



Oesterlarventest op sedimenten uit de Zeeschelde en Westerschelde

Toxiciteit van baggerspecie uit het Schelde estuarium

Oesterlarventest op sedimenten uit de Zeeschelde en Westerschelde

Toxiciteit van baggerspecie uit het Schelde estuarium

Rapport 93.0364

Uitgevoerd door:
drs. P. van den Hurk & ing. M. Dubbeldam

In opdracht van: Rijkswaterstaat - Directie Zeeland

Amsterdam, 26 juli 1993

Inhoud

Samenvatting	3
1. Inleiding	5
2. Materiaal & Methode	7
2.1. Testsedimenten	7
2.2. Oesterlarventest	8
2.3. Statistische verwerking	9
3. Resultaten	11
3.1. Randvoorwaarden	11
3.2. Testresultaten	11
4. Discussie	13
Literatuur	15
Bijlagen	17

Samenvatting

Van 14 sedimentmonsters afkomstig van baggerlokaties in de Zeeschelde en de Westerschelde werd de toxiciteit gemeten met de oesterlarventest. De helft van de monsters bleek matig, maar significant toxisch te zijn. Deze monsters kwamen voornamelijk uit de omgeving van de Antwerpse havens in de Zeeschelde. De monsters uit de monding van de Westerschelde zijn over het algemeen niet toxisch. De resultaten worden vergeleken met toxiciteitsgegevens uit 1989 en 1990, die eveneens met een oesterlarventest verkregen zijn. Uit deze vergelijking blijkt dat er voor de meeste lokaties geen grote verschillen zijn tussen de jaren: de meest toxische en de minst toxische lokaties blijken door de jaren heen een vergelijkbare respons op te leveren.

1. Inleiding

In het Schelde estuarium liggen een aantal lokaties die regelmatig gebaggerd moeten worden omdat ze door continuë sedimentatie een belemmering vormen voor de scheepvaart. Deze lokaties bestaan uit zogenaamde drempels in de vaargeulen en uit toegangsheuvelen naar de havens van Antwerpen. De baggerspecie van deze lokaties kan teruggestort worden in de Westerschelde als de chemische normen die vastgelegd zijn in een WVO vergunning niet overschreden worden. Voor het vaststellen van de kwaliteit van de baggerspecie worden aan het begin van ieder jaar sedimentmonsters genomen op de baggerlokaties. Deze monsters worden geanalyseerd op een fysisch-chemisch parameter pakket.

Voor aanvullende informatie over de toxiciteit van de monsters zijn in begin 1993 een deel van de monsters getest met een oesterlarventest. De resultaten van deze test worden vergeleken met de resultaten die met de oesterlarventest in 1989 en 1990 verkregen zijn op monsters van dezelfde lokaties.

2. Materiaal & Methode

2.1. Testsedimenten

De sedimenten werden aangeleverd in glazen potten van 0.25 en 1 l. Tot gebruik zijn de potten opgeslagen in het donker bij 4 ° C. De potten waren voorzien van etiketten met de in tabel 1 vermelde nummercodes, lokatie-omschrijvingen en bemonsterdata.

Tabel 1. Codering en beschrijving monsterslokaties, n.b. = niet bekend

Nr.	Lokatie	Datum	
1	Sluissche Hompels	n.b.	
3	Borssele rood	1-2-93	
4	Terneuzen	1-2-93	
7	Drempel Hansweert afw. boei 51	10-2-93	
10	Rand Platen Valkenisse boei 52	11-2-93	
13	Drempel Valkenisse boei 64	10-2-93	
14	Drempel Valkenisse Schaarboei	10-1-93	
17	Drempel Zandvliet rood	n.b.	
19a	Geul Berendrechtsluis	14-1-93	(=Zandvliet-sluis)
22	Drempel Frederik groen	n.b.	
24	Drempel Lillo groen	n.b.	
25	B. v. Cauwelaertsluis	n.b.	(=Boudewijn-sluis)
28b	Geul Kallosluis	12-1-93	
29	Drempel Krankeloon rood	12-1-93	

2.2. Oesterlarventest

De oesterlarventest is uitgevoerd volgens het bij DGW ontwikkelde protocol (Van den Hurk, 1991). De test werd uitgevoerd van 7-9 april 1993.

De oesterlarventest voor sedimenten werd uitgevoerd op een elutriaat in een sediment-water systeem. Daartoe werd 15 g natgewicht van het monster afgewogen in een afsluitbare, zuurgespoelde glazen literfles. De fles werd aangevuld met 750 ml gefiltreerd zeewater, afgesloten en 24 uur gerold op een rollenbank, waarna het zuurstofgehalte en de pH werden gemeten. Na een dag bezinken werden de potten met het sediment-water systeem gebruikt voor het inzetten van de test. Van ieder sedimentmonster is in drievoud een sediment-water systeem gemaakt (A, B en C). Vijf monsters van het gebruikte zeewater zijn getest als blanco. Sediment van het Strand Jacobahaven is in vijf potten ingezet als schoon referentie-sediment.

Voor het verkrijgen van oesterlarven werd een tiental oesters open gemaakt. Eén vrouwelijke oester met rijpe eicellen en twee mannelijke dieren met rijpe spermacellen werden geselecteerd. Van deze dieren werden de gameten uit de gonaden gewassen en opgevangen in bekeerglazen. Op het moment dat de eicellen afgerond waren werden de eicellen en spermacellen bij elkaar gedaan. Op het moment dat de eerste delende cellen zichtbaar werden onder de microscoop, werden de cellen gefiltreerd om overtollig gonadenweefsel te verwijderen. Met een telkamer is het aantal cellen per ml bepaald. Iedere testpot werd geënt met 12.500 bevruchte eicellen, zodat er een concentratie van ± 15 oesterlarven per ml ontstond.

De testpotten werden 48 uur geïncubeerd in een klimaatkamer van 21 ° C. In deze periode bezinken aanvankelijk de bevruchte, zich delende eicellen. Binnen enige uren groeit er uit de eicellen een vrij zwemmende larve, de trochofoor larve. Na 12 tot 48 uur ontwikkelt zich uit de trochofoor een veliger larve. Bij de veliger ontwikkelt zich een actief zwemorgaan en begint de schelpvorming. Normaal ontwikkelende veliger vormen een ovaalvormig schelpje met een rechte slotrand, de zgn D-larve.

Na de blootstellingsperiode werd het bovenstaande water met de levende oesterlarven overgegoten in een bekeerglas zonder het sediment met dode, bezonken oesterlarven te verstoren. De overlevende larven die in het afgegoten water rondzwemmen werden bemonsterd door het water goed te homogeniseren en daarna 10 ml te pipetteren in monsterflesjes die vervolgens gefixeerd werden met gebufferde formaline. De gefixeerde larven zijn met een telkamer onder een microscoop geteld. De normaal ontwikkelde en misvormde larven worden geteld, het aantal dode en misvormde larven wordt berekend door het aantal ingezette embryo's te verminderen met het aantal normaal ontwikkelde larven in het monster. Het aantal getelde misvormde larven wordt wegens onbetrouwbaarheid niet gebruikt voor de berekening.

Het berekende percentage dode en misvormde larven wordt gecorrigeerd voor het referentiesediment volgens de formule van Abbott en wordt uitgedrukt als Percent Netto Respons (PNR) (Van den Hurk, 1991):

$$PNR = \frac{\frac{100 * (I - D_{test})}{I} - \frac{100 * (I - D_{ctr})}{I}}{100 - \frac{100 * (I - D_{ctr})}{I}}$$

In deze formule is I het aantal ingezette embryo's, D_{ctr} en D_{test} is het aantal normaal ontwikkelde larven in de blanco, het referentiesediment en de test behandelingen.

Als de PNR ratio 0 is, dan is er geen effect gemeten ten opzichte van het referentiesediment, als de PNR 100 is dan is er een maximaal effect gemeten, d.w.z. dat alle larven dood of misvormd waren.

2.3. Statistische verwerking

De resultaten van de oesterlarventest zijn met het programma Systat statistisch geanalyseerd. Op de berekende gemiddelden van de lokaties is een variantieanalyse uitgevoerd (ANOVA). Met Dunnett's Multiple Comparison test werd getoetst welke lokaties significant ($p < 0.05$) verschillen van de referentie.

3. Resultaten

3.1. Randvoorwaarden

De saliniteit van de geteste elutriaten lag tussen de 31.7 en 31.9 g/kg. Het zuurstofgehalte was bij inzet 65 - 102 % verzadiging en bij het afbreken van de test 68 - 93 %. De pH varieerde van 7.53 tot 8.05. De temperatuur van de testpotten lag tussen 20.2 en 21.5 °C gedurende het experiment.

Het aantal overlevende larven dat geteld werd in de zeewatercontrole was iets hoger dan het aantal getelde bevruchte eicellen (=embryo's). Dit valt binnen de acceptabele spreiding van de resultaten.

Het percentage dode en misvormde oesterlarven in de controle (referentie sediment Jacobahaven) was 9,9 %.

Hiermee werd voor alle gemeten parameters voldaan aan de gestelde randvoorwaarden voor acceptatie van de test.

3.2. Testresultaten

De gemiddelde PNR waarden per lokatie staan vermeld in tabel 2. In deze tabel is ook de statistische toetsing verwerkt. De ruwe data van de oesterlarventest staan vermeld in bijlage 1.

Tabel 2. Testresultaten van de oesterlarventest op sedimenten uit de Zeeschelde en Westerschelde.

Nr.	Lokatie	PNR gemiddeld	significant verschillend van controle sediment
1	Sluissche Hompels	8.6	
3	Borssele rood	22.8	
4	Terneuzen	26.7	***
7	Drempel Hansweert afw. boei 51	11.8	
10	Rand Platen Valkenisse boei 52	-8.3	
13	Drempel Valkenisse boei 64	23.5	
14	Drempel Valkenisse Schaarboei	27.2	***
17	Drempel Zandvliet rood	44.1	***
19a	Geul Berendrechtsluis	45.1	***
22	Drempel Frederik groen	5.6	
24	Drempel Lillo groen	32.2	***
25	B. v. Cauwelaertsluis	47.3	***
28b	Geul Kallosluis	55.3	***
29	Drempel Krankeloon rood	2.4	

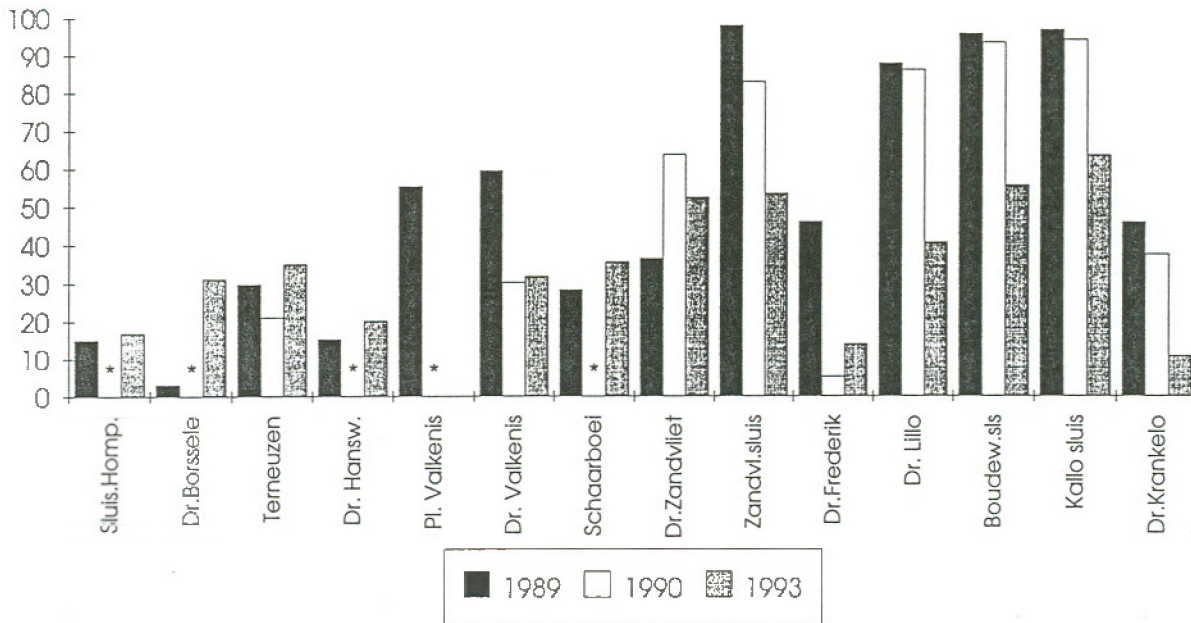
Uit de resultaten blijkt dat de PNR-waarden variëren van -8.3 tot 55.3. De negatieve waarde wordt veroorzaakt door de normale spreiding in de resultaten. Van de 14 geteste monsters blijken 7 monsters statistisch significant toxisch te zijn. De meest toxische sedimenten zijn te vinden in de toegangseulen naar de sluisen in het Antwerpse havengebied (Berendrechtsluis, Boudewijnsluis en Kallosluis). Ook drie drempelmonsters, Drempel van Zandvliet, Drempel van Valkenisse bij de Schaarboei en de Drempel van Lillo, blijken een toxisch effect te geven. Verder werd bij Terneuzen een toxisch monster aangetroffen. De monsters uit de monding en het middengebied van de Westerschelde blijken niet significant toxisch te zijn, maar ook een tweetal monsters uit de omgeving van de Antwerpse havens in de Zeeschelde (Drempels Frederik en Krankeloon) zijn niet toxisch.

4. Discussie

De resultaten van de oesterlarventest kunnen nog niet vergeleken worden met fysisch-chemische parameters van de geteste sedimenten, omdat die gegevens nog niet beschikbaar zijn.

Wel kunnen de resultaten vergeleken worden met testresultaten die in 1989 en 1990 verkregen zijn met de oesterlarventest op sedimenten van dezelfde lokaties (Stronkhorst & Van den Hurk, 1990). Hoewel de destijds gebruikte methodiek voor uitvoering van de test op detailpunten verschilt van de huidige methode, vooral voor wat betreft het gebruik van een referentiesediment, het afbreken van de test en het tellen van de larven, zijn de resultaten toch ter vergelijking bij elkaar gezet in figuur 1.

De basisresultaten waren moeilijk te vergelijken omdat in 1989 en 1990 een deel van de lokaties een veel lagere respons had dan de toen gebruikte referentie, wat resulteerde in sterk negatieve PNR waarden. Om de schalenverdelingen vergelijkbaar te maken zijn de PNR waarden lineair getransformeerd tot een waarde tussen 0 en 100. Dit zijn geen echte PNR waarden meer, maar waarden die een onderlinge vergelijking van de verschillende jaren mogelijk maken.



Figuur 1. Vergelijking van de oesterlarventesten uitgevoerd op sedimenten uit het Schelde estuarium. Schaalverdeling geeft getransformeerde PNR waarden, * = niet gemeten in 1990.

Uit de figuur komen een aantal opvallende zaken naar voren:

- Hoewel er voor een aantal lokaties een aanzienlijke spreiding is in de resultaten tussen de jaren, lijkt er voor de meeste lokaties toch een duidelijke trend te zijn.
- De toegangseulen naar de sluizen van Zandvliet, Boudewijn en Kallo zijn altijd zeer toxisch, evenals de drempel van Lillo.
- De drempels van Frederik en Krankeloon zijn, hoewel ze in een verontreinigd gebied liggen, bij herhaling maar matig toxisch.
- De lokaties in het mondings-, en middengebied van de Westerschelde (Sluissche Hompels, Drempel van Borssele en Drempel van Hansweert) zijn nooit erg toxisch.
- De lokaties Terneuzen, Drempel van Valkenisse en Drempel van Zandvliet laten bij herhaling een matig toxische respons zien.

Concluderend kan gezegd worden dat de toxiciteit van de sedimenten behoorlijk constant is over de gemeten jaren.

Literatuur

Hurk, P. van den (1991) Bepaling van de acute toxiciteit met behulp van oesterlarven. Bureau Waardenburg bv, Culemborg

Stronkhorst, J. & P. van den Hurk (1990) Toxiciteit van sediment uit het Schelde-estuarium; resultaten van bioassays met oesterlarven. Nota GWWS-90.087. Rijkswaterstaat - Dienst Getijdewateren, Middelburg

Bijlagen

Bijlage 1

Ruwe Data Oesterlarventest Zeeschelde en Westerschelde

Project: Westerschelde drempels
 Test : Oesterlarventest 9303
 Type monsters: Sedimen
 Datum : 7-9/4'93
 Referentie : sediment Jacobahaven
 Temperatuur : 21 C

INZET	embryo	onbevr	ZEEWATER CONTROLE		
			Jacoba	misvorm	D-vorm
a	177	205	a	11	139
b	127	157	b	7	140
c	149	206	c	5	141
d	151	185	d	6	195
e	141	166	e	3	165
average	149,0	183,8	average	7,7	156,0

REFERENTIE SEDIMENT

Jacobahaven	misvorm	D-vorm	PNR
a	6	116	13,6
b	3	122	9,1
c	7	136	-1,3
d	3	139	-3,6
e	5	158	-17,7
	4,8	134,2	0,0

% misvorm/dood in zeewater controle (t.o.v. inzet) : -4,7
 % misvorm/dood in referentie sediment (t.o.v. inzet) : 9,9

LOCATIE		misvorm	D-vorm	PNR	avg PNR	verschillend van referentie
1 Sl.Hompels	A1	7	104	22,5		
	B1	9	139	-3,6		
	C1	2	125	6,9	8,6	
3 Dr.Borssele	A1	8	101	24,7		
	B1	0	130	3,1		
	C1	3	80	40,4	22,8	
4 Terneuzen	A1	4	90	32,9		
	B1	3	100	25,5		
	C1	0	105	21,8	26,7 ***	

7 Dr.Hansweert	A1	12	109	18,8	
	B1	15	130	3,1	
	C1	10	116	13,6	11,8
10 Pl.Valkenis.	A1	10	135	-0,6	
	B1	6	141	-5,1	
	C1	5	160	-19,2	-8,3
13 Dr.Valkenis.	A1	3	104	22,5	
	B1	2	96	28,5	
	C1	1	108	19,5	23,5
14 Schaarboei	A1	3	83	38,2	
	B1	8	109	18,8	
	C1	5	101	24,7	27,2 ***
17 Dr.Zandvliet	A1	1	88	34,4	
	B1	2	62	53,8	
	C1	2	75	44,1	44,1 ***
19 Zandvl.sls	A1	14	90	32,9	
	B1	24	63	53,1	
	C1	34	68	49,3	45,1 ***
22 Dr.Frederik	A1	0	120	10,6	
	B1	0	100	25,5	
	C1	2	160	-19,2	5,6
24 Dr. Lillo	A1	7	72	46,3	
	B1	16	106	21,0	
	C1	14	95	29,2	32,2 ***
25 Boudew.sls	A1	19	63	53,1	
	B1	23	82	38,9	
	C1	20	67	50,1	47,3 ***
28 Kallo sluis	A1	20	62	53,8	
	B1	18	59	56,0	
	C1	13	59	56,0	55,3 ***
29 Dr.Krankelo	A1	7	109	18,8	
	B1	4	143	-6,6	
	C1	3	141	-5,1	2,4



Postbus
41125

1009 EC
amsterdam