

Onderzoeksthema's waarbinnen masterproeven of individuele projecten kunnen worden geformuleerd

Biinnen de ondezoeksgroep Ecofysiologie, Biochemie en Toxicologie kunnen vier grote onderzoeksdomeinen worden afgebakend. Binnen elk van deze domeinen kunnen zowel MP's als IP's worden uitgevoerd. Hieronder staan de vier domeinen en nadien wordt per onderzoeksdomein één of twee voorbeelden gegeven van onderwerpen. Dit zijn slechts voorbeelden en de definitieve onderwerpen zullen in samenspraak met de geïntresseerde studenten geformuleerd worden. Voor meer informatie kan je steeds terecht op de website van EB&T: www.ecotox.be.

Thema 1: Mechanistische benadering van milieustress: omics in de systeembioologie

Binnen dit thema wordt uitgebreid aandacht besteed aan de impact van milieutoxicanten op moleculair en cellulair niveau in zowel aquatische als terrestrische organismen door middel van verschillende innovatieve technieken zoals microarrays en proteomics. Het doel van deze 'functionele genomics'-benadering is het koppelen van de effecten op deze lagere organisatieniveaus aan effecten op het niveau van het individu en de populaties, wat tot interessante nieuwe inzichten leidt, en bovendien tot een nieuwe, geïntegreerde onderzoeksstrategie.

Voorbeelden van onderzoek binnen dit thema zijn;

- Mechanistisch onderzoek naar de effecten van endocrien versturende stoffen op metabole syndromen zoals diabetes en obesitas
- 'Omics' gebaseerde klassificatie van toxicanten in *in vitro* celsystemen: een mechanistische aanpak

Momenteel worden in de EBT-groep een 10-tal doctoraatsonderzoeken uitgevoerd binnen dit thema.

Thema 2: Stress- en adaptatiefysiologie

In dit thema wordt naar de aanpassingsmogelijkheden van aquatische organismen aan veranderende milieuomstandigheden gekeken. Zowel acclimatisatie- als adaptatieprocessen worden bestudeerd op verschillende niveau's van biologische organisatie, gaande van het moleculaire tot het organismaal fysiologische inclusief gedrag.

Momenteel lopen in de EB&T-groep een 4-tal doctoraatsonderzoeken binnen dit thema.

Thema 3: Veldecotoxicologie

In dit thema wordt naar de verspreiding, de accumulatie en de effecten van micropolluenten onder natuurlijke omstandigheden gekeken, zowel in het aquatische als het terrestrische milieu. Effecten worden bestudeerd op verschillende niveau's van biologische organisatie, gaande van het fysiologische tot het levensgemeenschapsniveau. Hierbij focussen we vooral op effecten ter hoogte van het energiemetabolisme en de ion- en osmoregulatie. We bestuderen eveneens welke rol hormonale veranderingen hierbij kunnen spelen. Momenteel lopen in de EB&T-groep een 5-tal doctoraatsonderzoeken binnen dit thema.

Thema 4: Biobeschikbaarheid en Toxiciteit

Dit onderzoek richt zich op het leggen van functionele relaties tussen blootstelling aan milieuschadelijke stoffen en effecten waargenomen op het niveau van de opname, accumulatie en toxiciteit. Centraal hierbij staan vragen die rechtstreeks relevant zijn van voor een betere wetenschappelijke onderbouwing van de milieunormstelling. Hierbij wordt ondermeer onderzoek uitgevoerd naar het effect van milieuomstandigheden (bvb pH, O₂, temperatuur) op de biobeschikbaarheid van poluenten en het relatief belang van blootstellingsroute op de opname en accumulatie van polluenten. Bovendien wordt ook naar de interne verdeling van micropolluenten gekeken in relatie tot effecten. Momenteel lopen in de EB&T-groep een 3-tal doctoraatsonderzoeken binnen dit thema.

Voorbeelden van MP-onderwerpen

Hieronder worden ter illustratie een aantal **voorbeelden** van onderwerpen gegeven. Een onderwerp kan ook in verkorte vorm als IP worden voorgesteld. Deze lijst is zeker niet limitatief

Thema 1: Mechanistische benadering van milieustress

Contactpersonen: Dries Knapen, Caroline Vanparys

Groenenborgerlaan 171 gebouw U 7^o verdieping

Tel : 03/265 33 49, e-mail : dries.knapen@ua.ac.be, Caroline.vanparys@ua.ac.be

Effecten van chemische en niet-chemische stressoren op verschillende niveaus van biologische organisatie bij de zebravis.

Voortdurend toenemende menselijke activiteiten introduceren steeds meer en nieuwe contaminanten in het milieu. Het besef van de toxische impact die deze polluenten kunnen uitoefenen op zowel aquatische als terrestrische organismen, heeft geleid tot een snelle opmars van de ecotoxicologie. Recent wordt ook het concept van ‘global change’ en de verantwoordelijkheid van de mens in dit fenomeen algemeen aanvaard. Om deze bedreigingen adequaat te kunnen aanpakken is een beter begrip van werkingsmechanismen van zowel chemische (zoals cadmium) als niet-chemische (zoals temperatuur) stressoren noodzakelijk. Cadmium is gekend om zijn verstorende impact op belangrijke fysiologische processen zoals ion- en osmoregulatie, respiratie en de werking van enzymen. De omgevingstemperatuur beïnvloedt op zijn beurt rechtstreeks het metabolisme van ectotherme organismen en wordt daarom verondersteld een impact te hebben op de fysiologische conditie van deze organismen. In dit project worden zebravissen (*Danio rerio*) chronisch blootgesteld aan cadmium en/of verhoogde of verlaagde temperatuur en worden data verzameld op verschillende niveaus van biologische organisatie (transcriptomics, proteomics en fysiologie). Op deze manier zal een vergelijking gemaakt kunnen worden tussen de toxische werkingsmechanismen en effecten van deze chemische en niet-chemische stressoren.

Analyses gebeuren aan de hand van moderne technieken zoals microarrayhybridisatie, real-time PCR, 2D-DIGE (Differential In-Gel Electrophoresis) en ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry). Fysiologische parameters worden opgevolgd door middel van reproductie- en zwemtunnelexperimenten en energiebudgetmetingen.

Humane geneesmiddelen in het aquatisch milieu: moleculaire werkingsmechanismen in de zebravis

Sinds de eerste meldingen van het voorkomen van geneesmiddelen in het aquatisch milieu zo'n 30 jaar geleden, hebben reeds vele studies een grote variëteit aan geneesmiddelen in afval-, oppervlakte- en drinkwater aangetoond. Hoewel de gerapporteerde concentraties laag zijn, zijn geneesmiddelen specifiek ontwikkeld om een effect uit te oefenen bij zeer lage concentraties. Hierom, en omwille van het feit dat geneesmiddelen continue worden geloosd in het aquatisch milieu zijn geneesmiddelen recent erkend als zeer relevante milieucontaminanten. Er is vandaag de dag echter zeer weinig informatie beschikbaar over ecotoxicologische effecten van geneesmiddelen. Omdat geneesmiddelen in bijna alle gevallen als mengsels voorkomen in het aquatisch milieu is het niet enkel van belang mogelijke effecten van afzonderlijke geneesmiddelen te onderzoeken, maar dient eveneens informatie te worden verzameld over het effect van mengsels. Zo kunnen gecombineerde effecten van geneesmiddelen met eenzelfde werkingsmechanisme significant zijn ook al zijn de effecten van de afzonderlijke componenten dit niet. Daarbij kunnen eveneens geneesmiddelen met verschillende werkingsmechanismen met elkaar interageren. Voor het bestuderen van deze moleculaire werkingsmechanismen in aquatische organismen bevatten genexpressiepatronen een belangrijke voorspellende en discriminerende waarde en kunnen leiden tot ontwikkeling van high throughput screening testen voor classificatie en effect evaluatie van geneesmiddelen in het aquatisch milieu. In deze studie zal met de zebravis als modelorganisme het moleculair werkingsmechanisme van verschillende milieurelevante geneesmiddelen worden bestudeerd, gebruik makend van de microarray technologie. Behalve genexpressieanalyse na blootstelling aan de afzonderlijke componenten, zullen de moleculaire effecten van mengsels van deze stoffen in weefsels van zebravissen worden onderzocht en vergeleken met expressiepatronen van de afzonderlijke componenten om de mogelijke (moleculaire) interactie van geneesmiddelen in het milieu te bestuderen.

Thema 2: Stress- en adaptatiefysiologie

Contactpersonen: Gudrun De Boeck

Groenenborgerlaan 171 gebouw U 7° verdieping

Tel : 03/265 34 78, e-mail: gudrun.deboeck@ua.ac.be

De overlevingskansen van vissen in een verontreinigde omgeving: impact van voedselregime en conditie.

De toxiciteit van een pollutant wordt niet alleen bepaald door de concentratie van deze stof in het water of het voedsel, maar eveneens door andere omgevingsfactoren zoals temperatuur en zuurstofconcentratie, en inwendige factoren zoals de beschikbaarheid van voedsel en de conditie van het organisme. Het lijkt vanzelfsprekend dat vissen in een goede conditie meer kunnen verdragen dan vissen die op voorhand reeds verzwakt werden door slechte milieuomstandigheden of een laag aanbod van voedsel. Het hoog metabolisme dat gepaard gaat met de snelle groei naar aanleiding van een groot voedselaanbod kan echter ook leiden tot een hogere gevoeligheid aan deze pollutanten.

Interakties van dit voedselaanbod en de conditie worden bestudeerd bij de karper, *Cyprinus carpio*, bij sublethale blootstelling aan koper. De blootstellingsconcentratie is gelijk aan de norm voor koper in onze oppervlaktewaters. Deze ligt 10x hoger dan in ons omringende landen, en boven de waarde waarbij de eerste sublethale fysiologische effecten kunnen worden waargenomen. In deze studie willen we de conditie en het energiemetabolisme van het organisme bepalen door het meten van het energieverbruik (aëroob en anaëroob). De conditie wordt bepaald door de zwemcapaciteit van de vissen te meten door zwemoefeningen bij verschillende snelheden in zwemtunnels. De sublethale effecten van het koper worden waargenomen door het effect op de gasuitwisseling en ionregulatie te volgen aan de hand van genomen bloedstalen.

Invloed van 'Global Change' factoren op prestaties van vissen: gecombineerde effecten van hypoxie, koolstofdioxide en ammoniak op het energiemetabolisme en de ionregulatie.

Door de grote natuurlijke variatie aan zuurstofconcentraties in het aquatische, en dan vooral het zoetwater milieu, is zuurstof één van de belangrijkste drijvende krachten geweest binnen de evolutie van de vissen. Door hun lange evolutie, de grote verschillen in minimumvereisten voor zuurstof, en hun capaciteit voor acclimatisatie aan zuurstofarme, hypoxische omgevingen zijn vissen dan ook een uitstekend model effecten van hypoxie te bestuderen. Tijdens de laatste decennia resulteerde het 'global change' fenomeen met kleine temperatuurstijgingen en toenemende eutroficatie (met verhoogde ammoniakconcentraties) in een nog meer frequent optreden van hypoxie. Dit veroorzaakt hyperventilatie en het vrijstellen van stress hormonen zoals catecholamines en cortisol. Deze effecten worden nog versterkt bij verhoogde concentraties aan het broeikasgas koolstofdioxide (hypercapnie). Zuurstoftekort veroorzaakt ook hypometabolisme, met onderdrukking van energiemetabolisme, groei en voortplanting. Hypercapnie en ammoniak kunnen zowel het zuur-base evenwicht als de ionregulatie beïnvloeden door hun effect op de pH van het water ter hoogte van de kieuw en hun interactie met verschillende transportmechanismen in de kieuw. Bovendien kunnen ze ook veranderingen teweeg brengen in de hormonale controle bij normoxie en hypoxie. Omdat zowel verhoogde CO₂ als ammoniak concentraties vaak samen voorkomen in combinatie met lage zuurstofgehalten in natuurlijke en andere omstandigheden (bv. bij viskweek en vistransport), is het belangrijk om te weten wat voor extra effect ze uitoefenen op een aantal fysiologische processen. We kijken in de eerste plaats naar energiemetabolisme, zwemcapaciteit, ionregulatie en hormonale status.

Thema 3: Veldecotoxicologie

Contactpersoon: Lieven Bervoets, Ecofysiologie en Biochemie,

Groenenborgerlaan 171 gebouw U 7° verdieping

Tel : 03/265 34 83, e-mail : lieven.bervoets@ua.ac.be

Titel: Het gebruik van voedingssnelheid bij aquatische macro-invertebraten voor de evaluatie van toxische effecten onder laboratorium- en veldomstandigheden

Toxische effecten van micropolluenten kunnen zich manifesteren op verschillende niveau's van biologische organisatie, gaande van het moleculaire tot het ecosysteemniveau. Een organismale respons waarvoor de gevoeligheid reeds gebleken is bij in-situ blootstelling aan toxicanten, is de voedingssnelheid van invertebraten (bvb vlokreeft *Gammarus pulex*, of larven van waterjuffers). Weinig is echter geweten over de reactie van de voedingssnelheid op verschillende types van contaminanten en het effect van natuurlijke omgevingsfactoren hierop.

De bedoeling van dit onderwerp is dan ook om de bruikbaarheid van de voedingstest voor een aantal prioritaire toxicanten uit te testen onder laboratoriumomstandigheden voor aquatische macro-invertebraten. Organismen zullen gedurende een bepaalde tijd worden blootgesteld aan een toxicant en er zal nagegaan worden hoe en hoe snel ze zich voeden.

Naast deze bepaling zal eveneens het energiemetabolisme en de respiratie worden bepaald.

Niet alleen het effect van toxicanten zal worden onderzocht maar eveneens het effect van enkele omgevingsfactoren zoals temperatuur, pH en zuurstof, zowel afzonderlijk als in combinatie met de toxicanten.

Volgend op de blootstelling onder laboratoriumomstandigheden worden de organismen blootgesteld in een aantal verontreinigde aquatische systemen en worden dezelfde eindpunten gemeten.

Bioaccumulatie en effecten van sedimentgebonden micropolluenten in een aquatische voedselketen: vergelijking tussen een gematigde (Vlaanderen) en sub-tropische (Z-Afrika) regio.

Sedimentgebonden micropolluenten kunnen opgenomen worden door benthische organismen en accumuleren in het weefsel. Nochtans is het nog niet volledig uitgeklaard welke sedimentfactoren hierbij een rol spelen en of metalen die opgenomen worden via ingestie van sediment of via voeding tot een effect leiden.

De doelstelling van dit thesisonderwerp is om na te gaan of metalen en/of organische micropolluenten die via ingestie van sediment worden opgenomen door benthische invertebraten aanleiding geven tot effecten op de invertebraten zelf en op de vissen die prederen op deze invertebraten.

Een vergelijking zal hierbij worden gemaakt voor een eenvoudige aquatische voedselketen tussen een gematigde klimaatzone (Vlaanderen) en een tropische klimaatzone (Zuid Afrika).

In beide regio's zullen de gehalten aan micropolluenten gemeten worden in het sediment, water, invertebraten en visweefsels. Er zullen een aantal omgevingsfactoren en sedimentkarakteristieken bepaald worden en er zullen relaties gezocht worden tussen de gehalten in de omgeving en de geaccumuleerde gehalten rekening houdend met de gemeten variabelen. Bovendien zullen op zowel invertebraten als op de vissen een aantal effecten gemeten worden op verschillende niveau's van biologische organisatie. Op fysiologisch niveau zal respiratie worden gevolgd en het energiemetabolisme worden bepaald (eiwitten, vetten en suikers) terwijl op organismaal niveau conditiematen zullen worden bepaald. Er zal dan worden onderzocht of de gemeten effecten gerelateerd kunnen worden aan de geaccumuleerde gehalten.

Thema 4: Biobeschikbaarheid en Toxiciteit

Contactpersoon: Ronny Blust, Ecofysiologie en Biochemie,

Groenenborgerlaan 171 gebouw U 7° verdieping

Tel : 03/265 33 44, email:ronny.blust@ua.ac.be

Consequenties van pieken en dalen in blootstelling aan toxicanten op de conditie van vissen.

In het aquatisch milieu worden organismen blootgesteld aan allerlei stoffen waarvan de chemische concentraties en biologische beschikbaarheid sterk kan veranderen in functie van plaats en tijd. De milieunormstelling van vandaag is nagenoeg volledig gebaseerd op resultaten bekomen uit experimenten waarbij modelorganismen worden blootgesteld aan strikt econtroleerde constante blootstellingsscenario's. De realiteit is echter anders, waarbij blootstelling meestal niet constant is en gekenmerkt wordt door pieken en dalen. Vandaag de dag bestaan er milieunormen voor continue blootstelling en maximale blootstelling maar vooral deze laatste normstelling is weinig wetenschappelijk onderbouwd.

In dit onderzoek willen we nagaan in hoeverre blootstelling aan pieken en dalen in de blootstelling aan een toxicant al of niet vergelijkbaar met constante blootstelling aan diezelfde stof. Hiervoor bestuderen we de effecten van verschillende scenario's waarbij zowel de amplitude als de frequentie van de blootstelling kan wijzigen en worden de effecten gevolgd op drie niveau's: 1. Verschillen in opname, accumulatie en compartimentalisatie; 2. Inductie van verdedigingsystemen zoals het metaaldetoxicatie eiwit metallothioneine en 3. Effecten op de conditie gemeten op basis van energiemetabolisme, ion en osmoregulatie en overleving.

Experimenten worden uitgevoerd met de zebra vis, *Danio rerio* een modelorganisme in de ontwikkelingsbiologie en toxicologie. Als stressor wordt gewerkt met het metaal koper dat een milieurelevante stressor is en waarvan de opname en accumulatiekinetiek gemakkelijk kan gevolgd worden. Op basis van de bekomen resultaten kunnen we een antwoord formuleren op de vraag in hoeverre het blootstellingsscenario de gevoeligheid van de organismen beïnvloedt en wat de implicaties hiervan zijn voor de normstelling. We zullen nagaan in hoeverre verschillen in metaalaccumulatie de waargenomen verschillen in toxiciteit al dan niet kunnen verklaren en in welke mate de respons van defensiesystemen verschilt tussen de scenario's.

Vergelijkende opname en toxiciteit van metalen voor estuariene organismen: fysiologische onderbouwing van normstelling voor estuaria.

Estuariene systemen vormen de overgang tussen het zoetwater en het mariene milieu en vormen het habitat voor een specifieke flora en fauna. Tegelijkertijd vormen estuaria ook de tijdelijke verblijfplaats voor vele andere soorten als broedplaats of migratiegebied. Door de menging van zoet en zoutwater ontstaan gradiënten in zoutconcentraties die bijzondere aanpassingen vereisen van de organismen die in deze gebieden leven. Afhankelijk van de evolutieve voorgeschiedenis hebben estuariene organismen verschillende strategieën ontwikkeld om zich te handhaven onder deze omstandigheden. Deze verschillen in fysiologische organisatie hebben ook hun invloed op de gevoeligheid van de organismen voor stressoren waaronder metalen als koper, zink en cadmium.

Estuaria zijn vaak sterk onderhevig aan blootstelling aan metalen en andere stoffen door de sterke aanvoer vanuit het zoetwatermilieu. Uit bestaand onderzoek is reeds gebleken dat de gevoeligheid van estuariene organismen voor metalen zeer sterk kan verschillen en onder andere sterk beïnvloed wordt door de saliniteit van het milieu.

Sommige organismen vertonen een uitgesproken saliniteitseffect terwijl dit voor anderen veel minder het geval blijkt te zijn. Op dit ogenblik is het niet duidelijk hoe deze verschillen kunnen worden verklaard, wat nochtans essentieel is voor de wetenschappelijke onderbouwing van de in ontwikkeling zijnde normstelling voor estuariene systemen.

Concreet willen we met dit onderzoek nagaan in hoeverre de verschillen in gevoeligheid voor metalen in functie van saliniteit te wijten zijn aan verschillen in opname en accumulatie enerzijds en/of aan veranderingen in de intrinsieke gevoeligheid anderzijds. Hiervoor wordt gewerkt met drie soorten (een mollusk, een kreeftachtige en een vis) en worden de effecten van blootstelling aan verschillende zoutgehalten op de opname en accumulatiekinetiek van twee metalen met verschillend gedrag bestudeerd (koper en cadmium). Tegelijkertijd wordt de conditie van de organismen gevolgd op basis van veranderingen in energiemetabolisme, ion en osmoregulatie en overleving.