Onderzoek naar de invloed van de factoren temperatuur en saliniteit op de groei van de zeeanemoon *Metridium senile* L.

door

J.C. den Hartog

NEDERLANDS INSTITUUT VOOR ONDERZOEK DER ZEE

PUBLIKATIES EN VERSLAGEN:

nummer 1968-1

13182

Onderzoek naar de invloed van de factoren temperatuur en saliniteit op de groei van de zeeanemoon *Metridium senile* L.

door

J.C. den Hartog

NEDERLANDS INSTITUUT VOOR ONDERZOEK DER ZEE

PUBLIKATIES EN VERSLAGEN:

nummer 1968-1

Rechten voorbehouden

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

Onderzoek naar de invloed van de factoren temperatuur en saliniteit op de groei van de zeeanemoon *Metridium senile* L.

door

J.C. den Hartog

Intern verslag

over

werkzaamheden verricht als doctorale studie

in het tijdvak februari - augustus 1967

aan

het NIOZ te Den Helder

voor

Prof. Dr. D.J. Kuenen

Zoölogisch Laboratorium

Rijks Universiteit te Leiden

Onder supervisie van

Ingvar Kristensen

februari 1968

NEDERLANDS INSTITUUT VOOR ONDERZOEK DER ZEE

PUBLICATIES EN VERSLAGEN:

nummer 1968-1

Onderzoek naar de invloed van de factoren temperatuur en saliniteit op de groei van de zeeanemoon *Metridium senile* L.

door

J.C. den Hartog

(intern verslag)

Inhoud

1. Samenvatting----------p. 1

Abstract----------p. 2

2. Inleiding----------p. 3

3. Vraagstelling----------p. 11

4. Techniek----------p. 11

a. Materiaal----------p. 11

b. Proefopstelling----------p. 14

A. Temperatuurreeks----------p. 14

B. Saliniteitsreeks----------p. 15

c. Acclimatisatie----------p. 16

d. Voedsel----------p. 17

e. Meetmethode----------p. 18

5. Resultaten----------p. 24

a. Temperatuurreeks----------p. 24

b. Saliniteitsreeks----------p. 36

c. In het buitenwater----------p. 42

6. Slotbeschouwing----------p. 46

7. Literatuur----------p. 52

8. Bijvoegsel: Regeneratie van *Metridium senile*--p. 54

1. Samenvatting

De invloed van temperatuur en saliniteit op de groei van Metridium senile L. werd nagegaan. Er werd gewerkt met op kunstmatige wijze verkregen klonen. Voor het verkrijgen van deze klonen werd gebruik gemaakt van het regeneratievermogen van de rand van de voetschijf van Metridium. Als maatstaf voor de groei diende het opp. van de voetschijf.

Temperatuur- en saliniteitoptimum bleken individueel verschillen te kunnen vertonen.

Voor 17 °/oo Cl werd een temp. optimum gevonden dat in de buurt van 20 graden C lag, en een maximum van ± 24,5 °C. Voor één kloon werd een optimum van ± 23 °C gevonden. Het minimum bleek beneden 5 °C te liggen, maar werd niet bepaald.

Bij 20 °C werd een saliniteitoptimum gevonden, dat voor verschillende klonen variëerde tussen ± 14 en 16 °/oo Cl. Het minimum bleek tussen 8- en 10 °/oo Cl te liggen.

De huidige verspreiding van Metridium in de Oostzee wordt naar alle waarschijnlijkheid door de saliniteit bepaald.

Op grond van onvoldoende gegevens kon niet vastgesteld worden of het ontbreken van Metridium in de Middellandse Zee te wijten is aan de hoge zomertemperaturen in dit gebied, wat zeer wel mogelijk lijkt.

Er is geen reden om op grond van bij dit onderzoek verkregen gegevens aan te nemen, dat het verschil in afmetingen tussen kust- en diepwaterdieren genetisch vastligt. Voor dit verschijnsel wordt daarom (voorlopig) het milieu verantwoordelijk gesteld.

Abstract

The influence of temperature and salinity on the growth of Metridium senile L. was examined. To this end artificial clones were obtained by making use of the regenerative power of disc tissue of Metridium. As a criterion for growth the surface of the disc was used.

It was found that the temperature optimum as well as the salinity optimum varied within certain limits for different individuals. At 17 °/oo Cl a temperature optimum was found to occur round about 20 °C and a maximum at about 24.5 °C. For one clone an optimum was found at about 23 °C. The minimum was found to lie somewhere below 5 °C, but its exact position was not determined.

At a temperature of 20 °C a salinity optimum was found between about 14 and 16 °/oo Cl for various clones. The minimum was found to occur between 8 and 10 °/oo Cl.

It is highly probable that the present distribution of Metridium in the Baltic is controlled by salinity.

Because of insufficient data it could not be decided whether the absence of Metridium in the Mediterranean is due to high temperatures in summer, but this seems a very likely explanation.

On the strength of the data obtained in this research there is no reason to assume that the difference in size between coast- and offshore animals is genetically fixed. For the present it seems better to hold the environment responsible.

2. Inleiding

Het voorkomen van een organisme in een bepaald milieu of habitat wordt bepaald door een groot aantal factoren, zowel abiotische als biotische.

Deze factoren kunnen theoretisch een ontelbaar aantal combinaties vormen. De studie van het milieu zou dan ook een vrijwel onmogelijke opgave zijn, ware het niet dat de oecologische situatie slechts door een aantal z.g.n. "masterfactors" geregeerd wordt in zee, n.l.: temperatuur, saliniteit, licht (periode, intensiteit, kwaliteit) en diepte (KINNE, 1960). Bij benthonische dieren is voorts het substraat zeer belangrijk. pH en ionen-samenstelling van het water worden als minder belangrijk beschouwd, daar deze factoren relatief meer constant zijn in de meeste habitats. De belangrijkste biotische factoren zijn predatie, concurrentie en voedsel.

Onder de abiotische factoren nemen temperatuur en saliniteit een bijzondere plaats in. Zij zijn van grote invloed op de groei. Volgens van 't Hoff, Arrhenius en Krogh neemt in het algemeen de snelheid van de biologische processen met het twee- tot drievoudige toe bij iedere 10 ^{o}C temperatuurstijging.

Verhoging of verlaging van het zoutgehalte roept osmotische verschijnselen op, die voor het betrokken organisme al dan niet energetisch voordelig zijn. Dieren met osmoregulatie b.v. verbruiken energie om het "milieu interieur" constant te houden. Naarmate het verschil in concentratie tussen in- en uitwendig milieu groter wordt zal meer energie verbruikt worden, hetgeen zich vaak

manifesteert in een minder snelle groei.

Voor uitgebreidere informatie over deze materie kan ik echter naar o.a. REMANE (1940), KINNE (1956a, 1956b en 1960), GUNTER (1966) en PEARSE & GUNTER (1966) verwijzen.

Van 1-2-1967 tot 1-8-1967 werd ik in staat gesteld om op het N.I.O.Z. te Den Helder onderzoek te verrichten naar de invloed van temperatuur en saliniteit op de groei van de zeeanemoon Metridium senile L.

Aan de hand van de gegevens, die bij dit onderzoek verkregen werden is voorts getracht enige opmerkingen t.a.v. de verspreiding van de soort te maken.

In het kader van het onderzoek, dat gedaan werd heeft het geen zin al te uitgebreid in te gaan op de systematiek van Metridium. Voor een anatomisch-morfologische beschrijving en de systematische positie van de soort verwijs ik dan ook naar STEPHENSON (1928, 1935) en PAX (1937). Hier zal volstaan worden met een duidelijke habitusfoto (fig. 1), terwijl enkele ter zake zijnde systematische zaken terloops ter sprake zullen komen.

Volgens PAX (1937) kan men de soort Metridium senile opvatten als een "Rassenkreis", die gevormd wordt door tenminste vier geografische rassen, te weten: Metridium senile senile, M. s. marginatum, M. s. fimbriatum en M. s. mogilnojense, waarvan de laatste een dwergvorm is, die in de "reliktzee" Mogilnoje op het eiland Kildin aan de Moermankust voorkomt. Hier heersen zeer bizarre omstandigheden. Het is daarom m.i. beter in dit geval van een oecologisch ras te spreken, als het hier tenminste geen ordinaire hongervorm betreft, die zich onder normale omstandigheden heel anders zou ontwikkelen.

> Mogilnoje wordt door een 60 meter brede strandwal van de zee afgesloten. Het water is niet dieper dan 16 meter. Beneden de isobaath van 14 meter vindt een sterke ophoping van H_2S plaats, die een fauna verhindert hier binnen te dringen. De bovenste waterlaag heeft een zoetwaterfauna. Slechts in de middelste zone (8-14 meter), waarin een saliniteitsgradiënt bestaat van 16-30 °/oo treden mariene organismen op, waaronder het zojuist genoemde Metridium "ras" (PAX 1923-1925).

Volgens STEPHENSON (1935) werden de drie overige rassen vroeger als afzonderlijke soorten beschouwd, doch na de onderzoekingen van Mc.MURRICH (1901, 1911) en VERRILL (1922) kon deze opvatting geen stand houden. CARLGREN (1933) constateerde weliswaar verschillen tussen de nematocysten van Metridium senile senile en M. s. fimbriatum, doch daar het belang van het cnidoom voor de systematiek door te weinig onderzoekingen nog steeds niet geheel op haar waarde te schatten valt, is er voorlopig nog geen reden om van twee soorten te spreken. Bovendien vertoont ook de Metridium van de River Mersey bij Liverpool, die straks nog ter sprake zal komen, verschil in cnidoom met typische vertegenwoordigers van het ras senile (althans volgens de opvattingen van PAX). Toch moet deze vorm duidelijk tot het genoemde ras gerekend worden.

Het ras marginatum komt volgens STEPHENSON voor aan de Atlantische kust van Noord-Amerika, terwijl Metridium senile fimbriatum het ras is van de oostkust van Noord-Amerika en Japan. M.s. senile tenslotte is het Europesche ras. Metridium senile heeft dus een circumpolaire verspreiding.

I.v.m. het onderzoek zullen we nu onze aandacht geheel op het laatstgenoemde ras concentreren.

Het wordt volgens STEPHENSON langs de gehele kust van Engeland, Schotland en Ierland aangetroffen. Verder op de Kanaaleilanden en langs de Atlantische kust van Frankijk noordwaarts via Scandinavië tot aan de Moermankust. ZENKEVITCH (1963) vermeldt de soort voorts uit de nog noordelijker gelegen Karazee, die tussen Noord-Rusland en Nova-Zembla ligt. M. s. senile dringt de Oostzee niet verder binnen dan de Kieler Bocht. Opgaven zijn verder bekend van IJsland en de westkust van Groenland. Waarnemingen van M. S. senile in de Adriatische zee zijn van zeer oude datum. HELLER (1864, 1868) vermeldt de soort van de haven van Soccoliza (op het eiland Lesina; tussen stenen) en uit de Golf van Triëst. PAX (1928) controleerde de determinaties van HELLER en bevestigde deze. Daar Metridium zich kennelijk niet op deze plaatsen heeft kunnen handhaven- sinds HELLER zijn nooit meer nieuwe vondsten uit het Middellandse Zeegebied opgegeven- neemt PAX aan, dat het gaat om exemplaren, die door schepen zijn aangevoerd.

Over Metridium senile schrijft STEPHENSON het volgende:
"There is no other British anemone, which offers a systematic problem so difficult as that presented by Metridium. Although there undoubtedly exist a number of forms, which are markedly different in their total aspect from the typical variety so often seen in aquaria and on the piles of piers (The var. DIANTHUS), yet the criteria which distinguish these from the typical form are not of a very satisfactory nature, and the extreme forms are linked

together by such a profusion of intermediates that the more close the series is studied, the more bewildering it becomes. The situation is also complicated by the fact that whilst some of the forms reach a large size, others almost certainly cease growth when quite small and never become any larger. Sexual maturity is certainly attained by some of these small forms and although it has yet to be experimentally demonstrated that they never (in the wild) exceed a certain size, there appears very little doubt about this."

STEPHENSON gaat verder met: "So far as I am able to diagnose the situation from my own experience, I should say that in Great Britain there are a considerable number of "races" of Metridium, some of them dwarf and others attaining a larger size (and some quite possibly intermediate in size), but these cannot be distinguised from each other as species and can hardly be usefully classified as named variëties, because they are too numerous, and too much inclined to merge into one another."

Hoewel STEPHENSON zelf twee variëteiten onderscheidt; n.l: dianthus en pallidum, geeft hij toe dat de laatste eigenlijk een heterogene groep van kleine vormen is, die alleen maar ingevoerd is om redenen van systematisch gemak en waarvan het bestaan nauwlijks te verdedigen is.

Metridium komt zowel in de getijdenzone als in dieper water voor. Grote exemplaren worden vrijwel alleen in dieper water aangetroffen (tot ± 100 meter diepte). Over het algemeen zijn kustvomen klein of van middelmatige grootte. (Dit geldt ook voor de var. dianthus).

Op grond van waarnemingen aan de kust en van waarnemingen aan aangevoerd materiaal uit dieper water heb ik geen reden om aan te nemen, dat er een correlatie tussen kleur en afmeting zou bestaan. Ook tussen kleur en habitat schijnt dit niet het geval te zijn. Rode, witte en bruine exemplaren in allerlei gradaties komen naast elkaar voor in hetzelfde habitat; onverschilling of dit diep water of de getijdenzone betreft.

Veel exacte gegevens omtrent de omstandigheden waaronder de soort gedijt zijn in de literatuur niet voorhanden. Reeds is gewezen op het geval van Metridium senile mogilnojense. Metridium schuwt een zekere mate van brak water niet, en wordt dan ook regelmatig in estuariën aangetroffen, o.a. in de monding van Tamar en Lynher bij Plymouth (PERCIVAL 1932).

Ook in het Marsdiep bij Den Helder waar de maandelijkse saliniteitsgemiddelden variëren van ± 15, 8 °/oo Cl in maart tot ± 17,1 °/oo Cl in september, komt Metridium zeer overvloedig voor.

RAWLINSON (1934) vermeldt een speciale dwergvorm van de Mersey bij Liverpool; die aldaar algemeen bleek voor te komen. De populatie viel slechts bij extreem laag water droog. De gemiddelde saliniteit bedroeg bij laag water 13 °/oo en bij hoog water 20 °/oo bij een pH van 7,9. Het water was extreem vuil, o.a. door de uitmonding van een riool en de aanwezigheid van een olielaagje. Drie mijl verder naar zee, waar de saliniteit variëerde van 23-28 °/oo in de zomer en van 21-27 °/oo in de winter, bij eenzelfde pH, kwamen volgens RAWLINSON grote kolonies voor van de meer typische Metridium senile senile. Reeds bij een lengte van enkele cm (in expansie) bleken de Metridium van de Mersey geslachtsrijp te zijn.

Metridium plant zich geslachtelijk voort door oviparie. Een aantal belangrijke auteurs echter, o.a. CARLGREN (1909) en STEPHENSON zijn van mening dat de veelvuldig optredende ongeslachtelijke voortplanting bij Metridium misschien nog een belangrijkere plaats inneemt. Deze wijze van voortplanting, waarbij stukjes weefsel van de voetschijf van het moederdier "losscheuren", die zich vervolgens tot volledige individuen ontwikkelen, staat bekend als laceratie. In de natuur geeft dit proces vaak aanleiding tot het ontstaan van groepjes dieren, die genetisch identiek zijn: klonen (fig. 2). Door de grote variabiliteit in kleur van Metridium is het vaak eenvoudig om zo'n kloon door de uniformiteit van het kleurpatroon van de rest van een populatie te onderscheiden.

De jonge dieren verschillen sterk van hun volwassen soortgenoten. Jonge dieren bezitten n.l. een ongelobde mondschijf met weinig tentakels. O.i.v de tentakelvermeerdering (tot ± 1000 toe) ontstaat bij volwassen exemplaren een gelobde mondschijf (fig. 1), waaraan de genusnaam Actinoloba, het meest gebruikte synoniem voor Metridium, ontleend is.

In principe kan een onderzoek als het onderhavige met iedere anemoon uitgevoerd worden. We hebben gezien, dat Metridium senile een zeer variabele soort is. De var. dianthus heeft echter een aantal eigenschappen in zich gecombineerd, die hem als proefdier zeer geschikt maken. Voor de experimenten werd daarom uitsluitend van deze var. gebruik gemaakt. Wanneer daarom in het vervolg over Metridium gesproken wordt, zal steeds de soort senile var. dianthus bedoeld worden, tenzij anders vermeld is.

De bedoelde eigenschappen zijn:

1. Metridium komt algemeen langs onze kust voor.

   a. In de getijdenzone;

      Hier kan de soort eenvoudig verzameld en in het natuurlijke milieu bestudeerd worden.

   b. In dieper water;

      Dieren uit dieper water worden regelmatig door vissers aangevoerd op het N.I.O.Z. te Den Helder.

2. Het veelvuldig voorkomen van ongeslachtelijke voortplanting (laceratie).

   Dit opent voor ons de mogelijkheid om groepjes dieren van hetzelfde genotype (klonen) te verkrijgen. Bij experimenten op fysiologische basis kunnen alle exemplaren van zo'n kloon zonder meer met elkaar vergeleken worden.
   Het verkrijgen van een kloon van voldoende individuen op natuurlijke wijze zou echter zeer veel tijd vergen, daar het laceratieproces doorgaans slechts de vorming van één of enkele individuen tegelijk betreft. Uit het feit evenwel, dat stukjes van de voet van een anemoon kunnen uitgroeien tot volledige individuen concluderen we dat hier een ongedifferentiëerd cel- of weefseltype van omnipotent karakter aanwezig is. De verwachting is dan ook, en de praktijk wijst dit uit, dat bij het afsnijden van stukjes van de voetrand eveneens regeneratie zal optreden. Dit principe werd toegepast om klonen t.b.v. de experimenten te kweken.

3. De aanzienlijke grootte, die Metridium bereiken kan.

   De lengte van de zuil kan in gestrekte toestand meer dan 20 cm, de doorsnede van de voetschijf meer dan 10 cm bedragen.

4. Vergissingen bij de determinatie van volwassen exemplaren van Metridium zijn uitgesloten.

3. Vraagstelling

In de inleiding is de vraagstelling reeds even naar voren gekomen. Deze luidde: "Wat is de invloed van temperatuur en saliniteit op de groei van Metridium, en welke conclusies t.a.v. de verspreiding van de soort kunnen we eventueel verbinden aan de resultaten van dit onderzoek?"

In het algemene gedeelte zijn nu een aantal interessante gegevens over de verspreiding van Metridium vermeld. We kunnen daarom het tweede gedeelte van de vraagstelling iets nader definiëren.

In het bijzonder twee zaken vragen om een verklaring, die mogelijkerwijs aan temperatuur of saliniteit toegeschreven kan worden.

1. Waarom dringt Metridium de Oostzee niet verder binnen dan de Kieler Bocht?
2. Waarom heeft Metridium zich niet in de Middellandse Zee kunnen handhaven, terwijl de soort daar vroeger wel gevonden is?

Voorts werd in het algemene gedeelte gewezen op het feit, dat kustdieren in de natuur in het algemeen kleiner blijven dan diepwatervormen.

Aan de hand van de experimenten zal getracht worden ook voor dit verschil een verklaring te geven, of althans iets zinnigs over dit probleem te zeggen.

4. Techniek

a. Materiaal

Als uitgangsmateriaal voor de experimenten werden gebruikt:

a. Grote exemplaren uit diep water

De plaats van herkomst van de afzonderlijke individuen was niet met zekerheid vast te stellen. Een belangrijk

percentage was afkomstig van de "Texelse Stenen". Aangenomen mag worden, dat alle gebruikte exemplaren binnen een straal van 100 km van Den Helder werden gevangen.

b. Kustdieren van geringe grootte

Deze dieren werden op 15-1-1967 bij extreem laag water op de Helderse zeedijk verzameld.

Uit deze twee catogoriëen van dieren werden op kunstmatige wijze klonen geformeerd.

De vorming van zo'n kloon geschiedt als volgt: Een grote anemoon wordt van het oorspronkelijke substraat verwijderd (waarbij beschadiging vermeden dient te worden) en op een stuk vensterglas geplaatst. Hier krijgt het dier gelegenheid om zich opnieuw vast te hechten. Zodra dit gebeurd is wordt het glasplaatje in horizontale stand aan een nylonkoordje vrij in het water opgehangen dit om te voorkomen, dat het dier er afkruipt. Nu krijgt de anemoom enige dagen de tijd om zich aan het nieuwe substraat aan te passen en zich stevig vast te hechten. Doorgaans gaat dit gepaard met het ontstaan van een- al dan niet complete - brede platte rand bij de overgang van de zuil in de voet (fig. 1) of het ontstaan van platte uitlopers. In dit stadium kan men soms met een scheermesje een snede aanbrengen rond de gehele voetschijf, waarna men de afgesneden ring in stukjes van enkele mm^2 kan verdelen (fig. 3). Meestal is dit echter onmogelijk, en moet men zich beperken tot het afsnijden van uitlopertjes en plaatselijk voorkomende platte stukjes van de anemonenvoet (fig. 4). Het aantal stukjes, dat afgesneden kan worden is dus sterk individueel verschillend.

Hoewel ieder stukje dat afgesneden wordt potentiëel in staat is tot de vorming van een nieuw individu, is er altijd wel een zeker (soms belangrijk) percentage, dat deze ontwikkeling nooit voltooit. Het komt nl. regelmatig voor, dat stukjes loslaten van de glasplaat bij het afsnijden. Deze kunnen voor de experimenten als verloren worden beschouwd. Ook kan een slijmlaag met diatomëen, bacteriën e.d. een remmende invloed op de groei hebben. Dit euvel werd ondervangen

door de regenererende stukjes regelmatig schoon te penselen. (Door deze handeling werden weliswaar ook wel eens minder goed vastzittende stukjes van het glas verwijderd, doch dit kan men nauwlijks een verlies noemen).

Mede om deze redenen is het in het algemeen niet mogelijk om in één keer voldoende stukjes af te snijden voor de vorming van een bruikbare - d.w.z. uit voldoende individuen bestaande- kloon. Doorgaans nam dit dan ook wel een week in beslag (incidenteel zelfs ± twee weken). Het regeneratieproces van de afzonderlijke leden van een kloon verloopt in de regel dus niet synchroon. De afsluiting van het regeneratieproces valt daarom voor verschillende individuen op verschillende tijdstippen. Om nu belangrijke verschillen in afmetingen te voorkomen voor de aanvang van een bepaald experiment, werd voor die tijd geen voedsel toegediend. (Het spreekt vanzelf, dat de betrouwbaarheid der resultaten in sterke mate afhankelijk is van de uniformiteit van de afmetingen van het uitgangsmateriaal).

T.a.v. de kloonvorming bij kustdieren dient nog het volgende opgemerkt te worden: In verband met de geringe afmetingen van deze catogorie is het niet mogelijk om in voldoende korte tijd uit één individu een bruikbare kloon te ontwikkelen. Daarom werd hier niet uitgegaan van één exemplaar, doch van een aantal leden van een natuurlijke kloon. In één geval werd dit principe ook toegepast bij een diepwaterkloon (kloon 1).

De klonen groeiden op in een groot basin (fig. 5), waarin de temperatuur gedurende de tijd dat ik werkzaam was, van februari tot augustus, opliep van ongeveer 8 tot 16 °C. Het bleek, dat het regeneratieproces duidelijk van de temperatuur afhankelijk was. Afgesneden stukjes regenereerden in februari aanzienlijk langzamer dan in juni.

Een indruk van het regeneratieproces, zoals dat bij Metridium kan verlopen, geeft de bijgevoegde tekeningenset. Voor literatuur inzake deze materie kan ik naar CARLGREN (1904, 1909) verwijzen.

De aldus verkregen klonen vormden het uitgangsmateriaal voor de experimenten.

b. Proefopstelling

Zoals reeds in de inleiding vermeld is, betreft het hier proeven om de invloed van temperatuur en saliniteit op de groei van Metridium na te gaan. Het gaat dus om een onderzoek naar de invloed van z.g.n. "single factors". Om de invloed van zo'n factor na te gaan, dienen we de invloed van alle andere factoren die een rol kunnen spelen te elimineren. Dit komt neer op het constant houden hiervan, terwijl we de betreffende factor laten variëren.

Op deze wijze te werk gaande krijgen we voor het experiment met Metridium twee proefreeksen; Een waarbij de temperatuur de variabele is, en één waarbij de saliniteit variëert.

A. Temperatuurreeks

Bij de temperatuurreeks werd steeds een kloon verdeeld* over een aantal aquaria met verschillende temperatuur. Het temperatuurtraject, waarbinnen de proven werden uitgevoerd lag tussen 5 en 25 °C. Proeven bij temperaturen hoger dan 15 °C werden gedaan in een overwarmde ruimte. Proeven bij temperaturen lager dan 15 °C in een koelcel.

De temperatuur in de afzonderlijke aquaria werd constant gehouden door een elektrisch verwarmingselement met thermostaat.

D.m.v. een krachtige doorluchting werd een behoorlijke circulatie in de aquaria tot stand gebracht, die borg stond voor drie belangrijke factoren:

*Hiertoe werd de oorspronkelijke glasplaat met een glassnijder in het gewenste aantal stukken verdeeld, zodanig dat op ieder stuk ongeveer een gelijk aantal proefdieren zat. Tevens werd gezorgd dat grote en kleine exemplaren zo homogeen mogelijk over de verschillende glasstukken verdeeld werden. (Op het oog schatten).

1. Constantheid van de temperatuur door het hele aquarium (geen gradiënt).
2. Een homogene voedselverdeling.
3. Verzadiging van het water met O2 en afvoer van CO_2.

Om toename van de zoutconcentratie door indamping en vooral door spatten van de uitstromers te voorkomen werden de opstellingen aangesloten op een groot circuit, zodanig dat een langzame doorstroming plaats vond. Dit waarborgde een constante saliniteit. Hetzelfde gold voor de pH, die ± 8 bedroeg.

Eventuele invloed van het zonlicht werd uitgeschakeld door de venster van de proefruimte met donker papier te verduisteren, zodat slechts diffuus licht binnendrong.

Figs. 6 en 7 geven een overzicht van een proefopstelling.

B. Saliniteitsreeks

Het saliniteitstraject, waarbinnen proeven werden genomen liep van 16-6 °/oo Cl. De gewenste promillages werden verkregen door Noordzee-water van ± 17 °/oo Cl te verdunnen met leidingwater. Volgens methode Mohr werd de chloriditeit bepaald. Men kan hier echter desgewenst eenvoudig het totale zoutgehalte uit afleiden met de formule van Knudsen: S = 0,03 + 1,805 Cl.

De temperatuur waarbij de saliniteitsproeven gedaan werden bedroeg 20 °C. Deze temperatuur werd gekozen, omdat- zoals uit de temperatuurproeven bleek- de anemoontjes bij deze temperatuur uitstekend bleken te groeien. Bovendien stond de proefopstelling in dezelfde onverwarmde ruimte, waarin de temperatuurproeven uitgevoerd werden. Deze ruimte bereikt nooit een temp. van 20 °C, zodat niet voor een storend effect van de omgeving op de temperatuur

in de aquaria gevreesd behoefde te worden.

In tegenstelling tot de temperatuurbakken kan men bakken met verschillend zoutgehalte onmogelijk op één circuit aan sluiten. Bij de saliniteitsreeks vond dan ook gedurende de proeven geen doorstroming in de aquaria plaats. Hier treedt dan ook wel degelijk concentratieverhoging op. Vooral, zoals reeds gezegd door het spattten van de uitstromers. Hierdoor komen nl. waterdruppeltjes op de aquariumruiten. Door oppervlaktevergroting treedt een vrij snelle verdamping van deze druppeltjes op, waardoor zich zout op het glas afzet. Andere druppeltjes, die op het glas coalesceren en naar beneden lopen, nemen dit zout mee terug in het water, waardoor concentratieverhoging een feit wordt. Met het oog op dit verschijnsel werd bij de experimenten gebruik gemaakt van vrij grote aquaria (53 bij 53 bij 113 cm), waarbij dit effect naar mijn mening niet zo groot is. (echter niet gemeten).

Een ander voordeel van het gebruik van grote bakken is dat de ophoping van afbraakproducten, die de groei eventueel nadelig kunnen beinvloeden, relatief minder groot is.

Het water in de proefbakken werd regelmatig getitreerd. Concentratieverhogingen werden met leidingwater gecorrigeerd.

c. Acclimatisatie

Het is duidelijk, dat men dieren, die men voor een experiment wil gebruiken niet zonder meer uit hun oorspronkelijke milieu (kweekbassin) in de voor hen bestemde proefbak kan brengen, wanneer de omstandigheden hierin sterk afwijken. Dit zou een schadelijke invloed op de organismen kunnen hebben. Er werd daarom steeds

gezorgd, dat ze enige tijd kregen om te acclimatiseren.

Bij de temperatuurreeks geschiedde deze aanpassing met sprongen van maximaal 5 °C per 24 uur, bij de saliniteitsreeks met sprongen van 2 °/oo Cl per 24 uur.

d. Voedsel

Het lag in de bedoeling om de proefdieren te voederen met zeeplankton. Hiertoe werd regelmatig plankton gevist in het Marsdiep. Het bleek echter, dat kwaliteit (d.w.z. samenstelling) en kwantiteit hiervan zeer sterk variëerde. Vangsten rijk aan copepoden en medusen werden afgewisseld door vangsten, waarin deze componenten vrijwel ontbraken en waarin fytoplankton, dat door Metridium niet geaccepteerd werd, overheerste.

Het ligt voor de hand, dat het voeren van plankton van een dergelijke wisselende samenstelling zich in de groei zal manifesteren, waardoor het verband tussen temperatuur, resp. saliniteit en groei moeilijker (zo niet onmogelijk) zal zijn te interpreteren. Het is daarom noodzakelijk, dat men dagelijks constante hoeveelheden of een overmaat voedsel toedient, van een zo homogeen mogelijke samenstelling (kwaliteitsverschillen zouden ook storend kunnen werken).

Om deze reden werd overgegaan op het woederen van de nauplius-larven van Artemia salina, die men eenvoudig in het laboratorium kan kweken uit de eieren, die als aquariumvoer in de handel verkrijgbaar zijn. Men kan zich op deze wijze altijd van een voldoende voorraad verzekeren.

De anemoontjes werden dagelijks gevoerd op een vaste tijd. De Artemia werden opgekweekt bij 25 °C en ± 17 °/oo Cl. Onder deze

omstandigheden kwamen de eitjes na één dag uit (± 24 uur). Wanneer de naupliën twee dagen oud waren, werden ze aan de anemoontjes gevoerd. Door nu met 3 kweekbakjes te werken, kon gezorgd worden dat dagelijks 2-dagen oude naupliën voorhanden waren (fig. 9).

Het voederen zelf geschiedde als volgt: De inhoud van een kweekaquariumpje (inh. ± 6 l) werd in z'n geheel door een planktonzeef gefiltreerd. Daarna werd de kweek in een cilinderglas met water van 25 graden C gebracht. Vervolgens werd de inhoud goed geroerd, om een homogene verdeling van de naupliën te verkrijgen. Nu werd de inhoud in de juiste verhouding over een aantal kleine cilinderglazen verdeeld, die in de voor hen bestemde proefbakken werden opgehangen om even te acclimatiseren. Tenslotte werden de glazen in de proefbakken omgekeerd.

e. Meetmethode

Wanneer we over de groei van een organisme spreken, bedoelen we doorgaans de toename van de hoeveelheid organisch materiaal met de tijd. Deze toename is echter doorgaans niet zonder meer te meten. Ook voor de groei van Metridium geldt dit. Overigens is dat niet zo'n groot bezwaar, omdat andere kriteria, die als maatstaf kunnen dienen, b.v. lengte, volume, oppervlakte enz. altijd met de hoeveelheid organische stof gecorreleerd zijn. In feite kunnen we dus de eenvoudigst te realiseren maatstaf kiezen en daarna (indien mogelijk) de correlatie met de hoeveelheid organisch stof berekenen.

Het anemonenlichaam bevat geen skelet en heeft daarom geen vaste vorm. Het kan gestrekt en samengetrokken worden. Deze

eigenschap gaat gepaard met een grote variabiliteit in lengte, breedte en inhoud van de anemoon. Genoemde kriteria kunnen daarom niet als maatstaf gebruikt worden.

Nu beschikken de meeste zeeanemonen - ook Metridium - over een voetschijf, die tot een geprononceerde hechtschijf ontwikkeld is. Het opp. van deze hechtschijf is in veel mindere mate aan variatie onderhevig en lijkt derhalve de meest voor de hand liggende maatstaf.

Een veel toegepaste (bij andere objecten evenwel) en de meest nauwkeurige methode om het oppervlak van de voetschijf te meten, is het werken met een transparante papiersoort van uniforme dikte.

Wanneer men het glas met de te meten anemonen omdraait, kan men het opp. van de voetschijf overtrekken op papier, uitknippen en op een nauwkeurige balans wegen. Een bepaald gewicht is dan representatief voor een bepaalde opp. éénheid. Deze methode kon evenwel niet in praktijk gebracht worden om twee redenen.

1. Bij de experimenten werd uitgegaan van diertjes van dergelijke geringe afmetingen, dat het uitknippen niet met de nodige nauwkeurigheid kon geschieden.
2. De kans dat het gebruikte papier bij het overtrekken vochtig wordt, met alle consequenties van dien, is groot, o.a. doordat er vaak anemoontjes aan beide kanten van het glas zitten.

De methode die toegepast werd, was de volgende: Men meet de grootste doorsnede van het opp. (waarbij geen kleine uitlopertjes meegemeten worden) en meet daarna de breedte loodrecht door het missen (schatten!) van de eerste meting. Het product van deze twee metingen geeft een benadering van het oppervlak.

Deze benadering is niet altijd even nauwkeurig omdat de vorm

van de voetschijf individueel nogal kan verschillen, vooral bij anemonensoorten die zich op ongeslachtelijke wijze voortplanten. Omdat echter met jonge dieren gewerkt werd, waarbij ronde en ellipsoïde vormen overheersrn, valt dit bezwaar nogal mee. Immers; opp. vierkant (a^2): opp. rechthoek (a x b) = opp. cirkel (3,14 x $(\frac{1}{2}a)^2$): opp. ellips (3,14 x $\frac{1}{2}$a x $\frac{1}{2}$b). De benadering is voor beide vormen dus even nauwkeurig.

Als we het produkt van lengte en breedte (a x b) op 100% stellen, is het opp. van de bijbehorende ellips 3,14 x $\frac{1}{2}$a x $\frac{1}{2}$b = 0,785 x a x b of 78,5% hiervan. We moeten op dit produkt dus een correctie van -21,5% toepassen, om met enige nauwkeurigheid het werkelijke opp. te benaderen.

Het bleek tijdens de experimenten onmogelijk om de groei van alle proefdieren individueel na te gaan. De oorzaak hiervan ligt in het feit dat Metridium (zeeanemonen in het algemeen trouwens) zich over het substraat kan bewegen en dit ook doet. De dieren nemen daarom niet altijd dezelfde positie t.o.v. elkaar in en zijn daarom vaak niet te herkennen. Weliswaar werden alle proefdieren gemeten, doch om zojuist genoemde reden kon alleen de gemiddelde groei berekend worden.

Hoe groot de meetfout is, die we met de toegepaste methode maken is niet nauwkeurig na te gaan. Deze is n.l. afhankelijk van het oppervlak van de te meten diertjes. Het is duidelijk, dat de een absolute meetfout van b.v. 0,5 mm bij een klein dier percentueel een grotere fout veroorzaakt dan bij een dier dat groter is.

Om nu een indruk te geven van deze meetfout werden resp. een serie kleine, een serie middelgrote en een serie grote oppervlakten

getekend. (Waarbij de begrippen klein, middelgroot en groot, gebruikt worden in de betekenis, waarin ze zich in de resultaten van de experimenten voordeden.)

Deze series werden elk vijf maal gemeten, waarna het gemiddelde opp. van elk van de drie series bepaald werd.

Deze gemiddelden bedroegen resp.:

1. 8,76 mm^2.
2. 24,69 mm^2.
3. 56,67 mm^2.

De standaarddeviatie* van de vijf metingen t.o.v. deze gemiddelden bedroeg resp.:

1. 3,4 %
2. 1,8 %
3. 1,7 %

Rekening houdend met dit voorbeeld kan men wel aannemen, dat de gemiddelde meetfout bij kleine dieren in de orde van $\pm$ 3,5 % zal liggen, terwijl bij middelgrote en grote dieren op een gemiddelde meetfout van $\pm$ 2 % gerekend moet worden.

Een tweede foutenbron wordt veroorzaakt door het feit, dat de voetschijf zelf, hoewel het meest constante deel van het anemonenlichaam, in zekere mate aan variatie in afmetingen onderhevig is.

Vooral onder invloed van vochtverlies tijdens het meten treedt krimping op. Afhankelijk van de tijdsduur die de meting in beslag neemt, zal de mate waarin deze krimping optreedt variëren. De fout die hierdoor veroorzaakt wordt zal naar berekening niet meer dan

* $s = \frac{x^2 - (x)^2/n}{n-1}$ Waarbij x een meetresultaat is en n het aantal meetresultaten. (Wijvekate 1966).

± 5 % bedragen.

Tenslotte induceert ook het feit dat weliswaar het merendeel, maar niet alle te meten dieren rond of ellipsvormig zijn een fout.

Tabel I.

Lijst van gebruikte klonen

Kloon	A	Witte diepwaterkloon	
"	B	Oranje "	
"	C	Witte "	
"	D	Oranje "	
"	F	" "	
"	G	" "	
"	H	Witte "	
"	I	" "	(Uitgegaan van natuurlijke kloon).
"	K	" kustkloon	"
"	M	Bruine "	"
"	N	Witte diepwaterkloon	
"	O	Oranje kunstkloon	"
"	P	" diepwaterkloon	
"	R	" "	
"	S	" "	
"	T	" "	
"	U	" "	
"	W	" "	

5. Resultaten

a. Temperatuurreeks

De groei gegevens van serie A (tabel II) zijn voor de overzichtelijkheid in grafiek gebracht (fig. 12). Aan de hand hiervan zullen we de resultaten aan een verdere beschouwing onderwerpen.

In principe vertonen de resultaten van alle klonen hetzelfde beeld. De groei neemt af in volgorde 20 - 15 - 24, 5 °C. Het optimum ligt dus tussen 15 en 24,5 graden C. Bij kloon C is het uiteindelijke verschil in groei bij 20 °C en 15 °C minder overtuigend. Wanneer we echter de relatieve groei nader beschouwen, zien we dat in de eerste week bij 15 °C een sterkere groei is opgetreden dan bij 20 °C. (Misschien te wijten aan een toevallig groot aandeel in het schaarse voedsel). Deze tendens zet zich evenwel niet voort. In de tweede week is de groei bij beide temperaturen ongeveer gelijk, terwijl de groei bij 20 °C in de laatste week ± twee maal zogroot is (97 tegen 53%). Het ziet er dus wel naar uit, dat de aanvankelijk opgelopen achterstand bij voortzetting van het experiment ruimschoots goedgemaakt zou zijn.

Voorts kunnen we stellen, dat bij 17 ‰ Cl de uiterste grens, waarbij nog groei optreedt bij ongeveer 24,5 °C ligt. In de eerste week trad bij deze temp. een zeer geringe, geen of zelfs een zwak negatieve groei op. In de tweede week vertoonden 5 klonen een groeitop (zoals fig. 12 duidelijk laat zien), terwijl kloon B en C zich op hetzelfde niveau handhaafden. In de derde week trad in alle gevallen een negatieve groei op. Opvallend is, dat het uiteindelijk resultaat voor Kloon F toch nog een aanzienlijke positieve groei is.

Tabel II

Serie A. 15 - 20 - 24,5 °C, ± 17 °/oo Cl

Aantal klonen: 7 Diepwaterklonen; A t/m G.

Datum : 14 - 4 - 1967 t/m 5 - 5 - 1967.

Temperatuur : Geen noemenswaardige storingen.

Saliniteit : Geen veranderingen.

pH. : Idem.

Voedsel : Voor de aanvang van het experiment hadden de proefdieren reeds een weinig voedsel genoten. Tijdens de eerste dagen van het experiment werd nauwlijks gevoerd. (Oorzaak; het aangevoerde plankton bijna geen dierlijke componenten).
Na vijf dagen werd een portie Cyclops toegediend. Deze werd gretig geaccepteerd. Cyclops sterft echter te snel in zeewater om op grote schaal als voer gebruikt te worden.
Met ingang van de tweede week werd dagelijks een vaste dosis Artemia gevoerd; ± 0,33 gram per bak/per dag.

Kloon	Temp. °C	nr. meting	aantal proef dieren	gem.opp. in mm^2.	toename t.o.v. meting 1 in %	toename t.o.v.vorige meting in %
A.	15	1	4	6,94	-	-
		2	4	7,34	5	5
		3	4	18	158	145
		4	4	26,66	283	48
A.	20	1	6	8,52	-	-
		2	6	12,81	50	50
		3	6	24,33	186	90
		4	6	46,21	442	90
B.	15	1	9	12,75	-	-
		2	9	15,63	23	23
		3	9	23,61	85	51
		4	9	44,62	248	88
B.	20	1	8	13,58	-	-
		2	8	14.18	4	4
		3	8	30,47	124	115
		4	8	55,70	310	83

Tabel II (vervolg)

Kloon	Temp. °C	nr. meting	aantal proefdieren	gem.opp. in mm^2.	toename t.o.v. meting 1 in %	toename t.o.v.vorige meting in %
B.	24,5	1	8	8,04	-	-
		2	8	8,37	4	4
		3	7	9,13	14	9
		4	6	8,73	9	-4
C.	15	1	7	11,00	-	-
		2	7	15,30	39	39
		3	7	31,39	185	105
		4	7	48,13	338	53
C.	20	1	7	10,60	-	-
		2	6	11,75	11	11
		3	6	25,00	136	113
		4	6	49,23	364	97
C.	24,5	1	7	10,61	-	-
		2	7	11,52	-1	-1
		3	7	11,80	12	12
		4	6	11,77	12	0
D.	15	1	10	12,28	-	-
		2	10	11,83	-4	-4
		3	10	17,80	45	50
		4	10	28,13	129	58
D.	20	1	11	15,79	-	-
		2	11	19,80	25	25
		3	11	33.59	113	70
		4	11	53,63	239	60
D.	24,5	1	10	11,28	-	-
		2	9	9,85	-13	-13
		3	10	14,70	30	49
		4	8	13,50	20	-8
E.	15	1	8	17,00	-	-
		2	8	20,36	20	20
		3	8	34,86	105	71
		4	8	48.41	185	39
E.	20	1	7	22,48	-	-
		2	6	32,90	46	46
		3	6	54,00	140	64
		4	6	98,26	337	82

Tabel II (vervolg)

Kloon	Temp. °C	nr. meting	aantal proef dieren	gem.opp. in mm²	toename t.o.v. meting 1 in %	toename t.o.v.vorige meting in %
E.	24,5	1	7	17,02	-	-
		2	7	15,03	-12	-12
		3	7	19,83	17	32
		4	7	16,75	-2	-16
F.	15	1	8	10,16	-	-
		2	8	14,47	42	42
		3	8	24,11	137	67
		4	8	38,19	276	58
F.	20	1	9	10,99	-	-
		2	8	13,85	26	26
		3	8	28,75	162	108
		4	8	53,89	390	87
F.	24,5	1	11	9,10	-	-
		2	11	11,02	21	21
		3	11	16,44	81	49
		4	11	15,83	74	-4
G.	15	1	11	11,03	-	-
		2	10	15,65	42	42
		3	11	27,55	150	76
		4	11	38,16	246	39
G.	20	1	8	13,33	-	-
		2	8	17,16	28	28
		3	8	36,03	170	110
		4	8	59,56	347	65
G.	24,5	1	8	10,64	-	-
		2	8	9,67	-9	-9
		3	8	12,58	18	30
		4	8	10,00	-6	-21

We zullen nu de waargenomen groeiverschijnselen in het algemeen nog even nader beschouwen. Het valt ons n.l. op, dat de grafiekjes waarin de groei is uitgezet t.o.v. de voorafgaande meting in de meeste gevallen aanvankelijk een sterke groei te zien geven, die door een

duidelijke groeiafname gevolgd wordt. In een aantal gevallen weet de groei zich ongeveer op dit niveau te handhaven. Voor deze gevallen geldt, dat het oppervlak over de laatste twee weken met hetzelfde percentage is toegenomen; een exponentiële toename dus. Dit suggereert dat de groei zich hier in de z.g.n. logarithmische fase bevindt. Indien dit inderdaad zo is, zou de daling in groei, die in de meeste gevallen te zien is een gevolg kunnen zijn van de geringe hoeveelheid voedsel, die tijdens het experiment werd toegediend. Naarmate de proef vordert worden de anemoontjes nl. groter, waardoor de toegediende constante hoeveelheid voedsel relatief steeds minder toereikend wordt.

Tabel III

Serie B. 17 - 20 - 23 °C, ± 17 °/oo Cl

Aantal klonen: 2 Diepwaterklonen: H en I.
1 Kustkloon: M.

Datum : 11 - 5 - 1967 t/m 1 - 6 - 1967

Temperatuur : Geen noemenswaardige storingen.

Saliniteit : Constant.

pH. : Idem, ± 8.

Voedsel : 0,4 gram per dag per bak.

Kloon	Temp. °C	nr. meting	aantal proef dieren	gem. opp. in mm^2.	toename t.o.v. meting 1 in %	toename t.o.v. vorige meting in %
H.	17	1	11	13,51	-	-
		2	11	27,62	104	104
		3	11	38,37	184	39
		4	-	-	-	-
H.	20	1	9	12,47	-	-
		2	8	26,30	111	111
		3	8	56,88	356	116
		4	8	90,84	628	60

Tabel III (vervolg)

Kloon	Temp. °C	nr. meting	aantal proef dieren	gem.opp. in mm^2.	toename t.o.v. meting 1 in %	toename t.o.v.vorige meting in %
H.	23	1	7	7,46	-	-
		2	7	9,55	28	28
		3	7	19,54	162	104
		4	7	32,19	332	65
I.	17	1	14	10,27	-	-
		2	14	20,07	95	95
		3	14	27,85	171	39
		4	13	33,54	227	21
I.	20	1	14	12,62	-	-
		2	14	25,36	101	101
		3	13	43,24	243	71
		4	13	75,23	496	74
I.	23	1	11	8,80	-	-
		2	11	25,82	194	194
		3	11	46,55	429	80
		4	10	64,09	629	38
M.	17	1	13	9,90	-	-
		2	12	14,47	46	46
		3	11	20,50	106	41
		4	12	33,13	234	62
M.	20	1	11	11,92	-	-
		2	11	23,52	99	99
		3	11	42,11	256	79
		4	10	77,50	555	84
M.	23	1	13	7,85	-	-
		2	13	11,35	45	45
		3	13	20,98	167	84
		4	11	30,88	293	47

De resultaten van serie B (tabel III, fig. 13) suggereren, dat het groeioptimum van Metridium onder uniforme omstandigheden individueel kan verschillen. Ten aanzien van de temperatuurtolerantie bestaat wellicht een genetische variatie: Voor kloon H treedt duidelijk de sterkste groei op bij 20 °C; voor kloon I treedt een groeiafname op in de volgorde 23 - 20 - 17 °C; en voor kloon M valt een duidelijke groeiafname in de volgorde 20 - 23 - 17 °C te constateren.

Tabel IV

Serie C. 5 - 10 °C, ± 17 °/oo Cl.

Aantal klonen: 4 Diepwaterklonen: B, F, H, en I
1 Kustkloon: M.

Datum : 13 - 5 - 1967 t/m 3 - 6 - 1967.

Temperatuur : Door complicaties met het koelsysteem van koelcel, waarin deze proef gedaan werd, traden na de eerste week belangrijke temperatuurschommelingen op in de 5 °C -bak, Soms werden temp. van 9 °C gemeten. Over de laatste twee weken kan de gemiddelde temperatuur daarom wel ± 7 °C i.p.v. 5 °C zijn geweest.

Saliniteit : Constant.

pH. : Idem. ± 8.

Licht : In de koelcel drong veel minder licht binnen dan in de ruimte, waarin de andere experimenten uitgevoerd werden. Dit zou van invloed kunnen zijn op de groei van zeeanemonen, die in symbiose met zooxanthellen leven. Dit is met Metridium niet het geval. De verschillende lichtomstandigheden zullen daarom m.i. van weinig invloed zijn.

Voedsel : ± 0,4 gram per dag per bak.

Kloon	Temp. °C	nr. meting	aantal proefdieren	gem.opp. in mm.	toename t.o.v. meting 1 in %	toename t.o.v. vorige meting in %
B.	5	1	7	9,07	-	-
		2	7	11,41	26	26
		3	7	13,06	44	14
		4	7	17,54	93	34
B.	10	1	10	8,93	-	-
		2	10	9,81	10	10
		3	10	17,88	100	82
		4	10	24,83	178	39
F.	5	1	5	10,78	-	-
		2	4	8,61	-20	-20
		3	4	12,28	14	43
		4	4	16,88	56	37

Tabel IV (vervolg)

Kloon	Temp. °C	nr. meting	aantal proefdieren	gem.opp. in mm^2.	toename t.o.v. meting 1 in %	toename t.o.v. vorige meting in %
F.	10	1	7	8,41	-	-
		2	6	9,11	8	8
		3	6	19,85	136	118
		4	6	24,40	190	23
H.	5	1	10	11,16	-	-
		2	10	12,98	16	16
		3	10	15,36	38	18
		4	10	21,01	88	37
H.	10	1	10	11,29	-	-
		2	10	16,14	43	43
		3	10	23,76	110	47
		4	10	27,55	144	16
I.	5	1	12	8,55	-	-
		2	12	8,55	0	0
		3	12	11,14	30	30
		4	12	15,49	81	39
I.	10	1	12	10,06	-	-
		2	12	13,14	30	30
		3	12	24,89	147	89
		4	12	31,39	212	26
K.	5	1	9	5,57	-	-
		2	8	5,27	-5	-5
		3	7	7,33	31	39
		4	7	7,80	40	6
K.	10	1	11	7,53	-	-
		2	8	8,12	8	8
		3	6	18,85	150	132
		4	6	20,66	175	10
M.	5	1	10	7,91	-	-
		2	11	5,48	-31	-31
		3	9	7,22	-9	32
		4	9	9,49	19	31
M.	10	1	10	9,12	-	-
		2	10	8,19	-10	-10
		3	11	13,33	46	63
		4	11	18,90	107	43

We zien dus, dat het temperatuuroptimum voor de groei bij ± 17‰ Cl in de buurt van de 20 °C ligt, hetgeen we op grond van de resultaten van serie A reeds konden verwachten. Voor kloon I ligt dit optimum duidelijk dichter bij 23 °C dan bij 20 °C. Dit suggereert dat t.a.v. temperatuurtolerantie wellicht een genetische variatie bestaat.

De grafieken resultaten van serie C (tabel IV, fig. 14) vertonen allemaal een duidelijk sterkere groei bij 10 °C, ondanks het oplopen van de temperatuur in de 5 °C-bak.

De resultaten van kloon H en M van de serie B sluiten hierbij aan. We constateren voor deze klonen een afname van de groei in volgorde 20 - 23 - 17 - 10 - 5 °C. Bij kloon I is het verschil in groei tussen 10 °C en 17 °C nihil. In de eerste week treedt bij 17 °C de sterkste groei op. In de tweede week bij 10 °C, in de laatste week werd voor beide temperaturen ongeveer dezelfde groei geconstateerd. Dit resultaat is niet inovereenstemming met de wet van 't Hoff. Een verklaring kon niet gevonden worden.

De resultaten van kloon B en F kunnen we vergelijken met de resultaten, die deze klonen in serie A te zien gaven. Het blijkt dan, dat ondanks de betere voedselomstandigheden waaronder de dieren bij 5 en 10 °C opgekweekt werden, hun groei toch duidelijk achterblijft bij de groei bij 15 °C. De groei voor deze klonen neemt dus af in volgorde 20 - 15 - 10 - 5 - 24,5 °C.

Tabel V

Serie D. 18,5 - 20 - 21,5 °C, ± 17 °/oo Cl.

Aantal klonen: 5 Diepwaterklonen: B, E, F, I en W.

Datum : 26 - 6 - 1967 t/m 17 - 7 - 1967.

Saliniteit : Constant.

Temperatuur : Geen noemenswaardige storingen.

pH. : Idem. ± 8.

Voedsel : ± 0,5 gram per dag per bak.

Kloon	Temp. °C	nr. meting	aantal proef dieren	gem.opp. in mm^2,	toename t.o.v. meting 1 in %	toename t.o.v. vorige meting in %
B.	18,5	1	6	8,09	-	-
		2	6	14,63	81	81
		3	6	27,43	239	87
		4	6	53,67	563	96
B.	20	1	8	7,69	-	-
		2	8	17,66	129	129
		3	8	28,30	268	60
		4	8	55,55	621	96
B.	21,5	1	5	9,34	-	-
		2	5	18,00	93	93
		3	5	36,50	291	103
		4	5	53,75	476	47
E.	18,5	1	10	8,39	-	-
		2	10	20,96	150	150
		3	10	22,96	174	10
		4	10	38,49	359	67
E.	20	1	7	10,94	-	-
		2	7	28,48	160	160
		3	7	35,00	220	23
		4	7	54,00	394	54
E.	21,5	1	11	7,73	-	-
		2	11	19,70	155	155
		3	11	34.12	341	73
		4	9	55,30	615	62
F.	18,5	1	11	10,86	-	-
		2	10	23,28	114	114
		3	11	26,19	141	13
		4	11	37,42	245	43

Tabel V (vervolg)

Kloon	Temp. °C	nr. meting	aantal proef dieren	gem.opp. in mm^2.	toename t.o.v. meting 1 in %	toename t.o.v.vorige meting in %
F.	20	1	11	8,55	-	-
		2	11	22,04	158	158
		3	9	30,61	258	39
		4	9	46,88	447	53
F.	21,5	1	7	10,02	-	-
		2	7	23,58	135	135
		3	7	38,17	281	62
		4	7	58,57	485	53
I.	18,5	1	9	15,13	-	-
		2	9	32,49	115	115
		3	9	28,84	91	-11
		4	9	39,63	162	37
I.	20	1	11	11,21	-	-
		2	11	23,32	108	108
		3	11	25,87	131	11
		4	9	38,00	239	47
I.	21,5	1	12	10,53	-	-
		2	12	30,65	191	191
		3	10	49,14	367	60
		4	10	65,86	525	34
W.	18,5	1	13	6,12	-	-
		2	13	10,29	68	68
		3	13	17,96	193	75
		4	13	25,36	314	41
W.	20	1	18	8,09	-	-
		2	18	13,61	68	68
		3	18	21,34	164	57
		4	18	36,80	354	72
W.	21,5	1	15	6,32	-	-
		2	15	13,49	113	113
		3	15	21,23	236	57
		4	15	42,52	573	100

Het doel van serie D (tabel V fig. 15) was om het groeioptimum wat nauwkeuriger te bepalen. Daarom werd zoveel mogelijk gebruik gemaakt van klonen, die reeds eerder onderzocht waren om een redelijke vergelijking mogelijk te maken.

De grafieken geven ons een merkwaardig beeld. Alleen de groeikromme bij 21,5 °C ziet er over het geheel genomen normaal uit. Voor 18,5 °C en 20 °C kan dit niet gezegd worden. Men krijgt in drie van de vijf gevallen, te weten: E, F, en I de indruk dat hier een (onbekende) groeibelemmerende factor in het spel is geweest. Als we b.v. kloon F eens nader bekijken, constateren we bij 18,5 °C een uiteindelijke groei van 250%. In serie A, die onder minder gunstige voedselomstandigheden verliep bedroeg de groei bij 15 °C al meer (n.l. 276%). Bij kloon I meten we een uiteindelijke groei bij 18,5 °C en 20 °C van resp. 162 en 239%. In serie B werd voor 20 °C een waarde van 490% gevonden, ruim twee maal zoveel dus. In dezelfde serie werd bij 10 °C een groei van 210% gemeten, hetgeen ruimschoots meer is dan we in het nu besproken experiment bij 18,5 °C vonden. (Ook in serie B waren de voedselvoorwaarden minder gunstig):

b. saliniteitreeks

Zoals we uit de resultaten van serie E (tabel VI, fig. 16) kunnen aflezen stierven alle proefdieren uit de 6 °/oo Cl -bak binnen één week (in feite zelfs binnen enkele dagen). Metridium kan zich bij 20 °C en 6 °/oo Cl dus onmogelijk handhaven.

Ook in de 8 °/oo Cl -bak verminderde het aantal proefdieren naarmate de proef vorderde. Ook hier haalde geen enkel exemplaar het einde van de proef. Na twee weken was het aantal proefdieren al zodanig gereduceerd, dat verder meten geen zin meer had. We zien dus, dat Metridium bij 8 °/oo Cl weliswaar ten gronde gaat, maar toch in staat is deze Cl -waarde enige tijd te verdragen.

Tabel VI

Serie E. 6 - 8 - 10 °/oo Cl, 20 °C

Aantal klonen : 6 Diepwaterklonen: I, P, R, S, T en U

Datum : 22 - 6 - 1967 t/m 13 - 7 - 1967.

Temperatuur : Geen schommelingen.

Saliniteit : Schommelde minder dan + 0,25 °/oo Cl.

pH. : Deze bleek na afloop van het experiment ± 8,3 te bedragen. Nogal aan de hoge kant, als we bedenken dat van Noordzeewater (pH. ± 8) dat verdund werd met leidingwater (pH. 7,5) werd uitgegaan. Mogelijk is deze pH. verhoging te wijten geweest aan een stuk kalksteen, waarmee de uitstromers in het aquarium hun plaats werden gehouden. Misschien ook kan het karakter van de afvalproducten die zich tijdens het experiment ophopen voor dit feit verantwoordelijk gesteld worden.

Voedsel : Er werd naar een overmaat gestreefd.

Kloon Sal.	Cl °/oo	nr. meting	aantal proef dieren	gem.opp. in mm^2	toename t.o.v. meting 1 in %	toename t.o.v.vorige meting in %
I.	8	1	8	7,71	-	-
		2	5	7,36	-5	-5
		3	-	-	-	-
I.	10	1	10	7,09	-	-
		2	10	10,91	54	54
		3	10	15,93	124	46
P.	6	1	8	11,64	-	-
		2	-	-	-	-
P.	8	1	7	7.44	-	-
		2	7	7,89	6	6
		3	6	6,13	-18	-22
		4	-	-	-	-
P.	10	1	9	16.41	-	-
		2	9	21,82	33	33
		3	9	26,72	63	22
		4	9	39,28	139	47

Tabel VI (vervolg)

Kloon Sal.	Cl °/oo	nr. meting	aantal proef dieren	gem.opp. in mm^2	toename t.o.v. meting 1 in %	toename t.o.v.vorige meting in %
R.	6	1	10	9,46	-	-
		2	-	-	-	-
R.	8	1	10	10,23	-	-
		2	9	9,63	-6	-6
		3	8	10,53	1	7
		4	-	-	-	-
R.	10	1	12	9,74	-	-
		2	13	16,38	68	68
		3	13	21,60	122	32
		4	13	28,56	193	32
S.	6	1	11	6,79	-	-
		2	-	-	-	-
S.	8	1	9	8,43	-	-
		2	8	9,56	13	13
		3	4	10,23	21	7
		4	-	-	-	-
S.	10	1	11	9,52	-	-
		2	11	18,36	93	93
		3	11	25,38	167	38
		4	10	36,12	279	42
T.	6	1	5	9,52	-	-
		2	-	-	-	-
T.	8	1	6	14,38	-	-
		2	6	16,33	14	14
		3	2	17,50	-	-
		4	-	-	-	-
T.	10	1	8	10,00	-	-
		2	8	22,61	126	126
		3	7	25,79	158	14
		4	7	40,91	309	59
U.	6	1	13	9,13	-	-
		2	-	-	-	-
U.	8	1	11	6,98	-	-
		2	10	7,36	5	5
		3	8	7,38	5	0
		4	-	-	-	-

Tabel VI (vervolg)

Kloon Sal.	Cl °/oo	nr. meting	aantal proef dieren	gem.opp. in mm²	toename t.o.v. meting 1 in %	toename t.o.v.vorige meting in %
U.	10	1	10	9,79	-	-
		2	10	13,88	42	42
		3	10	19,94	104	44
		4	10	31,44	221	58

Bij 10 °/oo Cl bleek bij alle klonen een duidelijke groei op te treden.

De groei van kloon I werd slechts over een traject van twee weken geweten. Het is de enige kloon die ook voor het experiment van serie F (tabel VII, fig. 17) gebruikt werd. De groei bleek daar bij 12 °/oo Cl meer te bedragen over dezelfde tijd genomen. Voor kloon I geldt daarom dat de groei afneemt in volgorde : 16 - 14 - 12 - 10 - 8 - 6 °/oo Cl.

De waarnemingen van de andere klonen zijn voor beide series niet zonder meer te vergelijken. We constateren voor serie E een gemiddelde groei van 209 %, opgebouwd uit waarden die liggen tussen 140 en 310%. Voor het totaal van klonen van serie F, die bij 12 °/oo Cl opgrociden was dit gemiddelde 486 %, opgebouwd uit waarden tussen 310 en 625 % (Zie tabel VI en VII). Op grond van deze getallen mag men aannemen dat de groei bij 10 °/oo Cl significant verschillend is van de groei bij 12 °/oo Cl.

In het algemeen kunnen we daarom stellen, dat bij Metridium de groei afneemt in volgorde : 12 - 10 - 8 - 6 °/oo Cl.

Tabel VII

Serie F 12 - 14 - 16 °/oo Cl, 20 °C.

Aantal klonen: 2 Diepwaterklonen: I en N.
3 Kustklonen: K, M, en O.

Datum : 13 - 5 - 1967 t/m 3 - 6 - 1967.

Temperatuur : Geen storingen.

Saliniteit : Schommelde minder dan + ½°/oo Cl.

pH. : Niet gecontroleerd.

Voedsel : Er werd naar een overmaat gestreefd.
De totaal toegediende hoeveelheid
Artemia bedroeg ± 15 - 16 gram.

Kloon Sal.	Cl °/oo	nr. meting	aantal proef-dieren	gem.opp. in mm²	toename t.o.v. meting 1 in %	toename t.o.v. vorige meting in %
I.	12	1	12	11,05	-	-
		2	12	22,47	103	103
		3	12	32,69	196	45
		4	12	49,08	344	50
I.	14	1	11	10,61	-	-
		2	11	22,09	108	108
		3	11	35,45	234	60
		4	11	65,53	433	59
I.	16	1	11	9,94	-	-
		2	10	22,22	123	123
		3	10	40,58	308	83
		4	11	65,18	556	61
K.	12	1	11	6,35	-	-
		2	11	10,99	73	73
		3	11	20,26	219	84
		4	11	26,01	309	29
K.	14	1	13	6,35	-	-
		2	13	18,66	194	194
		3	13	37,80	496	103
		4	13	58,00	813	53
K.	16	1	8	5,84	-	-
		2	8	11,18	92	92
		3	8	19,84	240	77
		4	8	33,17	468	67

Tabel VII (vervolg)

Kloon Sal.	Cl °/oo	nr. meting	aantal proef dieren	gem.opp. in mm^2	toename t.o.v. meting 1 in %	toename t.o.v. vorige meting in %
M.	12	1	13	7,37	-	-
		2	13	15,71	113	113
		3	13	34,32	366	118
		4	13	53,33	624	55
M.	14	1	15	6,67	-	-
		2	16	16,69	150	150
		3	16	36,92	454	112
		4	16	65,09	876	76
M.	16	1	10	7,21	-	-
		2	10	17,96	149	149
		3	10	35,76	396	99
		4	10	66,58	824	86
N.	12	1	12	5,87	-	-
		2	12	13,05	122	122
		3	12	23,00	292	76
		4	12	35,00	544	64
N.	14	1	8	10,07	-	-
		2	8	16,95	68	68
		3	8	37,77	275	123
		4	8	68,82	583	82
N.	16	1	4	6,69	-	-
		2	4	11,28	69	69
		3	4	24,75	270	119
		4	4	54,78	808	121
O.	12	1	11	5,22	-	-
		2	11	12,37	137	137
		3	11	22,03	322	778
		4	11	36,94	608	68
O.	14	1	11	8,08	-	-
		2	11	18,73	132	132
		3	11	39,14	384	107
		4	11	74,18	826	91
O.	16	1	9	6,97	-	-
		2	9	16,94	143	143
		3	9	41,43	494	145
		4	9	80,23	1051	94

Tabel VII toont ons verder dat het saliniteitsoptimum evenals het temperatuuroptimum individueel kan variëren. De diepwaterklonen I en N vertonen beiden een groeiafname in volgorde: 16 - 14 - 12 °/oo Cl. De kustklonen gedragen zich verschillend. Bij kloon K constateren we n.l. een groeiafname in de volgorde: 14 - 16 - 12 °/oo Cl. Het optimum wordt dus bereikt bij een chloriditeit die ligt tussen 14 en 16 °/oo en wel zoals fig. 17 suggereert het dichtste bij 14 °/oo. Bij kloon M is de groeivolgorde eveneens: 14 - 16 - 12 °/oo Cl. De groei bij 14- en 16 °/oo verschilt echter weinig. Het optimum zal daarom bij ± 15 °/oo Cl liggen. Voor kloon O geldt de volgorde 16 - 14 - 12 °/oo Cl, zodat we moeten concluderen dat het optimum bij ± 16 °/oo Cl of nog hoger ligt.

Wanneer we grafiekjes waarin de groei is uitgezet t.o.v. de vorige meting (fig. 16 en 17), bestuderen valt ons op, dat de sterkste groei doorgaans gedurende de eerste week optreedt. Daarna wordt het groeipercentage minder. Een verklaring voor deze groeitop, die zich in niet alleen hier maar in alle proeven min of meer duidelijk manifesteerde, is mogilijk te geven. Misschien heeft het iets te maken met het feit dat de proeven werden gedaan met uitgehongerde geregenereerde anemoontjes. Dit regeneratieproces kost n.l. energie, waarvoor de celreserves aangesproken worden. Dit zou gepaard gaan met een kleiner worden van de cellen (een feit is in ieder geval, dat uithongering bij zeeanemonen reductie in afmetingen ten gevolge heeft). Bij toedienen van voedsel zou aanvankelijk naast de normale groei door mitose een extra groei optreden, doordat de cellen hun te kort aan reserve - voedsel aanvullen, wat met zwelling gepaard gaat. Deze combinatie zou dan verantwoordelijk zijn voor de geconstateerde top.

In meer dan de helft van de gevallen handhaaft de groei in de derde week zich op het niveau van de tweede week wat in de grafiekjes tot uiting komt in een horizontaal stuk. Dit horizontale stuk is reeds bij serie A van de temperatuurreeks ter sprake gekomen, toen het zich slechts in enkele gevallen manifesteerde. Het duidt op exponentiële groei van het organisme.

c. In het buitenwater

We hebben uit de resultaten van de zojuist besproken experimenten een bepaald beeld van de groei van Metridium gekregen. Hoe vaak blijkt echter niet, dat organismen zich om een of andere reden in het laboratorium anders gedragen, dan in de vrije natuur.

We weten nu, dat Metridium in betrekkelijk korte tijd (drie weken) enorm kan groeien. In één geval (Serie F, kloon 0,16 °/oo Cl) constateerden we zelfs, dat deze groei ongeveer tien maal het oorspronkelijke oppervlak bedroeg.

Om nu een indruk van de groei in het buitenwater te krijgen - en daar was het eigenlijk alleen om te doen - werd een kistvormig frame ontworpen (afmetingen; ±110 bij 30 bij 30 cm) (fig. 18). Hierin konden een zestal raampjes geplaatst worden, bestaande uit een houten frame waarbinnen aan vier nylonkoordjes een persplexplaatje gespannen kon worden. Op deze persplexplaatjes werden Metridium-klonen gekweekt,

op de zelfde wijze als dit voor de laboratoriumproeven op glas gebeurde (fig. 11).

Een tweetal van deze kistjes, compleet met raampjes met klonen werden met stenen verzwaard in zee opgehangen op een tweetal plaatsen in het Marsdiep (een gebied waar Metridium buitengewoon veel voorkomt).

1. Aan het vlot van T.N.O. in de havenmond van den Helder (serie G).
2. Aan een vlot in het toekomstige haventje van het N.I.O.Z. aan het Horntje op Texel (serie H).

Er werden alleen klonen gebruikt, die reeds in het laboratorium onderzocht waren. Het meten geschiedde op dezelfde wijze als in het lab., hoewel iets minder nauwkeurig. Ook hier werden de metingen om de week verricht.

We zien dat voor beide series (G en H, tabel VIII en IX, figs. 18 en 19) de groei niet met een explosie begint, maar geleidelijk aan toeneemt, in tegenstelling tot wat we bij de laboratoriumexperimenten doorgaans zagen.

In principe zouden we kunnen nagaan of deze groeitendens in enig verband staat met saliniteitsschommelingen en/of het op lopen van de temperatuur van het zeewater gedurende het experiment. Daar de groei echter slechts om de week werd gemeten heeft het zoeken naar een correlatie geen zin. Hiertoe zou op z'n minst dagelijks de groei gemeten moeten worden en zelfs dan moet men nog zeer voorzichtig zijn, omdat men de invloed van andere factoren, waarbij ik in de eerste plaats aan de factor "voedsel" denk, niet kan beoordelen.

Wat deze meetresultaten ons tonen is, dat de groei in het buitenwater van dezelfde grootteorde is als in het laboratorium.

Tabel VIII

Serie G, T.N.O. - vlot, Den Helder.

Aantal klonen: 1 Diepwaterkloon: I.
1 Kustkloon: M.

Datum : 12 - 5 - 1967 t/m 2 - 6 - 1967.

Diepte : ± 1 meter.

Temperatuur : gem. op 30 cm diepte 13,3 °C, extremen: 12,3 °C en 15 °C.
gem. op 2 m diepte 13,2 °C, extremen: 12,2 °C en 14.7 °C.

Saliniteit : gem. op 30 cm diepte 14,59 °/oo Cl extremen: 12,56 °/oo CL en 15,65 °/oo Cl.
gem, op 2 m diepte 15,2 °/oo Cl, extremen: 14,1 °/oo Cl en 16,01 °/oo Cl.

Kloon	nr. meting	aantal proef-dieren	gem.opp. in mm^2	toename t.o.v. meting 1 in %	toename t.o.v.vorige meting in %
I.	1	60	8,02	-	-
	2	58	9,98	23	23
	3	53	14,64	81	47
	4	51	24,00	197	64
M.	1	16	8,06	-	-
	2	16	10,55	31	31
	3	16	13,83	72	31
	4	16	23,41	192	69

Tabel IX

Serie H, vlot Horntje, Texel.

Aantal klonen: 1 Diepwaterkloon: I.
2 Kustklonen: M en O.

Datum : 12 - 5 - 1967 t/m 2 - 6 - 1967.

Diepte : ± 50 cm.

Temperatuur : gem. opp. temp. 12,5 °C extremen : 11,7 °C.
(gegevens R.I.V.O) en 14,7 °C.

Saliniteit : gem. ± 16 °/oo Cl, extremen: ± 15,3 °/oo Cl
en ± 16,7 °/oo Cl.

Kloon	nr. meting	aantal proef-dieren	gem.opp. in mm^2	toename t.o.v. meting 1 in %	toename t.o.v.vorige meting in %
I.	1	29	9,22	-	-
	2	29	11,61	26	26
	3	29	17,04	84	47
	4	29	24,23	163	43
M.	1	24	6,08	-	-
	2	24	5,30	13	13
	3	24	8,96	47	69
	4	23	15,98	163	78
O.	1	14	8,30	-	-
	2	13	10,67	29	29
	3	13	13,96	68	31
	4	13	22,78	174	63

6. Slotbeschouwing

Waarom dringt Metridium de Oostzee niet verder binnen dan de Kieler Bocht?

De oppervlaktetemperaturen in de Oostzee stijgen in de zomer tot ± 16 ă 17 °C, terwijl in warme zomers in ondiepe stukken temperaturen van meer dan 20 °C gemeten kunnen worden (Segersträle, 1966). In de winter daalt de temperatuur in het westelijk deel van de Oostzee tot 1 à 2 °C, terwijl de bodemtemperatuur dan iets hoger is.

Alle genoemde temperaturen vallen ruimschoots binnen het tolerantiebereik van Metridium. PAX (1937) vermeldt, dat zelfs bevriezing geen blijvende schade aan deze soort behoeft toe te brengen. De temperatuur op zich zelf kan dus nooit de beperkende factor voor het huidige verspreidingsgebied zijn.

Voor de saliniteit liggen de zaken anders. We vinden n.l. een sterke saliniteits afname van West naar Oost. Bovendien is het westerlijk deel van de Oostzee sterk aan saliniteits schommelingen onderhevig.

In het laboratorium vonden we bij 20 °C:

1. Bij 6 °/oo Cl (S= 10,86 °/oo - 11,31 °/oo) sterft Metridium binnen enkele dagen.
2. Bij 8 °/oo Cl (S= 14,47 °/oo - 14,92 °/oo) stierven alle proefdieren na ± twee à drie weken.
3. Bij 10 °/oo - 16 °/oo Cl (S= 18,08 °/oo - 18,53 °/oo of meer) bleek Metridium uitstekend te groeien.

Op grond van deze drie punten blijkt dat de saliniteit in de gebieden ten oosten van de Kieler Bocht niet aan de minimale fysiologische eisen van Metridium voldoet. De conclusie luidt dan ook, dat de

saliniteit wellicht de verspreiding van Metridium in de Oostzee bepaalt.

Aan deze conclusie is echter een "maar" verbonden. Er is n.l. geen rekening gehouden met het feit, dat er tussen temperatuur en saliniteit een wisselwerking bestaat. KINNE (1956, 1960) constateerde bij de brakwaterpoliep Cordylophora caspica (PALLAS) en het visje Cyprinodon macularis BAIRD & GIRARD, dat bij saliniteits verhoging een zekere verschuiving van het temp. optimum naar boven plaats vond, terwijl bij saliniteits verlaging het omgekeerde optrad. Er werden i.v.m. de beschikbare tijd geen proeven gewijd aan dit effect bij Metridium. Toch kunnen exact genomem alleen dergelijke proeven het argument leveren om bovenstaande (voorlopige) conclusie te aanvaarden of te verwerpen.

Waarom heeft Metridium zich niet in de Middellandse Zee kunnen handhaven, terwijl de soort er vroeger wel gevonden is?

We constateerden in het laboratorium voor ± 17 °/oo Cl dat het temperatuurmaximum van Metridium bij ongeveer 24,5 °C ligt. De temperaturen in de Middellandse Zee dalen niet beneden ± 10 °C. In de zomer lopen ze op tot aanzienlijke hoogte. Een indruk van het jaarlijkse temperatuursverloop geven de volgende tabellen. (Overgenomen uit : Middellandse Zee, Oceanografische en meteorologische gegevens K.N.M.I., 1957).

Gem. maandtemp. Golf van Napels.	°C	Gem. maandtemp. Golf van Triëst.	°C
jan.	14,2	jan.	10,4
feb.	13,5	feb.	10,2
ma .	13,7	ma .	9,8
apr.	14,9	apr.	13,8
mei.	17,6	mei.	16,9
jun.	21,4	jun.	20,5
jul.	23,8	jul.	23,6
aug.	24,9	aug.	23,3
sep.	23,5	sep.	21,8
oct.	20,8	oct.	18,2
nov.	18,1	nov.	15,3
dec.	15,6	dec.	11,7

We zien, dat de gemiddelde augustus temperatuur in de Golf van Napels ± het maximum bereikt, dat we voor 17 °/oo Cl vonden. Dit betekent, dat dit maximum tenminste enkele dagen van augustus overschreden zal worden. Ook de gemiddelden van juli en september liggen hoog. In de Middellandse Zee vinden we een saliniteit van ongeveer 20 - 22 °/oo Cl. Dit zijn waarden, die ruim buiten het in het laboratorium onderzochte saliniteits traject liggen. Wat daarom voor de vorige conclusie gold, geldt hier in nog sterkere mate. We zullen eerst in het laboratorium moeten nagaan of het temperatuurs-optimum (resp.-maximum) voor deze hoge saliniteiten naar boven verschuift, en indien dat zo is, hoe groot deze verschuiving is. Pas als we dit weten kunnen we de temperatuursfactor op haar juiste waarde schatten.

Waarom blijven kunstdieren in het algemeen kleiner dan hun soortgenoten uit dieper water?

T.a.v. dit fenomeen dringt zich de vraag aan ons op of deze verschillen zonder meer zijn toe te schrijven aan het milieu (fenotypisch van aard dus) of dat hier (ook) genetische verschillen een rol spelen, m.a.w. dat het milieu een selecterende werking zou uitoefenen op verschillende genotypen. We zullen nagaan of de verkregen resultaten van de groeiproeven ons bij de oplossing van dit probleem kunnen helpen. Voor een vergelijking van de groei tussen kust- en diepwaterklonen leent zich Serie F van de saliniteitsreeks. We constateren hier, dat de absolute groei (bij 20 °C) van de kust-klonen K, M, en O de diepwaterklonen I en N voor die waarden, waarbij de sterkste groei optrad zich als volgt verhouden: K : M : O : I : N = 810 : 880 : 1050 : 550 : 715. We zouden geneigd zijn hieruit te

concluderen dat kustdieren aanzienlijk harder groeien dan diepwaterdieren. Kloon O groeit bijna tweemaal zo hard als kloon I. We moeten echter wel bedenken dat deze proef bij 20 °C verliep, terwijl bij Serie B van de temperatuurreeks bleek dat het temperatuuroptimum van kloon I onder dezelfde omstandigheden aanzienlijk hoger lag dan bij de andere gebruikte klonen (± 23 °C tegen ± 20 °C). Dit betekent dat de groei van kloon I bij 20 °C niet zonder meer is te vergelijken met de groei van andere klonen. (Vergelijk hiertoe ook het groeiverloop van kloon I en M in Serie B van de temperatuurreeks en de groei die bij aanzienlijk lagere temperatuur voor beide klonen in het buitenwater geconstateerd werd. Het groeiverschil is hier nihil).

We zullen nu in dit verband eens nagaan hoe sterk de groei variëert bij één categorie van dieren. Hiervoor kunnen we Serie A van de temperatuurreeks beschouwen, waarbij alleen met diepwaterklonen gewerkt werd. De groeiverhoudingen bij 20 °C waren als volgt: A : B : C : D : E : F : G = 440 : 315 : 365 : 240 : 340 : 345. We zien hieruit dat deze variatie zeer aanzienlijk is (kloon A groeit bijna tweemaal zo hard als kloon D). Verder zien we, dat de variatie in groei die we bij serie F van de saliniteitsreeks vinden tussen diepwater en kustklonen percentueel niet groter is (eigenlijk zelfs kleiner, als we kloon I buiten beschouwing laten) dan de variatie, die we bij de diepwaterklonen van serie A van de temperatuurreeks constateren. Weliswaar zien we een duidelijk verschil in absolute groei tussen beide series, doch dit verschil is naar alle waarschijnlijkheid toe te schrijven aan de verschillende voedselomstandigheden, waaronder beide series opgekweekt werden. We mogen daarom niet concluderen dat

de kustklonen harder groeien dan de diepwaterklonen, en voorlopig hebben we daarom geen reden om aan te nemen dat het verschil in grootte tussen kust- en diepwaterdieren, dat we in de natuur constateren genetisch vast ligt. Zolang er geen gegevens zijn, die dit tegenspreken mogen wij aannemen, dat het milieu voor dit verschijnsel verantwoordelijk is.

De belangrijkste milieufactoren, die van invloed kunnen zijn zijn:

1. Temperatuur:
   Aan de kust zijn de jaarlijkse extremen doorgaans groter dan in dieper water.

2. Salinitiet:
   In estuariën en op plaatsen waar zoetwaterbekkens in zee uitmonden heerst doorgaans een lager zoutgehalte dan op plaatsen, waar dit niet het geval is. Bovendien treden hier veel grotere schommelingen op dan in dieper water, waar meer uniforme omstandigheden heersen.

3. Eb en vloed:
   Dit verschijnsel is alleen van invloed op in de getijdenzone levende vormen. Deze zijn blootgesteld aan grote en snel verlopende temperatuurschommelingen (afwisselend de temperatuur van het water en de lucht). In de winter staan de dieren bij eb vaak bloot aan gure winden, wat uitdroging en waarschijnlijk inherent hieraan sterfte tengevolge kan hebben. Bij strenge vorst kan ook bevriezing sterfte veroorzaken.

4. Golfslag:
   Tenslotte staan kustvormen vaak aan eens sterke golfslag bloot.

Ik wil in dit verband ook het laceratieverschijnsel nog even

onder de aandacht brengen. Men krijkt n.l. sterk de indruk dat kustdieren veel frequenter lacereren dan dieren uit diep water. (Zie fig. 2. Dit soort toestanden werden nooit bij diep waterdieren aangetroffen). Deze indruk, die voornamelijk gebaseerd is op het gedrag van kustdieren van de Helderse zeedijk, kan met enkele concrete voorbeelden gestaafd worden:

1. Toevallig nam ik bij aan op 11 - 2 -1967 op de Helderse dijk verzameld ex. (afm. ± 1,25 x 1,25 cm) binnen enkele dagen een afsnoering van zeven stukjes waar.
2. Op 6 - 4 - 1967 (temp. 10 °C) werden vier grote diepwaterex. in een volglasaquariumpje geplaatst. (1 wit, 1 bruin, 1 roodbruin en 1 oranje ex.). Op 27 - 6 - 1967 (temp. 15,5 °C) bleken in totaal slechts 2 stukjes te zijn afgesnoerd (1 wit en 1 oranje.
3. Op 10 - 7 - 1967 werden twee bakjes ingericht. In het ene bakje werden vier middelgrote diepwaterdieren geplaatst en in het andere negen kustdieren (2 middelgrote witte, 2 middelgrote rose en 5 kleine bruine ex.). Na twee weken werd de balans opgemaakt. (24 - 7 - 1967). Bij de diepwaterdieren bleek in 't geheel geen laceratie te zijn opgetreden. Bij de kustdieren werden zeventien afgesnoerde stukjes geteld. (2 rose, 2 witte en 13 bruine).
4. Voorts bleek bij een proefje, waarbij een glazen bak in zijn geheel in een bassin geplaatst werd, zodanig dat de dieren in staat waren om over de rand heen te kruipen, dat op deze rand verscheidene stukken werden "afgesneden".

Ik wil uit deze enkele waarnemingen niet dadelijk concluderen dat de laceratiefrequentie genetisch vast ligt, maar met de mogelijkheid

moet op grond van deze gegevens wel degelijk rekening gehouden worden. Verder is duidelijk gebleken dat tenminste één milieufactor, n.l. het substraat van invloed is op de laceratiefrequentie.

De veronderstelling, dat kustvormen kleiner zouden blijven dan diepwatervormen omdat ze zoveel lacereren, m.a.w. dat de groei zich zou manifesteren in de groei van een kloon en niet in de groei van het individu lijkt vergezocht. Kustvormen blijven n.l. in het algemeen kleiner dan hun soortgenoten uit diepwater, ook bij soorten die zich niet ongeslachtelijk voortplanten zoals Tealia felina (L). Dit neemt echter niet weg dat het laceratieverschijnsel bij Metridium dit effect nog zou kunnen vergroten.

In verband met de tijd die dit in beslag zou nemen is een statistische bewerking van de gegevens achterwege gebleven, te meer daar de resultaten ook zonder statistiek duidelijke taal spreken.

De mogelijkheid voor een eventuele statistische bewerking van het materiaal is evenwel opengelaten. Hiertoe werden alle oorspronkelijke metingen bewaard (en bij dit verslag gevoegd). Hieruit kunnen verder alle gewenste gegevens zoals standaarddeviaties enz. afgeleid worden

De slotbeschouwing draagt nogal een speculatief karakter. De oorzaak hiervan ligt in het feit, dat de groeiproeven niet zuiver werden afgestemd op verspreidingsproblemen. In eerste instantie is n.l. alleen getracht om de invloed van temperatuur en saliniteit op de groei nate gaan, een onderzoek naar fysiologische eigenschappen dus. Daarna is pas getracht om aan de gegevens die hierbij verkregen werden conclusies over bepaalde verspreidingsproblemen vast te knopen.

Ondanks het feit, dat deze gegevens voor gefundeerde conclusies niet toereikend bleken, heb ik toch gemeend op deze problemen in te mogen gaan, omdat hierbij een aantal interessante aspecten naar voren komen, die bij voortgezet onderzoek van belang kunnen zijn.

7. Literatuur

Carlgren O. Studiën über Regenerations- und Regulationserscheinungen. Pt 1. K. Svenska Vetensk. Akad. Handl, Stockholm, 37, 8 pp. 1 - 105, 11 pls. text-illustr. 1904.

\- Studiën über Regenerations- und Regulationserscheinungen. Pt 2. K. Svenska Vetensk. Akad. Handl, Stockholm, 43, 9 pp. 1 - 48, 4 pls. text-illustr. 1909.

Gunter G. (In: Hedgpeth J.W.) Treatise on, marine ecology and paleoecology. Vol. 1. pg. 159 - 184. 1966

\- & Pearse A.S. (In: Hedgpeth J.W.) Treatise on marine ecology and paleoecology. Vol. 1. pg. 129 - 159. 1966.

Kinne O. Über den Einfluss des Salzgehaltes und der Temperatur auf Wachstum, Form und Vermehrung bei dem Hydroidpolypen Cordylophora caspica (Pallas), Thecata, Clavidae. Zool. Jahrb., 66: 565 - 638. 1956.

Kinne O.	Uber den Wert kombinierter Untersuchungen (Im Biotop und im Zuchtversuch) für die ökologische Analyse. Die Naturwissensch., 43: 1956.
-	Growth, foodintake, and foodconversion in an euryplastic fish exposed to different temperatures and salinities. Phys.Zool. Vol.33, 4, oct. 1960.
Percival. E.	A report on the fauna of the estuaries of the river Tamar and the river Lynher. Journ.Mar.Biol.Ass.U.K.Plymouth.16.pp. 81 - 108:1929.
Pax. F. (In Kükenthal.)	Handbuch der Zoologie. blz. 770 - 824. 1923 - 1925.
-	Uber das Vorkommen der Seenelke (Metridium dianthus Ell.) in der Adria. Zool. Gart. (N.F.), 1, p. 118 - 120: 1928.
- (In Grimpe und Wagler.)	Tierwelt der Nord- und Ostsee. Actiniaria. 1937.
Rawlinson. R.	A comparative study of Metridium senile (L.) var. dianthus (Ellis.) and a dwarfvar. of this species occurring in the River Mersey with a discussion on the systematic position of the genus Metridium. Journ. Marine Biol. Ass. United Kingdom. 19 (2) : 901 - 919. 5 fig. 1934.
Remane, A. (In Grimpe und Wagler.)	Tierwelt der Nord- und Ostsee. Einfürung in die zoologische Ökologie der Nord- und Ostsee. 1940.
Stephenson. T.A.	The British sea-anemones. Vol. 1 en 2. (Ray Society publ.) 1928 - 1935.
Zenkevitch L.A.	Biology of the seas of the U.S.S.R.

8. Bijvoegsel: Regeneratie van Metridium senile

Als voorbeeld van het regeneratieproces, zoals dat bij Metridium kan verlopen (fig. 20, vergroting ± 25 maal) werd uitgegaan van een oranje kustdier (kloon O), dat verzameld werd op 15 - 2 - 1967 aan de Helderse zeedijk:

	3 - 3 - '67	Exemplaar op glasplaatje gezet.
1.	4 - 3 - '67	Het dier heeft zich reeds redelijk vast gezet en vertoont uitlopers. Eén van de uitlopers
2.		afgesneden en in twëëën verdeeld. Acontiën (gespecialiseerde, vrij in het coelenteron hangende mesenteriaalfilamenten, die zwaar met netelcellen bezet zijn) en een witte pulpachtige massa (mesogloea) komen naar buiten. Reeds direkt beginnen de afgesneden randen te contraheren.
3.	5 - 3 - '67	Niets meer van de scherp afgesneden randen te zien. Overal treedt ronding door contractie op. Het rimpelig oppervlak is ook het gevolg van de contractie van de doorgesneden spieren.
4.	6 - 3 - '67	Toestand vrijwel onveranderd.
5.	7 - 3 - '67	Vanaf deze dag werd een tekenprisma op het binoculair gebruikt. De acontiën, die bij het afsnijden vrijkwamen zijn vrijwel weer geheel ingetrokken.
6.	8 - 3 - '67	Idem.
7.	9 - 3 - '67	Idem.
8.	10 - 3 - '67	Acontiën van het linkse ex. totaal verdwenen.
9.	11 - 3 - '67	Acontiën van het rechtse exemplaar nu ook verdwenen. Het oppervlak wordt gladder, de rimpelingen verdwijnen, hetgeen op regeneratie van de doorgesneden spieren wijst. In het midden heeft zich langzamerhand een min of meer duidelijke papil gevormd. Voor het eerst zijn ook mesenteriën zichtbaar.

10. 12 - 3 - '67 De papil is hier nog duidelijker. Hij blijkt licht contractiel te zijn.

11. 13 - 3 - '67 De papil heeft zich teruggetrokken.

12. 14 - 3 - '67 Het rechtse ex. wordt steeds ronder.

13. 15 - 3 - '67 Geen zichtbare vooruitgang van het regeneratie-proces.

14. 16 - 3 - '67 Papillen nu zeer duidelijk en retraktiel. Aan de top van de papil voor het eerst tentakelprimordia te zien.

15. 17 - 3 - '67 Geen opvallende vooruitgang.

16. 21 - 3 - '67 Papil nu duidelijk met tentakeltjes. Het linkse ex. heeft zelfs al iets dat op een tentakelkrans lijkt.

17. 22 - 3 - '67 Lichte vooruitgang.

18. 23 - 3 - '67 Idem.

19. 24 - 3 - '67 Idem.

20. 26 - 3 - '67 Het linkse ex. heeft zich zodanig gecontraheerd, dat geen tentakels te zien zijn. Het rechtse ex. werd toevallig beschadigd, zodat de acontiën naar buiten kwamen, die, zoals we zien sinds 4 - 3 - '67 behoorlijk gegroeid zijn.

21. 28 - 3 - '67 Het linkse ex. is uitgegroeid tot een echt anemoontje, dat sterk beweeglijk is. Bij het rechtse ex. ontwikkeld zich slechts één tentakel.

22. 30 - 3 - '67 De retractiliteit nogmaals gedemonstreerd.

23. 31 - 3 - '67 Iets zichtbaar dat sterk aan een mondopening doet denken. Om dit te controleren werd een stukje mosselvlees gevoerd. Dit werd geaccepteerd, doch niet verorberd (23b). Het regeneratieproces is dus kennelijk nog niet geheel verlopen. De enkele tentakel van het rechtse ex. iets beschadigd (insnoering aan het topje).

24. 3 - 4 - '67 Bij beide anemoontjes nu een mondopening zichtbaar. Bij het rechtse ex. groeien nu ook de andere tentakelprimordia uit. Vooral het linkse ex. was moeilijk te tekenen, omdat bij de minste aanraking contractie volgde.

25. 5 - 4 - '67 Stukje mossel gevoerd dat geaccepteerd werd. Van nu af aan het diertje voor groeiexperimenten gebruikt worden.

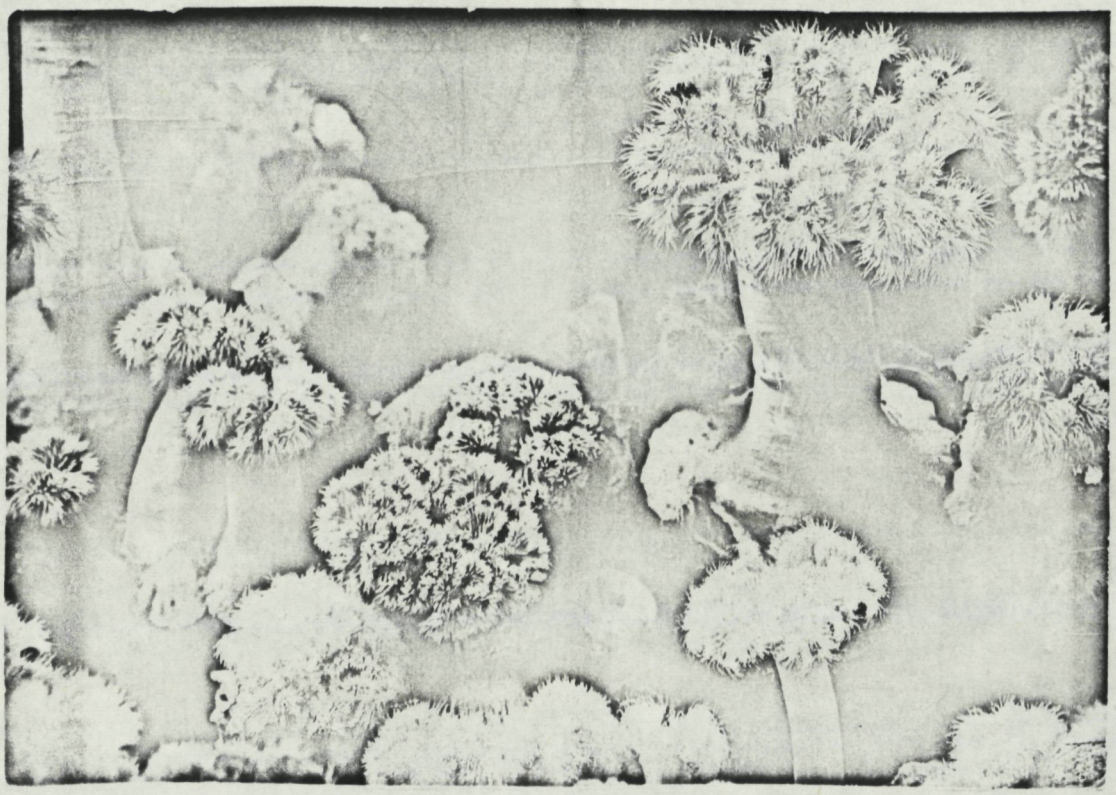


Fig.1. Metridium senile .Habitus. Let op de platte rand bij de overgang van zuil naar voetschijf.(Foto uit het aquarium van de "Staatl.Biol.Anst.Helgoland.)

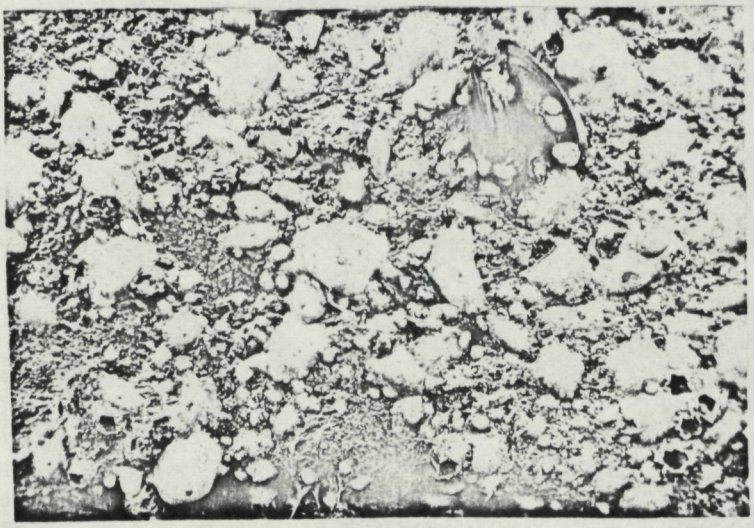


Fig.2.Natuurlijke kloon van kleine kustdieren (+ ½ ware grootte.).Localiteit; Helderse zeedijk mei 1967.
We zien hier het laceratieverschijnsel in z'n ~~optimale~~ duidelijkste vorm.

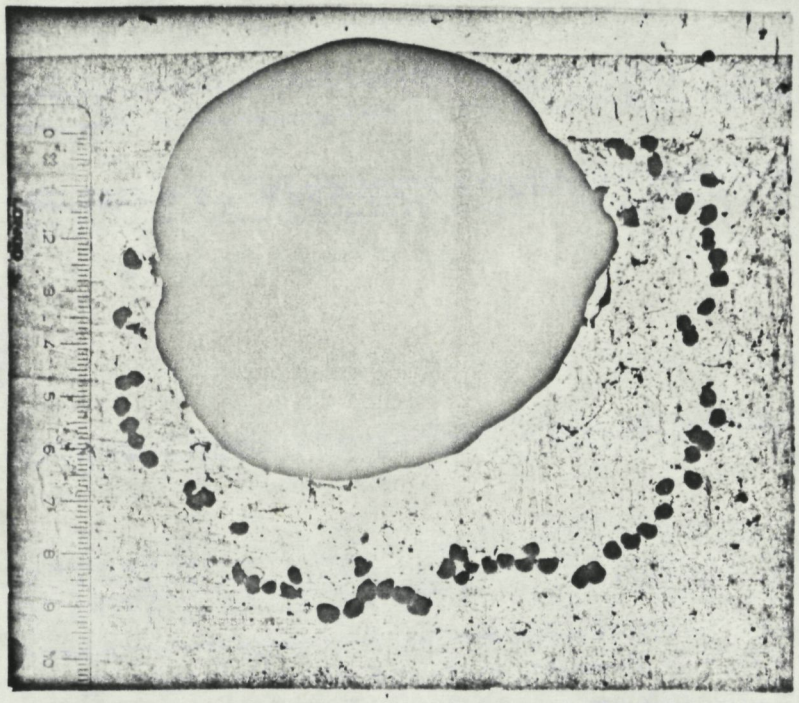


Fig.3.Het resultaat van een snede rond de gehele voetschijf. (Kloon H.± $\frac{2}{3}$xware grootte.)

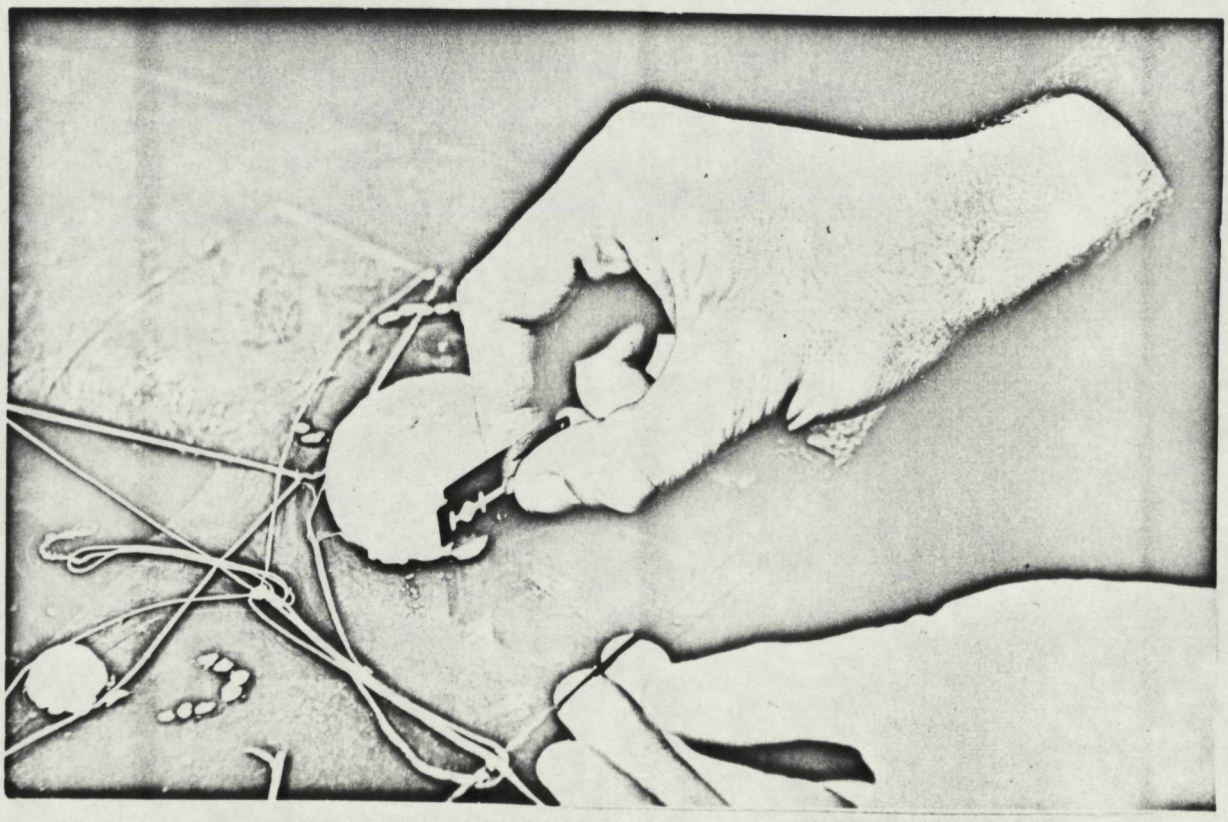


Fig.4.Het afsnijden van uitlopertjes.(Kloon I.)

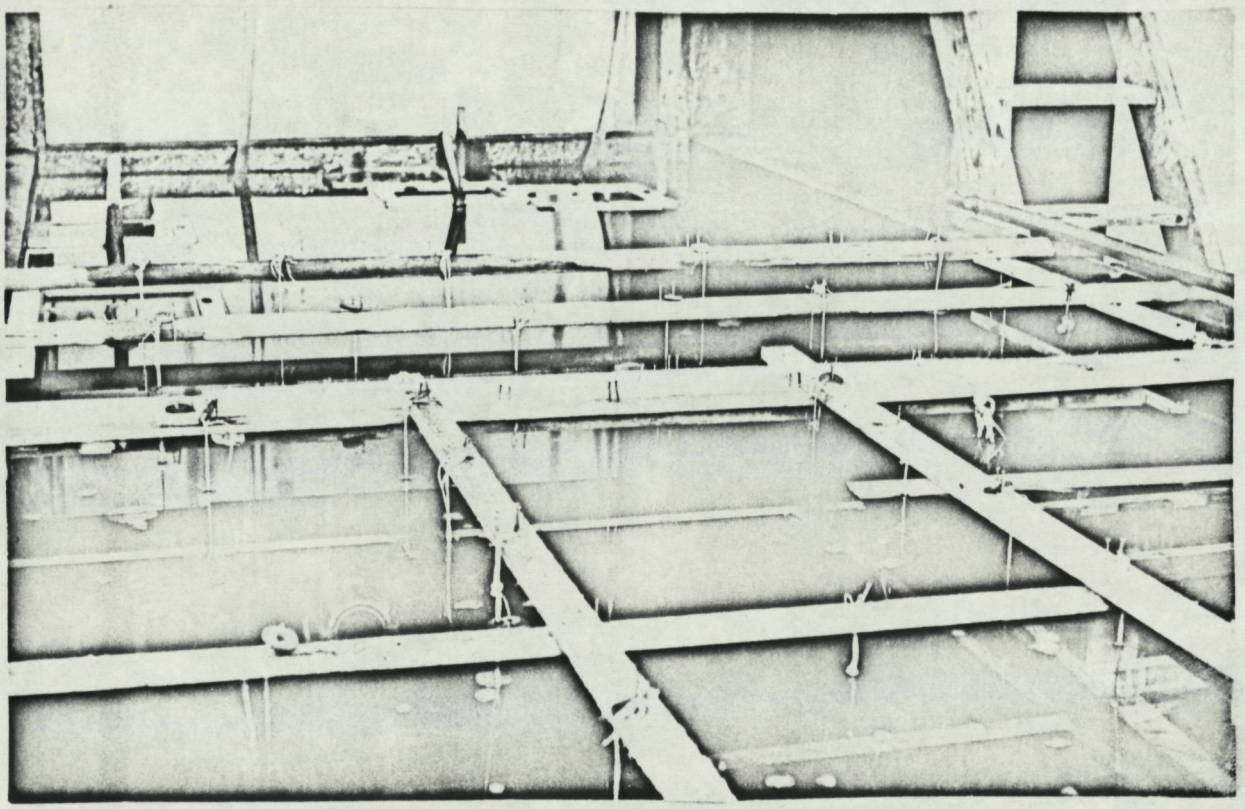


Fig.5.Overzicht van het basin, waarin de Metridiumklonen op gekweekt werden.

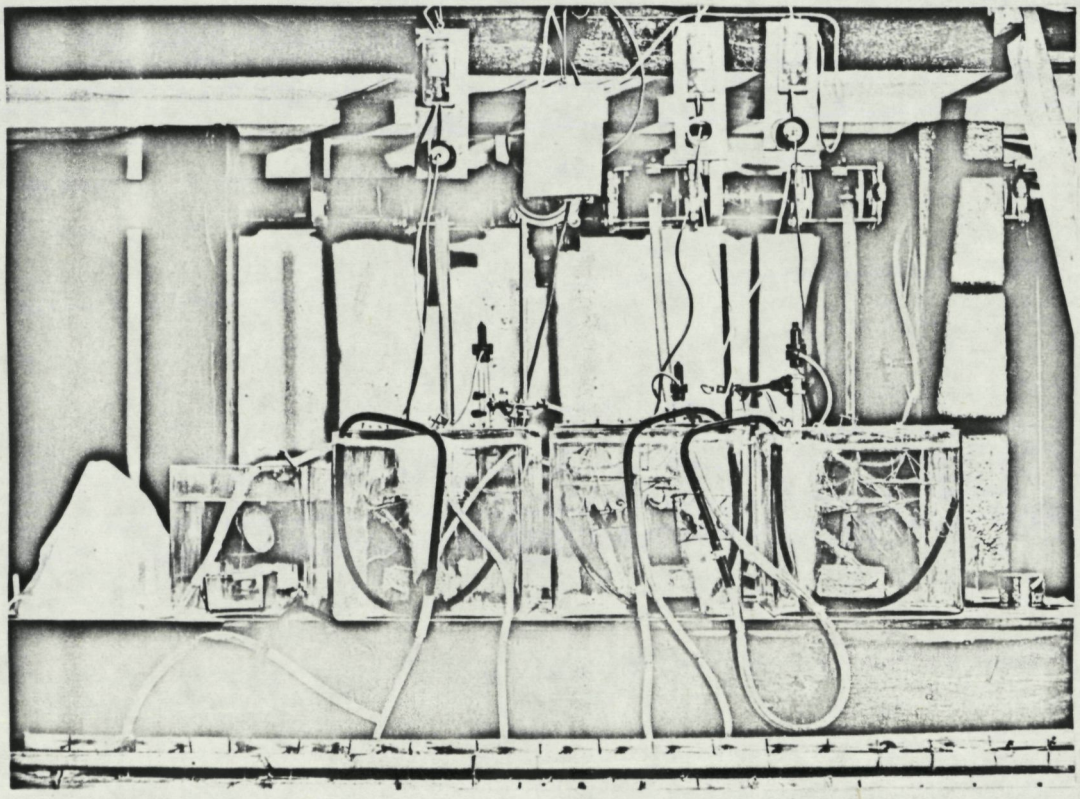


Fig.6.Vooraanzicht van een proefopstelling zoals die bij de temperatuurproeven gebruikt werd.



Fig.7.Zelfde proefopstelling;Bovenaanzicht.

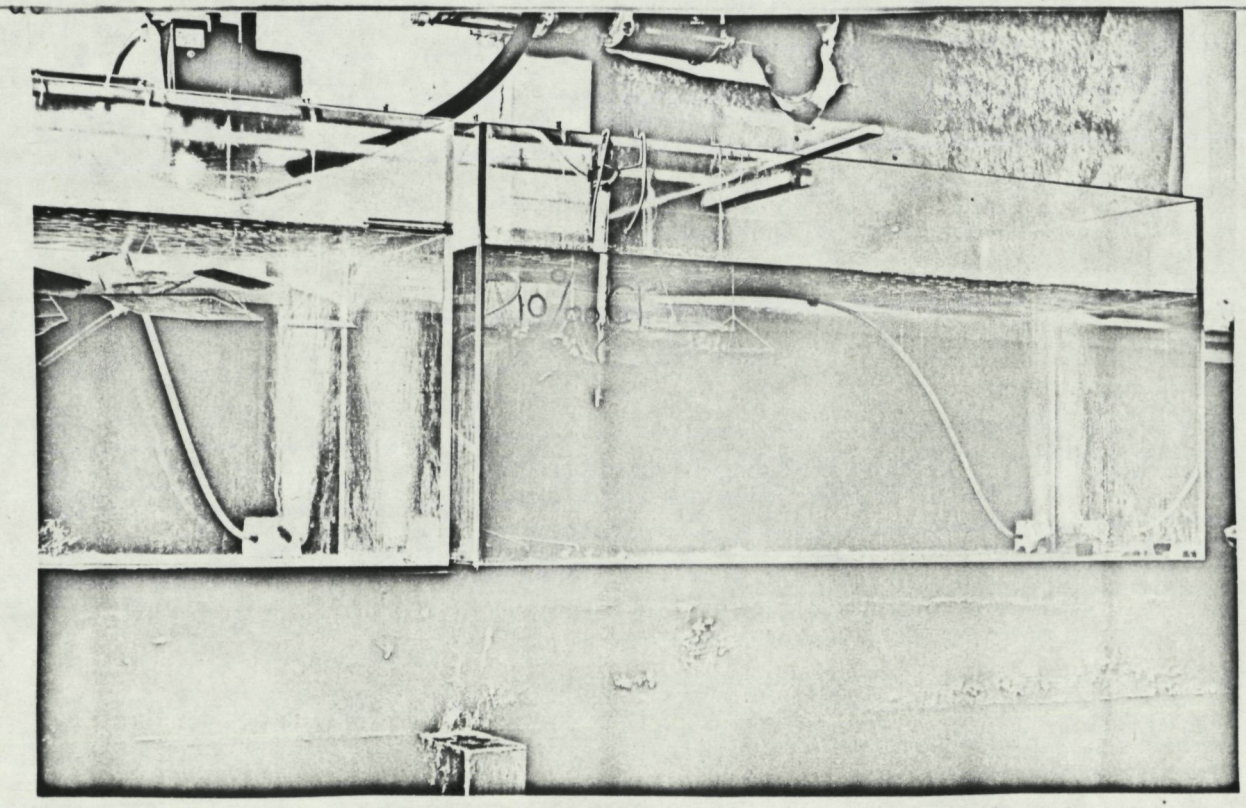


Fig.8.Vooraanzicht va een proefopstelling, zoals die bij de saliniteitsproeven gebruikt werd.

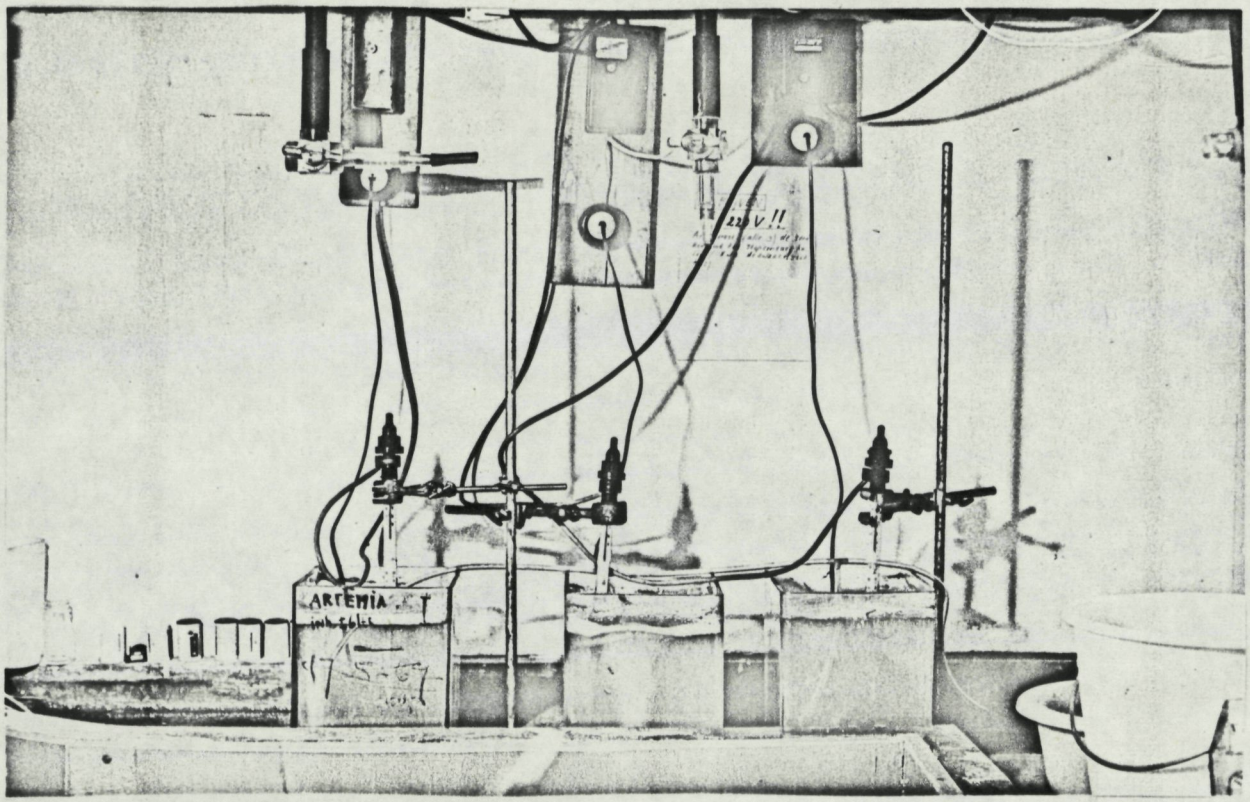


Fig.9.Overzicht van de Artemiakweek.

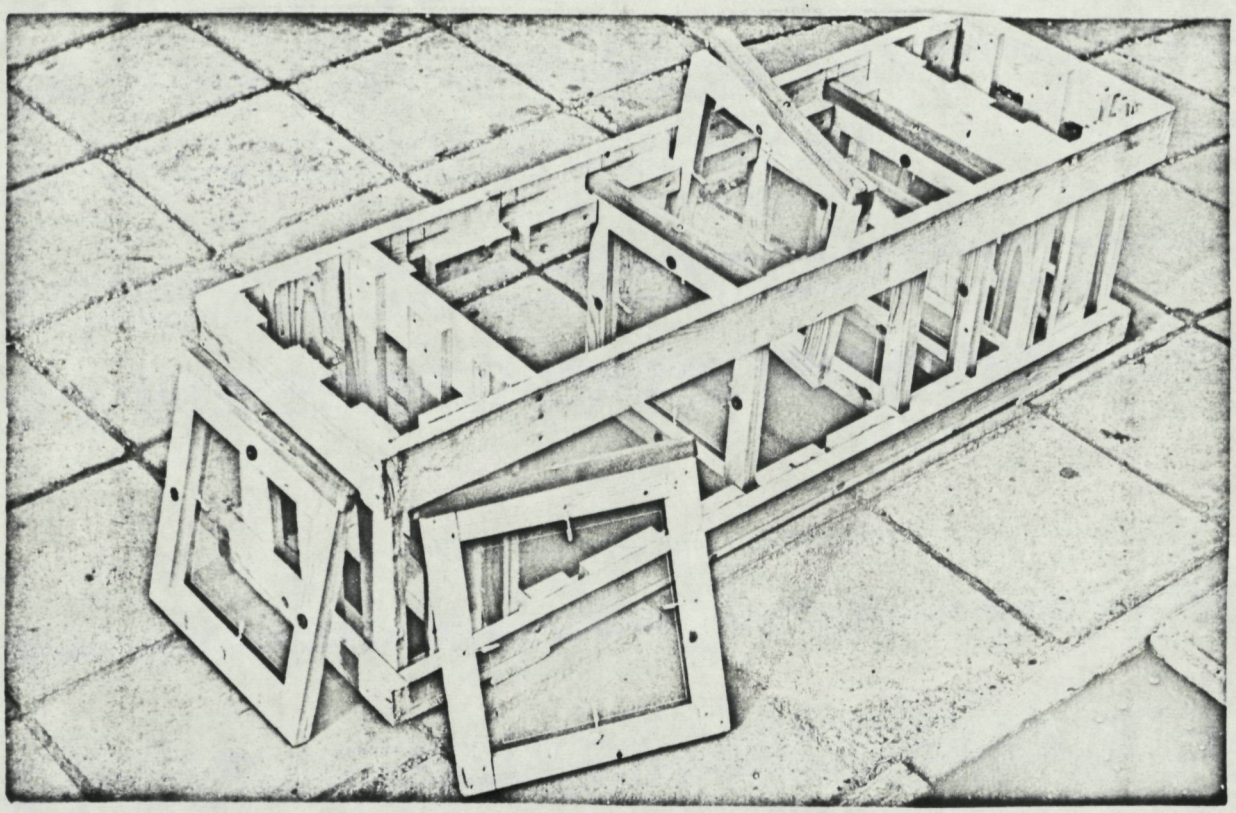


Fig. 10. Voorbeeld van een kistvormig frame met raampjes, zoals die werden gebruikt om de groei van Metridium in het buitenwater na te gaan.

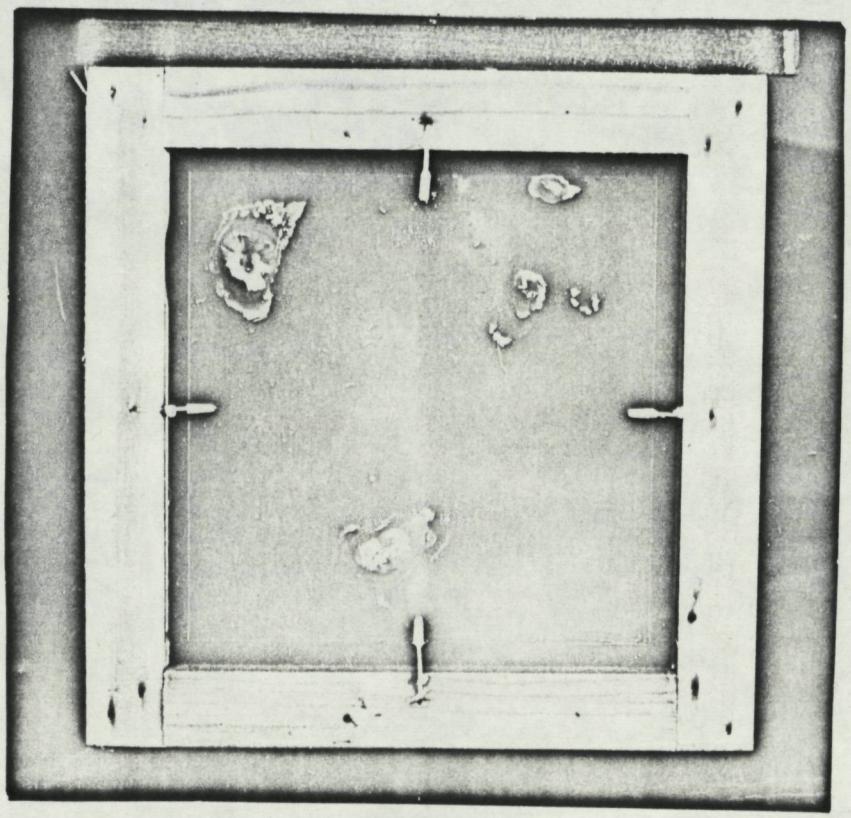


Fig.11. Close-up van een raampje.(Uiteraard worden de "moederdieren" bij aanvang van een experiment van het persplex verwijderd.)

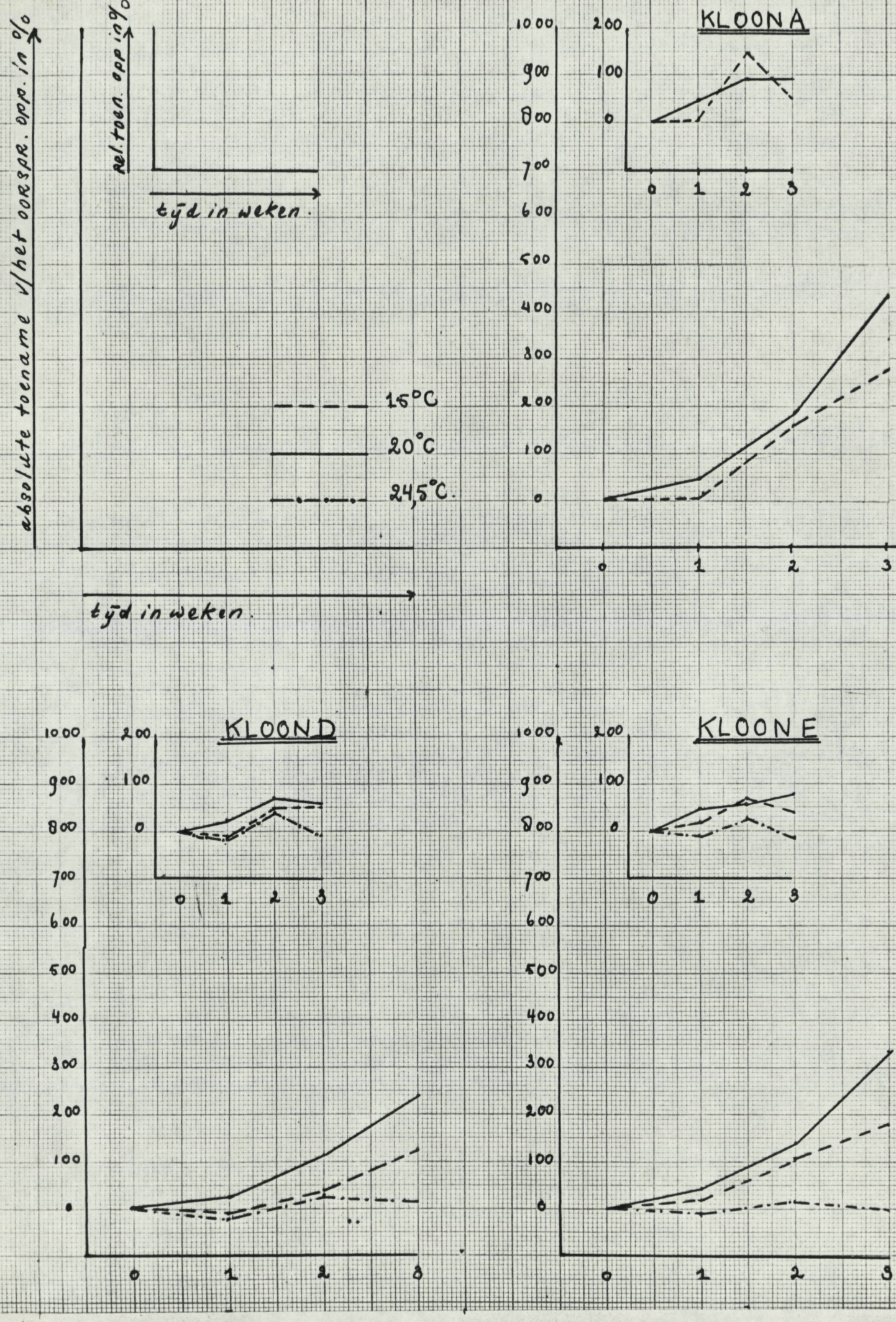


Fig. 12a Serie A temperatuurreeks, klonen A, D en E.

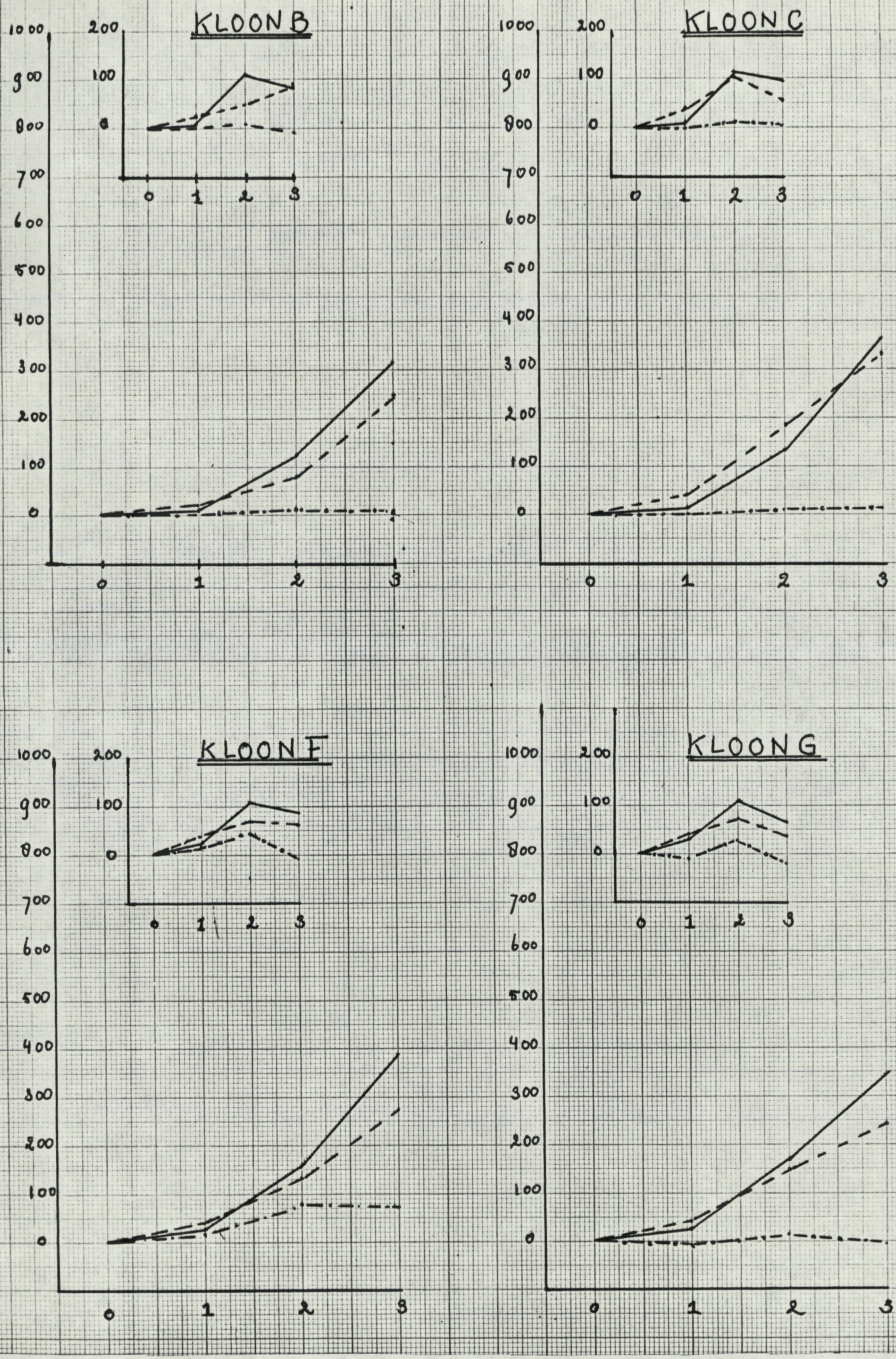


Fig. 12b Serie A temperatuurreeks, klonen B, C, F en G.

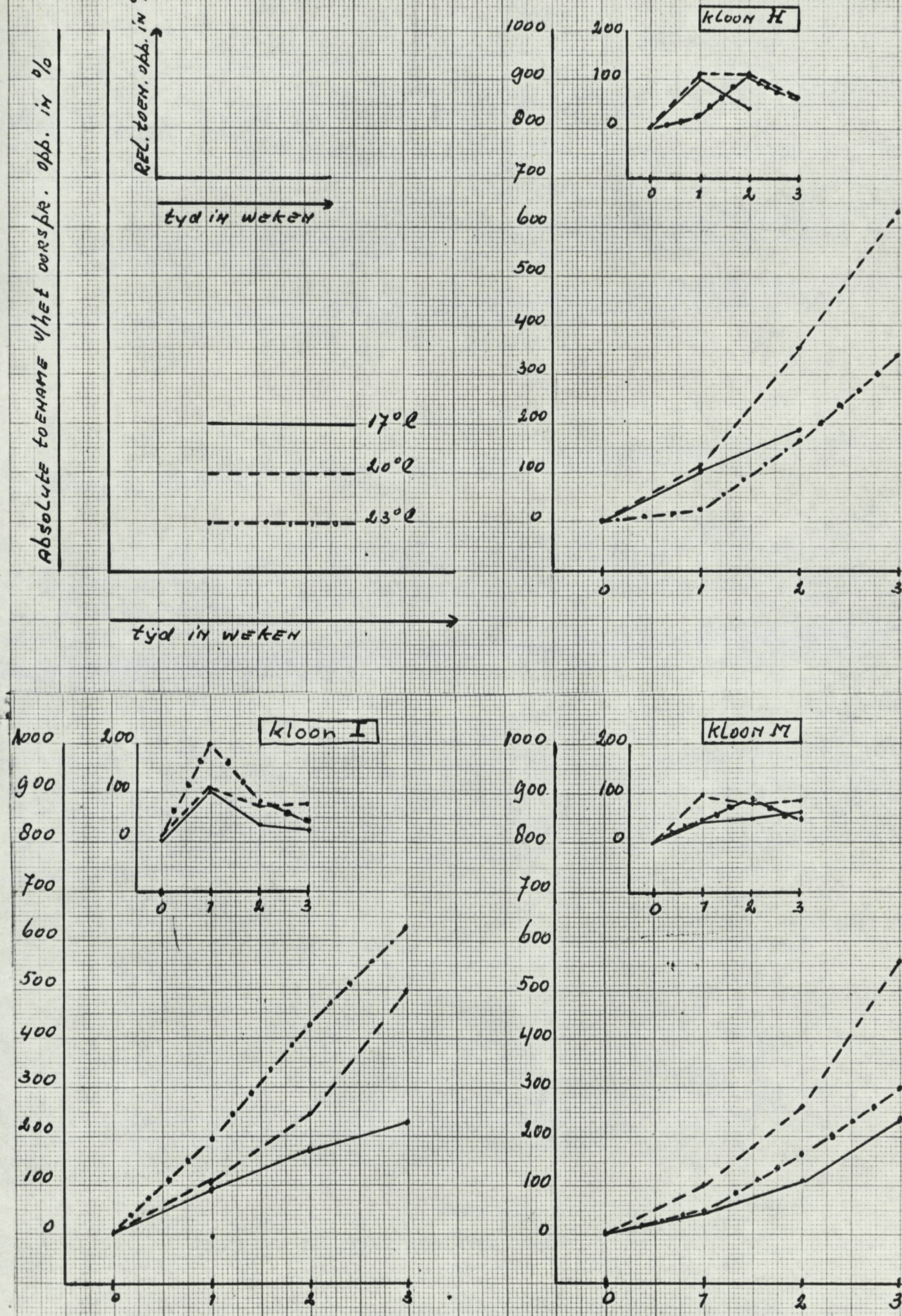


Fig. 13 Serie B temperatuurreeks, kloon H, I en M.

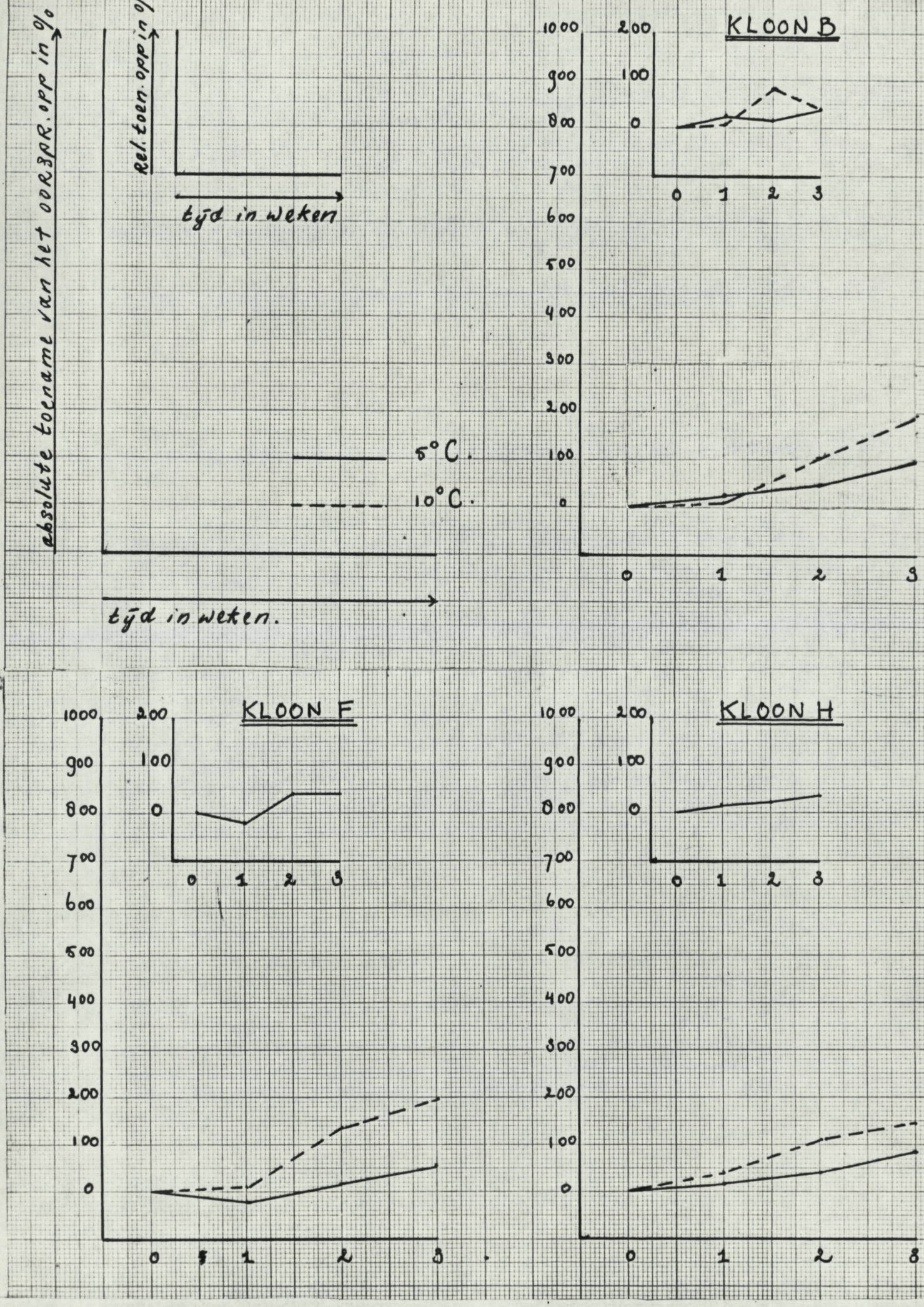


Fig. 14a Serie C temperatuurreeks, kloon B, F en H.

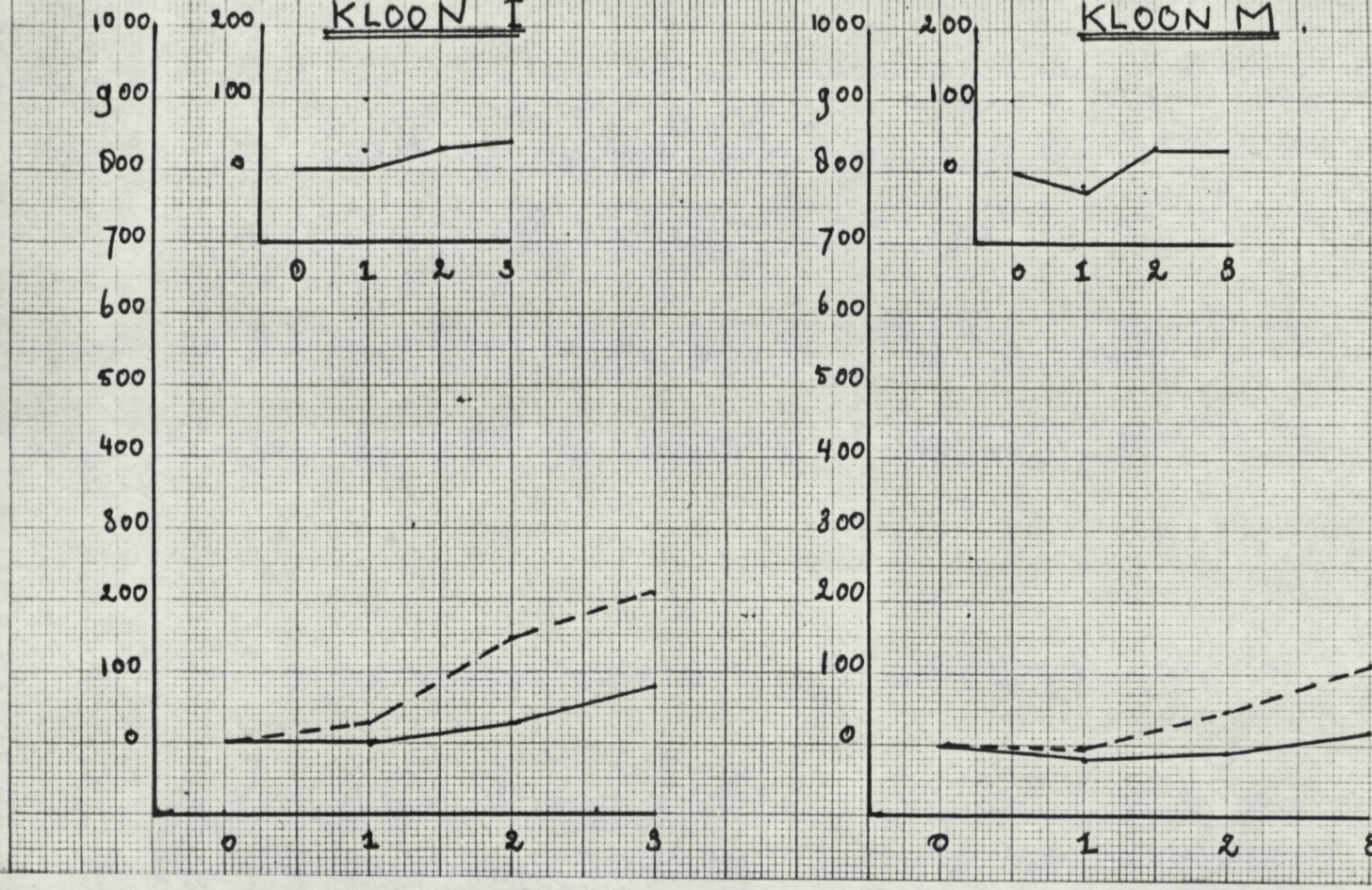


Fig. 14b Serie C temperatuurreeks, klonen I en M.

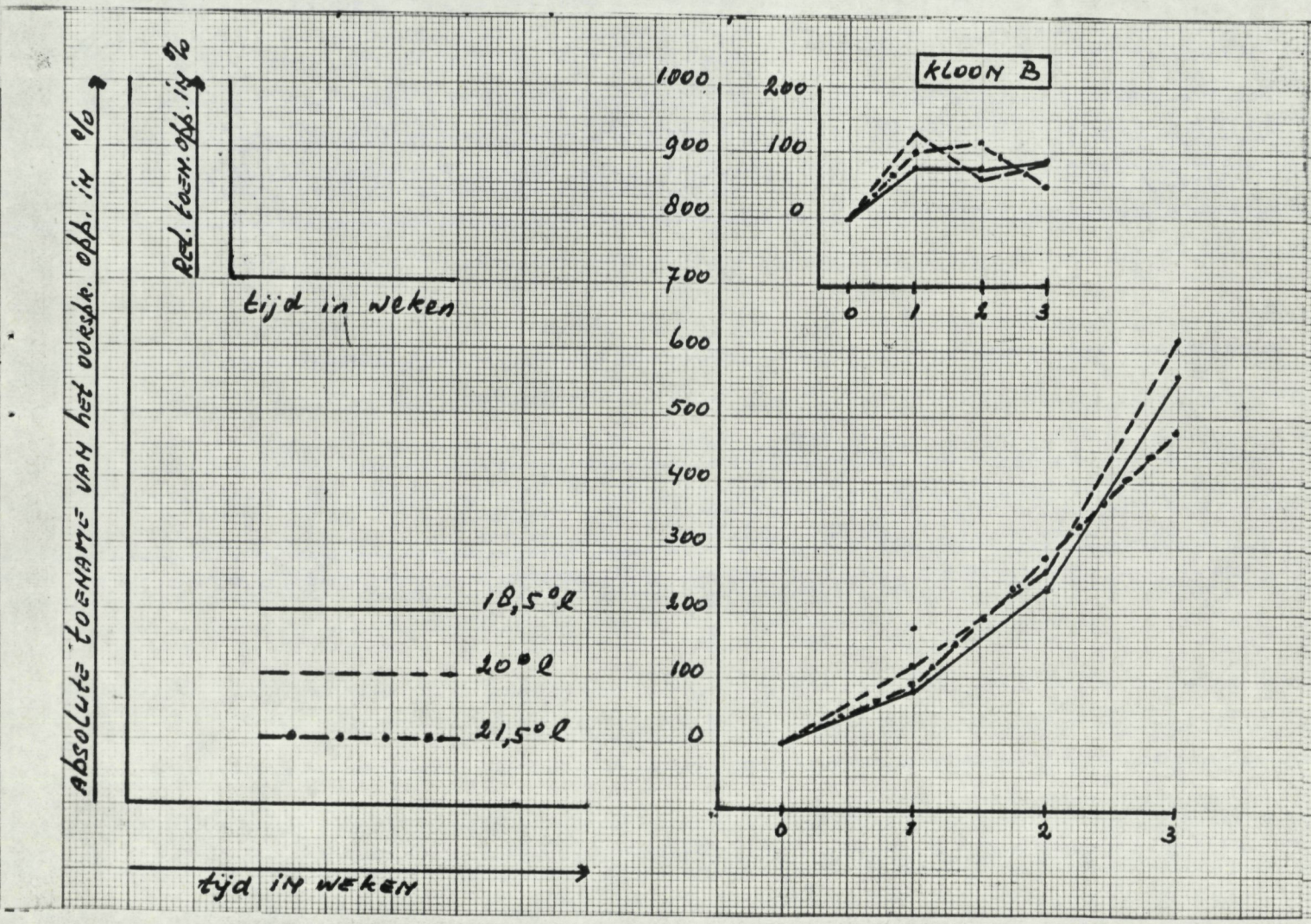


Fig. 15a Serie D temperatuurreeks kloon B.

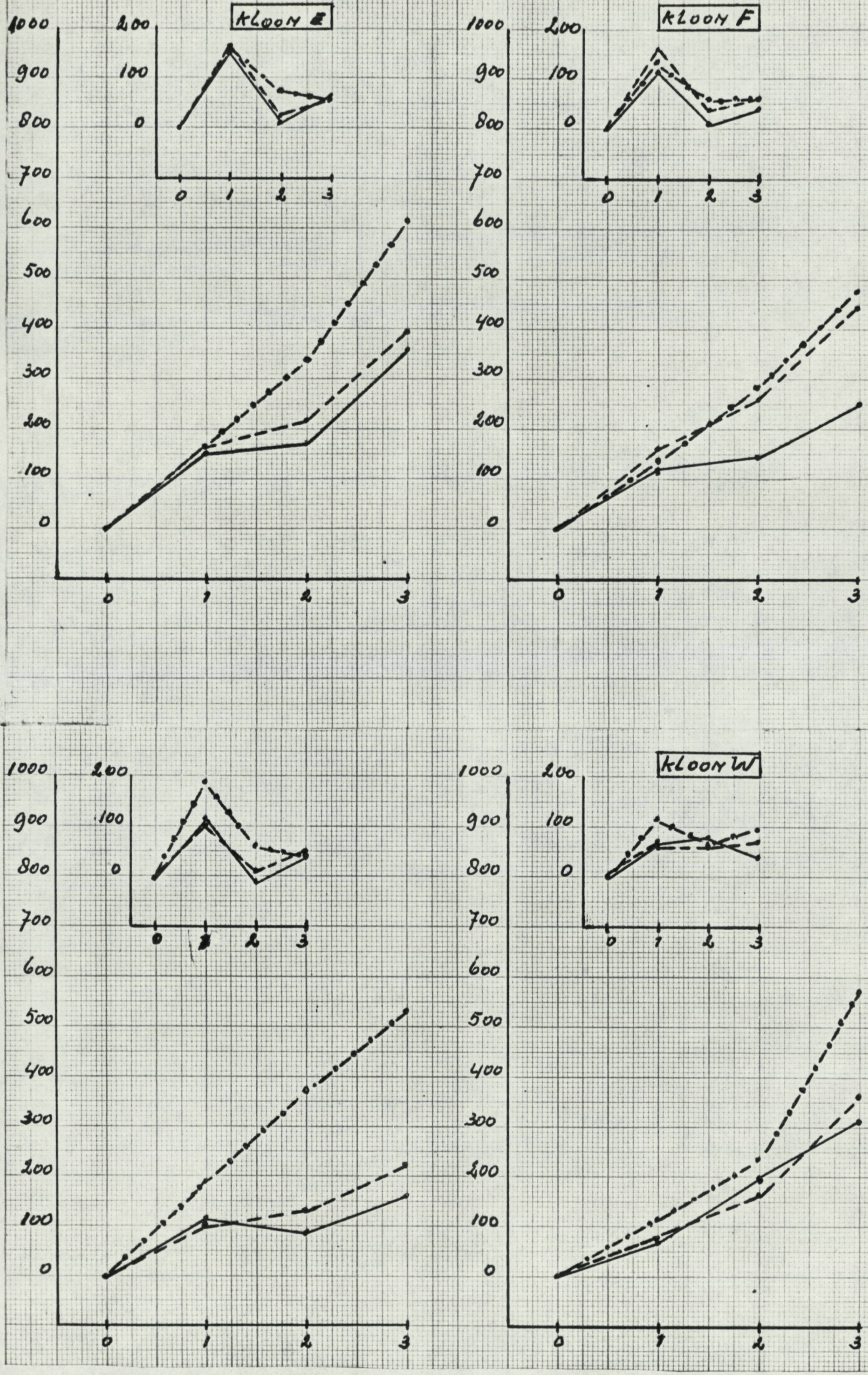


Fig. 15b Serie D temperatuurreeks, klonen E, F, I en W.

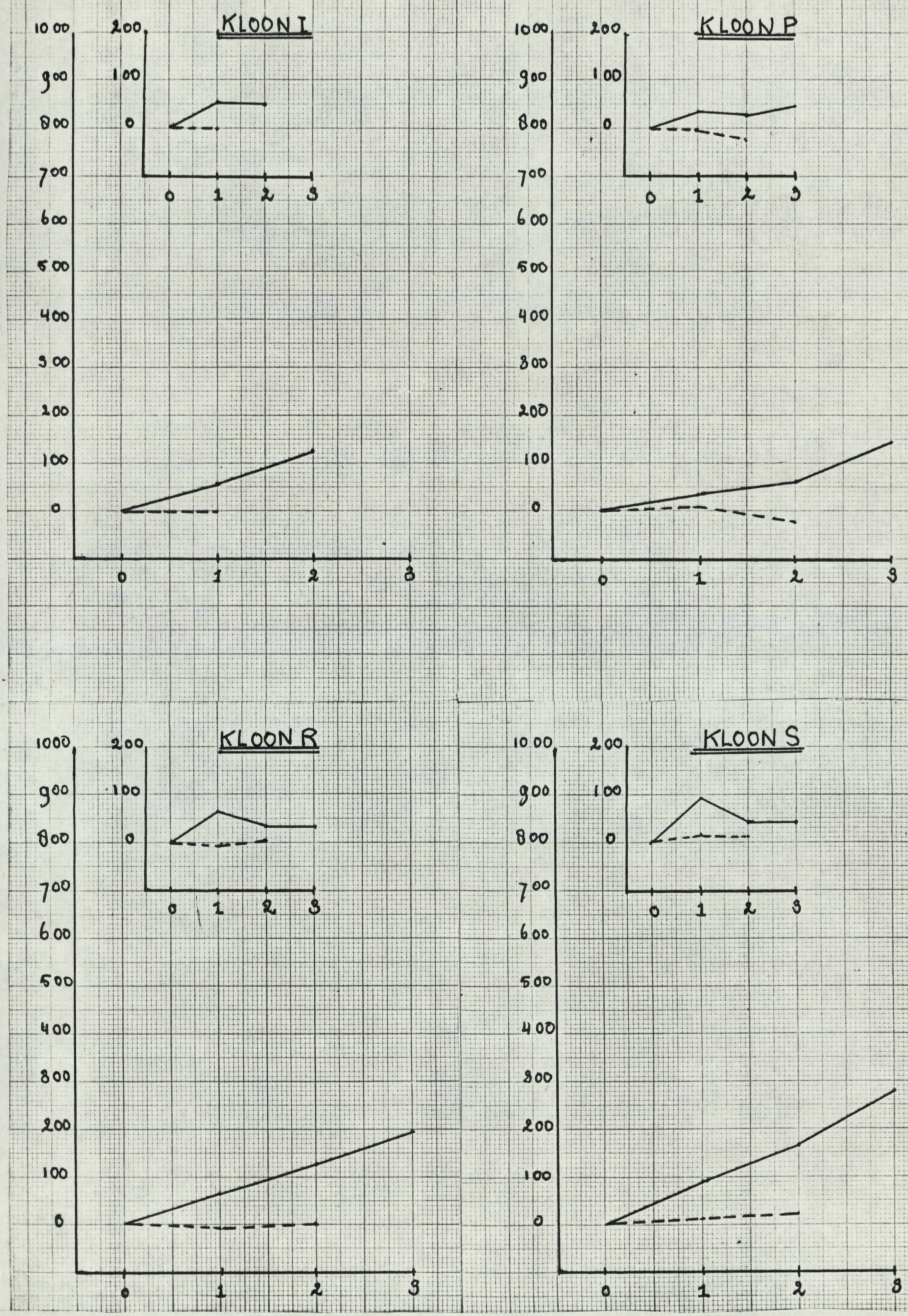


Fig. 16a Serie E saliniteitsreeks, klonen I, P, R, S
(8 ‰ Cl^- gestippeld, 10 ‰ Cl^- getrokken).

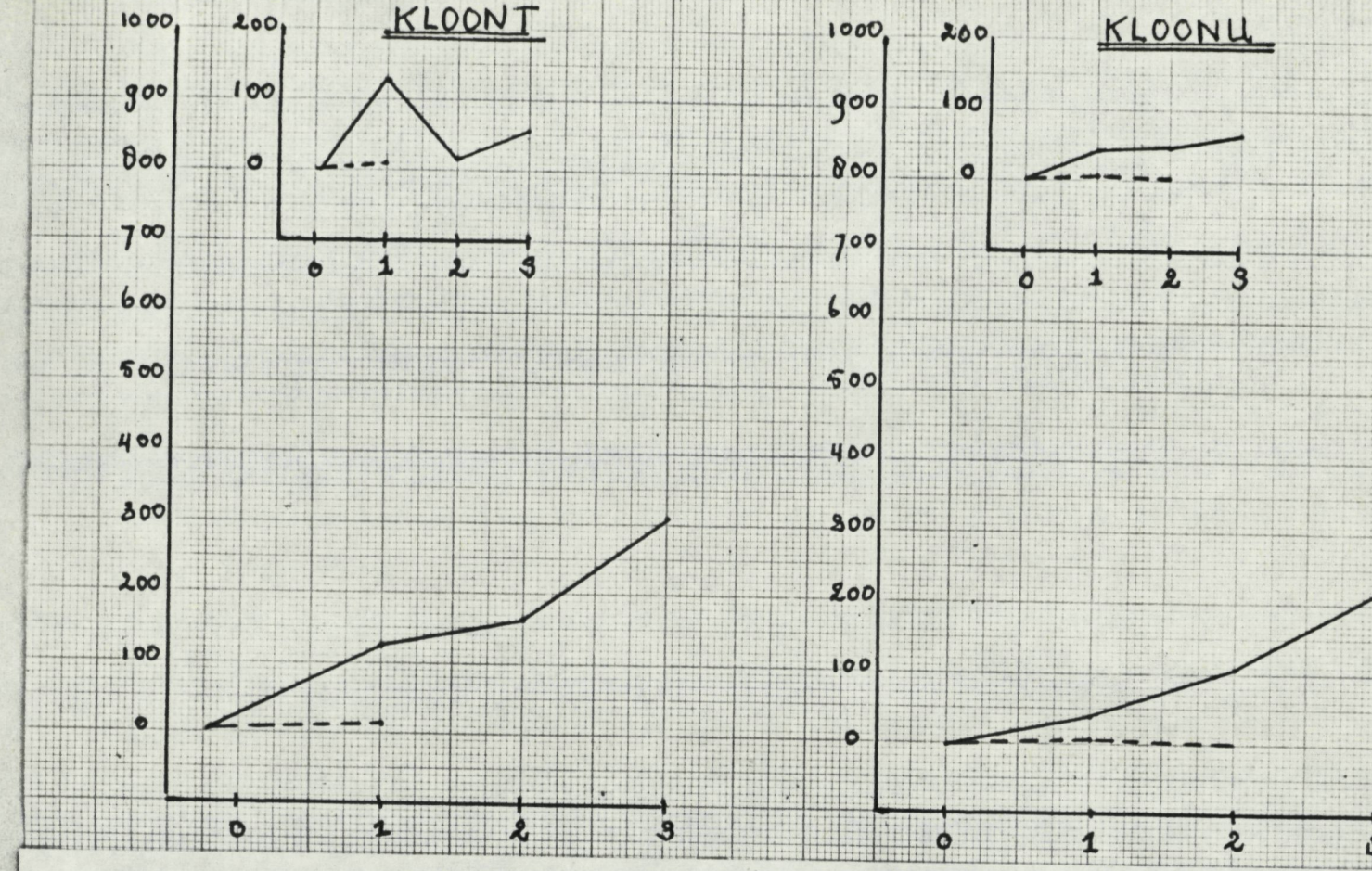


Fig. 16b Serie E saliniteitsreeks, klonen T en U
(8 ‰ Cl^- gestippeld, 10 ‰ Cl^- getrokken).

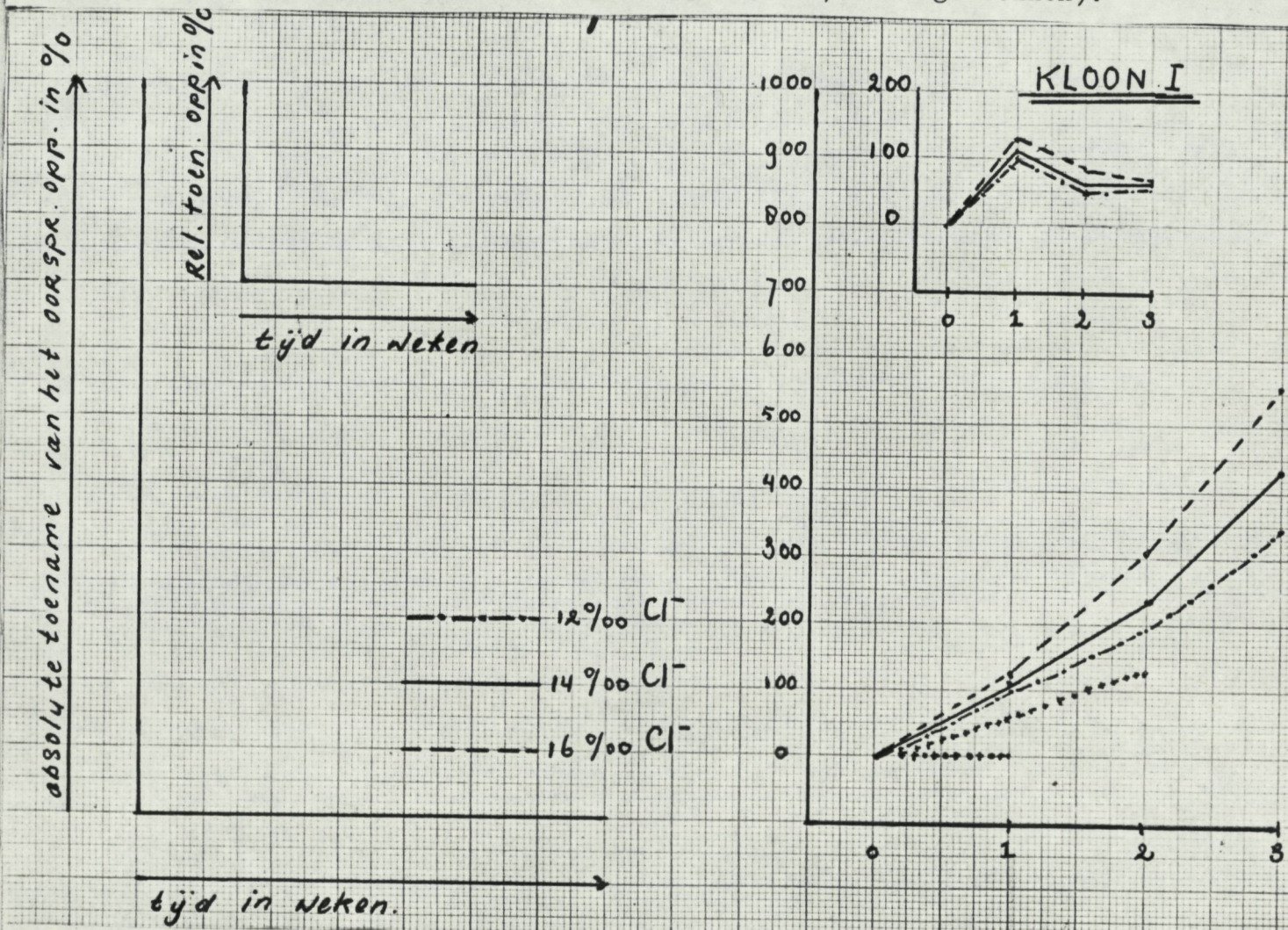


Fig. 17a Serie F saliniteitsreeks, kloon I.

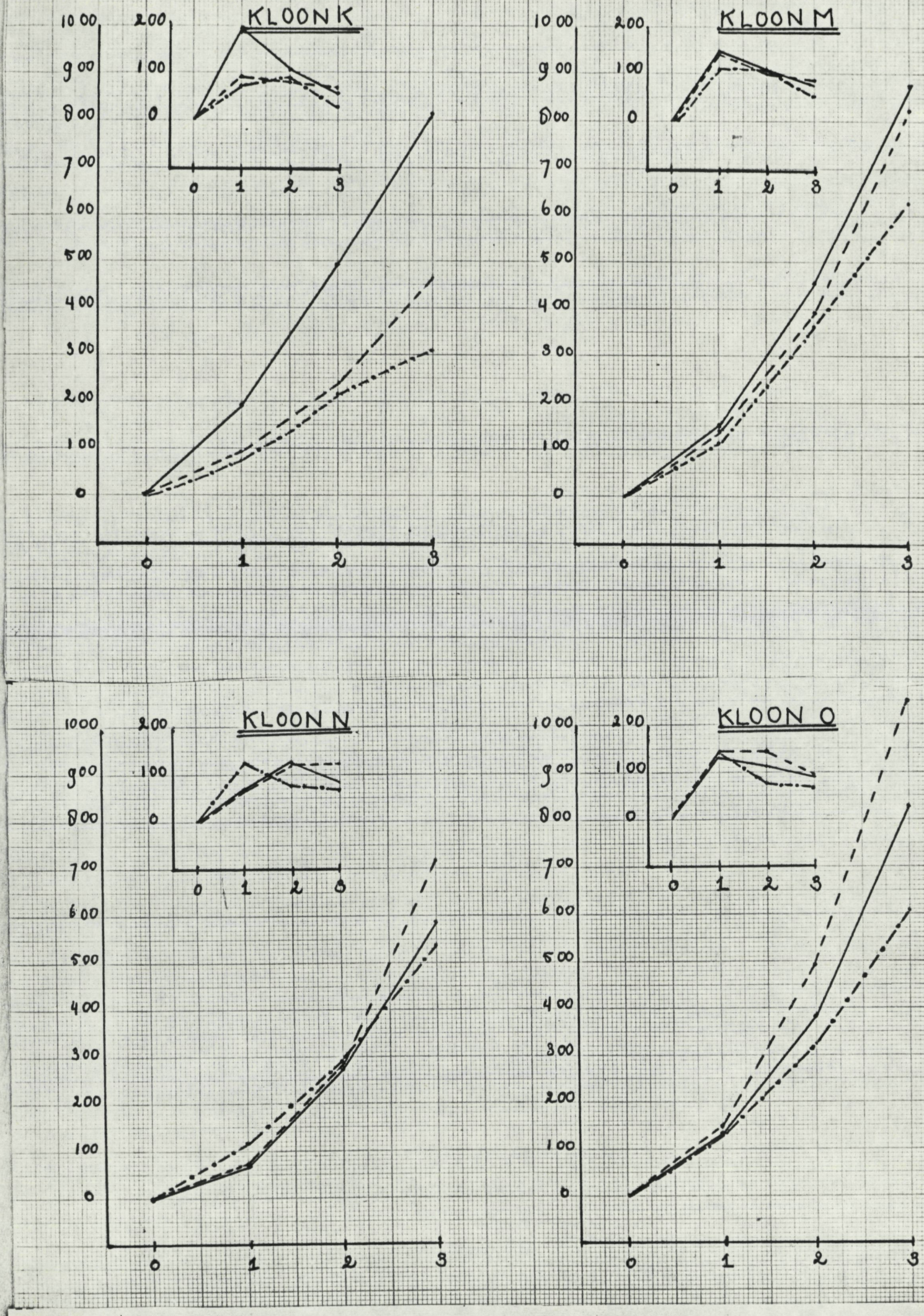


Fig. 17b Serie F saliniteitsreeks, klonen K, M, N en O.

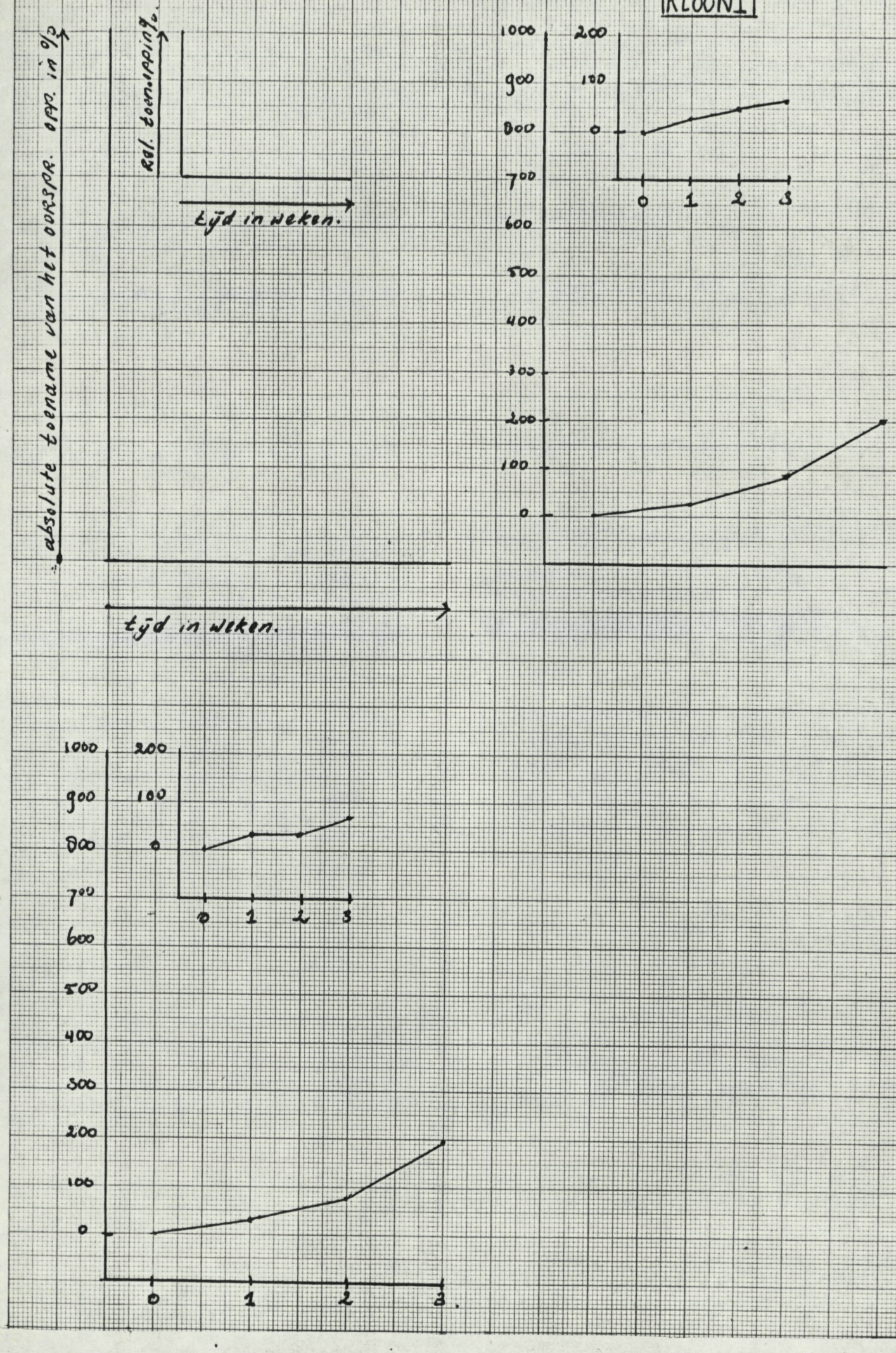


Fig. 18 Serie G, TNO - vlot, Den Helder, klonen I en M.

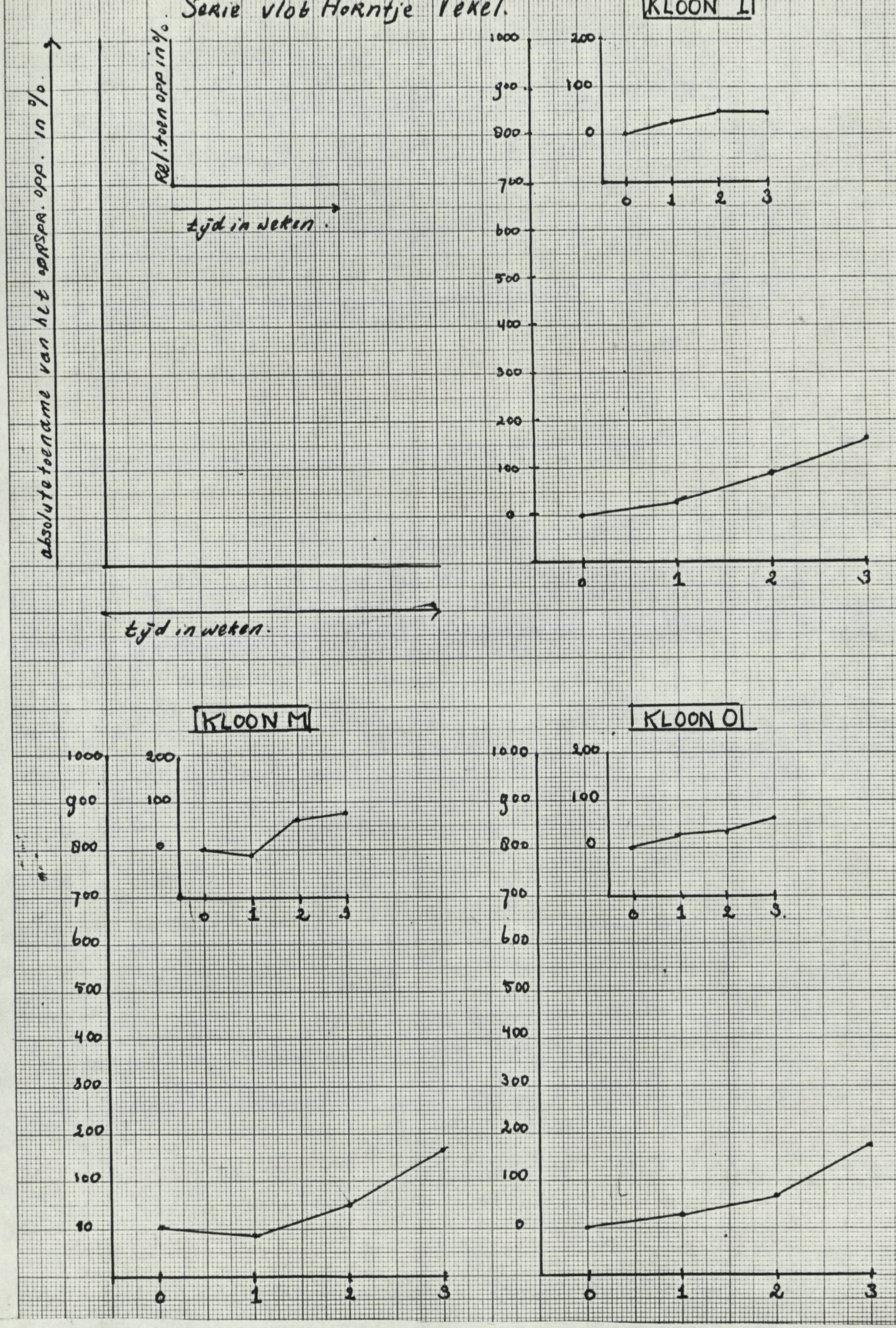
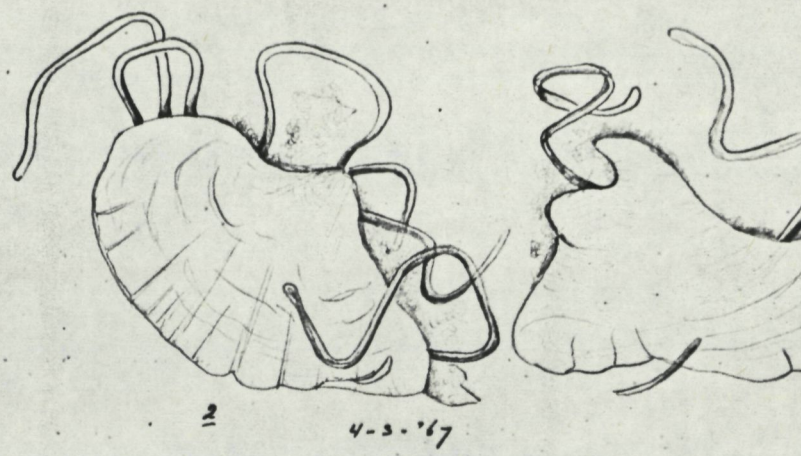
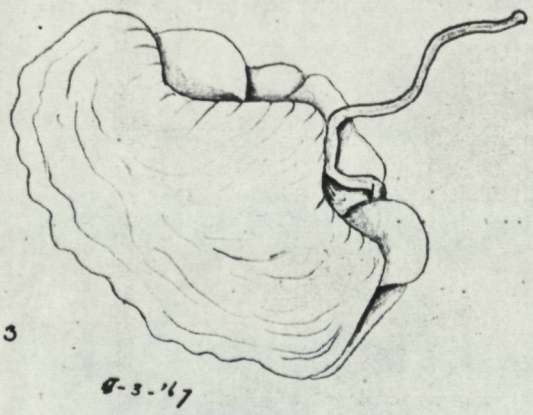
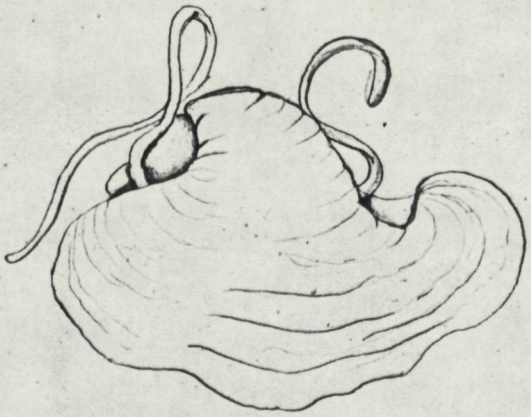


Fig. 19 Serie H, TNO - vlot, 't Horntje, I, M en O.









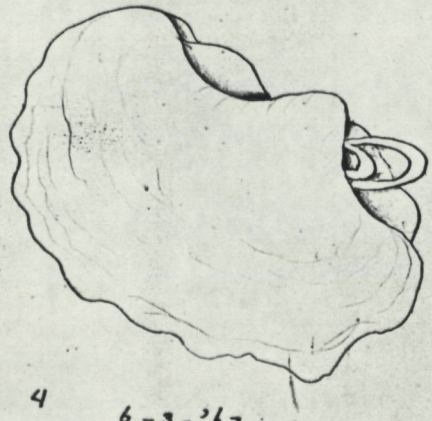
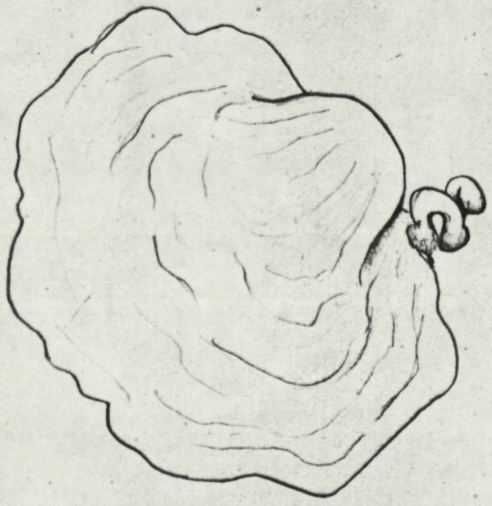
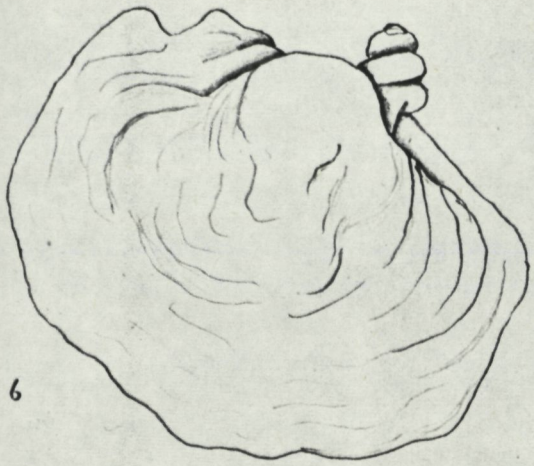




Fig. 20 regeneratieproces bij Metridium
(25 waarnemingen in 8 pagina's)

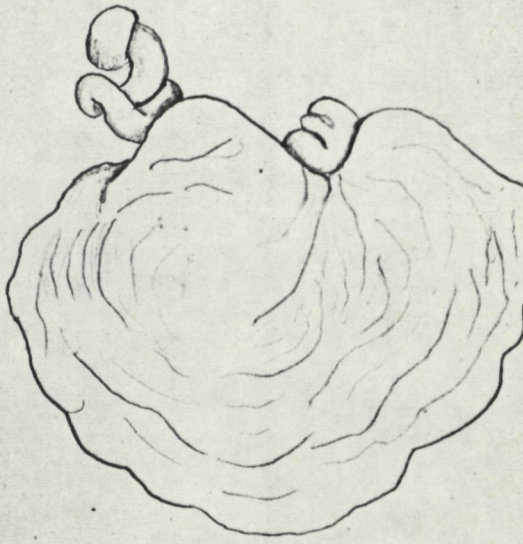


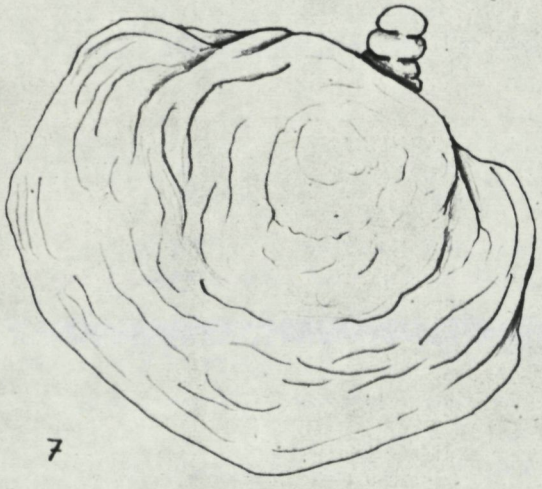




6

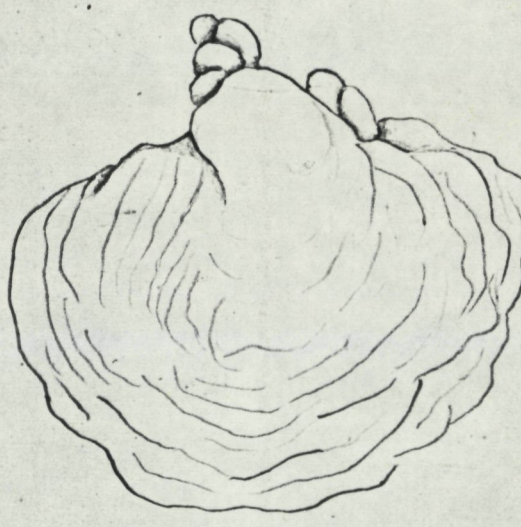
8-3-'67

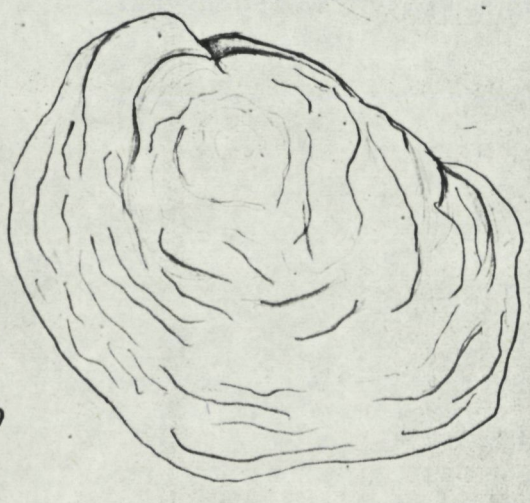




7

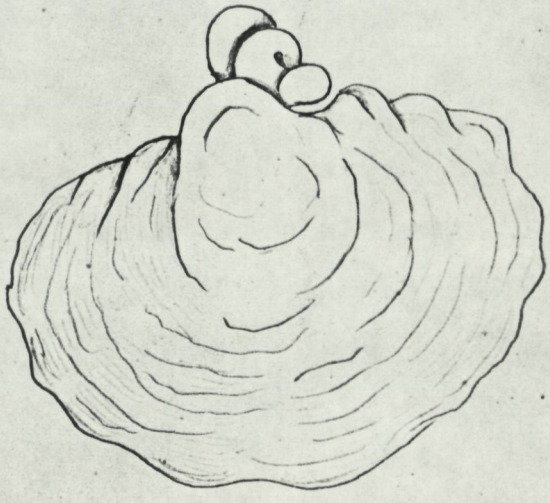
9-3-'67

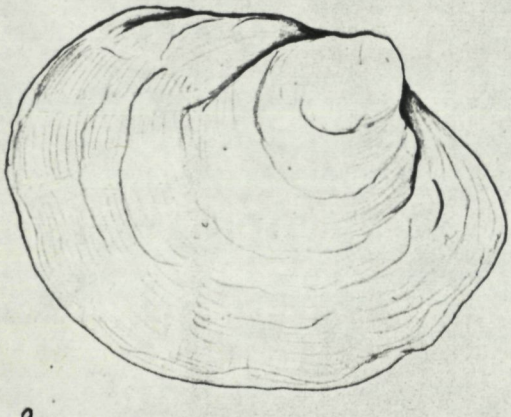




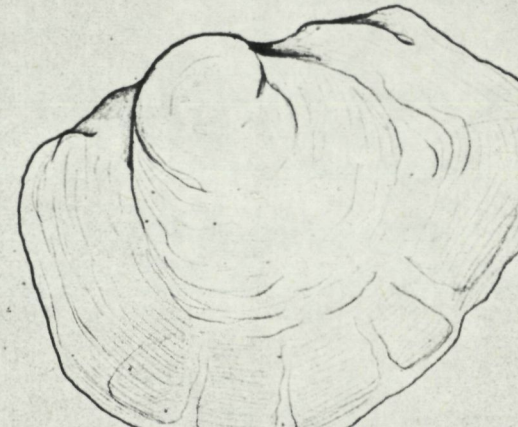
8

10-3-'67

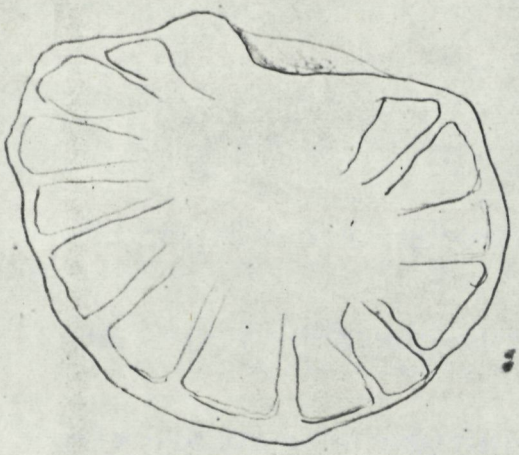


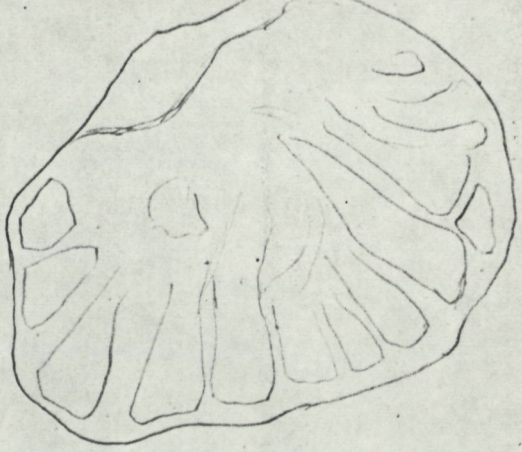


9



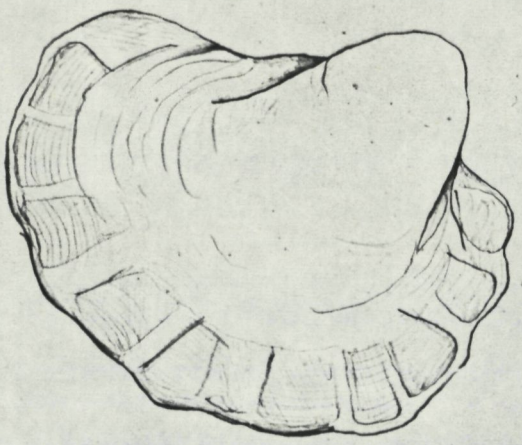
9a

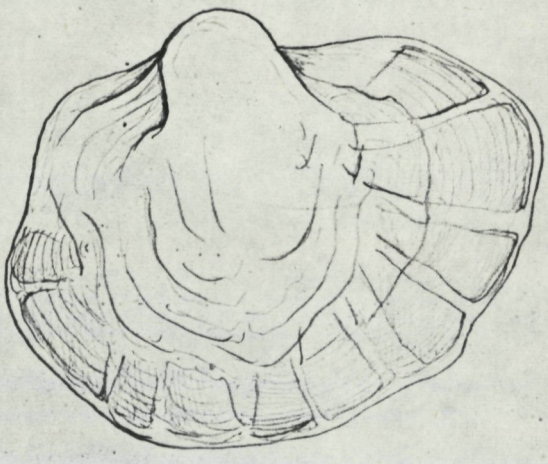




11 - 3 - '67. onderaanzicht.

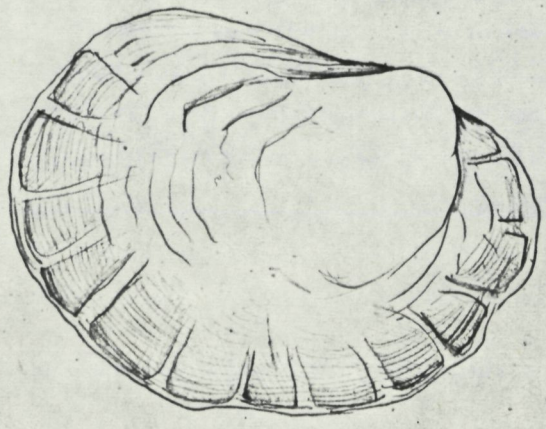
10

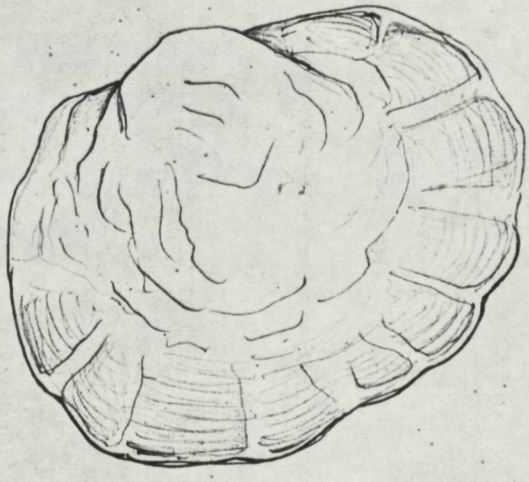




12 - 3 - '67.

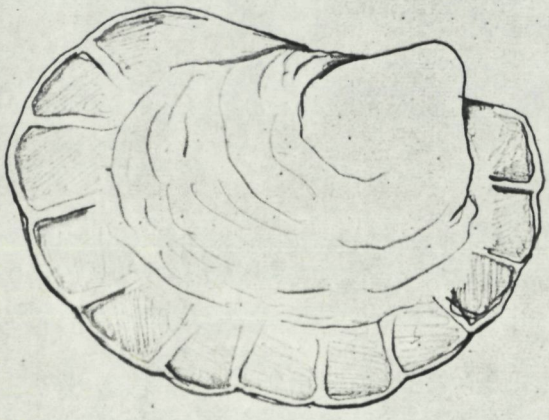
11

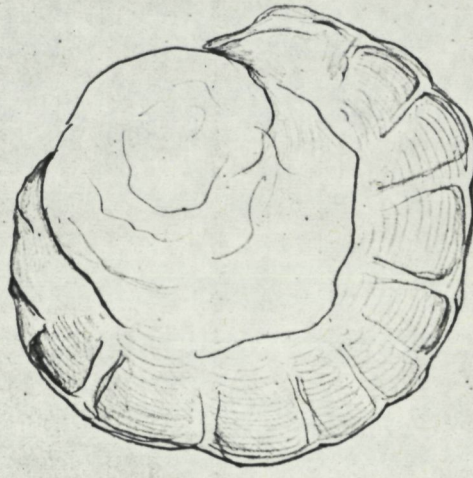




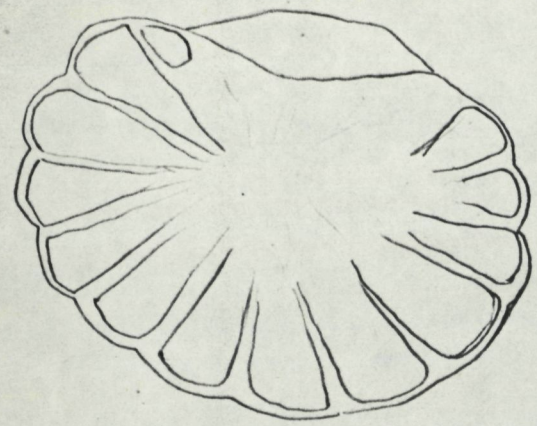
13 - 3 - '67

12



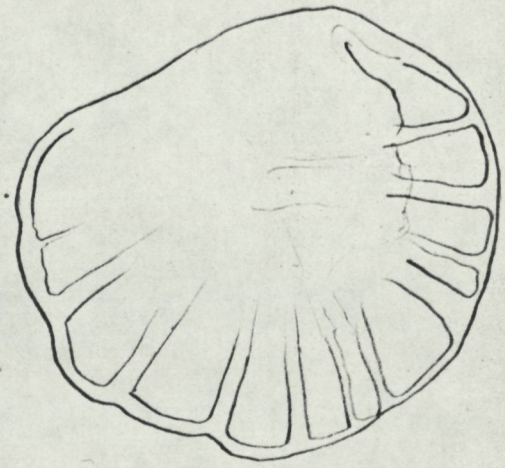


14 - 3 - '67.



12. a

14-3-'67



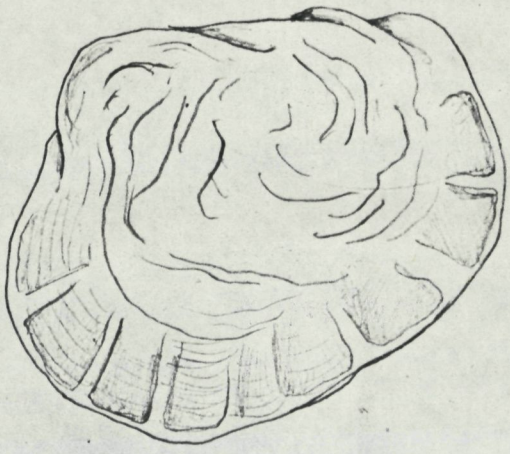
12. a

14-3-'67



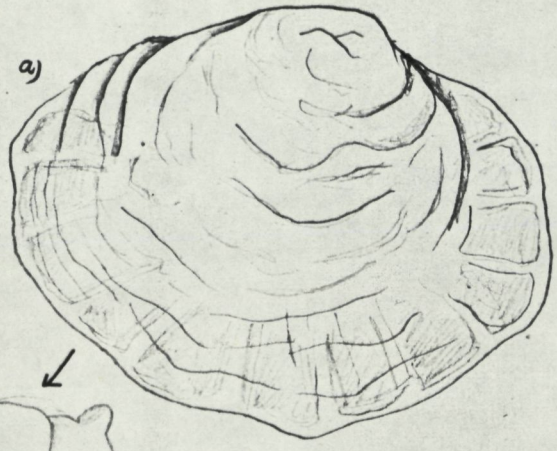
13

15-3-'67.



13

15-3-'67

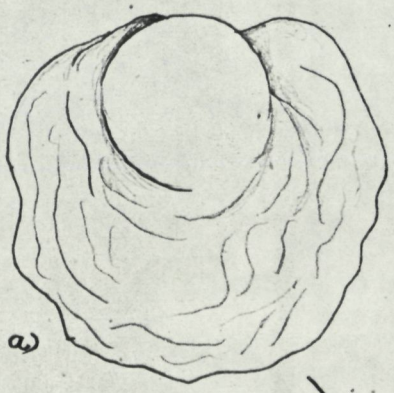


a)

14

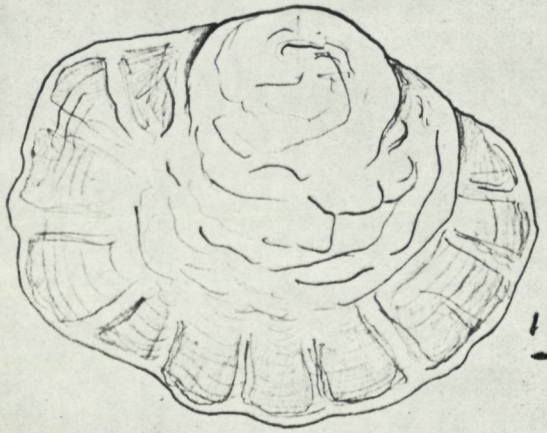
b)

16-3-'67.



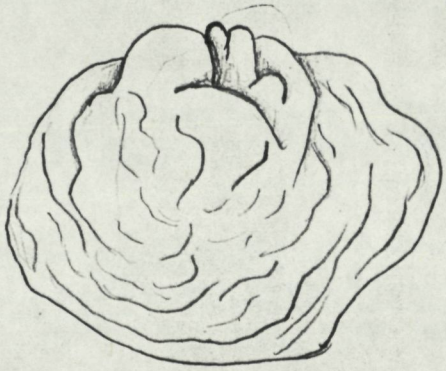
a)

b)



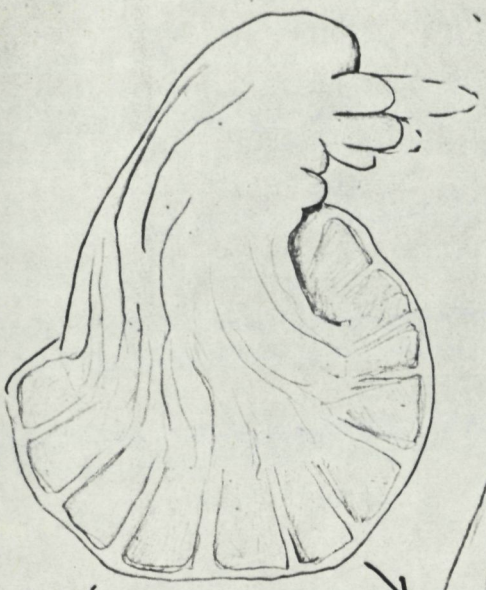
15

17-3-'67



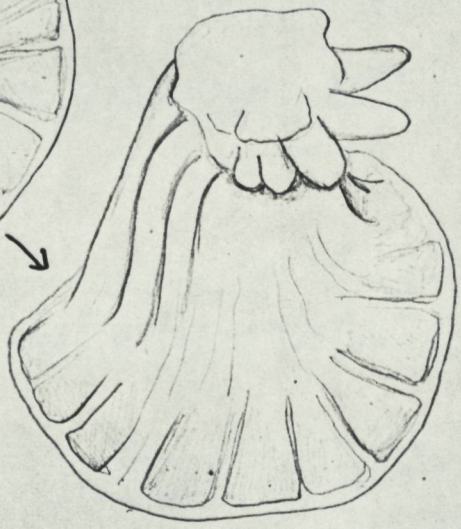
16

a)

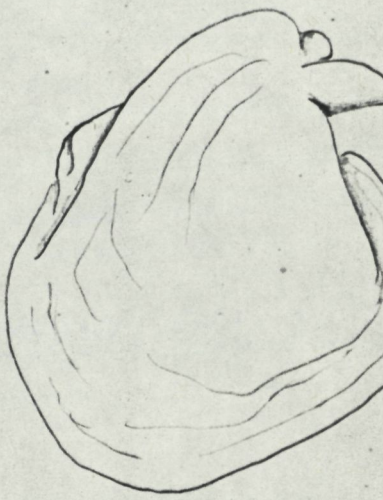


16

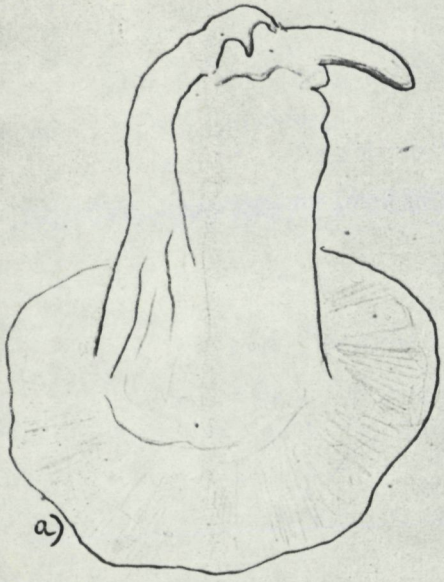
21-3-'67



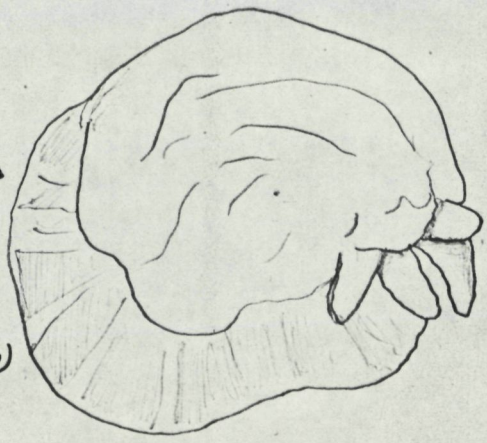
21-3-'67 9



a)



a)

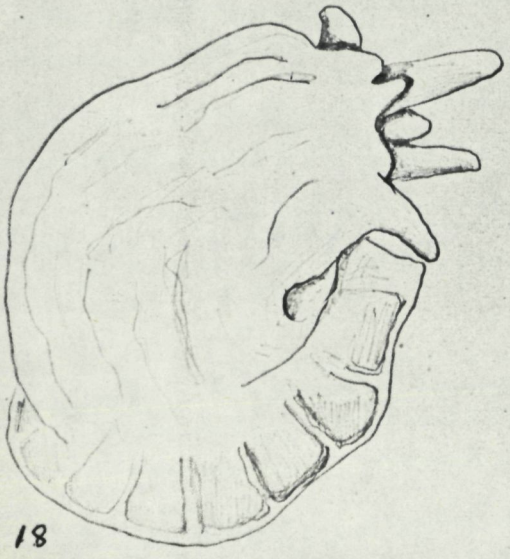


b)

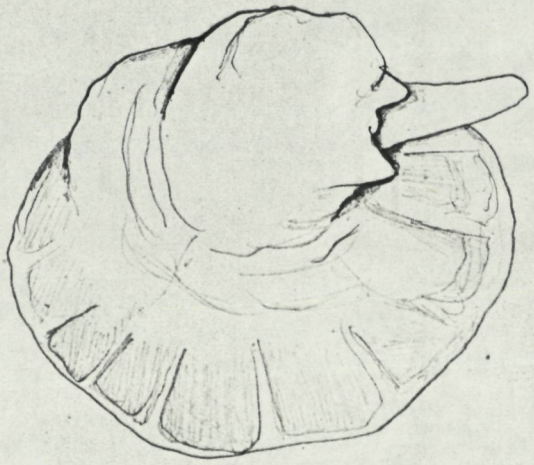


22-3-'67 17

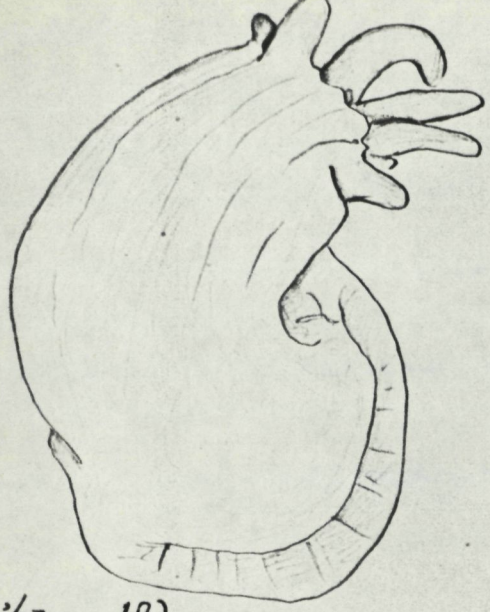
22-3-'67



18

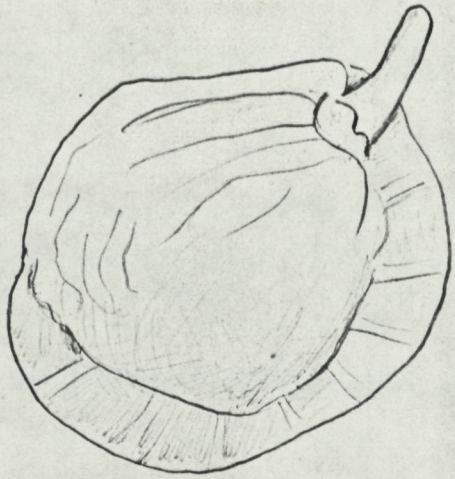


18. 23-3-'67



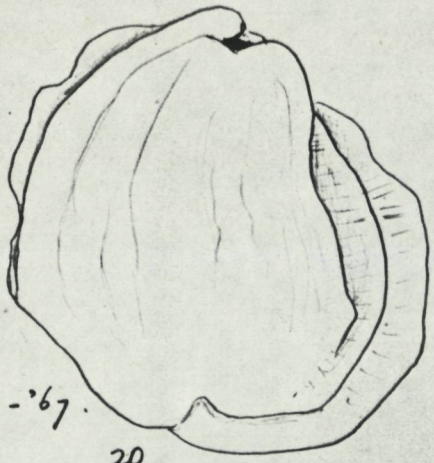
19)

24-3-'67



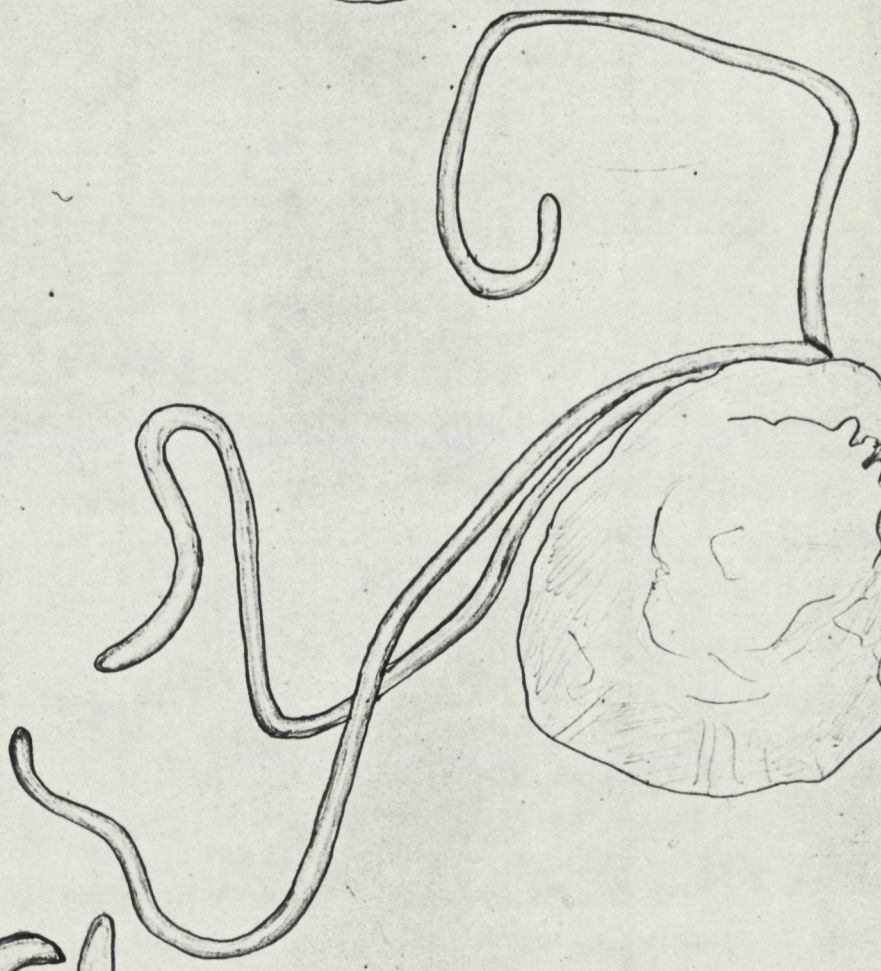
19)

24-3-'67



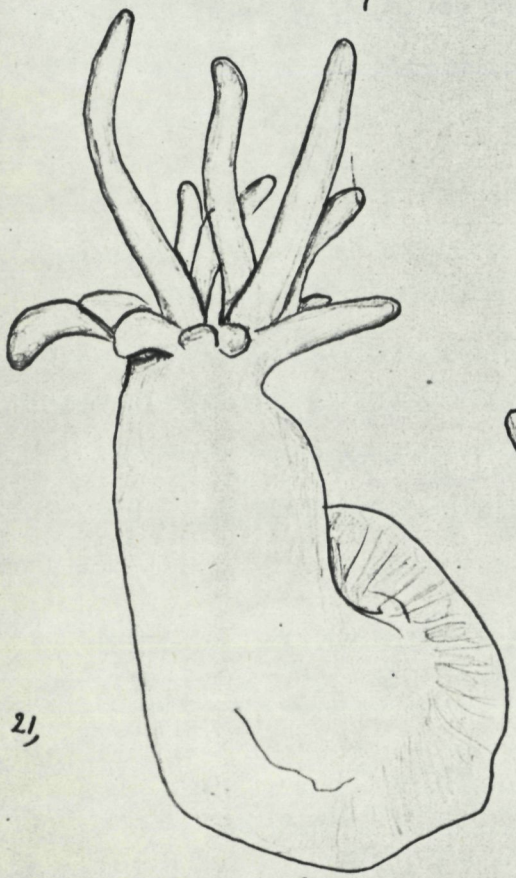
20

26-3-'67



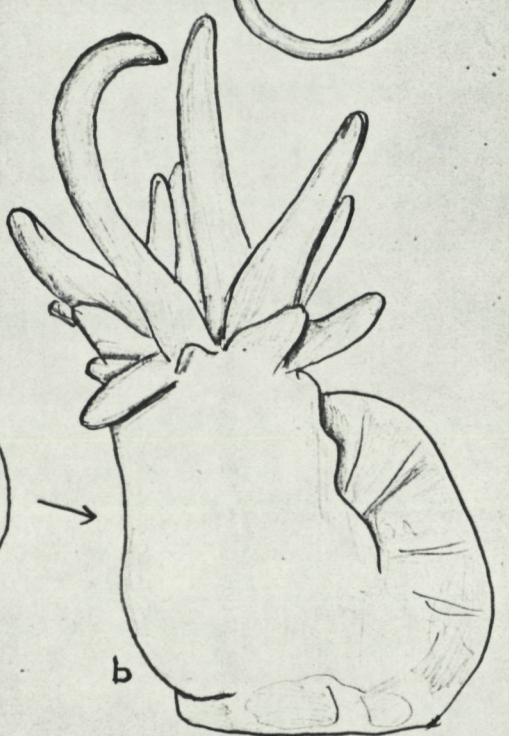
20

26-3-'67



21

28-3-'67

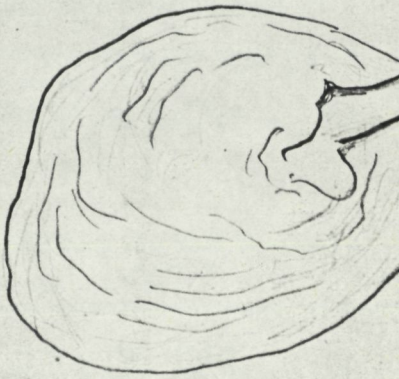


a)

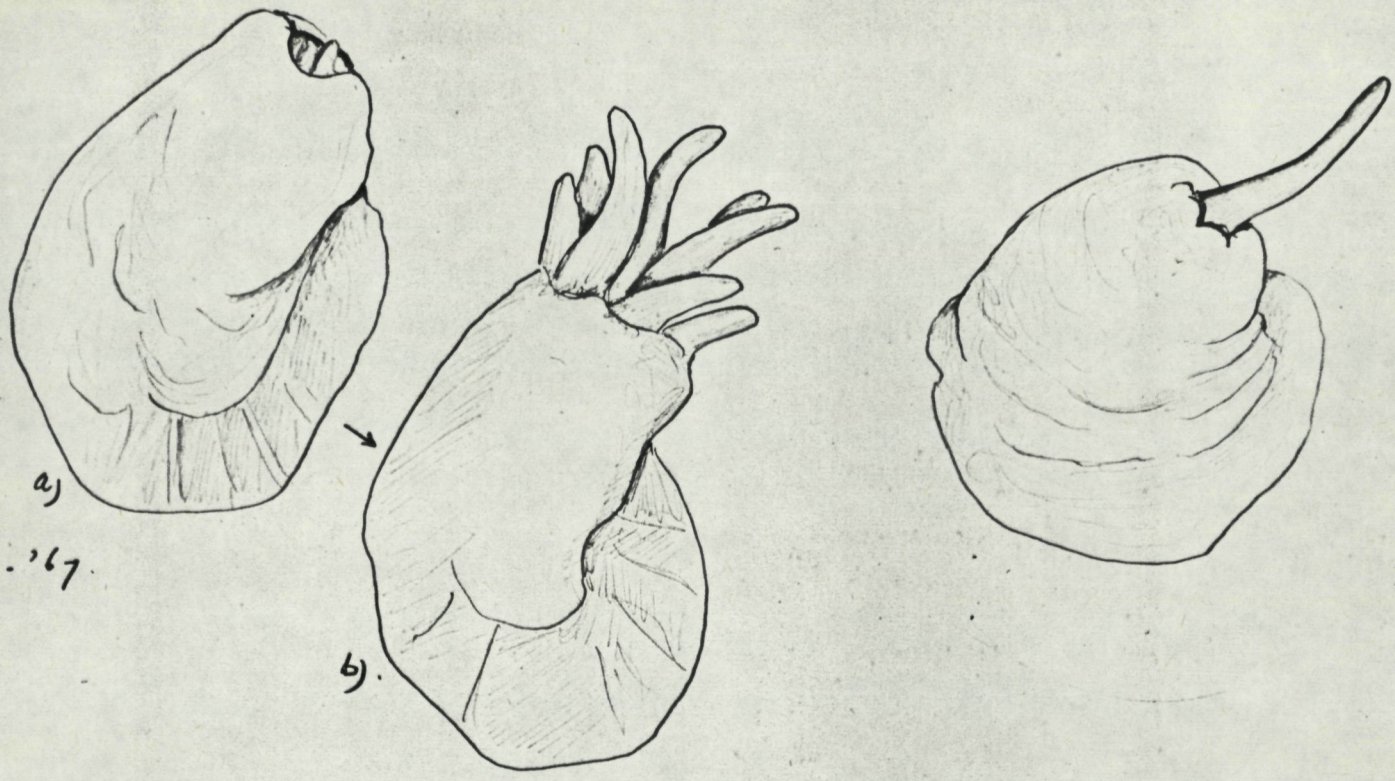
b

21

28-3-'67

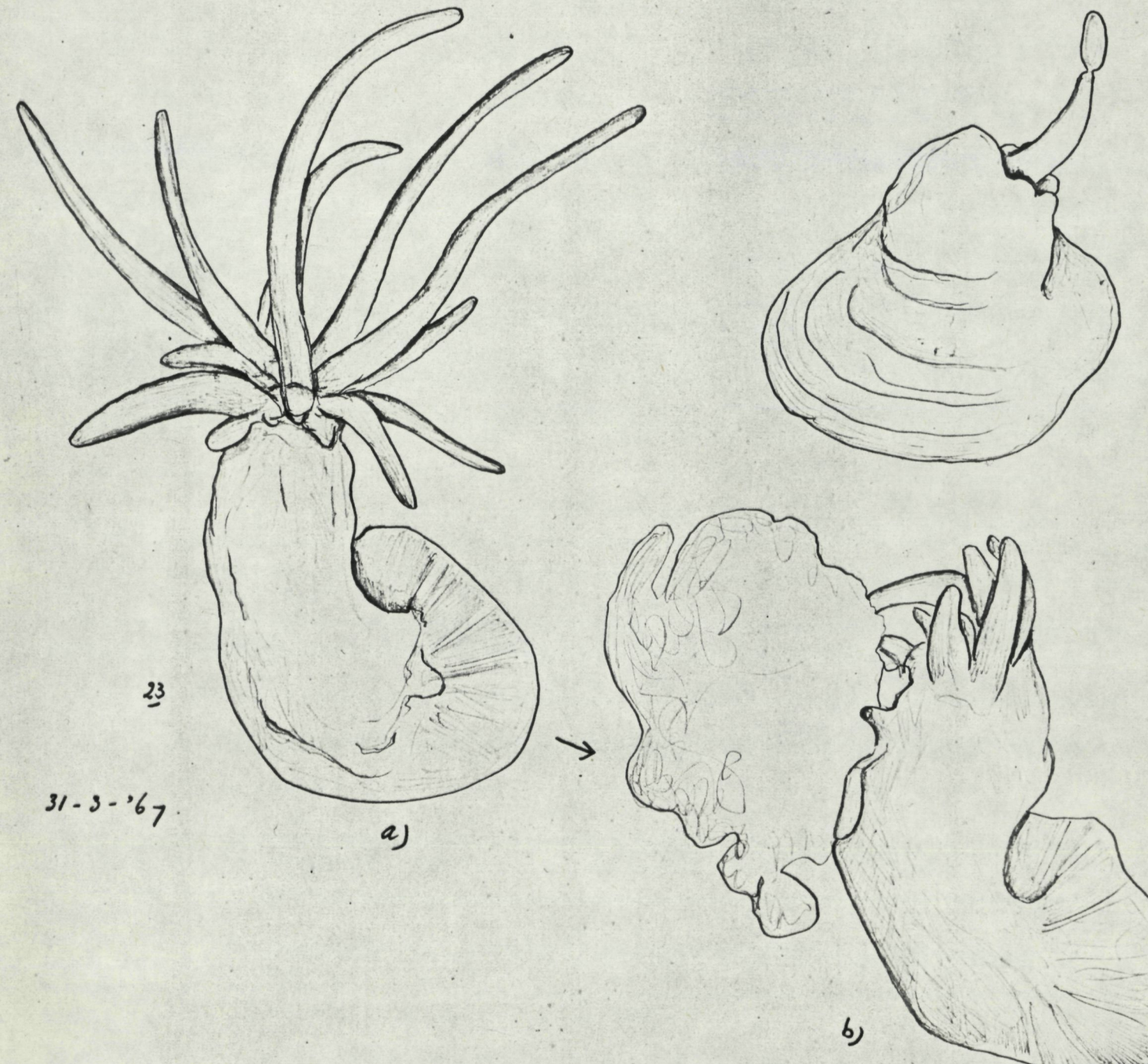


22

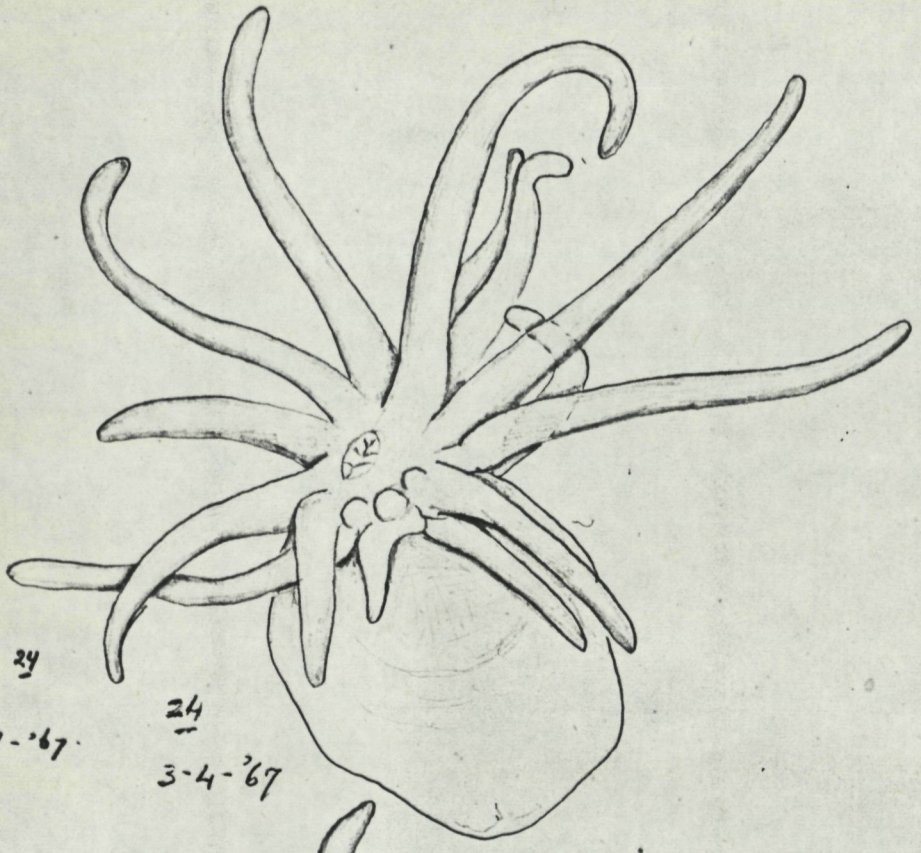


30-3-'67

23



31-3-'67

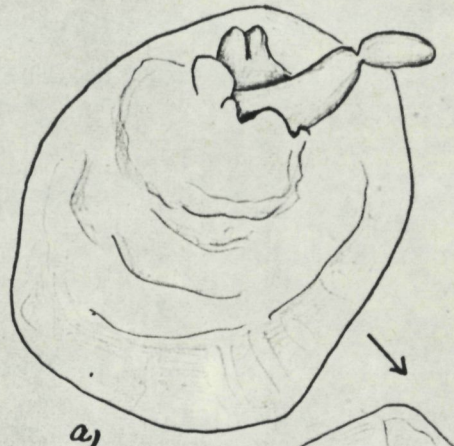


24

3-4-'67

24

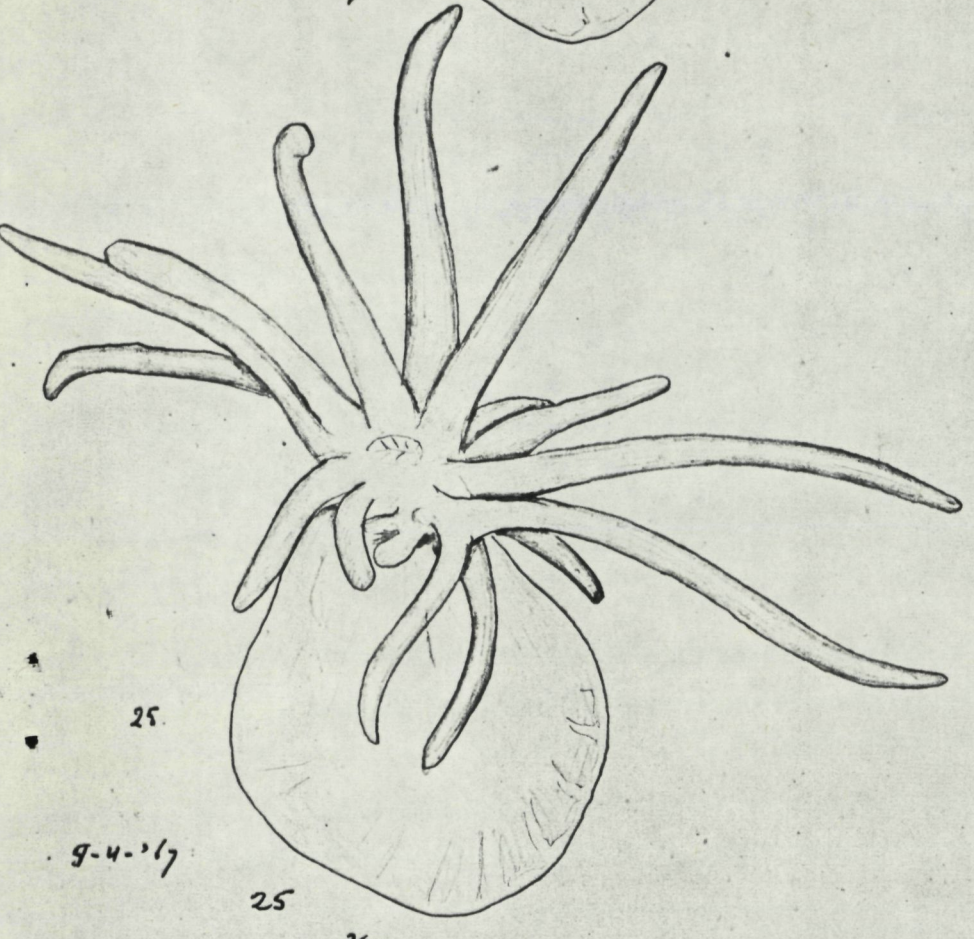
3-4-'67



a)



b)



25

9-4-'67

25

9-4-'67

