

# Risico's van cyanotoxines voor het aquatisch ecosysteem

KIRSTEN WOLFSTEIN, RIJKSINSTITUUT VOOR KUST EN ZEE

BAS IBELINGS, NEDERLANDS INSTITUUT VOOR ECOLOGIE-CENTRUM VOOR LIMNOLOGIE

KEES BRUNING, AQUA-SENSE

WINFRIED LAANE, RIJKSWATERSTAAT DIRECTIE IJSSMEERGEBIED

Cyanobacteriën horen bij de natuurlijke soortensamenstelling van fytoplankton. Maar in de laatste jaren traden steeds vaker bloeien van (toxische) cyanobacteriën op. Gelijktijdig werd massale vis- en vogelsterfte gerapporteerd in het IJsselmeer, het Volkerak-Zoommeer en de Oostvaardersplassen. Deze incidenten riepen de vraag op of een samenhang bestaat tussen de sterfte en de bloei van cyanobacteriën. Wat zijn de risico's van door cyanobacteriën geproduceerde toxines voor het aquatisch ecosysteem? Voor het eerst is in Nederland meerjarig onderzoek uitgevoerd aan verschillende onderdelen van de voedselketen (fytoplankton, zoöplankton, mosselen en vis) in het veld en in het laboratorium om deze vragen te beantwoorden. De resultaten leiden tot de conclusie dat cyanotoxines overal in de voedselketen te vinden zijn en negatieve effecten kunnen veroorzaken in de verschillende organismen. Toch blijkt het lastig vis- en vogelsterfte direct te koppelen aan een bloei van toxische cyanobacteriën, want een verband tussen de concentratie van de toxines en de geobserveerde effecten werd niet gevonden.

Cyanobacteriën (blauwalgen of -wieren) vormen een onderdeel van de natuurlijke fytoplanktonpopulatie en komen voor in alle wateren. Het is een zeer diverse groep. Sommige soorten vertonen een optimale groei in nutriëntenrijke wateren zonder sterke stroming, bij lage lichtintensiteit en temperaturen tussen 20 en 30°C. Daarom leidde de eutrofiëring van veel Nederlandse wateren tot hoge concentraties van cyanobacteriën in de zomer. Sommige cyanobacteriegeslachten, zoals *Anabaena*, *Aphanizomenon* en *Microcystis*, zijn in staat tot vorming van drijflagen - een verhoogde concentratie van cellen aan de wateroppervlakte - en produceren toxines. Het meest voorkomen en onderzochte cyanotoxine is het hepatotoxine (levertoxine) microcystine, wat bij waterorganismen tot schadelijke effecten, zoals groeiremming, leverschade en zelfs sterfte kan leiden. Tot op heden is de specifieke rol van cyanobacteriën en hun toxines in het bijzonder bij de sterfte van vissen en vogels onduidelijk. Microcystine is vooral intracellulair aanwezig en wordt niet actief uitgescheiden. Om überhaupt effect te hebben, moeten microcystines eerst worden opgenomen door het inslikken van water- en fytoplankton, of het eten van fytoplankton door bijvoorbeeld zoöplankton of mosselen. Via deze route kunnen de toxines terecht komen in vissen of

vogels. Sommige cyanobacteriën zijn door hun vorm (kolonies of filamenten) en afmeting slecht graasbaar. Indien de cyanobacteriën niet of nauwelijks worden gegeten, zal microcystine dus ook niet doordringen in het voedselweb. In het kader van het project 'Ecologische

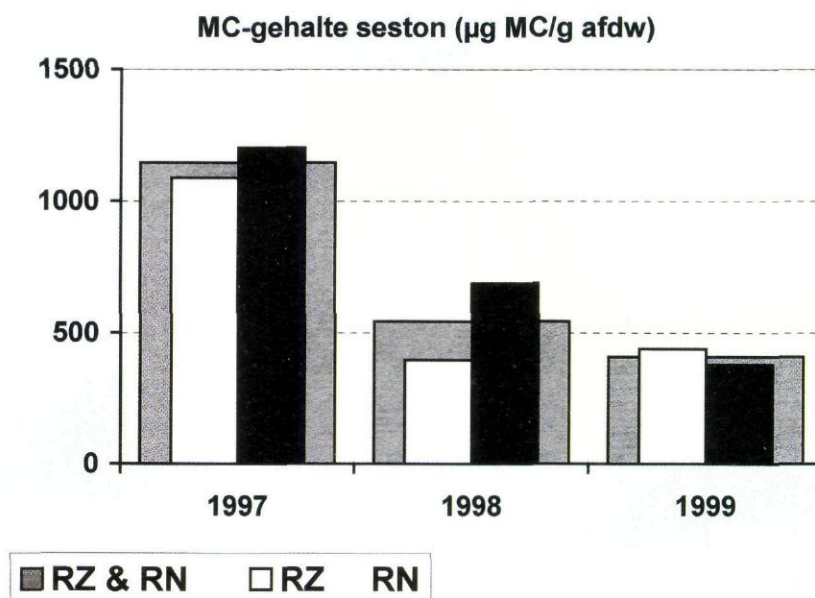
effecten van cyanotoxines in het IJsselmeer' werden de effecten van microcystine op componenten van de aquatische voedselketen onderzocht. Het onderzoek vond deels op het veld en deels in het laboratorium plaats. De nadruk lag daarbij op het voorkomen van microcystine in de verschillende voedselcomponenten<sup>1),2)</sup>.

Dit artikel presenteert de belangrijkste resultaten: toxische cyanobacteriën (zoals *Microcystis*) worden gegeten door filter feeders en opgenomen in het voedselweb, de gehalten aan microcystine in diverse voedselwebcomponenten zijn dusdanig hoog dat diverse negatieve effecten op met name zoöplankton en vis te verwachten zijn en tenslotte blijkt geen bewijs te bestaan voor bioaccumulatie of -magnificatie. Uiteindelijk wordt een schatting gedaan of de vis- en vogelsterfte kan worden verklaard door microcystines.

## IJsselmeer

De mate waarin verschillende types sestondeeltjes door zoöplankton en mosselen worden begraasd en daarmee de mate waarin microcystines in hun predatoren terecht komen, hangt af van verschillende factoren, zoals deeltjesaantallen, vorm, grootte en chemische deeltjes eigenschappen, en de aanwezigheid van alternatieve voedselbronnen. Het natuurlijk voedsel (seston, met fytoplankton als onderdeel) van zoöplankton en mosselen werd in het IJsselmeer op twee monsterruilen geanalyseerd op zijn samenstelling. Slechts maximaal eenderde van de sestondeeltjes bestond uit fytoplankton. In de loop van het seizoen nam het aandeel cyanobacteriën in het fytoplankton toe tot 75 à 90 procent in septem-

Afb. 1: Het gemiddelde microcystinegehalte van het seston, op twee monsterruilen (RZ en RN) in het IJsselmeer in de maanden juni t/m oktober.





ber. Bijna altijd waren potentieel toxische cyanobacteriën aanwezig. Hun aandeel lag bij gemiddeld 30 à 35 procent van alle cyanobacteriedeeltjes, maar varieerde sterk en kon oplopen tot 90 procent. De potentieel toxische cyanobacteriën behoorden tot de geslachten *Microcystis*, *Oscillatoria*, *Aphanizomenon*, *Anabaena* en *Coelosphaerium*. In bijna alle monsters werd een wisselend aantal (één tot twaalf) microcystines in het seston aangetroffen. De seizoensgemiddelde microcystinegehalten per gram asvrij drooggewicht (AFDW) seston varieerden van 400 µg/g op de zuidraai in 1998 tot 1050 µg/g op de noordraai in 1997 (zie afbeelding 1). In 80 procent van de zoöplanktonmonsters en 89 procent van de mosselmonsters werden microcystines (MC) gevonden. De seizoensgemiddelde microcystinegehalten varieerden van 63 tot 211 µg/g asvrij drooggewicht in het zoöplankton en van 2,3 tot 12 µg/g in de mosselen. Het microcystinegehalte van de mosselen lag steeds veel lager dan van het zoöplankton.

### Graas op (toxische) cyanobacteriën

Om na te gaan of de cyanobacteriedeeltjes uit het IJsselmeer werden gegeten, werden graasexperimenten uitgevoerd met de watervlo *Daphnia galatea* en de driehoeksmossel *Dreissena polymorpha*. Ze kregen onder meer seston van het IJsselmeer aangeboden, bestaande uit fytoplankton- en non-fytoplanktondeeltjes van verschillende grootteklassen<sup>2,3</sup>. De begrazing van de afzonderlijke deeltjesgroepen (verschillende grootteklassen, cyanobacteriën en overig fytoplankton) is weergegeven als 'filtering rate' per dier en uur. Afbeelding 2 laat zien dat zowel de cyanobacteriën als het overige fytoplankton door de watervlo worden gegeten.

De cyanobacteriën lijken echter minder effectief begraasd te worden dan het overige fytoplankton, misschien omdat bij de cyanobacteriën moeilijk begraasbare soorten voorkomen. De watervlo lijkt een voorkeur te hebben voor deeltjes kleiner dan 30 µm. Daarentegen verwijderen driehoeksmosselen cyanobacteriën, overig fytoplankton en non-fytoplankton ongeveer even effectief uit het water<sup>3</sup>. Van selectie op deeltjesgrootte lijkt geen sprake. De bacteriën worden over de gehele range - tot 100µm- opgenomen (zie afbeelding 3). Dat betekent dat toxische cyanobacteriën, als ze onderdeel zijn van het seston, wel worden gegeten door zowel de watervlo als de driehoeksmossel. De organismen zullen daarom microcystine kunnen opnemen.

Dit komt overeen met de resultaten van analyses op microcystinegehalten in zoöplankton en mosselen uit het veld en uit verder experimenteel onderzoek<sup>3</sup>.

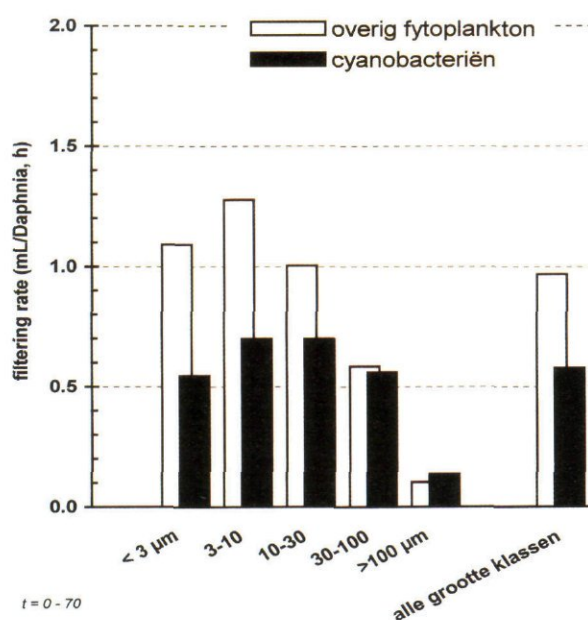
### Effecten op watervlo, driehoeksmossel en vis

Naast de bedreiging door toxines speelt de beschikbaarheid van kwantitatief en kwalitatief voldoende voedsel een belangrijke rol voor de groei en conditie van de organismen. Daarom zijn groei en populatiedynamische parameters van de watervlo en de driehoeksmossel onderzocht met verschillende voedselcondities: aan de diertjes werd zowel natuurlijk IJsselmeer- en Markermeer-seston als laboratoriumculturen van zeer toxische en minder toxische *Microcystis*-stammen en groenalgen als kwalitatief hoogwaardig voedsel<sup>1,2</sup>) aangeboden. Uit het onderzoek blijkt, dat het effect (onder meer mortaliteit) van microcystine afhankelijk is van de verschillende toxiciteit van verschillende *Microcystis*-stammen. De reproductie van de watervlo correleerde niet

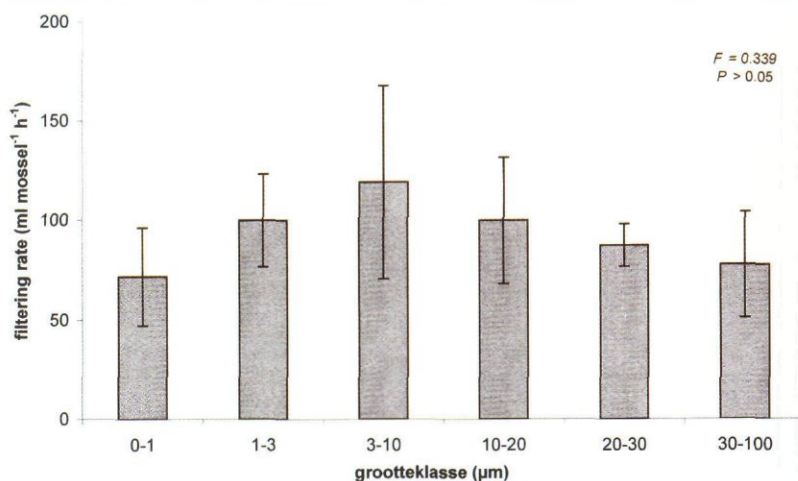
direct met het microcystinegehalte van het IJsselmeerseston, wel met de hoeveelheid cyanobacteriën. Natuurlijk seston uit IJsselmeer en Markermeer vormt geen optimale voedselbron voor de watervlo. Cyanobacteriën hebben vanwege hun lage voedselkwaliteit negatieve effecten op zoöplankton, ook als ze niet toxisch zijn. Potentiële groeisnelheid, lengtegroei en ei-productie waren met natuurlijk voedsel steeds lager dan met hoogwaardig voedsel<sup>2</sup>).

De mosselen lijken aanzienlijk minder gevoelig te zijn voor microcystine dan de watervlo. Blootstelling aan de sterk toxische *Microcystis*-cultuur leidde niet tot een verhoogde mortaliteit bij de driehoeksmossel. Adulte mosselen lijken in het algemeen weinig hinder te ondervinden van (toxische) cyanobacteriën als voer. Een negatief effect bestaat echter op het graasgedrag en de sterfte van larven<sup>2,3,4</sup>).

Afb. 2: Filtering rates van *Daphnia galatea* voor verschillende klassen van grootte en componenten van het IJsselmeer-fytoplankton.



Afb. 3: Filtering rate van *Dreissena* op verschillende klassen van grootte van het IJsselmeerseston.



Maar ook bestaat een aantal factoren, die als bescherming voor zoöplankton en mosselen kunnen werken, onder ander veel non-fytoplanktondeeltjes in het IJsselmeer- en Markermeer-seston, waardoor ook bij hoge cyanobacteriëndichtheden de fractie cyanobacteriën in het dieet laag blijft.

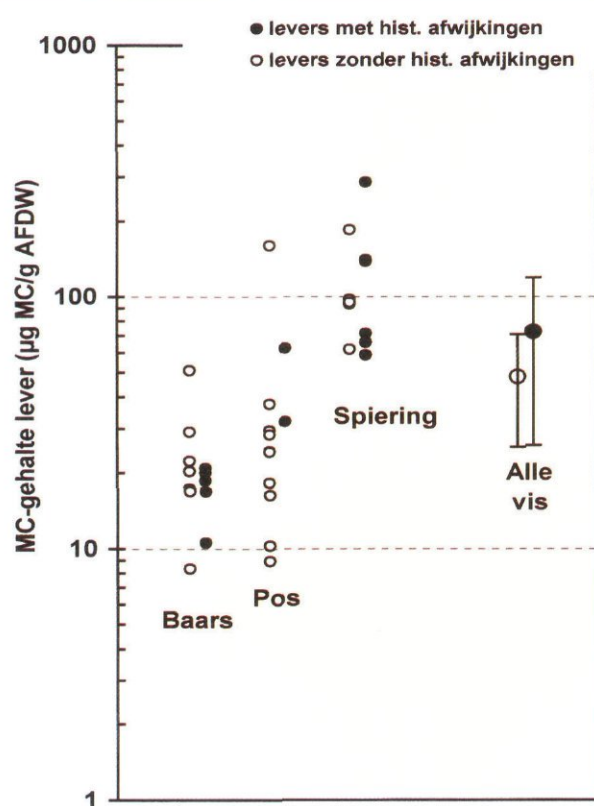
Gebaseerd op de toxiciteitwaarden (groter dan 100 µg/g AFDW voor adulte en groter dan 10 µg/g voor juveniele vis) uit de literatuur waren de microcystinegehalten van seston, zoöplankton, mosselen zo hoog dat intoxicatie

van grazers wel te verwachten is. Daarom zijn levers van baars, pos en spiering uit het IJsselmeer op microcystine en daaraan gerelateerde leverschade (histologische afwijkingen) onderzocht. In alle onderzochte vissen werd microcystine gemeten. Het gemiddelde microcystinegehalte van de levers verschilde per vissoort. Spieringlevers hadden met 218,1 µg/g asvrij drooggewicht een significant hoger gehalte dan de levers van pos (53,8 µg/g afdw) of baars (24,5 µg/g afdw). Het verschil kan wellicht worden gerelateerd aan verschillende voedselbronnen van de vissoorten. Spiering is een zoö-

plankton-eter, en het zoöplankton in het IJsselmeer bevatte relatief hoge concentraties aan microcystines. Pos voedt zich voornamelijk met vlokreeften en muggenlarven, terwijl baars van de onderzochte lengte behalve op zoöplankton en andere ongewervelde ook op vis jaagt<sup>5)</sup>.

Bij 37 procent van de vissen werd leverschade vastgesteld. De histologische afwijkingen zijn in drie categorieën ondergebracht: ontstekingen, degeneratie/necrose en dubieuze pathologische afwijkingen. Van deze leverafwijkingen is niet bekend in hoeverre ze specifiek zijn voor acute of chronische blootstelling aan cyanotoxines, of ook door andere factoren veroorzaakt kunnen zijn. Geen van de afwijkingen was duidelijk gerelateerd aan levers met sterk verhoogde MC-gehalten (zie afbeelding 4).

Afb. 4: Microcystinegehalte en schade van vislevers. De gehalten van histologisch afwijkende levers zijn zwart weergegeven.

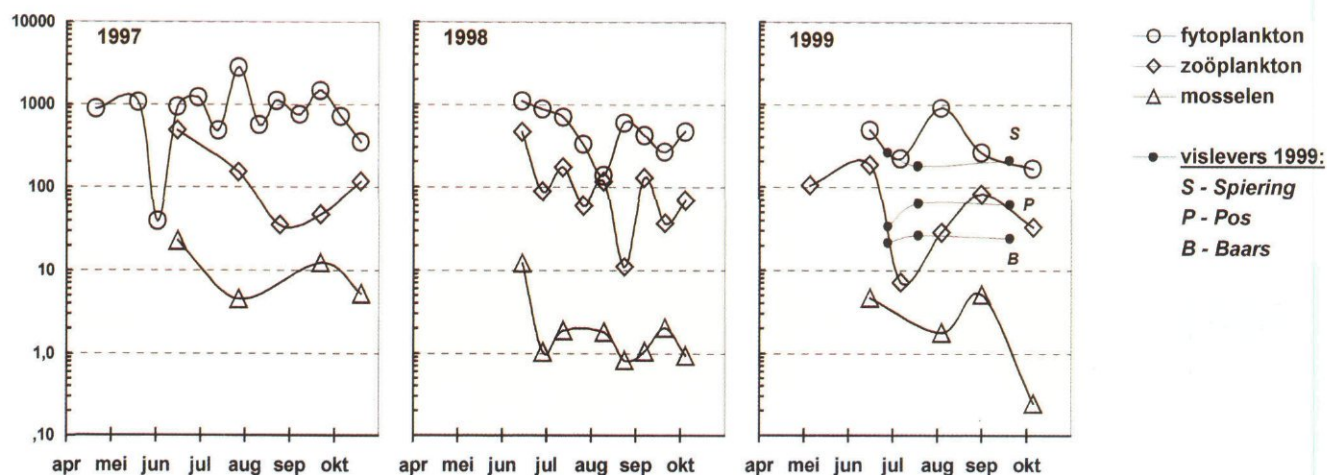


### Accumulatie

De resultaten tonen aan, dat microcystines ook op de hogere trofieniveau's terecht komen: 80 procent van de zoöplanktonmonsters, 90 procent van de mosselmonsters en 100 procent van de vislevermonsters bevatten microcystine. Direct gekoppeld aan deze resultaten speelt de vraag of sprake kan zijn van bioaccumulatie of biomagnificatie. Bioaccumulatie vindt plaats als een specifieke verbinding vanuit de leefomgeving in het lichaam van een levend organisme wordt opgenomen, waarbij het sneller wordt opgenomen en opgeslagen dan afgebroken of uitgescheiden. Biomagnificatie is het toenemen van de concentratie van een verbinding door doorgifte van het ene trofische niveau naar het volgende. Aanwijzingen voor het optreden van bioaccumulatie of biomagnificatie van microcystine zijn niet gevonden. De gemiddelde microcystinegehalten van zoöplankton, mosselen en vislevers waren steeds lager dan die van fytoplankton (zie afbeelding 5).

Afb. 5: De gemiddelde microcystinegehalten (in µg/g afdw) in verschillende voedselwebcomponenten in het IJsselmeer (1997 t/m 1999).

### MC-gehalten IJsselmeer gemiddeld





## Relevantie

Uit het in 1997 t/m 1999 uitgevoerde onderzoek blijkt dat tijdens het groeiseizoen van fytoplankton bijna altijd potentieel toxische cyanobacteriën en hun toxines (microcystines) in het IJsselmeer aanwezig zijn. De toxines komen in de hogere niveau's terecht. Bioaccumulatie lijkt niet op te treden: de microcystinegehaltes op de hogere trofieniveau's zijn lager dan in het fytoplankton/seston. Het onderzoek toont aan dat de blootstelling van hogere trofieniveau's aan microcystine afhankelijk is van het foeragegedrag op bentisch of planktisch levende organismen. Bij de waargenomen microcystineniveau's zijn op basis van literatuurgegevens negatieve effecten te verwachten op zoöplankton, vis en vogels<sup>2,6)</sup>. In werkelijkheid kunnen deze effecten minder zijn, omdat er factoren zijn die als beschermingsmechanismen kunnen werken. Het onderzoek kon geen duidelijke directe verbanden tussen negatieve effecten in het veld en de aanwezigheid van microcystine aantonen. Een voorbeeld is het ontbreken van een relatie tussen leverschade in vissen en het microcystinegehalte van de levers. Orale toediening van microcystine, zelfs in hoge concentraties, leidde niet tot vissterfte.

Daarom valt aan te nemen dat de vissterfte eerder kan worden verklaard door aanwezigheid van meerdere stressfactoren, zoals zuurstofloosheid en hoge watertemperatuur, pH-waarden en ammoniakgehaltes, tijdens de bloei van cyanobacteriën. Microcystine is in deze visie één van de factoren die bijdragen aan vissterfte. Microcystine die is opgenomen door bijvoorbeeld de driehoeksmossel verdween echter vrij snel weer uit het weefsel. Dit betekent dat duikenden die in de winter foerageren op mosselen niet aan microcystines worden blootgesteld. Gelet op de gemeten concentraties in spiering, op resultaten uit het laboratoriumonderzoek<sup>2)</sup> en berekeningen in de literatuur<sup>1)</sup> is sterfte van visetende vogels niet waarschijnlijk, maar wel het optreden van leverschade. Microcystines lijken duidelijk schadelijke maar sublethale effecten te hebben op diverse componenten van het voedselweb van het IJsselmeer. Over de oorzaak van de vogelsterfte kan momenteel nog geen duidelijke uitspraak worden gedaan. De vogels in de Oostvaardersplassen toonden vorig jaar verlammingssverschijnselen, wat een gevolg van een vergiftiging door een ander cyanotoxine - het neurotoxine anatoxine - kan zijn, een gif dat bijvoorbeeld

door de cyanobacteriën *Aphanizomenon* of *Anabaena flos-aquae* wordt geproduceerd. 

## LITERATUUR

- 1) Ibelings B., J. de Jonge, K. Wolfstein, K. Bruning, J. Postma, M. Dioniso Pires en T. Burger. Direct evidence for harmful effects of toxic cyanobacteria in foodwebs of shallow lakes is hard to find. Opgestuurd naar *Journal of Microbial Ecology*.
- 2) Wolfstein K., J. de Jonge, K. Bruning en B. Ibelings (2004). Ecologische effecten van cyanobacterietoxines in het IJsselmeer, monitoring en experimenten. RIZA-rapport 2004.010.
- 3) Dioniso Pires L. en E. van Donk (2002). Comparing grazing by *Dreissena polymorpha* on phytoplankton in the presence of toxic and non-toxic cyanobacteria. *Freshwater Biology* nr. 47, pag. 1855-1865.
- 4) Dioniso Pires L., R. Kussrow en E. van Donk (2003). Influence of toxic and non-toxic phytoplankton on feeding and survival of *Dreissena polymorpha* (Pallas) larvae. *Hydrobiologica* nr. 491, pag. 193-200.
- 5) Nijssen H. en S. de Groot (1987). De vissen van Nederland. KNNV.
- 6) Pflugmacher S., V. Ame, C. Wiegand en C. Steinberg (2001). Cyanobacterial toxins and endotoxins - their origin and their ecophysiological effects in aquatic organisms. *Wasser & Boden* nr. 53, pag. 15-20.