

# Effecten van microverontreinigingen op de populatie-dynamica van *Daphnia magna*

## 1. Inleiding

Het vaststellen van relevante en hanteerbare toxiciteitscriteria wordt steeds belangrijker, mede gezien de grote aantallen microverontreinigingen die potentieel schadelijk kunnen zijn voor het functioneren van aquatische systemen. Binnen de ecotoxicologie wordt groot belang gehecht aan methodologisch onderzoek met een groter (geo)chemisch en ecologisch realisme dan de huidige toetsen. Op deze wijze kan de kloof tussen laboratoriumstudies en de veldsituatie worden verkleind [1, 2]. Een stap in deze richting zou kunnen zijn het bestuderen van

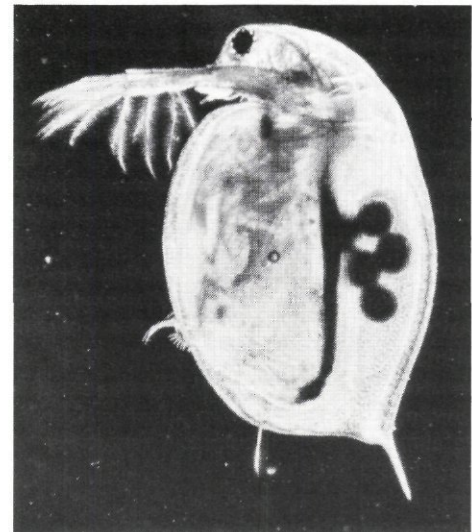
it is impossible to address the 'so what!' question in a manner which is not undercut by social, political or economic reality". Effecten van microverontreinigingen op de populatie-dynamica kunnen op verschillende wijzen bestudeerd worden, namelijk in experimenten met cohorten (organismen van 1 leeftijdsklasse) en in studies met kleine expanderende populaties. In experimenten met cohorten, ook wel 'life-table' studies genoemd, kan aan de hand van dagelijks opgetekende effecten op de overleving en reproductie de exponentiële groeiconstante ( $r_m$ ; zie ook afb. 1) bepaald worden en wel door substitutie van deze parameter waarden in de formule van Lotka [4]:

$$\sum_{x=0}^{\infty} l_x m_x e^{-r_m x} = 1 \quad (\text{verg. 1})$$

Hierin is  $l_x$  het aandeel van de individuen overlevend tot leeftijd  $x$ ,  $m_x$  het aantal juvenelen per overlevend vrouwtje tussen leeftijd  $x$  en  $x + 1$  en  $x$  het aantal dagen. De  $r_m$ -waarde integreert leeftijdsafhankelijke overleving met alle effecten van de reproductie. Experimenten met populaties zijn mogelijk een goed alternatief voor de life-table benadering. Geringe reducties in vitaliteit, zoals een afname in levensverwachting of nakomelingschap zijn vaak moeilijk te detecteren op het niveau van het individu. In populaties worden deze effecten gesommeerd over vele individuen en zijn derhalve makkelijker te detecteren [5, 6]. Van belang is onder andere dat de populaties een stabiele leeftijdsopbouw hebben. Bij lage dichtheden is de populatiegroei exponentieel en de stabiele leeftijdsopbouw is dan te berekenen uit de vergelijking:

$$C_x = (1_x e^{-r_m x}) / (\sum 1_x e^{-r_m x}) \quad (\text{verg. 2})$$

waarbij  $C_x$  het aandeel individuen van de totale populatie in de  $x^e$  leeftijdsklasse vertegenwoordigt [cf. 7, 8]. Tot nu toe werden in het ecotoxicologisch onderzoek populatie-dynamische parameters vrijwel uitsluitend en alleen bestudeerd in proeven met algen [9]. Met dit artikel hopen



Afb. 1 - Watervlo (*D. magna*) met eieren in de broedzak (ware grootte ca. 3,5 mm). Watervlooien (*Cladocera*) komen in onze oppervlaktewateren algemeen voor. Zij spelen een belangrijke rol in de regulatie van algenpopulaties, die zij uit het water filteren. Ze zijn bovendien relatief gevoelig voor microverontreinigingen, makkelijk te kweken als gebruik gemaakt wordt van min of meer natuurlijk water en bovendien experimenteel eenvoudig te hanteren. Deze aspecten maken het verdedigbaar de watervlo te beschouwen als de „witte laboratoriumrat” in het aquatisch toxicologisch onderzoek.

wij inzicht te verschaffen in de effecten van contaminanten op de populatie-dynamica van een zoetwater-kreeftje, te weten de watervlo (*Daphnia magna*; afb. 1). Hierbij staat centraal de vergelijking van de semi-statische life-table procedure (exponentiële groei) met experimenten betreffende expanderende populaties in een doorstroomopstelling (logistische groei; zie ook afb. 2). Deze vergelijking is uitgewerkt voor een tiental stoffen. In een volgend artikel zal ingegaan worden op de rol die deze testen kunnen vervullen in het waterbeheer en meer in het bijzonder de normstelling voor potentieel milieugevaarlijke stoffen.

## 2. Testprocedures

Experimenten met *D. magna* werden uitgevoerd in een klimaatkamer met een



KEES VAN LEEUWEN  
Laboratorium voor Ecotoxicologie  
Dienst Binnenwateren/RIZA



GERRIT NIEBEEK  
Laboratorium voor Ecotoxicologie  
Dienst Binnenwateren/RIZA



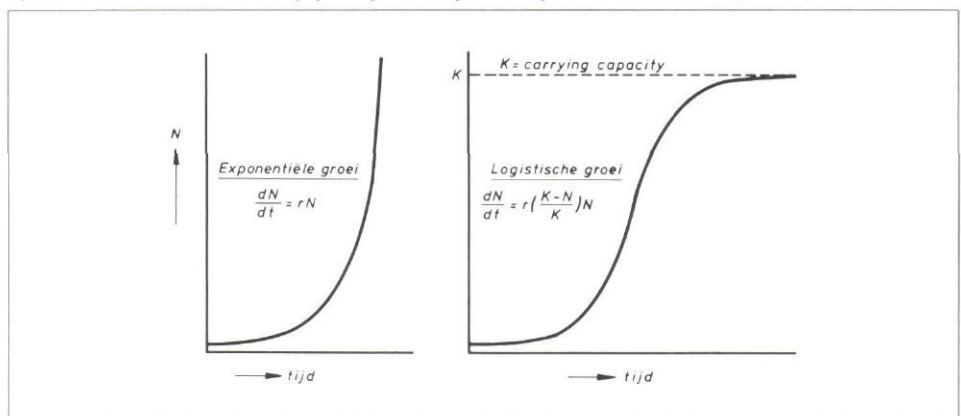
WIELE LUTTMER  
Laboratorium voor Ecotoxicologie  
Dienst Binnenwateren/RIZA

de effecten van microverontreinigingen op het populatieniveau in min of meer natuurlijk water.

Waarom populaties? Populaties zijn groepen organismen van één soort, bestaande uit verschillende leeftijdsklassen. Zij kunnen in verschillende situaties, al of niet geïsoleerd van hun natuurlijk milieu concreet bestudeerd worden. Anders gezegd: effecten waargenomen in het laboratorium zijn verifieerbaar in het veld. Het uiteindelijke doel van ecotoxicologisch onderzoek blijft natuurlijk het vaststellen van concentraties die geen onaantoonbare schade veroorzaken aan hogere integratieniveaus, te weten ecosystemen.

Risico-evaluatie op ecosysteem-niveau betekent echter nog niet dat ecosystemen per se het studie-object moeten zijn, immers, hun complexiteit staat in schril contrast met onze huidige kennis. Bovendien rijst de vraag hoe wij het disfunctioneren van ecosystemen kunnen doorgronden, als de consequenties voor hun bouwsystemen – de populaties – niet bekend zijn. Het bovenstaande raakt aan hetgeen Herricks en Schaeffer [3] hierover in beleidsmatig opzicht hebben opgemerkt: „the primary test of compliance is the 'so what!' test. As cause and effect are further removed or clouded by complex interactions

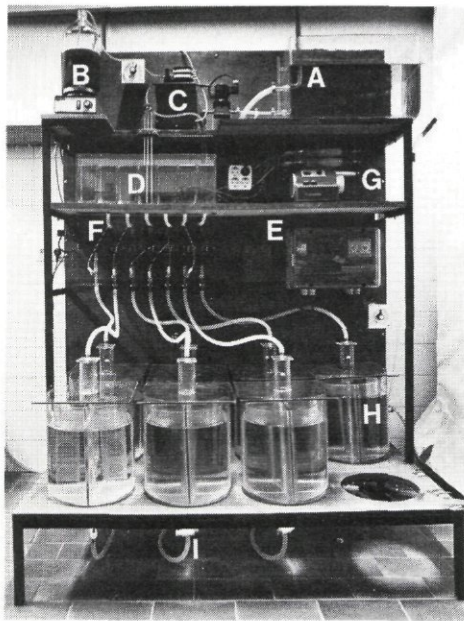
Afb. 2 - De twee basale vormen van populatiegroei: de exponentiële groeicurve (links) en de logistische groeicurve (rechts).





constante temperatuur van  $20 \pm 0,5$  °C en een fotoperiode van 12h. Als testmedium werd gebruik gemaakt van IJsselmeerwater met een hardheid van ongeveer 225 mg/l (als CaCO<sub>3</sub>) en een pH van  $8,1 \pm 0,1$ . Voor gebruik werd het IJsselmeerwater gefiltreerd over 50 µm planktongas en gesteriliseerd met behulp van een WEDECO M2-6 UV-apparaat. Informatie over de testverbindingen en toegepaste analysemethoden wordt gegeven in tabel I.

De life-table experimenten werden gestart met jonge < 24 uur oude daphnia's uit een laboratoriumkweek. Als testvaten werden 800 ml weckpotten gebruikt waaraan 500 ml medium was toegevoegd. Jonge daphnia's werden at random verdeeld, in cohorten van 10, over de blanco en de toetsconcentraties. Om statistische verwerking van de resultaten



Afb. 3 - Doorstroomsysteem. (A) constant niveau vat, (B) voorraadvat voor *Chlorella pyrenoidosa* en roerder, (C) pomp, (D) Waterverdelingsunit met peilvoeder, (E) elektronisch circuit met tijdschakelaars, (F) electromechanische kleppen, (G) mechanisch aangedreven injectiespuiten (6 stuks) met stamoplossingen van de teststof, (H) testvat bestaande uit een buitenvat en binnenvat verdeeld in vier compartimenten en (I) afvoer (ten dele zichtbaar).

TABEL I - Testverbindingen en analysemethoden.

Stof	Leverancier	Zuiverheid (> %)	Oplosmiddel	Analysemethode
Cadmiumchloride	BDH	99	aqua dest.	Atoomabsorptie spectrofotometrie
Kaliumdichromaat	Baker	96	aqua dest.	Atoomabsorptie spectrofotometrie
Natrium metavanadaat	Merck	99	aqua dest.	Atoomemissie spectrofotometrie met ICP
Maneb <sup>a</sup>	ICN	90	medium	-
Pentachloorfenol	Merck	97	DMSO <sup>c</sup>	Gaschromatografie
Pentachloorbenzeen	Fluka	98	DMSO <sup>c</sup>	Gaschromatografie
2,4-Dichlooraniline	Merck	99	DMSO <sup>c</sup>	Gaschromatografie
TPBS <sup>b</sup>	Merck	99	aqua dest.	Zichtbaar licht spectrofotometrie
Natriumbromide	Baker	99	aqua dest.	Zichtbaar licht spectrofotometrie
Zwavelzuur	Baker	96	aqua dest.	Potentiometrie

<sup>a</sup> Mangaan ethyleenbisdithiocarbamaat.

<sup>b</sup> Tetrapropyleen benzeen sulfonaat.

<sup>c</sup> Dimethylsulfoxide.

TABEL II - Samenvatting van de resultaten van het chronisch toxicologisch onderzoek met *D. magna* in experimenteel gecontamineerd IJsselmeerwater (mg/l).

Stof	Life-table experimenten				Populatie toxiciteitsstudies	
	LC <sub>50</sub> -21 dagen en 99% BI	overleving	carapax lengte	r <sub>m</sub>	EC <sub>50</sub> (yield) en 95% BI	EC <sub>10</sub> (yield)
Cadmiumchloride (als Cd)	14(6-32) x 10 <sup>-3</sup>	0,032	3,2 x 10 <sup>-4</sup>	0,010	2,0(0,4-8,8) x 10 <sup>-3</sup>	1,1 x 10 <sup>-4b</sup>
Kaliumdichromaat (als Cr)	0,5(0,2-1,1)	0,6	0,1	0,6	0,64(0,03-13,4)	0,5
Natriummetavanadaat (als V)	1,7(0,4-4,2)	4,2	0,4	4,2	1,5(1,3-1,7)	1,0
Maneb	0,11(0,09-0,13)	0,1	0,06	0,1	0,06(0,05-0,07)	0,03
Pentachloorfenol	0,8(0,6-1,0)	1,0	0,56	1,0	0,23(0,18-0,31)	0,14
Pentachloorbenzeen	0,24(0,18-0,32)	0,18	0,10	0,18	0,12(0,08-0,16)	0,05
2,4-Dichlooraniline	3(1-10)	1,0	3,2	0,1	0,12(0,10-0,16)	0,06
TPBS	11(6-18)	10	10	5,6	8,3(4,9-14,3)	8,1
Natriumbromide (als Br)	10 <sup>a</sup>	10 <sup>a</sup>	100	32	14(9-19) <sup>c</sup>	19
Zwavelzuur (als pH)	5,5(5,0-6,1)	5,6	5,6	6,1	5,6(5,5-5,7) <sup>d</sup>	5,8 <sup>d</sup>

<sup>a</sup> Lowest rejected concentration tested ( $\alpha < 0,01$ ).

<sup>b</sup> Berekend uit log yield = 2,85 - 0,20 log [Cd]; (10).

<sup>c</sup> No effect level.

<sup>d</sup> De modelvariatie werd aanzienlijk gereduceerd als een effect op de reproductiesnelheid werd aangenomen.

De EC<sub>50</sub> en EC<sub>10</sub> voor deze parameter waren respectievelijk 5,5(5,4-5,6) en 5,9.

mogelijk te maken werden de experimenten in vijfvoud uitgevoerd. De daphnia's werden iedere dag gevoed met  $3 \times 10^8$  cellen/l van de eencellige groene alg *Chlorella pyrenoidosa*. Sterfte en reproductie van de daphnia's werden iedere dag genoteerd. Nieuwgeborenen werden geteld en vervolgens verwijderd. Na 3 weken werden de experimenten beëindigd en de lengte van de carapax van alle overlevende volwassen daphnia's werd gemeten.

De dynamica van expanderende populaties van *D. magna* onder invloed van verschillende concentraties van een stof is bestudeerd in een doorstroomsysteem (afb. 2). Voordat de toetsoplossingen en de algensuspensie werden toegevoegd, werd het water belucht. De waterstroom door de testvaten van 20 l was 667 ml/h. De concentratie *C. pyrenoidosa* was  $3 \times 10^8$  cellen/l. De testvaten waren opgebouwd uit een buiten- en een binnenbak. De binnenbak met een inhoud van 16 l was verdeeld in vier compartimenten die elk een populatie bevatten. De test werd gestart met exponentieel groeiende populaties van 20 daphnia's samengesteld uit cohorten van verschillende leeftijd. De stabiele leeftijdsopbouw werd berekend met behulp van vergelijking 2, met  $r_m = 0,3$  en  $I_x = 1,0$  [10].

Op verschillende tijdstippen is het totaal aantal daphnia's in ieder testcompartiment geteld. Tevens zijn op diverse tijdstippen monsters genomen om de concentratie van de toetsstof te bepalen. De resultaten van de toets met maneb (mangaan ethyleenbisdithiocarbamaat) echter, zijn gebaseerd op nominale concentraties.

### 3. Berekening en statistische verwerking

De LC<sub>50</sub>-waarden (de letale concentratie; de concentratie waarbij 50% van de testorganismen sterft) voor de semi-statische testopzet zijn door middel van grafische interpolatie bepaald. Die concentraties waarbij respectievelijk 1 en 100% sterfte optreedt kunnen beschouwd worden als een 99% betrouwbaarheidsinterval [11]. De exponentiële groeiconstante ( $r_m$ ) voor elke replicatie is berekend door substitutie van de dagelijks genoteerde effecten op overleving en reproductie in formule 1. Verschillen in gemiddelde overleving,  $r_m$  en lengte van de carapax tussen toetsconcentraties en blanco, werden getoetst met behulp van de methode beschreven door Williams [12, 13]. Op de gegevens betreffende overleving werd eerst de arcsinus-worteltransformatie toegepast. De laagste concentratie die significant verschilt ten opzichte van de blanco wordt aangeduid als de LRCT (lowest rejected concentration tested) volgens Skalski [14].

De effecten van de testverbindingen op de populatiedynamica van *D. magna* zijn berekend met behulp van een parametrisch model ontwikkeld door Kooyman et al. [15]. Bij dit model wordt aangenomen dat de populatiegroeifunctie een logistische functie van de tijd is en dat de overlevingskans, groeisnelheid of maximale opbrengst (yield of carrying capacity) afneemt volgens een logistische functie van de concentratie van de toetsstof.



In formule:

$$N(t,c) = E(c) Y(c)$$

$$[E(c) + \{Y(c) - E(c)\} \exp\{-tR(c)\}]^{-1} \text{ (verg. 3)}$$

Hierin is  $N(t,c)$  het gemiddeld aantal daphnia's per compartiment op tijdstip  $t$ , bij toetsconcentratie  $c$ ;  $E_c$  is het inoculum, het gemiddeld aantal daphnia's per compartiment op tijdstip  $t = 0$  en concentratie  $c$ ;  $Y(c)$  is de opbrengst of yield, het gemiddeld aantal daphnia's per compartiment verkregen in de test bij concentratie  $c$ ;  $R_c$  is de groeisnelheid bij toetsconcentratie  $c$ . Deze drie typen van effecten kunnen zowel apart als gecombineerd voorkomen.

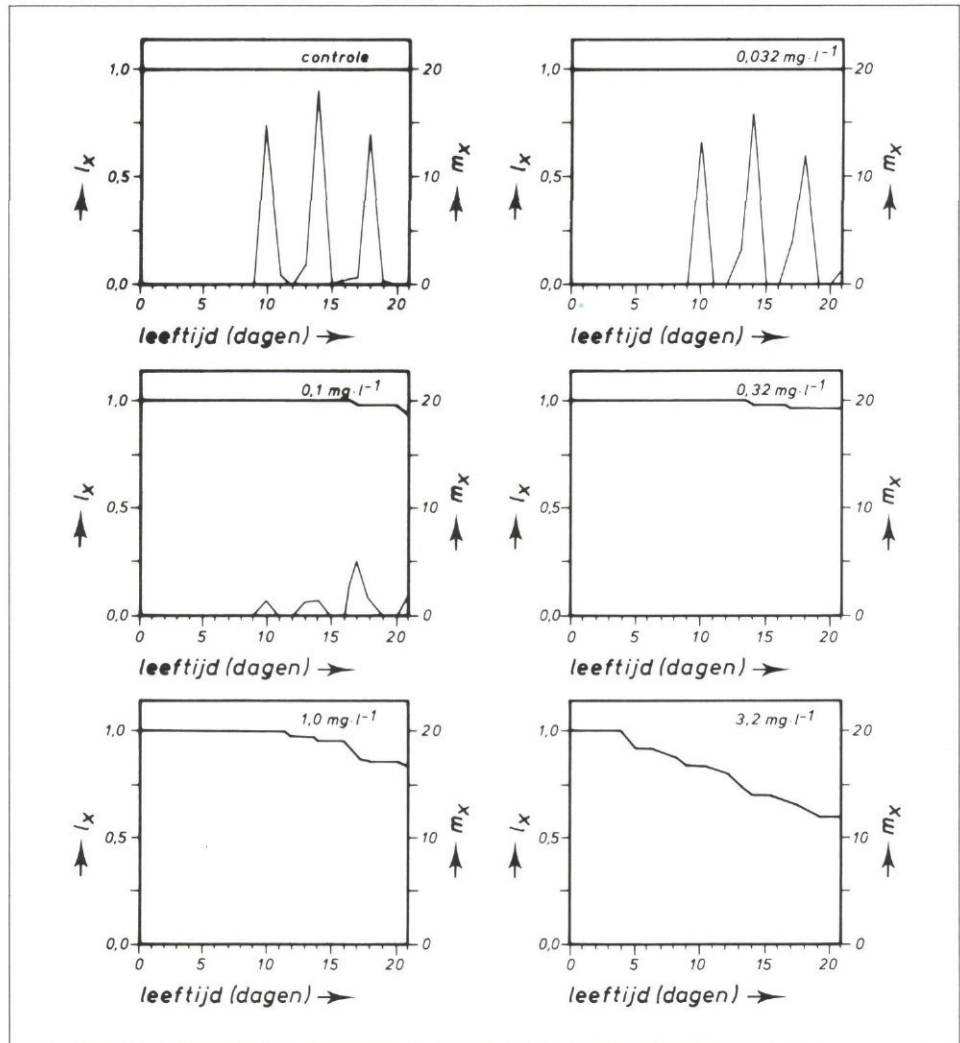
#### 4. Resultaten

Een overzicht van de resultaten van zowel de life-table experimenten als de populatiegroei experimenten met inbegrip van de resultaten van de experimenten met cadmium en bromide, welke reeds afzonderlijk zijn gerapporteerd [10, 16], wordt gegeven in tabel II. In de life-table experimenten blijkt individuele groei met name in de toetsen met zware metalen en bromide een gevoelige parameter (tabel II en III). De exponentiële groeiconstante ( $r_m$ ) blijkt een zeer gevoelige parameter in toetsen met 2,4-DCA (tabel IV) en bromide. Het verschil tussen de 21d-LC<sub>50</sub>, de LRCT voor overleving en de LRCT voor  $r_m$  echter bedroeg met uitzondering van die voor bromide en 2,4-DCA nooit meer dan een factor 3 (tabel II), zodat geconcludeerd moet worden dat overleving in de meeste gevallen de bepalende factor is voor de exponentiële groei. Beschouwt men de resultaten van de toxiciteitsexperimenten met populaties dan blijkt allereerst dat deze populaties een bijna perfecte logistische groei vertonen. Alle gebruikte modelstoffen bleken een effect op de maximale opbrengst te hebben. Na het bereiken van de maximale dichtheid in numerieke zin, trad meestal een sterke reductie op van het aantal daphnia's (vergelijk afb. 6).

Voor geen van de stoffen met uitzondering van bromide konden no-effect-niveaus worden vastgesteld. Voor een vergelijking van de resultaten van de toxiciteitsexperimenten met cohorten en populaties werden daarom voor het laatste type experiment EC<sub>10</sub>-waarden berekend: concentraties die de opbrengst ten opzichte van de controle met 10% reduceerden. Wanneer de resultaten van de cohort experimenten, ten aanzien van de effecten op  $r_m$ , vergeleken worden met de populatiegroei experimenten (tabel II) blijkt dat in bijna alle gevallen de yield c.q. de carrying capacity de meest gevoelige parameter is.

#### 5. Discussie

Om effecten van de stoffen op de populatie-



Afb. 4 - Life-table van *D. magna* bij verschillende concentraties van 2,4-DCA: overlevingscurve (dikke lijn) en reproductiecurve (dunne lijn). Bij  $0,1 \text{ mg l}^{-1}$  treedt een duidelijke reductie op in de worpgrooite.

TABEL III – Resultaten van een semi-statische life-table toets met *D. magna* in  $K_2Cr_2O_7$ -gecontamineerd IJsselmeerwater.

Concentratie (mg/l Cr)	Overleving (%) na 21 dagen	Gem. $r_m \pm SD$ ( $\text{dag}^{-1}$ )	Gem. carapax lengte $\pm SD$ (mm)
0	98	$0,332 \pm 0,010$	$4,11 \pm 0,11$
0,06	98	$0,327 \pm 0,005$	$4,02 \pm 0,08$
0,11	98	$0,331 \pm 0,002$	$3,90 \pm 0,15^a$
0,20	98	$0,332 \pm 0,006$	$3,87 \pm 0,14$
0,35	84	$0,331 \pm 0,005$	$3,67 \pm 0,14$
0,64	10	$0,257 \pm 0,009^a$	–
1,13	0	–	–

<sup>a</sup> LRCT ( $\alpha < 0,01$ ).

TABEL IV – Resultaten van een semi-statische life-table toets met *D. magna* in IJsselmeerwater dat experimenteel gecontamineerd werd met 2,4-dichlooraniline.

Concentratie (mg/l)	Overleving (%) na 21 dagen	Gem. $r_m \pm SD$ ( $\text{dag}^{-1}$ )	Gem. carapax lengte $\pm SD$ (mm)
controle	100	$0,312 \pm 0,004$	$4,03 \pm 0,10$
DMSO controle	100	$0,306 \pm 0,005$	$4,03 \pm 0,09$
0,01	100	$0,306 \pm 0,007$	$3,99 \pm 0,10$
0,032	100	$0,301 \pm 0,004$	$4,05 \pm 0,10$
0,10	94	$0,157 \pm 0,022^a$	$4,02 \pm 0,15$
0,32	96	–	$4,12 \pm 0,13$
1,0	84	–	$4,06 \pm 0,13$
3,2	60	–	$3,14 \pm 0,15^a$
10,0	00	–	–

<sup>a</sup> LRCT ( $\alpha < 0,01$ ).

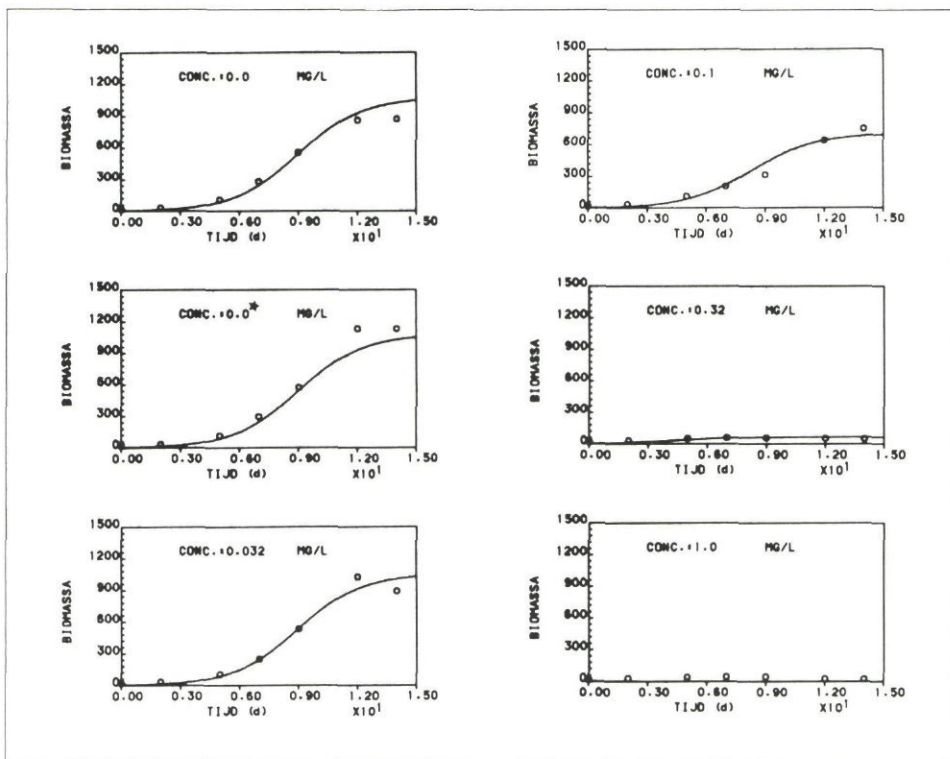
dynamica van *D. magna* te kwantificeren, is gebruik gemaakt van programmatuur gebaseerd op het populatiegroei-model van Kooyman e.a. [15] die voornamelijk wordt toegepast voor de verwerking van de resultaten van toxiciteitstoetsen met algen. In dit model wordt een logistische functie verondersteld tussen de concentratie van de toetsstof en de grootte van het effect op een drietal onderscheiden parameters, te weten: ent, populatiegroeisnelheid en maximale groei-opbrengst. Bij de toepassing van deze programmatuur voor de toxiciteitsexperimenten met *D. magna* traden echter enkele beperkingen aan het licht.

– Oscillaties om een evenwichtsniveau van de maximale opbrengst, vermoedelijk veroorzaakt door time-lags in de respons van populaties op omgevingsveranderingen konden niet met behulp van dit model worden verwerkt (vergelijk afb. 6). Dit gold ook voor veranderingen in de leeftijds-structuur (grootte-structuur) van de populaties [cf. 16]. Deze gegevens werden dan ook niet in de berekening meegenomen. De groeicurves werden als het ware afgekapt na het bereiken van maximale dichtheden in de controle en belaste situaties. Overigens moet worden opgemerkt dat ook groei van algenpopulaties nauwelijks logistisch is nadat deze hun maximale dichtheid hebben bereikt.

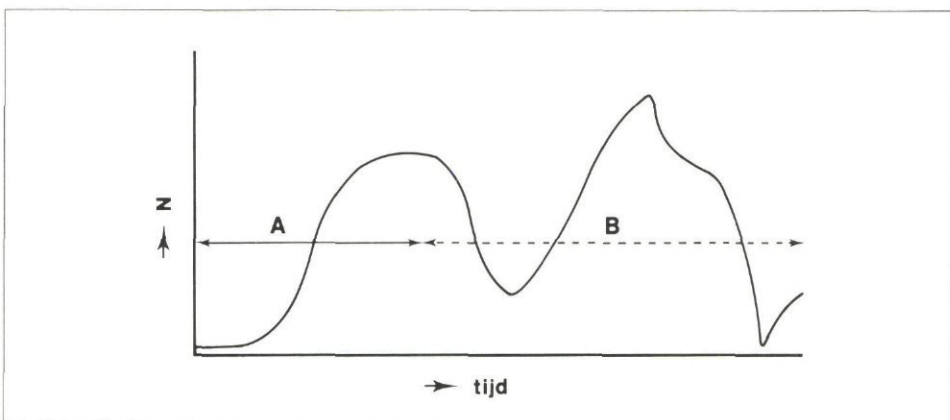
– Stimulatie van de populatiegroei bij lage concentraties van enkele modelstoffen kon eveneens niet met behulp van dit model verwerkt worden. Deze gegevens werden dan ook weggelaten bij de modelmatige verwerking. In de overige gevallen bleek het model geschikt om EC-waarden en, waar detecteerbaar, no-effect-levels voor de verschillende parameters te bepalen en is de relatieve eenvoud, in populatie-dynamische zin, alleen maar een voordeel.

Een vergelijking van de verschillende parameters in de life-table experimenten leert dat effecten op de onderscheiden parameters in veel gevallen optreden bij verschillende concentraties van de teststof. Hoewel sterfte veroorzaakt door chemische stress in veel gevallen een dominante factor is voor de populatiegroei bieden de testresultaten niet de mogelijkheid tot het trekken van eenduidige conclusies ten aanzien van een specifiek gevoelige parameter. Derhalve kan geconcludeerd worden dat de responses sterk stof-specifiek zijn. Opvallend is echter, dat wanneer beide testmethoden worden vergeleken, de logistische groei en met name de yield of carrying capacity veelal een gevoeliger parameter is dan de exponentiële groeisnelheid ( $r_m$ ; tabel II).

Hiervoor zijn verschillende redenen aan te geven. Het eerste verschil tussen beide methoden is dat in het eerste type experiment organismen



Afb. 5 - De groei van *D. magna* populaties in een doorstroomsysteem experiment in 2,4-DCA gecontamineerd IJsselmeerwater; Conc.: 0,0\* is de oplosmiddelcontrole.



Afb. 6 - Populatie-dynamica zoals bestudeerd in de geïdealiseerde laboratorium situatie (A) en de complexe veldsituatie (B).

niet belast zijn geweest gedurende de oögenese en embryogenese. Dit is wel het geval voor de eerste en volgende generaties ( $F_1$  en  $F_2$ ) geboren in de experimenten met populaties. In life-table studies en andere chronische routine testen met *D. magna* worden bovendien alleen levende jongen gescoord, maar wordt in het algemeen niet onderzocht of de  $F_1$  een verstoorde ontwikkeling, groei of reproductie vertoont. Ook dit wordt impliciet bestudeerd in experimenten met populaties. Een tweede, en waarschijnlijk veel belangrijker verschil tussen life-table studies en experimenten met expanderende populaties, is de voedselsituatie. Life-table experimenten worden veelal uitgevoerd bij constante, vaak onrealistisch hoge voedseldichtheden [17]. In populatiegroei-experimenten echter,

geraken populaties door het explosieve karakter van de exponentiële fase van de populatie-groei, vanzelf in een voedsel-gelimitede situatie. In de experimenten met cohorten treedt geen voedselstress op omdat de jongen regelmatig uit de testvaten worden verwijderd. Voedsel-stress heeft tot gevolg dat daphnia's intensiever moeten filtreren om aan voldoende voedsel te komen. Deze verhoogde filtratiesnelheid, die een evenredig verband vertoont met het verbruik aan energie [18] kan derhalve resulteren in een geringere beschikbaarheid van energie ten behoeve van reproductie. Verwacht mag worden dat de voedsel-stress maximaal is op die momenten dat de populatie zijn maximum bereikt heeft (zie afb. 2) en ook mag verwacht worden dat toxische stoffen op deze momenten een maximum aan effect



tewegbrengen [cf. 19]. Het is dan ook niet verwonderlijk dat in de populatie-toxiciteitsstudies alle teststoffen de yield reduceerden. Dit kan verklaard worden door interferentie van de toetsverbindingen met basale cellulaire metabole processen c.q. door chemisch-geïnduceerde reducties van de voedselconversie en filtratie-efficiëntie [cf. 20-22]. Hoewel de effecten op de yield, gezien de optredende oscillaties in de maximale dichtheden [16, 23] nog niet adequaat konden worden gemodelleerd kan op basis van de gepresenteerde resultaten gesteld worden dat stoffen deze parameter in belangrijke mate nadelig beïnvloeden. Dit is gezien de plaats van crustaceën in het voedselweb van grote ecotoxicologische importantie.

## 6. Conclusies

– De vergelijking van semi-statische life-table testen met populatie-toxiciteitsstudies leert dat met de laatste methode veelal effecten kunnen worden vastgesteld bij (veel) lagere concentraties van de teststof. Alle stoffen bleken de maximale dichtheid van *Daphnia magna* populaties te reduceren. – Dit wordt waarschijnlijk veroorzaakt doordat in experimenten met populaties naast stress veroorzaakt door de gifstoffen ook voedselstress optreedt. Chemisch-geïnduceerde reducties in de filtratie- en voedselconversie-efficiëntie worden hierdoor beter zichtbaar. Met andere woorden experimenten met populaties werken als een vergrootglas voor subletale effecten. Deze effecten zijn, lettende op de plaats van kreeftachtigen in het voedselweb, van groot belang.

## Literatuur

- Boon, J. P. en Leeuwen, C. J. van (1985). *Een oriëntatie op ecotoxicologisch onderzoek*. Rijkswaterstaat-Nota (DDMI) 85.16.
- Koeman, J. H. (1985). *Advies stimuleringsplan toxicologisch onderzoek*. Vakgroep Toxicologie. Landbouwhogeschool Wageningen.
- Herrick, E. E. and Schaeffer, D. J. (1984). *Compliance biomonitoring-standard development and regulation enforcement using biomonitoring data*. In: Freshwater biological monitoring (Pascoe, D. and Edwards, R. W., eds.). Pergamon Press, Oxford.
- Lotka, A. J. (1913). *A natural population norm*. J. Wash. Acad. Sci. 3, 241-248, 289-293.
- Halbach, U., Siebert, M., Westermayer, M. and Wissel, C. (1983). *Population ecology of rotifers as a bioassay tool for ecotoxicological tests in aquatic environments*. Ecotoxicol. Envir. Saf. 7, 484-513.
- Halbach, U. (1984). *Population dynamics of rotifers and its consequences for ecotoxicology*. Hydrobiologia 109, 79-96.
- Pielou, E. C. (1977). *Mathematical Ecology*. John Wiley & Sons Inc., New York.
- Roughgarden, J. (1979). *Theory of Population Genetics and Evolutionary Ecology: An introduction*. MacMillan, New York.
- OECD (1981). *Guidelines for testing of chemicals*. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris.
- Leeuwen, C. J. van, Luttmer, W. J. and Griffioen, P. S. (1985a). *The use of cohorts and populations in chronic*

*toxicity studies with Daphnia magna: A Cadmium example*. Ecotoxicol. Envir. Saf. 9, 26-37.

- Stephan, C. E. (1977). *Methods for calculating an LC<sub>50</sub>*. In: Aquatic toxicology and hazard evaluation (F. L. Mayer and J. L. Hamelink, eds.). ASTM STP 643, Philadelphia, pp. 64-84.
- Williams, D. A. (1971). *A test for differences between treatment means when several dose levels are compared with a zero dose control*. Biometrics 27, 103-117.
- Williams, D. A. (1972). *The comparison of several dose levels with a zero dose control*. Biometrics 28, 519-531.
- Skalski, J. R. (1981). *Statistical inconsistencies in the use of no-observed-effect levels in toxicity testing*. In: Aquatic toxicology and hazard assessment (D. R. Branson and K. L. Dickson, eds.). American Society for Testing and Materials, Baltimore.
- Kooyman, S. A. L. M., Hanstveit, A. O. and Oldersma, H. (1983). *Parametric analyses of population growth in bioassays*. Water Res. 17, 527-538.
- Leeuwen, C. J. van, Rijkeboer, M. and Niebeek, G. (1986). *Population dynamics of Daphnia magna as modified by chronic bromide stress*. Hydrobiologia 133, 277-285.
- Buikema, A. L. Jr., Geiger, J. G. and Lee, D. R. (1980). *Daphnia toxicity tests*. In: Aquatic invertebrate Bioassays (Buikema, A. L. Jr. and J. Cairns Jr., eds.). ASTM STP 715, Philadelphia.
- Kersting, K. (1978). *Some features of feeding, respiration and energy conversion of Daphnia magna*. Hydrobiologia 59, 113-120.
- Kooyman, S. A. L. M. and Metz, J. A. J. (1984). *On the dynamics of chemically stressed populations: the deduction of population consequences from effects on individuals*. Ecotoxicol. Envir. Saf. 8, 254-274.
- Bruin, A. de (1976). *Biochemical toxicology of environmental agents*. Elsevier, Amsterdam.
- Putte, I. van der (1981). *An assessment of the environmental toxicity of hexavalent chromium in fish*. Thesis, Wageningen.
- Leeuwen, C. J. van, Moberts, F. and Niebeek, G. (1985b). *Aquatic toxicological aspects of dithiocarbamates and related compounds II. Effects on survival reproduction and growth of Daphnia magna*. Aquat. Toxicol., 7, 165-175.
- Marshall, J. S. (1978). *Population dynamics of Daphnia galeata mendotae as modified by chronic cadmium stress*. J. Fish. Res. Board Can. 35, 461-469.



## Normontwerpen en ontwerp praktijkrichtlijn water verschenen

Bij het Nederlands Normalisatie-instituut zijn onlangs de volgende ontwerpen verschenen:

NEN 6523 Water – Een methode voor de berekening van het gehalte aan waterstofcarbonaat, koolstofdioxide en carbonaat uit het gehalte aan totaal koolstofdioxide en de pH.

NEN 6533 Water – Bepaling van de agressiviteit ten opzichte van calciumcarbonaat en berekening van de verzadigingsindex.

NEN 6536 Water – Ontzuring met chemicaliën en basische filters.

NPR 6538 Water – Toelichting bij de bepaling van agressiviteit en ontzuring volgens NEN 6533 en NEN 6536.

Deze ontwerpen zijn opgesteld door de werkgroep anorganische koolstof van de

normcommissie 390 147 'Waterkwaliteit'. In verband met de behoefte aan een periode om de normen voor agressiviteit en ontzuring in de praktijk te toetsen, is een verlengde kritiektermijn vastgesteld. Kritiek op ontwerp NEN 6523 wordt ingewacht vóór 1 juni 1987 en op de overige ontwerpen vóór 1 september 1987, bij het Nederlands Normalisatie-instituut, Postbus 5059, 2600 GB Delft. Exemplaren van de ontwerpen zijn tegen vergoeding bij bovengenoemd instituut verkrijgbaar.

## Nieuwe ontwerpnorm en -praktijkrichtlijn Bacteriologisch onderzoek van water verschenen

In februari 1987 zijn gepubliceerd ontwerp NEN 6261 'Bacteriologisch onderzoek van water – Kwantificeren van Escherichia coli van de membraanfiltratiemethode' en ontwerp NPR 6262 'Bacteriologisch onderzoek van water – Toelichting bij het kwantitatief onderzoek van Escherichia coli volgens NEN 6261'.

De ontwerpnorm en de bijbehorende toelichting beschrijven een snelle en directe methode voor het aantonen en kwantificeren van E. coli in water, als alternatief voor de bepaling van thermotolerante bacteriën van de coligroep. Deze beide parameters worden beschouwd als indicator voor de faecale verontreiniging van water.

Ter controle van de hygiënische betrouwbaarheid van drinkwater bestaan er twee genormaliseerde meetmethoden voor thermotolerante bacteriën van de coligroep in respectievelijk drink- en oppervlaktewater (NEN 6552 en NEN 6570). De methoden hanteren de lactosevergisting bij 44 °C als criterium voor de detectie.

De bepaling van E. coli volgens NEN 6261 is gebaseerd op het vermogen van deze bacteriën om indol te vormen uit tryptofaan. De methode is in het bijzonder specifiek voor E. coli, omdat slechts in ca. 1% van de gevallen geen indolvorming optreedt bij aanwezigheid van E. coli. Daarnaast zijn door de korte incubatietijd de resultaten snel (binnen 24 uur) beschikbaar. Tenslotte wordt het gebruik van de methode aanbevolen in verband met de grote gevoeligheid voor subletaal beschadigde bacteriën. Kritiek op genoemde ontwerpnorm en -praktijkrichtlijn wordt vóór 1 juni 1987 ingewacht bij het NNI, Postbus 5059, 2600 GB Delft.

De ontwerpnorm en -praktijkrichtlijn kunnen worden besteld door overmaking van f 18,66 (inclusief btw) op postrekening 25301 ten name van het NNI te Delft onder vermelding van 'Ontwerp NEN 6261 en NPR 6262'.