



Ministerie van Verkeer en Waterstaat

Directoraat-Generaal Rijkswaterstaat

RIZA Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling

Oestrogene effecten in vissen in regionale wateren

RIZA rapport 2003.019

ISBN 9036954991

Auteurs: RIZA

A.A.M. Gerritsen

G.B.J. Rijs

OVB

J.G.P. Klein Breteler

AquaSense J. Lahr

RIZA

Lelystad, maart 2003

stowa

Samenvatting

De laatste jaren is er een groeiende belangstelling bij wetenschappers en waterkwaliteitsbeheerders naar de aanwezigheid van hormoonontregelende stoffen in het watermilieu. Aanleiding vormen de waargenomen effecten bij vooral waterdieren in de vrije natuur, die het gevolg (zouden) zijn van de aanwezigheid van deze stoffen in het oppervlaktewater. Bij hormoonontregelende stoffen, die vervrouwelijking teweeg brengen – de zogenaamde (xeno)-oestrogene stoffen – uit zich dat bij vissen in o.a. de aanwezigheid van 1] het vrouwelijk eiwit vitellogenine in het bloed en 2] eicellen in het testisweefsel (interseksualiteit) van de mannetjes. Inventariserende studies, zoals het LOES-onderzoek* en het COMPREHEND-onderzoek** laten zien dat verscheidene (xeno)-oestrogene stoffen bijna overal in lage concentraties in het watermilieu voorkomen. Ook bleek uit een veldstudie met brasem dat de kans op het optreden van vervrouweljkende effecten het grootst is in regionale wateren die sterk worden beïnvloed door emissies van (xeno)-oestrogene stoffen. Uit (inter)nationaal onderzoek is vast komen te staan dat ongezuiverd rioolwater en effluenten van rioolwaterzuiveringsinrichtingen (rwzi's) emissiebronnen van (xeno)-oestrogene stoffen zijn.

In het LOES/COMPREHEND-onderzoek werd vervrouwelijking van mannetjes vissen het duidelijkst aangetoond op één locatie, te weten het relatief kleine riviertje de Dommel ter hoogte van het lozingspunt van de rioolwater-zuiveringsinrichting (rwzi) Eindhoven. Voor het LOES/COMPREHEND onderzoek was deze bemonsteringslocatie geselecteerd vanwege het relatief grote debiet van het rwzi-effluent in relatie tot het afvoerdebiet van de Dommel. Bovendien was er een verhoogde kans op beïnvloeding door emissies van ongezuiverd rioolwater vanuit overstorten. Bij de brasem uit de Dommel, weggevangen uit de omgeving van de rwzi, werden zeer hoge vitellogenine-gehalten in het bloed van mannetjes vissen aangetroffen. Uit histologisch onderzoek aan de testis van dezelfde mannelijke brasems kon bij circa eenderde van de vissen de vorming van eicellen (interseksualiteit) worden waargenomen.

Voor interpretatie van deze onderzoeksresultaten uit LOES/COMPREHEND deed zich de vraag voor of de geselecteerde onderzoekslocatie een uniek geval is of dat deze oestrogene effecten ook optreden in andere regionale wateren die ook in belangrijke mate worden beïnvloed door rwzi-effluenten. Daarnaast was het van belang te weten of er ook oestrogene effecten bij brasems in kleine oppervlaktewateren kunnen worden aangetoond, die nagenoeg niet worden beïnvloed door antropogene activiteiten, maar uitsluitend door 'van nature voorkomende' oestrogene emissies.

In een korte screenings-onderzoek zijn in totaal op 10 regionale wateren brasems bemonsterd en naast algemene visparameters (lengte, gewicht, leeftijd, het gonade- en levergewicht) de mannetjes onderzocht op oestrogene effecten zoals vitellogenine-inductie en het optreden van interseksualiteit. Behalve de in het LOES/COMPREHEND geselecteerde locatie (de Dommel) zijn in het screening-onderzoek zeven regionale wateren (de

Noot

* Landelijk Onderzoek oEstrogene Stoffen (Vethaak *et al.*, 2002)

** Community Programme of Research on Environmental Hormones and Endocrine Disruptors (Pickering, 2002)

Vecht, de Aa, Eem, Valleikanaal, Bornsche beek, Ringvaart Haarlemmermeer en de Linge) bemonsterd die sterk beïnvloed worden door rwzi-effluenten. De overige twee referentiewateren (Naardermeer en De Weerribben) zijn natuurgebieden, waarvoor wordt verondersteld dat zij minimaal worden blootgesteld aan menselijke beïnvloeding.

Uit het screeningsonderzoek blijkt dat in de helft van de acht bemonsterde regionale wateren, die beïnvloed worden door rwzi-effluenten (of riooloverstorten), in meer of mindere mate oestrogene effecten bij in het wild levende vissen worden aangetroffen. Bij de Dommel en de Aa waren zowel hoge vitellogenine-gehalten in het bloed van mannelijke brasems aanwezig evenals het optreden van ovotestis (interseksualiteit) – d.i. de aanwezigheid van eicellen in de mannelijke geslachtsorganen, respectievelijk bij eenderde en tweederde van de mannelijke brasems. In de Vecht werden ook verhoogde vitellogenine-gehalten aangetroffen, zij het in mindere mate dan de Dommel en de Aa. In de Bornsche beek werden bij blankvoorns ovotestis waargenomen; op deze locatie kon geen brasems worden weggevangen. Bij de resterende vier regionale wateren te weten de Eem, Linge, Valleikanaal en Ringvaart Haarlemmermeer, werden bij de brasem geen oestrogene effecten waargenomen. Zij waren hiermee vergelijkbaar met de natuurlijke referentiewateren, Weerribben en Naardermeer.

De resultaten uit deze veldstudie bevestigen de bevindingen uit het LOES/COMPREHEND-onderzoek. Zij laten zien dat op basis van lozings-specifieke kenmerken van (potentiële) oestrogene emissiebronnen (in dit geval alléén rwzi-effluenten) met succes regionale wateren met een verhoogde kans op het optreden van oestrogene effecten kunnen worden geïdentificeerd. Het verdient aanbeveling dat waterkwaliteitsbeheerders op basis van de momenteel beschikbare informatie over hormoonverstorende stoffen en de bekende emissiebronnen deze risico-locaties in regionaal oppervlaktewater verder inventariseren. Hierdoor wordt een beter inzicht verkregen in de mate van optreden van hormoonontregeling in regionale wateren in Nederland.

Inhoudsopgave

Samenvatting 2

1 Inleiding 5

2 Werkwijze 7

2.1 Bemonstering 7

2.2 Voorbewerking 8

3 Resultaten & Discussie 9

3.1 Algemene visparameters 9

3.2 Vitellogenine inductie 13

3.3 Histologie van de gonaden 15

3.4 Overzicht 17

4 Conclusies en aanbevelingen 19

Referenties 20

Bijlagen 21

1 Inleiding

Hormoonontregelende stoffen staan sinds de jaren '90 in de belangstelling bij zowel wetenschappers als in het waterkwaliteitsbeheer. Aanleiding vormen de waargenomen effecten bij vooral waterdieren in de vrije natuur, die het gevolg (zouden) zijn van de aanwezigheid van hormoonontregelende stoffen in het aquatisch milieu. De ongerustheid over deze waarnemingen was de aanleiding voor inventariserende studies naar het optreden van o.a. vervrouwelijking van in het wild levende vissen op zowel landelijk niveau in het LOES-onderzoek (Landelijk Onderzoek naar oEstrogene Stoffen) (Vethaak *et al.*, 2002) als in Europees verband in het COMPREHEND-onderzoek (Community Programme of Research on Environmental Hormones and Endocrine Disruptors) (Pickering, 2002). De hormoon-ontregelende stoffen die de vervrouwelijking teweeg brengen zijn de zogenaamde '(xeno-)oestrogenen'. Dit zijn ofwel de vrouwelijke hormonen zelf of stoffen die deze hormonen kunnen nabootsen. Bij vissen uit de vervrouweljkende effecten zich o.a. door de aanwezigheid van 1) het vrouwelijk eiwit vitellogenine in het bloed en 2) eicellen in het testisweefsel (interseksualiteit) van de mannetjes.

Het LOES-onderzoek liet zien dat hormoonontregelende stoffen bijna overal in lage concentraties in het watermilieu voorkomen (Vethaak *et al.*, 2002) en uit COMPREHEND bleek dat een groot percentage van de Europese communale en industriële effluenten een oestrogene werking heeft (Pickering, 2002). Ook kon op basis van een veldstudie naar brasem de conclusie worden getrokken dat de kans op het optreden van vervrouweljkende effecten mogelijk zeer reëel is in regionale oppervlaktewateren die sterk worden beïnvloed door emissies van oestrogene stoffen. In vissen uit grote zoete wateren, estuaria en de open zee kwamen deze effecten niet of in veel mindere mate voor.

In het LOES/COMPREHEND-onderzoek werd vervrouwelijking van mannetjes vissen het duidelijkst aangetoond op één locatie, te weten het relatief kleine riviertje de Dommel ter hoogte van het lozingspunt van de rioolwater-zuiveringsinrichting (rwzi) Eindhoven. Voor het LOES/COMPREHEND onderzoek was deze bemonsteringslocatie geselecteerd vanwege het relatief grote debiet van het rwzi-effluent in relatie tot het afvoerdebiet van de Dommel. Bovendien was er een verhoogde kans op beïnvloeding door emissies van ongezuiverd rioolwater vanuit overstorten. Bij de brasem uit de Dommel, weggevangen uit de omgeving van de rwzi, werden zeer hoge vitellogenine-gehalten in het bloed van mannetjes vissen aangetroffen (tot meer dan 10 mg/ml). Uit histologisch onderzoek aan de testis van dezelfde mannelijke brasems kon bij circa eenderde van de vissen de vorming van eicellen (interseksualiteit) worden waargenomen.

Met behulp van parallel hieraan uitgevoerd onderzoek op het lab, met zogenaamde doorstroom-experimenten op locatie¹ en met behulp van

Noot

¹ Experimenten waarbij gebruik wordt gemaakt van een proefopstelling waarin vissen (forellen en karpers) onder doorstroomcondities (ca. 1 m³·h⁻¹) permanent worden blootgesteld aan 4 verdunningen van het rwzi-effluent, met als verdunningswater het bovenstroomse oppervlaktewater (Moby-Dick experimenten). Als maat voor oestrogeniteit geldt het gehalte aan vitellogenine in het bloedplasma van de mannelijke vissen aan het einde van de blootstellingsperiode.

kooi-experimenten in het veld² met verschillende vissoorten is vastgesteld dat rwzi-effluenten emissiebronnen van (xeno)-oestrogene stoffen zijn. Forellen in doorstroom-experimenten lieten een duidelijk dosis gerelateerd oestrogeen effect (mate van vitellogenine-inductie) zien. Met zebravissen in het lab werd aangetoond dat het rwzi-effluent ook de geslachtsverhoudingen van het nageslacht kan beïnvloeden. Na blootstelling was het aandeel vrouwelijke nakomelingen onnatuurlijk hoog. Uit deze experimenten met verschillende vissoorten blijkt dat de ene vissoort gevoeliger is voor oestrogene effecten dan de andere. Duidelijk is dat brasem en forel vergelijkbaar zijn in gevoeligheid en gevoeliger dan karper (Vethaak *et al.*, 2002).

Of het rwzi-effluent nu ook werkelijk de aangetoonde effecten bij de in het wild levende brasem heeft veroorzaakt kon niet onomstotelijk worden vastgesteld. Reden hiervoor was dat vooralsnog de mogelijke bijdragen van andere emissiebronnen van (xeno)-oestrogene stoffen, zoals riooloverstorten, mest van de intensieve veehouderij en bestrijdingsmiddelen uit de landbouw niet konden worden uitgesloten.

De waargenomen vervrouwelikkende effecten bij in het wild levende mannelijke brasems in de Dommel waren echter zo belangwekkend dat voor interpretatie van de LOES/COMPREHEND-resultaten op korte termijn meer inzicht nodig was op de volgende vragen:

- Is de in het LOES/COMPREHEND-onderzoek geselecteerde onderzoekslocatie (de Dommel, nabij het lozingspunt van de rwzi Eindhoven) daadwerkelijk een uniek geval of is zij representatief voor een groter aantal kleine regionale oppervlaktewaterlocaties? In Nederland zijn namelijk meerdere rwzi's die het biologisch gezuiverde effluent op regionale en relatief kleine wateren lozen.
- Kan er ook sprake zijn van aantoonbare oestrogene effecten bij brasems in kleine oppervlaktewateren, die nagenoeg niet worden beïnvloed door antropogene activiteiten, maar uitsluitend door 'van nature voorkomende' oestrogene emissies?

In de hier beschreven studie wordt aandacht besteed aan de bovengenoemde vragen. Door selectieve bemonstering en beoordeling van vis uit een aantal kleine regionale wateren is geïnventariseerd hoe wijdverbreid de in het LOES/COMPREHEND-onderzoek waargenomen vervrouwelikkende effecten bij mannetjes brasems voorkomen. Een belangrijke inperking is dat alleen gekeken is naar kleine regionale wateren die beïnvloed worden door rwzi-effluenten en/of stedelijke gebieden (riooloverstorten). Daarnaast zijn twee regionale wateren geselecteerd die niet of nauwelijks worden beïnvloed door oestrogene emissies van antropogene oorsprong. Deze gelden als natuurlijke referentiewateren. Regionale wateren, die niet in belangrijke mate worden beïnvloed door rwzi-effluenten, maar bijvoorbeeld door andere potentiële oestrogene emissiebronnen, zoals industrieel afvalwater of intensieve veehouderij zijn niet in deze inventarisatie meegenomen. De invloed van deze laatstgenoemde emissiebronnen op de geselecteerde locaties, anders dan de referentiewateren, is onbekend maar kan niet worden uitgesloten.

.....
Noot

² Experimenten waarbij karpers in kooien worden uitgehangen in het oppervlaktewater, zowel bovenstrooms als benedenstrooms van het lozingspunt. Als maat voor oestrogeniteit geldt het gehalte aan vitellogenine in het bloedplasma van de mannelijke vissen aan het einde van de blootstellingsperiode.

2 Werkwijze

2.1 Bemonstering

In 10 regionale wateren in Nederland (tabel 1) zijn in de periode november-december 2000 brasem en blankvoorn³ bemonsterd. Daarnaast is op één locatie, de Dommel, karper⁴ weggevangen. Behalve de Dommel zijn er 7 locaties geselecteerd op basis van het debiet van het rwzi-effluent en de grootte/type van het ontvangende oppervlaktewater. De referentiewateren, het Naardermeer en De Weerribben zijn natuurgebieden waarvoor wordt verondersteld dat zij, naar Nederlandse begrippen, minimaal worden blootgesteld aan menselijke beïnvloeding. Locatiegegevens staan vermeld in tabel 1.

Tabel 1

Geselecteerde regionale oppervlaktewateren met vangstdatum en systeemeigenschappen

nr.	oppervlaktewater	bemonsteringslocatie	datum	rwzi's	type oppervlaktewater ¹	% rwzi-effluent na lozingspunt ² (droog/gemiddeld)
Wateren belast met rwzi-effluent						
1	Dommel	Bovenstrooms van samenkomst met de Kleine Dommel	21-11	Eindhoven	KR	45 / 38
2	Vecht	Vanaf brug bij Oud-Zuilen	29-11	Utrecht	KR	46 / 37
3	Aa	Tussen Dinther en Veghel	12-11	Aarle Rixtel	KR	64 / 27
4	Eem	Tussen A1 en Amersfoort	10-11	Amersfoort	RV	25 / 16
5	Valleikanaal	Voor stuw voor inloop Luntersche beek	14-12	Ede Veenendaal	KL	60 / 31
6	Bornsche beek	Na zuivering Hengelo	14-11	Bennekom Enschede-West Oldenzaal	BK	88 / 94
7	Ringvaart Haarlemmermeer	Tot aan Zwanenburg	18-11	Hengelo Zwanenburg	BW	10 / 5
8	Linge	Stroomafwaarts na Geldermalsen	1-12	Geldermalsen	RV	3 / 3
Natuurlijke referentiewateren						
9	Naardermeer	De plas	21-12	-	NW	0
10	Weerribben	Geselecteerde petgaten	11-12	-	NW	0

1 KR = kleine rivier RV = rivier KL = kanaal BK = beek BW = boezemwater NW = natuurlijke referentiewateren
2 indicatieve waarden

De vissen werden gevangen door de Organisatie Ter Verbetering van de Binnenvisserij (OVV), ondersteund door het adviesbureau AquaSense en soms in samenwerking met een beroepsvisser. In principe is stroomafwaarts van het lozingspunt van de rwzi gevestigd. In voorkomende gevallen waarin de

Noot

³ Zowel blankvoorn als brasem zijn representatief voor het Nederlandse oppervlaktewater maar zijn duidelijk verschillend in (eet)gedrag en habitatkeuze. De blankvoorn is derhalve een belangrijke aanvullende soort in de inventarisatie.

⁴ Wilde karpers van deze locatie complementeren de gegevensset voor de vertaling van effecten bij lab/in situ blootstelling (zebravis, karper en forel) naar veldeffecten (karper, brasem, blankvoorn) en geeft uitsluitel over soortverschillen.

vangstpogingen onvoldoende resultaat resulteerden, is ook stroomopwaarts gevestigd in hetzelfde stuwpland. Voor elke locatie is contact opgenomen met de lokale waterbeheerder en de visrechtgebende. Ook is dit onderzoek aangemeld als dierproef (Wet op de Dierproeven, WOD) en is goedkeuring hiervoor verleend door de Dier Experimenten Commissie.

De visvangsten zijn met zegens en met elektrische visapparaten uitgevoerd. Per locatie werd gestreefd naar minimaal 20 mannelijke brasems en voor de Dommel bovendien ook naar 20 mannelijke karpers. Bijvangsten van blankvoorn zijn in het onderzoek meegenomen. De gevangen brasems en karpers zijn uit de vangsten gesorteerd ten behoeve van het verdere onderzoek. Te kleine vissen en andere soorten zijn onverwerkt teruggezet.

Hoewel ingezet is op het vangen van brasems > 30 cm en karpers > 40 cm, zijn bij tegenvallende vangsten in sommige gevallen ook kleinere brasems verwerkt. Brasems met paai-uitslag zijn steeds als eerste uitgeselecteerd omdat daarvan zeker is dat het mannelijke dieren betreft. Als gevolg van deze voorselectiemethode op mannelijke vissen met paaiuitslag was het op een aantal locaties niet meer mogelijk de geslachtsverhouding van de gevangen vissen te bepalen. Vrouwelijke vissen werden na meting van gewicht en lengte weer vrijgelaten; de mannelijke vissen zijn verder onderzocht.

2.2 Voorbewerking

De vissen werden allereerst verdoofd met MS222, de lengte (totaal- en vorklengte) is gemeten en het totaal lichaamsgewicht bepaald. Hierna is een klein abdominale incisie gemaakt waardoor beoordeeld kon worden of het een mannelijke of een vrouwelijke vis betrof. Van de mannelijke vissen is vervolgens bloed voor de vitellogenine-meting afgenomen; de gonaden (geslachtsorganen) en lever geprepareerd voor verdere gewichtbepaling en conservering. Op de gonaden is histologisch onderzoek verricht. Het somatisch lichaamsgewicht (d.i. het totaalgewicht minus gewicht organen in buikholte) is bepaald en tenslotte zijn enkele schubben getrokken ter bepaling van de leeftijd.

Een meer gedetailleerde beschrijving van de visvangsten per locatie en de verrichte voorbewerking met bijbehorende conservering is gegeven in het deelrapport van de OVB (Klein Breteler, 2001).

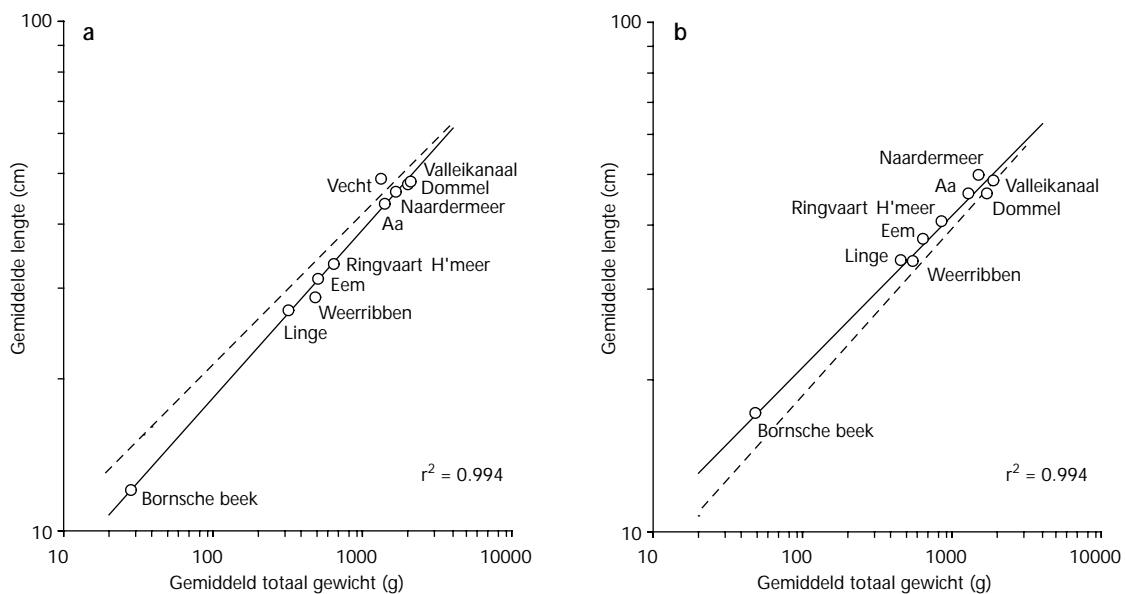
3 Resultaten & Discussie

3.1 Algemene visparameters

In het deelrapport van de OVB (Klein Breteler, 2001) wordt per locatie een beschrijving gegeven van de vangstgegevens. Van de vrouwtjes werd de lengte (totaal en vork) en het totaal gewicht gemeten. Daarna werden zij teruggezet in het water. Bij de mannetjes werd de lengte (totaal en vork), het gewicht (totaal en somatisch), de leeftijd, het gonade- en het levergewicht bepaald. Om een vergelijking tussen de brasems onderling op de verschillende locaties mogelijk te maken zijn gonade, lever en het totaal gewicht geïndexeerd tot respectievelijk de GSI (Gonadosomatische- of gonadeindex), HSI (Hepatosomatische- of leverindex) en CF (Conditiefactor). De GSI, HSI en CF geven een beeld van de fysiologische toestand van de vis. In tabel 2 zijn de resultaten van deze metingen samengevat. In de Bornsche beek, de kleinste oppervlaktewaterlocatie in deze studie werden slechts 2 brasems gevangen. Mogelijk was deze locatie niet de juiste biotoop voor brasem. Wel werden er 27 blankvoorns gevangen.

Op basis van lengte en gewicht is er geen onderscheid te maken tussen brasems van de referentielocaties en de risicolocaties (figuur 1). Dit geldt voor zowel de mannelijke als de vrouwelijke exemplaren. De verhouding tussen de lengte en het gewicht wijkt niet af van de verwachte relatie, te weten een lineair verband tussen de logaritmen van lengte en gewicht. Met andere woorden, alle gevangen brasems groeiden volgens een vergelijkbaar patroon. Het schijnbare verschil tussen de groeipatroon van mannetjes en vrouwtjes is niet significant.

Figuur 1
Gemiddeld totaalgewicht versus gemiddelde totale lengte voor volwassen (a) mannelijke brasems en (b) vrouwelijke brasems uit regionale oppervlaktewater locaties. De doorgetrokken lijnen horen bij de meetwaarden, de onderbroken lijnen geven de relatie voor het andere geslacht weer



Tabel 2

Lengte, totaalgewicht, leeftijd, gonadeindex, leverindex en conditiefactor van vissen uit 10 regionale oppervlaktewateren in Nederland

	man							vrouw			
	totaal lengte (cm)	totaal gewicht (g)	leeftijd (jaar)	GSI ¹	HSI ¹	CF ¹	aantal vissen	totaal lengte (cm)	totaal gewicht (g)	CF	aantal vissen
Brasem											
Dommel	53.3±3.4	2180±390	13.7±1.2	1.5±0.42	2.3±0.39 ²	1.21±0.09	13	46.5±9.4	1690±876	1.30±0.18	11
Vecht	48.8±2.6	1370±213	12.2±1.5	1.8±0.51 ²	2.3±0.49 ²	1.02±0.11	21	-	-	-	-
Aa	48.8±3.4	1410±298	11.8±1.0	1.2±0.80	2.2±0.51 ²	1.05±0.10	12	46.9±3.3	1280±222	1.08±0.16	7
Eem	35.2±2.7	502±150	6.4±1.1	1.3±0.35	1.6±0.31	1.06±0.07	5	34.7±7.1	530±328	1.08±0.11	24
Valleikanaal	53.1±3.8	2030±406	13.2±2.0	2.4±0.50 ²	2.7±0.64 ²	1.14±0.06	7	48.7±9.5	1880±858	1.29±0.12	8
Bornsche beek	13.8	28	-	0.71	1.8	1.26	1	17.1	50	1.12	1
Ringvaart H'meer	37.1±7.0	658±309	9.1±2.5	1.0±0.49	1.9±0.44 ²	1.09±0.13	18	40.8±6.7	856±216	1.06±0.13	38
Linge	30.3±3.3	325±111	6.9±0.8	0.9±0.29 ²	1.4±0.28	1.10±0.06	17	34.2±5.0	473±186	1.07±0.13	27
Naardermeer	53.0±3.6	1710±304	13.1±1.4	1.3±0.34	1.4±0.35	0.97±0.09	21	49.8±10	1520±600	0.98±0.13	33
Weerribben	32.7±7.8	476±346	7.5±3.0	1.2±0.40	1.4±0.40	1.08±0.08	23	34.0±9.3	562±507	1.09±0.17	45
Blankvoorn											
Dommel	21.7±3.3	142±76.8	5.3±1.5	4.9±0.43	1.5±0.21	1.08±0.07	4	23.8±3.7	213±118	1.16±0.10	13
Bornsche beek	19.1±1.9	90.2±29.1	4.0±0.7	4.3±0.55	1.8±0.34	1.12±0.10	10	20.5±2.0	125±38	1.20±0.07	17
Weerribben	17.3	52	4	4.0	0.8	0.91	1	19.1±3.4	86.2±53.0	1.00±0.19	14
Karper											
Dommel	67.7±6.5	6200±2910	18.6±2.1	8.5±1.6	3.2±0.77	1.12±0.13	11	63.5±2.7	5170±1260	1.19±0.18	5

¹GSI = gewicht gonaden / totaal gewicht x 100%;

HSI = gewicht lever / totaal gewicht x 100%

CF = totaal gewicht gemeten / totaal gewicht verwacht op basis van lengte (De Laak & Klein Breteler, 2002)

volgens: totaal gewicht = a · totale lengte^b.

waarbij: voor Brasem a = 0.004485 en b = 3.2427 (n = 40123);

voor Blankvoorn a = 0.003866 en b = 3.3661 (n = 26947);

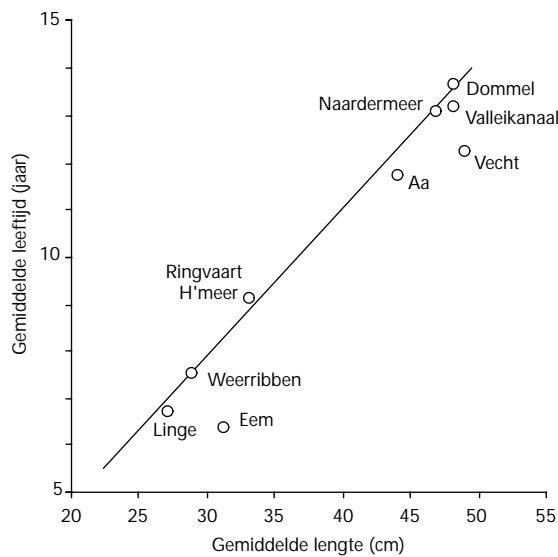
voor Karper a = 0.009825 en b = 3.1294 (n = 8271).

² significant verschillend van referentielocaties (T-toets: p < 0.01).

Lengte en gewicht worden ook gebruikt voor het afleiden van de conditiefactor, een maat voor de voedingstoestand van de vis. In deze studie is de CF berekend volgens inzichten uit recent onderzoek van de OVB (De Klein Breteler & De Laak, 2003). Bij statistische toetsing blijken voor brasem de twee referentielocaties verschillend van elkaar ($p < 0.01$) en verdere statistische toetsing wordt daardoor weinig zinvol. Wel kan geconcludeerd worden dat alle CF nabij de 1 lagen, hetgeen wijst op dieren in een goede conditie. Voor brasem werden de hoogste waarden gevonden voor de Borsche Beek, Dommel en het Valleikanaal. Ook voor de blankvoorn was de CF aanzienlijk hoger in de Borsche Beek en de Dommel dan die in de Weerribben. Waarschijnlijk is voedselaanbod hiervoor de belangrijkste verklaring.

In figuur 2 is de leeftijd van de mannelijke brasem uitgezet tegen de lengte. Op de meeste locaties groeien de brasems met een vergelijkbare snelheid, zo'n 3 cm per jaar⁵. Op twee locaties, de Eem en de Vecht, was er sprake van een bovenmatige groeisnelheid. Ter verduidelijking; vergelijken we de mannelijke brasems uit de Eem met die van vergelijkbare lengte, uit de Linge, Weerribben en Ringvaart Haarlemmermeer, dan valt op de mannetjes uit de Eem erg groot zijn voor hun leeftijd en staat van ontwikkeling. Toch is dit niet uitzonderlijk. In de literatuur worden ook hogere groeisnelheden vermeld. In het Sneekermeer en de Terkaplester poelen, twee relatief schone Friese wateren, zijn er brasems die harder groeien, namelijk 5,6 cm per jaar (Klinge, 1999).

.....
Figuur 2
 Gemiddelde lengte versus gemiddelde leeftijd van mannelijke brasems uit regionale oppervlaktewateren. Lijn is gebaseerd op metingen op referentie-locaties



Voor twee locaties, de Vecht en het Valleikanaal, waren de gonade-indices voor brasems hoger dan voor de referentiewateren. Voor de Linge werd een significant lagere gonade-index gevonden maar waarschijnlijk is dat het gevolg van het feit dat de mannelijke brasems uit de Linge nog relatief jong en onontwikkeld waren. Opvallend is dat dit niet gold voor de mannelijke brasems uit de Eem. Hun gonade-indices waren vergelijkbaar met die van de referentiewateren, alhoewel zij gemiddeld jonger waren en een groter deel van de populatie nog onvolwassen was (20% onvolwassen in de Eem versus 8% in de Linge). Een evaluatie van de vangstgegevens

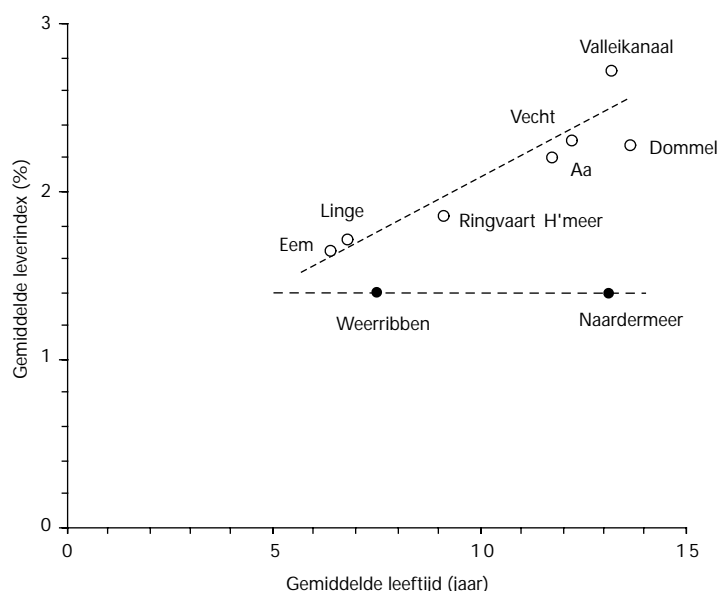
.....
Noot

⁵ Lineaire regressie op lengte en leeftijd geeft een zeer goede correlatie ($r^2 = 0.996$).

van brasem tussen 1965 en 1999 laat eveneens een trend zien waarbij mannelijke brasems sneller volwassen worden (Winter en Sluis, 2000). Wat hierbij de rol van (xeno)-oestrogene of andere hormoonontregelende stoffen is, blijft vooralsnog onduidelijk.

De leverindex is afhankelijk van het seizoen maar kan ook worden gezien als maat voor de blootstelling aan toxische stoffen (Slooff *et al.*, 1983). Het idee hierachter is dat het organisme een grotere levercapaciteit dient te hebben om de toxische stoffen af te breken of uit het lichaam te verwijderen (denk aan de vergrootte lever van alcoholisten). Ten opzichte van de referentiewateren werden significant verhoogde leverindices gevonden voor de Dommel, Vecht, Aa, Valleikanaal en Ringvaart Haarlemmermeer. Niet voor de Borsche Beek, Linge en Eem, maar mogelijk speelt bij de laatste twee locaties de relatief lage leeftijd van mannetjes een niet te verwaarlozen rol (Figuur 3). Er lijkt namelijk voor verontreinigde locaties een positief verband tussen de leeftijd en de leverindex. Mogelijkerwijs is er sprake van een geleidelijke ophoping van leverschade gedurende het leven van een vis (Sloof *et al.*, 1983).

Figuur 3
Gemiddelde leeftijd versus gemiddelde leverindex van mannelijke brasems uit regionale oppervlakte-wateren. Lijnen zijn slechts illustratief en niet gebaseerd op correlaties



De gevangen brasems vertoonden in sommige wateren paai-uitslag. Paai-uitslag is een typisch kenmerk van mannelijke brasems, dat voor zover bekend alleen in de paaitijd tot expressie komt. De periode november - december, waarin de bemonsteringen plaatsvonden, lijkt wat aan de vroege kant om paai-uitslag te verwachten. De reden waarom in sommige wateren wel paai-uitslag voorkwam en in andere niet, is niet duidelijk. Vanwege het selecteren van mannetjes vissen bij de monsternamen op basis van de paai-uitslag is het niet meer mogelijk aselectief de sex-ratio, d.i. de verhouding tussen de mannelijke en vrouwelijke vissen, te bepalen. Op de locaties Vecht en Valleikanaal werden veel brasems met paai-uitslag aangetroffen; in het Naardermeer en de Aa werden enkele vissen met paai-uitslag aangetroffen. Op de overige locaties werd geen paai-uitslag bij brasems gevonden. Bovendien is het belangrijk dat voor het vaststellen van de sex-ratio voldoende individuen gevangen worden. De in dit rapport berekende sex-ratio's zijn gebaseerd op een klein aantal individuen en daarom dienen de waarden met enige voorzichtigheid geïnterpreteerd te worden. Grofweg kunnen de berekende sex-ratio's in drie clusters verdeeld worden. In het eerste cluster met een sex-ratio van tussen de 0,3 en 0,4, bevinden zich de twee referentiewateren, de Ringvaart Haarlemmermeer en de

Linge. In het tweede cluster met gemiddeld hoge sex-ratio's (> dan 0,4) vallen de Dommel en de Aa. De Borsche beek wordt hier vanwege een te kleine vangst buiten beschouwing gelaten. In het derde cluster bevindt zich alleen de Eem met een zeer lage sex-ratio van 0,17. Om meerdere redenen was de Eem opvallend. Van de totaal 37 brasems konden er maar 29 op geslacht gebracht worden, 5 mannetjes en 24 vrouwtjes. Dit laat zich vertalen naar een sex-ratio van 0,17.

Tabel 3
Aantal mannelijke/vrouwelijke vissen en sex-ratio's voor brasems uit 10 regionale oppervlaktewateren in Nederland

	aantal vissen (man)	aantal vissen (vrouw)	sex ratio
Brasem			
Dommel	13	11	0,54
Vecht	21	-	
Aa	12	7	0,63 ¹
Eem	5	24	0,17
Valleikanaal	7	8	
Borsche beek	1	1	
Ringvaart H'meer	18	38	0,32
Linge	17	27	0,39
Naardermeer	21	33	0,391
Weerribben	23	45	0,33

¹ op basis van enkele vissen met paaiuitslag

3.2 Vitellogenine inductie

Vitellogenine (Vtg) is de voorloper van dooierewit en wordt normaliter alleen door vrouwelijke vissen in grote hoeveelheden geproduceerd. Na synthese in de lever komt het via de bloedbaan in het vrouwelijk geslachtsorgaan terecht, waar het wordt omgezet in o.a vitelline. Onder invloed van (xeno)-oestrogene stoffen, die de natuurlijke vrouwelijke hormonen kunnen nabootsen, kan echter ook in mannelijke vis Vtg worden gevormd. De meting van Vtg in het bloedplasma van mannelijke vissen is dus een goede aanwijzing voor blootstelling aan (xeno)-oestrogene stoffen. Derhalve wordt de Vtg-meting gebruikt als biomarker voor stoffen die een oestrogeen effect bij mannelijke vissen kunnen bewerkstelligen.

Voor het meten van Vtg in het bloedplasma van vissen wordt gebruik gemaakt van een indirecte, competitieve 'Enzyme Linked Immunosorbent Assay' (ELISA) welke is uitgevoerd door AquaSense. Deze assay maakt gebruik van een immunologische reactie van Vtg met een anti-Vtg antilichaam. Middels toevoeging van een secundair antilichaam wordt een kleurverandering verkregen die door middel van een fluorescentiemeter wordt gekwantificeerd. Een meer gedetailleerde beschrijving van de Vtg-meting wordt gegeven in het deelrapport van AquaSense (2001) en het LOES-rapport (Vethaak *et al.*, 2002).

De metingen naar Vtg in het bloedplasma van de mannelijke brasems zijn verwerkt tot histogrammen waarin de volgende categorieën zijn te onderscheiden:

- 0 < 10³ ng/ml
- 1 10³ – 10⁴ ng/ml
- 2 10⁴ – 10⁵ ng/ml
- 3 10⁵ – 10⁶ ng/ml
- 4 10⁶ – 10⁷ ng/ml
- 5 > 10⁷ ng/ml

Naarmate er in de histogrammen een verschuiving van de staafjes naar rechts (een hogere categorie) plaatsvindt, is er sprake van verhoging van het

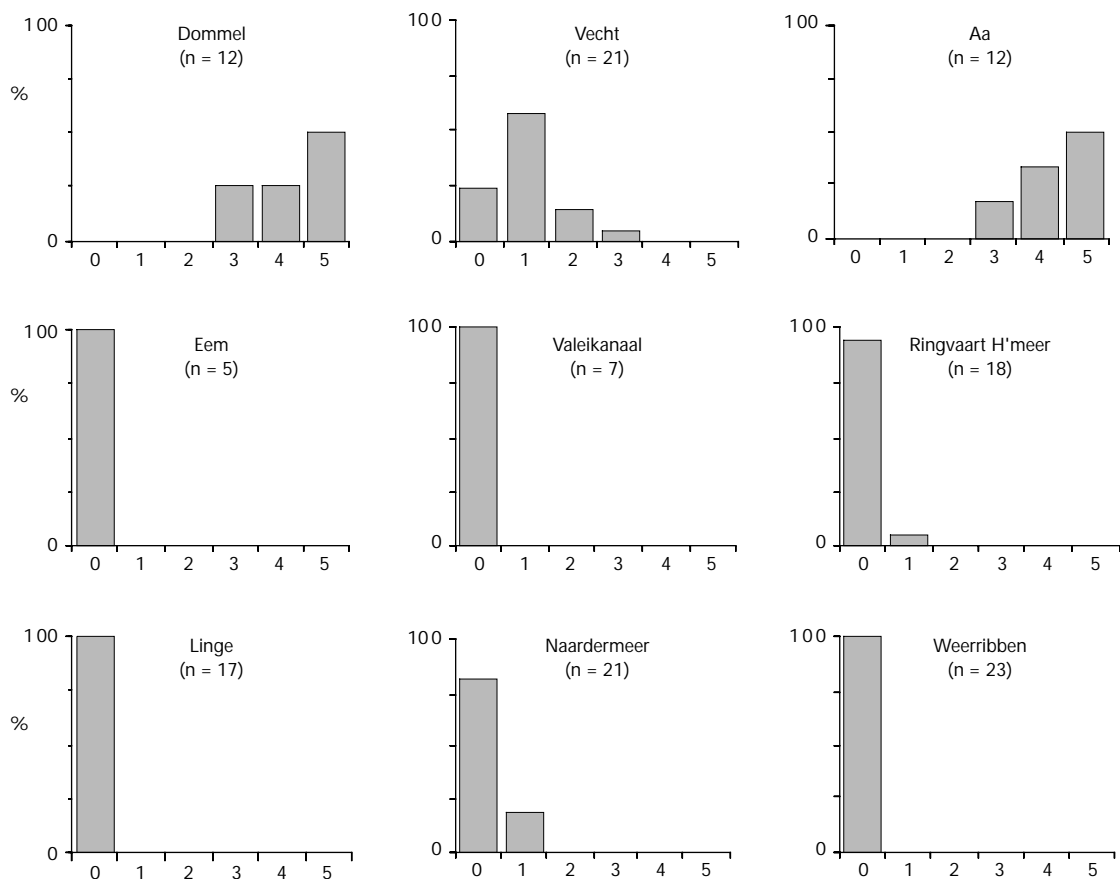
Vtg-gehalte in het bloedplasma van mannelijke brasems. De hoogte van de staafjes geeft het percentage van de gevangen mannelijke brasems met Vtg-gehalte behorend bij die categorie.

Op basis van eerder onderzoek naar Vtg in het bloedplasma van brasems tijdens het Landelijk Onderzoek Oestrogene Stoffen (LOES) mag worden verondersteld dat Vtg-gehalten groter dan klasse 1 (d.i. >10.000 ng/ml) mogelijk veroorzaakt zijn door verontreinigingen met een oestrogene werking.

Er zijn drie locaties met verhoogde Vtg-gehalten voor de mannelijke brasem (Figuur 4). De gehalten zijn sterk verhoogd in de Dommel en Aa en matig verhoogd in de Vecht. Ook de mannelijke karpers uit de Dommel laten een verhoging zien van het Vtg-gehalte. De verhoging is minder sterk dan voor de brasem (Figuur 5). Dit is voor Nederland de eerste keer dat verhoging van Vtg-gehalte bij in het veld gevangen karpers is waargenomen. De blankvoorns zijn niet onderzocht op Vtg-verhoging, omdat hiervoor nog geen methode voorhanden is.

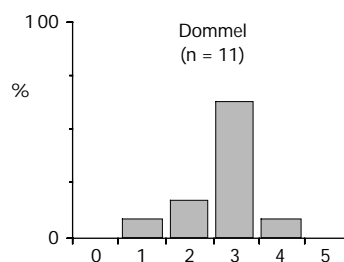
Figuur 4

Vitellogenine-gehalten in mannelijke brasem uit regionale oppervlaktewateren. Frequentieverdelingen met verticaal percentages van de vissen en horizontaal klassen met vitellogenine-gehalten



Figuur 5

Vitellogenine-gehalten in mannelijke karpers uit de Dommel. Frequentieverdeling met verticaal percentages van de vissen en horizontaal klassen met vitellogenine-gehalten



3.3 Histologie van de gonaden

TNO-Voeding heeft van de uitgeprepareerde gonaden histologische coupes gemaakt; 12 per individu (per gonade op 3 posities met 2 herhalingen). Deze histologische coupes zijn microscopisch gecontroleerd op de aanwezigheid van oöcyten (eicellen). Indien aanwezig werd per doorsnede het percentage oppervlak dat werd ingenomen door oöcyten geschat. Hierbij zijn de volgende categorieën te onderscheiden:

- 0 geen oöcyten aangetroffen
- 1 < 0.1 % van totaal oppervlak is oöcyt
- 2 0.1 – 1 % van totaal oppervlak is oöcyten
- 3 1 – 10 % van oppervlak is oöcyt
- 4 >10 % van oppervlak is oöcyt

Voor elk individu werd per gonade de gemiddelde score berekend. Per locatie werd het percentage mannelijke individuen met ovotestis (testis met oöcyten, score > 0) berekend.

De resultaten met betrekking tot de histologie van de gonaden staan samengevat in tabel 4. Op drie locaties werden mannelijke vissen aangetroffen met ovotestis (oöcyten in de testis). Dit waren de Dommel, de Aa en de Bornsche beek. In de Dommel bevestigde dit het beeld zoals dat werd aangetroffen in 1999 tijdens het LOES onderzoek. Ook toen werd op deze locatie nabij het lozingspunt van de rwzi relatief veel mannetjes met ovotestis aangetroffen. Nieuw is dat deze effecten ook waar te nemen zijn

Tabel 4

Overzicht van histologische beoordeling van de gonaden van mannelijke brasem, karper en blankvoorn in regionale oppervlaktewateren (alleen locaties met meer dan 0% ovotestis)

		aantal mannelijke vissen	percentage mannelijke vissen met ovotestis	aantal individuen met % oppervlak oöcyten				
				n	%	0	< 0,1%	0,1- 1%
Aa	Brasem	12	58	5	0	2	2	3
Dommel	Brasem	13	31	9	1	2	1	0
	Karper	11	0	0	0	0	0	0
	Blankvoorn	4	25	3	0	1	0	0
Bornsche beek	Blankvoorn	10	20	8	1	1	0	0

op andere locaties in Nederland, de Aa en in mindere mate de Bornsche beek. Bij de Aa zijn de effecten zelfs sterker aanwezig dan bij de Dommel en net als bij de Dommel werden er ook sterk verhoogde Vtg-gehalten gemeten. In de Bornsche beek zijn geen brasems gevangen, maar wel blankvoorns. Bij 2 van de 10 blankvoorn mannetjes werd ovotestis gevonden. Ook in de Dommel vertoonde 1 van de 4 gevangen blankvoorn mannetjes ovotestis. Of dit daadwerkelijk een oestrogeen effect is, valt echter nog te bezien. Bij vergelijkbaar onderzoek in Engeland werd op meerdere schone referentielocaties een percentage ovotestis gevonden van rond de 20 % (Jobling *et al.*, 1998), vergelijkbaar met de percentages gevonden in de Dommel en de Bornsche beek. Er zijn echter wel andere histologische aanwijzingen, zoals de aanwezigheid van zones met sterk gefeminiseerd weefsel in de testis, dat het in het huidig onderzoek een

oestrogeen effect betreft. Het aantal gevangen blankvoorns was echter te gering voor het verkrijgen van een goed beeld.

Van de mannetjes brasems van de locaties Dommel en Aa waren er totaal 11 van de 25 met ovotestis. Ook in 1979 werden gedeeltelijk vervrouwelijkte gonaden bij mannelijke brasems (hermafroditisme) waargenomen tijdens een grootschalige veldstudie naar de brasem in de grote oppervlaktewateren zoals de Rijn en Maas. Er werden 5 hermafroditische mannelijke brasems gesignaleerd (Sloof en Klootwijk-van Dijk, 1982). Deze 5 mannetjes hadden allen één normale mannelijke gonade en één gedeeltelijk vervrouwelijkte gonade. Dit fenomeen was met het blote oog waar te nemen. In de onderhavige studie werd één vergelijkbaar exemplaar aangetroffen in de Aa. Eén van de gonaden was totaal vervrouwelijkt. Al is een goede vergelijking tussen deze twee studies niet mogelijk, wel is duidelijk dat in 1979 de waterkwaliteit in de grote rivieren al enkele decennia te wensen over liet.

In de Dommel en Aa werden bij brasem ook sterk verhoogde Vtg-gehalten gemeten. Indien het Vtg-gehalte en de ovotestis score naast elkaar worden gelegd, blijkt daaruit geen duidelijke relatie. Dit is in overeenstemming met het idee dat beide effecten op een ander mechanisme gebaseerd zijn (Vethaak *et al.*, 2002). Hierbij zou de vorming van ovotestis een omkeerbaar morfologische gevolg zijn van blootstelling tijdens de geslachtelijke ontwikkeling van de mannelijke vis, terwijl verhoging van het Vtg-gehalte in het bloedplasma een omkeerbare, dus tijdelijke, biochemische respons zou zijn als gevolg van een recente blootstelling.

Tabel 5

Overzicht van oestrogene effecten en andere waarnemingen aan mannelijke brasems, karper en blankvoorn uit 10 regionale oppervlaktewateren

locatie	% rwzi-effluent na lozingspunt (droog/gemiddeld)	aantal mannetjes	Vtg-inductie ³	ovotestis ⁴	lever-index ⁵	gonade-index ⁴
Brasem						
Dommel	45 / 38	13	↑↑	↑	↑	◦
Vecht	46 / 37	21 ¹	↑	◦	↑	↑
Aa	64 / 27	12	↑↑	↑	↑	◦
Eem	25 / 16	5	∞	◦	◦	◦
Valleikanaal	60 / 31	7	∞	◦	↑	↑
Bornsche beek	88 / 94	12	-	◦	◦	◦
Ringvaart H'meer	10 / 5	18	∞	◦	◦	↓
Linge	3 / 3	17	∞	◦	◦	↓
Naardermeer (referentie)	0	21	∞	◦	◦	◦
Weerribben (referentie)	0	23	∞	◦	◦	◦
Blankvoorn						
Dommel	45 / 38	4	-	↑		
Bornsche beek	88 / 94	10	-	↑		
Weerribben (referentie)	0	1	-	◦		
Karper						
Dommel		11	↑	◦		

¹ geen vrouwelijke dieren bemonsterd

² geen brasem habitat

³ ◦: geen (<10⁴ ng Vtg/ml), ↑:matig (>10⁴ ng Vtg/ml), ↑↑: sterk (>10⁶ ng Vtg/ml).

⁴ ◦: (als) referenties, ↓: lager, ↑: hoger.

⁵ ◦: (als) referenties, ↓: significant lager, ↑:significant hoger.

3.4 Overzicht

Het hier beschreven onderzoek had als nadrukkelijk doel te onderzoeken of de oestrogene effecten zoals die op de Dommel / rwzi Eindhoven locatie werden gevonden in het LOES/COMPREHEND onderzoek ook voorkomen op vergelijkbare locaties in regionale oppervlaktewateren. Van de tien geselecteerde locaties waren er acht relatief kleine (regionale) oppervlaktewateren die sterk beïnvloed worden door rwzi-effluenten of anderszins door stedelijk bebouwing (zoals riooloverstorten).

Op andere emissiebronnen van oestrogene stoffen is niet geselecteerd, maar beïnvloeding kan niet worden uitgesloten. De andere twee geselecteerde locaties dienden als natuurlijke referentiewateren. Op elke locatie is de gevangen vis beoordeeld op enkele algemene parameters en specifieke oestrogene effecten. De resultaten staan in tabel 5 op een overzichtelijke wijze samengevat.

Ten opzichte van de twee natuurlijke referentielocaties, de natuurgebieden Naardermeer en Weerribben valt het volgende op bij de door rwzi-effluenten en (mogelijk) door riooloverstorten beïnvloede regionale oppervlaktewateren:

- In het Valleikanaal zijn de leverindex en gonade-index van de brasems opvallend hoog.
- In de Eem zijn sex-ratio en groeisnelheid afwijkend. Het is onduidelijk wat hiervan de oorzaken zijn.
- Voor de Linge en de Ringvaart Haarlemmermeer zijn lage gonade-indices aangetroffen. Van de Linge kunnen deze gerelateerd worden aan de relatief lage leeftijd van de mannetjes. Opvallend bij de brasem uit de Ringvaart Haarlemmermeer was het voorkomen van vrij zeldzame huidaan- doeningen (papilloma) bij een groot deel van de gevangen populatie brasems. Het is onduidelijk wat hiervan de oorzaak is.
- Op vier van de acht door al dan niet gezuiverd stedelijk afvalwater beïnvloede locaties werden oestrogene effecten waargenomen bij in totaal drie vissoorten. Op drie locaties werden verhoogde vitellogenine-gehalten gemeten. In de Dommel en Aa waren de gehalten zeer hoog en in Vecht waren zij matig verhoogd. Op drie door stedelijk afvalwater beïnvloede locaties werden mannelijke vissen met ovotestis aangetroffen, de Dommel, Aa en Bornsche Beek. De percentages ovotestis waren 31% en 58% voor brasem in respectievelijk de Dommel en Aa. Voor de blankvoorn werden in de Bornsche beek en de Dommel percentage ovotestis aangetroffen van respectievelijk 20% en 25%, die mogelijk een aanwijzing zijn voor een oestrogeen effect. De sex-ratio's bij brasems in de Dommel en de Aa waren juist hoger – dus meer mannelijke dan vrouwelijke vissen werden aangetroffen – dan in de referentiewateren. In deze referentiewateren zijn geen aantoonbare (van nature voorkomende) oestrogene effecten aangetoond.
- De effecten waargenomen bij brasem uit de Dommel waren vergelijkbaar met die uit het LOES-onderzoek (Vethaak *et al.*, 2002). Ook toen werden er zeer hoge vitellogenine-gehalten gemeten en werd er een hoog percentage mannelijke brasems met ovotestis waargenomen, 33% in 1999 en 31% in de onderhavige studie (2000).
- Op basis van het aandeel geloosd rwzi-effluent ten opzichte van de hoeveelheid ontvangend oppervlaktewater blijkt dat bij grote verdunningen, zoals bij Ringvaart-Haarlemmermeer, de Linge en de Eem, er geen oestrogene effecten bij brasems in het veld kunnen worden aangetoond. Bij de vier locaties, waar wel oestrogene effecten zijn aangetoond, vormt

het rwzi-effluent een aanzienlijk percentage (meer dan 30%) van het stroomafwaartse oppervlaktewater. Met name in de droge periode is het aandeel rwzi-effluent in verhouding tot het ontvangende oppervlaktewater groot, variërend van 45 tot bijna 80%. Ook bij het Valleikanaal is het rwzi-aandeel in relatie tot het ontvangend oppervlaktewater met 31% voor het jaarlijks gemiddelde tot 60 % in droge perioden aanzienlijk. Toch zijn er geen oestrogene effecten bij brasems in het Valleikanaal aangetoond. Dit ondanks het feit dat de vissen beperkt vrij kunnen zwemmen in het gestuwde systeem van het Valleikanaal. Blijkbaar is een geringe verdunning van het rwzi-effluent in het ontvangende oppervlaktewater niet allesbepalend voor het laten optreden van oestrogene effecten bij vissen. Mogelijk spelen het zuiveringsrendement van de rwzi of de effluentkwaliteit hierbij een rol of omgevingsfactoren als habitat, bodemsoort, overige emissiebronnen etc. Deze is erg locatiespecifiek.

- Met deze studie is aangetoond dat oestrogene effecten niet alleen optreden bij de brasem, maar ook bij karper en mogelijk bij blankvoorn. Op basis van deze resultaten is het dan ook aannemelijk dat er meer vissoorten zullen zijn waarbij oestrogene effecten optreden. Een belangrijke vraag is nu: Welke negatieve invloed de aangetoonde oestrogene effecten heeft op de reproductie, de populatie van de diverse vissoorten en de overlevingskansen in deze watersystemen? Vooralsnog kan hierop nog geen antwoord worden gegeven. Bij de interpretatie van de resultaten uit COMPREHEND wordt vermeld dat 50% van de dieren met sterke intersex kenmerken onvruchtbaar is en bij de nakomelingen is er 70% minder overleving (ENDS, 2002). Hieruit blijkt dat rekening moet worden gehouden met mogelijke nadelige populatie effecten.

4 Conclusies en aanbevelingen

- In de helft van de acht bemonsterde regionale wateren, die beïnvloed worden door rwzi-effluenten (of riooloverstorten), zijn in meer of mindere mate oestrogene effecten bij in het wild levende vissen aangetroffen. Bij de Dommel en de Aa waren zowel hoge vitellogenine-gehalten (Vtg) in het bloed van mannelijke brasems aanwezig evenals het optreden van ovotestis (interseksualiteit) – d.i. de aanwezigheid van eicellen in de mannelijke geslachtsorganen, respectievelijk bij eenderde en tweederde van de mannelijke brasems. In de Vecht werden ook verhoogde Vtg-gehalten aangetroffen, zij het in mindere mate dan de Dommel en de Aa. In de Bornsche beek werd bij twee van de 10 weggevangen blankvoorns ovotestis waargenomen, d.i. mogelijk een aanwijzing voor een oestrogeen effect. Bij de resterende vier regionale wateren te weten de Eem, Linge, Valleikanaal en Ringvaart Haarlemmermeer, werden bij de brasem geen oestrogene effecten waargenomen. Zij waren hiermee vergelijkbaar met de natuurlijke referentiewateren, Weerribben en Naardermeer.
- De resultaten uit deze veldstudie bevestigen de bevindingen uit het LOES-onderzoek (Vethaak *et al.*, 2002). Zij laten zien dat op basis van lozings specifieke kenmerken van (potentiële) oestrogene emissiebronnen (in dit geval alléén rwzi-effluenten) met succes regionale wateren met een verhoogde kans op het optreden van oestrogene effecten kunnen worden geïdentificeerd. Het verdient aanbeveling dat waterkwaliteitsbeheerders op basis van de momenteel beschikbare informatie over hormoonverstorende stoffen en de bekende emissiebronnen deze risicolocaties in regionaal oppervlaktewater verder inventariseren. Hierdoor wordt een beter inzicht verkregen in de mate van optreden van hormoonontregeling in regionale wateren in Nederland.
- De veldstudie bevestigt het beeld dat niet elke vissoort even gevoelig is voor oestrogene effecten. Van de drie in beschouwing genomen vissoorten lijken de brasem en mogelijk de blankvoorn gevoelig. De karper lijkt minder gevoelig maar ook voor deze soort konden effecten bij in wild levende individuen worden aangetoond. Er is op dit moment nog geen enkele zoetwater vissoort gemeten waarbij geen effecten kunnen worden aangetoond. Verder onderzoek naar populatie-effecten is gewenst, zo ook bij andere, mogelijk gevoeliger vissoorten of andere waterorganismen.

5 Referenties

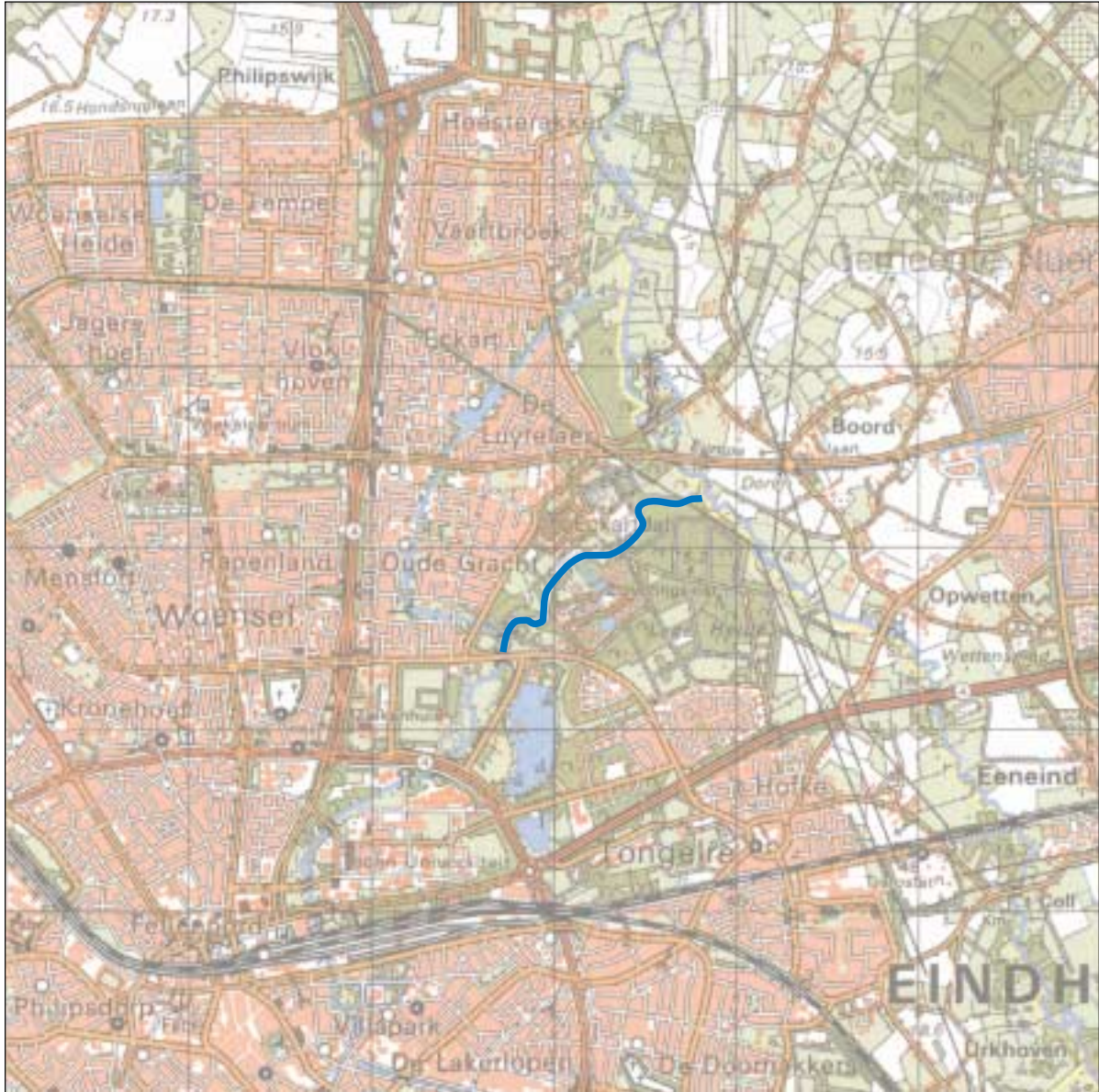
- AquaSense (2001). Vitellogenine analyses in brasems en karpers uit regionale wateren. AquaSense-rapport 2001.0409-11, Amsterdam 2001.
- ENDS (2002). Regulating oestrogens: effluent controls on the horizon. ENDS Report 327, April 2002, 24-28.
- Jobling S, M Nolan, CR Tyler, G Brightly en JP Sumpter (1998). Widespread sexual disruption in wild fish. *Environ. Sci. Technol.* 32: 2498-2506.
- Klein Breteler JGP en JCA Merkx (2001). Inventarisatie oestrogene effecten in regionale wateren. Bemonstering van volwassen brasems en karpers, najaar 2000. OVB-onderzoeksrapport OND00120, Nieuwegein 2001.
- Klein Breteler JGP en GAJ de Laak (2003). Lengte-gewicht relaties Nederlandse vissoorten. Deelrapport 1, versie 2. OVB-onderzoeksrapport OND00074, Nieuwegein 2003.
- Klinge M (1999). Monitoring van de visstand in de Friese boezem en in de wateren voor karperachtigen in 1998. Witteveen+Bos.
- Pickering AD (2002). Community Programme of Research on Environmental Hormones and Endocrine Disruptors (COMPREHEND). Final Report Jan-2002.
- Ricker E (1973). Linear regressions in fisheries research. *J. Fish. Res. Board Can.* 30,409-434.
- Sloof W, CF van Kreijl en AJ Baars (1983). Relative liver weights and xenobiotic-metabolizing enzymes of fish from polluted surface waters in the Netherlands. *Aquatic Toxicology*, 4, 1-14.
- Sloof en Klootwijk-Van Dijk (1982). Hermafroditisme in the bream, *Abramis abrama* (L.). *Journal of Fish Diseases*, 5, 79-81.
- Vethaak AD, GBJ Rijs, SM Schrap, H Ruiters, AAM 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, Lelystad/Den Haag, 2002
- Winter HV en D Sluis (2000). Community Programme of Research on Environmental Hormones and Endocrine Disruptors (COMPREHEND): task 7: Screening long-term bream data in surface water, the Netherlands. Rapport nr. C051/00 Nederlands Instituut voor Visserij Onderzoek (RIVO, IJmuiden).

Bijlagen

Overzicht bemonsteringslocaties:

- 1 de Dommel
- 2 de Vecht
- 3 de Aa
- 4 de Eem
- 5 het Valleikanaal
- 6 de Bornebeek
- 7 de Ringvaart Haarlemmermeer
- 8 de Linge
- 9 het Naardermeer
- 10 de Weerribben

Bijlage 1 Dommel



Bijlage 2 Vecht



Bijlage 3 Aa



Bijlage 4 Eem



Bijlage 5 Valleikanaal



Bijlage 6 Bornsche Beek



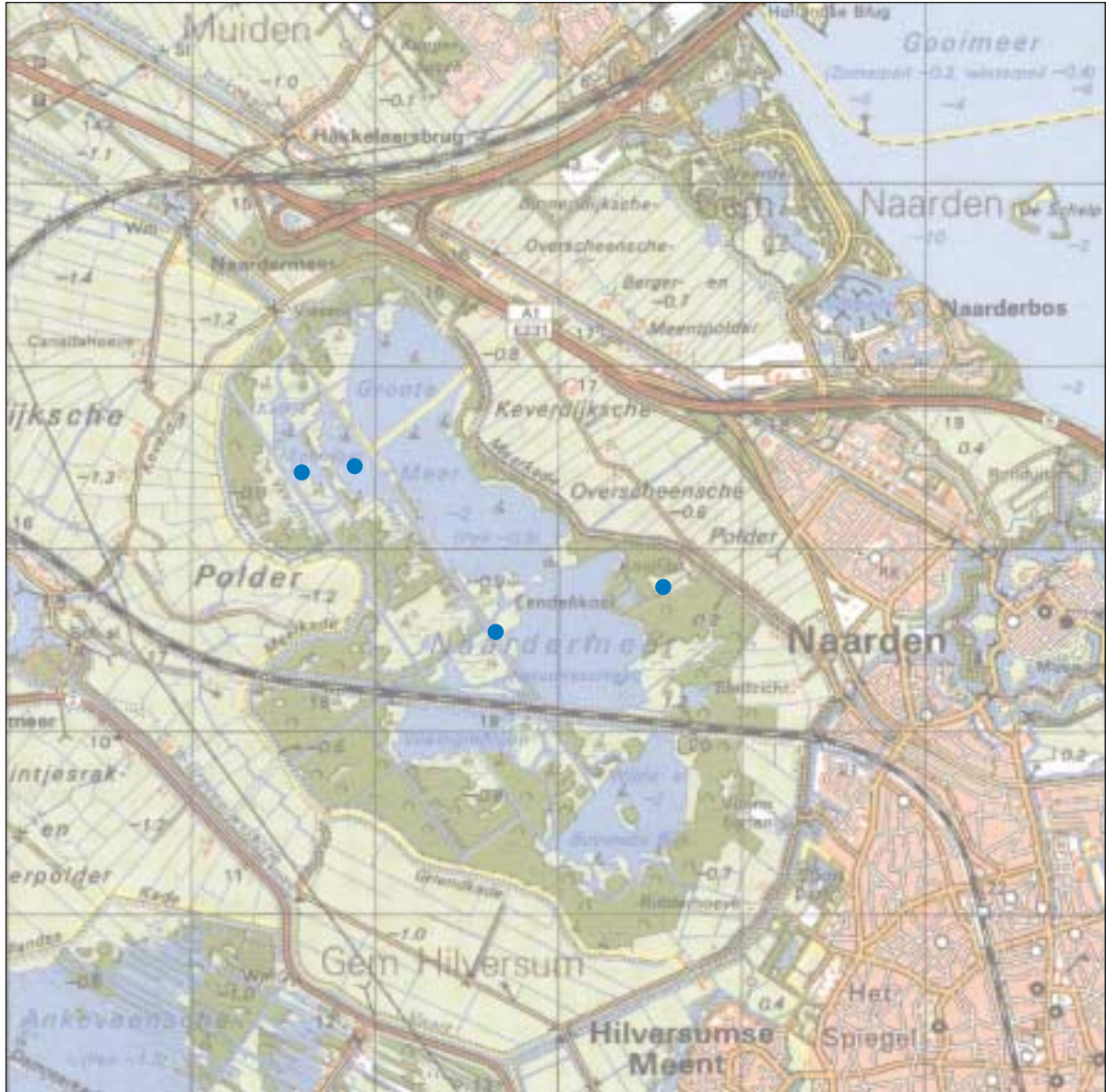
Bijlage 7 Ringvaart Haarlemmermeer



Bijlage 8 Linge



Bijlage 9 Naardermeer



Bijlage 10 Weerribben

