

Q2858

Opdrachtgever:

DG Rijkswaterstaat/ RIZA

## Ecologische indicators voor toxische stress in watersystemen

Verslag

oktober 2001

# **Ecologische indicators voor toxische stress in watersystemen**

**Eindrapport**

**Mindert de Vries, Theo Boudewijn,  
Guda van der Lee**

**Q2858**

<b>OPDRACHTGEVER:</b>	Directoraat-Generaal Rijkswaterstaat RIZA, Postbus 17 8200 AA, Lelystad					
<b>TITEL:</b>	Ecologische indicators voor toxische stress in watersystemen					
<b>SAMENVATTING:</b>	<p>In de nabije toekomst streeft men naar een integratie van chemische en biologische beoordelingsinstrumenten voor water- en waterbodembodem kwaliteit. Een nadrukkelijke stimulans voor die integratie is de recent aangenomen EU-Kaderrichtlijn Water, waarmee Nederland verplicht is een beoordelingssysteem in huis te hebben dat een uitspraak kan doen over de Goede Ecologische Toestand (GET) van het stroomgebied van Rijn, Maas of Eems. De doelstelling van dit project is het maken van een geactualiseerd overzicht van operationele en nieuwe ecologische parameters voor het signaleren van toxische stress, die kunnen worden toegepast in Ecologische Beoordelingssystemen en een advies inzake het gebruik hiervan in het beoordelingssysteem voor Rijkswaterstaat en bij de bepaling van de Goede Ecologische Toestand volgens de EU-Kaderrichtlijn Water. In het rapport wordt een definitie gegeven van randvoorwaarden en selectiecriteria, in relatie tot Europese wetgeving, Nederlandse beoordelingssystemen en karakteristieken van toetsen. Daarnaast is een overzicht gegeven van bestaande toetsen en hun bruikbaarheid, en ook van bestaande beoordelingssystemen. Uit deze studie blijkt weer dat er een grote verscheidenheid aan toxische toetsen ontwikkeld en toegepast wordt, waarbij de nadruk ligt op de groep van biochemische en bio-assay toetsen. Toetsen die op het niveau van ecosysteemfuncties inzicht geven in toxische stress zijn niet of nauwelijks aanwezig. De bij TNO in ontwikkeling zijnde ecosysteem-processen toetsen leveren op termijn naar verwachting meer inzicht. Echter juist de toetsen die op ecosysteemniveauniveau meten zijn bijna per definitie ongevoelig en aspecifiek door de vele compenserende processen en interacties. Tenslotte valt op dat de invloed van lokale fysisch-chemische condities maar ook seizoenen groot kan zijn op het uiteindelijke resultaat van een meting. Wat betreft de eisen die de EKW stelt aan de toetsen: deze zijn niet heel gedetailleerd en lijken uiteindelijk wel haalbaar op basis van deze globale analyse. De beschikbare beoordelingssystemen voor de Nederlandse waterbeheerders zijn geen van allen direct bruikbaar voor inzet in het kader van bepaling van toxische stress in ecosystemen. De methodiek van STOWA biedt aanknopingspunten door te kijken naar voorkomen en abundanties van macrobenthossoorten. Tenslotte blijkt uit deze studie het belang van ontsluiten en opbouwen van databases, waarmee op termijn trends in toxische effecten meer nauwkeurig kunnen worden vastgesteld.</p>					
<b>REFERENTIES:</b>	Opdrachtbon 37433/WSE, contactpersoon mevr. J. de Jonge. Offerte referentie ZWS/Q2858/ldo.					
<b>VER.</b>	<b>AUTEUR</b>	<b>DATUM</b>	<b>OPMERK.</b>	<b>REVIEW</b>	<b>GOEDKEURING</b>	
	Mindert de Vries	09-02-2001				
	Mindert de Vries	09-10-2001		Guda van der Lee		
<b>PROJECTNUMMER:</b>		Q2858				
<b>TREFWOORDEN:</b>		Ecologische indicators, toxische stress, beoordelingssysteem				
<b>INHOUD:</b>	<b>TEKST</b>	40	<b>TABELLEN</b>		<b>FIGUREN</b>	<b>APP</b>

## Inhoud

<b>1</b>	<b>Advies voor ontwikkeling van ecologische indicatoren van toxische stress.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Inleiding .....</b>	<b>3</b>
2.1	Doel van het project.....	4
2.2	Opzet van het rapport.....	4
<b>3</b>	<b>Randvoorwaarden en selectiecriteria.....</b>	<b>5</b>
3.1	Randvoorwaarden vanuit wetgeving .....	5
3.2	Selectiecriteria .....	5
<b>4</b>	<b>Aard van bestaande toxiciteitstoetsen.....</b>	<b>7</b>
4.1	Biochemische toetsen .....	7
4.2	Biomimetische toetsen .....	7
4.3	Biomarkers.....	7
4.4	Bio-assays .....	7
4.5	Ecosysteem toetsen .....	8
<b>5</b>	<b>Resultaat van toxiciteitstoetsen in relatie tot ecosysteemeigenschappen .....</b>	<b>9</b>
5.1	Tijd- en ruimteschalen. ....	9
5.2	Invloed van locale fysische factoren.....	10
5.3	Belang van monitoringsgegevens .....	10
<b>6</b>	<b>Overzicht van bestaande toetsen .....</b>	<b>11</b>
6.1	Beschikbare review literatuur .....	11
6.2	Indeling van beschikbare toetsen.....	12
6.3	Ecologische indicatoren voor toxiciteitstoetsen.....	13
6.3.1	Acute meetsystemen .....	13
6.3.2	Mogelijke chronische meetsystemen .....	13
6.3.3	Update van beschikbare toetsen na interviews met experts.....	18
<b>7</b>	<b>Overzicht van beoordelingsystemen.....</b>	<b>22</b>

---

7.1	AMOEBE .....	23
7.2	STOWA.....	23
7.3	Netwerkbenadering.....	24
7.4	Ecologische Kwaliteits Index (EKI).....	24
7.5	Natuurdoeltypen: aquatisch supplement.....	24
7.6	Index of Biotic Integrity (IBI) .....	25
7.7	Kwaliteit van ecotopen .....	25
7.8	Graadmeterontwikkeling Noordzee (GONZ) .....	25
<b>8</b>	<b>Analyse van bruikbaarheid van toetsen.....</b>	<b>27</b>
8.1	Beoordeling bruikbaarheid op basis van randvoorwaarden en selectiecriteria KRW .....	27
8.2	Selectiecriteria volgens De Zwart.....	28
8.3	Indicatoren voor graadmeters in GONZ .....	31
<b>9</b>	<b>Discussie en conclusies.....</b>	<b>33</b>
9.1	Discussie .....	33
9.1.1	Toetsen met ecologische indicatoren op ecosysteemniveau .....	33
9.1.2	Beoordelingssystemen .....	34
9.1.3	Inzet van systeemanalyse, modelstudies en monitoring .....	34
9.2	Visie .....	34
9.2.1	Kansrijke ecologische indicatoren .....	35
9.3	Aanbevelingen .....	35
<b>10</b>	<b>Literatuur .....</b>	<b>37</b>

# I **Advies voor ontwikkeling van ecologische indicatoren van toxische stress**

Kijkend naar de huidige situatie in Nederland en in Europa kan worden vastgesteld dat er voor het bepalen van toxische stress in aquatische systemen een zeer beperkt aantal gestandaardiseerde toxiciteitstoetsen wordt toegepast en dan met name voor acute testen. Voor chronische testen gaat het vooral om gestandaardiseerde testen met algen, *Daphnia* en vissoorten. Het ontbreekt nagenoeg volledig aan standaardisatie van toetsen voor andere belangrijke groepen zoals waterplanten, schelpdieren, insecten, vogels en zoogdieren.

Toxiciteitstoetsen met ecologische indicatoren op ecosysteemniveau zijn gering in getal en voldoen bijna nooit aan alle opgestelde criteria met betrekking tot wetenschappelijke onderbouwing of bruikbaarheid. Dit is een logisch gevolg van de toenemende complexiteit van een gemeten effect van toxische stress op grotere tijd- en ruimteschaal. Dit probleem is gedeeltelijk op te lossen door toetsen in combinatie te gebruiken. Toetsen op andere tijd- en ruimteschalen geven verschillende informatie, die in combinatie meer inzicht geven dan elke toets apart. De interpretatie van een toxisch effect op een hogere tijd- en ruimteschaal wordt mogelijk door de resultaten te combineren met toetsresultaten op lagere tijd- en ruimteschalen.

Deze studie onderstreept het belang van ontsluiten van gegevens en opbouwen van databases, waarmee op termijn trends in toxische effecten nauwkeuriger kunnen worden vastgesteld. De invloed van omgevingsfactoren op de uitkomst van toxische toetsen geeft het belang aan van integrale monitoring, waarin fysica, chemie en biologie tegelijkertijd worden gemeten. Beschikbare monitoringsgegevens bevatten mogelijk nog onbenutte informatie die bruikbaar kan zijn voor de analyse van toxische effecten. Als voorbeeld wordt de verspreiding van een zoetwaterslak in Noord-Holland genoemd die na analyse van de beschikbare gegevens enigszins gecorreleerd blijkt met vervuilingsgraad van sloten en plassen. Hieruit kan worden geconcludeerd dat een ontsluiting van deze gegevens, die veelal bij waterschappen en provincies beschikbaar zijn, een mogelijke kenniswinst kan opleveren. Door medeneming van een aantal extra analyses, kunnen lopende monitoringprogramma's voor toekomstige onderzoeksvragen naar effecten van toxische stress beter bruikbaar worden. Hierbij wordt gedacht aan 1) langdurig opslaan van weefselmonsters en 2) bepaling van waterkwaliteit en accumulatie-niveaus van stoffen bij biologische monitoring.

Een belangrijk probleem bij het meten van toxische stress is het onderscheid tussen stress door toxische stoffen en andere stress factoren. Een manier om dit probleem aan te pakken bestaat uit een analyse van het systeem, waardoor het functioneren van het systeem begrepen wordt. Een systeemanalyse kan bestaan uit modelbouw, in combinatie met validatie in het veld of in mesocosms. Experimenten in mesocosms zijn goed te gebruiken om meer inzicht in het systeem te krijgen. De Zwart (1995) stelt ook voor om modellen in te zetten om natuurlijk ecosysteemfunctioneren te kunnen vergelijken met de gemeten afwijkende situatie, zodat interpretatieproblemen op basis van onder andere vergelijking met monsters uit een andere fysisch-chemische omgeving kunnen worden ingeperkt.

De analyses van De Zwart (1995) en Herbst & Nendza (1999) geven aan dat het ontbreken van absolute resultaten van toetsen nog grote struikelblokken zijn voor de verdere ontwikkeling van toetsen. Belangrijke punten van onderzoek zijn het vaststellen van juiste referentiesituaties, de relaties tussen blootstelling en toxische effecten en het onderscheid tussen toxische stress en stress door andere omgevingsfactoren.

In dit rapport worden beschikbare ecologische indicatoren ingedeeld op hun relevantie voor een lokale of regionale ruimteschaal en is aangegeven of het toetsen op het niveau betreft van een individu, een populatie of het ecosysteem. Kansrijke indicatoren zijn:

	lokaal	regionaal
<b>individu</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• gehalten aan contaminanten in kleine zoogdieren zoals muizen, ook in uitscheidingsproducten</li> <li>• accumulatie van contaminanten in driehoeksmosselen</li> <li>• interne enzymatische activiteit van kleine zoogdieren</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• gehalten aan contaminanten in dieren op hoger trofieniveau zoals otters, das, aalscholvers; ook in uitscheidingsproducten</li> </ul>
<b>populatie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• perifyton op steen,</li> <li>• soortsaamenstelling van macrofauna</li> <li>• rijpheidsindex nematodengemeenschap</li> <li>populatie-opbouw wormen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• sex-ratio vissen</li> <li>• broedsucces aalscholvers</li> </ul>
<b>ecosysteem</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• procesparameters zoals decompositie, denitrificatie productie, broed/reproductie-biologie en populatiedynamiek</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• zie lokale schaal</li> </ul>

Elk van deze indicatoren behoeft verdere ontwikkeling om de toepasbaarheid en specificiteit te verbeteren.

Deze studie toont ook aan dat geen van de meer gebruikelijke beoordelingssystemen in Nederland direct bruikbaar is voor de analyse van toxische stress in ecosystemen. Zeker het GONZ systeem en de STOWA methodiek bieden goede aanknopingspunten om als basis te dienen voor een uitbreiding naar indicatoren voor toxische stress.

## 2 Inleiding

Van diverse kanten wordt aangegeven (Vierde Nota Waterhuishouding, Hoofdkantoor RWS, EU-KRW) dat het wenselijk is om tot een integratie te komen van chemische en biologische beoordelingsinstrumenten voor water- en waterbodembodem kwaliteit. Vrij vertaald wordt hieronder verstaan dat het biologisch beoordelingsinstrumentarium ook geschikt moet zijn om stress te signaleren die wordt veroorzaakt door in bodem en/of water aanwezige contaminanten. Een nadrukkelijke stimulans voor die integratie is de recent aangenomen EU-Kaderrichtlijn Water.

In het kader van de EU-kaderrichtlijn Water is Nederland verplicht een beoordelingssysteem in huis te hebben dat een uitspraak kan doen over de Goede Ecologische Toestand (GET) van het stroomgebied van Rijn, Maas of Eems. Deze methodiek richt zich in eerste instantie op plankton, macrofauna en vis. Er wordt aan gewerkt om landelijk één methodiek te ontwikkelen die zowel van toepassing is voor regionale- als voor rijkswateren (thans bestaan hiervoor meerdere systemen). Dit vormt de aanleiding een advies op te stellen over geschikte ecologische parameters voor het signaleren van toxische stress. Een eerste stap voor het opstellen van dit advies is het genereren van een geactualiseerd overzicht van gebruikte en nieuwe, kansrijke parameters voor toxische stress.

Een belangrijk aspect dat eerst nader moet worden uitgewerkt, is de definitie van toxische stress. Wanneer is sprake van toxische stress? Het is niet goed mogelijk om hierop een sluitend antwoord te geven. Onder toxische stress zou verstaan kunnen worden: Antropogene beïnvloeding in de vorm van toevoegen van systeemvreemde verbindingen waardoor het functioneren van het ecosysteem, van soorten of van individuen negatief beïnvloed wordt. Dit levert de volgende definitieproblemen op ten aanzien van 'functioneren' en 'negatief'. Daarnaast kunnen door antropogene of natuurlijke beïnvloeding ook stoffen in het watersysteem gebracht worden, die wel van natuurlijke oorsprong zijn maar in dermate hoge concentraties aanwezig zijn dat het functioneren van het ecosysteem negatief beïnvloed wordt. Hierbij kan gedacht worden aan het voorkomen van zware metalen in mijnbouwgebieden en de daarvan afvoerende stromen. Moet het voorkomen van het zinkviooltje nu als een indicatie van toxische stress beschouwd worden of juist het stopzetten van de belasting van zware metalen als een vorm van toxische stress (voor het zinkviooltje). Daarnaast kunnen ook organismen stoffen uitscheiden die een negatief effect op andere organismen hebben. Hierbij kan gedacht worden aan het uitscheiden van ammonium door zo plankton of toxines door dinoflagellaten. Als laatste voorbeeld kan genoemd worden dat onder invloed van bijvoorbeeld organische belasting het zuurstofgehalte van water sterk kan teruglopen. Larven van steenvliegen zijn ongevoeliger dan Oligochaeten voor contaminanten, maar zijn wel bijzonder gevoelig voor zuurstofgebrek. Aangezien de aanwezigheid van verontreinigingen vaak samenvalt met een verlaging van de zuurstofspanning, verdwijnen steenvliegen al snel bij het optreden van verontreinigingen.

Voor toxische stress wordt hier de volgende werkdefinitie gebruikt:



*Toxische stress wordt veroorzaakt door de stoffen, waarvan de aanwezigheid direct of indirect door antropogene beïnvloeding veroorzaakt wordt, en die organismen in het systeem negatief in hun functioneren beïnvloeden.*

Hierbij wordt als negatief beïnvloeden beschouwd dat bij aanzienlijk lagere concentraties van de desbetreffende stof het organisme hiervan een minder grote negatieve terugkoppeling ondervindt.

Dit projectvoorstel is gebaseerd op de inhoud van uw notitie, getiteld "Ecologische parameters voor het signaleren van toxische stress in watersystemen". Opdracht is verleend op 30 oktober 2000, met referte aan Opdrachtbon 37433/WSE, contactpersoon mevr. J. de Jonge. De opzet van het project is gedefinieerd in de offerte getiteld "ecologische indicators voor toxische stress", d.d. 13 oktober 2000, referentie ZWS/Q2858/ldo.

## **2.1 Doel van het project**

Maken van een geactualiseerd overzicht van operationele en nieuwe ecologische parameters voor het signaleren van toxische stress, die kunnen worden toegepast in Ecologische Beoordelingssystemen en een advies inzake het gebruik hiervan in het beoordelingssysteem voor Rijkswaterstaat en bij de bepaling van de Goede Ecologische Toestand volgens de EU-Kaderrichtlijn Water.

## **2.2 Opzet van het rapport**

In het rapport worden achtereenvolgens de volgende onderwerpen besproken

- Definitie van een randvoorwaarden en selectiecriteria, relatie tot Europese wetgeving, Nederlandse beoordelingssystemen en karakteristieken van toetsen.
- Overzicht van bestaande toetsen en hun bruikbaarheid
- Overzicht van bestaande beoordelingssystemen
- Discussie en aanbevelingen voor toekomstige ontwikkelingen

Het rapport is gebaseerd op enerzijds een beknopte literatuurstudie en anderzijds interviews en contacten met onder andere B. van Hattum, N. van den Brink, P. Leonards, D. de Zwart, J. Stronkhorst, R. Jak, B. van der Wal, J. Faber en H. Ketelaars.

## 3 Randvoorwaarden en selectiecriteria

Van belang is dat een beoordelingssysteem aansluit bij de randvoorwaarden die worden gesteld in de Europese Kaderrichtlijn Water (KRW) die dit jaar door het Europees Parlement wordt vastgesteld. Hiernaast is aansluiting bij toekomstige ecologische beoordelingssystemen die worden ontwikkeld door Rijkswaterstaat gewenst. Hiervoor worden door STOWA/RIZA en RIVM op dit moment een raamwerk opgesteld (Ecologisch Beoordelingssysteem Aquatisch Nederland, zie website van de STOWA voor details). Tenslotte is analyse van de opzet van bestaande toetingskaders als basis voor de uitwerking van het concept nuttig omdat hiermee de mogelijkheid wordt gecreëerd om bestaande kennis optimaal te benutten. In dit hoofdstuk worden randvoorwaarden en selectiecriteria besproken, op grond waarvan een keuze voor bruikbare toetsen kan worden gemaakt.

### 3.1 Randvoorwaarden vanuit wetgeving

Uit de rapportage van A. Reeze (Reeze, 2000) kunnen de volgende randvoorwaarden voor een beoordelingsmethode worden genoteerd in relatie tot de Kaderrichtlijn Water (KRW):

- De methode toetst aan een referentie;
- De methode doet een uitspraak over de biologische kwaliteitselementen fytoplankton, macrofauna, vis, waterplanten en fyto-benthos;
- Voor elke biologische parameter kunnen de resultaten van de methode worden gepresenteerd als een getalswaarde tussen 0 en 1;
- Deze schaal kan worden ingedeeld in vijf ecologische klassen (van een zeer goede tot zeer slechte toestand);
- De methode koppelt normatieve ecologische niveaus aan de mate van antropogene beïnvloeding;
- De methode gaat uit van een indeling van oppervlaktewater volgens fysische en chemische factoren die bepalend zijn voor de kenmerken van het oppervlaktewater.

### 3.2 Selectiecriteria

In De Zwart (1995) wordt een indeling van selectiecriteria geformuleerd, die uiteindelijk wordt gebruikt om een ranking van beschikbare toetsen op te stellen. Deze criteria zijn gebaseerd op het werk dat werd uitgevoerd in het kader van GESAMP. De selectie van een geschikte toets is gebaseerd op de volgende overwegingen:

Wetenschappelijk

- Hoog informatiegehalte zodat oorzaak en gevolg kunnen worden gekoppeld. Goede afstemming van tijd- en ruimteschalen van de blootstelling en de toets;
- Ecologische informatiegehalte. Niet alleen informatie over effect op individuen maar ook op het niveau van populaties, gemeenschappen en het ecosysteem;
- Soort specifiek. Het gemeten effect in de toets-soort zou liefst ook model moeten staan voor effecten in andere soorten;

- Stofspecifiek. Een waargenomen effect moet zo mogelijk een indicatie zijn van de oorzaak van het effect;
- Voor early warning systemen is reversibiliteit van het meetsysteem na een verstoring van belang.

#### Bruikbaarheid

- Bekende dosis-effect relatie;
- Gevoeligheid voor in het veld te verwachten blootstellingsniveaus;
- Grote toelaatbare range van blootstellingsniveaus waarbij kan worden gemeten;
- Respons snelheid is in overeenstemming met de te meten variabiliteit in de blootstelling;
- Het meetsignaal moet onderscheiden kunnen worden van andere oorzaken van variaties;
- Dit houdt in dat het meetsignaal voldoende precies moet kunnen worden gemeten;
- Een toets moet gestandaardiseerd en gecalibreerd kunnen worden;
- Een toets moet een breed toepassingsgebied hebben;
- Een toets moet kosten effectief zijn.

#### Organisatorisch

- Kosten in relatie tot de minimaal benodigde meetinspanning;
- Ervaring met toepassing in vergelijkbare systemen.

Om de aansluiting van een methodiek voor beoordeling van toxische stress in een watersysteem op de huidige beoordelingssystemen te maximaliseren wordt na de beschrijving van beschikbare toetsen in het volgende hoofdstuk de toepasbaarheid op basis van bovenstaande criteria geanalyseerd. Tenslotte is in Herbst & Nendza (1999) nog uitgebreid een analyse uitgevoerd van de in gebruik zijnde toetsen met een vergelijkbare doelstelling als De Zwart (1995). In dit werk is echter gefocust op toetsen relevant voor de beoordeling van de toxiciteit van mariene sedimenten.

## 4 Aard van bestaande toxiciteitstoetsen

Kijkend naar de blootstelling aan toxische stoffen in het milieu staat vast dat we slechts een relatief gering percentage (5-25%) van de organische microverontreinigingen kennen en van de rest geen specifieke informatie hebben over toxiciteit. Zelfs van de stoffen die we kennen bestaat soms geen informatie over toxiciteit. Combinatie toxiciteit van mengsels (synergie, additiviteit maar ook antagonisme) is slecht bekend.

Kijkend naar de vele gebruikte toxiciteitstoetsen, is de volgende indeling mogelijk:

### 4.1 Biochemische toetsen

Deze toetsen maken gebruik van de invloed van biochemische processen zoals acetylcholine-esterase remming (AMES, MICROTOX), cytochrome P-450 inductie (EROD), vitellogenine concentratie of hormoon productie. Veelal zijn deze toetsen niet stofspecifiek. Groepen van stoffen kunnen (o.a. op basis van voorbewerking van monsters) wel worden onderscheiden. Op dit moment kan met behulp van immuno-assays wel voor specifieke stoffen de aanwezigheid in het water worden aangetoond.

### 4.2 Biomimetische toetsen

Door nabootsing van het opnameproces van organische microverontreinigingen door organismen kan een indruk worden verkregen van de minimale toxiciteit van een mengsel van verschillende groepen van stoffen gebaseerd op hun narcotiserende werking. Deze toetsen vergen in tegenstelling tot bovenstaande biochemische analyses (uren-dagen) meer tijd (weken) omdat door middel van diffusie over een membraan een chemisch evenwicht moet worden ingesteld tussen de meetcel en de omgeving.

### 4.3 Biomarkers

Monsters uit het veld worden in het laboratorium onderzocht op veranderingen op het intracellulaire en moleculaire niveau (Den Besten & Tuk, 2000).

### 4.4 Bio-assays

Door blootstelling van proefdieren zoals phytoplankton, bacteriën, Daphnia, chironomiden en vissen aan mengsels wordt een indruk verkregen van de totale toxiciteit van een monster. Hierbij kan dan geen onderscheid worden gemaakt tussen organische en inorganische stoffen. Door voorbewerking en concentratie van monsters kan wel een onderscheid worden gemaakt naar de toxiciteit van groepen van stoffen. Voordeel van dit type toetsen is dat per definitie rekening wordt gehouden met de werkelijke beschikbaarheid van stoffen voor de proefdieren.

## 4.5 Ecosysteem toetsen

Deze groep bevat alle toetsen die bedoeld zijn om in het veld de toestand van het ecosysteem te meten op basis van bepaling van functioneren van populatiedynamica, soortensamenstelling, dichtheid van soorten, diversiteit, relevante ecosysteemprocessen zoals productie, mineralisatie en dergelijke. Het belangrijke voordeel van deze toetsen is dat een beeld kan ontstaan van het werkelijke effect van blootstelling aan toxische stoffen op het functioneren van het ecosystem met inbegrip van doorvergiftiging naar hogere trofische niveaus in voedselwebben. Dit is tegelijkertijd ook een belangrijk probleem van deze toetsen omdat het erg moeilijk is om waargenomen effecten te koppelen aan toxische stress. Zeker in de huidige situatie waarin steeds minder acute toxische problemen voorkomen en steeds meer van een relatief lage chronische blootstelling kan worden gesproken.

Het lijkt erop dat voor dit soort toetsen de selectiecriteria die we in het vorige hoofdstuk hebben gedefinieerd niet altijd gecombineerd kunnen worden. Bijvoorbeeld de relevantie voor een watersysteem van een graadmeter op het niveau van soortensamenstelling is hoog, terwijl de gevoeligheid van deze graadmeter waarschijnlijk laag is door de invloed van vele andere stress factoren in het systeem. Dit is het wezenlijke probleem met het gebruik van de GONZ graadmeters voor bepaling van toxische effecten. Vaststelling van dit soort complexe ecosysteem effecten leidt niet direct tot uitspraken die van nut zijn voor de aanpak van het probleem. We weten veelal niet direct wat de oorzaak van de waargenomen effecten is. Het omgekeerde is waar bij bepaling van biochemische effecten. Hier kunnen we wel een effect meten, maar blijft grotendeels onbekend wat de consequentie van dit effect is op het functioneren van een ecosysteem. Overigens geeft dit wel directe stofgroep specifieke handvatten voor regulering van water- en bodemkwaliteit.

## 5 Resultaat van toxiciteitstoetsen in relatie tot ecosysteemeigenschappen

### 5.1 Tijd- en ruimteschalen.

Uit werk van De Kruijf (1991) is een overzicht beschikbaar van globale tijdsduur die gerelateerd is aan het type effecten van chronische blootstelling aan een toxische stof.

Tijdsduur	Effect
Direct – dagen	Bioaccumulatie tot 'threshold'
Minuten – dagen	Gedrags- en biochemische responsen
Uren – weken	Fysiologische respons
Dagen – maanden	Effect op individuen
Maanden – jaren	Populatie- voedselweb effecten
Maanden - eeuwen	Gemeenschappen Ecosystemen Landschappen

Omgekeerd houdt dit ook in dat door bijvoorbeeld graadmeters op gemeenschappen niveau geen snel veranderende blootstellingen kunnen worden gemeten. Op dezelfde wijze worden afhankelijk van de gekozen graadmeter als het ware steeds andere ruimteschalen bemonsterd. Dit houdt in dat met bijvoorbeeld een weinig mobiel schelpdier de lokale water- of bodemkwaliteit kan worden bepaald. Een vogel zal bijvoorbeeld zijn blootgesteld aan de verontreinigingsgraad van een (veel) groter gebied. In de onderstaande tabel worden enkele voorbeelden gegeven van een indeling in tijd- en ruimteschalen van enkele mogelijk toetsen.

Tabel 5.1 Indeling van enkele toxische toetsen in tijd- en ruimteschalen

Tijd-/ruimteschaal	klein	groot
Uren	Biochemische toetsen waterkwaliteit	?
Dagen-weken	Bio-assays waterkwaliteit	Monitoring individuen van vissen, zoogdieren en vogels
maanden-jaren	Bio-assays bodemkwaliteit Bodem gemeenschappen bacterien, nematoden en andere invertebraten, insecten	Monitoring populaties en gemeenschappen van vissen, zoogdieren en vogels

## 5.2 Invloed van lokale fysische factoren

In Herbst & Nendza (1999) wordt veel aandacht besteed aan invloed van fysische en macrochemische omgevingsfactoren op de resultaten van toxische toetsen. Genoemd worden:

Korrelgrootteverdeling;

pH;

O<sub>2</sub>;

NH<sub>4</sub>;

H<sub>2</sub>S;

TOC;

Saliniteit;

Temperatuur;

Voor de meeste toetsen geldt dat daarnaast de volgende factoren van belang zijn: nutriënten gehalten, seizoens- en jaarlijkse variaties, geografische verschillen, natuurlijke variaties en andere omgevingsfactoren.

## 5.3 Belang van monitoringsgegevens

De invloed van omgevingsfactoren op de uitkomst van toxische toetsen geeft het belang aan van integrale monitoring waarin fysica, chemie en biologie tegelijkertijd worden gemeten. Beschikbare monitoringsgegevens bevatten volgens geïnterviewde experts mogelijk nog onbenutte informatie die bruikbaar kan zijn voor de analyse van toxische effecten. Als voorbeeld wordt de verspreiding van een zoetwaterslak in Noord-Holland genoemd die na analyse van de beschikbare gegevens enigszins gecorreleerd blijkt met vervuilingsgraad van sloten en plassen. Hieruit kan worden geconcludeerd dat een ontsluiting van deze gegevens, die veelal bij waterschappen en provincies beschikbaar zijn een mogelijke kenniswinst kan opleveren. Volgens De Zwart (RIVM) is RIVM bezig met een nieuw project, gekoppeld aan RISTORI, met als doel om de effecten van toxische druk te scheiden van effecten van andere milieufactoren. Dit zal gedaan worden aan de hand van statistische analyses van de Nederland-brede dataset van de STOWA die momenteel geactualiseerd wordt. Deze dataset (LIMNODATA NEERLANDICA) bevat gegevens van zowel alle waterbeheerders als de kennisinstututen en komt binnenkort uit (pers. com. Bas van de Wal, STOWA). Tweede conclusie van de geïnterviewden is, dat door medeneming van een aantal extra analyses, lopende monitoringprogramma's voor toekomstige onderzoeksvragen naar effecten van toxische stress beter bruikbaar kunnen worden. Hier wordt door de geïnterviewden gedacht aan 1) langdurig opslaan van weefselmonsters en 2) bepaling van waterkwaliteit en accumulatie-niveaus van stoffen bij biologische monitoring.

## 6 Overzicht van bestaande toetsen

In het huidige ecotoxicologische onderzoek wordt veelvuldig gebruik gemaakt van correlaties tussen gehalten van chemische verontreinigingen en het voorkomen en functioneren van soorten of de samenstelling van groepen organismen. Hierbij wordt uitgegaan van een dosis-effect relatie. Bij het gebruik van biologische parameters om toxische stress te kunnen aantonen, is sprake van een omgekeerde relatie: op basis van een effect, dat zo mogelijk ondubbelzinnig aan een dosis kan worden toegeschreven, dient een uitspraak te kunnen worden gedaan over de toxische stress op het systeem.

### 6.1 Beschikbare review literatuur

Een review van gebruikte toetsen is beschikbaar in De Zwart (1995); *Monitoring water quality in the future, Volume 3 biomonitoring. RIVM, Bilthoven*. Volgens de review van De Zwart zijn er ongeveer 120 bio-assays beschreven in de internationale literatuur met daarnaast circa 100 indicatoren die effecten op gemeenschapsniveaus beschrijven in een veldsituatie. Deze toetsen zijn over het algemeen zeer situatie specifiek en gericht op de lokale regelgeving.

Kijkend naar de huidige situatie in Nederland en in Europa kan worden vastgesteld dat er een zeer beperkt aantal gestandaardiseerde toxiciteitstoetsen wordt toegepast en dan met name voor acute testen. Voor chronische testen gaat het vooral om gestandaardiseerde testen met algen, Daphnia en vissoorten. Het ontbreekt nagenoeg volledig aan standaardisatie van toetsen voor andere belangrijke groepen zoals waterplanten, schelpdieren, insecten, vogels en zoogdieren.

Tenslotte stelt De Zwart nog vast dat evaluatie van effecten op gemeenschapsniveau veelal relatief is, door vergelijking met andere systemen. Echter, een meer absolute meetlat van de ecologische toestand van het ecosysteem zou effectiever kunnen zijn.

Ook in Herbst & Nendza (1999) is er een grote nadruk op biochemische (lab en veld) testen met invertebraten en vissen, waarbij gesteld wordt dat 'benthic community structure' test, de enige beschreven test die effecten op ecosysteem niveau meet, juist door de complexe interacties ongevoelig en aspecifiek is.

#### **Internationale ontwikkelingen**

Op veel fronten is gewerkt aan de ontwikkeling, implementatie en intercalibratie van toxische toetsen. In Herbst & Nendza (1999) worden genoemd het Joint Assessment Monitoring Programme (JAMP) en wordt gerefereerd aan OSPAR (1995), UBA (1995), ICES (1994, 1996). Richtlijnen voor toepassing worden behandeld in ASTM (1992), Environment Canada (1992), EPA (1994), OSPAR (1995), ICES (1999). Resultaten van intercalibratie studies worden beschreven in OSPAR (1995) en PARCOM (1995 A en B). In Canada en de Verenigde Staten zijn uitgebreide studies uitgevoerd om te komen tot een selectie van bio-assays voor zowel acute als chronische tests.



De lijst van bruikbare testen wijkt niet sterk af van wat in Nederland gebruikelijk is (fytoplankton toets, Daphnia toets, vis toets). In ontwikkeling zijn testen met een aquatische wortelende vaatplant, Lemna sp. (kroos) en Chironomus.

## 6.2 Indeling van beschikbare toetsen

Uit De Zwart (1995) is de volgende tabel overgenomen met daarin een indeling van beschikbare toetsen in laboratoriumtoetsen en veldtoetsen, waarbij de veldtoetsen onderverdeeld zijn in early warning en actieve en passieve monitoring:

Tabel 6.1 Indeling van beschikbare toetsen in laboratoriumtoetsen (bio-assays, biochemische) en veldtoetsen (early warning, actieve en passieve monitoring)

Test	Compartiment	Organisme of methode	Criterium	Referentie
Laboratoriumtoetsen (bio-assays, biochemie)	Zoete en zoute systemen	bacteriën muggen algen <i>Daphnia</i> e.a.	luminescentie larvenontwikkeling groei reproductie	Brouwer et al., 1990; NNI(1993); NEN-ISO (1994); ISO (1987); ASTM (1991)
Veld toetsen Early warning en actieve monitoring	Zoetwater	vis  phytoplankton  bacteria  <i>Daphnia</i> <i>Dreissena</i>	Respiratiesnelheid Gedragresponsen Productie  luminescentie respiratie Zwem activiteit Klep-beweging	BGA (1993)
	Zoutwater	<i>Mytilus</i>	Klep-beweging	
	Zoete en zoute systemen	Allerlei soorten in kooien	Sterfte, groei, reproductie, bioaccumulatie, scope for growth. Biochemische parameters	Canton et al. (1985) De Kock (1981) Widdows et al. (1981) Bebiano (1991) Bayne (1985)
Passieve monitoring van de veldsituatie	Zoete en zoute systemen, bodem en water	Epidemiologie van vissoorten en chironomus Bioaccumulatie in vissoorten en schelpdieren Indicator soorten	Voorkomen van ziektes en vormafwijkingen Vergelijking met drempelwaarden	Slooff (1983) Vethaak (1991) Warwick (1988)
				MWTL (RIZA,RIKZ)
		Kolonisatie van kunstmatige substraten Struktuur van een gemeenschap Functioneren ecosysteem	Aanwezigheid afwezigheid Soortensamenstelling, diversiteit, dichtheden	Hellawell (1986)
				Hellawell (1986)
		Functioneren ecosysteem	Soortensamenstelling, diversiteit, dichtheden Primaire productie, respiratie, biomassa, turnover, afbraak	APHA (1992) Hellawell (1986)
				APHA (1992)

## 6.3 Ecologische indicatoren voor toxiciteitstoetsen

### 6.3.1 Acute meetsystemen

Op dit moment zijn verschillende meetsystemen met ecologische indicatoren in bedrijf. Hierbij kan in grote lijnen een onderscheid worden gemaakt in meetsystemen die on-line meten en over het algemeen acute toxiciteit meten en meetsystemen die meer ad hoc de situatie in kaart brengen. Hierbij moet meer gedacht worden aan bijvoorbeeld de samenstelling van de macrofauna of de aanwezigheid van kaakafwijkingen bij Chironomiden.

Op dit moment zijn de volgende on-line systemen operationeel:

- **Algentoximeter:**  
Hiermee worden bestrijdingsmiddelen (herbiciden) gemeten, die van invloed zijn op het fotosysteem. Indien er meer bestrijdingsmiddelen aanwezig zijn, wordt er meer fluorescentie gemeten. Dit systeem is aangeschaft door het Waterwinningbedrijf Brabantse Biesbosch en wordt geïnstalleerd bij Keizersveer.
- **Daphnia-toximeter:**  
Met behulp van image-analysis wordt het gedrag van watervlooien gevolgd. Hierbij worden onder andere snelheid en richting van de verplaatsingen van watervlooien vastgesteld. In totaal worden 7 parameters gevolgd.
- **Mosselmonitor:**  
Het sluiten van de kleppen van de driehoeksmossel wordt gebruikt als indicatie voor de aanwezigheid van toxische stoffen.
- **Goudwindes:**  
Het zwemgedrag van goudwindes in een stromend systeem wordt geregistreerd. Bij aanwezigheid van ongewenste stoffen verandert het gedrag, hetgeen geregistreerd wordt.

De bovengenoemde meetsystemen hebben alle als kenmerk dat ze acute aanwezigheid van toxische stoffen in relatief hoge concentraties indiceren. In principe zijn de meetsystemen niet stof specifiek. Wel geeft de Algentoximeter specifiek aan dat het om herbiciden gaat. In alle gevallen dient er een gewone waterbemonstering plaats te vinden om de specifieke verontreiniging te achterhalen.

### 6.3.2 Mogelijke chronische meetsystemen

#### **Fytoplankton:**

De samenstelling van het fytoplankton kan door verontreinigingen beïnvloed worden, maar daarnaast spelen ook verschillende andere factoren een rol. De ontwikkeling van het fytoplankton is sterk seizoensafhankelijk en ook binnen een jaar kunnen verschillende groepen van fytoplankton tijdelijk sterk tot ontwikkeling komen. Daarnaast is de stroomsnelheid en het doorzicht van grote invloed op de ontwikkeling van het fytoplankton. Dit betekent dat fytoplankton minder geschikt is als indicator groep.

**Perifyton:**

Bestaat uit een complexe gemeenschap van microbiota gehecht aan anorganisch of organisch, levend of dood substraat, samengesteld uit algen, bacterien, schimmels, anorganisch en organische detritus (Rott 1991). Een perifytongemeenschap reageert op stress door veranderingen in soort samenstelling. Echter er is ook sprake van een climax ontwikkeling, zodat duidelijk moet zijn in welk ontwikkelingsstadium de gemeenschap zich bevindt. Vooral van diatomeen is relatief veel bekend, zodat de soortensamenstelling hiervan gebruikt kan worden als indicator voor toxische stress (Rott 1991).

Om het perifyton bruikbaar te kunnen maken als monitoring systeem dienen eerst in regionaal onderzoek de structurele gemeenschappen op lokaal niveau te worden vastgesteld. Als tweede stap zouden de regionale onderzoeken samengevoegd moeten worden tot een supraregionale typologie voor de rivieren. Vooral diatomeëngemeenschappen op steen vormen mogelijk een goed indicator. Deze gemeenschappen komen voor van de bron van een rivier tot aan de monding en zijn in tegenstelling tot gemeenschappen op zand of waterplanten weinig gevoelig voor stroming en seizoensinvloeden (Round 1991). Een verdere ontwikkeling van deze methode biedt mogelijk perspectieven.

**Zoöplankton:**

De samenstelling en biomassa van het zoöplankton is van verschillende factoren afhankelijk: rivierafvoer, stroomsnelheid, predatie en voedselaanbod. Dit maakt de beoordeling van de samenstelling en biomassa van het zoöplankton weinig betrouwbaar als indicator voor toxische stress.

**Nematoden:**

Hiervan kunnen zowel de dichtheid als het aantal soorten bepaald worden, maar vooral de Rijpheidsindex lijkt een goed maat voor verstoringen te zijn (Bongers 1990, Bongers & Schouten 1991). De methode kan ook gebruikt worden als maat voor bodemvervuiling (Bongers & Schouten 1991). Door Den Besten *et al.* (2000) zijn nematoden gebruikt als indicatoren voor het effect van saneren van vervuilde locaties in het benedenrivierengebied. Hieruit werd duidelijk dat de verandering in het relatieve voorkomen van specifieke families of genera gebruikt kan worden om verandering in sedimentkwaliteit aan te geven.

**Macrofauna:**

De aanwezigheid van soorten heeft vooral een indicatieve waarde. De samenstelling van de gemeenschap is eveneens een moeilijk bruikbare maat. Daarnaast wordt ook het aandeel kaakafwijkingen bij larven van Chironomiden als maat voor de invloed van verontreinigingen gebruikt.

Uit de analyse van een groot aantal bodemfaunamonsters uit het Rijn-Maas-estuarium kwam naar voren dat de soortensamenstelling vooral bepaald werd door: aanwezigheid van hard substraat, diepte, stroomsnelheid, erosie veroorzaakt door wind en scheepvaart, korrelgrootteverdeling en organische stof gehalte sediment. Alleen indien dit soort factoren vergelijkbaar zijn, is het mogelijk om effecten van contaminanten op de soortensamenstelling aan te tonen (Reinhold-Dudok van Heel & Den Besten 1999). Dit betekent dat vooral de ecologische kennis van individuele soorten van groot belang is. In Aquasense (2000) worden de resultaten van een inventarisatie naar mogelijke indicatorsoorten bij de macrofauna voor microverontreinigingen in het rivierengebied gepresenteerd. In deze studie

zijn ruim 600 macrofauna soorten onderzocht op hun indicatieve waarde. Hieruit kwamen 60 mogelijk gevoelige soorten naar voren.

De onderbouwing van de eventuele indicatorfunctie was voor het merendeel van de soorten echter zwak. Bij het gebruik van macrofauna indicatorsoorten moet daarom eerst worden nagegaan of aan de overige randvoorwaarden met betrekking tot de geschiktheid van de habitat voor de desbetreffende soort is voldaan, alvorens er iets gezegd kan worden over de mogelijke relatie tussen aan- en afwezigheid van soorten en contaminanten. Door Den Besten *et al.* (1995) is in het benedenrivierengebied uitgebreid onderzoek verricht naar de relatie tussen sediment kwaliteit en macrofaunasamenstelling. Hieruit kwam naar voren dat in monsters van plaatsen met verontreinigd sediment het aantal soorten laag was, de aantallen laag en een hoge dominantie van soorten die als relatief tolerant ten opzichte van contaminanten beschouwd worden. Het gebruik van macrofauna lijkt zeker mogelijkheden te bieden, maar voordat de methode bruikbaar is, dient zeker nog meer onderzoek te worden verricht. In Aquasense (2000) worden hiervoor aanbevelingen gedaan.

Kaakafwijkingen van Chironomiden vertonen een correlatie met de aanwezigheid van verontreinigingen (Van Urk *et al.* 1991). Tot op heden is echter in laboratoria geen duidelijke verband aangetoond tussen kaakafwijkingen en een bepaalde stof of groep van stoffen. Tevens kunnen in relatief schone gebieden ook kaakafwijkingen voorkomen. Hierdoor is het optreden van kaakafwijkingen geen betrouwbare maat voor toxische stress.

Een andere benadering is het bepalen van de verhouding tussen verschillende deelgroepen van de macrofauna of het berekenen van een index van de totale diversiteit. Een voorbeeld van de eerste methode is het berekenen van de verhouding tussen het aantal Chironomus larven en het totaal van Chironomus en Procladiuslarven (Den Besten *et al.* 2000). Bekende indices voor het berekenen van de macrofaunadiversiteit zijn de indices van Simpson en van Shannon-Wiever. Deze indices zijn echter niet goed bruikbaar voor de beoordeling van bijvoorbeeld waterbodempkwaliteit bij gebrek aan toetsingscriteria, er is geen voldoende duidelijke relatie met bodemverontreiniging (Den Besten 1993).

Door Pavluk *et al.* (2000) wordt de trofische structuur van de bentische macroinvertebraten gemeenschappen genoemd als maat voor de conditie van riviersystemen. Hierbij werd als maat de Index of Trophic Completeness gebruikt. In dit systeem wordt ieder organisme ingedeeld in één van de twaalf onderscheiden trofische groepen. Het ontbreken van een trofische groep wordt beschouwd als teken van antropogene beïnvloeding. Antropogene beïnvloeding kan echter zowel plaatsvinden door het ontbreken van natuurlijke oevers of door de aanwezigheid van microverontreinigingen. Verondersteld wordt dat iedere groep gevoelig is voor een bepaald type antropogene beïnvloeding. Voordat deze methode operationeel is, dient echter uitgebreid aanvullend onderzoek verricht te worden naar bijvoorbeeld effecten van één contaminant en mengsels van contaminanten. Tevens moeten ook de effecten van andere antropogene invloeden nog verder onderzocht worden (Pavluk *et al.* 2000).

### **Driehoeksmosselen:**

Een veelgebruikte methode is het uithangen van Driehoeksmosselen. Na enige weken worden in de driehoeksmosselen de gehalten van contaminanten vastgesteld. Deze methode is alleen bruikbaar indien bekend is welke gehalten samengaan met toxische stress. Tevens dient er zekerheid te bestaan dat voedsel niet beperkend is. Anders geeft deze methode geen antwoord op de vraag of er toxische stress aanwezig is.

#### **Wormen en Pissebedden:**

Voor de overgang van rivier naar land, dienen geheel andere organismen gebruikt te worden. Faber (Alterra) geeft aan dat pissebedden en wormen geschikte organismen zijn voor het bepalen van toxische stress, terwijl ook de microbiële afbraakprocessen goede indicatoren zijn. Belangrijk is evenwel dat voor toxische stress in uiterwaarden ook factoren als stikstof en de inundatiefrequentie van groot belang zijn. Tijdens inundaties kunnen pissebedden bij lagere temperaturen hun metabolisme verlagen (mond. med. J. Faber), terwijl ook wormen inundaties goed kunnen overleven (Ausden *et al.* 2001). Er is veel kennis over wormen en pissebedden bij Alterra aanwezig. Tevens heeft aan deze soorten modellering plaatsgevonden en is er veel kennis over het functioneren van deze organismen in modeecosystemen. Hierbij wordt tevens aandacht besteed aan:

- bodemademhaling;
- fragmentatie strooisel;
- introductie organische stof in bodem..

De systeemprocessen in de bodem zijn tijdrovende processen. Veranderingen in het water worden hiermee niet direct gemeten. Hier doorheen speelt de dynamiek van de uiterwaarden en de heterogeniteit van het milieu.

#### **Vissen:**

In het verleden is uitgebreid onderzoek verricht naar effecten van verontreinigingen op de brasem. Hierbij kwam naar voren dat de volgende effecten onder invloed van verontreinigingen optraden:

- Verandering gewicht;
- lever gewicht: grotere lever bij PCB-blootstelling;
- verschuiving sex-ratio;
- vervroeging geslachtsrijpheid.

Daarnaast werden in het verleden bij de baars ook afwijkingen aan de ruggengraat geconstateerd.

De volgende aspecten lijken als ecologische indicator waarde te hebben:

- sex-ratio: verschuiving naar meer vrouwelijke dieren;
- gonaden gewicht.

Daarnaast kan bij belasting met contaminanten een verhoogde vitellogenine-productie optreden, hetgeen een verschuiving in de sex-ratio kan veroorzaken, waardoor het aandeel vrouwelijke dieren toeneemt. Belangrijk aandachtspunt is echter dat bij het meetniveau eveneens een referentiewaarde nodig is. Indien de werkingswijze bekend is, is het mogelijk om het effect te beredeneren.

#### **Zoogdieren en vogels:**

Bij territoriale soorten, die voorkomen in gebieden met mogelijke contaminantproblemen, kan toxicologische stress optreden. Er is echter veel kennis van het onderzoeksdier nodig om toxische stress van ecologische stress te kunnen onderscheiden. Op dit moment zijn verschillende non-destructieve technieken beschikbaar om toxische stress te meten. Hierbij gaat het echter vaak om blootstelling en niet direct om effecten in de vorm van toxische stress. De volgende technieken zijn beschikbaar of bruikbaar:

- zware metalen in veren;
- zware metalen in haren;
- hormonen in bloed;
- PCB-patronen in bloed;
- organische microverontreinigingen in de stuitklier.

Bij mensen is goed onderzocht in hoeverre er merkstoffen in het bloed kunnen worden aangetroffen bij tumoren en leverschade. Op dit punt is er veel kennis beschikbaar bij medische instituten.

Bij het vaststellen van gehalten in veren, haren en bloed is vaak sprake van het vaststellen van een blootstellingspatroon en niet zozeer van een effect-patroon. Deze relaties dienen eerst te worden gelegd, alvorens deze metingen gebruikt kunnen worden voor het vaststellen van toxische stress.

Bij spitsmuizen is al wel onderzoek gedaan naar de interne blootstelling en naar effecten van toxische stress. Dit heeft onder ander plaatsgevonden in de vorm van histopathologisch onderzoek en het bepalen van enzymatische activiteit.

Een recente ontwikkeling is het meten van stoffen in uitscheidingsproducten als urine en feces. Een belangrijk voordeel hiervan is dat deze methoden niet destructief zijn en dat voor het verzamelen van materiaal de dieren niet gevangen hoeven te worden. In de uitscheidingsproducten kunnen de volgende zaken gemeten worden:

- sexhormonen;
- hormoongehalten;
- PCB-metabolieten;
- enzymatische activiteiten;
- blootstelling.

Op dit laatste punt is bij otters veel onderzoek verricht in Engeland en door Pim Leonards (RIVO). Hiervoor zijn spraints (faeces) gebruikt. Bij Alterra werkt men ook op dit gebied. Een nadeel van deze methode is echter weer, dat er een ijking van de resultaten moet plaatsvinden. Er moet een relatie worden gelegd tussen gehalten/effecten in het dier en de gehalten in de uitscheidingsproducten.

Een andere benadering bestaat uit het gebruik van natuurlijke processen als indicatoren voor toxische stress. Hierbij moet gedacht worden aan processen als:

- decompositie;
- denitrificatie;
- primaire productie.

Door bestrijdingsmiddelen kan bijvoorbeeld de decompositie negatief beïnvloed worden. Door een verandering in de nematodensamenstelling kan de decompositie beïnvloed worden. Een probleem is echter dat er bij de procesmatige benadering vaak sprake is van stress-indicatoren en niet zozeer van toxische stress. Op grond hiervan achten de meeste deskundigen processen minder geschikt als indicatoren voor toxische stress. In dit licht kunnen ook broed/reproductie-biologische en populatiedynamische aspecten bij vogels en zoogdieren worden genoemd.

### 6.3.3 Update van beschikbare toetsen na interviews met experts

Uit de interviews en contacten met experts kon tabel 6.1 als volgt worden geactualiseerd:

Tabel 6.2 Actualisering van tabel 6.1 met resultaten van interviews en contacten

Test	Compartment	Organisme of methode	Criterium	Referentie
Laboratoriumtoetsen (bio-assays, biomarkers, biochemie) <sup>a</sup>	Zoetwater	<i>Daphnia</i>  muggenlarven, haften	lysosoomstabiliteit DNA integriteit  groei/overleving gedrag	Den Besten & Tuk (2000) <sup>a</sup> Lahr et al. (in prep.)
Veld toetsen <sup>a</sup>  Early warning en actieve monitoring	Zoetwater	vis  phytoplankton bacteria muggenlarven <i>Daphnia</i>  waterplanten <i>Dreissena</i>	gedrag  overleving/reproductie overleving/reproductie/ groei	Hendriks & Stouten 1993 Noppert & Hendriks 1995  Hendriks <sup>b</sup> Hendriks <sup>b</sup> ; (De Jong et al., 2000) <sup>c</sup> (De Jong et al., 2000) <sup>c</sup>
	Zoutwater	<i>Mytilus</i>		
	Zoete en zoute systemen	Allerlei soorten in kooien		

Test	Compartiment	Organisme of methode	Criterium	Referentie
Passieve monitoring van de veldsituatie	Zoete en zoute systemen, bodem en water	Epidemiologie van vissoorten en chironomus	Kaakafwijkingen in Chironomus	info van Vethaak (per.com.)
		Indicator soorten		
		Fysiologie en biochemie van individuen	Spitsmuis, Steenuil, Das, Regenworm (van den Brink, van Hattum) Brasem lever- en gonadengewicht (Leonards) Baars rugkromming (van Hattum) Vitellogenine in vissen (Leonards)	Van den Brink, (pers.com.) <sup>d</sup> ; Van Hattum (pers.com.) <sup>e</sup>
		Struktuur van een populatie van een soort	Aalscholver Brasem sexratio (Leonards) Wormen	Leonards (pers.com.) <sup>f</sup> Klok <i>et al.</i> 1997 Boudewijn (pers. com.)
		Kolonisatie van kunstmatige substraten		
		Struktuur van een gemeenschap	Nematoden Chironomiden, Tubificiden	Kerkum (pers. com.) <sup>g</sup>
Functioneren ecosysteem	Decompositie toets (TNO) Microbiele afbraakprocessen	TNO <sup>h</sup> Faber <sup>i</sup>		



<sup>a</sup>Den Besten (RIZA): De actuele ontwikkeling is het werken met een combinatie van veldbio-assays en biochemische assays om de conditie van organismen te meten.

<sup>b</sup>Hendriks (RIZA): **Laboratoriumtoetsen:** Naast de standaardtoetsen die binnen RWS gebruikt worden (Hendriks & Van der Guchte, 1997), zijn recent een aantal nieuwe toetsen ontwikkeld met andere soortgroepen: nematoden (informatie: Jolande de Jonge, Piet den Besten (RIZA) en haften (Larh et al., in prep.). Daarnaast zijn zogenaamde toxkits ontwikkeld, welke een vereenvoudigde versie zijn van de bestaande toetsen (informatie: Hannie Maas (RIZA)). **Veldtoetsen:** In aanvulling op laboratoriumtoetsen en biomarkers worden ook veld bio-assays gebruikt. Een voorbeeld van de toepassing staat in Maas et al. (2001). De methodebeschrijving voor watervlooiën staat in Kamps (2000). Een vergelijkbaar systeem met muggenlarven wordt ook toegepast (Ria Kamps (RIZA)) Hendriks acht een combinatie van 3-4 bio-assays, 1-2 biomarkers en veld bio-assays (bijv. muggenlarven en watervlooiën) het meest kansrijk om te gebruiken in een Ecologische Beoordelingssysteem.

<sup>c</sup>De Jong et al. (2000) geven een overzicht van gebruikte bio-assays met waterplanten en vlooiën voor het aantonen van bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater. Op grond hiervan is een selectie van bio-assays gemaakt voor normstelling in het waterbeheer (pers. com. Bas van de Wal, STOWA); Van de Guchte (2000).

<sup>d</sup>**Van den Brink:** vooral het ontwikkelingen van non-destructieve technieken voor hogere organismen is belangrijk. Zo zijn al goede methoden beschikbaar voor zware metalen in veren, zware metalen in haren, hormonen in bloed, PCB-patronen in bloed. In bloed kunnen ook markerstoffen van tumoren en leverschade worden vastgesteld. Dit is voor mensen goed uitgezocht maar niet voor dieren. Mogelijk is veel kennis hierover beschikbaar bij medische instituten. Bij spitsmuizen zijn bruikbare methoden histopathologie, enzymatische activiteit en de interne blootstelling.

<sup>e</sup>**Van Hattum:** Eiwitten in de urine zijn een indicatie voor nierschade, die specifiek is voor cadmiumblootstelling. Daarnaast zijn bij hogere organismen ook non-destructieve meetmethoden in uitscheidingsproducten mogelijk. Hierbij kan gedacht worden aan sex-hormonen, hormoonanalyses, PCB-metabolieten, enzymatische activiteit. Daarnaast kan ook de blootstelling in spraints gemeten worden. Hieraan is in Engeland veel werk verricht maar ook door Pim Leonards in Nederland.

<sup>f</sup>**Leonards:** Bij brasem zijn er duidelijke aanwijzingen dat bij vergelijking van gegevens van 1970 met die uit het heden dat er effecten van verontreinigingen in het verleden zijn opgetreden. Dit kwam tot uiting in veranderingen in het gonadengewicht, levergewicht, sex-ratio (naar vrouwtjes gericht) en het vroeg geslachtsrijp zijn. Bij toekomstig visonderzoek zou je ook base-line studies moeten verrichten en dan informatie verzamelen over de sex-ratio en het gonaden gewicht.

<sup>g</sup>Frans Kerkum is bezig om een methode te ontwikkelen voor het vaststellen van stress in zoetwaterbodems met Nematoden. Wanneer dit een bruikbare methode wordt kan die toegepast worden in bijvoorbeeld de Triade benadering. Een beoordelingssysteem op basis van nematodengegevens zou als volgt moeten werken: door het invoeren van een gevonden nematoden populatie op een bepaalde locatie zal aangegeven worden of deze populatie overeenkomt met een populatie van een referentielocatie. Ook andersom zal het invoeren van fysische gegevens van een locatie moeten leiden tot een populatie van een referentielocatie. Op basis van overeenkomsten of verschillen kan vervolgens geconcludeerd worden of de locatie verstoord is of niet. Nematoden lijken veelbelovend te zijn, omdat dit organisme in nauw contact is met het sediment. Bovendien komen nog nematoden voor wanneer er al lang geen muggenlarven meer voorkomen. Nematoden worden overigens al lang in de terrestrische omgeving toegepast. Mensen die daar meer over weten zijn b.v. Ron de Goede, Tom Bongers (WUR), Gerard Korthals (NIOO), Peter Doelman (IWACO), Harm Keidel (BLGG), Rob Alkemade (RIVM), Jan Kamminga (WUR), Ton Schouten (RIVM). Ook Bioclear (Jaap van Waarden) is bezig met het samenstellen van een grote database (bevat zowel terrestrische als typische zoetwaternematoden). Macrofauna is op dit moment

goed bruikbaar voor het meten van toxische stress. Hierbij moet wel gekeken worden op welk substraat de organismen voorkomen. Organismen op hardsubstraat zullen wat zeggen over de waterkwaliteit, terwijl sedimentbewoners meer zullen zeggen over de kwaliteit van het slib.

<sup>h</sup>Door TNO (R. Jak) wordt (o.a. in het kader van een EU-project) met 3 buitenlandse universiteiten gewerkt aan toetsen voor in situ monitoring van ecoysteem processen. Het betreft toetsen voor het effect van toxische stress op primaire productie, decompositie, algenbegrazing, detritus consumptie (grof en fijn). Door een monitoring in schone en verontreinigde systemen wordt getracht de gevoeligheid en specificiteit van de toetsen vast te stellen. Over twee jaar wordt een handboek verwacht met daarin een beschrijving van de ontwikkelde toetsen.

<sup>i</sup>Bij Alterra werkt een promovenda, die zich bezig houdt met systeemprocessen in uiterwaarden, waarbij veel aandacht wordt besteed aan afbraakprocessen.

## 7 Overzicht van beoordelingsystemen

Voor het Nederlandse aquatische ecosysteem bestaan verschillende biologische meet-systemen die gebruikt worden om een uitspraak te doen over de biologische kwaliteit van het ecosysteem. In dit hoofdstuk wordt nader onderzocht in hoeverre deze meetsystemen ook een uitspraak kunnen doen over de aanwezigheid van toxische stress op het ecosysteem. Daarnaast worden bestaande ecotoxicologische normeringssystemen nader onderzocht om te kijken in hoeverre deze systemen gebruikt kunnen worden als meetlat voor toxische stress.

In tabel 7.1 wordt een overzicht gegeven van de verschillende meetsystemen die in deze studie worden besproken. Hierbij wordt aangegeven welke parameters het meetsysteem bevat en van welk toepassingsgebied sprake is. Dit laatste geeft aan in welk compartiment gemeten wordt, bijvoorbeeld water, waterbodem of semi-aquatisch, en of het toepassingsgebied lokaal of globaal is.

Tabel 7.1 Overzicht van beoordelingssystemen die gebruikt worden of in ontwikkeling zijn

Meetsysteem	Status	Biota	Compartiment	Lokaal/ globaal
AMOEBE	actief	alle	water/waterbodem	globaal
STOWA	actief	Fytoplankton Vissen	Water	lokaal
STOWA waterbodems	actief	macrofauna	waterbodem	lokaal
Netwerkbepaarding	in de maak	macrofauna	water/waterbodem	lokaal
EKI	concept	Levensgemeen- schappen	Water	lokaal
Natuurdoeltypen Aquatisch	in de maak	alle	water/waterbodem	globaal
Index of Biotic Integrity (IBI)	niet beschikbaar	n.v.t.	water	globaal
Kwaliteit van ecotopen	in de maak	alle	water	lokaal
GONZ	actief	alle	water	globaal

## 7.1 AMOEBE

De AMOEBE is een radarplot van enkele geselecteerde biologische variabelen voor een watersysteem. De waarde van de doelvariabelen wordt uitgedrukt als percentage van de waarden in de referentietoestand (situatie rond 1930). De meetwaarden worden geleverd als fractie van de referentiewaarde. Echter de meetwaarden kunnen ook ver boven de referentiewaarde stijgen.

De biologische meetnetten zijn niet goed afgestemd op AMOEBE's (Reeze 2000). De waarden benodigd voor de AMOEBE komen veelal niet voort uit de biologische meetsystemen. Verder kent het gebruik van doelsoorten de volgende beperkingen:

- Doelvariabelen (abundanties van een selecte groep soorten) geven mogelijk geen goed beeld van de gehele levensgemeenschap (Duel, 1997).
- Veranderingen in dichtheden kunnen niet worden toegeschreven aan één factor (Duel, 1997).
- Dichtheden van de geselecteerde soorten zijn zeer variabel.
- De doelsoorten zijn vaak schaars of bedreigd en worden dan niet of nauwelijks in meetprogramma's meegenomen.

Op grond van bovenstaande kenmerken zijn de AMOEBE's als beoordelingssystemen minder geschikt voor het meten van toxische stress. Vooral het niet kunnen toeschrijven van een bepaalde verandering aan één factor moet als negatief worden beoordeeld. Indien bepaalde aspecten van doelsoorten uit de AMOEBE's gebruikt worden, ontstaat mogelijk een goed beoordelingssysteem. Een voorbeeld hiervan zou de reproductie van een Aalscholverkolonie kunnen zijn. Aan het gemiddelde broedsucces per paar is een bovengrens gebonden, waarmee het broedsucces kan uitgedrukt worden ten opzichte van het maximale broedsucces. Wel geldt dat ook hier andere factoren dan toxische stress van invloed kunnen zijn.

## 7.2 STOWA

Deze ecologische beoordelingsmethode bestaat uit een weergave van het ecologisch niveau van enkele zogenaamde karakteristieken van het watersysteem, zoals trofie, saprobie, habitatdiversiteit etc. De uitspraak per karakteristiek is gebaseerd op meerdere maatstaven.

Bij dit beoordelingssysteem is de referentiewaarde niet expliciet omschreven. Voor elke soortgroep zijn kenmerkende soorten aangewezen, waarbij de referentiewaarde dichter wordt genaderd wanneer er meer kenmerkende soorten aanwezig zijn. De beoordelingssystemen zijn gebaseerd op macrofauna, fytoplankton en waterplanten, maar vissen ontbreken. Voor elk onderscheiden maatlat zijn 5 ecologische niveaus onderscheiden, waarbij de grenzen tussen 0 en 100 % liggen. Het voornaamste criterium voor de ligging van de niveaus is de verschuiving van abundanties van specifieke soorten, algemene en tolerante soorten. Aangezien de maatlaten aan een bepaalde karakteristiek gekoppeld zijn, kan een relatie worden gelegd met een anthropogene verstoring.

Van verschillende macrofaunasoorten is bekend dat zij bij toxische stress achteruitgaan of ontbreken. Op deze wijze biedt de STOWA-beoordelingsmethode mogelijkheden. Hierbij

dient wel opgemerkt te worden dat de STOWA methode niet ontwikkeld is voor de Rijkswateren. Het bestaande systeem voor kanalen en meren biedt wel goed aanknopingspunten (Reeze 2000).

### **7.3 Netwerkbenadering**

Bij de netwerkbenadering of cenotypologie staan voorkomende gradiënten van abiotische factoren en toleranties van soorten centraal. Levensgemeenschappen komen voor in een veelheid aan gradiënten. Door veranderingen van milieuomstandigheden in ruimte en tijd hangen gemeenschappen met elkaar samen in een netwerk. Met behulp van de cenotypologie is het mogelijk een bepaalde locatie te plaatsen in een netwerk van ontwikkelingsstadia. Het netwerk geeft de ontwikkelingen of maatregelen aan waardoor andere stadia bereikt kunnen worden. De netwerkbenadering is gebaseerd op een multivariate analyse van (macrofauna) gegevens.

Bij de cenotypologie wordt geen gebruik gemaakt van referentiewaarde. De waarden van biologische parameters kunnen niet worden gepresenteerd als getalswaarde tussen 0 en 1. Het is onduidelijk of effecten van toxische stress met deze methode in beeld kunnen worden gebracht.

### **7.4 Ecologische Kwaliteits Index (EKI)**

De EKI is bedoeld om de natuurwaarde in Nederland vast te kunnen stellen, maar bevindt zich nog in de conceptfase. In deze systematiek worden actuele gegevens over structuur, waterkwaliteit en levensgemeenschappen ingetekend op een maatlat van 0 tot 100 %. Er zijn zowel abiotische als biotische maatlaten. De biotische maatlaten bestaan uit enkele geselecteerde soorten. De waarden van de maatlaten kunnen op verschillende manieren geïntegreerd worden tot indicatoren, indices van de eerste orde, tweede orde en uiteindelijk tot een natuurwaarde.

Bij de EKI hangt de aard van de referentie af van de maatlaten die worden geselecteerd. De referentie bestaat dus steeds uit een referentiewaarden voor de gekozen maatlaten en verschilt dus per uitwerking. De maatlaten zijn geschikt voor verschillende soortgroepen en leiden tot getalswaarden tussen 0 en 1. Hoe de ligging van de klassengrenzen kan worden bepaald ten behoeve van het onderscheiden van ecologische niveaus is nog onduidelijk. Dit betekent dat het gebruik als maatlat voor toxische stress in de huidige nog niet volledige uitgewerkte vorm niet mogelijk is.

### **7.5 Natuurdoeltypen: aquatisch supplement**

Een natuurdoeltype is gedefinieerd als een nagestreefde combinatie van abiotische en biotische kenmerken op een bepaalde ruimtelijke schaal. De beschrijving van de referentiesituatie is kwalitatief van aard. Het voorkomen van soorten bepaalt het realiseren van natuurdoeltypen. Het toetscriterium is het percentage van doelsoorten van het gewenste type dat aanwezig is.

Het referentiebeeld wordt omschreven met behulp van abiotische en biotische variabelen, waarvan de laatste bestaan uit een set van doelsoorten, die geselecteerd zijn op basis van itz-criteria. Binnen de natuurdoeltypen worden geen ecologische niveaus onderscheiden. Het toetscriterium is de aan- of afwezigheid van soorten.

De methode richt zich erg op doelsoorten die bestaan uit zeldzame en bedreigde soorten. De monitoring zou zich daar ook op moeten richten. Indien het al dan niet voorkomen van zeldzame en bedreigde soorten gekoppeld kan worden aan ecotoxicologische stress, waarbij per soort een verschillende tolerantiegrens aanwezig is, zou de methode gebruikt kunnen worden voor het meten van toxicologische stress. Echter, voor de meeste soorten is slechts een beperkte ecologische kennis over het voorkomen bekend, zodat toxische stress zeker niet uit het al dan niet voorkomen afgeleid kan worden.

## 7.6 Index of Biotic Integrity (IBI)

De IBI is gebaseerd op een set maatlatten, die samen (voor verschillende schaalniveaus) een indruk geven van de gezondheid van het ecosysteem. Afhankelijk van het aantal maatlatten levert de IBI een bepaald getal. Kenmerk van de maatlatten is dat de waarde van de biologische parameter gerelateerd is aan menselijke beïnvloeding.

De referentie wordt gedefinieerd door de waarde aan de uiteinde van de geselecteerde maatlatten. De maatlatten zijn weer te geven als waarde tussen 0 en 1. Op statistische gronden kunnen verschillende rekenkundige niveaus worden onderscheiden. Het is echter niet duidelijk of deze rekenkundige niveaus aan bepaalde normatieve niveaus kunnen worden gekoppeld. Op dit moment ontbreken IBI's voor de Nederlandse oppervlaktewateren.

## 7.7 Kwaliteit van ecotopen

De biologische kwaliteit van ecotopen is gebaseerd op de volledigheid van kenmerkende soorten. Voor elk ecotoop is voor 8 soortgroepen een lijst van kenmerkende soorten opgesteld. De volledigheid wordt bepaald door het aantal aangetroffen kenmerkende soorten te delen door het totaal aantal kenmerkende soorten voor het ecotoop. Dit levert een waarde tussen 0 en 1.

De indeling is gebaseerd op het voorkomen van soorten, waardoor een zekere mate van toxische stress gelijk een drempelwaarde (het verdwijnen van een soort) moet overschrijden om in het beoordelingssysteem tot uiting te komen. Een belangrijke voorwaarde voor het systeem is dat van het desbetreffende water een ecotopenkartering heeft plaatsgevonden. Op dit moment is dit alleen voor de Rijkswateren het geval.

## 7.8 Graadmeterontwikkeling Noordzee (GONZ)

Dit is een toetsingskader voor het water- en natuurbeleid van de Noordzee. Twee beleidsthema's (biodiversiteit en ecologisch functioneren) zijn vertaald naar een aantal ecosysteemkenmerken, waarvoor graadmeters zijn ontworpen bestaande uit een aantal systeem-indicatoren, die direct kunnen worden afgeleid uit (of berekend) uit meetgegevens.

Voor alle systeem-indicatoren zijn referentiewaarden bepaald. De set hiervan vormt gezamenlijk de referentie. De toepassing van GONZ is echter beperkt tot de Noordzee. Het onderscheiden van toxische effecten op basis van ecosysteem graadmeters is binnen GONZ niet verder uitgewerkt. Dit betekent dat het optreden van toxische stress naar verwachting niet duidelijk binnen het meetsysteem tot uiting zal komen.

In tabel 7.2 is de opzet van GONZ weergegeven:

Tabel 7.2 Structuur van GONZ met ecologische niveaus op basis van graadmeters

EU	NL	Ecosysteemkenmerk	Graadmeter
Ecologische kwaliteit	Biodiversiteit	Soorten	Soortendiversiteit Populatie-dichtheid Verspreidingsgebied
		Soortgroepen	Structuur van de gemeenschap
		Ecotopen	Oppervlakte en kwaliteit
	Ecologisch functioneren	Productiviteit	Productie -primair -secundair -tertiair
		Voedselwebstructuur	Dichtheid stapelvoedsel
			Dichtheid toppredatoren
			Complexiteit voedelweb
			Trofische structuur van de gemeenschap

## 8 Analyse van bruikbaarheid van toetsen

### 8.1 Beoordeling bruikbaarheid op basis van randvoorwaarden en selectiecriteria KRW

Op basis van de KRW werden de volgende selectiecriteria gedefinieerd:

- De methode toetst aan een referentie;
- De methode doet een uitspraak over de biologische kwaliteitselementen fytoplankton, macrofauna, vis, waterplanten en fyto-benthos;
- Voor elke biologische parameter kunnen de resultaten van de methode worden gepresenteerd als een getalswaarde tussen 0 en 1;
- Deze schaal kan worden ingedeeld in vijf ecologische klassen (van een zeer goede tot zeer slechte toestand);
- De methode koppelt normatieve ecologische niveaus aan de mate van antropogene beïnvloeding;
- De methode gaat uit van een indeling van oppervlaktewater volgens fysische en chemische factoren die bepalend zijn voor de kenmerken van het oppervlaktewater.

Als we de groepering van de toetsen zoals beschreven in hoofdstuk drie hiermee combineren ontstaat tabel 8.1. Alle waarden zijn tentatief ingevuld met een 3 klassen-schaal van ‘-,+,+’.

Tabel 8.1 Beschikbare en mogelijke toetsen in relatie tot KRW

	Referentie	Biologische elementen	Getalswaarde Meetresultaat 0-1	Mogelijkheid van 5 ecol. klassen	Normatieve niveaus	Indeling opp. water
Biochemisch	+	-	+	-	-	+
Bio-mimetisch	+	Vis/ macrofauna	+	-	-	+
Biomarkers	+	+	+	-	-	+
Bio-assay	+	Allemaal?	+	++	++	+
Ecosysteem-Veld Early Warning en actieve monitoring	+	+	+	++	++	+
Ecosysteem-Veld passieve monitoring	++	+	+	+	+	+
Epidemiologie van vissoorten en chironomus	+	++	+	+	+	+



	Referentie	Biologische elementen	Getalswaarde Meetresultaat 0-1	Mogelijkheid van 5 ecol. klassen	Normatieve niveaus	Indeling opp. water
<i>Indicator soorten</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Fysiologie en biochemie van individuen</i>	+	--	+	-	--	+
<i>Struktuur van een populatie van een soort</i>	--	--	--	--	--	+
<i>Kolonisatie van kunstmatige substraten</i>	--	--	--	--	--	+
<i>Struktuur van een gemeenschap</i>	--	--	--	--	--	+
<i>Functioneren ecosysteem</i>	--	--	--	--	--	+

## 8.2 Selectiecriteria volgens De Zwart

De lijst van selectiecriteria zoals geformuleerd in De Zwart (1995).

### Wetenschappelijk

- Hoog informatiegehalte zodat oorzaak en gevolg kunnen worden gekoppeld. Goede afstemming van tijd- en ruimteschalen van de blootstelling en de toets;
- Ecologische informatiegehalte. Niet alleen informatie over effect op individuen maar ook op het niveau van populaties, gemeenschappen en het ecosysteem;
- Specificiteit. Het gemeten effect in de toets-soort zou liefst ook model moeten staan voor effecten in andere soorten;
- Stofspecifiek. Een waargenomen effect moet zo mogelijk een indicatie zijn van de oorzaak van het effect;

### Bruikbaarheid

- Bekende dosis-effect relatie;
- Gevoeligheid voor in het veld te verwachten blootstellingsniveaus;
- Grote toelaatbare range van blootstellingsniveaus waarbij kan worden gemeten;
- Respons snelheid is in overeenstemming met de te meten variabiliteit in de blootstelling;
- Het meetsignaal moet onderscheiden kunnen worden van andere oorzaken van variaties;
- Dit houdt in dat het meetsignaal voldoende precies moet kunnen worden gemeten;
- Een toets moet gestandaardiseerd en gecalibreerd kunnen worden;
- Een toets moet een breed toepassingsgebied hebben;
- Een toets moet kosten effectief zijn.

### Organisatorisch

- Kosten in relatie tot de minimaal benodigde meetinspanning;
- Ervaring met toepassing in vergelijkbare systemen.

Tabel 8.2 Beschikbare en mogelijke toetsen in relatie tot selectiecriteria 'bruikbaarheid'

	Dosis-effect	Gevoeligheid	Range	Signaal/ruis	Standaardisatie	Toepassingsgebied
Biochemisch	+	+	+	+	+	+
Bio-mimetisch	+	+	+	+	+	+
Biomarkers	+	+	+	+	+	+
Bio-assay	-+	-+	+	-+	+	+
Ecosysteem-Early Warning en actieve monitoring	-+	-+	-+	-+	-+	-+
Ecosysteem passievemonitoring	-+	-+	+	-+	-+	-+
<i>Epidemiologie van vissoorten en chironomus</i>	-+	-+	-+	-+	-+	-+
<i>Indicator soorten</i>	-+	-+	-+	-+	-+	-+
<i>Fysiologie en biochemie van individuen</i>	-+	+	-+ hangt af van toets	+	+	-+
<i>Struktuur van een populatie van een soort</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Kolonisatie van kunstmatige substraten</i>	-	-	-	-	-+	-+
<i>Struktuur van een gemeenschap</i>	-	-	-	-	-	-locatiespecifiek
<i>Functioneren ecosysteem</i>	-	-	-	-	-	-locatiespecifiek

Als door de geïnterviewde experts gekeken wordt naar de lijst van randvoorwaarden die aan de bruikbaarheid van toetsen worden gesteld (zie voorgaande hoofdstuk), dan worden op het niveau van populaties, gemeenschappen en het ecosysteem als geheel geen toetsen genoemd die hieraan voldoen (Tabel 8.2). Met name de eenduidigheid van de graadmeter is op dit niveau ontbrekend. Daarnaast zijn graadmeters zoals kaak-afwijkingen van chironomiden, dichtheid van tubificiden of sexratio van vispopulaties geen absolute maat van de mate van toxische stress in een watersysteem. De schalen van deze graadmeters zijn relatief en moeten daarom worden vergeleken met referenties om tot een uitspraak te kunnen komen.

Bovenop deze niet geringe interpretatieproblemen van de toetsen komt nog de noodzaak om de resultaten te interpreteren op een wijze die een waterbeheerder kan helpen om de kwaliteit van zijn systeem te handhaven of te verbeteren. Dit houdt in dat in het beste geval

een graadmeter tegelijkertijd een mate van effect op populatie-, gemeenschaps- of ecosysteemniveau uitdrukt en stof(groep) specifiek is. Dit is eigenlijk nooit tegelijkertijd het geval.

Tenslotte wordt geconstateerd dat door het veelal ontbreken van historische data voor specifieke toetsen weinig informatie over trends in toxische stress op specifieke locaties kan worden verkregen. Het huidige MWTL monitoring programma bevat te weinig meetpunten met een te lage frequentie om bruikbaar te zijn voor analyse van *locale effecten* van toxische stress. Het bevat wel een combinatie van fysische, chemische en biologische gegevens per meetpunt en is in principe een waardevolle dataset voor analyse van grootschalige trends. Dit probleem wordt natuurlijk geringer naarmate meer gegevens beschikbaar komen uit reguliere monitoringsprogramma's.

Tabel 8.3 Beschikbare en mogelijke toetsen in relatie tot selectiecriteria 'wetenschappelijk' en 'organisatorisch'

	Informatie	Ecosysteem	Specificiteit Soort - =zeer specifiek	Specificiteit Stof	Kosten + =laag	Ervaring
Biochemisch	+	-	+ generiek-werkingsprincipe	+	+	+
Bio-mimetisch	+	-	+ generiek-werkingsprincipe	-+	+	-+
Biomarkers	+	-	+	+	+	-
Bio-assay	+	-	-	-+	+	+
Ecosysteem-Early Warning en actieve monitoring	+	-	-	-	-+	-+
Ecosysteem passievemonitoring	-+	-+	-	-	-	-+
<i>Epidemiologie van vissoorten en chironomus</i>	-+	-	-	-	-	-+
<i>Indicator soorten</i>	-+	-	-	-	-	-+
<i>Fysiologie en biochemie van individuen</i>	-+	-	-+ hangt af van toets	-	-	-
<i>Struktuur van een populatie van een soort</i>	-	+	-	-	-	-
<i>Kolonisatie van kunstmatige substraten</i>	-	+	+	-	-	-+
<i>Struktuur van een gemeenschap</i>	-	+	+	-	-	-
<i>Functioneren ecosysteem</i>	-	+	+	-	-	-

Zowel in De Zwart (1995) als ook in Herbst & Nendza (1999) is een gedetailleerde analyse uitgevoerd naar gevoeligheid, specificiteit, beschikbaarheid van de methode en materialen,

representativiteit, kosten-effectiviteit en intercalibratie van de methode voor de beoogde toepassing (marine sedimenten) en relevantie voor bepaling van effect op ecosysteem. Het overgrote deel van de 37 door Nendza beoordeelde toetsen valt in de categorie 'biochemisch' en 'bio-assay'. Enkele toetsen vallen onder passieve monitoring van de veldsituatie 'epidemiologie' (bijvoorbeeld imposex bepaling) of meting van fysiologische/biochemische afwijkingen in individuen (vitellogenine in vis). Slechts 1 toets valt in een hoger ecosysteem niveau, namelijk de analyse van de structuur van de benthos gemeenschap. De resultaten van De Zwart wijken hier niet wezenlijk van af.

### 8.3 Indicatoren voor graadmeters in GONZ

De onderstaande tabel is gebaseerd op een ordening van de graadmeters zoals geformuleerd in GONZ-kader en in de tabel wordt aangegeven of er een voor het betreffende graadmeter een toets beschikbaar is voor een systeem voor beoordeling van toxische stress.

Tabel 8.4 Mogelijke toetsen per graadmeter in GONZ

Ecosysteem-kenmerk	Graadmeter	Mogelijke toetsen toxische stress
Soorten	Soortendiversiteit plankton	?
	Soortendiversiteit macrofauna	Chironomiden en Oligochaeten toets in TRIADE Macrofauna gemeenschap toets in STOWA
	Soortendiversiteit vissen	?
	Soortendiversiteit vogels	?
	Soortendiversiteit zoogdieren	?
	Populatie plankton	?
	Populatie macrozoobenthos	Allerlei diversiteit en abundantie toetsen
	Populatie vissen	Brasem sexratio
	Populatie vogels	Steenuil Aalscholver
	Populatie zoogdieren	Otter Spitsmuis Das
	Verspreidingsgebied zoogdieren	Otter
Soort groepen	Structuur van de plankton-gemeenschap	?

<b>Ecosysteem-kenmerk</b>	<b>Graadmeter</b>	<b>Mogelijke toetsen toxische stress</b>
	Struktuur van de macrozoobenthos gemeenschap	Zie soortendiversiteit en abundanties Nematoden
	Struktuur van de visgemeenschap	?
Ecotopen	Oppervlakte en kwaliteit van ecotopen	RIZA, RIVM
Productiviteit	Productie -primair -secundair -tertiair	Algen productie toets TNO Decompositie toetsen ?
Voedselwebstructuur	Dichtheid stapelvoedsel	?
	Dichtheid toppredatoren	?
	Complexiteit voedselweb	?
	Trofische structuur van de macrozoobenthos gemeenschap	?

Het is duidelijk dat niet alle beschikbare toxische toetsen passen in het systeem zoals dat door GONZ wordt aangeleverd. Met name biochemische toetsen, bio-assays en fysiologische toetsen op individuen van een soort passen niet in het systeem. Dit is logisch omdat GONZ pretendeert een beoordelingsstelsel te zijn van ecosysteemfunctioneren, terwijl dit juist niet het geval is voor de bulk van toxische toetsen. Hiermee wordt duidelijk dat een aanvullende indeling nodig zal zijn. Dit wordt niet nader uitgewerkt in deze rapportage.

## 9 Discussie en conclusies

### 9.1 Discussie

#### 9.1.1 Toetsen met ecologische indicatoren op ecosysteemniveau

Uit voorgaand hoofdstuk blijkt dat er wel degelijk ecologische indicatoren aan te wijzen zijn die een maat zijn of kunnen worden voor ecologisch functioneren van het ecosysteem. De meeste toetsen met deze indicatoren zijn echter nog volop in ontwikkeling. De geïnterviewde experts merken op bij de behoefte aan niet destructieve methodieken groot is, (bijvoorbeeld door nemen van bloedmonsters, haar of veren, urine of feces) zodat vogels en zoogdieren kunnen worden bemonsterd zonder te hoeven doden. De analyses van De Zwart (1995) en Herbst & Nendza (1999) geven aan dat het ontbreken van absolute resultaten van toetsen nog grote struikelblokken zijn voor de verdere ontwikkeling van toetsen. Belangrijke punten van onderzoek zijn het vaststellen van juiste referentiesituaties, de relaties tussen blootstelling en toxische effecten en het onderscheid tussen toxische stress en stress door andere omgevingsfactoren.

In het algemeen geldt dat toetsen op ecosysteemniveau niet stofspecifiek zijn en dat de interpretatie van de resultaten wordt bemoeilijkt door andere stressfactoren in het ecosysteem. Volgens van Hattum en van den Brink zijn specifieke fysiologische toetsen wel in staat om de toxische stress op het niveau van een individueel dier (vogels, zoogdieren, vissen) te bepalen. Interpretatie hiervan naar ecosysteemeffecten is moeizaam. Onderzoek naar fysiologische effecten bij steenuilen, spitsmuizen, vissoorten en regenwormen is gaande en leidt mogelijk tot bruikbare toetsen.

Voor (gemeenschappen van) organismen geldt dat hoe hoger hun plaats in het voedselweb is, hoe meer geïntegreerd de effecten van toxische stress zijn in ruimte en tijd. Bij de keuze van een ecologische indicator is de vraag belangrijk op welk niveau de toxische stress vastgesteld moet worden. Indien dit op het laagste niveau moet plaatsvinden, dient de toxische stress bij bacteriën en flagellaten vastgesteld te worden. Ook kan gestreefd worden naar een hoog geïntegreerd systeem. Hierbij kan als voorbeeld de monitoring van het broedsucces van aalscholvers in de Dordtse Biesbosch gebruikt worden. Hierbij zijn niet alleen de stoffen bekend die de effecten veroorzaken, maar ook is bekend op welke wijze de verontreinigingen via het voedsel in meer of mindere mate tot een effect leiden.

### 9.1.2 Beoordelingssystemen

De eisen die de KRW stelt aan de toetsen zijn niet heel erg gedetailleerd en lijken uiteindelijk wel haalbaar op basis van deze globale analyse. De beschikbare beoordelingssystemen voor de Nederlandse waterbeheerders zijn geen van allen direct bruikbaar voor inzet in het kader van bepaling van toxische stress in ecosystemen. De structuur van GONZ leent zich wel goed voor een beoordelingssysteem voor toxische stress, gebaseerd op ecologische indicatoren. Kijkend naar de selectie van graadmeters in GONZ blijkt wel dat niet voor alle graadmeters toetsen beschikbaar zijn. Daarnaast passen veel laboratoriumtoetsen niet in het stramien zoals dat door GONZ wordt gegeven. Dit zijn met name biochemische toetsen, bio-assays en fysiologische toetsen op individuen van een soort. Het systeem GONZ zou hiermee uitgebreid kunnen worden.

De methodiek van STOWA lijkt aanknopingspunten te bieden door te kijken naar voorkomen en abundanties van macrobenthossoorten. Als toets voor bepaling van toxische effecten is deze parameter weinig ontwikkeld. In ieder geval ligt hier een aanknopingspunt om de baseline natuurlijke condities vast te stellen op basis van de STOWA methodiek. Bij de ontwikkeling van een beoordelingssysteem kan aangesloten worden bij de ontwikkeling van een Raamwerk voor Ecologische Beoordeling van Watersystemen (REBEWA).

### 9.1.3 Inzet van systeemanalyse, modelstudies en monitoring

Uit deze studie blijkt het belang van ontsluiten en opbouwen van databases, waarmee op termijn trends in toxische effecten nauwkeuriger kunnen worden vastgesteld. Een belangrijk probleem bij het meten van toxische stress is het onderscheid tussen stress door toxische stoffen en andere stress factoren. Een manier om dit probleem aan te pakken is een analyse van het systeem, waardoor het functioneren van het systeem begrepen wordt. Een systeemanalyse kan bestaan uit modelbouw, in combinatie met validatie in het veld of in mesocosms. Experimenten in mesocosms zijn goed te gebruiken om meer inzicht in het systeem te krijgen. De Zwart stelt ook voor om modellen in te zetten om natuurlijk ecosysteemfunctioneren te kunnen vergelijken met de gemeten afwijkende situatie, zodat interpretatieproblemen op basis van vergelijking met monsters uit een andere fysisch-chemische omgeving kunnen worden ingeperkt.

## 9.2 Visie

Toetsen met ecologische indicatoren op ecosysteemniveau voldoen bijna nooit aan alle opgestelde criteria met betrekking tot wetenschappelijkheid of bruikbaarheid. Dit is een logisch gevolg van de toenemende complexiteit van een gemeten effect van toxische stress op grotere tijd- en ruimteschaal. Dit probleem is gedeeltelijk op te lossen door toetsen in combinatie te gebruiken. Toetsen op andere tijd- en ruimteschalen geven verschillende informatie, die in combinatie meer inzicht geeft dan elke toets apart. De interpretatie van een toxisch effect op een hogere tijd- en ruimteschaal wordt mogelijk door de resultaten te combineren met toetsresultaten op lagere tijd- en ruimteschalen.

Per tijd- en ruimteschaal kunnen toetsen gecombineerd worden met strategisch gekozen chemische metingen en laboratoriumtoetsen. De gewenste informatie die deze metingen bevatten kan ontsloten worden met geavanceerde data-analyse en modelstudies.

## 9.2.1 Kansrijke ecologische indicatoren

In tabel 8.1 zijn beschikbare ecologische indicatoren ingedeeld in lokale of regionale ruimteschaal en is aangegeven of het toetsen op het niveau betreft van een individu, een populatie of het ecosysteem.

Tabel 8.1 Ecologische indicatoren voor chronische toetsen ingedeeld in lokale of regionale ruimteschaal

	lokaal	regionaal
<b>individu</b>	bacteriën, nematoden, macrobenthos, kleine territoriale zoogdieren zoals muizen	vogels (metalen in veren) , vissen, territoriale zoogdieren zoals otters
<b>populatie</b>	macrobenthos, nematoden, perifyton, wormen	broedsucces aalscholvers, vissen (sex-ratio bijv.)
<b>ecosysteem</b>	procesparameters	procesparameters

Kansrijke indicatoren uit tabel 8.1 zijn:

### schaal individu-lokaal:

- gehalten aan contaminanten in kleine zoogdieren zoals muizen, ook in uitscheidingsproducten
- accumulatie van contaminanten in driehoeksmosselen
- interne enzymatische activiteit van kleine zoogdieren

### schaal individu-regionaal:

- gehalten aan contaminanten in dieren op hoger trofieniveau zoals otters, das, aalscholvers; ook in uitscheidingsproducten

### schaal populatie-lokaal:

- perifyton op steen,
- soortsamenstelling van macrofauna
- rijpheidsindex nematodengemeenschap
- populatie-opbouw wormen

### schaal populatie regionaal:

- sex-ratio vissen
- broedsucces aalscholvers

### schaal ecosysteem lokaal + regionaal:

- procesparameters zoals decompositie, productie

## 9.3 Aanbevelingen

Voor bepaling van toxische effecten in het kader van de EKW en Rijkswaterstaat meetnetten worden de volgende aanbevelingen genoemd:

- Samenstelling van 'toetsbatterij' van soorten met verschillend eetgedrag en trofieniveaus die kenmerkend zijn voor een bepaald watersysteem type. Keuze van toetsen die voldoende gevoelig en specifiek zijn om een toxisch effect tot het niveau van een stofgroep te kunnen bepalen. Dit leidt waarschijnlijk tot een combinatie van bio-assays met organismen verzameld in het veld en epidemiologische/fysiologische toetsen aan individuen van geselecteerde soorten uit het veld.



- Starten met opslaan van weefsel- water- en sedimentmonsters, in combinatie met bepaling van fysische chemische toestand en aanwezigheid van microverontreinigingen teneinde een database op te bouwen die in de toekomst een mogelijkheid biedt om historische trends voor bekende en onbekende stoffen te analyseren. Bijvoorbeeld in aansluiting op MWTL.
- Versterken van de ontwikkeling van toetsen op ecosysteemniveau, met als doel een verbeterde gevoeligheid en eenduidigheid. Dit kan worden gecombineerd met een (statistische) analyse van beschikbare databases om mogelijke trends en correlaties op te sporen.
- Nu al samenstellen van een minimale toetsbatterij in koppeling aan een ecologisch beoordelingssysteem, opdat zo snel mogelijk ervaring wordt opgedaan met de implicaties en (on-) mogelijkheden van een dergelijke aanpak.

## 10 Literatuur

- APHA 1992 Standard Methods. American Public Health Association & American Water Works Association & Water Pollution Control Federation, Washington DC, USA, 18th edition, ISBN 0-87553-207-1.
- Aquasense, 2000. Macrofauna indicatorsoorten voor microverontreinigingen in het riviereengebied. Rapportnummer 1611.2000. Aquasense, Amsterdam.
- ASTM 1991. Standard guide for conducting sediment toxicity tests with freshwater invertebrates. American Society for Testing of Materials, Philadelphia, USA, Guideline E 1391-90.
- ASTM E1367-92. 1992. Standard guide for conducting 10-day static sediment toxicity tests with marine and estuarine amphipods.
- Ausden M., W.J. Sutherland & R. James 2001. The effects of flooding lowland wet grassland on soil macroinvertebrate prey of breeding wading birds. *J. Applied Ecology* 38: 320-338.
- Bayne, D.L., D.A. Brown, K. Burns, D.R. Dixon, A. Ivanovici, D.R. Livingstone, D.M. Lowe, N.M. Moore, A.R.D. Stebbing & J. Widdows 1985. The effects of stress and pollution on marine animals. Preager Publ., New York, USA, pp. 375.
- Bebianno, M.J. & W.J. Langston (1991) Metallothionein induction in *Mutilus edulis* exposed to cadmium. *Mar. Biol.*, 108, p. 91-96.
- Besten J. den, 1993. Biotisch effectenonderzoek ten behoeve van Nader Onderzoek Nieuwe Merwede. Rijkswaterstaat Directie Zuid-Holland 5.500.4.2 / RIZA-nota 93.020.
- Besten P.J. den, J.F. Postma, J.W.M. Wegener, H. Keidel, A. Klink, J. Mol & C. van der Guchte, 2000. Biological and chemical monitoring after pilot remediations in the delta of the rivers Rhine and Meuse. *Aquatic Ecosystem Health and Management* 3: 317-334.
- Besten P.J. den, C.A. Schmidt, M. Ohm, M.M. Ruys, J.W. van Bergem & C. van de Guchte, 1995. Sediment quality assessment in the delta of rivers Rhine and Meuse based on field observations, bioassays and food chain implications. *Journal of Aquatic Ecosystem Health* 4: 257-270.
- Besten, P.J. den & Tuk, C.W. 2000. Relation between responses in the neutral red retention test and the comet assay and life history parameters of *Daphnia magna*. *Marine Environmental Research* 50, pp. 513-516.
- Bongers T., 1990. The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia* 83: 14-19.
- Bongers T. & T. Schoputen, 1991. Nematodengemeenschappen als potentieel diagnostisch instrument voor chemische verontreinigingen. In: G.P. Hekstra & F.J.M. van Linden (red.): *Flora en fauna chemisch onder druk*. pp.175-186. Pudoc, Wageningen.
- Brouwer, H., T. Murphy & L. McArdle 1990. A sediment-contact bioassay with *Photobacterium phosphoreum*. *Environment Toxicology and Chemistry*, 38, p. 1353-1358.
- Canton, J.H., W. Sloff, E. van Donk, R. Beemen, K. van de Guchte & C.J. van Leeuwen 1985. Milieutoxicologisch onderzoek aan effluent en ontvangend oppervlaktewater, Locatie III. Rapport nr. 840161001, RIVM, pp. 32.

- De Kock, W.Chr. & J. Kuiper 1981. Possibilities for marine pollution research at the ecosystem level. *Chemosphere*, 10, p. 575-603.
- De Kruijf, H.A.M. (1991). Extrapolation through hierarchical levels. *Comp Biochem. Physiol.*, Vol. 100C, No. 1 / 2, p. 291-299.
- De Zwart, D. (1995); Monitoring water quality in the future, Volume 3 biomonitoring. RIVM, Bilthoven.
- Duel, H. 1997. GONZ toetsingskader voor het water- en natuurbeleid voor de Noordzee. In opdracht van RWS en Ministerie van LNV.
- Environment Canada 1992. Biological test method: Growth inhibition test using the freshwater alga *Selenastrum capricornutum*. Environmental Protection Series, pp. 42.
- EPA/600/R-94/025. 1994. Methods for assessing the toxicity of sediment-associated contaminants with estuarine and marine amphipods. United States Environmental Protection Agency.
- Guchte, C. van de, 2000 Normen voor het waterbeheer. Commissie Integraal Waterbeheer. Den Haag. pp. 184.
- Hellawel, J.M. 1986 Biological Indicators of Freshwater Pollution and Environmental Management. In: Pollution Monitoring Series (Advisory ed. K. Mellanby), Elsevier Applied Science, Barking, UK, ISBN 1-85166-001, pp. 546.
- Hendriks, A.J. & Van de Guchte, C. 1997. Optimal modelling and monitoring in ecotoxicological assessments: choosing instruments for applied research and management with examples from the Rhine-Meuse delta. *environmental Toxicology and Water Quality* 12: 321-333.
- Hendriks, A.J. & M.D.A. Stouten, 1993. Monitoring the response of microcontaminants by dynamic *Daphnia magna* and *Leuciscus idus* assays in the Rhine delta: Biological early warning as a useful supplement. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 26 (3): 265-279.
- Herbst, T. & M. Nendza, 1999. Inventory of Marine Biotest Methods for the Evaluation of Dredged Material and Sediments. Environmental research of the federal ministry of the environment, nature conservation and nuclear safety. Research Report 29825753. UBA-FB 000046. ISSN 0722-186.
- ICES. 1994. Report of the ICES advisory committee on the marine environment, 1994. ICES Coop. Res. Rep. No. 204.
- ICES. 1996. Report of the ICES advisory committee on the marine environment, 1996. ICES Coop. Res. Rep. No. 217.
- ICES. 1999. Report of the working group on biological effects of contaminants. Den Haag, 12-16 April, 1999.
- ISO 1987. Water quality- Algal growth inhibition test n201 International Standards Organization, Geneva, Switzerland, TC 147/ISO DIS 8692, pp. 7.
- Jong, F.M.W. de, J.W. Deneer & W.L.M. Tamis (2000) Veldbioassays: ontwikkeling van een richtlijn voor veldbioassays met watervlooien en waterplanten voor het aantonen van bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater. CML rapport 150, Alterra rapport 061. Leiden: Centrum voor Milieukunde, Wageningen: Alterra.
- Kamps, M.A.A.J. (2000). Protocol voor het uitvoeren van de watervlooien. Veldtoets met de biokorf. RIZA werkdocument, 2000.197X.

- Klok C., A.M. de Roos, J.C.Y. Marinissen, H.M. Baveco & W.c. Ma 1997. Assessing the effects of abiotic environmental stress on population growth in *Lumbricus rubellus* (Lumbricidae, Oligochaeta). *Soil Biology and Biochemistry* 29: 287-293.
- Lahr, J., Maas-Diepeveen, J.L., Stuijzand, S.C., Leonards, P.E.G., S. Lucker, A. Espeldoorn, L.C.M. Kerkum, L.L.P. van Stee & A.J. Hendriks (in prep.). Toxicity identification and evaluation in inland waters III: bioassay responses in sediments and suspended matter.
- Maas, J.L., E. De Bruijne, A. Espeldoorn, E.M. Foekema & A.J. Hendriks 2000. Validatie risicoschatting gifstoffen in uitslagwater bij drie gemalen in Flevoland. RIZA Werkdocument: 2000.195X.
- Nendza, M. (1999). Inventory of marine biotiest methods for evaluation of dredged material and sediments. Research Report 298 25 753, UBA-FB 000046, Umweltbundesamt, Berlin, Deutschland.
- NEN-ISO 1994. *Ontwerp NEN-ISO Norm 6341 Water*. Bepaling van de remming van de mobiliteit van *Daphnia magna* Strauss (Cladocera, Crustacea). Acute toxiciteit. Nederlands Normalisatie Instituut, Delft. pp. 12.
- NNI 1993. *NVN 6516- Nederlandse voornorm n Water*. Bepaling van de acute toxiciteit met behulp van *Photobacterium phosphoreum*. Nederlands Normalisatie Instituut, Delft. pp. 16
- Noppert, F. & A.J. Hendriks, 1995. Bewaking van oppervlaktewater met vissen en watervlooiën. *Praktijkervaringen op Rijn en Maas in de periode 1988-1992*. H2O 28 (4): 112-114.
- OSPAR 1995. Report of the workshop on biological effects monitoring techniques. Aberdeen, Scotland, 2-6 October 1995.
- PARCOM. 1995. Protocols on methods for the testing of chemicals used in the offshore industry. Part A: A sediment bioassay using an amphipod *Corophium sp.* Oslo and Paris Commissions.
- PARCOM. 1995. Protocols on methods for the testing of chemicals used in the offshore industry. Part B: Protocol for a fish acute toxicity test. Oslo and Paris Commissions.
- Pavluk T.I., A. bij de Vaate & H.A. Leslie 2000. Development of an index of trophic completeness for benthic macroinvertebrate communities in flowing waters. *Hydrobiologia* 427: 135-141.
- Reeze, A.J.G., 2000. Overzicht van ecologische beoordelingsmethoden in relatie tot de Kaderrichtlijn Water. RIZA-werkdocument 2000.036X, 3 april 2000.
- Reinhold-Dudok van Heel H.C. & P.J. den Besten 1999. The relation between macroinvertebrate assemblages in the Rhine-Meuse delta (The Netherlands) and sediment quality. *Aquatic ecosystem Health and Management* 2: 19-38.
- Rott E., 1991. Methodological aspects and perspectives in the use of periphyton for monitoring and protecting rivers. In: B.A. Whitton, E. Rott & G. Friedrich (eds.): *Use of Algae for monitoring rivers*. pp. 9-16. Institut für Botanik, Innsbruck.
- Slooff, W. 1983. A study on the usefulness of feral fish as indicators for the presence of chemical carcinogens in Dutch surface waters. *Aquatic Toxicol.* 3, p. 127-139.
- Round F.E., 1991. Use of diatoms for monitoring rivers. In: B.A. Whitton, E. Rott & G. Friedrich (eds.): *Use of Algae for monitoring rivers*. pp. 25-32. Institut für Botanik, Innsbruck.
- UBA. 1995. Protokoll der 4. Sitzung (Biologische Sondersitzung der AG Qualitätssicherung im Bunder-Meßprogramm Nord- und Ostsee) am 21.-23. August 1995 im BSH, Hamburg, Germany.

- Urk G. van, F.C.M. Kerkum & H. Smit 1991. Life cycle patterns, density and deformity incidence in Chironomus larvae (Diptera: Chironomidae) in relation to a toxic pollution gradient. In: J.A.W. de Wit, M.A. van der Gaag, C. van der Guchte, C.J. van Leeuwen & J. Koeman (red.): The effect of micropollutants on components of the Rhine ecosystem. pp. 25-38. EHR-rapport 35 ñ 1991.
- Vethaak, D. & J. van der Meer 1991. Fish disease monitoring in the Dutch part of the North Sea in relation to the dumping of waste from titanium dioxide production. Chemistry and Ecology, 5, p. 149-170.
- Warwick, W.F. 1988. Morphological deformities in Chironomidae (*Diptera*) larvae as biological indicators of toxic stress. In: Toxic contaminants and ecosystem health: a Great Lake focus, M.S. Evans (ed.), John Wiley and Sons, New York, p. 281-320.
- Widdows, J., D.K. Phelps & W. Galloway 1981. Measurement of physiological conditions of mussels (*Mytilus edulis*) exposed in Dutch tidal waters. Comp. Biochem. Physiol., 100C, 1/2, p. 197-200.
- Zwart, D. de, 1995. Monitoring water quality in the future, Volume 3 biomonitoring. RIVM, Bilthoven