

Rechten voorbehouden

Van interne verslagen zijn nadruk of aanhalingen
slechts toegestaan met uitdrukkelijke toestemming
van het NIOZ.

Excretie en produktie van de bentische microflora op de Wadden
in het westelijk deel van de Waddenzee

door

Kees J. CanTERS

NEDERLANDS INSTITUUT VOOR ONDERZOEK DER ZEE

PUBLICATIES EN VERSLAGEN:

nummer 1972-5

Excretie en produktie van de bentische microflora op de Wadden
in het westelijk deel van de Waddenzee

door

Kees J. Canters

Intern verslag

over

werkzaamheden verricht als doctorale studie
in het tijdvak januari - juni 1971

aan

het NIOZ te Texel

voor

G.C. Cadée

november 1971

NEDERLANDS INSTITUUT VOOR ONDERZOEK DER ZEE

PUBLICATIES EN VERSLAGEN:

nummer 1972-5

Excretie en produktie van de bentische microflora op de Wadden
in het westelijk deel van de Waddenzee

door

Kees J. Canters

(Intern verslag)

Inhoud:

I.	Summary	1
II.	Doel van het onderzoek	2
III.	Inleiding	2
	A. Literatuur	2
	B. Theorie	4
IV.	Materiaal en methoden:	6
	A. Produktie- en excretiemeting	6
	B. Andere parameters	9
	C. Berekeningswijze	10
V.	Resultaten	12
	A. Excretie:	12
	1. IJkgrafieken	12
	2. Doorluchtingstijd	12
	3. Vorming van kleine deeltjes	12
	4. NaOH- toevoeging	13
	5. Navicula-experiment	15
	B. Produktie:	15
	1. Chlorophyl- bepalingen	15
	2. Antibiotica en dubbele hoeveelheid ¹⁴ C	16
	3. N.I.O.Z.- Wad	17

4. Mokbaai en wadtoren	18
VI. Bespreking van de resultaten en conclusies (Indeling is gelijk aan V)	20
VII. Discussie	27
VIII. Literatuur	32
Figuren	

I. Summary

During the first half of 1971 the methods of WATT and others for measuring excretion by algae during fotosynthesis were adapted to microbenthic algae. Excretion as used here is defined as that part of the algal production which passes through a membranefilter of 0.15 μ pore-diameter. Liquid scintillation was used for measuring C-14 activity of algae and excretion products. The method was tested in the laboratory. One of the pitfalls in excretion measurements appeared to be the impossibility to remove all added $^{14}\text{CO}_2$ from the filtrate. Therefore a rest-activity has to be subtracted from the filtrate activity. This seems to have been overlooked by earlier workers. Excretion proved to amount to some 3% of the primary production in situ by the microbenthic algae. This means that earlier measurements of primary production on the tidal flats need only a small correction.

Furthermore this implies that contribution of dissolved organic C to the Waddensea by microbenthic algae is low. Annual production amounts to some 100 $\text{gC/m}^2/\text{year}$; excretion (3%) amounts to 3 $\text{gC/m}^2/\text{year}$. For the western Waddensea with 150 km^2 of tidal flats this will give 0.45×10^6 kg dissolved org.C/year. DUURSMMA (1961) concluded that 32×10^6 kg dissolved org.C was formed in the western Waddensea annually which means that contribution by benthic microalgae is only 1,4%. Therefore dissolved org.C will be largely the product of other

processes (consumption of algae, bacterial breakdown of organic matter).

II. Doel van het onderzoek

1. Het ontwikkelen van een methode voor het quantitatief meten van organische verbindingen, afgestaan aan het milieu door de bentische microflora (vnl. diatomeeën) van de wadden onder natuurlijke omstandigheden.
2. Het vinden met behulp van deze methode van een getal, dat iets zegt over deze excretie ten opzichte van de totale produktie door dezelfde groep organismen.

III. Inleiding

a. Literatuur

Uit de literatuur blijkt (DUURSMA, 1963; WATT, 1966; HELLEBUST, 1967; CHAPMAN & RAE, 1969; ANDERSON & ZEUTSCHEL, 1970; POSTMA & ROMMETS, 1970; AARONSON, 1971), dat phytoplankton organische verbindingen uitscheidt. Dit gebeurt onder natuurlijke en kunstmatige, onder extreme en minder extreme milieuomstandigheden, zowel in zoet als in zout water. De excretieprodukten kunnen in opgeloste en vaste vorm uitgescheiden worden. Men gaat er hierbij meestal vanuit dat de organismen onder de gegeven omstandigheden normaal functioneren. Met andere woorden het is een normaal proces. De verschillende onderzoekers geven sterk uiteenlopende waarden voor deze excretie: van $\pm 1-50\%$ van de bruto primaire produktie. Dit kan geweten worden aan proefomstandigheden die verschillen, maar ook aan het feit dat verschillende soorten gebruikt worden.

Door enkele auteurs (WATT 1966; HELLEBUST 1967) wordt er een

processes (consumption of algae, bacterial breakdown of organic matter).

II. Doel van het onderzoek

1. Het ontwikkelen van een methode voor het quantitatief meten van organische verbindingen, afgestaan aan het milieu door de bentische microflora (vnl. diatomeeën) van de wadden onder natuurlijke omstandigheden.
2. Het vinden met behulp van deze methode van een getal, dat iets zegt over deze excretie ten opzichte van de totale produktie door dezelfde groep organismen.

III. Inleiding

a. Literatuur

Uit de literatuur blijkt (DUURSMA, 1963; WATT, 1966; HELLEBUST, 1967; CHAPMAN & RAE, 1969; ANDERSON & ZEUTSCHEL, 1970; POSTMA & ROMMETS, 1970; AARONSON, 1971), dat phytoplankton organische verbindingen uitscheidt. Dit gebeurt onder natuurlijke en kunstmatige, onder extreme en minder extreme milieuomstandigheden, zowel in zoet als in zout water. De excretieprodukten kunnen in opgeloste en vaste vorm uitgescheiden worden. Men gaat er hierbij meestal vanuit dat de organismen onder de gegeven omstandigheden normaal functioneren. Met andere woorden het is een normaal proces. De verschillende onderzoekers geven sterk uiteenlopende waarden voor deze excretie: van $\pm 1-50\%$ van de bruto primaire produktie. Dit kan geweten worden aan proefomstandigheden die verschillen, maar ook aan het feit dat verschillende soorten gebruikt worden.

Door enkele auteurs (WATT 1966; HELLEBUST 1967) wordt er een

negatief verband gevonden tussen excretie en produktie. Dit zou er op kunnen wijzen, dat er in oligotrofe wateren met een lage produktie een hoog excretiepercentage te vinden is, en in eutrofe wateren met een hoge produktie een laag excretiepercentage. ANDERSON & ZEUTSCHEL (1970) vinden juist een positief verband tussen excretiepercentage en produktie.

Ook temperatuur en licht kunnen een positieve invloed hebben op de produktie en gepaard daarmee een negatieve invloed op de excretie. Hierbij komt nog dat te grote lichthoeveelheden en een te hoge temperatuur het tegenovergestelde effect teweeg brengen. Zo ligt b.v. het optimum bij een produktiemeting in een water-kolom vaak niet aan het oppervlak, maar iets daar onder.

Naar de excretie van bentische algen in situ werd, voor zo ver nagegaan kon worden, nog niet eerder gekeken.

Aangezien op het N.I.O.Z. gedurende een aantal jaren produktiemetingen werden en worden verricht aan bentische en planktonische algen, leek het raadzaam om na te gaan of er bij deze groep organismen excretie optreedt. Zo ja, in welke mate. Dit laatste om de produktiegetallen van vorige jaren in dit verband eventueel op juiste wijze te corrigeren en om rekening te houden met de excretie bij metingen, die gedaan gaan worden.

Om de excretie te kunnen meten moest hiervoor eerst een methode ontwikkeld worden. In de literatuur (WATT, 1966; ANDERSON & ZEUTSCHEL, 1970) worden enkele methoden gegeven, waar bij de excretie meting van opgeloste organische verbindingen een onderdeel vormt van de produktiemeting. Aan de hand hier van werd een eigen methode ontwikkeld.

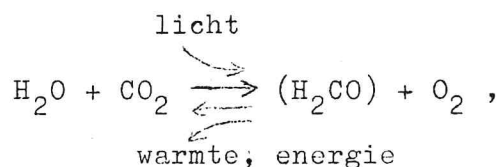
Om aansluiting bij het lopende onderzoek te houden werd besloten ons voor als nog te beperken tot de excretie van bodemdiatomeeën.

Tevens konden dan andere parameters gemeten worden. Deze metingen vormen een onderdeel van het onderzoek, zoals licht- temperatuur- en "standing-crop" metingen (dit laatste aan de hand van chlorophyll-bepalingen) en meting van de totale primaire produktie.

Onder opgeloste organische verbindingen wordt hier bedoeld materiaal $< 15 \mu$. Er kunnen dus ook deeltjes bij zitten.

b. Theorie

Als we uitgaan van de bekende reactie



dan kunnen we op diverse manieren nagaan hoe groot de toename per tijdseenheid, m.a.w. de primaire produktie, is in water.

1. De hoeveelheid biomassa voor en na de incubatie meten. Of zonder dat de begin hoeveelheid en de eindhoeveelheid bekend zijn, alleen de toename meten. Hieronder vallen methodes als individuen tellen, gewichten meten, het meten van koolstofgehaltes en het meten van andere verbindingen.

2. De toename van O_2 in het milieu meten

3. De afname van CO_2 in het milieu meten

4. Meten hoeveel voedingsstof aangeboden wordt en hoeveel voedingsstof er over is na de incubatie. Men dient nl. te bedenken, dat de produktie zoals die samengevat is in bovengenoemde formule, een grove simplificatie is van het totaal aan chemische reacties, die plaatsvinden, waarbij ook andere voedingsstoffen dan CO_2 zoals nitraat, sulfaat en fosfaat betrokken zijn.

Al deze methoden hebben hun voor- en nadelen, waarop in dit verband niet nader ingegaan zal worden. Van de eerste mogelijkheid wordt op het N.I.O.Z. bij het meten van primaire produktie gebruik gemaakt. Men gebruikt de ^{14}C - methode.

We gaan uit van de formule

$$\frac{(\text{LB}-\text{DB}) \times 1,05 \times W}{R} \quad (\text{zie ook o.a. WATT, 1966})$$

Waarbij LB en DB de hoeveelheid radioactieve ^{14}C voorstellen die opgenomen is in het licht respectievelijk donker; 1,05 is een correctiefactor aangezien het gedrag van $^{14}\text{CO}_2$ niet helemaal gelijk is aan $^{12}\text{CO}_2$ omdat $^{14}\text{CO}_2$ groter is en daardoor iets moeilijker opgenomen wordt; (STEEMANN NIELSEN, 1964); W stelt de hoeveelheid koolstof voor die in het milieu aanwezig is, waarin de proef gebeurt; R is de totale hoeveelheid radioactiviteit die uit één 1 ml ampul wordt toegediend.

Doordat we de waterige fase met daarin de uitgescheiden opgeloste organische verbindingen apart tellen van de vaste fase, is LB opgebouwd uit twee getallen (excretie en vaste produkten nog in de cellen aanwezig), ofwel $\text{LB} = \text{E} + \text{P}$, ofwel $\frac{\text{E}}{\text{L} + \text{B}} \times 100 = \text{excretiepercentage}$.

Een kleine complicatie doet zich voor, omdat een gedeelte van het geassimileerde CO_2 direkt weer verbrand wordt. Een gedeelte hiervan (volgens RYTHER (1956a) 100%) wordt wederom geassimileerd zonder buiten de cel geweest te zijn en wordt dus altijd volledig meegemeten. Het andere gedeelte echter komt in een van de toegediende niet te onderscheiden vorm weer in het milieu terecht. Volgens STEEMANN NIELSEN (1964) komt het er op neer dat er een waarde gemeten wordt die tussen de netto en bruto produktie inligt. Aangezien de exacte waarde van deze uitscheiding van CO_2 niet door ons nagegaan werd

(omdat dit niet direkt relevant was en ook moeilijk uitvoerbaar), wordt er van uitgegaan, dat onder de produktie zoals die door ons gemeten wordt, verstaan wordt, de toename aan koolstof bij de diatomeeën zoals gemeten wordt en waarbij de aantoonbare excretieprodukten meegerekend worden. Dit alles verminderd met de waarde die bij de donker bepaling gevonden is. Over dit laatste merkt WATT (1966) op, dat deze donker fixatie in zijn geval voor 90% het werk van de algen zelf was.

Er wordt voortdurend gesproken van koolstof omdat het gebruikelijk is produktie uit te drukken in mgC/m^3 of m^2/tijd .

IV. Materiaal en methoden

a. Produktie- en excretiemeting

Er werd gemeten van zonsopgang tot zonsondergang. De meetdagen werden in het begin ingedeeld in perioden van maximaal 4 uur en 20 minuten. Later werd er gemeten vanaf zonsopgang tot 12 uur 40 en vanaf 12 uur 40 tot zonsondergang.

Met een perspexbuisje met een doorsnedeoppervlak van 1 cm^2 werd een cylinder van $\pm 1 \text{ cm}^3$ wadbodemoppervlak in een met gefiltreerd zeewater gevuld flesje gedaan. Hieraan was de inhoud van één ampul ^{14}C toegevoegd. De inhoud van de ampullen was 1 ml; de radioactiviteit van de ampullen bedroeg $\pm 5 \mu\text{Curie}$. Dit was in de vorm van natriumcarbonaat opgelost in water dat 33 promille Na Cl en 100 mg CO_2 per liter bevatte (= samenstelling van zeewater). De aktiviteit per ampul bleek nogal te variëren. Daarom zijn we overgegaan op 7 ml ampullen. Een ampul was nu voldoende voor een serie van 5 flesjes (zie ook onder). De toegediende aktiviteit was nu dezelfde voor alle flesjes van één serie. Bovendien was er nog over om de exakte hoeveelheid toegevoegde radioaktiviteit te meten. Het zeewater was van tevoren

gefiltreerd over een membraamfilter met een porediameter van $0,15\mu$ om plaatsvreemde organismen niet bij de proef in te sluiten.

Bij de metingen werd geen rekening gehouden met andere organismen, zoals bacteriën en dierlijke organismen b.v. *Hydrobia ulva*, aangezien de indruk bestaat dat de invloed op zo'n kleine schaal te verwaarlozen en in ieder geval niet meetbaar is.

Per meting werd een serie van 5 flesjes op deze manier behandeld. Eén van deze flesjes werd in een huls van synthetisch rubber gedaan (voor licht ondoorlaatbaar) voor de donker bepaling. De overige flesjes werden in een speciaal voor dit doel ontworpen perspex-houder gevat en op het wad vast gepind. Hieraan werd ook het D.B.- huls bevestigd (zie fig.2). Dit apparaat voldeed niet onder alle omstandigheden aangezien een enkele keer, voornamelijk bij ruw weer, flesjes losraakten en verdwenen en één maal een gehele serie verdween.

Aan het einde van de incubatieperiode worden de flesjes zo vlug mogelijk naar het laboratorium gebracht. Dit leverde bij hoogwater en/of moeilijke weersomstandigheden nog wel eens wat moeilijkheden op.

De waterige fase met daar in de slibfractie werd afgefiltreerd over een membraamfilter: (pore $0,15\mu$) met een onderdruk van maximaal 0,3 atmosfeer. Bij een hogere onderdruk kunnen de algen kapotgezogen worden, waardoor de excretie te hoog gemeten wordt en de productie te laag gemeten wordt. Met deze wijze van affiltreren komen er geen (autotrofe) bacteriën in het filtraat. De filters met residu werden daarna in telflesjes gedaan, waarin zich 10 ml van een mengsel van toluen P.P.O. en P.O.P.O.P. (de scintillatievloeistof (SCHRAM, 1963)) met 2- methoxyethanol bevond (WALLEN & GREEN, 1968). Deze laatste stof bezit de eigenschappen dat het water (het filter is nog nat) en de scintillatievloeistof een homogeen mengsel vormen en dat de filters

oplossen in het mengsel van deze samenstelling. Natte filters lossen beter op dan droge filters.

Door ALLISTER (1961) zijn argumenten gevonden om de filters na het affiltreren niet eerst nog boven HCl-damp te houden zoals vaak voorgeschreven wordt. Dit werd dan ook door ons achterwege gelaten.

De inhoud van de telflesjes wordt nu gedurende een minuut met een ultrasone desintegrator gedesintegreerd. Soms bleek de slib hoeveelheid per telflesje te groot, zodat er nog verdund moest worden.

Het filtraat werd in flesjes opgevangen waaraan 2,2 ml 0,1 HCl per 50 ml werd toegevoegd (pH 2,8). Dit diende er voor om de anorganische $^{14}\text{CO}_2$ er uit te drijven zodat alleen organische ^{14}C achter bleef. Om vermenging en uitdrijving van anorganisch $^{14}\text{CO}_2$ te bevorderen werden de flesjes in een doorluchttingsapparaat geplaatst (zie fig. 2). Na het doorluchten werd 1 of 2 ml in een telflesje gedaan met 10 ml van een mengsel van de scintillatievloeistof en biosolv (ANDERSON & ZEUTSCHEL, 1970). De laatste stof doet wederom water in oplossing gaan in dit mengsel.

Ondertussen werd de zandfractie met gefiltreerd zeewater uit het flesje gespoeld op een membraanfilter (pore ϕ van $0,45\mu$) en affiltreerd. Het verlies door deze wijze van affiltreren van autotrofe bacteriën kan ten opzichte van het totaal van de zandfractie verwaarloosd worden. De filters met het zand werden in een exsiccator geplaatst, tot het moment waarop de filters droog waren. De zandfilters werden opdezelfde wijze als de slibfilters behandeld. Het gewicht van het zand werd verkregen door het gewicht van het filter zonder zand af te trekken van het gewicht van het filter met zand. Een gedeelte van dit zand werd gewogen en in een telflesje gedaan. Hieraan werd eerst 4 gew % aerosil toegevoegd (SCHRAM, 1963). Een silikaat

verbinding met als eigenschap een gel te vormen met de scintillatievloeistof, die daaraan volgend tot een totaal 96 gew % werd toegevoegd. Dit alles met een volume van 20 ml. Door schudden ontstaat nu een gel waarin de zandkorreltjes hangen, hetgeen een beter telrendement geeft.

Voor de 3 verschillende scintillatievloeistofmengsels werden 3 ijkgrafieken gemaakt. Hier werden computerprogramma's voor ontwikkeld zodat de gegevens van het telapparaat snel in hanteerbare cijfers kunnen worden omgezet.

b. Andere parameters

Om een idee te krijgen van de "standing-crop" op de meetdagen werden chlorophylmetingen verricht aan de hand van een door LORENZEN (1967) ontwikkelde methode. Hoewel er aan deze methode nog vele haken en ogen zitten, werd er toch meegewerkt om in ieder geval een getal in handen te hebben. Deze waarden kunnen haast alleen voor onderling vergelijk gebruikt worden.

Op het hele uur werd de integrator van de solarimeter afgelezen, de Secchi waarde bepaald en de waterstand gemeten. Deze laatste twee om een correctie op de eerste toe te passen. Wanneer er namelijk water boven de plaats van incubatie staat, zal er minder licht doordringen dan wanneer er geen water boven staat. De lichtsterkte op de plaats van incubatie werd berekend met de formule:

$$I_d = I_o e^{\frac{-1.7 d}{S}} \quad (\text{HASLE, 1959})$$

waarbij I_d = de hoeveelheid licht die op de plaats van incubatie doordringt,

I_o = de gemeten hoeveelheid licht boven het wateroppervlak,

S = de gemeten Secchiwaarde in meters,

d = de hoogte van het water boven de plaats van
incubatie op het wad.

Tegelijkertijd werden de temperaturen van zowel het water boven het wad, indien binnen hand/loopbereik, als van de lucht gemeten. Soms werd bij laag water ook de temperatuur van het wad zelf gemeten.

c. Berekeningswijze

Alvorens over te gaan tot de resultaten zal eerst aan de hand van een gefingeerd voorbeeld, waarvan de getallen wel de juiste orde van grootte aangeven, de berekeningswijze van de produktie en het excretiepercentage uiteengezet worden (tabel I).

Tabel I

Voorbeeld van één serie van een meetdag alle activiteiten uitgedrukt in dpm (desintegraties per minuut).

Type fles	Filtraat (F)	F - R (R = restact.)	F-R-DB	Slib- fractie	Zand- fractie	Totaal
LB	2900	1900	1100	20.000	50.000	72.900
LB	2600	1600	800	28.000	60.000	89.600
DB	1800	800	-	2.400	6.000	9.200
LB	2700	1700	900	15.000	70.000	86.900
LB	3000	2000	1200	30.000	55.000	87.000

Van deze waarden is een achtergrond, afgetrokken. Dit maakt bij het hoge aantal counts van de slib- en zandfractie weinig uit. Maar bij lage aktiviteit van het filtraat kan deze achtergrond zelfs hoger

zijn dan de aktiviteit van het filtraat zelf. De achtergrond is voor de 3 scintillatievloei-stofmengsels verschillend en kan bovendien in de tijd nog wel variëren, zodat vooral bij de filtraat tellingen steeds weer een blanco meegeteld moet worden, om opnieuw de achtergrond te meten. Bij het filtraat moeten we rekening houden met de restaktiviteit van het anorganisch ^{14}C , alhoewel hier, zoals uit de literatuur blijkt, nooit rekening meegehouden is. Deze wordt op ± 1000 dpm's gesteld per 50 ml filtraat (zie VI. A.2). Deze waarde bleek om niet duidelijke reden(en) vaak te hoog. In dat geval werd de DB-waarde beschouwd als de restaktiviteit + donkerfixatie.

Voor de berekening van de totale produktie worden alle waarden per flesje bij elkaar opgeteld totaal dpm = LB of DB (1). Men weet door meting van pH en saliniteit hoeveel koolstof per flesje aanwezig is $\rightarrow W$ (2) (meestal $\pm \frac{25}{20}$ mg C/50 ml). Door de sterkte van de ampul te meten, weet men hoeveel men toegediend heeft aan gemerkt $^{14}\text{C} \rightarrow R$ (3) (meestal $\pm 7.000.000$ dpm) Uit (1), (2) en (3) volgt nu volgens:

$$\frac{(\text{LB of DB}) \times W \times 1,05}{R}$$

de produktie per tijd van incuberen per cm^2 .

Van de vier lichtwaarder neemt men het gemiddelde en trekt daarvan de DB-waarde af. Dit getal vermenigvuldigt men met 0,44, een correctie factor voor het uitéénvallen van de intakte kern in het flesje waardoor er meer licht kan inwerken op het monster dan onder natuurlijke omstandigheden normaal is.

Dit zelfde doet men met de andere series van de meetdag. Deze waarden telt men bij elkaar op om de totale produktie van die dag te vinden.

Als men dit getal met 10^4 vermenigvuldigt vindt men de produktie in $\text{mgC}/\text{m}^2/\text{dag}$.

Het excretiepercentage vindt men door van de filtraatwaarde de DB-waarde af te trekken. En nu geeft

$$\frac{(\text{LB Filtraat} - \text{DB Filtraat})}{\text{LB}} \times 100 \text{ het excretiepercentage.}$$

V. Resultaten

A. Excretie

1. Ijkgrafieken

De resultaten voor het bepalen van de ijkgrafieken van de drie verschillende scintillatievloei-stofmengsels zijn met bijbehorende gegevens weergegeven in figuur 3, 4 en 5.

2. Doorluchtingstijd

Om na te gaan of het doorluchten het gewenste effect had en om een minimale doorluchtingstijd te vinden, werden 2 flesjes met 50 ml gefiltreerd zeewater gevuld. Aan beide flesjes werd de inhoud van één 1 ml ampul- ^{14}C toegevoegd (5μ Curie). De flesjes werden aangezuurd en doorgelucht. Na 5, 10, 15, 30, 60, 120, 240 en 510 minuten werden beide flesjes in duplo bemonsterd. Hierdoor kwamen er per tijdstip 4 waarden te voorschijn. Van deze waarden werd het gemiddelde genomen en tesamen met de beide uitersten in figuur 6 uitgezet tegen de tijd.

3. Vorming van kleine deeltjes

Door het heftig doorborrelen kunnen processen van fysische en chemische aard plaatsgrijpen, waarbij partikel-tjesvorming optreedt. Deze processen kunnen ook plaatsgrijpen door het metabolisme van bacteriën maar aangezien we een membraanfilter (pore ϕ van $0,15 \mu$) gebruikten, kan dit uitgesloten worden. De partikel-tjesvorming kan

tot gevolg hebben dat er in een monster relatief gezien te weinig ^{14}C zit, omdat een gedeelte bezonken is. Dit werd nagegaan in een experiment met 2 flesjes, waaraan één 1 ml ampul- ^{14}C toegevoegd was, die aangezuurd en doorgelucht werden. Direct na het doorluchten, nadat de flesjes 12 uur stil gestaan hadden en na deze periode stevig omgeschud waren, werd in duplo uit beide flesjes bemonsterd. (tabel II).

Tabel II

Gevolgen van deeltjes vorming op activiteit van filtraat.

Behandeling	Fles	dpm per 50 ml filtraat		
		duplo's	gem.	gem.
Direct na doorluchten	A	1132	1047	
		1061		1127
	B	1110	1157	
na 12 uur stilstaan	C	1205		
		927	1004	
	D	1080		1097
		1055	1132	
geschud na 12 uur stilstaan	E	1209		
		1000	1020	
	F	1039	1093	
		1074		1056
		1112		

Mogelijk zou dit experiment ook nog een keer met organische ^{14}C opgezet kunnen worden.

4. NaOH-toevoeging

Uit de literatuur (o.a. WATT, 1966) blijkt dat sommige onderzoekers er de voorkeur aangeven om na het doorluchten het filtraat weer basisch te maken. De preciese reden hiervan komt nergens

duidelijk naar voren. Daarom werd een experiment opgezet met steeds 2 flesjes waaraan 4 verschillende combinaties van stoffen toegevoegd werden: A met 1 ampul- ^{14}C , B 1 ampul- ^{14}C + ^{14}C -sucrose (± 22.0000 dpm), C ^{14}C -sucrose en D 1 ampul- ^{14}C + ^{14}C -sucrose + NaOH. De NaOH toevoeging resulteerde in een pH van 10. (tabel III).

Tabel III

Effect van NaOH toevoeging op filtraat. (1 ampul C^{14} bevat $5/\mu \text{C} = 11,1 \times 10^6$ dpm, 1 ml C^{14} sucrose $2,2 \times 10^5$ dpm).

Toevoeging aan gefiltreerd zeewater	Fles	dpm per 50 ml filtraat				
		duplo	gem.	gem.	-achter- grond	-Restact.
1 Ampul C^{14}	A	4205	4126			
		4047		3898	1280	
	B	3528	3670			
		3812				
1 Ampul C^{14} + 1 ml ^{14}C -sucrose	C	228365	220485			
		213605		224690	222272	220992
	D	233641	228405			
		223169				
1 ml C^{14} -sucrose	E	227372	223143			
		219013		222545	220117	220117
		227576	221897			
		216217				
1 ml C^{14} -sucrose + 1 Ampul C^{14} + Na OH	G	222819	222787			
		222754		228525	226107	223689
		236755	234262			
		231767				

5. Navicula-experiment

Om na te gaan of met de gebruikte methode inderdaad excretie gemeten kon worden, werd een experiment opgezet met *Navicula grevillei*. Deze diatomeeën soort komt talrijk voor in het voorjaar op vaste substraten in de Waddenzee (i.c. het ponton van de N.I.O.Z. haven). Ze vormt slijmkokertjes, waarin talrijke individuen leven, die als bruine toefjes (de kokertjes wel te verstaan) makroskopisch waar te nemen zijn. De proef werd op dezelfde wijze uitgevoerd als de produktie-metingen, alleen werden de flessen nu drijvend aan het wateroppervlak geïncubeerd (tabel IV).

Tabel IV

Meetgegevens excretie proef met *Navicula grevillei*.

Datum	Licht Cal/cm ²	Temp. °C	Sal. ‰	Chlor. µgr/g algen	Pheopigment µgr/g algen	Produktie mgC/g algen	Excretie %
28-4-'71	322	7,4-11,0	29,3	1,7-7,4	-	5,4-3,5	8,4-28,0
5-5-'71	336	11,0-14,3	?	0,7-1,5	-	1,2-3,0	25,6-32,7

B. Produktie

1. Chlorophyl bepalingen

Om de reproducerbaarheid van de chlorophyl bepalingen te toetsen werden op een meetdag, i.p.v. één, tien oppervlakte monsters genomen en hiervan het chlorophyl gehalte berekend (tabel V). Ook de pheopigment waarden werden berekend en de totalen van chlorophyl- en pheopigment gehalten.

Tabel V

Reproduceerbaarheid van chlorophyl bepalingen monsters van NIOZ
wad 3-6-1971.

Nummer	Chlor. µgr/g sediment	Pheopigment µg/g sediment	Totaal pigment µg/g sediment
1	5,1	0,9	6,0
2	4,8	0,1	4,9
3	4,3	0,7	5,0
4	4,7	1,3	6,0
5	6,0	-	6,0
6 [±]	3,2	1,7	4,9
7	6,4	0,1	6,5
8	5,0	-	5,0
9	5,1	0,3	5,4
10	4,3	-	4,3
Gemiddelde	4,89	0,51	5,40
Standaard deviatie	0,89	0,61	0,60
SD % v.gemid.	18,2	119,6	12,8
Gem. zonder 6 [±]	5,07	0,38	5,46
SD "	0,71	0,48	0,71
SD%v.gem. "	14,0	126,3	13,0

2. Antibiotica en dubbele hoeveelheid ¹⁴C

Om het effect van autotrofe bacteriën (zowel foto-als chemo-) op de vastlegging van anorganisch ¹⁴C na te gaan, werd een experiment opgezet met een voor bacteriën schadelijke hoeveelheid antibiotica (20 internationale eenheden penicilline + 10 µ gr streptomycine/ml). In hoeverre deze antibiotica ook een effect hebben op het metabolisme van de diatomeeën zelf, kon niet nagegaan worden. Maar dit lijkt

vooral nog gezien de concentratie niet groot.

Hier bij werd bovendien een experiment opgezet met een dubbele hoeveelheid ^{14}C met een tweeledig doel: 1°. Om het effect na te gaan van het in dubbele hoeveelheid aanbieden van ^{14}C (correctiefactor verdubbelt misschien) 2°. Door grotere opname van $^{14}\text{CO}_2$ in absolute zin kan een excretie gemeten worden, aan een grotere hoeveelheid organisch ^{14}C . Dit kan gunstig zijn i.v.m. fouten die in de methode kunnen zitten (tabel VI).

Tabel VI

Effect van toevoeging van antibiotica en dubbele hoeveelheid C^{14}
10-6-1971 licht 155 cal/cm^2 temperatuur $15.5-21.2^\circ\text{C}$ tijdsduur
13.00 - 16.00 uur.

Behandeling	Productie mgC/m^2	% excretie
1 Ampul C^{14}	45,0	< 1
2 Ampul C^{14}	45,5	< 1
1 Ampul $\text{C}^{14} +$ antibiotica	34,0	< 1

3. N.I.O.Z. - Wad

De gegevens die verkregen werden van de meetdagen waarop op het wad naast de N.I.O.Z. - haven gemeten werd zijn weergegeven in figuur 7 tabel VII. Zo mogelijk werd eenmaal per maand of vaker gemeten. De gegevens zijn totaal gegevens verkregen uit de 2-4 series van de meetdag.

Bij de temperatuur kan nog gezegd worden, dat dit de laagste en

de hoogste temperatuur van die meetdag voorstelt waar aan de geïncubeerde flesjes zijn blootgesteld geweest.

Tabel VII

Meetgegevens N.I.O.Z. Wad.

Datum	Temp. °C	Licht op wad Cal/cm ² /dag	Chlor. µgr/g sed.	Pheopigment µgr/g sed.	Productie mgC/m ² /dag	Excretie % van prod.
24-2-71	4,0- 7,0	46	6,4	1,3	51,5	3
10-3-71	1,4- 5,2	155	4,4	0,7	85,3	5
1-4-71	3,5-11,2	133	7,1	0,5	123,8	4
8-5-71	10,4-16,2	235	-	-	187	2
(18-5-71	-	-	7,7	-)	-	-
3-6-71	16,3-20,6	286	4,9	0,4	332	0,6
16-6-71	8,8-16,0	490	3,1	-	330	0,3
30-6-71	11,3-16,5	491	3,7	0,5	190	0,3

4. Mokbaai en Wadtoren

De verkregen gegevens zijn weergegeven in fig. 8, tabel VIII en IX. De bemonstering vindt plaats vanaf verschillende punten respectievelijk in de buurt van de wadtoren (3 km uit de kust tussen Oudeschild en de Cocksdorp) en verspreid over de Mokbaai. De incubatie geschiedde op één punt. Deze opzet was een poging om te trachten een inzicht te krijgen in wat er gebeurt als men monsters met verschillende chlorophyl gehalten blootstelt aan dezelfde temperaturen, licht hoeveelheden en waterstanden.

Op de wadtoren werd getracht nog iets anders te onderzoeken. Een

Tabel VIII

Meetgegevens Mokbaai 16-6-1971.. (temperatuur 10,2-14,8 °C, Saliniteit 28,3‰, licht 490 Cal/cm²/dag).

Type bodem	Chlor. μgr/g sed.	Pheopigment μgr/g sed.	Produktie mgC/m ² 1 ^e ½ dag	Excretie % van produktie
1 Minder slibrijk	3,1	-	189	0,3
2 Slibrijk	3,5	2,5	187	0,8
3 Zeer	2,6	1,3	172	0,7
4 Slibrijk	3,6	7,2	178	1,7
5 Minder slibrijk	2,9	1,5	85,4	1,9
6 Minder zandig door pierenspitters gestoord	1,7	1,6	40,0	0,6
7 Zandig	8,6	0,5	235	0,3

Tabel IX

Meetgegevens Wadtoren 30-6-1971. (temperatuur 13,5 - 18,1 °C, Saliniteit 31,6 ‰, licht 491 Cal/cm²/dag).

Plaats	Chlor. μgr/g sed.	Pheopigment μgr/g sed.	Produktie mgC/m ² 1 ^e ½ dag 2 ^e ½ dag	Excretie % van produktie
Wadtoren	4,2	-	267,5 86,4	5
500 m richting kust	2,1	0,4	148,7	3
1000 m " "	2,7	0,1	151,7	1
1500 m " "	2,6	1,0	140,9	5

normaal voorbereide serie werd gedurende een aantal uren ingezet. Der werd de waterige fase afgefiltreerd. De flesjes werden wederom met gefiltreerd zeewater bij gevuld, maar nu werd er geen anorg. ^{14}C aan toegevoegd. De serie werd hierna weer geincubeerd en op de bekende wijze na een aantal uren behandeld. Dit alles met de opzet om een idee te krijgen van het verloop van de excretie. Helaas was de filtreer-apparatuur te gebrekkig.

VI. Bespreking van de resultaten en conclusies

A. Excretie

1. Het scintillatievloeistof-telapparaat, levert ons waarden op die iets zeggen over de radioactiviteit (Z) in "counts per minute" (cpm) in ons telflesje en de mate van doving (x) waarmee deze radioactiviteit gemeten is.

Als men het apparaat (voor elke telvloeistof verschillend) op de juiste manier afstelt, kan men met behulp van een dovingreeks een lineair verband vinden tussen de doving en de efficiency (y) (SCHRAM, 1963). Dit heeft het voordeel dat men uit dit lineair verband een functie kan afleiden van de vorm $y = ax + b$. Van deze functie kan men als maat van betrouwbaarheid de regressie (r) bepalen. Deze regressie blijkt bij de drie gebruikte scintillatievloeistofmengsels tot hoge waarden op te voeren te zijn. Dit wijst dus op een hoge betrouwbaarheid van de ijkgrafieken. (fig. 3, 4 en 5).

Men moet wel trachten om bij het maken van nieuwe mengsels zo nauwkeurig mogelijk te zijn. Want als de nieuwe voorraden niet dezelfde samenstelling hebben als de voorafgaande, is men genoodzaakt opnieuw ijkgrafieken te maken.

Aangezien $y (=ax + b)$ de efficiency geeft, waarmee geteld is,

geeft $\frac{100}{ax+b}$ het getal waarmee Z (=cpm) vermenigvuldigd moet worden om de totale aktiviteit in "desintegrations per minute" (dpm) in ons telflesje te weten te komen.

Dit getal moet vermenigvuldigd worden met

$$\frac{\text{totaal volume}}{\text{geteld volume}} \quad \text{of} \quad \frac{\text{totaal gewicht}}{\text{geteld gewicht}}$$

Om de totale aktiviteit van ons filtraat respectievelijk zandfractie te krijgen. Deze handeling behoeft voor de slibfractie niet verricht te worden omdat deze in zijn geheel geteld is.

De totaal formule voor de radioaktiviteit van het serieflesje wordt dan:

$$\left(\frac{100}{a_1 x_1 + b_1} x Z_1^{xv_1} + \frac{100}{a_2 x_2 + b_2} x Z_2 + \frac{100}{a_2 x_3 + b_2} x Z_3 + \frac{100}{a_3 x_4 + b_3} x Z_4^{xv_2} \right) = \text{LB of DB}$$

waarin

$(a_1 ; b_1)$, $(a_2 ; b_2)$ en $(a_3 ; b_3)$ de constanten voorstellen van respectievelijk scintillatievloei-stof en biosolv, scintillatievloei-stof en methoxyethanol en scintillatievloei-stof en aerosil; Z_1 t/m Z_2 de cpm van respectievelijk filtraat in telflesje, slibfilter, zandfilter en zandfractie in telflesje; x_1 t/m x_4 de dovingen gemeten van respectievelijk filtraat, slibfilter, zandfilter en zandfractie:

$$v_1 = \frac{\text{totaal volume filtraat}}{\text{geteld volume filtraat}} \quad (\text{meestal } \frac{50}{1}) \quad \text{en} \quad v_2 = \frac{\text{tot. gew. zand}}{\text{geteld gew. zand}}$$

De eerste term stelt dus de filtraat waarde voor (LBF of DBF).

Nu geeft $\frac{\text{LBF} - \text{DBF}}{\text{LB}} \times 100$ het excretiepercentage van de totale produktie.

2. Doorluchtingstijd

Zoals uit figuur 6 blijkt is een minimum doorluchtingstijd van 120 min. voldoende om een constante restaktiviteit in de flesjes te

bereiken, die niet meer lager wordt.

De geringe toename bij 510 min. kan misschien toegeschreven worden aan het relatief minder uittreden van ^{14}C ten opzichte van ^{12}C door verdamping. Het begin volume van 50 ml is op tijdstip 510 min. zowel door het afnemen van milliliters ter telling als door verdamping gedaald tot ± 25 ml.

Hoewel de exacte hoeveelheid lucht, die doorgeborreld werd, niet berekend is, werd er d.m.v. een "shunt" in de aanvoerleiding van de perslucht (zie fig. 2) naar gestreefd om te grote onderlinge verschillen, bij dezelfde tijd van doorluchten, bij los van elkaar staande series te vermijden. Dit gebeurde met een kleine zuiger in de "shunt" die tussen bepaalde grenzen gehouden werd.

3. Vorming van kleine deeltjes

De gevolgen van deeltjesvorming zijn zeer klein (tabel II). Het is zelfs de vraag of deze kleine verschillen in uitkomst wel aan dit verschijnsel toegeschreven zouden moeten worden.

Om dit effect toch zoveel mogelijk uit te sluiten werden de flesjes, voordat er monsters voor een telling uitgenomen werden, goed omgeschud. Vooral als de flesjes na het door luchten een langere tijd hadden stilgestaan.

4. NaOH- toevoeging

Uit Tabel III blijkt dat de NaOH-toevoeging aan het filtraat geen duidelijke gevolgen heeft. Dat sommige onderzoekers toch NaOH toevoegen kan verband houden met de wijze waarop door hen de radioactiviteit in het monster gemeten wordt. Door ons werd verder afgezien van deze toevoeging, mede omdat de filtraatsterkte toch meestal direct na het doorluchten gemeten wordt, zodat dan elke toevoeging een zeer gering

effect zal sorteren.

5. Navicula-experiment

Hoewel bij Navicula excretie aangetoond werd (tabel IV) zijn de cijfers waarschijnlijk geflatteerd, doordat de algen na het drogen een harde koek vormden, die niet gedesintegreerd kon worden. Hier door kan een te lage waarde gemeten zijn voor de primaire produktie. Waarschijnlijk zal de totale primaire produktie hoger geweest zijn en daardoor het excretiepercentage lager.

NB. Opvallend is de hogere produktie per chlorophyl eenheid vergeleken met de waarden van de bodemproduktiemetingen.

B. Produktie

1. Chlorophyl-bepalingen

De standaarddeviatie van de 10 chlorophylbepalingen (zie tabel V) blijkt hoog te zijn namelijk $\pm 18,2\%$. Als we echter de pheopigment waarden er bij beschouwen en er van uitgaan dat deze waarden een maat zijn voor het chlorophyl dat in afgebroken vorm aanwezig is, dan zien we dat de waarde 3,2 gecorreleerd is met een hoge pheopigment waarde. Dit kan een juiste meting zijn, maar er kan ook een fout bij de bepaling gemaakt zijn. Het komt voor dat bij een foute handeling tijdens de bepaling chlorophyl afgebroken wordt. Als we deze waarde buiten beschouwing laten vinden we een standaarddeviatie van $\pm 14,0\%$. We kunnen nog verder gaan en de standaarddeviatie van wat totaal aan pigment aanwezig is bij de tien bepalingen uitrekenen $\pm 12,8\%$. Het blijkt dus dat de standaarddeviatie van de drie series van pigmentwaarden erg hoog is. Maar de standaarddeviatie van de totalen is het kleinst en dit roept twijfels op aangaande de betrouwbaarheid van de methode wat betreft het scheiden van afgebroken en niet afgebroken

chlorophyl. Dit wordt nog duidelijker geïllustreerd door de standaarddeviatie van de pheopigment getallen, welke groter is dan het gemiddelde!

2. Antibiotica en dubbele hoeveelheid ^{14}C

De antibiotica blijken de produktie met ongeveer 25% te drukken (tabel VI). In hoeverre hier verregaande conclusies aan verbonden moeten worden is (nog) niet duidelijk. Gedacht zou kunnen worden aan een experiment over langere termijn waarbij GeO_2 aan het milieu wordt toegevoegd (LEWIN, 1966), zodat de invloed van diatomeeën op de vastlegging van CO_2 wordt uitgeschakeld. GeO_2 is een verbinding die door diatomeeën niet onderscheiden wordt van SiO_2 , waardoor het kiezelskelet door volgende generaties opgebouwd wordt met daarin GeO_2 . De diatomeeën functioneren nu niet meer goed en kunnen zich niet voortplanten, en groeien dood. Deze opzet is het omgekeerde van de opzet met antibiotica, waar we het effect niet van weten op de diatomeeën zelf, maar de andere organismen dus niet alleen bacteriën, kunnen nu in de meting ingesloten worden.

Bij dit experiment bleek dat de $^{14}\text{CO}_2$ hoeveelheid geen effect heeft op de correctiefactor, omdat wanneer men met 1,05 werkt er het zelfde resultaat uit komt voor de produktie. Tevens bleek een dubbele hoeveelheid $^{14}\text{CO}_2$ een dubbele hoeveelheid organisch- ^{14}C als excretieprodukten in het milieu op te leveren. Zodat er indien men nauwkeuriger wil werken voor gegevens over de excretie beter meer anorg. ^{14}C toegevend kan worden.

3. N.I.O.Z. - Wad

Uit figuur 7 kunnen we een aantal voor de hand liggende conclusies trekken voor de eerste helft van het kalender jaar:

- 1° De temperatuur van water en lucht neemt toe.
- 2° De lichthoeveelheid per dag neemt toe.
- 3° Er is geen regelmatig verloop van het chlorophyl te constateren.
- 4° De pheopigment-waarden lijken tegen de zomer af te nemen.
- 5° De totale produktie neemt toe tot 6 juni. CADÉE (mond. med.) vond voor vorige jaren een ongeveer twee maal zo hoge produktie.
- 6° De excretiepercentage neemt bij het toenemen van de produktie af. Het kan zijn dat deze afname van de excretie ergens anders mee gecorreleerd is, dat los van de totale produktie staat. HELLEBUST (1965) & WATT (1967), vinden ook een negatieve correlatie hoewel ANDERSON & ZEUTSCHER (1970) juist een positief verband vinden tussen produktie en excretiepercentage.
- 7° In het voorjaar is er een toename waar te nemen van de absolute excretie.

De lengte van de meetperiode (4-8 uur) kan aangevochten worden. Mits deze meetperiode niet te groot wordt maakt dit echter weinig uit. (mond. med. CADÉE). Helaas mislukte een experiment om dit nog nader te onderzoeken. Het experiment (zie VI.B.4) voor het onderzoek naar het verloop van de excretie in de tijd zou hier mee gecombineerd kunnen worden.

Bij de proefopstelling werd gebruik gemaakt van gewoon glas. Dit betekent dat licht selectief doorgelaten wordt (geen UV!). Een experiment door CADÉE opgezet met kwarts en gewoon glas leverde in dit opzicht geen duidelijke verschillen op.

Een poging om de produktie per eenheid van licht uit te zetten tegen de chlorophyl gehalten (zie ook VI.B.4) leverde geen resultaten op

4. Mokbaai en Wadtoren

Het belangrijkste wat gevonden werd bij de experimenten in de Mokbaai en bij de wadtoren (fig. 8 en tabel 8) is het verband tussen chlorophylconcentratie en produktie. Hierbij kan gewezen worden op wat RYTHER (1956b) vond: een lineair verband tussen chlorophyl en produktie.

Van de excretiepercentages kan weinig gezegd worden. Hierbij moet opgemerkt worden dat die van de wadtoren waarschijnlijk niet betrouwbaar zijn omdat de onderdruk bij het affiltreren met een handpomp niet constant op 0,3 atm. gehouden kon worden.

Er kon geen verband gelegd worden tussen de korrelgrootte verdeling van het sediment en de produktie in de Mokbaai.

Uit het experiment op de wadtoren over het verloop van de excretie in de tijd, kan met goed fatsoen niets geconcludeerd worden. Een betere opzet zou zijn om drie series te nemen. Eén hier van behandelt men halverwege op de normale wijze; de tweede behandelt men aan het eind van het experiment ook de normale wijze; de derde serie giet men halverwege af en vult ze dan, zonder de flesjes opnieuw van anorganisch ^{14}C te voorzien, weer met gefiltreerd zeewater.

Dit kan men uitbreiden met een willekeurig aantal tijdstippen om het verloop nog beter te kunnen vervolgen.

Als de resultaten van de Mokbaai en wadtoren in produktie/licht-eenheid tegen chlorophyl uitgezet worden, blijken de grafieken niet samen te vallen. Het uitzetten van de gegevens van het N.I.O.Z. wad (produktie/lichteenheid tegen chlorophyl) levert geen duidelijk resultaat op. Er kan hierbij gedacht worden aan de invloed van temperatuur en de kwaliteit van het licht door de verschillende waterstanden, naast de invloed van de kwantiteit van het licht. Dit wordt bij deze manier van uitzetten niet in overweging genomen.

VII. Discussie

Om onze gedachten te bepalen kunnen we proberen een algemeen beeld op te bouwen van de produktie en excretie van respectievelijk door de microflora op de wadden.

Om dit beter tot zijn recht te laten komen zal geprobeerd worden dit in een iets breder verband te beschouwen.

Als we uitgaan van een populatie van algen die x groot is, kunnen we hier de productie van meten. Die grootte kan uitgedrukt worden in diverse éénheden zoals bijvoorbeeld aantal individuen, een chlorophyl getal per oppervlakte-eenheid enz.

De populatie kan groeien of kleiner worden ($+ \text{ en } - y$) - y kan plaats vinden doordat de populatie gedeeltelijk sterft, opgevreten wordt of het aantal individuen weliswaar gelijk blijft, maar het gewicht per individu af neemt. $+ y$ kan plaatsvinden doordat CO_2 , H_2O en andere anorganische (en misschien ook wel organische) verbindingen worden vastgelegd. Een gedeelte hiervan (y') en natuurlijk een gedeelte (x') van de uitgangshoeveelheid organisch materiaal wordt verbrand. Van deze verbrandingsresten kan weer direct een gedeelte gereassimileerd worden (x'' en y''). Zodat we te maken krijgen met $x + (\pm y - (y' + x' - x'' + y''))$. Hierin stelt $y - (y' + x' - x'' + y'')$ de reële toename voor

Het beeld wordt nog gecompliceerder als we bedenken dat er passieve en/of actieve excretie (z) kan optreden. Onder passief verstaan we excretie van stoffen die te wijten is aan "lekken" in het produktie proces. De excretie produkten kunnen bijvoorbeeld door diffusie naar buiten treden of door vraat in het milieu terecht komen. Onder actieve excretie verstaan we een excretie die door bepaalde processen een onderdeel vormt van de normale produktie en waarbij excretie een direkte rol speelt in het produktie proces. Bijvoorbeeld de fotosynthese

capaciteit is groter dan de verwerkingscapaciteit en het te veel aan koolhydraten wordt uitgescheiden. Deze excretieprodukten kunnen zowel van de juist ontstane toename (y) als ook van de "standing-crop" x afkomstig zijn (z_x en z_y). We kunnen de formule voor de produktie uitbreiden tot $x + (\pm y - (y' + x' - x'' + y'')) - z_x - z_y$. Bij onze meetmethode meten we alleen waarden waarin y voorkomt. De toename (y) met het verschil tussen y' en y'' daarvan afgetrokken en z_y . Totale produktie wat wij dus meten, is gelijk aan $y - (y' - y'') + z_y$.

We kunnen bij deze processen, welke bij de productie plaatsvinden en waarbij excretie optreedt, denken aan een invloed van temperatuur, licht, trophiegraad van het water en O_2 - en CO_2 - spanning in het water (zie ook CHAPMAN & RAE, 1969). Zij menen dat er 2 systemen werkzaam zijn: één waarbij constant een hoeveelheid micromoleculen worden uitgescheiden en één waarbij onder extreme omstandigheden macromoleculen worden uitgescheiden. Het eerste systeem maakt slechts een klein gedeelte van de produktie uit. Het tweede systeem kan een hoog percentage van de produktie vormen.

Als we ons verdiepen in de functies van de excretie produkten moeten we bedenken dat opgeloste organische verbindingen niet alleen van algen afkomstig zullen zijn. Ook andere organismen kunnen excretie plegen. Zowel in de vorm van defaecatie als in de vorm van andere afscheidingen (b.v. het afzetten van slijm door mollusken) HELLEBUST (1967) vond dat van de totale primaire produktie van phytoplankton 10% wordt uitgescheiden. Van de rest wordt het grootste gedeelte opgegeten en bij dit eten komt 15% van de produktie vrij. De totale excretie 25%. HARGRAVE (1971) geeft een idee wat er met het gegeten deel van de primaire produktie bij een amphipode gebeurt: 15% dient voor groei 36% wordt uitgescheiden en 49% wordt gebruikt voor het

metabolisme.

Als we in ogenschouw nemen wat het karakter is van de uitgescheiden stoffen, dan blijkt dat er reeds van de meeste organische hoofdgroepen excretie is aangetoond, zoals koolhydraten, aminozuren, organische zuren, vitaminen, nucleïnezuren en eiwitten. (AARONSON, 1971) (HELLEBUST (1967) vindt dat populaties onder goede omstandigheden gekweekt geen proteïnen uitscheiden).

Al deze soorten van excretieprodukten kunnen aanleiding zijn tot zeer uiteenlopende speculaties over de functie van de excretieprodukten.

- 1° Reservoir van reservestoffen voor tijden met mindere voedselomstandigheden voor zowel primaire als secundaire producenten.
- 2° Hoewel vitaminen waarschijnlijk niet voor het grootste gedeelte vrij in het milieu terecht komen door algen kan de excretie hiervan toch een bron zijn voor een essentieel vitamine voor een onderdeel van de levensgemeenschap (AARONSON, 1971).
- 3° De excretieprodukten zouden metaalionen kunnen binden en zodoende in hun (giftige?) werking kunnen belemmeren.
- 4° Ook kan er gewezen worden op het uitscheiden van groei-remmers en bevorderaars (CHAPMAN & RAE, 1969).
- 5° De fotosynthese capaciteit is groter dan de verwerkingscapaciteit per individu (CHAPMAN & RAE, 1969) (zie ook boven).
- 6° Ze kunnen een rol spelen als sexattractantia (chemotaxis) voor de algen onderling.
- 7° Voedsel voor evertibraten. Deze blijken nl. ook opgeloste stoffen op te nemen (STEPHENS, 1966).

Waarbij 1°, 2° en 3° een functie hebben voor de algen zelf en andere organismen, 4°, 5°, en 6° alleen voor de algen van belang zijn en 7° alleen andere organismen ten nutte is.

Als we het kwantitatieve aandeel beschouwen van de door ons gemeten excretie in het totaal van wat de waddenzee zou leveren kunnen we als volgt redeneren.

DUURSMA (1961) kwam tot de conclusie dat per tij in de westelijke Waddenzee 44000 kg opgeloste C gevormd wordt, volgens hem door afbraak van deeltjes organisch materiaal. Per jaar komt dit neer op een vorming van $2 \times 365 \times 44000$ kg opgelost C = $\pm 32 \times 10^6$ kg opgelost C.

We kunnen nu aan de hand van jaar produktiecijfers en excretie-cijfers voor de microflora van de wadden nagaan hoe groot het percentage is van deze opgeloste C, dat door de microflora op de wadden gevormd wordt.

Als we een jaar produktie aannemen van 100 grC/m^2 en als het wadoppervlak in de westelijke waddenzee 150 km^2 is (POSTMA, 1954) en als gemiddelde excretie nemen 3%, dan levert de microflora van de wadden $0,03 \times 150 \times 10^6 \times 0,1$ kg opgelost C/jaar = $0,45 \times 10^6$ kg opgelost C/jaar d.i. 1,4 % van het in de westelijke Waddenzee gevormde opgelost C.

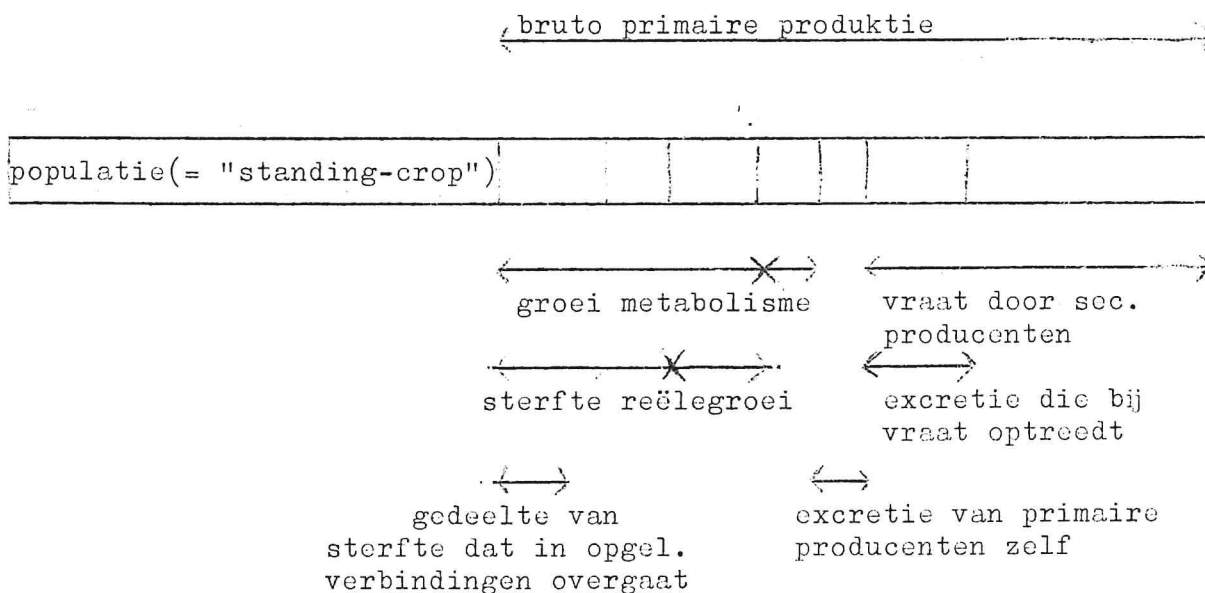
Phytoplankton zal ook opgelost C leveren. Dit aandeel kunnen we schatten als we uitgaan van eenzelfde excretie percentage van 3% (dit moet nog gemeten worden). Als we uitgaan van een water oppervlak van 540 km^2 (POSTMA, 1954) en een produktie van 100 grC/jaar/m^2 dan vinden we voor de produktie van opgeloste C $0,03 \times 540 \times 10^6 \times 0,1$ kg opgelost C = $1,62 \times 10^6$ kg opgelost C/jaar d.i. 5,1% van het in de westelijke Waddenzee gevormde opgeloste C.

Nu komt er niet alleen C vrij bij primaire produktie maar ook als

de primaire producenten worden opgegeten of sterven en microbieël worden afgebroken HELLEBURST (1967) vond voor phytoplankton dat 15% van de primaire produktie door consumptie in opgeloste vorm in het water komt. POSTMA (1954) schat dat per tij 20 - 40000 kg C vrij komt door consumptie ($= 14,6 - 29,2 \times 10^6$ kg opgelost C/jaar).

Excretie van primaire producenten speelt dus inderdaad een ondergeschikte rol bij de vorming van opgeloste organische C in de westelijke Waddenzee ($\pm 6,5\%$). Het meeste zal inderdaad vrij komen bij consumptie of microbiële afbraak van organische deeltjes.

Om produktie en excretie van de primaire producenten in één figuur samen te vatten wordt deze hier bijgevoegd. De afmetingen suggereren niet met riële verhouding overeen te komen.



Tenslotte wilde ik Maartje Goënga en Jan Hegeman hartelijk danken voor alle hulp die zij mij gegeven hebben, onder de meest uiteenlopende omstandigheden tijdens het werk voor dit onderzoek.

VIII. Literatuur

- AARONSON, S., 1971. The synthesis of extracellular macromolecules by a population of the phytoflagellate *Ochromonas danica*. - Limnol. and Oceanogr. 16 (1): 1-9.
- ALLISTER, C.D. Mc-, 1961. Decontamination of filters in the ^{14}C - method of measuring marine photosynthesis. - Limnol. and Oceanogr. 6: 447-450.
- ANDERSON, G.C. & R.P. ZEUTSCHEL, 1970. Released of dissolved organic matter by marine phytoplankton in coastal waters and off-shore areas of the northeast Pacific Ocean. - Limnol. and Oceanogr. 15 (3): 402-407.
- CHAPMAN, G. & A.C. RAE, 1969. Excretion of photosynthate by a benthic diatom. - Mar. Biol. 3: 341-351.
- DUURSMA, E.K., 1961. Dissolved organic carbon nitrogen and phosphorus in the sea. - Neth. J. Sea Res. 1: 1-148
- , 1963. The production of dissolved organic matter in the sea, as related to the primary gross production of organic matter. - Neth. J. Sea Res. 2: 85-94.
- HARGRAVE, B.T., 1971. An energy budget for a deposit-feeding Amphipod. - Limnol. and Oceanogr. 16 (1):
- HASLE, G.R., 1959. A quantitative study of phytoplankton from the equatorial Pacific. - Deep. Sea Research 6: 38-59
- HELLEBUST, J.A., 1967. Excretion of organic compounds by cultured and natural populations of marine phytoplankton. In: G.H. Lauff. Estuaries.
- LORENZEN, C.J., 1967. Determination of chlorophyll and pheopigment by spectrophotometric equations. - Limnol. and Oceanogr. 14: 343-345.

- LEWIN, J., 1966. Silicon metabolism in diatoms. - *Phycologia* 6 (1): 1-12.
- POSTMA, H., 1954. Hydrography of the Dutch Wadden Sea. - *Arch. Néerl. Zool.* 10: 405-511.
- POSTMA, H. & J. ROMMETS, 1970. Primary production in the Wadden Sea.- *Neth. J. Sea Res.* 4: 470-493.
- RYTHER, J.H., 1956a. Interrelation between photosynthesis and respiration in the marine flagellate *Dunaliella euchlora*. - *Nature*, no.4538, 861-863.
- , 1956b. The measurement of primary production. - *Limnol. and Oceanogr.* 1: 72-84.
- SCHRAM, E., 1963. Organic scintillation detectors. Elsevier, Amsterdam.
- SHELDON, R.W., T.P.T. EVELYN & T.R. PARSONS, 1967. On the occurrence and formation of small particles in seawater. - *Limnol. and Oceanogr.* 12 (3): 367-375.
- STEEMANN NIELSEN, E., 1964. Recent advances in measuring and understanding marine primary production. - *J. of Ecology* 52 (suppl.): 119-130.
- STEPHENS, G.C., 1966. Dissolved organic material as a nutritional source for marine and estuarine invertebrates. In: G.H. Lauff *Estuaries*.
- WALLEN, D.G. & G.H. GREEN, 1968. Loss of radioactivity during storage of ^{14}C - labelled phytoplankton on membranefilters. - *J. Fish. Res. Bd. Canada* 25 (10): 2219-2224.
- WATT, W.P., 1966. Release of dissolved organic material from the cells of phytoplankton populations. - *Proc. Roy. Soc. London*, 164 (Serie B): 521-551.

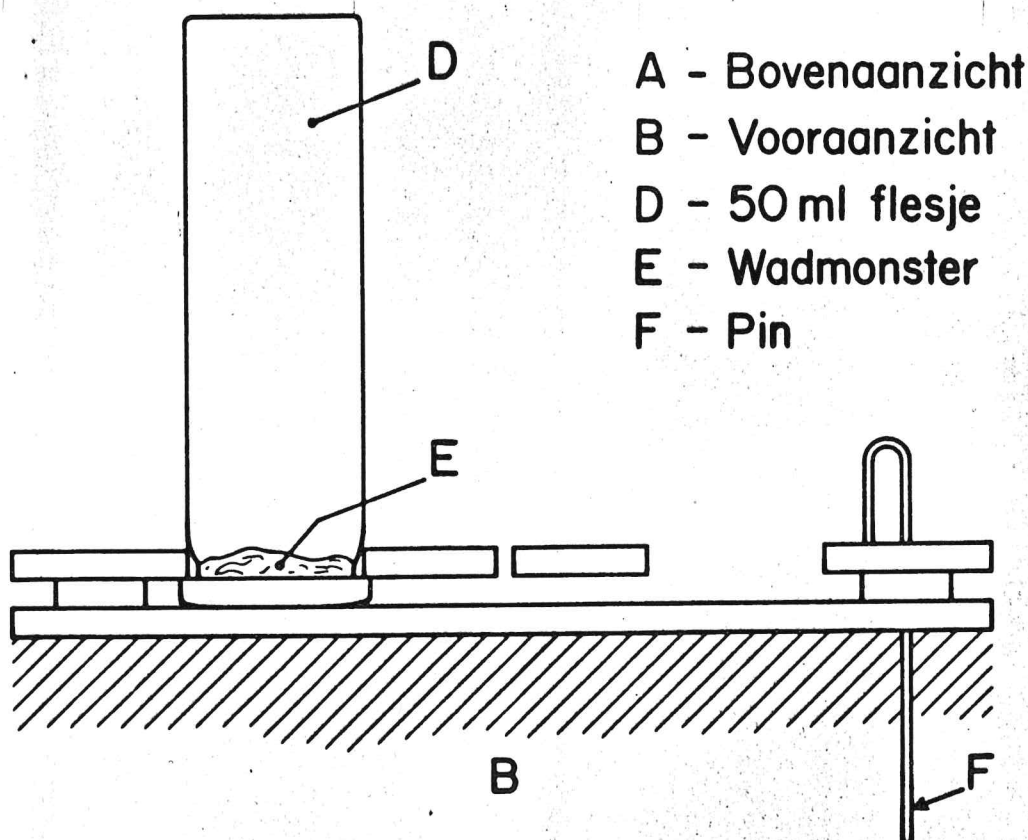
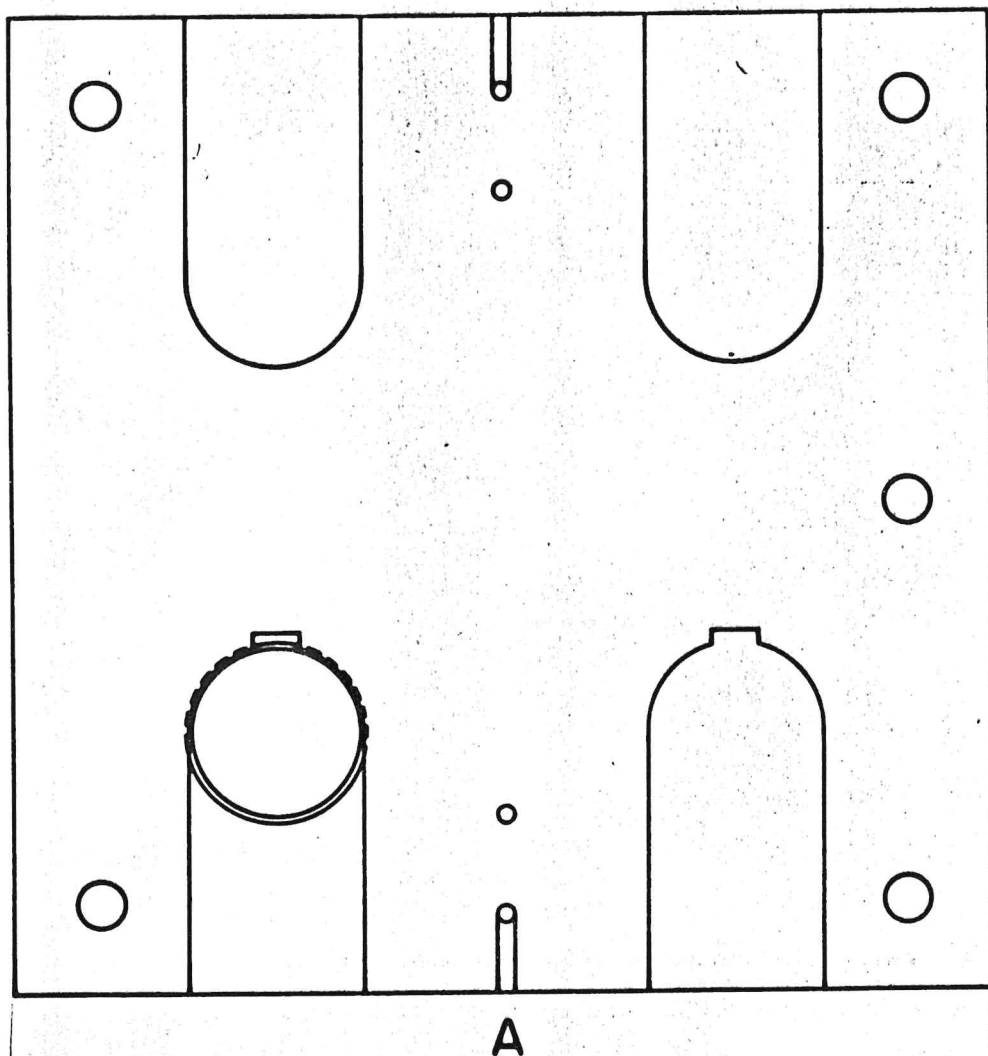


Fig. 1. Perspex houder gebruikt bij in situ primaire produktie metingen op het wad.

- A - Filtraatfles
- B - Wasfles
- C - Stelschroef
- D - Shunt

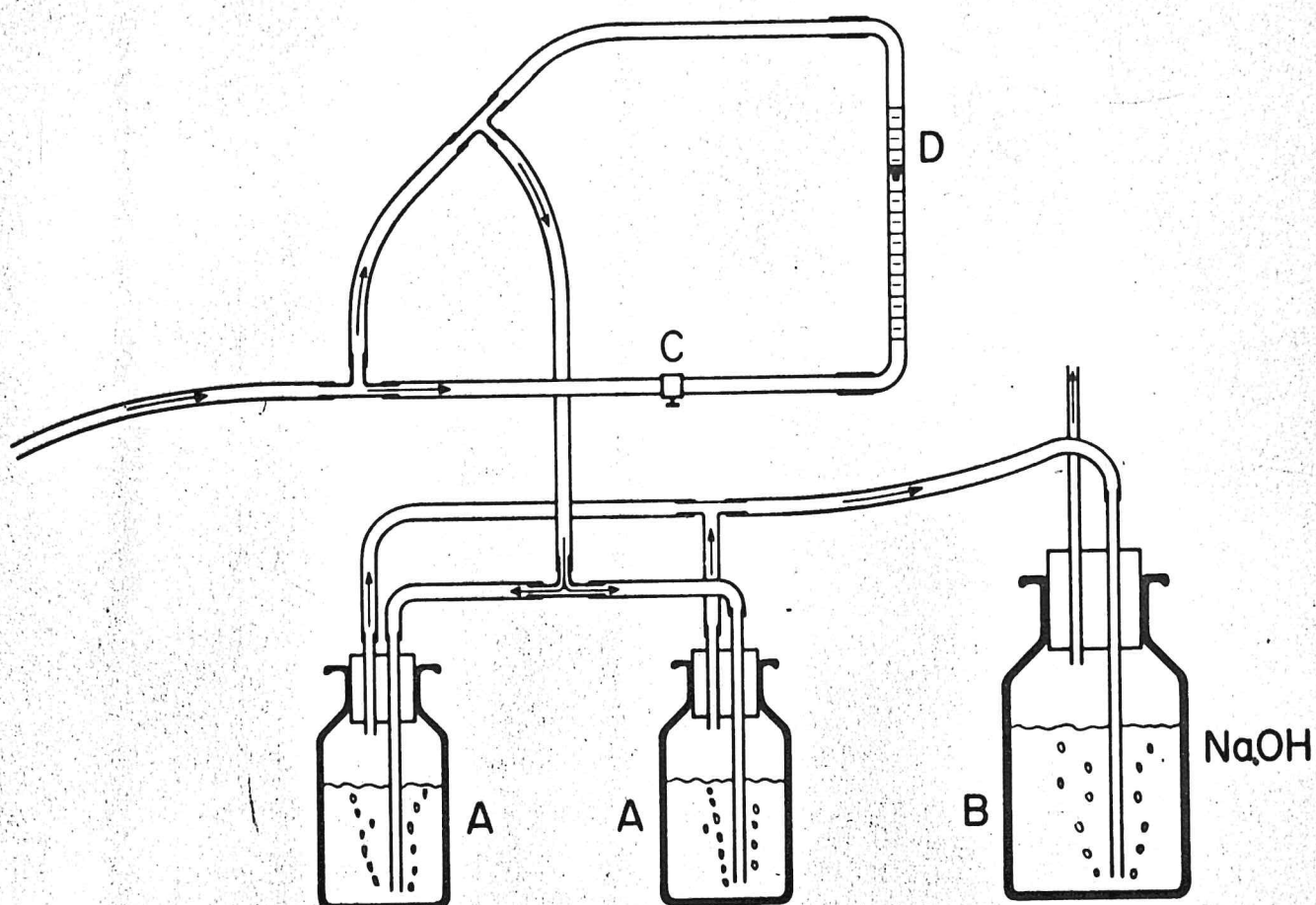


Fig. 2. Opstelling gebruikt voor het doorluchten van het aangezuurde filtraat om $C^{14}O_2$ te verwijderen (dit wordt opgevangen in NaOH). In de flesjes (A) blijft alleen C^{14} gebonden in organische verbindingen over.

五

16-2-1971

$$T_{04} = 70$$

Kennard A. D 200

Keunggulan B D 200

Kennzahl A. 0,0 - 0,9

Kapand B 00 L 11

110 delen Toluolien + 50% PO P + 05% PDM

6 dalem 2. Meibhor. v. Chausob

1 mL 14C-Sucrose

10 ml per cell line

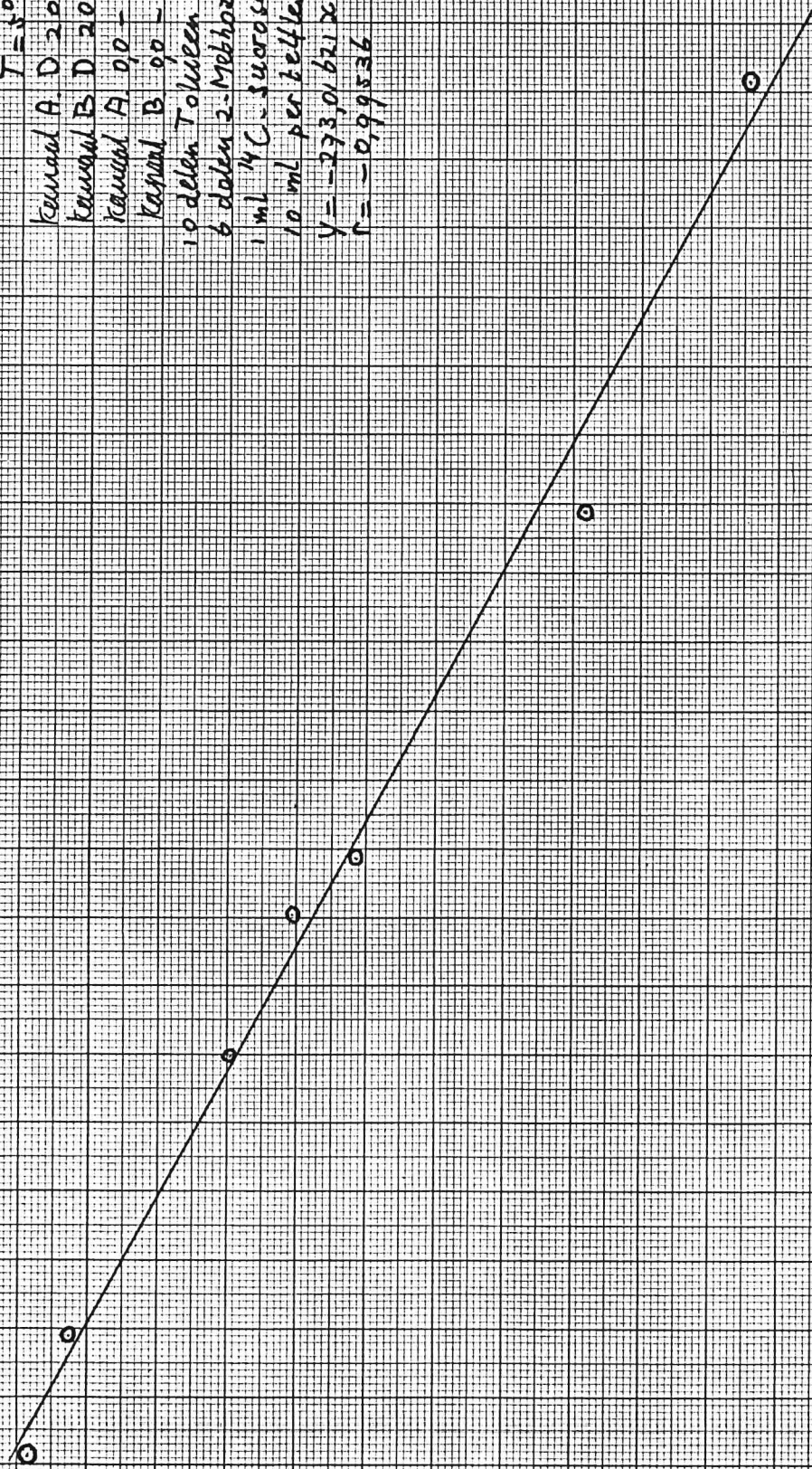
$$V = -273.01621x + 131.02490$$
$$r = -0.99536$$


Fig. 3. IJkgrafiek voor het scintillatiemengsel toluen, P.P.O., P.O.P.O.P. en 2-methoxyethanol met een totaal volume van 10 ml. Dovingsgetal (= kanaalverhouding B/A) uitgezet tegen de efficiency. (zie verder tekst).

Analyse 12

Febru

28-1-1971

T = 5°C

Kanaal A. D 600

Kanaal B. D 600

Kanaal A 0,0 - 9,9

Kanaal B 0,0 - 1,0

78% Toluene + 50% P.O.P. + 0,5% P.D.M.

22% Biosolv

1 ml ¹⁴C-sucrose

20-3000 µL acetone

10 ml per helfloze

Y = -98,412x + 92,501

r = -0,989

"Efficiency" %

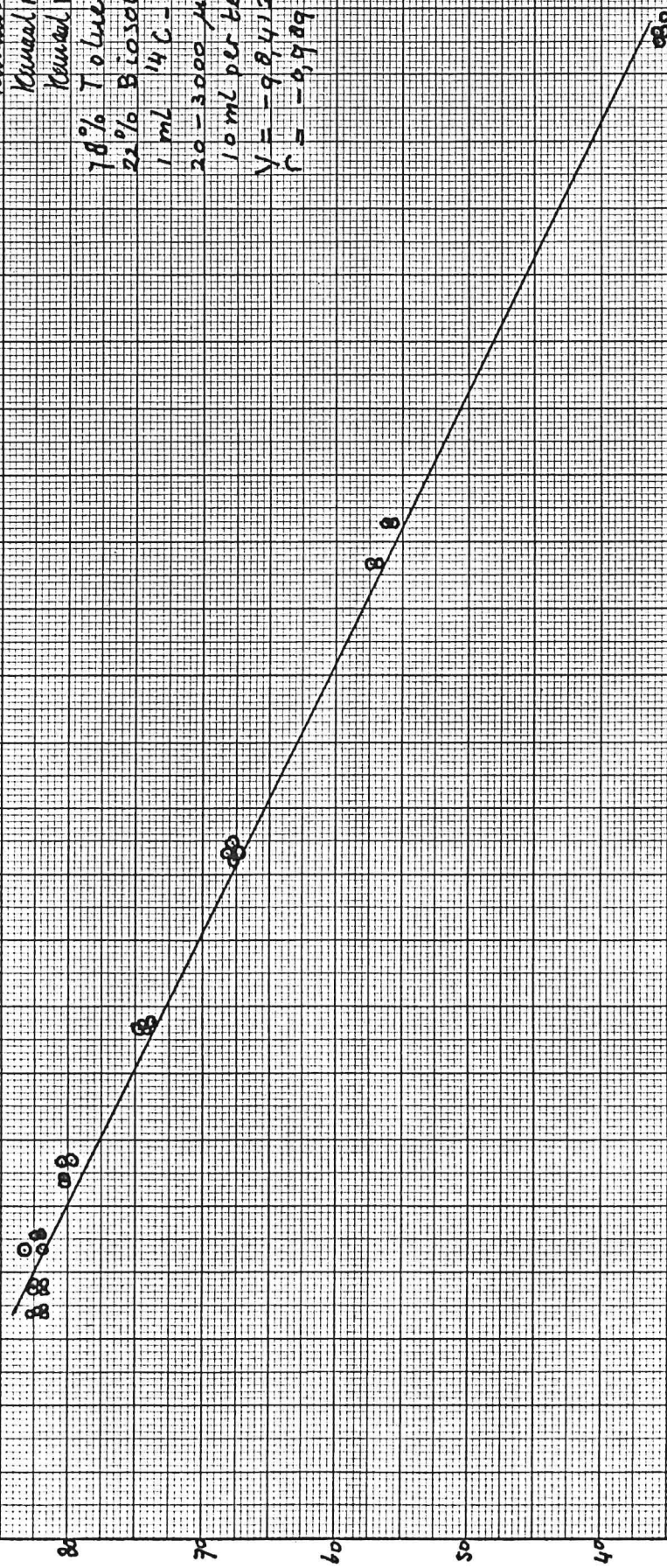


Fig. 4. IJkgrafiek voor het scintillatiemengsel toluene, P.P.O., P.O.P.O.P. en biosolv met een totaal volume van 10 ml. Dovingsgetal (= kanaalverhouding B/A) uitgezet tegen de efficiency. (zie verder tekst).

01

02

03

04

05

06

Kanaalverhouding B/A

Efficiency %

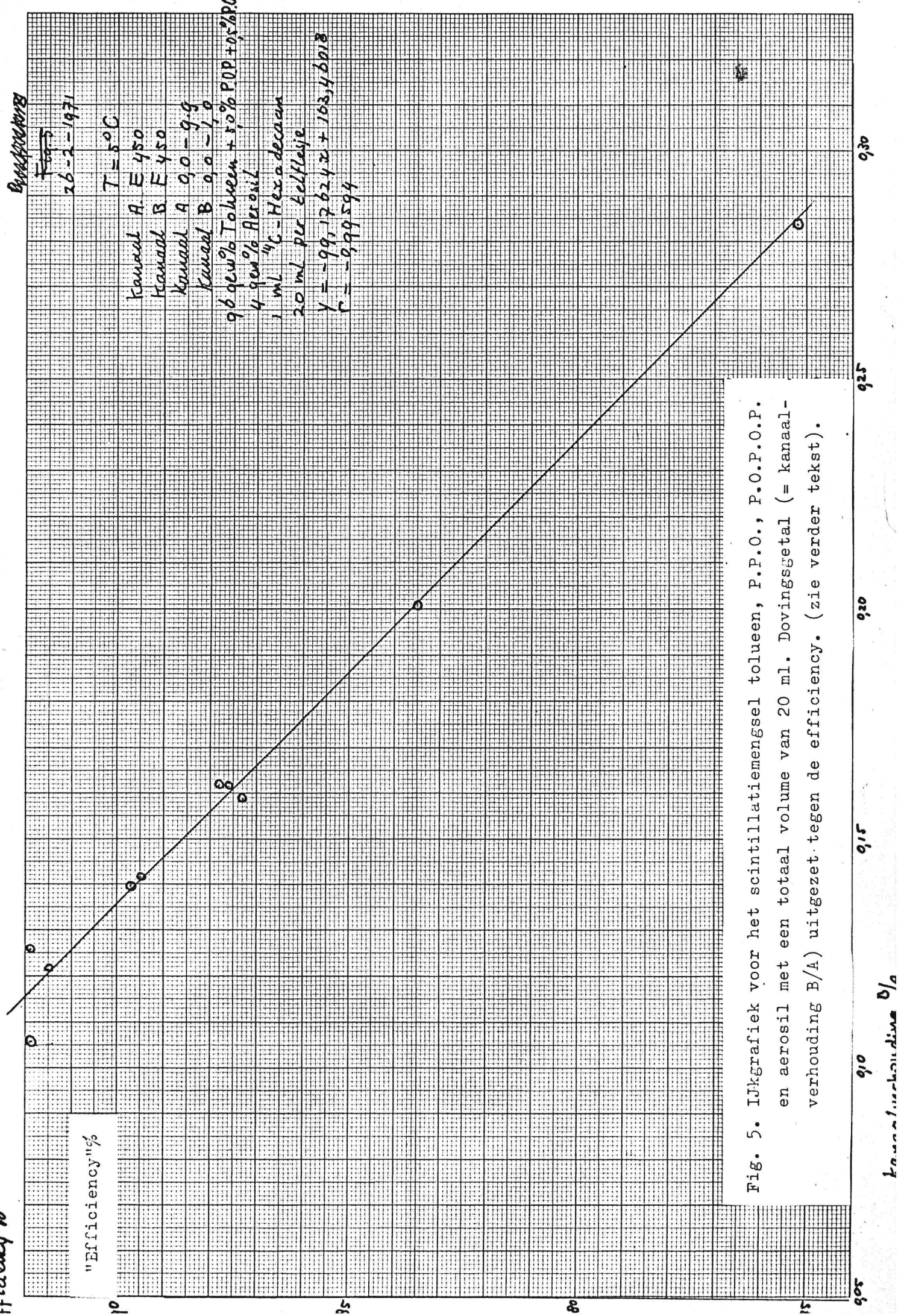


Fig. 5. IJkgrafiek voor het scintillatiemengsel toluene, P.P.O., P.O.P.O.P. en aerosil met een totaal volume van 20 ml. Dovingsgetal (= kanaalverhouding B/A) uitgezet tegen de efficiency. (zie verder tekst).

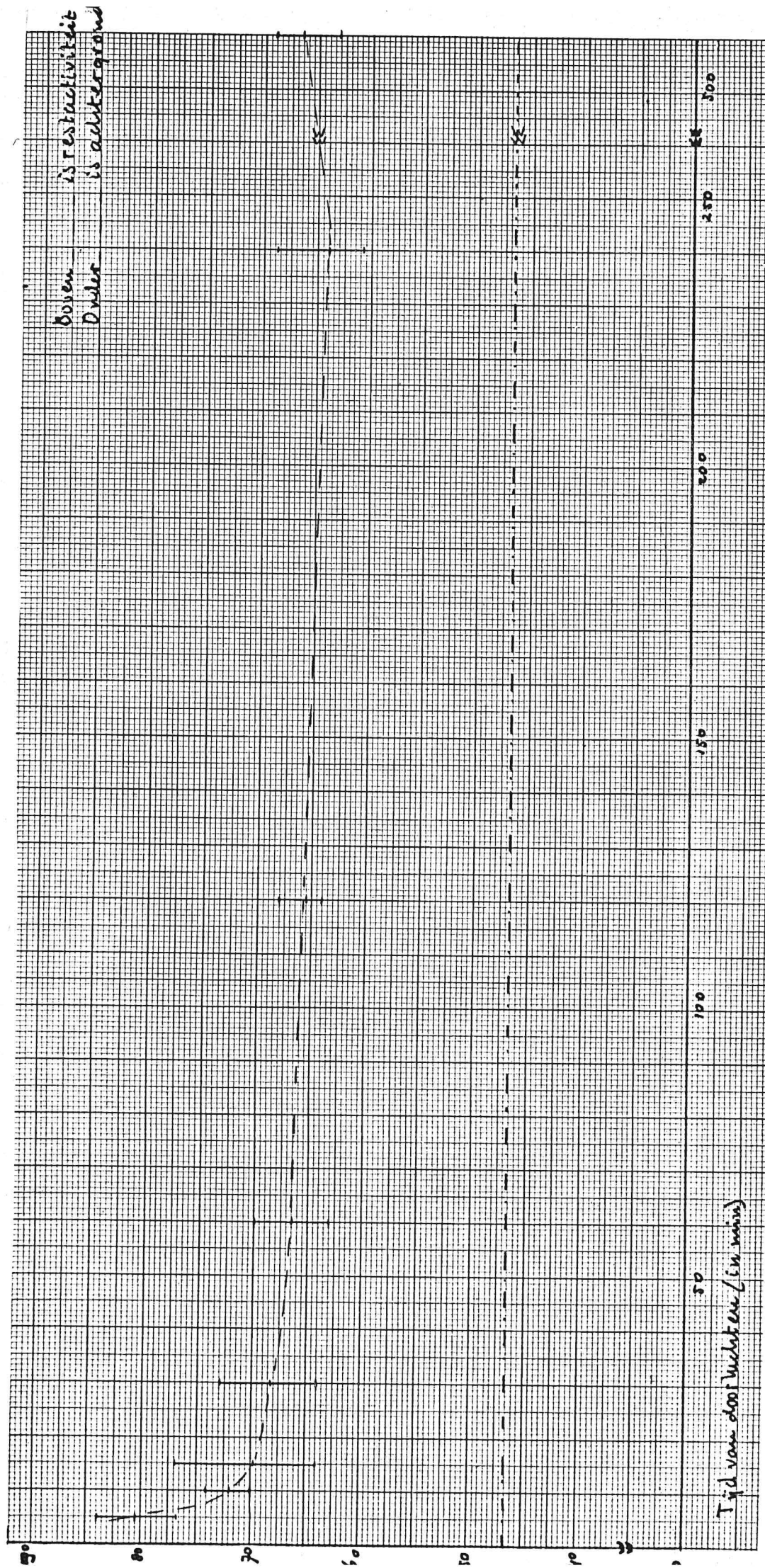
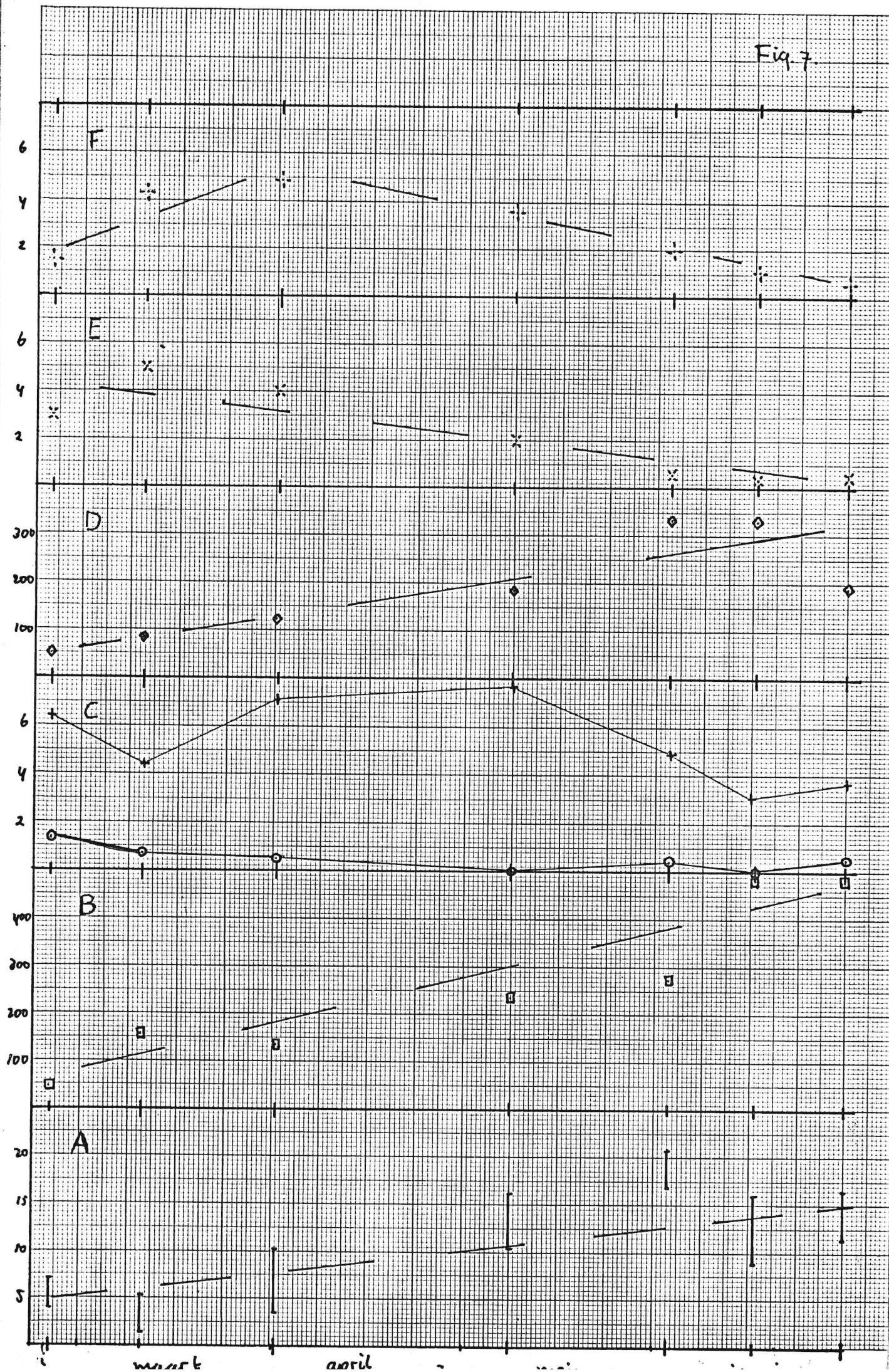


Fig. 6. Invloed van doorluchtingstijd op restactiviteit en achtergrond uitgedrukt

in dpm per ml filtraat, toegevoegde activiteit $5 \mu\text{C}/50 \text{ ml} \rightarrow 224000$

dpm/ml filtraat, geteld 1 ml filtraat in Toluëen-biosolv mengsel.

Fig. 7.



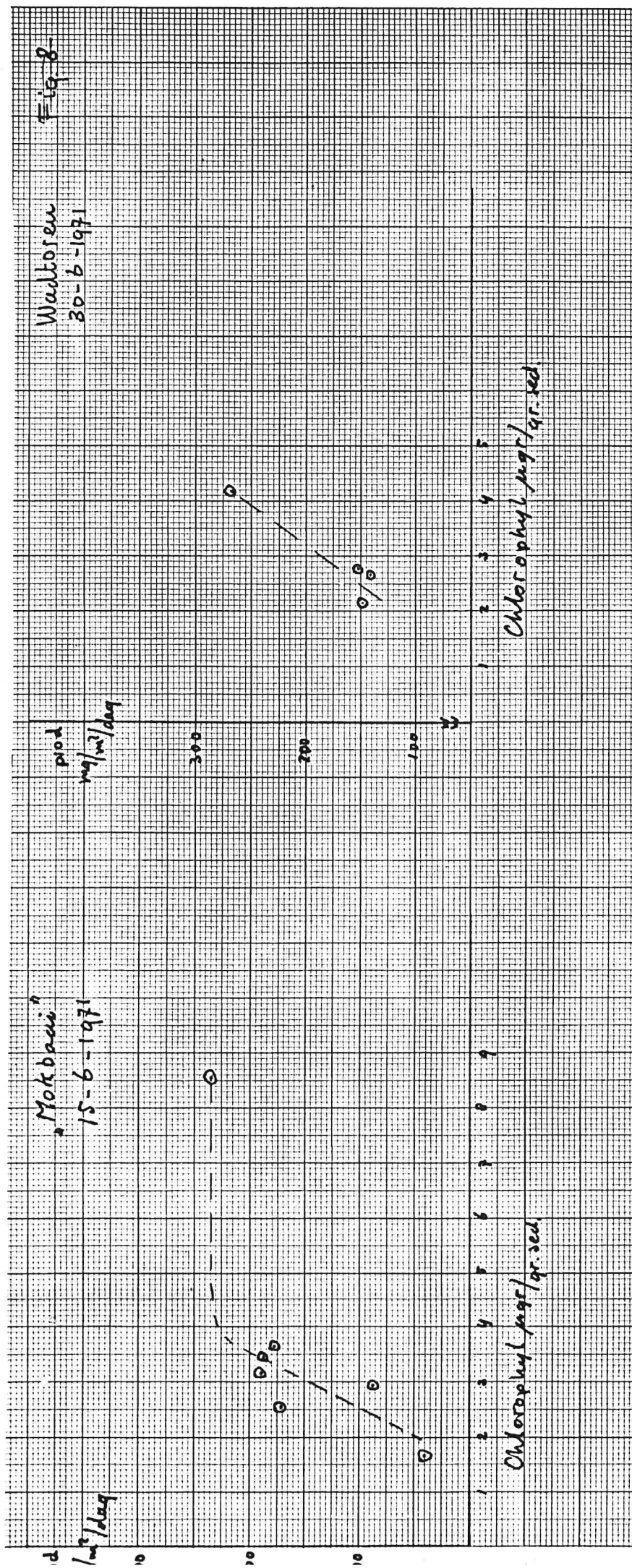


Fig. 8. Chlorophyll gehaltes van mokbaai en wad bij wadtoeren uitgezet tegen de primaire produktie van respectievelijk mokbaai en wadtoeren.