebied in elk geval klei als bodemsoort heeft, zijn de monsters toch aan twee mogelijke referentieclusters getoetst, namelijk weide op klei en akkerbouw op klei. Dit is echter maar indicatief;
- Er is geen referentiebeeld of referentiecluster wat past bij het habitatype van een monster. In dat geval is het niet mogelijk het monster te toetsen. In het geval van industrieterrein Petroleumhaven was dit het geval. Bij Schoonebeek is een keuze gemaakt voor een IPI-code die het dichtst in de buurt kwam van het terrein en waarvoor een referentiebeeld beschikbaar was. Er was geen referentiebeeld voor droge veengrond, het actuele habitat in Schoonebeek;
- Er zijn projecten waarbij een interne of lokale referentie is meegenomen. Bij de toetsing aan de referenties die in dit project zijn afgeleid, blijkt soms dat dit monster niet of niet veel beter is dan de verdachte of verontreinigde monsters;
- De fysisch-chemische karakterisering van de bodemmonsters is vaak beperkt tot één of twee stofgroepen (bijv. metalen en PAK). Binnen een project is vaak wel dezelfde chemische karakterisering uitgevoerd, zodat binnen een project naar effecten van aparte stofgroepen kan worden gekeken. De verschillen in analyses en beschikbare informatie tussen de verschillende projecten in de database zijn echter zo groot, dat ze niet tezamen genomen kunnen worden om de invloed van één of meerdere verontreinigende stoffen op het toetsresultaat met voldoende statistische zekerheid zichtbaar te maken.

De monsters afkomstig van de Betuwelijn zijn niet vergeleken met de referentiebeelden op basis van habitatypen. Het bleek onmogelijk (ook met behulp van de coördinaten) om na te gaan in

welk habitatype deze monsters genomen zijn. Het detailniveau van de basisinformatie was onvoldoende om deze met behulp van een landelijke kaart bij te zoeken. Hieruit blijkt dat kennis van het juiste habitatype onontbeerlijk is.

3.9.2 *Koppeling met fysisch-chemische parameters*

De basishypothese voor de ontwikkeling van de toetsingsmodule is dat verschillen in nematodengemeenschap tussen verdachte- en referentiemonsters het gevolg zijn van aanwezige verontreinigingen. Daarom is er na de toetsing onderzocht of de fysisch-chemische karakterisering de toetsresultaten zou kunnen verklaren.

Na de toetsing is gekeken of er in de gegevensset van fysisch-chemische parameters van de locaties die “niet OK” of “enige afwijking” scores, verhoogde concentraties van stoffen te vinden zijn.

Van de monsters waarbij de fysisch-chemische gegevens voorhanden waren zijn de waarden naast het toetsresultaat geplaatst. De gehalten zijn gestandaardiseerd om deze vergelijkbaar te maken met de normen. Op nagenoeg alle locaties komen één of meer zware metalen boven de streefwaarde voor.

Uit de toetsing aan de fysisch/chemische parameters blijkt het volgende:

- De karakterisering vertoont veel witte vlekken. Dit hangt samen met de manier waarop in dit project de gegevens bij elkaar gebracht zijn, namelijk het verzamelen van wat er beschikbaar is. De beschikbare informatie is bepaald door de vraagstelling per project en de daarbij behorende gemeten stoffen en parameters. In combinatie met de geringe omvang van verdachte monsters, maakt dit een statistisch onderbouwde analyse van causale relaties tussen gehalten en toetsresultaten onmogelijk.
- In sommige onderzoeken is gewerkt met som-parameters, zoals som-PAK10 of OCB (organochloorbestrijdingsmiddelen). Dit zijn optellingen in gewichtseenheden die aan de ene kant geen rekening houden met verschillen in toxiciteit van onderliggende componenten en anderzijds geen recht doen aan verschillen in molecuulgrootte.
- Bij monsters uit projecten die zich slechts op een verontreinigende component richten, is de aanwezigheid van andere stoffen geheel onbekend omdat deze niet gemeten zijn. Het is dan ook niet uit te sluiten dat andere stoffen een rol spelen.
- Een grote beperking van de verdachte monsters is het ontbreken van informatie over de voedingstoestand van de bodem. Het is bekend uit het uitgebreide landbouwkundige onderzoek aan nematoden, dat er een directe relatie is tussen de aanwezigheid van nutriënten en de samenstelling van de levensgemeenschap. Het is daarbij zeer goed mogelijk, zoals ook in de aquatische ecologie vaak blijkt, dat het effect van de voedingstoestand dominant is over de effecten van toxische stoffen (afgezien van excessieve concentraties op hotspots).

Het is niet altijd correct te proberen de nematodenfauna te verklaren aan de hand van de chemische karakteristieken van de bodem. De veldstudies aan nematoden zijn bedoeld als aanvulling op de chemische karakterisering en bioassays en wel om de volgende redenen:

- Een gemeten totaalgehalte biedt weinig informatie over de blootstellingconcentratie. Er wordt dus geen rekening gehouden met biologische beschikbaarheid. Normalisering naar standaardbodem biedt enig soelaas, maar is slechts een grove benadering. In sommige gevallen is de concentratie in poriewater een betere indicatie.
- De biologische respons van de gelijktijdige aanwezigheid van verontreinigingen is alleen aan de hand van metingen aan organismen zichtbaar te maken.
- Biotische interacties zoals predatie spelen natuurlijk op de achtergrond een rol en zijn slechts impliciet te betrekken.

Om deze reden staat de nematodenanalyse niet op zich maar zal bijna altijd deel uitmaken van een bredere analyse zoals deze in de TRIADE-beoordeling wordt uitgevoerd [Wagelmans en Van der Waarde, 2001].

Geconcludeerd kan worden dat er op dit moment onvoldoende geschikte gegevens voorhanden zijn om het referentiesysteem goed te toetsen. Hiervoor is validatie van de referentiebeelden nodig. Daarbij is het van belang dat er geen gaten zitten in de belangrijkste parameters en dat zeker aandacht besteed moet worden aan parameters die de voedingstoestand karakteriseren. In de validatie moeten ook de definitieve grenzen vastgesteld worden van sterke of enige afwijking van de referentie, zoals deze in dit project arbitrair zijn gekozen.

De methode van toetsing in het referentiesysteem is zeer gevoelig voor de toekenning van een referentie aan een monster, met andere woorden het habitatype moet bekend zijn. Voor monsters waar dit niet bekend is, biedt de vergelijking met één of meerdere zelf gekozen referenties niet tot een bevredigend resultaat.

De huidige referentieclusters bestaan voor een belangrijk deel uit habitatypen die maar een beperkte range van het mogelijke bodemgebruik afdekken. Zo zijn er geen referenties voor gebieden waarin zowel een grote variatie in bodemgebruik als in verontreinigingssituaties verwacht mag worden, zoals stedelijk gebied en bedrijventerreinen. Voor toekomstig gebruik van dit systeem is de verwachting dat ook in die gebieden behoefte bestaat aan het toetsingsmodule.

CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

4.1 Database

Van de beschikbare databases voor het opslaan en bewerken van ecologische en fysisch/chemische data bleek Dawaco-ecologie het beste te voldoen aan de eisen van het ANB-project. De database kon met enkele aanpassingen geschikt worden gemaakt voor het uitvoeren van de benodigde bewerkingen om referentiebeelden af te leiden en monsters uit verontreinigde bodems te toetsen aan deze referentiebeelden. In de database zijn alle beschikbare nematodengegevens in land- en waterbodems van Nederland gebundeld. De database is geïnstalleerd bij alle ANB-partners en voldoet aan de verwachtingen.

4.2 Monstername

Binnen de verzameling monsters die aanwezig is in de database blijken kleine verschillen voor te komen in combinaties van monsternameprocedure, monstervoorbewerking en analyse. Naar verwachting heeft dit weinig effect op de uitkomst van de analyse. Om deze toetsing uit te voeren zijn voldoende monsters uit vergelijkbare habitattypen nodig maar met verschillende wijze van, of monstername, of voorbehandeling of analyse. Dit is in de huidige database niet het geval en kan alleen middels een ringonderzoek worden uitgevoerd. In bijlage A wordt een voorstel gedaan voor een standaard monstername en analyse protocol voor nematoden.

4.3 Referentiebeeld

De belangrijkste vraag in het project, "is het mogelijk om voor een bepaald habitatype een referentiebeeld voor de nematodensamenstelling op te stellen", is positief beantwoord. Zeer duidelijke verschillen blijken te bestaan tussen drie hoofdgroepen van habitattypen: de waterbodems, bodems met een agrarisch gebruik en overige bodems. Binnen deze hoofdgroepen bleek weer een verdere onderverdeling mogelijk te zijn naar habitatype, al dan niet in combinatie met bodemeigenschappen zoals pH, organisch stof, voedselrijkdom etc. Op basis van de beschikbare gegevens is het mogelijk gebleken om onderscheidende referentiebeelden op te stellen voor 14 (clusters van) verschillende habitattypen in landbodems en 6 (clusters van) verschillende habitattypen in waterbodems. Als voldoende gegevens worden verzameld, is het op termijn in principe mogelijk om voor ieder denkbaar habitatype een referentiebeeld voor de nematodenfauna op te stellen.

4.4 Toetsing verontreinigde monsters

Als bekend is welk nematodenfauna verwacht kan worden in een bepaald habitatype, is ook relatief eenvoudig vast te stellen of de actuele samenstelling van de nematodenfauna daarvan afwijkt. In verontreinigde milieus ligt het voor de hand te veronderstellen dat eventuele afwijkingen worden veroorzaakt door de aanwezige bodemverontreiniging. De eerste stap, het toetsen van verontreinigde monsters aan de referentiebeelden, gaf hiervoor een duidelijke aanwijzing: ruim 80% van de monsters uit verontreinigde milieus dat getoetst kon worden aan een referentiebeeld had een nematodensamenstelling die afweek van het bijbehorende referentiebeeld. Het is niet zeker dat in alle gevallen de afwijking van het referentiebeeld werd veroorzaakt door de bodemverontreiniging, er kunnen immers ook andere verstoringen aanwezig zijn. Ook kan het zijn dat het referentiebeeld waaraan is getoetst niet geheel overeenkomt met het actuele habitatype, waardoor de toetsing verkeerd wordt geïnterpreteerd. Dit onderdeel verdient nadere studie.

Maar als de nematodensamenstelling duidelijk afwijkt van wat mogelijk wordt verwacht kan worden op een locatie, is er onmiskenbaar iets aan de hand met die bodem. De nematodenanalyse

kan dus worden toegepast en, mits met beleid gehanteerd, worden geïnterpreteerd op basis van de ontwikkelde referentiebeelden voor het beoordelen van de bodemkwaliteit.

4.5 Inpassing in beleid

In de praktijk wordt steeds vaker een actuele locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling uitgevoerd waarin de TRIADE-benadering centraal staat. Deze benadering kan, zoals aangegeven in de circulaire bodembescherming, in aanvulling op modelmatige berekeningen worden uitgevoerd voor bepaling van ernst en urgentie van een bodemverontreiniging. De nematodenanalyse is een standaard onderdeel van de waterbodem-TRIADE en een standaardonderdeel aan het worden van de landbodem-TRIADE en kan derhalve via dit spoor worden ingezet.

Een tweede spoor betreft mogelijkerwijze de inpassing in de zogenaamde "Bestuursovereenkomst ruimtelijke inrichting landelijk gebied". Deze overeenkomst wordt vanaf 2002 jaarlijks gesloten tussen het rijk en de provincies en heeft als doelstelling voor agrarisch bodemgebruik het realiseren van 'verbeterd bodemleven'. De nematodenanalyse zou een praktisch meetinstrument kunnen zijn voor het bepalen van de kwaliteit van dit bodemleven.

Tenslotte kan de nematodenanalyse een bruikbaar instrument blijken als indicator van biologische bodemkwaliteit en biodiversiteit.

4.6 Perspectieven voor de toekomst

De volgende aanbevelingen zijn voortgekomen uit het project:

Voltooiing database

- Voor slechts een beperkt aantal (clusters van) habitattypen (20) zijn referentiebeelden opgesteld, deze dienen te worden verbeterd door nader onderzoek;
- Voor habitattypen waar nog geen referentiebeeld kon worden afgeleid dienen nieuwe monsters te worden genomen;
- Voor sedimenten is het wenselijk dat er referentiebeelden worden ontwikkeld op basis van sedimentenkenmerken;
- Het ontwikkelde protocol voor monsternamen, analyse en informatiebehoefte bij de nematodenanalyse dient te worden geïmplementeerd.

Implementatie database

Het beheer, onderhoud, analyse en kennislevering van de database dient te worden ondergebracht bij een centrale instantie.

Publieksversie referentiesysteem nematodenanalyse

Er dient een publieksversie van het referentiebestand te komen op een toegankelijk medium, zoals een CD, zodat geïnteresseerden het referentiesysteem kunnen gebruiken voor onderzoek of voor het beoordelen van de biologische kwaliteit van (water)bodems.

HOOFDSTUK 5

VERKLARENDE WOORDENLIJST

ANB:	Analyse Nematoden Bestand.
Habitat:	Geheel van milieufactoren dat op een plant of dier inwerkt.
IPI-code:	InterProvinciale Inventarisatie code, code waarmee verschillende habitattypen beschreven worden.
Referentiebeeld:	De gemiddelde nematodenfauna in een vastgesteld habitatype.
Referentiecluster:	Cluster van habitattypen waarvan de gemiddelde nematodenfauna is vastgesteld.
Referentiesysteem:	Het totaal aan referentiebeelden in de database.

LITERATUUR

Bongers, A.T.M., (1985). De nematoden van Nederland. Stichting Uitgeverij Koninklijke Nederlandse Natuurhistorische Vereniging. Uitgeverij Pirola, Schoorl.

Kerkum, F., (2001). Protocol voor het bemonsteren van zoetwater-nematoden. RIZA, Lelystad.

Nationaal MilieubeleidsPlan 4, (2001), uitgegeven door Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieu, Ministerie van Verkeer en Waterstaat, Ministerie van Landbouw Natuur en Visserij en het Ministerie van Economische Zaken.

Rutgers, M., J.J. Bogte, E.M. Dirven - van Breemen, A.J. Schouten, (2001). Locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling, praktijkonderzoek met een TRIADE-benadering. RIVM-rapport 711701026.

TCB 2000, Advies "Raamwerk voor ecologische inbreng", A29 (2000), december 2000.

Van der Meer, (2000). Vakblad voor de Bloemisterij 36: 42-44.

Van der Waarde, J.J. en D. Holwerda. Ecologische risicobeoordeling in de praktijk: de locatie Kollum chemie, 2000. Bodem **10**:13-15.

Van der Waarde, J.J.; J.G.M. Derksen; A.F. Peekel; H. Keidel; J. Bleom en H. Siepel. Risicobeoordeling van bodemverontreiniging met behulp van een TRIADE-benadering met chemische analyses, bioassays en biologische veldinventarisaties, 2001. Rapport 98-1-28. CUR-NOBIS.

Wagelmans, M. en J.J. van der Waarde, (2001). Ecologische risicobeoordeling van minerale olie met de TRIADE-aanpak. Bodem **11**: 141-142.

OVERIGE LITERATUUR

Bongers, T., (1990) The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia* 83: 14-19.

Esbroek, M.L.P.; A.J. Schouten, (1994). Evaluatie van het bodemecologisch onderzoek aan vrijlevende nematoden op het RIVM. Deel 2: Methodiekontwikkeling en daaraan gerelateerd experimenteel onderzoek. RIVM, Bilthoven. Rapportnummer 712910002.

Ferris, H., T. Bongers & R.G.M. de Goede, (2001). A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept. *Applied Soil Ecology* 18: 13-29.

Freckman, D.W. & C.H. Ettema, (1993). Assessing nematode communities in agroecosystems of varying human intervention. *Agr. Ecosyst. Environm.* 45: 239-261.

IPO/VNG/DGM, (1999). Van trechter naar zeef. Afwegingsproces saneringsdoelstelling. Eindrapportage Th. -Edelman en W. Kooper. SDU-uitgevers Den Haag. ISBN 90 12 08843 7.

Lijzen, J.P.A., F.A. Swartjes, P. Otte, W.J. Willems, (1999). BodemGebruiksWaarden, methodiek en uitwerking. RIVM-rapport 711701016.

s' Jacobs, J.J.; J. van Bezooijen, (1986). A manual for practical work in nematology. Praktikum-handleiding vakgroep Nematologie. Landbouwniversiteit Wageningen.

Schouten, A.J.; E.M. van Breemen; W. Slob, (1990). Estimating nematode abundance in natural sandy forest soil; a comparison of two soil samples. *Pedobiologia* 34: 239-246.

Verbove, M.; H. Keidel; F.C.M. Kerkum, (1998). Strategie voor het bemonsteren van zoetwater-nematoden. RIZA-werkdocument 98.119x. Lelystad.

Verschoor, B. en R.G.M. de Goede, (2002). The nematode extraction efficiency of the Oostenbrink elutriator-cottonwool filter method with special reference to nematode body size and life strategy. *Nematology* 2 (3): 325-342.

Yeates, G.W.; T. Bongers; R.G.M. de Goede; D.W. Freckman & S.S. Georgieva, (1993). Feeding habits in soil nematode families and genera – an outline for soil ecologists. *J. Nematology* 25: 315-331.

BIJLAGE A

PROTOCOL LOCATIE-INFORMATIE, MONSTERNAME, EXTRACTIE EN ANALYSE VAN VRIJLEVENDE NEMATODEN

1. DOEL

Dit protocol dient als handleiding voor het vastleggen van relevante informatie bij veldonderzoek aan de nematodenfauna. Het protocol geeft procedures voor de monstername, de extractie en de analyse om uniformering van het onderzoek te verbeteren en opslag van de resultaten in de nematodendatabase in Dawaco-ecologie mogelijk te maken.

2. INLEIDING

Om het mogelijk te maken om gegevens van nematodenonderzoek met elkaar te kunnen vergelijken en samen te voegen, is het noodzakelijk om zoveel mogelijk van gestandaardiseerde methoden gebruik te maken, vastgelegd in duidelijke voorschriften. Vooral bij experimenteel onderzoek kunnen er goede redenen zijn om van bepaalde onderdelen in dit protocol af te wijken. Dit moet dan worden aangegeven. Dit protocol is een eerste handleiding en nog in ontwikkeling.

3. INFORMATIE OVER DE LOCATIE EN MONSTER

Om later te kunnen achterhalen waar en hoe een monster precies is genomen, is het van belang om hierover informatie vast te leggen. Deze informatie kan dan worden opgenomen in de nematodendatabase in Dawaco-ecologie. Sommige informatie is makkelijk te achterhalen en vaak in het veld te verzamelen, andere is moeilijker. De volgende informatie wordt tenminste relevant geacht:

- Naam van de locatie;
- Coördinaten van de locatie (XY, Amersfoortse);
- Datum van de monstername;
- Naam van de monsternemer;
- Naam van het project waarbinnen het monster wordt genomen;
- Wijkt de monstername af van het protocol? Zo ja, geef aan op welke punten;
- Aantal monsters;
- De bemonsterde oppervlakte;
- Diepte van de monstername;
- Zijn er ook a-biotische metingen verricht? Zo ja, geef dan de resultaten;
- Beschrijving van de locatie en habitat volgens IPI-code;
- Aanvullende informatie over beheer¹.

4. VERZAMELEN VAN DE MONSTERS

4.1. Waterbodems

De monstername in waterbodems (sedimenten) kan geschieden volgens het monstername-protocol van het RIZA in Lelystad [F. Kerkum, (2001) "Protocol voor het bemonsteren van zoet-waternematoden".

¹ Bijvoorbeeld landbouwbodems: bemesting, grondbewerking, gewasrotatie, scheurfrequentie grasland.

Een voordeel is dat met een vast volume wordt gewerkt. Omdat de monsters gefixeerd zijn, is het niet nodig om ze te bewaren in een koelcel. Waterbodems kunnen het gehele jaar bemonsterd worden, hoewel seizoensinvloeden bekend zijn.

A. *Ondiepe wateren (diepte maximaal 3 meter)*

Neem per locatie minimaal 5 submonsters op de volgende wijze:

1. Monsterapparaat; steekbuis.
Neem met een steekbuis (Beekersampler) met een diameter van 5 cm een ongestoord monster;
2. Hevel het bovenstaande water uit de steekbuis, maar zorg er voor dat de toplaag van het sediment ongestoord blijft;
3. Druk d.m.v. een stempel de sedimentcore uit de steekbuis en doe de bovenste 5 cm in een goed afsluitbare polyethyleenpot;
4. Doe 20 ml 40% formaline bij het monster. Sluit de pot goed af en schud het monster even goed door zodat de formaline goed vermengt met het monster;
*** LET OP: werken met formaline kan leiden tot ernstige gezondheidsproblemen ***
5. Schrijf duidelijk het monsternummer, locatie en datum op de pot.

B. *Diepe wateren (diepte meer dan 3 meter)*

Neem per locatie minimaal 5 submonsters op de volgende wijze:

1. Monsterapparaat: boxcorer.
Neem met een goed afsluitbare boxcorer een monster. Let er op dat de toplaag van het sediment niet wegvloeit;
2. Neem met een kleine steekbuis, diameter 5 cm, lengte 10-15 cm, een monster uit de boxcorer. Let er op dat de toplaag ongestoord blijft;
3. Hevel het eventuele bovenstaande water uit het steekbuisje waarbij de toplaag niet beroerd mag worden;
4. Druk d.m.v. een stempel de sedimentcore uit de steekbuis en doe de bovenste 5 cm in een goed afsluitbare polyethyleenpot;
5. Doe 20 ml 40% formaline bij het monster. Sluit de pot goed af en schud het monster even goed door zodat de formaline goed vermengt met het monster;
*** LET OP: werken met formaline kan leiden tot ernstige gezondheidsproblemen ***
6. Schrijf duidelijk het monsternummer, locatie en datum op de pot;
7. Neem de 5 submonsters niet uit dezelfde boxcorerhap, maar neem hiervoor 5 afzonderlijke happen.

4.2. *Landbodems*

Landbodems moeten bij voorkeur bemonsterd worden met een gutsboor of graslandboor met een diameter tussen 1 en 2 cm. Er moet op minimaal 0-10 cm diepte bemonsterd worden en bij akkers op bouwvoordiepte (0-circa 25 cm). Nematoden in landbodems kunnen het gehele jaar bemonsterd worden. Seizoensvariaties zijn bekend onder invloed van weersomstandigheden.

De strategie hangt af van de onderzoeksvraag, de grootte en aard van het terrein en de variatie in bodemsamenstelling. Vrijwel altijd zal er een mengmonster worden gemaakt uit een groot aantal boorkerntjes (steken). Het mengen hiervan voor het nemen van het submonster kan het beste in het laboratorium gebeuren.

Een gangbare methode is:

1. Per monster moet 500-1000 ml grond worden verzameld door circa 60 steken te nemen verdeeld over circa 100 m², waarbij vermeden moet worden dat steken worden genomen op sterk afwijkende plaatsen;
2. Bij grotere (op het oog) homogene gebieden kan een monster op meer dan 100 m² worden genomen tot wel 1 monster (60 steken) per hectare in akkers;

3. De grond moet in een pot, zak of emmer worden gedaan die afsluitbaar is en waarin het monster niet uit kan drogen;
4. Het monsternummer moet duidelijk op de pot, zak of emmer worden gezet;
5. De monsters moeten bewaard worden in een koelcel bij circa 4 graden Celsius.

5. EXTRACTIE

5.1. Waterbodems

1. Waterbodems vooraf spoelen met een Oostenbrinktrechter. Hiermee wordt het grove vuil verwijderd en raakt de formaline uit het monster;
2. Vervolgens de monsters bij voorkeur extraheren met een centrifuge in een Ludox-oplossing;
3. De vloeistof met nematoden afgieten over een zeefje met maaswijdte van 45 μm en vervolgens afspoelen in een flesje;
4. Indien de monsters niet binnen drie dagen worden geteld en gedetermineerd, moet wat formaline worden toegevoegd.

5.2. Landbodems

1. Bepaal het totale gewicht van het monster;
2. Maak een submonster door het totale monster van 500-1000 ml goed maar voorzichtig met de hand te mengen op een mengmatje;
3. Een submonster bestaat uit circa 100 ml (bepaal ook het gewicht) of 100 g grond;
4. Extraheer het submonster met een Oostenbrinktrechter. Deze methode is in grote lijnen gestandaardiseerd maar wijkt in een aantal details af tussen de diverse laboratoria. Zie hiervoor hoofdrapport. De hieronder beschreven methode wordt bij Bedrijfslaboratorium voor Gronden en Gewasonderzoek gebruikt;
5. Vang de suspensie op over drie zeven van 45 μm met hierboven een zeefje met een maaswijdte 75 μm om grotere nematoden te vangen;
6. Het materiaal dat op de drie zeven wordt opgevangen, wordt gedurende drie dagen op een wattenfilter gezet om de nematoden te scheiden van het vuil. Het materiaal op het 75 μm zeefje wordt apart weggezet in een extractieschaaltje;
7. Na de extractie worden beide delen bij elkaar gevoegd tot één suspensie en in een 100 ml-potje gedaan.

6. TELLEN

6.1. Waterbodems

1. De nematoden worden geteld in de suspensie door steeds een klein beetje materiaal in een telbakje te doen;
2. De hoeveelheid die per keer geteld kan worden is afhankelijk van het vuil in de suspensie;
3. Bij veel nematoden kan een deel van het totale monster worden geteld en vervolgens terugerekend naar de oorspronkelijke monstergrootte.

6.2. Landbodems

1. De suspensie met nematoden wordt tot exact 100 ml aangevuld;
2. De suspensie wordt goed gemengd en vervolgens wordt twee keer 10 ml gepipetteerd in een telbakje;
3. In elk telbakje worden alle nematoden geteld. Vervolgens worden de twee tellingen met elkaar vergeleken en bij een afwijking van $> 10\%$ wordt de gehele telling opnieuw uitgevoerd;
4. Bij hoge dichtheden kan ook twee keer 5 ml worden geteld. Dit moet duidelijk worden aangegeven;

5. De nematoden worden na de telling gedood en gefixeerd met heet water en formaline en in afsluitbare flesjes of potjes bewaard (zie 7.2).

7. MAKEN VAN PREPARATEN

7.1. *Waterbodems*

1. Op een groot objectiefglas wordt een parafinering gemaakt;
2. Vervolgens wordt hierop een drup water gedaan en worden hierin circa 75 nematoden gevist. Dit kan tijdens het tellen al worden gedaan;
3. Per monster worden twee preparaten gemaakt, elk met circa 75 nematoden en aangeduid met A en B;
4. De preparaten worden afgedekt met een dekglas en dichtgesmolten;
5. Op de preparaten duidelijk het monsternummer vermelden.

7.2. *Landbodems*

1. De 100 ml suspensie van levende nematoden wordt teruggebracht naar circa 5-10 ml door voorzichtig af te pipetteren. Voorkomen moet worden dat nematoden verloren gaan door voldoende lang de nematoden de kans te geven om te bezinken (minimaal 3 uren, maar bij voorkeur langer);
2. Concentraat van 5-10 ml overbrengen in een afsluitbaar 10 ml-potje. Denk aan het aangeven van het monsternummer. Na bezinking wordt het volume teruggebracht tot <2 ml. Door achtereenvolgens hete (>90°C) en koude formaline (circa 5°C) toe te voegen worden de nematoden gefixeerd;
3. Nadat de gefixeerde nematoden zijn bezonken wordt de suspensie nogmaals tot <2 ml afgepipetteerd;
4. Restant goed mengen en per monster twee preparaten maken (A en B). Dit wordt gedaan door op een groot objectiefglas een druppel (circa 35 µl) suspensie binnen een parafinering te brengen en deze vervolgens dicht te smelten;
5. Op de preparaten duidelijk het monsternummer vermelden.

8. DETERMINATIE

8.1. *Waterbodems*

1. Alle nematoden in een preparaat worden gedetermineerd met een lichtmicroscop bij een vergroting van 400-1000 maal;
2. De twee preparaten (A en B) van hetzelfde monster worden door verschillende personen afgewerkt;
3. Afhankelijk van de opdracht worden de nematoden tot op soort (specie) of geslacht (genus) gedetermineerd;
4. Het verdient aanbeveling om binnen een taxon onderscheid te maken in mannetjes (♂♂), vrouwtjes (♀♀) en jongen (juvenielen);
5. Dauerlarven worden apart vermeld;
6. Als basis voor de determinatie en naamgeving geldt het boek "De nematoden van Nederland" van A.T.M. Bongers [1985]

8.2. *Landbodems*

1. Per preparaat worden ad random circa 75 nematoden gedetermineerd met een lichtmicroscop bij een vergroting van 400-1000 maal;
2. De twee preparaten (A en B) van hetzelfde monster worden door verschillende personen afgewerkt;

3. Afhankelijk van de opdracht worden de nematoden tot op soort (specie) of geslacht (genus) gedetermineerd;
4. Dauerlarven worden apart vermeld;
5. Het verdient aanbeveling om binnen een taxon onderscheid te maken in mannetjes (♂♂), vrouwtjes (♀♀) en jongen (juvenielen);
6. Als basis voor de determinatie en naamgeving geldt het boek "De nematoden van Nederland" door A.T.M. Bongers [1985].

BIJLAGE B

BODEMTYPE CODES

Bodemtype code	Omschrijving
0	Overig (water e.d.)
1	Laagveen
2	Hoogveen
3	Kalkarm zand
4	Kalkrijk zand
5	Kalkarme zeeklei
6	Kalkrijke zeeklei
7	Kalkarme rivierklei
8	Kalkrijke rivierklei
9	Loess/krijt