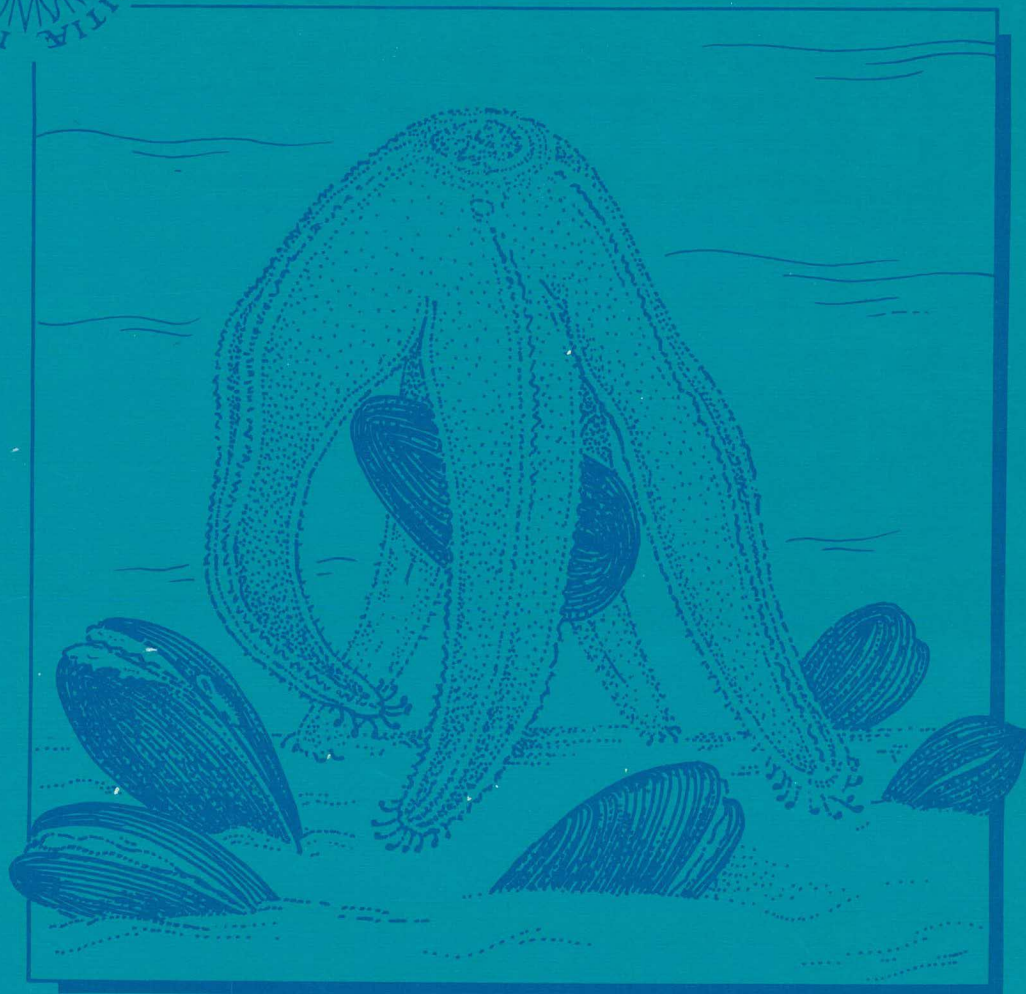


UNIVERSITEIT UTRECHT



**Mossel en zeester
als bio-indicatoren
voor de vervuiling
van onze estuaria
en kustwateren**



B14289

Mossel en zeester als bio-indicatoren
voor de vervuiling van onze estuaria
en kustwateren

1

RIJKSWATERSTAAT

Dienst Binnenvaart RIZA

Maerlant 4-6

8224 AC

Postbus 17

8200 AA Lelystad

dr. P.J. den Besten en
dr. M.B. Veldhuizen-Tsoerkan

**Mossel en zeester
als bio-indicatoren
voor de vervuiling
van onze estuaria
en kustwateren**

Inhoud

7	Inleiding	5
11	Hoe reageert de zeemossel op cadmium en PCB's?	
17	Effecten van cadmium en PCB's op de voortplanting van de zeester	
23	Hoe verder?	
25	Literatuur	
26	Colofon	

Inleiding

7

Onder invloed van getij, seizoensafhankelijke rivierafvoer en wisselende meteorologische omstandigheden vertonen estuaria een sterk dynamisch gedrag. De veelal complexe geometrie, bestaande uit een ingewikkeld stelsel van geulen en platen, versterkt dit nog. De getijdelandenschappen worden bij uitstek ervaren als grootschalige natuurlijke landschappen, die met het getij iedere zes uur van aanzien veranderen.

Estuaria staan bekend om hun hoge biologische activiteit. Met name geldt dit voor slikken en schorren. Bovendien zijn deze gebieden belangrijke voedings- en verblijfplaatsen voor vogels. De brakke en zoute kustwateren zijn van vitale betekenis voor het functioneren van het Noordzee-ecosysteem. Ze vormen de kraamkamers, paai- en opgroeigebieden voor tal van vissoorten.

Het gebied rond de estuaria heeft echter ook een hoge bevolkingsdichtheid en veel industrie. Dit houdt in dat deze unieke gebieden tevens tot de meest vervuilde gebieden behoren. Het Schelde-estuarium is hiervan een uitgesproken voorbeeld.

Bij eb komen in het estuarium grote gebieden droog te liggen. Hierdoor kunnen dieren als mosselen voor een bepaalde tijd geen voedsel en zuurstof opnemen. Bij het droogvallen sluiten ze de kleppen om uitdroging te voorkomen. Dit leidt tot zuurstofstress en soms, op een warme zomerdag, tot temperatuurstress. Om te kunnen overleven zijn dieren die in de getijdezone leven daarom aan zulke, steeds terugkerende, veranderingen aangepast.

In de getijdezone komen dus in de regel soorten voor die tolerant zijn voor de vaak grote verschillen in bijvoorbeeld zoutgehalte of die zich daaraan snel kunnen aanpassen. Aan deze natuurlijke vormen van stress moet stress door milieuvervuiling als een bijkomende (negatieve) faktor worden toegevoegd. Dit betekent een extra belasting voor flora en fauna van estuaria en kustwateren. De gevolgen van vervuiling voor planten en dieren zijn echter veelal onbekend. De resultaten verkregen in laboratoriumonderzoek laten zich vaak moeilijk vertalen naar de veldsituatie.

Mosselbed bij eb.

Om het energieverlies te reduceren neemt de stofwisseling van de mossel bij droogliggen sterk af.



8

Om meer inzicht te krijgen in de effecten van milieugevaarlijke stoffen in mariene organismen is in 1986 een onderzoek gestart waarin getracht is een verband te leggen tussen laboratorium- en veldgericht onderzoek. Dit laatste is bedoeld om voorspellingen te kunnen doen over risico's die ecosystemen bij langdurige vervuiling lopen. In deze brochure worden de belangrijkste uitkomsten van een vierjarig onderzoek naar de effecten van cadmium en polychloorbifenylen (PCB's) op de mossel en de zeester beschreven. Het onderzoek is uitgevoerd door de onderzoeksgroep Aquatische Toxicologie van de Rijksuniversiteit Utrecht, in opdracht van de Dienst Getijdewateren van Rijkswaterstaat.

Er waren verschillende redenen waarom mossel en zeester als proefdieren zijn gekozen. In de eerste plaats was uit veldwaarnemingen bekend dat de zeester *Asterias rubens* L. de laatste decennia alleen nog maar in het westelijk deel van de Westerschelde voorkomt. De dieren worden daar nog maar in kleine aantallen waargenomen en het betreft meestal zeer kleine exemplaren. Dit alles zou kunnen wijzen op een achteruitgang van de populatie ten gevolge van de sterk toegenomen vervuiling. Hetzelfde doet zich, zij het in wat mindere mate, voor bij de mossel *Mytilus edulis* L.

In de tweede plaats vormen mossel en zeester een onderdeel van de voedselketen alg-mossel-zeester. De mossel wordt verder in verschillende monitoring programma's gebruikt, zowel op wereldschaal ('Musselwatch'), in Europa ('Joint Monitoring Program') als nationaal (meetnet 'Actief Biologisch Monitoring').

Tenslotte was belangrijk bij de keuze van mossel en zeester dat bij de vakgroep Experimentele Dierkunde te Utrecht jarenlang onderzoekservaring was opgedaan met deze soorten. Met name van de stofwisseling van de mossel en de voortplanting van de zeester was al veel bekend.

PROEFDIERSOORTEN

DE MOSSEL ALS PROEFDIER

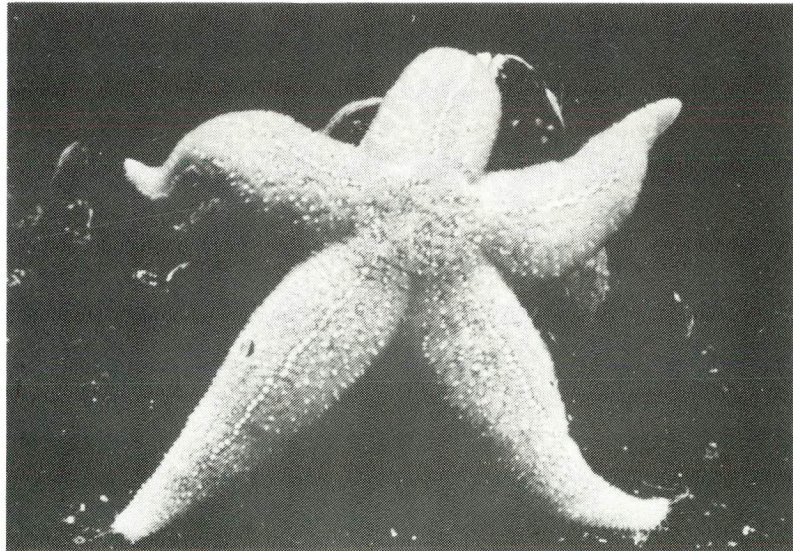
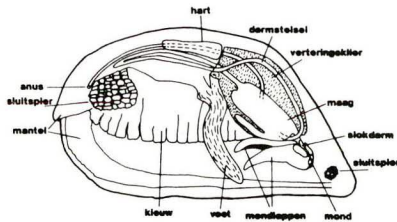
(onder) Anatomie van de mossel. Veel 'in vitro' proeven zijn uitgevoerd met het dunne, uitgeprepareerde kieuw-weefsel. De kieuw is een orgaan dat, doordat het zeewater er langsgepompt wordt, in sterke mate met toxische stoffen beladen wordt.

(rechts) Mosselen vormen het voornaamste voedsel voor de zeester.

De mossel (*Mytilus edulis* L.) is een algemeen voorkomende mollusk in de intergetijde-zone van onze kustwateren. In deze zone tussen hoog en laag water ondergaat de mossel dagelijkse schommelingen in zoutgehalte, temperatuur en voedselbeschikbaarheid. Daarenboven ondergaat het dier de jaarlijkse invloeden van de seizoenen. Door een plaatsgebonden levenswijze is de mossel niet in staat extreme veranderingen te ontvluchten. Schadelijke invloeden van giftige stoffen bijvoorbeeld kunnen slechts tijdelijk worden ontweken door schelpsluiting.

Het voedsel van de mossel bestaat voornamelijk uit plankton dat uit het water wordt gefilterd. Het dier kan al na een jaar geslachtsrijp zijn en waarschijnlijk een leeftijd van meer dan tien jaar bereiken. In de zomer en het vroege najaar wordt het merendeel van het opgenomen voedsel in de vorm van glycogeen opgeslagen. Vanaf oktober/november begint de ontwikkeling van de geslachtsklieren of gonaden (gametogenese) ten koste van de opgeslagen voedselreserves. De rijping van de geslachtsprodukten vindt haar hoogtepunt in het vroege voorjaar. De voortplanting ('spawning') vindt plaats in april/mei bij het afzetten van miljoenen ei- en zaadcellen of gameten. De geslachtsprodukten van vrouwelijke en mannelijke dieren ontmoeten elkaar in het water waar de eieren worden bevrucht. De zich hieruit ontwikkelende larven zwemmen ongeveer een maand vrij rond om vervolgens, na de schelpvorming, naar de bodem te zakken (broedval) om jonge mosselen te worden.

Onderzoek aan mosselen wordt vaak uitgevoerd aan geïsoleerde weefsels en organen. Bijgaande tekening geeft een overzicht van de anatomie van de mossel.



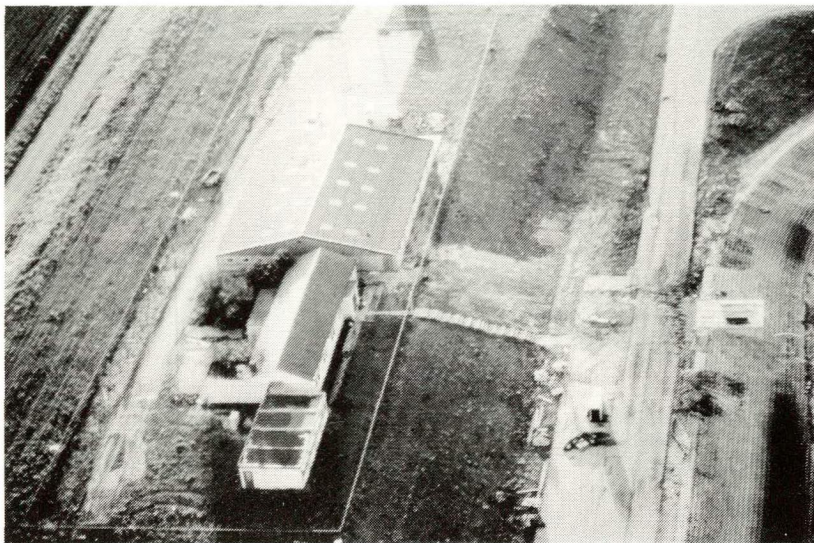
DE ZEESTER ALS PROEFDIER

Ook de zeester (*Asterias rubens* L.) is een voor onze kustwateren representatieve diersoort. De zeester voedt zich hoofdzakelijk met mosselen. De voortplanting vindt bij de zeester eenmaal per jaar plaats. In het voorjaar (mei) worden door mannelijke en vrouwelijke dieren grote hoeveelheden zaad- en eicellen in het zeewater geloosd. Deze 'spawning' is een enorme inspanning voor het dier. Het gaat namelijk jaarlijks om een hoeveelheid geslachtscellen die 20 tot 30% van het totale lichaamsgewicht uitmaakt. De rest van het jaar is in feite een voorberei-

ding voor de volgende spawning. Hiertoe slaat de zeester in de zomer bouwstoffen op in speciale organen, de 'caeca pylorica' of maagblindzakken. In het najaar vindt bij de vrouwelijke dieren de dooiervorming in de oöcyten (onrijpe eicellen) plaats. De hiervoor benodigde stoffen worden onttrokken aan de caeca pylorica. Bij mannelijke dieren worden de opgeslagen stoffen gebruikt voor de produktie van zaadcellen. Tijdens de spawning worden de eicellen bevrucht en volgt de embryonale ontwikkeling. Het zeester-embryo doorloopt een groot aantal verschillende larvale stadia en na ongeveer een maand ontstaat een miniatuur-zeester.

De gedetailleerde kennis van de verschillende aspecten van de voortplanting van de zeester, van voorraadopslag in de volwassen zeester tot de embryonale ontwikkeling na de spawning, vormde de basis voor het onderzoek naar de effecten van milieuvervuiling op de verschillende hierbij betrokken processen. Het onderzoek concentreerde zich op de effecten van langdurige blootstelling aan lage concentraties toxische stoffen, met de bedoeling om zo de vergelijkbaarheid met de veld-situatie (bijvoorbeeld Westerschelde) zo groot mogelijk te maken. Omdat de afzonderlijke schakels van de voedselketen alg-mossel-zeester eenvoudig in het laboratorium gehouden konden worden, was het bovendien mogelijk zeesterren bloot te stellen langs de 'natuurlijke' weg.

10



Het begrip chronische toxiciteit

De toxiciteit van een stof kan omschreven worden als de mate waarin de stof schade kan toebrengen aan een levend organisme. De toxiciteit wordt bepaald door middel van dierproeven en andere testen. Vaak wordt de dodelijke of letale dosis (LD_{50}) of, in het geval van waterdieren, de letale concentratie (LC_{50}) gehanteerd als maat voor de giftigheid van een stof. Dit is de dosis of concentratie waarbij binnen korte tijd, meestal 2 tot 4 dagen, de helft van de proefdieren sterft. Voor de meeste organismen komen dergelijke concentraties in het milieu zelden voor. Toch kan een stof ook in lagere concentraties giftig zijn en wel wanneer een organisme daaraan gedurende langere tijd is blootgesteld. Hiervan zijn we op het terrein van de chronische toxiciteit beland. Deze kan zich uiten in het optreden van sterfte onder langdurig blootgestelde dieren, maar ook als een zogenaamd subletaal effect. Hierbij kan men denken aan de afname van de weerstand van het dier tegen andere milieu-invloeden of een negatieve beïnvloeding van de voortplanting. Van beide mogelijkheden zullen voorbeelden volgen.

Het veldstation Jacobahaven van DGW aan de monding van de Oosterschelde is gebruikt om de chronische effecten van cadmium en PCB's op mossel en zeester te onderzoeken. In grote proefbakken zijn mosselen en zeesterren uit de relatief schone Oosterschelde voor langere tijd (3 tot 9 maanden) blootgesteld aan lage concentraties cadmium en PCB's. Op deze wijze werd de situatie in de vervuilde Westerschelde zo goed mogelijk nagebootst.

Hoe reageert de zeemossel op cadmium en PCB's?

11

Schelpdieren, zoals de zoet- en zoutwatermossel en de oester, hebben een enorm vermogen om verontreinigingen in hun lichaam op te hopen zonder daar - ogenschijnlijk - veel nadeel van te ondervinden. Dit maakt deze plaatsgebonden diersoorten uitermate geschikt als biomonitor voor de waterkwaliteit.

Minder duidelijk is of de zeemossel zich ook leent om de *gevolgen* van verontreiniging te bepalen. De vraag is of er - betrekkelijk eenvoudig te bepalen - indicatoren (stressparameters) zijn die vroegtijdig aangeven dat het functioneren van het dier nadelig beïnvloed wordt door incidentele of permanente verontreiniging.

In het hier beschreven onderzoek is gezocht naar toxische effecten van cadmium en van PCB's, zowel op het niveau van het intacte organisme als op het cel- en moleculaire niveau. Hierbij stond het zoeken naar relatief gemakkelijk te hanteren stressparameters voorop.

Uit de te bespreken resultaten zal naar voren komen dat één, enkelvoudige parameter niet gevoelig genoeg is. Wordt daarentegen een combinatie van parameters toegepast, dan blijken contaminatie effecten goed te volgen te zijn.

Het onderzoek omvatte zowel kortdurende belastingen van de mossel met relatief hoge cadmium concentraties in het laboratorium te Utrecht, als ook langdurige belastingen met lagere cadmium- en PCB-concentratie in het veldlaboratorium. De resultaten hiervan worden vergeleken met die voor mosselen uit de 'schone' Oosterschelde die enkele maanden op drie locaties in de vervuilde Westerschelde waren uitgezet.

EFFECTEN VAN CADMIUM OP CELLULAIR/MOLECULAIR NIVEAU

De toxiciteit van cadmium berust waarschijnlijk in grote mate op het feit dat het cadmium ion sterk lijkt op het calcium en zink ion. Deze laatste twee zijn zogeheten essentiële elementen. Zonder calcium en zink kan een organisme niet goed functioneren. Vervanging van deze metalen door cadmium ver-

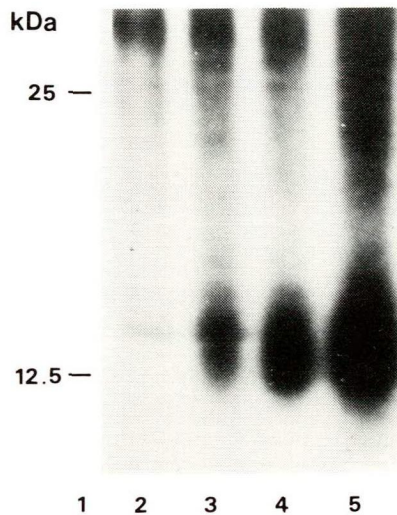


Fig.1 Elektroforese van kieuw-eiwitten waarin het radioactief gemerkte aminozuur cysteine is ingebouwd. De scheiding van de eiwitten is op moleculair gewicht. Bij stijgende cadmium-belasting wordt in de kieuw steeds meer van het cysteine-bevattende eiwit metallothioneïne aangemaakt. Dit eiwit, dat een moleculair gewicht heeft van ca. 12 500, bindt een deel van het cadmium in de cel.

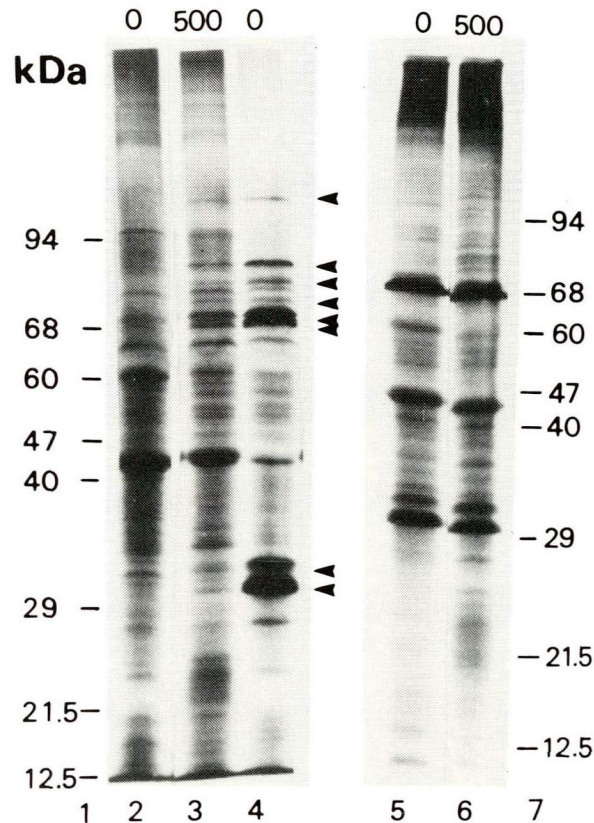


Fig. 2 Elektroforese van kieuw-eiwitten waarin het radioactief gemerkte aminozuur methionine is ingebouwd. Ten opzichte van de onbehandelde controle (2) zijn extra eiwitbandjes te zien (bij de pijltjes) die 'heat shock proteins' (HSP's) voorstellen, zowel na cadmiumbelasting (3; 48 uur bij 500 μg Cd per liter) als na een warmtebehandeling (4). Heat shock eiwitten hebben een beschermende functie in de cel, en worden extra aangemaakt als het dier in on-

gunstige omstandigheden ('stress') geraakt. In een ander experiment is eveneens een warmtebehandeling gegeven (5) en een combinatie van cadmiumbelasting (96 uur bij 500 μg Cd per liter) en warmtebehandeling (6). Vooral bij zo'n dubbele stress is de reactie in het dier - dus in dit geval de synthese van HSP's - goed merkbaar. Bij 1 en 7 zijn de posities van de ikeiwitten gemarkeerd.

stoort een aantal celfuncties. Dit kan uiteindelijk resulteren in diverse ziektebeelden zoals de beruchte *Itai-itai* ziekte, nierbeschadiging en zelfs kanker bij de mens en andere hogere dieren.

Ons onderzoek laat zien dat bij kortdurende blootstelling van mosselen aan cadmium de aanmaak van belangrijke macromoleculen, te weten eiwitten en RNA, geremd wordt. Tegelijk neemt tóe de aanmaak van twee specifieke eiwitgroepen die beide de cel - tot op zekere hoogte - beschermen tegen de schadelijke gevolgen van stress. Deze worden daarom *stressproteïnen* genoemd.

De eerste groep van stressproteïnen wordt gevormd door de *metallothioneïnen* (MT's). Dit zijn laagmoleculaire eiwitten met een hoog gehalte aan het

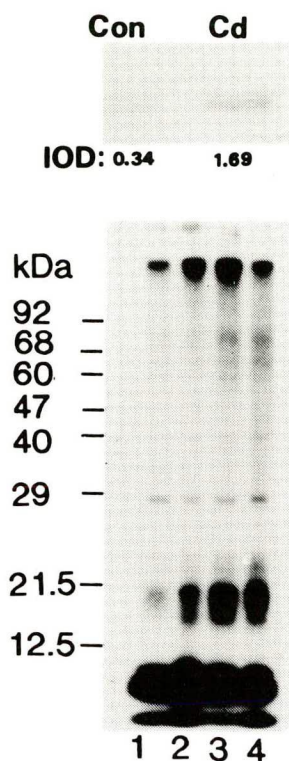


Fig. 3 (boven) Elektroforese van het RNA uit mosselkieuw, met links de onbehandelde controledieren en rechts cadmiumbelaste dieren (48 uur bij 500 µg Cd per liter). Door een speciale techniek ('Northern blot') wordt alléén messenger RNA van een proto-oncogen zichtbaar gemaakt. Meting van de intensiteit van de bandjes (IOD = integrated optical density) laat een toename in de kieuw zien van mRNA van dit proto-oncogen (*c-fos*), dat dus onder invloed van cadmium tot verhoogde expressie komt.

aminozuur cysteïne. Ze binden zwaar-metaalionen en maken ze zo voor de cel (voorlopig) onschadelijk. Bij kortdurende blootstelling aan cadmium zijn hoeveelheid en snelheid waarmee MT's gesynthetiseerd worden evenredig aan de cadmium concentratie (Figuur 1). Ook bij langdurige blootstelling aan lagere concentraties worden MT's gevormd. Maar dit gebeurt kennelijk in onvoldoende mate, want bij langere blootstelling stijgt het cadmiumgehalte in de hoogmoleculaire eiwitten. Dit is van belang omdat dit deel van het cadmium hierdoor potentiëel toxisch blijft.

De tweede groep eiwitten die door cadmium worden geïnduceerd zijn de zogeheten *heat shock proteins* (HSP's). Ze heten zo omdat deze eiwitten door bijna alle organismen worden gemaakt als de temperatuur snel wordt verhoogd. De hoofdfunctie van HSP's is bescherming van andere eiwitmoleculen en herstel wanneer deze tengevolge van stress beschadigd zijn.

In de mossel ontstaan HSP's zowel bij acute blootstelling aan cadmium als bij temperatuurverhoging (Figuur 2). Wanneer beide 'stressors' gecombineerd worden, d.w.z. blootstelling aan cadmium gevolgd door temperatuurverhoging, dan blijkt de aanmaak van HSP's te stijgen. De aanmaak is daarbij afhankelijk van de cadmium concentratie. Na chronische belasting met een lagere cadmium concentratie worden HSP's niet meteen waargenomen. Toch heeft wel degelijk een verandering op moleculair niveau plaatsgevonden. Na blootstelling van de aldus belaste dieren aan verhoogde temperatuur treedt namelijk een duidelijk grotere aanmaak van HSP's op dan in onbelaste dieren. Ook de mosselen die enkele maanden in de Westerschelde waren uitgezet gaven een veranderde HSP respons te zien. Alleen kan hier een directe correla-

Fig. 4 (onder) Elektroforese van kieuw-eiwitten waarin radioactief gemerkt fosfaat is ingebouwd.

- 1 - onbehandelde groep
- 2 - 72 uur belast bij 100 µg Cd per liter
- 3 - 72 uur belast bij 300 µg Cd per liter
- 4 - idem, bij 900 µg Cd per liter.

Bij toename van de cadmiumbelasting raken de eiwitten steeds sterker gefosforyleerd. Hierdoor kan de regulatie van diverse cellulaire processen verstoord worden.

tie met cadmium natuurlijk niet gelegd worden omdat ook andere verontreinigende stoffen voorkomen. In elk geval is er in de Westerschelde sprake van stress door toxische stoffen.

Op het moleculair-biologische vlak werd verder ontdekt dat kortdurende blootstelling aan cadmium leidt tot verhoogde activiteit van het proto-oncogen *c-fos* (Figuur 3). Dit proto-oncogen behoort tot een familie van genen waarvan de producten het aan- en uitzetten van andere genen, betrokken bij de celdeling, beïnvloeden. Verhoogde expressie van deze genen kan leiden tot kwaadaardige celtransformatie (kanker).

Een andere belangrijke waarneming tenslotte betreft de door cadmium veroorzaakte verandering van de eiwitfosforilering in de kieuw (Figuur 4).

Fosforylering van eiwitten is betrokken bij de regulatie van veel cellulaire functies. Waarschijnlijk wordt het effect veroorzaakt doordat cadmium-ionen de plaats van calcium-ionen innemen.

Mosselen kunnen blootstelling aan de lucht (het 'droogliggen') dagenlang, soms weken overleven. In deze periode moeten ze noodgedwongen overgaan op een minder efficiënte stofwisseling, waardoor de energiebehoefte sterk moet worden vermindert. Als nu de door toxische stoffen veroorzaakte stress het energieverbruik zou verhogen, zouden deze stoffen de dieren kwetsbaarder maken tijdens het droogliggen. Dit zou vooral gelden voor de periode na de voortplanting, wanneer de dieren sterk vermagerd zijn.

Om deze hypothese te toetsen werden met cadmium of PCB's belaste mosselen drooggelegd. Daarna werd de overlevingstijd van de dieren gemeten. Het blijkt dat blootstelling aan cadmium gedurende 4 weken onder laboratoriumcondities de overlevingstijd van de mossel duidelijk verkort (Figuur 5). Dit werd bevestigd in semi-veld experimenten, zowel met cadmium als met PCB's (Figuur 6).

In de veldstudie werden 'schone' mosselen uitgezet in de Oosterschelde en op drie locaties in de Westerschelde (zie Figuur 7). Na 2½ maand bleek de overle-

EFFECTEN VAN CADMIUM EN PCB'S OP ORGANISMAAL NIVEAU

14

Overleving (in %)

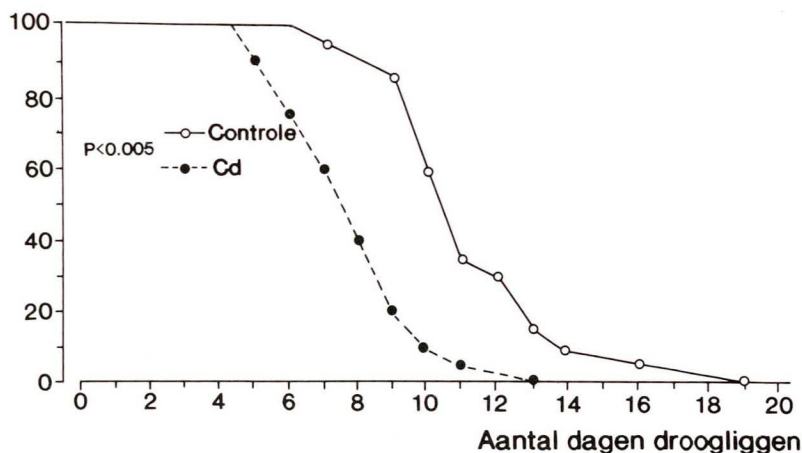


Fig. 5 Overlevingscurve van onbehandelde dieren (○) en van cadmiumbelaste dieren (●; 4 weken bij 50 µg Cd per liter) die op tijdstip nul waren drooggelegd. In de eerste groep bedraagt de gemiddelde overleving (50% dood) ca. 10 dagen, in de tweede groep 7 dagen.

Overleving (in %)

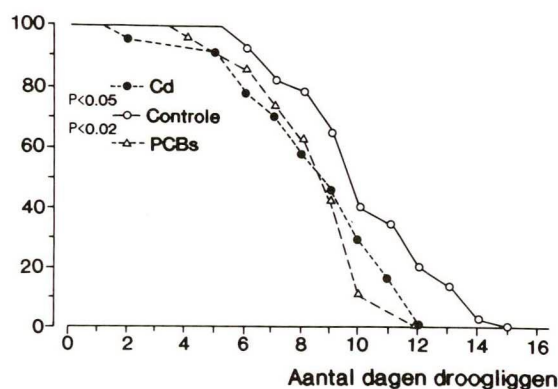


Fig. 6 Overlevingscurve van onbehandelde dieren (○), cadmiumbelaste dieren (●; 6 maanden bij 50 µg Cd per liter) en PCB-belaste dieren (▲; 6 maanden bij 0,5 µg PCB's per liter) die op tijdstip nul waren drooggelegd. De verschillen in overleving tussen elk van de belaste groepen en de onbehandelde groep zijn significant. Deze experimenten zijn uitgevoerd in het veldlaboratorium van Dienst Getijdewateren.

vingstijd duidelijk verkort te zijn bij de Westerschelde dieren (Figuur 8), parallel aan de vervuilingsgradiënt in het estuarium (zie de gemeten cadmiumgehalten in de dieren na 2½ maand in Figuur 9). Een andere, meer klassieke stress-parameter als de conditie-index was in die periode nog niet veranderd, maar pas na veel langere tijd (5 maanden) gedaald (Figuur 10).

Fig. 7 (rechts) In een veldexperiment werden groepen mosselen, opgevisht uit de Oosterschelde, uitgezet bij Jacobahaven (J) in de Oosterschelde (de controle-groep) en op drie plaatsen in de Westerschelde: Honte (H), Terneuzen (T) en Walsoorden (W).

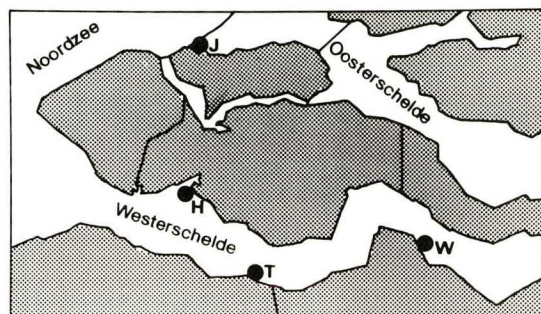


Fig. 8 (onder) Overlevingscurve van mosselen uitgezet gedurende 2½ maand in de Ooster- en Westerschelde. Oosterschelde-mosselen hebben de grootste overleving. In de Westerschelde neemt overlevingsduur van droogliggen landinwaarts af.

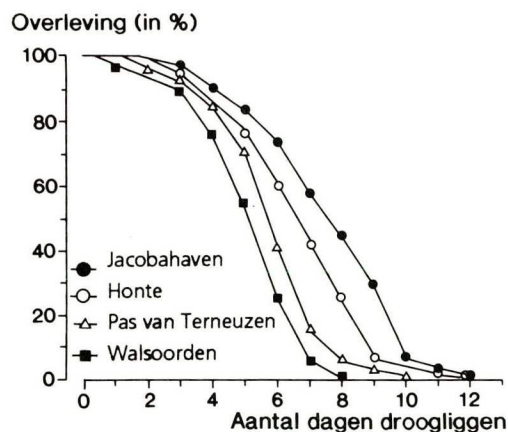


Fig. 9 (linksonder) Cadmium-concentraties in mosselen na 2½ maand op de locaties Jacobahaven (1), Honte (2), Terneuzen (3) en Walsoorden (4). In de Oosterschelde blijven de dieren het schoonst. In de Westerschelde is sprake van een vervuilings-gradiënt.

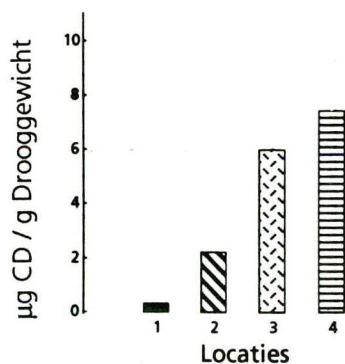
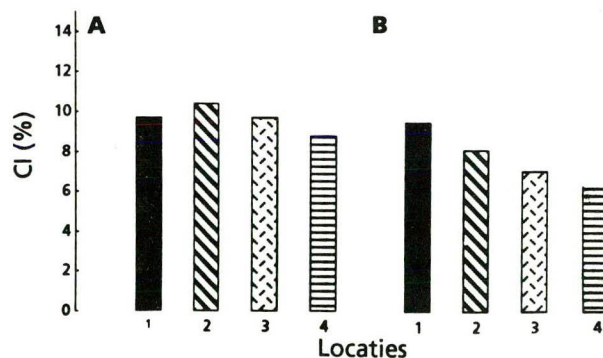


Fig. 10 (rechtsonder) De conditie-index van mosselen na 2½ (A) en 5 maanden (B) op de locaties Jacobahaven (1), Honte (2), Terneuzen (3) en Walsoorden (4). De conditie-index (CI) geeft de verhouding (uitgedrukt in %) van het vlees-drooggewicht en het totaal-drooggewicht (dus met schelp). Na 5 maanden expositie zijn de verschillen tussen de groepen significant.



Het onderzoek heeft duidelijk gemaakt dat vervuiling de weerstand van de mossel tegen de natuurlijke stress aantast. De overlevingstijd bij droogliggen wordt bekort, de respons op temperatuurstijging is heftiger. Verontreiniging versmalt het tolerantie-gebied, en daarmee de overlevingscapaciteit van de mossel.

De 'stress-op-stress' benadering vormt voor de mossel waarschijnlijk de beste methode om de gevolgen van verontreiniging zichtbaar te maken. Het principe zou echter ook kunnen opgaan voor andere diersoorten.

CONCLUSIE

Effecten van cadmium en PCB's op de voortplanting van de zeester

17

De zeester is een geschikt proefdier om de effecten van toxische stoffen op de voortplanting te bestuderen. De vorming van de zaad- en eicellen, de *gametogenese*, is eenvoudig te volgen. De geproduceerde eicellen (oöcyten) kunnen in het laboratorium worden bevrucht en opgekweekt. Door het bestuderen van de embryonale ontwikkeling kan een indruk worden verkregen van het voortplantingssucces. In het hier beschreven onderzoek is gekeken naar de effecten van chronische blootstelling aan lage concentraties cadmium of PCB's tijdens de gametogenese. Allereerst is echter de accumulatie van de toxicanten in de verschillende organen van de zeester bepaald.

ACCUMULATIE VIA DE VOEDSELKETEN

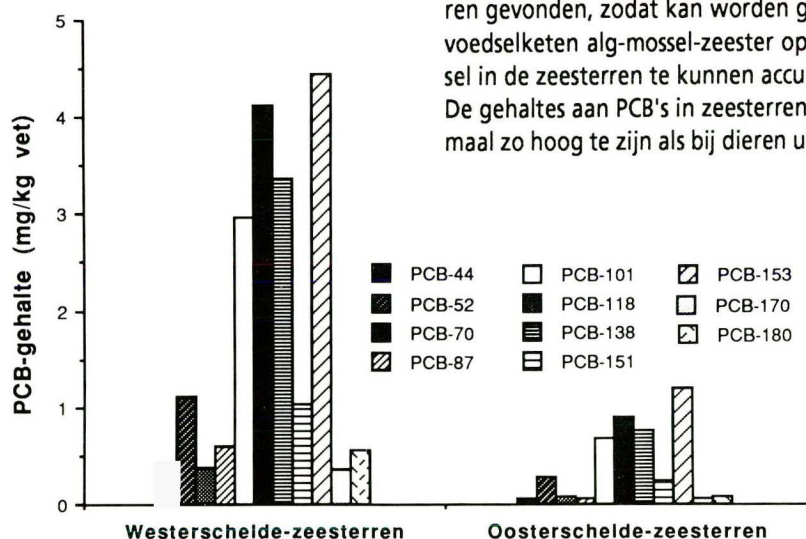


Fig. 11 Gehaltes van verschillende PCB-congeneren in de caeca pylorica van zeesterren uit de Wester- en Oosterschelde.

Het menu van de zeester bestaat voor een belangrijk deel uit mosselen. In het veldlaboratorium van DGW werden mosselen een maand lang met aan PCB's blootgestelde algen gevoerd. Deze mosselen werden op hun beurt weer aan de zeesterren gevoerd. De hoogste gehaltes van PCB's werden in de zeesterren gevonden, zodat kan worden geconcludeerd dat deze stoffen zich via de voedselketen alg-mossel-zeester ophopen. Ook cadmium bleek via het voedsel in de zeesterren te kunnen accumuleren.

De gehaltes aan PCB's in zeesterren uit de Westerschelde blijken ongeveer zes maal zo hoog te zijn als bij dieren uit de Oosterschelde (Figuur 11).

Eenzelfde verschil werd gevonden voor cadmium, wanneer zeesterren uit de Oosterschelde 6 maanden lang op een dieet van Westerscheldemosselen werden gezet (Figuur 12).

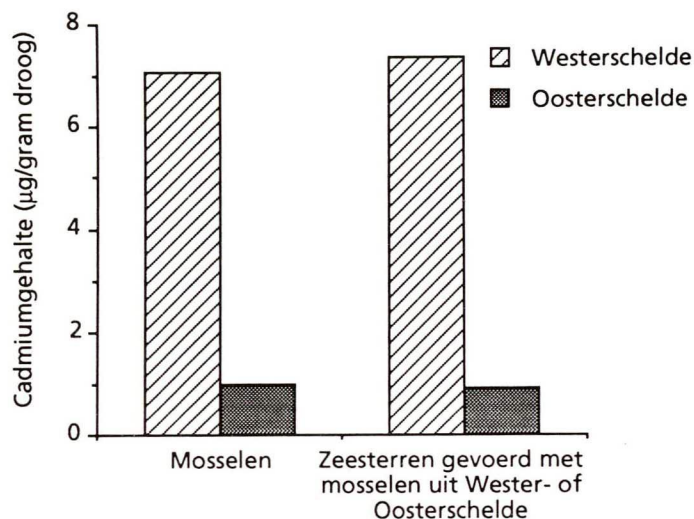


Fig. 12 Cadmiumgehalten in mosselen uit Wester- en Oosterschelde, en in zeesterren die mosselen uit deze twee gebieden 6 maanden lang als voedsel hebben gekregen.

18

De zeester consumeert in de zomer grote hoeveelheden voedsel en bewaart een groot deel daarvan in speciale opslagorganen, de caeca pylorica. Deze voorraad kan wel oplopen tot 25% van het lichaamsgewicht. In het najaar en de winter dienen de opgeslagen materialen voor de productie van miljoenen zaadcellen en oöcyten. De geslachtsorganen kunnen daarbij in gewicht toenemen tot zo'n 30% van het totale lichaamsgewicht. De met het voedsel opgenomen toxische stoffen komen eerst in de opslagorganen terecht, maar kunnen vervolgens in de zaadcellen en oöcyten belanden (zie Figuur 13).

EFFECTEN VAN CADMIUM EN PCB'S OP DE VOORTPLANTING

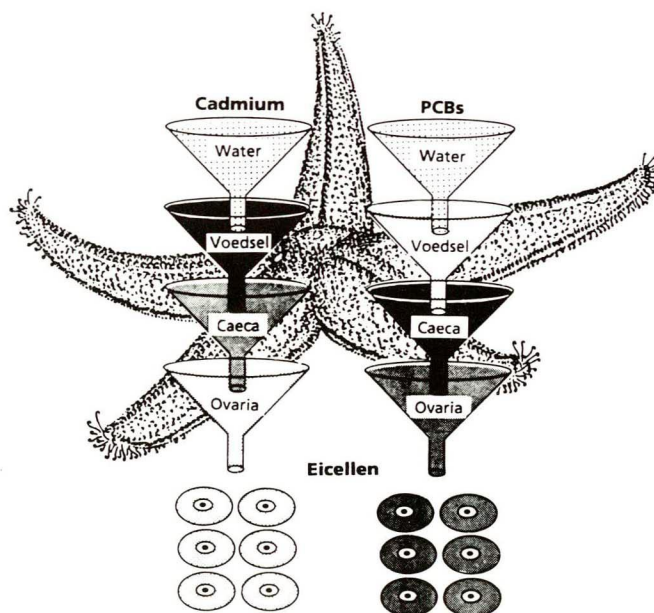


Fig. 13 Schematische weergave van de accumulatie van cadmium en PCB's in een vrouwelijke zeester. De verticaal gerangschikte trechters stellen de schakels in de keten water-voedsel-zeester voor. De stippeling is een maat voor de concentratie van de toxische stof in de betreffende schakel.

Uit proeven, waarin embryo's van cadmium- of PCB-blootgestelde ouderdieren in het laboratorium werden gekweekt, blijkt dat met name de bevruchte oöcyten van blootgestelde moeder-zeesteren een verstoorde ontwikkeling hebben. Een deel van de embryo's gaat al direct na de bevruchting te gronde, maar ook later in de ontwikkeling worden embryo's met ernstige afwijkingen gevonden (Figuur 14). Hierdoor neemt het aantal nakomelingen dat een nieuwe generatie zeesterren kan vormen sterk af (Figuur 15).

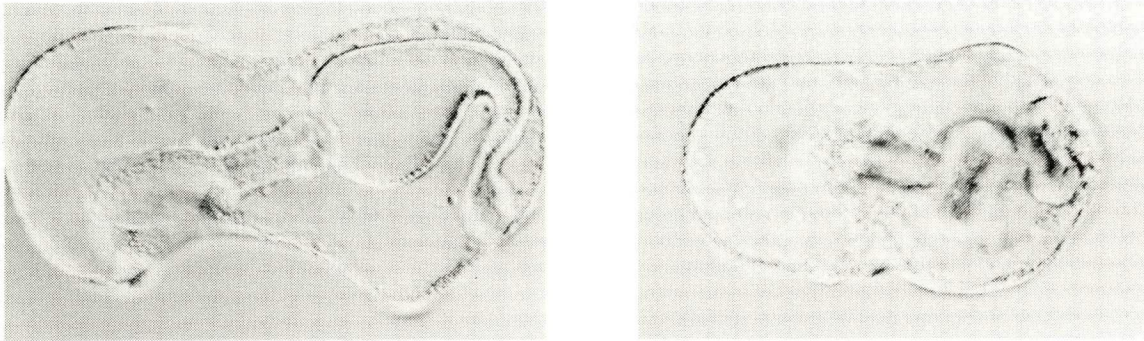
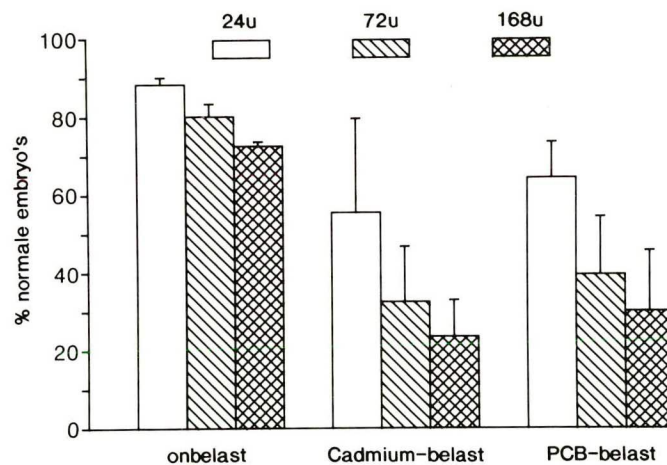


Fig. 14 (boven) Op de linker foto een nakomeling van onbelaste zeesterren. Het embryo is 1 week oud en in het zogenaamde bipinnaria-stadium. Er is al duidelijk een primitief spijsverteringskanaal zichtbaar, met linksonder de mondopening en rechts de anus. De rechter foto is ook van een 1 week oud embryo, maar nu afkomstig van een aan PCB's blootgestelde moeder-zeester. Het spijsverteringskanaal is misvormd. Een dergelijk embryo zal binnen afzienbare tijd te gronde gaan.

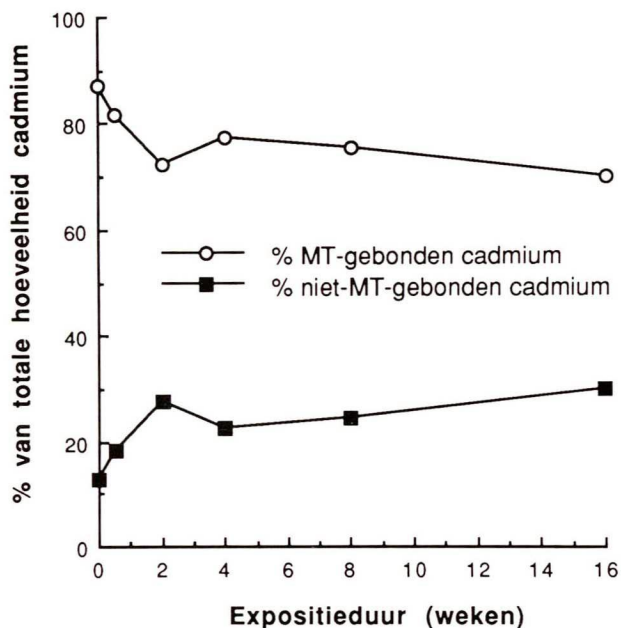
Fig. 15 (rechts) Percentages normale 1, 3 en 7 dagen oude embryo's van onbelaste moeder-zeesteren en van dieren die gedurende vijf maanden zijn blootgesteld aan cadmium of PCB's. Na 1 week heeft 75% van de embryo's van onbelaste zeesterren zich normaal ontwikkeld, terwijl dit voor met cadmium of PCB's belaste dieren 24 respectievelijk 30% is.



Een mogelijke verklaring voor de waargenomen effecten is de aanwezigheid van cadmium en PCB's in de oöcyten. Tijdens de vorming van oöcyten in de moeder-zeester worden grote hoeveelheden eiwitten en vetten opgeslagen in de vorm van dooierstoffen. Omdat cadmium zich sterk aan eiwitten bindt en PCB's aan vetten, bevat elke oöcyt zo een 'portie' cadmium of PCB's. Dit wordt doorgegeven aan de nakomelingen en kan zo de vroege ontwikkeling verstoren.

Een andere verklaring voor de waargenomen effecten op de voortplanting van de zeester is dat het proces van de vorming van oöcyten (de *gametogenese*) wordt verstoord. In het onderzoek zijn negatieve effecten van cadmium en PCB's op de groei van de geslachtsorganen in moeder-zeesterren gevonden, die deze verklaring ondersteunen.

De zeester is niet geheel weerloos tegen de bedreiging door toxische stoffen: het dier bezit mogelijkheden zulke verbindingen onschadelijk te maken door middel van detoxificatiesystemen (detoxificatie=ontgifting). Zo kan cadmium in de zeester, net zoals we zagen bij de mossel, worden gebonden aan speciale metaal-bindende eiwitten, metallothioneïnen (MT's). Hierdoor werkt het niet langer storend. De capaciteit van deze eiwitten blijkt echter beperkt te zijn: tijdens cadmium blootstelling wordt een stijging van het percentage niet-metallothioneïne-gebonden, en dus van potentiële gevaarlijk cadmium gevonden (Figuur 16). Dit zagen we ook bij de mossel. Bovendien worden deze MT-eiwitten alleen in de caeca pylorica van de zeester gevonden; in de geslachtsorganen zijn ze niet aanwezig en daar ontbreekt als het ware een verdedigingslinie tegen het oprukkende cadmium.



DETOXIFICATIE: WELKE PRIJS WORDT BETAALD?

Fig. 16 Verandering in de tijd van het percentage metallothioneïne- en niet-metallothioneïne-gebonden cadmium in de caeca pylorica van met cadmium belaste zeesterren.

Ook voor organische toxicanten bestaat een 'verdedigingsmechanisme': deze stoffen kunnen worden omgezet in minder schadelijke producten door het zogenaamde cytochroom P-450 enzymesysteem (veelal aangeduid met de term MO- of MFO-systeem). Over het algemeen is het resultaat van deze omzettingen dat de toxicant beter wateroplosbaar wordt en daardoor gemakkelijker kan worden uitgescheiden. De zeester blijkt een dergelijk systeem te bezitten. De mate waarin organische toxicanten kunnen worden omgezet verschilt per stof. Stoffen die tot de groep van de PAK's (polycyclische aromatische koolwaterstoffen) behoren, zoals benzo[a]pyreen, blijken snel gemetaboliseerd te kunnen worden. PCB's behoren tot de zeer moeilijk omzetbare (persistente) stoffen, en van detoxificatie is hier dus geen sprake. Wel blijken PCB's het MO-systeem van de zeester te kunnen activeren. Het onderzoek met de zeester als proefmodel heeft aanwijzingen opgeleverd dat voor het gebruik van deze detoxificatiesystemen een prijs betaald moet worden. Deze ligt in de rol die deze systemen normaal spelen. Zo functioneren

de metallothionëines normaal als opslageiwit voor het metaal zink , een voor veel lichaamsprocessen essentiëel metaal. Gebleken is dat tijdens blootstelling aan cadmium het zink verdrongen wordt. Dit resulteert in een verlaagde zink-concentratie in het weefsel.

Het MO-systeem is normaliter betrokken bij de hormoonhuishouding. Verandering in de activiteit van dit systeem of een verhoogde aanspraak erop voor de detoxificatiefunctie kan een zware wissel trekken op die hormoonhuishouding. Met name PCB-blootstelling blijkt inderdaad hormonale verstoringen te veroorzaken in de zeester, en het is zeer goed mogelijk dat dit doorspeelt in de belangrijke rol van hormonen tijdens het voortplantingsproces van de zeester. Het belang van metingen aan het MO-systeem en de hormoonhuishouding ligt met name in het feit dat met zulke methoden effecten op de voortplanting van de zeester in de toekomst wellicht sneller aangetoond kunnen worden.

CONCLUSIE

Het onderzoek heeft aangetoond dat langdurige blootstelling van zeesterren aan lage concentraties cadmium of PCB's leidt tot effecten op de voortplanting. Deze effecten worden mogelijk veroorzaakt door de opname van toxische stoffen in de oöcyten tijdens de gametogenese. Daarnaast kunnen deze stoffen het verloop van de gametogenese negatief beïnvloeden. De zeester is niet in staat via detoxificatie dergelijke effecten te voorkomen.

Hoe verder ?

23

Voorlopig zal de vervuiling nog wel een bedreiging blijven vormen voor onze kustwateren. Het is aan de (internationale) politiek om de nodige stappen te zetten om dit immense probleem adequaat op te lossen. Wat is dan de plaats van dit onderzoek in het geheel?

In het onderzoek aan de mossel en de zeester zijn nieuwe methoden ontwikkeld om de kwaliteit van het zeemilieu beter te kunnen beoordelen. Vooral de gevoeligheid van de te gebruiken methode is belangrijk. Uiterlijk vertonen dieren die aan milieuverontreiniging blootgesteld worden veelal weinig tekenen van eventuele nadelige gevolgen. Kijken we echter nauwkeuriger naar de effecten van chronische blootstelling, dan zien we bijvoorbeeld bij de mossel dat de weerstand tegen droogliggen is afgenomen. Bij de zeester zien we effecten op de voortplanting.

Aangezien in mosselen en zeesterren afkomstig uit de Westerschelde vergelijkbare gehaltes aan cadmium en PCB's zijn aangetroffen als in de dieren uit de blootstellingsexperimenten, is de verwachting dat deze effecten ook in het veld plaatsvinden. In dat geval zullen ze de overlevingskansen van deze soorten negatief beïnvloeden. Het is zaak dergelijke effecten al in een vroeg stadium te onderkennen, bijvoorbeeld door metingen zoals hier beschreven regelmatig uit te voeren. Dit onderzoek heeft de aanzet gegeven tot het ontwikkelen van een instrumentarium waarmee in de toekomst de kwaliteit van onze kustwateren en Noordzee gecontroleerd kan worden.

Literatuur

P. J. den Besten

25

Effects of cadmium and PCBs on reproduction of the sea star *Asterias rubens*
Dissertatie Rijksuniversiteit Utrecht, 1991

M.B. Veldhuizen-Tsoerkan

Effects of cadmium in the sea mussel *Mytilus edulis* L. A stress approach
Dissertatie Rijksuniversiteit Utrecht, 1991

Colofon

26

AUTEURS

Dr. P.J. den Besten
Dr. M.B. Veldhuizen-Tsoerkan
Rijksuniversiteit Utrecht,
Postbus 80058,
3508 TB Utrecht.

MEDEWERKERS

Dr. H.J. Herwig
Dr. D.A. Holwerda
Prof. dr. D.I. Zandee
Rijksuniversiteit Utrecht.
Dr. G.T.M. van Eck
Dr. ir. J.W. Everts
Drs. A.C. Smaal
Rijkswaterstaat, Dienst Getijdewateren,
Den Haag/Middelburg.

VORMGEVING

Dick Smit
Bart Landman
afdeling Beeldprocessing & Vormgeving,
Rijksuniversiteit Utrecht.

DRUK

Tessel Offset bv
De Meern

OPDRACHTGEVER

Rijkswaterstaat, Dienst Getijdewateren,
Postbus 20907,
2500 EX 's-Gravenhage.



B 142