

De nematodenfauna als veldparameter  
in een  
TRIADE benadering.

Onderdeel van het NOBIS project 98-1-28  
'Risico-beoordeling van bodemverontreiniging met behulp van een  
TRIADE benadering'

**Blgg bv - Oosterbeek**

Harm Keidel

september 2000

In opdracht van:  
Bioclear bv, Groningen

## INLEIDING

De kwaliteit van de bodem wordt tot nu toe vooral in chemische termen uitgedrukt. Maar ook de fysische en biologische eigenschappen zijn belangrijk voor de bodemkwaliteit. Bodemorganismen reageren vaak als eerste op verontreinigingen en veranderingen in het bodemgebruik. Ze hebben een korte levenscyclus en staan in direct contact met het bodemvocht. Uit studies van onder andere het R.I.V.M. (Schouten & Van Esbroek, 1994; Schouten, Wiertz, Alkemade & Van Esbroek, 1995) en de L.U. Wageningen (Bongers, 1990; Ettema & Bongers, 1993) blijkt dat nematoden goed bruikbaar zijn als biologische indicator voor de bodemkwaliteit. De belangrijkste redenen hiervoor zijn:

- Nematoden komen vrijwel overal voor. Het is mogelijk om in verschillende systemen te werken met dezelfde groep organismen.
- Nematoden zijn gebonden aan hun omgeving. De mobiliteit is gering. De nematodenfauna is dus een afspiegeling van de bodemkwaliteit op de plaats waar ze bemonsterd is.
- Nematoden leven in de vloeistoffilm rond gronddeeltjes. Ze staan dus in rechtstreeks contact met de vloeistof en de stoffen die hierin zijn opgelost.
- Nematoden zijn éénvoudig te bemonsteren. De verstoring door de monsternamen is minimaal. Het is goed mogelijk om op een relatief klein oppervlakte veel monsters te nemen. Statistische verwerking is hierdoor goed mogelijk.
- Nematoden spelen een belangrijke rol in oecosystemen. Er komen veel soorten voor die vaak speciale eisen stellen aan hun habitat.
- Nematoden reageren in veldsituaties op verstoring. Deze reactie hangt af van de aard van de verstoring.

Nematoden of draadwormen danken hun bekendheid vooral aan de grote schade die een aantal soorten jaarlijks weer aanrichten aan land- en tuinbouwgewassen. Berucht hierbij is het aardappelcystenaaltje, de veroorzaker van aardappelmoeheid. Toch is maar een fractie van alle bekende nematoden echt schadelijk en het merendeel vormt een onmisbare schakel in oecosystemen. Nematoden zijn echte kosmopolieten die vrijwel alle habitats veroverd hebben. De aantallen zijn vaak gigantisch: enkele duizenden per 100 gram substraat zijn eerder regel dan uitzondering. Ze zijn dan ook vaak de dominante groep van de meercellige dieren in land- en waterbodems. Het bouwplan is eenvoudig. Bijna zonder uitzondering zijn het langgerekte, ronde wormen die niet gesegmenteerd zijn. De meeste soorten die in landbodems voorkomen zijn niet langer dan 1,5 mm en alleen met een microscoop goed te zien. De voortplanting gebeurt met eieren. De jongen hebben dezelfde vorm als de volwassen wormen, maar zijn kleiner. Ze groeien via 4 vervellingen uit tot adulten. Bij een aantal soorten komen de eieren in het

lichaam van de moeder uit; de jongen worden zo extra beschermd. De lengte van de levenscyclus varieert sterk en telt enkele dagen tot soms meer dan een jaar. Nematoden eten dood organisch materiaal, schimmels, bacteriën, algen en kiezelwieren, protozoa, potwormen en andere nematoden. Sommige soorten zijn zeer gespecialiseerd, anderen eten alles wat ze tegenkomen. Een belangrijke groep vormen de plantenparasieten. Nematoden worden op hun beurt gegeten door allerlei bodem- en waterdieren.

Nematoden spelen een belangrijke rol in oecosystemen. Door het begrazen van bacteriën en andere micro-organismen hebben ze grote invloed op mineralisatie en de afbraak van organisch materiaal (Platt & Warwick, 1980; Findlay & Tenore, 1982; Alkemade, 1993; Bouwman *et al.* 1993).

Een groot aantal factoren bepaalt de natuurlijke samenstelling van de nematodenfauna. In waterbodems is de granulaire samenstelling van het sediment zeer bepalend. In landbodems speelt de zuurgraad en het organisch stofgehalte een belangrijke rol.

Nematoden hebben in de loop van de tijd twee uiterste strategieën ontwikkeld om het aantal geslachtrijpe nakomelingen te maximaliseren. De ene strategie gaat uit van het snel produceren van zoveel mogelijk nakomelingen. Kenmerkend voor deze soorten zijn een korte generatieduur (de jongen zijn binnen enkele dagen volwassen) en een hoge reproductie met veel kleine eieren. Deze soorten zijn uitermate geschikt om onder gunstige omstandigheden snel nieuwe gebieden te koloniseren. Bongers (1990) noemt deze soorten daarom colonizers. De andere strategie gaat er vanuit om de nakomelingen zo te bevoordelen, dat ze de concurrentie met anderen goed aan kunnen. Soorten met deze strategie hebben een lange levenscyclus (de jongen zijn pas naar maanden volwassen) en produceren weinig eieren. Ze komen vooral voor in habitats die voor langere tijd stabiel zijn. Bongers (1990) noemt deze soorten persisters ('blijvers').

Zowel colonizers als persisters zijn extremen. De meeste families nemen een tussenvorm in. Bongers (1990) ontwikkelde de Colonizer-Persister schaal (CP-schaal). Op een schaal van 1 tot en met 5 gaf hij de families met extreme colonizers-kenmerken een 1 en de families met extreme persisters-eigenschappen een 5; de overige families gaf hij een 2, 3 of 4.

De verhouding waarin colonizers en persister voorkomen, hangt sterk af van de bacteriële activiteit. Extreme colonizers komen voor onder gunstige voedselomstandigheden (bijvoorbeeld veel bacteriën). Zolang het voedsel volop aanwezig is, worden de colonizers niet vervangen door persisters. Dit gebeurt wel als de overvloed aan voedsel verdwijnt waardoor concurrentie belangrijk wordt. Extreme colonizers (ingedeeld in klasse 1 op de CP-schaal) maken plaats voor

soorten met meer persister-eigenschappen (ingedeeld in klasse 2 en hoger). De soorten uit CP-klasse 2 worden bij een verdere afname van de bacteriële activiteit niet vervangen; ze worden wel minder dominant maar blijven aanwezig en maken in niet-gestoorde systemen gemiddeld ongeveer de helft uit van de nematodenfauna (Bongers & Korthals, 1992).

Een andere belangrijke factor die de verhouding tussen colonizers en persisters beïnvloedt, is de aanwezigheid van verontreinigingen. In de praktijk blijken colonizers (CP-klassen 1 en 2) hiervoor minder gevoelig dan persisters (CP-klassen 3-5) (Bongers & Korthals, 1992).

De Maturity Index (MI) of Rijpingsindex is door Bongers (1990) ontwikkeld. Ze is gebaseerd op de levenstrategieën zoals die in de vorige paragraaf beschreven zijn. Met behulp van de plaats op de CP-schaal en de relatieve dichtheden van de families wordt de MI berekend met de volgende formule:

$$\sum_{i=1}^n v(i) * f(i)$$

met  $v(i)$  als de plaats van de familie op de CP-schaal (getal tussen 1 en 5) en  $f(i)$  als de relatieve dichtheid van deze familie in een monster. Bij de MI-berekening worden de plantenparasieten buiten beschouwing gelaten omdat deze vooral reageren op de aanwezige plantengroei. De verhouding tussen de colonizers en persisters bepaalt direct de getalswaarde van de MI. Bij de MI(2-5) worden de families die ingeschaald zijn in CP-klasse 1 buiten beschouwing gelaten. Soorten uit deze families reageren vooral op eutrofiëring en minder op chemische stress.

Omdat in één habitat tientallen soorten nematoden voor kunnen komen, moeten ze een voedseldifferentiatie hebben ontwikkeld. Veel nematoden zijn selectieve foerageerders waarbij de vorm van de mondholte een goede indicatie geeft over het voedsel dat ze eten. Een uitgebreide indeling in voedingstypen voor de terrestrische en aquatische nematoden is gemaakt door Yeates *et al.* (1993); deze indeling is in dit rapport gevolgd (tabel 1).

## METHODEN EN MATERIALEN

Van elk mengmonster is 150 g grond gebruikt voor het nematodenonderzoek. De nematoden zijn gescheiden van de grond met de Oostenbrinktrechter. Deze werkt volgens het principe dat in een vloeistofkolom gronddeeltjes sneller zakken dan nematoden ('s Jacob & Van Bezooijen, 1986). Van elk monster zijn in 10 ml suspensie alle nematoden geteld. Deze telling is in duplo uitgevoerd. Bij een afwijking van meer dan 10% is het monster opnieuw in duplo geteld. Het gemiddelde van deze twee tellingen is gebruikt om de aantallen per 100 mg verse grond te berekenen. De monsters zijn gefixeerd met formaline. De statistische bewerkingen zijn uitgevoerd met het programma STATGRAPHICS PLUS.

Van elk monster zijn 2 preparaten gemaakt. In elk preparaat zijn met een lichtmicroscop circa 75 nematoden in willekeurige volgorde gedetermineerd tot op familie-niveau. Vervolgens zijn in de monsters waar nog geen 100 niet-plantenparasieten waren gedetermineerd, aanvullende determinaties uitgevoerd. Bij monsters met lage dichtheden zijn alle aanwezige nematoden in de suspensie geteld en gedetermineerd. Voor de naamgeving is zo veel mogelijk het boek van Bongers aangehouden. In een aantal gevallen zijn de nieuwe inzichten gevolgd aan de hand van recente artikelen.

Tabel 1.  
Overzicht van de verschillende voedingstypen.

code	omschrijving	Voorbeeld
1a	plantenparasiet	Heterodera, Meloidogyne
1b	endo-plantenparasieten	Pratylenchidae
1c	semi endo-plantenparasieten	Hoplolaimidae
1d	ecto-plantenparasieten	Dolichodoridae, Paratylenchidae,
1e	aanprikken epidermis	Filenchus, Tylenchidae
2	schimmel-eters	Aphelenchidae, Aphelenchoididae
3	bacterie-eters	Rhabditidae, Alaimidae, Diplogasteridae
5	predatoren	Mononchidae, dorylaimieden
6	alg-eters	Bepaalde chromadorieden
8	omnivoren	Dorylaimieden

## LOCATIE BORNIA

De locatie ligt in een voormalig kleiduvenschietterrein. Het bestaat voor een groot deel uit zuur dennenbos en open plekken met grasbegroeiing. De loodvervuiling die aanwezig is, is afkomstig van de hagel waarmee op kleiduvieren is geschoten. De strooisellaag is tijdens de monsternamen verwijderd.

De belangrijkste resultaten van het nematodenonderzoek zijn in tabel 2 samengevat. Als lokale referentie is monster 28 gekozen.

Tabel 2.  
De belangrijkste resultaten van het nematodenonderzoek op locatie Bornia.  
Lood in mg/kg ds; aantallen per 100 g grond; %SC=aandeel schimmelelers; %PP=aandeel  
plantenparasieten; lokale referentie: monster 28.

monster	3	4	6	8	11	16	28	29A	31	32	117	119
aantal	420	130	170	300	260	270	410	570	389	420	310	130
n taxa	17	8	18	23	22	21	26	20	19	24	17	17
MI(1-5)	2,35	3,32	2,43	2,86	2,91	3,07	2,71	2,33	2,72	2,69	2,87	3,38
MI(2-5)	2,38	3,31	2,43	2,87	2,92	3,07	2,73	2,33	2,72	2,76	2,88	3,41
% SC	7	78	25	48	43	27	30	21	21	17	48	50
% PP	67	11	10	11	24	42	42	39	56	53	22	13
lood	290	220	270	460	620	250	11	9	21	17	440	880

De samenstelling van de nematodenfauna geeft duidelijk aan dat het om een zure boslocatie gaat. Dergelijke locaties worden vaak gekenmerkt door lage aantallen en relatief weinig soorten en dominantie van planten- en schimmelelers (Van Esbroek, Schouten & Alkemade, 1996).

Om eventuele effecten van de verontreiniging op de nematodenfauna zichtbaar te maken, zijn een aantal regressie-analyses uitgevoerd. Vooraf is door een clusteranalyse de samenhang van de monsters gecontroleerd. Hieruit blijkt dat monster 4 duidelijk afwijkt van de overige monsters. Deze afwijking zal zijn oorsprong zeer waarschijnlijk vinden in een andere oorzaak dan de loodverontreiniging. Zo is het organische stofgehalte van dit monster verreweg het laagste van alle monsters, komen bacterie-eters vrijwel niet voor en wordt de nematodenfauna gedomineerd door *Tyololaimophorus* en *Tylencholaimus*. Daarom is monster 4 als uitbijter beschouwd en buiten de verdere analyse gelaten.

Uit regressie-analyse blijkt dat de loodverontreiniging effecten heeft op *de totale aantallen* nematoden. Deze nemen af naar mate de grond meer lood bevat. Dit effect is significant ( $p=0,01$ , correlatiecoëfficiënt:  $-0,76$ ). Deze afname wordt vooral veroorzaakt door de

plantenparasieten. Worden deze namelijk apart getoetst, dan blijkt deze afname significant, terwijl dit voor de niet-parasieten niet wordt gevonden. Binnen de gevonden plantenparasieten is de familie Tylenchidae (*Aglenchus*, *Malenchus* en *Cephalenchus*) dominant. De afname wordt dan ook vooral binnen deze familie gevonden. Tylenchidae zijn overwegend kleine nematoden die zich op de (haar)wortels van planten voeden. Vermoedelijk zijn er ook soorten bij die zich met schimmels kunnen voeden. Waarom juist deze groep reageert op de verontreiniging, is niet duidelijk. Mogelijk dat door de verontreiniging minder goede voedselplaatsen aanwezig zijn doordat de vegetatie anders en/of minder goed ontwikkeld is. Misschien ook dat er via de vegetatie een doorvergiftiging optreedt.

Hoewel de totale aantallen niet-parasieten geen significante correlatie vertonen met het loodgehalte, blijkt uit verdere analyse dat er wel degelijk effecten zijn. Zowel de MI(1-5) als MI(2-5) worden significant hoger bij een toenemende loodconcentratie. Dit lijkt tegenstrijdig met de theorie achter de Maturity Index. Deze gaat er min of meer vanuit dat een verstoring leidt tot een afname van de MI. Toch is de stijging te verklaren. Deze wordt vooral veroorzaakt in de relatieve toename van twee fungivore groepen: *Tylencholaimus* en *Tylolaimophorus*. Hun relatieve toename met de loodconcentratie is significant ( $p=0,01$ ; correlatiecoëfficiënt:  $+0,80$ ). Omdat de groepen ingeschaald zijn op respectievelijk 4 en 3 binnen de cp-schaal, betekent dit een stijging van de MI's.

Het toenemen van schimmeleters onder invloed van verontreiniging is niet onbekend. Korthals *et al.* (1996a) toonde aan dat het aantal schimmeleters toenam bij een toenemende koperbelasting. Keidel (1997) vond een gelijksoortig effect bij een verontreiniging met zware metalen in een uiterwaard. Ook Bongers (mond. med.) maakt melding van het effect. Omdat in deze gevallen met name *Aphelenchoides* (cp=2) als fungivore groep toenam, werd in deze situaties wel een afname van de MI gevonden die negatief gecorreleerd was met de verontreiniging. De toename van de fungivore nematoden kan een indirect effect zijn door voedseltoename, afname van de voedselcompetitie, afname van het aantal predatoren of een combinatie. In de onderzochte monsters blijkt dat de toename van de fungivore nematoden ten koste gaat van de bacterie-eters. Deze laatste groep neemt namelijk significant af met de toenemende loodconcentraties.

De toename van de MI's bij de Bornia-locatie moeten als negatief worden beoordeeld en kan niet gezien worden als een indicatie voor verbetering van het ecosysteem. Om de nematodenresultaten te kunnen vergelijken met de andere onderdelen van de TRIADE, zijn de dichtheden en MI(1-5) gebruikt. Als referentie is locatie 28 gebruikt; deze is ook door de andere deelnemers hiervoor gebruikt. Uit onderzoek van Van Esbroek, Schouten & Alkemade (1996) in een soort gelijk bos als Bornia, bleek dat de variatie in dichtheden in de

minerale laag maximaal 25 % was. Een afwijking van 0-25 % in de dichtheden ten opzichte van de referentie is als niet-verstoord beschouwd (valt binnen de verwachte variatie). Een afwijking van 26-50 % is als matig verstoord betiteld (+) en een afwijking groter dan 50 % als sterk afwijkend (++). De grenzen zijn hierbij als 1 keer en 2 keer de variatie genomen. De MI(1-5) bleek maximaal 5 % variatie te vertonen. Hierom is een variatie van 5% (0,14 MI-eenheden) ten opzichte van de MI(1-5) van de referentie als niet-verstoord beschouwd. Een afwijking van 5-10 % (0,15-0,28 eenheden) is matig verstoord (+) genoemd en een afwijking groter dan 0,28 als sterk verstoord (++). In tabel 3 zijn de resultaten gegeven voor de monsters die ook bij de andere TRIADE-onderdelen beoordeeld zijn. Monster 4 is buiten beschouwing gelaten omdat deze als uitbijter is beschouwd.

Tabel 3.  
Resultaten van de beoordeling locatie Bornia met nematoden.  
0=geen effect; +=matig effect; ++=sterk effect.

Monster	Pb-gehalte	Dichtheid	Effect volgens dichtheid	MI(1-5)	Effect volgens MI
28	11	410	referentie	2,73	Referentie
31	21	390	0	2,72	0
3	290	420	0	2,35	++
8	460	300	+	2,87	+
11	620	260	+	2,91	+
119+120	880	130	++	3,38	++

Bovenstaande benaderingswijze is slechts een eerste poging om afzonderlijke monsters met elkaar te vergelijken. Met name de gebruikte variaties staan voor discussie open.

Opmerkelijk is dat monster 29A (loodgehalte 9 mg/kg ds) behoorlijk afwijkt van de andere monsters met een laag loodgehalte (28, 31 en 32). Dit geldt zowel voor de aantallen als voor de MI. Wordt dit monster als referentie gebruikt, dan wijken alle overige monsters matig of sterk af, behalve monsters 6 en 3 voor de MI. Monster 29A komt overigens het beste overeen met het gemiddelde monster uit het onderzoek van Van Esbroek, Schouten & Alkemade (1996). Zij vonden namelijk over 10 monsters een gemiddelde dichtheid van 735 nematoden en een gemiddelde MI(1-5) van 2,17. Monsters 29A, 31 en 32 zijn niet bij de andere TRIADE-onderdelen betrokken.



## LOCATIE EPON

Het betreft hier een locatie die onder andere vervuild is met minerale olie. Er wordt bio-restauratie uitgevoerd. De monsters zijn genomen op diepten tussen 3.00 en 7.00 m.

De belangrijkste resultaten van het nematodenonderzoek zijn in tabel 4 samengevat. Gezien de lage aantallen was het niet zinvol om statistische berekingen uit te voeren.

Tabel 4.  
De belangrijkste resultaten van het nematodenonderzoek op locatie EPON.  
Olie in mg/kg ds; aantallen per 100 g grond.

Monster	Sb2	205	207	sb3.1	pb217	hb7	24	203	hb06
Aantal	17	6	5	8	6	3	12	1	11
% <i>Plectus</i>	9	67	88	39	56	75	42	100	0
% <i>Cuticularia</i>	67	22	0	31	11	0	11	0	88
Olie	?	<25	6800	440	160	79	3000	1800	2200

Het is bekend dat nematoden vooral in de bovenste bodemlagen (tot ongeveer 20 cm) voorkomen. Hier is voldoende biologische activiteit om voor voedsel te zorgen. Ook de zuurstofvoorziening is hier vaak voldoende. Maar er zijn gegevens bekend over het voorkomen van nematoden op grotere diepten. Ook in het grondwater kunnen nematoden voorkomen. Ten opzichte van de bovenste bodemlagen zijn de aantallen dan echter zeer laag en is het onduidelijk of op grotere diepten gesproken kan worden van een echte nematodensamenleving.

Vooraf werden in de monsters van de EPON-locatie geen nematoden verwacht, gezien de aard van het terrein en de diepte waarop de monsters zijn genomen. Toch blijken in alle monsters, hoewel in zeer lage aantallen, nematoden voor te komen. Deze aanwezigheid duidt er op dat de omstandigheden op grotere diepte in ieder geval de mogelijkheid biedt om bepaalde nematoden te laten overleven. De belangrijkste groepen die gevonden zijn (*Plectus* en *Cuticularia*) zijn batterie-etters en bekend als tolerante nematoden. Met name het laatste geslacht wordt vaak aangetroffen in bodems die vervuild zijn met olieproducten.

De aanwezigheid van nematoden in de monsters kan in verband worden gebracht met de 'ecologische' situatie in de monsters. Door de geforceerde beluchting van de locatie om de natuurlijke afbraak van oliebestanddelen te bevorderen, zal zuurstof geen directe limiet zijn voor de aanwezigheid van nematoden. Daarnaast zullen bacteriën aanwezig zijn om als voedsel te kunnen dienen. Een belemmering zal waarschijnlijk de kolonisatie door

nematoden van de diepere lagen zijn omdat deze vrijwel alleen vanuit de bovenliggende grondlagen kan komen.

Hoewel het niet zinvol is om in de monsters om aan de hand van de nematoden een (ecologische) risico-beoordeling te geven, kunnen de nematoden wel informatie leveren. Hun aanwezigheid kan iets zeggen over de omstandigheden van de olieafbraak. De aanwezigheid van nematoden kan indiceren dat aan de eerste randvoorwaarden voor olieafbraak is voldaan, namelijk de aanwezigheid van zuurstof en bacterien. Verder is bekend dat nematoden die zich met bacterien voeden, een gunstige invloed hebben op de ontwikkeling en activiteit van de bacterienpopulaties die ze begrazen. Hiermee worden de processen die door deze bacterien worden uitgevoerd gestimuleerd. Dit is bekend voor de mineralisatie in landbouwbodems en kan ook gelden voor de olieafbraak. Een overweging kan zijn om geforceerd nematoden toe te voegen aan de vervuilde plekken om een betere en snellere afbraak te krijgen van olieverbindingen.

Voor een beter inzicht in het gebruik van nematoden bij het saneren van locaties als EPON, is nader onderzoek nodig. Zo is het onduidelijk in hoeverre nematoden in staat zijn om onder geforceerde omstandigheden op grotere diepten zich te vestigen en een heuse nematodensamenleving op te bouwen. Het volgen van de nematodenontwikkelingen op de locatie gedurende een bepaalde periode kan hierin meer duidelijkheid geven. Mochten nematoden inderdaad in staat zijn zich te vestigen en te ontwikkelen, dan is het interessant om te weten of ze een bijdrage hebben tot de olieafbraak en of ze gebruikt kunnen worden als afspiegeling van het 'ecologische' klimaat op betreffende plekken.

## LOCATIE PETROLEUMHAVEN

Het betreft hier een locatie in een industriegebied die op pilotschaal gesaneerd is door middel van in situ bioventing. Het gaat hierbij om een minerale olievervuiling. Uit analyseresultaten blijken ook andere verontreinigingen aanwezig te zijn, met name zware metalen en PAK. De monsters zijn genomen van de top laag (0-0.15 m).

De belangrijkste resultaten staan in tabel 5. Als lokale referentie is monster 11 gekozen.

Tabel 5.

De belangrijkste resultaten van het nematodenonderzoek op locatie Petroleumhaven. aantallen per 100 g grond; %SC=aandeel schimmeleters; %PP=aandeel plantenparasieten; %BA=aandeel bacterie eters; %CA=aandeel omni- en carnivoren; B=pilot bioventing; T=verstoring door zandauto's; R=rand terrein. Referentielocatie: 11

Monster	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Aantal	47	117	10	177	223	210	220	10	13	1153	1640	1837
MI(1-5)	1,96	2,18	2,48	2,07	1,79	2,73	2,16	1,58	2,25	2,55	2,26	1,70
% SC	7	4	1	7	0	9	5	0	4	7	14	2
% PP	10	20	38	23	10	48	15	8	67	40	42	32
% BA	77	72	44	66	87	31	68	85	29	41	30	59
% CA	6	5	17	5	3	11	11	8	0	10	4	8
Habitat	B	B	B	B	B	B	T	T	T	R	R	R

De monsters vallen globaal uiteen in twee groepen: een groep met lage tot zeer lage aantallen (monsters 1 t/m 9) en een groep met hogere dichtheden (monsters 10 t/m 12). Door de lage aantallen zijn de MI(1-5) van een aantal monsters gebaseerd op slechts weinig dieren en daardoor minder betrouwbaar en dus niet geschikt als beoordelingsinstrument.

Een belangrijk deel van de verschillen tussen de monsters kan teruggevoerd worden naar de plaats waar de monsters zijn genomen. De monsters 1 t/m 6 zijn afkomstig van de pilot in situ bioventing en de monsters 7 t/m 9 van een plaats waar regelmatig gereden werd met zandauto's. Op beide plaatsen zal de verstoring door werkzaamheden een dermate invloed hebben op de nematodenfauna, dat deze zich niet normaal kan ontwikkelen en duidelijk verstoord is. Dit treedt op onafhankelijk van een eventuele verontreiniging, maar kunnen elkaar wel versterken. Heel anders is het met de monsters 10 t/m 12. Deze zijn afkomstig van de randen van de locatie en zijn begroeid. De nematodenfauna heeft zich hier wel kunnen ontwikkelen.

Naast verstoring door werkzaamheden, verschillen de monsters in gehalten van zware metalen en olie. Uit een lineaire regressie-analyse ( $p=0.01$ , correlatiecoëfficiënt:  $-0,52$ ) blijkt

dat de totale aantallen nematoden significant afnemen met het chroomgehalte. Uit een multiple regressie met de gehalten van chroom, arseen, cadmium en nikkel, blijkt dat 86% van de variatie in dichtheden door deze metalen worden verklaard. Uit andere studies is bekend dat nematoden gevoelig zijn voor zware metalen. Er kon geen verband worden aangetoond tussen de aantallen nematoden en de olieconcentraties.

Bij het gebruik van monster 11 als lokale referentie moeten de monsters 1 t/m 9 als sterk verstoord worden beschouwd op basis van de dichtheden. Zoals al eerder genoemd is de MI(1-5) hier minder geschikt als beoordelingscriterium.

## LOCATIE NAM SCHOONEBEEK

De locatie ligt in een landbouwgebied waarin restanten hoogveen voorkomen. Het betreft een verzuurd bos waar tientallen jaren geleden een calamiteit met ruwe olie heeft plaats gevonden. De monsters worden gekarakteriseerd door een grote variatie in droge stof (27-73%). Verder lopen de concentraties minerale olie uiteen van minder dan 25 mg per kg ds (monster 039) tot 14000 mg per kg ds (monster 013). In de monsters zijn ook de gehalten aan PAK gemeten.

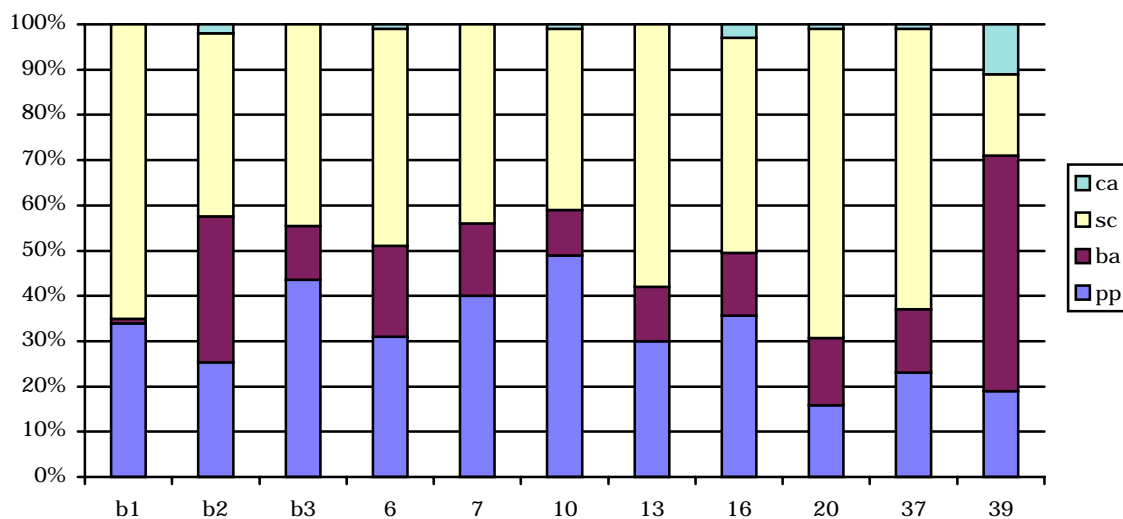
De belangrijkste resultaten staan in tabel 6 en figuur 1. Monster 39 is al locatie-referentie gebruikt.

Tabel 6.

De belangrijkste resultaten van het nematodenonderzoek locatie NAM Schoonebeek.  
Aantallen per 100 g grond; % PP=aandeel plantenparasieten; %BA=aandeel bacterie-etters;  
%SC=aandeel schimmelsters; %CA=aandeel carnivoren; olie in mg/kg ds; locatie-referentie: 39.

	B1	B2	B3	006	007	010	013	016	020	037	039
Aantal	4787	3090	4090	2713	2950	3200	6657	5753	5860	4663	1613
N taxa	11	19	12	20	17	16	15	19	14	16	25
MI(1-5)	2,88	2,53	2,70	2,77	2,75	2,71	2,85	2,75	2,87	2,84	2,25
% PP	34,1	24,8	43,9	30,7	39,6	49,1	30,4	35,5	16,4	22,9	18,7
% BA	1,2	31,7	11,6	20,3	16,0	10,2	11,9	13,9	14,5	13,9	51,6
% SC	64,6	40,4	44,5	48,4	43,8	39,5	57,7	47,6	68,5	62,0	18,1
% CA	0	1,9	0	0,7	0	0,6	0	3,0	0,6	1,2	11,0
Olie	5500	2900	12000	1600	4900	3600	14000	9900	9000	2700	25

De dichtheden variëren van iets meer dan 1600 tot ruim 6600 nematoden per 100 g grond. De maturity index (1-5) ligt, behalve voor monster 039, tussen 2,50 en 2,90. Er zijn geen aanwijzingen dat in de monsters eutrofe omstandigheden voorkomen omdat het aandeel bacterie-etters laag is. Alleen in de referentie (39) maakt deze groep meer dan 50 % uit. Opmerkelijk in de monsters is het hoge aandeel schimmelsters. Dit wordt met name veroorzaakt door *Tyolaimophorus* en in mindere mate *Aphelenchoides*. Door deze (bijna)dominatie van *Tyolaimophorus* ontstaan ook de hoge MI-waarden, omdat dit geslacht ingedeeld is in cp-groep 3. De resultaten vertonen in dit kader gelijkenis met de resultaten op de Bornia-locatie. Uit een lineaire regressie-analyse blijkt dat de totale dichtheden significant gecorreleerd zijn met de olieconcentratie ( $p=0,01$ , correlatiecoëfficiënt:  $+0,80$ ). Dit kon niet doorvertaald worden naar een speciale groep. Er kon geen significant verband worden aangetoond tussen de olieconcentratie en de MI(1-5).



Figuur 1.  
 Procentuele verdeling van de voedselgroepen.  
 Locale referentie: 39, ca=omni- en carnivoren; sc=schimmeleeters;  
 ba=bacterie-etters; pp=plantenparasieten.

In de monsterreeks valt monster 39 op door het lage oliegehalte en is daarom gebruikt als referentie. De opbouw van de nematodenfauna is duidelijk anders dan in de andere monsters. Zo heeft monster 39 een duidelijk stabielere opbouw van de voedselgroepen (figuur 1) en zijn er meer taxa gevonden (tabel 6). De lagere dichtheid en de waarde van de MI(1-5) ten opzichte van de andere monsters passen ook beter bij de verwachtingen voor een dergelijk (ongestoord) habitat. Hieruit moet geconcludeerd worden dat de overige monsters afwijken en de nematodenfauna door de aanwezige olie is gewijzigd.

Deze locatie is op gelijke wijze beoordeeld dan Bornia. De resultaten staan in tabel 7. Alleen de monsters die ook bij de andere TRIADE-onderdelen zijn gebruikt, zijn beoordeeld. Onduidelijk is of de getoonde effecten negatief moeten worden uitgelegd. De resultaten geven wel aan dat in de bodem een door schimmels gedomineerde afbraak van organisch materiaal optreedt. Dit is overigens algemeen bekend van zure bosbodems. De olie lijkt hierbij een stimulerend effect te hebben. Wel moet opgemerkt worden dat ook de olieconcentratie en het organische stofgehalte een significant positief verband vertonen. Dit betekent dat in de monsters met de hoogste concentratie olie ook het organische stofgehalte het hoogste is. De effecten van de olie en de organische stof op de nematoden zijn hierdoor moeilijk te onderscheiden.

Tabel 7.  
Resultaten van de beoordeling locatie NAM Schoonebeek met nematoden.  
0=geen effect; +=matig effect; ++=sterk effect.

Monster	Olie-gehalte	Dichtheid	Effect volgens dichtheid	MI(1-5)	Effect volgens MI
39	25	1613	Referentie	2,25	Referentie
6	1600	2713	++	2,77	++
37	2700	4663	++	2,84	++
10	3600	3200	++	2,71	++
B1	5500	4787	++	2,88	++
16	9900	5753	++	2,75	++
13	14000	6657	++	2,85	++

## LOCATIE SPEKHOLZERHEIDE

Deze locatie wordt al geruime tijd niet meer gebruikt en is verwilderd. Er komt een verontreiniging voor met zware metalen, PAK en minerale olie. De monsters worden gekenmerkt door een hoog droge stofgehalte, variërend tussen 77 en 90 procent. In een aantal monsters zijn verroeste bouten en schroeven van rails gevonden.

De belangrijkste resultaten van het nematodenonderzoek staan in tabel 8. Monster 9.2 is als lokale referentie genomen.

Tabel 8.

De belangrijkste resultaten van het nematodenonderzoek op locatie Spekholzerheide. Aantallen per 100 g grond; % PP=aandeel plantenparasieten; %BA=aandeel bacterie-etters; %SC=aandeel schimmeleters; %CA=aandeel carnivoren; %AL=aandeel algeters; lokale referentie: 9.2.

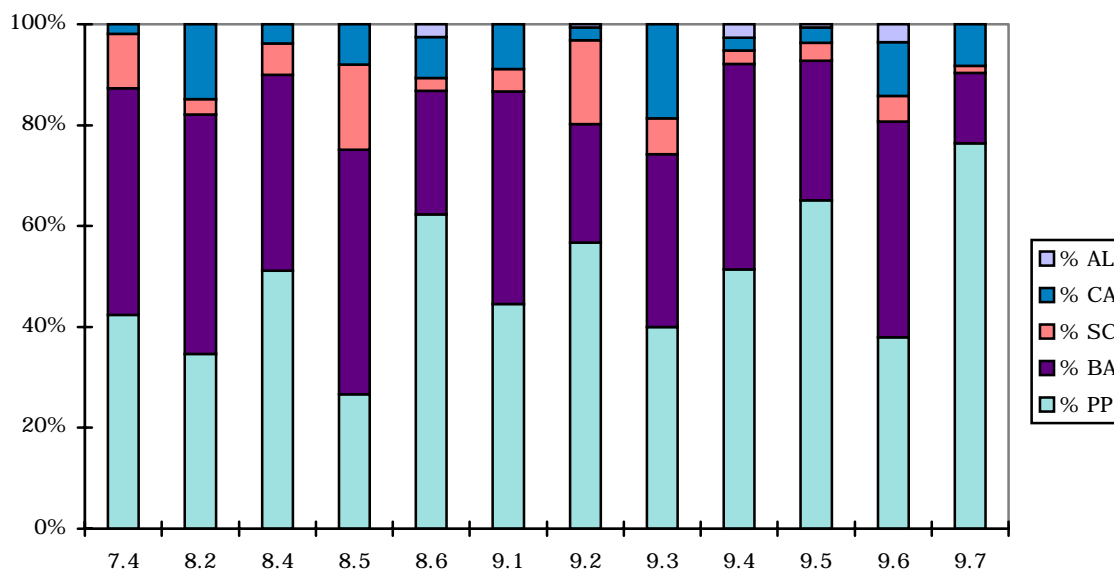
	7.4	8.2	8.4	8.5	8.6	9.1	9.2	9.3	9.4	9.5	9.6	9.7
Aantal	543	1257	1523	1540	3047	2080	3367	1367	4133	4887	2150	6237
MI(1-5)	2.09	2.92	2.42	2.44	2.97	3.07	2.49	2.63	2.99	1.98	2.47	3.30
% PP	42,1	34,6	51,3	26,5	62,3	44,0	56,3	40,0	51,0	64,7	33,3	76,4
% BA	44,7	47,5	38,8	48,1	24,5	41,5	23,4	34,2	40,5	27,5	37,7	14,0
% SC	10,7	3,1	6,3	16,7	2,5	4,4	16,5	7,1	2,6	3,6	4,4	1,3
% CA	1,9	14,8	3,8	8,0	8,2	8,8	2,5	18,7	2,6	3,0	9,4	8,3
% AL	0	0	0	0	2,5	0	0,6	0	2,6	0,6	3,1	0
Arseen	71	3	110	57	20	9.8	6.2	18	11	30	12	7.8

De dichtheden in de monsters varieert van iets meer dan 500 tot ruim 6000 nematoden per 100 g grond. Ook de MI(1-5) laat een grote variatie zien. De belangrijkste voedselgroepen worden in alle monsters gevonden, maar in verschillende verhoudingen (figuur 2). Opvallend hierbij zijn het aandeel schimmeleters in de monsters 7.4, 8.5 en 9.2. Schimmeleters maken in deze monsters meer dan 10% uit. Worden de monsters nader bekeken, dan blijken de soorten nematoden die hiervoor verantwoordelijk zijn, verschillend (tabel 9). Het is onduidelijk waardoor dit wordt veroorzaakt, maar mogelijk is er een fysisch of chemisch effect omdat de mate van de verontreiniging in de monsters duidelijk verschilt. Nematoden uit de geslachten *Aphelenchus* en *Aphelenchoides* staan bekend als niet-gevoelige soorten. Ze zijn ingeschaald in cp-klasse 2. Van *Diphtherophora* is weinig bekend, maar is ingeschaald in cp-klasse 3 en worden als gevoeliger beschouwd. Het is daarom goed denkbaar dat de verschillen zijn ontstaan onder invloed van de verontreiniging.



Tabel 9.  
 Relatieve aanwezigheid van de belangrijkste schimmelelers in een drietal monsters.

Monster ->	7.4	8.5	9.2
<i>Aphelenchus</i>	5.0	1.9	0
<i>Ahpelenchoides</i>	5.0	6.8	4.4
<i>Diphtherophora</i>	0	8.0	9.5



Figuur 2.  
 Verdeling over de voedselgroepen. Locale referentie 9.2

De hoge dichtheden worden voor een substantieel deel veroorzaakt door plantenparasieten. Uit een lineaire regressieanalyse blijkt dat de MI(1-5) een significant negatief verband vertoont met het arseengehalte ( $p=0.01$ , correlatiecoëfficiënt:  $-0,54$ ) en kopergehalte ( $p=0.01$ , correlatiecoëfficiënt:  $-0,54$ ). De correlatiecoëfficiënt neemt toe als de MI(2-5) wordt gebruikt tot respectievelijk  $-0,71$  en  $-0,63$ .

Uit de resultaten blijkt dat de verontreiniging effecten heeft op de nematodenfauna. De monsters die binnen de TRIADE ook voor de andere onderdelen zijn gebruikt, zijn beoordeeld op dezelfde wijze als de Bornia-locatie. De resultaten staan in tabel 10. Ook nu geldt dat het onduidelijk is of de effecten negatief moeten worden uitgelegd. Uitzondering is monster 7,4 waar duidelijk negatieve effecten optreden. In dit kader speelt ook de vraag wat de effecten zijn van gecombineerde verontreinigingen.

Tabel 10.  
Resultaten van de beoordeling locatie NAM Schoonebeek met nematoden.  
0=geen effect; +=matig effect; ++=sterk effect.

Monster	Olie-gehalte	Dichtheid	Effect volgens dichtheid	MI(1-5)	Effect volgens MI
T9v2		3367	Referentie	2,49	Referentie
T8v4		1523	++	2,42	0
T8v6		3047	0	2,97	++
T8v5		1540	++	2,44	0
T8v2		1257	++	2,92	++
T7v4		543	++	2,09	++
T9v3		1367	++	2,63	+

## LOCATIE GASFABRIEK OUDE PEKELA

De verontreiniging komt zeer lokaal voor. De toplaag is niet sterk verontreinigd maar door sloopwerkzaamheden sterk verstoord en is niet begroeid. De monsters worden gekarakteriseerd door een mengeling van verontreinigingen aan zware metalen, minerale olie, PAK, cyaniden en EOX. Er is bemonsterd op twee diepten: tot 0,40 m en tussen 1,75-2,25 m. Het droge stofgehalte van de ondiepe monsters is hoog en ligt tussen 77 en 95 procent.

Tabel 11.

De belangrijkste resultaten van het onderzoek voor locatie gasfabrieksterrein.  
I=diepte tot 0,40 m; II=diepte 1,75-2,25 m; aantal per 100 g; %PP=aandeel plantenparasieten;  
%BA=aandeel bacterie-etters; %SA=aandeel schimmeleters; %CA=aandeel carni- en omnivoren;  
%OV=aandeel overige (alg-etters en dauerlarven).

monster	Diepte	Aantal	MI(1-5)	% PP	% BA	% SC	% CA	% OV
1	I	23	1,75	0	75,0	0	25,0	0
2	I	87	2,00	4,8	66,7	23,8	0	4,8
3	I	230	1,28	21,6	70,3	5,4	2,7	0
4	I	43	1,33	40,0	40,0	20,0	0	0
5	I	860	2,40	26,0	56,7	3,9	12,6	0,8
6	I	27	1,67	75,0	25,0	0	0	0
7	I	7	3,67	25,0	25,0	0	50,0	0
8	I	17	3,83	0	50,0	0	50,0	0
9	I	3173	2,27	47,4	40,4	5,3	5,3	1,8
10	I	3270	1,94	48,2	42,9	4,2	3,0	1,8
11	I	5290	2,15	46,3	39	5,5	8,5	0,6
12	I	1873	2,20	46,5	44,7	2,5	3,8	2,5
A	II	24	2,33	62,5	12,5	62,5	4,2	0
B	II	17	2,00	88,2	11,8	0	0	0
C	II	15	2,00	93,3	0	6,7	0	0
D	II	13	2,00	92,3	7,7	0	0	0
E	II	17	2,25	61,5	23,1	3,8	3,8	7,7
F	II	8	n.b.	100	0	0	0	0
O.P.1	?	20	1,00	0	20	0	0	80
O.P.2	?	10	n.b.	0	0	0	0	100
O.P.3	?	10	2,00	66,7	33,3	0	0	0
O.P.4	?	900	1,88	92,8	4,6	0,7	0	1,9
O.P.5	?	30	2,00	66,7	33,3	0	0	0
O.P.6	?	60	1,73	37,8	43,2	16,2	0	2,8
O.P.7	?	30	2,06	14,3	57,1	14,3	9,5	4,8
O.P.8	?	2700	2,63	94,8	3,9	0,6	0,6	0

Om een geschikte verontreinigungsgradient te krijgen, moest er drie keer worden bemonsterd (eerste keer: monsters 1 t/m 12, tweede keer monsters A t/m F en derde keer monsters O.P. 1 t/m O.P. 8). De laatste serie is binnen de TRIADE gebruikt. Voor het nematodenonderzoek zijn alle monsters geanalyseerd.

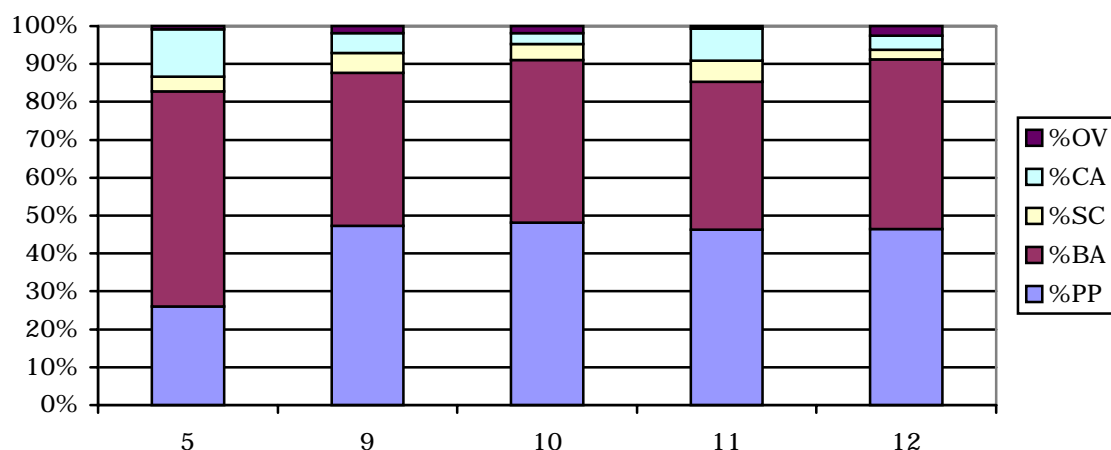
De belangrijkste resultaten van het nematologisch onderzoek staan in tabel 11. Als lokale referentie is monster O.P. 6 genomen (binnen de derde serie).

#### Diepe monsters (A t/m F)

De diepe monsters worden gekenmerkt door zeer lage dichtheden en het relatief grote deel plantenparasieten (Heterodera). Normaal worden op grotere diepten geen nematoden verwacht en zeker geen plantenparasieten. Het voorkomen van de nematoden in de gevonden monsters komt dan waarschijnlijk via overbesmetting van hoger gelegen delen tijdens de monsternamen. De nematoden zijn voor deze monsters niet bruikbaar als instrument voor de beoordeling. Er zijn met de resultaten geen verdere bewerkingen uitgevoerd.

#### Ondiepe monsters (1 t/m 12)

De monsters 1 t/m 12 zijn van de bovengrond genomen. Hierin variëren de dichtheden opvallend. Verrassend hebben de monsters waarin de meeste vervuiling is gemeten, de hoogste dichtheden. De lage dichtheden lijken daarom niet zijn veroorzaakt door de vervuiling, maar door de mechanische verstoring van sloopwerkzaamheden. In de monsters worden dan ook vooral *colonizers* gevonden. De monsters 9 t/m 12 en in mindere mate 5, komen waarschijnlijk van een plek waar deze mechanische verstoring niet aanwezig is. De opbouw van de nematodenfauna komt in deze monsters in grote lijnen overeen (figuur 3).



Figuur 3.

Verdeling van de voedselgroep voor de monsters 5, 9, 10, 11, en 12  
 % PP=aandeel plantenparasieten, % BA=aandeel bacterie eters, %SC=aandeel schimmelaars, %  
 CA=aandeel omni- en carnivoren, % OV=aandeel overige (algeters en dauerlarven).

Ook in de monsters O.P. 1 t/m O.P. 8 zijn de dichtheden bij de meeste monsters laag. Alleen O.P. 4 en O.P. 8 vallen op door de opmerkelijk hogere aantallen. Beide monsters hebben meer

dan 90 % plantenparasieten. Het is onduidelijk op welke diepte deze monsters zijn genomen. Voor de monsters met de lage dichtheden heeft verdere bewerking geen zin. Ze moeten als duidelijk verstoord worden beschouwd. Tussen O.P. 4 en O.P. 8 bestaat een duidelijk verschil in verontreiniging. Dit komt tot uiting in de nematodenfauna. Zowel de aantallen als de MI(1-5) scores in het schone monster (O.P. 8) duidelijk positiever dan in O.P. 4.

## LITERATUUR

Alkemade, R., 1993. Nematodes and decomposition in intertidal ecosystems. Proefschrift Vakgroep Nematologie. Landbouwwuniversiteit Wageningen.

Bongers, T., 1988. De nematoden van Nederland. Stichting Uitgeverij van de Koninklijke Natuurhistorische Vereniging.

Bongers, T., 1990. The Maturity Index. An ecological measure of environmental Disturbance based on Nematodes Species Composition. *Oecologia* **83**: 14-19.

Bouwman, L., H. Hoenderboom, J. van Klinken & P. de Ruiter, 1993. Effect of growing crops and crop residues in arable fields on nematode production. *In: Integrated soil and sediment research: a basic for proper protection*. Pagn. 127-131.

Esbroek, M. van, A.J. Schouten & J.R.M. Alkemade, 1996. Landelijk Meetnet Bodemkwaliteit: Nematodenfauna. Deel 2: Bemonstering 1994 (boslocaties op zandgrond). RIVM Bilthoven. Rapportnr. 714801010.

Ettema, C.H. & T. Bongers, 1993. Characterization of nematode colonization and succession in disturbed soil using the Maturity Index. *Biol Fertil Soils* **16**: 79-85.

Findlay, S.E.G. & K.R. Tenore, 1982. Effect of free-living marine nematode *Diplolaimella chitwoodi* on detrital carbon mineralization. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **8**: 161-166.

's Jacobs, J.J. & J. van Bezooijen, 1986. A Manual for practical Work in Nematology. Practicumhandleiding Vakgroep Nematologie. Landbouwwuniversiteit Wageningen.

Keidel, H., 1997. De nematodenfauna van een verontreinigd kribvak langs de Nieuwe Merwede. Blgg bv Oosterbeek. In opdracht van Rijkswaterstaat, directie Zuid-Holland.

Korthals, G.W., A.D. Alexiev, Th.M. Lexmand, J.E. Kammenga & T. Bongers, 1996a. Long-term effects of copper and pH on the nematode community in an agroecosystem. *Environmental Toxicology and Chemistry* **15** (6): 979-985.

Platt, H.M. & R.M. Warwick, 1980. The significance of free-living nematodes on the littoral ecosystem. *In*: Price, J.H., D.E.G. Irving & F. Farnham, 1980. The shore environment, vol 2: Oecosystems. Academic Press, London/New York.

Yeates, G.W., T. Bongers, R.M.G. de Goede, D.W. Freckman & S.S. Georgieva, 1993. Feeding Habitats in Soil Nematode Families and Genera – an Outline for Soil Ecologists. *Journal of Nematology* **25**: 315-331.