

Nederlands Instituut voor Visserijonderzoek (RIVO) BV

Postbus 68
1970 AB IJmuiden
Tel.: 0255 564646
Fax.: 0255 564644
Internet: postkamer@rivo.dlo.nl

Postbus 77
4400 AB Yerseke
Tel.: 0113 672300
Fax.: 0113 573477

RIVO Rapport

Nummer: C028/03

Resultaten van het RWS-RIKZ JAMP 2002 monitoringsprogramma van bot (*Platichthys flesus L.*). Biologische gegevens van bot en milieukritische stoffen in bot en mosselen

M.J.J. Kotterman✉

Opdrachtgever: RWS-RIKZ
Postbus 20907
2500 EX 's-Gravenhage

Project nummer: 76008 25 00
Contractnummer: RKZ-732B

Akkoord: dr. J. de Boer
Afdelingshoofd Milieu en Voedselveiligheid

Handtekening: _____

Datum: 26 mei 2003

Aantal exemplaren: 10
Aantal pagina's: 14
Aantal bijlagen: 18

In verband met de
verzelfstandiging van de
Stichting DLO, waartoe tevens
RIVO behoort, maken wij sinds 1
juni 1999 geen deel meer uit van
het Ministerie van Landbouw,
Natuurbeheer en Visserij. Wij zijn
geregistreerd in het
Handelsregister nr. 34135929
BTW nr. NL 808932184B09

De Directie van het RIVO is niet aansprakelijk voor gevolgschade, alsmede voor schade welke voortvloeit uit toepassingen van de resultaten van werkzaamheden of andere gegevens verkregen van het RIVO; opdrachtgever vrijwaart het RIVO van aanspraken van derden in verband met deze toepassing.

Dit rapport is vervaardigd op verzoek van de opdrachtgever hierboven aangegeven en is zijn eigendom. Niets van dit rapport mag weergegeven en/of gepubliceerd worden, gefotokopieerd of op enige andere manier zonder schriftelijke toestemming van de opdrachtgever.

Inhoudsopgave:

Inhoudsopgave:	2
Samenvatting	3
1. Inleiding	4
2. Taakomschrijving RIVO	5
3. Materialen en methoden	6
3.1 Uitvoering visserij bot.....	6
3.2 Bemonstering bot	6
3.2.1 Algemeen werkplan.....	6
3.2.2 Bemonstering voor visziekte registraties	7
3.2.3 Bemonstering voor histologie	8
3.2.4 Bemonstering voor analyses van PCBs, HCB en spoorelementen.....	8
3.2.5 Bemonstering voor leeftijdsopbouw.....	10
3.2.6 Bemonstering voor conditieberekening.....	10
3.2.7 Bemonstering voor bestandsopnamen.....	10
3.3 Bemonstering mosselen.....	11
3.4 Analysemethoden	11
3.4.1 PCBs en HCB	11
3.4.2 Kwik	11
3.4.3 Koper, cadmium, lood en zink.....	11
3.4.4 Chroom en nikkel.....	12
3.4.5 Arseen.....	12
3.4.6 PAKs	12
3.4.7 Droge stof / vocht	12
3.4.8 Vet	12
3.5 Kwaliteitsborging	13
4. Resultaten	14

Bijlagen

Samenvatting

In opdracht van RWS-RIKZ werden door het RIVO werkzaamheden uitgevoerd in het kader van het Joint Assessment and Monitoring Program van de OSPARCOM. De werkzaamheden bestonden uit het verzamelen van monsters bot waarvan biologische parameters werden bepaald. Tevens werden milieukritische stoffen geanalyseerd in monsters bot en mosselen. De verzamelde gegevens en analyse-uitkomsten werden aangeleverd.

De werkzaamheden werden volgens protocol uitgevoerd. In 2002 werd het visziekte onderzoek op de locaties Waddenzee, Hollandse kust en Oosterschelde uitgevoerd, en het chemisch onderzoek op de locaties Westerschelde, Waddenzee en Eems-Dollard.

Een aantal submonsters bot was niet geheel compleet door slechte vangsten in de Westerschelde, Waddenzee en de Eems-Dollard.

1. Inleiding

De in dit rapport beschreven werkzaamheden werden door het Nederlands Instituut voor Visserijonderzoek (RIVO) uitgevoerd op basis van een opdracht van Rijkswaterstaat- Rijksinstituut voor Kust en Zee (RIKZ) in het kader van het Joint Assessment and Monitoring Program van de OSPARCOM.

De opdracht hield in het verkrijgen van biologische gegevens van bot. Tevens werd materiaal van bot en mosselen verzameld voor chemisch onderzoek en geanalyseerd.

De benodigde monsters bot werden verzameld door het RIVO, de mosselen werden aangeleverd door het RIKZ.

De opdracht is bekrachtigd in overeenkomst RKZ-732B d.d. 12 augustus 2002 en geldt voor een termijn van een jaar. De uitvoering in 2002 is de dertiende van een serie van opeenvolgende jaarlijkse bemonsteringen van bot.

Vanuit het RIKZ werd het project geleid en gecoördineerd door ing. R. Bovelander. Vanuit het RIVO fungeerde dr. M.J.J. Kotterman als projectleider.

De veldwerkzaamheden vonden plaats aan boord van diverse schepen en werden verricht door J. Jol (RIKZ-OSC) en E. van Barneveld (RIVO). Op het RIVO werden de chemische analyses uitgevoerd (afd. Milieu en Voedselveiligheid (MV)) en de leeftijden afgelezen (afd. Biologie & Ecologie(BE)).

Nikkel en chroom analyses werden uitgevoerd door TNO-Voeding in Zeist.

2. Taakomschrijving RIVO

In het kader van de hierboven genoemde opdracht werden aan het RIVO de volgende werkzaamheden opgedragen:

1. Het uitvoeren van visserij
2. Het bemonsteren van de gehele vangsten
3. Het bemonsteren van bot
4. Het uitvoeren van biologisch onderzoek
5. Het verzamelen van materiaal voor chemische analyses
6. Het uitvoeren van chemische analyses
7. Het rapporteren van de verkregen resultaten

3. Materialen en methoden

3.1 Uitvoering visserij bot

De visserij vond plaats in september 2002 met behulp van schepen van diverse RWS directies alsmede een ingehuurde kotter. Op drie locaties werden botten gevangen voor het biologische onderzoek en op drie locaties voor het chemisch onderzoek. Een overlap bestond alleen voor de locatie Waddenzee.

De visserij verliep spoedig in de locaties Noordzeekust en de Oosterschelde. In de Eems-Dollard maar ook in de Westerschelde en de Waddenzee bleek een beperkte aanwezigheid van lengteklasse 4 en 5 (≥ 30 cm). Dit tekort is eerder geconstateerd voor de Eems-Dollard. Aanvulling van de lengteklassen 4 en 5 met bot afkomstig uit de naastliggende lengteklassen (3 en 4) was door de geringe vangst in klasse 4 of zelfs klasse 3 (Westerschelde) niet afdoende.

Er werd gevist op de oorspronkelijk gekozen locaties, te weten:

Gebied	Locatie	Gemiddelde positie	Onderzoek
Westerschelde	Middelgat, Molenplaat	51°26'N 03°56'O	Chemie
Waddenzee	Wierbalg	52°57'N 04°59'O	Biologisch en chemie
Hollandse kust	Kust bij Noordwijk	52°25'N - 52°20'N	Biologisch
Oosterschelde	Hammen, Roggeplaat	51°38'N 03°48'	Biologisch
Eems-Dollard	Bocht van Watum	53°21'N 06°56'O	Chemie

Als vistuig werden verschillende uitvoeringen van een boomkornet gebruikt.

Alle visserijgegevens zijn samengevat in bijlage 1, de beviste posities worden op kaartjes aangegeven in bijlage 2.

3.2 Bemonstering bot

3.2.1 Algemeen werkplan

Bij iedere trek voor het biologisch onderzoek werden relevante visserijgegevens als posities en trekduur genoteerd. Er werd weinig tijd besteed aan oriënterende trekken op uiteenlopende plaatsen. De ervaring uit eerdere jaren leverde een voldoende beeld over de verspreiding van de bot en van de plaatsen waar de bodem voldoende schoon was om niet te veel obstakels of bodemvuil op te vissen.

De bot verspreidt zich in het algemeen bij opkomend water over de dan onderlopende platen en verplaatst zich als het water gaat zakken naar de diepere geulen. Op de platen kan vanwege de geringe waterdiepte meestal niet worden gevestigd en in de geulen bevinden zich de meeste obstakels. Om deze reden werd bij voorkeur tijdens afgaand water vlak langs de rand van de platen gevestigd. Incidenteel werd bij hoog water op een plaat of bij laag water in een geul gevestigd. De bot werd vervolgens op visziekten (3.2.2) onderzocht en eventueel voor chemische analyses (3.2.4) geselecteerd. Bij de voor chemische analyses bewaarde vis vond het onderzoek op ziektes in een later stadium plaats.

Op de locaties voor biologisch onderzoek werd van een aantal trekken de volledige vangst verwerkt, hetgeen dan materiaal voor de bestandsopname (3.2.7) opleverde. Tevens werd materiaal voor leeftijdsopbouw- (3.2.5) en conditiebepaling (3.2.6) verzameld. Naarmate het onderzoek vorderde en de benodigde aantallen voor de diverse onderdelen compleet raakten, werd alleen nog bot uit ontbrekende groepen (van lengte of geslacht) uit de vangst genomen en werd de rest teruggezet. Op de locaties Westerschelde en Eems-Dollard werden botten gevangen voor alleen het chemische onderzoek.

3.2.2 Bemonstering voor visziekte registraties

Bij het onderzoek op visziekten was het van belang dat dit at random geschiedde. Daarom werden van alle vissen, die eerder voor diverse onderzoeksdoeleinden selectief uit de vangst waren gezocht, in een later stadium alsnog de ziektegegevens genoteerd.

De vis werd voor het onderzoek eerst schoon gespoeld, vervolgens werden van diverse lengtegroepen volgens protocol vastgelegde aantallen onderzocht. Deze normen werden op de 20-24 cm en 25-29 cm klasse gehaald op de locaties Hollandse kust en de Oosterschelde. Als het vereiste aantal van een bepaalde lengtegroep bereikt was, werd de desbetreffende trek verder afgemaakt, maar werd deze lengtegroep doorgaans in de volgende trekken teruggezet.

De voorgeschreven en onderzochte aantallen staan vermeld in de volgende tabel.

Lengteklasse	Norm	Noordwijk	Oosterschelde	Waddenzee
20-24 cm	100	109	101	102
25-29 cm	100	105	108	29
>29 cm	50	53	52	20

Alle bot werd uitwendig onderzocht op het voorkomen van wratziekte (Lymphocystis), epidermale papilloma's en -zweren, vinrot en skeletafwijkingen, benevens vangwonden en helingen. De vis van 25 cm en groter werd bovendien inwendig onderzocht op de aanwezigheid van levertumoren (> 2 mm), Glugea sp., leverwormen en cysten.

Naast het voorkomen werd tevens naar plaats en mate van infectie (stadium) gekeken.

Bij huidzweren werden gevonden aantal en afmeting van de grootste zweer genoteerd. Bij vinrot waren dit het aantal aangetaste vinstralen en percentage infectie hiervan. Het stadium van wratziekte werd vastgesteld op basis van het aangetaste oppervlak.

Als biologische parameters werden lengte, geslacht en draaiing genoteerd. Een overzicht van de verzamelde ziekte- en biologische gegevens wordt gegeven in bijlage 3, een samenvatting per locatie volgens ICES model in bijlage 4.

In 2002 werden, evenals in de laatste voorafgaande jaren, weinig zieke vissen aangetroffen in de Oosterschelde en de Hollandse kust. In de Waddenzee werd dit jaar een relatief hoog percentage (6.6%) wratziekte (lymphocystis) en levertumoren (4.1%) aangetroffen. Een overzicht van de visziekten over de afgelopen jaren is weergegeven in de tabel hiernaast.

3.2.3 Bemonstering voor histologie

Dit jaar werd geen speciale vis bemonsterd voor analyses van MFO (lever) en DNA (spier). Gal werd wel bemonsterd.

3.2.4 Bemonstering voor analyses van PCBs, HCB en spoorelementen

Voor de analyse van PCBs, HCB en spoorelementen werden een aantal uitwendig gezonde mannen uit diverse lengteklassen geselecteerd.

Op de locaties Westerschelde, Waddenzee en Eems-Dollard werd gestreefd om van de lengteklassen 20-22.5, 22.5-25, 25-28, 28-31.5 en 31.5-35 cm respectievelijk 20, 20, 10, 10 en 10 exemplaren te verzamelen. Zoals aangegeven in onderstaande tabel werden deze normgetallen helaas ook na verlengde visduur niet gehaald.

Locatie	Klasse 1	Klasse 2	Klasse 3		Klasse 4		Klasse 5	
			OMV	SPE	OMV	SPE	OMV	SPE
Noordzeekust	20	20	5	5	5	5	5	5
Oosterschelde	20	20	5	5	5	5	5	5
Westerschelde	20	16	4	4	2	3	0	0
Waddenzee	20	20	5	5	3	4	3	4
Eems-Dollard	20	20	5	5	5	5	2	2

Het geslacht werd bepaald door een korte incisie net achter de buikholte waardoor de vis minimaal werd beschadigd. De hele vissen werden vervolgens afzonderlijk in aluminiumfolie gewikkeld, in droogijs ingevroren en hierna nog enige tijd (enkele weken) gescheiden per gebied in tempex dozen diepgevroren bewaard. Op deze wijze werd de benodigde lever niet papperig en kan na ontdooien nog goed worden uitgerepareerd. De folie diende om aan kleven te voorkomen zodat een partij snel (in stromend water) kan worden ontdooid.

Bij de verdere verwerking werd de vis in het laboratorium na ontdooien op inwendige aandoeningen onderzocht voor de ziekte registratie, vervolgens werden lever en/of spierweefsel uitgerepareerd voor nadere analyses. Als biologische parameters werden lengte, geslacht, vol gewicht, leeftijd en levergewicht bepaald. De gegevens worden, met bijbehorende analysenummers, vermeld in bijlage 5.

3.2.5 Bemonstering voor leeftijdsopbouw

Op de locaties Waddenzee, Noordwijk en Oosterschelde werden van vijf botten per cm-klasse geslacht en leeftijd bepaald. Dit materiaal werd uitgebreid voor de locatie Waddenzee met de voor chemische analyses verwerkte dieren. Een overzicht van het verzamelde materiaal wordt gegeven in bijlage 6. Vervolgens werd hieruit voor mannen en vrouwen apart een lengte-leeftijd sleutel berekend als zijnde procentuele verdeling van de leeftijden binnen elke cm-klasse.

Bij de omrekening van een bestand van lengte- naar leeftijdklassen werd in geval van ontbrekende gegevens de leeftijdsverdeling van een cm-klasse uit de omliggende klassen geschat. De lengte-leeftijd sleutels worden gegeven in bijlage 7.

3.2.6 Bemonstering voor conditieberekening

Van een 25-tal mannen en vrouwen uit de 25-29 cm klasse werden conditiefactoren berekend, vis met duidelijk verminderd gewicht (bijvoorbeeld door wratziekte) of met vergroeiingen (skeletafwijkingen) werd niet gebruikt. De berekening geschiedde volgens 100 maal gestript gewicht (g) gedeeld door lengte (cm) tot de derde macht. De conditiefactoren (inclusief gemiddelde, SD en uitgangsmateriaal) worden gegeven in bijlage 8.

3.2.7 Bemonstering voor bestandsopnamen

Doorgaans was de vissnelheid relatief laag en de spanwijdte van het net relatief klein met als gevolg een onderschatting van het visbestand. Door de doorgaans relatief grote maaswijdtes zal het bestand aan kleinere vis nog verder zijn onderschat.

Daarnaast ging het om gebieden (vooral de Waddenzee), waar de vis zich sterk verplaatste in de loop van het getij en waarbij het aantal plekken waar optimaal kon worden gevestigd beperkt was. Om deze redenen dienen de berekende botbestanden te worden bezien als uiterst ruwe schattingen.

In bijlage 9 worden de aantallen per hectare, voor mannen en vrouwen afzonderlijk en totaal, gegeven in lengte (cm)- en leeftijdklassen. De totaalvangst bestond in 2002 in vooral de Waddenzee en Oosterschelde weer voor een groot deel uit eenjarige vis.

3.3 Bemonstering mosselen

Mosselen uit de Westerschelde en de Eemsmonding werden in oktober diepgevroren aangeleverd door RIKZ. Van beide locaties werden een aantal lengteklassen gepeld, namelijk 25-31, 32-38, 39-47, 48-57 en 58-70 mm. In bijlage 10 worden analysenummers, schelp lengtes en gewichten (curves en gemiddelde (M)) en tevens vleesgewicht (alleen M) gegeven. Het bleek dit jaar ook in het geval van de mosselen moeilijk om de grootste lengteklasse te verzamelen. Dit kwam door oa door overwoekering van de mosselplaatsen door de Japanse oester, slibafzetting en hoge activiteit van Belgische mosselplukkers.

3.4 Analysemethoden

3.4.1 PCBs en HCB

De monsters worden opgewerkt door middel van een Soxhlet extractie. De chloorverbindingen worden uit de lipidfractie geïsoleerd door een tweevoudige kolomchromatografische scheiding, waarna analyse plaatsvindt met behulp van gaschromatografie. De monsters worden gemeten tegen een ijklijn. Resultaten van de analyses staan vermeld in bijlagen 11 t/m 16.

3.4.2 Kwik

Voor de bepaling wordt het monster in een teflon buis gedestruëerd met salpeterzuur in een microwave oven. Bij de bepaling van het gehalte aan kwik in het destuaat wordt vlamloze atoom absorptie spectrometrie toegepast. De monsters worden gemeten tegen een ijklijn.

3.4.3 Koper, cadmium, lood en zink

Voor koper, cadmium, lood en zink werd de microwave destructie en ICP-MS gebruikt. Voor de bepaling wordt het monster in een teflon buis gedestruëerd met salpeterzuur in een microwave

oven. Het gehalte aan koper, cadmium, lood en zink in het destryaat wordt bepaald met behulp van ICP-MS.

Om te corrigeren voor respectievelijk matrixeffecten en fluctuaties in de apparatuur wordt standaardadditie toegepast en gemeten in aanwezigheid van, voor de te bepalen componenten geschikte, diverse interne standaarden.

3.4.4 Chroom en nikkel

Voor de bepaling wordt het monster gedestruerd door droge verassing bij 500°C, vervolgens opgelost in verdund zoutzuur (6 N) en overgespoeld naar 50 ml. Het gehalte aan nikkel en chroom wordt bepaald door grafietoven atoom absorptie spectrofotometrie. Monsters worden gemeten tegen een ijklijn.

3.4.5 Arseen

Het monster wordt oxidatief verast in aanwezigheid van magnesiumnitraat en magnesiumoxide. Na oplossen van de asrest wordt het aanwezige As^{5+} gereduceerd tot As^{3+} . Hierna vindt reductie plaats tot AsH_3 . Het arseenhydride wordt overgebracht in een oplossing van AgDDC in pyridine waardoor een kleurreactie optreedt. Het gehalte aan arseen wordt spectrofotometrisch bepaald door meting tegen een ijklijn van arseen standaardoplossingen.

3.4.6 PAKs

Het monster wordt verzeept door enige uren onder verwarming te schudden met alcoholische loog. De PAKs worden uit het verzepte monster geëxtraheerd met hexaan. Na zuiveren van het extract worden de PAKs gescheiden op een HPLC-kolom en gedetecteerd met een fluorescentiedetector.

3.4.7 Droge stof / vocht

Voor de bepaling wordt het monster gemengd met een oppervlakte vergrotende stof (hyflo), vervolgens gedroogd in een stoof (105 °C, 3 uur) en na afkoelen in een exsiccator gewogen.

3.4.8 Vet

De bepaling van vrij extraheerbaar vet wordt uitgevoerd als onderdeel van de PCB analyse. Na de Soxhlet extractie wordt een deel van het extract drooggedampt en het residu gewogen.

De totaal vet bepaling geschiedt volgens een aangepaste versie van de Bligh en Dyer methode, gebaseerd op een koude chloroform-methanol extractie.

3.5 Kwaliteitsborging

De kwaliteit van de analysemethoden van de afdeling MV wordt op verschillende manieren gewaarborgd. De methoden zijn uitvoerig gevalideerd. Enkele resultaten van de validatieparameters staan weergegeven in bijlage 17.

De juistheid van de analysemethoden wordt regelmatig getoetst door deelname aan ringonderzoeken waaronder aan het QUASIMEME-project. Resultaten van de rondes staan weergegeven in bijlage 17. Daarnaast worden de resultaten van elke (serie van) meting(en) gecontroleerd door het gebruik van gecertificeerd en/of intern referentiemateriaal. De "gecertificeerde" gehalten en de waarden van de waarschuwingsgrens (tweemaal standaarddeviatie) van de gebruikte referentiematerialen staan weergegeven in bijlage 17. Deze gegevens worden in kwaliteitscontrolekaarten bijgehouden conform NPR 6603.

De afdeling MKTV van RIVO is op 1 april 1997 geaccrediteerd door de Raad van Accreditatie (nummer LO97).

De methoden voor PCB, HCB, PAKs, koper, zink, lood, cadmium, vetgehalte en vochtgehalte zijn geaccrediteerd. De methode voor arseen is niet geaccrediteerd.

De volgende Interne Standaard Werkvoorschriften (ISWs) werden gebruikt:

Kwik	ISW A021 "Vis en visserijproducten. Bepaling van kwik door vlamloze atoom absorptie spectrometrie"
Koper, zink, cadmium, lood	ISW A099 "Vis en visserijproducten. Bepaling van het gehalte cadmium, koper, lood en zink na microwave destructie met inductief gekoppeld plasma-massa spectrometrie"
Arseen	ISW A047 "Bepaling van het gehalte arseen"
PCBs, HCB	ISW A002 "Vis en visserijproducten. Bepaling van PCBs en andere gehalogeneerde microverontreinigingen in vis"
PAKs	ISW A014 "De bepaling van het gehalte polycyclische koolwaterstoffen met behulp van hogedrukvlloeistofchromatografie".
Vetgehalte	ISW A004 "Vis en visserijproducten. Bepaling van het totaal vetgehalte volgens Bligh and Dyer"
Vochtgehalte	ISW A034 "Vis en visserijproducten. Bepaling van het gehalte aan vocht (droogstoofmethode)"

4. Resultaten

De verzamelde gegevens en analyse-uitkomsten worden aangeleverd in tabelvorm en volgens opdracht tevens in spreadsheetvorm op diskettes (MS-DOS). De gegevens over visziekten worden bovendien aangeleverd in een file voor opslag in ICES data systemen, de analyseuitkomsten en bijbehorende biologische gegevens als DIF file voor opslag in DONAR.

De tabellen worden gepresenteerd op aparte, volgens onderwerp gescheiden, bijlagen.

Nummer aantal

1.	1	Visserijgegevens
2.	5	Kaarten met posities
3.	19	Registratie visziekten
4.	3	Registratie visziekten vgl. ICES model
5.	3	Biologische parameters vis PCBs-, HCB- en spoorelementen-analyses
6.	3	Basismateriaal leeftijdsopbouw
7.	3	Lengte-leeftijd sleutels
8.	3	Conditiefactoren
9.	2	Dichtheden bot
10.	2	Biologische parameters mosselen
11.	3	Cadmiumgehalten botlever, kwikgehalten botspier
12.	6	PCBs en HCB gehalten bot
13.	1	PCBs en HCB gehalten mosselen
14.	1	Gehalten spoorelementen mosselen
15.	1	Gehalten PAKs mosselen
16.	1	Gehalten overige organische microverontreinigingen mosselen
17.	3	Validatiegegevens analysemethoden
18.	2	A selecte totale bijvangst vis / geen vis
19.	1	Registratie opgevisst afvalmateriaal