

Ecotoxicologisch onderzoek in de Gamerense Waard

1998a

Ecotoxicologisch onderzoek in de Gamerense Waard

1998a

in opdracht van	Dames & Moore B.V., Rijswijk
------------------------	------------------------------

uitvoering	ing. J.M. Drüke, ing. D. van Hussen, ir. J. Lahr, ing. A. van Mullem, dr. J.F. Postma, ing. S. de Valk
namens opdrachtgever	ir. J.J. Dekker

rapportnummer	code opdrachtgever	status
04.1191	brief kenmerk 445L110RD	Eindrapport

autorisatie	naam	paraaf	datum
opgemaakt	ir. J. Lahr		18-06-04
goedgekeurd	Dr. J.T. Meulemans		18-06-04



AquaSense

Kruislaan 411a
Postbus 95125
1090 HC Amsterdam
telefoon 020-5922244
telefax 020-5922249

Generaal Foulkesweg 72
6703 BW Wageningen
telefoon 0317-419039
telefax 0317-426151

Citeren als: AquaSense (2004). Ecotoxicologisch onderzoek in de Gamerense Waard 1998a - In opdracht van : Dames & Moore B.V., Rijswijk Rapportnummer: 04.1191.

© AquaSense - Het copyright van deze notitie is nadrukkelijk voorbehouden aan AquaSense. Niets uit dit rapport mag op enigerlei wijze worden vermenigvuldigd zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van AquaSense, noch mag het zonder dergelijke toestemming worden gebruikt voor enig ander doel dan waarvoor het is vervaardigd. Het is de opdrachtgever toegestaan vrijelijk copieën van deze notitie te maken. Dit rapport is gedrukt op chloorvrij gebleekt papier. De omleg is gemaakt van PVC vrije

Inhoud

Samenvatting	1
1. Inleiding	3
2. Methoden	5
2.1. Bemonstering en monstervoorbehandeling.....	5
2.2. Toxiciteitstesten	6
2.2.1. Acute test met de bacterie <i>Vibrio fischeri</i>	6
2.2.2. Chronische test met de watervlo <i>Daphnia magna</i>	7
2.2.3. Chronische test met de muggenlarve <i>Chironomus riparius</i>	8
2.2.4. Kwaliteitstesten testorganismen toxiciteitstesten.....	9
3. Resultaten en discussie	11
3.1. Bioassays.....	11
3.1.1. Geldigheidscriteria en randvoorwaarden.....	11
3.1.2. Resultaten bioassays.....	12
3.2. Beoordeling volgens criteria TRIADE-benadering	14
4. Conclusies	17
5. Literatuur	19
Bijlagen	21

Samenvatting

In het uiterwaardengebied de Gamerense Waard worden in het kader van natuurontwikkeling nevengeulen gegraven. Het in dit rapport beschreven biotische onderzoek werd uitgevoerd om inzicht te krijgen in de mogelijke effecten van toxische stoffen op een vijftal locaties in het gebied. Conform de TRIADE-richtlijn van het RIZA (Maas *et al.*, 1993) werden chronische bioassays uitgevoerd met watervlooien (*Daphnia magna*) en muggenlarven (*Chironomus riparius*) en acute testen met de bacterie *Vibrio fischeri* (Microtox®).

Er werden diverse biologische effecten in bioassays waargenomen. W7M veroorzaakte geen eenduidige effecten. Met O3½M werd alleen een matig effect op de ontwikkeling van de muggenlarve *Chironomus riparius* geconstateerd, terwijl S1 een matig effect had bij zowel *Daphnia magna* als *Vibrio fischeri*. In het sediment van W5Z was het effect op *D. magna* ernstig. Vier weken blootstelling van *C. riparius* aan het sediment van S2 had een ernstig effect op het uiteindelijke gewicht van de L4-larven tot gevolg. Het effect van S1 op *D. magna* is mogelijk (mede) te verklaren door te lage zuurstofgehalten die veroorzaakt kunnen zijn door biologische afbraak van organische stof. De chemische analyses van dit sediment kunnen deze interpretatie mogelijk bevestigen.

Samenvattende beoordeling van de locaties op basis van de resultaten van bioassays (TRIADE-methode; Maas *et al.*, 1993). -: geen tot weinig effect; ±: matig effect; +: ernstig effect.

Monster	Bioassays			eindoordeel
	<i>V. fischeri</i>	<i>C. riparius</i>	<i>D. magna</i>	
W5Z (S)	-	±	+	+
W7M (Z)	-	-	-*	-
O3½M (S)	-	±	-*	±
S1 (S)	±	-	(±)*/**	±
S2 (S/Z)	-	+	-	+

* geen eenduidige dosis-effect relatie; indicatieve waarde

** effect mogelijk mede veroorzaakt door lage zuurstofgehalten; maakt voor eindoordeel niet uit

1. Inleiding

In de Gamerense Waard is circa 1 jaar geleden een nevengeul gegraven. Op afzienbare termijn zal er nog een tweede geul worden aangelegd. Het in dit rapport beschreven biotische onderzoek werd uitgevoerd om inzicht te krijgen in de mogelijke effecten van toxische stoffen in de waterbodems in het gebied.

Hiertoe werden 5 sublocaties bemonsterd. De toegepaste bioassays betreffen:

- acute toxiciteit van poriewater (afname bioluminescentie) bij de bacterie *Vibrio fischeri* (Microtox[®]),
- overleving en reproductie in een chronische test met poriewater en de watervlo *Daphnia magna*, en
- ontwikkeling, groei en overleving van de muggenlarve *Chironomus riparius* in het onverdunde sediment.

De uitkomsten van het in dit rapport beschreven onderzoek worden, voor zover mogelijk, beoordeeld volgens de TRIADE richtlijn (Maas *et al.*, 1993).

2. Methoden

2.1. Bemonstering en monstervoorbehandeling

Op 18 t/m 20 mei 1998 werden door Rijkswaterstaat 5 locaties in de Gamerense Waard bemonsterd zoals weergegeven in tabel 2.1.

Tabel 2.1 Bemonstering van het sediment in de Gamerense Waard.

monsterlocatie	ecolims-nummer	monster-datum	sediment-karakterisering (visueel)
W5Z	3037003	19/05/'98	zanderig slib
W7M	303704	20/05/'98	zand
O3½M	303705	18/05/'98	zanderig slib
S1	303707	20/05/'98	slib
S2	303708	20/05/'98	zand/slib

De sedimentmonsters werden aangeleverd in een hoeveelheid van 40 of 50 liter in 10 liter polypropyleen emmers. Na binnenkomst werden de monsters geregistreerd, voorzien van een AquaSense monsternummer (ECOLIMSnummer) en tot gebruik gekoeld (4 °C) en donker opgeslagen.

2.2. Toxiciteitstesten

Volgens de TRIADE-benadering werden **chronische** bioassays met de muggenlarve *Chironomus riparius* en de watervlo (kreeftachtige) *Daphnia magna* uitgevoerd. De eerste soort betreft een sedimentbewonend (benthisch) organisme; de tweede soort een organisme dat in de waterkolom erboven leeft (pelagisch). Deze soorten werden op twee verschillende manieren blootgesteld: resp. via een sediment/water-systeem en via geïsoleerd poriewater. Poriewatertesten zijn in het algemeen goed bruikbaar voor het beoordelen van verontreinigde sedimenten omdat aangenomen wordt dat organismen in het sediment aan toxische stoffen worden blootgesteld via het poriewater.

Omdat sedimenten dermate verontreinigd kunnen zijn dat ook **acute** toxiciteit kan worden aangetroffen, werd conform de TRIADE-benadering ook een (acute) poriewatertest met de luminescerende bacterie *Vibrio fischeri* (Microtox[®]) uitgevoerd.

Voor gebruik in de bioassays werden de sedimentmonsters voorbehandeld. Het bovenstaande water werd verwijderd. De 4-5 emmers van ieder sedimentmonster werden vervolgens bij elkaar gevoegd, mechanisch geroerd met behulp van een mengapparaat en weer over de emmers verdeeld.

Vlak voor het inzetten van de testen werden in het blanco- en het onverdunde testmedium (poriewater of boven het sediment staande water) de volgende fysische en chemische parameters semi-kwantitatief gemeten:

- zuurgraad (met pH-meter);
- zuurstofgehalte (met zuurstofelectrode);
- nitrietgehalte (met Merck-testkit);
- ammoniumgehalte (met Merck-testkit);
- geleidbaarheid (met geleidbaarheidsmeter).

In de chronische testen (*D. magna* en *C. riparius*) werden deze parameters ook éénmaal per week gedurende de testen gemeten.

Hieronder wordt per bioassay de werkwijze beschreven.

2.2.1. Acute test met de bacterie *Vibrio fischeri*

Door middel van centrifugeren werd poriewater gewonnen uit de voorbehandelde sedimentmonsters. Binnen 4 uur na winnen werd met dit poriewater de acute test met de bacterie *Vibrio fischeri* uitgevoerd volgens NVN 6516 (1993) aangevuld met de TRIADE-methodebeschrijving (Maas *et al.*, 1993). In deze test werd met een lichtmeter (Microtox[®]) de afname van de bioluminescentie bij de bacterie beoordeeld na 5, 15 en 30 minuten blootstelling aan de 4 volgende concentraties testmedium: 45, 22.5, 11.25 en 5.625 volume %.

De test- en incubatietemperatuur bedroeg 15°C. De analyses werden in duplo uitgevoerd, waarna per blootstellingsduur één gemiddelde EC₂₀-waarde werd bepaald. De EC₂₀-waarden werden bepaald met behulp van de programmatuur en software behorende bij het Microtox-teststelsel.

De EC₂₀-waarde (Effect Concentratie) is gedefinieerd als de concentratie testmedium, waarbij na een gegeven blootstellingsduur een afname van 20% van de bioluminescentie t.o.v. de blanco (= verdunningsmedium) kan worden waargenomen. De laagste van de op de 3 tijdstippen bepaalde EC₂₀-waarden, wordt gebruikt om de toxiciteit van het monster aan te geven.

2.2.2. Chronische test met de watervlo *Daphnia magna*

Door middel van centrifugeren werd poriewater gewonnen uit de voorbehandelde sedimentmonsters. Dit poriewater werd gefiltreerd over een 0,45 µm filter en tot gebruik hooguit 1 week gekoeld in het donker bewaard in donkere afgesloten glazen potten. Het poriewater werd alleen belucht indien het zuurstofgehalte vlak voor gebruik lager was dan 3 mg/l (Maas *et al.*, 1993). Na beluchting werd nogmaals gemeten of voldaan werd aan dit criterium. Door verdunning met Elendt-medium¹ werden de volgende 4 concentraties poriewater aangemaakt: 10, 32, 56 en 100 volume %. Per concentratie werden 10 testvatjes gevuld met 50 ml testmedium. Als blanco-testmedium werd Elendt-medium gebruikt. In ieder testvatje werd daarna één watervlo (leeftijd < 24 uur) ingezet.

Gedurende de bioassay werd tweemaal per week het testmedium verversd, en werd het aantal geproduceerde jongen geteld en verwijderd. Het tellen en verwijderen van de jongen werd tevens éénmaal per week tussen de beide verversingen uitgevoerd. Dagelijks werd de overleving van de ingezette watervloen gecontroleerd, eventuele reproductie genoteerd en werd gevoerd met een *Scenedesmus*-algensuspensie. De testduur bedroeg minimaal 14 dagen en werd afgebroken op het moment dat in het blanco testmedium minimaal 3 broedsels waren voltooid.

Als maat voor de reproductiecapaciteit werd uit de "cohort life-table"² per poriewaterconcentratie de gemiddelde intrinsieke populatiegroeisnelheid (r_m) berekend (Maas *et al.*, 1993). Met name het moment van eerste reproductie (eerste worp) en de aantallen nakomelingen per worp zijn bepalend voor deze parameter. Met het ToxCalc-pakket (Tidepool, 1993) werd getoetst of de verschillen in de gemiddelde r_m -waarden per concentratie significant waren ten opzichte van de bij die serie behorende blanco. Indien zelfs na transformatie van

¹ Standaardmedium bestaande uit gedemineraliseerd water waaraan enkele zouten en vitaminen toegevoegd zijn. Dit medium wordt gebruikt bij het kweken van *D. magna*.

² Tabel met daarin het aantal nakomelingen per ingezet vrouwtje gedurende de test (zie tekst bij bijlage 7).

de r_m -waarden niet kon worden voldaan aan de randvoorwaarden voor het mogen uitvoeren van de Williams-test³, werd gebruik gemaakt van een verdelingsvrije (niet-parametrische) rangsom-test. Op basis van deze statistische analyse werd de NOECreproductie-waarde bepaald.

De NOECsterfte-waarde werd gelijk gesteld aan die testconcentratie waarbij ≤ 20 % sterfte optrad, indien sprake was van een trend in drie opeenvolgende verdunningen van poriewater (Maas *et al.*, 1993). Indien geen sprake was van een duidelijke trend in opeenvolgende verdunningen, werd de NOECsterfte vastgesteld aan de hand van de beschikbare informatie over het sterfteverloop binnen de geteste concentratiereeks. Tevens werd (indien mogelijk) de poriewaterconcentratie bepaald die 50% sterfte van de watervlooiën gaf aan het einde van de test (LC₅₀). Deze bepaling werd uitgevoerd met behulp van het LC₅₀-programma van het RIZA gebaseerd op de parametrische methode van Kooijman (1981).

2.2.3. Chronische test met de muggenlarve *Chironomus riparius*

Voor deze test werd het benodigde sediment gezeefd over een 1 mm zeef. Met dit sediment werd een mengsel gemaakt bestaande uit 1 volumedeel sediment en 4 volumedelen DSW-medium ("Dutch Standard Water"). Na 24 uur schudden werden 4 testvatjes gevuld met 50 ml van dit mengsel. Van het mengselrestant werd na drie dagen bezinken het elutriaat gewonnen, waarmee drie testvatjes tot ca. 100 ml werden gevuld. Per testvatje met elutriaat werden ad random 2 halve eipakketten (maximaal 7 dagen oud) van *Chironomus riparius* ingezet. Na 4 dagen werd beoordeeld of beide eipakkethelften waren uitgekomen en werden de uitgekomen larven gevoerd met een 2% Trouvit-oplossing. Na 7 dagen werden uit het elutriaat individuen van het 2^e larvale stadium van *C. riparius* gehaald en werd geschat of meer dan 50% van de eieren was uitgekomen. Per testvatje met sediment/DSW-mengsel werden 25 van deze larven ingezet. Drie maal per week werden de testvatjes belucht en werd gevoerd met een 2% Trouvit-oplossing. Na 28 dagen werden de larven voorzichtig over een 250 μ m roestvrij stalen zeef uitgespoeld. Het aantal larven werd geteld en van de 4^e stadium (L4) larven werd vervolgens het gemiddelde drooggewicht bepaald.

³ Voorwaarden voor het mogen uitvoeren van deze test zijn: normaal verdeelde waarnemingen en homogeniteit van varianties. Normaliteit en homogeniteit worden met Toxcalc getest met behulp van respectievelijk de Shapiro-Wilk's en de Bartlett's test (Tidepool, 1993) uit het SPSS-softwarepakket (Norusis, 1992).

Met behulp van een ANOVA-test werd getoetst of de waarnemingen voor een van de volgende parameters significant ($P \leq 0,05$) verschilde van de referentie:

- gemiddelde sterfte;
- gemiddelde larvale ontwikkeling;
- gemiddeld drooggewicht van de L4-larven.

Voor uitvoering van deze test werd gebruik gemaakt van het SPSS-softwarepakket (Norusis, 1992).

Als referentie voor de beoordeling van de sedimentmonsters werden zowel sedimenten uit het Drontermeer (slib) als uit het Veluwemeer (zand) getest. Bij gebrek aan gegevens over de korrelgrootteverdeling is de visuele karakterisering (tabel 2.1) gebruikt om het juiste referentie-sediment te selecteren. In geval van slib of zanderig slib werd getoetst t.o.v. de slibreferentie (S). Bij zand of slibachtig zand werd de zandreferentie gebruikt. De resultaten met sedimenten die als “zand/slib” werden gekarakteriseerd, zijn t.o.v. beide referentie-sedimenten getoetst.

2.2.4. Kwaliteitstesten testorganismen toxiciteitstesten

Vibrio fischeri

Ter controle van de gevoeligheid van de bacterie *Vibrio fischeri* wordt regelmatig een test uitgevoerd met fenol als referentiestof. In deze test werd de fenolconcentratie bepaald waarbij na 5 minuten blootstelling 20 % afname van de bioluminescentie t.o.v. de blanco kon worden waargenomen (5 min-EC₂₀ volgens NVN 6516, 1993).

De resultaten van de kwaliteitscontrole zijn weergegeven in tabel 2.2. De gevoeligheid van *V. fischeri* voor fenol viel binnen de gestelde acceptatieranges.

Tabel 2.2. Resultaten van de kwaliteitstest met *Vibrio fischeri* uitgevoerd met fenol als referentiestof.

	EC ₂₀ , 5 min. (mg fenol/l)
acceptatierange NVN 6516	3 - 10
testresultaat (26 mei 1998)	4,5

Daphnia magna en *Chironomus riparius*

De laboratoriumkweken van *Daphnia magna* en *Chironomus riparius* van AquaSense worden periodiek onderworpen aan een gevoeligheidstest. In deze test wordt de kaliumdichromaat concentratie bepaald waarbij 50% van de watervlooien na 24 uur immobiel zijn (24u-EC₅₀ volgens ISO 6341, 1989), dan wel de concentratie waarbij 50%

van de muggenlarven na 96 uur dood zijn (96u -LC₅₀) volgens Grootelaar & Mulder (1991).

De resultaten van de gevoeligheidscontrole van de AquaSense kweken zijn weergegeven in tabel 2.3. De gevoeligheden van *D. magna* en *C. riparius* voor kaliumdichromaat vielen binnen de gestelde acceptatieranges.

Tabel 2.3. Resultaten van de kwaliteitstesten met *Daphnia magna* en *Chironomus riparius* uitgevoerd m.b.v. kaliumdichromaat als referentiestof.

	<i>Daphnia magna</i> EC ₅₀ , 24 uur (mg/l)		<i>Chironomus riparius</i> LC ₅₀ , 96 uur (mg/l)	
	K ₂ Cr ₂ O ₇	datum test	K ₂ Cr ₂ O ₇	datum test
acceptatie range ISO 6341	0,6 - 1,7	-	-	-
acceptatie range RIZA	-	-	20,0 - 75,0	-
testresultaat	1,41	8 juli 1998	42,7	29 juli 1998

3. Resultaten en discussie

3.1. Bioassays

3.1.1. Geldigheidscriteria en randvoorwaarden

Geldigheidscriteria

De gehanteerde richtlijnen geven criteria aan voor de **geldigheid** van de bioassays. In bijlage 1 zijn deze criteria en de geconstateerde waarden per test weergegeven.

Bij de bioassays met *Vibrio fischeri* en *Chironomus riparius* werd voldaan aan alle betreffende geldigheidscriteria. Voor een van de twee blanco series met *D. magna* werd het criterium voor de variatiecoëfficiënt tussen het aantal geproduceerde jongen in de verschillende buizen overschreden. Dit was gemiddeld 34% i.p.v. <25% (gemiddelde van 2 series van 10 buizen). Deze blanco's werden alleen voor monster W5Z gebruikt.

Fysisch-chemische randvoorwaarden

Een overzicht van de resultaten van de semi-kwantitatieve controle van enkele fysische en chemische parameters (zie 2.2) worden voor *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna* en *Chironomus riparius* weergegeven in respectievelijk bijlage 2, 3 en 4.

Door het RIZA (Maas *et al.*, 1993) zijn criteria (**randvoorwaarden**) voor deze parameters opgesteld. Wanneer gedurende de bioassays wordt voldaan aan deze randvoorwaarden, worden géén negatieve effecten van deze parameters verwacht. De randvoorwaarden voor deze parameters worden eveneens vermeld in de genoemde bijlagen.

Acute test met *Vibrio fischeri* (bijlage 2)

Voor alle monsters kon worden voldaan aan de gestelde randvoorwaarden.

Chronische test met *Daphnia magna* (bijlage 3)

Uit de resultaten blijkt dat vlak voor verversing in het oude testmedium van monster S1 de randvoorwaarde (>34,3%) voor zuurstof met grote regelmaat niet werd gehaald. Eventueel waargenomen negatieve effecten op de watervlooiën kunnen bij dit monster mogelijk (mede) veroorzaakt zijn door een te laag zuurstofgehalte.

Aan de randvoorwaarden die zijn gesteld voor de andere parameters, werd door alle monsters gedurende de gehele test voldaan.

Chronische test met *Chironomus riparius* (bijlage 4)

Voor alle monsters kon worden voldaan aan de voor het elutriaat en het bovenstaande water gestelde randvoorwaarden.

3.1.2. Resultaten bioassays

De "ruwe" testresultaten van de bioassays worden voor *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna* en *Chironomus riparius* weergegeven in respectievelijk bijlage 5, 6 en 7.

De resultaten zijn beknopt samengevat in tabel 3.1.

Acute test met *Vibrio fischeri*

Voor S1 werd een negatief effect ($EC_{20} < \text{hoogste testconcentratie}$) op *V. fischeri* waargenomen. Het sterkste effect (laagste EC_{20} -waarde = grootste remming van de bioluminescentie) werd gevonden na 5 minuten blootstelling.

Tabel 3.1. Resultaten van de bioassays (d.w. = drooggewicht; n.v.t. = niet van toepassing). Grijsje arceringen geven aan waar (significante) negatieve effecten worden waargenomen. Waar sprake is van een ernstige overschrijding van de randvoorwaarden zijn de gegevens cursief weergegeven.

	Acut		Chronisch						
organisme	<i>Vibrio fischeri</i>		<i>Daphnia magna</i>			<i>Chironomus riparius</i>			
testduur	5, 15 en 30 minuten		14-17 dagen			28 dagen			
effect-parameter	laagste EC ₂₀ (vol. %)	na ... minuten	NOEC reproductie (vol. %)	NOEC sterfte (vol. %)	LC ₅₀ (vol. %)	sterfte (%)	% larven in stadium L2, L3 of dood	d.w L4-larven (mg)	% t.o.v. referentie
slib-referentie	n.v.t.		n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	3	19	0,34	n.v.t.
zand-referentie	n.v.t.		n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	10	20	0,45	n.v.t.
W5Z (S)	>45	-	56	<10	>100	8	46	0,27	-19,8(S)
W7M (Z)	>45	-	n.b./100	n.b./100	>100	5	26	0,37	-17,8(Z)
O3½M (S)	>45	-	n.b./100	n.b./100	>100	10	41	0,37	+11,5(S)
S1 (S)	27,3	5	<i>n.b./56</i>	<i>n.b./56</i>	98 (90-106)	11	30	0,32	-3,5(S)
S2 (S/Z)	>45	-	100	100	>100	3	23	0,30	-9,2(S) -31,7(Z)*

n.b./x: niet bepaalbaar vanwege onduidelijke dosid-effect relatie; achter de schuine streep wordt de indicatieve waarde gegeven

* alleen significant effect t.o.v. zandreferentie

S slib

Z zand

Chronische test met *Daphnia magna*

De resultaten voor monster W5Z werden getoetst ten opzichte van twee blanco testen waarin de variatiecoëfficiënt van het gemiddeld aantal geproduceerde jongen werd overschreden (paragraaf 3.1.1, bijlage 1, bijlage 6). Dit betekent dat een significant effect op de r_m in de verdunningen van het poriewater van dit monster iets minder snel aantoonbaar is (de statistische toets test wordt conservatiever). Bij de overige monsters voldeed de blanco aan alle geldigheidscriteria.

In het poriewater van alle monsters behalve S2 werden bij een of meerdere concentraties (significante) negatieve effecten op de

overleving en/of reproductie van *D. magna* geobserveerd. In de meeste gevallen werd echter geen duidelijke dosis-effect relatie waargenomen en is de meest waarschijnlijke waarde voor de NOEC's hoger dan wanneer de TRIADE-methode zonder nadere beschouwing ter beoordeling zou worden gebruikt. In de overzichtstabel van de bioassays (tabel 3.1) wordt in dat geval een meer realistische (indicatieve) waarde gegeven die gebaseerd is op een nadere beschouwing van de r_m -gegevens.

Bij W5Z trad sterfte op (>20%) in de 10, 32, 56 en 100% v/v. Er was echter geen eenduidige dosis-effect relatie. Hierdoor is de LC_{50} groter dan 100% v/v. Het onverdunde poriewater had als enige een significant effect op de reproductie. De NOEC reproductie is dus 56% v/v.

W7M had een significant effect op de sterfte en reproductie in de 32%-verdunding, maar niet bij hogere percentages. Om deze reden lijkt het aannemelijker dat de beide NOEC's 100% v/v bedragen i.p.v. 10% v/v. Dit wordt min of meer bevestigd door een $LC_{50} > 100\%$.

Bij O3½M was sprake van verhoogde sterfte in de 10% en 56%-verdundingen. Een significant effect op de r_m werd bij 10% v/v maar niet bij hogere concentraties waargenomen. I.p.v. 10% v/v lijkt het daarom waarschijnlijker dat beide NOEC's gelijk zijn aan 100% v/v. Dit wordt eveneens bevestigd door een $LC_{50} > 100\%$.

S1 veroorzaakte verhoogde sterfte en significante effecten op de r_m in de 10% en 100%-verdundingen. I.p.v. 10% v/v zijn beide NOEC's waarschijnlijk gelijk aan 56% v/v. De LC_{50} was 98%. Het is niet duidelijk of de geobserveerde effecten in het poriewater van dit monster door toxiciteit veroorzaakt zijn. In het sediment waren waarschijnlijk veel afbreekbare organische verbindingen aanwezig. Voor verversing van het testwater werd namelijk regelmatig een te laag zuurstofgehalte gemeten (paragraaf 3.1.1; bijlage 3). Mogelijk is dit (mede) de verklaring voor de waargenomen effecten.

Voor S2 werden geen (significante) effecten waargenomen, nog op de overleving, nog op de reproductie.

Chronische test met *Chironomus riparius*

In drie monsters werden significante effecten bij *C. riparius* larven vastgesteld. Dit betrof een verhoogd percentage dode en/of L2/L3-larven aan het einde van de testen met (slib)monsters W5Z en O3½M en een reductie van het drooggewicht bij (zand/slib)monster S2 (alleen significant t.o.v. de zandreferentie).

3.2. Beoordeling volgens criteria TRIADE-benadering

Wanneer de bioassays beoordeeld worden volgens de criteria uit de TRIADE-richtlijn (tabel 3.2), dan blijkt samenvattend dat er geen effecten optraden bij het monster W7M, matige effecten bij O3½M (*C. riparius*) en S1 (*V. fischeri* en *D. magna*) en ernstige effecten bij W5Z (*D. magna*) en S2 (*C. riparius*).

Tabel 3.2. Criteria ter beoordeling van bioassay resultaten voor *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna* en *Chironomus riparius* volgens de TRIADE-beoordeling (Maas *et al.*, 1993).

Testorganisme:	<i>V. fischeri</i>	<i>D. magna</i>		<i>C. riparius</i>		
Testduur:	30 minuten	14-16 dagen		28 dagen		
Effectparameter:	EC ₂₀	NOEC _{st}	NOEC _{repr}	Sterfte	Ontwikkeling	Drooggewicht
Criterium 1	50 %	100 %	100 %	10 %	10 %	10 %
Criterium 2	10 %	10 %	10 %	50 %	50 %	25 %

Tabel 3.3. Beoordeling van de locaties op basis van de resultaten van bioassays (TRIADE-methode; Maas *et al.*, 1993). -: geen tot weinig effect; ±: matig effect; +: ernstig effect.

Monster	Bioassays			eindoordeel
	<i>V. fischeri</i>	<i>C. riparius</i>	<i>D. magna</i> *	
W5Z (S)	-	±	+	+
W7M (Z)	-	-	-*	-
O3½M (S)	-	±	-*	±
S1 (S)	±	-	(±)*/**	±
S2 (S/Z)	-	+	-	+

* indicatieve waarde (zie tabel 3.1 en tekst)

** effect mogelijk mede veroorzaakt door lage zuurstofgehalten; maakt voor eindoordeel niet uit

4. Conclusies

Het doel van het onderhavige onderzoek in de Gamerense Waard was om via analyse van biologische gegevens volgens de TRIADE-benadering te komen tot een beoordeling van de onderzochte lokaties. Wanneer de resultaten van het onderzoek worden beoordeeld, dan blijkt het volgende. Er werden diverse biologische effecten waargenomen in de monsters. W7M veroorzaakte geen eenduidige effecten. Met O3½M werd alleen een matig effect op de ontwikkeling van de muggenlarve *Chironomus riparius* geconstateerd, terwijl S1 een matig effect had bij zowel *Daphnia magna* als *Vibrio fischeri*. In het sediment van W5Z was het effect op *D. magna* ernstig. Vier weken blootstelling van *C. riparius* aan het sediment van S2 had een ernstig effect op het uiteindelijke gewicht van de L4-larven tot gevolg. Het effect van S1 op *D. magna* is mogelijk (mede) te verklaren door te lage zuurstofgehalten die veroorzaakt kunnen zijn door biologische afbraak van organische stof. De chemische analyses van dit sediment kunnen deze interpretatie mogelijk bevestigen.

5. Literatuur

- Grootelaar E.E.M. & R. Mulder (1991). Handleiding voor het kweken van de muggelarf *Chironomus riparius*. S.O.P., RIZA Lelystad, AOCE/06 uitgave nr 3.
- ISO 6341 (1989). Water quality - Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocea, Crustacea)
- Kooijman S.A.L.M. (1981) Parametric analysis of mortality rates in bioassays. Water Res 15:107-119
- Maas, J.L., C. van de Guchte & F.C.M. Kerkum (1993). Methodebeschrijvingen voor de beoordeling van verontreinigde waterbodems volgens de TRIADE-benadering. Methodebeschrijvingen voor enkele bioassays, bioaccumulatiemetingen en veldstudies. RIZA notanr. 93.027, juli, 1993.
- NVN 6516 (1993). Water - Bepaling van de acute toxiciteit met behulp van *Vibrio fischeri*. Nederlands Normalisatie Instituut, Delft, augustus 1993.
- Norusis, M.J. (1992). SPSS® for Windows™. Base System User's Guide, Release 5.0. SPSS Inc. Chicago).
- Tidepool (1993). ToxCalc user's guide. Comprehensive toxicity data analysis and database software. Version 4.0 for microsoft Excel under Windows 3.1 or Apple Macintosh. Tidepool Scientific Software.

Bijlagen