

This paper not to be cited without prior reference to the author.

INTERCALIBRATIE TUSSEN TWEE AUTOMATISCHE TECHNIEKEN DIE
GEBRUIKT KUNNEN WORDEN VOOR NUMERIEKE BEPALINGEN VAN
PHYTOPLANKTONCELLIEN

O. CROMBOOM* en J.P. KOMMARETS

LABORATORIUM VOOR ECOLOGIE EN SYSTEMATIEK
VRIJE UNIVERSITEIT BRUSSEL

A. EUYLLAAN 105

1050 BRUSSEL (BELGIUM)

*

Technisch medewerker bij het F.K.F.O.

Intercalibratie tussen twee automatische technieken die gebruikt kunnen worden voor numerieke bepalingen van phytoplanktoncellen.

1. Inleiding.

Een recente ontwikkeling van de meettechnieken ter bepaling van het aantal individuele cellen in een phytoplanktonpopulatie leidde enerzijds tot de toepassing van een elektronisch meetinstrument - de Coulter Counter - en anderzijds tot het gebruik van een autoradiografische werkmethode.

Dat de Coulter Counter een geschikt apparaat is voor de bepaling van het aantal en de grootte van algencellen werd aangetoond door MALONEY et al. (1962) en het nut ervan bij metingen van eenzijdig marine organismen werd vastgesteld door HASTINGS et al. (1962).

Dat ook autoradiografie een toepasselijke techniek is bij het kwantitatief (en semi-kwalitatief) onderzoek van actieve cellen werd duidelijk aangetoond door een van ons ("Autoradiography as a tool in primary production research").

Het doel van dit experiment is een intercalibratie te maken tussen beide technieken.

2. Materialen en werkmethoden.

a) Gebruikte Cultuur:

In het experiment werd slechts één soort cultuur gebruikt: *Platymonas tetrahele*, in een concentratie van ongeveer 20.000 cellen per ml.

200 ml van deze cultuur werden gedurende 2 u 45 min. geïnubeerd met $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ (aktiviteit 4mCi) bij een konstante temperatuur van 18 °C en onder continue belichting (± 15.000 lux).

Na inkubatie werden de cellen gefixeerd met lugol oplossing.

b) Coulter Counter:

Vat de Beschrijving en het meetprincipe van het toestel betreft verwijzen wij naar: "A Practical Manual on the Use of the Coulter Counter in Marine Science", by R. W. BELLER and T.R. PARSONS (1957).

3. Meetprocedure.

Van de geïnokubeerde kultuur werden volgende verdunningen gemaakt: 1/1000; 1/500; 1/250; 1/100; 1/50; 1/25; 1/10; 1/5; 1/2. Als diluatiemedium werd op 0,45 μ gefiltreerd zeewater gebruikt. De verschillende samples werden alle onder optimale instellingsnormen in een meetvolume van 0,5 ml geteld met een meetbuis van 100 μ . De resultaten zijn een gemiddelde van 10 metingen. (tabel I)

Tabel I.

<u>Verdunning</u>	<u>Coulter Counter</u> (105ml)	<u>Autoradiografie</u> (105ml)
1	9875	—
1/2	4721	5568
1/5	1859	1045
1/10	1029	600
1/25	463	263
1/50	274	—
1/100	145	—
1/250	115	70
1/500	121	(0)
1/1000	103	(0)

Deze tabel toont duidelijk de verdunningslimieten voor beide technieken in de beschouwde concentratie van ongeveer 20.000 cellen per ml.

a) De metingen met de Coulter Counter leiden tot een vaste waarde van de back-ground die vanaf een dilutie 1/250 een belangrijke verhouding aanneemt.

De berekening van deze back-ground steunt op het oplossen van volgend stelsel:

$$Y_a = K + x/a.$$

$$Y_b = K + x/b.$$

Hierin zijn: K: de te berekenen back-ground.

a en b: dilutiefactoren.

x: aantal (ontbeerd) partikels in het niet verdunde monster.

Y_a en Y_b : experimentele resultaten overeenstemmend met de dilutiefactoren a en b.

De gemiddelde waarde van K is 140 laat ons toe een gemiddelde x- waarde te bepalen: $x_{gem} = 337$.

b) De laagste aanmerkelijke verdunningswaarde voor autoradiografie is ongeveer $1/250$. Door extrapolatie van de verschillende resultaten tov. de niet verdunde hoeveelheid en de berekening van een gemiddelde kunnen wij besluiten tot een concentratie van ongeveer 6000 actieve cellen per 0,5 ml (c).

Aldus kunnen wij de verhouding van partikels en inactieve cellen (k) in het onverdunde monster bepalen: $x = k + c$.

$$\text{of } 9337 = k + 6000.$$

$$\text{waaruit } k = 3337.$$

Op deze wijze werden de tellingen met de Coulter Counter ontbonden waardoor een correlatie tussen de twee technieken mogelijk werd. (tabel II; cijfers in de laatste twee kolommen).

Tabel II.

Dilutie	Experimenteel Resultaat	Y berekend met $k=69$; $k=3337$; $c=6000$	e/verd.	Autoradiografie.
1	9875	9406	6000	-
1/2	4721	4737	3000	5568
1/5	1859	1936	1200	1045
1/10	1029	1002	600	600
1/25	463	462	240	263
1/50	274	255	120	-
1/100	145	102	60	-
1/250	115	106	24	70