

# **Ecoassayverkenning**

**de mogelijke toepassing van ecoassays binnen de  
Kaderrichtlijn Water**

**mei 2005**

**Rapport RIKZ/2005.019**



# Ecoassayverkenning

de mogelijke toepassing van ecoassays binnen de  
Kaderrichtlijn Water

mei 2005

M.J. van den Heuvel-Greve (RIKZ),  
J.L. Maas (RIZA)  
A.D. Vethaak (RIKZ)

Rapport RIKZ/2005.019



Opdrachtgever / contactpersoon	DGW   G.J. de Maagd
--------------------------------	---------------------

Titel	Ecoassayverkenning de mogelijke toepassing van ecoassays binnen de Kaderrichtlijn Water
Rapportnummer	RIKZ 2005.019

Samenvatting	<p>Deze verkenning heeft als doel inzicht te geven hoe ecoassays kunnen worden ingezet voor de verplichtingen van de Kaderrichtlijn Water (KRW). Ecoassays zijn biologische testen waarmee de oorzaken van een slechte ecologische toestand kunnen worden achterhaald. Deze oorzaken kunnen van chemische, hydromorfologische of eutrofiëringsaard zijn.</p> <p>De KRW stelt dat in 2015 alle Europese waterlichamen voldoen aan een goede ecologische toestand (GET) of goed ecologisch potentiëel (GEP). Onvoldoende score verplicht de lidstaten tot het nemen van maatregelen om deze doelstellingen alsnog te halen. Vaak is niet bekend wat de achterliggende oorzaak is van het niet behalen van de doelstellingen. In dit rapport is aangegeven hoe ecoassays daarin een bijdrage kunnen leveren.</p> <p>Het rapport is opgesteld in opdracht van DG Water. Het is in samenwerking tussen onderzoekers en beleidsmakers uit het werkveld van de KRW van RIKZ, RIZA en AquaSense tot stand gekomen.</p> <p>Hoe zijn ecoassays in te zetten? Om de oorzaken van een slechte ecologische toestand te achterhalen wordt het gebruik van een diagnosesystematiek voorgesteld. Deze volgt een logische gedachtengang van ecologisch effect naar mogelijke oorzaak. Ecoassays kunnen in verschillende stappen worden ingezet: ter identificatie of ter confirmatie van oorzaken, voor prioritering van mogelijke maatregelen of om de effectiviteit ervan te bewijzen.</p> <p>De verkenning schetst de mogelijkheden van de toepassing van ecoassays. De KRW stelt de toepassing van ecoassays niet verplicht. In vervolg van het project zal een handreiking voor waterbeheerders geschreven worden waarin de stappen van het diagnostische systeem en de momenten van toepassing van ecoassays beschreven zijn.</p>
--------------	--

Versie	Eigenaar	Datum	Opmerking	Beoordeeld	Goedgekeurd
0	M.J. van den Heuvel - Greve		Concept	J.L Maas	B. Dauwe
1	M.J. van den Heuvel - Greve		Definitief	W.Groenewoud	B. Dauwe
Project ID	Stoffen en emissies				
Vertrouwelijk	<input type="checkbox"/> JA, tot (datum)		<input checked="" type="checkbox"/> NEE		



Opdrachtgever / contactpersoon	DGW   G.J. de Maagd
--------------------------------	---------------------

Titel	Ecoassayverkenning de mogelijke toepassing van ecoassays binnen de Kaderrichtlijn Water
Rapportnummer	RIKZ 2005.019

Samenvatting	<p>Deze verkenning heeft als doel inzicht te geven hoe ecoassays kunnen worden ingezet voor de verplichtingen van de Kaderrichtlijn Water (KRW). Ecoassays zijn biologische testen waarmee de oorzaken van een slechte ecologische toestand kunnen worden achterhaald. Deze oorzaken kunnen van chemische, hydromorfologische of eutrofiëring aard zijn.</p> <p>De KRW stelt dat in 2015 alle Europese waterlichamen voldoen aan een goede ecologische toestand (GET) of goed ecologisch potentiëel (GEP). Onvoldoende score verplicht de lidstaten tot het nemen van maatregelen om deze doelstellingen alsnog te halen. Vaak is niet bekend wat de achterliggende oorzaak is van het niet behalen van de doelstellingen. In dit rapport is aangegeven hoe ecoassays daarin een bijdrage kunnen leveren.</p> <p>Het rapport is opgesteld in opdracht van DG Water. Het is in samenwerking tussen onderzoekers en beleidsmakers uit het werkveld van de KRW van RIKZ, RIZA en AquaSense tot stand gekomen.</p> <p>Hoe zijn ecoassays in te zetten? Om de oorzaken van een slechte ecologische toestand te achterhalen wordt het gebruik van een diagnosesystematiek voorgesteld. Deze volgt een logische gedachtengang van ecologisch effect naar mogelijke oorzaak. Ecoassays kunnen in verschillende stappen worden ingezet: ter identificatie of ter confirmatie van oorzaken, voor prioritering van mogelijke maatregelen of om de effectiviteit ervan te bewijzen.</p> <p>De verkenning schetst de mogelijkheden van de toepassing van ecoassays. De KRW stelt de toepassing van ecoassays niet verplicht. In vervolg van het project zal een handreiking voor waterbeheerders geschreven worden waarin de stappen van het diagnostische systeem en de momenten van toepassing van ecoassays beschreven zijn.</p>
--------------	--

Versie	Eigenaar	Datum	Opmerking	Beoordeeld	Goedgekeurd
0	M.J. van den Heuvel - Greve	18/10/05	Concept	D. Vethaak dw	B. Dauwe
1	M.J. van den Heuvel - Greve	18/10/05	Definitief	W. Groenewoud	B. Dauwe
Project ID	Stoffen en emissies				
Vertrouwelijk	<input type="checkbox"/> JA, tot (datum)	<input checked="" type="checkbox"/> NEE			

# INHOUDSOPGAVE

---

<b>Samenvatting</b>	<b>7</b>
<b>1. Inleiding</b>	<b>9</b>
1.1	Achtergrond 9
1.2	Ecoassays en diagnose 9
1.3	Verwante beleidskaders 10
1.4	Leeswijzer 11
<b>2. Ecologische doelen in de KRW</b>	<b>13</b>
2.1	GET en GEP 13
2.2	Monitoring 15
2.3	Ecologische beoordeling 17
2.4	Globale toetsing 17
2.5	Fasering en verlaging van doelstellingen 18
<b>3. Diagnosesystematiek</b>	<b>19</b>
3.1	Beslisboom 19
<b>4. Case: waterplanten in de Grensmaas</b>	<b>23</b>
<b>5. Instrumentarium ecoassays</b>	<b>27</b>
5.1	Soorten ecoassays 27
5.1.1.	<i>Laboratoriumtoetsen</i> 27
5.1.2.	<i>In situ toetsen</i> 27
5.1.3.	<i>Modellen</i> 28
5.2	Ecoassays in de KRW-diagnosesystematiek 28
5.2.1.	<i>Identificatie van oorzaken</i> 28
5.2.2.	<i>Confirmatie van oorzaken</i> 29
5.2.3.	<i>Prioritering van mogelijke maatregelen</i> 29
5.2.4.	<i>Aantonen van de effectiviteit van maatregelen</i> 29
5.3	Kansrijke ecoassays 29
5.4	Ecoassays in bestaande monitoringprogramma's 30
<b>6. Implementatie: kansen en bedreigingen</b>	<b>33</b>
6.1	Kansen 33
6.2	Bedreigingen 34
<b>7. International survey</b>	<b>37</b>
7.1	International network 37
7.2	International use of bioassays 37
7.2.1.	<i>Bioassays and the EU Water Framework Directive (WFD)</i> 39
7.2.2.	<i>OSPAR obligations</i> 41
7.2.3.	<i>SedNet activities</i> 41
7.2.4.	<i>Rebecca</i> 42
7.3	Opportunities for collaboration 42

<b>8.</b>	<b>Conclusies en aanbevelingen</b>	<b>45</b>
<b>9.</b>	<b>Referenties</b>	<b>47</b>
<b>10.</b>	<b>Definities en afkortingen</b>	<b>51</b>
10.1	Definities	51
10.2	Afkortingen	52
	<b>Bijlage A Grote tabellen</b>	<b>55</b>
	<b>Bijlage B Schema KRW-tijdspad</b>	<b>65</b>
	<b>Bijlage C Internationale verkenning</b>	<b>66</b>
	<b>Bijlage D ICES-WGBEC informatie</b>	<b>67</b>

# Samenvatting

Het doel van deze verkenning is na te gaan of en hoe ecoassays kunnen worden ingezet voor de verplichtingen uit de Kaderrichtlijn Water (KRW). Ecoassays is een verzamelterm voor een pakket biologische toetsen waarmee de oorzaken van een slechte ecologische toestand kunnen worden achterhaald: dat kunnen chemische, maar ook hydromorfologische of ecologische factoren zijn.

## a) Relatie KRW-ecoassays

Omdat de KRW stelt dat alle Europese wateren in 2015 in een Goede Ecologische Toestand (GET) moeten verkeren, is onderzocht in hoeverre ecoassays daaraan kunnen bijdragen. Een eerste beoordeling van het Nederlandse kust- en overgangswater en van enkele zoete wateren laat namelijk zien dat de onderzochte wateren op verschillende KRW-maatlatten (zoals macrofauna en macroflora) matig tot slecht scoren.

## b) Diagnosesystematiek

Om de oorzaken van een slechte ecologische toestand te achterhalen, wordt een diagnosesystematiek voorgesteld. Deze volgt een logische gedachtegang van ecologisch effect naar mogelijke oorzaak:

1. Signalering ecologisch effect
2. Inventarisatie mogelijke oorzaken
3. Inventarisatie beschikbare gegevens over mogelijke oorzaken
4. Identificatie en confirmatie van oorzaken
5. Prioritering van maatregelen
6. Uitvoering van maatregelen

## c) Mogelijke toepassingen ecoassays

Uit een casestudie blijkt dat ecoassays in de stappen 4, 5 en 6 inzetbaar zijn:

### *1. Ter identificatie van oorzaken*

Er zijn robuuste, goedkope en snelle ecoassays voorhanden om snel (combinatie-)effecten van chemische stoffen op het spoor te komen en de meest verantwoordelijke stoffen te identificeren. Met behulp van complexere testsystemen kunnen ook multifactoriële oorzaken ontrafeld worden, en worden hydromorfologische of biologische oorzaken zichtbaar.

### *2. Ter confirmatie van oorzaken*

Om een vermoedelijke oorzaak te bevestigen of de bewijsvoering te versterken kunnen meer specifieke ecoassays of modellen worden gebruikt.

### *3. Voor de prioritering van mogelijke maatregelen*

Ecoassays kunnen ingezet worden om scenario's te testen en zo de meest effectieve maatregelen te selecteren.

### *4. Om anderen van de effectiviteit van maatregelen te overtuigen*

Ook als de oorzaak en de te nemen maatregelen evident zijn, kunnen ecoassays nodig zijn om anderen te overtuigen van het nut en de effectiviteit van (kostbare of sterk beperkende) maatregelen.

**d) Implementatie ecoassays**

Argumenten voor het structureel toepassen van ecoassays zijn onder meer dat ze essentieel zijn voor het opsporen en aanpakken van pressoren; voor een groot deel al beschikbaar zijn; flexibel inzetbaar zijn en via een kennisbank meer dan eens hun nut bewijzen. Mogelijke obstakels zijn onder meer de kosten, het gebruik van proefdieren en het feit dat de KRW ze niet verplicht stelt, waardoor er vaak weinig animo zal zijn om de vereiste investeringen te doen.

De meest kansrijke ecoassays zijn (*in vitro* of *in vivo*) bioassays en biomarkers. Deze zijn grotendeels al beschikbaar. Meer experimentele ecoassays zijn kostbaar, maar verdienen zichzelf uiteindelijk wel terug.

**e) Ecoassays internationaal**

Het nut van ecoassays wordt weerspiegeld door de internationale belangstelling voor het onderwerp. Bioassays en biomarkers worden momenteel in verschillende landen en door verschillende internationale gremia gebruikt in monitoringprogramma's en voor het beoordelen van effluent en baggerspecie. Toepassing binnen de KRW is in verschillende landen onderwerp van gesprek en het verdient aanbeveling hier een gezamenlijke visie op te ontwikkelen, bijvoorbeeld via de Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC).

**f) Conclusies en aanbevelingen**

Deze verkenning toont aan dat ecoassays een cruciale rol kunnen spelen binnen de KRW, met name bij het achterhalen van de oorzaak van een onvoldoende ecologische toestand. Ook blijkt er internationaal voldoende animo om een gezamenlijke visie op de rol van ecoassays binnen de KRW te ontwikkelen. Daarom wordt aanbevolen het instrumentarium verder uit te werken, onder meer via een pilotproject.



# 1. Inleiding

Het doel van deze verkenning is na te gaan of en hoe ecoassays kunnen worden ingezet bij de verplichtingen uit de Kaderrichtlijn Water (KRW). In de ambitienotitie KRW van april 2004 werden bioassays al aangemerkt als een mogelijk geschikte methode om de steeds verder uitdijende stoffenlijst met bijbehorende monitoring terug te dringen. Met ecoassays (een verzamelnaam voor een pakket biologische toetsen, waaronder bioassays), kan echter veel meer.

## 1.1 Achtergrond

In de vierde Nota waterhuishouding (NW4, 1998) en in de regeringsnota naar aanleiding van de motie Augusteijn-Esser (TK 1998-1999; TK, 2000-2001) is voorgenomen om de waterkwaliteit meer effectgericht te beoordelen. Dat wil zeggen, niet uitsluitend met de bestaande, stofgerichte normen, maar ook aan de hand van ecotoxicologische parameters (zogenaamde bioassays ofwel biologische toetsen). Bioassays liggen dichterbij het beleidsdoel 'ecologisch gezonde stroomgebieden' aan dan stofgerichte analyses. Bovendien zijn ze vaak efficiënter: het aantal stoffen dat moet worden gemonitord neemt voortdurend toe, en stofgerichte monitoring kan geen voorspellingen doen over effecten van stoffen in het systeem, in tegenstelling tot bioassays.

Inmiddels is de KRW het nieuwe leidende beleidskader voor waterkwaliteitsbeheer. De vraag is welke plek ecoassays binnen de implementatie van de KRW verdienen. De KRW bevat chemische en ecologische normen, maar bio- of ecoassays worden er niet specifiek in voorgeschreven. Wel is het halen van de ecologische doelen vereist. Dat betekent, zeker gezien de huidige politieke constellatie, dat ecoassays alleen een serieuze optie zijn als ze duidelijk meerwaarde hebben en/of kosten besparen bij het halen van ecologische doelen.

Met dit in gedachten heeft het Directoraat-Generaal Water (DGW) van het ministerie van Verkeer & Waterstaat in de zomer van 2003 informeel contact gehad met de Europese Commissie (EC) (voorzitter Expert Advisory Forum) over twee mogelijke toepassingen van bioassays binnen de KRW:

*Ecoassays:* het toepassen van biologische toetsen bij het achterhalen van de oorzaken van een onvoldoende ecologische toestand. Dit voorstel werd in Brussel positief ontvangen.

*Bio-analyse:* chemische analyses van prioritaire en andere relevante stoffen deels vervangen door bioassays. Dit zou zowel de kosten van monitoring terugdringen als een completer beeld opleveren van chemische kwaliteit. Deze toepassing werd sceptisch ontvangen. Gewezen werd op de harde, juridische verplichtingen uit de KRW voor chemische analyse.

## 1.2 Ecoassays en diagnose

De KRW verplicht lidstaten om voor elk waterlichaam ecologische doelen vast te stellen. Op het moment dat niet aan een ecologische parameter wordt voldaan, is het voor de verantwoordelijke waterbeheerder zaak te achterhalen wat hiervan de (significante) oorzaak is. Dat is immers het

noodzakelijke vertrekpunt voor het kunnen formuleren van doelgerichte maatregelen. Hiervoor is een diagnosesystematiek nodig. Dit instrument bestaat nog niet, maar in dit document wordt geschetst hoe deze systematiek eruit zou kunnen zien, en welke plek ecoassays er in kunnen vervullen.

Aanvankelijk verwees de term 'ecoassays' naar toetsen waarmee chemische effecten kunnen worden bepaald. Tijdens deze verkenning bleek echter dat ecoassays veel breder kunnen worden ingezet, en ook hydromorfologische en ecologische oorzaken kunnen helpen identificeren. In dit document is deze bredere definitie van ecoassays gehanteerd.

### 1.3 Verwante beleidskaders

Het concept van ecoassays sluit aan op enkele andere nationale ontwikkelingen op het gebied van water- en bodemkwaliteitsmonitoring:

#### *Beleidsvernieuwing bodemsanering (BEVER)*

In de wet bodembescherming, die momenteel wordt herzien, is niet langer de bodemverontreiniging zelf leidend, maar de risico's van deze verontreiniging voor de bodemfunctie. Deze benadering zal ook van toepassing zijn op waterbodems. Of deze gesaneerd zullen worden, en welke kwaliteitsdoelstellingen daarbij gebruikt worden, hangt straks af van de ecologische en chemische doelstellingen uit de KRW, en van de risico's voor mens, ecosysteem en het omringende grond- en oppervlaktewater. Het ligt in de lijn der verwachting dat ecoassays bij deze risicobepaling eveneens een centrale rol kunnen gaan spelen.

#### *Totaal-effluent beoordeling (TEB)*

RIZA werkt al een aantal jaar aan een methode voor totaal-effluentbeoordeling (TEB) als alternatief voor de stoffenaanpak – op dit moment de enige manier om lozingen te beoordelen. De nieuwe methode berust op de inzet van bioassays bij effluenten. Zo ontstaat in één keer een beeld van de milieubezwaarlijkheid van het totale effluent en dus van het effect van alle stoffen. Ook internationaal bestaat belangstelling voor deze methode. Momenteel wordt onderzocht welke ruimte de Europese regelgeving biedt om TEB bij emissiebeleid te gebruiken.

#### *Beoordeling baggerspecie*

In de vierde Nota waterhuishouding werd een nieuwe, aanvullende kwaliteitstoets aangekondigd om te bepalen of baggerspecie in zoute wateren kan worden verspreid. Deze Chemie-Toxiciteit-Toets (CTT) (inmiddels geïmplementeerd) omvat drie bioassays, die geschikt zijn om het gecombineerde effect van verontreinigingen in baggerspecie zichtbaar te maken.

## 1.4 Leeswijzer

Hoofdstuk 2: Een kort overzicht van de opzet, terminologie en inhoud van de KRW, en een voorlopige, globale toetsing van een aantal Nederlandse wateren aan de KRW.

Hoofdstuk 3: Een voorstel voor een diagnosesystematiek om de oorzaken van een ontoereikende ecologische toestand op te sporen en aan te pakken.

Hoofdstuk 4: Een casestudie die het nut van ecoassays bij diagnose illustreert.

Hoofdstuk 5: Een overzicht van de beschikbare soorten ecoassays en de momenten in de diagnosesystematiek dat deze inzetbaar zijn.

Hoofdstuk 6: Kansen en bedreigingen bij de implementatie van ecoassays.

Hoofdstuk 7: Toepassingen van ecoassays in andere landen.



## 2. Ecologische doelen in de KRW

De KRW beoogt de bescherming en verbetering van aquatische ecosystemen en duurzaam gebruik van water. De KRW biedt een kader en een planvormingsystematiek voor:

- het vaststellen van ecologische doelstellingen voor waterlichamen;
- het inzichtelijk maken van knelpunten en oorzaken;
- het afwegen en (laten) nemen van maatregelen;
- het monitoren van kwaliteit om het effect van maatregelen te beoordelen.

Einddoel is een 'goede ecologische toestand' (GET) voor alle Europese wateren in 2015. Daarbij gaat het om een afrekenbare inspanningsverplichting. Onder voorwaarden is het mogelijk de termijnen voor doelrealisatie te verlengen tot uiterlijk 2027.

Als eerste stap in de planvorming moet eind 2004 van elk watersysteem een beschrijving gereed zijn. Daarin moet ook al een globale beoordeling worden opgenomen: een inschatting van de kans dat in 2015 aan de doelstellingen zal worden voldaan. In het stroomgebiedbeheersplan van 2009 zal voor elk watersysteem worden gerapporteerd welk pakket maatregelen wordt genomen om in 2015 aan de doelstellingen te voldoen.

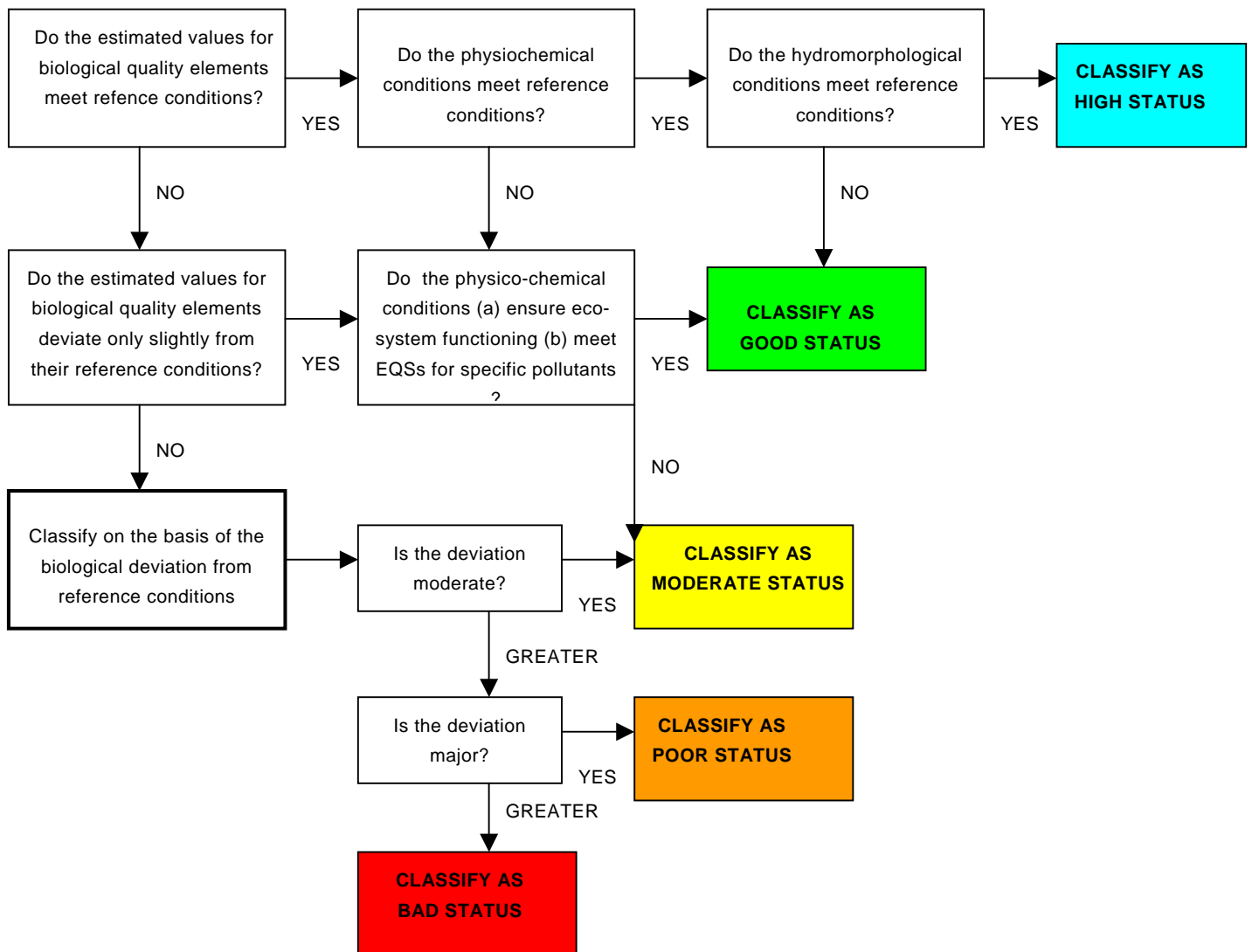
### 2.1 GET en GEP

De goede toestand van een waterlichaam is onderverdeeld in een goede *chemische* en een goede *ecologische* toestand. De goede chemische toestand geldt alleen voor de chemische stoffen waarvoor een communautaire normstelling van kracht is. In de praktijk zijn dat de prioritairere stoffen en een aantal stoffen waar specifieke normen voor zijn geformuleerd onder richtlijn 76/464/EEG. De goede ecologische toestand is opgebouwd uit een goede biologische toestand en normen voor fysisch-chemische parameters en geloosde overige verontreinigende stoffen. Ecologische classificatie vindt vervolgens plaats aan de hand van het schema in figuur 1.

Bij het bepalen van de ecologische toestand wordt onderscheid gemaakt tussen natuurlijke, sterk veranderde en kunstmatige wateren. Natuurlijke wateren hebben als doel het behalen van een GET. Sterk veranderde en kunstmatige wateren hebben als doel het bereiken van een Goed Ecologisch Potentieel (GEP).

Daarnaast is er een typologie die aangeeft om wat voor soort water het gaat (rivier, beek, overgangswater, etc.). Deze karakterisering is van belang, omdat daarmee een bepaalde, uitgewerkte set doelstellingen uit de KRW van toepassing wordt verklaard.

*Figuur 1. Ecologische beoordeling volgens de KRW (uit: Guidance on Ecological Classification, ECOSTAT WG2A, 17 oct 2003).*



## 2.2 Monitoring

De KRW vereist drie typen monitoring. Om te beoordelen of de GET behaald wordt, is er allereerst *surveillance monitoring* (toestand- en trendmonitoring). Als blijkt dat dit niet het geval is, moet via *operational monitoring* worden getoetst in welke mate de situatie van de GET afwijkt en of eventueel genomen maatregelen effect hebben. Dit is dus iets anders dan wat traditioneel in Nederland onder deze term wordt verstaan, namelijk de monitoring ten behoeve van het operationeel waterbeheer. Als niet duidelijk is wat de ontoereikende ecologische situatie veroorzaakt, en welke maatregelen genomen moeten worden, moet dit via (meestal projectmatige) *investigative monitoring* (monitoring voor nader onderzoek) achterhaald worden. In de praktijk zal de *operational monitoring* waarschijnlijk het meest relevant zijn voor waterbeheerders.

### *Kwaliteitselementen en maatlatten*

Belangrijk voor de KRW-monitoring is dat de ecologische toestand op het niveau van kwaliteitselementen moet worden bepaald. Die zijn er in de categorieën biologisch, fysisch-chemisch en hydromorfologisch. De globale biologische kwaliteitseisen voor natuurlijke wateren staan in tabel 1.a.

*Tabel 1.a. Biologische kwaliteitseisen, van toepassing op typen uit categorie natuurlijke wateren (van: [www.kaderrichtlijnwater.nl](http://www.kaderrichtlijnwater.nl))*

<b>Kwaliteitselement</b>	<b>Rivieren</b>	<b>Meren</b>	<b>Overgangswater</b>	<b>Kustwateren</b>
Fytoplankton	X	X	X	X
Fytobenthos	X	X		
Macrofyten	X	X		
Macroalgen			X	X
Angiospermen			X	X
Macrofauna	X	X	X	X
Vis	X	X	X	

Elk kwaliteitselement wordt gedefinieerd aan de hand van een maatlat. De meeste maatlatten zijn weer opgebouwd uit een aantal deelmaatlatten. Voor de biologische kwaliteitselementen zijn er bijvoorbeeld deelmaatlatten waarin aspecten als soortensamenstelling en abundantie zijn verwerkt (zie tabellen 1.b/c/d in bijlage A). Voor de beoordeling van fysisch-chemische en hydromorfologische kwaliteitselementen zijn wel referentiewaarden beschikbaar, maar geen complete deelmaatlatten (zie tabel 2). Ze fungeren meer als ondersteuning van de biologische deelmaatlatten. Voor de overige chemische verontreinigingen die binnen de beoordeling van de ecologische toestand vallen zullen voorlopig de

huidige Maximaal Toelaatbare Risico's (MTR's) gelden. Te zijner tijd zullen deze vervangen worden door normen volgens de KRW-methodiek.

Tabel 2. Fysisch-chemische en hydromorfologische stuurvariabelen

Kwaliteitselement	Stuurvariabelen
Fysisch-chemisch	Stikstof en fosfaat Zwevende stof Temperatuur Chloride Macro-ionen (waaronder bicarbonaat) Significante lozingen Verontreinigende stoffen (specific substances)
Hydromorfologisch	Kwel Waterpeil Peildynamiek Stroomsnelheid Afvoerdynamiek Dwarsprofiel (talud) Substraat Diepte Beschaduwning Meandering

Bij het maken van de maatlatten zijn uitgangspunten gekozen die van grote invloed zijn op de monitoringsverplichtingen voor de KRW en de mogelijke rol van ecoassays:

- De maatlatten zijn primair bedoeld voor een beoordeling en zijn geen diagnose-instrument. Wél zijn de indicatoren vaak zó gekozen dat ze gevoelig zijn voor verstoring, en ze geven een indicatie van de oorzaken van niet-optimale kwaliteit. Het is de verantwoordelijkheid van de beheerder zelf om een nauwkeurige diagnose te stellen.
- Bij de beoordeling van de ecologische toestand is de biologie leidend. Fysisch-chemische en hydromorfologische aspecten zijn hiervan afgeleid. Traditionele, stofgerichte monitoring is dus niet voldoende.

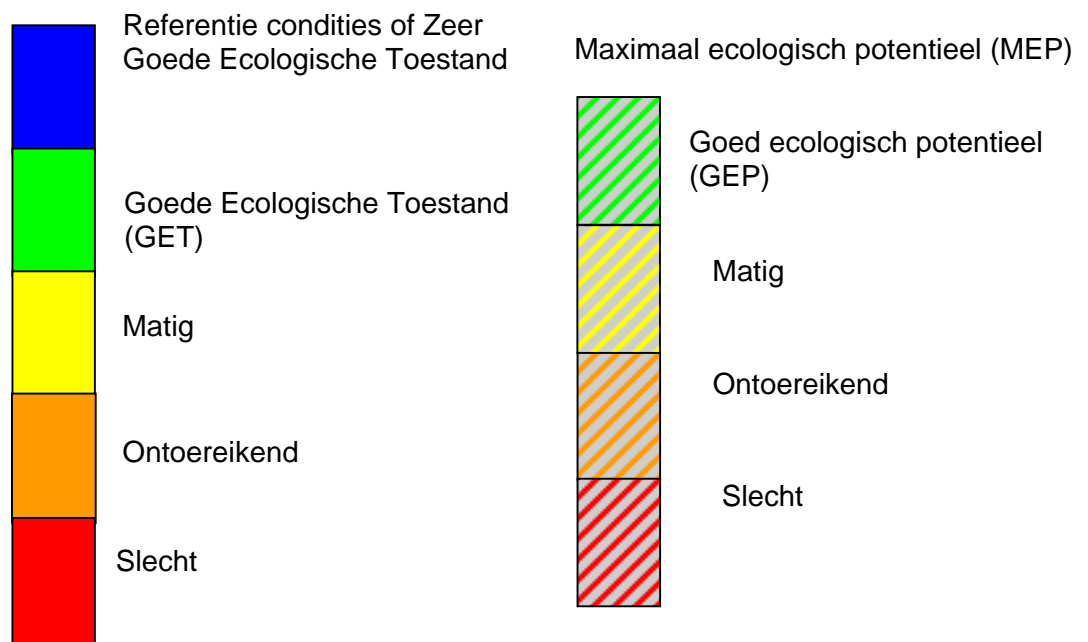


## 2.3 Ecologische beoordeling

De hoogste score op de maatlatten voor natuurlijke watertypen is de referentietoestand, of Zeer Goede Ecologische Toestand (ZGET)(zie figuur 2). Een tree lager staat de Goede Ecologische Toestand (GET); dit is de doelstelling die in 2015 minimaal moet zijn bereikt. De KRW omschrijft de GET als volgt: "de waarden van de biologische kwaliteitselementen vertonen een geringe mate van verstoring ten gevolge van menselijke activiteiten, maar wijken slechts licht af van wat normaal is voor de referentietoestand".

Voor sterk veranderde en kunstmatige waterlichamen is het Maximaal Ecologisch Potentieel (MEP) het hoogste ecologische niveau en moet in 2015 minimaal het hiervan afgeleide Goed Ecologisch Potentieel (GEP) zijn bereikt.

*Figuur 2. De vijf klassen van de maatlat van natuurlijke watertypen (links) en de vier klassen van de maatlat van sterk veranderde en kunstmatige wateren (rechts) met bijbehorende kleurcodering*



## 2.4 Globale toetsing

Het belang van goede monitoring wordt onderstreept door de conclusies van de eerste, globale beoordelingen die van een aantal typen overgangs- en kustwateren in Nederland zijn gemaakt (zie tabel 3.a in bijlage A). Daaruit blijkt dat met name het kwaliteitselement macroflora minimaal scoort. Voor fytoplankton is de situatie in het kustwater daarnaast bijna overal 'matig'. Ook op het niveau van de

deelmaatlaten springen enkele 'slechte' en 'ontoereikende' scores in het oog.

In de zoete wateren moet eveneens nog veel werk verzet worden om in 2015 de GET te bereiken (zie tabel 3.b in bijlage A). Een voorlopige beoordeling van enkele niet-natuurlijke wateren laat zien dat de Grensmaas en de zuidelijke randmeren een 'onvoldoende' score voor met name fyto-benthos, waterflora en macrofauna. In Grensmaas en Eemmeer scoren ook vis en fytoplankton matig. Hierbij moet worden opgemerkt dat dit de beoordeling is van niet-natuurlijke wateren met de maatlat voor natuurlijke wateren. De uiteindelijke beoordeling is pas in 2005 gereed.

## **2.5 Fasering en verlaging van doelstellingen**

Nu al is duidelijk dat de in de KRW omschreven GET voor veel watersystemen in Nederland alleen in 2015 bereikt kan worden als daar hoge maatschappelijke inspanningen en kosten tegenover staan. De maatschappelijke discussie over de haalbaarheid en betaalbaarheid van KRW-uitvoering is dan ook in volle gang.

De KRW biedt een aantal mogelijkheden om doelstellingen te verlagen en/of met enig uitstel te bereiken. Deze 'derogatie'-mogelijkheid is echter geen automatisme. De KRW bevat duidelijke voorwaarden waaraan moet worden voldaan. De keuze voor fasering of verlaging van doelstellingen moet in het eerste stroomgebiedbeheersplan (2009) worden opgenomen, samen met het bijbehorende maatregelenprogramma. Op basis van dit stroomgebiedbeheersplan bepaalt de Europese Commissie vervolgens of deze keuze legitiem is. Dit stelt hoge eisen aan de argumentatie en formulering van aangepaste doelstellingen en plannen in de stroomgebiedbeheersplannen.

Artikel 4 van de KRW biedt ruimte voor de volgende mogelijke argumenten voor fasering en verlaging van doelstellingen:

1. de voorlopige aanwijzing als sterk veranderd waterlichaam;
2. disproportionele kosten voor het bereiken van de doelstellingen;
3. technische onhaalbaarheid;
4. uitstel of tijdelijke onmogelijkheid wegens natuurlijke omstandigheden;
5. nieuwe fysische veranderingen als gevolg van maatschappelijke ontwikkelingen;
6. zodanige verstoring dat 'volledig herstel' niet haalbaar is.

Al deze argumenten zullen echter alleen als steekhoudend worden beschouwd als ze zorgvuldig zijn onderbouwd en beargumenteerd. En dat hangt in sterke mate af van de kwaliteit van de geleverde monitoringsinspanning.

## 3. Diagnosesystematiek

Als een watersysteem op één of meer ecologische (deel)maatlatten 'onvoldoende' scoort, moet de waterkwaliteitsbeheerder ingrijpen. Om dat doelgericht en effectief te kunnen doen, is inzicht vereist. Wat is nu de oorzaak van het niet behalen van een goede ecologische status? Vaak blijken verschillende 'pressoren' of 'stressfactoren' een rol te spelen, zoals habitatverandering, de aanwezigheid van chemische stoffen of een verandering in predatiedruk.

Op dit moment kent de KRW (nog) geen gestructureerde diagnosesystematiek om oorzaken te achterhalen. Van verantwoordelijke beheerders wordt verwacht dat ze op basis van bestaande kennis over belastingen en effecten, aangevuld met hun regionale beheerexpertise, een inschatting maken van de belangrijkste problemen en oorzaken voor hun eigen waterlichamen.

Om te onderzoeken of ecoassays een structurele plek binnen zulke monitoring nader onderzoek verdienen, is binnen dit project een voorstel ontwikkeld voor een diagnosesystematiek. Aan de hand van dit model wordt zichtbaar op welke momenten ecoassays een nuttige, doelmatige investering zijn.

### 3.1 Beslisboom

De diagnosesystematiek die tijdens deze verkenning is ontwikkeld, heeft de vorm van een beslisboom. Er staan geen baanbrekende nieuwe inzichten in: het is in feite niet meer dan een explicitering van een gangbare, logische gedachtegang bij de analyse van waterkwaliteitsproblemen. Door de verschillende denkstappen duidelijk uit elkaar te trekken en te analyseren, kan echter duidelijk worden benoemd op welke momenten ecoassays een nuttige, doelmatige bijdrage kunnen leveren.

De beslisboom is het product van een brainstormsessie met KRW-specialisten en deskundigen op het gebied van ecoassays van DGW, RIKZ en RIZA. Het is een generiek model, dat voor elke (deel)maatlat kan worden doorlopen (zie hoofdstuk 4 voor een praktijkvoorbeeld).

De diagnosesystematiek beschrijft de volgende stappen (zie figuur 3):

*Stap 1 (signalering ecologisch effect):* Vertrekpunt van de beslisboom is het moment waarop in een bepaald waterlichaam een effect wordt waargenomen waardoor dat waterlichaam op één of meer (deel)maatlatten 'onvoldoende' scoort. Deze conclusie wordt getrokken tijdens trend en toestand monitoring en/of operationele monitoring.

*Stap 2 (inventariseren mogelijke oorzaken):* De volgende stap is het inventariseren van alle mogelijke oorzaken van het waargenomen effect. Hiervoor is onder meer kennis nodig van referentiegebieden en

vergelijkbare gebieden, waar al dan niet een soortgelijk effect is geconstateerd.

*Stap 3 (inventarisatie beschikbare gegevens):* Om de daadwerkelijke oorzaak te achterhalen moet alle beschikbare informatie worden ontsloten over:

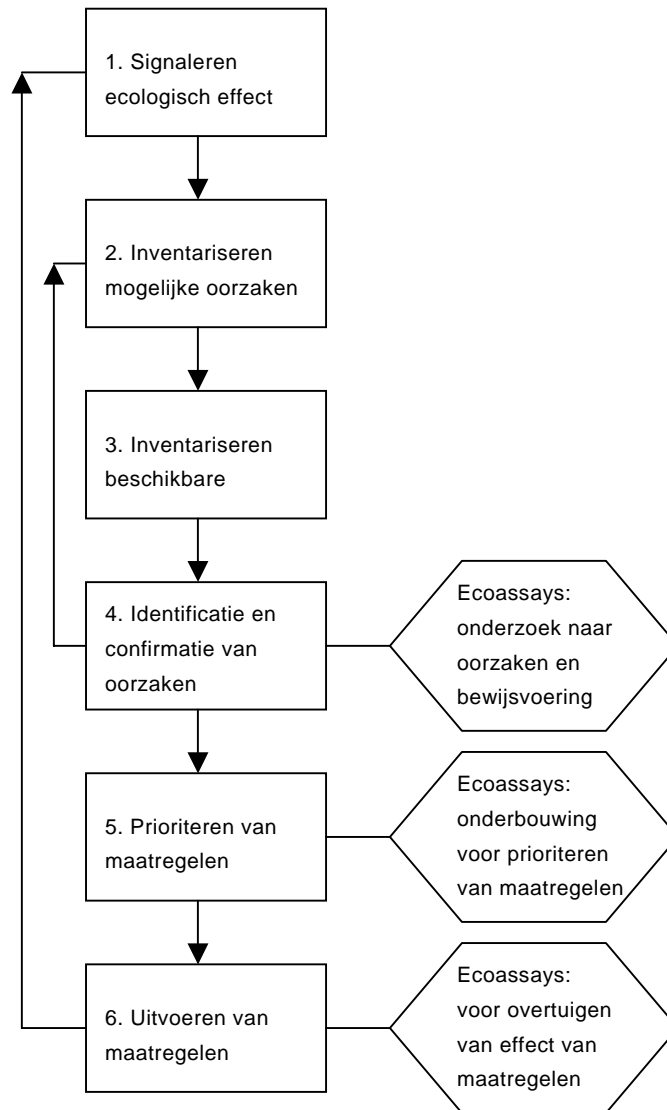
- auto-ecologie (biologische en ecologische informatie over het betrokken organisme, mogelijk niet altijd beschikbaar);
- hydromorfologie van het betreffende gebied (beschikbaar via KRW-monitoring)
- de chemische toestand van het betreffende waterlichaam (beschikbaar via KRW-monitoring, aan te vullen met risicomodellen zoals OMEGA, waarmee de meest verantwoordelijke stoffen voor een slechte waterkwaliteit kunnen worden achterhaald);
- problemen in vergelijkbare waterlichamen en resultaten van andere projecten. Hoe meer van zulke kennis beschikbaar is, hoe eenvoudiger het wordt om oorzaken van een slechte kwaliteitsscore te achterhalen.

*Stap 4 (identificatie en confirmatie van oorzaken):* Op basis van de 'shortlist' van mogelijke oorzaken én de verzamelde kennis kan worden bepaald wat de meest waarschijnlijke oorzaken zijn. Aan de hand van specifieke hypothesen kan vervolgens worden getoetst of deze factoren ook echt verantwoordelijk zijn voor de lage kwaliteitsscore. Zelfs als het voor deskundigen al na stap 3 evident is wat de oorzaak van het probleem is, kan zulke toetsing nodig zijn om dit voor de buitenwacht aan te tonen (positieve confirmatie) of om te laten zien dat andere factoren géén rol spelen (negatieve confirmatie). Dit om draagvlak te creëren voor maatregelen, die immers geld kosten en beperkingen kunnen opleggen.

*Stap 5 (prioritering van maatregelen):* Als blijkt dat verschillende factoren verantwoordelijk zijn voor het optredende effect, moeten er prioriteiten worden gesteld. Afwegingen daarbij zijn de verwachte effectiviteit en haalbaarheid (inclusief kostenafweging) van te nemen maatregelen. Ook moet onderzocht worden of maatregelen voor het verbeteren van het ene kwaliteitselement niet ten koste gaan van een ander element (zo zou terugdringen van de hoeveelheid meststoffen in het IJsselmeer ook tot een lagere visproductie leiden).

*Stap 6 (uitvoering van maatregelen):* Als laatste stap worden de meest geschikte maatregelen geïmplementeerd. Na een bepaalde periode wordt de biologische maatlat opnieuw geëvalueerd, omdat KRW-toetsing vereist is of om tussentijds het effect van de maatregelen te kunnen beoordelen. Als de situatie ondanks de maatregelen niet verbeterd is, kan de beslisboom opnieuw worden doorlopen. De evaluatie kan ook aanleiding zijn om (alsnog) voor een aangepaste tijdsplanning of verlaagde doelstellingen te kiezen. In dat geval kan dankzij de beslisboom, en de op basis daarvan genomen maatregelen, in ieder geval hard worden gemaakt dat Nederland alles heeft gedaan wat mogelijk was.

*Figuur 3. Beslisboom diagnosesystematiek voor het achterhalen van de oorzaak op het moment dat er een onvoldoende ecologische toestand wordt gemeten. Zie bijlage B voor een verder uitgewerkte beslisboom inclusief tijdspad.*





## 4. Case: waterplanten in de Grensmaas

De in hoofdstuk 3 beschreven diagnosesystematiek is te illustreren aan de hand van een casestudie. Deze maakt ook duidelijk tijdens welke stappen in het proces ecoassays een bijdrage kunnen leveren. Dit is een theoretische case, maar daarom niet minder realistisch: zowel de probleemstelling als de beschreven ecoassays zijn uit de praktijk gegrepen.

*Stap 1 (signalering ecologisch effect):* Uit surveillance monitoring blijkt dat de vlottende waterranonkel nauwelijks aanwezig is in de Grensmaas. Hierdoor scoort de Grensmaas bij KRW-toetsing 'matig' tot 'slecht' op zowel het kwaliteitselement 'waterplanten' als op (de daarop levende) 'macrofauna' en wellicht ook 'vissen'.

*Stap 2 (inventariseren mogelijke oorzaken):* Voor een compleet overzicht van mogelijke oorzaken wordt nagegaan op welke terreinen de situatie in de Grensmaas afwijkt van de referentiesituatie (met voldoende planten):  
fysisch/chemische afwijkingen: waterkwaliteit (herbiciden), zuurstof en zwevende stof;  
hydromorfologische afwijkingen: stroomsnelheid, dwarsprofiel (talud en diepte), peilfluctuaties, erosie en sedimentatie(slib);  
ecologische afwijkingen: predatiedruk (herbivore vogels, vissen en macrofauna), concurrentie om licht (algen/andere planten), zaadvoorraad, verspreidingsvermogen.

*Stap 3 (inventarisatie beschikbare gegevens):* Allereerst moet worden opgezocht welke eisen de vlottende waterranonkel aan het omringende milieu stelt (de auto-ecologie van de plant). Er blijken gegevens voorhanden over de effecten van herbiciden en van peilfluctuaties op deze plant. Ook is bekend wat de minimum O<sub>2</sub>-concentratie voor de vlottende waterranonkel is, alsmede het gewenste substraat, de gewenste diepte en het gewenste doorzicht. Daarnaast wordt in kaart gebracht voor welke van de bij stap 2 geïdentificeerde mogelijke oorzaken (meet)informatie beschikbaar is.

*Stap 4 (identificatie en confirmatie van oorzaken):* Met behulp van de in stap 3 verzamelde informatie worden de mogelijke oorzaken aan een nader onderzoek onderworpen:

fysisch-chemisch: waterkwaliteit, zuurstof en zwevende stof worden bij Eijsden continu of regelmatig gemeten. Om te bepalen of deze parameters een negatief effect hebben op de planten, worden ecoassays gebruikt, zoals een labtest met in het veld gemeten (combinaties van) stoffen of met oplopende ranges aan zwevende stof. Uit een doorstroomopstelling met Maaswater blijkt dat waterkwaliteit de overleving en groei van de plant niet belemmert. Slib en algenaangroei wél – planten waar aangegroeide slib of algen van wordt

verwijderd, groeien duidelijk beter dan onbehandelde planten (De la Haye, 1992, 1994);

hydromorfologisch: dankzij het stuwbeheer bij Borgharen zijn het debiet en de stroomsnelheid in de Grensmaas bekend. Peilschalen aan begin én einde van de Grensmaas laten een onnatuurlijke peilfluctuatie zien, die veroorzaakt wordt door de elektriciteitscentrale in de stuw van Lixhe, vlak vóórdat de Maas Nederland binnenstroomt. Met behulp van een ecoassay kan bepaald worden of deze fluctuaties de groei van de plant beïnvloeden. In de sluis bij Borgharen en in de Grensmaas worden respectievelijk een verankerde en een drijvende opstelling geplaatst, waarin de overleving en groei van planten gevolgd wordt. De onnatuurlijke peilfluctuaties blijken geen direct effect te hebben. Hoge stroomsnelheden kunnen wel schade aanbrengen of de planten wegspoelen. Ook het verschil in waterstand en stroomsnelheid tussen winter en zomer heeft invloed: in de zomer ontkiemde planten spoelen in de winter weg tijdens hoog water, terwijl plekken waar in het voor- en najaar planten ontkiemen, droogvallen in de zomer. Daardoor kunnen de planten de Grensmaas niet blijvend koloniseren. Uit de bij 'fysisch/chemisch' beschreven ecoassay met een stroomgoot blijkt dat sedimentatie van slib en algenaangroei dit probleem versterkt.

ecologisch: om de invloed van predatiedruk te meten, kan als ecoassay een stuk Grensmaas met een gazen kooi afgescheiden, zodat predatoren niet bij de planten kunnen komen. Met ecoassays in het laboratorium kan worden onderzocht of de concurrentie om licht (met algen en andere planten) een rol speelt. Ook kunnen sedimentmonsters genomen om de zaadvoorraad te bepalen (zoals in Van den Berg, 1999). Door de zaden in het sediment in het laboratorium onder ideale condities te laten ontkiemen, wordt ook de kiemkracht bepaald. Tenslotte kan het verspreidingsvermogen van de zaden in beeld worden gebracht. Daarvoor wordt met behulp van verspreidingskaartjes nagegaan waar de plant nog voorkomt en of er vanuit dat gebied met hoog water zaad meekomt. Onbekende zaden kunnen in het laboratorium getest worden door ze te laten ontkiemen.

*Stap 5 (prioritering van maatregelen)*: Uit de ecoassays blijkt dat sterke stroming in combinatie met het verschil in waterstand tussen zomer en winter de aanwezigheid van de vlottende waterranonkel sterk beïnvloeden. Dit wordt als hoofdoorzaak aangemerkt. Van de overige factoren die bij stap 2 als mogelijke oorzaak werden aangewezen, blijkt alleen sedimentatie van slib op de plantenbladeren en epifyten eveneens een noemenswaardig effect te hebben.

*Stap 6 (uitvoering van maatregelen)*: Besloten wordt in de Grensmaas een natuurlijker peilbeheer na te bootsen door water niet in pulsen maar in langzaam oplopende hoeveelheden water vanuit de turbines te laten lopen. Hierdoor blijft de stroomsnelheid lager. Daarnaast moet de waterstand tussen zomer en winter meer gelijk worden getrokken. Deze maatregelen kunnen met ecoassays verder worden verfijnd. Om sedimentatie van slib op de plantenbladeren en epifyten terug te dringen, worden maatregelen genomen om het zwevend stofgehalte en



de gehalten N en P te beperken. Met behulp van ecoassays wordt geëvalueerd of deze maatregelen effect hebben.



# 5. Instrumentarium ecoassays

Het praktijkvoorbeeld uit hoofdstuk 4 illustreert het potentieel van ecoassays in de context van de KRW. Voor een structurele plek in de KRW-beoordelingssystematiek is echter een solide basisinstrumentarium aan ecoassays nodig. Dit hoofdstuk beschrijft welke soorten ecoassays beschikbaar zijn, maar ook de kennis- en toepassingshiaten die het instrumentarium her en der nog vertoont.

## 5.1 Soorten ecoassays

Ecoassays variëren van snelle, algemene toetsen tot zeer specifieke analyses. Hoe meer vooraf bekend is over de mogelijke oorzaak van een lage score, hoe specifiekere een test antwoord zal moeten en kunnen geven.

Ecoassays vallen uiteen in drie hoofdcategorieën:

### 5.1.1. Laboratoriumtoetsen

Hieronder vallen allereerst de *bioassays*. Die zijn er in een algemene variant, waarbij hele, levende organismen worden blootgesteld aan milieumonsters (*in vivo* bioassays). Andere bioassays richten zich op een specifiek werkingsmechanisme en maken gebruik van celmateriaal en/of enzymen (*in vitro* bioassays). Daarnaast zijn er *biomarkers*: toetsen waarmee snel gedetecteerd wordt in welke mate een organisme aan een bepaalde toxische verbinding heeft blootgestaan en welke subletale effecten het daarvan heeft ondervonden.

Al deze toetsen zijn er op gericht de aanwezigheid van chemische stoffen in monsters of organismen aan te tonen. De kracht van dit soort toetsen is dat ze zowel op bekende als onbekende stoffen reageren én op combinatietoxiciteit. Wordt een reactie waargenomen, dan is een TIE- (Toxic Identification Evaluation) of EDA-studie (Effect geDirigeerde Analyse) nodig om te achterhalen welke stof of stofgroep hiervoor verantwoordelijk is. Pas dan zijn gerichte maatregelen mogelijk.

Als ecoassays kunnen verschillende bioassays en/of biomarkers in combinatie worden gebruikt. Ook wordt de biologische effect analyse soms gekoppeld aan chemische en/of ecologische aspecten (de zgn. TRIADE-beoordeling).

### 5.1.2. In situ toetsen

Dit zijn toetsen die in het veld worden uitgevoerd om te onderzoeken of organismen onder natuurlijke omstandigheden aan stressfactoren blootstaan. Doordat de organismen met een kooi of gaas worden afgeschermd, kunnen bepaalde factoren, zoals predatie, vluchtgedrag of verkeerde habitats, worden uitgeschakeld.

Andere toetsen in het veld richten zich op de gevolgen van hydromorfologische processen, bijvoorbeeld met behulp van *stroomgoten*, *micro-* of *mesokosmos-experimenten*. Ook kan met *biomanipulatie* de natuurlijke situatie in een stroomgebied worden aangepast. Hiervoor zijn in het algemeen geen gestandaardiseerde toetsen voorhanden; het is meestal puur maatwerk.

### 5.1.3. Modellen

Met modellen kan de samenhang tussen toxicologie, hydromorfologie en ecologie inzichtelijk worden gemaakt en worden voorspeld. Zulke modellen kunnen een belangrijk hulpmiddel zijn bij het identificeren van mogelijke oorzaken en/of het toetsen van scenario's. Met behulp van het OMEGA-model kan bijvoorbeeld berekend worden of bij bepaalde concentraties van chemische stoffen in het water effecten te verwachten zijn in organismen, zelfs op een hoger niveau in de voedselketen.

Zie voor een gedetailleerde beschrijving van de verschillende soorten ecoassays tabel 4 in bijlage A.

## 5.2 Ecoassays in de KRW-diagnosesystematiek

Er zijn vier mogelijke toepassingen van ecoassays in de eerder beschreven diagnosesystematiek:

### 5.2.1. Identificatie van oorzaken

Als uit de inventarisatie blijkt dat het probleem mogelijk veroorzaakt wordt door chemische factoren, zijn er robuuste, goedkope toetsen voorhanden voor een snelle eerste beoordeling (preliminary assessment). Algemene *in vitro* bioassays en kortdurende (acute) *in vivo* bioassays of biomarkers bieden in korte tijd veel informatie over de aanwezigheid en effecten van verontreinigende stoffen. Zo waren het *in vitro* en *in vivo* bioassays die tijdens de LOES-studie naar oestrogene effecten bij vissen lieten zien dat steroïedhormonen de hoofdoorzaak waren van de aangetroffen effecten (Vethaak *et al.*, 2002). *In vivo* bioassays hebben ook herhaaldelijk combinatie-effecten aangetoond van gewasbeschermingsmiddelen die individueel onder de norm bleven. Mede op grond van de uitkomsten van deze toetsen kan met behulp van gerichte TIE-onderzoeken bepaald worden welke stoffen verantwoordelijk zijn.

Als hydromorfologische of biologische factoren een rol zouden kunnen spelen, al dan niet in combinatie met chemische factoren, kunnen complexere testsystemen worden ingezet, zoals micro/mesokosmossen, stroomgootopstellingen of biomanipulatie. Zulke experimenten zijn doorgaans kostbaar, maar zijn bij uitstek geschikt om multifactoriële oorzaken te ontrafelen en te identificeren.

### 5.2.2. Confirmatie van oorzaken

Soms zijn specifieke experimenten nodig om conclusies nader te onderbouwen. Om de conclusies beter te onderbouwen (hazard assessment) kan het nodig zijn toetsen op maat te doen, zoals de hierboven genoemde specifieke bioassays, langdurende (chronische) *in vivo* bioassays, biomarkers en *in situ* bioassays. Ook bruikbaar zijn modellen zoals de Leslie-matrix, die bioassayresultaten doorrekent naar populatie-effecten.

Een voorbeeld: het ontbreken van verschillende soorten vlokreeftjes en insectenlarven in de Maas werd aanvankelijk gerelateerd aan de regelmatige normoverschrijdingen van concentraties koper, zink en bepaalde bestrijdingsmiddelen, waarvan bekend was dat ze effect hadden op kreeftachtigen. Ecoassays lieten echter zien dat deze stoffen niet verantwoordelijk waren voor de afwezigheid van deze soorten. Verder onderzoek wees uit dat calamiteuze lozingen van bestrijdingsmiddelen, het ontbreken van een geschikt substraat en slib- en algenaangroei de ontwikkelingen van insectenlarven in de weg stonden (Maas, 2005).

### 5.2.3. Prioritering van mogelijke maatregelen

Met behulp van ecoassays kunnen verschillende scenario's worden geanalyseerd om de meest kansrijke maatregelen te identificeren. Die verdienen vervolgens prioriteit. Stap 4 van de case in hoofdstuk 4 beschrijft een range aan ecoassays die gebruikt kunnen worden om aan te tonen welke oorzaken verantwoordelijk zijn voor het ontbreken van een waterplant. Tegelijkertijd bieden de uitkomsten van deze ecoassays argumentatie voor het prioriteren van mogelijke maatregelen.

### 5.2.4. Aantonen van de effectiviteit van maatregelen

Met ecoassays kan vooraf worden aangetoond dat de maatregel het juiste effect op de betreffende (deel)maatlat zal hebben. Dit is vooral belangrijk als het om ingrijpende, kostbare maatregelen gaat. In de case in hoofdstuk 4 zou bijvoorbeeld met behulp van ecoassays moeten worden onderzocht of aangepast peilbeheer wel het gewenste effect oplevert. Een ander voorbeeld is het plaatsen van bakken met schoon sediment op vervuilde locaties om aan te tonen dat het saneren van vervuilde grond en het laten vormen van nieuw sediment een positief effect heeft op de macrofaunasamenstelling (Dudok van Heel, 1993).

## 5.3 Kansrijke ecoassays

In tabel 4 (bijlage A) is de stand van zaken per soort ecoassay weergegeven. De meest kansrijke ecoassays zijn op dit moment snelle en brede bioassays (acute *in vivo* bioassays, *in vitro* bioassays, biomarkers). Die zijn voor de meeste doeleinden beschikbaar, zijn relatief goedkoop, effectief en efficiënt (zie tabel 5). Ze kunnen aantonen dat effecten door chemische factoren worden veroorzaakt. Chronische *in vivo* bioassays en *in situ* bioassays bieden mogelijkheden bij analyses van water; voor sediment zijn ze nog niet altijd beschikbaar.

Tabel 5. De glijdende schaal van testkarakteristieken van ecoassays.

Bioassays/ biomarkers		Experimentele toetsen als micro- en mesokosmosen, biomanipulatie
Eenvoudig	→	Complex
Kortdurend	→	Langdurend
Breed	→	Specifiek, toegespitst op oorzaak
Robuust	→	Experimenteel niet-gestandaardiseerd maatwerk
Beschikbaar	→	Niet beschikbaar
Lage kosten	→	Hoge kosten

Ook modellen bieden veel kansen, met name voor het doorrekenen van bioassay-resultaten naar effecten op ecologisch niveau. Daarnaast is het gericht opsporen van verantwoordelijke stoffen met TIE-onderzoeken in veel gevallen een reële optie.

Het bestaande ecoassay-instrumentarium vertoont echter enkele hiaten, die de komende tijd zouden moeten worden opgevuld:

- in vivo* bioassays voor een aantal KRW-soorten;
- in vivo* bioassays voor zwevende stof en zoute/brakke sedimenten;
- in vivo* bioassays voor specifieke watertypes, zoals brak water en venige plassen;
- in vitro* bioassays voor een aantal specifieke werkingsmechanismen;
- biomarkers voor evertibraten (ongewervelden);
- kennis over interacties tussen de ecologie en de ecotoxicologie (zoals multistress).

Er zullen altijd gevallen zijn waarin maatwerk nodig is. Meer specifieke, experimentele opstellingen zijn natuurlijk kostbaarder en tijdrovender dan de bestaande bioassays en modellen. Als ze de beheerder echter helpen een probleem snel en gericht op te lossen, kan het gebruik ervan op de lange termijn zonder meer kostenbesparend zijn.

Aangezien de huidige verkenning in eerste instantie gebaseerd was op de relatie chemie-ecologie, ontbreekt het overzicht nog grotendeels voor wat betreft toetsen en methoden op het gebied van hydromorfologische en eutrofiërende pressoren.

#### 5.4 Ecoassays in bestaande monitoringprogramma's

Veel biomarkers en bioassays worden op dit moment al structureel bij monitoring ingezet, zowel bij operationele en nader onderzoek monitoring als in onderzoek- en pilotsurveys. België kent bijvoorbeeld een monitoringprogramma waarbij elk jaar 150 van de 600 meetpunten met de TRIADE-methode (ecologie, bioassays en chemie) geanalyseerd worden. Ook in Nederland worden ecoassays al breed ingezet: bij operationele monitoring in oppervlaktewater en waterbodembodem via het landelijk meetnet (MWTL) en bij trend- en toestand monitoring op verzoek van regionale directies, waterschappen of in het kader van de Stuurboord-pilotprojecten. Zie voor geschikte toepassingen van deze

toetsen in zoute en brakke wateren ook het rapport van de ICES werkgroep BEC (Biological Effects of Contaminants)(bijlage D).





## 6. Implementatie: kansen en bedreigingen

Ecoassays kunnen een belangrijke rol vervullen bij het voldoen aan KRW-verplichtingen, met name op het terrein van Nader Onderzoek monitoring en de daarvoor voorgestelde diagnosesystematiek. Daarnaast kunnen ze gebruikt worden voor het bepalen van ecologische potentie van gebieden en het identificeren van effectieve maatregelen. Om implementatie te laten slagen, moet echter rekening worden gehouden met zowel kansen als mogelijke obstakels, of bedreigingen.

### 6.1 Kansen

#### *a) Ecoassays zijn nodig*

Ecoassays zijn essentieel bij het identificeren van de chemische, hydromorfologische en/of eutrofiërende oorzaken van een slechte ecologische toestand. Bureaustudies alleen kunnen dit niet voor elkaar krijgen. En hoe beter oorzaken worden vastgesteld, hoe effectiever maatregelen zullen zijn.

#### *b) Ecoassays zijn niets nieuws!*

Ecoassays an sich zijn een vertrouwd verschijnsel in beheersgebieden, waar regelmatig specifieke toetsen of experimenten worden uitgevoerd om de ecologische situatie in een watersysteem te verbeteren. Het enige dat ontbreekt, is een helder benoemde status van ecoassays binnen de KRW-verplichtingen. Daarnaast worden er natuurlijk steeds nieuwe en meer geavanceerde ecoassays ontwikkeld.

#### *c) Ecoassays bieden maatwerk*

Het gaat om een instrumentarium: een doos met gereedschap, waar per geval het meest geschikte instrument uit zal worden gelicht. Bij een onbekende oorzaak kunnen snelle breedspectrum-toetsen ingezet worden, terwijl voor een duidelijke hypothese meer specifieke toetsen voorhanden zijn. Als de gangbare chemische metingen geen giftige stoffen aantonen, kunnen ecoassays in combinatie met TIE 'onbekende' stoffen of combinatietoxiciteit zichtbaar maken, of laten zien dat een ander compartiment (zoals sediment) debet is aan het probleem. TIE kan eveneens worden toegepast om punt- of diffuse bronnen te identificeren. Kortom: ecoassays zijn flexibel en oplossingsgericht.

#### *d) Ecoassays leveren bewijzen*

Ecoassays zijn bij uitstek geschikt om de meest effectieve maatregelen te identificeren en anderen ervan te overtuigen dat deze maatregelen effect zullen hebben of hebben gehad. Ze kunnen dus ook beheerders behoeden voor het nemen van kostbare maar onnodige maatregelen. Ook kunnen ecoassays aantonen welke ecologische potentie een gebied heeft.

*e) Ecoassays zijn recyclebaar*

Vaak kan een probleem al worden opgelost door eenvoudigweg gegevens uit een eerder uitgevoerde test in een ander, vergelijkbaar watersysteem te bestuderen. Ecoassays bewijzen hun waarde zo meer dan eens, mits ze in een kennisbank worden opgeslagen. Beheerders kunnen deze gegevens vervolgens raadplegen tijdens de eerste twee stappen in de diagnose (de identificatie van mogelijke oorzaken en het vergaren van beschikbare informatie). Een dergelijke kennisbank kan in eerste instantie bestaan uit een eenvoudig overzicht van locaties, onderzoeken, vraagstellingen en contactpersonen. Wordt er goed gebruik van gemaakt, dan is uitbreiding denkbaar. De kennisbank moet toegankelijk zijn voor alle waterbeheerders. Zo wordt er optimaal gebruik gemaakt van opgedane kennis en kunnen hiermee in de toekomst kosten worden bespaard.

## 6.2 Bedreigingen

*a) Ecoassays mogen geen doel op zich zijn*

Een nuchtere afweging leert dat de meeste ecoassays te uitgebreid en kostbaar zijn om voor routinematige monitoring te worden ingezet. Het uitvoeren van een ecoassay moet dus geen doel op zich zijn. Hierbij moet worden opgemerkt dat er wel een aantal geschikte biomarkers en bioassays in concentraten beschikbaar zijn die een signalerende werking kunnen hebben binnen de verschillende soorten monitoring voor de KRW.

*b) Ecoassays zijn (nog) niet altijd eenduidig en afdoende*

Net als veel andere meetparameters geven ecoassays soms niet te verklaren resultaten of zijn resultaten voor verschillende uitleg vatbaar. Heel af en toe komen zelfs vals-positieve of -negatieve uitslagen voor. Daarnaast is het soms de vraag of ecoassays geschikt zijn om multifactoriële oorzaken van elkaar te onderscheiden. Vaak is het mogelijk met korte breedspectrum-toetsen stap voor stap oorzaken als chemische stoffen te elimineren, maar voor een aantal werkingsmechanismen van milieurelevante stoffen (zoals immunotoxiciteit) zijn nog geen gerichte *in vitro* bioassays beschikbaar. Al deze kanttekeningen onderstrepen het belang van een kennisbank. Hoe meer ervaring en kennis beschikbaar is, hoe beter de uitkomsten van ecoassays kunnen worden beoordeeld en toegepast.

*c) Ecoassays kunnen kostbaar zijn*

Ecoassays kunnen een kostbare investering zijn. Zeker als het om maatwerk gaat, wanneer specifieke experimenten nodig zijn en er dure specialisten moeten worden ingeschakeld. Ecoassays zijn die investering echter waard als het helpt de juiste maatregelen te identificeren en niet-effectieve maatregelen te voorkomen. Ecoassays moeten dus robuust zijn, en de resultaten reproduceerbaar en betrouwbaar. Ook hier geldt dat een kennisbank op den duur kostenverlagend zal werken.

*d) 'Ecoassays' is een nieuwe en onbekende term*

Veel bouwstenen van het ecoassay-instrumentarium mogen dan allang ingeburgerd zijn, de term ecoassays is nieuw en er is daardoor

waarschijnlijk maar beperkt draagvlak voor. Beheerders moeten er dus van overtuigd worden dat dit instrumentarium een investering waard is.

*e) Ecoassays vereisen soms proefdieren*

Het gebruik van proefdieren roept ongetwijfeld weerstand op. Belangrijk is te benadrukken dat het in alle gevallen om KRW-soorten gaat, dus vooral om lagere dieren. Het gebruik van vissen, de enige gewervelde dieren uit het KRW-profiel, wordt zoveel mogelijk vermeden. In een aantal gevallen is bijvoorbeeld een alternatief beschikbaar in de vorm van een *in vitro* methode met een viscellijn.

*f) Ecoassays zijn in de KRW niet verplicht*

Aangezien ecoassays niet verplicht zijn gesteld voor de KRW kan de vraag gesteld worden waarom waterbeheerders een dergelijk kostbaar instrument zouden inzetten? Eén mogelijke reden is dat met behulp van ecoassays oorzaken beter kunnen worden geïdentificeerd en de effectiviteit van maatregelen vooraf kan worden bepaald. Dat betekent dat het risico op boetes vanuit de Europese Commissie afneemt. Bovendien kunnen testresultaten een overtuigend bewijs vormen dat alles is gedaan om de oorzaken te achterhalen en effectieve maatregelen te nemen.



## 7. International survey

As part of this inventory, an international survey was conducted. It describes other countries' experience with bioassays, their attitudes to the use of ecoassays and their wishes for cooperation concerning ecoassays.

### 7.1 International network

An international survey was conducted to find out whether and how ecoassays are being developed and used internationally. Networks such as SedNet, OSPAR, ICES, Rebecca (see abbreviations in chapter 8) were used for this purpose and several bilateral contacts were also consulted. The exercise commenced with an initial email round intended to identify suitable contact persons from each country. This produced a list of contact persons in countries inside and outside the EU (see table 6 and appendix C). As far as possible, the chosen contact persons were representatives of government-run institutions, although the list also included employees of universities or private companies. These contact persons were emailed a questionnaire about bioassays and ecoassays. The responses to the questionnaire were gathered mainly by telephone, but also by email. The term 'ecoassays' was unknown to the interviewees, but their responses were examined to determine which of the uses of bioassays that they reported could be regarded as ecoassays as defined in the introduction.

*Table 6. Countries that participated in the international survey.*

<b>EU countries (11)</b>	<b>Non-EU countries (5)</b>
Belgium	Norway
Germany	Iceland
UK	USA
Ireland	Canada
Sweden	Australia
Denmark	
France	
Spain	
Portugal	
Italy	
Czech Republic	

### 7.2 International use of bioassays

As expected, every country that was surveyed had used bioassays. Table 7 shows that bioassays had been used mainly for monitoring purposes (9 of the 15 countries surveyed) and effluent assessment (10 of the 15 countries). They were also in wide use for the assessment

Table 7. Use of bioassays in EU and non-EU countries. **Bold:** bioassays have been implemented in law or other regulations. *Italics:* the implementation of bioassays in law is under consideration or development.

Country	Monitoring	Assessment of effluent	Assessment of dredged material	Other
Belgium	Yes ( <i>sediment</i> )	Yes	-	Drinking water
Germany	Yes	Yes	<b>Yes</b> <sup>1</sup>	Risk assessment
UK	<b>Yes</b> <sup>2</sup>	<b>Yes</b> <sup>2</sup>	Yes	-
Ireland	Yes	<b>Yes</b> <sup>3</sup>	<b>Yes</b> <sup>3</sup>	-
Sweden	Yes (remediation)	-	-	Site-specific investigation
Denmark	-	Yes (locally)	-	Site-specific investigation
France	Considered	<b>Yes</b> <sup>4</sup>	Yes (pilot study)	Site-specific investigation
Spain	Yes (TRIAD)	<b>Yes</b> <sup>5</sup>	Yes	
Portugal	Yes	Yes	Yes	<b>Risk assessment of dangerous substances</b> <sup>6</sup>
Italy	Yes	<b>Yes</b> <sup>7</sup>	-	<b>Ecological risk assessment</b> <sup>7</sup>
Czech Republic	-	-	-	Projects
Norway	-	-	-	<i>Sediment risk assessment</i>
Iceland	-	-	-	-
USA	Yes (EMAP)	<b>Yes</b> <sup>8</sup>	<b>Yes</b> <sup>8</sup>	<b>Ecological risk assessment</b> <sup>8</sup> , TIE studies, bioaccumulation studies, development of water quality criteria and sediment guidelines, assessment of sediments
Canada	-	<b>Yes</b>	Yes	Sediment quality assessment
Australia	Yes (sediment)	<b>Yes</b> <sup>9</sup>	Yes	Ecological impact assessment at mining sites

<sup>1</sup> National guidance document for dredged material translated into federal regulations, some of which mention bioassays; <sup>2</sup> Not in law, but in UK National Monitoring Programme, OSPAR-JAMP monitoring, UK Offshore Chemical Notification Scheme and IPPC effluent assessment; <sup>3</sup> Licences by Irish EPA and compliance monitoring for assessment of effluents and dredged material; <sup>4</sup> **Loi sur l'eau** (Water Law) no. 92-3 of 1992-01-03; <sup>5</sup> On the 'polluter pays' principle, a levy for waste water discharge is calculated for industrial facilities; <sup>6</sup> National legislation only on the risk assessment of dangerous substances (Directive 67/548/EEC) and phytopharmaceuticals (Directive 91/414/EEC); <sup>7</sup> **Decreto legislativo 11 Maggio 1999 N. 152** (Italian national law on water quality); <sup>8</sup> The **Clean Water Act** states that toxic substances are not to be released into waterways in toxic amounts. The statutory criteria for toxicity are based on toxicity tests. The **Whole Effluent Testing** (WET) programme uses toxicity tests and is part of the **National Pollutant Discharge Elimination System. Superfund** uses toxicity tests to determine the status of sediments; <sup>9</sup> **Water Acts** (industrial licences).

of dredged material (7 of the 15 countries). In several cases, they had already been implemented in national law or other national/subnational regulations, or work was being done to implement them in national/subnational regulations in the near future.

Table 8 shows the experience of each country with specific types of bioassays. It reveals that most of the countries surveyed had extensive experience of *in vivo* bioassays (13 of the 16 countries). They were using them mainly for monitoring purposes and for the assessment of effluent and dredged material. Biomarkers were also in regular use in monitoring or research programmes (12 of the 16 countries surveyed). A few of these biomarkers were being used to meet OSPAR commitments. Most countries (11 of the 16 countries surveyed) also had experience of cellular *in vitro* bioassays, both for the purposes mentioned in table 7 and as part of research programmes. However, their experience related mainly to the use of the Microtox test kit with *Vibrio* bacteria. *In situ* bioassays were also in regular use (in 8 of the 16 countries surveyed). Biomanipulation and TIE studies were less frequently used and then mainly in research programmes.

Bioassays were generally used in both water and sediments, although the Czech Republic and Norway use them only in sediments. Most countries also used them in pore water, elutriate and extracts of water or sediment. Other matrices used were organic extracts. Scientists in Australia and Ireland preferred not to use solvent extractions as test matrix because they do not reflect the bioavailability of compounds.

There was still widespread interest in the development of bioassays. This was mainly focused on *in vivo* bioassays, *in vitro* bioassays and biomarkers. Many countries had ongoing research programmes in this area. Portugal preferred to concentrate its efforts on the implementation of bioassays, rather than develop more bioassays.

#### **7.2.1. Bioassays and the EU Water Framework Directive (WFD)**

Once the definition of ecoassays was explained to respondents, the majority of the countries surveyed proved in fact to be using bioassays partly as ecoassays. In this case, bioassays were being used to determine whether the chemical quality of an area was good enough to achieve a good ecological status. Obviously this was not yet being done as part of the compulsory implementation of the WFD in EU countries.

Most of the interviewees were positive about the possible use of bioassays within the context of the WFD, although slight negative comments were also received. Three countries – the UK, France and Germany – were already discussing the use of bioassays within the WFD. In the UK, the CIS Working Group had already produced a discussion paper in 2002 on the potential role of bioassays in meeting monitoring needs in relation to the WFD. In France, discussions were taking place on the potential use of biomarkers in national monitoring programmes relating to the WFD, in particular for reference areas. Discussions were also taking place in Germany, although the subject of these was unspecified.

Table 8. Type of bioassays that countries have used. **Bold:** extensive experience or required in law/regulations; *standard:* experience in research projects or in development; underlined: past experience.

Country	Whole organism ( <i>in vivo</i> ) bioassays	Cellular ( <i>in vitro</i> ) bioassays	<i>In situ</i> bioassays	Biomarkers	Biomaniplulation (en/exclosures)	TIE
Belgium	<b>X</b>	<b>X</b>	-	-	-	-
Germany	<b>X</b>	X	-	X	-	-
UK	<b>X</b>	X	<u>X</u>	-	-	-
Ireland	<b>X</b>	X	-	X	X	-
Sweden	<b>X</b>	-	<b>X</b>	<b>X</b>	-	<b>X</b>
Denmark	<b>X</b>	-	-	<b>X</b>	-	-
France	<b>X</b>	-	<b>X</b>	X	-	-
Spain	<b>X</b>	<b>X</b>	<u>X</u>	X	-	-
Portugal	<b>X</b>	X	X	X	-	-
Italy	<b>X</b>	<b>X</b>	-	-	-	-
Czech Republic	-	X	-	X	-	-
Norway	<b>X</b>	<b>X</b>	-	<b>X</b>	-	-
Iceland	-	-	-	-	-	-
USA	<b>X</b>	X	X	X	X	<b>X</b>
Canada		-	<b>X</b>	<b>X</b>	-	-
Australia	<b>X</b>	X	X	X	-	-

Whole organism (*in vivo*) bioassays: tests using organisms, such as the Daphnia test. Endpoints such as survival, growth and reproduction are scored. These tests are conducted in the lab on e.g. field samples (sediment or water). For a more detailed description see chapter 5.

Cellular (*in vitro*) bioassays: relatively fast, low-cost tests that use simple biological systems such as bacteria, cells or cellular fractions. They are mostly used as screening assays. For a more detailed description see chapter 5.

*In situ* bioassays: tests conducted in the field, e.g. using caged organisms. Endpoints can be the same as in whole organism *in vivo* bioassays. For a more detailed description see chapter 5.

Biomarkers: the measurement of changes at a subindividual level (e.g. molecular, biochemical or cellular) induced by the exposure of an organism to a contaminant. They can be used as endpoints in *in vivo* or *in situ* tests or for monitoring in the field. For a more detailed description see chapter 5.

Biomaniplulation (en/exclosures): manipulation of the field situation, for instance by excluding fish or birds from a particular area.

TIE: the identification of compounds (or groups of compounds) that cause an effect in toxicity tests.



More general comments about the use of bioassays were also received. For example:

- The combination of chemical analyses and bioassays reveals more about possible risks than chemical analyses alone (Sweden). Bioassays should be used as part of a TRIAD approach (UK, Spain and Belgium);
- Bioassays should be part of an assessment instrument. They should not be used as an end in themselves, but as part of a toolbox (Spain, Portugal). They should be used to clarify specific issues, for instance to check the effectiveness of reduction measures or to prioritize locations (Italy);
- A test battery is needed when using bioassays to get a good picture of the water quality (Spain and France)
- We should move to sensitive endpoints, which can be related/correlated to population-relevant effects in the most sensitive species to be in agreement with the WFD. This is not always the case with the available bioassays, both with respect to species and endpoints (Denmark).

### **7.2.2. OSPAR obligations**

OSPAR is to adopt biological effects techniques in the OSPAR-CEMP programme. This international monitoring programme is leading to national monitoring programmes in North Sea countries. The ICES Working Group on Biological Effects and Contamination (ICES WGBEC) has recently advised OSPAR on the most promising bioassays and biomarkers (in fish and mussels). These recommendations will be discussed in an ICES-OSPAR workshop in early 2005. In general, ICES WGBEC feels that both chemical analyses and biological effect assessment are needed for a more holistic assessment. It also recommends the use of bioassays as a partial replacement of expensive chemical analyses. For example, the (*in vitro*) DR CALUX assay can be used to replace the analyses of dioxins and other planar chemicals.

### **7.2.3. SedNet activities**

The EU Water Framework Directive (WFD) Expert Group on Analysis and Monitoring of Priority Substances (AMPS) has drafted a discussion document on sediment monitoring. The document is enriched with several pieces of text derived from the SedNet Strategic Paper (see: [www.SedNet.org](http://www.SedNet.org)) and other SedNet documents. According to the drafting group, the aim of sediment monitoring under the WFD is: 1) to establish the criteria for, and to provide a demonstration of, conditions of "no deterioration" in sediment quality; 2) to provide data on sediment quality across the EU; 3) to monitor the progressive reduction in contaminants and phasing out of Priority Hazardous Substances (PHS) based on a statistically robust sampling strategy (trend monitoring: temporal & geographical). Compliance monitoring is not yet appropriate because of the lack of a definition of valid Environmental Quality Standards (EQS sediment) in a European context (and the complexity of the task of producing one), analytical limitations and the anticipated costs of obtaining full spatial coverage. Furthermore, the drafting group feels that sediment monitoring has a part to play in risk assessment and is useful in the context of source

control (“the history of mankind is reflected in the sediments”). Finally, the group proposes that by the end of this year SedNet should produce a more detailed proposal on how to derive technical guidance for sediment monitoring related to the WFD needs. This proposal is to be worked out in close consultation with EC DG Environment, the AMPS sediment monitoring drafting group and other experts involved in SedNet (ranging from scientists to stakeholders). SedNet promotes the use of bioassays within sediment quality assessment strategies.

#### **7.2.4. Rebecca**

Rebecca is a 6<sup>th</sup> Framework project focusing on the relationships between the ecological and chemical status of surface waters. The objective is to provide underpinning for one of the key scientific principles on which the WFD is based, namely that relationships between the biological state and the physical and chemical properties of surface waters should be sufficiently well understood to enable the management of catchments and rivers to achieve ecological objectives. Our present understanding of the link between the chemical properties and ecological state of surface waters is not generally adequate for this purpose.

### **7.3 Opportunities for collaboration**

All the interviewees showed great interest in cooperating with other countries in the field of bioassays. They thought it was important to share ideas and knowledge, and to compare and harmonize bioassays. The harmonization of biological effects techniques is among the subjects being discussed by ICES WGBEC. The interviewees were primarily interested either in developing new bioassays or in conducting ring tests. As regards the development of new bioassays, they were particularly interested in making them:

- cheaper/faster;
- more sensitive (as regards both endpoints and organisms);
- more ecologically relevant;
- suitable for new chemicals;
- usable in brackish/marine environments.

To assess the quality of the existing bioassays, ring tests were proposed. At present, ring tests are organized by BEQUALM (the Biological Effects Quality Assurance in Monitoring Programmes project, initiated in 1998 as an EU funded research programme) or by individual initiators (such as the Technical University of Catalonia (UPC), which is organizing a ring test on the luminescent bacteria toxicity assay).

Interviewees in the USA, Portugal and France specifically mentioned the desire to cooperate on the implementation of bioassays. Cooperation could focus on questions such as when and how bioassays can best be used, e.g. in monitoring programmes, or as diagnostic tools when ecological status is poor. At the 14<sup>th</sup> Annual Meeting of SETAC Europe (in April 2004), several sessions focused on the development of knowledge in relation to the WFD. During these sessions, it emerged that both researchers and policymakers are becoming aware of a

knowledge shortfall as regards the formulation and selection of measurements to achieve a good ecological status. There is a desire for cooperation but few ideas on how to achieve it. One suggestion was the establishment of a SETAC working group similar to the American group for whole effluent assessment.

The scientific forum of ECETOC also organized a meeting on this subject in 2004. Industry is hiring prominent scientists to participate in these discussions. Its interest lies in the fact that the chemical quality is often good enough to achieve a good ecological status, where other stressors are the limiting factors.

Even though most of the survey responses focused on the development of new bioassays and intercalibration studies, it seems logical to begin by harmonizing existing ideas on how bioassays can best be used both in relation to WFD requirements and for other purposes. This discussion could take place within the proposed SETAC working group mentioned above, within other platforms such as SedNet or ICES, or within a new platform set up for the purpose. At the same time, a special session on ecoassays could be organized at SETAC Europe 2005. Subsequent discussions can then focus on the intercalibration of existing tests and the identification of needs for further tests.



## 8. Conclusies en aanbevelingen

Bij het verbeteren van de ecologische toestand van watersystemen zijn ecoassays nodig voor een goed begrip van oorzaak-gevolg relaties. Er zijn daardoor veel kansen voor ecoassays binnen de KRW-systematiek, mits de verschillende instrumenten juist worden ingezet. Ook essentieel is heldere, brede communicatie, zowel in KRW-verband als met beheerders.

Daarnaast lijkt er internationaal voldoende interesse te bestaan om een gezamenlijke Europese aanpak te ontwikkelen voor de toepassing van ecoassays binnen de KRW.

Op basis van deze conclusies verdient het aanbeveling om de ecoassaytoepassing verder uit te werken en middels één of meerdere pilots uit te testen. Hierbij kan worden aangesloten bij de ambitienotitie KRW (2004). Belangrijke inhoudelijke thema's voor dit toekomstige werk zijn:

- de relatie tussen ecologische doelen en abiotische randvoorwaarden;
- de effectiviteit van bron- en effectgerichte maatregelen;
- scenariostudies naar kosteneffectieve maatregelenpakketten.

Speerpunten zouden moeten zijn:

- het verder uitwerken van de toepassingen van ecoassays, aan de hand van de in deze verkenning beschreven diagnosesystematiek, zowel via inventarisatie van bestaande kennis (modellen, literatuur en rapporten) als door onderzoek. Hierbij is speciale aandacht nodig voor toetsen en methodes op het gebied van hydromorfologische eutrofiërende pressoren;
- het opzetten van een (internationale) kennisbank;
- een pilotproject voor de toepassing van de diagnosesystematiek binnen één stroomgebied (bijvoorbeeld de Schelde, i.s.m. SCALDIT);
- vergroten van het draagvlak voor ecoassays d.m.v. communicatie binnen KRW-overlegorganen en met beheerders. De regio is hier van essentieel belang en kan niet vroeg genoeg betrokken worden. Dit kweekt draagvlak, zowel bij de beheerders zelf als, via de regionale beheerders, bij organisaties als de STOWA en de Unie van Waterschappen;
- het ontwikkelen van een internationale visie door het opzetten van een SETAC-werkgroep en het organiseren van een speciale sessie op het SETAC-congres in 2005.



## 9. Referenties

Ambitienotitie DGW (april 2004), *Pragmatische implementatie Europese Kaderrichtlijn Water in Nederland: van beelden naar betekenis*.

Berg, M. S. van den (1999). *Charophyte colonization in shallow lakes; processes, ecological effects and implications for lake management*. Proefschrift, VU Amsterdam; RIZA rapport 99.015.

Besten, P.J. den, A. Naber, E.M.M. Grootelaar & C. van de Guchte. (2003) *In situ bioassays with Chironomus riparius: laboratory-field comparisons of sediment toxicity and effects during wintering*. Aquatic Ecosystem Health and Management 6, 1-12.

Bosveld, A.T.C. en A. van Kleunen (1998). *Biomarkers als graadmeters voor actuele ecotoxicologische risico's*. IBN-DLO rapport 388, ISBN 0928-6888.

Brack, W. (2003) 'Effect-directed analysis: a promising tool for the identification of organic toxicants in complex mixtures?' *Anal. Bioanal. Chem.* 377: 397-407 (2003).

Breukelaar A.W. en A. bij de Vaate (1998). Onderzoek naar migratieroutes van zeeforel door het Nederlandse deel van Rijn en Maas, RIZA werkdocument 98.135X.

Burgess, R.M., M.G. Cantwell, M.C. Pelletier, K.T. Ho, J.R. Serbst, H.F. Cook and A. Kuhn (2000), 'Development of a toxicity identification evaluation procedure for characterizing metal toxicity in marine sediments'. *Environm. Toxicol. Chem.* 29(4): 982-991

De la Haye, M.A.A. (1992). Worden groei, overleving en voortplanting van de Vlottende Waterranonkel (*Ranunculus fluitans* Lam.) in Maaswater beïnvloed door waterstandfluctuaties: semi-veldexperimenten. RIZA, rapport nr. 8 EHR reeks

De la Haye, M.A.A. (1994). Heeft Vlottende waterranonkel een toekomst in de Grensmaas? RIZA, rapport nr. 18 EHR reeks.

Derksen, J.G.M., J.L. Spier, A.D. Vethaak en J.L. Maas (2004). Bioassays onder de loep; Selectie van bioassays voor zoet, zout en brak oppervlaktewater inclusief zwevend stof. RIZA/RIKZ rapport 2004 (in prep).

Dijk, G.M. van en E.C.L. Marteiijn (1993). Ecologisch Herstel van de Rijn (1988 – 1992); van onderzoek naar beleid. RIZA, rapport nr. 50 EHR reeks.

Dudok van Heel, H.C., J.A. van der Velden en S.M. Wiersma (1993). Ontwikkeling van macrofauna in aangebrachte sedimenten in het Noordelijk Deltabekken. RIZA nota nr. 93.022.

Eggens, M., D. Vethaak, A. Bergman, J. Everts en A. Opperhuizen (1996) Biomarkers. Koortsthermometers voor het milieu. RIKZ-rapport 95.011.

Elbersen, J.W.H., P.F.M. Verdonschot, B. Roels & J.G. Hartholt. (2002). Definitiestudie KaderRichtlijn Water (KRW). I. Typologie Nederlandse Oppervlaktewateren. Alterra-rapport 669.

Gagnon, M.M. & D.A. Holdway (2002). 'EROD activity, serum SDH and PAH biliary metabolites in sand flathead (*Platycephalus bassensis*) collected in Port Phillip Bay, Australia.' Mar. Pollut. Bull. 44: 230-2237.

Gerritsen, A.A.M., G.B.J. Rijs, J.G.P. Klein Breteler en J. Lahr (2003). Oestrogene effecten in vissen in regionale wateren. RIZA rapport 2003.019.

Gorter, M., B. van der Wal en J. Mangelaar (1996). 'Veldtoets met watervlooien: een nuttige aanvulling op het chemisch onderzoek'. H2O, 29, nr 12, 354 – 357.

Greijdanus-Klaas, M (1997). Onderzoek overleving en voortplanting van de amoebesoot Zoetwaterneriet (*Theodoxus fluviatilis*) in de stroomgootopstelling te Kampen. RIZA; projectvoorstel.

Guidance on Ecological Classification, ECOSTAT WG2A, 17 oct 2003

Handboek Kaderrichtlijn Water: [www.kaderrichtlijnwater.nl](http://www.kaderrichtlijnwater.nl)

Hannigan, M.P., G.R. Cass, B.W. Penman, C.L. Crespi, A.L. LaFleur, W.F. Busby, W.G. Thilly and B.R.T. Simoneit (1999) 'Bioassay-directed chemical analysis of Los Angeles airborne particulate matter using a human cell mutagenicity assay'. Environm. Sci. Technol. 32: 3502-3514

Hollert, H., M. Dürr, H. Olsman, K. Halldin, B. van Bavel, W. Brack, M. Tysklind, M. Engwall and T. Braunbeck (2002) 'Biological and chemical determination of dioxin-like compounds in sediments by means of a sediment TRIAD approach in the catchment area of the river Neckar'. Ecotoxicology 11: 323-336.

Hosper, S.H., M. –L. Meijer en P.A. Walker (1992). Handleiding Actief Biologisch Beheer. ISBN 90-800120-5-X

ICES (2004). Report of the Working Group on Biological Effects of Contaminants. Oostende, Belgium, 22-26 March 2004.

Kater, B.J., J. Postma, M. Dubbeldam and J.T.H.J. Prins (2001). 'Comparison of laboratory and in situ sediment bioassays using *Corophium volutator*'. Environm. Toxicol. and Chem., 20, 6, pp 1291-1295.



Kerkum, F.C.M., C. Pannebakker en H. Coops (1996). Planten in de peiling. RIZA werkdocument 96.011X.

Klamer, J.C.; J.H. Jorritsma, W.M.G.M. van Loon, L.A. Villerius, T.E. van de Zande, J.H. Hermans & J.F. Bakker (2002). AMDIS as A Valuable Tool in Toxicity Identification Evaluation Studies Genotoxicity (Mutatox) in Rotterdam Harbor Sludge (niet gepubliceerd RIKZ-rapport).

Klamer, J.C.; J. Jorritsma, L. van Vliet, F. Smedes en J.F. Bakker (2004). Dioxine-achtige toxiciteit in baggerslib van het Zeehavenkanaal, Delfzijl. RIKZ rapport 2004.013.

Kaderrichtlijn Water (2000): 2000/60/EG

Lam, P.K.S and R.S.S. Wu (2003). Use of biomarkers in environmental monitoring. STAP workshop on the Use of bioindicators and analytical methods for the analysis of POPs in developing countries. Dec 2003. Sponsored by STAP/GEF and Ministry of Environment, Government of Japan.

Lebo, J.A., J.N. Huckins, J.D. Petty and K.T. Ho (1999) 'Removal of organic contaminant toxicity from sediments. Early work towards development of a Toxicity Identification Evaluation (TIE) method'. Chemosphere 39(3): 389-406.

Legierse, K. (2001). In vitro bioassays. Visie, profiel en status binnen RIKZ-projecten. Werkdocument RIKZ/OS/2001.856X.

Maas, J.L., E. de Bruijne, A. Espeldoorn, E.M. Foekema en A.J. Hendriks (2000). Validatie risicoschatting gifstoffen in uitslagwater bij drie gemalen in Flevoland. RIZA werkdocument 2000.195X.

Maas, J.L., E.J. van den Plassche, A. Straetmans, A.D. Vethaak en A.C. Belfroid (2003). Normstelling voor bioassays; Uitwerking voor oppervlaktewater en waterbodem. RIZA rapport 2003005. RIKZ rapport 2003.007. ISBN 9036954851.

Maas, J.L., M.A. Beek en M. Greijdanus (2005). Ecotoxicologische en Ecologische Monitoring Maas (EMMA - water). RIZA document; in opdracht van Directie Limburg. In voorbereiding.

Mensink, B.P. (1999). Imposex in the common whelk, *Buccinum undatum*. Proefschrift Wageningen Universiteit.

Van der Molen, D.T. et al. (2003a). 'Referenties en maatlatten voor rivieren ten behoeve van de Kaderrichtlijn Water.' Versie 1 december 2003.

Van der Molen, D.T. et al. (2003b). 'Referenties en maatlatten voor meren ten behoeve van de Kaderrichtlijn Water.' Versie 1 december 2003.

Van der Molen, D.T. et al. (2003c). 'Referenties en maatlatten voor overgangs- en kustwateren ten behoeve van de Kaderrichtlijn Water.' STOWA-rapport W07.

Mount, D.I. and L. Anderson-Carnahan (1988) Methods for Aquatic Toxicity Identification Evaluations. Rapport EPA-600/3-88/034, september 1988.

Postma, J. A. Derksen, M. van den Heuvel-Greve en D. Vethaak (2003). Het ontwikkelen van chronische in vivo bioassays voor brakke en mariene sedimenten. RIKZ rapport 2003.002.

Schipper, C.A. & J. Stronkhorst (1999). Toxiciteitstesten voor Zoute baggerspecie. RIKZ nr. 99.012.

Spier, J.L., J.G.M. Derksen, J. Lahr en J.L. Maas (2004). Bioassays onder de loep. Selectie van chronische in vivo bioassays voor zoete sedimenten. RIZA rapport 2004 (in prep).

Stuijtzand, S.C., S. Engels, E. van Ammelrooy and W. Admiraal (1999). 'Caddisflies (Trichoptera Hydropsychidae) used for evaluating water quality of large European rivers'. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 36(2): 186-192.

Thomas, K.V., J.E. Thain and M.J. Waldock (1999) 'Identification of toxic substances in United Kingdom estuaries'. Environm. Toxicol. Chem. 18(3): 401-411.

Tweede Kamer vergaderjaar 1998 – 1999, 26 401, nr 12.

Tweede Kamer vergaderjaar 2000 – 2001, 26 401, nr 24.

Vethaak, A.D. (1993). 'Visziekte en zeevervuiling; een studie van de bot (*Platichthys flesus*) in De Nederlandse kustwateren en estuaria, proefschrift Universiteit van Amsterdam.

Vethaak, A.D., G.B.J. Rijs, S.M. Schrap, H. Ruiten, A. Gerritsen en J. Lahr (2002). Estrogens and xeno-estrogens in the aquatic environment of the Netherlands. Occurrence, potency and biological effects. RIZA/RIKZ rapport 2002.001.

Vierde Nota Waterhuishouding. Regeringsbeslissing 1998. Ministerie van Verkeer en Waterstaat.

# 10. Definities en afkortingen

## 10.1 Definities

**Auto-ecologie:** het geheel aan kennis over de biologie en ecologie van een organisme;

**Bioassays:** toetsen met organismen of cellen die onder standaardomstandigheden worden blootgesteld aan milieumonsters;

**Categorie:** indeling van waterlichamen in een viertal natuurlijke wateren, sterk veranderde wateren en kunstmatige wateren;

**Deelmaatlat:** de beoordeling van een watertype op een bepaald onderdeel, zoals abundantie van macrofauna. Een aantal deelmaatlaten samen vormt een maatlat, in dit geval macrofauna;

**Ecoassays:** toetsen om de (chemische, hydromorfologische of ecologische) oorzaak van een onvoldoende ecologische kwaliteit in een waterlichaam te achterhalen;

**Ecologische toestand:** een aanduiding van de kwaliteit van de structuur en het functioneren van aquatische ecosystemen;

**Goed ecologisch potentieel:** de toestand van een sterk veranderd of kunstmatig waterlichaam (overeenkomstig de toepasselijke bepalingen van KRW-bijlage V);

**Goede chemische toestand van oppervlaktewater:** de chemische toestand die vereist is om te voldoen aan de milieudoelstellingen voor oppervlaktewater, vastgesteld in artikel 4, lid 1, onder a), d.w.z. de chemische toestand van een oppervlaktewaterlichaam waarin de concentraties van verontreinigende stoffen niet boven de milieukwaliteitsnormen liggen die zijn vastgesteld in bijlage IX en overeenkomstig artikel 16, lid 7, of in andere toepasselijke communautaire wetgeving waarbij op Gemeenschapsniveau milieukwaliteitsnormen zijn vastgelegd;

**Goede ecologische toestand:** de toestand van een natuurlijk waterlichaam (overeenkomstig KRW bijlage V);

**Kunstmatig waterlichaam:** een door menselijke activiteiten tot stand gekomen oppervlaktewaterlichaam;

**Kustwateren:** de oppervlaktewateren, gelegen aan de landzijde van een lijn waarvan elk punt zich op een afstand bevindt van één zeemijl zeewaarts van het dichtstbijzijnde punt van de basislijn vanwaar de breedte van de territoriale wateren wordt gemeten, zo nodig uitgebreid tot de buitengrens van een overgangswater;

**Kwaliteitselementen:** (biologische, hydromorfologische en fysisch-chemische) kwaliteitseisen;

**Maatlat:** de beoordeling van een type water aan de hand van een biologisch kwaliteitselement;

**Overgangswater:** een oppervlaktewaterlichaam in de nabijheid van een riviermonding dat gedeeltelijk zout is door de nabijheid van kustwateren, maar dat in belangrijke mate door zoetwaterstromingen wordt beïnvloed;

**Pressor:** factor die een rol speelt bij het niet behalen van een goede ecologische toestand;

**Prioriteitsstoffen:** stoffen, bepaald overeenkomstig artikel 16, lid 2, en vermeld in bijlage X van de KRW. Hiertoe behoren gevaarlijke

prioriteitsstoffen, dit wil zeggen overeenkomstig artikel 16, lid 3 en lid 6 geïdentificeerde stoffen waarvoor maatregelen zijn getroffen overeenkomstig artikel 16, lid 1 en lid 8;

**Sterk veranderd waterlichaam:** een oppervlaktewaterlichaam dat door fysische wijzigingen ingevolge menselijke activiteiten wezenlijk van aard is veranderd van aard (overeenkomstig de bepalingen van KRW bijlage II);

**Stressfactor:** zie pressor;

**Stroomgebied:** een gebied vanwaar al het over het oppervlak lopende water via een reeks stromen, rivieren en eventueel meren door één riviermond, estuarium of delta, in zee stroomt;

**Typen:** soorten water binnen een bepaalde categorie. Aangeduid met de codes R (rivieren), M (meren), O (overgangswater) en K (kustwater);

**Verontreinigende stof:** iedere stof die tot verontreiniging kan leiden, met name de in KRW-bijlage VIII genoemde stoffen

Waterlichaam: onderscheiden oppervlaktewater van aanzienlijke omvang.

## 10.2 Afkortingen

<b>BEVER</b>	Beleidsvernieuwing bodemsanering
<b>CEMP</b>	Coordinated Environmental Monitoring Programme van OSPAR
<b>DGW</b>	Directoraat-Generaal Water
<b>ECETOC</b>	European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals
<b>EDA</b>	Effect geDirigeerde Analyse
<b>GEP</b>	Goed Ecologisch Potentieel
<b>GET</b>	Goede Ecologische Toestand
<b>ICES</b>	International Council for the Exploration of the Sea (wetenschappelijk adviesorgaan voor OSPAR)
<b>ICES WGBEC</b>	ICES werkgroep 'Biological Effects of Contaminants'
<b>KRW</b>	Kaderrichtlijn Water
<b>MEP</b>	Maximaal Ecologisch Potentieel
<b>MTR</b>	Maxibaal Toelaatbaar Risico
<b>OMEGA</b>	model dat de risico's van verontreinigingen in het milieu berekent
<b>OSPAR</b>	Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic ('OSPAR Convention'), opened for signature at the Ministerial Meeting of the Oslo and Paris Commissions in Paris on 22 September 1992
<b>Rebecca</b>	Europees 6e kaderprogramma voor onderzoek dat naar een betere begrip van de relatie tussen ecologische status en hydromorfologische-chemische karakteristieken van oppervlaktewater toewerkt. Deze kennis wordt gebruikt voor de implementatievereisten van de KRW.
<b>RIKZ</b>	Rijksinstituut voor Kust en Zee
<b>RIZA</b>	Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling

<b>SedNet</b>	Europees Sediment Netwerk, dat zich richt op de milieu-, sociale en economische aspecten van sediment management in stroomgebieden
<b>SETAC</b>	Society for Environmental Toxicology & Chemistry
<b>TEB</b>	Totaal Effluent Beoordeling
<b>TIE</b>	Toxic Identification Evaluation
<b>TRIADE</b>	Ecologische risicobeoordeling op basis van chemie, toxicologie en ecologie
<b>WFD</b>	Water Framework Directive (Kaderrichtlijn Water)
<b>ZGET</b>	Zeer Goede Ecologische Toestand





Tabel 1c. Biologische kwaliteitselementen en deelmaatlaten voor de typen in de categorie meren, verkregen uit van der Molen *et al.* (2003b). Voor 12 typen zijn nog geen kwaliteitselementen en deelmaatlaten opgesteld.

Kwaliteitselement	Deelmaatlat	KRW-codes voor typen in de categorie meren							
		M14	M20	M21	M23	M27	M30	M31	M32
Fytoplankton	Chlorofyl-A	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja
	Soortensamenstelling	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja
Macrofyten en fyto­benthos	Abundantie groeivormen	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Nnb
	Soortensamenstelling macrofyten	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Nnb
	Soortensamenstelling fyto­benthos	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja	Nnb
Macrofauna	Abundantie negatief dominante indicatoren	Ja	Ja			Ja	Ja		
	Abundantie kenmerkende en positief dominante soorten	Ja	Ja			Ja	Ja	Ja	Ja
	Aantal taxa (percentage kenmerkende taxa)	Ja	Ja			Ja	Ja	Ja	Ja
Vissen	Aandeel benthivoren (%)	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja			
	Aandeel black fish (%)	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja			
	Aandeel limnofielen en snoek (%)	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja			
	Aandeel piscivoren (%)	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja			
	Baars +blankvoorn in % van alle eurytopen	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja			
	Soortensamenstelling 5 groepen (Soorten met tolerantie t.o.v. chloride (laag, middel, hoog), residente brakwatersoorten (+paling), mariene soorten)						Ja	Ja	Ja
	Abundantie biomassa 5 groepen (Soorten met tolerantie t.o.v. chloride (laag, middel, hoog), residente brakwatersoorten (+paling), mariene soorten)						Ja	Ja	Ja
Leeftijdsopbouw 4 groepen (Soorten met tolerantie t.o.v. chloride (laag, middel, hoog), residente brakwatersoorten (+paling))						Ja	Ja	Ja	



Tabel 1d. Biologische kwaliteitselementen en deelmaatlaten voor de typen in de categorieën kust- en overgangswateren, verkregen uit van der Molen *et al.* (2003c).

Kwaliteitselement	Deelmaatlat	KRW-codes voor typen in de categorieën kust- en overgangswateren			
		O2	K1	K2	K3
Fytoplankton	Chlorofyl-a	ja	ja	ja	ja
	Phaeocystis	ja	ja	ja	ja
Waterflora	Kwelder-areaal	ja		ja	
	Kwelder-kwaliteit	ja		ja	
	Zeegras-areaal	ja		ja	
	Zeegras-kwaliteit	ja		ja	
	Zeewier zacht substraat	ja		ja	
Macrofauna	Zeldzame soorten	ja	ja	ja	ja
	Typische (gewone) soorten	ja	ja	ja	ja
	Normatief	ja	ja	ja	ja
	(bijvoorbeeld kokkelarealen, mosselarealen, aanwezigheid volwassen strandgapers)				
Vissen	Aantal diadrome soorten	ja			
	Aantal estuarien residente soorten	ja			
	Aantal kinderkamersoorten	ja			
	Aantal soorten seizoensgasten	ja			
	Dichtheid spiering	ja			
	Dichtheid puitaal	ja			
	Dichtheid marien juvenielen	ja			
	% huidzweren Bot	ja			

Tabel 3.a. Maatlatten in de categorieën kust- en overgangswateren waarvoor waarschijnlijk geen goede score behaald wordt voor MEP/GEP dan wel ZGET/GET. K3 is (onbeschut) euhalien kustwater, K4 = beschut euhalien kustwater.

		Gebieden								
Kwaliteits- element	Deelmaatlat	Westerschelde (O2)	Oosterschelde (K4)	Kust Delta (K3)	Kust Holland (K3)	Kust Noord (K3)	Waddenzee West (K3)	Waddenzee Oost (K3)	Eems- Dollard (O2)	Nieuwe Waterweg (O2)
<b>Fytoplankton</b>	Chlorofyl-A Phaeocystis	Matig GET	ZGET Matig	GET Ontoereiken d	GET Ontoereiken d	ZGET Matig	GET Ontoereikend	GET Ontoereikend	GET GET	
	Totaal	GET	GET	Matig	Matig	GET	Matig	Matig	GET	
<b>Macroflora</b>	Kwelderareaal Kwelderkwaliteit	GEP Matig	GEP Matig				Ontoereikend GET	MEP GET	Matig GET	
	Zeegrasareaal Zeegraskwaliteit	MEP GET	Slecht Matig					GEP Ontoereikend	GEP Matig	
	Totaal	Matig	Matig				Ontoereikend	Ontoereikend	Matig	
<b>Macrofauna</b>	Zeldzame soorten	GET		Slecht	Slecht	Slecht	Slecht		Matig	
	Typische soorten Normatief	GET Ontoereikend		GET ZGET	GET ZGET	GET ZGET	ZGET Ontoereikend		Matig Matig	
	Totaal	Matig		GET	GET	GET	Matig		Matig	
<b>Vissen</b>	Estuarien Seizoensgasten	GET Ontoereikend							GET Ontoereiken d	Matig Matig
	Spiering Puitaal Mariene juvenielen									
	Totaal	GET							GET	Matig

Tabel 3.b. Maatlatten in de categorieën rivieren en meren waarvoor waarschijnlijk aan de hand van de gegevens van de afgelopen jaren geen goede score behaald wordt voor MEP/GEP dan wel ZGET/GET.

		Gebieden				
Kwaliteitselement	Maatlat	Grensmaas (R16)	Maas (R7)	Bergse Maas (R8)	Eemmeer (M14)	Gooimeer (M14)
Fytoplankton	totaal				Matig	GET
Fytobenthos	totaal		Matig	Ontoereikend - GET	Matig - ZGET	Ontoereikend - ZGET
Waterflora	totaal	Ontoereikend			Ontoereikend	Ontoereikend
Macrofauna	totaal	Matig - GET			Slecht	Matig
Vis	totaal	Matig				Ontoereikend

Tabel 4. De definitie van verschillende typen ecoassays, evenals voorbeelden en de stand van zaken per type ecoassay.

Soort eco-assay	Definitie	Voorbeelden	Stand van zaken
<b>In vivo bioassays</b>	<p>Testen die de <b>toxiciteit van milieumonsters in het lab</b> meten. Ze geven respons op een <b>breed scala aan stoffen</b>. Ze worden op grote schaal uitgevoerd met levende complete organismen van verschillende trofische niveaus. Er is een onderverdeling in kortdurende (<b>acute</b>) testen, die naar overleving kijken, en langdurende (<b>chronische</b>) testen die effecten op groei en overleving bepaald. Voor normstelling van stoffen wordt veelal gebruik gemaakt van bioassays volgens goed gestandaardiseerde protocollen.</p>	<p>Bekende voorbeelden zijn testen met vissen, kreeftachtigen en algen, die zowel in zoet als zout milieu gebruikt worden voor de beoordeling van oppervlaktewater, effluënten en waterbodems.</p> <p>In de Chemie-Toxiciteits-Toets (CTT), die gebruikt wordt voor de beoordeling van baggerspecie, is toetsing met behulp van 3 bioassays vereist. Een van deze drie testen is de acute <i>in vivo</i> bioassay met het slijkgarnaaltje (Schipper &amp; Stronkhorst., 1999).</p>	<p>Door Maas <i>et al.</i> (2003) is een samenvatting gegeven van reeds ontwikkelde en gestandaardiseerde testen die in Nederland toegepast worden op oppervlaktewater en waterbodems in zoet en zout milieu. De lijst bevat 12 acute en 6 chronische <i>in vivo</i> bioassays voor zoete compartimenten en 8 acute en 6 chronische <i>in vivo</i> bioassays voor zout oppervlaktewater en waterbodems.</p> <p>Daarnaast is er in 2003 een inventarisatie uitgevoerd naar beschikbare bioassays in binnen- en buitenland op oppervlaktewater en zwevend stof voor het zoete, brakke en zoute milieu (Derksen <i>et al.</i>, 2004). Het doel van deze studie was een selectie van bioassays te maken die aansluiting vindt bij de ecologische groepen genoemd in de KRW. In principe zijn voor bijna alle soortengroepen uit de Kader Richtlijn Water voor zowel zoet, brak als zout water <i>in vivo</i> bioassays beschikbaar. Eenzelfde exercitie is gedaan voor chronische testen met zoet, brak en zout sediment (Postma <i>et al.</i>, 2003; Spier <i>et al.</i>, 2004). Vooral voor het zoute en brakke milieu bestaan nog nauwelijks chronische testen en zijn niet alle groepen KRW-soorten in de testbatterij vertegenwoordigd. Voor een aantal KRW groepen in het zoete milieu, zoals bentische algen en macrofyten, bestaan nog geen ontwikkelde bioassays in sediment.</p>
<b>In vitro bioassays</b>	<p>Testen die de <b>toxiciteit van milieumonsters in het lab</b> meten. Ze reageren <b>specifiek op een stof of stofgroep</b> en geven een respons, wanneer een stof of stofgroep interactie vertoont met een specifiek biologisch aangrijpingspunt (werkingsmechanisme). Deze testen worden in het lab uitgevoerd met subcellulaire</p>	<p>Bekend zijn de testen, die de aanwezigheid van hormoonverstorende stoffen aantonen in milieumonsters (Vethaak <i>et al.</i>, 2002; Gerritsen <i>et al.</i>, 2003). Deze stoffen kunnen de geslachtshormonen en zelfs de geslachtsorganen aantasten. Daarbij treedt onvruchtbaarheid op, wat een reden kan zijn voor het verminderd voorkomen van bepaalde organismen.</p>	<p>Voor diverse werkingsmechanismen zijn <i>in vitro</i> bioassays beschikbaar (Legierse, 2001; Maas <i>et al.</i>, 2003, Derksen <i>et al.</i>, 2004). De <i>in vitro</i> bioassays voor het bepalen van dioxine-activiteit, genotoxiciteit, neurotoxiciteit en hormoonverstoring worden reeds toegepast bij de monitoring van oppervlaktewater. Andere <i>in vitro</i> assays, waaronder die voor immunotoxiciteit en narcose, zijn onvoldoende ver ontwikkeld voor toepassing.</p>

	fracties, bacteriën, primaire cellen of cellijnen waarin een specifieke receptor is ingebouwd.		
<b>In situ assays</b>	<p>Testen waarin organismen worden blootgesteld in kooitjes of in afgeschermd gebied in het veld. Op deze manier wordt onder natuurlijke omstandigheden gecontroleerd naar <b>negatieve effecten in het veld</b> gekeken. Bepaalde factoren, zoals predatiedruk, vluchtgedrag en ongeschikt habitat kunnen uitgeschakeld worden. Stressfactoren zoals zuurstof, temperatuur, menselijke activiteiten, voedselbeschikbaarheid en chemische stoffen kunnen wel invloed hebben. Ze reageren dus op een <b>breed scala aan stressfactoren</b>. In principe kunnen hiervoor vele soorten organismen gebruikt worden.</p>	<p>-Onderzoek naar effecten van diffuse bronnen of in gebieden waar effecten van gewasbeschermingsmiddelen verwacht worden (Gorter et al., 1996; Maas et al., 2000): in glastuinbouwgebieden is massale sterfte aangetoond in deze testen, welke toe te schrijven was aan de aanwezigheid van organofosforbestrijdingsmiddelen. Ook in het uitstroomwater van gemalen in Flevoland werden effecten op de populatiegroei met behulp van watervlooien aangetoond.</p> <p>-Onderzoek naar het ontbreken van kokerjuffers in de Maas (Stuijzand et al., 1999): in kooitjes geplaatste kokerjuffers in Rijn en Maas overleefden in veel gevallen niet in het Maaswater. Naast chemische stoffen zijn factoren als een laag zuurstofgehalte, hoge stroomsnelheid en calamiteuze lozingen de oorzaak voor slechte overleving.</p> <p>-Onderzoek naar effecten van de waterbodem op muggenlarven en amphipoden (Den Besten et al., 2000; Kater et al., 2001): bentische organismen zijn in kooitjes ter plaatse aan sediment blootgesteld. Naast chemische verontreiniging spelen factoren als oppervlaktewater verontreiniging, voedselbeschikbaarheid, temperatuur en zuurstof een grote rol.</p>	<p>Door Maas <i>et al.</i> (2003) is een samenvatting gegeven van reeds ontwikkelde en gestandaardiseerde testen die in Nederland toegepast worden op oppervlaktewater en waterbodem in zoet en zout milieu. De lijst bevat 5 <i>in situ</i> bioassays die beschikbaar zijn voor blootstelling van organismen in kooitjes in het veld (zoet water).</p>
<b>Biomarkers</b>	<p>Met biomarkers worden fysiologische, biochemische of histologische effecten in organismen zichtbaar gemaakt, die aangeven in welke mate een organisme bloot staat aan en reageert op <b>bepaalde toxische</b></p>	<p>Bekende biomarkers zijn de metingen van:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Moleculaire veranderingen, zoals de toename van EROD-activiteit in platvissen van industriële gebieden in Australië vergeleken met deze enzymactiviteit in platvissen van niet-industriële gebieden (Gagnon &amp; Holdway, 2002);</li> <li>-Morfologische veranderingen, zoals imposex bij</li> </ul>	<p>Recentelijk is een overzicht gegeven van verschillende biomarkers als toepassing in internationale monitoringsprogramma's (Lam and Wu, 2003). Van 27 genoemde testen zijn 10 testen in de ontwikkelingsfase en slechts 6 testen in de toepassingfase. De overige testen bevinden zich nog in de onderzoeks-/verkenningfase. Ook een werkgroep van ICES heeft recentelijk een overzicht</p>

	<p><b>verbindingen.</b> Ze worden als vroegtijdige indicator van chemische stress gebruikt. Deze testen kunnen in combinatie met <i>in vivo</i>, <i>in vitro</i> en <i>in situ</i> bioassays worden ingezet.</p>	<p>slakken (geslachtsverandering: vrouwtjes vertonen mannelijke geslachtskenmerken) onder invloed van de stof TBT die in aangroeiwerende verven wordt gebruikt (Mensink, 1999); -Histopathologische veranderingen, zoals vistumoren bij platvissen als indicator van blootstelling aan toxische stoffen (Vethaak, 1993);</p>	<p>gegeven van mogelijke biomarkers voor toepassing in het OSPAR-CEMP monitoringsprogramma op brakke en zoute wateren. Het voorstel bevat 12 biomarkers voor vissen en 8 biomarkers voor (benthische) invertebraten.</p> <p>Over het algemeen is er nog weinig bekend over de relatie tussen biomarker responsen en eventuele schadelijke effecten met ecologische relevantie. In een literatuurstudie hebben Bosveld en Van Kleunen (1998) voor een aantal biomarkers deze relatie kunnen aantonen.</p>
<p><b>Toxic Identification Evaluation (TIE) en Effect geDirigeerde Analyse (EDA, Effect Directed Analysis (EDA))</b></p>	<p>TIE-studies <b>identificeren verantwoordelijke stoffen / stofgroepen</b> die effecten in bioassays veroorzaken. De term is afkomstig van het Amerikaanse EPA (Environment Protection Agency) (Mount and Anderson-Carnahan, 1988). <i>In-vivo</i> bioassays zijn een indicatie voor de toxiciteit bij de EPA-TIE benadering. Meestal zullen meer stoffen betrokken zijn die toxicologische respons in een bioassay veroorzaken dan de set, die in reguliere monitoring programma's worden geanalyseerd. De TIE procedure, evenals de EDA procedure (zie EDA), sporen dus ook stoffen op, waarvan het voorkomen in het milieu dikwijls onbekend is.</p> <p>EDA: Effect toetsing als dirigent voor de uit te voeren fysische-chemische manipulaties en analyses. Het EDA concept vertoont veel gelijkenis met TIE. Het is echter sterk gericht</p>	<p>TIE: Succesvolle TIE-studies zijn vrijwel alleen in een waterfase uitgevoerd. Dit zijn effluenten, oppervlaktewater en poriewater uit sediment. De studies zijn altijd gebaseerd op test organisme interacties via de water fase. Dit betekent dat alleen de direct biologische beschikbare stoffen worden getest. De meeste TIE studies komen tot fase II, waardoor uitsluitend correlaties tussen toxiciteit en stoffen zijn vermeld. TIE van sediment-gebonden toxiciteit staat in de kinderschoenen, vanwege de complexiteit van de matrix. Om een sediment-TIE te voltooien mag de sedimentstructuur en bindingseigenschappen niet significant gewijzigd worden tijdens de stappen van het verwijderen van stofgroepen (Burgess <i>et al.</i>, 2000; Lebo <i>et al.</i>, 1999). De nalevering door sediment veroorzaakt eveneens praktische problemen met het verwijderen van stofgroepen (Burgess <i>et al.</i>, 2000).</p> <p>EDA: EDA studies zijn uitgevoerd met <i>in-vitro</i> bioassays en <i>in-vivo</i> bioassays, die in een <i>in-vitro</i> opstelling operationeel zijn (e.g. Daphnia en Tisbe), voor extracten van toxische stoffen uit luchtdeeltjes, water, inclusief effluenten, sediment en bodem. Hannigan <i>et al.</i> (1998) identificeren een aantal</p>	<p>TIE: In vergelijking tot de oorspronkelijke TIE benadering heeft een evolutie plaatsgevonden. Zo heeft de toepassing bredere weerklank gevonden, is het uitgebreid tot sedimenten en zijn er chemisch-analytische ontwikkelingen die het mogelijk maken met minder kosten de verantwoordelijke stoffen te identificeren. Zo is bijvoorbeeld een extractie-techniek ontwikkeld (Solid Phase Micro Extraction; SPME) waarmee effecten van bioaccumulerende stoffen geïmiteerd worden door het direct kwantificeren van de bioaccumulerende stoffen zelf en tevens vele onverwachte stoffen werden aangetroffen (De Maagd, 2002). Aan verdere ontwikkeling van zowel TIE als EDA wordt momenteel veel aandacht gegeven.</p>

	<p>op extracten van milieumonsters, waarmee het feitelijk de fase 1 van TIE overslaat en zich direct richt op een bepaalde fractie van stoffen. Namelijk al die stoffen die bijvoorbeeld met een sterk organisch oplosmiddel uit sediment geëxtraheerd kunnen worden. Deze benadering maakt het beter mogelijk met een complexe matrix als sediment om te gaan, maar vereist ook een andere groep van toxiciteitstesten, nl. de <i>in-vitro</i> bioassays.</p> <p>Het principiële verschil tussen TIE en EDA ligt in de aanpak. TIE meet de resterende toxiciteit na elke behandeling (of fractionering) en selecteer op die wijze de "fracties" die voor verdere identificatie van stoffen in aanmerking komen. EDA wijst met een toxiciteit meting de te analyseren fracties van een extract aan, tot het niveau waarop de feitelijke analytische identificatie van de stoffen plaatsvindt.</p> <p>Een combinatie van TIE en EDA geeft een zo groot mogelijk dekking van veldrelevantie en typen toxiciteit, stoffen en verontreinigingsniveaus in het milieu.</p>	<p>ongesubstitueerde en nitro-PAK's als de belangrijkste potentieel mutagenen op basis van EDA met een menselijke cell-lijn. Thomas <i>et al.</i>, 1999 rapporteert in een aantal Britse estuaria op basis van EDA met de <i>in-vivo</i> bioassay <i>Tisbe battaglia</i> de identificatie van aantal chloorfenolen als sub-lethaal toxisch voor deze copepode, terwijl deze stoffen niet in monitoring programma's zitten. In een EDA review rapporteert Brack (2003) de identificatie van vele stoffen waarvan het toxisch voorkomen niet was bekend. Voorbeelden: Diazinon (een insecticide) in rwzi-effluenten, N-Phenyl-<math>\square</math>-naphtylamine (stabilisator in synthetische rubbers en toxisch voor algen) in bodems, niet-prioritaire poly-aromaten als veroorzakers van dioxine-achtige toxiciteit in sedimenten. In middels is ook EDA ervaring opgedaan met genotoxische (MUTATOX) en dioxine-achtige toxische (DR-CALUX) stoffen in Nederlandse haven sedimenten (Klamer <i>et al.</i>, 2002; 2004). Hier blijken niet alleen de bekende prioritaire stoffen (dioxines, PAK's), maar juist veel onbekende poly-aromaten en nog niet geïdentificeerde stoffen verantwoordelijk voor de toxiciteit. Een beeld dat ook door Hollert <i>et al.</i> (2002) wordt geschetst voor de zwaar vervuilde rivier de Neckar (Duitsland). Deze auteurs belichten eveneens een uitwerking van de "Sediment Quality TRIAD", waarin bij complexe verontreinigingssituaties meerdere benaderingen en technieken bijdragen aan de eindevaluatie hoe toxisch het sediment op een probleem-lokatie is en welke stoffen daaraan bijdragen.</p>	
--	--	---	--

<p><b>Stroomgoten, micro-mikro-en mesokosmos studies</b></p>	<p>Opstellingen, waarin bepaalde mogelijk storende factoren in een natuurlijke omgeving uitgeschakeld kunnen worden. Vergelijking met de natuurlijke situatie levert veelal het knelpunt op. Deze experimenten meten de effecten van verstoring op <b>populaties en levensgemeenschappen</b>. Het ontbreken of in mindere mate voorkomen van bepaalde soorten kan veroorzaakt worden door verschillende factoren; ontbreken van een aanvoerbron (herintroductie); voedselaanbod; waterkwaliteit; substraat of verstoring door recreatie of scheepvaart (golflslag, peilfluctuaties).</p>	<p>-Studie naar een zoetwaterslakje (Greijdanus, 1997); in een stroomgootopstelling zijn slakjes onder ideale omstandigheden (substraat; stroomsnelheid; voedsel) blootgesteld aan rivierwater. De overleving, voortplanting en groei werd niet geremd door een slechte waterkwaliteit.</p> <p>-Studie naar het voorkomen van waterplanten in de Grensmaas (De la Haye, 1992 – 1994): zie ook het intermezzo in hoofdstuk 3. Door waterplanten in een sluis onder gecontroleerde omstandigheden bloot te stellen bleek het wegblijven van waterplanten veroorzaakt te worden door slib- en algenaangroei op de planten en incidenteel een te hoge stroomsnelheid.</p> <p>-Studie naar ontwikkeling van macrofauna (Dudok van Heel et al., 1993): om effecten te voorspellen van eventueel te nemen maatregelen (zoals sanering van waterbodems) is een transplantatie experiment met schoon substraat uitgevoerd. Door plaatsing van bakken met gelijkwaardig niet verontreinigd substraat in verontreinigde gebieden is aangetoond, dat er een soortendiversiteit kan optreden, die niet gehinderd wordt door de vervuilingsgraad van vers aangevoerd zwevend stof.</p>	<p>Er bestaan geen gestandaardiseerde testen voor de uitvoering van deze experimenten. Veelal is de uitvoering afhankelijk van de vraagstelling en zal het experiment op basis van expert judgement ingericht moeten worden. De kennis van eerder uitgevoerde experimenten dient uiteraard ook weer voor vergelijkbare problemen in andere systemen.</p>
<p><b>Bio-manipulatie</b></p>	<p>Het ingrijpen in de natuurlijke situatie, waardoor een systeem op weg geholpen kan worden naar een systeem met een goede ecologische potentie. <b>Effecten van verstoring op het hele ecosysteem</b> worden hierbij aangepakt. In eerste instantie gebeurt dit veelal op kleine schaal, waarna de ingreep vervolgens op</p>	<p>-Onderzoek naar de voedselbeschikbaarheid voor soorten (draagkracht project De Lange et al., 2002): in een enclosure (een gazen kooi) is de productie bepaald van macrobenthos. Vervuiling kan de productie aantasten, waardoor minder voedsel beschikbaar is voor predatoren zoals bentivore vis en watervogels.</p> <p>-Experiment waarbij visstand is verwijden in proefgebieden en Wolderwijd (Hosper et al., 1992): het verwijderen van 75% van de visstand,</p>	<p>Er bestaan geen gestandaardiseerde testen voor de uitvoering van deze experimenten. Veelal is de uitvoering afhankelijk van de vraagstelling en zal het experiment op basis van expert judgement ingericht moeten worden. De kennis van eerder uitgevoerde experimenten dient uiteraard ook weer voor vergelijkbare problemen in andere systemen.</p>

	<p>een groter gebied wordt toegepast. Bijvoorbeeld proefgebieden, inclosures (insluiten van een habitat) of exclosure (uitsluiten van bepaalde stressfactoren in een habitat)</p>	<p>en het uitzetten van roofvis en watervlooiën heeft tot gevolg dat de algenbloei afneemt en helder water kan ontstaan. Hierdoor krijgen waterplanten de kans om tot ontwikkeling te komen. Zo zijn diverse systemen op weg geholpen naar een beter ecologisch evenwicht.</p> <p>-Studie naar het terug laten keren van zalm in het Rijnstroomgebied (Van Dijk en Marteijs, 1993; Breukelaar en Bij de Vaate, 1998): de terugkeer van de zalm is geactiveerd door paai- en opgroeigebieden beter bereikbaar te maken met behulp van vistrappen en eieren of juveniele vissen in de paaigebieden uit te zetten. De migratieroutes van de vis zijn vastgelegd door vissen te voorzien van ingebouwde transponders. Met behulp van detectiestations langs de rivieren en kanalen werd de doortrek van de vis vastgelegd.</p>	
<b>Modellen</b>	<p>Naast het praktisch meten van effecten kan ook gebruik gemaakt worden van modellen. Aan de hand van chemische analyses kunnen risico's voor populaties in een ecosysteem worden bepaald. Effecten op individueel niveau kunnen worden doorvertaald naar effecten op populatiegroei.</p>	<p>-Risico modellen voor het voorspellen van risico's op het hele ecosysteem of op individuele soorten (OMEGA 123, Beek en Hendriks, 1999)</p> <p>-Risicomodel voor het berekenen van doorvergiftiging in voedselweb (OMEGA45)</p> <p>-Modellen voor het vertalen van bioassay-resultaten naar populatiegroei (Lesliematrix; Kater et al., 200.)</p>	<p>Voor het zoete aquatische milieu zijn doorvergiftigingsmodellen operationeel. Voor zoute en brakke milieus is deze momenteel in ontwikkeling. Doorvertaling van bioassay-resultaten is nog deels in ontwikkeling.</p>



## Bijlage B Schema KRW-tijdspad

2004

Reëel risico dat de Goede Toestand (of potentieel) niet wordt bereikt

Inventariseren mogelijke oorzaken en beschikbare gegevens

Identificatie en confirmatie beschikbare gegevens en basis maatregelen

Ecoassays: onderzoek naar oorzaken en bewijsvoering

Prognosetoestand met basis maatregelen

Niet Goed

Formulering van aanvullende maatregelen voor Goede Toestand

Goed of hoger

Haalbaar

Identificatie sociaal economische en technische haalbaarheid

Ecoassays: onderbouwing voor prioriteiten van maatregelen

Niet Haalbaar

Onderbouwing aangepaste doelstelling en maatregelenpakket (derogatie)

2009

Uitvoeren maatregelen pakket

Ecoassays: overtuigen van effect maatregelen

Toetsing aan doelstellingen

Voldoet niet aan Goede Toestand of Verlaagde Goede Toestand

2015

Voldoet aan Goede Toestand of Verlaagde Goede Toestand

Verklaring en/of derogatie wegens onvoorziene omstandigheden

Ecoassays: onderzoek naar oorzaken en bewijsvoering



# Bijlage C Internationale verkenning

## Lijst met geïnterviewde personen

Country	Name	Organisation
Netherlands	Martine van den Heuvel-Greve	RWS RIKZ (National Institute for Coastal & Marine Managements)
	Hannie Maas	RWS RIZA (National Institute for Freshwater Management & Waste water Treatment)
Belgium	Eric de Deckere	Universiteit van Antwerpen
Germany	Dr. Werner Manz	Federal Institute of Hydrology
UK	John Thain / Kevin Thomas	CEFAS (Centre Environment Fisheries and Aquaculture Science)
	Peter Simpson, Dean Leverett	Environment Agency
Ireland	James O'Neill	SATL (Shannon Aquatic Toxicity Laboratory)
France	Marie-Hélène LAMY-ENRICI	INERIS (Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques)
	Véronique POULSEN	INERIS (Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques)
	Marc Babut	Cemagref - Groupement de Lyon, Responsable de l'Unité de Recherches "Biologie des Ecosystèmes Aquatiques"
Denmark	Jakob Strand	DMU (National Environmental Research Institute)
Sweden	Brita Sundelin	Institute of Applied Environmental Research, Laboratory for Aquatic Ecotoxicology, ITM, Stockholm University
	Henrik Sundberg	Institute of Applied Environmental Research, Laboratory for Aquatic Ecotoxicology, ITM, Stockholm University
Norway	Ketil Hylland	Norwegian Institute for Water Research
Iceland	Jörundur Svavarsson	Institute of biology, University of Iceland
Spain	Javi Franco, <a href="#">María Jesús Belzunce</a>	Fundación AZTI
	Angel del Valls Casillas	Univ. Cadiz
	Jose Luis Buceta Miller	Centro de Estudios de Experimentacion de Puertos
	Dr. Juan M. Ribo	Environmental Toxicology Laboratory, Technical University of Catalonia
Portugal	Mrs. Dr. M. Carmen Riva	Environmental Toxicology Laboratory, Technical University of Catalonia
	Maria Ana Morbey	Instituto do Ambiente
Italy	Sara Valsecchi	CNR-IRSA (Istituto di Ricerca sulle Acque del Consiglio Nazionale delle Ricerche (Water Research Institute of The National Research Council))
Czech Rep.	Miroslav Machala	VRI (Veterinary Research Institute)
USA	Todd S. Bridges	USERDC (U.S. Engineer Research and Development Center)
	Robert M. Burgess	US-EPA (United States Environmental Protection Agency)
	Kay T. Ho	US-EPA (United States Environmental Protection Agency)
Canada	Rick Scroggins/ Christian Blaise	Environment Canada
Australia	Dr Jenny Stauber	Centre for Environmental Contaminants Research / CSIRO Energy Technology

# Bijlage D ICES-WGBEC informatie

Gebruik van zoute/brakke biomarkers en bioassays in operationele en investigative monitoring, of onderzoek- en pilotsurveys in Europese landen (uit ICES-WGBEC rapport, 2004)

Voor ICES informatie, zie: [www.ices.dk](http://www.ices.dk)

## Evaluation of the use of biological effects methods in national monitoring programmes

WGBEC reviewed the actual status of the currently ongoing national monitoring programs with the objective to:

- generate an overview on the implementation of biological effects techniques in the national programs;
- evaluate the level of integration of the techniques in integrated multidisciplinary programmes,
- evaluate the compliance of the programs with CEMP

Summaries of ongoing or previous national monitoring programs using selected methods are shown below (Tables 4.1-4.9).

Table 4.1. The use of DNA adducts of other methods for genotoxicity in monitoring or research programmes in European coastal waters.

Country/area	Program type	Number of stations	Frequency	Number of years	Species
ES/Cantabria, Galicia	monitoring	30	annual	4	Lepidorhombus boscii
ES/Cantabria, Galicia	monitoring	15	annual	4	dragonet
FR	research	5		3	flounder
NL	research	12	once	1	flounder
NO	monitoring (offshore)	4	annual	1	cod
SE	monitoring	3	annual	15	perch, eelpout
UK	monitoring	21	annual	3	dab

Table 4.2. The use of EROD (cytochrome P4501A activity) in monitoring or research programmes in European coastal waters.

Country/area	Program type	Number of stations	Frequency	Number of years	Species
BE	monitoring	10	2-4/yr	12	dab
DK	monitoring	10	annual	new	eelpout
ES/Basque Country	monitoring	1	annual	2	anchovy, hake
ES/Cantabria, Galicia	monitoring	30	annual	4	megrin
ES/Cantabria, Galicia	monitoring	15	annual	4	dragonet
ES/Mediterranean	research	6	2/yr	1	red mullet
FR	research	3	annual	8	dab
GER	monitoring	10	annual	10	dab
NL	research	6	until 1999	3	dab, flounder
NO	monitoring	8	annual	7	cod, flounder*, dab*
NO	monitoring	4	annual	1	cod
SE	monitoring	3	annual	15	perch, eelpout
UK	monitoring	32	annual	10	dab
UK	monitoring	32	annual	11	flounder, plaice

\*not at all stations

Table 4.3. The use of metallothionein in monitoring or research programmes in European coastal waters.

Country/area	Program type	Number of stations	Frequency	Number of years	Species
ES/Cantabria, Galicia	monitoring	30	annual	1	megrim
ES/Cantabria, Galicia	monitoring	15	annual	1	dragonet
ES/Mediterranean	monitoring	15	annual	3	mussel
ES/Mediterranean	monitoring	6	2 each year	1	red mullet
NO	monitoring	8	annual	1998-2002 (5)	cod, flounder*, dab*
SE	monitoring	3	annual	15	perch, eelpout
UK	monitoring	16		2	flounder, dab
UK	research	10	once	1	mussel

\*not at all stations

Table 4.4. The use of glutathione reductase in monitoring or research programmes in European coastal waters.

Country/area	Program type	Number of stations	Frequency	Number of years	Species
ES/Cantabria, Galicia	monitoring	30	annual	4	megrim
ES/Cantabria, Galicia	monitoring	15	annual	4	dragonet
ES/Mediterranean	research	15	annual	3	mussel
NO	research	3 + 2		2	cod, seatrout, flounder, haddock, saithe
SE	monitoring	3	annual	15	perch, eelpout

\*not at all stations

Table 4.5. The use of PAH bile metabolites in monitoring or research programmes in European coastal waters.

Country/area	Program type	Number of stations	Frequency	Number of years	Species
ES/Cantabria, Galicia	monitoring	10	annual	1	Lepidorhombus boscii, dragonet
GER	monitoring	10	annual	2	dab
NL	research	6		5	dab
NO	monitoring	8	annual	7	cod, flounder*, dab*

\*not at all stations

Table 4.6. The use of fish histopathology in monitoring or research programmes in European coastal waters.

Country/area	Program type	Number of stations	Frequency	Number of years	Species
ES/Basque Country	monitoring	1	annual	2	hake, anchovy
GER	monitoring	10	2 each year	16	dab
GER	research	10	2 each year	17	flounder, perch, turbot
NL	research	6	occasionally	5	dab
NO	monitoring (offshore)	4	annual	1	cod
SE	monitoring	3	annual	15	perch, eelpot
UK	monitoring	19	annual	15-20	dab, flounder, other

Table 4.7. The use of fish externally visible diseases in monitoring programmes in European coastal waters.

Country/area	Program type	Number of stations	Frequency	Number of years	Species
GER	monitoring	10	2 each year	23	dab
GER	monitoring	6	2 each year	23	cod
GER	monitoring	2	2 each year	23	flounder
NL	monitoring	3 to 5	every 2 years	20	dab
UK	monitoring	8	annual	up to 3 yrs	flounder
UK	monitoring	16	annual	up to 18 yrs	dab

Table 4.8. The use of imposex in monitoring in European coastal waters.

Country/area	Program type	Number of stations	Frequency	Number of years	Species
BE	monitoring	3	annual	1	Littorina littorea
DK	monitoring	15	every 2 yrs	5	Hinia reticulata
DK	monitoring	14	every 2 yrs	6	Buccinum and/or Neptunea
DK	monitoring	12	every 2 yrs	5	Littorina littorea
FR	monitoring	108	annual	2	Nucella lapillus
IS	monitoring		every 5 yrs	10	Nucella lapillus
NL	monitoring	6	new	new	Littorina littorea
NO	monitoring	15	every 4 yrs	12	Nucella lapillus
SE	monitoring	5	new	new	Nassarius reticulatus
UK	monitoring (hotspot)	8	every 5 yrs	15	Nucella lapillus
UK	monitoring (offshore)	21	new	new	Buccinum undatum
UK	monitoring (spatial)	82	every 5 yrs	10	Nucella lapillus

Table 4.9. The use of bioassays in monitoring, surveillance or research programmes in European coastal waters.

Country/area	Program type	Number of stations	Method	Number of years	Species
FR	research		oyster embryo		Crassostrea gigas
NL	research	3	oyster embryo	3 years	Ostrea edulis
UK	monitoring		oyster embryo	up to 8 yrs	Crassostrea gigas
NL	research	3 areas	whole sediment	2	Corophium
NL	research	3 areas	whole sediment	2	Nereis
NO	surveillance	10	whole sediment		Corophium
NO	surveillance	20	whole sediment		Arenicola
NO	surveillance	20+	whole sediment		Nereis, Hinia bioaccumulation
UK	research	40	whole sediment	Up to 10 yrs	Corophium, Arenicola
ES	research	6	whole sediment	1	sea urchin
ES	research	6	whole sediment	1	amphipods
ES	research	6	whole sediment	1	microtox
ES	research	6	whole sediment	1	clams

## C-2 OSPAR-informatie

Voor OSPAR informatie, zie: [www.ospar.org](http://www.ospar.org)

(Opgemaakt door Karin Legierse)

Aanpassingen van het OSPAR- 'Coordinated Monitoring Programme' (CEMP)

Naar aanleiding van een beslissing van ASMO (28 mrt-2 april 2004) zijn er een aantal wijzigingen van het OSPAR-CEMP doorgevoerd. Vanwege de verwarring die af en toe ontstaat over de status van parameters in het CEMP, bevat deze bijlage ook in het kort algemene informatie over de verplichte en vrijwillig te meten stoffen in het CEMP.

Het 'oude' CEMP oftewel OSPAR-agreement 03-25e is te vinden op de OSPAR-site (te benaderen via 'measures' - agreements) en bevatte 8 appendixjes met verplichte of vrijwillig te monitoren parameters. Het oude CEMP bestond uit de volgende APPENDIXES met daarin de verplichte of vrijwillig te monitoren stoffen en biologische effecten:

AP. 2: mercury, cadmium, lead in biota en sediment (verplicht)

AP. 3: PCBs in biota en sediment (verplicht)

AP. 4: PAHs in biota en sediment (verplicht)

AP. 5: Nutriënten in zeewater (evt. verplichting in het kader van het Nutriënt Monitoringsprogramma, afhankelijk van eutrofiëringstatus van mariene gebied van een land)

AP. 6: Directe en indirecte eutrofiëring effecten (evt. verplichting in kader van het Nutriënt Monitoringsprogramma, afhankelijk van eutrofiëringstatus van mariene gebied van een land)

AP. 7: PAH- en metal-specific biological effects (vrijwillig, parameters hebben status Categorie II, d.w.z. dat kwaliteitscontrole niet afgerond)

AP. 8: TBT-specific biological effects & organotins in sediment (verplicht)

Per 1 april 2004 zijn een aantal structurele wijzigingen ingegaan m.b.t. het CEMP. De wijziging betreft de toevoeging van een nieuwe APPENDIX, waarin de volgende 'General Biological Effects' of bioassays zijn opgenomen:

- whole sediment bioassays (categorie II - kwaliteitscontrole niet afgerond, vrijwillig)
- sediment pore-water and elutriate bioassays (categorie II - kwaliteitscontrole niet afgerond, vrijwillig)
- CYP 1a (categorie II - kwaliteitscontrole niet afgerond, vrijwillig)
- Lysosomal Stability (categorie II - kwaliteitscontrole niet afgerond, vrijwillig)
- Liver neoplasia/Hyperplasia/Nodules (catogorie I - kwaliteitscontrole afgerond, vrijwillig)
- Externally Visible Fish Diseases (catogorie I - kwaliteitscontrole afgerond, vrijwillig)
- Reproductive Succes in Fish (categorie II - kwaliteitscontrole niet afgerond, vrijwillig)

Hoewel een paar van de bovenstaande parameters uit de nieuwe APPENDIX nu tot categorie I behoren (d.w.z. in principe klaar voor monitoring) is toch besloten om de monitoring van deze parameters niet te verplichten, maar vrijwillig te houden. De wijziging brengt dus vooralsnog geen nieuwe monitoringsverplichtingen met zich mee.