

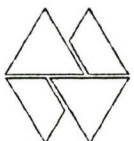
**Bioassays met oesterlarven en *Bathyporeia sarsi*
(Crustacea, Amphipoda) op Noordzee sedi-
menten uit de omgeving van boorlocatie L-5-5**



bureau waardenburg bv
adviseurs voor milieu en ecologie

Bioassays met oesterlarven en *Bathyporeia sarsi* (Crustacea, Amphipoda)
op Noordzee sedimenten uit de omgeving van boorlocatie L-5-5

P. van den Hurk, 1990



bureau waardenburg bv
postbus 365
4100 aj culemborg

opdrachtgever: Rijkswaterstaat, Directie Noordzee
projectnr. 90.18

INLEIDING

In opdracht van Rijkswaterstaat, Directie Noordzee, is in mei 1990 een aantal bioassays uitgevoerd op sedimenten uit de omgeving van boorlocatie L-5-5.

Deze locatie, ± 60 km ten noordwesten van Terschelling, is één van boorlocaties waar het NIOZ en TNO in opdracht van de Nederlandse overheid (Dir. Noordzee) een studie uitvoeren naar de effecten op het Noordzeemilieu van boringen waarbij gebruik gemaakt wordt van boorspoelingen op oliebasis (Oil Based Muds). Op locatie L-5-5 is van juli 1988 tot november 1988 een boring uitgevoerd. Daarbij is gebruikt gemaakt van een Oil Based Mud, nl. Carbo Sea DMA van Milpark. Oil Based Muds zijn mengsels van een bariet, olie en oppervlakte actieve stoffen. OBMs worden gebruikt om de boorgang te smeren, om het boorgruis (cutting) te verwijderen en om een hoge hydrostatische druk uit te oefenen op de diverse doorboorde formaties. De cuttings met de mudresten zijn op locatie L-5-5 gewassen voordat ze op de omgeving geloosd werden. Desondanks werden er veel olie-resten rondom de boorlocatie waargenomen bij het verzamelen van sedimentmonsters (Lewis en Van het Groenewoud, 1990). Metingen rond boorlocaties K-12-α en L-4-a laten zien dat verontreiniging rond boorplatforms bestaat uit oliecomponenten en bariet. Gehaltes van andere zware metalen overschrijden in die metingen niet de referentiewaarden (De Jong en Zevenboom, 1990).

De bioassays voor deze studie zijn uitgevoerd met gebruikmaking van de faciliteiten die door de Dienst Getijdewateren ter be-

schikking zijn gesteld in het kader van het project Stresspar7-Biotest2. Dit (deel)project heeft als doel het ontwikkelen van bioassays voor verontreinigde mariene sedimenten. Daartoe worden gecontamineerde veldsedimenten getest met verschillende geselecteerde proefdieren. Voor deze survey is gebruik gemaakt van de oesterlarventest en een amphipodentest. Protocollen voor de uitvoering van deze testen zijn in ontwikkeling, definitieve versies worden in de loop van 1991 gepubliceerd.

De oesterlarventest is van oorsprong een waterkwaliteitstest (ASTM, 1985). Voor het testen van sedimenten wordt eerst een suspensie van het sediment gemaakt (Chapman and Morgan, 1983). De oesterlarven worden blootgesteld aan deze suspensie. De oester-soort die gebruikt wordt is de Japanse oester (*Crassostrea gigas*). Deze soort komt in de Oosterschelde voor. Hij kan zich hier handhaven doordat in warme zomers de watertemperatuur enige weken boven de voor de voortplanting noodzakelijke grens van 22° C blijft. De larven van deze oester zijn zeer gevoelig voor o.a. een aantal zware metalen. De concentratie waarbij de helft van alle larven een negatief effect vertonen binnen 48 uur (EC50) is voor koper en kwik ± 5 µg/l, voor zink 120 µg/l en voor lood 750 µg/l (Martin et al. 1981). De toxiciteit van de water oplosbare fractie van No. 2 fuel oil is 1,7 mg/l (24 h LC50, Sigler and Leibovitz, 1982).

De voor deze studie gebruikte amphipodentest is een tiendaagse blootstelling aan intact sediment (solid phase) onder statische omstandigheden volgens de methode van Swartz et al. (1985). Als testorganisme is

gebruikt *Bathyporeia sarsi* Watkin. Deze soort komt voor in zandige sedimenten, zowel in de Oosterschelde als langs de Nederlandse kust (Vader, 1965). Bathyporeia-soorten leven ingegraven in het sediment, ze maken geen vaste gangen of woonbuizen, maar graven willekeurig rond (Watkin, 1939). De dieren leven van organisch materiaal dat ze verzamelen uit het hen omringende sediment (Nicolaisen & Kannevorff, 1969). Ze worden gegeten door platvis en, voor zover ze in het intergetijdegebied voorkomen, door steltlopers (mond. meded. F. Twisk, DGW Middelburg). Tot nu toe zijn er alleen nog sedimenten uit het veld getest met Bathyporeia-soorten. Er zijn nog geen toxicologische gegevens bekend over de effecten van individuele componenten (Van den Hurk, 1989).

MATERIAAL EN METHODEN

Sediment

De sedimenten zijn verzameld door TNO, NIOZ en DNZ-medewerkers aan boord van de Mitra. De locaties liggen op een transect in de richting van de reststroom (77°). De locaties werden twee keer aangevaren en bemonsterd, daarom zijn er twee replica's van ieder station. De sedimenten voor de bioassays zijn verzameld met een Reineck boxcorer, alleen op 5000 m. werd, vanwege te veel zeegang, een Van Veen happer gebruikt. De monsters voor chemische analyse zijn verzameld uit afzonderlijke happen met de Van Veen happer. Op ieder station werd van twee cores de halve oppervlakte tot 10 cm diep verzameld en samengevoegd in één zak (Lewis en Van het Groenewoud, 1990). De monsters van ± 5 l. sediment waren verpakt in polyethyleen zakken en als volgt geëtiketteerd: 25-1, 25-2, 250-1, 250-2, 5000-1, 5000-2. De monsters van 25 en 250 m. zijn verzameld op 18 april, die van 5000 m. op 19 april 1990. De sediment monsters werden toegeleverd aan het DGW-laboratorium te Middelburg op 20 april 1990. Tot gebruik zijn de monsters bewaard bij 5° C. De sedimentmonsters zijn door MT-TNO geanalyseerd op oliegehalten en barium. De gehalten zijn vermeld in tabel 1. De waarden zijn de gemiddelden van twee monsters. Uit de ruwe gegevens bleek een zeer grote variatie in de deelmonsters; factor 3 verschil (mond. meded. Van het Groenewoud).

Tabel 1. Gehaltes verschillende oliefracties en barium (mg/kg dw).

locatie	C8-C32	other	UCM	total	Barium
25 m	0,99	2,29	27,90	31,26	415
250 m	1,17	2,68	40,04	43,93	480
1000 m	0,77	0,13	0,79	1,73	55

De analysesresultaten van station 1000 m. worden beschouwd als achtergrondwaarden. Daarom zijn de monsters van 5000 m. niet geanalyseerd; ze worden vergelijkbaar geacht met die van 1000 m.

Oesterlarventest

De test is uitgevoerd op 16 en 17 mei. De oesterlarventest voor sedimenten wordt uitgevoerd op een extract van het te testen sediment. Daartoe wordt 15 g natgewicht van het monster afgewogen in een afsluitbare, zuurgespoelde polyethyleen literfles. De fles wordt aangevuld met 750 ml gefiltreerd zee-water, afgesloten en 24 uur geschud op een schudtafel, waarna het zuurstofgehalte wordt gemeten. Direct daarna worden de suspensies gebruikt voor de test. Van ieder sediment is in duplo een extract gemaakt, daarnaast zijn twee monsters van het gebruikte zeewater getest als referentie. Geconditioneerde oesters werden betrokken van een oesterkweker in Engeland. Om de conditie van de oesters te controleren wordt een tiental oesters open gemaakt en wordt van iedere oester een stukje van de gonaden bekeken onder een microscoop. Twee tot drie vrouwelijke oesters met rijpe eicellen en twee mannelijke dieren met rijpe spermacellen worden geselecteerd. Van deze dieren worden de gameten uit de gonaden gewassen en opgevangen in bekersglazen. Als de eicellen, die aanvankelijk meestal nogal frommelig zijn, afgerond zijn worden de eicellen en spermacellen bij elkaar gedaan. Op het moment dat de eerste delende cellen zichtbaar worden onder de microscoop, worden de cellen gefiltreerd om overtollig gonadenweefsel te verwijderen, en wordt met een telkamer het aantal cellen per ml bepaald. Iedere testsuspensie wordt, direct na het

stilzetten van de schudtafel, geënt met 40.000 bevruchte eicellen, zodat er een maximale concentratie van ± 50 oesterlarven per ml kan ontstaan.

De suspensies worden 24 uur geïncubeerd in een waterbad van 25° C. In deze periode bezinken aanvankelijk de bevruchtte, zich delende eicellen samen met de sedimentpartikels. Binnen enige uren groeit er uit de eicellen een vrij zwemmende larve. Na de blootstellingsperiode wordt het water afgeheveld zonder het bezonken sediment te beroeren. Daarbij blijft ongeveer 125 ml testsuspensie achter in de fles. De overlevende larven, die in het bovenstaande water rondzwemmen, worden gefiltreerd op een 30 μm filter, geresuspendeerd in 25 ml zeewater en gefixeerd met formaline. De gefixeerde larven worden met een particle data counter van het merk Coulter met channelizer geteld. Het gehele monster wordt daartoe opnieuw opgelost in 150 ml water, waarvan de Coulter Counter het aantal deeltjes per ml bepaald. De grootteklassen van 44 t/m 62 μm , in welke range zich alle oesterlarven bevinden, worden van de channelizer afgelezen en gesommeerd tot het totaal aantal oesterlarven. Hierdoor treedt geen vervuiling op door sedimentpartikels omdat partikels van deze grootte al tijdens de test bezonken zijn.

Het afgehevelde water is opgevangen en ingevroren. Een aantal van deze watermonsters zijn later geanalyseerd op oliecomponenten door MT-TNO, Afdeling Analytische Chemie te Delft. Daar werd het gehele monster van 750 ml geëxtraheerd met hexaan. Het oliegehalte is bepaald door middel van gaschromatografie.

Amphipodentest

De amphipodentest is uitgevoerd van 8 tot en met 18 mei 1990. De test wordt uitgevoerd op gehomogeniseerde sediment monsters. Daartoe wordt in gewassen en zuurgespoelde glazen potten van 1 l inhoud een laag van ± 2 cm van het te testen sediment aangebracht. De potten worden dan zeer voorzichtig, om de bovenlaag van het sediment niet te verstoren, afgevuld met zeewater en gedurende 24 uur belucht om een geoxideerde bovenlaag te krijgen.

De proefdieren worden op de dag van inzetten verzameld op de referentielocatie in de Oosterschelde, nabij Jacobahaven. De dieren worden in het veld uit hun sediment gezeefd. Op het veldlab worden voor iedere testcontainer at random 20 dieren verzameld. Na overbrenging in de testpotten worden deze, onder voortdurende beluchting via een pipet, geïncubeerd in een waterbad met doorstromend zeewater dat de dan heersende temperatuur van het buitenwater heeft. Tijdens de blootstelling worden regelmatig zuurstofgehalte en temperatuur gecontroleerd. Na een blootstelling van 10 dagen worden de proefdieren uit de sedimenten gezeefd. De overlevende dieren worden geteld en overgebracht in potten met een laag sediment uit hun natuurlijke habitat. Na een uur wordt het aantal dieren dat nog wel leeft, maar zich niet meer kan ingraven geteld. Dit is een maat voor sublethale stress. De 6 aangeleverde sedimentmonsters zijn in duplo getest. Daarnaast is een monster van de locatie waar de Bathyporeia's verzameld worden als schone referentie in duplo getest.

Statistische analyse

De resultaten zijn met behulp van het programma Systat statistisch geanalyseerd. Op

de berekende gemiddelden van de locaties is een variantie-analyse uitgevoerd (ANOVA)*. Als daaruit blijkt dat er significante verschillen zijn tussen de gemiddelden wordt met Dunnett's test getoetst welke

locaties significant verschillen van de referentie (Zar, 1984). Aanvullend is met de Newman-Keuls test getoetst welke locaties onderling van elkaar verschillen.

*) Een variantie-analyse (ANOVA) mag slechts worden uitgevoerd als de onderliggende populaties van de berekende gemiddelden normaal verdeeld zijn en gelijke variantie hebben. Dit kan getest worden met Barlett's test voor 'homogeneity of variances'. Deze test is niet erg efficiënt en gevoelig voor 'nonnormality'. Een ANOVA blijkt echter zeer robuust te zijn, zelfs bij aanzienlijke heterogeneïteit en nonnormality, zolang n voor ieder gemiddelde gelijk is en het aantal gemiddelden niet te laag (Zar, 1984).

RESULTATEN

Oesterlarventest

De resultaten van de oesterlarventest staan vermeld in tabel 2 en in figuur 1. De getallen in tabel 2 zijn de tellingen van de coulter counter. Normaal zouden deze omgerekend worden naar het percentage overlevende t.o.v. de referentie. In dit geval is dat niet gedaan omdat de overleving in de referentie lager is dan de overleving in monster 25-1. Wel is aangegeven het percentage overlevende larven ten opzichte van het aantal geïnoculeerde eicellen. Van het totaal aantal ingezette eicellen is in de referentie slechts 27% uitgegroeid tot een vrijzwemmende larve. Dit betekent dat de er in deze test iets niet goed gegaan is waardoor de overleving in de referentie te laag is.

TABEL 2. Relatief aantal overlevende oesterlarven per sedimentmonster.

LOCATIE nr	COULTER (#/ml.) gem. (n=2)		% overl. t.o.v. begin	O2 verza- diging (%)
	aantal	st. dev.		
25-1	89,5	16,3	40,3	93
25-2	43,0	5,7	19,4	94
250-1	39,0	5,7	17,6	99
250-2	32,0	9,9	14,4	99
5000-1	55,5	12,0	25,0	101
5000-2	39,0	8,5	17,6	104
referentie	60,0	17,0	27,0	101

De variantie-analyse geeft aan dat er significante verschillen zijn tussen de locaties onderling ($F = 5,755$, $p = 0,018$). Dunnnett's test geeft aan dat 25-1 significant ($p < 0,05$) verschilt van de referentie. De Newman-Keuls test wijst locatie 25-1 aan als significant verschillend van alle andere locaties

($p < 0,05$). Die andere locaties zijn verder onderling niet verschillend.

Vanwege de grote verschillen tussen de stations replica's, die zowel uit deze test blijken als uit de visuele waarnemingen tijdens het verzamelen en verwerken van de monsters, zijn de stations replica's niet gemiddeld.

De verschillen in de aangegeven zuurstofverzadigings percentages zijn het gevolg van kleine temperatuursverschillen die tijdens het meten zijn opgetreden (max. $0,9^{\circ}$ C). Dit verandert het absolute zuurstofgehalte, in mg/l, niet. Door incubatie van de potten bij dezelfde temperatuur verdwijnen deze verschillen.

Van ieder van de monsters 25-1, 25-2, 5000-1 en 5000-2 is het gefiltreerde extract van één van beide replica's geanalyseerd op oliegehalte. Voor alle vier de monsters lag het oliegehalte onder de detectiegrens van 0,02 mg/l.

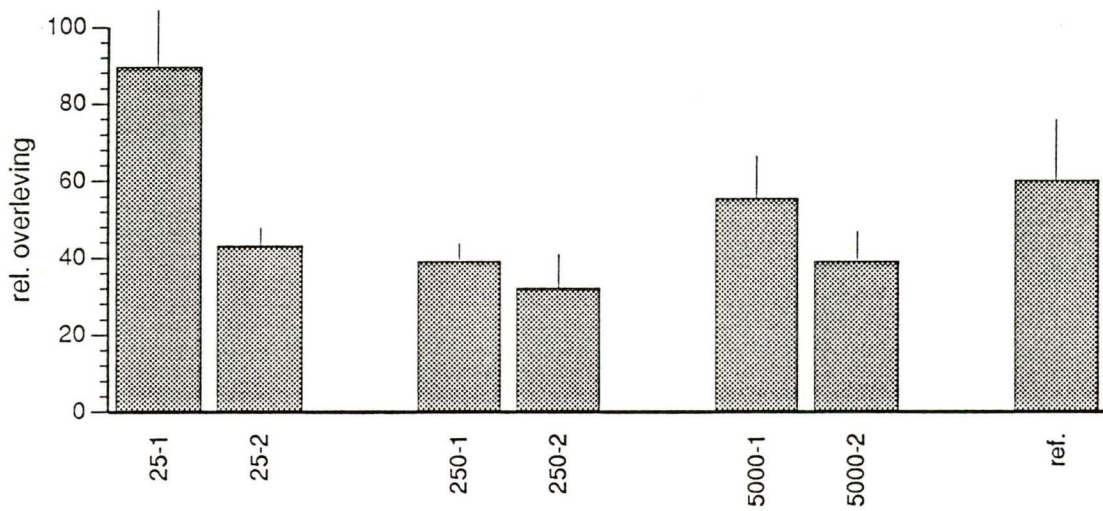
Amphipodentest

De resultaten van de amphipodentest staan vermeld in tabel 3 en figuur 2.

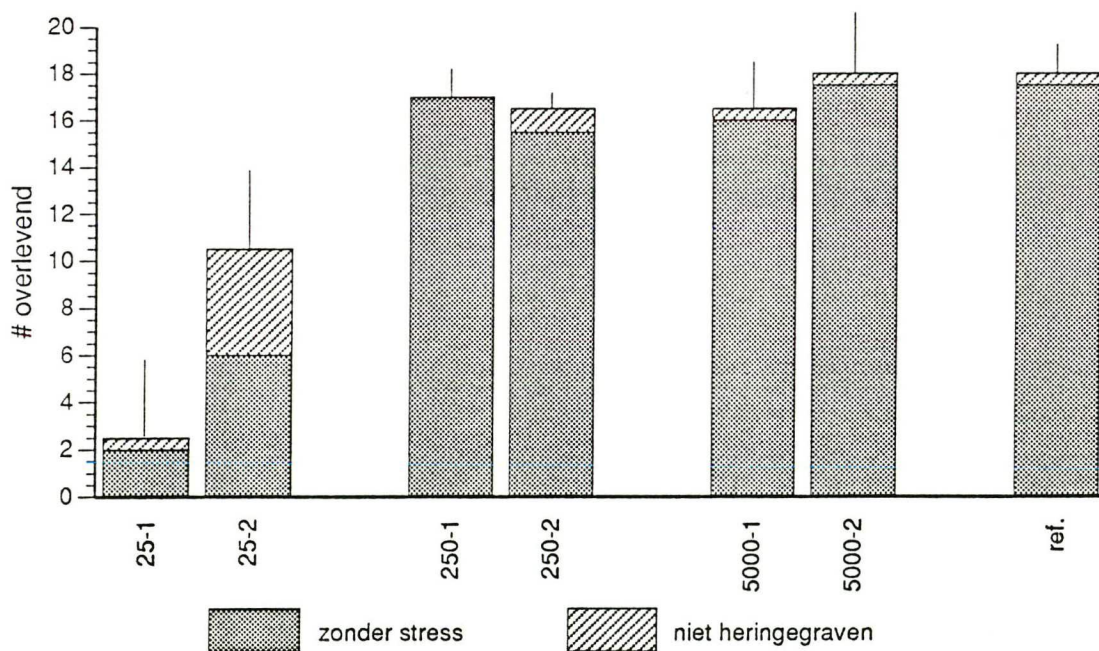
TABEL 3. Overleving en ingraafgedrag van *Bathyporeia* per sedimentmonster.

LOCATIE nr	overlevend gem. (n=2)		over- levend %	niet herin- gegraven gem. (n=2)	
	aantal	st. dev.		aantal	%
25-1	2,5	3,54	12,5	0,5	1,0
25-2	10,5	3,54	52,5	4,5	9,0
250-1	17,0	1,41	85,0	0,0	0,0
250-2	16,5	0,71	82,5	1,0	2,0
5000-1	16,5	2,12	82,5	0,5	1,0
5000-2	18,0	2,83	90,0	0,5	1,0
referentie	18,0	1,41	90,0	0,5	1,0

Figuur 1. Resultaten van de oesterlarventest; gemiddeld aantal overlevende larven per stations replica, met standaarddeviatie.



Figuur 2. Resultaten van de amphipodetest met *Bathyporeia sarsi*; gemiddeld aantal overlevende proefdieren per stations replica, met standaarddeviatie.



De temperatuur varieerde gedurende de test tussen 13,5 en 15,0° C, de zuurstofverzadiging kwam niet onder de 93%.

De variantie-analyse geeft aan dat er significante verschillen zijn tussen de locaties onderling ($F = 10,992$, $p = 0,003$). Toepassing van Dunnett's test, waarbij de locaties t.o.v. de referentie getoetst worden, laat zien dat beide replica's van locatie 25 significant verschillen van de referentie ($p < 0,05$). De overige locaties verschillen niet significant van de referentie.

De Newman-Keuls test laat zien dat locatie 25-1 significant verschillend is van alle an-

dere locaties ($p < 0,05$). Locatie 25-2 is significant verschillend van 25-1 en 250-2, verder zijn er geen onderling significante verschillen tussen de locaties. Evenals in de oesterlarventest zijn de verschillen tussen 25-1 en 25-2 significant, daarom zijn de stations replica's ook voor deze amphipodentest niet gemiddeld.

Opvallend bij locatie 25-2 is het grote aantal dieren dat zich niet meer ingraaft na de blootstelling. Deze dieren zijn (nog) niet dood, maar wel in een dusdanige conditie dat ze zich niet meer ingraven.

CONCLUSIES EN DISCUSSIE

Oesterlarventest

De uitgevoerde oesterlarventest kan volgens de internationale normen niet geaccepteerd worden, omdat de overleving in de zeewater referentie te laag is. Een natuurlijke sterfte van 30-40% wordt acceptabel geacht, bij hogere sterfte is de test ongeldig (ASTM, 1985, Thain & Lloyd, 1989). Deze normen zijn gesteld om te garanderen dat met proefdieren van een goede kwaliteit getest wordt, en dat het voor de sedimentextractie gebruikte zeewater van een goede kwaliteit is. Dit is van belang om eventueel gevonden negatieve effecten ondubbelzinnig toe te kunnen schrijven aan de kwaliteit van het sediment.

Dat de resultaten van deze oesterlarventest niet acceptabel zijn, is veroorzaakt door de te lage overleving in de referentie met alleen zeewater.

Dit kan het gevolg zijn van slechte kwaliteit van de gebruikte oesters. De oesters worden opengemaakt en de voortplantingscellen worden uit de opengesneden gonaden gewassen. Dit heeft tot gevolg dat er ook eicellen uitgewassen worden die niet in goede conditie zijn en dus niet bevrucht kunnen worden, of niet kunnen uitgroeien tot een larve. Deze eicellen zijn niet als zodanig herkend. Het verdient daarom de voorkeur eicellen te gebruiken die door (semi)-natuurlijke spawning verkregen zijn. Helaas is het bij geïmporteerde oesters nog niet gelukt om ze tot spawning aan te zetten. Dit is waarschijnlijk het gevolg van stress door het transport.

Een oorzaak kan ook zijn dat het gebruikte zeewater van onvoldoende kwaliteit is. Er worden regelmatig chemische analyses uitgevoerd op het zeewater van Jacobahaven. Deze analyses hebben tot nu toe geen verhoogde gehalten van potentieel toxische stoffen aangetoond. Het is echter mogelijk dat er niet geanalyseerde, toxische componenten in het zeewater zitten. Als dat zo is, dan zou het kunnen zijn dat de verhoogde overleving van oesterlarven in monster 25-1 veroorzaakt wordt door de extractieprocedure. De, onbekende, toxicant zou dan door het schudden van het zeewater met het sediment gebonden kunnen worden aan de sedimentpartikels en aldus niet meer van effect zijn op de oesterlarven. Het zou dan om een toxicant kunnen gaan die goed oplost in olie, omdat de overleving in het meest met olie verontreinigde sediment, 25-1, het hoogst is.

Het negatieve effect in de referentie kan ook veroorzaakt worden doordat het zeewater te veel opgelost organisch materiaal bevat (humuszuren, suikers, aminozuren etc.). Dit DOC is een voedselbron voor bacteriën, die zeker bij incubatie bij 25° C flink kunnen gaan groeien en de ontwikkeling van de oesterlarven kunnen beïnvloeden. Door het schudden van zeewater met sediment wordt DOC geadsorbeerd en kunnen bacteriën niet exponentieel gaan groeien. Als het sediment van locatie 25-1 goed adsorbeert, kan dat een andere verklaring zijn voor de verhoogde overleving t.o.v. de referentie.

Hoewel de uitgevoerde test niet voldoet aan de kwaliteitseisen kunnen naar aanleiding van de resultaten wel een aantal opmerkingen gemaakt worden.

Uit de experimenten blijkt dat de oesterlarventest geen respons geeft die, hoe dan ook, positief correleert met de visueel waargenomen en gemeten olieverontreiniging van de sedimenten rond het platform. De respons van de amphipoden op de verontreiniging is daarentegen zeer duidelijk. Ook bij een slechte kwaliteit van de oesterlarven of van het zeewater zou een toxisch effect toch zichtbaar moeten kunnen zijn in de oesterlarventest. Het toxische effect zou dan als een extra stressfactor bovenop de andere negatieve factoren werken. Dit extra negatieve effect is dus niet waargenomen. Opvallend is dat dit patroon van wél een respons bij de amphipoden en niet bij de oesterlarven ook gevonden is bij testen op sedimenten uit een gradiënt vanaf boorlocatie F18-9 (Van den Hurk, in prep.).

Een verklaring hiervoor kan gevonden worden in de chemische analyses. Daaruit blijkt dat de potentieel toxische olieverontreiniging die in het sediment aanwezig is, niet terug te vinden is in de voor de oesterlarventest gemaakte zeewaterextracten van de sedimenten. Dat betekent dat er geen wateroplosbare fractie extraheerbaar was, of dat die gedurende de test vervluchtigd is.

Hoewel de oesterlarven in de eerste uren van de test in direct contact staan met het sediment, zwemmen ze het grootste gedeelte van de tijd door het extract. Als daar geen toxicanten in opgelost zijn, kunnen ze daar ook geen negatieve effecten van ondervinden. De oesterlarventest was dus in dit geval geen geschikte test om de effecten van de olieverontreiniging in het sediment te meten.

Amphipodentest

De respons van de *Bathyporeia*'s op het met cutting en olieresten verontreinigde sediment is significant.

De effecten kunnen zowel veroorzaakt zijn door opname van toxicanten via de huid en kieuwen als door opname via het maag-darm kanaal. *Bathyporeia*-soorten leven ingegraven in het sediment en eten van de sedimentpartikels. Voor een sediment etend schelpdier, *Macoma nasuta*, is aangetoond dat opname van hydrofobe stoffen via het maag-darm kanaal de belangrijkste accumulatie route is (Boese et al., 1990). Tevens is voor een met *Bathyporeia* vergelijkbare N. Amerikaanse amphipodensoort (*Rhepoxynius abronius*) aangetoond dat voor die soort het totale sediment, verontreinigd met voornamelijk PAK's, een factor 10 toxischer was dan het interstitiële water (Swartz et al., 1989). Deze data, gecombineerd met de overwegingen bij de resultaten van de oesterlarventest, maken het aannemelijk dat de oliecomponenten geadsorbeerd aan sedimentpartikels in de drilling mud via het maag-darm kanaal opgenomen worden en als zodanig hun (sub)lethale effecten doen gelden.

De negatieve respons van de *Bathyporeia*'s op de sedimentmonsters uit de omgeving van het lozingspunt sluit aan bij de waarnemingen in het veld.

Lewis en Van het Groenewoud (1990) observeerden bij het verzamelen van de sedimentmonsters dat op 25 m. station veel minder fauna aanwezig was dan op het referentiestation op 5000 m.

Een directe relatie met de gemeten oliegehalten is moeilijk te leggen omdat de monsters voor chemische analyse uit andere sedimenthappen zijn genomen dan de mon-

sters voor de bioassays. De grote, visueel waargenomen en gemeten, variatie tussen de verschillende happen laat zien dat de verontreiniging niet homogeen over het gebied rond het lozingspunt verdeeld is. Deze 'patchiness' verklaart de verschillen tussen de monsters 25-1 en 25-2. Volgens de chemische analyses zou locatie 250 m. ook meer verontreinigd zijn dan locatie 25 m. Uit de resultaten van de bioassay komt dit niet naar voren, mogelijk als gevolg van de genoemde niet-homogene verdeling van de verontreiniging.

AANBEVELINGEN

Met betrekking tot de oesterlarventest zullen eerst de randvoorwaarden voor het uitvoeren van een acceptabele test verder ontwikkeld moeten worden. Er moet zeewater van een goede kwaliteit gebruikt worden en er moeten goede oesters ingezet worden.

Gezien de slechte extractie van oliecomponenten in zeewater, zal de oesterlarventest echter niet geschikt zijn om olieverontreiniging in sedimenten aan te tonen. Dat neemt niet weg dat de oesterlarventest wel kan reageren op andere, zeewater-extraheerbare toxicanten in cuttings en sedimenten.

De amphipodentest laat een grote sterfte zien op de locaties rond het lozingspunt. Welke componenten daarvoor verantwoordelijk zijn, is op grond van deze test niet met zekerheid te zeggen. Het ligt voor de hand oliecomponenten daarvoor aan te wijzen, maar ook verhoogde barietconcentraties of andere, niet geïdentificeerde, componenten kunnen verantwoordelijk zijn. Het testen van sedimenten die opgeladen zijn met individuele componenten kunnen aanwijzingen geven over de parameters die verantwoordelijk zijn voor de waargenomen negatieve effecten.

Omdat het testen van kunstmatig verontreinigde sedimenten, b.v. met olie, laboratoriumwerk blijft, waarvan de extrapolatie naar het veld altijd becommentarieerd kan worden, zouden ook sedimenten uit de omgeving van platforms, waar met Water Based Muds geboord is, getest moeten worden. Dit zou aanwijzingen kunnen geven over de realiteit van de kwalijkheid die aan de oliecomponenten toegedacht wordt. Als

deze sedimenten net zo toxisch zijn als die uit de omgeving van locaties waar met Oil Based Muds geboord is, dan hebben andere factoren een grotere invloed op de toxiciteit.

LITERATUUR

- ASTM, 1985. Standard practice for conducting static acute toxicity tests with larvae of four species of bivalve molluscs. In: Annual book of ASTM standards. Water and Environmental Technology. Volume 11.04. American Society for Testing and Materials. Philadelphia, PA. pp. 256-272.
- BOESE, B.L., ET AL., 1990. Comparison of aqueous and solid-phase uptake for HCB in the tellinid clam *Macoma nasuta* (Conrad): a mass balance approach. *Environm. Toxicol. Chem.* 9: 221-231
- CHAPMAN, P.M. AND J.D. MORGAN, 1983. Sediment bioassays with Oyster Larvae. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 31: 438-444
- HURK, P. VAN DEN, 1989. Voortgangsrapport Indicat-Biomon 2, 1989. De ontwikkeling van bioassays voor verontreinigde mariene sedimenten. Bureau Waardenburg bv, Culemborg
- JONG, S.A. DE & W. ZEVENBOOM, 1990. Distribution of oil and heavy metal sand their effects on macrobenthic infauna at offshore drilling locations on the Dutch continental shelf, 1985-1989. Pr. 14th Meeting of the Working Group on Oil Pollution, Copenhagen, 6-9 Febr.1990.
- LEWIS, W. & H. VAN HET GROENEWOUD, 1990. Verslag veldwerkzaamheden herstelmonitoring bij L-5-5. NIOZ-TNO t.b.v. MONMIJ 26
- MARTIN, M. ET AL., 1981. Toxicities of ten metals to *Crassostrea gigas* and *Mytilus edulis* embryos and Cancer magister larvae. *Mar. Poll. Bull.* 12: 305-308.
- NICOLAISEN, W. & E. KANNEWORFF, 1969. On the burrowing and feeding habits of the amphipods *Bathyporeia pilosa* Lindström and *Bathyporeia sarsi* Watkin. *Ophelia* 6: 231-250
- SIGLER, M. & L. LEIBOVITZ, 1982. Acute toxicity of oil and bilge cleaners to larval American oysters (*Crassostrea virginica*). *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 29: 137-145.
- SWARTZ, R.C. ET AL., 1985. Phoxocephalid amphipod bioassay for marine sediment toxicity. In: Cardwell, R.D. et al. (eds.) Aquatic toxicology and hazard assessment: seventh symposium ASTM. ASTM STP 854: 284-307.
- SWARTZ ET AL., 1989. Acute toxicity of sediment from Eagle Harbour, Washington, to the infaunal amphipod *Rhepoxinius abronius*. *Environ. Toxicol. Chem.* 8: 215-222
- THAIN, J.E. & R. LLOYD, 1989. Oyster Embryo Bioassay. Draft method for Techniques in Marine Environmental Sciences. ICES Working Group on Biological Effects of Contaminants
- VADER, W.J.M., 1965. Intertidal distribution of Haustoriid amphipods in the Netherlands. *Botan. Gothoburg.* 3: 233-246
- WATKIN, E.E., 1939. The swimming and burrowing habits of some species of the amphipod genus *Bathyporeia*. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 23: 457-465
- ZAR, J.H., 1984. Biostatistical analysis. 2nd edition. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey

