

Ecotoxicologische & Ecologische Monitoring Maas (EMMA-water)

2005

RIZA werkdocument: 2005.182X

Ecotoxicologische & Ecologische Monitoring Maas (EMMA-water)

RIZA werkdokument 2005.182X

Auteurs: J.L. Maas, M. Greijdanus en M.A. Beek

.....

Colofon

In opdracht van RWS directie DLB

Informatie: Mw. J.L. Maas (RIZA) / Drs. J.C.M. van der Veen (DLB)
Telefoon: 0320 298411

Uitgevoerd door: RIZA; J.L. Maas, M. Greijdanus en M.A. Beek

Opmaak: RWS-RIZA

Datum: eindrapport december 2005

Inhoudsopgave

Inhoudsopgave	4
Samenvatting	7
1 Inleiding	9
1.1 Doel van het rapport	11
1.2 Leeswijzer	11
2 Ecotoxicologische waarnemingen	13
2.1 Keuze monitoringsparameters	13
2.1.1 Beoordeling oppervlaktewater	13
2.1.2 Beoordeling waterbodem	14
2.1.3 Gevoelige testmethoden	14
2.1.4 Samenvatting monitoringsparameters in project EMMA-water	15
2.2 Locatiekeuze ecotoxicologisch onderzoek	15
2.3 Beoordeling oppervlaktewater	17
2.3.1 Acute testen in concentraten van oppervlaktewater	17
2.3.2 Chronische blootstelling in oppervlaktewater	20
2.4 Beoordeling waterbodem	28
2.5 In vitro bioassays of biomarkers	29
2.6 Accumulatiemetingen in organismen	31
3 Ecologisch waarnemingen	35
3.1 Keuze monitoringsparameters	35
3.1.1 Inventarisatie macrofauna	35
3.2 Locatiekeuze ecologisch onderzoek	36
3.3 Macrofaunatellingen op kunstmatig substraat	38
3.3.1 Evaluatie gegevens monitoring met knikkerkorven (1992 – 2001)	38
3.3.2 Invloed calamiteit op macrofauna in 2001	42
3.3.3 Macrofauna tellingen op grindzakken in het veld	45
4 Discussie en aanbevelingen	49
4.1 Samenvatting ecotoxicologische parameters	49
4.2 Samenvatting ecologische parameters	49
4.3 Koppeling ecotoxicologische en ecologische effecten.	50
4.4 Koppeling potentiële en actuele risico's	50
4.5 Evaluatie van de monitoringparameters	51
4.6 Ontwikkelingen in het kader van de Kader Richtlijn Water (KRW)	52
4.7 Aanbevelingen voor nader onderzoek	53
5 Referenties	55
Bijlage 1: Macrofaunatellingen in Borgharen en Grave (1992-2001).....	59

Voorwoord

Het EMMA-project is gestart in 2000 in opdracht van Directie Limburg. Het project is opgestart naar aanleiding van het opstellen van een integraal monitoringsplan van de Maas door Directie Limburg. Daaruit bleek dat er naast het meten van fysische en chemische parameters behoefte was aan een uitbreiding met eco(toxico)logische parameters voor de beoordeling van de water(bodem)kwaliteit. Voor het selecteren van de meest geschikte monitoringsparameters is door Directie Limburg advies gevraagd aan RIZA. Het RIZA heeft hiervoor een projectplan opgesteld (projectbegeleider Else Sneller). Het project is gestart met een bureaustudie door Witteveen en Bos (Durand en Sloot), waarin gekeken is naar de potentiële risico's van gemeten concentraties verontreiniging, en welke (groepen) organismen het meest risico lopen.

Aan de hand van de uitkomsten van deze bureaustudie heeft het EMMA project een vervolg gekregen met experimenteel onderzoek naar geschikte eco(toxico)logische monitoringsparameters. In het najaar van 2001 en het voorjaar van 2002 is ecotoxicologisch en ecologisch onderzoek uitgevoerd in het oppervlaktewater en de waterbodem van de Maas. De resultaten van deze onderzoeken (EMMA-Water) zijn weergegeven in dit rapport. Een vergelijkbare studie is uitgevoerd met de oevers van de Maas (EMMA bodem), waarvan de resultaten elders worden weergegeven (AquaSense, 2002).

Opdrachtgevers van directie Limburg voor het totale project EMMA waren Maartje Thijssen en Mary van Rossenberg, in een later stadium overgenomen door Martijn van der Veen. Projectleider vanuit het RIZA was Margriet Beek.

Er zijn vele mensen betrokken geweest bij het EMMA project, zowel in de begeleiding en als in de uitvoering. In de begeleiding zijn, naast de hierboven al genoemde personen, betrokken geweest Jan Hendriks (RIZA), Marian Neven (Dir. Limburg), Jos Vink (RIZA), Jolande de Jonge (RIZA), Wendy Liefveld (RIZA), Roel Kramer (Dir. Limburg). In de uitvoering zijn betrokken geweest Hannie Maas (RIZA), Albert Espeldoorn (RIZA), Serge Rotteveel (RIZA), Lia Kerkum (RIZA), Ellanie de Bruyne (RIZA), Marianne Greijdanus (RIZA), Marlies van Agteren (RIZA), Ramil Scheper (RIZA), Jan van der Hout (RIZA), Joan Staeb (RIZA), Sylvia de Boer (RIZA), Gerlinda de Graaf (RIZA), Jaap Postma (Aquasense), Rineke Keijzers (Aquasense), Elske de Haas (UvA) en Michiel Kraak (UvA). Aan iedereen gaat dank uit voor zijn of haar inzet bij dit project.

Samenvatting

De Vierde Nota Waterhuishouding (NW4, 1998) en de EU Kaderrichtlijn Water (KRW; Europese Unie richtlijn, 2000) geven aan dat de beoordeling van de water(bodem)kwaliteit naast fysische en chemische criteria ook op ecotoxicologische en ecologische parameters zou kunnen geschieden. Rijkswaterstaat Directie Limburg wil binnen de reguliere monitoring van hun beheersgebied hier nadrukkelijker aandacht aan besteden. In het project, getiteld EMMA (Ecotoxicologische en ecologische Monitoring Maas), is een beoordeling van de water- en waterbodempkwaliteit van de Maas uitgevoerd met een selectie van ecotoxicologische en ecologische parameters. Het doel was om de monitoringparameters te evalueren op hun bruikbaarheid en meerwaarde. De keuze van de parameters is gevoed door een verkennende studie met het model OMEGA, waarin bepaald is welke soorten het meeste risico lopen en welke stoffen hiervoor verantwoordelijk zijn.

Bedreigde soorten in het oppervlaktewater van de Maas zijn vooral de insecten en kreeftachtigen. De risico's worden voornamelijk veroorzaakt door hoge gehalten aan zink en koper en bestrijdingsmiddelen.

In het project EMMA water zijn de volgende parameters uitgetest:

1. Het meten van effecten van oppervlaktewater op kreeftachtigen (*Daphnia magna*), zowel in het laboratorium als in het veld.
2. Het meten van de toxiciteit op insectenlarven (haften) door blootstelling aan de waterbodempfase.
3. Het meten van DNA-schade als indicatie van vroegtijdige effecten.
4. Inventarisatie van de macrofauna samenstelling op kunstmatig substraat.

Ecotoxicologische effecten

In Maaswater van verschillende locaties treden effecten op op de populatiegroei van daphnia's. De effecten zijn moeilijk te onderscheiden van effecten van voedsel kwaliteit en kwantiteit.

De aanwezige concentraties aan metalen (opgelost) in het Maaswater op de verschillende locaties zijn te laag om in combinatie, effecten op daphniapopulaties te veroorzaken. Wel treedt aanzienlijke accumulatie op van metaalconcentraties in de daphnia's, die de gevoeligheid van de organismen kan aantasten.

Gedurende de veldwaarnemingen is een calamiteit geconstateerd van een hoge lozing van insecticiden. Calamiteiten van hoge concentraties bestrijdingsmiddelen hebben grote invloed op organismen in het veld. Snel groeiende populaties, zoals watervlooien, herstelden zich weer snel. Gevoeliger en langzaam groeiende soorten, zoals insecten, zullen meer invloed ondervinden van deze lozingen.

Effecten kunnen het snelst gemeten worden in concentraten van oppervlaktewater. Regelmatig wordt op de locatie Eijsden de voor deze methodiek afgeleide norm overschreden. Met name algen ondervinden effecten in de zomerperiode, die gerelateerd is aan hoge concentraties van herbiciden. De waterkwaliteit lijkt zich echter de laatste jaren te verbeteren.

De waterbodem veroorzaakt op enkele locaties ernstige effecten op insectenlarven en chironomiden. Het sediment bestaat voornamelijk uit klasse 4 sediment voor metalen.

DNA-schade is slechts eenmalig aangetoond. De aanwezigheid van kritische niveau's van genotoxische stoffen in de Maas is vooralsnog niet aangetoond.

Ecologische effecten

Sinds 1992 is het aantal organismen en taxonomische groepen in de Maas bij Borgharen flink toegenomen. Door een verbeterde waterkwaliteit (vermindering van o.a. Cd en bestrijdingsmiddelen) neemt het aantal molusken, Chironomidae en overige insecten blijkbaar voorzichtig toe.

In Grave treedt juist een afname op van het aantal taxonomische groepen. In Grave is duidelijk de invloed van de uit de Donau afkomstige Kaspische slijkgarnaal zichtbaar. Door het vormen van slijkkokertjes op de stenen langs de Maas, maken ze het substraat ongeschikt als substraat voor bijvoorbeeld driehoeksmosselen. Dit uit zich in een sterke afname van molusken en wormachtigen.

Uit het onderzoek met kunstmatig substraat in 2002 is een opvallend verschil in soorten waar te nemen tussen de referentie- en de Maaslocaties. De Maas herbergt in verhouding tot de zijrivieren een soortenarmere levensgemeenschap en met name de gevoelige groepen zoals libellen, wantsen en groepen kokerjuffers ontbreken. Het is moeilijk te achterhalen in hoeverre dit gerelateerd is aan verontreinigingen. Lagere zuurstofgehalten en de inrichting van de Maas (met een beperkter aantal habitats dan de zijrivieren) spelen eveneens een grote rol.

Door bezinking van organisch materiaal en algenbloei is de Maas voor de stuw bij Borgharen voedselrijk. Dit uit zich in hoge aantallen wormen, platwormen en boedzuigers.

Evaluatie van monitoringparameters

De met OMEGA berekende risico's komen, met uitzondering van die tijdens de calamiteit, niet duidelijk naar voren in de gevonden resultaten van de ecotoxicologische testen. Voor het verschil in potentiële en actuele risico's zijn verschillende oorzaken aangewezen. In toekomstige versies van het model OMEGA wordt rekening gehouden met een beter afstemming van model- en veldwaarnemingen.

Uit de ecologische veldwaarnemingen blijkt overigens wel duidelijk het ontbreken van gevoelige soorten.

De geteste parameters zijn niet allen geschikt voor routinematige monitoring. Met name de veldmetingen zijn erg arbeidsintensief, maar ze weerspiegelen wel de meest reële situatie, die in het watersysteem optreedt.

De verschillende parameters zijn geëvalueerd en er is een aanbeveling gedaan voor reguliere monitoringsparameters en de frequentie daarvan. Tevens is aandacht besteed aan de ontwikkelingen die plaatsvinden ten aanzien van de Landelijke Monitoring Europese Kaderrichtlijn Water.

1 Inleiding

Rijkswaterstaat Directie Limburg wil binnen de reguliere monitoring van hun beheersgebied nadrukkelijker aandacht besteden aan de ecotoxicologische en ecologische effecten van de huidige verontreiniging van het Maasstroomgebied. Deze behoefte komt voort uit de Vierde Nota Waterhuishouding (NW4, 1998) en de EU Kaderrichtlijn Water (KRW; Europese Unie richtlijn, 2000) waarin aangegeven wordt dat de beoordeling van de water(bodem)kwaliteit naast fysische en chemische criteria op ecotoxicologische en ecologische parameters zou kunnen geschieden. Het doel van dit project, getiteld EMMA (Ecotoxicologische en ecologische Monitoring Maas), is dan ook het selecteren en uittesten van geschikte ecotoxicologische en ecologische parameters voor de beoordeling van de water- en waterbodembodemkwaliteit van de Maas.

Achtergrond

Chemische monitoring is één van de methoden die op grote schaal wordt toegepast om informatie te verkrijgen over de gezondheid van het ecosysteem. Een nadeel van deze methode is dat een beperkte groep stoffen gemeten wordt ten opzichte van de stoffen die in het milieu kunnen voorkomen. Bovendien is slechts voor een gering deel van de aanwezige stoffen toxicologische informatie voorhanden en zijn slechts voor een beperkt aantal stoffen normen afgeleid. In de Vierde nota Waterhuishouding is deze beperking onderkend en als antwoord op de motie Augustijn is voorgesteld een "aanvullende normering te introduceren voor de vele in het water aanwezige stoffen waarvoor nog geen normen bestaan en waarvoor nog geen routinematige monitoring plaatsvindt". In dit voorstel wordt gesproken over een nieuwe waterkwaliteitsparameter voor ecotoxicologische effectbeoordeling "mede met gebruik van zogenaamde bioassays". In aanvulling op de chemische monitoring is in de KRW vastgesteld, dat gedetailleerde informatie over soorten binnen een ecosysteem verzameld moet worden om de ecologische toestand van het ecosysteem vast te stellen. Dit type studies is gefocussed op afwijkingen binnen de soortendiversiteit van het ecosysteem en de functies daarvan in vergelijking tot een referentiesysteem. In veel gevallen zal het moeilijk zijn de waargenomen ecologische effecten direct te relateren aan veroorzakende factoren zoals toxiciteit. Diagnose van de toxische stress op het ecosysteem is een noodzakelijk hulpmiddel om de identiteit van toxicologische belang te evalueren voor het nemen van maatregelen. Hiervoor zijn bioassays geschikt, welke de respons op milieumonsters meten van de gecombineerde effecten van alle stoffen die aanwezig zijn in het milieu.

Opzet onderzoek

In eerste instantie is een verkennende studie uitgevoerd. Hierin is gekeken welke potentiële risico's voor de gemeten verontreinigingen in het Maasstroomgebied bestaan voor welke organismen. Er is gekeken naar het compartiment water, sediment en bodem. In dit rapport wordt alleen ingezoomd op water en sediment. Het compartiment bodem komt aan bod in een zuster project, getiteld EMMA bodem. Hierover is een apart rapport verschenen (AquaSense, 2002b).

Verkennde studie

De potentiële risico's in de verkennde studie zijn bepaald met het programma OMEGA (Durand-Huizing, 2000). In het intermezzo OMEGA wordt het principe van dit model toegelicht. In de Omega-studie zijn chemische metingen voor metalen en bestrijdingsmiddelen in water, sediment, de dynamische bodemzone (regelmatig overstroomd) en de statische bodemzone (zelden overstroomd) in en langs de Maas ingevoerd. De resultaten van de verkennde studie voor het compartiment water waren als volgt (tabel 1).

Tabel 1. Resultaten OMEGA-berekeningen voor het compartiment water.

Compartiment	stof	groep	PAF (%)	Bedreigde soort
water	zink	LW	26-37	insecten
	chloorpyrifos	LW	25	kreeftachtigen
	diazinon	LW	34	kreeftachtigen
	koper	LW	18-26	kreeftachtigen
	cadmium	HM	11-19	mosseletende vogels

LW: lagere organismen in water

HM: hogere mosseletende organismen

PAF: Potentieel aangetaste fractie soorten

Aan de hand van deze resultaten werd het ecotoxicologisch en ecologisch vervolgonderzoek van EMMA water ingevuld met voornamelijk testen voor kreeftachtigen en insecten en inventarisaties van deze soorten.

Intermezzo: model OMEGA

OMEGA staat voor 'Optimal Modelling for Ecotoxicological Assessment'. Het model beoordeelt de mate van verontreiniging van het ecosysteem door toetsing van de chemisch analyses van water, bodem of sediment aan de normen (maximaal toelaatbaar risico of MTR en de streefwaarde of SW). Via de gevoeligheidsverdelingen van soorten voor de gemeten stoffen bepaalt het model het percentage soorten in het ecosysteem, dat mogelijk een risico loopt. Deze waarde wordt PAF genoemd (potentieel aangetaste fractie). De concentratie van sommige stoffen overschrijdt dan de concentratie waarbij "geen effect" op die soorten wordt waargenomen (NOEC; no observed effect concentration). Uit de database van NOEC-waarden voor soorten is af te lezen voor welke soorten deze effectconcentratie werkelijk wordt overschreden. Hieruit is een keuze te maken welke organismen het beste ecotoxicologisch getoetst kunnen worden en welke groepen geïnventariseerd moeten worden in het veld.

Modelberekeningen kunnen worden toegepast op (lager) aquatische organismen, terrestrische processen en soorten, mosseletende hogere organismen, visetende hogere organismen en wormetende hogere organismen.

Ecotoxicologisch en ecologisch onderzoek

Het RIZA heeft voorgesteld de effecten van toxische stoffen in het oppervlaktewater te meten, zowel in het laboratorium als in het veld. Het accent lag hierbij op effecten op de kreeftachtige *Daphnia magna*. Insectenlarven zijn blootgesteld aan sedimenten uit de Maas. Effecten van DNA-schade zijn gemeten aan in het veld uitgezette organismen. Naast

toxiciteit is ook de concentratie aan metalen bepaald, die de organismen opgenomen hebben door blootstelling aan het oppervlaktewater. Ecologische inventarisaties zijn gedaan in uitgehangen kunstmatige substraten. Naast nieuw uitgevoerde inventarisaties is ook een analyse gemaakt van de gegevens die de afgelopen tien jaar in de Maas verzameld zijn.

1.1 Doel van het rapport

De directie Limburg is de eerste directie die gebruik wil maken van een ecotoxicologische en ecologische beoordeling. In het landelijk meetnet van Rijkswaterstaat (MWTL) worden al enige jaren enkele biologische parameters toegepast in de Rijkswateren. De vraag is of dit de juiste parameters zijn en of deze parameters voldoende beeld geven van mogelijke effecten die in de Maas optreden. Het project is opgestart om een selectie te maken van de juiste parameters voor de beoordeling van water-, waterbodem- en bodemkwaliteit. Het doel van dit rapport is een weergave te geven van de resultaten van de ecotoxicologische testen en de ecologische inventarisaties die in de Maas zijn uitgevoerd en een aanbeveling te doen voor een selectie van parameters voor het monitoren van de water- en waterbodemkwaliteit in de Maas. Dit rapport kan tevens dienen als voorbeeld voor watersystemen binnen de beheersgebieden van overige regionale directies of waterschappen.

1.2 Leeswijzer

In hoofdstuk 2 wordt ingegaan op het ecotoxicologisch onderzoek en de resultaten hiervan. Hoofdstuk 3 beschrijft de bevindingen van de ecologische waarnemingen van het nieuw uitgevoerde onderzoek en de inventarisaties van de afgelopen tien jaar. Hoofdstuk 4 vat de waarnemingen samen en gaat in op de selectie van de monitoringsparameters voor de Maas. Tevens worden aanbevelingen voor monitoringparameters en nader onderzoek aangegeven.

2 Ecotoxicologische waarnemingen

In dit hoofdstuk worden de keuzes van de monitoringsparameters, de locatiekeuze en monsternamen toegelicht. Van elke bioassay wordt beschreven hoe deze wordt uitgevoerd, wat de kosten van deze testen zijn en welke resultaten de bioassays opgeleverd hebben.

2.1 Keuze monitoringsparameters

Uit de verkennende studie is naar voren gekomen dat de mogelijke bedreiging van metalen en bestrijdingsmiddelen is gericht op kreeftachtigen en insecten. De keuze van de monitoringsparameters is gericht op deze twee groepen organismen. Daarnaast is ook aandacht geschonken aan mogelijk gevoeliger methoden om in een vroeg stadium effecten op organismen te kunnen traceren.

In het project EMMA water zijn de volgende parameters voorgesteld:

5. Het meten van effecten van oppervlaktewater op kreeftachtigen, zowel in het laboratorium als in het veld.
6. Het meten van de toxiciteit op insectenlarven door blootstelling aan de waterbodempfase.
7. Het meten van DNA-schade als indicatie van vroegtijdige effecten.

2.1.1 Beoordeling oppervlaktewater

Eén van de meest gebruikte organismen binnen de ecotoxicologie is de kreeftachtige *D. magna*, de watervlo (zie figuur 2.1). In de zeventiger jaren was het Maaswater dermate toxisch, dat watervlooien binnen korte tijd stierven bij blootstelling aan dit water. Deze acute effecten worden al sinds de tachtiger jaren niet meer waargenomen, als alleen nog tijdens een calamiteit. Op sommige locaties in watersystemen kunnen nog effecten na langere blootstelling (chronische effecten) worden waargenomen, met name in gebieden waar lozingen plaatsvinden of waar diffuse lozingen verwacht worden.



Figuur 2.1: *Daphnia magna*, watervlo (volwassen exemplaar) ware grootte ca 2 mm.

Chronisch onderzoek duurt lang, is arbeidsintensief en daarom kostbaar. Een alternatieve manier om effecten van het oppervlaktewater goedkoper te kunnen meten is de methode om het water te extraheren en te concentreren, waarna kortdurende (acute) testen kunnen worden uitgevoerd. Deze methode wordt sinds 1997 door RWS in samenwerking met RIVM toegepast in het reguliere biologische meetnet (MWTL).

Zowel acute als chronische testen met oppervlaktewater in het laboratorium geven effecten weer van monsters die als het ware in een momentopname bemonsterd zijn. Een reëler beeld van effecten kan verkregen worden door

organismen in veldkooitjes op de locatie (*in het veld*) uit te zetten en hierin gedurende langere tijd de populatieontwikkeling te volgen. Bovengenoemde varianten van testen met daphnia's in het oppervlaktewater zijn uitgevoerd in de Maas. In paragraaf 2.3 worden de methodieken en de resultaten van deze testen besproken.

2.1.2 Beoordeling waterbodem

De eendagsvlieg of haft *Ephoron virgo* (figuur 2.2) is één van de soorten die typerend is voor grote rivieren en welke een belangrijke rol speelt als filterfeeder van fijn organisch materiaal en als voedselbron voor vissen en vogels. De larven van *E. virgo* leven in en op het sediment van de rivier. Deze soort komt veelvuldig in de Maas voor en is daardoor geschikt als monitoringsparameter voor de beoordeling van waterbodem. In paragraaf 2.4 wordt een toelichting gegeven van de bioassay, zoals deze wordt uitgevoerd en worden de resultaten van de testen met het bodemmateriaal vermeld.



Figuur 2.2: *Ephoron virgo*, haft of eendagsvlieg

2.1.3 Gevoelige testmethoden

De hierboven genoemde methoden zijn gericht op effecten op overleving, reproductie en groei van organismen. Deze effecten worden gemeten met gehele organismen, zogenaamde *in vivo* bioassays. Deze bioassays zijn mogelijk niet altijd gevoelig of specifiek genoeg om effecten in het veld aan te kunnen tonen. Andere methoden maken gebruik van geprepareerde cellen of cellulaire fracties die geïsoleerd zijn uit organismen of van gemodificeerde bacteriën. Deze zogenaamde *in vitro* bioassays zijn over het algemeen gevoeliger en specifiek voor een bepaald werkingsmechanisme van een stofgroep. Een goed voorbeeld hiervan is bijvoorbeeld het meten van hormonale effecten met een daarvoor geprepareerde celcultuur om estrogene effecten te meten (ER-Calux; Legler *et al.*, 1999).

Ook bestaan er methoden om effecten op celmateriaal of op een enzymstelsel van een blootgesteld organisme te meten. Deze methoden zijn geschikt om effecten die op termijn verwacht kunnen worden in een vroeg stadium te registreren. Deze meetmethoden worden biomarkers genoemd. Een voorbeeld hiervan is het meten van lysosomale stabiliteit van cellen, waarmee de fitheid van cellen van blootgestelde organismen wordt uitgedrukt.

De biomarker waar in dit project voor is gekozen is het meten van DNA-schade in cellen van organismen die gedurende een langere tijd in het veld aan Maaswater zijn blootgesteld. Deze biomarker wordt de Cometassay genoemd vanwege de manier waarop de detectie van de DNA-schade wordt geregistreerd (zie 2.5). Deze test biedt de mogelijkheid strengbreuken in DNA zichtbaar te maken en geeft daarmee een inzicht in blootstelling en effect van

verbindingen die het erfelijk materiaal beschadigen. In paragraaf 2.5 wordt de methode toegelicht en de resultaten van de testen met organismen besproken.

2.1.4 Samenvatting monitoringsparameters in project EMMA-water

Soort toxiciteitstest	oppervlaktewater		waterbodem
	lab	veld	lab
Acuut (in concentraten)	kreeftachtige alg bacterie rotifeer		
Acuut	kreeftachtige		insect
Chronisch	kreeftachtige		
Chronisch		kreeftachtige	
Chronisch (DNA)		mossel	

2.2 Locatiekeuze ecotoxicologisch onderzoek

In de Maas zijn die locaties gekozen, waar de meeste effecten van metalen en bestrijdingsmiddelen verwacht konden worden. Uit gegevens van Directie Limburg kwamen daarvoor de locaties Eijsden of Borgharen, en locaties nabij de uitloop van de Roer en nabij de uitloop van de Dieze in aanmerking. De oevers nabij Roermond bleken niet geschikt voor veldonderzoek, zodat uitgeweken is naar een locatie op enige afstand van de monding van de Roer.

Het uitzetten van kooitjes met daphnia's, de blootstelling aan daphnia's in het laboratorium en de test met haften op waterbodems zijn in oppervlaktewater van de volgende locaties uitgevoerd:

- Borgharen, aan de strekdam voor de stuw (figuur 2.3a).
- Kessel-Eik, op ca. 15 km afstand van de uitmonding van de Roer en ca. 5 km na de uitmonding van het zijriviertje de Neer (figuur 2.3b)
- Bokhoven (nabij Den Bosch) op ca. 2 km van de uitloop van de Dieze (figuur 2.3c).
- Markermeer, nabij de Block van Kuffeler, als referentiegebied.

De locaties en de x,y-coördinaten staan vermeld in respectievelijk figuur 2.3 en tabel 2.1. Acute testen in oppervlaktewater-concentraten zijn uitgevoerd met water van de locaties Eijsden, Belfeld en Keizersveer. Deze locaties sluiten aan bij het reguliere monitoringsprogramma van MWTL (RWS) voor biologische en chemische parameters.

Tabel 2.1. Onderzoeklocaties voor ecotoxicologisch onderzoek

locatie	Rivier km	X-coörd.	Y-coörd.
Eijsden	5	177000	310000
Borgharen	15.5	176925	319900
Belfeld	101	205750	370220
Kessel-Eik	94.5	199750	364875
Bokhoven	222	144750	416425
Keizersveer	247.5	121070	414560
Markermeer		144100	492475



a: Borgharen



b: Kessel-Eik



c: Bokhoven

Figuur 2.3: Onderzoeklocaties voor het ecotoxicologisch onderzoek in de Maas. Borgharen (a), Kessel-Eik (b) en Bokhoven (c).



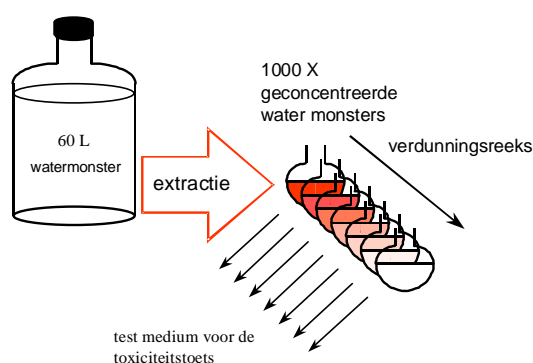
Figuur 2.4: Onderzoeklocaties in de Maas voor ecotoxicologisch veld- en laboratoriumonderzoek.

2.3 Beoordeling oppervlaktewater

2.3.1 Acute testen in concentraten van oppervlaktewater

Methodiek concentreren

De methode berust op het principe dat de organische fractie aan verbindingen uit het water wordt geïsoleerd door adsorptie aan een hars (XAD) (figuur 2.5). Adsorptie van verbindingen, die redelijk in water oplosbaar zijn (met een $\log K_{ow}^1$ tussen 2 en 5) is het meest effectief. Deze fractie aan verbindingen blijkt ook de meest toxische fractie te zijn voor organismen. De aan het XAD geadsorbeerde verbindingen worden met aceton geëxtraheerd en vervolgens naar een waterfase overgebracht. In deze waterfase, waarin de verbindingen een factor 1000x geconcentreerd zijn, worden toxiciteitsmetingen uitgevoerd.



Figuur 2.5. Opwerking van oppervlaktewater voor het uitvoeren van toxiciteitsonderzoek (RIVM, 2002).

Als toxiciteitstesten zijn een vijftal kortdurende (acute) bioassays geselecteerd, die in kleine volumes testmedium kunnen worden uitgevoerd. De volgende organismen worden hiervoor gebruikt:

kreeftachtigen

- Daphnia (IQ-)test: de toxiciteit wordt bepaald door de remming van een enzymatische reactie op het energiebudget van watervlooien (*D. magna*) na korte blootstelling (1 uur) aan het medium. Effecten van deze test correleren met effecten op overleving bij langere blootstelling.
- Thamnotoxkit, de toxiciteit wordt bepaald door de sterfte van deze kleine kreeftjes (*Thamnocephalus platyurus*) na blootstelling van 24 uur aan het testmedium.

rotiferen

- Rotoxkit, de toxiciteit wordt bepaald door de sterfte van deze kleine organismen (*Brachyonus calyciflorus*) na blootstelling van 24 uur aan het testmedium.

bacteriën

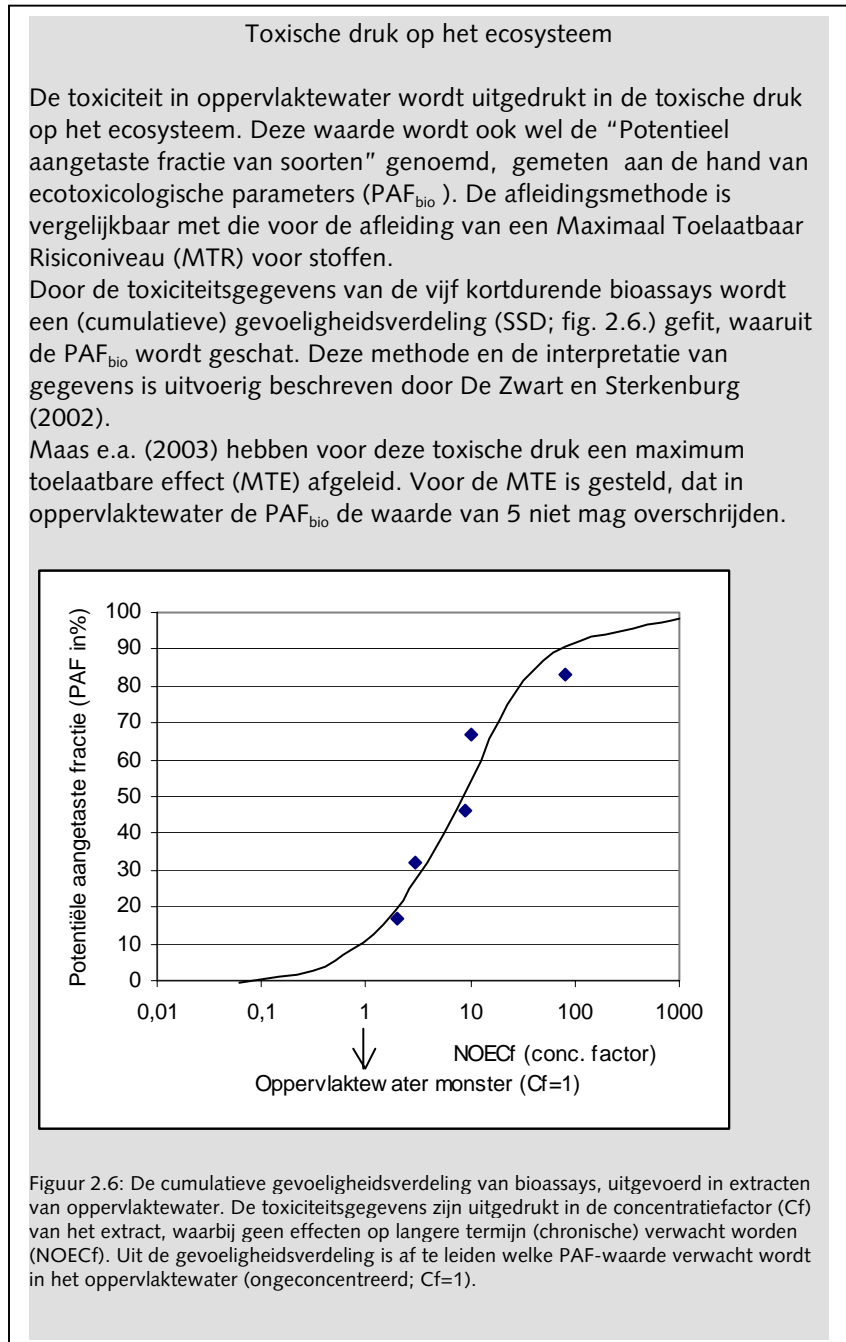
- Microtox-test, de toxiciteit wordt bepaald door remming van een enzymatische reactie op het energiebudget van de bacterie (*Vibrio fischeri*) na korte blootstelling (15 min) aan het medium. Deze enzymatische reactie is gekoppeld aan de hoeveelheid luminescentie (licht) die het aantal bacteriën uitzendt.

¹ K_{ow} is de evenwichtsconstante van een stof in het organisme ten opzichte van de waterfase; hoe hoger de K_{ow} hoe minder de stof in water oplosbaar is.

algen

- PAM-toets, de toxiciteit wordt bepaald door de afname in fotosynthese activiteit te meten bij de alg (*Selenastrum capricornutum*) na korte blootstelling (4,5 uur) aan het medium.

Er is voor vijf testen gekozen om de resultaten van de toxiciteitstesten te kunnen integreren tot een maat voor de toxische druk van het oppervlaktewater op de onderzoekslocatie. De toxische druk wordt weergegeven als het percentage van soorten in het watersysteem, dat effect kan ondervinden van de aanwezigheid van toxische stoffen (zie intermezzo).



Voor en nadelen van de methode

Er zijn een aantal voor- en nadelen te noemen van deze methode:

Voordelen:

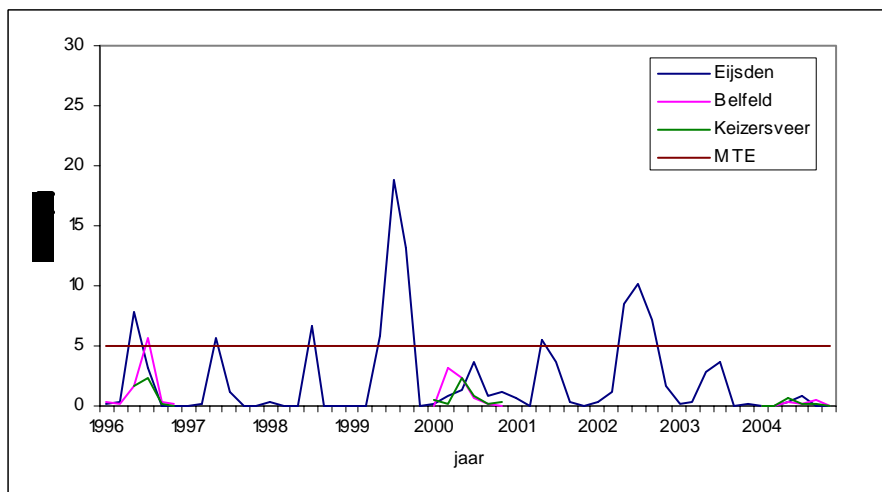
- de methode is snel en redelijk goedkoop (1 – 1,5 k€/monster)
- de methode is toepasbaar op zoete, brakke en zoute wateren
- er is geen storing van nature aanwezige nutriënten en voedingsstoffen te verwachten
- door middel van de risicoschatting wordt een voorspelling gedaan van de ecologische potentie van het oppervlaktewater.
- voor het volgen van trends in toxiciteit (in tijd of ruimte) kan ook volstaan worden met minder bioassays; de kosten kunnen daardoor worden gehalveerd.

Nadelen:

- metalen worden niet geëxtraheerd; metalen in de Maas zijn juist één van de probleemstoffen.
- de meeste stoffen worden gedeeltelijk (50-75%) uit het water geëxtraheerd. De gemeten toxiciteit wordt dus voor een deel onderschat.

Resultaten

In het reguliere MWTL-meetprogramma wordt ieder jaar de locatie Eijsden zes maal per jaar bemonsterd en getest. In 1996, 2000 en 2004 zijn ook de locaties Belfeld en Keizersveer meegenomen. In figuur 2.7 staan de resultaten van de gemeten PAF_{bio} -waarden gegeven voor de Maas op de locaties Eijsden, Belfeld en Keizersveer in de periode 1996 t/m 2004.



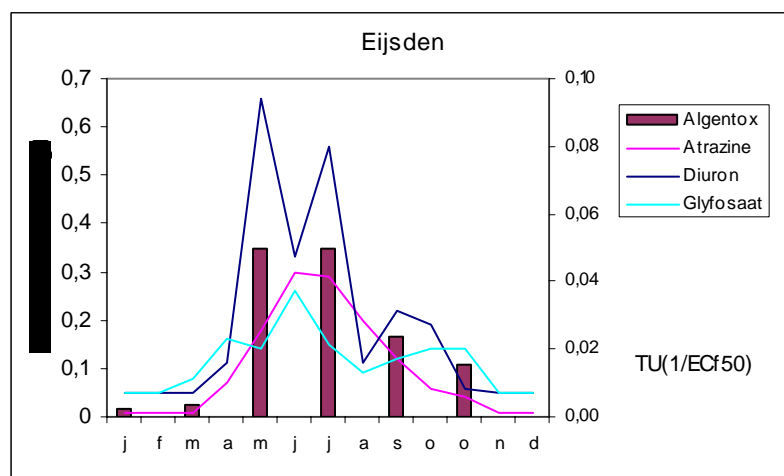
Figuur 2.7 PAF_{bio} in % gemeten in 1996 t/m 2002. De toxische druk van de organische fractie van het oppervlaktewater uit de Maas overschrijdt in Eijsden regelmatig het maximaal toelaatbaar effect.

Het risico op effect van de organische fractie van het Maaswater op potentieel aanwezige organismen is het grootst in het Maaswater van Eijsden. Het maximaal toelaatbaar effect (MTE) voor oppervlaktewater ligt bij een PAF_{bio} van 5 % (Maas e.a., 2003). In Eijsden is dit in de afgelopen jaren regelmatig overschreden, met name in de zomerperiode. Aan de hand van de resultaten van de metingen uit figuur 2.7 lijkt enige verbetering van de waterkwaliteit waar te nemen na 2003.

In vergelijking tot het Rijnstroomgebied geeft de Maas een hogere PAF_{bio} -waarde. De Schelde is het meest vervuild (De Groot et al., 2004; De Zwart en Sterkenburg, 2002).

Discussie en aanbevelingen

Uit toxiciteitsgegevens van het Maaswater op individuele organismen blijkt dat de toxiciteit op kreeftachtigen (*D. magna*) het hoogst is in de winterperiode (nov. t/m apr), terwijl effecten op algen juist optreden in de zomerperiode (mei t/m okt). In figuur 2.8 is voor de Maas bij Eijsden (2000) geïllustreerd dat de toxiciteit voor algen duidelijk gerelateerd is aan de aanwezigheid van herbiciden. De relatie van aanwezigheid van toxische stoffen voor kreeftachtigen is niet uitgewerkt. Om de oorzaak van effecten te kunnen verklaren om mogelijk maatregelen te kunnen nemen is het aan te bevelen de effecten in relatie tot de waterkwaliteitsparameters te vergelijken.



Figuur 2.8: Toxiciteit van Maaswater bij Eijsden op algen gemeten per 2 maanden in 2000. Het effect is uitgedrukt toxic units (TU = 1/ECf50); ECf50 is de concentratiefactor, waarbij 50% effect op de fotosynthese van algen ontstaat. Hoe hoger de TU-waarde, hoe toxischer het monster. Effecten van het oppervlaktewater op algen zijn duidelijk gerelateerd aan de aanwezigheid van herbiciden in het oppervlaktewater.

2.3.2 Chronische blootstelling in oppervlaktewater

a) Laboratorium testen

Methodiek

Belangrijke ecologische effecten, zoals effecten op de populatiegroei, kunnen zichtbaar gemaakt worden in langdurend (chronisch) onderzoek. Veelal wordt dit onderzoek uitgevoerd onder standaard laboratoriumcondities, waarbij de hoeveelheid voedsel en omgevingstemperatuur optimaal zijn. De resultaten worden vergeleken met een schone referentiesituatie. Op deze manier wordt alleen de invloed van de aanwezigheid van toxische stoffen gemeten. De testen met daphnia's duren 21 dagen. Een nadeel van het testen van oppervlaktewater is het verloop in concentraties in de tijd. Voor dit onderzoek is de keuze gemaakt het oppervlaktewater twee maal per week te bemonsteren en het medium, waarin de organismen blootgesteld zijn, te verversen. De van nature aanwezige algen, die de populatiegroei kunnen beïnvloeden, zijn zo goed mogelijk verwijderd middels centrifugeren. Parallel aan deze test is een test met onbehandeld oppervlaktewater uitgevoerd. Na afloop van de test zijn

in de blootgestelde daphnia's en in het oppervlaktewater metaalgehalten gemeten. Voor oppervlaktewater zijn verzamelmonsters gemaakt van het testwater dat gedurende de testperiode verzameld is.

Gedurende de blootstellingperiode van 21 dagen is dagelijks de sterfte en het aantal nakomelingen geregistreerd. Na afloop van de test is het percentage sterfte en de populatiegroei van de daphnia's bepaald. De resultaten zijn statistisch getoetst ten opzichte van een controle medium.

Voor en nadelen methodiek

Voordelen:

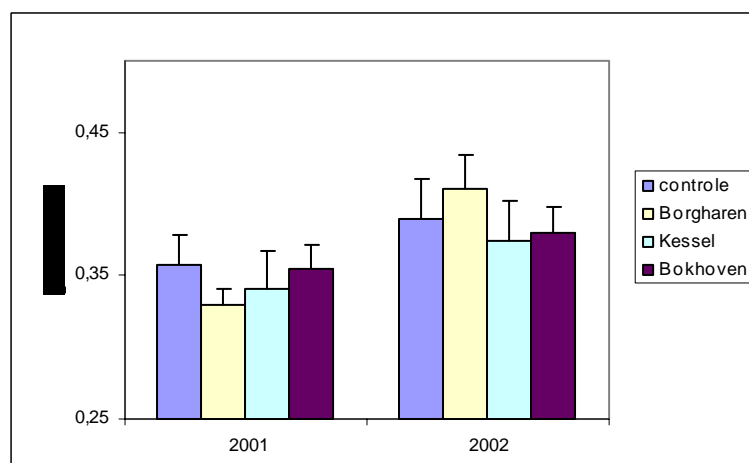
- de blootstelling gebeurt onder standaard condities, waardoor verschillende storende omstandigheden (temperatuur, voedsel, stroming) uit te schakelen zijn
- organismen worden aan alle (bekende en onbekende) stoffen blootgesteld
- toxiciteitsgegevens voor bekende stoffen zijn op dezelfde manier verkregen, zodat gegevens goed te vergelijken zijn.

Nadelen:

- de test duurt tenminste 16 dagen en is daardoor vrij kostbaar (1,5-2 k€ - afhankelijk van aantal locaties)
- de monsternamen is slechts een momentopname; regelmatig verversen met vers bemonsterd medium geeft nog de meest reële blootstelling, maar is in de praktijk logistiek moeilijk en arbeidsintensief
- de interpretatie van effecten wordt bemoeilijkt door van nature aanwezige nutriënten; hierdoor kan zelfs een maskering van effecten optreden en is vergelijking ten opzichte van een referentie niet altijd goed te maken.

Resultaten

In het laboratorium zijn nauwelijks effecten op de populatiegroei van *D. magna* opgetreden. In het onbehandelde Maaswater werd de groei en reproductie ten opzichte van de controle gestimuleerd ten gevolge van de aanwezigheid van een natuurlijke populatie algen. Afwijkende sterfte van daphnia's in het gecentrifugeerde en onbehandelde oppervlaktewater kwam zowel in 2001 als in 2002 niet voor. In 2001 was de reproductie in het gecentrifugeerde water van Borgharen significant geremd ten opzichte van het controle medium. In 2002 werden geen significante effecten waargenomen (figuur 2.9). De groei van de daphniapopulatie op de locatie Borgharen werd nu juist gestimuleerd.



Figuur 2.9: De populatiegroei van *D. magna* in gecentrifugeerd oppervlaktewater van de Maas (Borgharen) was in september 2001 significant lager dan de populatiegroei in het controlemedium. In 2002 werden geen significante verschillen waargenomen.

b) testen in het veld (*in situ*)

Methodiek

De meest reële vergelijking van effecten, die in het oppervlaktewater optreden, is een blootstelling in het veld. Hierin worden naast effecten van toxische stoffen ook de invloeden van temperatuur en voedsel meegenomen.

Op de onderzoekslocaties zijn daphnia's blootgesteld aan oppervlaktewater in roestvrij stalen kooitjes. Ingezet zijn populaties van 20 daphnia's opgebouwd volgens een stabiele leeftijdsopbouw. Per locatie zijn 3 kooitjes geplaatst. In Borgharen en Bokhoven konden deze kooitjes aan hekwerk opgehangen worden, tot ca. 1,5 meter onder het wateroppervlak. In Kessel-Eik zijn de kooitjes aan een struik of boom gehangen tot op de bodem van de rivier (figuur 2.10).

Twee maal per week werd de groei van de populaties geteld en werd beoordeeld hoe de populatieopbouw eruit zag. In het Maaswater en de referentie Markermeer werden de parameters pH, temperatuur, zuurstof, ammonium, nitriet en nitraat gemeten. Tevens werd water bemonsterd om het chlorofylgehalte te bepalen als maat voor de voedselhoeveelheid. Twee maal per periode van blootstellen is water bemonsterd om de samenstelling van de natuurlijke algenpopulaties te onderzoeken. Na afloop van de blootstelling (na ca. 3 – 4 weken) zijn daphnia's uit de kooitjes verzameld om de interne metaalconcentraties te bepalen.

Van elke locatie is de populatiegroei in de tijd bepaald en zijn deze met elkaar vergeleken.



Figuur 2.10: Veldkooitje voor *in situ* metingen met *D. magna* in oppervlaktewater op de locatie Kessel-Eik.

Voor- en nadelen van de methodiek:

Voordelen:

- de blootstelling is het meest reëel voor de vraagstelling
- organismen worden blootgesteld aan zowel natuurlijke stressfactoren (voedsel, nutriënten en temperatuurwisselingen), als aan toxische stoffen (bekende en onbekende)
- er wordt naar populaties gekeken i.p.v. individuele individuen

Nadelen:

- dit onderzoek is arbeidsintensief en daardoor vrij kostbaar (3,5- 5k€ - afhankelijk van aantal en plaats locaties)
- er kan storing optreden door scheepvaart, stroming en hoeveelheid zwevend stof
- de kooitjes zijn erg gevoelig voor vandalisme

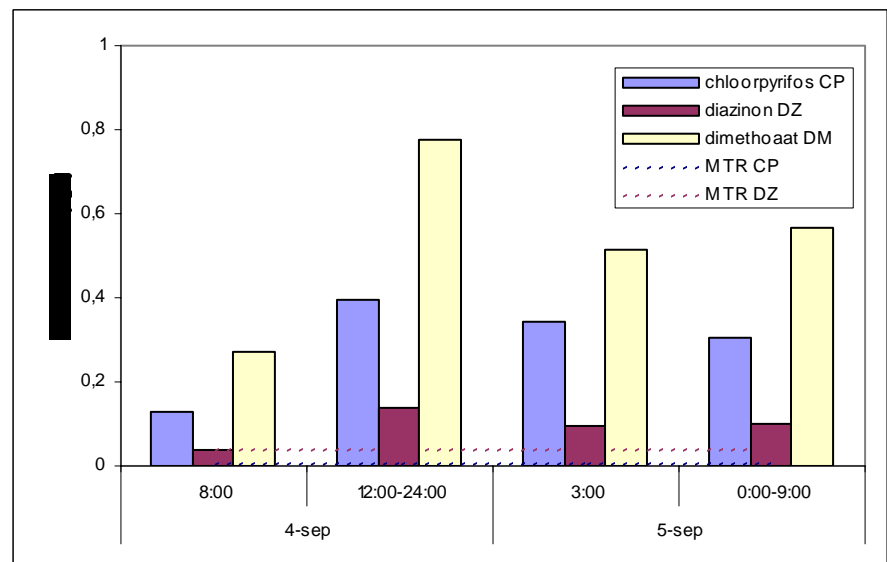
- de spreiding in waarnemingen is groot

Resultaten populatiegroei

2001 – Effect calamiteit

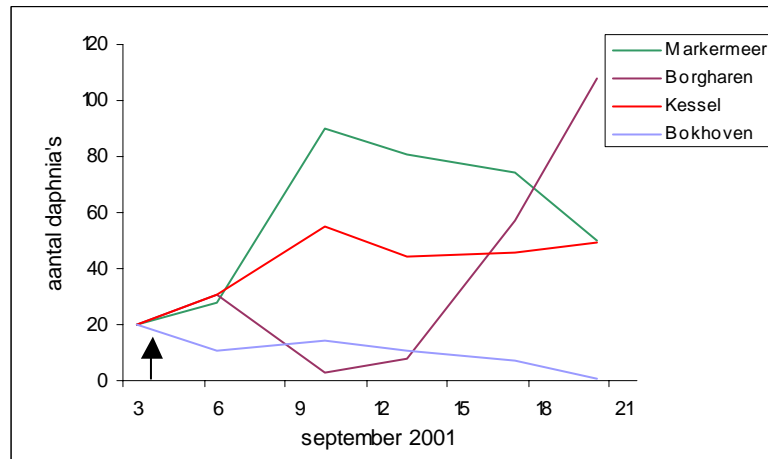
In 2001 zijn ernstige effecten op daphnia's op de locatie Borgharen waargenomen. De zwemactiviteit van de daphnia's was op 6 september sterk afgenomen en sommige exemplaren werden zelfs dood aangetroffen. Na 4 dagen is sterfte waargenomen. Sterfte en verminderde activiteit is op 4 september al geregistreerd met de biologische monitor met daphnia's op het meetstation in Eijsden. Effecten op daphnia's werden zelfs tot in Keizersveer geregistreerd, waar de Daphnia monitor ook een verlaagde activiteit te zien gaf (mondelijke mededeling WBB). In de kooitjes in Kessel en Bokhoven zijn de effecten op de activiteit van de daphnia's niet waargenomen.

De calamiteit werd veroorzaakt door een lozing van de stoffen diazinon, chloorpyrifos en dimethoaat. Uit figuur 2.11 is te zien dat de gemeten gehalten van diazinon en chloorpyrifos ver boven het MTR uitkwamen. Gehaltes aan chloorpyrifos kwamen ook ver boven de NOEC (0,06µg/l) voor daphnia's uit. Concentraties van dimethoaat lagen ver beneden het MTR en de NOEC voor daphnia's. Met OMEGA is berekend, dat door de geloosde hoeveelheid stoffen 47% van de potentiële aanwezige organismen, met name kreeftachtigen en insecten, effect kan ondervinden.



Figuur 2.11: Concentraties van geloosde bestrijdingsmiddelen chloorpyrifos en diazinon in de Maas in 2001 waren hoger dan het MTR. Voor chloorpyrifos waren de concentraties ook hoger dan de NOEC voor *D. magna*. Concentraties van dimethoaat lagen nog ver beneden MTR en NOEC niveau (resp. 23 en 29 µg/l).

Figuur 2.12 toont het effect van de calamiteit op de populatie in Borgharen. De groei van de daphniapopulatie in de kooitjes is nog gedurende twee weken gevolgd om eventuele effecten en mogelijk herstel van de populatie te registreren. De populatie daphnia's in Borgharen herstelde zich snel. Na 1 week nam de groei van de populatie al weer sterk toe. De snelheid van herstel van aangetaste populaties is in grote mate afhankelijk van de levenscyclus van de betreffende soorten (Van Wijngaarden et al., 1998). Watervlooiën vertonen een relatief snel herstel vanwege hun korte generatietijd.



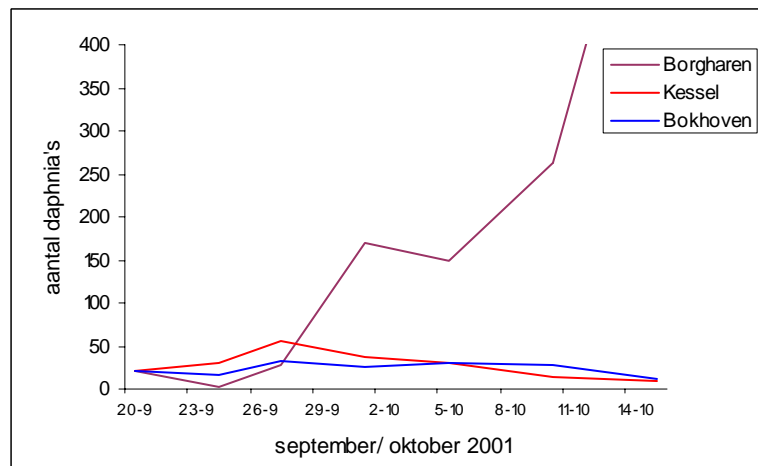
Figuur 2.12: Effect op de populatiegroei van *D. magna* gedurende de lozing ↑ van bestrijdingsmiddelen op 4 september 2001. De populatie in Borgharen vertoonde het meeste effect, maar herstelde zich binnen 2 weken. De populatiegroei in Bokhoven was slecht.

2001 en 2002 – populatiegroei

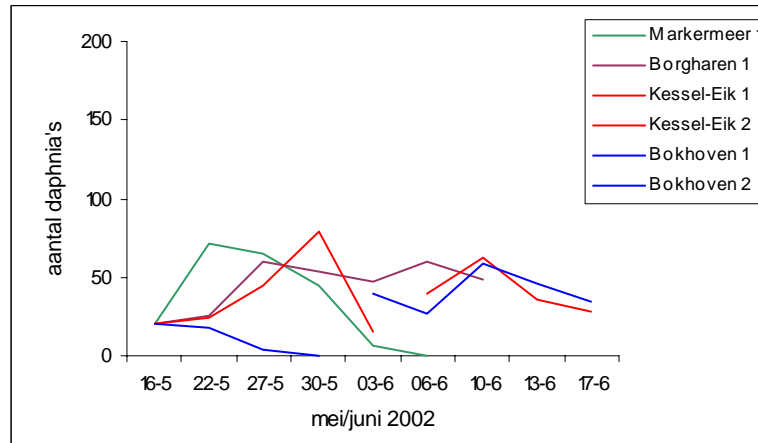
Eind september 2001 is op alle Maaslocaties een nieuwe serie met daphnia's ingezet.

In de figuren 2.12, 2.13 en 2.14 is het verloop van de populatiegroei in 2001 en 2002 voor de locaties in de Maas en de referentielocatie Markermeer weergegeven. In 2001 was de groei in Borgharen na herstel van de calamiteit en in de nieuw ingezette serie eind september goed. Op de andere locaties, met name in Bokhoven, bleef de populatiegroei sterk achter. Dit beeld trad zowel op in 2001 als in 2002.

Ook de spreiding tussen de triplo kooitjes was groot. Voor het beeld van figuur 2.12 en 2.13 zijn de gemiddelde waarden van de drie kooitjes genomen, maar door de grote spreiding kunnen geen significante effecten worden weergegeven.



Figuur 2.13: De populatiegroei van *D. magna* op de drie locaties in de Maas in 2001. De groei was met uitzondering van Borgharen slecht.



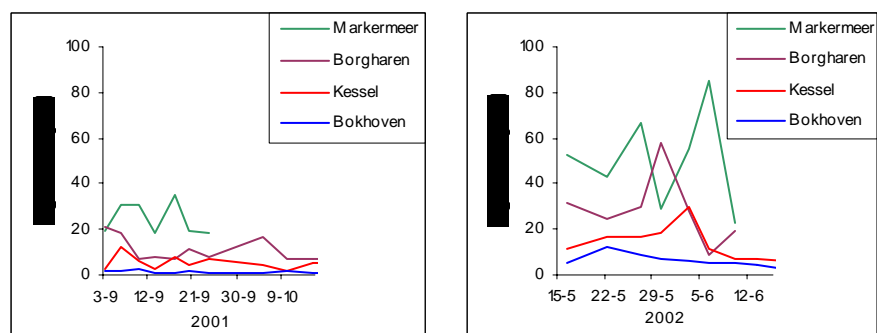
Figuur 2.14: De populatiegroei van *D. magna* op de drie locaties in de Maas en op de referentielocatie in 2002. De populatiegroei in Borgharen was verslechterd ten opzichte van 2001. In Kessel en Bokhoven was deze matig tot slecht.

c) interpretatie van chronische blootstelling

De populatiegroei is gerelateerd aan de voedsel kwantiteit en kwaliteit, de temperatuur en de waterkwaliteit. In laboratorium testen zijn factoren als temperatuur en voedsel zoveel mogelijk uitgeschakeld. Om verschillen in populatiegroei in het veld te kunnen verklaren zijn parameters die iets kunnen vertellen over de kwantiteit en kwaliteit van voedsel, zoals chlorofylgehalte en algensamenstelling, gemeten. De waterkwaliteit is alleen aan de hand van metaalgehalten onderzocht.

Voedselkwantiteit en -kwaliteit

In de Maas komen geen hoge gehalten aan chlorofyl voor. De chlorofylgehalten nemen stroomafwaarts af (fig 2.15a en b). Borgharen is naar verhouding een voedselrijke locatie. Voor de stuw treedt regelmatig een situatie op van stilstaand water, waardoor organisch materiaal kan bezinken en algenbloei kan optreden.



Figuur 2.15: Chlorofyl-a gehalten in de Maas en het Markermeer gemeten tijdens de blootstellingsperiode van *D. magna* (in situ).

In 2002 zijn op alle locaties gemiddeld iets hogere gehalten gemeten dan in 2001. Ook de temperatuur lag in het voorjaar van 2002 gemiddeld iets hoger (19 °C) dan in het najaar van 2001 (16 °C). De gemeten chlorofylgehalten zijn

vergelijkbaar met de gehalten die regulier in de Maas gemeten worden (RWS, MWTL-gegevens).

De algensamenstelling op de locaties in de Maas bestond met uitzondering van die van Borgharen (2001) uit algen die goed door daphnia's geconsumeerd kunnen worden. De algensamenstelling is ingedeeld in de hoofdgroepen groen-, kiezel-, blauw en overige algen. Blauwalgen zijn over het algemeen slecht voedsel voor daphnia's. In het Markermeer domineerde de blauwalg (95%). Ook in Borgharen (2001) kwam deze alg veel voor (70%), echter er waren in Borgharen voldoende goede algencellen beschikbaar. In 2002 kwam in het Markermeer hetzelfde percentage aan blauwalgen voor; in Borgharen kwamen nauwelijks nog blauwalgen voor (figuur 2.16a en b).

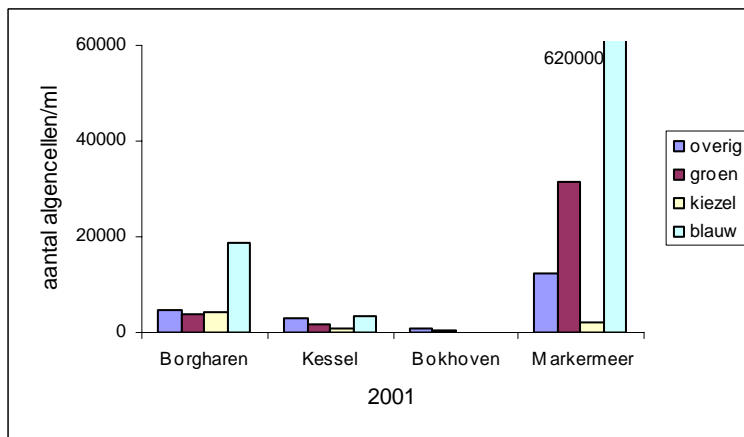


fig 2.16a

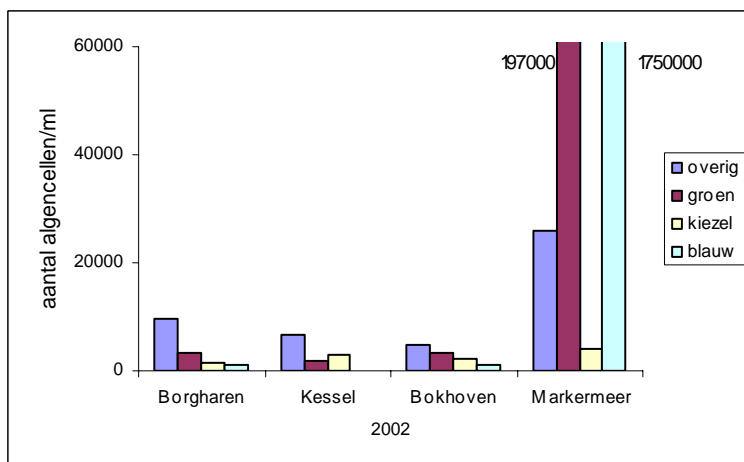


fig 2.16b

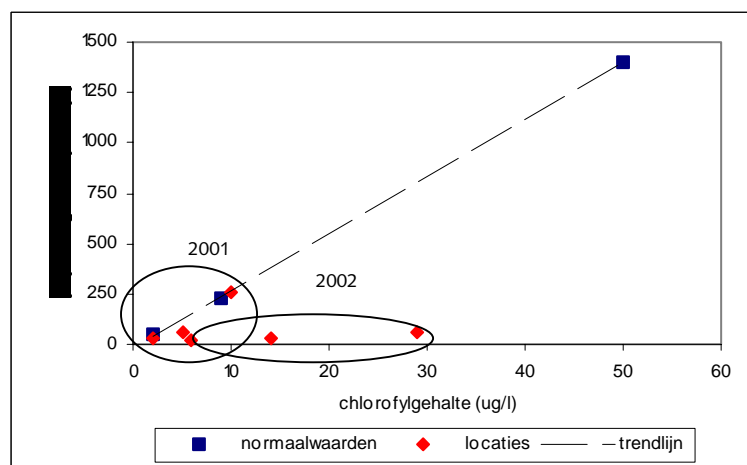
Figuur 2.16: De algensamenstelling in de Maas en het Markermeer tijdens de blootstelling van *D. magna* (*in situ*). De hogere waarden in het Markermeer worden verklaard door het feit dat dit stilstaand water betreft.

Relatie algenhoeveelheid (chlorofyl) en daphia populatiegroei

Door de grote hoeveelheid blauwalgen in het Markermeer in zowel 2001 als 2002 bleek deze locatie niet een geschikte referentie te zijn om de normale populatiegroei in een relatief schoon gebied weer te geven. De populatiegroei van daphnia's was in het Markermeer dan ook niet optimaal.

Om te vergelijken welke "normaal" waarden voor populatiegroei optreden bij bepaalde chlorofyl-a gehalten is een doorstroomproef in het laboratorium uitgevoerd met verschillende algen (=chlorofyl) concentraties. In figuur 2.17 is

de relatie gemiddeld chlorofylgehalte en populatiegroei (maximum aantal) weergegeven. In deze figuur is ook het maximaal aantal daphnia's weergegeven wat in 2001 en 2002 op de locaties bereikt is.



Figuur 2.17: Relatie tussen het gemiddelde chlorofylgehalte ($\mu\text{g/l}$) en het maximum aantal bereikte daphnia's in de populatiegroei (n).

Conclusies aan de hand van algenkwaliteit

De populaties daphnia op de locaties in de Maas gemeten groeiden in 2001 redelijk conform de verwachte normaal-waarden. De betere algenkwaliteit van het Maaswater op de onderzochte locaties in 2002 leverde geen verbetering op. De groei van de populaties daphnia bleef ver achter bij de verwachte aantallen (fig 2.17). Mogelijk dat de waterkwaliteit in de Maas in het voorjaar van 2002 slechter was, dan in 2001.

Waterkwaliteit

Metaalgehaltenes

De gehalten aan zware metalen, die in het oppervlaktewater gemeten zijn, kwamen overeen met de waardes die gemiddeld voorkomen in de Maas. De metaalgehaltenes in het water zijn vergeleken met gehalten, waarbij geen effecten optreden op daphnia (NOEC's). Geen enkele metaalconcentratie overschreed deze waarde. Van de individuele metaalconcentratie wordt dan ook geen effect verwacht. Alle metalen in het oppervlaktewater kunnen echter bijdragen aan een gecombineerd effect op daphnia's. Om dit totale effect te meten zijn de metaalgehaltenes uitgedrukt in een toxische fractie (TU) ten opzichte van de (no observed) effect concentraties (NOEC) voor daphnia ($TU = 1/NOEC$). Uitgaande van concentratie additie zijn de toxische fracties bij elkaar opgeteld. Wanneer de som van TU de waarde van 3 overschrijdt, is de kans groot dat effecten op daphniapopulaties gaan optreden. In tabel 2.2 is te zien dat $\sum TU$ in alle gevallen < 1 is en er dus geen effecten op daphnia's verwacht worden van de aanwezige metaalconcentraties in het Maaswater. Accumulatiegegevens van metaalgehaltenes in daphnia's worden besproken en weergegeven in paragraaf 2.6.

Tabel 2.2: Toxische fractie (NOEC) van metalen in water op *D. magna* op de verschillende locaties in Maas en Markermeer. Indien de $\Sigma TU > 3$ is, is er een kans op effect van metalen op populatiegroei.

metaal	tox fractie (TU) Borgharen		tox fractie (TU) Kessel		tox fractie (TU) Bokhoven		tox fractie (TU) Markermeer	
	2001	2002	2001	2002	2001	2002	2001	2002
As	0,003	0,003	0,003	0,003	0,004	0,003	0,005	0,004
Cd	0,034	0,066	0,048	0,090	0,078	0,076	0,000	0,016
Cu	0,277	0,308	0,297	0,366	0,342	0,422	0,146	0,248
Cr	0,017	0,009	0,018	0,006	0,017	0,004	0,006	0,000
Ni	0,020	0,025	0,022	0,034	0,039	0,048	0,010	0,018
Pb	0,011	0,005	0,015	0,016	0,009	0,116	0,005	0,004
Zn	0,225	0,204	0,296	0,327	0,310	0,254	0,000	0,015
ΣTU	0,588	0,619	0,699	0,842	0,797	0,922	0,171	0,305

Conclusies waterkwaliteit Maas

De gemeten concentraties van metalen leiden niet direct tot sterfte of effecten op reproductie. Het water bevat echter ook andere microverontreinigingen, waarvan met name de bestrijdingsmiddelen een grote invloed hebben op daphnia's. Ook is gebleken dat tijdens calamiteiten hoge concentraties aan bestrijdingsmiddelen kunnen voorkomen, die ernstige gevolgen voor daphnia en andere kreeftachtigen en insecten kunnen hebben.

De remming van de populatiegroei in oppervlaktewater van Borgharen (2001) gemeten in de laboratoriumtest is vermoedelijk te wijten aan de tijdelijke aanwezigheid van hoge concentraties bestrijdingsmiddelen in het water.

2.4 Beoordeling waterbodem

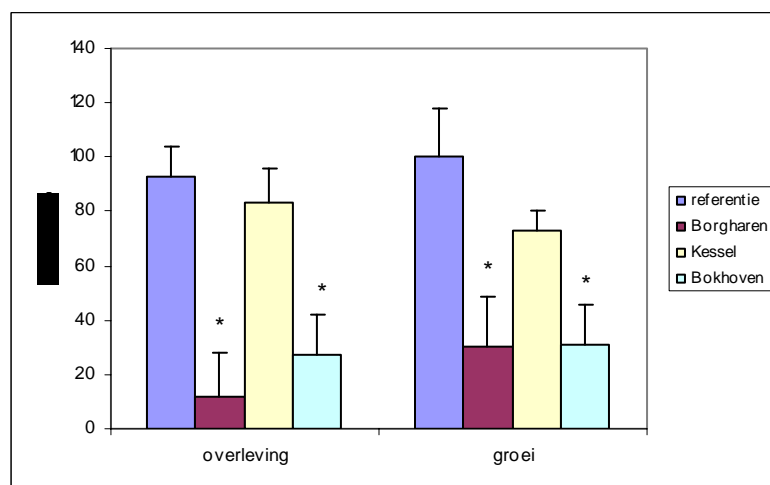
De eendagsvlieg/haft *E. virgo* is één van de soorten die typerend is voor grote rivieren en die een belangrijke rol speelt als filterfeeder van fijn organisch materiaal en als voedselbron voor vissen en vogels. De larve van *E. virgo* leeft in en op het sediment van de rivier.

Pas uitgekomen larven zijn blootgesteld aan het sediment uit de Maas. Gedurende 14 dagen is gekeken naar de overleving, de groei en de activiteit van de organismen. De resultaten zijn statistisch getoetst ten opzichte van een referentiemonster. Een gedetailleerde uitvoering van de werkwijze is beschreven door AquaSense (2001b en 2002a).

In figuur 2.18 zijn de resultaten van de testen met *E. virgo* op sediment voor 2002 weergegeven. In 2001 zijn de larven op alle locaties in de Maas dood gegaan. Er was enige twijfel of de organismen voldoende voedsel ter beschikking hebben gehad. De resultaten zijn niet geheel betrouwbaar en zijn verder niet uitgewerkt.

In 2002 zijn duidelijk significante effecten te zien op sediment van Borgharen en Bokhoven. Alleen de locatie Kessel-Eik was vergelijkbaar met de controle. Het sediment in Borgharen is genomen boven de stuw. Uit chemische analyses (Royal Haskoning, 2001) blijkt dat dit sediment ernstig verontreinigd is en bestaat uit klasse 4 slib voor metalen Cd, Cu, Pb en Zn. Overige stofgroepen vallen in de klasse 3. Effecten op organismen van sediment uit Borgharen wordt in het MWTL-programma van Rijkswaterstaat 4-jaarlijks gemeten. Er wordt dan gekeken naar de overleving en groei van muggelarven en populatiegroeieffecten in poriewater van de sedimenten op daphnia's. In 1992, 1996 en 2000 zijn telkens ernstige effecten waargenomen op beide soorten (Witteveen & Bos, 1996; AquaSense, 2001a).

Van de locaties Kessel en Bokhoven zijn geen sedimentgegevens bekend en is niet eerder biologisch onderzoek uitgevoerd.



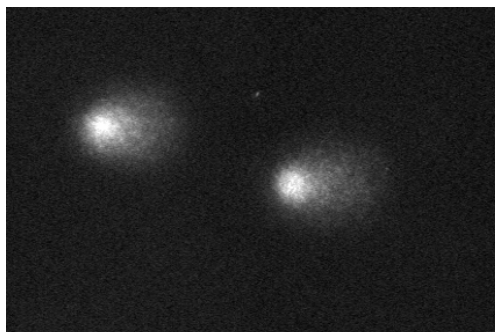
Figuur 2.18: Sediment van Borgharen en Bokhoven gaf ernstige effecten op overleving en groei van de haft *E. virgo*.

2.5 In vitro bioassays of biomarkers

In het project EMMA-water is de biomarker de Cometassay gebruikt. Deze test biedt de mogelijkheid strengbreuken in DNA zichtbaar te maken en geeft daarmee een inzicht in blootstelling en effect van verbindingen die het erfelijk materiaal beschadigen.

Principe

Celmateriaal van blootgestelde organismen wordt geprepareerd en vastgelegd in agarose op een microscoopglasje. De Comet assay meet de electroforese migratie van DNA fragmenten van deze cellen. Na electrophorese wordt het DNA gekleurd met ethidiumbromide. Vervolgens wordt met behulp van een image analyse systeem de migratie van het celmateriaal zichtbaar gemaakt. In het geval van een hoge graad van schade aan het DNA verschijnt de inhoud van de celkern als een komeet. De lengte van de staart is een maat voor de hoeveelheid schade (zie figuur 2.19.)



Figuur 2.19. De staart van de Comet is een maat voor de hoeveelheid DNA-schade in het celmateriaal van organismen.

De methode is toegepast op daphnia's en op driehoeksmosselen, die in kooitjes in het veld zijn blootgesteld. Hiervoor zijn de daphnia's gebruikt uit de *in situ* testen in het voorjaar van 2002. Driehoeksmosselen zijn in 2001 in Eijsden en Keizersveer blootgesteld en in 2002 op de drie onderzoekslocaties Borgharen, Kessel-Eik en Bokhoven. De blootstellingsperiode van de driehoeksmosselen bedroeg ca. 4 weken. De referentielocaties lagen voor driehoeksmosselen respectievelijk in het IJssel- en Markermeer en voor Daphnia in het Markermeer.

Voor- en nadelen methodiek

Voordelen:

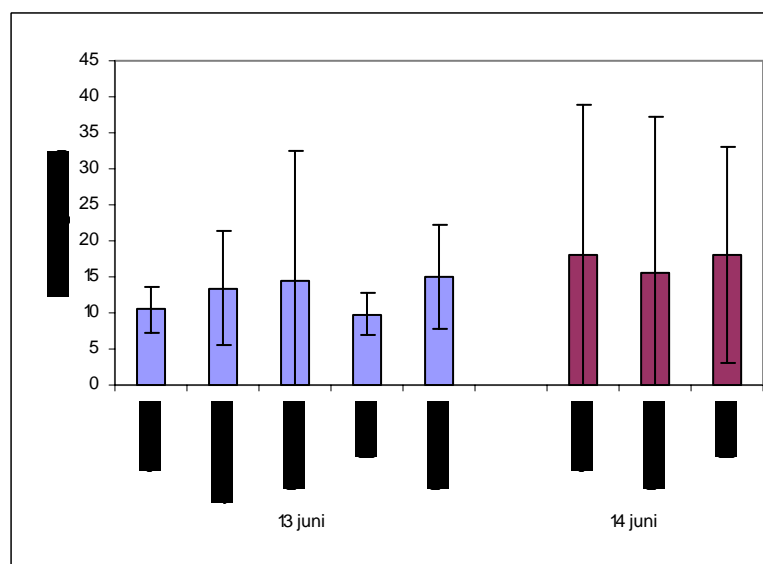
- geen extractietechnieken nodig om stoffen te isoleren of te concentreren; dus geen verlies van stoffen
- door gebruik te maken van levende organismen, worden actuele effecten gemeten van alle aanwezige genotoxische stoffen
- door het uithangen van kooitjes met organismen in het veld is de blootstelling het meest reeël
- door gebruik te maken van één batch organismen is de methodiek zeer geschikt om locaties met elkaar te vergelijken

Nadelen:

- wanneer effecten optreden is niet bekend om welke stoffen het gaat
- de betekenis van DNA-effect op de populatiegroei van organismen is niet bekend
- de kosten voor het uitvoeren van de testen liggen nog relatief hoog (ca. 3,5 k€ per serie testen)

Resultaten

In figuur 2.20 staan de resultaten van de Cometassay op daphnia's uit de kooitjes (2002) weergegeven. In daphnia's van de locatie Borgharen, Bokhoven en de referentie Markermeer werd wel een vergrootte staartlengte van de Comet gemeten ten opzichte van daphnia's uit een controle medium. De spreiding in staartlengte was echter zo groot dat geen significantie kon worden aangetoond. Ook konden de effecten niet worden bevestigd in een tweede testserie.



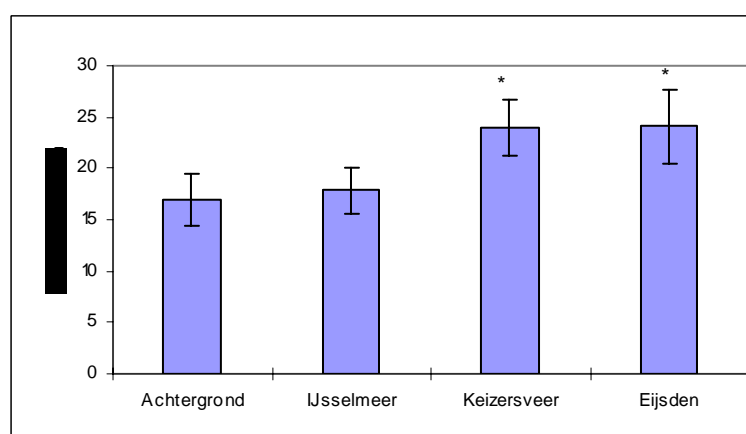
Figuur 2.20: Gemiddelde staartlengte van het DNA-materiaal van cellen van *D. magna*, die *in situ* blootgesteld zijn aan het Maaswater op de verschillende locaties.

De driehoeksmosselen vertoonden geen zichtbaar effect tijdens de blootstelling op de locaties. In de Comet assay werd een significant verschil in staartlengte gemeten tussen de locaties Eijsden en Keizersveer en de referentie IJsselmeer en het controle medium (figuur 2.21; Van der Veen en den Besten, 2001). Dit duidt op aanwezigheid van genotoxische verbindingen in het Maaswater gedurende de periode waarop de mosselen zijn blootgesteld.

In 2002 zijn bij herhaling van de experimenten geen significante effecten gevonden tussen de onderzoekslocaties en de referentie Markermeer en controle medium.

Conclusies

De variatie in resultaten van de Comet assay op daphnia's is nog erg groot. De resultaten van de test met driehoeksmosselen was niet eenduidig. De toepassing van de Comet assay op driehoeksmosselen is inmiddels goed gestandaardiseerd. Er is een studie uitgevoerd naar de seizoensinvloed op driehoeksmosselen die de resultaten van de Comet assay mogelijk zouden kunnen beïnvloeden. Gedurende een jaar bleef de gevoeligheid van uit het veld gehaalde driehoeksmosselen niet te veranderen (Rotteveel en den Besten, 2004). Praktijkstudies zullen moeten uitwijzen welke variaties optreden in de detectie van DNA schade aan blootgestelde organismen.



Figuur 2.21: Gemiddelde staartlengte van de Comets van het celmateriaal van driehoeksmosselen, *in situ* blootgesteld aan het Maaswater te Eijsden en Lobith (Van der Veen en den Besten, 2001). Keizersveer en Eijsden verschillen significant t.o.v. de referentie

2.6 Accumulatiemetingen in organismen

In de in het veld blootgestelde daphnia's is alleen de opname van metalen gemeten. Oorspronkelijk was het de bedoeling zowel metalen als bestrijdingsmiddelen te meten in deze organismen. Voor metalen zijn analysemethoden beschikbaar, voor bestrijdingsmiddelen waren nog geen methoden voorhanden. De hoeveelheid watervlooiën die nodig zijn voor een analyse aan organische microverontreinigingen was praktisch niet haalbaar. Daarom is besloten organische microverontreinigingen, met name de bestrijdingsmiddelen, eerst uit te proberen met een soort organisme waarvan het vetgehalte vele malen hoger was dan van crustacea; de driehoeksmossel.

Voor de methodiekontwikkeling zijn driehoeksmosselen uit het veld verzameld in de Maas bij Ool en Grave en als referentiemateriaal uit het Markermeer.

Metalen

In de in het veld blootgestelde daphnia's zijn de metaalconcentraties wel sterk verhoogd. In figuur 2.22 zijn de gehalten aan metalen in de organismen weergegeven ten opzichte van de gehalten in het relatief schone referentiewater Markermeer. Met name Cd was sterk toegenomen.

Uit de literatuur zijn weinig eenduidige gegevens bekend over de kritische gehalten van metalen in daphnia's (kritische interne concentratie), waarbij effecten optreden. In de studie die Enserink et al. (1991) met een equitoxisch mengsel aan metalen heeft uitgevoerd, zijn kritische interne concentraties voor metalen in daphnia's afgeleid. In tabel 2.3 staan de kritische waarden, gevonden door Enserink, en de gehalten gevonden in de in het veld blootgestelde daphnia's naast elkaar weergegeven.

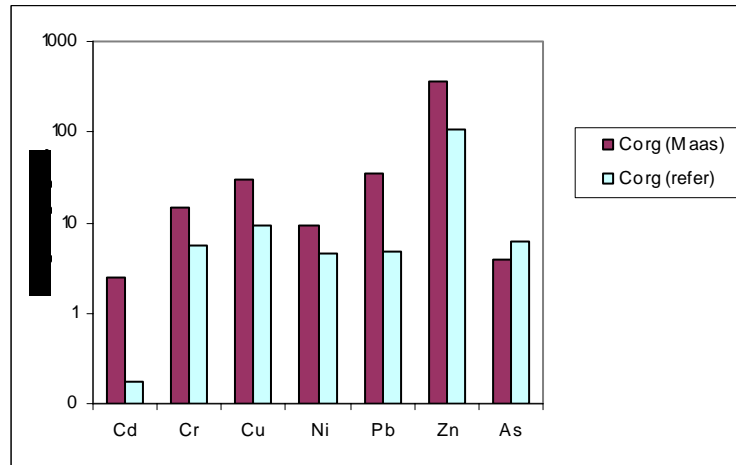
De hoogst gemeten concentraties aan metalen die in de daphnia's gemeten zijn liggen met uitzondering van Cu beneden deze voorspelde kritische waarden. Voor Cu en ook Zn is het lastig een kritische waarde voor organismen weer te geven. Beide metalen worden door organismen gereguleerd. De kritische interne concentratie wordt al snel bereikt, maar hoeft nog niet direct effect op de organismen te hebben. Uit de intern gemeten concentraties worden dan ook geen effecten van de metalen verwacht op daphnia's. Dit is in overeenstemming met de waterkwaliteits-gegevens (paragr 2.3.c).

Hoewel de opname van metalen niet direct leidt tot sterfte of effecten op reproductie, is de kans op een verlaagde weerstand van de daphnia's wel aanwezig. De organismen bevinden zich voortdurend in een zogenaamde stress-toestand. Hierdoor zouden ze gevoeliger op andere verontreinigingen, zoals bestrijdingsmiddelen of natuurlijke factoren, kunnen reageren. Uit een eerste onderzoek met in Maaswater opgekweekte daphnia's, die aan een piekbelasting zijn blootgesteld, kon deze hypothese echter niet bevestigd worden (Rotteveel, 2005).

Tabel 2.3: Vergelijking van de critical body burden voor metalen in daphnia's (Enserink et al., 1990) en de gehalten gemeten in de in het veld blootgestelde daphnia's.

Metaal	critical body burden (mg/g dw) ¹	max. gemeten conc. in daphnia's (mg/g dw)
As	0,17	0,0056
Cd	0,0087	0,0043
Cr	0,28	0,03
Cu	0,029	0,04
Ni	1,7	0,023
Pb	9,4	0,049
Zn	6,7	0,5

¹ Critical body burden, afgeleid uit de effectconcentratie, waarbij net significante effecten zijn waargenomen.



Figuur 2.18: In vergelijking met de concentraties in organismen uit het relatief schone referentiewater Markermeer nemen de organismen in het Maaswater een grote hoeveelheid metalen op. Hoge accumulatie kan de weerstand van de populatie in de Maas aantasten.

Bestrijdingsmiddelen

De microverontreinigingen worden uit het mosselmateriaal geëxtraheerd met behulp van organische oplosmiddelen (dichloormethaan). Bij deze extractie komen ook andere stoffen (vetten, vetzuren en sterolen) mee, die de gaschromatografische meting verstoren. Daarvoor moeten microverontreinigingen en overige stoffen gescheiden worden. Voor het opzuiveren van de extracten is contact opgenomen met het RIVO. Zij hebben de expertise en de apparatuur daarvoor in huis.

De microverontreinigingen zijn geanalyseerd met behulp van GC-MS analyse. Voor identificatie van de componenten is gebruik gemaakt van de RIZA-GC-MS database, waarin van ca. 3200 stoffen gegevens zijn opgenomen. Een gedetailleerde weergave van de toegepaste technieken en methoden is beschreven door De Boer e.a.(2002).

Hoewel uitgebreid onderzoek is uitgevoerd naar de techniek om de bestrijdingsmiddelen in de driehoeksmosselen te kunnen meten, heeft dit niet tot resultaten geleid. De gebruikte opzuiveringsmethode volstond niet voor het verwijderen van overige stoffen uit het extract van driehoeksmosselen. De bestrijdingsmiddelen waar onderzoek naar is gedaan bevonden zich na scheiding in dezelfde fractie als de overige stoffen. Daardoor kunnen de bestrijdingsmiddelen niet gedetecteerd worden. De opzuivering van het extract is niet verder onderzocht. In het rapport van De Boer wordt een aanbeveling gedaan voor een andere methodiek met een andere scheidingstechniek (LC-kolom), waarmee chloorpyrifos en mogelijk ook andere bestrijdingsmiddelen gemeten kunnen worden.

3 Ecologisch waarnemingen

In dit hoofdstuk wordt de keuze van de monitoringsparameters, de locatiekeuze en de monsternamen voor het uitvoeren van ecologische veldinventarisaties toegelicht. Tevens is een analyse uitgevoerd van gegevens van de afgelopen 10 jaar (1992 – 2001).

3.1 Keuze monitoringsparameters

Uit de verkennende studie met het model Omega is naar voren gekomen dat de mogelijke bedreiging van metalen en bestrijdingsmiddelen is gericht op kreeftachtigen en insecten. De keuze van de monitoringsparameters is gericht op o.a. deze groepen organismen, die behoren tot de groep macrofauna. Deze ongewervelde dieren vormen een belangrijk onderdeel van de aquatische levensgemeenschap. Vooral de macro-invertebraten ofwel macrofauna vormen een onmisbare schakel in de voedselketen als belangrijke voedselbron voor vis, vogels en zoogdieren. Op hun beurt maken ze ook gebruik van verschillende soorten voedselbronnen. Deze groep organismen reageert dan ook snel op veranderingen in de waterkwaliteit, hydrologie en morfologie van een watersysteem. Bemonstering en analyse van macrofauna levert een belangrijke indicatie op van de toestand van het watersysteem. In het project EMMA water is de volgende parameter voorgesteld:

- Het inventariseren van de macrofauna samenstelling op kunstmatig substraat.

3.1.1 Inventarisatie macrofauna

De macrofauna samenstelling in oppervlaktewater wordt veelal geïnventariseerd door een biotoopbemonstering uit te voeren, waarbij de macrofauna in verschillende habitats bemonsterd en geanalyseerd wordt. Daarnaast wordt gebruik gemaakt van kunstmatig substraat, die na een kolonisatie periode bemonsterd en geanalyseerd worden op de aanwezigheid van macrofauna. Dit kunstmatig substraat kan bestaan uit knikkers, die in een rvs korf op de onderzoekslocatie worden uitgehangen, of uit zakken met grind. De macrofauna krijgt ca. 4 weken de tijd om zich tussen dit substraat te koloniseren (zie fig. 3.1).

In de Maas wordt in het kader van MWTL eens in de vier jaar een biotoopbemonstering uitgevoerd en jaarlijks in de periode van april tot oktober de soortensamenstelling vastgesteld op gestandaardiseerd kunstmatig substraat (knikkerkorven). In internationaal Maasverband worden eens in de 3 à 4 jaar een serie grindzakken uitgezet en na vier weken geanalyseerd.

Het gebruik van kunstmatig substraat in plaats van het bemonsteren van biotopen ter plaatse heeft enkele voordelen, omdat:

1. precies bekend is in welke periode het substraat gekoloniseerd is, zodat eventuele effecten teruggekoppeld kunnen worden aan de gebeurtenissen in die periode.
2. de methode kwantitatief en goed reproduceerbaar is; verschillen in resultaten zijn beter te herleiden dan van monsters van natuurlijk substraat.
3. de methode goed aansluit bij de MWTL bemonsteringen, waarbij in het kader van internationale monitoring Maas grindzakken en in de nationale monitoring Maas knikkerkorven worden gebruikt.

Een nadeel van deze methode is dat snelle koloniseerders in het voordeel zijn. Voor dit onderzoek in het kader van EMMA water zijn we juist geïnteresseerd in de kreeftachtigen en insecten, omdat in deze soorten juist de effecten worden verwacht. Omdat op alle locaties dezelfde methode wordt gebruikt is een vergelijking dan goed mogelijk.

Voor het EMMA water onderzoek is gekozen voor het gebruik van grindzakken als kunstmatig substraat, mede omdat grindzakken minder vandalismegevoelig, en goedkoper zijn. Daarnaast zijn de gegevens van 10 jaar monitoring met knikkerkorven als kunstmatig substraat geëvalueerd. In paragraaf 3.3 worden de methodieken en de resultaten van deze inventarisaties besproken.



Figuur 3.1: Kunstmatig substraat, knikkerkorf met knickers en grindzak met grind, waartussen de macrofauna zich kan koloniseren.

3.2 Locatiekeuze ecologisch onderzoek

In de Maas worden ieder jaar maandelijks knikkerkorven uitgehangen op de locatie Borgharen en Grave. Voor het project Emma is op meerdere locaties in

het Maasstroomgebied kunstmatig substraat (grindzakken) uitgehangen en zijn de gegevens hiervan vergeleken met gegevens van enkele referentielocaties in het gebied.

De geselecteerde locaties in de Maas kwamen overeen met die voor het ecotoxicologisch onderzoek (par. 2.2). De locatiekeuze voor de referentielocaties van de macrofaunabemonstering is gebaseerd op een waterkwaliteitskaart van Zuiveringschap Limburg. Gekozen is voor een drietal referentielocaties, elk in de buurt van een Maaslocatie namelijk: de Berwinne bij Mariadorp (België) de Geul bij Geulhem en de Niers bij Ottersum (fig 3.2), waarin volgens deze waterkwaliteitskaart geen ernstige overschrijdingen van het MTR voor metalen en bestrijdingsmiddelen voorkomen of te verwachten zijn.

De locaties en de x,y-coördinaten staan vermeld in figuur 3.2 en tabel 3.1.

Tabel 3.1 Onderzoeklocaties voor ecologisch onderzoek.

Maaslocaties	Rivier km	X-coörd.	Y-coörd.
Borgharen	15.5	176925	319900
Belfeld	101	205750	370220
Kessel-Eik	94.5	199750	364875
Bokhoven	222	144750	416425
Grave	175.5	179210	420080
referentielocaties	Ter hoogte van Maaskm		
Mariadorp (La Berwinne, België)	1	177750	307250
Geulhem (Geul)	22	178750	322550
Ottersum (Niers)	157	196800	412850



Figuur 3.1: Onderzoeklocaties in de Maas voor ecotoxicologisch veld- en laboratoriumonderzoek.

3.3 Macrofaunatellingen op kunstmatig substraat

3.3.1 Evaluatie gegevens monitoring met knikkerkorven (1992 – 2001)

Methodiek

Roestvrij stalen korven, gevuld met glazen knikkers, worden gedurende 4 weken op de bodem van een onderzoekslocatie geplaatst. Van april tot en met oktober worden deze knikkerkorven maandelijks in duplo bemonsterd (fig 3.1). Van de monsters is de soortensamenstelling en de abundantie (dichtheid) van de macrofauna bepaald.

De macrofauna is opgedeeld in een aantal hoofdgroepen:

- Mollusken: tweekleppigen en slakken
- Chironomidae: muggelarven
- Overige insecten: haften, wantsen, kokerjuffers en libellelarven
- Kreeftachtigen: gammariden, slijkgarnalen en pissebedden
- Wormachtigen: wormen, platwormen en bloedzuigers

In het reguliere biologische monitoringprogramma van MWTL is sinds 1992 gedurende de zomerperiode op twee locaties in de Maas, Borgharen en Grave, kunstmatig substraat uitgehangen. Voor 1992 was deze activiteit al regelmatig op projectbasis uitgevoerd.

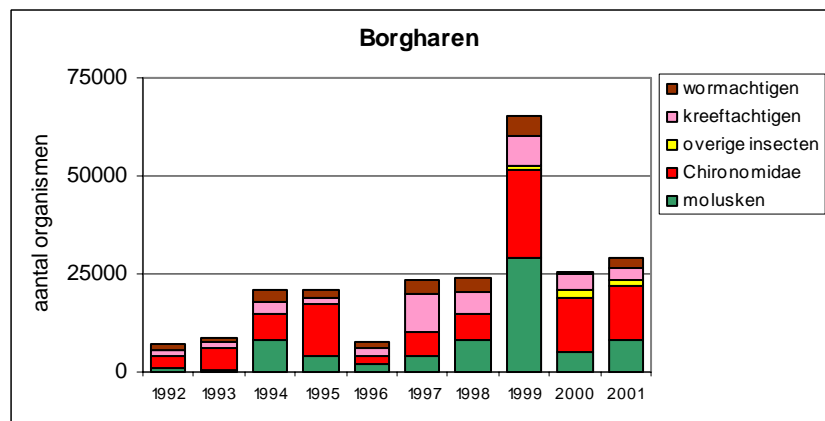
De gegevens van de macrofauna inventarisaties op knikkerkorven uit de jaren 1992 tot en met 2001 zijn bewerkt tot staafdiagrammen, waarin het aantal organismen per hoofdgroep en het aantal taxonomische groepen per hoofdgroep weergegeven zijn. Per jaar is het gemiddelde aantal per hoofdgroep bepaald uit de 6 duplo waarnemingen gedurende de periode april t/m oktober.

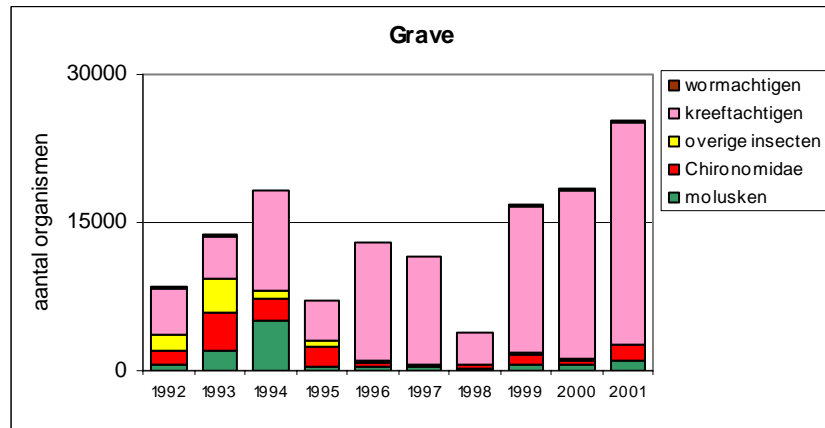
Resultaten

In figuur 3.2 en 3.3 zijn de totalen aan macrofauna per jaar per hoofdgroep weergegeven op de locaties Borgharen en Grave.

In Borgharen zijn met name de aantallen Chironomidae in de afgelopen 10 jaar toegenomen. Ook andere insecten, zoals de sponsbewoner *Parachironomus* en de mug *Dicrotendipes nervosus*, nemen in aantal toe.

In Grave zijn de kreeftachtigen sterk in aantal vertegenwoordigd. Hier komen met name gammariden en slijkgarnalen voor, die in Borgharen ontbreken. In de afgelopen 10 jaar is het aantal kreeftachtigen nog sterker toegenomen door de komst van Kaspische soorten, de slijkgarnaal (*Corophium curvispinnum*) en een vlokreeft (*Dikerogammarus villosus*). Het aantal insecten en molusken is sinds 1994 afgenomen.





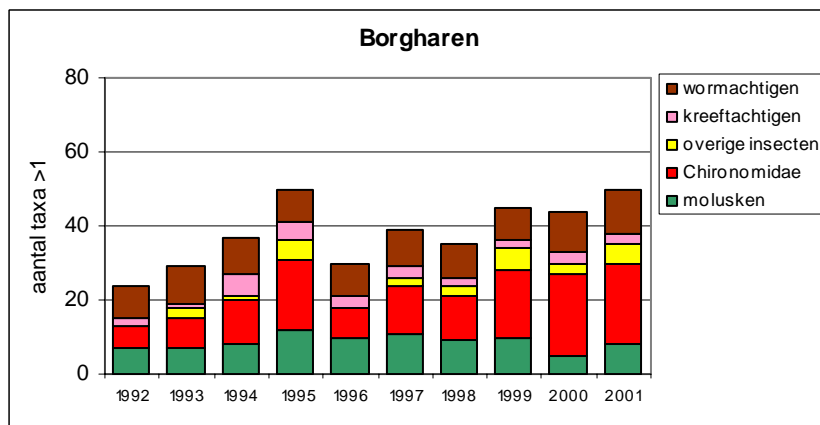
Figuur 3.2 en 3.3: Het verloop van de abundantie, ingedeeld per hoofdgroep, in Borgharen en Grave van 1992 t/m 2001. De aantallen zijn samengesteld uit 6 duplo tellingen van knikkerkorven in de periode april t/m oktober van ieder jaar.

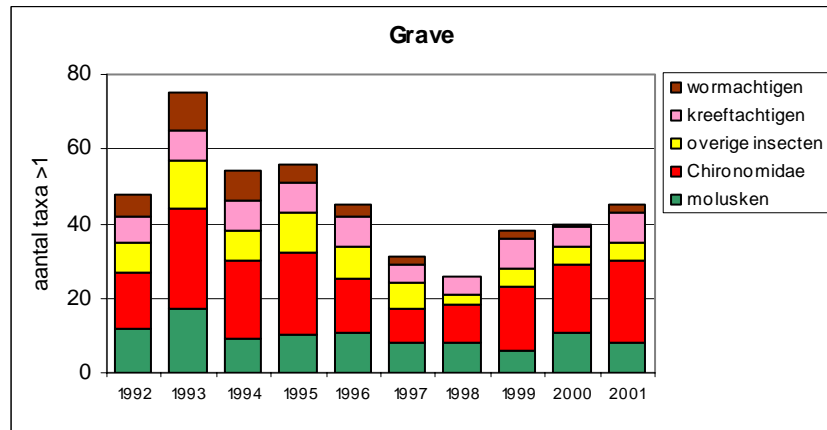
In de figuren 3.4 en 3.5 is het totaal aan taxonomische groepen per jaar en per hoofdgroep weergegeven voor de locaties Borgharen en Grave.

Het aantal taxonomische groepen neemt langzaam maar zeker toe in Borgharen (figuur 3.4). De levensgemeenschap bestaat nog voornamelijk uit Chironomidae en wormachtigen. Van de groep overige insecten neemt het aantal soorten langzaam toe.

In Grave is duidelijk een afnemende trend in het aantal taxonomische groepen waar te nemen (figuur 3.5). Met name de soortendiversiteit van de groep mollusken en wormachtigen is sterk verminderd. Na 1998 lijkt het zich te herstellen.

Aan de figuren 3.4 en 3.5 is niet af te lezen hoe het seizoensverloop zich door de jaren ontwikkeld heeft. Naast de invloed van de waterkwaliteit kunnen factoren als zuurstof, hoog- of laagwater en voedselaanbod een grote rol spelen (zie intermezzo). Maar ook inter-levensgemeenschappelijke relaties kunnen een verschuiving in soorten teweeg brengen. In bijlage 1 is het complete beeld van de tellingen in Borgharen en Grave weergegeven voor de jaren 1992 t/m 2001. In deze bijlage wordt ook een gedetailleerde beschrijving van gevonden soorten en verschuivingen daarin gegeven.





Figuur 3.4 en 3.5: Het verloop van het aantal taxa, dat met meer dan één exemplaar per jaar is aangetroffen, ingedeeld per hoofdgroep, op de locaties Borgharen en Grave van 1992 t/m 2001. De aantallen zijn samengesteld uit 6 duplo metingen van knikkerkorven in de periode april t/m september van ieder jaar.

Intermezzo:

In de Maas spelen naast de microverontreinigingen ook de organische belasting en de lage zuurstofgehalten een rol. In een opdracht van de directie Limburg is een studie uitgevoerd naar de effecten van deze lage zuurstofspanningen in de Maas (Greijdanus-Klaas, 2001 en Ertsen *et al.*, 2000)). Hieruit blijkt dat een aantal macrofaunasoorten die gevoelig zijn voor lage zuurstofconcentraties stroomopwaarts wel voor kunnen komen maar in de Limburgse Maas niet. In hoeverre dit veroorzaakt wordt door combinaties van stoffen en lage zuurstofgehalten is moeilijk te achterhalen omdat de complexiteit van het veld niet in een labsituatie te vertalen is. In het algemeen hebben laboratoriumtesten aangetoond dat door slechte omgevingsomstandigheden de toxiciteit van microverontreinigingen op organismen toeneemt (Heugens, 2001). Van der Geest (2000) vond een twee maal zo hoge toxiciteit van het pesticide diazinon voor de haft *E. virgo* bij een verlaging van het zuurstofgehalte met een factor 2.

Opmerkelijke waarnemingen gedurende 1992 - 2001

In 1995 (Grave) en in 1996 (Borgharen) was het aantal organismen opmerkelijk laag. Het niveau was weer gedaald tot dat van van 1992 (fig. 3.2). In Grave scoorde het aantal insecten minimaal. In hoeverre het hoogwater van 1995 hier een rol in heeft gespeeld is onduidelijk. Een studie van Witteveen & Bos (2002) heeft aangetoond dat de afvoer voorafgaand aan een meetzeizoen grote invloed heeft op de macrofauna.

1996 was een uitzonderlijk droog jaar met lage afvoeren. In 1996 waren de gehalten aan metalen en cholinesteraseremmers hoger dan in de 2 voorgaande jaren. Ook werden hoge gehalten aan diuron en α -endosulfan in zwevend stof aangetroffen. De verwachting is dat bij hogere gehalten aan insecticiden, minder insecten en kreeftachtigen voorkomen. Metalen hebben voornamelijk invloed op mosselen en kreeftachtigen.

In Grave is in 1996 het aantal insecten en molusken zeer laag. Opvallend is in dat jaar de grote piek in het aantal crustacea in Grave. De pieken worden veroorzaakt door het massaal voorkomen van de Kaspische slijkgarnaal *Corophium curvispinnum*, die met duizendtallen het substraat koloniseert. De

slijkgarnaal is een van de soorten die na aanleg van het Main/Donaukanaal via de Rijn ons land binnengekomen zijn, het is een tolerante soort die snel koloniseert en ook in de Rijn in hoge dichtheden voorkomt. Door vorming van slijkkokertjes op natuurlijk substraat kan de soort plaatsconcurrent worden voor soorten als de driehoeksmossel die hard substraat nodig heeft om zich te vestigen. Met de knikkerkorven wordt dit voorkomen door de knickers steeds schoon te borstelen, in het veld kan dit wel degelijk een belangrijke rol spelen.

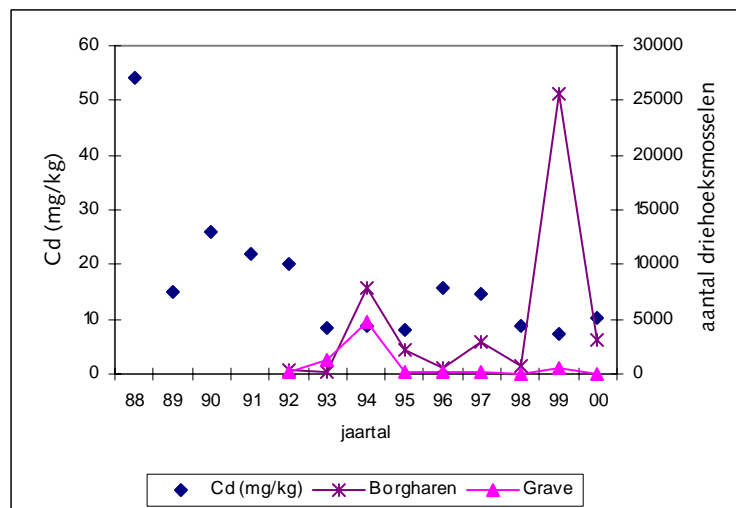
In 1997 is er nog een Kaspische soort bijgekomen, de vlokreeft *Dikerogammarus villosus*. In 1996 werden slechts 10 exemplaren aangetroffen, in 1997 is dit opgelopen tot 1600 exemplaren per korf. Ook in de jaren daarna wordt het beeld in Grave voornamelijk bepaald door de twee nieuwkomers. In Borgharen zijn de soorten nog niet of nauwelijks waargenomen. Dit maakt een vergelijk tussen beide locaties moeilijk.

1999 is een uitzonderlijk jaar voor de locatie Borgharen. In dit jaar worden vooral hoge aantallen muggelarven en molusken aangetroffen. Met name jonge exemplaren van de driehoeksmossel *Dreissena polymorpha*, die in een aantal monsters met enkele duizenden tot 9000 voorkomen, bevolken dit jaar het substraat. De gehalten aan cadmium en zink in de bodem blijken in 1999 het laagst van alle jaren.

Relatie waterkwaliteit met het voorkomen van macrofauna

Uit bovenstaande waarnemingen lijkt er een verband te bestaan tussen het voorkomen van verschillende organismen, met name insecten, kreeftachtigen en molusken en verontreiniging.

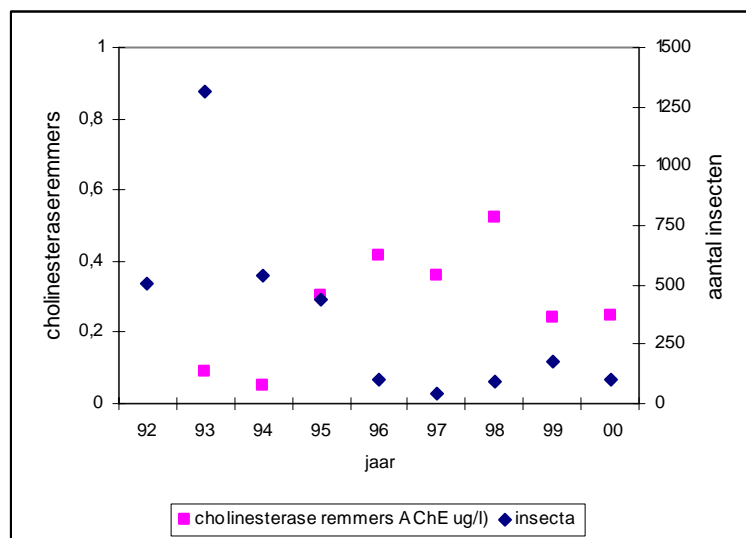
Greijdanus-Klaas (1998) heeft aan de hand van gegevens met kunstmatig substraat een verband aangetoond tussen het voorkomen van driehoeksmosselen en het gehalte aan cadmium in zwevend stof (fig 3.7). Het omslagpunt lijkt te liggen bij een concentratie van ca. 10 mg Cd/kg zwevend stof.



Figuur 3.7: Bij lagere cadmiumgehalten in zwevend stof neemt het aantal driehoeksmosselen in de Maas toe.

Ook voor cholinesteraseremming en het voorkomen van muggelarven is getracht een verband aan te tonen. Bij het gebruik van de parameter cholinesteraseremmers als maat voor bestrijdingsmiddelen worden echter wel

vraagtekens geplaatst, omdat een optelsom gemaakt wordt van gehalten van stoffen met verschillende hoeveelheden werkzame ingrediënten. Niettemin lijkt er een verband te zijn tussen het voorkomen van insecten en de hoeveelheid cholinesteraseremmers (figuur 3.8).



Figuur 3.8: Vergelijking tussen het aantal insecten op de knikkerkorven in Grave en de gemeten hoeveelheid cholinesteraseremmers in Belfeld. Het aantal insecten neemt af bij hogere cholinesterase-activiteit.

Zodra metaalgehalten en/of organische microverontreinigingen toenemen verdwijnen bepaalde gevoelige soorten en wordt hun plaats ingenomen door tolerante minder gevoelige soorten. Voorbeelden daarvan zijn, de tolerante mug *Dicrotendipes nervosus*, die voornamelijk in Borgharen voorkomt, *Parachironomus* en *Cricotopus bicinctus*. Van deze drie is bekend dat ze tolerant zijn voor organische verontreiniging. Van de slakken is het *Bithynia tentaculata*, die zowel detritus eet als door filtratie leeft.

In Borgharen zijn sinds 1999 met name de muggelarven en gevoelige insectensoorten toegenomen in zowel aantal organismen als aantal soorten. In 1999 is het gebruik van diuron als onkruidbestrijdingsmiddel verboden. Chemisch is in 2000 de afname van concentraties aan diuron in zijrivieren van de Maas, zoals de Geleenbeek, al duidelijk zichtbaar geworden (Schrap, 2001).

3.3.2 Invloed calamiteit op macrofauna in 2001

Zoals in 2.3.2 is vermeld werd op 4 september 2001 in Eijsden een calamiteit geregistreerd. Een drietal insecticiden, diazinon, dimethoaat en chloorpyrifos, zijn in verhoogde concentratie aangetoond. In 2.3.2 is aangegeven dat chloorpyrifos en diazinon het MTR met een factor 5 respectievelijk 2 overschreden. Ook het NOEC voor de kreeftachtige (*D. magna*) werd door chloorpyrifos ernstig overschreden en door de diazinon concentratie benaderd. Gezien de geloosde stoffen worden effecten verwacht op kreeftachtigen en insecten: vluchtgedrag dan wel sterfte zou zichtbaar moeten worden in vermindering van aantallen die zich koloniseren in de knikkerkorven voor en na de lozing.

Methodiek

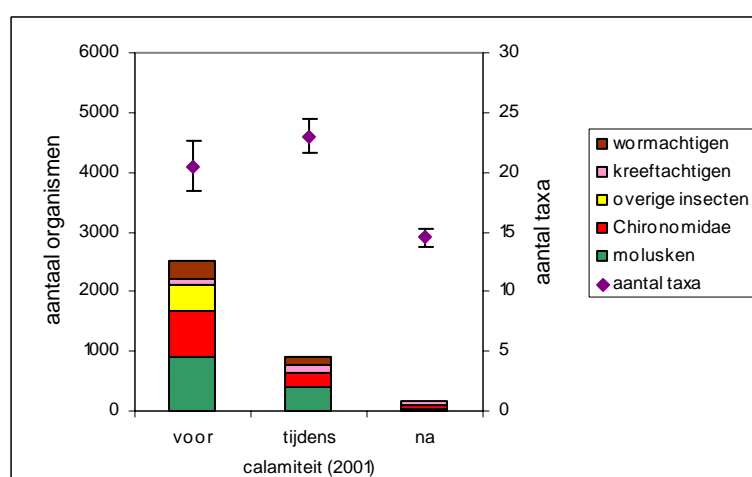
Om effecten te kunnen registreren is in het kader van het project EMMA-water besloten een extra serie knikkerkorven op de locaties Borgharen en Grave neer te hangen op het moment dat de lozing passeert of gepasseerd is.

In de figuren 3.9 en 3.10 zijn de resultaten van de knikkerkorven weergegeven die voor, tijdens en na de lozing zijn ingezet. De eerste twee series vallen onder het reguliere monitoringprogramma van MWTL, de derde serie is naar aanleiding van de calamiteit ingezet. In Borgharen kwam de lozing voorbij op 5 september, in Grave is de piek van de lozing berekend op 14 september. In onderstaand schema staan de kolonisatieperiodes van de knikkerkorven in Borgharen en Grave weergegeven.

	voor	tijdens	na lozing
Borgharen:	7/8 – 4/9	4/9 – 2/10 piek op 5/9	20/9 – 18/10
Grave:	10/8 – 7/9	7/9 – 5/10 piek op 14/9	19/9 – 17/10

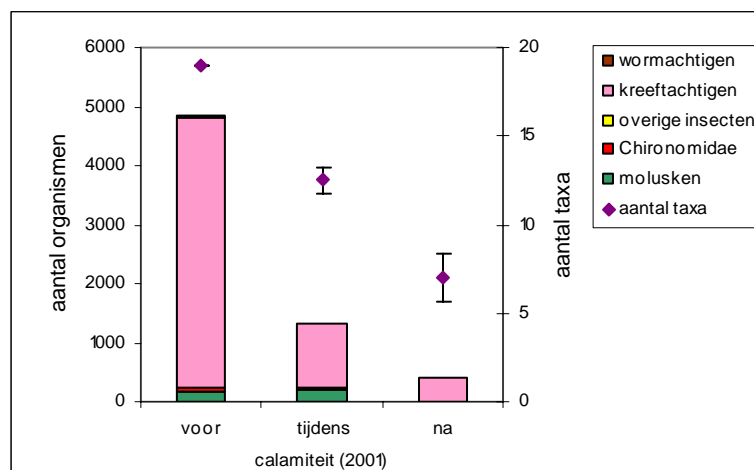
Resultaten

Aan de hand van het aantal taxa, die in de knikkerkorven in Borgharen zijn waargenomen, lijkt de lozing geen effect te hebben gehad op de macrofaunalevensgemeenschap (figuur 3.9). Het aantal taxa daalt niet significant en de soorten die ontbreken kwamen daarvoor in te lage dichtheden voor om als bewijs te dienen voor een eventueel effect van de lozing. Het aantal organismen is wel duidelijk gedaald, met name dat van de insecten en de muggenlarven. Dit zou kunnen duiden op een effect van de lozing maar ook hier is niet te bewijzen of de afname van aantal organismen aan de lozing of aan het seizoen te wijten is. In voorgaande jaren is het aantal organismen tegen het eind van het seizoen ook afgenomen (zie bijlage 1).



Figuur 3.9: De levensgemeenschap gemeten in Borgharen voor, tijdens en na de lozing van bestrijdingsmiddelen op 4 september 2001.

In Grave treedt wel een zichtbare verschuiving in het aantal taxa op tijdens en na de calamiteit (figuur 3.10). Het aantal taxa daalt significant en de muggenlarven en molusken komen tijdens en/of na de calamiteit nauwelijks of niet meer voor, terwijl ze in Borgharen nog wel aangetroffen zijn. Ook hier speelt ongetwijfeld het seizoen een rol. Helaas zijn er van voorgaande jaren geen gegevens van zo laat in het seizoen bekend, om tot een vergelijk te kunnen komen.



Figuur 3.10: De levensgemeenschap gemeten in Grave voor, tijdens en na de calamiteit van bestrijdingsmiddelen op 4 september 2001.

Discussie

In Borgharen zijn nauwelijks effecten geregistreerd van de calamiteit met insecticiden. Mogelijke factoren die daarbij een rol hebben kunnen spelen zijn:

- de levensgemeenschap heeft zich na de calamiteit weer hersteld. De grootste piek aan insecticiden kwam langs op de eerste dag dat de knikkerkorven instonden. Er had zich nog geen levensgemeenschap kunnen vestigen waarop de stoffen effect konden hebben. Bij eerdere calamiteiten is ook geconstateerd dat vrij snel herstel optreedt door kolonisatie van organismen bovenstrooms of uit zijbeken.
- de levensgemeenschap in Borgharen is minder gevoelig voor deze stoffen.

In voorgaande jaren zou dit zeker een argument geweest zijn, omdat de levensgemeenschap toen voornamelijk bestond uit ongevoelige organismen. Nu de macrofaunalevensgemeenschap in Borgharen meer gevoelige soorten bevat is dit argument minder sterk.

- de sterfte is niet opgemerkt tijdens de bemonstering. De gestorven organismen kunnen tussen de knikkers zijn blijven hangen en bij de bemonstering geconserveerd zijn in de alcohol. Bij de determinatie zijn deze organismen meegeteld.

In Grave zijn wel effecten waargenomen. Factoren die hierbij een rol hebben kunnen spelen zijn:

- de stoffen zaten al langer in het Maaswater dan bij Borgharen. Mogelijke afbraakproducten van de geloosde stoffen waren wellicht toxischer dan de stoffen zelf.
- de piek van stoffen is in Grave waarschijnlijk langer geweest met iets lagere concentraties dan in Borgharen. Langdurig blootstelling aan

-
- lagere gehalten kan erger zijn dan een korte piek met een hoog gehalte.
- de periode van kolonisatie viel in Grave gunstiger uit om de effecten van de calamiteit te kunnen waarnemen.

3.3.3 Macrofauna tellingen op grindzakken in het veld

Voor het project EMMA-water naast de reguliere MWTL-bemonstering een aparte monitoring van macrofauna uitgevoerd met kunstmatig substraat.

Methodiek

Op de verschillende onderzoeks- en referentielocaties in Maas en zijrivieren zijn grindzakken uitgehangen. Op iedere locatie zijn drie zakken gedurende 4 weken in september 2001 en in april/mei 2002 uitgehangen. In 2002 is de monitoring drie keer uitgevoerd (begin, midden en eind mei) in triplo. Na bemonstering zijn de organismen geconserveerd in alcohol. In 2001 is hier een uitzondering op gemaakt. Om eventueel de concentratie aan bestrijdingsmiddelen te kunnen meten zijn deze monsters ingevroren. In de zijbeken komen per jaar gemiddeld twee pieken insecticiden voor, één in mei/juni en één in september. Onderzocht is of de effecten van deze verontreinigingspieken zichtbaar zijn in de aantallen en diversiteit van de insecten en kreeftachtigen in de Maas.

De macrofauna is opgedeeld in verschillende hoofdgroepen. Deze hoofdgroepen bestaan uit:

- Molusken = Bivalvia (tweekleppigen) en Gastropoda (slakken)
- Chironomidae: muggelarven
- Overige insecten: haften, slijkvliegen, kokerjuffers
- Kreeftachtigen = Gammaridae (vlokreeften) Corophiidae en Asseliidae (slijkgarnalen en pissebedden)
- Wormachtigen: Oligochaeta (wormen) en polychaeta, bloedzuigers en platwormen.

De triplo waarnemingen per locatie en per tijdstip zijn gemiddeld.

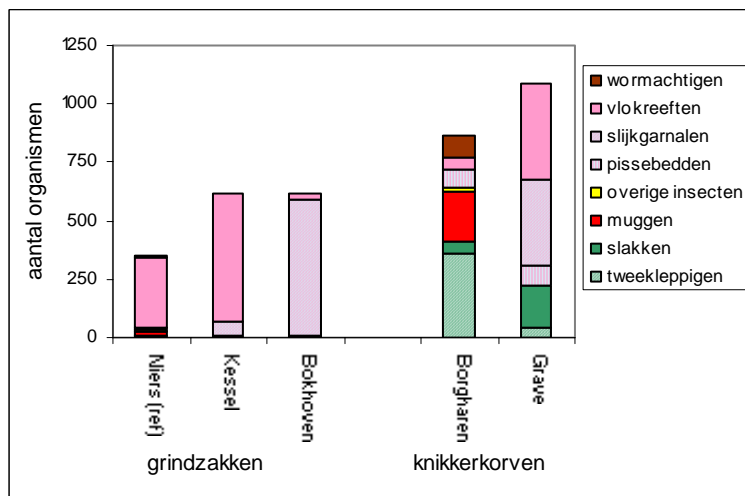
Resultaten 2001

In 2001 zijn de grindzakken uitgehangen gedurende de maand september. Een deel van de monsters van Borgharen en de Geul is tijdens het bewaren verloren gegaan doordat deze onvoldoende gekoeld bewaard zijn. Daardoor zijn de tellingen van deze locaties niet betrouwbaar en verder niet meegenomen. Ter compensatie van de gemiste gegevens zijn ter vergelijking de gegevens uit de knikkerkorven uit Borgharen en Grave uit deze periode gebruikt.

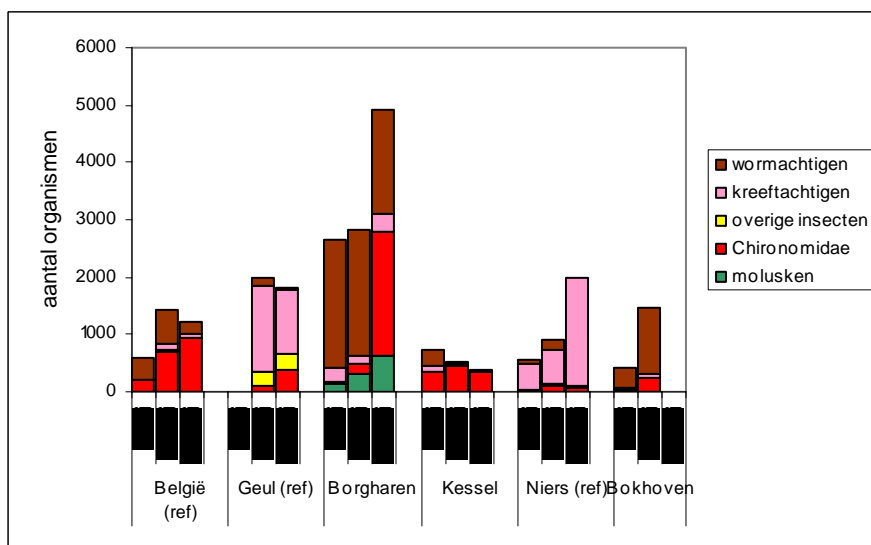
Uit de resultaten van de grindzakken blijkt dat in de Niers een gevarieerde levensgemeenschap aangetroffen wordt met gevoelige organismen zoals libellen en kokerjuffers (figuur 3.11). In Kessel-Eik en Bokhoven worden deze soorten niet aangetroffen. Verder is in de verhouding slijkgarnalen/vlokreeften de invloed van de Rijn zichtbaar bij Bokhoven: in de Limburgse Maas worden meer vlokreeften aangetroffen terwijl in de Rijn en bij Bokhoven meer slijkgarnalen aangetroffen worden.

De knikkerkorven leveren voor Borgharen een in vergelijking met voorgaande jaren verrassend gevarieerde levensgemeenschap op. Het hoge aantal tweekleppigen wordt veroorzaakt door een groot aantal jonge driehoeksmosselen. Aan de in vergelijking met Grave hogere aantallen platwormen, bloedzuigers en pissebedden is de organische belasting ter plaatse af te lezen.

De resultaten in de Maas kunnen echter beïnvloed zijn door de calamiteit die op 4 september 2001 in Eijsden is gesignaleerd. In paragraaf 3.3.2 is hier op ingegaan.



Figuur 3.11: Macrofaunadichtheid op grindzakken en knikkerkorven van de bemonstering in najaar 2001.



Figuur 3.12: Macrofaunadichtheid op grindzakken van de veldbemonstering in het voorjaar van 2002

Resultaten 2002

In figuur 3.12 zijn de resultaten van de grindzakbemonstering in het voorjaar van 2002 weergegeven. Op drie tijdstippen (begin, half en eind mei) zijn de zakken in triplo bemonsterd.

Opvallend zijn met name de verschillen tussen de referentielocaties en de Maaslocaties: op de referentielocaties vormen vlokreeften (Gammaridae) een belangrijk deel van de levensgemeenschap. Tijdens het uitzoeken van de monsters is geconstateerd dat het hier om minimaal 4 soorten vlokreeften gaat

die in het Limburgse deel van de Maas ontbreken terwijl het zeer mobiele beesten zijn die makkelijk vanuit deze zijbeken de Maas zouden kunnen koloniseren. Ook voor de overige insecten waaronder libellen, eendagsvliegen en keverlarven geldt dat ze in de Maas niet tot nauwelijks zijn aangetroffen. Een oorzaak zou ongeschikt habitat kunnen zijn. Omdat de bemonstering met behulp van grindzakken is uitgevoerd is het effect van verschil in habitat echter grotendeels weggenomen. Blijkbaar is de kwaliteit van het Maaswater toch ontoereikend voor deze soorten. Hierbij wordt met name gedacht aan het zuurstofgehalte in combinatie met chemische belasting.

In Borgharen worden hoge dichtheden aan relatief ongevoelige soorten zoals wormen, platwormen en bloedzuigers aangetroffen. Dit duidt op organische verontreiniging die op deze locatie extra naar voren komt doordat voor de sluis bezinking optreedt en regelmatig een bijna stilstaand water situatie optreedt waardoor algenbloei plaatsvindt. Hierdoor is Borgharen naar verhouding een voedselrijke locatie.

4 Discussie en aanbevelingen

In dit hoofdstuk worden de belangrijkste resultaten van de ecotoxicologische testen en ecologische veldwaarnemingen nogmaals samengevat. Het gebruik van de verschillende type testen in de monitoring van de Maas wordt geëvalueerd en tegen het licht van de ontwikkelingen binnen de KRW gehouden. Het hoofdstuk eindigt met enkele aanbevelingen voor eventueel vervolgonderzoek.

4.1 Samenvatting ecotoxicologische parameters

Er treden effecten op op de populatiegroei van daphnia's, blootgesteld aan het Maaswater van de verschillende locaties. De effecten zijn moeilijk te onderscheiden van effecten van voedsel kwaliteit en kwantiteit. De aanwezige concentraties aan metalen (opgelost) in het Maaswater op de verschillende locaties zijn te laag om in combinatie, effecten op daphniapopulaties te veroorzaken. Wel treedt aanzienlijke accumulatie op van metaalconcentraties in de daphnia's, die de gevoeligheid van de organismen kan aantasten.

Effecten kunnen het snelst gemeten worden in concentraten van oppervlaktewater. Regelmatig wordt op de locatie Eijsden de voor deze methodiek afgeleide norm overschreden. Met name algen ondervinden effecten in de zomerperiode. De waterkwaliteit lijkt zich de laatste jaren echter te verbeteren.

De waterbodem veroorzaakt op enkele locaties nog ernstige effecten op insectenlarven en chironomiden. Het sediment dat bemonsterd wordt boven de stuw in Borgharen is klasse 4 sediment voor metalen.

DNA-schade is slechts eenmalig aangetoond. De aanwezigheid van kritische niveau's van genotoxische stoffen in de Maas is voornamelijk niet aangetoond.

4.2 Samenvatting ecologische parameters

Sinds 1992 is het aantal organismen en taxonomische groepen in de Maas bij Borgharen flink toegenomen. Door een verbeterde waterkwaliteit (vermindering van o.a. Cd en bestrijdingsmiddelen) neemt het aantal molusken, Chironomidae en overige insecten voorzichtig toe.

In Grave treedt juist een afname op van het aantal taxonomische groepen. Vooral de molusken en wormachtigen zijn in aantal sterk afgenomen. De oorzaak hiervan ligt waarschijnlijk in het feit dat de Maas bij Grave beïnvloed wordt door de in de Rijn voorkomende Kaspische slijkgarnaal. Deze soort is één van de soorten die na de aanleg van het Main/Donau kanaal via de Rijn ons land binnenkomen. Door het vormen van slijkkokertjes op de stenen langs de Maas, maken ze het substraat ongeschikt als substraat voor bijvoorbeeld driehoeksmosselen.

Uit het onderzoek met kunstmatig substraat in 2002 is een opvallend verschil in soorten waar te nemen tussen de referentie- en de Maaslocaties. De Maas herbergt in verhouding tot de zijrivieren een soortenarmere levensgemeenschap en met name de gevoelige groepen zoals libellen, wantsen en groepen kokerjuffers ontbreken. Het is moeilijk te achterhalen in hoeverre dit gerelateerd is aan verontreinigingen. Lagere zuurstofgehalten, ten gevolge van verontreinigingen, en de inrichting van de Maas (met een beperkter aantal habitats dan de zijrivieren) kunnen eveneens een grote rol spelen.

In Borgharen komen in verhouding tot de andere Maaslocaties hoge aantallen organismen voor, vooral tolerante soorten als wormen, platwormen en bloedzuigers. Voor de sluis treedt bezinking op en regelmatig ontstaat een bijna stilstaand water situatie, waardoor algenbloei plaatsvindt. Hierdoor is Borgharen naar verhouding een voedselrijke locatie.

4.3 Koppeling ecotoxicologische en ecologische effecten.

In enkele gevallen lijkt er een verband te bestaan tussen de ecotoxicologische en ecologische waarnemingen. Het ontbreken van eendagsvliegen lijkt veroorzaakt te worden door de slechte waterbodempkwaliteit.

De invloed van calamiteiten kan eveneens groot zijn. In het onderzoek van 2001 is gebleken dat de daphniapopulatie zich na de calamiteit snel weer herstelde. Daphnia's kunnen zich snel herstellen vanwege hun korte generatietijd. Andere soorten, zoals vele insecten, hebben een langere generatietijd en zullen zich niet zo snel kunnen herstellen. Deze moeten via schonere zijrivieren geherintroduceerd worden. Toch blijkt uit de waarnemingen dat dit niet gebeurt. Blijkbaar spelen naast waterkwaliteitsparameters ook andere factoren een rol.

4.4 Koppeling potentiële en actuele risico's

De met OMEGA berekende risico's komen, met uitzondering van die tijdens de calamiteit, niet duidelijk naar voren in de gevonden resultaten van de ecotoxicologische testen. Naar aanleiding van de calamiteit in 2001 met chloorpyrifos, diazinon en dimethoat zijn ernstige effecten op de daphniapopulatie op de locatie Borgharen waargenomen. Deze resultaten ondersteunen de verwachte effecten (PAF = 47%) aan de hand van berekeningen met OMEGA.

Uit de ecologische veldwaarnemingen blijkt wel duidelijk het ontbreken van gevoelige soorten.

In de verkennende studie zijn de potentiële risico's bepaald met OMEGA en uitgedrukt als de potentieel aangetaste fractie soorten in het ecosysteem. Voor enkele metalen en bestrijdingsmiddelen kwamen de PAF's uit tussen de 10-40%. Dit betekent dat waarschijnlijk 10-40% van de potentieel aanwezige soorten in de Maas effect kan ondervinden. Of er daadwerkelijk effecten gemeten worden is nog de vraag.

Een nieuwe versie van OMEGA wordt momenteel ontwikkeld, waarin ook een PAF berekend kan worden op basis van acute (L(E)C50 effecten. Een gevoeligheidsverdeling (SSD) op basis van acute effecten is beter te vergelijken met effecten die daadwerkelijk in het veld optreden.

Het verschil tussen het potentiële en actuele risico kan komen doordat in de OMEGA berekeningen (potentieel) uitgegaan wordt van een blootstellingsconcentratie die als 100% beschikbaar wordt geacht voor de organismen. In het veld (actueel) kan deze beschikbaarheid van de blootstellingsconcentratie en dus ook het risico lager zijn, door allerlei milieuchemische omstandigheden die invloed hebben op de speciatie en binding van de stoffen.

Vergeleken met een andere studie waarbij OMEGA is toegepast, de risicobepaling van de gebiedseigen kwaliteit van de Lek (Knoben et al., 1998), liggen de PAF's voor de lagere aquatische organismen voor de Maas hoger dan voor de Lek. De PAF's voor de Lek bepaald aan de hand van de sediment kwaliteit varieerden van 10 tot <1%. Voor hogere organismen kwamen er

PAF's voor, aan de hand van zwevend stof kwaliteit in de Lek, van 18-24%. Dit ligt in dezelfde orde grootte als de PAF's voor hogere organismen in de Maas. Het betreft echter wel een andere stof. In de Lek betreft het hexachloorbenzeen, terwijl in de Maas cadmium een probleemstof is voor hogere organismen.

4.5 Evaluatie van de monitoringparameters

Het doel van dit EMMA-onderzoek was om te komen tot een selectie van parameters die geschikt zijn voor het monitoren van de waterkwaliteit van de Maas. Hieronder volgt een evaluatie van de gebruikte parameters en een aanbeveling voor gebruik:

Acute effecten in concentraten van oppervlaktewater:

- Effecten kunnen het snelst en het meest goedkoop gemeten worden met kortdurende bioassays in concentraten van oppervlaktewater. Hoewel de extractie van stoffen niet volledig is, kan toch een beeld verkregen worden van de mate van risico van organische microverontreinigingen voor organismen in het water. Ook is deze methodiek geschikt als monitoringsparameter om trends zowel in ruimte als in tijd te kunnen volgen. Het huidige meetnet (MWTL) maakt jaarlijks nog steeds gebruik van deze testen. De gebruikte methodiek is gericht op het bepalen van een risico voor het ecosysteem. Voor monitoringsdoeleinden kan echter ook volstaan worden met het meten van enkele bioassays om trends in effecten voor bv algen, kreeftachtigen en bacteriën vast te stellen. Daarmee kunnen de kosten nog eens gehalveerd worden (tot ca. €750,-).

Chronische effecten in oppervlaktewater in het laboratorium:

- Effectenmetingen in het laboratorium hebben als voordeel dat ze onder gestandaardiseerde condities gebeuren, waardoor effecten van toxische stoffen beter te interpreteren zijn. De methode is echter logistiek lastig uit te voeren, omdat steeds vers watermonster bemonsterd en geleverd moet worden. Bovendien zijn de van nature aanwezige voedingsstoffen moeilijk te scheiden van het watermonster, waardoor vergelijking ten opzichte van een controle of referentie niet mogelijk is.

Chronische effecten door blootstelling in het veld:

- Veldmetingen komen het beste overeen met de werkelijke situatie. Het is echter niet aan te bevelen op routinebasis de populatiegroei van daphnia's te volgen in het Maaswater. Daarvoor is de methode te arbeidsintensief en te duur. Het strekt wel tot aanbeveling regelmatig (bv. 1 maal per zes jaar) de monitoring uit te voeren om te zien of er ook wijzigingen zijn opgetreden.

Effecten van de waterbodem op de eendagsvlieg:

- De waterbodem veroorzaakt nog ernstige effecten op bodemorganismen. Aanbevolen wordt om voor de beoordeling van de waterbodem in de Maas de test met de haft te gebruiken, omdat dit een representatief organisme voor de rivier is. Het testorganisme lijkt gevoeliger dan het standaard testorganisme, de muggenlarve. Bovendien is dit organisme minder beïnvloed te worden door de aanwezigheid van voedingsstoffen in de bodem.

Genotoxische effecten:

- De Comet assay is een geschikte methode om DNA-schade te meten in organismen, die in het veld zijn blootgesteld. Aanbevolen wordt regelmatig (bv 1x per 6 jaar) een onderzoek naar DNA-schade uit te voeren om de actuele situatie vast te leggen.

Bioaccumulatiemetingen:

- Bioaccumulatiemetingen van metalen in daphnia's hebben geen meerwaarde ten opzichte van TU-berekeningen voor metalen vanuit oppervlaktewater.
- In het MWTL-meetnet wordt sinds 1992 de accumulatie van verschillende organische microverontreinigingen en enkele metalen gemeten in aal (elk jaar) en driehoeksmosselen (1 maal per 4 jaar). Met deze metingen kan een goed beeld verkregen worden van de opname van stoffen en de risico's voor hogere vis- en mosseletende organismen (Maas, 2003).

Ecologische veldwaarnemingen:

- Zowel de waarnemingen uit de knikkerkorven als uit de grindzakken geven goede informatie over de aanwezige macrofauna. Het is een goed gestandaardiseerde methode om locaties met elkaar te vergelijken en trends in de tijd te volgen.

Tabel 4.1: Aanbevolen monitoringparameters en frequentie

Soort toxiciteitstest	oppervlaktewater		waterbodem
	lab	veld	lab
Acuut (4-6x/jaar) (in concentraten)	kreeftachtige alg bacterie		
Acuut (1x/6 jaar)			insect
Chronisch (1x/6 jaar)		kreeftachtige	
Chronisch (DNA) (1x/6 jaar)		mossel	
Bioaccumulatie (1x/6 jaar) (1x/3 jaar)		mossel aal	
Ecologie (2x/3 jaar)		macrofauna	

4.6 Ontwikkelingen in het kader van de Kader Richtlijn Water (KRW)

Sinds 2004 heeft het Nederlandse waterbeleid te maken met de nieuwste Europese wetgeving; de KRW. Dit betekent, dat het huidige monitoringprogramma van MWTL aangepast zal worden aan de eisen van deze KRW. In 2007 gaat de Operationele monitoring van start. Hiervoor is vanuit het Landelijk BestuursOrgaan Water (LBOW) in het cluster Monitoring een concept richtlijn (MIR, 2005) opgesteld.

Ten aanzien van de biologische parameters is voorgesteld de volgende soortgroepen in rivieren te meten: Fytobenthos, Macrofyten, Angiospermen en Macroalgen; Macrofauna en Vissen. Er wordt gescoord op soortensamenstelling en abundantie.

Voor de monitoring van Macrofauna soorten zal niet meer gebruik gemaakt worden van kunstmatig substraat. Voorgesteld is om per waterlichaam monsters per aanwezig biotoop te nemen. Dit kan zijn: vegetatie, slib/zand, grind of klinkhout. Aanbevolen wordt 2 maal per meetjaar, in voor- en najaar,

te bemonsteren. De macrofauna-analyse van grote rivieren zal minstens eens in de drie jaar plaatsvinden. Momenteel wordt nog gewerkt aan een voorstel voor de operationele monitoring en de maatlat voor niet natuurlijke wateren, waar de Rijn en de Maas beide toe behoren. Voor de beoordeling van de maatlaten is voorgesteld om naast de macrofauna-analyses ook waterbodemanalyses te laten verrichten.

Ecotoxicologische parameters zijn voornamelijk niet opgenomen in de concept richtlijn Monitoring, omdat dit niet tot de eisen van de KRW behoort. Bioassays zullen wel opgenomen worden in Monitoring Nader Onderzoek om de oorzaak te achterhalen wanneer blijkt dat de ecologische kwaliteit van een waterlichaam niet voldoet. Deze bioassays worden ecoassays genoemd. Ecotoxicologische parameters zullen ook worden toegepast om te beoordelen of een waterbodembesmetting moet worden om een goede ecologische kwaliteit te bereiken.

4.7 Aanbevelingen voor nader onderzoek

OMEGA-studie

De gevonden resultaten komen niet geheel overeen met de verwachte effecten uit de OMEGA-studie. Niet bekend is of de waterkwaliteit in 2001, 2002 vergelijkbaar was met de waterkwaliteitsgegevens die voor de OMEGA studie gebruikt zijn. Bovendien is niet gekeken naar een relatie tussen de chemische gegevens en al of niet gevonden effecten in de bioassays. Vervolgonderzoek kan bestaan uit een vergelijking van chemische gegevens van beide jaren (2001 en 2002) in water (MWTL-gegevens; Sivegom) met de gegevens die gebruikt zijn voor de OMEGA studie. Aan de hand van deze chemische gegevens kunnen relaties gelegd worden met effecten die voor algen en crustacea gevonden zijn. Op deze manier is na te gaan of met OMEGA een goede inschatting te maken is voor risico's in het water van de Maas, en met welke parameters deze waterkwaliteit het beste regelmatig gemeten kan worden. Bovendien kan bevestigd worden of de aangewezen metalen en insecticiden daadwerkelijk de probleemstoffen zijn. Voorgesteld wordt uitvoer van een bureaustudie naar een vergelijking van chemische gegevens van water en waterbodembesmetting van de Maas op het moment van testen, met die van de OMEGA studie en een TU analyse van deze gegevens op de geteste organismen.

Effecten van piekbelastingen op het ecosysteem in de Maas.

In de Maas wordt gedurende de zomerafvoer vaak een piekbelasting aan verontreinigende stoffen waargenomen. DLB heeft behoefte aan meer kennis over de gevolgen van deze piekbelasting op het ecosysteem in de Maas. Men is tevens geïnteresseerd in de effecten die plaatsvinden indien gedurende de zomerpiek een calamiteit plaatsvindt.

In 2004/2005 is een chronisch onderzoek met *D. magna* uitgevoerd. Hieruit was geen verschil in gevoeligheid aan te tonen tussen daphnia's gekweekt in Maaswater of in kweekmedium.

Om meer inzicht te krijgen in het bovenstaande wordt voorgesteld om ook onderzoek te doen met de

- Cometassay met *Dreissena polymorpha* (driehoeksmossel);
- DT-diaphorase en NADPH-cytochrome c reductase activiteit in *Dreissena polymorpha*.

DT-diaphorase en NADPH-cytochrome-c-reductase zijn enzymen die betrokken zijn bij de omzettingen van toxicanten in *Dreissena polymorpha*. De activiteit van deze enzymen hangt daarom samen met eventueel aanwezige

toxicantconcentraties die daadwerkelijk in het organisme zijn opgenomen.

Aanleg substraat of verbetering andere condities

Uit onderzoek in de nevengeul in de Gamerensche Waard langs de Waal is gebleken dat soorten vrij snel terugkeren als er een geschikt habitat gecreëerd is (Jans et al, 2002). Een ander onderzoek toont aan dat in vistrappen van de Overijsselse vecht soorten voorkomen die elders in de rivier niet voorkomen omdat de habitatcondities en het zuurstofgehalte in de vistrap beter zijn dan in de rest van de rivier (macrofaunanieuwsmail, 2002). Ook voor de Maas zouden nevengeulen en zelfs vistrappen een stapsteenfunctie kunnen vervullen voor organismen die zich niet kunnen handhaven in de Maas zelf.

Stroomgoot experimenten

Om te bepalen waarom bepaalde doelsoorten niet (meer) aangetroffen worden in de Maas en in hoeverre de waterkwaliteit daarbij een rol speelt zou gedacht kunnen worden aan een stroomgootexperiment met Maaswater waarin onder gecontroleerde omstandigheden organismen die bovenstrooms wel voorkomen blootgesteld kunnen worden aan Maaswater. Soortgelijk experiment met het slakje *Theodoxus fluviatilis* (Amoebesoot voor de Rijn) in een stroomgoot experiment bij Kampen toonde aan dat het slakje prima functioneerde in IJsselwater qua groei en reproductie maar dat andere factoren (in dit geval waarschijnlijk trage verspreiding van de soort) een rol spelen in de terugkeer na verbetering van waterkwaliteit.

Communicatie

Tenslotte strekt het tot aanbeveling de resultaten uit dit project breed te verspreiden doormiddel van een brochure.

5 Referenties

- AquaSense (2001a). Bioassays in het kader van de biologische monitoring van rijkswateren Markermeer, IJsselmeer en Maas, 2000. In opdracht van: Rijksinstituut voor integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling/RIZA. Rapportnummer BM 01.10.
- AquaSense (2001b). Effects of Meuse sediment samples on larvae of the mayfly *Ephoron virgo*. A contribution to the EMMA project. In opdracht van: RIZA.
- AquaSense (2002a). Effecten van sedimenten uit de Maas op de haft *Ephoron virgo*. EMMA project, 2002. In opdracht van: RIZA, rapportnummer 1674.
- AquaSense (2002b). Ecotoxicologische monitoring van de oevers van de Maas (EMMA-bodem). In opdracht van Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling (RIZA). Rapportnummer 1464-17.
- Boer, S. de, J. Staeb, J.L. Maas en M.A.Beek (2002). Screening van driehoeksmosselen op de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen. RIZA werkdocument 2002.124X.
- Durand-Huiting, A.M., 2000. Selectie eco(toxico)logische monitoringsparameters voor DLB op basis van risico-evaluatie met OMEGA. Rapport Witteveen+Bos.
- Ertsen A.C.D., R.A.E. Knoben, W.M. Liefveld en J. Olthof. (2000). Zuurstofhuishouding van de Grensmaas. Relaties met macro-evertebraten en vissen. Repts of the project "Ecological Rehabilitation of the river Meuse". EHM rapport no. 33-2000.
- Enserink, E.L., J.L. Maas-Diepeveen and C.J. van Leeuwen (1991). Combined effects of metals: an ecotoxicological evaluation. Water Research Vol 25, 6, 679 – 687.
- Europese Unie richtlijn (2000). Richtlijn 2000/60/EG van het Europese Parlement en de Raad tot vaststellen van een kader voor communautaire maatregelen betreffende het waterbeleid.
- Greijdanus-Klaas (1999). Macro-invertebraten in de Maas. Achtergrond-document watersysteemrapport Maas 1996. RIZA werkdocument: 99.038X.
- Greijdanus-Klaas (2001). Zuurstof, een beperkende factor in het voorkomen van macrofauna in de Limburgse Maas? RIZA werkdocument 2001.203X.
- Groot, A.C. de, H. Maas, M.J. Wouterse, B. van Dijk en H.A. Den Hollander (2004). De potentiële toxische druk in het oppervlaktewater van de Schelde-estuarium. RIVM rapport project M/860701.
- Heugens, E.H.W., A.J. Hendriks, T. Dekker, N.M. van Straalen and W. Admiraal (2001). A review of the effects of multiple stressors on aquatic organisms and analysis of uncertainty factors for use in risk assessment. Critical reviews in Toxicology 31 (3), 247-284.

-
- Jans L., M. Schropp, M. Greijdanus-Klaas, V. van der Meij, J. Oosterbaan, J. Backx, B. van der Heijdt, J. de Jonge, A. van der Scheer, M. van Wijngaarden en J. Kranenborg (2002). Monitoring Nevengeulen, Integrale jaarrapportage 2000/2001. RIZA werkdocument 2002.083X.
 - Knoben, R.A.E., J. Tuinstra & I.A. Westerman (1998). Potentiële ecologische risico's van de gebiedseigen kwaliteit van de Lek. Iwaco.
 - Legler J., C.E. van den brink, A. Brouwer, A.J. Murk, P.T. van der Saag, A.D. vethaak and V. van den Burg (1999). Development of a stable transfected estrogen receptor-mediated luciferase reporter gene bioassay in the human T47D breast cancer cell line. Toxicology Sciences 48: 55-66.
 - Maas, J.L. (2003) Biologische Monitoring Zoete Rijkswateren. Bioaccumulatie in aal en driehoeksmosselen, Een evaluatie van 10 jaar monitoren (1992 – 2002). RIZA rapport 2003.013.
 - Maas, J.L., E.J. van de Plassche, A. Straetmans, A.D. Vethaak en A.C. Belfroid (2003). Normstelling voor bioassays. RIZA 2003.005. RIKZ 2003.007.
 - Macrofaunanieuws (2002). Macrofaunanieuwsmail, macrofaunanieuwsuitwisseling via de mail, verzamelmail en abonnement verkrijgbaar via macrofauna@hotmail.nl. Red. M. Greijdanus-Klaas.
 - NW4, 1998. Vierde nota waterhuishouding. Regeringsbeslissing, 1998. Ministerie van Verkeer en Waterstaat.
 - MIR, (2005). Richtlijn Monitoring Oppervlaktewater Europese Kader Richtlijn Water. Projectgroep en disciplinegroepen MIR monitoring. Onderdeel van het cluster Monitoring (MRE) van de NBW.
 - Rotteveel, S., P.J. den Besten en J.C.M. van der Veen (2002). DNA-schade in driehoeksmosselen; vergelijking tussen DNA-schade in driehoeksmosselen na veldblootstelling in de Maas, het IJsselmeer en het Markermeer. RIZA, WSCE-document 2002-02.
 - Rotteveel, S.G.P. en P.J. den Besten (2004). Seizoensgebonden variatie in de Comet assay met *Dreissena polymorpha*. RIZA werkdocument 2004.002X.
 - Rotteveel, S. (2005). Invloed van verontreinigingsniveaus op de gevoeligheid van watervlooien. RIZA Werkdocument 2005.078X.
 - Royal Haskoning (2001). Monitoring slib Maas 2001. In opdracht van Rijkswaterstaat Directie Limburg. Rapport project nr. L2066.AO.
 - Schrap, M (2001). Diuron in Nederlandse Maas en haar zijrivieren 2000. RIZA rapport 2001.022. ISBN 9036953766.
 - Van der Geest, H.G., G.D. Greve, A.Kroon, W.J. Soppe and M.H.S. Kraak (2000). Combined effects of lowered oxygen and toxicants on the mayfly *Ephoron virgo*. Uit : Insects in polluted rivers ; an experimental analysis. Proefschrift Universiteit Amsterdam.

-
- Veen, J.C.M. van der, and P.J. den Besten (2001). Application of the comet assay in laboratory test and field exposures with zebra mussel *Dreissena polymorpha*. Poster presentation.
 - Witteveen & Bos, Raadgevende ingenieurs B.V. (1996). Het bepalen van de toxiciteit van sediment en poriewater met behulp van bioassays. 1992 – 1996. RIZA, BM 96-12.
 - Wijngaarden, R.P.A. van, G.J. van Geest & T.C.M. Brock (1998). Ecologische risico's van bestrijdingsmiddelen in zoetwater ecosystemen. Deel 2: insecticiden. Sc-dlo-STOWA rapport 98-31.
 - Zwart, D. de & A. Sterkenburg, 2002. Toxicity-based assessment of water-quality. In: Posthuma, L., G.W. Suter II and T.P. Traas (Eds). Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology. Lewis Publishers.

Bijlage 1: Macrofaunatellingen in Borgharen en Grave (1992-2001)

In Borgharen en Grave zijn gedurende 1992 tot 2001 elk jaar van april t/m oktober knikkerkorven uitgezet in de Maas. Per maand zijn twee waarnemingen gedaan. In de figuren 1 en 2 van deze bijlage zijn de resultaten weergegeven van de tellingen.

Beschrijving

1992/1993

Borgharen:

In 1992 en 1993 liggen de aantallen organismen en taxa naar verhouding laag. De verdeling over de groepen toont aan dat de insecten de belangrijkste groep zijn. Dit zijn met name zeer tolerante muggenlarven *Dicrotendipes gr. nervosus*. De enige soort binnen de crustacea is de eveneens zeer tolerante pissebed *Asellus aquaticus* die zowel tegen organische belasting als tegen zware metalen het meest tolerant binnen deze familie is.

Grave:

Ook in Grave zijn de aantallen organismen per korfje in 92/93 laag. Vergeleken met Borgharen hebben de crustacea een groter aandeel en is de groep platwormen/bloedzuigers bijna afwezig. In Grave is de invloed van de verbinding met de Rijn zichtbaar door het voorkomen van vlokreeften (*Gammaridae*) en slijkgarnalen (*Corophiidae*) die in Borgharen niet voorkomen. Bij de insecten worden naast de muggen (die ook in Borgharen worden aangetroffen) ook gevoeliger insectensoorten zoals kokerjuffers, eendagsvliegen en zelfs libellen aangetroffen. Het aantal taxa ligt in deze periode ruim twee maal zo hoog als in Borgharen en in '93 wordt het hoogste aantal taxa van de tienjarige reeks gehaald.

1994/1995

Borgharen:

In 1994 en 1995 is in Borgharen een toename zichtbaar in aantal organismen en aantal taxa bij zowel de insecten als de mollusca. Dit waarschijnlijk dankzij een daling in het zware metalen gehalte en het choline-esteraseremmers gehalte.

Grave:

Ook in Grave is 1994 een goed driehoeksmosseljaar met in juli en augustus ca 1000 mosselen per korfje. De insecten scoren minder goed en in 1995 zijn de aantallen organismen lager dan ooit terwijl het aantal taxa nagenoeg gelijk is. In hoeverre het hoogwater van 1995 een rol speelt is onduidelijk.

1996/1997

Borgharen:

1996 was een droog jaar met lage afvoeren, gedurende de periode april-augustus lag de afvoer bij Borgharen bijna continu ruim onder het gemiddelde van de afgelopen 20 jaar (Liefveld et al, 2000). In 1996 zijn de aantallen organismen en taxa in Borgharen weer gedaald naar het niveau van 1992/1993. De gehalten aan zware metalen en choline-esteraseremmers zijn in dat jaar ook weer hoger dan in de 2 voorgaande jaren. Ook worden in 1996 hoge gehalten aan diuron in water en alfa-endosulfan in zwevend stof aangetroffen. In 1997 is de toename aan organismen vooral zichtbaar bij de Crustacea met als enige vertegenwoordiger de pissebed *Asellus aquaticus*. Bij de insecten wordt een piek in het junimonster veroorzaakt door de sponsbewoner *Parachironomus* die naast *Dicrotendipes nervosus* en *Cricotopus bicinctus* voorkomt. Alle drie soorten zijn tolerant voor

organische verontreiniging (Wilson en McGill, 1996). In 1997 zijn de gehalten aan zware metalen en diuron lager dan in 1996, wel worden zeer hoge gehalten alfa-endosulfan aangetroffen, de hoogst gemeten in de periode 1993-1998.

Grave:

In Grave vallen in 1996 naast de lage aantallen insecten en mollusca tot en met juli de pieken crustacea in augustus en september op. De pieken worden veroorzaakt door het massaal voorkomen van de slijkgarnaal *Corophium curvispinnum* die met duizendtallen het substraat koloniseert. De slijkgarnaal is een van de soorten die na de aanleg van het Main/Donaukanaal via de Rijn ons land binnengekomen zijn, het is een tolerante soort die snel koloniseert en ook in de Rijn in hoge dichtheden voorkomt. Door de vorming van slijkkokertjes op natuurlijk substraat kan de soort plaatsconcurrent worden voor soorten als de driehoeksmossel die hard substraat nodig hebben om zich te vestigen. De knikkerkorven worden echter om de 4 weken schoongeborsteld waarna het substraat opnieuw gekoloniseerd kan worden door o.a. driehoeksmosselen. Bovendien ligt de piek van driehoeksmosselen vaak net een maand eerder dan die van slijkgarnalen namelijk in juli augustus als de jonge mosselen zich na de planktonische fase vast gaan hechten aan het substraat. In 1997 nemen de aantallen van een andere kaspische nieuwkomer bij de Crustacea namelijk *Dikerogammarus villosus* toe (1996 max 10, 1997 max 1600 per korf) Door het wel voorkomen van Kaspische soorten in Grave en nog niet of veel minder in Borgharen worden de verschillen tussen deze locaties nog groter. In 1997 en 1998 haalt de levensgemeenschap op knikkerkorven in Borgharen qua aantal taxa die van Grave in.

1998/1999

Borgharen

In 1998 wordt het beeld in Borgharen voornamelijk bepaald door pieken in de aantallen mollusca, het betreft een broedval van *Bithynia tentaculata*, een tolerante slakkensoort die zowel van detritus als door filtratie leeft. Blijkbaar is deze molluskensoort minder gevoelig voor zware metalen dan de driehoeksmossel *Dreissena polymorpha*, in 1998 worden namelijk weer verhoogde gehalten aan zware metalen aangetroffen, vergelijkbaar met 1992/1993. De aantallen driehoeksmosselen zijn in 1998 dan ook weer van dezelfde orde grootte als die van 1992/1993. In 1999 worden vooral hoge aantallen muggenlarven en mollusca aangetroffen. Met name jonge exemplaren van de driehoeksmossel *Dreissena polymorpha* die in een aantal monsters met enkele duizenden tot 9000 voorkomt bevolken in dit jaar het substraat. De gehalten aan cadmium en zink in de bodem blijken in 1999 het laagst te zijn, koper (in de bodem) is ten opzichte van 1998 wel gedaald maar nog niet zo laag als in 1993-1997. Bij de insecten is het wederom de tolerante mug *Dicrotendipes nervosus* die in duizendtallen per monster voorkomt. In de grafiek met het aantal taxa is te zien dat de soortenrijkdom bij de muggen en overige insecten in 1999 toeneemt.

Grave:

1998 vormt qua aantallen organismen in Grave een dieptepunt met maximaal 630 organismen per korf. In 1998 is er slechts van mei tot en met augustus bemonsterd i.v.m. werkzaamheden aan de kade (med. Dir. Oost). Hierdoor zijn er geen gegevens van de meestal soortenrijkere april- en aantalrijkere septembermaand. In 1999 nemen de aantallen organismen weer wat toe maar dan met name bij de crustacea. De spectaculaire aantallen insecten en mollusca van Borgharen worden bij lange na niet gehaald.

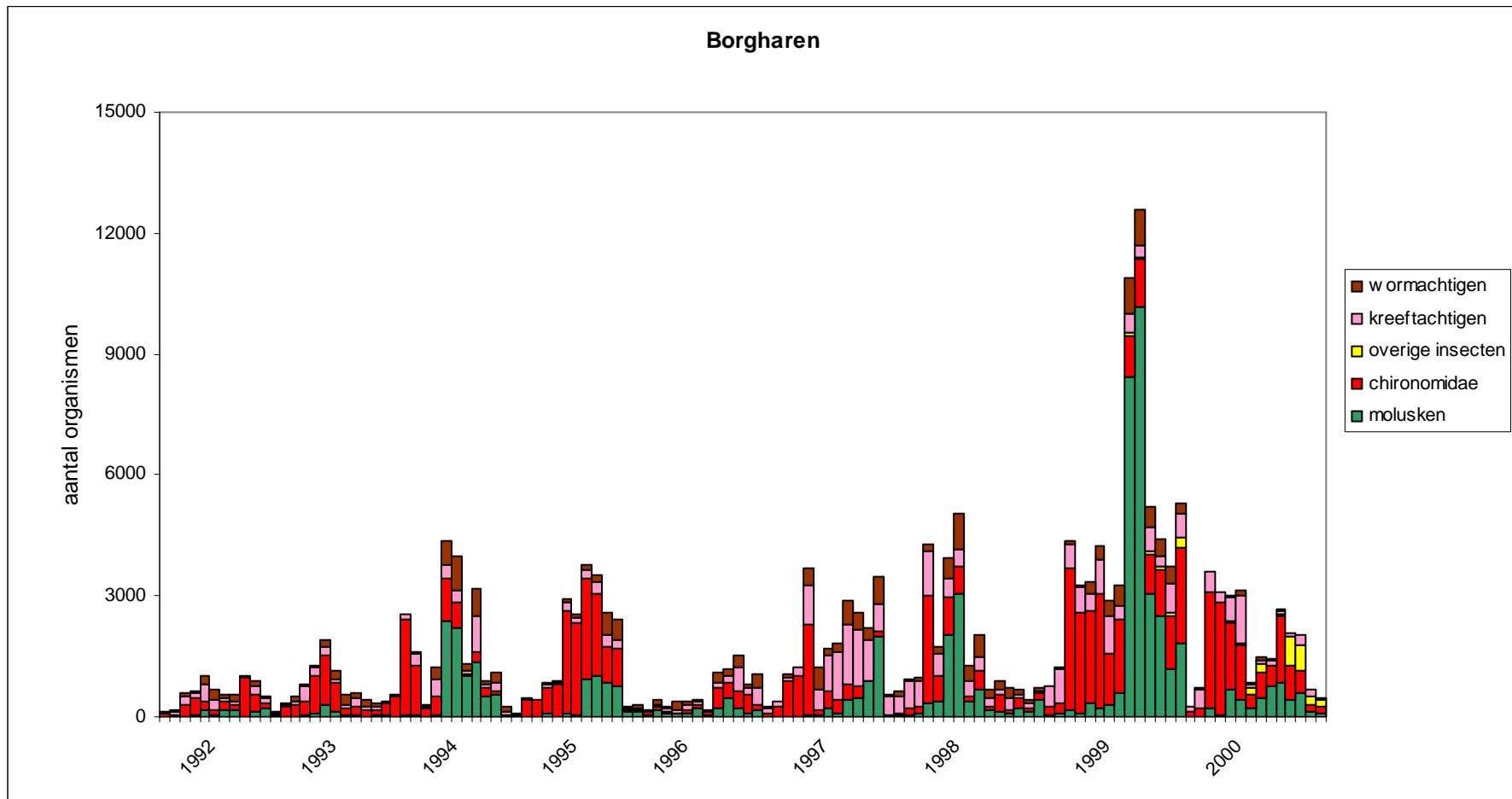
2000

Borgharen:

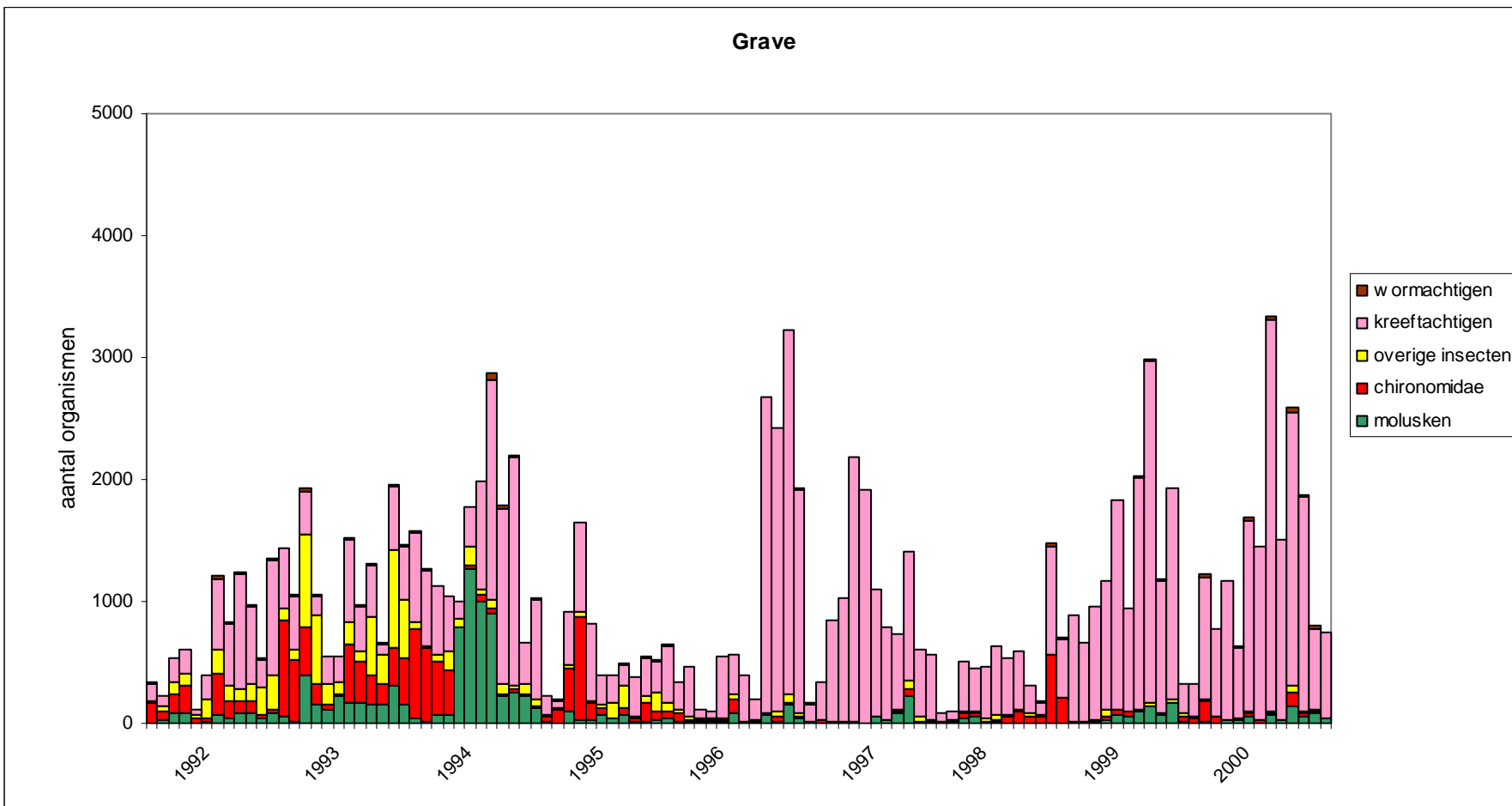
In 2000 zijn de aantallen mollusca weer minder terwijl de gehalten aan metalen in de bodem hetzelfde is als in 1999, wel wordt er meer PCB 138 en 163 in aal aangetroffen (van 714 ug/kg vetgewicht in 1999 naar 3125 ug/kg vetgewicht in 2000). De insecta komen even talrijk voor als in 1999 maar de platwormen en bloedzuigers komen slechts in tientallen voor terwijl ze in voorgaande jaren in honderdtallen voorkwamen. In andere wateren is het verband tussen het voorkomen van driehoeksmosselen en platwormen/bloedzuigers aangetoond (Noordhuis, 2000), in 2000 zijn er beduidend minder driehoeksmosselen aangetroffen dan in 1999.

Grave

In Grave wordt het beeld evenals in 1999 voornamelijk bepaald door de crustacea (Dikerogammarus en Corophium). Insecten en mollusken komen slechts in lage aantallen voor.



Figuur 1: Het verloop van de soortensamenstelling, ingedeeld per hoofdgroep in Borgharen van 1999 – 2001. De aantallen zijn in duplo geteld gedurende de maanden april t/m oktober van ieder jaar.



Figuur 2: Het verloop van de soortensamenstelling, ingedeeld per hoofdgroep in Grave van 1999 – 2001. De aantallen zijn in duplo geteld gedurende de maanden april t/m oktober van ieder jaar.