



Stroomt het wel, dan vlot het niet...

Onderzoek naar het leefgebied en herintroductie van
vlottende waterranonkel in snelstromende beken



Eindrapportage

Concept

Projectnummer: PR-19.032 • Rapportnummer: RP-19.032.22.124 • Datum: 23-12-2020 •

Auteurs: Roos Loeb, Fons Smolders, Daan van Pul & Daniël Tak

Colofon

Dit onderzoek kwam tot stand door financiële bijdragen van de Provincie Brabant en de Provincie Limburg.

Provincie Noord-Brabant

mede mogelijk gemaakt door

provincie limburg



Stroomt het wel, dan vlot het niet.... Onderzoek naar het leefgebied en herintroductie van vlottende waterranonkel in snelstromende beken. Eindrapportage.

Auteurs: Roos Loeb, Fons Smolders, Daan van Pul & Daniel Tak

Foto voorzijde: Geherintroduceerde vlottende waterranonkel in de Tongelreep bij Achelse Kluis.

Foto: Daniël Tak

Informatie:

Onderzoekcentrum B-WARE B.V.

Postbus 6558

6503 GB Nijmegen

Tel: 024-2122206

r.loeb@b-ware.eu

© Onderzoekcentrum B-WARE, Nijmegen, 2022.

Inhoud

1. Inleiding.....	4
2. Experiment in de kas.....	7
Inleiding	7
Materiaal en methode	8
Resultaten.....	12
Conclusies	17
3. Herintroductie	20
Locaties	20
Standplaatsonderzoek Beekloop	20
Opkweken donormateriaal vlottende waterranonkel voor Beekloop	21
Herintroductie Beekloop	22
Vervolgmonitoring Beekloop.....	23
Standplaatsonderzoek Tongelreep.....	25
Opkweken donormateriaal vlottende waterranonkel voor Tongelreep	28
Uitzetten vlottende waterranonkel	29
Vervolgmonitoring Tongelreep	30
Conclusies ten aanzien van de manier van herintroductie.....	32
4. Synthese	33
5. Dankwoord.....	34
6. Literatuur.....	34
7. BIJLAGE Methodiek chemische analyses.....	36
8. BIJLAGE Resultaten metingen herintroductie	38

1. INLEIDING

Ondanks de verbeteringen die de afgelopen decennia zijn gerealiseerd in de kwaliteit van het oppervlaktewater in beken, is de biologische kwaliteit van veel beken nog niet op orde. In beken liggen daarom nog grote opgaven voor Natura 2000 en de Kaderrichtlijn Water. Eén van de soorten die vaak ontbreekt is vlottende waterranonkel (*Ranunculus fluitans*), één van de prioritaire soorten van de provincie Noord-Brabant. Vlottende waterranonkel is een kensoort van de Associatie van Vlottende waterranonkel (*Callitriche hamulatae-Ranunculetum fluitantis*), een van de weinige in Noord-Brabant en Limburg aanwezige plantengemeenschappen in beken die een goede kwaliteit indiceren van het habitattype H3260A Beken en rivieren met waterplanten (waterranonkels).

Vlottende waterranonkel is een soort van snelstromende beken. In het zuiden van Noord-Brabant ligt een aantal beektrajecten waarin de stroomsnelheid snel genoeg zou moeten zijn voor het voorkomen van vlottende waterranonkel. De plant is buiten Limburg dan ook bekend van de Brabantse Kempen, met name uit de Tongelreep, maar is in de afgelopen jaren zowel in Noord-Brabant als in Limburg achteruitgegaan (o.a. Provincie Limburg, 2021). In de Swalm in Limburg is deze achteruitgang het frappantst: dit was tot begin jaren '90 de beek met de meest uitgestrekte vegetaties van vlottende waterranonkel, terwijl er nu slechts nog twee zeer kleine groeiplaatsen bekend zijn. We gebruiken de omstandigheden in de Swalm daarom als voorbeeld van extreme omstandigheden om te achterhalen waaraan de standplaatsen van vlottende waterranonkel precies moeten voldoen. In dit project willen we de soort terug laten keren naar snelstromende beektrajecten in Noord-Brabant. Dat doen we enerzijds door een pilot waarin we vlottende waterranonkel op een aantal locaties herintroduceren en anderzijds door te onderzoeken wat voor de plant optimale standplaatsvereisten zijn wat betreft nitraat en ammonium in het beekwater, waarvan we uit eerder onderzoek (Loeb et al., 2017) weten dat dit een cruciale factor zou kunnen zijn in het voorkomen van de soort. De mate van succes van de herintroductie van de planten zal eveneens meer licht werpen op de standplaatsvereisten van de plant, waarmee inzicht verkregen wordt in maatregelen gericht op herstel.



Figuur 1. Diasporen van vlottende waterranonkel hebben zich vastgeklonken aan boomwortels in de Tongelreep. Foto: R. Loeb.

Voorkomen in de Tongelreep en Keersop

Vlottende waterranonkel is bekend uit de Tongelreep. Momenteel staat de soort vooral in en rond Eindhoven in de beek, maar er zijn -of waren- ook andere groeiplaatsen, die in tijd in omvang variëren, zoals bij de Achelse Kluis aan de grens met België. Verspreiding van de soort verloopt echter moeizaam. Stukken van vlottende waterranonkel die afbreken, kunnen elders weer wortelen en zo een nieuw groeiplaats vormen. Het afbreken van plantendelen gebeurt echter juist bij hoge stroomsnelheden, zoals bij piekafvoeren, wanneer de plantendelen juist snel worden afgevoerd en niet op geschikte vestigingslocaties met een voldoende hoge stroomsnelheid achterblijven.

Vlottende waterranonkel is niet bekend uit de Keersop, die net als de Tongelreep uitkomt in De Dommel. (Her)vestiging vanuit de Tongelreep wordt hier echter als een reële mogelijkheid gezien (Van der Laan, 2013). In 2020 zal Waterschap De Dommel ook een traject in de Keersop bij Dommelen opnieuw inrichten. Dit zou ook een geschikte groeiplaats kunnen zijn, net als delen van de Beekloop, een zijtak van de Keersop. De Tongelreep en de Keersop maken onderdeel uit van het Leefgebied Beekdalen (Runhaar et al., 2011) en liggen beide in het Natura 2000-gebied Leenderbos, Groote Heide & De Plateaux. In het Natura 2000-gebied is de doelstelling zowel vergroting van het areaal als verbetering van de kwaliteit van het habitatype Beken en rivieren met waterplanten (waterranonkels). In het beheerplan van het Natura 2000-gebied (DLG & Staatsbosbeheer, 2017) is de verwachting uitgesproken dat zowel areaaluitbreiding als kwaliteitsverbetering kan worden gerealiseerd, als de waterkwaliteit verder verbeterd. In de praktijk is echter voor kwaliteitsverbetering op de sneller stromende delen dan wel de vestiging van vlottende waterranonkel benodigd, omdat deze soort indicierend is voor de aanwezigheid van een gemeenschap die kwalificerend is voor een goede kwaliteit van het habitatype. Het is daarom van belang te weten welke specifieke eisen de soort stelt en of de soort middels herintroductie gemakkelijk terugkeert.

Standplaatsvereisten & veranderingen in waterkwaliteit in beken

Vlottende waterranonkel is een soort van snelstromende beken op zandig tot grindig substraat. De soort komt voor in beken met helder water, maar in tegenstelling tot veel andere aquatische doelsoorten lijkt de soort het beter te doen bij hogere nutriëntenconcentraties. In langzaamstromende beken zouden dergelijke hogere concentraties tot algenbloei en een slecht doorzicht kunnen leiden, maar in snelstromende beken krijgen algen door de hoge stroomsnelheid veel minder kans om zich te ontwikkelen. Vlottende waterranonkel heeft zijn optimum in hard water, en komt vaak voor bij bicarbonaatconcentraties van rond de 4 mmol/l. Zolang vlottende waterranonkel met zijn slippen nog niet tot het wateroppervlak reikt, is de soort voor zijn koolstofvoorziening aangewezen op koolstof (bicarbonaat of CO_2) uit het water. Optimaal zijn hiervoor bicarbonaatconcentraties van rond 8 mmol/l (Bodner, 1994). Bij lage bicarbonaatconcentraties in het beekwater, is vlottende waterranonkel (mede)afhankelijk van CO_2 . Van CO_2 heeft de soort minder nodig voor optimale groei dan van bicarbonaat, maar bij lage bicarbonaatconcentraties in combinatie met een hoge pH van het beekwater is de CO_2 -concentratie ook laag en kan ook CO_2 -gebrek ontstaan (Van Pul, 2018). In de Tongelreep is sprake van sterk wisselende bicarbonaatconcentraties: laag in de winter (rond 1,5 mmol/l), oplopend tot 2,0 à 2,5 mmol/l in het groeiseizoen. De koolstofvoorziening is hiermee gunstiger dan in de Keersop, waar de bicarbonaatconcentratie fluctueert tussen 1,0 en 1,3 mmol/l en dan bijvoorbeeld in de Swalm (L) (1,3-1,5 mmol/l), waarbij in de Swalm de pH met 7,5 ook nog eens hoog is. Wat betreft P-concentraties kan de standplaats sterk verschillen, maar zeer hoge concentraties tot 0,5 mg P/l (16 $\mu\text{mol/l}$) zijn geen uitzondering (Loeb et al., 2017). Ook zeer hoge ammoniumconcentraties kan de soort goed aan, tot wel 0,5 mg N/l (35 $\mu\text{mol/l}$). Dit heeft er mogelijk mee te maken dat vlottende waterranonkel ammonium prefereert boven nitraat (Melzer & Kaiser, 1986; Bal et al., 2009). Ook in het wortelmilieu is de verhouding tussen ammonium en nitraat hoog (Loeb et al., 2017). Het zou daarom zo kunnen zijn dat de soort last heeft van hoge

nitraatconcentraties als er weinig ammonium aanwezig is en dat juist de verhouding tussen deze twee stoffen bepalend is voor de groei (Boedeltje et al., 2005).

Bij deze veronderstelde standplaatsvereisten profiteert de soort niet mee van de trend in waterkwaliteit die zich in veel beken heeft voltrokken sinds de jaren '80 en die voor een groot deel van de flora en fauna juist positief is geweest. Voorheen hadden veel beken nog een zeer eutroof karakter, met hoge concentraties P, nitraat en ammonium, en een zeer hoog biologisch zuurstofverbruik. Door tal van maatregelen, zoals de aanleg van rioolwaterzuiveringsinstallaties en later ook de vermindering van overstorten zijn de concentraties fosfor en ammonium in het beekwater sterk verminderd. De hoge nitraatconcentraties, grotendeels afkomstig van uitspoeling van de landbouw, al dan niet aangevoerd naar de beek via kwel of via uit- en/afspoeling, en een hoge stikstofdepositie, zijn echter in veel mindere mate teruggedrongen. Hierdoor is de verhouding tussen nitraat en ammonium in het beekwater van veel beken hoger dan voorheen. De Swalm (L) is hier een goed voorbeeld van: hier nam de ammoniumconcentratie veel sterker af dan de nitraatconcentratie waardoor de verhouding tussen nitraat en ammonium veranderde van ongeveer 10 (mol/mol of g/g N) eind jaren '80 tot gemiddeld circa 50 (mol/mol of g/g N) nu. In de Tongelreep en de Keersop zijn de concentraties ammonium eveneens laag geworden (nog gemiddeld 0,3 mg NH₄-N/l in 1997/1998; nu 0,17 mg/l in de Tongelreep), maar is de nitraatconcentratie ook flink verlaagd, waardoor de verhouding hier beperkt steeg; van 19 naar 23.

Ook het wortelmilieu kan een belangrijke rol spelen in de nutriëntenvoorziening van vlottende waterranonkel. Als hier anaerobe kwel in de beek uittreedt, wordt het wortelmilieu meestal voorzien van meer ammonium, fosfaat, bicarbonaat en CO₂, en minder nitraat. Dit zijn plekken die geschikt zouden kunnen blijven voor vlottende waterranonkel in een veranderend beekmilieu. De nitraatuitspoeling uit de landbouw heeft er echter voor gezorgd dat de nitraatconcentratie in het ondiepe grondwater in de zuidelijke zandgebieden (Noord-Brabant en Limburg) rond de norm van 50 mg NO₃/l (=11 mg NO₃-N/l; 800 µmol/l) ligt (bron: Planbureau voor de Leefomgeving). Deze norm is de norm voor drinkwaterwinning; er is geen norm voor doorbelasting naar habitattypen. Dit grondwater kwelt door zijn lange verblijftijd nu nog maar ten dele op in de beken; dit zal op termijn meer kunnen worden. Dit kan enerzijds leiden tot een flink hogere concentratie nitraat in het oppervlaktewater in een deel van de beken in Noord-Brabant en Limburg (ter vergelijking: de concentratie is nu circa 4 mg NO₃-N/l in de Swalm en 2 in de Tongelreep), maar zal ook zorgen voor het uittreden van grondwater met een hogere redoxpotentiaal, met minder ammonium en fosfaat en meer nitraat. Hierdoor kan ook het wortelmilieu in de beekbodem sterk gaan veranderen.

Voor de haalbaarheid van doelen die gesteld zijn in voor het habitatype Beken en rivieren met waterplanten (waterranonkels) en voor de KRW is het daarom van groot belang om vast te stellen wat nu precies de vereisten van vlottende waterranonkel zijn ten aanzien van ammonium, nitraat, en met name de verhouding daartussen.

In 2019 heeft de Provincie Brabant subsidie verleent voor het project “Stroomt het wel, dan vlot het niet... onderzoek naar het leefgebied en herintroductie van vlottende waterranonkel”. Dit project heeft als doel om te achterhalen wat de rol is van de verhouding tussen ammonium en nitraat in het beekwater in de achteruitgang van vlottende waterranonkel. Daarnaast heeft het project als doel om door middel van pilots met herintroductie in de Tongelreep, Keersop en Beekloop een geschikte methode voor herintroductie te ontwikkelen en om vanuit deze pilots extra kennis op te doen over de standplaatsvereisten van de soort. Dit project bestaat daarom uit twee delen:

- Een experiment in de kas waarin de verandering van de NH₄/NO₃-verhouding in beekwater als mogelijke oorzaak voor achteruitgang wordt onderzocht (2019/2020);
- Herintroductie van vlottende waterranonkel in de Tongelreep, Keersop en Beekloop (2020-2022)

Voor het eerste deel van dit onderzoek heeft de Provincie Limburg co-financiering gegeven vanwege de problemen voor vlottende waterranonkel die in de Swalm (Provincie Limburg, 2018) en andere snelstromende beken in Limburg spelen.

2. EXPERIMENT IN DE KAS

Inleiding

Zoals hierboven al beschreven is, is de verhouding tussen ammonium en nitraat in beken in Noord-Brabant en Limburg de afgelopen decennia sterk veranderd. Door een groot scala aan brongerichte maatregelen is de ammoniumconcentratie gedaald, terwijl de nitraatconcentratie, met name door uitspoeling uit de landbouw, onverminderd hoog is gebleven. Uit eerder onderzoek van Melzer & Kaiser (1986) en Bal et al. (2009) blijkt dat vlottende waterranonkel ammonium boven nitraat prefereert als stikstofbron, waarschijnlijk omdat de soort weinig van het enzym nitraatreductase gebruik kan maken. Dit enzym is voor planten noodzakelijk om nitraat in de plant om te kunnen zetten naar nitriet. Vanuit nitriet wordt het stikstof vervolgens omgezet in ammonium en gebruikt voor de synthese van aminozuren. De meeste waterplanten maken voldoende nitraatreductase aan om gebruik te maken van nitraat als stikstofbron (Melzer & Kaiser, 1986), maar enkele soorten, waaronder rossig fonteinkruid, vlottende waterranonkel, brede waterpest en kransvederkruid zouden dit niet kunnen (Melzer & Kaiser, 1986; Demars & Trémolières, 2009). Voor rossig fonteinkruid is aangetoond dat de plant niet alleen afhankelijk is van de concentratie ammonium in het beekwater, maar dat de soort ook daadwerkelijk groeibeperkingen ondervindt wanneer anorganisch stikstof voornamelijk als nitraat aanwezig is (Boedeltje et al., 2005).

Voor de haalbaarheid van doelen die gesteld zijn voor het habitatype Beken en rivieren met waterplanten (waterranonkels) en voor de KRW is het daarom van groot belang om vast te stellen wat nu precies de vereisten van vlottende waterranonkel zijn ten aanzien van ammonium, nitraat, en met name de verhouding daartussen.

Omdat de nitraatconcentratie in het veld niet experimenteel verlaagd kan worden, is gekozen om een experiment in de kas uit te voeren. De volgende behandelingen werden hierin beoogd (tabel 1):

1. nitraat wordt toegediend zoals de huidige concentratie in de Swalm bij ammoniumconcentraties die nu gebruikelijk zijn in de Tongelreep en Swalm (circa 5,6 mg $\text{NO}_3\text{-N/l}$; 400 $\mu\text{mol/l}$; verhouding $\text{NO}_3\text{:NH}_4$ 5,6:0,11 = 50:1))
2. de helft van het nitraat wordt toegediend bij eenzelfde ammoniumconcentratie; dit is ongeveer zoals de huidige concentratie van nitraat in de Tongelreep is (200 $\mu\text{mol/l}$ (2,8 mg $\text{NO}_3\text{-N/l}$; verhouding $\text{NO}_3\text{:NH}_4$ 25:1). Deze verhouding is vergelijkbaar met de verhouding van nitraat en ammonium zoals die begin jaren '90 in de Swalm aanwezig was, toen het er nog goed ging met vlottende waterranonkel.
3. een aanzienlijke nitraatreductie met een toediening van 63 $\mu\text{mol/l}$ (0,89 mg $\text{NO}_3\text{-N/l}$) van het nitraat bij eenzelfde ammoniumconcentratie. De verhouding wordt dan 8:1;
4. geen nitraattoediening; deze behandeling moet uitwijzen of bij ultieme reductie van de nitraatconcentratie een positief effect te verwachten is op vlottende waterranonkel, of dat er onder de huidige, lage ammoniumconcentraties geen positief effect is. In het water in het aquarium zal echter altijd wat nitraat aanwezig zijn, o.a. door nitrificatie van het toegediende ammonium. Hoe onder deze omstandigheden de verhouding tussen NO_3 en NH_4 (toegediend met 0,11 mg N/l) zal zijn, is niet bekend, maar we schatten dat deze in de richting van 1:1 zal gaan.

5. een lage nitraatconcentratie van 36 $\mu\text{mol/l}$ (0,5 mg $\text{NO}_3\text{-N/l}$) gecombineerd met eenzelfde concentratie ammonium. De verhouding van ammonium en nitraat wordt dan 1:1. Een concentratie van 0,5 mg $\text{NH}_4\text{-N/l}$ was een normale concentratie ammonium in het midden van de jaren '90 in de Swalm, toen het daar nog goed ging met vlottende waterranonkel. Met deze behandeling wordt onderzocht of het zo zou kunnen zijn dat de achteruitgang van vlottende waterranonkel in onder andere de Swalm te wijten is aan alléén de verlaging van de ammoniumconcentratie, en -onder de huidige ammoniumconcentraties- niet aan de verschuiving in verhouding tussen nitraat en ammonium. Om te onderzoeken of de vorm waarin anorganisch stikstof voorkomt, een rol speelt, en niet zozeer een overmaat aan nitraat, wordt daarom een behandeling met evenveel ammonium als nitraat ingezet. Hiermee kan een vergelijking gemaakt worden met de behandeling van 0,89 mg $\text{NO}_3\text{-N/l}$ en 0,11 mg $\text{NH}_4\text{-N/l}$; de concentratie anorganisch N blijft dan even hoog, namelijk 1 mg N/l, maar de vorm van het toegediende stikstof verandert. Indien de planten in deze behandeling het beter doen dan in de in de behandeling waarin vrijwel alleen nitraat wordt toegediend met 1 mg N/l (8:1-behandeling), én dan in de behandeling waaraan geen nitraat is toegevoegd maar de verhouding tussen nitraat en ammonium wel ongeveer hetzelfde is (1:1), is dat een sterke aanwijzing dat de plant in het veld een gebrek heeft aan ammonium.

Tabel 1. Beoogde concentraties en verhoudingen van nitraat en ammonium in behandelingen in het experiment.

Behandeling	NO_3 (mg N/l)	NH_4 (mg N/l)	Verhouding $\text{NO}_3\text{-N}:\text{NH}_4\text{-N}$
1	5,6	0,11	50
2	2,8	0,11	25
3	0,89	0,11	8
4	0,11	0,11	1
5	0,5	0,5	1

Materiaal en methode

Plantmateriaal en sediment

In oktober 2019 werden stekken van vlottende waterranonkel in de Tongelreep verzameld, nabij de Gennepers sportparken in Eindhoven. Dit materiaal werd verder gestekt en opgekweekt op sediment uit de Tongelreep en met water uit de Tongelreep totdat het experiment werd ingezet. Daarnaast werd met het sediment uit de Tongelreep twee weken lang een pilot gedraaid met kunstmatig beekwater met de verschillende nitraat- en ammoniumconcentraties, zonder planten. Uit deze test bleek dat het toegediende nitraat binnen zeer korte tijd (in elke geval binnen twee dagen, maar mogelijk binnen enkele uren) uit de bakken verdween. Er was hier dus sprake van een sterke denitrificatie. Daarnaast werden in het poriewater van het sediment van enkele pilotbakken en in een enkele bak ook in het oppervlaktewater hoge ammoniumconcentraties gemeten, zonder dat deze waren toegevoegd. Het snelle verdwijnen van nitraat in combinatie met de beschikbaarheid van ammonium in een relatief hoge concentratie, maakte dat het sediment uit de Tongelreep niet geschikt was voor een experiment waarin hoge nitraat- en lage ammoniumconcentraties moesten worden uitgetest. Voor het daadwerkelijke experiment werd daarom sediment uit de Swalm gehaald, bij het Otterpad in Swalmen nabij de populatie van vlottende wateranonkel die nog over is in de Swalm. Dit sediment bleek beter geschikt voor het experiment: nauwelijks ammonium in het poriewater en een lagere denitrificatiesnelheid. Wel bleek toegediend ammonium sneller te verdwijnen; er trad dus wel nitrificatie op.

Proefopzet

Het experiment werd uitgevoerd in het kassencomplex van de Radbouduniversiteit Nijmegen. Hier werd met lampen een dag/nachtritme aangehouden van 16 uur licht en 8 uur donker, waarbij verlicht werd met kunstverlichting op de momenten dat er te weinig natuurlijk licht tot de kas doordrong. De kas werd verwarmd tot 19 °C. Bij hogere temperaturen werd de kas automatisch geventileerd.



Figuur 2. Vier bakken in de proefopstelling.

Het experiment vond vanaf 9 december 2019 plaats in bakken van 84 liter (interne afmetingen circa 60,5 x 37 x 35,5 cm) waarbij ongeveer 1/3 gevuld werd met sediment (een laag van circa 10 cm dik), waarop 30 liter (13 cm) artificieel beekwater werd gezet. Elk van de vijf behandelingen werd in viervoud uitgevoerd. De bakken met de verschillende behandelingen werden ad random over de onderzoekstafel verdeeld. In elk van de twintig bakken werden tien stekken van vlottende waterranonkel van ongeveer dezelfde lengte geplant. Het artificiële beekwater werd per bak rondgepompt met een SuperFish Aquapower 700 (690 l/uur) pomp om stroming te simuleren. Dit water werd met behulp van de pomp via een UV-lamp (Ehein clearuv-7) geleid om algenbloei te voorkomen. Omdat deze lamp niet goed werkte tegen benthische en epifitische algen, werden de wanden van de bakken en de waterbodem circa 3x per week handmatig van zoveel mogelijk algen ontdaan. Ook werd de toediening van fosfaat met het artificiële beekwater na twee weken stopgezet om algenbloei te voorkomen.

In elke bak werden op twee hoogtes (1 in beeksediment en 1 in oppervlaktewater) rhizonsamplers (Eijkelkamp) gehangen, waarmee oppervlakte- en poriewater werd bemonsterd. Bemonstering van het poriewater vond aan het begin en het eind van het experiment plaats. Het oppervlaktewater werd 2-3 maal per week bemonsterd om de concentraties nitraat en ammonium te controleren en de dosis indien noodzakelijk bij te stellen.

Wekelijks werden de bakken leeggepompt en werd weer 30 liter vers artificieel beekwater toegevoegd. In het begin werden de beoogde eindconcentraties toegevoegd. Toen bleek dat de

nitraat- en ammoniumconcentraties door denitrificatie, nitrificatie en opname snel afnamen in het water, zijn de concentraties in het toegediende water opgehoogd. Ook werd vanaf 19 januari 2020 4x per week een extra dosis ammonium 13 ml 0,2 mol/l toegediend aan de bakken met de behandeling met de hoge (36 $\mu\text{mol/l}$) ammoniumdosis.

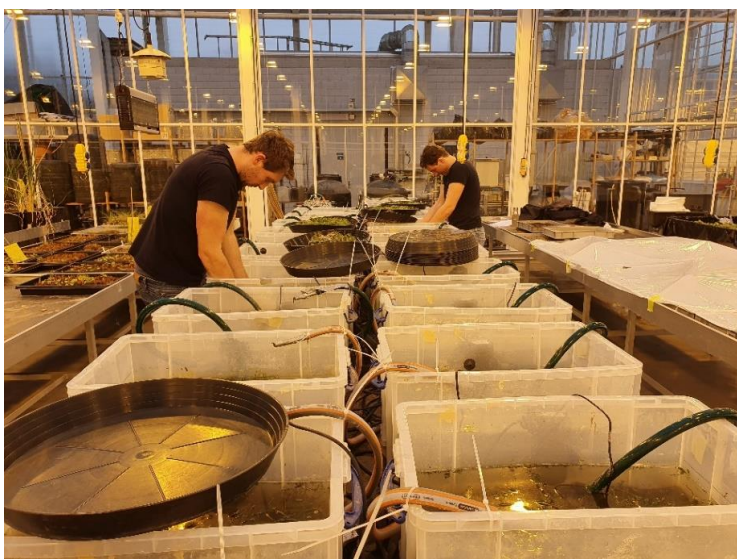
De samenstelling van het wekelijks toegediende artificiële beekwater staat weergegeven in tabel 2.

Tabel 2. Samenstelling toegediend artificieel beekwater vanaf 19 december 2019 in $\mu\text{mol/l}$. De naamgeving van de behandelingen is gebaseerd op de beoogde uiteindelijke concentratie in de bakken van het experiment. *Aan de behandeling 36NO₃36NH₄ is vanaf 19 januari 2020 is nog 4x per week een extra genoemde dosis toegevoegd om uitputting door nitrificatie te voorkomen.

behandeling	400NO ₃ 8NH ₄	200NO ₃ 8NH ₄	63NO ₃ 8NH ₄	8NO ₃ 8NH ₄	36NO ₃ 36NH ₄
Na	4800	4800	4800	4802	4799
Ca	500	500	500	500	500
Mg	200	200	200	200	200
NH ₄ *	19	19	19	19	86
K	100	100	100	100	100
NO ₃	600	300	95	12	54
Cl	1519	1819	2024	2109	2131
HCO ₃	4200	4200	4200	4200	4200
Na	4800	4800	4800	4802	4799

Eindmetingen

Het experiment werd beëindigd op 2 maart 2020, toen de verschillen tussen de behandelingen optimaal zichtbaar waren en de groei in de bakken met de hoogste biomassa beperkt leek te gaan worden door de beschikbare ruimte in de bak. Eerst werd van elke bak een oppervlaktewater-, poriewater- en bodemonster genomen, waarna de biomassa werd geoogst. Van elke bak werd apart de bovengrondse biomassa (de scheuten) en de ondergrondse biomassa (wortels) geoogst en gewogen. Na drogen werd ook de droge biomassa bepaald. In elke bak werd van 5 representatieve scheuten en wortels de lengte gemeten en werd van de scheuten het aantal vertakkingen bepaald.



Figuur 3. Het oogsten van de biomassa aan het eind van het experiment.

Chemische analyses

De methodiek van de chemische analyses wordt besproken in de Bijlage Methodiek chemische analyses.

Statistische analyses

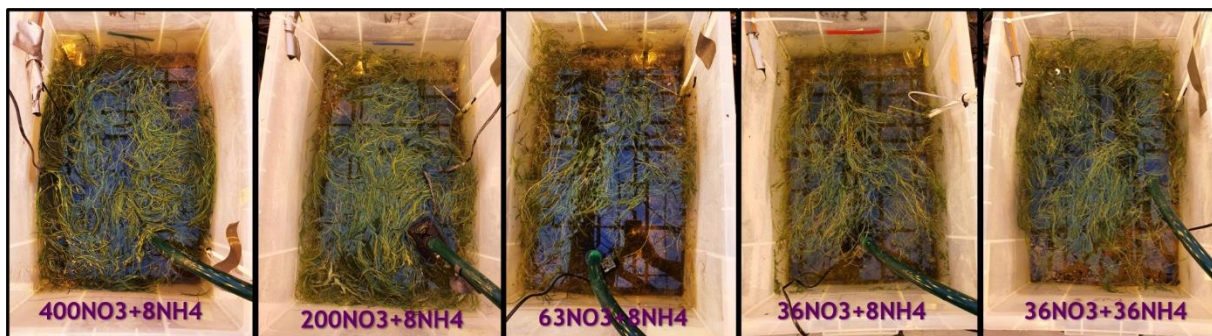
Om analyseresultaten beter te laten voldoen aan voorwaarden voor een normale verdeling, zijn concentraties $\ln(x+1)$ getransformeerd en verhoudingen wortel(x). Statistische analyses werden uitgevoerd met IBM SPSS Version 24. Significantie van verschillen in parameters tussen de behandelingen werden getoetst met een eenweg-ANOVA, gevolgd door een Tukey post-hoc test.

Resultaten

Biomassaproductie

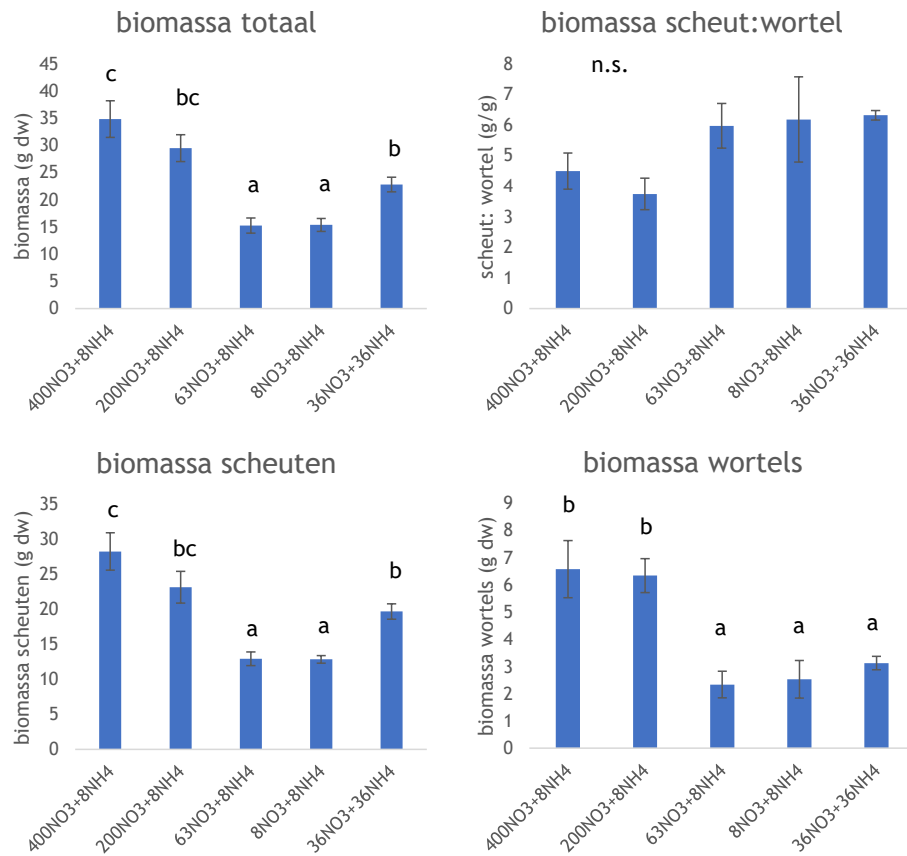
De biomassaproductie was in de bakken met de hoogste nitraattoediening ($400\text{ }\mu\text{mol/l}$) meer dan 2x zo hoog als in de bakken met de twee laagste nitraattoevoegingen (63 en $36\text{ }\mu\text{mol/l}$) (figuur 4 & 5). De productie in de bak die naast nitraat ook ammonium toegediend had gekregen, was met gemiddeld 23 g/bak iets lager. De behandeling met toediening van het één-na-hoogste niveau van nitraat had een productie die ongeveer even hoog was als de hoogste en de behandeling met ammonium.

Het grootste deel van de biomassa werd gevormd door bovengrondse delen. De verschillen in productie hiervan, volgen hetzelfde patroon als van de totale biomassa. De twee hoogste behandelingen met nitraat hadden een ongeveer 2x zo hoge wortelbiomassa als de behandelingen met de lagere concentraties en de behandeling met de hogere ammoniumconcentratie. Door de grote spreiding verschilde de verhouding tussen de biomassa's van scheut en wortel niet significant van elkaar tussen de behandelingen.

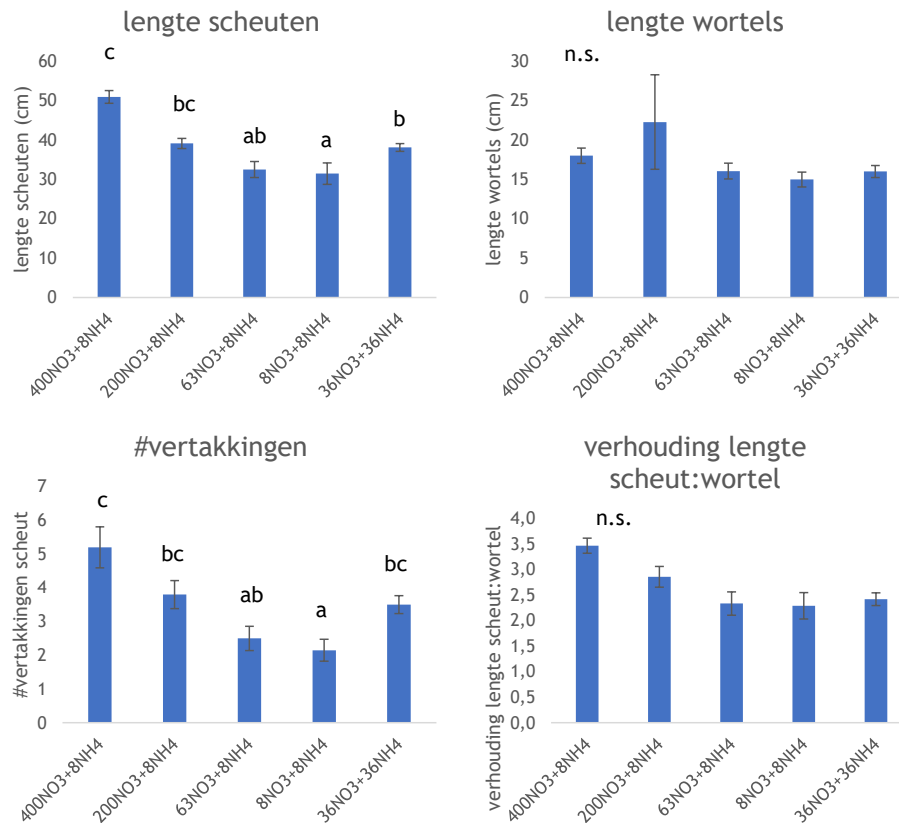


Figuur 4. Biomassa aan het eind van het experiment in vijf bakken met de verschillende behandelingen.

De scheuten in de hoogste nitraatbehandeling waren het langst met ongeveer 50 cm per scheut (figuur 6). Dit was veel langer dan de scheuten met de laagste twee nitraattoedieningen (circa 30 cm) en ook langer dan die bij de behandeling met hoog ammonium (38 cm). Behalve dat deze scheuten langer waren, hadden ze ook meer vertakkingen (5, tegen slechts 2 in de behandeling met het laagste nitraatniveau). In wortellengte werd geen verschil aangetroffen. Omdat er wel een verschil was in biomassa van de wortels, mag aangenomen worden dat de wortels van de twee hoogste nitraatniveaus ook meer vertakkingen hadden, of dat er meer wortels aanwezig waren per scheut.

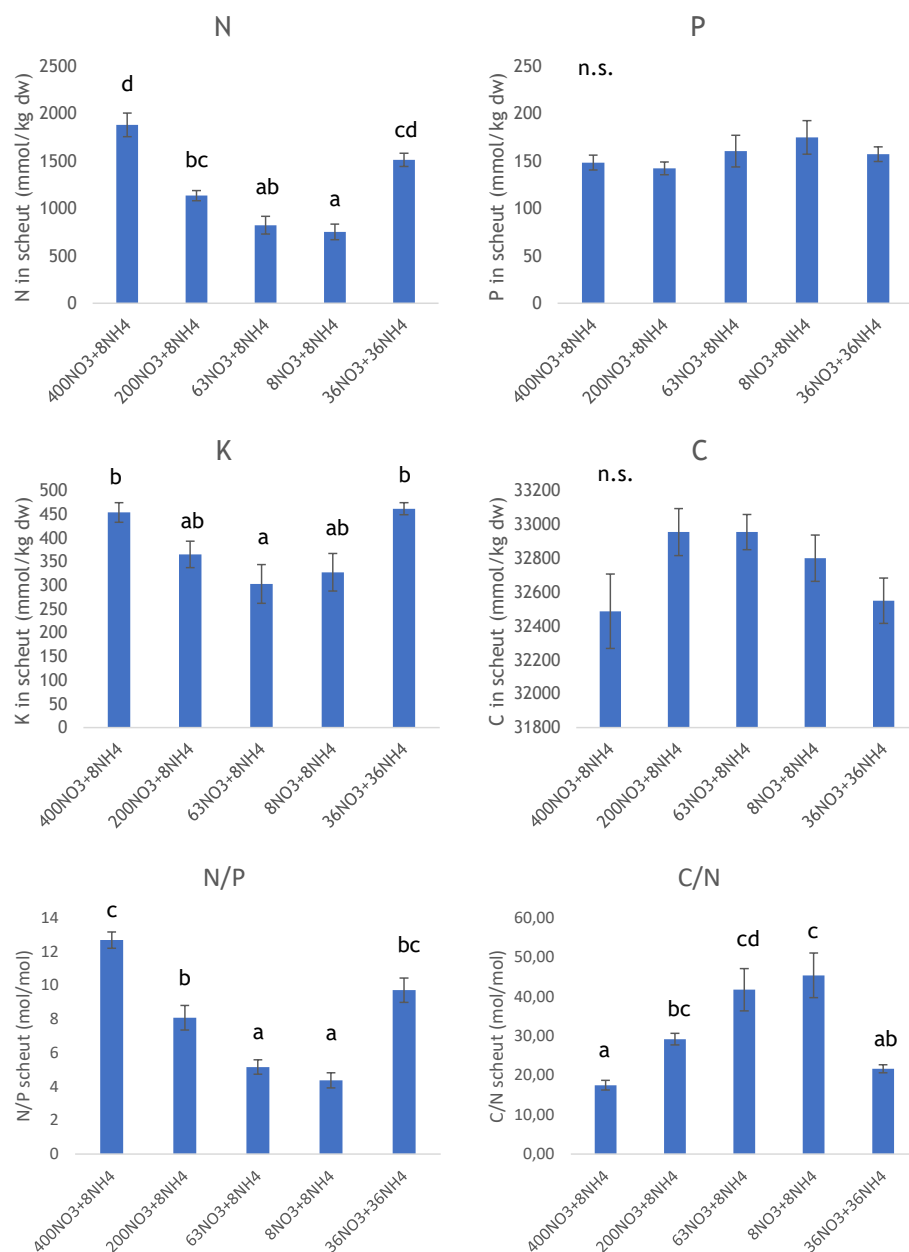


Figuur 5. Biomassa aan het eind van het experiment: totale biomassa, biomassa van de scheuten, de wortels en de verhouding tussen de biomassa van scheuten en wortels. Foutbalken geven de standaardfout weer. Met letters zijn de significante verschillen tussen de behandelingen aangegeven.

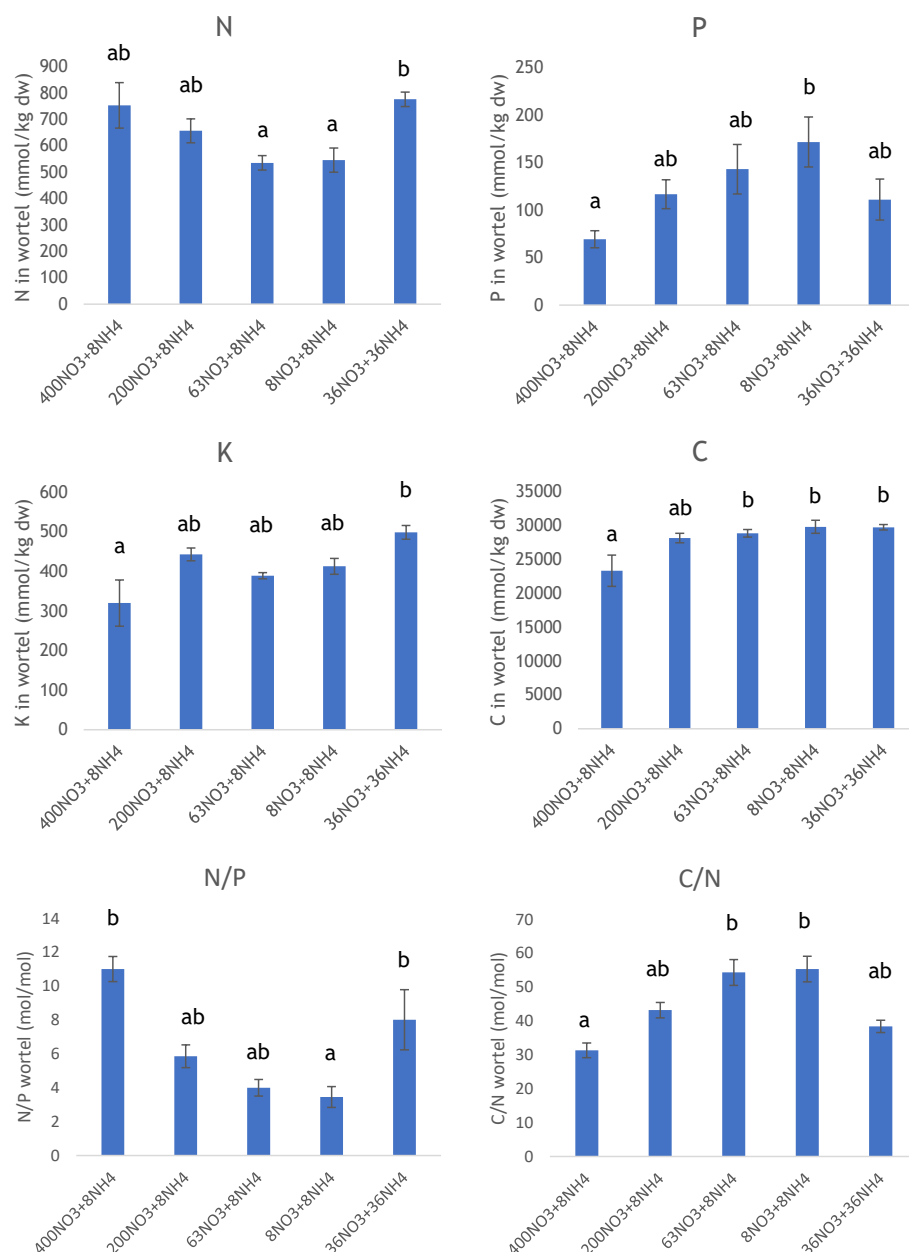


Figuur 6. Lengte van vijf representatieve scheuten en wortels van elke bak, het aantal vertakkingen per scheut en de verhouding tussen de lengte van scheut en wortel. Foutbalken geven de standaardfout weer. Met letters zijn de significante verschillen tussen de behandelingen aangegeven.

Er waren grote verschillen in nutriëntenconcentraties in het plantmateriaal tussen de behandelingen (figuur 7). In de hoogste nitraatbehandeling hadden de scheuten een 2,5x hoger stikstofgehalte dan in de laagste nitraatbehandeling. Het stikstofgehalte in de hoogste behandeling was ook nog 1,7 x zo hoog als in de één-na-hoogste behandeling, ondanks dat de scheutbiomassa tussen deze twee behandelingen niet significant verschilde. Het stikstofgehalte in de behandeling met de hoge ammoniumconcentratie zat tussen deze twee behandelingen in. De kaliumgehaltes in de scheuten waren het hoogst in de behandelingen met de hoogste nitraatconcentratie en in die met de hoge ammoniumconcentratie. In fosforgehalte en koolstofgehalte werd geen verschil tussen de scheuten gevonden. De gevonden verschillen in stikstof leidden tot een N/P-verhouding van 13 mol/mol (6 g/g) in de hoogste nitraatbehandeling, waar deze in de laagste nitraatbehandeling slechts 4 (2 g/g) was. In deze behandeling was de C/N-verhouding ook het hoogst: 45 mol/mol (37 g/g), terwijl deze in de hoogste nitraatbehandeling slechts 17,5 (15 g/g) was.



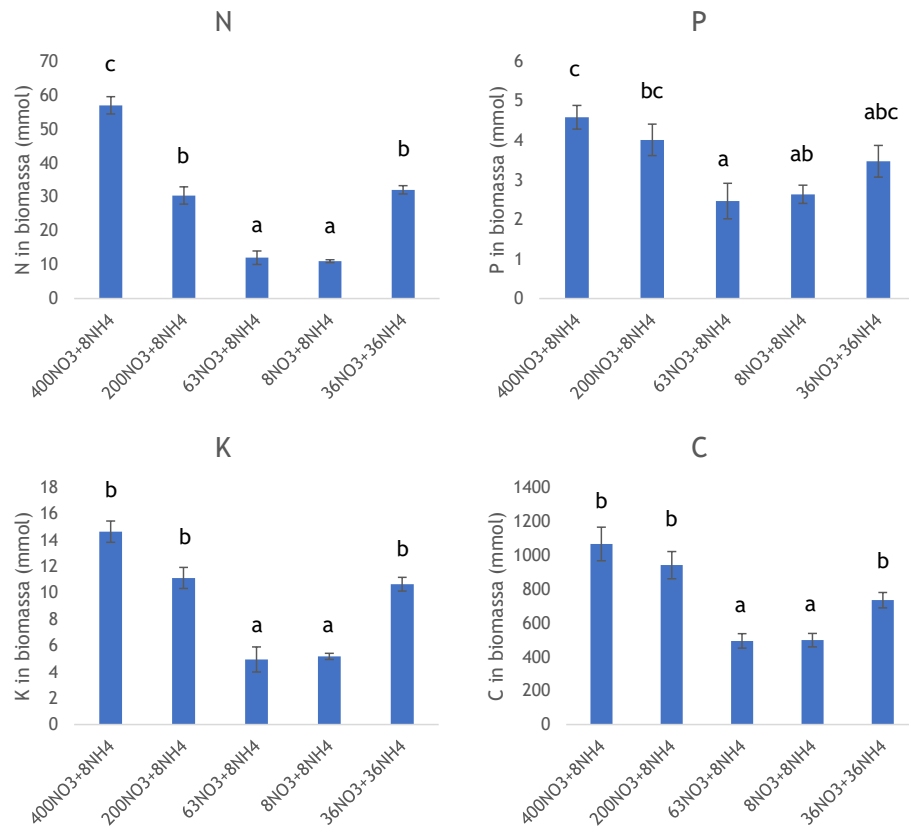
Figuur 7. Gehaltes van N, P, K en C en de verhoudingen tussen N en P, en C en N in de scheuten. Foutbalken geven de standaardfout weer. Met letters zijn de significante verschillen tussen de behandelingen aangegeven.



Figuur 8. Concentraties van N, P, K en C en de verhoudingen tussen N en P, en C en N in de wortels. Foutbalken geven de standaardfout weer. Met letters zijn de significante verschillen tussen de behandelingen aangegeven.

In de wortels waren de verschillen in stikstofconcentraties veel minder groot (figuur 8). De stikstofconcentraties waren het hoogst in de hoog-ammoniumbehandeling; 1,4 x zo hoog als in de twee laagste nitraatbehandelingen. Opvallend was ook dat de kaliumconcentratie het laagst was in de hoogste nitraatbehandeling, terwijl deze juist het hoogst was in scheuten van deze behandeling. De concentratie van kalium in de wortels in de hoog-ammoniumbehandeling was ongeveer 1,5 keer zo groot als in de hoog-nitraatbehandeling. Ook werden er in de wortels, in tegenstelling tot in de scheuten wel verschillen in P- en C-concentraties gevonden. De hoogste P-concentratie werd gevonden in de laagste nitraatbehandeling; 2,5 x zo hoog als in de hoogste nitraatbehandeling. De concentraties in de andere drie behandelingen lagen hier tussen in. De koolstofconcentratie was het laagst in de wortels van de hoogste N-behandeling. Net als in de scheuten waren de N/P-verhoudingen het hoogst in de hoogste nitraatbehandeling en de hoog-ammoniumbehandeling en waren hier de C/N-verhoudingen het laagst.

Als de totale hoeveelheid van de nutriënten aanwezig in de biomassa als geheel wordt berekend, valt op dat deze voor N, P, K en C het hoogst is voor de hoogste nitraatbehandeling, ondanks dat de concentraties van P en C in de wortels van die behandeling lager waren. De één-na-hoogste behandeling met nitraat en de behandeling met de hogere ammoniumconcentratie hadden in totaal iets minder stikstof geaccumuleerd, maar wel veel meer dan de laagste twee nitraatbehandelingen.



Figuur 9. Totale hoeveelheden N, P, K en C de biomassa. Foutbalken geven de standaardfout weer. Met letters zijn de significante verschillen tussen de behandelingen aangegeven.

Conclusies

Door de nitrificatie en denitrificatie die in het sediment plaatsvonden, varieerden de nitraat- en ammoniumconcentraties gedurende de week na toediening. Hierdoor is het niet exact aan te geven aan welke concentraties en belastingen de planten precies hebben blootgestaan, en in welke exacte verhouding tussen nitraat en ammonium. De behandelingen moeten daarom kwalitatief worden gezien, waarbij het in elk geval zeker is dat de behandelingen met nitraat daadwerkelijk een oplopende nitraatconcentratie en belasting hadden. Van de behandeling waarin een hoge concentraties ammonium is toegediend in combinatie met een even hoge nitraatbehandeling is echter niet met zekerheid aan te geven hoe de stikstofgift zich verhield tot de verschillende behandelingen met nitraat.

Uit het experiment bleek erg duidelijk dat vlottende watteranonkel in het experiment gelimiteerd werd door stikstof; een hogere dosis stikstof leidde tot meer groei van de planten. Ook is duidelijk dat de planten goed nitraat opnamen. Vlottende watteranonkel groeide niet alleen goed bij een hogere dosis ammonium, maar ook bij een hogere dosis nitraat. Dit was ook het geval als er nagenoeg

geen ammonium werd toegediend en de verhouding tussen nitraat en ammonium zeer hoog was. In de onderwaterbodem van de Swalm was nauwelijks ammonium in het poriewater aanwezig. Het is dus zeer waarschijnlijk dat het toegediende nitraat als stikstofbron werd gebruikt. Overigens kon de plant, zoals verwacht, ook goed groeien bij een hoge ammoniumconcentratie.

De N/P-verhouding die in de scheuten gemeten werd, was zeer laag, variërend van 4 mol/mol in de bij de laagste stikstofdoseringen tot 13 mol/mol in de hoogste. Dit wijkt sterk af van de verhoudingen die in het veld bij vlottende waterranonkel worden aangetroffen: 13-23 in de Tongelreep (Loeb et al., 2017; 2020) en 16-25 in de Swalm (Loeb et al., 2017). Ook de C/N-ratio week sterk af: in het veld werden alleen waarden onder 20 mol/mol gemeten, terwijl in het experiment alleen bij de hoogste nitraatgift deze waarden werden gezien, en deze verder veel hoger lagen. In het experiment is de koolstofgift met 4200 $\mu\text{mol HCO}_3/\text{l}$ aangepast aan de optimale standplaatsvereisten van vlottende waterranonkel, om te voorkomen dat gevoeligheid voor nitraat niet gemeten zou kunnen worden door limitatie van de groei door koolstof. Wat betreft de koolstofbeschikbaarheid waren de omstandigheden daarmee beter vergelijkbaar met de omstandigheden in de Geul en Voer in Limburg dan die in de Tongelreep, de Keersop en de Swalm. De aangetroffen stikstoflimitatie in het experiment, betekent dus niet automatisch dat de planten in het veld ook in hun groei gelimiteerd worden door stikstof.

Het is niet aannemelijk dat de afname van de ammoniumconcentratie die zich in veel beken heeft voltrokken door betere waterzuivering en verwijderen van overstorten de oorzaak vormt voor de achteruitgang van vlottende waterranonkel. Ook de veranderde verhouding tussen ammonium en nitraat door het minder sterk afnemen van de nitraatconcentratie lijkt daarin geen rol te hebben gespeeld, aangezien de vlottende waterranonkel -in tegenstelling tot wat in de literatuur wordt gevonden (Melzer & Kaiser, 1986; Bal et al., 2009)- ook goed om blijkt te kunnen gaan met nitraat als stikstofbron, mits de beschikbaarheid van nitraat hoog genoeg is.

Hoewel de planten in het experiment positief reageerden op een hogere stikstofgift, kan niet zonder meer geconcludeerd worden dat de soort in het veld negatieve effecten zal ondervinden van een verlaging van de stikstoflast door maatregelen om stikstofuitspoeling tegen te gaan. De planten in het veld hebben doorgaans een veel hogere N/P-verhouding in het weefsel; wat aangeeft dat zij minder sterk door stikstof worden gelimiteerd dan in het experiment, of mogelijk door een ander nutriënt worden gelimiteerd (koolstof of fosfor). Dit zou verder onderzocht moeten worden.

Een andere hypothese die Loeb et al. (2017) voor de achteruitgang in de Swalm stellen, is dat de vermindering van de fosfaatconcentratie (zowel de lagere concentratie als de hogere N/P-verhouding in het water) kan hebben bijgedragen aan de achteruitgang van de soort. In het experiment is na enkele weken gestopt met het toedienen van fosfaat, om algengroei in de bakken te voorkomen. Desondanks hadden de planten voldoende P tot hun beschikking, maar bleken gelimiteerd te worden door stikstof. Een hogere stikstofgift resulteerde in een hogere wortelgroei, waarmee de planten ook in staat waren meer fosfor op te nemen. Alleen in de wortels van de hoge nitraatbehandeling ging de fosforconcentratie naar beneden. De P-concentratie in het oppervlaktewater in de onderzochte beken is weliswaar hoger dan in het water dat in het experiment werd toegediend, maar de hogere N/P-verhouding in de planten in het veld geeft ook aan dat er daar mogelijk eerder een gebrek aan fosfor ontstaat, ondanks het hogere aanbod. Het is niet bekend welk aandeel opname via de wortels vanuit de bodem en opname via de scheuten vanuit het oppervlaktewater hebben in de fosforvoorziening. In de scheuten in het experiment werd, ongeacht de stikstofgift, een concentratie van ongeveer 150 mmol P/kg dw aangetroffen. In met name de Tongelreep werden lagere P-concentraties aangetroffen (gemiddeld 118 mmol P/kg in referentiemetingen), waardoor hier -in combinatie met de iets hogere N/P-verhouding- niet kan worden uitgesloten dat P een rol speelt in de groei van vlottende waterranonkel.

Eerder (Van Pul, 2018) werd al aangetoond dat bij lage bicarbonaatconcentraties, zoals gevonden worden in de Tongelreep, Swalm en Keersop, de groei van vlottende waterranonkel kan worden beperkt door koolstof. Dat dit in het veld een bepalende rol speelt, is nog steeds een belangrijke hypothese. Van de hypothesen voor de achteruitgang van vlottende waterranonkel in de Swalm (Loeb et al., 2017) door waterkwaliteitsveranderingen blijven dus over:

- een te lage CO_2 -concentratie in het beekwater door stijging van de pH. Door de van nature vrij lage HCO_3^- -concentratie in de beek is de plant afhankelijk van CO_2 ;
- limitatie door fosfor door de lage fosfaatconcentratie in het beekwater of in het poriewater van de beekbodem en de verhoogde verhouding tussen N en P in het beekwater; ook al waren de planten in het experiment duidelijk door stikstof gelimiteerd, in het veld is dit mogelijk niet zo;
- de oorzaak ligt in een ander factor, zoals vraat, herbicidegebruik of piekbelastingen.

Voor de selectie van de herintroductiepijlot in de Tongelreep, Keersop en Beekloop is het niet noodzakelijk om rekening te houden met de ammoniumbeschikbaarheid. Door de lage bicarbonaatconcentratie in deze beken, dient wel gezocht te worden naar plekken met een hogere beschikbaarheid van koolstof. Dit zijn bijvoorbeeld plekken waar er meer aanvoer van CO_2 is door opwellen van grondwater. Vaak gaat dit overigens hand-in-hand met een hogere beschikbaarheid van fosfaat en ammonium. Daarnaast dient natuurlijk rekening gehouden te worden met andere standplaatsvereisten, zoals het ontbreken van beschaduwing, de aanwezigheid van stroming en een zandig/grindig substraat.

3. HERINTRODUCTIE

Locaties

Waterschap de Dommel heeft in de Beekloop, de Tongelreep en de Keersop enkele locaties aangewezen die potentieel geschikt zijn voor de herintroductie van vlottende waterranonkel. Dit zijn trajecten waar de beken een flinke stroomsnelheid hebben, en er niet gemaaid of geschoond wordt. Voor deze trajecten stond een herinrichting gepland. Om te voorkomen dat geherintroduceerde planten bij de herinrichting weer zouden verdwijnen, moest de herintroductie na de herinrichting plaatsvinden. In 2021 bleek alleen de Beekloop heringericht. In de eerste helft van 2021 is daar standplaatsonderzoek uitgevoerd en zijn stekken geherintroduceerd. In de tweede helft van 2022 was ook de herinrichting van de Tongelreep gereed. In 2022 is er daarom op 5 locaties in de Tongelreep standplaatsonderzoek uitgevoerd, waarna er planten zijn geherintroduceerd. De herinrichting in de Keersop was in 2022 nog niet afgerond.

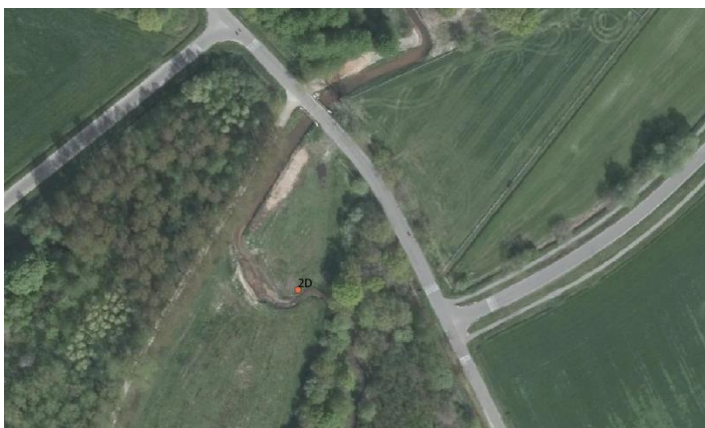
Beekloop

Standplaatsonderzoek Beekloop

In de Beekloop heeft er herinrichting plaatsgevonden ter hoogte van Westerhoven. Hier is op twee locaties de geschiktheid voor introductie van vlottende waterranonkel beoordeeld. De eerste locatie lag ten zuiden van het bosje, net ten noorden van de brug. De tweede locatie lag ten noorden van het bosje; tussen het bosje en de Borkelse Dijk. Op 28 april 2021 is de Beekloop bezocht en bemonsterd.



Figuur 10. Locatie 1 in de Beekloop.



Figuur 11. Locatie 2 in de Beekloop.

Bij locaties 1B en 2D werden oppervlaktewatermonsters genomen, en bodemonsters van de bovenste 10 cm van het onderwatersediment. Uit dit sediment werd in het laboratorium poriewater onttrokken. Resultaten van de analyses van poriewater, oppervlaktewater en sediment staan weergegeven in de bijlagen.

Uit de analyses bleek dat het oppervlaktewater enigszins gebufferd was, maar met $1800 \mu\text{mol/l}$ is de bicarbonaatconcentratie in vergelijking met de gemiddelde concentratie op groeiplaatsen van vlottende waterranonkel vrij laag. Daartegenover staat dat de CO_2 -concentratie van het water van rond $300 \mu\text{mol/l}$ wel voldoende is voor de planten om CO_2 te kunnen gebruiken als C-bron. De ammoniumconcentratie van het oppervlaktewater is zeer laag. Er is echter wel wat nitraat aanwezig ($45 \mu\text{mol/l}$; $0,8 \text{ mg N/l}$), wat blijkens het experiment in de kassen ook voldoet als stikstofbron, hoewel de concentratie in vergelijking met de referentiegroeiplaatsen ($266 \mu\text{mol/l}$) vrij laag is. Dit geldt ook voor anorganisch stikstof in het sediment en fosfor in het poriewater: de concentraties waren lager dan gemiddeld op de referentiegroeiplaatsen. Er werd besloten om toch vlottende waterranonkel te herintroduceren op een aantal open en snelstromende plekken in de beek.

Opkweken donormateriaal vlottende waterranonkel voor Beekloop

Op 28 mei 2021 is materiaal van vlottende waterranonkel uit de Tongelreep bij Eindhoven gehaald. Dit materiaal is gestekt en opgekweekt in de kas van de Radbouduniversiteit Nijmegen.



Figuur 12. vlottende waterranonkel in de Tongelreep bij Eindhoven eind april 2021.

Herintroductie Beekloop

Opgekweekte stekken uit de Tongelreep werden kort voor herintroductie met hun wortels in kleine, biologisch afbreekbare zakken geplaatst. De zakken werden gevuld met het zand van de verzamelplaats in de Tongelreep, en verzaaid met grind. De zakjes werden dichtgebonden met afbreekbaar touw (figuur 13).



Figuur 13. Kweek van stekken in de kas (links) en stekken in afbreekbare zakjes (rechts).

Op 27 juli 2021 werden op vijf van tevoren geselecteerde plekken in de Beekloop kooien gebouwd (figuur 14). Dit was vrij kort na het hoog water van juli 2021, toen het waterpeil weliswaar gezakt was, maar het water nog steeds troebel was. Op plekken waar veel waterplanten aanwezig waren (kleine waterrepe, stomphoekig sterrenkroos en watermunt) werden deze zo veel mogelijk verwijderd. De kooien bestonden uit vier palen, die met behulp van een pneumatische palenrammer ongeveer 30 cm de beekbodem in werden geslagen, en werden aan de zijden en bovenkant voorzien van kippengaas met een maaswijdte van 0,65 cm. In deze kooien werden elk 15 zakjes met vlottende waterranonkel geplaatst. De kooien moesten voorkomen dat eventueel losgeslagen planten weg zouden drijven. Daarnaast beschermen kooien de planten tegen graas door bijvoorbeeld watervogels.



Figuur 14. Bouw van de kooien in de Beekloop (links) en het inzetten van de stekken in zakjes in de Beekloop (rechts).

Vervolgmonitoring Beekloop

In oktober 2021 werden de kooien in de Beekloop opnieuw bezocht. Het water was toen helderder dan eind juli 2021. Aan de kooien waren veel waterplanten en ander materiaal blijven hangen. Door de stroming was er zand verplaatst en waren er openingen ontstaan tussen de bodem en het gaas. In de kooien werden kleine vissen aangetroffen. Deze werden verwijderd. In vier van de vijf kooien werden de ingebrachte zakjes aangetroffen, meestal tegen het stroomafwaartse deel van de kooi aan. Niet in alle zakjes werden stekken aangetroffen. In sommige staken nog wel groene delen uit het zakje, of werden wortels door het zakje aangetroffen (figuur 15). De stekken waren veel korter dan tijdens het uitzetten. In een ander deel van de zakjes ontbraken de stekken. Het is niet duidelijk of de bovengrondse delen aan het afsterven waren doordat het laat in het seizoen was, of dat de korte of ontbrekende stekken wijzen op de effecten van vraat binnen de kooien.



Figuur 15. Doorworteld zakje (links) en overblijven een zakje met overblijfselen van een stek (rechts) in oktober 2021.

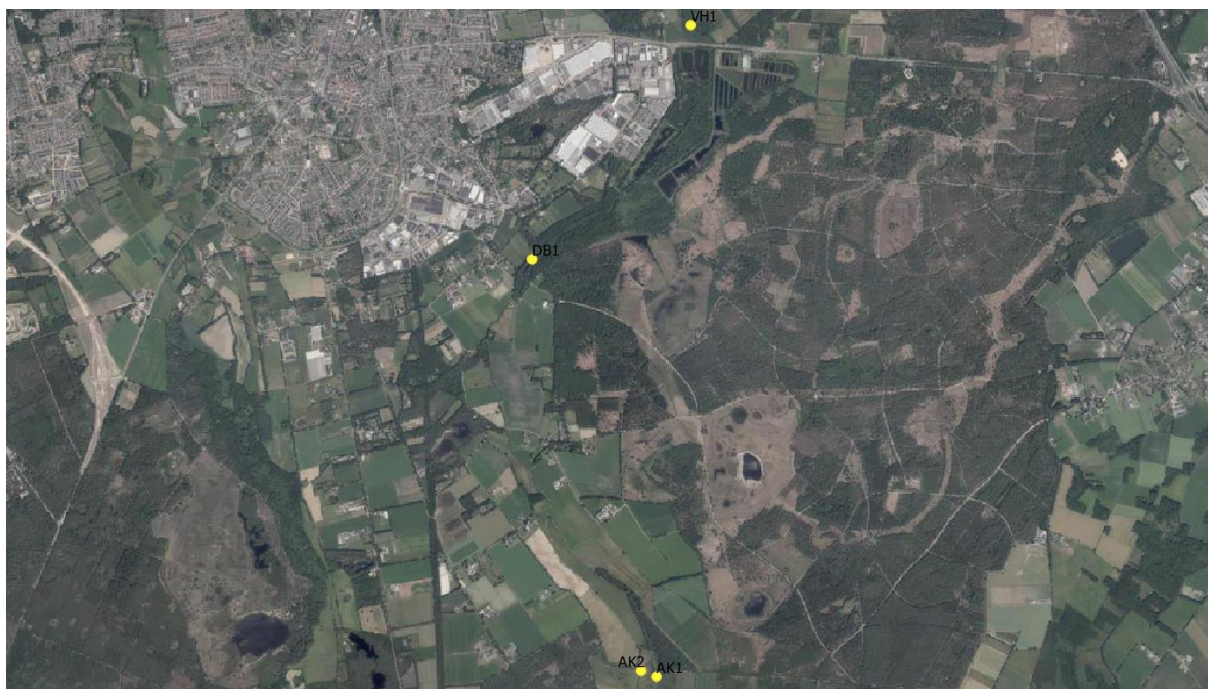
Op 30 maart 2022 werden de kooien voor de tweede maal bezocht. Drie van de vijf kooien bleken toen weggedreven te zijn (figuur 16). Waarschijnlijk zijn deze kooien door een piekafvoer in de winter van 2022 weggedreven. Twee van de drie kooien werden teruggevonden en uit de Beekloop verwijderd. De staande kooien werden van vegetatie die aan de kooi was blijven hangen, ontdaan. In het gaas van de kooien bleken kleine vissen te zijn blijven zitten. In de kooien, en op de plekken waar de weggespoelde kooien hadden gestaan, werd gezocht naar de uitgezette stekken van vlottende waterranonkel. Er werden slechts enkele zakjes met zand en grind teruggevonden. In geen van de zakjes waren nog stekken aanwezig.



Figuur 16. Weggedreven en nog staande kooi in de beekloop in de Beekloop in maart 2022.

Tongelreep

Standplaatsonderzoek Tongelreep



Figuur 17. Ligging van de onderzochte potentiële herintroductielocaties in de Tongelreep.

De Tongelreep werd op drie plaatsen bemonsterd: op twee plekken net ten noorden van Achelse Kluis (AK1 en AK2), bij de heringerichte locatie bij Drie Bruggen/Bruggerhuizen (DB1), en de Valkenhorst, net ten noorden van de N396 (VH1), om te beoordelen of de locaties geschikt zouden zijn voor herintroductie (figuur 17).

AK1



Figuur 18. Locatie AK1.

Locatie AK1 (figuur 18) werd gekenmerkt door een slibbige, sterk gereduceerde bodem (zie Bijlage Resultaten metingen herintroductie). Het water was hier troebel en vrij diep, waardoor er geen bodemzicht was. De locatie lijkt hiermee niet geschikt voor de herintroductie van vlottende waterranonkel.

AK2



Figuur 19. Locatie AK2.

Locatie AK2 (figuur 19) was zandiger en minder diep, zodat er ook sprake was van bodemzicht. Het bodemvocht van deze locatie week af van het oppervlaktewatermonster dat in het gebied, bij AK1, genomen werd. Het was minder rijk aan onder ander chloride, natrium en kalium, en bevatte enig ammonium, terwijl het beekwater vooral nitraat bevatte. Dit kan erop wijzen dat er hier sprake is van kwel. Dit kan gunstig zijn voor vlottende waterranonkel voor de aanvoer van onder andere nutriënten. Het poriewater bevat ongeveer evenveel anorganisch koolstof als het oppervlaktewater hier (circa 1800 $\mu\text{mol/l}$), wat waarschijnlijk net voldoende is voor vlottende waterranonkel. De locatie lijkt hiermee geschikt voor herintroductie.

DB1



Figuur 20. Locatie DB1.

Het traject net ten noorden van de Budelse Baan was recent heringericht (figuur 20). Een open plek in het bos, waar het water snel stroomde, werd onderzocht op geschiktheid. De bodem was hier zandig. Het oppervlaktewater had dezelfde karakteristieken als bij Achelse kluis, maar het poriewater week hier vanaf: het bevatte zeer veel anorganisch koolstof: ongeveer 1600 $\mu\text{mol/l}$ CO_2 en 3500 $\mu\text{mol/l}$ HCO_3 . Ook was het poriewater vrij rijk aan ijzer, fosfor en ammonium, wat in deze organische-stofarme bodem wijst op aanvoer van kwelwater. De locatie lijkt chemisch zeer geschikt voor vlottende waterranonkel. Enige risico wordt hier gevormd door het zand dat voor zandsuppletie net naast deze potentiële groeiplaats ligt en met een hoge afvoer hier door de beek meegenomen zal worden.

VH1



Figuur 21. Locatie VH1.

Op de Valkenhorst werd op een open plek in een bocht met snelstromend water een mogelijke vierde locatie bemonsterd (figuur 21). De bodem was zandig, het water helder en er waren diepere en minder diepe delen aanwezig. De samenstelling van de bodem en het poriewater, die veel lagere concentraties aan opgeloste mineralen hadden dan het oppervlaktewater, gaven aan dat er hier geen sprake was van vrij mineralenarm kwelwater. Hierdoor bevatte het water erg weinig anorganisch koolstof ($1000 \mu\text{mol/l}$); nog minder dan in het oppervlaktewater aanwezig was. Hierdoor lijkt deze locatie minder geschikt voor herintroductie.

Opkweken donormateriaal vlottende waterranonkel voor Tongelreep

Op 25 april 2022 is materiaal van vlottende waterranonkel uit de Tongelreep bij Eindhoven gehaald. Daarnaast is bodem verzameld op de gekozen herintroductielocaties (AK2 en DB1). Het plantenmateriaal is gestekt en opgekweekt op deze bodems in de kas van de Radbouduniversiteit Nijmegen. Na kweek in de kas werd plantmateriaal in biologisch afbreekbare zakken gezet en daarna verder opgekweekt in diepe, ingegraven bakken op het buitenterrein van de kas. In deze zakken werd materiaal van locatie AK2, respectievelijk DB1 gedaan, samen met grind om de zakken te verzwaren. Na enkele weken begonnen er al wortels door de zakken heen te groeien (figuur 22).



Figuur 22. Kweek van vlottende waterranonkel in de kas (links), overzetten van planten in afbreekbare zakken, en verdere kweek in buitenbakken.

Uitzetten vlottende waterranonkel



Figuur 23. Locatie AK2 (links) en ingezette planten gezien via een kijkbuis (rechts).

Op locatie AK2 werden drie groepjes gemaakt van vijf zakken met vlottende waterranonkel (figuur 23). Op locatie DB1 werden twee groepen gemaakt: één van zes zakken stroomafwaarts van de zandsuppletie en één van 7 zakken stroomopwaarts van de zandsuppletie (figuur 24). Vanwege de negatieve ervaringen met kooien in de Beekloop werden hier dit keer geen kooien gebruikt.



Figuur 24. Uitgezette zakken met vlottende waterranonkel in de beek (links) en de zakken met vlottende waterranonkel die al bij uitzetten door de zakken wortelt.

Vervolgmonitoring Tongelreep

In september 2022 zijn de herintroductielocaties bezocht voor evaluatie van de groei en verspreiding en voor de bemonstering van het plantmateriaal. Hierbij is plantmateriaal bemonsterd om de chemische samenstelling te bepalen.

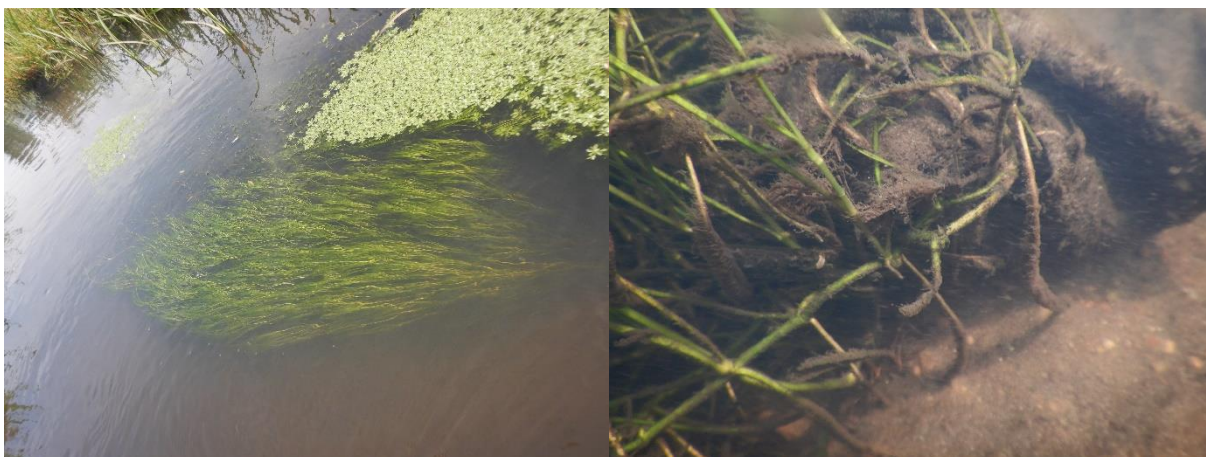


Figuur 25. De locaties waar vlotwende waterranonkel is uitgezet (groen) en waar verspreiding is waargenomen.

AK2

Bij locatie AK2 was de waterstand laag door de warme en droge zomer. Daardoor was er vrij weinig stroming. Op deze locatie waren oorspronkelijk 3 groepen met vijf zakjes per groep aangeplant. De planten zagen er gezond uit en er had duidelijk groei plaatsgevonden in zowel de grootte van de bos als het oppervlakte van de 'voet' van de bos (figuur 26, links). Ook naast de oorspronkelijk geplaatste zakjes kwamen nu spruiten uit de bodem (figuur 26, rechts).

Naast de drie oorspronkelijke geïntrodeceerde groepen zijn een stukje stroomafwaarts nog twee losse plukjes met vlotwende waterranonkel gevonden (figuur 25). Deze plukjes zaten stevig in de bodem geworteld en zagen er gezond uit.



Figuur 26. vlottende waterranonkel bij de Achelse Kluis

DB1

Bij locatie DB1 stond het water extreem laag. Hierdoor was er nauwelijks stroming in het water. Het groepje dat net stroomopwaarts van de zandsuppletie lag, was voor een groot deel drooggevalen (figuur 27, links). Het grootste deel van het plantenmateriaal zag er nog groen en gezond uit, maar er was geen duidelijke groei te zien. Het groepje dat stroomafwaarts van de zandsuppletie lag, lag nog volledig onder water. Deze planten zagen er echter minder groen en gezond uit. De planten waren bedekt door een laag slib en na schoonmaken bleek een groot deel van het plantmateriaal bruin te zijn (figuur 27, rechts).

Ook bij deze locatie is stroom afwaarts een nieuw plukje aangetroffen (figuur 25). Deze leek in eerste instantie achter de neergelegde takken te zijn blijven hangen in de stroming van de binnenbocht van de beek, waarna het daar is vast geworteld. Het plukje zat stevig vast en zag er gezond uit.



Figuur 27. De twee groepen bij Drie Bruggen.

De chemische samenstelling van planten kan veel vertellen over de concentraties aan voedingsstoffen die ze tot hun beschikking hebben en de verhouding tussen deze voedingsstoffen. In opzet zouden de concentraties in het plantmateriaal tussen de verschillende beken met herintroductie met elkaar vergeleken worden. Doordat de planten in de Beekloop verdwenen waren en de Keersop nog niet heringericht was, is er alleen materiaal uit de Tongelreep verzameld. Concentraties in de planten verschilden niet sterk tussen de verschillende locaties. Ten opzichte van het opgekweekte materiaal in de kas was de stikstofconcentratie in de plant sterk gestegen -het meest in Achelse Kluis- en de C/N-verhouding daardoor gedaald. Ook de concentraties kalium, zwavel en fosfor waren hoger, terwijl de concentraties calcium en magnesium juist lager waren. Ook de ijzerconcentratie in het veld was hoger. Bij Drie Bruggen was er echter ook sprake van afzetting van ijzerrijk slib op de bladen, waarbij mogelijk na afspoelen hier toch nog wat van in het analysemateriaal terecht is gekomen. Hierdoor zijn mogelijk ook de concentraties van fosfor en mangaan hier wat hoger in de metingen. De C/N- en N/P-verhoudingen van het plantmateriaal uit de Tongelreep geven aan dat meer stikstof beschikbaar was ten opzichte van koolstof en fosfor dan in het experiment in de kas.

Conclusies ten aanzien van de manier van herintroductie

- De ingezette kooien beschermen niet afdoende tegen graas. Dit bleek uit de teruggevonden ingekorte stekken in oktober. De kooien werken wel tegen graas door watervogels, maar niet tegen vraat door kleine vissen en macrofauna.
- Aan de ingezette kooien blijven veel waterplanten hangen. Ook in de kooien groeiden deze. Dit zorgt voor beschaduwing van de ingezette waterranonkels, en voor luwte, waardoor er ook vegetatie in de kooi kan groeien die minder stromingsminnend is. De luwte en de waterplanten trekken op hun beurt weer fauna aan, waardoor de graasdruk toe kan nemen.
- Het is niet afdoende om palen enkele decimeters in de beekbodem te slaan. Zelfs in een kleine beek als de Beekloop kunnen palen dan op komen drijven tijdens een piekafvoer of doordat de palen ook zelf zorgen voor een uitslijtingseffect, doordat ze de stroming breken en er rond de palen meer zand erodeert.
- Kleine stekken krijgen weinig licht in perioden waarin het beekwater troebel is. Dit kan nadelig zijn voor de groei en vestiging.
- De biologisch afbreekbare zakjes met zand en grind blijven (redelijk) goed op hun plek liggen. Om de vestiging van de stekken te bevorderen, is het beter om de doorworteling van de zakken te bevorderen voor herintroductie, zodat de stekken zich sneller in de beekbodem kunnen hechten.
- De keuze voor het uitzetten van zakjes met grotere kluiten en langere takken bleek goed te werken wat betreft de stevigheid van de planten. Het plaatsen van de zakjes in een V-vorm blijkt niet perse nodig te zijn geweest in dit geval, aangezien ook de voorste zakjes goed aangeslagen en niet beschadigd waren.
- Het acclimatiseren van de zakjes met planten in grote bakken buiten, enkele weken voordat de herintroductie plaatsvindt, blijkt goed te werken. De wortels hebben hierdoor tijd gehad al door het zakje heen te groeien, waardoor de planten sneller houvast hebben in de beek. Daarnaast zijn de vertakkingen erg dun en fragiel als ze in de kas groeien. Na twee weken in een grote bak buiten waren de takjes voelbaar dikker en steviger.
- De biologisch afbreekbare zakjes met zand en grind blijven (redelijk) goed op hun plek liggen, ook zonder de kooien. Het gebruik van een tweede zakje als 'deksel' op het eerste zakje heeft ook goed geholpen om het zand vast te houden (werkt beter dan met touw dichtknopen).

Voor herintroductie in de toekomst zal gekozen kunnen worden voor een vergelijkbare methode. Het maken van minder, maar tegelijkertijd grotere kluiten resulteerde in stevigere planten. Daarnaast was dit minder arbeidsintensief dan het maken van veel kleine stekjes. Ook het acclimatiseren van de stekken voor de herintroductie is een goede manier om de planten beter te laten aanslaan in een beek. Er wordt daarom geadviseerd de herintroductie in de beekloop op deze manier te herhalen.

4. SYNTHESE

Met de resultaten van het experiment dat uitgevoerd is met verschillende verhoudingen nitraat en ammonium is de hypothese ontkracht dat de verhouding tussen deze twee stikstofvormen een oorzaak zou kunnen zijn van de achteruitgang van vlottende waterranonkel. In tegenstelling tot wat bekend was uit wetenschappelijke literatuur (Melzer & Kaiser, 1985) blijkt vlottende waterranonkel goed te groeien met nitraat als stikstofbron, mits de concentratie hoog genoeg is. Dit is een aanwijzing dat de soort hiervoor weldegelijk over voldoende nitraatreductaseactiviteit beschikt. Ook heeft de aanwezigheid van veel nitraat ten opzichte van ammonium geen groeibeperkend effect, zoals dat wel voor rossig fonteinkruid werd gevonden (Boedeltje et al., 2005). Voor het soortbeleid betekent dit dus dat er niet actief gestuurd hoeft te worden op de verhouding tussen nitraat en ammonium in het beekwater.

Met de herintroductiepilots is een goede vorm gevonden om vlottende waterranonkel te herintroduceren. Vlottende waterranonkel is een makkelijk te stekken plant. Binnen enkele weken groeien er uit gestekte scheuten weer wortels en zijscheuten. Hierdoor is het mogelijk om uit een relatief kleine populatie weer veel plantmateriaal voor herintroductie te verkrijgen. Het gebruik van kooien tegen vraat van grotere organismen wordt afgeraden, omdat er aan deze kooien veel materiaal blijft hangen, waardoor de kooien voor een luw klimaat zorgen. Dit zorgt voor competitie met waterplanten van een luwer milieu en voor beschaduwing; omstandigheden die juist niet gunstig zijn voor vlottende waterranonkel. Ook voorkomen dergelijke graaskooien geen vraat door wat kleinere organismen, die ook een rol kunnen spelen in de begrazing van vlottende waterranonkel (Van der Aa, 2010). Mogelijk leidt de beschutting van dergelijke kooien juist zelfs tot een hogere graasdruk. Het is daarom beter de planten zonder kooi te herintroduceren, met al een flinke wortelmasse. Deze moet dan wel afdoende verankerd worden in de beekbodem, bijvoorbeeld met zakken gevuld met zand en grind. Ook de keuze om met grotere en langere stekken te werken en deze in groepjes bijeen te zetten, lijkt goed te werken.

Vlottende waterranonkel, en daarmee het habitattype Beken en rivieren met waterplanten (waterranonkels), staat nog altijd sterk onder druk. In de Tongelreep, de beek in Noord-Brabant met de grootste verspreiding van vlottende waterranonkel, nam in de zomer van 2022, op het moment dat de planten voor herintroductie werden opgekweekt in de kas, de verspreiding sterk af (med. I. van der Laan, Waterschap De Dommel). Dit zou samenhangen kunnen hebben met een calamiteit die in die zomer plaatsvond (med. I. van der Laan, Waterschap De Dommel). Ook in andere beken in Limburg en Noord-Brabant lijkt de trend overwegend negatief, hoewel aantallen planten tussen de jaren sterk kunnen schommelen. Hiervoor zijn verschillende oorzaken denkbaar. Dit kunnen calamiteiten zijn als plotselinge belastingen met stoffen als herbiciden of piekafvoeren -waarbij aangetekend moet worden dat een toename van piekafvoeren ook als trend kunnen worden gezien (Van der Aa, 2010; Verschoor & Van Velthuisen, 2012)-, maar ook langdurige veranderingen zoals meer beschaduwing van de beek door bomen (Van Buggenum & Hermans, 2012; Verschoor & Van Velthuisen, 2012) en slibophoping en verhoogde turbiditeit in de beek waardoor het doorzicht beperkt wordt (Spink, 1992; Van der Aa, 2010; Verschoor & Van Velthuisen, 2012; Loeb et al., 2012). Dit kan bijvoorbeeld het gevolg zijn van stuwing in de beek (Provincie Limburg, 2021). Ook waterkwaliteitsveranderingen kunnen een rol

spelen. In veel beken met een beperkte bicarbonaatconcentratie zoals in de Swalm is de pH omhoog gegaan (Van der Laan, 2014). Dit kan leiden tot een koolstofgebrek in de fase dat de planten nog geen drijfbladeren hebben (Van Pul, 2018), doordat er naast weinig bicarbonaat ook weinig CO₂ meer beschikbaar is. Dit speelt niet in beken met hoge bicarbonaatconcentraties als de Geul. Daarnaast zou een verandering van N en P in het oppervlaktewater kunnen zorgen voor een grotere onbalans tussen deze nutriënten (Loeb et al., 2017). Ook hebben de planten waarschijnlijk behoefte aan een relatief hoge beschikbaarheid aan nutriënten (N en P) blijkens referentiemetingen in andere beken in Nederland (Loeb et al., 2012), die in dergelijke snelstromende beken niet tot algenbloei leidt, in tegenstelling tot in minder snel stromende wateren. Het zou kunnen zijn dat een afname aan N en P in de waterlaag en de bodem zou kunnen resulteren in een verminderde groei van vlottende waterranonkel. De achteruitgang van vlottende waterranonkel blijft vragen om zowel onderzoek naar de oorzaken, als naar herintroductie van de soort. Hierbij kan er van de herintroductie ook meer geleerd worden over de standplaatsvereisten en mogelijke lokale oorzaken van achteruitgang. Om de belangrijkste oorzaak te achterhalen, zou er een veldproef uitgevoerd moeten worden, waarin gecontroleerd knelpunt-factoren kunnen worden uitgesloten (Loeb et al., 2017; Provincie Limburg, 2018). Omdat de knelpunten kunnen verschillen, is er per beek een aparte knelpuntenanalyse nodig.

5. DANKWOORD

Wij willen Iris van der Laan van Waterschap De Dommel bedanken voor haar betrokkenheid bij het project en voor de hulp bij het aanwijzen van geschikte locaties voor herintroductie. Wij danken daarnaast Waterschap De Dommel, Waterschap Limburg, de Provincie Noord-Brabant en de Provincie Limburg voor hun toestemming om plant- en bodemmateriaal uit de Tongelreep en de Swalm te verzamelen. Daarnaast dank aan Koos Jansen voor het beschikbaar stellen van ruimte in de kas van de Radbouduniversiteit voor dit experiment, en aan Stijn Wijkmans voor de werkzaamheden aan dit experiment gedurende zijn stage.

6. LITERATUUR

- Bal, K., N. Brion, V. Woulé-Ebongué, J. Schoelynck, A. Jooste, C. Barrón, F. Dehairs, P. Meire & T.J. Bouma, 2013. Influence of hydraulics on the uptake of ammonium by two freshwater plants. *Freshwater Biology* 58: 2452-2463.
- Bodner, M., 1994. Inorganic carbon source for photosynthesis in the aquatic macrophytes *Potamogeton natans* and *Ranunculus fluitans*. *Aquatic Botany* 48: 109-120.
- Boedeltje, G., A.J.P. Smolders & J.G.M. Roelofs, 2005. Combined effects of water column nitrate enrichment, sediment type and irradiance on growth and foliar nutrient concentrations of *Potamogeton alpinus*. *Freshwater Biology* 50: 1537-1547.
- Van Buggenum, H.J.M. & J.T. Hermans. De Roer als groeiplaats van waterplanten. Met bijzondere aandacht voor de vlottende waterranonkel. *Natuurhistorisch Maandblad* 102: 122-126.
- Demars, B.O.L. & M. Trémolières, 2009. Aquatic macrophytes as bioindicators of carbon dioxide in groundwater fed rivers. *Science of the total environment* 407: 4752-4763.
- Loeb, R., F. Smolders & J. Roelofs, 2012. Oriënterend onderzoek naar de anorganische waterchemie in de Swalm in relatie tot de achteruitgang van Vlottende waterranonkel. Onderzoekcentrum B-WARE, Nijmegen.
- Loeb, R., A. Smolders & J. Roelofs, 2017. Achteruitgang van vlottende waterranonkel in de Swalm. RP-16.119.17.14. Onderzoekcentrum B-WARE, Nijmegen.

- Loeb, R., F. Smolders, G. Arts, D. Belgers, G. Roskam, R. Kuiperij, M. Poelen & R. Verdonschot, 2021. Grip op Beekslib - sturende rol van beeksediment op de kwaliteit van beeklevensgemeenschappen. Rapport nummer 2021/OBN250-BE, Kennisnetwerk OBN, Driebergen.
- Melzer, A. & R. Kaiser, 1986. Seasonal variations in nitrate content, total nitrogen, and nitrate reductase activities of macrophytes from a chalk stream in Upper Ba-varia. *Oecologia* 69: 606-611.
- Provincie Limburg, 2018. Natura 2000-beheerplan Swalmdal 2018-2023. Maastricht.
- Provincie Limburg, 2021. Ontwerp Hoofdrapport Geuldal (157) 2021-2027. Provincie Limburg, Maastricht.
- Spink, A.J., K.J. Murphy, S.M. Smith & D.F. Westlake, 1993. Effects of eutrophication on *Ranunculus* and *Potamogeton*. *Journal of Aquatic Plant Management* 31: 113-117.
- Van der Aa, B.W.L., 2010. Een onderzoek naar de factoren die de abundantie en verspreiding van *Ranunculus fluitans* in het Nederlandse deel van de Swalm beïnvloeden. Waterschap Peel en Maasvallei, Venlo.
- Van der Laan, I., 2014. Macrofyten in de Swalm. Vergelijkend watervegetatie-onderzoek met andere wateren in Nederland en grensoverschrijdende wateren. University of Applied Sciences/Waterschap Peel en Maasvallei.
- Van Pul, 2018. Veroorzaakt pH-stijging in Nederlandse beken en laagveenplassen koolstoflimitatie bij ondergedoken waterplanten? Stagerapport HAS Den Bosch/Onderzoekcentrum B-WARE, Den Bosch/Nijmegen.
- Verschoor, G. & O. van Velthuisen, 2012. De Vlottende waterranonkel in de Geul. Onderzoek naar voorkomen en kansen voor uitbreiding. Wateropleiding Nieuwegein.

7. BIJLAGE METHODIEK CHEMISCHE ANALYSES

Bodemanalyses

Vochtpercentage, organische-stofconcentratie en bodemdichtheid

Het vochtpercentage van het verse bodemmateriaal werd via het vochtverlies bepaald. Dit gebeurde door in duplo bodemmateriaal te drogen gedurende 24 uur bij 70°C. Uit het vaste volume van deze bakjes werd de bodemdichtheid berekend. De fractie organische stof in de bodem werd berekend door het gloeiverlies te bepalen. Hiertoe werd het bodemmateriaal, na drogen, gedurende 4 uur verast in een oven bij 550°C. Het gloeiverlies komt goed overeen met de fractie organisch materiaal in de bodem.

Bodemdestructie

Door de bodem te destrueren (ontsluiten) is het mogelijk de totale concentratie van bepaalde elementen/nutriënten in het bodemmateriaal te bepalen. Hiervoor werd 200 mg fijngemalen gedroogde bodem afgewogen in teflon destructievaatjes. Aan het bodemmateriaal werd 4 ml geconcentreerd salpeterzuur (HNO_3 , 65%) en 1 ml waterstofperoxide (H_2O_2 , 30%) toegevoegd en geplaatst in een destructiemagnetron (Milestone microwave type mls 1200 mega). De monsters werden vervolgens gedestruerd in gesloten teflon vaatjes en na afkoelen werden het destruaat nauwkeurig overgebracht en aangevuld tot 100 ml met milliQ water. De monsters werden in polyethyleenpotjes bij 4 °C bewaard voor verdere analyse.

Zoutextractie (NaCl-extractie)

Bij een natriumchloride(zout)-extractie worden aan het bodemadsorptiecomplex gebonden kationen verdrongen door natrium. Met deze extractie kan onder andere de pH, ammonium- en nitraatbeschikbaarheid van de bodem bepaald worden en de concentratie kationen aan het kationadsorptiecomplex van de bodem. Voor een zoutextractie werd aan 17,5 gram verse bodem 50 ml 0,2 M natriumchloride (NaCl) toegevoegd. Gedurende 60 minuten werden de monsters uitgeschud op een schudmachine (100 r.p.m.) waarna de pH werd gemeten. Het supernatant werd onder vacuüm verzameld met behulp van teflon rhizons en bewaard bij 4°C tot verdere analyse.

Wateranalyses

Poriewater werd aan de waterbodems op het lab onttrokken met behulp van rhizonsamplers die via een passend gat in de deksel van de container werden ingebracht.

Voor de analyse van vrij (waterstof)sulfide werd anaeroob aan een afgesloten vacuüm gezogen glazen buisje van 12 ml met 0,5 ml 1 M HCl ongeveer 5 ml poriewater toegevoegd. De sulfideconcentratie in het poriewater werd bepaald door de H_2S -concentratie in headspace van de gasbuizen te meten met een GC-MS (Agilent) en deze concentratie terug te rekenen naar de concentratie in het bemonsterde poriewater.

De pH van het grond-, porie- en oppervlaktewater werd gemeten met een standaard Ag/AgCl-elektrode verbonden met een radiometer (Copenhagen, type TIM840). De hoeveelheid opgelost anorganisch koolstof (TIC, som van CO_2 en HCO_3^-) werd bepaald met behulp van infrarood gasanalyse (ABB Advance Optima IRGA). De concentraties CO_2 en HCO_3^- werden met behulp van het pH-evenwicht berekend uit de concentraties totaal anorganisch koolstof. De alkaliniteit v het oppervlaktewater werd bepaald door een deel van het monster te titreren met verdund zoutzuur tot pH 4,2. De monsters

voor de autoanalyser werden bewaard bij een temperatuur van -20 °C tot aan de analyse. De monsters voor de ICP werden aangezuurd voor analyse en gekoeld bewaard bij 4 °C.

Biomassa-analyses

De biomassa werd minimaal 48 uur gedroogd bij 60 °C, waarna het drooggewicht werd bepaald. De biomassa van de vegetatie werd verder op eenzelfde manier verwerkt als de bodem voor een totaal-destructie en een C/N-analyse. Voor de analyse van de totale hoeveelheid koolstof en stikstof werd een deel van het verzamelde plantmateriaal fijngemalen in een kogelmaler. Afhankelijk van het soortelijk gewicht van het materiaal en de verwachte concentraties, werd een kleine hoeveelheid (3-40 mg) van het gemalen materiaal in een tinnen container afgewogen, waarna het in een CNS-elementenalyzer (EA NA 1500 en EA100 van Carlo Erba-Thermo Fisher Scientific) werd geanalyseerd.

Chemische analyses

De analyses van calcium (Ca), magnesium (Mg), ijzer (Fe), aluminium (Al), silicium (Si), mangaan (Mn), fosfor (P), zwavel (S), en zink (Zn) werden uitgevoerd met behulp van Inductief Gekoppeld Plasma - Optische Emissie Spectrometrie (ARCOS MV, Spectro). De concentraties nitraat (NO_3^-) en ammonium (NH_4^+) en fosfaat (PO_4^{3-}) werden colorimetrisch bepaald met een Seal auto-analyser III met behulp van resp. salicylaatreagens, hydrazinesulfaat of ammoniummolybdaat en ascorbinezuur.

8. BIJLAGE RESULTATEN METINGEN HERINTRODUCTIE

Tabel 3. Resultaten chemische analyses oppervlaktewater in de Tongelreep en referentiewaarden voor vlottende waterranonkel in Nederland (Loeb et al., 2021).

locatie	AK 1	DB 1	VH 1	referentie
pH	7,32	7,24	7,31	7,84
alk	1,8	1,8	1,7	3,04
turbiditeit	21	15	20	
EGV	399	383	376	387,67
NO3	127	117	95	266
NH4	9	7	6	11
PO4	0	0	1	2,3
Na	1001	984	1029	1011
K	124	119	126	113
Cl	1081	1000	1044	992
CO2	198	244	189	2679
HCO3	1702	1759	1611	87
Al	4	3	3	1
Ca	1224	1217	1146	1729
Fe	34	25	21	8
K	140	152	145	
Mg	311	316	301	344
Mn	3	3	3	2
P	4	3	3	4,9
S	586	566	534	555
Si	129	144	120	175
Zn	0,5	0,3	0,2	1,9

Tabel 4. Resultaten chemische analyses poriewater in de Tongelreep en referentiewaarden voor vlottende waterranonkel in Nederland (Loeb et al., 2021).

locatie	AK 1	AK 2	DB 1	VH 1	referentie
pH	6,53	6,82	6,71	6,39	7
EGV	268	211	445	180	538
NO3	1	2	0	35	84
NH4	562	62	162	104	73
Na	432	414	951	567	997
K	79	24	118	37	160
Cl	241	431	1068	362	989
HCO3	1388	469	1654	501	4373
CO2	1960	1296	3521	505	498
Al	1	1	1	1	1
Ca	659	735	1578	318	1981
Fe	930	167	480	353	77
K	78	35	145	46	224
Mg	102	137	315	56	407
Mn	76	13	36	19	31
P	14	10	21	10	15,4
S	89	175	85	390	413
Si	413	359	399	400	252
Zn	0,6	2,3	1,1	1,2	2

Tabel 5. Organische stof (%), bodemdichtheid (kg/l) en resultaten bodemdestructie (mmol/l bodem) in de Tongelreep inclusief referentiewaarden voor vlottende waterranonkel in Nederland (Loeb et al., 2021).

	AK1	AK2	DB1	VH1	referentie
om%	16	1	1	1	2,8
dichtheid	0,4	1,3	1,4	1,4	1,3
Al	85	74	58	60	114
Ca	26	10	13	10	153
Fe	196	56	50	63	179
K	5	6	4	4	11
Mg	10	8	8	7	53
Mn	10	1	1	1	5
P	28	14	6	7	13
S	22	10	11	10	15
Si	7	13	13	15	17
Zn	3	1	1	1	25

Tabel 6. Resultaten NaCl-extractie ($\mu\text{mol/l}$ bodem) in de Tongelreep inclusief referentiewaarden voor vlottende waterranonkel in Nederland (Loeb et al., 2021).

	AK1	AK2	DB1	VH1	referentie
pH	6,16	6,56	6,35	6,1	7,00
NO ₃ -	3	12	9	10	77
NH ₄ ⁺	1938	253	322	235	240
Al	25	16	25	13	16
Ca	9090	4983	5298	2562	14530
Fe	1121	44	45	223	9
K	932	461	500	401	1097
Mg	791	612	671	332	1963
Mn	2251	275	177	303	201
P	8	6	5	3	10
S	520	430	459	380	1406
Si	537	292	330	273	309
Zn	15	4	10	20	8

Tabel 7. Samenstelling bovengrondse delen geherintroduceerde vlottende waterranonkel in de Tongelreep.

	mmol/kg droge stof														mol/mol	
	Al	Ca	Cl	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	S	Si	Zn	N	C	C/N	N/P
kweek op sediment AK	33	797	2164	38	434	72	11	248	108	70	14	2	1442	30831	21	13
kweek op sediment AK	21	606	2076	31	476	68	7	271	160	62	15	1	1399	32588	23	9
kweek op sediment DB	23	660	2487	17	458	65	4	263	104	66	15	1	1549	32762	21	15
kweek op sediment DB	25	635	3197	20	554	72	4	338	182	67	15	1	1649	32205	20	9
kweek op sediment Eindhoven	8	1181	2572	17	496	73	11	303	153	71	12	1	1571	31980	20	10
plant uit veld AK	32	148	3499	105	701	56	12	328	194	119	12	3	3520	32596	9	18
plant uit veld AK	22	144	4558	99	741	55	6	351	190	109	12	3	3634	33603	9	19

plant uit veld AK	15	139	4747	83	825	57	5	405	202	114	10	3	3848	33470	9	19
plant uit veld DB	17	215	1929	862	624	59	22	247	445	107	26	2	3206	29024	9	7
plant uit veld DB	31	184	1551	1025	536	49	38	217	220	98	41	2	2592	24104	9	12

Tabel 8. Resultaten chemische analyses porie- en oppervlaktewater in de Beekloop en referentiewaarden voor vlottende waterranonkel in Nederland (Loeb et al., 2021).

Type	oppervlaktewater	oppervlaktewater	oppervlaktewater	poriewater	poriewater	poriewater
locatie	1B	2D	referentie	1B	2D	referentie
pH	7,11	7,21	7,84	6,49	6,69	7
alk	1,84	1,805	3,04			
turbiditeit	5,7	5,3				
EGV	407	398	387,67	165	402	538
NO3	46	45	266	3	18	84
NH4	1	1	11	9	7	73
Na	1059	1058	1011	350	1035	997
K	127	129	113	30	133	160
Cl	1126	1115	992	319	1151	989
HCO3	1871	1821	2679	450	1601	4373
CO2	353	271	87	354	797	498
Al	1	1	1	1	0	1
Ca	1203	1188	1729	440	1077	1981
Fe	14	15	8	61	59	77
K	176	173		59	193	224
Mg	308	307	344	120	308	407
Mn	1	1	2	2	8	31
P	1,2	1,0	4,9	3,1	1,9	15,4
S	654	659	555	286	715	413
Si	81	84	175	224	129	252
Zn	0,3	0,2	1,9	0,8	1,0	2

Tabel 9. Organische stof (%), bodemdichtheid (kg/l) en resultaten bodemdestructie (mmol/l bodem) in de Beekloop inclusief referentiewaarden voor vlottende waterranonkel in Nederland (Loeb et al., 2021).

	1B	2D	referentie
om%	2,9	0,4	2,8
dichtheid	1,5	1,7	1,3
Al	152	74	114
Ca	19	9	153
Fe	58	78	179
K	11	5	11
Mg	35	17	53
Mn	1	1	5
P	3	3	13
S	11	1	15
Si	36	37	17
Zn	0	0	25

Tabel 10. Resultaten NaCl-extractie ($\mu\text{mol/l}$ bodem) in de Beekloop inclusief referentiewaarden voor vlottende waterranonkel in Nederland (Loeb et al., 2021).

	1B	2D	referentie
pH	5,64	6,29	7,00
NO ₃ -	2	8	77
NH ₄ ⁺	54	49	240
Al	3	2	16
Ca	6002	4442	14530
Fe	3	0	9
K	553	560	1097
Mg	1115	898	1963
Mn	23	16	201
P	0	0	10
S	376	531	1406
Si	277	234	309
Zn	2	3	8

B
ware

www.b-ware.eu