Ontwikkeling van de Biokorf voor de biologische kwaliteitsbeoordeling van oppervlaktewater. Experimenten in laboratorium en veld met dimethoaat en de watervlo *Daphnia magna (Crustacea)*

Samenvatting

Toxiciteitsexperimenten in het laboratorium met organismen geven inzicht in de mogelijke effecten van microverontreinigingen. Het uitzetten van de watervlo *Daphnia magna (Crustacea)* in oppervlaktewater met behulp van de biokorf is een goede methode om effecten van microverontreinigingen in het veld aan te tonen. De No Observed Effect Concentration (NOEC) voor het bestrijdingsmiddel dimethoaat, die in het laboratorium na 48 uur werd bepaald, bedroeg 100 µg/l en na 21 dagen 32 µg/l. In veldexperimenten werd na 7 dagen een NOEC vastgesteld van 20 µg/l. Deze gegevens onderbouwen de extrapolatie van laboratoriumgegevens naar de veldsituatie voor dimethoaat.



M. A. A. J. KAMPS-MULDER
RIZA



A. J. HENDRIKS
RIZA



C. VAN DE GUCHTE
RIZA

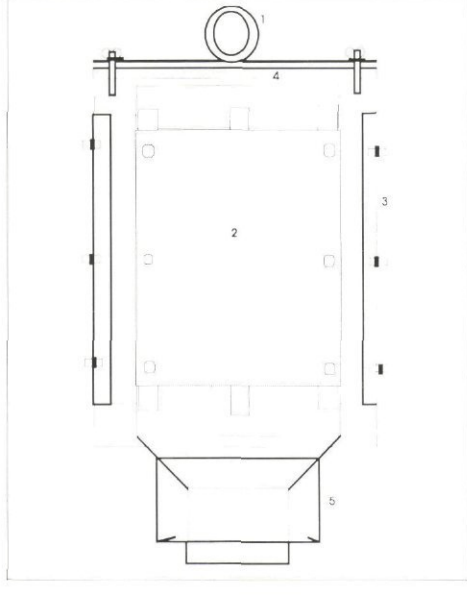
Inleiding

Al enige jaren worden door de waterbeheerders gehalten aan microverontreinigingen in het oppervlaktewater met regelmaat gemeten. In de praktijk is het onmogelijk om alle in het water aanwezige verbindingen te meten. De kosten zijn hoog en inzicht in het effect van stoffen afzonderlijk of in combinatie op het ecosysteem wordt niet verkregen.
Het uitvoeren van toxiciteitstoetsen in het laboratorium geeft inzicht in de giftigheid van het oppervlaktewater. De blootstellingsduur in het laboratorium is vaak korter (48 of 96 uur) dan in het veld en de monstername voor deze toetsen gebeurt veelal op één tijdstip, terwijl in de natuurlijke situatie fluctuaties van milieu-omstandigheden optreden. Door organismen in het veld bloot te stellen aan een bekende verontreiniging kan onderzocht worden of een lab-veld extrapolatie voldoende is onderbouwd. Biologisch veldonderzoek blijft dus wenselijk, maar omdat het onderzoeken van een hele levensgemeenschap erg arbeidsintensief is, is gekozen voor één toetsorganisme, de watervlo *Daphnia magna*.
Uit eerder onderzoek van Hoogheemraadschap van Delfland [1988; 1994] en Zuiveringsschap West-Overijssel [1990] is gebleken dat het uithangen van watervlooien in natuurlijk water zeer goede resultaten opleverde.
Vervoort *et al.* [1994] concludeerde dat de toets eenvoudig is uit te voeren maar erg storingsgevoelig.
Het RIZA heeft een 'Biokorf' ontwikkeld waarin aquatische organismen kunnen worden blootgesteld aan oppervlaktewater in natuurlijke omstandigheden. Het korfje is speciaal ontwikkeld om een cohort of populatie voor langere tijd te kunnen volgen waarbij tussentijds waarnemingen en metingen verricht kunnen worden zonder de organismen te verstoren of te beschadigen. Het hier weergegeven onderzoek beschrijft de ontwikkelings- en testfase van de Biokorf.
De testperiode is in drie fasen opgedeeld. In de eerste fase is aandacht besteed aan de stevigheid en hanteerbaarheid van de korven. In de tweede fase is de invloed van verschillende natuurlijke parameters gevolgd. In de laatste fase is met een modelstof (dimethoaat) een dosis-effect experiment uitgevoerd.
Tijdens dit experiment is gekeken of er daadwerkelijk effecten van microverontreiniging aan te tonen zijn en met welke parameter(s) deze effecten het best kunnen worden aangetoond.

De Biokorf

Het frame van de korven is gemaakt van ongeslepen roestvrij staal. De korven hebben een hoogte van 33 cm en een Ø van 16 cm. De binnenstrippen zijn voorzien van planktongaas (2) en vastgezet door klemstrippen en wormklemmen.
Om de buitenste strippen (3) is RVS gaas gespannen met een Ø 1 mm. Dit om beschadiging van het filtergedeelte te voorkomen. Als deksel (4) is een 8 mm dikke perspex schijf aangebracht, voorzien van een afdichting. De deksel is vastgemaakt met een klemstrip en dichtgedraaid met vleugelmoeren (1). Aan deze klemstrip is een hijsoog gemonteerd. Aan de onderkant van de biokorf zijn voorzieningen getroffen voor het bevestigen van een schroefpot (5).

Afb. 1 - Schematisch overzicht van de 'Biokorf'.



Proefopzet

In de eerste fase zijn de korven met 20 jonge watervlooien (< 2 d. oud) op 10 verschillende locaties in Oost-Flevoland uitgehangen. De locaties verschilden in waterdiepte, stroming en begroeiing.
Op locaties met een hoog zwevend-stofgehalte is planktongaas met een maaswijdte van 100, 150 en 200 µm uitgetest.
In de tweede fase zijn op twee locaties de parameters zuurgraad, zuurstof, geleidbaarheid, temperatuur, nitriet, nitraat en ammonium gemeten, gedurende een periode van acht dagen om de fluctuaties in de tijd te onderzoeken.
In de laatste fase van het onderzoek is een dosis-effect experiment uitgevoerd. In een poldersloot langs een proefboerderij voor de fruitteelt zijn vier mesocosms (kunststof buizen: h: 0,8 m.; Ø: 1 m.; inh. 600-700 l.) opgeladen met dimethoaat (0, 30, 300 en 3000 µg/l nominaal). Dimethoaat is als modelstof gekozen omdat het een algemeen gebruikt bestrijdingsmiddel tegen spinnen en insecten is en goed oplosbaar is in water (25 gr/l). De Lethal Concentration ($LC50_{48h}$) voor *Daphnia magna* is 692 (519-924) µg/l en de No Observed Effect Concentration ($NOEC_{48h}$) is 100 µg/l [Kamps, in prep.]. De $LC50_{21d}$ voor *Daphnia magna* is 32 µg/l dimethoaat [Slooff *et al.*, 1983].
Wekelijks zijn er per mesocosm monsters genomen voor analyse op het gehalte aan dimethoaat.
Per mesocosm zijn twee biokorven (A en B) met elk 20 exemplaren *Daphnia magna* van 1 à 2 dagen oud uitgehangen.
Na een week is er gescoord op overleving en aantal jongen en werden de watervlooien vervangen door 20 nieuwe exemplaren van 1 à 2 dagen oud. De totale waarnemingsperiode bedroeg 9 weken.

Resultaten

De diepte waarop de korven zijn uitgehangen varieerde van 0,1 tot 1,5 m onder het wateroppervlak. De locaties varieerden van snel stromend zonder begroeiing tot nagenoeg stilstaand met begroeiing van waterplanten en kroos. Variatie in diepte, begroeiing en stroming bleken geen invloed op de overleving van de watervlooien in de korven te hebben.
Op locaties met een hoog zwevend-stofgehalte sedimenteerde veel slib in de korven. Tijdens het uithalen van de korven werden de watervlooien hierdoor verstikt. Planktongaas met een maaswijdte van 200 µm laat te veel zwevend stof door en kleine watervlooien (< 1d. oud) kunnen ontsnappen. Planktongaas met een maaswijdte van 150 µm voldeed goed.
Op locaties met extreme sedimentatie is gekozen voor een maaswijdte van 100 µm waarbij wekelijks het gaas vervangen werd.
Het nitraat-, nitriet- en ammoniumgehalte was gedurende de testperiode van 8 dagen 0 mg/l. In tabel I is het gemiddelde, de variantie, de hoogste, de laagste en het aantal metingen per parameter weergegeven. De metingen zijn op verschillende tijdstippen verricht om de grootste variatie mee te nemen.

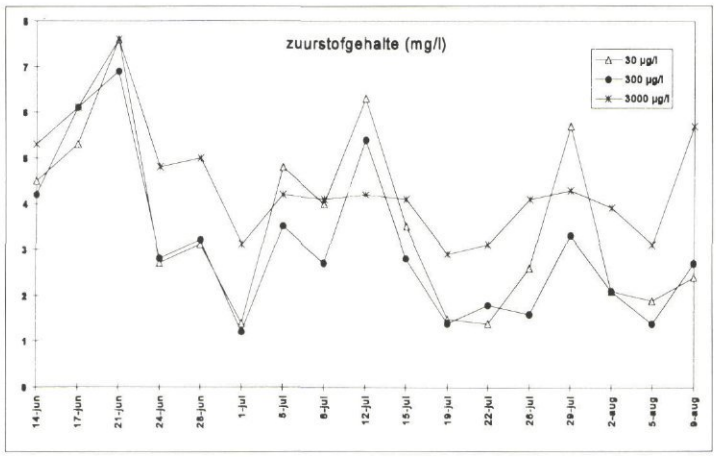
TABEL I – *Overzicht van de resultaten van de metingen aan de parameters zuurgraad, zuurstof, geleidbaarheid en temperatuur.*

Parameter	$\bar{x}$	s	max.	min.	n
pH	7,9	0,3	9,0	7,1	35
O_2 (mg/l)	3,8	1,7	6,7	1,3	34
Geleidbaarheid (mS/cm)	1,77	0,05	1,88	1,66	35
Temperatuur (°C)	13,1	1,1	15,3	10,5	35

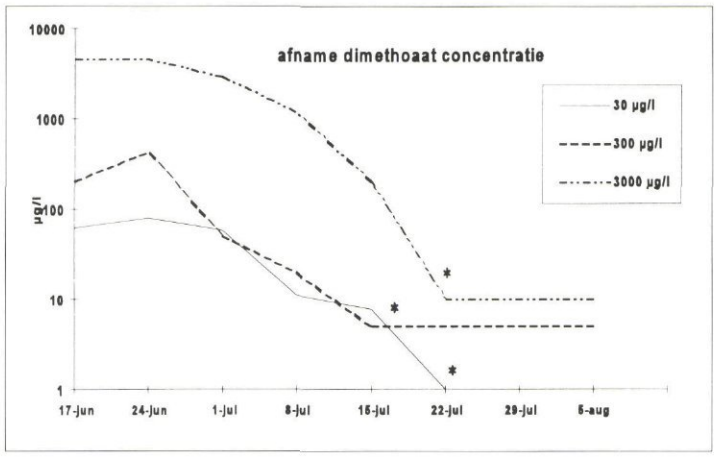
$\bar{x}$ = gemiddeld gemeten waarde
s = variantie van het gemiddelde
max. = hoogst gemeten waarde
min. = laagst gemeten waarde
n = aantal metingen

Voor de parameters zuurgraad, geleidbaarheid en temperatuur is de spreiding in de gemeten waarden over de periode van acht dagen klein. De spreiding in de gemeten waarden van het zuurstofgehalte is aanzienlijk (6,7 - 1,3 mg/l). Van de 34 metingen gaven 11 metingen een waarde beneden de gestelde randvoorwaarden voor *Daphnia magna* volgens Maas *et al.* [1993].
De laagste zuurstofgehalten werden over het algemeen aan het eind van de nacht en het begin van de ochtend gemeten.
In het dosis-effect experiment zijn twee keer per week in de mesocosms de parameters, pH, O_2, geleidbaarheid, nitriet, nitraat en ammonia bepaald. De parameters zuurgraad, geleidbaarheid, het nitriet-, nitraat- en ammoniumgehalte bleven constant en voldeden gedurende de gehele testperiode aan de gestelde randvoorwaarden voor *Daphnia magna* volgens Maas *et al.* [1993].

Afb. 2 - Zuurstofgehalte (mg/l) gemeten in de mesocosms gedurende de testperiode.

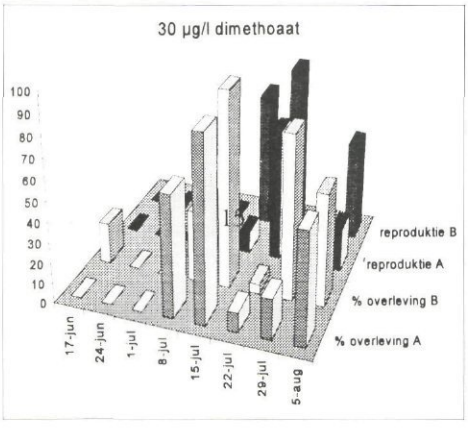


*Afb. 3 - Afname dimethoaat concentratie in de mesocosms gedurende de testperiode. * = detectiegrens.*

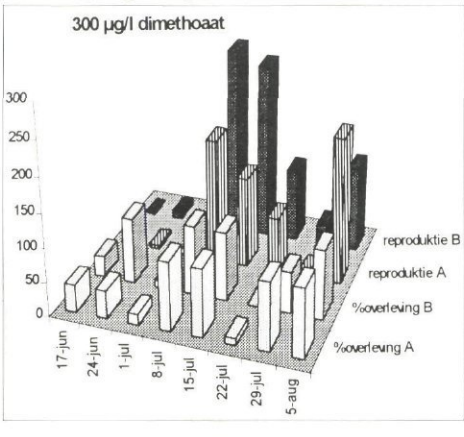


Het zuurstofgehalte (afb. 2) fluctueerde sterk en daalde voor de mesocosms met 30 en 300 µg/l dimethoaat regelmatig onder de gestelde randvoorwaarden.
In afbeelding 3 is de afname van dimethoaat in de mesocosms weergeven. Het is opmerkelijk dat in alle mesocosms de gemeten concentraties in de tweede week hoger liggen dan in de eerste week.
Na maximaal 5 weken is het dimethoaatgehalte beneden de detectiegrens gedaald.
In de afbeeldingen 4, 5 en 6 staan de resultaten van de mesocosm-experimenten weergegeven. In deze afbeeldingen zijn het percentage overleving en de reproductie van de watervlooien tegen de tijd uitgezet.
Afbeelding 4 en 5 geven de overleving en reproductie van de watervlooien bij resp. 30 µg/l en 300 µg/l dimethoaat als nominale beginconcentraties weer.
De werkelijke beginconcentraties waren resp. 62 en 205 µg/l dimethoaat in de eerste week. Wanneer de dimethoaatconcentraties gedaald zijn tot circa 20 µg/l

Afb. 4 - Overleving (%) en reproductie (aantal jongen) van D. Magna in mesocosm 1 (nom. 30 µg/l dimethoaat) uitgezet tegen de tijd.

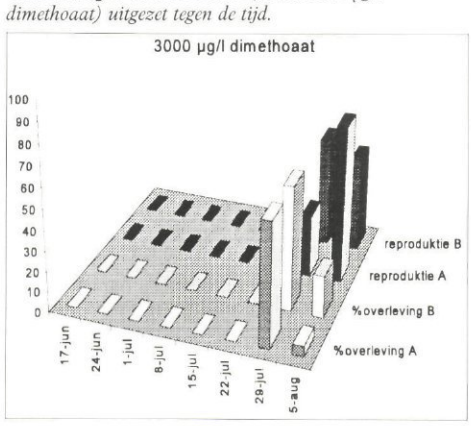


Afb. 5 - Overleving (%) en reproductie (aantal jongen) van D. Magna in mesocosm 2 (nom. 300 µg/l dimethoaat) uitgezet tegen de tijd.



vindt weer overleving en reproductie van de uitgehangen watervlooien plaats (afb. 3; 8 juli). Na vier weken is het overlevingspercentage van de watervlooien tot 100% en het aantal jongen dat geproduceerd is in één week tot gemiddeld 200 gestegen.
In de week van 22 juli is er een terugval in de overleving van de uitgehangen watervlooien (0-10 %). Dit zou te maken kunnen hebben met de afname van het zuurstofgehalte (< 2 mg/l) in deze periode.
Het zuurstofgehalte daalde beneden de gestelde randvoorwaarden voor testomstandigheden (> 3 mg/l), maar in natuurlijke omstandigheden (dag- en nachtfluctuaties) gebeurt dit regelmatig waarbij geen negatief effect wordt ondervonden door de uitgehangen watervlooien.
In afbeelding 6 is duidelijk te zien dat pas na afnemen van het dimethoaatgehalte tot beneden de detectiegrens, 10 µg/l (afb. 3; 22 juli) de watervlooien kunnen overleven en weer tot reproductie overgaan.

Afb. 6 - Overleving (%) en reproductie (aantal jongen) van D. Magna in mesocosm 3 (nom. 3000 µg/l dimethoaat) uitgezet tegen de tijd.



Discussie

Diepte, begroeiing en stroming hebben geen directe invloed op de overleving van de watervlooien. Naarmate de waterdiepte toeneemt is wel een daling in het zuurstofgehalte te meten. In begroeide sloten was de variatie in het zuurstofgehalte over een etmaal gemeten groter dan in een sloot zonder begroeiing. Deze grote fluctuatie kan verklaard worden door de fotosynthese en ademhaling van de planten. In alle mesocosms zijn de concentraties dimethoaat in de tweede week hoger dan in de eerste week. Een reden hiervoor kan zijn dat na toevoeging van het dimethoaat nog geen voldoende menging heeft plaatsgevonden in de mesocosms voordat er een monster ter analyse is genomen. Nadat de concentratie dimethoaat in mesocosm 1 en 2 gedaald is tot beneden de circa 20 µg/l vindt er weer overleving en reproductie plaats.
Voor mesocosm 3 is het dimethoaat gehalten beneden de detectiegrens (10 µg/l) gedaald voordat er overleving en reproductie plaatsvindt. Enkele metabolieten van dimethoaat zijn dimethylfosforzuur, O-desmethyldimethoaat en omethoaat.
De chronische LC50 van omethoaat voor *Daphnia magna* is 4,2 µg/l. Het is mogelijk dat deze stoffen voor een 'verlengd' effect verantwoordelijk zijn.
In acute laboratoriumtesten met *Daphnia magna* is de $NOEC_{48h}$ = 100 µg/l en in chronische testen is de $NOEC_{21d}$ = 32 µg/l [Slooff *et al.*, 1983] dimethoaat. In de mesocosm-experimenten is de blootstelling 7 dagen geweest. De $NOEC_{mesocosm,7d.}$ is circa 20 µg/l dimethoaat voor *Daphnia magna*. Voor dimethoaat verschillen de $NOEC_{lab,48h}$ en $NOEC_{veld,7d}$ een factor 5, terwijl de $NOEC_{lab,21d}$ en $NOEC_{veld,7d}$ een factor 1,5 verschil laten zien voor *Daphnia magna*.

Conclusie

De ontwikkelde 'biokorf' voldoet goed voor het meten van effecten van stoffen op de overleving van de watervlooien onder veldcondities en is praktisch goed hanteerbaar bij het uitnemen en tellen van de watervlooien. Diepte, begroeiing en stroming bleken geen invloed op de overleving van de watervlooien in de biokorf te hebben. De spreiding in de gemeten waarden voor de parameters zuurgraad, geleidbaarheid en temperatuur is gedurende de testperioden gering geweest. Het nitriet-, nitraat- en ammoniumgehalte was continu 0 mg/l. Het zuurstofgehalte was aan variatie onderhevig.
In het laatste experiment kon een dosis-effect relatie aangetoond worden door het uithangen van watervlooien met behulp van de biokorf in mesocosms opgeladen met een oplopende concentratie dimethoaat.
De $NOEC_{mesocosm,7d}$ ligt op circa 20 µg/l, terwijl de $NOEC_{lab,48h}$ 100 µg/l en $NOEC_{lab,21d}$ 32 µg/l dimethoaat is.
De gegevens uit de mesocosms onderbouwen de extrapolatie van bekende labgegevens naar de veldsituatie. Monitoring met de 'biokorf' is een goede methode om effecten van microverontreinigingen in het veld aan te tonen. Voor een kort durende testperiode, één week of korter, is overleving de meest geschikte parameter. Voor monitoring over een langere periode kunnen mogelijk reproductie en populatiegroeisnelheid (Rm) goede parameters zijn [De Ruiter, 1995].

Dankwoord

De auteurs willen Iante Brongers (Dir. IJsselmeergebied), Margriet Beek, Albert Espeldoorn en Arie Naber (RIZA) danken voor hun enthousiaste inzet bij de vele bemonsteringen. Onze dank gaat ook uit naar de Fa. SERCON te Dronten voor het meedenken bij de ontwikkeling en het produceren van de biokorf.

Literatuur

Gorter, M. en Mangelaars, J. (1994). *Het water uitgevlooid.* Toxiciteitstoetsen met watervlooien in het veld 1990 - 1993. Hoogheemraadschap van Delfland, Delft.
Anonymus (1988). *Invloed van de tuinbouwactiviteiten op waterkwaliteit in de polder Nieuwland en Noordland (Westland).* Werkgroep 'Effecten van bestrijdingsmiddelen uit de tuinbouw op de waterkwaliteit'. Hoogheemraadschap van Delfland, Delft.
Maas, J. L., Guchte C. van de en Kerkum, F. C. M. (1993). *Methodebeschrijvingen voor de beoordeling van verontreinigde waterbodems volgens de TRIADE benadering.* Methodebeschrijving voor enkele bioassays, bioaccumulatiemetingen en veldstudies. Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling. Notanr. 93.027, Lelystad.
Ruiter H. de (1995). *Effecten van Maas- en Rijnwater op de populatie-dynamica van Daphnia magna. Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling.* Werkdocument nr. 95.165X., Lelystad
Vervoort, E. W. G. en Limbeek, M. C. E. (1994). *Daphnia-toets in het beheersgebied van Schieland 1992.* Hoogheemraadschap van Schieland, Rotterdam.
Anonoymus (1990). *Bestrijdingsmiddelengebruik en oppervlaktewaterkwaliteit in een fruitteeltgebied in de Noordoostpolder.* Zuiveringschap West-Overijssel, Technologische Dienst en Staring Centrum, Zwolle.
Kamps-Mulder, M. A. A. J. (in prep.). *Methode-ontwikkeling voor het bepalen van effecten van microverontreinigingen op aquatische organismen onder veldomstandigheden. Uitzetten Daphnia magna (Crustacea) in oppervlaktewater met behulp van de biokorf.* Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, Lelystad.
Slooff, W. and Canton, J. H. (1983). *Comparison of the susceptibility of 11 freshwater species to 8 chemical compounds. II.* (semi)chronic toxicity tests. Aquatic Toxicology, vol. 4, pp. 271-282.

● ● ●