

Ecologisch en ecotoxicologisch profiel van de zeeduizendpoot (*Nereis diversicolor*)

Arjen Pouwer, Martine van den Heuvel-Greve en Belinda Kater



Ecologisch en ecotoxicologisch profiel	1
van de zeeduizendpoot	1
(<i>Nereis diversicolor</i>)	1
1. Auto-ecologie	3
1.1 Taxonomie	3
1.2 Leefomgeving	3
1.3 Voedsel en voedselstrategieën	3
1.4 Levenscyclus	4
1.4.1 Paaien	4
1.4.2 Larvale ontwikkeling	6
1.5 Energie relaties	7
1.6 Tolerantiegrenzen voor abiotische parameters	8
1.7 Groei	12
2. Populatie-ecologie	15
2.1 Voorkomen	15
2.2 Verspreiding	15
2.3 Onderscheid tussen verschillende soorten	15
3. Systeem-ecologie	16
3.1 Concurrentie tussen Nerieiden	16
3.2 Predatie	16
3.3 Predatoren	17
3.3 Belang voor het ecosysteem	17
4. Kweken van <i>Nereis diversicolor</i>	18
5. Bioaccumulatie door <i>Nereis diversicolor</i>	19
5.1 Metalen	19
5.2 Organische micro-verontreinigingen	28
5.2.1 PAK	29
5.2.1 PCB	29
5.2.3 TBT	30
5.3 Polydimethylsiloxaan (PDMS)	30
5.4 Radionuclide contaminanten	30
5.5 Acetylcholinesterase activiteit	31
5.6 Mixed function oxygenase (MFO)	32
5.7 Metallothionines (MTs) en metalloproteïnes (MPs)	32
5.8 Bioassays	32
5.9 Trophische transfer	33
6. Volledigheid van de informatie	33
7. Literatuur	34

Ecologie

1. Auto-ecologie

1.1 Taxonomie

De zeeduizendpoot (*Nereis diversicolor*) wordt taxonomisch als volgt ondergebracht:

fylum	Annelida
klasse	Polychaeta
subklasse	Aciculata
familie	Nereidae
genus	Nereis
subgenus	Hediste
soort	<i>Nereis diversicolor</i>

In literatuur wordt regelmatig de naam *Hediste diversicolor* gebruikt.

1.2 Leefomgeving

Nereis diversicolor leeft in de zachte bodem van littorale slikken die vooral bestaan uit klei (<4 µm), slik (4-63 µm) en in mindere mate fijn zand (63-125 µm) (Jones *et al.*, 2000).

Ze leven in min of meer gebogen tot loodrechte gangen die op onregelmatige afstanden naar alle zijden zijn afgetakt en op verschillende plaatsen aan de oppervlakte uitmonden. Dit gangensysteem reikt tot 20 tot 30 cm diepte, de gangen hebben een doorsnede van 3 – 7 mm. De gangen zijn met een slijmlaag bekleed en vaak van een roestbruine laag ijzeroxidehydraat voorzien (Hartmann-Schröder, 1996).

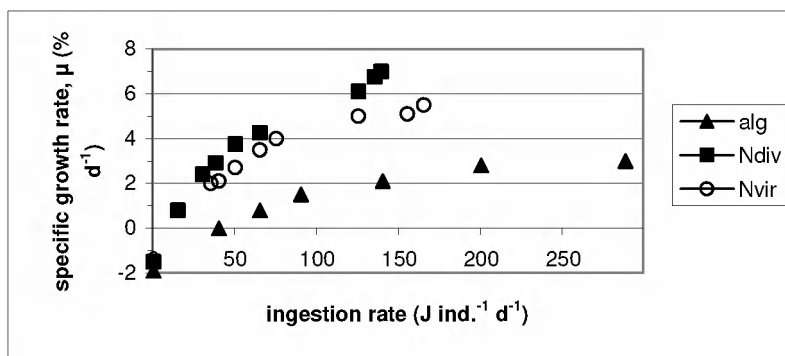
Wanneer de bodem waarin het dier leeft onder water staat wordt door golvende bewegingen van het lichaam water door de gangen gepompt. Hieruit wordt zuurstof opgenomen (Lindroth, 1938). Als bij afgaand tij het water van de plaat verdwijnt zal in de overblijvende poelen het water opwarmen en minder zuurstof bevatten. De pompbewegingen zullen dan geleidelijk minder worden en uiteindelijk ophouden (Wells & Dales, 1951). Als de plaat droogvalt kruipt het dier naar de uitgang van een tunnel tot de kop boven het wateroppervlak uitkomt en maakt vervolgens dezelfde golvende bewegingen die het anders maakt om een irrigatiestroom in het gangenstelsel te bewerkstelligen. Nu echter worden op deze wijze een aantal luchtbellen naar binnen getrokken, die worden vastgehouden tussen het lichaam en de wand van de gang. Als de luchtbellen het posterioort hebben bereikt dan worden de pompbewegingen gestopt en de bellen worden tegen het lichaam gehouden en na een aantal minuten vervangen door middel van een nieuwe serie pompbewegingen (Newell, 1970).

1.3 Voedsel en voedselstrategieën

N. diversicolor is een omnivoor en eet dus zowel dierlijk als plantaardig materiaal. Plantaardig materiaal is in de vorm van detritus voorhanden, of in bodemsubstraat met diatomeeën en verschillende algen. Zij eten echter ook kleine dieren zoals andere anneliden, kleine mollusken en zijn ook veelvuldig kannibalistisch (Hartmann-Schröder, 1996). Volgens

Harley (1950) eten zij ook in het water zwevende partikels. Daartoe bouwen zij van slijm een trechtervormig filternet in de gang, waar door de pompbewegingen water doorstroomt. De deeltjes in dit water blijven aan het net plakken en na verloop van tijd wordt dit net met de daaraan klevende deeltjes verorberd. Filter-feeding is verder beschreven in Riisgård *et al.* (1992), Vedel & Riisgård (1993) en Riisgård (1991). Riisgård (1991) suggereert dat *N. diversicolor* in ondiepe brakke wateren een duidelijk controlerende rol speelt op de fytoplankton productie. Hij schat dat de populatie in de Deense Odense Fjord (2400 ind.m^{-2}) een clearance rate heeft van $9.8 \text{ m}^3.\text{d}^{-1}$.

In experimenten uitgevoerd door Nielsen *et al.* (1995) met *N. diversicolor* en *N. virens* bij verschillende saliniteit, werden de dieren gevoerd met gemalen garnalen. *N. diversicolor* werd tevens gevoerd met de alg *Rhodomonas* sp.. De specifieke groeisnelheid, uitgedrukt in $\% \text{dag}^{-1}$, werd bepaald op basis van natgewichten. In figuur 2 zijn de resultaten weergegeven. Hieruit blijkt wel, dat de groei op een dieet van algen beduidend lager is dan op een dieet van gemalen garnalen. Mogelijk dat in een dieet van garnalen meer meervoudig onverzadigde vetzuren aanwezig zijn, wat een betere groei tot gevolg heeft (Fidalgo e Costa *et al.*, 2000).



Figuur 2: Gemiddelde specifieke groei (μ) van *N. diversicolor* en *N. virens* als functie van de ingestie ratio. $n=10$: voedsel gemalen garnaal en de alg *Rhodomonas* sp.. Uit Nielsen *et al.* (1995).

1.4 Levenscyclus

1.4.1 Paaieren

Zoals alle Nereiden heeft ook *Nereis diversicolor* gescheiden geslachten. De wijze van reproductie bij *N. diversicolor* wijkt volledig af van de bij Nereiden kenmerkende vorm. Nereiden ondergaan als ze gaan paaieren een metamorfose van de ongeslachtelijke vorm naar een heteronereis-stadium (geslachtelijke vorm) welke naar het wateroppervlak zwemt en daar planktonische larven produceert. *N. diversicolor* echter vormt geen pelagisch heteronereis-stadium, maar reproduceert in de gangen waarin ze normaal leven.

In het zuiden van Engeland wordt gepaaid in februari als de watertemperatuur stijgt tot boven de 5°C (Dales, 1950), in noord-oost Engeland (Blyth-estuarium) in april en in het Severn-estuarium in mei (Mettam, 1979; Olive & Garwood, 1981). In de zuidelijke Oostzee wordt in april gepaaid (Hartmann-Schröder, 1996) en aan de zuidkust van Finland schijnt het begin mei plaats te vinden, ongeveer twee weken nadat het ijs verdwenen is (Green, 1968).

Kristensen (1984) nam waar dat in de Norsmindefjord (Denemarken) zowel in het voorjaar als in de zomer werd gepaaid.

Na 12 tot 18 maanden (Dales, 1950; Kristensen, 1984), 24 tot 28 maanden (Mettam, 1979) of tot 36 maanden (Olive & Garwood, 1981) zal *N. diversicolor* paairijp zijn. Van de

oorspronkelijke groep die 18 maanden daarvoor ter wereld kwam, leeft dan nog 1.2 – 2.3 % (Kristensen, 1984).

De verhouding tussen de aantallen mannetjes en vrouwtjes bij Chalkwell in Essex bedraagt 1 op 100 tot 1 op 10 (Dales, 1950). In andere gebieden kan deze verhouding oplopen tot 1 op 3 (Green, 1968). Een mannetje bevrucht meerdere vrouwtjes; verscheidene auteurs vonden een kluwen vrouwtjes rond een enkel mannetje (Dehorne, 1925; Green, 1968).

Nereis diversicolor

datum	mannetjes	vrouwtjes met grote oocyten	sex-ratio
08-11-78	5	44	8.8
16-12-78	10	31	3.1
16-01-79	4	29	7.3
06-03-79	5	24	4.8
27-03-79	7	16	2.3
Totaal	31	144	4.6

Nereis pelagica

Datum	mannetjes	vrouwtjes met grote oocyten	sex-ratio
14-11-78	26	13	0.50
30-12-78	15	8	0.53
16-01-79	16	12	0.75
01-02-79	7	9	1.29
28-02-79	49	32	0.65
28-03-79	1	2	2
03-04-79	2	4	2
17-04-79	3	1	0.33
Totaal	119	81	0.68

Tabel 2: Sex-ratio van *Nereis diversicolor* in het Blyth-estuarium en van *Nereis pelagica* in de Cullercoats Bay en St. Mary's Island volgens Olive & Garwood (1981)

Tijdens het paairijp worden van zowel de mannetjes als de vrouwtjes ontstaan er in het coelom pigmentkorrels die zich later onder de opperhuid ophopen. Hierdoor ontstaat de groene kleur. De eitjes komen vrij doordat de lichaamswand van de vrouwtjes scheurt. De mannetjes schijnen hun sperma te lozen door de nefridia. Zowel bij mannetjes als bij vrouwtjes treedt voor het paaïen aanzienlijke histolyse op en de dieren zijn dan ook buitengewoon kwetsbaar (Green, 1968). Er is een mogelijkheid dat de voortplanting zowel vivipaar als ook parthenogenetisch plaatsvindt (Bogucki, 1953; Green, 1968; Smith, 1976 en Mettam, 1996). Volgens Dales (1950) zullen vrouwtjes niet paaïen zonder dat er een mannetje aanwezig is. Over wat er precies tijdens en na het paaïen gebeurt zijn in de literatuur enkele tegenstrijdigheden gevonden.

Omdat er meer mannetjes dan vrouwtjes zijn, zijn volgens Dales (1950) de vrouwtjes genoodzaakt om voor het paaïen hun gangen te verlaten teneinde een mannetje op te zoeken. De mannetjes sterven pas na de bevruchting van een aantal vrouwtjes. De vrouwtjes sterven direkt na het paaïen.

Uit observaties van Bartels-Hardege & Zeeck (1990) bij *N. diversicolor*, verzameld op het Jadebusenwad (Noord-Duitsland), blijkt dat bij temperaturen boven 6 °C de dieren gaan voortplanten en dan vooral bij nieuwe en volle maan. Gedurende de spawning bleven de vrouwtjes in de gangen en loosden de mannetjes het sperma vlak bij de ingang. De vrouwtjes die hun eieren al hadden geloosd, brachten d.m.v. een intensieve ventilatie het sperma in de gang waarna bevruchting plaats vond.

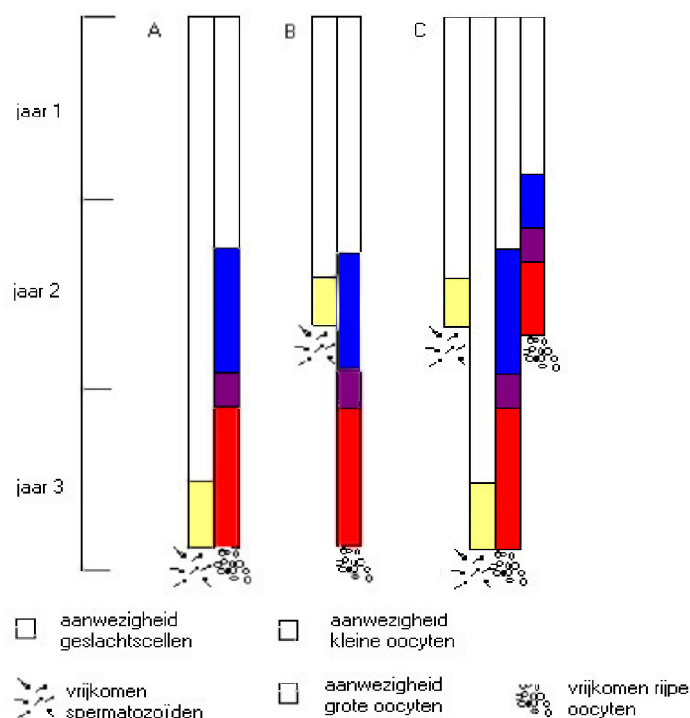
De larven bleven gedurende 10 tot 14 dagen in de gang aanwezig, waarbij ze werden beschermd door het vrouwtje. Enkele dagen daarna sterft het vrouwtje.

Bentley & Pacey (1992) stellen dat vooral temperatuur en maancycclus een grote rol spelen bij het paairijp worden van de dieren. Verder zullen feromonen zoals 5-methyl-3-heptanone (o.a. aangetoond in *Nereis succinea*, *Nereis virens* en *Platynereis dumerilii*) ervoor zorgen, dat mannetjes en vrouwtjes elkaar kunnen vinden. Er zijn van dit feromoon twee optische isomeren gevonden, het S(+) en het S(-) isomeer respectievelijk geproduceerd door de

mannetjes en door de vrouwtjes. Door verschillende drempelwaarden, 25 x hoger bij *N. succinea* dan bij *P. dumerilii*, wordt een heterospecifieke isolatie gewaarborgd. Bovenstaande suggereert dat de verhouding tussen mannetjes en vrouwtjes geen belemmering hoeft te zijn voor een goede reproductie.

Alle auteurs zijn het wel eens over het feit dat er in mei een piek in het paaigedrag optreedt.

Ook komt naar voren dat de levensduur van de *Nereis diversicolor* afhankelijk is van de plaats. Olive & Garwood (1981) hebben 3 hypothesen geformuleerd (zie figuur 2), waarbij hypothese A van de simpele interpretatie uitgaat dat *N. diversicolor* een vaste 3-jarige levenscyclus heeft. Hypothese B suggereert, dat mannetjes een 2-jarige levenscyclus hebben en vrouwtjes pas na 3 jaar paairijp zijn, terwijl hypothese C uitgaat van variabele leeftijd waarop paairijpheid optreedt bij zowel mannetjes als vrouwtjes. Zij veronderstellen dat voor de levenscyclus van *N. diversicolor* hypothese C de meest correcte beschrijving is en voor *N. pelagica* een combinatie van hypothese B en C.



Figuur 2: Drie hypothesen voor de interpretatie van de 3-jarige levenscyclus van *Nereis* species. (A) Alle dieren spawnen in hun 3^e jaar; (B) Alle vrouwtjes spawnen in hun 3^e jaar en alle mannetjes in hun 2^e jaar; (C) Een deel van de mannetjes en vrouwtjes spawnen in hun 2^e jaar, de rest in hun 3^e jaar

Hypothesen B en C zijn genetisch meer voor de hand liggend, omdat er bij hypothese A genetische isolatie optreedt tussen de jaar klassen, aangezien genetisch materiaal slechts binnen 1 cohort wordt doorgegeven. Biologisch gezien is dit niet voor de hand liggend.

1.4.2 Larvale ontwikkeling

Na de bevruchting duurt het iets langer dan een week voordat de eitjes uitkomen. De larven zijn afgerond van vorm en missen nog chaetae (borstels) totdat, na ongeveer tien dagen drie paar chaetae door het cuticula komen uitsteken. Hartmann-Schröder (1996) schrijft dat de prototroch (een band van cilia (trilharen) rond het voorste deel van de larve), de larve slechts in staat stelt om ongericht over de bodem te zwemmen. Het zwemmen kan pas gerichter

plaatsvinden nadat de telotroch (een band van cilia rond de achterzijde van de larve) gevormd is (zie ook bijlage 1). De larven kunnen zwemmen maar blijven in de gang waarin zij verwekt zijn. De eerste zeven weken worden de larven gevoed uit een dooierzak. Na deze periode worden de larven in toenemende mate actief en beginnen zich te verspreiden. Deze actieve larven hebben dan ongeveer tien borstelsegmenten en zijn 2 mm lang. Als zij dubbel zo groot zijn beginnen zij zich als adulten te gedragen. Exemplaren met een lengte van 4 mm en een lichaam van 20 borstelsegmenten beginnen zich als volwassenen te gedragen en graven U-vormige gangen in de bodem waarin zij, door middel van golvende bewegingen, het water laten stromen (Green, 1968). Bijlage 1 geeft de larvale ontwikkeling weer zoals beschreven in Dales (1950).

1.5 Energie relaties

Vedel & Riisgård (1993) voerden een experiment uit waarbij 25 exemplaren van *N. diversicolor* in glazen U-vormige buizen werden gehouden in aquaria van 10 liter. Een constante toevoer van *Rhodomonas* spp. werd gehandhaafd. Ze vonden bij een toevoer van 1.7 ± 0.2 ($\times 10^3$ cellen ml^{-1}), 3.3 ± 0.5 ($\times 10^3$ cellen ml^{-1}) en 5.0 ± 0.2 ($\times 10^3$ cellen ml^{-1}) een assimilatie efficiëntie van respectievelijk 86.8, 89.2 en 89.9 %. Zij gebruikten de volgende conversie factoren om de energie budgetten te berekenen.

drooggewicht (dw) *N. diversicolor* = $0.170 + 0.157 \cdot \text{natgewicht (ww) } N. \text{ diversicolor}$
 $(r^2 = 0.899, n=77, \text{ range } 1 \text{ tot } 122 \text{ mg dw})$

1 mg dw *N. diversicolor* = $4.4 \pm 0.3 \text{ cal mg}^{-1} \text{ dw} = 18.4 \text{ J mg}^{-1} \text{ dw}$ (Chambers & Milne, 1975)
 De als voer gebruikte *Rhodomonas* spp. (40.2% organisch materiaal wat overeenkomt met $117 \times 10^{-12} \text{ g C cel}^{-1} \times 40.2\% \text{ C} = 47.17 \times 10^{-12} \text{ g C cel}^{-1}$) had een voedingswaarde van $2.25 \mu\text{J cel}^{-1}$.
 Heip & Herman (1979) vonden de volgende relatie tussen droog en natgewicht:

$$\text{dw } N. \text{ diversicolor} = 0.154 \cdot \text{ww}$$

Verondersteld kan worden, dat er een duidelijke seizoensinvloed is op de relatie tussen nat- en drooggewicht. Mogelijk speelt daarbij de mate van ontwikkeling van de gameten een rol. Ook dieren uit verschillende habitats zullen mogelijk wijze een andere relatie tussen nat- en drooggewicht laten zien.

Olivier *et al.* (1996) voerden een experiment uit waarbij juveniele exemplaren op $300 \mu\text{m}$ gezeefd sediment werden gehouden. Ze voerden deze dieren verse algen (*Enteromorpha intestinalis*) en verschillende zoutplanten (*Salicornia europae*, *Halimione portulacoïdes* en *Spartina anglica*) en vonden een assimilatie efficiëntie van 86 % voor de algen; voor de zoutplanten was dit respectievelijk $61.7 \pm 9.5\%$, $48.3 \pm 6.6\%$ en $37.0 \pm 2.7\%$.

Vedel & Riisgård (1993) hebben in laboratorium experimenten van 14 en 21 dagen assimilatie efficiënties en groeisnelheden berekend voor *N. diversicolor* gevoed met *Rhodomonas* spp. (zie tabel 3).

Schöttler (1979) heeft de eindproducten van het anaerobe metabolisme in *N. pelagica*, *N. virens* en *N. diversicolor* bepaald. Alle drie de soorten produceren grote hoeveelheden lactaat, wat ook ontstaat bij aerobe verbranding. *N. diversicolor* ging echter over op de productie van succinaat, propionaat en acetaat wat energetisch gezien gunstiger is onder aanhoudende anaërobie. *N. virens* en vooral *N. pelagica* waren maar in zeer beperkte mate in staat om dit

pad te volgen. *N. diversicolor* kan dus onder anaerobe omstandigheden een betere energiebalans in stand houden.

Duur (d)	Chl a ($\mu\text{g l}^{-1}$)	CR (l d^{-1})	AE (%)	groeisnelheid (mg d^{-1})
14	2.13 ± 0.25	5.54	86.8	0.229
21	4.13 ± 0.63	6.31	89.2	0.438
14	6.26 ± 0.63	5.98	89.9	0.814

Tabel 3: Assimilatie efficiënties en groeisnelheden voor *N. diversicolor* gevoed met *Rhodomonas* spp. in laboratorium experimenten (volgens Vedel & Riisgård (1993)). CR = clearance rate; AE = assimilatie efficiëntie

1.6 Tolerantiegrenzen voor abiotische parameters

Saliniteit

N. diversicolor is een euryhalieene soort die kan leven in water met een zoutgehalte van 2-3‰ (Remane, 1940) en in vol zeewater. Zelfs een kortstondig verblijf in Franse Etangs (139‰ Hedgepeth (1959) in Hartmann-Schröder (1996)) en tijdelijk in zoet-water (Bogucki, 1954; Smith, 1955; Den Hartog, 1961) overleven ze. Theede *et al.* (1973) spreken van een range tussen zoetwater en wel 50‰. In brak water met een constant laag zoutgehalte ligt de ondergrens van de tolerantie bij ca. 3-4‰ (Smith, 1955).

Sklower (1932) kon in de Oostzee met afnemende saliniteit ook een afnemende lichaams-grootte vaststellen. In het oosten van de Oostzee en in estuaria en fjorden met lage zoutgehaltes vindt geen reproductie plaats. Volgens Ozoh & Jones (1990) kunnen eieren bij een saliniteit < 8‰ nog wel worden bevrucht, maar de ontwikkeling van het embryo wordt sterk vertraagd. Smith (1964) stelt dat adulten nog wel kunnen overleven bij een saliniteit van 1‰, maar dat bij een saliniteit van 3-4‰ de reproductie stopt. Tabel 4 geeft resultaten weer van zijn experimenten waarbij de larvale ontwikkeling van *N. diversicolor*, verzameld bij Kristineberg (Zweden), werd gevolgd bij verschillende zoutgehaltes. Hieruit blijkt dat de ontwikkeling bij 18‰ sneller verloopt. Bij Kristineberg ligt de saliniteit tussen 18 en 20‰. In 9 en 27‰ vond Smith vooral in de vroege stadia opzwellling respectievelijk krimp van de larvale stadia. Na het stadium met 3 borstelsegmenten herkregen de larven weer hun normale vorm. Of dit erop duidt dat *N. diversicolor* een soort is met een goed osmoregulatie-vermogen of dat binnen een populatie de tolerantiegrenzen voor saliniteit genetisch zijn bepaald, vergt meer onderzoek en data van andere locaties (zie ook hoofdstuk 2.2).

McLusky (1968), Bryant *et al.* (1984) en Oglesby (1969) stellen dat *N. diversicolor* net als *Corophium volutator* in staat is te osmoreguleren.

Saliniteits-tolerantie hangt o.a ook sterk af van het osmoregulatie-vermogen van een soort (Vonck, 1991).

Uit onderzoek bij Aquasense (Peene *et al.*, 2003) blijkt, dat de overleving in de saliniteits-range 0.6-32‰ niet significant afwijkt van de overleving bij 15‰. Wel lijkt de overleving beneden 5‰ iets af te nemen.

Larvale ontwikkelingsfase	Chloride concentratie g Cl/l (saliniteit ‰)		
	5 (9)	10 (18)	15 (27)
Gelei uitstulping	5 min.	5 min	5 min.
1 ^e poollichaampje	2.1 uur	1.5 uur	1.9 uur
2 ^e poollichaampje	2.5	1.7	
1 ^e celdeling	2.9	3.2	3.2
2 ^e celdeling	5.75	5.5	5.9
niet-beweeglijk embryo	13.5	12.75	
geringe draaiing	28.5	23.6	22.4
Monotrochophore	41.0	30.7	41.5
Telotrochophore	60.8	47.25	54.25
Larvale oogvlekken (2)	76.25	66.5	
Niet-uitstekende borstels	77.0	67.2	77.3
Stomodaeum	84	67.5	
Uitstekende borstels	92	83.1	79.1
Rudimentaire ogen	96	95.7	99.2
Kaken zichtbaar	98	93.6	99.25
Tentakel knoppen	103.1	96.6	106.8
3 borstelsegmenten	141.0	124.75	129
Vorming wit pigment	162.0	126.75	154.2
Niet-uitstekende 4 ^e paar borstels		158	153.2
Uitstekende 4 ^e paar borstels	170.5	165.3	171.1
Niet-uitstekende 5 ^e paar borstels		178.2	
Uitstekende 5 ^e paar borstels		203.0	

Tabel 4: Vergelijking van de gemiddelde tijd in uren bij 18°C om een bepaalde larvale ontwikkelingsfase te bereiken in *N. diversicolor*. Dieren verzameld bij Kristineberg (westkust Zweden) (naar Smith, 1964). Vanaf 1^e poollichaampje tijd in uren.

Saliniteit kan een belangrijke factor zijn bij de biobeschikbaarheid van in het sediment aanwezige contaminanten (zie ecotoxicologisch profiel).

pH

In het mariene en estuariene milieu zal de pH nauwelijks afwijken van pH=8 omdat zeewater van nature goed is gebufferd (Withfield & Turner, 1986). Op microniveau (interstitiële ruimte) kan de pH beïnvloed worden door bijvoorbeeld de aanwezigheid van veengronden (zuren) en kalkafzettingen (basen) in de vorm van schelpenbanken.

De pH kan wel een belangrijke factor zijn bij de biobeschikbaarheid van in het sediment aanwezige contaminanten (zie ecotoxicologisch profiel).

Over de invloed van de pH op *N. diversicolor* is geen literatuur gevonden.

Temperatuur

Uit de geografische verspreiding van *N. diversicolor* kan men afleiden, dat er tolerantie voor een grote temperatuur range is. Doordat *N. diversicolor* mobiel is, kan hij zich bij extreem lage temperaturen dieper ingraven. Ook bij droogvallen van het leefgebied en daardoor opwarming van het sediment zal *N. diversicolor* kunnen overleven door zich dieper in het sediment in te graven.

Linke (1938) heeft op het Jadebusen Wad temperaturen van verschillende sedimenttypes en van het zeewater gemeten. Tabel 4 geeft een deel van zijn bevindingen weer.

watertemp (°C)	sediment (cm)	sediment type	temperatuur (°C)	maand
12.2	0-3 10 30	Slikzand	12.2 11.7-11.9 12.1-12.6	oktober
1.5	0-3 15	Slikzand	11-12 7	maart
-1.8	0-3 21-23 39-42	Slikzand	-1.8 +0.5 1.5	februari
1.1	0-3 4-8 11-14 16-18 21-23 25-28 39-42	zachte slik	1.4 0.1 1.2 1.9 1.4 2.4 3.2	februari
18-20	0-3 10-13 50	Slik	32-35 25 17	juni
20	0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60	Slik	23.5 20.3 18.7 17.5 17.1 16.8 16.7 16.4 16.2 16.0 15.8 15.7 15.6	juli

Tabel 5: Temperatuurmetingen in verschillende jaargetijden in verschillende sedimenten van het Jadebusen Wad (Duitsland) (uit Linke, 1938).

Uit de waarnemingen van Linke wordt vooral duidelijk dat de ligging in de getijdezone en de samenstelling van het sediment grote invloed kunnen hebben op de temperatuur in het sediment. De metingen in juni (4 meter boven laagwaterlijn) en juli (1.5 meter boven laagwaterlijn) werden bij laagwater rond het middaguur uitgevoerd. Hoe slikkiger de sedimenten hoe minder invloed op de temperatuur optreedt op grotere diepte. Een verhoging van de temperatuur kan effect hebben doordat de microbiele activiteit in het sediment zal toenemen. Dit kan hypoxie veroorzaken (zie 'zuurstof'). Mortimer *et al.* (1999) hebben een sterke seizoensinvloed op het voorkomen van *N. diversicolor* in het Humber-estuarium gevonden. Bij metingen in februari en oktober 1995 en april en augustus 1996 vonden ze vooral in augustus 1996 hoge dichtheden (>13000 individuen m²) bij een sediment temperatuur van $17.7 \pm 2.2^{\circ}\text{C}$. De dichtheden in april 1996 bij een sediment temperatuur van $9.6 \pm 1.6^{\circ}\text{C}$ waren significant lager dan die van februari en oktober 1995 bij sediment temperaturen van resp. $6.3 \pm 2.2^{\circ}\text{C}$ en $13.7 \pm 1.6^{\circ}\text{C}$.

Temperatuursverandering kan de soort ongunstig beïnvloeden. Bartels-Hardege & Zeeck (1990) hebben aangetoond dat een stijging van de watertemperatuur van 12°C naar 16°C

de reproductie op gang brengt ook buiten de normale spawning-periode. Zonder temperatuurdaling naar winterse waarden, bleef de productie van gameten doorgaan, maar wel minder gesynchroniseerd. Ongesynchroniseerde spawning resulteert meestal in gereduceerde aantallen nakomelingen wat een populatie sterk kan beïnvloeden (zie ook 'kweken van *N. diversicolor*').

Temperatuur kan ook een belangrijke factor zijn bij de biobeschikbaarheid van in het sediment aanwezige contaminanten (zie ecotoxicologisch profiel).

Zuurstof

De modderige sedimenten waar *N. diversicolor* in leeft hebben over het algemeen een lagere zuurstofconcentratie dan andere sedimenten. Dit wordt veroorzaakt door de fijne korrelstructuur, waardoor er meer detritus in blijft steken en er een grotere microbiële activiteit optreedt met als gevolg een grotere zuurstof consumptie. *N. diversicolor* kan een gematigde hypoxie overleven (Diaz & Rosenberg, 1995).

Hypoxieoverlevings experimenten uitgevoerd door Vismann (1990) resulteerden in een sterfte van slechts 15% van de dieren in een 22 dagen durend experiment bij een zuurstof-spanning van 10% (ca. $2.8 \text{ mgO}_2\text{l}^{-1}$).

N. diversicolor is actief op de scheiding van sediment/water waar de concentraties aan waterstofsulfide sterk toenemen tijdens hypoxie. Vismann (1990) heeft in voornoemde experimenten ook aangetoond, dat de tolerantie van *N. diversicolor* voor hypoxie in combinatie met de aanwezigheid van waterstofsulfide verklaard kan worden uit de sulfide oxidatie activiteit in het bloed. Hypoxie in combinatie met waterstofsulfide kan ook een vluchtgedrag opwekken, waarbij het sediment wordt verlaten. In de experimenten van Vismann (1990), met 10% zuurstof en een waterstofsulfide concentratie van 172-187 μM , had slechts 35% *N. diversicolor* het sediment verlaten tegen 100% *N. virens*.

Experimenten zonder sediment hebben laten zien, dat *N. diversicolor* hypoxie gedurende 5 dagen kan overleven en daarmee een hogere tolerantie voor hypoxie heeft dan *N. virens*, *N. succinea* en *N. pelagica* (Theede, 1973; Dries & Theede, 1974; Theede *et al.*, 1973).

Schöttler (1979) heeft de eindproducten van het anaerobe metabolisme in *N. pelagica*, *N. virens* en *N. diversicolor* bepaald. Alle drie de soorten produceren grote hoeveelheden lactaat, wat ook ontstaat bij aerobe verbranding. *N. diversicolor* ging echter over op de productie van succinaat, propionaat en acetaat wat energetisch gezien gunstiger is onder aanhoudende anaerobie. *N. virens* en vooral *N. pelagica* waren maar in zeer beperkte mate in staat om dit pad te volgen. *N. diversicolor* kan dus onder anaerobe omstandigheden een betere energiebalans in stand houden.

De zuurstofconcentratie kan een belangrijke factor zijn bij de biobeschikbaarheid van in het sediment aanwezige contaminanten (zie ecotoxicologisch profiel).

Nutriënten

Aangezien *N. diversicolor* ook deels als filter-feeder en detritus-eter zijn voedsel vergaart, zal o.i.v. nutriënten-concentraties het voedsel aanbod aan algen variëren. Beukema (1989), Reise *et al.* (1989) en Jensen (1992) suggereren een verdubbeling van de populatie *N. diversicolor* in de Waddenzee door het frequent optreden van algenbloeien door eutrofiëring. Vedel & Riisgård (1993) vonden in Kertinge Nor (Denemarken) heel grote individuen van *N. diversicolor* wat ze toeschrijven aan de hoge concentraties diatomeën zoals *Skeletonema costatum* en *Stephanodiscus hantzschii* welke in het voorjaar voorkwamen en een hoge voedingswaarde hebben.

Sediment

Wanink & Zwarts (1993) hebben van 5 tweekleppigen en 3 wormen lengtes gemeten in relatie tot percentage klei in het sediment. Hun bevindingen zijn opgenomen in hoofdstuk 1.7 tabel 5. Uit figuur 3 blijkt, dat het percentage slib voor *N. diversicolor* niet veel uitmaakt. In alle sedimenten was de groei vergelijkbaar. Voor *Arenicola marina* bleef de groeisnelheid in sedimenten met 3-5% slib duidelijk achter bij de hogere percentages.

Hoogte in intergetijde gebied

Wanink & Zwarts (1993) hebben van 5 tweekleppigen en 3 wormen lengtes gemeten in relatie tot de tijd dat hun habitat droogvalt.

Hun bevindingen zijn opgenomen in hoofdstuk 1.7 tabel 5.

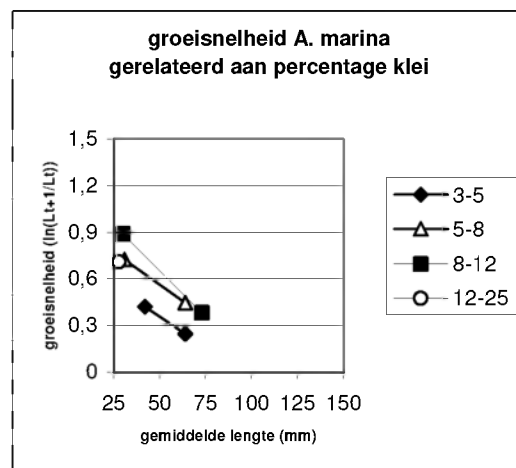
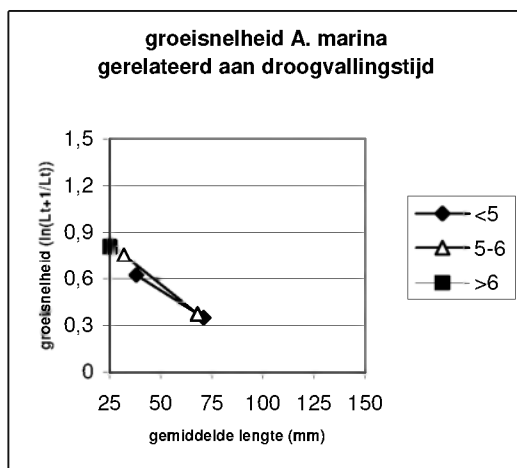
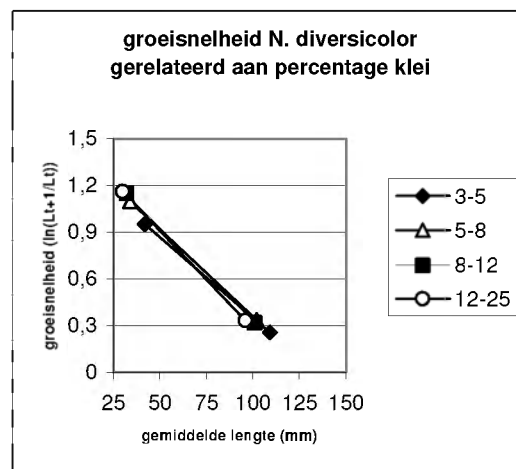
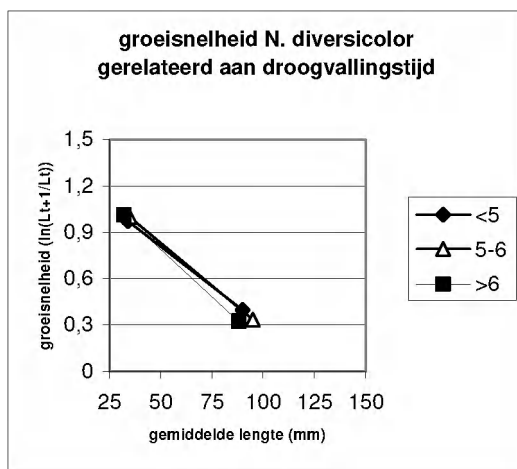
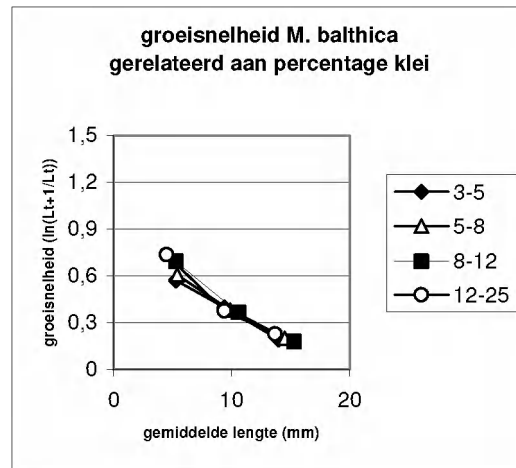
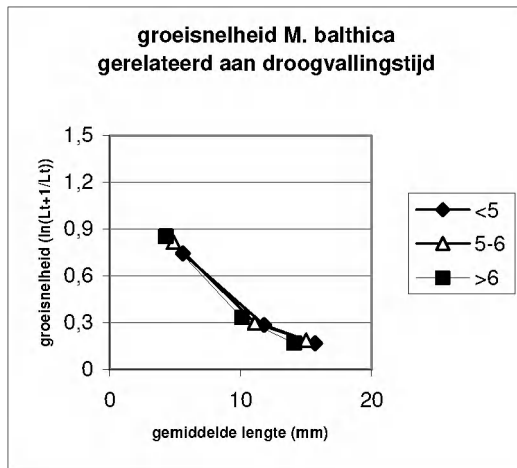
De tijd dat een habitat droogvalt heeft gevolgen voor de dieren die in dat habitat leven. Predatie door waadvogels zal toenemen en sedimenten zullen vooral op zonnige dagen of dagen met vorst sterk aan temperatuurschommelingen worden blootgesteld (zie ook hoofdstuk 1.6 tabel 4 en hoofdstuk 1.7). Voor *N. diversicolor* werden geen significante verschillen gevonden in de relatie groeisnelheid en droogvallingsstijd van de habitat (fig. 3).

1.7 Groei

De eerste 2 jaar vindt er alleen somatische groei plaats (Olive & Garwood, 1981). Groei en groeiremming kunnen belangrijke invloed hebben op een populatie. Factoren als saliniteit (zie 1.6), temperatuur (zie 1.6), soort sediment (zie 1.6), hoogte in het intergetijde gebied (zie 1.6), voedselaanbod, aanwezigheid van contaminanten, aanwezigheid predatoren en menselijke activiteit kunnen een populatie sterk beïnvloeden. Vooral de larvale stadia zijn erg gevoelig voor sterke schommelingen in saliniteit. Door hydrodynamische omstandigheden kan een habitat snel veranderen. Ook dit kan grote invloed hebben op een populatie. Vergelijking van *Nereis* populaties door Mortimer *et al.* (1999) in de Tamar (1990-1992) en Humber (1994-1996) laten een enorm verschil zien in de populatie opbouw. Gemeten naar de breedte van het eerste segment met borstels blijkt dat slechts een gering percentage (<35%) individuen van de populatie in de Humber een breedte bereiken van >2mm, terwijl voor de Tamar de percentages liggen tussen 15% en 95%. De Tamar is een gebied met zeer stabiele slikken, terwijl de Humber een groot en meer dynamisch gebied is, waar slikken sterk onderhevig zijn aan veranderingen (erosie, sedimentatie). Door deze dynamiek kan *N. diversicolor* zich minder goed vestigen en uitgroeien tot volwassen dieren. Volgens Wanink & Zwarts (1993) valt slechts een fractie van de stock aan *N. diversicolor* ten prooi aan waadvogels. De volwassen dieren zijn voor predatoren als waadvogels te diep ingegraven, terwijl de zeer kleine individuen energetisch gezien niet interessant zijn. Waadvogels zullen duidelijk voor gebieden kiezen, waar een bepaalde grootteklasse voorkomt en waar ze dus met de minste inspanning voldoende voedsel binnen kunnen krijgen.

species	leeftijd	gemiddelde lengte per groeiseizoen, gerelateerd aan						
		droogvallingsijd (uur)			kleigehalte (%)			
		<5	5-6	>6	3-5	5-8	8-12	12-25
<i>M. balthica</i>	0+	5,6	4,9	4,3	5,3	5,4	5,3	4,5
	1+	11,8	11,1	10,1	9,4	9,9	10,6	9,4
	2+	15,7	15	14,1	14	14,5	15,3	13,7
	3+	18,6	18,1	16,7	17	17,7	18,3	17,2
<i>S. plana</i>	0+	12,8	11,9	11,4	11,8	12,9	13,8	10,3
	1+	23,4	20,9	18,7	20,6	21,6	22,2	20,5
	2+	30,4	27,8	24,8	26,9	27,6	28,2	25,9
	3+	35,8	34,3	32,6	32,8	34,1	34,4	32,8
<i>M. arenaria</i>	0+	11,9	9,1	7,1	7,7	8,8	10,1	7,1
	1+	23,7	20,6	16,8	22,6	21,3	20,5	18,2
	2+	33,1	28,5	23,3	28,9	27,3	26,9	22,5
	3+	45	40,5	31,4	47,5	43,1	40,7	37,9
<i>C. edule</i>	0+	6	4,2	3,8	9	6,7	4,7	3,6
	1+	19,2	17,1	14,7	19	17,1	15,9	13,9
	2+	26	22,3	18,6	26	24	22,1	20,3
<i>M. edulis</i>	0+	8,5	8,7	6,1		9,9	8,6	7
	1+	30,1	25,3			27,9	24,9	19,5
<i>A. marina</i>	0+	38	32	25	42	31	30	28
	1+	71	68	56	64	64	73	57
	2+	101	99		82	100	107	
<i>N. diversicolor</i>	0+	34	35	32	42	34	32	30
	1+	90	95	88	109	102	101	96
	2+	134	133	122	141	143	139	134
<i>N. hombergii</i>	0+		55			46	56	
	1+		78		68	74	84	
	2+		102			99	107	

Tabel 6: Gemiddelde lengte (mm) na 1 tot 4 groeiseizoenen van in het intergetijde gebied voorkomende invertebraten gerelateerd aan droogvallingsijd en kleigehalte van het sediment (uit Wanink & Zwarts, 1993).
(0+ = 1 compleet groeiseizoen, 1+ = 2 groeiseizoenen enz.)



Figuur 3. Groeisnelheden per groeiseizoen van 3 soorten invertebraten in relatie tot droogvallingstijd en kleigehalte van het sediment (uit Wanink & Zwarts, 1993).

2. Populatie-ecologie

2.1 Voorkomen

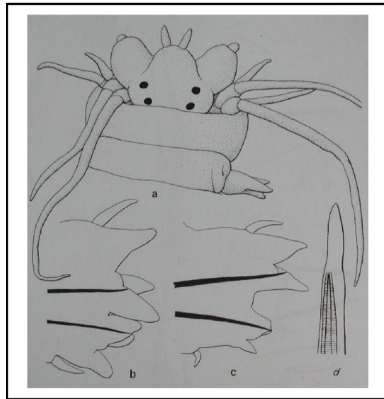
Nereis diversicolor heeft een verspreidingsgebied dat zich uitstrekt van de noordelijke Grote Oceaan via de Arctische wateren, noord Atlantische Oceaan tot aan de Middellandse Zee, Adriatische Zee, Zwarte Zee en Kaspische Zee (introductiesoort). Verder komt *N. diversicolor* voor in het Kanaal, Noordzee, Skagerrak, Belte, Öresund, het Noord-Oostzee kanaal tot oostelijk van Helsinki en de Botnische golf (zuidelijk van Kristiina). *N. diversicolor* komt voor in brakke wateren, riviermondingen, fjorden, strandmeren en binnenwateren met een verbinding naar zee (Hartmann-Schröder, 1996). In deze gebieden komt hij vaak naast *Nereis succinea* en *Nereis virens* voor.

2.2 Verspreiding

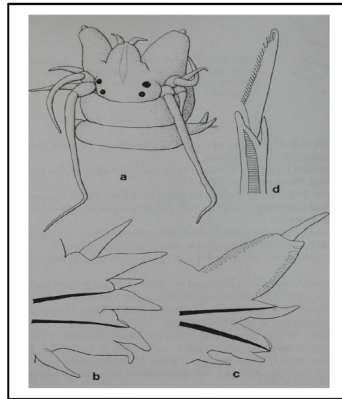
Breton *et al.* (2003) hebben op basis van onderzoek aan 2 mitochondriale genen (cytochroom *c* oxidase I (COI) en cytochroom *b* (*cytb*)) een duidelijk andere populatie structuur aangetoond bij *N. diversicolor* in vergelijking met *N. virens*. Bij *N. virens* werd in 16 individuen van 12 locaties (Noord-Amerika, Europa en Japan) in COI geen variatie aangetroffen en was in 89% van 93 onderzochte individuen één en hetzelfde haplotype van *cytb* aanwezig en slechts 2 andere haplotypes. In *N. diversicolor* werd COI niet onderzocht. *Cytb* werd in 33 individuen onderzocht, verzameld op 3 locaties (1 in Canada en 2 in Frankrijk (Roscoff en Marseille)). In deze dieren werden 12 haplotypes geïdentificeerd waarvan 2 in de Canadese populatie, 3 in die bij Marseille en 7 in die bij Roscoff. Er werden in de Franse populaties geen overeenkomende haplotypes gevonden. Hieruit kan geconcludeerd worden, dat *N. virens* zich waarschijnlijk over de wereld heeft verspreid vanuit één populatie en dat *N. diversicolor* op de diverse locaties is geëvolueerd. Mogelijk dat dit komt doordat *N. diversicolor* in beschutte min of meer geïsoleerde gebieden voorkomt.

2.3 Onderscheid tussen verschillende soorten

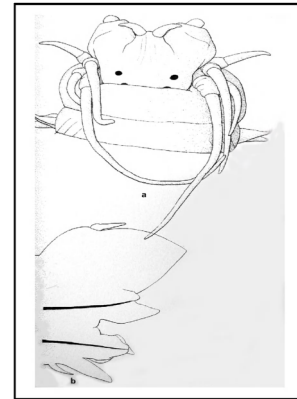
De onderscheid tussen *N. diversicolor* en *N. succinea* kan men maken door van het achter deel een parapod af te halen en deze in detail onder een binoculair te bekijken. Bij *N. succinea* (fig 5b en c) zie je dan een duidelijke grote 'teen' en scherpere 'teentjes' in vergelijking met *N. diversicolor* (fig 4b en c). Bij *N. virens* is de grote 'teen' nog duidelijker aanwezig (fig 6b). Ook heeft *N. succinea* zogenaamde 'paragmaten', dit zijn zwarte stekeltjes op de kop van het organisme. Deze stekeltjes liggen bij *N. succinea* duidelijk in een cirkel en bij *N. diversicolor* rommelig door elkaar. Ook zijn er bij *N. diversicolor* (vaak) minder stekeltjes te zien.



Figuur 4: *N. diversicolor*



Figuur 5: *N. succinea*



Figuur 6: *N. virens*

3. Systeem-ecologie

3.1 Concurrentie tussen Nerieden

N. diversicolor, *N. succinea* en *N. virens* hebben overlappende habitats en zullen met elkaar competieren (Wolff, 1973). *N. virens* zal vanwege zijn grootte, en *N. succinea* vanwege zijn agressieve gedrag, *N. diversicolor* verdringen (Mettam, 1981). In gebieden waar alle drie de soorten voorkomen zal *N. virens* de dichtheid van *N. diversicolor* verlagen, waarna de overblijvende individuen door *N. succinea* uit hun habitat worden verjaagd (Kristensen, 1988). *N. virens* heeft in ondiepe Deense kustwateren *N. diversicolor* verdrongen naar plaatsen met een gereduceerd zoutgehalte (Smith, 1977). Ook de grotere tolerantie van *N. diversicolor* voor hypoxie in combinatie met de aanwezigheid van waterstofsulphide speelt een belangrijke rol in de plaats binnen een gebied waar de soort zich kan handhaven (Dries & Theede, 1974; Theede, 1973; Theede *et al.*, 1973). Diaz & Rosenberg (1995) beschrijven de ecologische effecten en respons van benthische macrofauna op hypoxie, waarbij ze ook ingaan op biodiversiteit in gebieden waar regelmatig hypoxie optreedt. Zij stellen dat in zulke gebieden een soort stress-preconditionering optreedt waardoor populaties minder dramatisch reageren op korte perioden met hypoxie.

3.2 Predatie

Er is veel literatuur waarin laboratorium experimenten worden beschreven waarbij *N. diversicolor* wordt gevoed met diverse diëten. Vedel & Riisgård (1993) en Nielsen *et al.* (1995) hebben laboratorium experimenten uitgevoerd met diverse soorten voedsel als algen en gemalen garnalen. Goerke (1971) heeft in het Duitse Waddengebied (vooral Eems, Jadebusen, Wezer en Elbe estuarium) onderzoek gedaan naar darminhoud van de verschillende nerieden in deze gebieden. Bij *N. diversicolor* werden in de darmen de volgende plantaardige- en dierlijkebestanddelen gevonden:

Plantaardig: Cyanobacteriën, Peridiniaceae, Chlorococcales, *Scenedesmus*, *Pediastrum*, diatomeën, Chlorophyceae, *Enteromorpha*, resten van kormophyten

Dierlijk : *Rotalia*, andere Rhizopoden, Rotatoria, nematoden, polychaeten, oligochaeten,

gastropoden, syphons van bivalven, ostracoda, copepoden, amphopoden, cumaceën, eieren van cladoceren, Chironomiden-larven en insecten-larven

Verder werd er veel sediment en ondefinieerbaar detritus aangetroffen. Hieruit blijkt dat *N. diversicolor* een breed scala aan dierlijk en plantaardig materiaal als voedsel gebruikt. Door de mogelijkheid van filter-feeding kunnen zelfs vrij in het water levende algen worden benut als voedselbron.

3.3 Predatoren

Nereis diversicolor is een belangrijke prooi voor andere invertebraten, waadvogels en vissen. Onderzoek aan maaginhoud van waadvogels heeft aangetoond, dat *N. diversicolor* bij zeker 15 soorten als voedsel dient. Dit zijn o.a. de grijze plevier (*Pluvialis squatarola*), kluut (*Recurvirostra avosetta*), krombekstrandloper (*Calidris ferruginea*), wulp (*Numenius arquata*) en rosse grutto (*Limosa lapponica*) (Zwarts & Esselink, 1989; Goss-Custard, (1977)). De predatie door waadvogels wordt volgens Zwarts en Wanink (1984) niet zo zeer bepaald door dichtheden, maar meer door de grootte van de prooi. Kleine individuen graven zich nog niet zo diep in en zijn daardoor voor waadvogels bereikbaar, terwijl oudere dieren veel dieper zitten. Groeisnelheid is dus een belangrijke factor in de overleving van *Nereis diversicolor* (zie ook onder 1.7).

Ook diverse platvis zoals tong (*Solea solea*), schar (*Pleuronectes limanda*), bot (*Platichthys flesus*) en schol (*Pleuronectes platessa*) hebben *N. diversicolor* in hun dieet. Door sterke predatie kan de populatie van *N. diversicolor* laag worden gehouden.

3.3 Belang voor het ecosysteem

Door het graven van een gangenstelsel door polychaeten, zoals *N. diversicolor*, wordt het oppervlak waar uitwisseling van stoffen tussen water en sediment kan plaatsvinden vergroot. Actieve bio-irrigatie van de gangen verandert in grote mate de uitwisselingsprocessen. Zowel de microbiële transformatie als de fluxen van alle stikstofcomponenten door de sediment-water interface worden met een factor 2-4 verhoogd (Kristensen *et al.*, 1991). Callender & Hammond (1982) toonden aan, dat door bio-irrigatie de flux van silicaat met een factor 2 en die van ammonium met een factor 20 werd verhoogd. Door bioturbatie wordt de redox-potentiaal van het sediment veranderd. Mortimer *et al.* (1999) vonden bij een lage dichtheid aan *N. diversicolor*, dus lage bioturbatie, een lage redox-potentiaal. Hierdoor ontstond er een flux van fosfaat vanuit het sediment naar de waterfase. Bij grotere dichtheden werd de redoxpotentiaal hoger door toevoer van zuurstof naar dieper liggende sedimentlagen. Fosfaat werd geadsorbeerd en vastgelegd in ijzeroxide-complexen.

Aan de andere kant heeft *N. diversicolor* een negatieve invloed op zeegrasvelden. Door Hughes *et al.* (2000) is aangetoond, dat door activiteit van *N. diversicolor* (vraat aan blad en wortels) de kolonisatie van slikken door *Zostera noltii* sterk wordt beïnvloed. Ook Emmerson (2000) vond een significant negatief effect van de aanwezigheid van *N. diversicolor* op de overleving van zaden van *Spartina anglica*.

4. Kweken van *Nereis diversicolor*

Door Fidalgo e Costa *et al.* (2000) zijn kweek-experimenten uitgevoerd met *N. diversicolor*. Daarbij werden juveniele wormen (1 maand oud) gedurende 60 dagen om de dag ad libitum gevoerd met 6 verschillende diëten. Tabel 6 geeft de resultaten van hun experimenten weer. Zij concluderen dat vooral het gehalte aan meervoudig onverzadigde vetzuren in het aangeboden voedsel zorgt voor een betere overleving en een hogere groeisnelheid.

Dieet	Groeisnelheid (mg/dag)	Specifieke groeisnelheid (d ⁻¹)	Overleving (%)
Lansy	13.9	0.068	100
SBDF	9.4	0.061	100
Tetramin	9.4	0.068	88.8
Soja	8.8	0.058	100
Pollen	6.9	0.053	94.4
<i>Artemia</i>	6.2	0.054	77.4

Tabel 6. Resultaten groeiexperimenten met *N. diversicolor* uitgevoerd door Fidalgo e Costa *et al.* (2000)

Voor het kweken van *N. diversicolor* moet aan enkele randvoorwaarden worden voldaan. Een heel belangrijke is temperatuur. De spawning kan alleen goed verlopen als er een temperatuursregime wordt ingesteld. Dit houdt in, dat er periodes met lage temperaturen moeten worden ingebouwd om dieren in de juiste conditie te brengen. Gedurende het hele jaar de dieren op hoge temperaturen houden kan tot ongecontroleerde spawning leiden. Dit heeft nadelige gevolgen voor de kweekopbrengst (zie ook hoofdstuk 1.6 'temperatuur'). Over de mogelijkheid om geslachtscellen af te strippen en deze dan op te kweken tot larven is nog weinig in de literatuur gevonden.

Het gebruik van gekweekte individuen voor het uitvoeren van bioassays heeft de voorkeur, omdat van in de vrije natuur gevangen exemplaren geen voorgeschiedenis bekend is. Verder is men dan verzekerd van een constante aanvoer en kwaliteit. Ook zal het dan makkelijker zijn met bepaalde lengteklassen te werken.

5. Bioaccumulatie door *Nereis diversicolor*

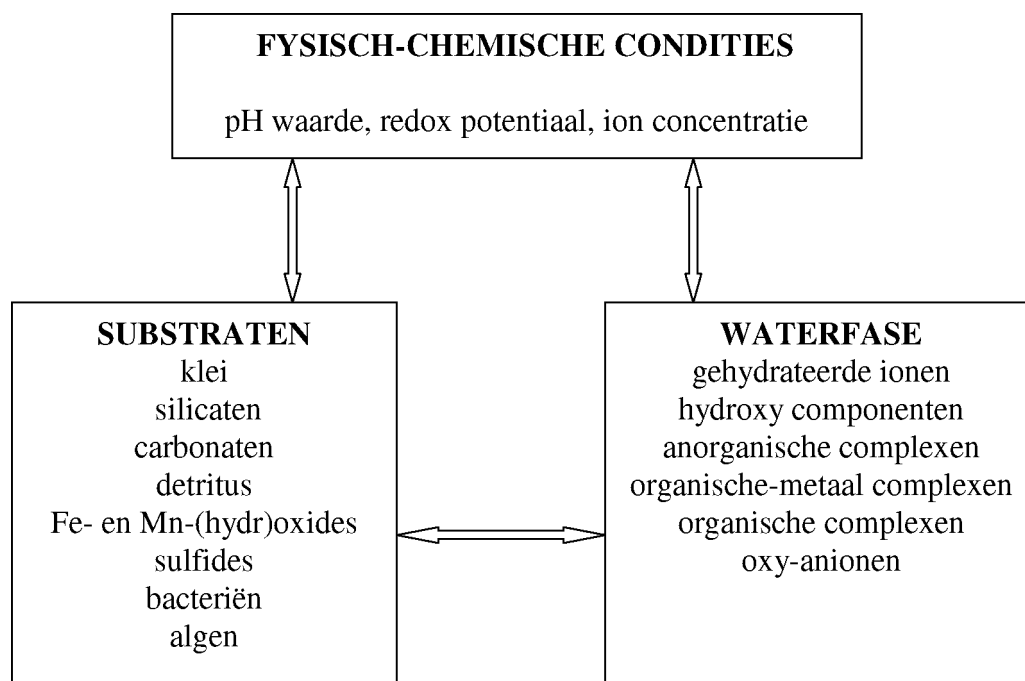
De biobeschikbaarheid van metalen en micro-verontreinigingen als PCB's en PAK's voor alle in het sediment levende organismen hangen nauw samen met de verdeling van deze stoffen tussen sediment en water. Concentraties waaraan de dieren worden blootgesteld zijn vaak moeilijk vast te stellen. Factoren als saliniteit, pH, temperatuur en zuurstofconcentraties in het sediment en het interstitiele water spelen een grote rol in de vorm waarin met name metalen voorkomen. De metalen zullen veelal geadsorbeerd zijn aan slibdeeltjes. De PCB's en PAK's hechten zich hoofdzakelijk aan organisch materiaal (algen, detritus).

Pereira & Kanungo (1981) schrijven dat Bryan & Hummerstone lichaamsconcentraties van 10 ppm zilver vonden in *N. diversicolor* wat ongeveer overeenkwam met de concentraties in sediment. Zelf vonden ze tot 200 ppm zilver in *N. virens* die in water werden gehouden met een concentratie van 1.0 ppm aan zilver. Zij refereren aan Pesch (1979) die stelt dat in een statisch systeem (o.a. sediment) de concentratie in de directe omgeving van een dier verandert en het dier dus per tijdseenheid aan een steeds lagere dosis wordt blootgesteld. De experimenten van Pereira & Kanungo (1981) werden uitgevoerd in water waarin het zilver gelijk verdeeld is en de dieren dus constant aan een zelfde concentratie van het metaal worden blootgesteld. Ook de grootte en vorm van de deeltjes in het sediment, de mineralen samenstelling en de mate van oxidatie spelen een rol bij de biobeschikbaarheid van contaminanten.

5.1 Metalen

5.1.1 Algemeen

De acute toxiciteit van metalen hangt sterk af van de mate waarin een metaal wordt opgenomen. De tolerantie van *Nereis diversicolor* voor metalen is gebaseerd op een complex systeem. Dit systeem omvat detoxificatie en opslag van de metalen in het epidermis en nephridia. Saliniteit, temperatuur, redox-potentiaal en pH van sediment en omringend water spelen een voorname rol in de bio-beschikbaarheid van zware metalen.



Figuur 4: Fysisch-chemische interacties in een aquatisch systeem (uit Calmano *et al.*, 1992)

In de weefsels van diverse marine en estuariene invertebraten komt een korrelstructuur (granula's) voor, die vooral metalen bevat (Brown, 1982). In *N. diversicolor* zijn o.a. granula's aangetoond die gebonden calcium, fosfor, zink, ijzer, lood, zilver of koper bevatten. Deze bevinden zich voornamelijk in het darmkanaal. Verder is bekend, dat *N. diversicolor* koper ook in een meer pure vorm als korrels opslaat in de opperhuid (epidermis) (Bryan, 1976). Multiple regressie analyses, uitgevoerd door Luoma & Bryan (1982) tonen aan dat vooral de sediment-concentraties en de verdeling van sedimentgebonden metalen tussen de verschillende sedimentcompartimenten, de belangrijkste factoren zijn die de concentraties aan zilver, cadmium, kobalt, koper, lood en zink in *Nereis diversicolor* bepalen. Verder is aangetoond, dat *N. diversicolor* tolerant is voor zink, koper, zilver en mogelijk lood. De tolerantie voor zink, koper en mogelijk lood is apart ontwikkeld, terwijl die voor zilver alleen aanwezig is als er tolerantie is voor koper en mogelijk ook voor lood (Bryan, 1976).

In tabel 7 zijn waarden van een 96 uur LC₅₀ voor zink opgenomen, bepaald bij verschillende temperatuur en saliniteit.

Saliniteit	temperatuur	LC ₅₀ (mg/l)	saliniteit	temperatuur	LC ₅₀ (mg/l)
5	12	7	17.5	6	40
10	12	19	17.5	12	32
17.5	12	38	17.5	20	9.1

Tabel 7: Invloed van temperatuur en saliniteit op de toxiciteit van zink in een 96 uur LC₅₀-test. (Fernandez, 1983)

Crompton (1997) heeft in een 4-14 dagen test de tolerantie grenzen van *N. diversicolor* voor diverse metalen bepaald (zie tabel 8).

Metaal	Hg	Cu	Cd	Zn	Pb	Cr	As	Ni
tolerantiegrens (mg l ⁻¹)	>0.1	>0.01	>1	>1	>0.1	>1	>1	>10

Tabel 8: Tolerantiegrenzen voor *Nereis diversicolor* voor verschillende metalen (Crompton, 1997)

Hall Jr. & Anderson (1995) hebben alle tot dan toe beschikbare literatuur aangaande aquatische toxiciteit gerelateerd aan saliniteit samengebracht.

Voor de metalen chroom en zink hebben ze vergelijkingen kunnen vinden met o.a. *Macoma balthica* en *Corophium volutator*, voor koper werden geen vergelijkbare waarden gevonden (zie tabel 9).

Ook de aanwezigheid van verschillende metalen naast elkaar in een sediment kan bioaccumulatie van een bepaald metaal wijzigen (Bryan & Hummerstone, 1973). Dit is een gevolg van de verdringingsreeks van metalen.

Díez *et al.* (2000) hebben bij *N. diversicolor*, tussen de verschillende leeftijdsclasses geen significante verschillen gevonden in lichaamsconcentraties metalen. Door diverse auteurs wordt *N. diversicolor* aangeduid als een goede bio-indicator voor Ag, Cd, Co, Cr, Cu en Pb in sedimenten.

Zhou *et al.* (2003) hebben de tolerantie en accumulatie van Zn, Cu en Cd in drie populaties *Nereis diversicolor* gemeten. De accumulatie werd gemeten in een 35 daagse test voor zink, een 21 daagse test voor koper en een 28 daagse test voor cadmium.

Saliniteit	Koper*	Chroom**					Zink***		
	<i>N. diver.</i>	<i>N. diver.</i> 5°C	<i>N. diver.</i> 10°C	<i>N. diver.</i> 15°C	<i>M. balthica</i>	<i>C. volutator</i>	<i>N. diver.</i>	<i>M. balthica</i>	<i>C. volutator</i>
5	0.2	15	2.9				6		1.1
10	0.44	18	3.5	1		2.3	16		3.2
15		19	4	1.5	20	5.2		60	3.4
17.5	0.48						42		
20		17	5.4	2	36	8.5			
25		26	5.8	2	50	11		180	4.4
30		26	4	1.5	68	6.2	35		
34	0.37								
35		27	8	3.3		14		250	3.6
40		26	12	5.2		15			

Tabel 9 : LC50s voor 3 metalen in ppm. Waarden gevonden in diverse literatuur tot 1992 (Hall & Anderson, 1992).

* 96-h LC50s, temperatuur onbekend, (Jones *et al.*, 1976)

** 192-h LC50s, temperatuur onbekend, (Bryant *et al.*, 1984)

*** 96-h LC50s, temperatuur 15°C, (Fernandez & Jones, 1990; Bryant *et al.*, 1985)

In tabel 10 staan de sedimentconcentraties aan zink, koper en cadmium van de bemonsterde locaties en in *N. diversicolor*.

	zink	koper	cadmium
Dulas Bay (Wales)	566±331 (544±30)	674±406 (3365±422)	0.51±0.30 (1.48±0.27)
Blackwater (Essex)	38.7± 8.7 (264±29)	9.2±1.9 (74±23)	0.42±0.14 (2.68)*
West Thurrock (Thames estuarium)	110± 23.1 (325±62)	28.9±7.2 (82±20)	0.51±0.30 (1.20±0.35)

Tabel 10: Sedimentconcentraties en (lichaamsconcentraties in *N. diversicolor*) in µgg⁻¹ drooggewicht, gemiddelde en sd, n=5. (* Cd concentratie vaak onder detectiegrens)

Voor de tolerantie test werden dieren van een locatie gedurende 21 dagen overgezet in sediment van een andere locatie. Uit deze experimenten bleek, dat dieren verzameld bij Blackwater en West Thurrock, een significant hogere concentratie aan zink en koper hadden dan de begin-concentraties in deze dieren. Bij dieren van de sterk vervuilde Dulas Bay werd na 21 dagen op sediment van Blackwater of West Thurrock geen significante afname gemeten in de zink en koper concentraties. Zhou *et al.* (2003) concluderen dat het opgenomen koper en zink wordt opgeslagen (al dan niet in gedetoxificeerde vorm) en dat er geen excretie van het opgeslagen metaal plaatsvindt binnen de 21 dagen die de test duurde.

5.1.2 Zink

Accumulatie, adaptatie en regulatie van zink is door diverse onderzoekers onderzocht (Bryan & Hummerstone, 1973; Bryan & Gibbs, 1987; Amiard *et al.*, 1987; Calmano *et al.*, 1992; Bryan & Langston, 1992; Swartz & Lee, 1980; Bryan, 1976; Zhou *et al.*, 2003; Díez *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 1999; Luoma & Bryan, 1982) of bijeen gebracht (Hall Jr. & Anderson, 1995).

Uit deze literatuur blijkt, dat *N. diversicolor* in staat is zink te reguleren door een verminderde permeabiliteit van de huid en een verhoogd vermogen om het metaal uit te scheiden.

Bryan & Hummerstone (1973) concluderen verder, dat dieren uit een populatie uit een gebied met zeer hoge concentraties zink beter in staat zijn tot reguleren dan dieren uit minder verontreinigde gebieden. Een voorzichtige conclusie die zij trekken is, dat de mate van reguleren genetisch is bepaald. Uit tabel 9 kan men afleiden, dat de saliniteit een belangrijke rol speelt in de overleving van *N. diversicolor*. Bij de uiterste grenzen van de zouttolerantie, worden de dieren gevoeliger voor contaminanten.

Bryan (1976) heeft experimenten uitgevoerd zonder sediment.

estuarium	sediment:	worm:	aantal exp.	gemiddelde LT*		
	[Zn] (ppm)	initiële [Zn] (ppm dw)		25 ppm	50 ppm	gem %
Avon	92	151	2	100(264h)	100(96h)	100
Hayle	895	195	2	72	80	76
Gannel	2010	215	2	131	107	119
Restronguet						
Creek	2960	204	2	173	179	176

Tabel 11: Toxiciteit van zink (sulfaat) voor *Nereis* in 50% zeewater (uit Bryan, 1976).

* Als percentage van Avon controles.

Zink wordt ook geaccumuleerd uit oplossingen, dus ook poriewater. Hierdoor is het moeilijk vast te stellen welk deel via het sediment en welk deel via poriewater is geaccumuleerd.

5.1.3 Koper

Bryan & Hummerstone (1971) stellen dat de concentratie koper in *N. diversicolor* bij benadering overeenkomt met de concentratie in het sediment. Dit in tegenstelling met de concentraties zink, welke opmerkelijk constant blijven in *Nereis* ondanks de grote range aan concentraties in het milieu (zie ook 5.1.2 en tabel 11 en 12).

Koper wordt in resistente dieren sneller geabsorbeerd en daarna gedetoxificeerd door een complexvormend systeem. Daarna wordt het complex opgeslagen in de nephridia (uitscheidingsorgaan voor afvalstoffen) en het epidermis (Swartz & Lee, 1980).

Ozoh (1994) heeft de accumulatie van koper bij adulte dieren onder diverse temperatuur-saliniteit regimes onderzocht. Bij 12°C en een saliniteit van 7.5‰ vonden zij een grotere beschikbaarheid van koper en daarmee een hoge accumulatie nl. 83.27-183.12 µg Cu/g drooggewicht. Bij toenemende saliniteit werd minder koper geaccumuleerd. Er werd ook snel een steady state bereikt ongeacht de tijd van blootstelling. Bij hogere temperaturen werd meer koper geaccumuleerd. Door de hogere temperaturen werd het effect van hoge of lage saliniteit op de accumulatie gereduceerd.

Water uit de Carnon River, die in de Restronguet Creek uitmondt, bevatte 0.6µg Cu/ml, 4µg Zn/ml, 0.02µg Pb/ml, 0.6µg Mn/ml en 2µg Fe/ml bij een pH van 3.8.

Estuarium	aantal analyses	concentratie (µg/g)				
		Cu	Zn	Pb	Mn	Fe
Plym	4	41	339	44	46	5661
Dart	3	44	140	154	213	29434
Avon	3	52	99	35	253	26814
Camel	2	73	122	21	210	13680
Tamar	16	436	518	299	366	37679
Tiddy/Tamar	2	591	532	287	372	38565
Restronguet Creek	23	3020	2237	359	425	57837

Tabel 12: Concentraties metalen in sedimenten van diverse estuaria in Engeland (uit Bryan & Hummerstone, 1971)

Estuarium	aantal analyses	drooggewicht (%)	concentratie (µg/g)					Cu-ratio dier/sediment
			Cu	Zn	Pb	Mn	Fe	
Plym	5	15,0	28	199	5,9	7,4	350	0,68
Dart	3	15,0	22	163	4,4	9,5	366	0,50
Avon	6	15,4	33	176	3,4	9,8	391	0,63
Camel	2	15,9	31	155	0,7	7,0	404	0,42
Tamar	18	15,2	106	166	5,8	11,0	458	0,24
Tiddy/Tamar	4	14,4	257	185	4,9	9,3	562	0,43
Restronguet Creek	23	15,9	1142	194	3,5	6,0	425	0,38

Tabel 13: Concentraties metalen in *N. diversicolor* verzameld in diverse estuaria in Engeland (uit Bryan & Hummerstone, 1971)

McLusky *et al.* (1986) schrijven in hun review, dat uit alle verzamelde data en literatuur blijkt, dat de toxiciteit van Cu het grootst is bij een saliniteit van 5‰. Verder weten zij te melden, dat dieren die bij een middelmatige saliniteit (ca. 17‰) werden gehouden, meer Cu accumuleerden maar wel een grotere LT₅₀ hadden. Blijkbaar is dus niet de uiteindelijke lichaams-concentratie aan Cu de kritische factor voor overleving.

	96h LC50 (ppm)		168h LC50 (ppm)	
	<i>Nereis diversicolor</i>	<i>Nephtys hombergi</i>	<i>Scrobicularia plana</i>	<i>Corophium volutator</i>
Tolerant	2,3	0,7	4,6	50
niet-tolerant	0,54	0,25	2,3	32

Tabel 14: Toxiciteit van koper voor tolerante en niet-tolerante dieren (uit Bryan, 1976).

	sediment:	worm:	aantal	gemiddelde LT*			
	[Cu] (ppm)	initiële [Cu] (ppm dw)					gem %
Estuarium			exp.	0,5 ppm	1,0 ppm	2,5 ppm	
Avon	18	20	4	100(155h)	100(59h)	100(27h)	100
Gannel	296	116	2	128	100	135	121
Tamar	509	397	2	97	93	111	100
Hayle	712	729	3	490+	230	260	327
Restronguet							
Creek	3500	922	3	440+	299	259	333

Tabel 15: Toxiciteit van koper (citraat) voor *Nereis* in 50% zeewater (uit Bryan, 1976).

* Als percentage van Avon controles.

Verder heeft Bryan aangetoond, dat tolerantie voor bv. koper niet per definitie gerelateerd is aan de aanwezigheid van hoge concentraties koper in de dieren. Daarvoor heeft hij hele kleine dieren verzameld op een schone en een sterk verontreinigde locatie. Deze dieren werden gedurende 6 maanden in het laboratorium opgekweekt. Voor de experimenten werden nogmaals dieren van eenzelfde grootte verzameld op de 2 locaties. Beide groepen werden met elkaar vergeleken (zie tabel 16).

De 9 maal lagere koper concentratie in de gekweekte dieren en de daarmee bijna niet afgenomen tolerantie suggereert een genetisch bepaalde tolerantie.

estuarium	type	worm: initiële [Cu] (ppm dw)	gemid. LT in 1 ppm CuSO ₄ als % Avon vers	Gemid. opname 5 wormen/conc (ppm/d)	
				0,0034 ppm	0,028 ppm
Avon	vers	16	100(48h)	1,32	9,35
Avon	gekweekt	11	137	0,58	8,82
Restronguet					
Creek	vers	882	306	2,55	34,3
Restronguet					
Creek	gekweekt	99	271	0,54	4,34

Tabel 16: Vergelijking van de toxiciteit en de opname van koper in 50% zeewater door vers verzamelde en gekweekte *Nereis diversicolor* (uit Bryan, 1976).

Voor Cu geldt dat het wordt geaccumuleerd uit oplossingen, dus ook poriewater. Hierdoor is het moeilijk vast te stellen welk deel via het sediment en welk deel via poriewater is geaccumuleerd.

Bryan & Langston (1992) schrijven in hun review, dat bij *Macoma balthica*, *Scrobicularia plana* en *Pectinaria koreni* de toxische effecten van Cu dramatisch toenamen bij lage zuurstof spanning en daarmee samenhangende lage pH. Voor *P. koreni* wordt een letale dosis van 10 µg Cu/l vermeld.

5.1.4 Cadmium

Bryan & Hummerstone (1973) hebben een lineair verband tussen de sediment- en de lichaamsconcentraties in *N. diversicolor* aangetoond. Echter hoge concentraties zink verlagen de bioaccumulatie door *N. diversicolor* van cadmium uit oplossing. Dit komt doordat de doorlaatbaarheid van de huid voor zink wordt verlaagd. Hierdoor is de huid ook minder doorlaatbaar voor metalen als cadmium en mangaan. Dit is dus een andere vorm van tolerantie dan bij koper, waar juist de tolerantere dieren meer koper kunnen absorberen en in ontgifte vorm

opslaan dan de minder tolerante dieren. Demuynck & Dhainaut-Courtois (1994) (referentie in Dhainaut & Scaps (2001)) hebben aangetoond, dat binnen 24-48h na blootstelling aan Cd binding plaats vindt aan de MP I (hoog-moleculair metalloproteïne) en dat pas na 48h binding aan de MP II (laag-moleculair metalloproteïne) plaats vindt. Phillips (1980) (referentie van McLusky *et al.*, 1986) heeft aangetoond, dat de 96h LC₅₀ voor anneliden overeenkomt met die van mollusken (1-10 mg/l). *N. diversicolor* is daarop, met een 96h LC₅₀ van tot 100 mg/l, een uitzondering. Phillips vermeldde echter geen effecten van omgevings variabelen, zoals temperatuur en saliniteit, op de toxiciteit van het metaal.

Cadmium wordt ook geaccumuleerd uit oplossingen (Zhou *et al.*, 2003), dus ook poriewater. Hierdoor is het moeilijk vast te stellen welk deel via het sediment en welk deel via poriewater is geaccumuleerd. Predatie op plankton en andere in het sediment levende dieren vormen ook een mogelijke bron waaruit geaccumuleerd kan worden.

5.1.5 Chroom

De stabiele vorm van opgelost chroom is hexavalent chroom (Cr(VI)), maar er is meestal een significante hoeveelheid van trivalent chroom (Cr(III)) en een organisch gebonden vorm aanwezig. Van de anorganische vormen is Cr(III) minder biologisch beschikbaar en toxisch dan Cr(VI). Het Cr(III) heeft de neiging in zeewater neer te slaan en dan complexen te vormen met o.a. ijzeroxyde of te hechten aan allerlei oppervlakken.

De meest logische weg van opname van chroom door *N. diversicolor* is via het sediment.

Bryan & Langston (1992) vonden een lineair verband tussen sediment en lichaamsconcentraties aan chroom.

Bryant *et al.* (1984) hebben de effecten van temperatuur en saliniteit op de toxiciteit van Cr(VI) voor drie estuarine invertebraten onderzocht (zie tabellen 9 en 17).

De resultaten gaven duidelijk significante effecten voor temperatuur, saliniteit en chroom concentraties op de acute toxiciteit van chroom op *Corophium volutator* en *Macoma balthica*. Bij chroom-concentraties tot 64 ppm namen zij voor de gecombineerde interacties van (chroom-concentratie x saliniteit), (temperatuur x saliniteit) en (chroom-concentratie x temperatuur) bij *Corophium volutator* een significante verlaging van de LT₅₀ waarden waar. Het toxische effect van chroom wordt bij concentraties boven 64 ppm blijkbaar zo groot, dat dit de effecten van de interacties overtreft. Voor *Macoma balthica* werd alleen voor saliniteit bij toenemende chroom-concentratie een significant verlagend effect op de LT₅₀ waargenomen.

Bij *Nereis diversicolor* nam de toxiciteit toe bij toenemende temperatuur. Het effect van saliniteit was veel minder uitgesproken dan bij de andere 2 soorten.

Alle experimenten gaven een progressieve toename van de toxiciteit uitgedrukt als LC₅₀ te zien. De log(concentratie)-log(response) curves vertoonden een lineaire regressie. Door Eisler en Hennekey (1977) (niet gelezen) is de toxiciteit van verschillende zware metalen op estuariene invertebraten bij een bepaalde temperatuur en saliniteit gecombineerd. Zij vonden de volgende rangorde $Hg^{2+} \gg Cd^{2+} > Zn^{2+} > Cr^{6+} \gg Ni^{2+}$, met voor de anneliden een grotere gevoeligheid voor chroom dan de andere invertebraten.

De grootste effecten op de LT₅₀ voor *N. diversicolor* hebben Bryant *et al.* (1984) gevonden tussen 5 en 10°C.

Bij de polychaet *Neanthes arenaceodantata* werd bij een lichaamsconcentratie van 50µg Cr(VI)/g (blootstelling aan 39 µg Cr(VI)/l) een duidelijke reductie in het aantal nakomelingen gevonden. Deze waarden zullen voor *N. diversicolor* geen negatieve gevolgen hebben, aangezien de 192h LC₅₀ concentraties in de orde van grootte liggen tussen 1000 µg/l (15°C) tot wel 26000µg/l (5°C) (Bryant *et al.* (1984), tabel 9 en tabel 13).

		5 °C							
soort	time	5	10	15	20	25	30	35	40
<i>Corophium volutator</i>	12	34	80	x	X	x	x	x	x
	24	18	38	78	90	190	x	x	x
	48	9,5	16	34	50	80	120	85	100
	96	5	8	15	14	36	38	40	36
	192	<	3	7	7,5	15	19	20	12
	384	<	<	3	3,2	<	<	<	<
<i>Macoma balthica</i>	96			190	220	x	600	640	x
	192			36	62	105	135	180	340
	384			<	17	<	<	52	52
<i>Nereis diversicolor</i>	96	56	80	x	X	x	x	x	x
	192	15	18	19	17	26	26	27	26
	384	3,8	4,4	<	<	<	<	<	<

		10 °C							
soort	time	5	10	15	20	25	30	35	40
<i>Corophium volutator</i>	12	27	65	x	X	x	x	x	X
	24	12	29	64	110	x	x	x	X
	48	5,4	13	27	48	60	100	90	90
	96	2,3	5,8	120	20	25	25	36	38
	192	<	2,3	5,2	8,5	11	6,2	14	15
	384	<	<	<	<	4	<	<	<
<i>Macoma balthica</i>	96			70	120	160	320		
	192			20	36	50	68		
	384			<	<	<	<		
<i>Nereis diversicolor</i>	96	19	22	27	65	55	34	52	40
	192	2,9	3,5	4	5,4	5,8	4	8	12
	384	<	0,7	<	<	<	<	<	<

		15 °C							
soort	time	5	10	15	20	25	30	35	40
<i>Corophium volutator</i>	12	17	32	180	90	x	x	x	X
	24	6	12	30	38	65	75	52	44
	48	2	4,2	11	15	17	26	17	9,5
	96	<	<	4,4	6	4,7	9,5	5,8	2,2
	192	<	<	<	2,5	<	3,6	2	<
	384	<	<	<	<	<	<	<	<
<i>Macoma balthica</i>	96			29	46	64	98	110	
	192			65	16	19	26	34	
	384			<	<	<	<	<	
<i>Nereis diversicolor</i>	96	7,5	9,5	8,5	12	12	7,5	22	16
	192	<	1	1,5	2	2	1,5	3,3	5,2
	384	<	<	<	<	<	<	<	<

Tabel 17: Gemiddelde letale concentratie (LC₅₀) voor chroom getest op 3 invertebraten (Bryant *et al.*, (1984).

5.1.6 Lood

Volgens Bryan & Hummerstone (1973) en Amiard *et al.* (1987) komen de concentraties aan Pb in *N. diversicolor* overeen met de sedimentconcentraties en vooral met de Pb/organische stof ratio's in het sediment.

Bryan & Langston (1992) rapporteren Pb-concentraties in poriewatermonsters van sedimenten met hoge Pb-concentraties (8000-9000 µg/g) van 68-168 µg Pb/l (geoxideerde oppervlakte laag) en 14-43 µg Pb/l (diepere lagen). De invloed van organisch stof op de biobeschikbaarheid van Pb ligt waarschijnlijk in het feit, dat het vrije Pb²⁺-ion een complex vormt met ijzeroxides. Ook Luoma & Bryan (1982) stellen dat er bewijzen zijn, dat de biobeschikbaarheid van aan sediment gebonden Pb afneemt bij toenemende hoeveelheden ijzeroxide of organisch materiaal. Deze zouden metalen effectiever kunnen binden.

5.1.7 Arseen

Over de effecten van arseen refereren McLusky *et al.* (1986) aan Cairns *et al.* (1975) welke stellen, dat arseen de oxidatieve fosforisatie remt en dus de ademhaling. Aangezien de ademhaling temperatuur gevoelig is zullen temperatuur en de aanwezigheid van het metaal elkaar beïnvloeden. Verder is weinig over de effecten van arseen bekend.

5.1.8 Kwik

Kwik wordt in het aquatische milieu vrijwel direct geadsorbeerd aan oplosbare en particuliere organische koolstoffen. In estuaria worden in sedimenten zogeheten 'hotspots' gevormd door plaatselijke uitvloeking, precipitatie en bezinking. Door de sterke binding van kwik aan sedimenten vindt er slechts een geringe uitwisseling met het bovenstaande water plaats. Dit proces kan worden versneld door hogere saliniteit in combinatie met zoetwater of door de aanwezigheid van hoge sulfide-concentraties in anoxische sedimenten.

Baggeren en resuspensie van bodemmateriaal kan een kort durende verhoging van de kwik concentraties in het water tot gevolg hebben (referenties uit Bryan & Langston, 1992).

Baeyens *et al.* (1998) hebben in het Schelde estuarium onderzoek verricht naar het voorkomen van kwik in water, sediment en benthische organismen. In de waterfase particulier gebonden kwik (Hg_P) (concentraties 350-1610 ng/l) blijkt voornamelijk door verdunning met niet verontreinigde partikels te worden beïnvloed en niet door seizoensinvloeden. Opgelost kwik daarentegen vertoont een grote seizoensvariatie wat vooral wordt veroorzaakt door de redox-omstandigheden in het estuarium en bacteriële en phytoplankton activiteit. Totaal opgelost kwik (Hg_{TD}) (concentraties 0.5-3.0 ng/l) komt vooral in de winter in het zoete gedeelte van het estuarium in zeer hoge concentraties voor. Met toenemende saliniteit nemen de concentraties snel af. Ook lage zuurstofgehalten hebben een verlagend effect op de Hg_{TD}-concentratie. Daardoor zijn de concentraties in de zomer in het bovenste gedeelte van het estuarium laag en nemen richting zee toe doordat daar meer zuurstof aanwezig is.

De accumulatie van monomethylkwik (MMHg) en totaal kwik (Hg_T) door *N. diversicolor* was hoger in zandige sedimenten dan in modderige sedimenten. MMHg-concentraties in *N. diversicolor* lagen in de range van 2.2-20.9 ng/g wat ongeveer 18% van het totale kwik uitmaakte.

De seizoensvariaties op de aanwezigheid van de verschillende kwik-derivaten in sedimenten, hogere Hg_T in de herfst en winter en hogere MMHg in het voorjaar en zomer kunnen worden teruggevonden in *N. diversicolor*.

Muhaya *et al.* (1997) hebben op de slikken van Groot Buitenschoor (Schelde estuarium) onderzoek gedaan en vonden daar Hg en MeHg (methylkwik) concentraties in sediment van 144-1192 ng/g drooggewicht en 0.8-6 ng/g drooggewicht in *N. diversicolor*. De concentraties

van beide vormen nam toe met een toename van het organisch stof gehalte en afnemende korrelgrootte. Bij *N. diversicolor* in zandige sedimenten vonden ze een significant ($p < 0.05$) hogere Hg accumulatie (gemiddeld 125 ng/g drooggewicht) dan in modderige sedimenten (gemiddeld 80 ng/g drooggewicht). Dit schrijven ze toe aan de gereduceerde biobeschikbaarheid in modderige sedimenten door de aanwezigheid van meer organisch stof. Methylkwik maakte 0.7% van de sedimentconcentratie uit en 18% van de concentratie in *N. diversicolor*.

5.1.9 Zilver

Pereira & Kanungo (1981) hebben effecten van zilver op de respiratie en de ion- en waterhuishouding van *N. virens* gemeten. Respiratie nam significant af bij 48h bij 0.8ppm ($p < 0.05$) en bij 24h bij 1.0ppm ($p < 0.05$). Of die lagere zuurstofconsumptie een direct gevolg is van het ingrijpen van het metaal op de celademhaling of een indirect gevolg door het verstoren van de ion balans in de lichaamsvloeistof, is onduidelijk. Na blootstelling aan Ag-concentraties van 88 ppm of meer vonden ze een significante toename van K^+ -ionen en een afname van Ca^{2+} -ionen in de lichaamsvloeistof. Natrium bleef onveranderd. Alle blootgestelde dieren, ongeacht de concentraties waaraan ze waren blootgesteld, waren dunner en de parapoden opgezwollen. Bewegen ging ongecoördineerd.

Bryan (1976) heeft in een experiment met 0.5 ppm Ag aangetoond, dat dieren uit gebieden met hoge Cu- en Pb-concentraties toleranter zijn voor Ag dan dieren uit andere gebieden. Ook constateerde hij grijskleuring van de rugzijde.

	sediment: [Ag] (ppm)	worm: initiële [Ag] (ppm dw)	aantal exp.	gemiddelde LT	effect
estuarium					
Avon	<0,2	0,7	2	100(180h)	
Hayle	1,5	5,7	2	160+	geen
East Looe	3,1	5	2	143	
Restronguet					
Creek	4,6	5,2	2	160+	geen
Gannel	13,6	10,8	2	160+	klein

Tabel 19: Toxiciteit van zilver (nitraat) voor *Nereis* in 50% zeewater (uit Bryan, 1976).

* Als percentage van Avon controles in 0.5ppm.

Luoma & Bryan (1982) vonden dat de accumulatie van zilver in *Scrobicularia plana* in aanwezigheid van hoge concentraties koper werd gereduceerd. Ook stellen zij dat de opname door *N. diversicolor* in sedimenten met hoge gehalten aan humus bestanddelen werd gereduceerd maar in aanwezigheid van mangaan en ijzer juist neigde toe te nemen.

In het Severn estuarium en Bristol Channel is een sterke relatie tussen zowel opgelost en sedimentgebonden zilver en de concentratie zilver in *N. diversicolor* aangetoond. Hieruit trekken Luoma & Bryan (1982) de conclusie dat zowel opgelost zilver als sedimentgebonden zilver door *N. diversicolor* worden geaccumuleerd.

5.2 Organische micro-verontreinigingen

Niet-polaire organische microverontreinigingen zoals polycyclische aromatische koolwaterstoffen, polychloor biphenyls en bepaalde pesticiden, die aan sediment zijn geadsorbeerd hebben een lage biobeschikbaarheid voor zoetwater en marine dieren. De bioaccumulatiefactor van deze stoffen vanuit sediment liggen in de range van 0.1 tot 20, wat

veel lager is dan de bioaccumulatiefactor van deze stoffen uit water. Biobeschikbaarheid van sedimentgebonden organische microverontreinigingen is direct gerelateerd aan de oplosbaarheid van de stof en de korrelgrootte van het sediment en omgekeerd evenredig met het organische stofgehalte van het sediment en de grootte van het dier (Neff, 1984).

5.2.1 PAK

Tot de polycyclische aromatische koolwaterstoffen rekent men enkele honderden verwante stoffen die over het algemeen met een aantal tegelijk voorkomen. PAK's zijn zeer giftig en kankerverwekkend en worden in het milieu maar langzaam afgebroken. Ze ontstaan bij de onvolledige verbranding van koolstofhoudende materialen. Antifoulingverf en ruw olie bevat ook veel PAK's.

Neff (1984) concluderen dat particulairgebonden aromatische microverontreinigingen minder biobeschikbaar zijn dan de fractie die in het poriewater en bovenstaande water aanwezig is.

Echter, in het sediment levende dieren die grote hoeveelheden sediment opeten en daar hun voedsel uithalen, krijgen daarmee ook veel van deze stoffen binnen. PAK's (o.a. benzo[a]pyreen, fluorantheen, benzofluorantheen en methylphenanthreen) hebben een verhoging van cytochroom P-450 en de acetylcholinesterase activiteit tot gevolg.

Lee (1981) toonde in de derde generatie bij *Capitella capitata* een hogere mixed function oxygenase (MFO) activiteit aan dan in de eerste en tweede generatie, dit na blootstelling aan ruwe olie of benz[a]anthraceen (Fries & Lee, 1984). Mogelijk dat hier genetische selectie kan plaatsvinden, waardoor er populaties ontstaan die resistenter zijn tegen verontreinigingen met PAK's.

5.2.1 PCB

Sedimenten zijn de belangrijkste bron van PCB's voor *N. diversicolor*. De concentraties in poriewater zijn dermate klein, dat ze geen rol van betekenis spelen (Elder *et al.*, 1979; Fowler *et al.*, 1978). Berekeningen van Fowler *et al.* komen uit op een accumulatie van 0.175 ppm PCB's uit sediment en slechts 0.0012 ppm PCB's uit het bovenstaande water.

Elder *et al.* (1979) concluderen dat de vraag, of PCB-opname via voedseldeeltjes dan wel via de huid door contact met het poriewater geschied, nog onbeantwoord blijft. Díez *et al.* (2000) en Fowler *et al.* (1978) melden dat Goerke en Weber (1990) suggereren, dat populaties *N. diversicolor* beschikken over verschillende biotransformatie en excretie capaciteit voor PCB's door een verschil in het MFO-systeem. Dit zou genetisch zijn bepaald (zie ook hoofdstuk 2.2 en 5.7).

Fowler *et al.* (1978) hebben niet-gespiked sediment (achtergrond concentratie 0.1 ppm PCB) en met 9.7 en 80 ppm PCB gespiked sediment gebruikt. PCB-concentratie in de gebruikte *N. diversicolor* was 0.59 ppm. Bij Elder *et al.* (1979) werd *N. diversicolor*, onder dezelfde condities als bij Fowler *et al.*, blootgesteld aan 0.65 ppm PCB. Fowler *et al.* (1978) hebben de dan nog ongepubliceerde data van Elder *et al.* (1979) gebruikt bij berekeningen. Zij concluderen dat hoe hoger de concentratie aan PCB's hoe langer het duurt voor er een steady-state wordt bereikt. In niet-gespiked sediment werd al na enkele dagen een steady-state bereikt, terwijl deze in de sedimenten met 9.3 en 80 ppm PCB pas na ongeveer 2 maanden werd bereikt. In het sediment gebruikt door Elder *et al.* (1979) werd al na ongeveer 20 dagen de steady-state bereikt. Zij bepaalden de concentratie factor (CF), d.i. ppm PCB natgewicht in dieren/ ppm PCB natgewicht in sediment, op 3 à 4 voor alle 3 de gespikede sedimenten. De accumulatie van PCB's is dus blijkbaar dosis afhankelijk in de door hen gebruikte concentratie range. Fowler *et al.* (1978) vonden bij 80 ppm PCB na 90 dagen geen wormen meer terug wat ze toeschrijven aan het toxische effect van de PCB's.

Opname van PCB's uit water verloopt veel sneller dan opname vanuit sediment, maar door de zeer lage concentraties in water zal de voornaamste route voor opname toch via het sediment lopen. Gecontamineerde prooien vormen een andere belangrijke bron voor de opname van PCB's.

5.2.3 TBT

Er is weinig literatuur gevonden van effecten van tributyltin (TBT) op andere organismen dan mollusken en crustaceën. Het laagste effect niveau bij anneliden is bij *N. diversicolor* gevonden. Na een chronische blootstelling aan 2 µg TBT/l werden mortaliteit en effecten op het gedrag waargenomen.

Acute effecten werden gevonden na 22 dagen in stromend zeewater bij concentraties van 4µg TBT/l (100% mortaliteit) en 2µg TBT/l (55% mortaliteit) bij een blanco mortaliteit van 20% (Beaumont et al. 1987). Het uitstulpen van de proboscis, een meer gevoeliger indicatie van toxiciteit, kwam voor bij 75% van de dieren die werden blootgesteld aan 2 µg TBT/l (blanco geen uitstulpende proboscis). Na 20 dagen vertoonde al 50% van blootgestelde dieren het effect. Andere effecten van TBT die zijn waargenomen, zijn remming van de regeneratie bij de brokkelster bij 0.1µg TBT/l.

Er is aangetoond, dat TBT-oxyde de overleving van ééncellige marine plankton remt. Eieren van de regenboogforel sterven binnen 10-12 dagen bij blootstelling aan 5 ppb TBT. Ook wordt melding gemaakt van groeiremming in jonge forel. Blootstelling aan lage concentraties TBT-oxyde leidt na 7 dagen al tot volledige afbraak van het hoornvlies bij de regenboogforel.

5.3 Polydimethylsiloxaan (PDMS)

Voor de studie van Craig & Caunter (1990) naar de effecten van siliconen op *N. diversicolor* werd bij blootstelling aan 10000mg PDMS/kg sediment gedurende 96h en een blootstelling aan 1000mg PDMS/kg gedurende 28 dagen geen effect gemeten.

De enigste effecten waren dat dieren in onbehandeld sediment zich sneller ingroeiden dan in behandeld sediment. Variant analyse van de gewichten van de verschillende groepen gebruikte dieren liet geen significante afwijkingen zien tussen blootgestelde en niet-blootgestelde dieren. Craig & Caunter (1990) refereren nog aan toxische effecten van siliconen op *Penaeus aztecus* (garnaalachtige) met een 48h LC₅₀ van 1000mg PDMS/kg en op *Pleuronectes platessa* (schol) met een 96h LC₅₀ van 10000mg PDMS/kg.

5.4 Radionuclide contaminanten

Beasley & Fowler (1976) hebben *Nereis diversicolor* blootgesteld aan sedimenten die waren verontreinigd met plutonium en americium. De sedimenten kwamen van locaties verontreinigd door nucleaire tests en van locaties waar effluent uit een opwerkingsfabriek werd geloosd. Ze wilden o.a. vaststellen of de manier van contamineren significante verschillen laten zien. Door de extreme temperaturen bij nucleaire tests worden keramische elementen gevormd, waarin de transuranische elementen worden gevangen. Hierdoor wordt het biogeochemische gedrag van deze elementen mogelijk sterk beïnvloed.

De aanwezigheid van uranium metaal in bepaalde nucleaire wapens geeft de mogelijkheid tot productie van ²³⁹Pu en ²⁴⁰Pu door verval van ²³⁹U en ²⁴⁰U. De fysisch/chemische vorm van deze elementen kan anders zijn dan van het origineel aanwezige plutonium.

De in effluent aanwezige transuranische elementen hebben een hele serie chemische behandelingen ondergaan. Het effluent kan mogelijk nog sporen van chemicaliën bevatten,

welke de fysisch/chemische vorm van de transuranische elementen veranderd waardoor ze in waterig milieu anders kunnen reageren.

In de experimenten vonden Beasley en Fowler een opname van slechts 0.5 % van de concentratie aan deze stoffen.

De relatieve opname van plutonium van beide locaties kwamen sterk overeen, terwijl de relatieve opname van americium van effluent-locaties groter was dan van nucleairetest locaties. Zij concluderen dat dit mogelijk komt door de aanwezigheid van “vrij” ^{241}Am .

Uit experimenten uitgevoerd door Bryan en Hummerstone (1971, 1973) kan worden geconcludeerd, dat *N. diversicolor* zink, cadmium en koper accumuleert uit het poriewater. Accumulatie van plutonium en americium gaat mogelijk langs dezelfde weg. Hier moet nog worden opgemerkt, dat *N. diversicolor* op zeer diverse manieren aan zijn voedsel komt. Een mogelijke andere weg van opname van deze radionucliden is predatie op gecontamineerde prooien en opname via gecontamineerde algen en detritus.

5.5 Acetylcholinesterase activiteit

Anneliden reageren d.m.v. verschillende processen op fysische en chemische invloeden.

De respons uit zich meestal door de synthese van stress-geïnduceerde eiwitten, inhibitie van enzym-activiteit en inhibitie of stimulatie van de activiteit van enzymen, die betrokken zijn bij de detoxificatie van xenobiota (Lee, 1984; Fries & Lee, 1984). Pesticiden die organofosfaat en carbamaat bevatten remmen de werking van acetylcholinesterase (AChE) en daarmee de overdracht van zenuwpraktoren in de synapsen (Dhainaut & Scaps, 2001). *N. diversicolor* komt veel voor in gebieden waar mogelijk ook veel verontreiniging met deze stoffen heeft plaatsgevonden of nog plaats vindt. Aangezien ook in *N. diversicolor* acetylcholinesterase activiteit is aangetoond, is de soort mogelijk te gebruiken als biochemische indicator van deze stoffen.

Scaps & Borot (2000) hebben de effecten van temperatuur en saliniteit op de AChE-activiteit van *N. diversicolor* onderzocht. Bij een saliniteit van 30‰ en toenemende temperatuur lijkt de activiteit af te nemen. Bij de test op 15‰ werd geen trend gevonden. Tijdens de experimenten werden de dieren niet gevoerd.

In onderstaande tabel zijn de resultaten van het onderzoek opgenomen.

Tijd (dagen)	AChE activiteit (nmol/min/mg proteïne)			
	12°C, 30‰	12°C, 15‰	20°C, 30‰	20°C, 15‰
2	39,40 ± 3,73	21,65 ± 2,11**	29,85 ± 3,10	32,43 ± 3,10
8	29,51 ± 2,77	23,33 ± 2,87	21,89 ± 1,91	21,30 ± 3,17
24	16,81 ± 1,98	18,72 ± 1,64	12,28 ± 1,39	16,37 ± 1,87

Tabel 20: Invloed van temperatuur en saliniteit op de gemiddelde totale lichaams AChE activiteit in *N. diversicolor*. Gemiddelde en standaard deviatie van 5 replica's met 4 individuen.

** 0.01 > p > 0.001

Voor malathion en parathionethyl, 2 organofosfaten, vonden Scaps *et al.* (1997) geen effect op de choline transferase activiteit. Malathion, parathionethyl en phosalon en het carbamaat-pesticide carbaryl geven, bij concentraties van 10^{-6} M, na respectievelijk 7 en 2 dagen het hoogste percentage remmend effect op de AChE-activiteit. Na 14 dagen trad sterfte op.

Zij concluderen dat *N. diversicolor* mogelijk een goede indicatorsoort is om de toxiciteit van verontreinigingen met deze stoffen te onderzoeken.

5.6 Mixed function oxygenase (MFO)

Oxidatie is de meest gangbare route waarlangs vele vetgebonden xenobiota meer water oplosbaar worden. Dieren hebben een complex systeem ontwikkeld, het mixed-function-oxygenase (MFO), om dit te bewerkstelligen. Het systeem is de catalysator voor de oxidatie van olie/vet-oplosbare substanties. Twee belangrijke enzymen die een rol spelen zijn cytochroom P-450 en het glutathion S-transferase (GST) (Dhainaut & Scaps, 2001). Cytochroom P-450 speelt een belangrijke rol bij de blootstelling aan benzo[a]pyreen en PCB's.

In *N. virens* hebben Lee *et al.* (1981) en Fries & Lee (1984) een verhoogde MFO (benzo[a]pyreen hydroxylase) activiteit en gehalte aan cytochroom P-450 aangetoond bij dieren die werden blootgesteld aan een mix van benzo[a]pyreen en Aroclor 1254. Cytochroom P-450 induceert de productie van hormonen die het vrijkomen van gameten remmen. Dit heeft dus een direct gevolg op de groei van een populatie.

Voor een uitspraak over GST-activiteit bij anneliden zijn er nog te weinig data bekend (Dhainaut & Scaps, 2001).

5.7 Metallothionines (MTs) en metalloproteïnes (MPs)

MTs zijn metallo-derivaten van het zwavelrijke eiwit thionine. Ze hebben een lage molecuul massa en binden zware metalen. MTs zijn verdeeld in twee klassen: klasse I met een opbouw gelijk aan die van paarden MT (meeste vertebraten MTs vallen hieronder) en klasse II voornamelijk opgebouwd uit cysteïne. Hierbinnen vallen de MTs van invertebraten. De rol van MTs is de bescherming van het organisme tegen de toxische effecten van blootstelling aan metalen. Verder wordt fysiologische tolerantie voor zware metalen deels toegeschreven aan de inductie van metaal-complexerende eiwitten (Dhainaut & Scaps, 2001).

Demuyne & Dhainaut-Courtois (1994) (zie (Dhainaut & Scaps, 2001)) hebben aangetoond, dat binnen 24-48h na blootstelling aan Cd binding plaats vindt aan de MP I (hoog-moleculair) en dat pas na 48h binding aan de MP II (laag-moleculair) plaats vindt.

5.8 Bioassays

Op het veldstation van het Rijks Instituut voor Kust en Zee (RIKZ) is men al enige tijd bezig een instrumentarium voor de biologische beoordeling van baggerspecie te ontwikkelen.

Een goede aanvulling op dit instrumentarium is een soort, die een grote range aan zoutgehaltes tolereert. *N. diversicolor* is zo'n soort en om die reden wordt er nu gekeken of de soort ook geschikt is als indicatorsoort. In het jaar 2003 zijn daarvoor een heel scala testen uitgevoerd om de randvoorwaarden voor een chronische test (28-daagse test) met *N. diversicolor* vast te stellen. Een aantal randvoorwaarden als temperatuur, voedselgift, saliniteit, licht/donker regime zijn in diverse series getest. Daarnaast zijn er ook al enkele tests uitgevoerd met veldsedimenten van o.a. locaties uit het Haringvliet, Terneuzen, Bath, de Everingen en Burgsluis. Deze testen werden uitgevoerd bij de op die locaties voorkomende saliniteit, waardoor al een brede inzetbaarheid van *N. diversicolor* kon worden bepaald (saliniteit 5-30‰). Nog niet alle aspecten zijn onderzocht. Zo is nog geen duidelijkheid over de range voor pH en ammonium, conditie van de dieren door het jaar heen, aantallen in het veld te verkrijgen dieren door het jaar heen enz..

Rapportage over het gebruik van *N. diversicolor* als indicatorsoort voor bioassays is nog in voorbereiding (Hannewijk *et al.*, 2003).

Ook andere auteurs melden dat vooral op het vlak van response op blootstelling aan metalen en organische microverontreinigingen nog veel kennisleemten zijn (Díez *et al.*, 2000; Dhainaut & Scaps, 2001). Verder onderzoek naar de bruikbaarheid van *N. diversicolor* als indicatorsoort verdient dus aanbeveling.

5.9 Trophische transfer

Uit diverse laboratorium experimenten kan men afleiden, dat er trophische transfer plaats vindt van metalen, PAK's en PCB's. Veel onderzoek is verricht met *N. diversicolor* als prooidier.

Elder *et al.* (1979) hebben aangetoond, dat *N. diversicolor* PCB's accumuleerd uit sediment, en daardoor een PCB-bron is voor predatoren. Pentreath (referentie uit Swartz & Lee, 1980) heeft *N. diversicolor* gelabeld met cobalt (^{58}Co), zink (^{65}Zn), ijzer (^{59}Fe) en mangaan (^{54}Mn). Deze dieren werden gevoerd aan schol. Transfer van de metalen naar de interne organen van de schol werd bepaald op 3.5% voor ^{58}Co , 18.2-35.7% voor ^{65}Zn , 32.0% voor ^{59}Fe en 36.9-40.3% voor ^{54}Mn .

Bij onderzoek in Restrounguet Creek (Engeland) is vastgesteld, dat waadvogels zoals de tureluur (*Tringa totanus*), zich voeden met *N. diversicolor*, die een lichaamsconcentratie van 500-1000 $\mu\text{g Cu/g}$ hebben. Daarmee nemen de vogels consequent 1 à 2 keer meer Cu op dan normaal. Desondanks bevatten de levers van deze vogels slechts rond 30 $\mu\text{g Cu/g}$. Niet alle met het voedsel binnen gekregen metaal wordt dus opgenomen.

6. Volledigheid van de informatie

Dit document beoogd een beschrijving te geven van de ecologie en de toxicologie van de zeeduizendpoot *Nereis diversicolor*. De geraadpleegde literatuur is verre van compleet.

Er is een enorme massa literatuur over *N. diversicolor* geschreven. Ook literatuur over het voorkomen en de gedragingen van de verschillende contaminanten in het milieu is in overwelgende mate aanwezig. Het zou te ver voeren al deze literatuur door te nemen.

De literatuur die wel voorhanden was en literatuur die vrij gemakkelijk te verkrijgen was via de bibliotheek van het RIKZ of anderszins is opgenomen in het literatuursysteem EndNote. De papieren versies van de artikelen zijn op nummer opgeslagen en bekend bij drs. B.J. Kater. Onder nummer #00000A, B, C, D en E zijn lijsten ingevoerd waarop veel deels niet geraadpleegde literatuur staat. Deze is bijeengesprokkeld van het internet. Pakket #00000D is b.v. literatuur die alleen over organotin-verbindingen gaat.

7. Literatuur

- Amiard, J. C., Amiard-Triquet, C., Berthet, B. & Metayer, C. (1987).** Comparative study of the patterns of bioaccumulation of essential (Cu, Zn) and non-essential (Cd, Pb) trace metals in various estuarine and coastal organisms. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **106**, 73-89.
- Baeyens, W., Meuleman, C., Muhaya, B. & Leermakers, M. (1998).** Behavior and speciation of mercury in the Scheldt estuary (water, sediments and benthic organisms). *Hydrobiologia* **366**, 63-79.
- Bartels-Hardege, H. D. & Zeeck, E. (1990).** Reproductive behaviour of *Nereis diversicolor* (Annelida: Polychaeta). *Marine Biology* **106**, 409-412.
- Beasley, T. M. & Fowler, S. W. (1976).** Plutonium and Americium: Uptake from contaminated sediments by the polychaete *Nereis diversicolor*. *Marine Biology* **38**, 95-100.
- Bentley, M. G. & Pacey, A. A. (1992).** Physiological and environmental control of reproduction in polychaetes. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* **30**, 443-481.
- Beukema, J. J. (1989).** Long-term changes in macrozoobenthic abundance on the tidal flats of the western part of the Dutch Wadden Sea. *Helgoländer wiss. Meeresunters.* **43**, 405-415.
- Bogucki, M. (1953).** Rozród i rozwój wieloszczeta *Nereis diversicolor* (O.F.Müller) w Bałtyku. *Polskie Archiwum Hydrobiologii* **1**, 251-270.
- Bogucki, M. (1954).** Adaptation of *Nereis diversicolor* to diluted Baltic water and to fresh water. *Polskie Archiwum Hydrobiologii* **2**, 237-251.
- Breton, S., Dufresne, F., Desrosiers, G. & Blier, P. U. (2003).** Population structure of two northern hemisphere polychaetes, *Neanthes virens* and *Hediste diversicolor* (Nereididae), with different life-history traits.
- Brown, B. E. (1982).** The form and function of metal-containing "granules" in invertebrate tissues. *Biol. Rev. Cam. Philos. Soc.* **57**, 621-667.
- Bryan, G. W. (1976).** Some aspects of heavy metal tolerance in aquatic organisms. In *Effect of pollutants on aquatic organisms*. Edited by A. P. M. Lockwood. Cambridge: Cambridge Univ. Press.
- Bryan, G. W. & Hummerstone, L. G. (1971).** Adaptation of the polychaete *Nereis diversicolor* to estuarine sediments containing high concentrations of heavy metals. I General observations and adaptation to copper. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* **51**, 845-863.
- Bryan, G. W. & Hummerstone, L. G. (1973).** Adaptation of the polychaete *Nereis diversicolor* to estuarine sediments containing high concentrations of zinc and cadmium. *J. mar. biol. Ass. U.K.* **53**, 839-857.

- Bryan, G. W. & Gibbs, P. E. (1987).** Polychaetes as indicators of heavy-metal availability in marine deposits. In *Oceanic Processes in marine pollution*, pp. 38-50. Edited by J. M. Capuzzo & D. R. Kester.
- Bryan, G. W. & Langston, W. J. (1992).** Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review. *Environmental Pollution* **76**, 89-131.
- Bryant, V., McLusky, D. S., Roddie, K. & Newbery, D. M. (1984).** Effect of temperature and salinity on the toxicity of chromium to three estuarine invertebrates (*Corophium volutator*, *Macoma balthica*, *Nereis diversicolor*). *Marine Ecology Progress Series* **20**, 137-149.
- Bryant, V., Newbery, D. M., McLusky, D. S. & Campbell, R. (1985).** Effect of temperature and salinity on the toxicity of nickel and zinc to two estuarine invertebrates (*Corophium volutator*, *Macoma balthica*). *Marine Ecology Progress Series* **24**, 139-153.
- Callender, E. & Hammond, D. E. (1982).** Nutrient exchange across the sediment–water interface in the Potomac river estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **15**, 395-413.
- Calmano, W., Ahlf, W. & Bening, J.-C. (1992).** Chemical mobility and bioavailability of sediment-bound heavy metals influenced by salinity. *Hydrobiologia* **235/236**, 605-610.
- Chambers, M. R. & Milne, H. (1975).** Life cycle and production of *Nereis diversicolor* O. F. Müller in the Ythan Estuary, Scotland. *Estuarine and Coastal Marine Science* **3**, 133-144.
- Craig, N. C. D. & Caunter, J. E. (1990).** The effects of polydimethylsiloxane (PDMS) in sediment on the polychaete worm *Nereis diversicolor*. *Chemosphere* **21**, 751-759.
- Dales, R. P. (1950).** The reproduction and larval development of *Nereis diversicolor* O. F. Müller. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **29**, 321-360.
- Den Hartog, C. (1961).** Die faunistische Gliederung im südwestniederländischen Deltagebiet. *Int. Revue ges. Hydrobiol.* **46**, 407-418.
- Diaz, R. J. & Rosenberg, R. (1995).** Marine benthic hypoxia: a review of its ecological effects and the behavioural responses of benthic macrofauna. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review* **33**, 245-303.
- Dhainaut, A. & Scaps, P. (2001).** Immune defense and biological responses induced by toxins in Annelida. *Can. J. Zool.* **79**, 233-253.
- Díez, G., Soto, M., Cantón, L., Vaquero, C. & Marigómez, I. (2000).** *Hediste* (*Nereis*) *diversicolor* as bioindicator of metal and organic chemical bioavailability: a field study. *Ecotoxicology and Environmental Restoration* **3**, 7-15.
- Dries, R. R. & Theede, H. (1974).** Sauerstoffmangelresistenz mariner Bodenvertebraten aus der Westlichen Ostsee. *Marine Biology* **25**, 327-233.

Elder, D. L., Fowler, S. W. & Polikarpov, G. G. (1979). Remobilization of sediment-associated PCBs by the worm *Nereis diversicolor*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **21**, 448-452.

Emmerson, M. (2000). Remedial habitat creation: does *Nereis diversicolor* play an confounding role in the colonisation and establishment of the pioneering saltmarsh plant, *Spartina anglica*? *Helgoland Marine Research* **54**, 110-116.

Fidalgo e Costa, P., Narciso, L. & Cancela da Fonseca, L. (2000). Growth, survival and fatty acid profile of *Nereis diversicolor* (O.F. Müller, 1776) fed on six different diets. *Bulletin of Marine Science* **67**, 337-343.

Fowler, S. W., Polikarpov, G. G., Elder, D. L., Parsi, P. & Villeneuve, J.-P. (1978). Polychlorated biphenyls: Accumulation from contaminated sediments and water by the polychaete *Nereis diversicolor*. *Marine Biology* **48**, 303-309.

Fries, C. R. & Lee, R. F. (1984). Pollutant effects on the mixed function oxygenase (MFO) and reproductive systems of the marine polychaete *Nereis virens*. *Marine Biology* **79**, 187-193.

Goerke, H. (1971). Die Ernährungsweise der *Nereis*-Arten (Polychaeta, Nereidae) der deutschen Küsten. *Veröff. Inst. Meeresforsch. Bremerh.* **13**, 1-50.

Goss-Custard, J. D. (1977). Optimal foraging and the size selection of worms by redshank, *Tringa totanus*, in the field. *Animal Behaviour* **25**, 10-29.

Green, J. (1968). *The biology of estuarine animals*. London: Sidgwick and Jackson.

Gunnarsson, J. S., Hollertz, K. & Rosenberg, R. (1999). Effects of organic enrichment and burrowing activity of the polychaete *Nereis diversicolor* on the rate of tetrachlorobiphenyl in marine sediments. *Environment Toxicology and Chemistry* **18**, 1149-1156.

Hall Jr., L. W. & Anderson, R. D. (1995). The influence of salinity on the toxicity of various classes of chemicals to aquatic biota. *Critical Reviews in Toxicology* **25**, 281-346.

Hannewijk, A., Pouwer, A. J. & Kater, B. (2003). De ontwikkeling van een chronische bioassay met *Nereis diversicolor*: Rijks Instituut voor Kust en Zee.

Harley, M. B. (1950). The occurrence of a filter-feeding mechanism in the polychaete *Nereis diversicolor*. *Nature* **165**, 734-735.

Hartmann-Schröder, G. (1996). Annelida, Borstenwürmer, Polychaeta. In *Die Tierwelt Deutschlands*. Stuttgart: Gustav Fischer.

Heip, C. & Herman, R. (1979). Production of *Nereis diversicolor* O.F. Müller (Polychaeta) in a shallow brackish-water pond. *Estuarine and Coastal Marine Science* **8**, 297-305.

Hughes, R. G., Lloyd, D., Ball, L. & Emson, D. (2000). The effect of the polychaete *Nereis diversicolor* on the distribution and transplanting success of *Zostera noltii*. *Helgoland Marine Research* **54**, 129-136.

Jensen, K. T. (1992). Macrozoobenthos on an intertidal mudflat in the Danish Wadden Sea: Comparison of surveys made in the 1930s, 1940s and 1980s. *Helgoländer Meeresunters* **46**, 363-376.

Jones, L. A., Hiscock, K. & Connor, D. W. (2000). Marine habitat reviews. A summary of ecological requirements and sensitivity characteristics for the conservation and management of marine SACs, pp. 1-178. Petersborough: Joint Nature Conservation Committee.

Kristensen, E. (1984). Life cycle, growth and reproduction in estuarine populations of the polychaete *Nereis virens* and *N. diversicolor*. *Holarctic ecology* **7**, 249-256.

Kristensen, E. (1988). Factors influencing the distribution of nereid polychaetes in Danish coastal waters. *Ophelia* **29**, 127-140.

Kristensen, E., Jensen, M. H. & Aller, R. C. (1991). Direct measurement of dissolved inorganic nitrogen exchange and denitrification in individual polychaete (*Nereis virens*) burrows. *J. Mar. Res.* **49**, 355– 377.

Lee, R. F. (1984). Factors affecting bioaccumulation of organic pollutants by marine animals. In *Concepts in marine pollution measurements*. Edited by H. H. White. Maryland: Maryland Sea Grant Pull.

Lee, R. F., Singer, S. C. & Page, D. S. (1981). Responses of cytochrome *P-450* systems in marine crab and polychaetes to organic pollutants. *Aquatic Toxicology* **1**, 355-365.

Lindroth, A. (1938). Studien über die respiratorische Mechanismen von *N. virens* Sars. *Zool. Biol. Uppsala* **17**, 367-497.

Linke, O. (1938). Die Biota des Jadebusenwattes. *Helgoland Marine Research* **1**, 201-348.

Luoma, S. N. & Bryan, G. W. (1982). A statistical study of environmental factors controlling concentrations of heavy metals in the burrowing bivalve *Scrobicularia plana* and the polychaete *Nereis diversicolor*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **15**, 95-108.

McLusky, D. S., Bryant, V. & Campbell, R. (1986). The effects of temperature and salinity on the toxicity of heavy metals to marine and estuarine invertebrates. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* **24**, 481-520.

Mettam, C. (1979). Seasonal changes in populations of *Nereis diversicolor* O. F. Müller from the Severn Estuary, U. K. In *Cyclic phenomena in marine plants and animals*, pp. 123-130. Edited by E. Naylor & R. G. Harknoll: Pergamon Press.

Mettam, C. (1981). Survival strategies in estuarine nereids. *Marine Science* **15**, 65-77.

Mortimer, R. J. G., Davey, J. T., Krom, M. D., Watson, P. G., Frickers, P. E. & Clifton, R. J. (1999). The effect of macrofauna on porewater profiles and nutrient fluxes in the intertidal zone of the Humber estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **48**, 683-699.

Muhaya, B. B. M., Leermakers, M. & Baeyens, W. (1997). Total mercury and methylmercury in sediments and in the polychaete *Nereis diversicolor* at Groot Buitenschoor (Scheldt estuary, Belgium). *Water, Air, and Soil Pollution* **94**, 109-123.

Neff, J. M. (1984). Bioaccumulation of organic micropollutants from sediments and suspended particulates by aquatic animals. *Fresenius Z. Anal. Chem.* **319**, 132-136.

Newell, R. C. (1970). *Biology of intertidal animals.*

Nielsen, A. M., Eriksen, N. T., Iversen, J. J. L. & Riisgård, H. U. (1995). Feeding, growth and respiration in the polychaetes *Nereis diversicolor* (facultative filter-feeder) and *N. virens* (omnivorous) - a comparative study. *Marine Ecology Progress Series* **125**, 149-158.

Olive, P. J. W. & Garwood, P. R. (1981). Gametogenic cycle and population structure of *Nereis (Hediste) diversicolor* and *Nereis (Nereis) pelagica* from north-east England. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* **61**, 193-213.

Olivier, M., Desrosiers, G., Caron, A., Retière, C. & Caillou, A. (1996). Juvenile growth of *Nereis diversicolor* (O.F. Müller) feeding on a range of marine vascular and macroalgal plant sources under experimental conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **208**, 1-12.

Ozoh, P. T. E. (1994). The effect of salinity, temperature and time on the accumulation and depuration of copper in ragworm, *Hediste (Nereis) diversicolor* (O.F. Muller). *Environmental Monitoring and Assessment* **29**, 155-166.

Ozoh, P. T. E. & Jones, N. N. (1990). Capacity adaptation of *Hediste (Nereis) diversicolor* embryogenesis to salinity, temperature and copper. *Marine Environmental Research* **29**, 227-243.

Peene, E., Kooman, H., Schuurman, C., Burger, E., Dubbeldam, M. & Postma, J. F. (2003). Het toepassen van een mariene maatlat voor *Corophium volutator* en *Nereis virens* in een estuarien milieu, pp. 1-57. Colijnsplaat: AquaSense.

Pereira, J. J. & Kanungo, K. (1981). Effects of silver on respiration and on ion and water balance in *Neanthes virens*. In *Biological monitoring of marine pollutants*, pp. 107-125. Edited by F. J. Vernberg, A. Calabrese, F. P. Thurnberg & W. B. Vernberg. NY: Academic Press.

Reise, K., Herre, E. & Sturm, M. (1989). Historical changes in the benthos of the Wadden Sea around the island of Sylt in the North Sea. *Helgoländer Meeresunters* **43**, 417-433.

Remane, A. (1940). Einführung in die zoologische Oekologie der Nord- und Ostsee. In *Die Tierwelt der Nord- und Ostsee*, pp. 1-238. Edited by G. FGrimpe & E. Wagler.

- Riisgård, H. U. (1991).** Suspension feeding in the polychaete *Nereis diversicolor*. *Marine Ecology Progress Series* **70**, 29-37.
- Riisgård, H. U., Vedel, A., Boye, H. & Larsen, P. S. (1992).** Filter-net structure and pumping activity in the polychaete *Nereis diversicolor*: effects of temperature and pump-modelling. *Marine Ecology Progress Series* **83**, 79-89.
- Scaps, P. & Borot, O. (2000).** Acetylcholinesterase activity of the polychaete *Nereis diversicolor*: effects of temperature and salinity. *Comp. Biochem. Physiol.* **125**, 377-383.
- Scaps, P., Demuynck, S., Descamps, M. & Dhainaut, A. (1997).** Effects of organophosphate and carbamate pesticides on acetylcholinesterase and choline acetyltransferase activities of the polychaete *Nereis diversicolor*. *Archive of Environmental Contamination and Toxicology* **33**, 203-208.
- Schöttler, U. (1979).** On the anaerobic metabolism of three species of *Nereis* (Annelida). *Marine Ecology Progress Series* **1**, 249-254.
- Smith, J. E. (1955).** Salinity variation in interstitial water of sand at Kames Bay, Millport, with reference to the distribution of *Nereis diversicolor*. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* **34**, 33-46.
- Smith, J. E. (1964).** On the early development of *Nereis diversicolor* in different salinities. *Journal of Morphology* **114**, 437-464.
- Smith, R. I. (1976).** Further observations on the reproduction of *Nereis diversicolor* (Polychaeta) near Tvarminne, Finland and Kristeneberg, Sweden. *Annales Zoologici Fennici* **13**, 373-390.
- Swartz, R. C. & Lee, H. (1980).** Biological processes affecting the distribution of pollutants in marine sediments. Part I. Accumulation, trophic transfer, biodegradation and migration. In *Contaminants and sediments*, pp. 533-553. Edited by R. A. Baker. Ann Arbor, Michigan: Ann Arbor Science.
- Theede, H. (1973).** Comparative studies on the influence of oxygen deficiency and hydrogen sulphide on marine bottom invertebrates. *Netherlands Journal of Sea Research* **7**, 244-252.
- Theede, H., Schaudinn, J. & Saffè, F. (1973).** Ecophysiological studies on four *Nereis* species in the Kiel Bay. *Oikos Supplementum* **15**, 246-252.
- Vedel, A. & Riisgård, H. U. (1993).** Filter-feeding in the polychaete *Nereis diversicolor*: growth and bioenergetics. *Marine Ecology Progress Series* **100**, 145-152.
- Vismann, B. (1990).** Sulfide detoxification and tolerance in *Nereis (Hediste) diversicolor* and *Nereis (Neanthes) virens* (Annelida; Polychaeta). *Marine Ecology Progress Series* **59**, 229-238.
- Vonck, W. A. P. M. A. (1991).** Relatie saliniteit-toxiciteit (osmoregulatie): Rijkswaterstaat, Dienst GetijdeWateren.

- Wang, W.-X., Stupakoff, I. & Fisher, N. S. (1999).** Bioavailability of dissolved and sediment-bound metals to a marine deposit-feeding polychaete. *Marine Ecology Progress Series* **178**, 281-293.
- Wanink, J. H. & Zwarts, L. (1993).** Environmental effects on the growth rate of intertidal invertebrates and some implications for foraging waders. *Netherlands Journal of Sea Research* **31**, 407-418.
- Wells, G. P. & Dales, R. P. (1951).** Spontaneous activity patterns in animal behavior: the irrigation of the burrow in the polychaetes *Chaetopterus variopedatus* Renier and *Nereis diversicolor* O.F. Müller. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* **29**, 661-680.
- Whitfield, M. & Turner, D.R. (1986).** The carbon dioxide system in estuaries - an inorganic perspective. *Sci. Total Environ.* **49**, 235-255
- Wolff, W. J. (1973).** The estuary as a habitat. An analysis of data on the soft-bottom macrofauna of the estuarine area of the rivers Rhine, Meuse, and Scheldt. *Zoologische verhandelungen* **126**, 1-242.
- Zhou, Q., Rainbow, P. S. & Smith, B. D. (2003).** Tolerance and accumulation of the trace metals zinc, copper and cadmium in three populations of the polychaete *Nereis diversicolor*. *Journal of the Marine Biological Association UK* **83**, 65-72.
- Zwarts, L. & Esselink, P. (1989).** Versatility of male curlews *Numenius arquata* preying upon *Nereis diversicolor*: deploying contrasting capture modes dependent on prey availability. *Marine Ecology Progress Series* **56**, 255-269.