

PIMM-Biota 2002/2003 Analyses in het kader van het Provinciaal Integraal Meetnet  
Milieukwaliteit (PIMM), Provincie Zuid-Holland

Dit onderzoek is uitgevoerd in opdracht van de provincie Zuid-Holland

**PIMM-Biota 2002/2003 Analyses in het kader van het  
Provinciaal Integraal Meetnet Milieukwaliteit (PIMM),  
Provincie Zuid-Holland**

**Deelrapport 2: Organochloorbestrijdingsmiddelen in mollen en wormen en  
mogelijke risico's**

**N.W. van den Brink  
J.J.C. van der Pol**

**Alterra-rapport 855.2**

**Alterra, Wageningen, 2004**

## REFERAAT

Brink, N.W. van den, J.J.C van der Pol 2004. *PIMM-Biota 2002/2003 Analyses in het kader van het Provinciaal Integraal Meetnet Milieukwaliteit (PIMM), Provincie Zuid-Holland; Deelrapport 2: Organochloorbestrijdingsmiddelen in mollen en wormen en mogelijke risico's*. Wageningen, Alterra, Alterra-rapport 855.2. 75 blz. 7 fig.; 16 tab.; .22 ref.

In het kader van het Provinciaal Integraal Meetnet Milieukwaliteit (PIMM) van de Provincie Zuid-Holland is een studie uitgevoerd waarin OCBs in wormen zijn geanalyseerd. Tevens is een risicoanalyse van andere contaminanten (dioxine-achtige stoffen, estrogene stoffen en bestrijdingsmiddelen) in mollen uitgevoerd. Doelstellingen van het onderzoek waren om (a) trends in concentraties van OCBs te bepalen (b) een risicoanalyse voor wormen en voor risico's van doorvergiftiging naar hogere organismen uit te voeren en (c) het screenen van blootstelling van mollen aan andere contaminanten en de daaraan verbonden risico's. De gehalten van p,p'-DDE in wormen zijn hoger op natuurlocaties dan op agrarische locaties. Andere OCBs geven dit beeld niet. Overschrijding van referentiegetallen wordt in geval van wormen niet waargenomen. In mollen is overschrijding van de referentiedata voor een aantal stoffen aantoonbaar gebleken, met name p,p'-DDE, Som DDT, dieldrin en cis-HCE. Er worden geen directe effecten van de OCBs op de groei van wormen gevonden, en ook geen potentiële risico's op doorvergiftiging naar hogere organismen berekend (OMEGA). Op één van de onderzochte locaties is bij de mol blootstelling aan dioxine-achtige stoffen aannemelijk gemaakt met behulp van biomarkers en bioassays (potentieel risico), actuele risico's zijn niet aangetoond. Dioxine-achtige stoffen vormen mogelijk een potentieel risico voor mollen.

Trefwoorden: OCB, dioxine-achtige stoffen, estrogene stoffen, bestrijdingsmiddelen, regenwormen, mollen, risicoanalyse, bodem, PIMM, monitoren.

ISSN 1566-7197

Dit rapport kunt u bestellen door €18,- over te maken op banknummer 36 70 54 612 ten name van Alterra, Wageningen, onder vermelding van Alterra-rapport 855.2. Dit bedrag is inclusief BTW en verzendkosten.

© 2004 Alterra

Postbus 47; 6700 AA Wageningen; Nederland

Tel.: (0317) 474700; fax: (0317) 419000; e-mail: [info@alterra.nl](mailto:info@alterra.nl)

Niets uit deze uitgave mag worden veelevoudigd en/of openbaar gemaakt door middel van druk, fotokopie, microfilm of op welke andere wijze ook zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Alterra.

Alterra aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

# Inhoud

Woord vooraf	7
Samenvatting	9
1 Inleiding	13
2 Materiaal en methoden	15
2.1 Monstername	15
2.1.1 Locaties wormen	15
2.1.2 Wormen	15
2.1.3 Locaties mollen	16
2.1.4 Mollen	16
2.1.5 Locaties grond (voor bioassay wormen)	17
2.1.6 Monstername grond	17
2.1.7 Bioassay regenwormen	17
2.2 Chemische analyses	17
2.2.1 Organochloorbestrijdingsmiddelen (OCBs)	17
2.2.1.1 Vergelijk tussen IVM en Alterra	18
2.3 Biomarkers en bioassays	18
2.3.1 Dr-calux <sup>®</sup>	19
2.3.2 Er-calux <sup>®</sup>	20
2.3.3 Ethoxyresorufine-O-dealkylase (EROD) activiteit in levers	20
2.3.4 Aromatase activiteit in hersenen	21
2.3.5 Acetylcholineesterase remming	21
2.3.6 Steroidhormonen	21
2.4 Statistische analyses	22
3 Resultaten	23
3.1 Wormen	23
3.1.1 OCB concentraties	23
3.1.2 Soortverschillen in OCB concentraties	23
3.1.3 Ruimtelijke variabiliteit	24
3.1.4 Tijdreeks analyse OCBs in wormen	25
3.1.5 Bioassay(groeioproef regenwormen)	27
3.1.5.1 Groei	27
3.1.5.2 Mortaliteit	28
3.2 Mollen	29
3.2.1 OCB-concentraties	30
3.2.2 Biomarkers en bioassays	31
4 Discussie	33
4.1 Wormen	33
4.1.1 OCB concentraties	33

4.1.2 Modelering van doorvergiftiging met behulp van het model OMEGA123 (versie 4)	34
4.1.2.1 Toetsing aan norm	34
4.1.2.2 Toetsing aan Potentieel Aangetaste Fractie (PAF)	35
4.1.2.3 Resultaten OMEGA berekeningen	35
4.1.3 Regenworm bioassay	37
4.2 Mollen	38
4.2.1 OCB concentraties	38
4.2.2 Temporele veranderingen OCB concentraties	40
4.2.3 Biomarkers en bioassays	40
5 Conclusies	43
6 Aanbevelingen	45
Literatuur	47
Afkortingen	49
<b><i>Aanhangsels</i></b>	
A Gegevens met betrekking tot de monsterlocaties regenwormen	51
B. Concentraties OCBs in wormen (ng/g vet); <: concentraties lager Detectielimiet	57
C Detectielimieten (range) voor de verschillende stoffen	65
D Individuele gewichten (mg) wormen in bioassay: AW04N	67
E Individuele gewichten (mg) wormen in bioassay: KW15W	69
F Concentraties van de verschillende OCBs in levers van mollen	71
G Literatuur gegevens waarop de normering van Wegener et al. 1999, en van de huidige studie op is gebaseerd	73
H Foto's van de percelen in het Drechtse Stedengebied waar mollen zijn Gevangen	75

## Woord vooraf

In de Provincie Zuid-Holland worden, in het kader van het Provinciaal Integraal Meetnet Milieukwaliteit (PIMM), metingen en analyses uitgevoerd waarmee de staat van het milieu kan worden vastgesteld en gevolgd in de tijd. Onderdeel hiervan zijn metingen van verontreinigingen in bodem en fauna. In het voorliggend rapport worden analyses van organochloorbestrijdingsmiddelen (OCBs) in wormen en mollen gerapporteerd. Tevens zijn enkele biochemische bepalingen uitgevoerd.

Bij dit project zijn verschillende instanties en personen betrokken geweest. De volgende personen hebben bijgedragen bij de totstandkoming van dit rapport: de heer Jacobs als mollenvanger, Steven Crum<sup>1</sup>, Laura Buijsche<sup>1</sup>, René Aalderink<sup>1</sup>, Marleen Lee<sup>1</sup>, Jos Bodt<sup>1</sup>, Annemariet van der Hout<sup>1</sup>, Bart Bosveld<sup>1</sup> en Bert van Hattem<sup>2</sup>.

Katja Bojanova, Johan van Zalinge en Ron Mes zijn als begeleiders vanuit de Provincie Zuid-Holland betrokken geweest.

Woord van dank gaat uit naar de locatieeigenaren voor de toestemming en samenwerking.

1: Alterra, Wageningen UR.

2: Instituut voor Milieuvraagstukken (VU)





## Samenvatting

Om de status van de milieukwaliteit vast te stellen en om vroegtijdig en betrouwbaar veranderingen in de gehalten van prioritaire stoffen in het milieu en eventueel daaraan geassocieerde effecten in indicator soorten vast te stellen is door de Provincie Zuid-Holland het Provinciaal Integraal Meetnet Milieukwaliteit (PIMM) opgezet. Dit meetnet voorziet in een meerjarige monitoring van de kwaliteit van het milieu (bodem, water, lucht en biota) in de Provincie Zuid-Holland. Doel van het voorliggend onderzoek is om, op basis van concentraties in wormen, trends in concentraties van zogenaamde organochloorbestrijdingsmiddelen (OCBs) te analyseren. Daarnaast zullen risico's beschouwd worden die OCBs voor wormen met zich meebrengen, en wat de risico's op doorvergiftiging naar hogere organismen zijn. Voor wat betreft de hogere organismen zal op basis van OCB concentraties in mollen, een nadere risicoanalyse uitgevoerd worden. Tevens zal in mollen een screening uitgevoerd worden naar risico's van andere groepen van contaminanten, zoals dioxine-achtige stoffen, estrogene stoffen en bepaalde pesticiden.

Het voorliggend rapport besteedt zoals aangegeven aandacht aan OCBs. Door de Provincie Zuid-Holland is een aantal locaties aangewezen voor dit onderzoek, waarop in voorgaande jaren vergelijkbaar onderzoek is uitgevoerd. In het huidige onderzoek komen verschillende aspecten van PIMM aan bod. Allereerst is er de reguliere monitoring van de OCB-concentraties in regenwormen. Op basis van deze gegevens is vervolgens een modelmatige risicoanalyse worden uitgevoerd om potentiële accumulatie risico's te kunnen beschouwen. Aanvullend is een groeiproef uitgevoerd met *Lumbricus rubellus*, om potentiële effecten van verontreinigingen op de populatiedynamiek van wormen te kunnen beschouwen.

Voor wat betreft hogere organismen is voor mollen, op basis van chemische metingen, biomarkers en bioassays, een eerste screening uitgevoerd waarin de risico's die deze organismen kunnen ondervinden van blootstelling aan verontreinigingen kunnen worden beschouwd.

### **Wormen**

In het huidige onderzoek zijn twee verschillende soorten wormen beschouwd: *Lumbricus rubellus* en *Allolobophora caliginosa*, respectievelijk een oppervlakkige soort en een dieper gravende worm. Van de geanalyseerde OCBs werden alleen *p,p'*-DDE, *p,p'*-DDT, *p,p'*-DDD, dieldrin, cis-heptachloorepoxide, pentachloorbenzeen en hexachloorbenzeen in belangrijke mate boven de detectielimieten aangetoond. De concentraties OCBs in de laatste soort waren over het algemeen wat hoger. Wanneer gekeken naar het landgebruik op de locaties, natuurgebied of landbouw, was er over het algemeen geen variatie in OCB-concentraties. Alleen de concentraties *p,p'*-DDE waren significant hoger op natuurlocaties. De concentraties in de huidige studie waren over het algemeen vergelijkbaar met hetgeen in 1998 gevonden was, alleen *p,p'*-DDE in natuurgebieden was significant toegenomen (factor 1,9).

Op basis van concentraties gevonden in de literatuur, een exercitie met het programma OMEGA123 (versie 4), en doorvertaling van bioassay gegevens aangaande mortaliteit en individuele groei, is een schatting te maken van de risico's

die de OCBs met zich meebrengen voor wormen in de Krimpenerwaard. Bij geen van de gevolgte sporen in de hierboven beschreven risico analyse zijn onacceptabele risico's aantoonbaar gebleken (tabel I).

Tabel I. Geometrische gemiddelde OCB-concentraties in verschillende soorten wormen, op verschillende type locaties. Weergegeven is de resultante van de risicoanalyse gebaseerd op referentiewaarden uit de literatuur, en op basis van toepassing van OMEGA123 (☺: risico' niet aannemelijk)

Functie	Soort	p,p'-DDE	dieldrin	p,p'-DDD	p,p'-DDT	QCB	HCB	cis-HCE
Agrarisch	<i>A. Caliginosa</i>	0.09	0.33	0.04	0.06	0.02	0.03	0.05
	<i>L. rubellus</i>	0.08	0.19	0.04	0.04	0.02	0.01	0.04
Natuur	<i>A. Caliginosa</i>	0.11	0.31	0.03	0.05	0.02	0.03	0.05
	<i>L. rubellus</i>	0.134	0.22	0.02	0.03	0.01	0.02	0.04
Toetsing								
Referentiewaarden literatuur		☺	☺	☺	☺	☺	☺	☺
OMEGA 123		☺	☺	☺	☺	☺	☺	☺

### Mollen

In mollen (*Talpe europea*) zijn naast OCB analyses ook biochemische analyses uitgevoerd. Tabel II geeft een overzicht, en te zien valt dat naast OCBs hiermee ook andere stofgroepen, als dioxine-achtige stoffen, estrogene stoffen en pesticiden beschouwd kunnen worden. Op verschillende locaties zijn levende mollen gevangen, en zijn de OCB concentraties vastgesteld en de biomarkers responsies gemeten.

Tabel II: Overzicht van gebruikte biomarkers en bioassays

Biomarker/bioassay	Orgaan	Stof	Toelichting
dr-calux®	Lever	dioxine-achtige stoffen	Potentieel risico van voorkomen stoffen in lever
er-calux®	Lever	estrogene stoffen	Potentieel risico van voorkomen stoffen in lever
EROD	Lever	dioxine-achtige stoffen	Actueel risico van voorkomen stoffen
Aromatase activiteit (CYP19)	Hersenen	dioxine-achtige stoffen	Verstoorde verhouding mannelijk en vrouwelijk geslachtshormonen
acetylcholineesterase remming (AChE)	Hersenen	pesticiden uit de groep van de fosfor-esters	Gecontinueerde prikkeloverdracht in zenuwen: → spierverkrampingen

Wanneer wordt gekeken naar de OCB concentraties in de mollen (tabel III), dan lijkt het erop dat in geval van p,p'-DDE, dieldrin en cis-heptachloorepoxide (cis-HCE) de situatie een aandachtspunt is. Deze analyse is afgeleid van concentraties in zoogdieren zoals deze zijn gevonden in de literatuur. Dit lijkt in tegenstelling tot de uitkomst van de OMEGA analyse die hiervoor beschreven is. Echter, die analyse is gebaseerd op toxiciteitgegevens, en niet op blootstellinggegevens. De OMEGA analyse laat zien dat er theoretisch geen risico's op effecten zijn, echter de chemische metingen in de mollen laten wel daadwerkelijk verhoogde blootstelling zien van met name p,p'-DDE, dieldrin en cis-heptachloorepoxide.

De biomarkers laten alleen een respons zien in de dr-calux® analyses in de mollen van de locatie DR09. Er is geen respons in de bioassays die gerelateerd kunnen worden aan estrogene stoffen, aan fosfor-ester pesticiden of aan de hormoonspiegels. De respons in de dr-calux® impliceert dat op de locatie DR09 dioxine-achtige stoffen door de mollen zijn opgenomen. In de EROD analyse, die effecten van dit soort stoffen in de lever van doelorganismen duidt, is echter geen reactie zichtbaar. Dit betekent dat dioxine-achtige stoffen opgenomen worden door hogere organismen, zoals mollen, in de Krimpenerwaard, maar dat dit nog niet tot effecten leidt. Er zijn

dus potentiële risico's, maar nog geen actuele risico's. Verdere monitoring is echter sterk aanbevelenswaardig.

Tabel III. Concentraties van verschillende OCBs in levers van mollen, en een toetsing volgens IMB. Normering: ☺: concentraties acceptabel, ☺/☹: concentraties mogelijk aandachtspunt, ☹: concentraties aandachtspunt

Mol (locatie)	p,p'-DDE	Som DDT	dieldrin	cis-HCE	QCB	HCB
1 (DR16)	8,8	14,9	83,7	12,0	0,2	0,2
2 (DR09)	8,9	13,2	133,9	31,0	0,1	0,1
3 (DR09)	16,5	27,5	61,5	18,7	0,2	0,2
4 (DR09)	2,0	4,1	93,4	18,5	0,1	0,1
5 (DR16)	4,2	11,7	59,8	13,3	0,1	0,1
6 (Controle)	4,4	11,4	113,8	84,5	0,1	0,1
<b>Integrale Normbeoordeling</b>	☺/☹	☺	☹	☹	☺	☺

### Conclusies

#### • Trendanalyse

- De in 2002 gemeten concentraties *p,p'*-DDE in **wormen** van natuur locaties zijn hoger dan de concentraties op agrarische concentraties. Op de natuur locaties zijn de concentraties in 2002 ook hoger dan in 1998. Voor de andere bestrijdingsmiddelen is geen temporele en ruimtelijke variabiliteit, gerelateerd aan landgebruik, aantoonbaar gebleken. Er worden geen overschrijding van concentraties OCBs gevonden wanneer, volgens de IMB, getoetst met referentiegetallen gebaseerd op wormen uit uiterwaarden.
- In de **mollen** zijn voor verschillende OCBs overschrijding van referentiedata aantoonbaar. Met name *p,p'*-DDE, dieldrin, en cis-heptachloorepoxide zijn aandachtspunten. De concentraties vertonen in het algemeen een neergaande beweging, met name voor *p,p'*-DDE, *p,p'*-DDT, *p,p'*-DDD en cis-heptachloorepoxide, echter minder waarschijnlijk voor dieldrin.

#### • Risicoanalyse

- Uit de regenworm bioassay uitgevoerd in grond met verschillende graad van verontreiniging komt geen relatie tussen de populatiegroeisnelheid en verontreiniging naar voren. Er worden geen effecten van verontreinigingen op het voorkomen van wormen in de Krimpenerwaard verwacht.
- Een modelmatige rekensessie laat zien dat er geen potentiële risico's op doorvergiftiging van OCBs van regenworm naar hogere organismen te verwachten zijn. De interne wormenconcentraties zijn in die sessie geassocieerd met een Verwaarloosbaar Risico.
- Met behulp van biomarkers en bioassays bij mollen is verhoogde blootstelling aan dioxine-achtige stoffen aannemelijk gemaakt op locatie DR09, en zijn potentiële risico's aantoonbaar gebleken van deze stoffen. Actuele risico's, als inductie van leverenzymen, zijn niet aantoonbaar gebleken. Voor wat betreft biomarkers gerelateerd aan andere stofgroepen of werkingsmechanismen zijn geen risico's gevonden.
- **Verkenning naar andere probleemstoffen**
- Dioxine-achtige stoffen vormen een potentieel risico voor mollen.



# 1 Inleiding

Om de status van de milieukwaliteit vast te stellen en om vroegtijdig en betrouwbaar veranderingen in de gehalten van prioritair stoffen in het milieu en eventueel daaraan geassocieerde effecten in indicator soorten vast te stellen is door de Provincie Zuid-Holland het Provinciaal Integraal Meetnet Milieukwaliteit (PIMM) opgezet. Dit meetnet voorziet in een meerjarige monitoring van de kwaliteit van het milieu (bodem, water, lucht en biota) in de Provincie Zuid-Holland. Door de milieukwaliteit te monitoren kunnen veranderingen gesignaleerd worden. Mede op basis van deze kennis kan provinciaal beleid ontwikkeld worden.

Het onderzoek biota 2002/2003 is breed opgezet. Het richt zich in eerste instantie, volgens de traditie van PIMM, op **trendanalyse** van verontreinigingen op vaste locaties:

- zware metalen in gras uit een referentieweidegebied - de Krimpenerwaard (deelrapport1)
- organochloorbestrijdingsmiddelen (OCBs) in regenwormen en levers van mollen uit een referentieweidegebied - de Krimpenerwaard (deelrapport2)

Daarnaast wordt het beoordelen van eventuele effecten op organismen, als gevolg van de aanwezige milieuverontreinigingen, steeds belangrijker in het PIMM beschouwd. In deze studie wordt veel aandacht besteed aan **risicoanalyse** aan de hand van:

- modellering (model GGRASS) van de risico's van de waargenomen concentraties zware metalen in gras voor grote grazers als runderen en schapen (deelrapport1);
- bioassays met regenwormen blootgesteld aan grond uit locaties met verschillende graad van verontreiniging; meten van sterfte, groei en reproductie als input voor het model PODYRAS, waarmee de effecten op populatieniveau worden vertaald;
- biomarker analyses met mollen uit vier "extreme" locaties (met in het verleden gemeten extreem hoge gehalten van OCBs in levers van mollen) en één controlelocatie – effectonderzoek in eerste instantie naar morfometrische (lever, nier, hersenen, gonaden) en biochemische status (EROD, AchE, aromatische, geslachtshormonen) van de gevangen dieren; indien de resultaten hiervan verontrustend gevonden worden, zal een histologisch onderzoek (nier, lever, gonaden) plaatsvinden;
- modellering (model OMEGA123) van risico's van doorvergiftiging van zware metalen en OCBs in regenwormen naar organismen die op wormen foerageren;

Het derde accent van het onderzoek ligt op **verkenning** naar:

- andere mogelijke verontreinigingen (met bijzondere aandacht voor hormoonverstorende stoffen) die meewerken aan de mogelijk geconstateerde negatieve effecten; Dat zal getrapd benaderd worden: indien uit de biomarker analyse met mollen blijkt dat er potentiële risico's op effecten zijn, kan vervolgens onderzocht worden of (groepen van) stoffen die hiervoor

verantwoordelijk kunnen zijn, ook daadwerkelijk voorkomen in de extracten van de mollen in bioassays.

- screening naar andere hoog verontreinigde locaties in Zuid-Holland - indien mogelijk op basis van beschikbaarheid van dieren vangst van mollen van ca. 20 locaties en analyses van parameters geselecteerd op basis van resultaten van de biomarkersanalyse;
- screening naar effecten van milieuverontreinigingen op andere hogere fauna soorten;

Het voorliggend deelrapport 2 besteedt aandacht aan zogenaamde organochloorbestrijdingsmiddelen (OCBs), die naar verwachting nog steeds een probleem kunnen vormen door hun zeer persistente karakter en mogelijk illegaal gebruik. In weidegebieden staan wormen aan de basis van bepaalde belangrijke voedselketens, bijvoorbeeld van mollen, spitsmuizen en de grutto. Verontreinigingen, waaronder OCBs kunnen door wormen opgenomen worden uit de bodem, en vervolgens doorgegeven worden aan organismen die op wormen foerageren. Door periodiek de concentraties van OCBs in wormen op vaste locaties te meten kan een beeld gevormd worden over het verloop in de tijd van OCB-concentraties, en het risico dat OCBs in de regenwormen vormen voor organismen die op wormen foerageren.

De boven omschreven onderzoeksopzet is ten dele niet uitvoerbaar gebleken. Dat betreft met name de bioassay en biomarker analyse met mollen, dat zeer beperkt is gebleven door de moeilijke vangst van levende dieren. In plaats van de geplande 15 mollen uit 5 locatie's zijn er met grote moeite 6 mollen uit 3 locatie's gevangen en geanalyseerd. Aangezien er praktische belemmeringen waren, maar ook door het feit dat met de beperkte opzet geen daadwerkelijk optredende effecten van verontreinigingen op mollen gevonden zijn, is niet verder doorgegaan met de screening naar andere hoog verontreinigde locaties en effecten op andere hogere fauna soorten.

## 2 Materiaal en methoden

### 2.1 Monstername

#### 2.1.1 Locaties wormen

Van 21-10-2002 tot en met 12-11-2002 zijn op 40 locaties wormen verzameld. De locaties zijn in twee groepen te verdelen. De eerste groep bestaat uit weilanden met een natuurbestemming, deze zijn in september ook bezocht in het kader van dit project om grasmonsters te nemen. De andere weilanden hebben een agrarische bestemming. In onderstaande tabel worden de gebruikte coderingen en door de Provincie Zuid-Holland opgegeven coördinaten weergegeven (Tabel 1). Meer gegevens met betrekking tot de locaties en de coördinaten van alle monsternamepunten zijn weergegeven in aanhangsel A.

*Tabel 1. Monsterlocaties wormen. LOC\_ID is een unieke monsterlocatie-code gebruikt door PZH; VOORLOPIG\_LOC\_ID is een werkcode van een (meng)monster uit een bepaalde locatie, gebruikt door Alterra*

Locaties met natuurbestemming				Locaties met agrarische bestemming			
VOORLOPIG _LOC_ID	LOC.ID	X coord	Y coord	VOORLOPIG _LOC_ID	LOC.ID	X coord	Y coord
N01	KW03N	105788	437550	A01	Z23	103201	437453
N02	Z01	106090	439400	A02	Z24	103403	437406
N03	Z02	106160	439410	A03	Z28	105335	441877
N05	KW06N	106860	443110	A04	Z27	105340	441930
N06	Z09	108650	444180	A05	Z22	108849	445504
N07	Z05	108680	445580	A06	Z36	109160	438607
N08	Z07	108890	445310	A08	Z35	109420	438730
N09	Z10	108920	443890	A07	Z29	109408	440576
N10	Z08	109230	445060	A10	Z30	109521	440042
N11	KW50N	109670	436670	A09	KW06W-A	109488	443239
N12	Z18	109670	436780	A11	KW06W-B	109549	442910
N13	Z17	109800	437200	A14	KW05W-A	111210	441520
N14	Z15	110880	437570	A12	KW05W-B	111130	441350
N15	Z16	110930	437550	A13	Z32	111200	442350
N16	Z14	112600	439650	A15	Z31	111430	442155
N17	Z13	112700	439670	A21	Z37	116447	441477
N18	KW17N	112940	439550	A16	Z33	114241	442290
N19	Z11	116790	441370	A17	Z34	114270	442300
N20	Z12	116800	441790	A18	Z25	114490	438860
N21	KW21N	117000	442000	A20	KW02W	116390	441120

#### 2.1.2 Wormen

Per locatie zijn op 3 plaatsen (submonsters) wormen verzameld door één of meer graszoden te plaggen (oppervlakte 40\*40 cm, 20 cm diep, cf. Bosveld et al. 2000), en

hieruit met de hand de aanwezige wormen te verzamelen. Een eerste selectie op soort (*Lumbricus rubellus* en *Allolobophora caliginosa*) en levensstadium (alleen adulte wormen) is in het veld gemaakt en verzameld in glazen potten. Eventueel aanwezige andere soorten zijn niet verzameld. De aldus verkregen wormen zijn in het lab op soort en levensstadium gedetermineerd, en verder opgewerkt voor analyse van OCB.

### 2.1.3 Locaties mollen

In de periode van 1-10-2002 tot en met 22-10-2002 zijn vijf locaties bezocht voor het vangen van mollen (vier “extreme” locaties met in het verleden gemeten extreem hoge gehalten van OCBs in levers van mollen en één referentielocatie). In onderstaande tabel zijn de door de Provincie Zuid-Holland verstrekte coördinaten weergegeven. Op de locaties KW01N, WL11 en de referentielocatie (AW04N) bleek het niet mogelijk mollen levend te vangen. Als referentie is, in overleg met de Provincie, een mol gevangen in een weiland nabij Sleeuwijk (Gelderland).

Verdere gegevens met betrekking tot de locaties zijn opgenomen in appendix A.

Tabel 2. Voorgestelde monsterlocaties mollen

LOC.ID	VOORLOPIG_L OC_ID	X coord	Y coord
DR16	E03	108880	418350
DR09	E02	101430	423350
KW01N	E01	106740	437840
WL11	E05	77580	446350
AW04N	Ref	126840	435750

### 2.1.4 Mollen

Mollen zijn levend gevangen in het veld. Het levend vangen van de mollen was noodzakelijk om het mogelijk te maken bepaalde biochemische analyses in de lever uit te voeren (zie § 2.3). In het veld is op zicht vastgesteld of mollen in een perceel actief waren (verse molshopen). De mollen zijn met behulp van een spade levend uit de grond ‘geschept’. Dit is een subtiele activiteit waarbij op gehoor en zicht een mol wordt gelokaliseerd, waarna met een vloeiende beweging de mol met behulp van een spade uit de grond wordt geschept. Direct daarna is de mol in een emmer gezet. Na vangst zijn de mollen zo snel mogelijk, nog dezelfde dag, naar Alterra in Wageningen vervoerd, en is de volgende dag sectie op de mollen gepleegd. De mollen zijn onder verdoving gebracht met behulp van ether, waarna door middel van een hartpunctie de dieren zijn verbloed. Direct hierop volgend is de lever uit het dier vrijgemaakt en in vloeibare stikstof bewaard voor verdere biochemische analyses. Vervolgens zijn de hersenen vrij geprepareerd en ook bewaard in vloeibare stikstof. Na directe invriezing in vloeibare stikstof zijn de monsters van lever en hersenen bewaard bij -80°C. Voor OCB analyse is orgaanvet tussen de darmen verzameld en bewaard bij -20°C.



### 2.1.5 Locaties grond (voor bioassay wormen)

Op drie locaties (twee verontreinigde locaties en één referentielocatie) is grond verzameld voor een bioassay met wormen. In onderstaande tabel 3 zijn de doelcoördinaten van de Provincie Zuid-Holland weergegeven, met illustratie gegevens over zware metalen (Tummers, 1998). Bijzonderheden met betrekking tot deze locaties zijn weergegeven in aanhangsel A.

Tabel 3. Monsterlocaties grond voor bioassay wormen en van een eerder studie bekende gestandaardiseerde concentraties van verontreinigingen in grond van deze locaties (mg/kg ds)

VOORLOPI G_LOC_ID	LOC.ID	X coord	Y coord	koper	cadmium	lood	zink	kwik	PAK10
<b>Ref</b>	AW04N	126840	435750	21	0,2	17	63	0,2	0,1
	KW01N	106740	437840	55	2	124	388	1,3	1,3
	KW15W	110850	442200	79	0,6	71	223	0,2	0,5
Streefwaarde bodem				36	0,8	85	140	0,3	1

### 2.1.6 Monstername grond

Van elke locaties is ongeveer 15 kg veldvochtige grond verzameld van 5 verschillende sub-locaties. Daartoe werd in een weiland de bovenste 5 cm (met het gras en de meeste wortels) van een 20 cm dikke plag afgestoken. De overige 15 cm grond is in plastic zakken gedaan en naar Alterra getransporteerd voor verdere verwerking.

### 2.1.7 Bioassay regenwormen

Grond van de drie locaties ( zie §2.1.5 en 2.1.6), is in glazen potten (½ liter, 6 potten per locatie) geïncubeerd met ieder 6 juveniele wormen (*L. rubellus*) bij 15°C en continu licht. Bij de start van het experiment (t=0), en daarna elke vier weken (gedurende 28 weken), zijn sterfte en gewicht van de wormen genoteerd. Gedurende het experiment is elzenblad naar behoefte toegediend als voedsel voor de wormen. Deze gegevens zijn de belangrijkste input-parameters voor berekening van de populatiedynamiek van regenwormen volgens Klok (1997).

## 2.2 Chemische analyses

### 2.2.1 Organochloorbestrijdingsmiddelen (OCBs)

#### *Opwerking van de levers van de molen regenwormen voor analyse van OCBs (Alterra)*

Een deel van de levers van de mol is bij –20°C bewaard tot opwerking. Wormen zijn per soort gepoold per locatie en bewaard bij –20°C tot opwerking.

Levers en wormen zijn gedroogd met natriumsulfaat, en vervolgens met hexaan geëxtraheerd in een soxhletopstelling (8 uur). Nadat de monsters in hexaan zijn

opgenomen heeft er een vetscheiding plaatsgevonden m.b.v. kolomchromatografie met aluminiumoxide. Na de vetscheiding zijn de monsters ingedampt aan lucht.

### ***Analyse van OCBs***

Een deel van de opgewerkte extracten is door middel van capillaire gaschromatografie gekoppeld aan een massa-spectrometer geanalyseerd op OCBs. Het vetgehalte in de monsters is gravimetrisch bepaald. Alle OCB-concentraties worden hier gerapporteerd op basis van dit vetgehalte.

#### **2.2.1.1 Vergelijk tussen IVM en Alterra**

Om een vergelijk te kunnen maken tussen monsters die eerder zijn geanalyseerd door het IVM, in het kader van PIMM, en de analyses van de huidige studie, uitgevoerd door Alterra is een aantal monsters zowel op Alterra als op het IVM geanalyseerd. Hiertoe zijn extracten van 5 wormen monsters, opgewerkt bij Alterra, en vervolgens zowel op het IVM als op Alterra geanalyseerd. De methodes gebruikt op het IVM zijn vergelijkbaar met eerdere studies in het kader van PIMM (Wegener et al., 1999).

### **2.3 Biomarkers en bioassays**

In de levers van de mollen is een aantal zogenaamde biomarkers en bioassays geanalyseerd: dr-calux<sup>®</sup>, er-calux<sup>®</sup>, beide in extracten van de lever, ethoxyresorufine (EROD) activiteit in de lever, aromatase activiteit en acetylcholineesterase (AChE) remming in hersenen (tabel 4). De dr-calux<sup>®</sup> reageert op de aanwezigheid van dioxine-achtige stoffen, zoals dioxines, furanen, en bepaalde PCB congenere, en deze marker geeft een beeld van het voorkomen van dit soort stoffen in de lever van de mollen. De er-calux<sup>®</sup> reageert op de aanwezigheid van estrogene stoffen in de lever. Zowel de dr-calux<sup>®</sup> als de er-calux<sup>®</sup> duiden daarmee potentiële risico's.

EROD activiteit is gerelateerd met een enzymactiviteit in de levers van de mollen, die geïnduceerd wordt door blootstelling aan dioxine-achtige stoffen, vergelijkbaar met dr-calux<sup>®</sup>. Het verschil met de dr-calux<sup>®</sup> is dat met behulp van EROD-meting daadwerkelijke effecten op leverenzym activiteit kunnen worden geduid, dus geen potentiële risico's maar daadwerkelijke effecten.

Aromatase (CYP19) is een enzym in organismen, met name actief in de hersenen, dat testosteron of androsteendion omzet naar respectievelijk estradiol (E2) of oestrone. Deze enzymatische omzetting is medebepalend voor de verhouding tussen mannelijke (androgenen) en vrouwelijke (oestrogenen) geslachtshormonen. Inductie of inhibitie van dit enzym kan leiden tot een verstoorde balans van androgenen en oestrogenen.

Acetylcholine (ACh) is een neurotransmitter, van belang bij de prikkeloverdracht in zenuwen. Acetylcholineesterase (AChE) zorgt ervoor dat ACh afgebroken wordt na dat het zijn werking heeft gedaan. Remming van AChE resulteert in een blijvende werking van ACh en een gestimuleerde prikkeloverdracht. Dit kan in spieren tot verkrampen leiden. Remming van AChE is in eerdere studies gerelateerd aan blootstelling van pesticiden uit de groep van de fosfor-esters.

Tabel 4: Overzicht van gebruikte biomarkers en bioassays

Biomarker/bioassay	Orgaan	Stof	Toelichting
dr-calux®	Lever	dioxine-achtige stoffen	Potentieel risico van voorkomen stoffen in lever
er-calux®	Lever	estrogene stoffen	Potentieel risico van voorkomen stoffen in lever
EROD	Lever	dioxine-achtige stoffen	Actueel risico van voorkomen stoffen
Aromatase activiteit (CYP19)	Hersenen	dioxine-achtige stoffen	Verstoorde verhouding mannelijk en vrouwelijk geslachtshormonen
acetylcholineesterase remming (AChE)	Hersenen	pesticiden uit de groep van de fosfor-esters	Gestimuleerde prikkeloverdracht in de hersenen → spierverkrampingen

### 2.3.1 Dr-calux®

De dr-calux® bepalingen zijn uitgevoerd door Biodetection Systems b.v. (BDS) te Amsterdam. De ontvangen extracten zijn ingedampt (37°C, N<sub>2</sub>) en opgenomen in 50 µl DMSO. Hiervan is 10 µl DMSO weer opgenomen in ca. 2 ml hexaan en gebruikt voor verdere opschoning. De dr-calux® bioassay maakt gebruik van hepatoma (H4IIE) cellen van een rat die stabiel getransfecteerd zijn met een plasmide dat het gen van het vuurvliegje (*Photinus pyralis*) bevat als reportergen voor de aanwezigheid van dioxine en dioxine-achtige verbindingen, gekoppeld aan DRE's (Dioxin Responsive Elements) (Aarts *et al.*, 1995; Murk *et al.*, 1996). Cellen die worden blootgesteld aan dioxine en/of dioxine-achtige stoffen induceren naast de gewone enzymen en eiwitten die worden geassocieerd met DRE's ook het enzym luciferase. Toevoegen van een geschikt substraat (luciferine) resulteert in chemoluminescentie (licht). De hoeveelheid licht die wordt geproduceerd is gerelateerd aan de hoeveelheid ligand-AhR binding. Door de hoeveelheid geproduceerd licht te vergelijken met een referentie stof, in dit geval 2,3,7,8-TCDD, kan de hoeveelheid aanwezig ligand worden gekwantificeerd en worden uitgedrukt als TCDD Toxische Equivalenten (TEQ: pg/g vet).

De cellen worden gekweekt in minimal essential medium ( $\alpha$ -mem, Gibco) met daaraan toegevoegd 10% feutaal kalf serum (FCS, Gibco), in een stoof bij 37°C, 5% CO<sub>2</sub> en 100% luchtvochtigheid. De bioassay wordt uitgevoerd in 96 wells platen (Greiner), waarbij de cellen worden uitgeplaat in 100 µl kweekmedium. Na 24 uur (confluentie > 90%) worden de cellen blootgesteld door het toevoegen van 100 µl blootstellingsmedium (kweekmedium waaraan het lever extract is toegevoegd) aan elke well. Na 24 uur blootstellen wordt het medium verwijderd, de wells gespoeld met PBS en de cellen gelyseerd in 30 µl lysismix. De platen worden tenminste 20 minuten bewaard bij 4°C waarna zij vervolgens voor de meting in een paar minuten op kamertemperatuur worden gebracht. De hoeveelheid luciferase wordt gekwantificeerd met behulp van een luminometer, waarbij de luminometer voor elke well de volgende stappen uitvoert: injecteer 100 µl Glowmix, meet gedurende 4 seconden de lichtopbrengst en injecteer 100 µl 0,2 M NaOH om het signaal te doven. Alle extracten worden op de plaat getest in triplo en op elke plaat wordt een volledige dosis-respons curve meegenomen. De ijklijn is bepaald met een logistische

vergelijking (SlideWrite 6.0 32-bit Editie) waarna voor elke plaat de resultaten van de extracten zijn geïnterpoleerd in de curve van de ijklijn.

### 2.3.2 Er-calux<sup>®</sup>

De er-calux<sup>®</sup> bepalingen zijn ook uitgevoerd door BDS. Met deze bioassay kan de aanwezigheid van oestrogeen actieve stoffen in de lever van de dassen vastgesteld worden. Het kan hierbij gaan om natuurlijke of synthetische estrogenen, phyto-estrogenen, en xeno-estrogenen (zoals b.v. bisphenol A, gebromeerde vlamvertragers, alkylphenoethoxylaten). De gebruikte methoden zijn in detail beschreven in Legler *et al.* (1999), Legler (2001). Het principe van de er-calux<sup>®</sup> is vergelijkbaar met dat van de er-calux<sup>®</sup>. In de er-calux<sup>®</sup> bioassay wordt gebruik gemaakt van humane T47D cellen, die stabiel zijn getransfecteerd met een plasmide dat het gen van het vuurvliegje bevat gekoppeld aan de zogenaamde Estrogen Responsive Elements (Legler *et al.*, 1999). Cellen die worden blootgesteld aan estrogenen en/of estrogeen-achtige verbindingen produceren niet alleen de eiwitten en enzymen die onder normale omstandigheden worden geassocieerd met de EREs, maar ook luciferase. De hoeveelheid licht die wordt geproduceerd is gerelateerd aan de hoeveelheid ligand-ER binding en kan worden gemeten door het toevoegen van een geschikt substraat. De hoeveelheid binding kan worden gekwantificeerd door de geproduceerde hoeveelheid licht te vergelijken met een bekende standaard, in dit geval 17 $\beta$ -oestradiol. De er-calux<sup>®</sup> bioassay wordt uitgevoerd in 96-wells platen (Nunc). De cellen worden uitgeplaat in een dichtheid van 5000 cellen/well in 100  $\mu$ l DMEM-F12 (zonder phenolrood) dat is aangevuld met 5% van-hormonen-gestript serum, NaHCO<sub>3</sub> en niet-essentiële aminozuren. De volgende dag wordt het medium ververst om de achtergrondconcentratie van estrogenen zo laag mogelijk te maken. De derde dag worden de cellen blootgesteld door het medium te vervangen door blootstellingsmedium (medium waaraan 0,1 % extract is toegevoegd). Na 24 uur worden de cellen gelyseerd, waarna de hoeveelheid lichtproductie wordt gemeten met een luminometer (zie methode dr-calux<sup>®</sup>).

### 2.3.3 Ethoxyresorufine-O-dealkylase (EROD) activiteit in levers

Levers zijn gehomogeniseerd (gepotterd op ijs) in 0,125 M fosfaatbuffer met 0,1 M EDTA, pH 7.6. De homogenaten zijn 12 min afgedraaid bij 15000 xg bij 4 °C. De supernatanten zijn verder afgedraaid gedurende 72 min bij 150.000xg. Hierna zijn de pellets (microsomen) gehomogeniseerd in fosfaatbuffer met 0,1 M EDTA, pH 7.6 met 20 % (v/v) glycerol. De microsomale suspensies zijn ingevroren bij -80 °C voor bepalingen van EROD-activiteit. Hiertoe is microsomaal eiwit geïncubeerd bij 37 °C met 1,3  $\mu$ M ethoxyresorufine en 0,3 mM NADPH (Roche Diagnostics, Almere, Nederland) in aanwezigheid van 1 mg/ml BSA in een bufferoplossing met 0,1 M Tris en 0,1 M NaCl, pH 8.0 in een eindvolume van 200  $\mu$ l. De emissie bij 590 nm in wells met microsomen en wells met een concentratiereeks standaard-resorufine is gemeten na excitatie bij 530 nm. De hoeveelheid gevormd resorufine is berekend door interpolatie van de ijklijn standaard-resorufine. Omdat de vorming van resorufine na

incubatie zonder NADPH te verwaarlozen was zijn geen incubaties zonder NADPH uitgevoerd. De gemeten emissie voor toevoegen van NADPH is afgetrokken van de emissie 30 min na toevoegen van NADPH. De EROD activiteit is berekend door de NADPH-afhankelijke vormingsnelheid van resorufine te normaliseren op microsomaal eiwit.

#### **2.3.4 Aromatase activiteit in hersenen**

Hersenen zijn gehomogeniseerd in een volume van 10 maal het natgewicht 50 mM Tris en 1.15% KCl, pH 7.5. De homogenaten zijn 15 min afgedraaid bij 14000 xg bij 4 °C. De supernatanten zijn ingevroren bij -80 °C. Bepalingen van de aromatase-activiteit zijn uitgevoerd volgens de methode van Lephard en Simpson (1991). In elke well van een 48-wellsplaat is 0,05-0,4 mg supernatant-eiwit 2 uur geïncubeerd bij 25 °C met 250 nM [ $1\beta$ - $^3\text{H}(\text{N})$ ]-Androst-4-ene-3,17-dione (NEN, Boston, MA, USA) en 0,5 mM NADPH in 50 mM HEPES en 5 mM  $\text{MgCl}_2$ , pH 7.8 in een eindvolume van 250  $\mu\text{l}$ . Ook zijn incubaties zonder NADPH uitgevoerd. Na incuberen zijn alle steroïden uit de monsters geëxtraheerd met respectievelijk chloroform en een oplossing 0,5% (w/v) dextraan en 5% (w/v) actieve kool, zodat het door aromatase afgesplitste vrije  $^3\text{H}$  is overgebleven. Hierna zijn de monsters 15 min afgedraaid bij 11000 xg, de supernatanten toegevoegd aan scintillatievloeistof, en is  $^3\text{H}$  is gemeten in een vloeistofscintillatieteller. De aromatase activiteit is berekend door de NADPH-afhankelijke afsplitsingsnelheid van  $^3\text{H}$  te normaliseren op eiwit.

#### **2.3.5 Acetylcholineesterase remming**

Hersenen zijn gehomogeniseerd op ijs in 0.1 M kaliumfosfaatbuffer, pH 7.4. Het homogenaat is gecentrifugeerd bij 10000xg (12 min, 4 °C). Het supernatant (15-50  $\mu\text{g}$  eiwit) is geïncubeerd in een microtiterplaat in aanwezigheid van 5 mM 5,5'thiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) en 5 mM S-acetylthiocholine bij 35 °C. De vorming van thiobisnitrobenzoaat na afsplitsing van een thio-groep onder invloed van de esterase activiteit, is gemeten bij 412 nm gedurende 5 min.

#### **2.3.6 Steroïdhormonen**

Concentraties testosteron, progesteron en E2 zijn bepaald met competitieve Enzyme Immuno Assay (EIA) kits van R&D Systems (Abington, UK). In gecoate wells van microtiterplaten zijn in duplo 100  $\mu\text{l}$  van de monsters en standaardverduunningen gepipetteerd, waarna 50  $\mu\text{l}$  gelabeld steroïd en 50  $\mu\text{l}$  anti-steroïd zijn toegevoegd. Nadat de platen 2 uur zijn geïncubeerd bij kamertemperatuur (21-25 °C) zijn de wells 4 maal gewassen met wasbuffer. Vervolgens is 200  $\mu\text{l}$ /well pNPP substraat in de wells gepipetteerd en is 45 min geïncubeerd bij kamertemperatuur, waarbij een ongekleurd substraat wordt omgezet in een geel gekleurd product. De kleurreactie is gestopt door 50  $\mu\text{l}$ /well Stop Solution toe te voegen, waarna de lichtabsorptie bij 405

en 580 nm ( $A_{405}$  en  $A_{580}$ ) is gemeten met een plate reader.  $A_{405}$ - $A_{580}$  als maat voor de optische dichtheid in de wells in relatie tot de logaritme uit de steroid-concentratie van de standaarden is een omgekeerde S-curve. Met een 4-parameter logistische curve fit door de datapunten van de standaarden zijn de hormoonconcentraties in de monsters berekend.

## 2.4 Statistische analyses

Data aangaande concentratie zijn meestal niet normaal verdeeld. Voor de statistische analyses worden de OCB concentraties altijd getransformeerd naar hun natuurlijk logaritme. Verschillen tussen groepen in de getransformeerde getallen zijn geanalyseerd met behulp van Student's  $t$ -testen (Sokal en Rohlf 1969). Om relaties tussen parameters te kunnen vaststellen zijn regressie analyses toegepast zowel lineaire regressies, alsook logistische regressies. Om verschillen in OCB concentraties tussen wormensoorten of laboratoria (IVM en Alterra) te kunnen analyseren zijn gepaarde  $t$ -testen toegepast. De statistische analyses zijn uitgevoerd met het programma Genstat, versie 6.1.

## 3 Resultaten

### 3.1 Wormen

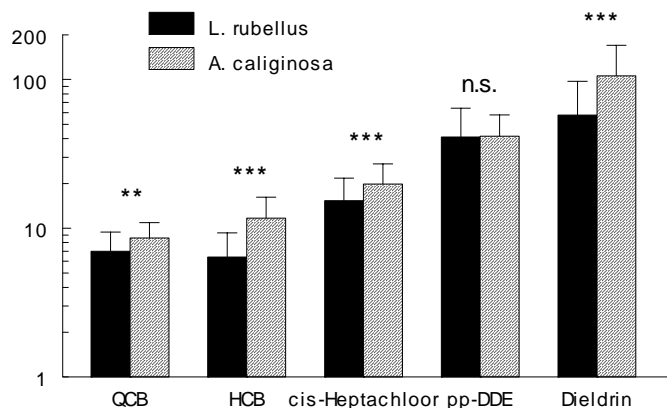
#### 3.1.1 OCB concentraties

In appendix B staan voor de individuele monsters per locatie en soort de concentraties OCBs. Een groot deel van de concentraties ligt onder de detectielimiet. In appendix C staan de detectielimieten weergegeven per stof. Doordat het vetpercentage in de monsters varieert, varieert de detectielimiet per monster. In appendix C is de range van detectielimieten weergegeven. Tevens staat voor de verschillende stoffen het aantal monsters dat boven de detectielimiet is gevonden aangegeven. Een groot deel van de stoffen wordt in geen enkel monster, of slechts in een enkel monster boven de detectielimiet aangetoond, te weten  $\alpha$ -endosulfan,  $\alpha$ -chlordaan *op*'-DDD, *o,p*'-DDE, *o,p*'-DDT, endrin aldrin, isodrin,  $\beta$ -endosulfan, endosulfansulfanaat, hexachloorbutadieen (HCBu),  $\alpha$ -HCH,  $\epsilon$ -HCH, heptachloor, isobenzaan octchloorstyreen (OCS), en trans-heptachloorepxoide.

Een ander deel van de stoffen wordt in meer dan de helft van monsters aangetoond: *p,p*'-DDE, dieldrin, pentachloorbenzeen (QCB), hexachloorbenzeen (HCB),  $\delta$ -HCH, en cis-heptachloorepoxide (cis-HCE). *p,p*'-DDD en *p,p*'-DDT zijn in ongeveer 10-15 monsters aangetoond. Bij verdere bespreking zal de nadruk liggen op die stoffen die in een groot deel van de monsters aantoonbaar zijn gebleken (grijs gearceerd in appendix C).

#### 3.1.2 Soortverschillen in OCB concentraties

In het onderzoek zijn monsters verzameld van twee soorten wormen, *L. rubellus* en *A. caliginosa*. De soorten hebben een verschillend gedrag, *L. rubellus* is meer aan het oppervlak te vinden (epigeïsch), terwijl *A. caliginosa* een dieper gravende worm is (endogeïsch). Door dit verschillend gedrag is het mogelijk dat de blootstelling varieert tussen de soorten. In figuur 1 staan de concentraties van de belangrijkste stoffen (diegene die in belangrijke mate boven de detectielimiet aantoonbaar waren, §3.1.1) in de twee verschillende soorten weergegeven. Van alle locaties waren van beide soorten monsters beschikbaar dus de data zijn direct vergelijkbaar.



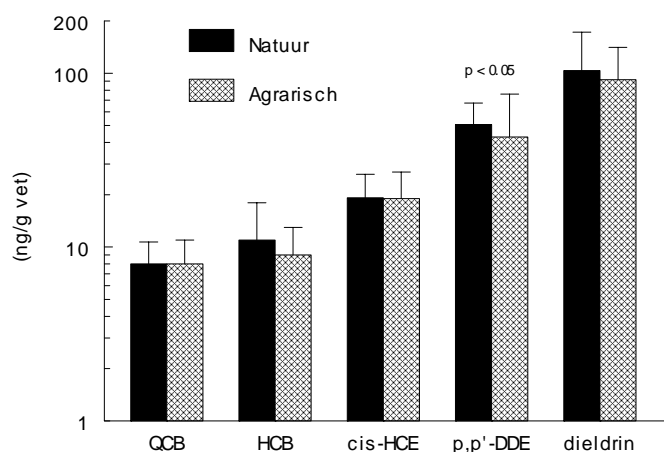
Figuur 1. De geometrische gemiddelden van concentratie pentachloorbenzeen (QCB), hexachloorbenzeen (HCB), cis-heptachloorepoxide (cis-HCE), p,p'-DDE en dieldrin in monsters van wormen van *L. rubellus* en *A. caliginosa* (in ng/g vet). n.s. = niet significant; \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$ ; \*\*\* =  $p < 0,001$

In figuur 1 valt af te lezen dat de concentraties in *A. caliginosa*, de dieper gravende soort, over het algemeen significant hoger zijn dan in *L. rubellus* (gepaarde *t*-toets,  $p < 0,05$ ). Alleen de concentraties p,p'-DDE zijn vergelijkbaar tussen de soorten. De ratio's tussen de concentraties in *A. caliginosa* en *L. rubellus* zijn als volgt: pentachloorbenzeen: 1,2; hexachloorbenzeen: 2,0; cis-heptachloorepoxide: 1,3; p,p'-DDE: 1,0; dieldrin: 1,8 (gebaseerd op de geometrische gemiddelden van de verschillende contaminanten in de twee soorten. In een eerder onderzoek zijn er maar een beperkt aantal monsters geanalyseerd van *A. caliginosa*. Hierbij zijn alleen in geval van p,p'-DDE en dieldrin genoeg concentraties boven de detectielimiet, om de vergelijking tussen soorten mogelijk te maken. De concentraties p,p'-DDE in *A. caliginosa* waren in 1998 niet significant verschillend tussen de soorten (factor 1,4), echter voor dieldrin werd een trend aantoonbaar (de concentratie in *A. caliginosa* waren 1,6 maal die in *L. rubellus*, *t*-test,  $p < 0,10$ ). dit lijkt de waarnemingen in de huidige studie te onderbouwen.

### 3.1.3 Ruimtelijke variabiliteit

In figuur 2 staan van dezelfde stoffen als in figuur 1 de concentraties weergegeven uitgesplitst naar het landgebruik van de locaties. Omdat het hier een vergelijking betreft binnen de meetgegevens van 2002, worden zowel de gegevens van *A. caliginosa* als die van *L. rubellus* (als factor) in de vergelijking meegenomen. Er is een significant verschil aantoonbaar voor p,p'-DDE. De concentraties op natuurlocaties zijn hoger dan op locaties met agrarisch gebruik. Voor de andere stoffen zijn geen significante verschillen aantoonbaar gebleken.





Figuur 2. De geometrische gemiddelden van concentratie pentachloorbenzeen (QCB), hexachloorbenzeen (HCB), cis-heptachloor-*epoxide* (cis-HCE), *p,p'*-DDE en dieldrin in monsters van locaties met hetzij een natuurlijk dan wel agrarisch landgebruik (zowel monsters van *L. rubellus* en *A. caliginosa* gebruikt (in ng/g vet))

### 3.1.4 Tijdreeks analyse OCBs in wormen

#### *Vergelijking tussen IVM en Alterra*

Er zijn data beschikbaar om OCB concentraties in wormen uit 2002 te vergelijken met concentraties in wormen verzameld in 1998. In 1998 zijn de OCB gehalten geanalyseerd door het IVM (Wegener et al. 1999). Om een goed vergelijk tussen jaren mogelijk te maken is daarom gekozen om sommige wormen extracten zowel door het IVM als door Alterra te laten analyseren. In tabel 5 staan de analyse resultaten zoals deze door het IVM zijn gerapporteerd. Deze zijn op basis van de meetoplossing en niet omgerekend naar vetgewicht. De belangrijkste stoffen die boven de detectiegrens zijn waargenomen zijn hexachloorbenzeen, pentachloorbenzeen, *p,p'*-DDE, *p,p'*-DDT en dieldrin. Dit is vergelijkbaar met de analyses bij Alterra. Met een gepaarde *t*-toets is vervolgens vastgesteld of de verschillen significant zijn (tabel 5).

Voor pentachloorbenzeen, hexachloorbenzeen en *p,p'*-DDE worden afwijkingen van 10-25% gevonden tussen de laboratoria, die echter niet significant zijn (tabel 5). Voor *p,p'*-DDE is de afwijking wat groter 66% maar ook niet significant, terwijl voor dieldrin een afwijking van 150% is vastgesteld die wel significant is. De achtergrond van dit verschil is niet bekend, echter bij een vergelijking tussen jaren dient rekening gehouden te worden dat de dieldrin concentraties zoals gerapporteerd voor 2002 systematisch hoger kunnen zijn door laboratoriumverschillen. Voor de andere stoffen is dit in principe niet het geval, al zal in het geval van *p,p'*-DDT dit effect ook word besproken. Over het algemeen zijn chemische analyses aan pesticiden wat minder stabiel, bijvoorbeeld wanneer vergeleken met PCB-analyses, en daarom zullen verschillen tussen metingen (ook dus tussen laboratoria) eerder optreden.

Tabel 5. Vergelijking tussen OCB analyses in worm extracten geanalyseerd door het IVM en Alterra. Concentraties in ng/g meetoplossing, geanalyseerd met gepaarde t-toets, significantie  $\alpha$ : 0.05

n/g meetoplossing Monster	IVM					Alterra				
	QCB	HCB	<i>p,p'</i> -DDE	<i>p,p'</i> -DDT	dieldrin	QCB	HCB	<i>p,p'</i> -DDE	<i>p,p'</i> -DDT	dieldrin
PIMM 7 her	0.43	0.54	1.97	0.57	1.97	0.49	0.42	3.70	1.25	7.74
PIMM 13	0.50	0.41	1.34	0.79	1.42	0.45	0.33	1.50	1.60	5.26
PIMM 49	0.29	0.29	0.98	0.40	1.89	0.19	0.33	1.43	0.5	3.27
PIMM 57	0.61	0.33	1.49	0.36	3.12	0.63	0.19	1.21	0.5	5.01
PIMM 69		0.40	1.21	0.44	2.28	0.23	0.42	1.90	0.5	3.94
Geomean	0.44	0.38	1.40	0.51	2.02	0.41	0.31	1.76	0.84	5.08
Alterra/IVM	0.92	0.81	1.25	1.66	2.52					
Significantie	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	p < 0.05					

### Vergelijk tussen 1998 en 2002

Op de locaties waar in de huidige studie wormen zijn verzameld zijn in 1998 ook monster van *L. rubellus* en ook enkele monsters van *A. caliginosa* verzameld en op OCBs geanalyseerd (Wegener 1999). Deze zijn op basis van natgewicht gerapporteerd maar kunnen eenvoudig omgerekend worden naar vetgewicht door de concentraties te delen door het vetpercentage en te vermenigvuldigen met 100.

De vergelijking tussen 1998 en 2002 is gebeurd op basis van monsters van *L. rubellus*, en is gebaseerd op gegevens van locaties die in beide jaren bemonsterd zijn. In figuur 3 staan de resultaten weergegeven.

In 1998 is pentachloorbenzeen niet boven de detectielimiet gevonden. In 2002 is de detectielimiet voor deze stof lager ( $\pm 4$  ng/g vet) en kan een gemiddelde berekend worden van 6,7 ng/g vet. Door de hogere detectielimiet in 1998 is niet vast te stellen of de concentratie toe- dan wel afnemen in de tijd.

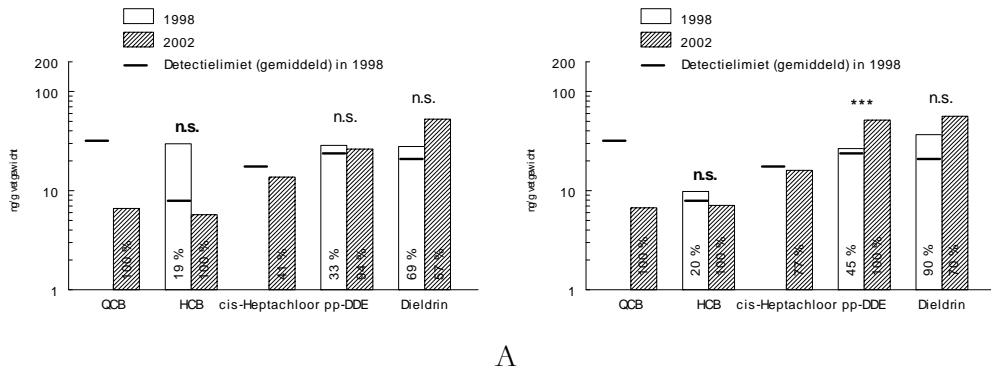
Voor hexachloorbenzeen (HCB) geldt een vergelijkbaar verhaal, er zijn maar enkele waarnemingen boven de detectielimiet in 1998 (20%). Wanneer wordt uitgegaan van alleen die monsters die boven de detectielimiet liggen is er geen verschil tussen jaren aantoonbaar (figuur 3), echter in 1998 is de concentratie in deze afleiding overschat. Hoe groot deze overschatting is, is niet aantoonbaar.

Voor cis-heptachloorepoxide zijn in 1998 geen concentraties boven de detectielimiet aantoonbaar gebleken. De detectielimiet in 2002 is lager en in 25 van de 38 monsters is deze stof aantoonbaar gebleken, met een gemiddelde van 17 ng/g vet. Of de concentratie toe dan wel afnemen in de tijd is op basis van de gegevens uit 1998 niet te concluderen.

*p,p'*-DDE is in 1998 in ongeveer de helft van de monsters aantoonbaar gebleken. In 2002 in 37 van de 38 monsters. Op basis van locaties die in beide onderzoeken zijn meegenomen (met gehalten boven de detectielimiet), zijn de concentratie in de natuurgebieden in 2002 significant hoger dan in 1998 (*t*-test,  $p < 0,05$ ). Voor de agrarische locaties is dit verschil niet aantoonbaar.

Voor wat betreft dieldrin zijn de gevonden concentraties vergelijkbaar tussen de jaren (36 ng/g vet respectievelijk 56 ng/g vet in 1998 en 2002). Als rekening wordt gehouden met het verschil in de metingen tussen de laboratoria (maal 2,55 IVM ten opzichte van Alterra, zie tabel 5) blijft dit met elkaar vergelijkbaar, echter in 1998

wordt de concentratie dan hoger (respectievelijk 90 ng/g vet (36\*255%) en 36 ng/g vet in 1998 en 2002 respectievelijk).



Figuur 3. Geometrische gemiddelden van concentratie OCBs in wormen (ng/g vetgewicht) bemonsterd in 1998 en 2002 (A: natuurgebied, B: agrarisch landgebruik). n.s.: niet significant; \*\*\*  $p < 0,001$ , t-test. De percentages in de kolommen geeft aan hoeveel monsters boven de detectielimiet lagen

### 3.1.5 Bioassay(groeioproef regenwormen)

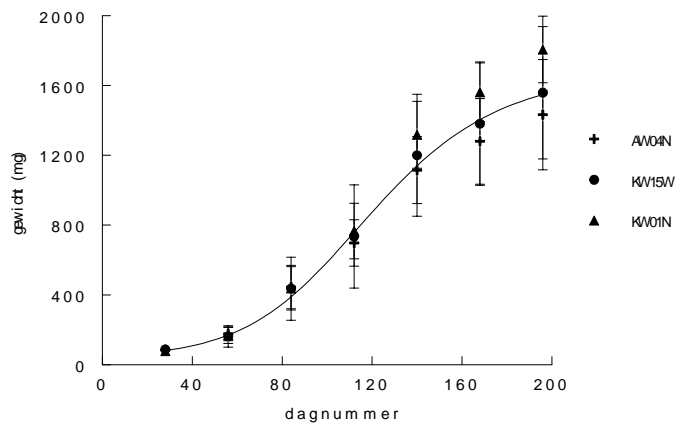
#### 3.1.5.1 Groei

In appendix D worden alle individuele meetgegevens van de groeioproef per 4 weken gepresenteerd. In onderstaande tabel worden de gemiddelde gewichten van de wormen per vier weken gepresenteerd.

Tabel 6: Gemiddelde gewichten van de wormen per pot per vier weken

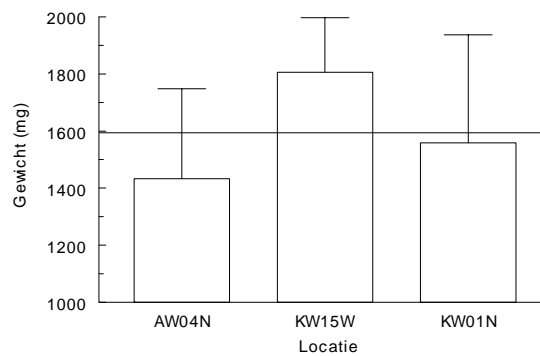
LOC.ID	pot nr.	Gemiddeld gewicht wormen (mg)						
		week 4	week 8	week 12	week 16	week 20	week 24	week 28
AW04N	6	84,3	135,6	290,4	553,6	1099,4	1353,8	1485,4
	7	93,0	232,8	532,3	804,3	1165,0	1181,8	1480,7
	8	66,7	170,3	428,8	712,0	1255,5	1479,3	1591,3
	9	66,5	137,8	346,5	513,3	768,5	864,3	889,0
	10	104,3	175,0	446,0	821,2	1317,6	1549,6	1832,2
	11	97,0	218,3	634,5	781,5	1086,8	1253,8	1322,0
KW15W	6	100,3	235,7	646,0	1106,0	1583,3	1741,5	1968,8
	7	116,3	218,8	651,2	1065,8	1556,8	1640,0	1803,8
	8	93,8	201,8	461,8	735,8	1296,2	1460,8	1622,5
	9	63,8	115,6	320,4	469,0	751,4	949,0	1119,6
	10	78,5	111,5	275,5	626,3	1167,8	1560,0	1774,2
	11	74,3	96,5	260,0	404,7	842,0	934,7	1062,2
KW01N	6	68,0	180,2	520,8	728,8	1270,2	1580,8	1929,5
	7	85,8	198,8	536,0	998,3	1586,3	1764,7	2003,7
	8	94,3	216,2	521,2	877,2	1455,3	1681,5	1912,3
	9	60,3	91,0	233,8	527,8	1022,0	1286,8	1487,2
	10	75,5	134,3	339,2	741,2	1269,3	1468,3	1682,3
	11	83,4	184,8	476,4	723,6	1306,0	1581,2	1819,0

In figuur 4 staat het gewichtsverloop van de wormen in de verschillende gronden. Door de data is een logistische curve (S-curve) gefit. Met behulp van een dergelijk fittingmodel zijn geen statistisch significante verschillen in groeisnelheid aantoonbaar gebleken tussen de locaties. Dit impliceert dat de wormen vergelijkbaar groeien in de verschillende locaties.



Figuur 4. Gewichtsverloop van wormen in grond van drie locaties. Weergegeven zijn gemiddelde en standaarddeviatie van 6 potten per type grond

Verschillen in groeisnelheid zouden ook moeten resulteren in verschillen in eindgewichten. Echter ook in de eindgewichten zijn geen statistisch significante verschillen aantoonbaar in gebleken (figuur 5, ANOVA  $p > 0,05$ ), wat er ook op duidt dat de groeisnelheid niet varieert tussen de locaties.



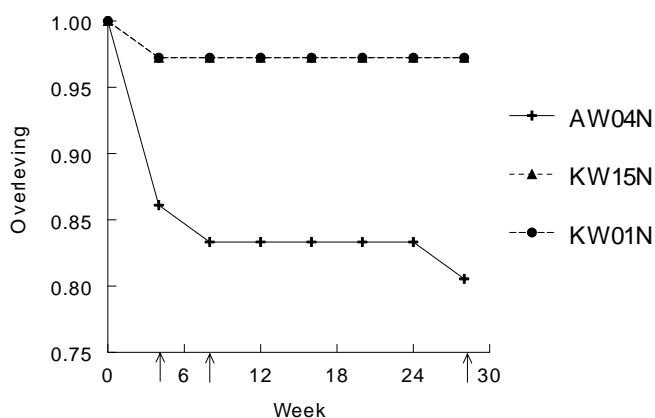
Figuur 5. Gewichten van wormen in de bioassay in grond van drie locaties na 28 weken incubatie (einde van het experiment), de lijn geeft gemiddeld gewicht voor alle locaties weer. Er zijn geen significante verschillen aantoonbaar

### 3.1.5.2 Mortaliteit

Iedere vier weken is het aantal wormen dat teruggevonden is gerapporteerd. In appendix D is door middel van arcering de mortaliteit per pot over de tijd weergegeven. In figuur 6 staat het proportionele aantalsverloop gedurende het experiment uitgezet per locatie. In totaal zijn 36 wormen per type grond (locatie) ingezet. Wanneer gekeken wordt naar mortaliteit per maand (figuur 6) dan lijken er

verschillen zichtbaar tussen enerzijds AW04N, oorspronkelijk gekozen als controlelocatie met schone grond, en de twee verontreinigde gronden uit de Krimpenerwaard (KW15W en KW01N), (tabel 3). Deze verschillen zijn significant aantoonbaar op week 4, 8 en 28 (binominaal getoetst). Het lijkt er daarmee op dat in AW04N de sterkte wat hoger is. Wanneer de aantallen aan het eind van het experiment getoetst worden is er ook een significant verschil tussen AW04N enerzijds en KW15W en KW01N anderzijds aantoonbaar (binominaal getoetst), al is een significant deel van de variatie in de mortaliteit nog niet verklaard door verschillen tussen locaties.

Het lijkt daarmee aannemelijk dat de mortaliteit in de bodem van AW04N wat hoger is dan in de bodem van de andere locaties. Gebaseerd op de aantallen in week 28 kan voor AW04N een mortaliteit van 0,006 worm/dag berekend worden, voor de andere locaties is deze 0,0009 worm/dag.



Figuur 6. Relatief aantalverloop (aantal bij inzet ( $n=6$  per pot, dus  $6*6 = 36$  wormen per locatie) is gesteld op 1,00) in de bioassay uitgevoerd in grond van verschillende locatie. Bij de pijlen is de mortaliteit in die week groter in AW04N dan in de andere bodems (binominaal getoetst,  $p < 0,05$ ). Op de andere momenten is de mortaliteit niet verschillend

## 3.2 Mollen

De opzet was om op vijf locaties, vier verontreinigde locatie's en één referentie locatie, 15 mollen levend te vangen. De mollen dienden levend gevangen te worden omdat anders geen biomarker analyses uitgevoerd konden worden in de verschillende weefsel van de mollen. Deze opzet is ten dele niet uitvoerbaar gebleken. In plaats van de geplande 15 mollen uit 5 locatie's zijn er met grote moeite 6 mollen uit 3 locatie's gevangen en geanalyseerd. Binnen Zuid-Holland zijn op twee locaties mollen gevangen, DR09 en DR16 (zie Tabel 7). Voor een vergelijk is een controle dier gevangen nabij Sleeuwijk (Gelderland). De mollen in Zuid-Holland zijn gevangen in oktober 2002, de controlemol op 16 januari 2003. Op iedere locatie binnen Zuid-Holland is 1 één vrouwtje gevangen. Op de locatie DR09 is aanvullend één mannetje

gevangen, op de locatie DR16 twee. De controle mol van Sleenwijk was een mannetje.

Tabel 7. Specificaties van de gevangen mollen

Mol nr.	Geslacht	Datum	LOC.ID	VOORLOPIG_ LOC_ID
1	v	1/10/2002	DR16	E03
2	m	7/10/2002	DR09	E02
3	v	8/10/2002	DR09	E02
4	m	22/10/2002	DR09	E02
5	m	22/10/02	DR16	E03
6	m	16/01/03	GLD01	CONTR

### 3.2.1 OCB-concentraties

In appendix E staan voor de verschillende OCBs de concentraties zoals deze gevonden zijn in levers van de verschillende mollen. Hier valt te zien dat alleen cis-heptachloorepoxide, *p,p'*-DDE dieldrin en *p,p'*-DDT (bijna) altijd boven de detectielimiet worden aangetroffen. De andere OCBs worden een stuk minder boven de detectielimiet gevonden, en zullen hier verder niet in detail behandeld worden. In tabel 8 staan de geometrisch gemiddelden per locatie, en voor alle dieren uit Zuid-Holland weergegeven, in combinatie met de concentraties in de controle mol. Tussen de locaties zijn geen significante verschillen aantoonbaar gebleken. Hoewel de concentraties *p,p'*-DDT in de mollen van locatie DR16 bijna tweemaal de concentraties in de mollen van DR09 zijn, is dit verschil niet significant. Gemiddeld zijn de *p,p'*-DDT concentraties vergelijkbaar met die in de controle mol. *p,p'*-DDE concentraties zijn ook niet verschillend tussen de locaties, al lijkt het er wel op dat de concentraties in de dieren uit Zuid-Holland wat hoger lijken dan die in de controle mol. Dit kan echter niet statistisch getoetst worden. *p,p'*-DDD en dieldrin concentraties zijn tussen de twee locaties binnen Zuid-Holland vergelijkbaar en ook de concentraties in de controle mol zijn van dezelfde grootte orde. Bij cis-heptachloorepoxide doet de omstandigheid zich voor de concentraties in de controle mol hoger zijn dan in de mollen van DR09 of DR16, terwijl er geen significante verschillen aantoonbaar waren tussen de locaties DR09 of DR16.

Tabel 8. Concentraties in mollenlevers van die OCBs die in belangrijke mate boven de detectiegrens zijn aangetoond

	<i>p,p'</i> -DDT	<i>p,p'</i> -DDE	<i>p,p'</i> -DDD	dieldrin	cis-HCE
DR09 (n=3)	113	276	37	3778	909
DR16 (n=2)	224	283	94	3313	593
Alle dieren (n=5)	148	279	54	3585	766
Controle mol (n=1)	125	112	55	2918	2167

#### **Vergelijk tussen 1998 en 2002**

In 1998 zijn door het IVM in het kader van PIMM ook mollenlevers geanalyseerd op OCBs (Wegener et al. 1999). In tabel 9 staan de geometrisch gemiddelde concentraties voor die OCBs die in die studie boven de detectiegrens zijn gevonden, omgerekend naar vetgewicht (gebaseerd op 1,6% vet). Uit de gegevens lijkt het erop

dat de concentraties die in 2002 gevonden zijn in de lagere ranges liggen van hetgeen in 1998 gevonden is. Een juiste statistische toetsing is echter niet goed mogelijk door het lage aantal waarnemingen in 2002. Het verlaagde gemiddelde in 2002 lijkt het meest toe te schrijven aan het feit dat er in 2002 minder uitschieterende hoge waarnemingen gevonden zijn.

Tabel 9. Geometrisch gemiddelden en ranges van de OCB-concentraties in mollenlevers bemonsterd in 1998 (Wegener et al. 1999) en 2002 (huidige studie)

µg/g vet	p,p'-DDE	p,p'-DDD	p,p'-DDT	cis-HCE	dieldrin
Geogem 1998	0.69	1.10	0.33	1.88	9.19
Min 1998	0.13	0.19	0.04	0.13	0.81
Max. 1998	8.13	9.38	1.94	6.88	55.63
Geogem 2002	0.28	0.05	0.15	0.77	3.58
Min 2002	0.08	< 0.03	< 0.06	0.56	2.49
Max. 2002	0.46	0.15	0.46	1.04	4.41

### 3.2.2 Biomarkers en bioassays

In tabel 10 staat een overzicht gegeven van alle gemeten biomarkers in de verschillende mollen.

#### **Dr-calux<sup>®</sup>**

De concentratie dr-calux<sup>®</sup> lijkt op de locatie DR09 hoger dan op DR16 en de controle. Dit verschil is na log-transformatie van de data significant op het niveau van  $p < 0,10$ . Het verschil lijkt daarmee aanwezig, echter door het lage aantal waarnemingen is dit moeilijk statistisch aantoonbaar. De concentraties op de locatie DR16 zijn vergelijkbaar met hetgeen in de controle mol is gevonden.

#### **Er-calux<sup>®</sup>**

In geval van de er-calux<sup>®</sup> is er geen enkele concentratie boven de detectielimiet gevonden. Dit geeft aan dat er weinig estrogene stoffen in de mollen aanwezig lijken te zijn.

Tabel 10. Responsies van alle biomarkers gemeten in de verschillende organen van mollen verzameld in 2002.

Mol	LOC.ID	dr-calux <sup>®</sup> pg/g vet	er-calux <sup>®</sup> pg/g vers	EROD pmol/min/ mg	AChE µmol/min/ mg	aromatase fmol/h/mg	progesteron ng/ml plasma	testosteron ng/ml plasma	oestradiol ng/ml plasma
1	DR16	842	<23	455	0.128	50	3.3	1.2	2.9
5	DR16	350	<11	413	0.148	341	1.8	1.3	2.4
2	DR09	1273	<13	362	0.146	9	2.8	1.3	1.2
3	DR09	4222	<18	565	0.227	126	2.0	1.9	2.2
4	DR09	1708	<13	405	0.156	740	5.6	1.3	2.7
6	Controle	385	<13	413	0.115	197	2.8	1.8	1.4

#### **EROD**

De activiteiten van EROD in de levers van de mollen zijn allen zeer vergelijkbaar, er zijn geen verschillen tussen locaties aantoonbaar. De range van activiteiten is relatief smal, en is niet gecorreleerd met de concentraties dr-calux<sup>®</sup>. De verschillen tussen DR09 en DR16 voor wat betreft potentiële risico's (zoals bepaald met dr-calux<sup>®</sup>), vertalen zich daarmee niet in verschillen in aantoonbare effecten.

### ***Acetylcholine esterase remming***

De activiteit van AchE varieert weinig tussen individuele mollen. Alleen mol 3, van locatie DR09, laat een wat hogere activiteit zien, echter de verschillen tussen locaties zijn niet significant.

### ***Aromatase***

De activiteit van aromatase is vergelijkbaar tussen locaties en de controle. Er is een redelijk grote spreiding, met een verhoogde activiteit in mol 4 van locatie DR09. Het lijkt er daarmee op dat de individuele spreiding groter is dan de spreiding tussen locaties.

### ***Steroïd hormonen***

De concentraties steroïd hormonen zijn nogal variabel tussen de verschillende individuen. Er zijn geen relaties tussen de concentraties van de verschillen hormonen en het geslacht van het individu. Dit geldt zowel voor de absolute concentraties, alsmede voor de ratio's tussen de verschillende hormonen. Verschillen tussen de locaties zijn ook niet significant aantoonbaar gebleken.



## 4 Discussie

### 4.1 Wormen

#### 4.1.1 OCB concentraties

De concentraties OCBs zijn in vergelijking met een eerdere studie in het gebied (Wegener 1999) alleen in geval van *p,p'*-DDE toegenomen. Voor andere stoffen was geen verandering van de concentraties aantoonbaar (pentachloorbenzeen, hexachloorbenzeen, cis-heptachloorepoxide en dieldrin) of waren de data ontoereikend voor een nadere statistische analyse. In geval van *p,p'*-DDE is ook een verschil aantoonbaar gebleken tussen gebruikersfunctie: de concentraties in de natuurgebieden waren significant hoger dan in de gebieden met agrarische gebruik. In de eerdere studie van Wegener et al. 1999 was dit verschil net andersom, toen leken de concentraties *p,p'*-DDE hoger in het agrarisch gebied, al was dit toen niet statistisch toetsbaar door chemisch analytische problemen. In 1999 waren de dieldrin concentraties op locatie Z12 (natuur) verhoogd, echter dit kan in de huidige studie niet worden bevestigd (appendix B). In de huidige studie worden verhoogde concentraties *p,p'*-DDE gevonden in wormen van locatie Z34 (agrarisch). Dit is in beide soorten vastgesteld maar is weer niet vastgesteld in de rapportage van 1999 waarin de *p,p'*-DDE concentraties in de wormen van locatie Z34 onder de detectielimiet lagen. Het is moeilijk om hieraan conclusies te verbinden. Het lijkt er echter wel op dat hoge concentraties kunnen voorkomen, maar dat dit op een sterke ruimtelijk variatie duidt. Een enkele hoge waarneming wil daarmee nog niet direct aangeven dat er lokaal iets aan de hand is, het geeft wel aan dat er nader beschouwd moet worden.

Tabel 11. 75-p waarden voor verschillende OCBs in wormen uitgesplitst naar soort en landgebruik (ng/g versgewicht). Voor afleiding referentiewaarden zien tekst

Functie	Soort	<i>p,p'</i> -DDE	dieldrin	<i>p,p'</i> -DDD	<i>p,p'</i> -DDT	QCB	HCB	cis-HCE
Agrarisch	<i>A. Caliginosa</i>	0.09	0.33	0.04	0.06	0.02	0.03	0.05
	<i>L. rubellus</i>	0.08	0.19	0.04	0.04	0.02	0.01	0.04
Natuur	<i>A. Caliginosa</i>	0.11	0.31	0.03	0.05	0.02	0.03	0.05
	<i>L. rubellus</i>	0.134	0.22	0.02	0.03	0.01	0.02	0.04
Referentie waarde Wegener 1999		10	10	5	3	1	10	2
Nieuwe referentiewaarden		5	5	5	3	1	5	2
Referentie waarde Wegener 1999		☺	☺	☺	☺	☺	☺	☺
Nieuwe referentiewaarden		☺	☺	☺	☺	☺	☺	☺

In Wegener et al. 1999 worden referentiewaarden opgegeven voor concentraties in wormen, gebaseerd op data verzameld in de Waal uiterwaarden (Hendriks et al. 1995). In de literatuur waren toendertijd geen verdere studies bekend waarin OCBs concentraties gerapporteerd werden die vergelijkbaar zijn met de huidige concentraties, waarbij opgemerkt dient te worden dat deze gegevens in een min of meer verontreinigde situatie zijn verzameld. In aanvulling op deze gegevens rapporteren Van den Brink et al. (2001) ook concentraties voor enkele OCBs: HCB

0,3 µg/g, *p,p'*-DDE: 0,8-2,4 µg/g, *p,p'*-DDT 1-1,5 µg/g en dieldrin 0,5-1,3 µg/g, omgerekend naar versgewicht, aannemend dat een worm 0,2 % vet bevat (zie appendix B). De referentiewaarden van Wegener et al. 1999 liggen met name voor HCB, *p,p'*-DDE en dieldrin hoger, namelijk 10 µg/g vers, dan de waarnemingen van Van den Brink et al. (2001). In de huidige risico analyse worden dan ook nieuwe, lagere referentiewaarden voorgesteld (tabel 11). In tabel 11 staan de 75-percentielen van verschillende stoffen weergegeven, die volgens de Integrale Milieukwaliteitsbeoordeling (IMB, cf. Wegener et al. 1999) kunnen worden vergeleken met de referentiewaarden. Zowel in geval van de referentiewaarden van Wegener et al. 1999, als van de nieuw voorgestelde waarden is er bij geen enkele stof sprake van dat de referentiewaarde overschreden wordt. Het lijkt erop dat de waarden die gevonden worden vergelijkbaar zijn met hetgeen in uiterwaarden wordt.

#### **4.1.2 Modelering van doorvergiftiging met behulp van het model OMEGA123 (versie 4)**

Naast een toetsing aan normen, afgeleid uit wormen concentraties gevonden in de literatuur, is ook een beoordeling mogelijk van de risico's gerelateerd aan accumulatie van OCBs naar wormen uit de bodem, en van de wormen naar hogere organismen. In het deel van dit rapport dat de mollen behandeld worden gemeten gegevens van hogere organismen besproken. Echter, op basis van de OCB-gegevens in de wormen, is met behulp van het rekenmodel OMEGA123, ontwikkeld door het RIZA, een rekenslag te maken, waarin de potentiële risico's voor op wormen foeragerende organismen te schatten zijn. In een eerder uitgevoerd onderzoek in het kader van PIMM is ook een exercitie met OMEGA123 uitgevoerd (Wegener et al. 1999), en voor een uitgebreidere beschrijving van de achtergronden van het model OMEGA wordt daarnaar verwezen. Hier zal wel in het kort beschreven worden wat de karakteristieken zijn van de OMEGA-aanpak.

##### **4.1.2.1 Toetsing aan norm**

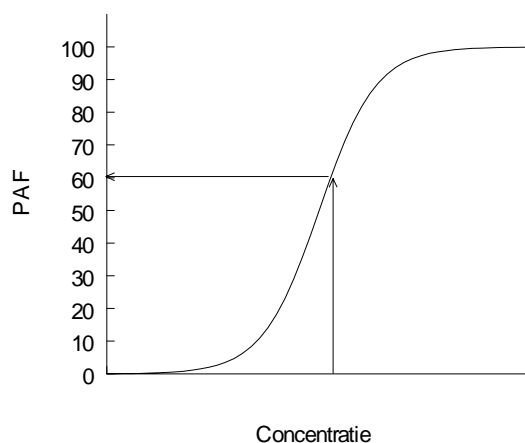
Binnen OMEGA123 zijn twee benaderingen toegepast. Enerzijds een risico-schatting op basis van de gevoeligheid van organismen (PAF-benadering, zie later) en anderzijds de benadering op basis van toetsing aan normen. Er bestaan voor biota geen vastgestelde wettelijke normen, en er kan dan ook geen directe toetsing van wormenconcentraties uitgevoerd worden. Voor bodem bestaan deze normen wel (streefwaarde, grenswaarde en interventiewaarde). Om nu de normtoetsing voor wormen mogelijk te maken, worden de wettelijke bodemnormen door toepassing van zogenaamde bioaccumulatiefactoren omgerekend naar wormenconcentraties. In OMEGA123 worden de volgende omgerekende wormen-normen gebruikt: geen norm-overschrijding (d.w.z. de wormconcentratie is lager dan de naar wormen omgerekende streefwaarde), hoger dan de streefwaarde, hoger dan concentratie niveau B of hoger dan de interventiewaarde. Het concentratieniveau B is berekend als het gemiddelde van de streefwaarde en de interventiewaarde.

De benadering van de toetsing aan norm is gestuurd vanuit het bodembeleid, en is minder toxicologisch onderbouwd. Voor een meer toxicologisch onderbouwde afweging is de PAF benadering toegepast.

#### 4.1.2.2 Toetsing aan Potentieel Aangetaste Fractie (PAF)

Soorten organismen kunnen sterk verschillen in gevoeligheid voor bepaalde stoffen. Op basis van deze verschillende gevoeligheden kan een frequentieverdeling gemaakt worden (als er voldoende gegevens bekend zijn). In figuur 7 staat een theoretische cumulatieve verdeling weergegeven. In dit figuur is te zien hoe vanuit een gevonden concentratie via de curve de Potentieel aangetaste Fractie (PAF) bepaald kan worden. Deze PAF beschrijft de theoretische fractie van soorten die effecten zouden kunnen ondervinden door de blootstelling aan de concentratie van de stof. Hierbij dient te worden opgemerkt dat deze frequentieverdeling is opgesteld met mogelijk een beperkt aantal soorten, die niet noodzakelijk iets te maken hebben met bijvoorbeeld het veenweidegebied.

Als toetsingscriterium in deze benadering is al volgt: Verwaarloosbaar Risico (VR):  $PAF < 1\%$ , Maximum Toelaatbaar Risico (MTR):  $1\% < PAF < 5\%$ , Ernstig Risico (ER):  $PAF > 50\%$ . Dit betekent dat bij een concentratie van het MTR 95% van de soorten theoretisch beschermd is.



*Figuur 7. relatie tussen de PAF en concentratie van een theoretische stof*

#### 4.1.2.3 Resultaten OMEGA berekeningen

In tabel 12 staan de resultaten van de twee toetsingen zoals deze zijn uitgevoerd m.b.v. OMEGA123. Als invoer is de het hoogste 75-percentiel (cf. het IMB,

Wegener et al. 1999) gebruikt die zijn gerapporteerd in tabel 11. Bij toetsing aan de milieukwaliteitsnormen, herberekend uit de bodemnormen, valt te zien dat voor alle stoffen de concentraties onder de streefwaarden liggen.

Tabel 12. output van OMEGA123, gebaseerd op 75-percentiel gegevens van de concentraties van die OCBs die regelmatig boven de detectiegrens gevonden worden in wormen. n.a.: geen PAF curve beschikbaar, dus niet analyseerbaar

stof	concentratie mg/kg natgewicht	toetsing aan milieukwaliteitsnormen	PAF fractie bedreigde soorten
pentachloorbenzeen	0,00002	< Streefwaarde	n.a.
hexachloorbenzeen	0,00003	< Streefwaarde	< 1%
dieldrin	0,00033	< Streefwaarde	< 1%
DDE	0,000134	< Streefwaarde	< 1%
DDD	0,00004	< Streefwaarde	< 1%
DDT	0,00006	< Streefwaarde	< 1%
heptachloorepoxide	0,00005	< Streefwaarde	n.a.

Bij toetsing aan de PAF is er een beperking in die zin dat voor pentachloorbenzeen en cis-heptachloorepoxide geen accumulatieve frequentieverdeling voorhanden zijn in OMEGA123 versie 4. De PAFs kunnen dus niet worden berekend voor deze twee stoffen.

Uit de tabel valt op te maken dat voor alle stoffen de PAF ruim onder de 1% grens ligt, in feit is het 0%. Daarmee lijkt er een Verwaarloosbaar Risico met deze stoffen gemoeid. Hierbij dient te worden vermeld dat voor alle DDT-vormen in de huidige studie alleen de para-para vorm in de berekeningen is betrokken, daar de ortho-para vormen nauwelijks gevonden worden. In de risico beoordeling zoals uitgevoerd in OMEGA wordt uitgegaan van beide vormen. Hierdoor kan het risico zoals hier berekend, in principe te laag zijn. Echter gezien het kleine aandeel van de ortho-para vormen in de huidige studie is dit waarschijnlijk verwaarloosbaar. Ook de gecombineerde PAF is bij toepassing van de vijf stoffen onder het criterium voor het Verwaarloosbaar Risico (<1%).

In het algemeen kan worden gesteld dat de concentraties zoals gevonden in deze studie minimaal een factor honderd liggen onder die waarbij de PAF 5% (MTR) zou zijn, en meestal ook meer dan een factor tien onder die concentraties waarbij de PAF 1% zou zijn (VR). Alleen het 75% percentiel van dieldrin ligt maar een factor 3 onder die concentratie geassocieerd met het VR. Echter, de maximaal gevonden dieldrin concentratie (0,00049 mg/kg versgewicht) is ook nog onder de VR-geassocieerde concentratie, wat erop duidt dat ook dieldrin in potentie geen nadere aandacht lijkt te hoeven hebben.

Gezien het bovenstaande lijkt het erop dat in geval van OCBs in potentie geen risico's bestaan voor doorvergiftiging vanuit wormen naar wormen-etende predatoren. Dit is in overeenstemming met het feit dat voor alle OCBs de 75-percentiel waarden onder de herberekende streefwaarden liggen.

In een eerdere studie zijn op basis van gegevens van OCBs in wormen uit de Krimpenerwaard in het kader van PIMM ook berekeningen uitgevoerd met behulp van OMEGA123 (versie 3). In die studie is ook geconcludeerd dat er verwaarloosbare risico's verbonden waren aan de mogelijke doorvergiftiging van

OCBs naar wormen-etende predatoren (Wegener et al. 1999). De uitkomsten van de huidige rekensessie zijn met die studie in overeenstemming, en ook met de eerdere discussie in §4.1.1, waarin op basis van toetsing aan literatuur gebaseerde normen ook geen overschrijdingen werden aangetoond.

### 4.1.3 Regenworm bioassay

De regenworm bioassay is uitgevoerd in grond van drie locaties, twee verontreinigde locaties uit de Krimpenerwaard (KW01N en KW15W) en een referentie (AW04N). In een eerdere studie (Tummers, 1998) zijn op de locaties KW15W en KW01N verhoogde concentraties zware metalen in de bodem gevonden (tabel 3). In de bioassay kunnen verschillende parameters bepaald worden die van belang zijn voor de opbouw en groei van lokale wormen populaties. Met behulp van het programma PODYRAS kan een populatiegroeisnelheid bepaald worden, wat een maat is voor het (potentieel) voorkomen van regenwormen (Klok & de Roos 1996). In de huidige studie zijn aan de hand van het gewichtsverloop van de wormen in de assay de volgende parameters afgeleid: de individuele groeisnelheid van wormen (zie figuur 4), het gewicht waarop wormen volwassen worden en het maximale gewicht dat de wormen (potentieel) bereiken. Tussen de potten was geen verschil aantoonbaar tussen de groeisnelheden, en met behulp van een Bertalanffy-curve is berekend dat de groeisnelheid van de wormen gemiddeld  $0,0059 \text{ g} \cdot \text{dag}^{-1}$  is. Het maximale gewicht is berekend als 4,67 gram en het gewicht waarbij de wormen volwassen worden als 1,20 gram. Deze laatste parameter is van belang omdat dit bepaalt wanneer wormen deel gaan nemen aan de populatiereproductie. In de huidige studie is besloten om de coconproductie niet te bepalen omdat deze bepaling enerzijds erg arbeidsintensief is, en anderzijds de coconproductie zelf niet van zo een groot belang is bij de berekening van de populatiegroeisnelheid (Klok 1997). Uitgegaan is van de coconproductie bepaald in een eerdere studie uitgevoerd in een veenweidegebied:  $0,0224 \text{ mg}^{-0,66} / \text{worm} / \text{dag}$  (Bosveld et al. 2000). In de assay is de mortaliteit in de gronden van de Krimpenerwaard laag, zelfs significant lager dan in de referentiegrond. De opzet van de assay is van beperkte omvang geweest, en gefocussed op het bepalen van de belangrijkste populatiedynamische parameter, namelijk groei. Voor een gedegen schatting van de mortaliteit zou idealiter een veel grotere proefopzet nodig zijn. Uit de literatuur zijn mortaliteitsgegevens bekend zoals gevonden door Lakhany & Stachell (1970). Deze gegevens zijn in de verdere berekeningen gebruikt. Op basis van bovenstaande gegevens kan met behulp van PODYRAS een populatiegroeisnelheid worden berekend van  $0,013 \text{ \%} \cdot \text{dag}^{-1}$ . Om deze groeisnelheid te kunnen vergelijken zijn gegeven nodig uit een andere studie in veengrond, daar de grondsoort van invloed is op de groeisnelheid. In grond van de Ronde Venen, een veenweidegebied op de grens van Zuid-Holland en Utrecht, zijn vergelijkbare assays uitgevoerd, waarbij populatiegroeisnelheden zijn berekend van  $0,011\text{-}0,017 \text{ \%} \cdot \text{dag}^{-1}$ . In die studie kon geen relatie worden aangetoond tussen de populatiegroeisnelheid en verontreinigingen. In de huidige studie is ook geen verschil zichtbaar tussen de locaties die verschillen voor wat betreft zware metaalconcentraties, al is er geen statistische analyse mogelijk doordat er geen replicatie van waarnemingen is. De groeisnelheid in de gronden uit de

Krimpenerwaard studie ligt in de range van die gevonden in het andere veenweide gebied, wat erop duidt dat er geen effecten van verontreinigingen te verwachten zijn op het voorkomen van wormen in de Krimpenerwaard.

## 4.2 Mollen

### 4.2.1 OCB concentraties

Voor wat betreft OCB gehalten in mollen of aanverwante organismen zijn er weinig referentiegegevens voorhanden. In een eerdere studie in het kader van PIMM (Wegener et al. 1999) zijn criteria afgeleid uit bestaande literatuur tot 1999. Een nadere literatuurstudie in Current Contents on Disk, een database waarin de belangrijkste ecotoxicologische literatuur zoekbaar is, zijn geen verdere bruikbare literatuurgegevens gevonden. Toegevoegd zijn wel waarnemingen van OCBs in spitsmuizen in uiterwaarden van de Geldersche Poort (appendix F, Van den Brink et al. 2001). In het rapport van Wegener (1999) is tot een norm per stof gekomen, die voor de belangrijkste stoffen ook staat weergegeven in tabel 13, samen met de waarnemingen aan de mollen. Deze norm is gebaseerd op een reeks literatuurgegevens (appendix F), echter met de huidige inzichten kan deze wat worden aangepast. Een deel van de gegevens waarop de toenmalige normen waren gebaseerd komen van waarnemingen aan monsters uit het Arctisch gebied in Canada en Alaska. In deze koude gebieden is het mogelijk dat min of meer vluchtige stoffen (zoals bijvoorbeeld HCB) neerslaan, en dat daarom verhoogde gehalten kunnen voorkomen in organismen die daar leven (het zogenaamde 'cold-condenser' effect). Dit is voor vogels in Antarctica ook beschreven (Van den Brink 1997). Waarnemingen aan semi-vluchtige stoffen in dit soort koude gebieden laten dus geen normale achtergrondgehalten zien. Om deze reden zijn in geval van hexachloorbenzeen de waarnemingen uit Canada van Poole et al. 1998 niet bij de afleiding van de huidige norm betrokken. In de gegevens van Wegener et al. 1999 zijn ook waarnemingen betrokken van nertsen (*Mustela vison*) en otters (*Lutra canadensis*), zie appendix F. Dit zijn echter soorten die een trofisch niveau hoger foerageren dan de mol, en in geval van de otter ook nog op een aquatische voedselketen. Om deze redenen is te verwachten dat gehalten in deze soorten hoger zijn dan in de mol, en in de afleiding van de huidige norm zijn deze waarnemingen dan ook niet meegewogen. De nieuw afgeleide norm voor de huidige studie is daarmee voornamelijk op die gegevens waarbij in appendix F een 1 staat bij de opmerkingen. Van deze gegevens is het 75-percentiel genomen, gebaseerd op log getransformeerde getallen. In het geval dat er een range is aangegeven zijn zowel het minimum als het maximum in de berekeningen meegenomen.

In tabel 13 staan de concentraties van de belangrijkste OCBs (in ng/g versgewicht) weergegeven, in combinatie met de norm van Wegener et al. 1999 en de norm zoals afgeleid in de huidige studie. Tevens staan concentraties weergegeven, zoals geanalyseerd in mollen uit Friesland, die in een eerdere PIMM-studie als referentie gebruikt zijn (Wegener et al. 1999b).

De beoordeling van de risico's is afhankelijk van welke norm gekozen wordt. In het geval dat de normering van de huidige studie wordt aanvaard zijn er overschrijdingen

voor *p,p'*-DDE, dieldrin en heptachloorepoxide. Voor dieldrin en heptachloorepoxide zijn de concentraties in alle mollen boven de norm. Wanneer vergeleken met de norm van Wegener et al. 1999 is er alleen overschrijding van de norm door de heptachloorepoxide concentraties in de controle mol. Wanneer vergeleken met de mollen uit Friesland zijn er overschrijdingen te zien in geval van *p,p'*-DDE, som-DDT's, dieldrin en heptachloorepoxide. Het aantal overschrijdingen is afhankelijk van het feit of de ondergrens of de bovengrens van de concentratie range wordt genomen. Concluderend kan worden gesteld dat, wanneer de normen zijn afgeleid op duidelijk herleidbare data, en op basis van het 75-percentiel van de geselecteerd concentraties, *p,p'*-DDE, dieldrin en heptachloorepoxide verhoogde concentraties laten zien in de levers van mollen uit Zuid-Holland. In geval van *p,p'*-DDE is dit een enkele overschrijding, echter voor dieldrin en heptachloorepoxide zijn alle monsters verhoogd.

Tabel 13. Concentraties van verschillende OCBs in levers van mollen, en een toetsing aan verschillende normen. Voor afleiding van de normen zie tekst. Overschrijding geeft aan in hoeveel monsters de concentratie de desbetreffende norm overschrijdt. Normering: ☺: concentraties acceptabel, ☺/☹: concentraties mogelijk aandachtspunt, ☹: concentraties aandachtspunt

Mol	<i>p,p'</i> -DDE	Som DDT	dieldrin	cis-HCE	QCB	HCB
1 (DR16)	8,8	14,9	83,7	12,0	0,2	0,2
2 (DR09)	8,9	13,2	133,9	31,0	0,1	0,1
3 (DR09)	16,5	27,5	61,5	18,7	0,2	0,2
4 (DR09)	2,0	4,1	93,4	18,5	0,1	0,1
5 (DR16)	4,2	11,7	59,8	13,3	0,1	0,1
6 (Controle)	4,4	11,4	113,8	84,5	0,1	0,1
Norm (huidige studie)	15	30	32	5,7	4,2	0,3
Norm (Wegener et al. 1999)		40	140	45		4
Mol Friesland (Wegener et al. 1999B)	1,7-5,6	3-13	32-140	3-8	< 0,1	< 0,1
<b>Overschrijding mollen DR09 of DR16</b>						
Norm (huidige studie)	1	0	5	5	0	0
Norm (Wegener et al. 1999)		0	0	0		0
Mol Friesland (Wegener et al. 1999B)	3-5	3	0-5	5	0	0
<b>Integrale Normbeoordeling</b>						
Norm huidige studie	☺/☹	☺	☹	☹	☺	☺
Norm (Wegener 1999)		☺	☺	☺		☺
Mol Friesland (Wegener et al 1999B)	☹	☹	☺/☹	☹	☺	☺

Voor wat betreft de stoffen die niet boven de detectie limiet aantoonbaar waren kan geen uitspraak gedaan worden. Echter, de detectielimieten zijn laag, en zelfs bij aanname dat alle concentraties op de detectielimiet gezet zouden worden is het niet aannemelijk dat er ecotoxicologische risico's te verwachten zijn. Voor sommige stoffen ligt de detectielimiet in de grootteorde van 0,5-0,6 µg/g vet (endrin, α-endosulfan β-endosulfan en trans-heptachloorepoxide), terwijl dit voor de meeste andere stoffen nog vijf tot tien keer lager ligt.

#### 4.2.2 Temporele veranderingen OCB concentraties

In het algemeen zijn de gevonden concentraties van de OCBs in de lagere ranges van hetgeen in 1998 geanalyseerd is. Gemiddeld namen de concentraties van de OCBs die boven de detectielimiet aantoonbaar waren (*p,p'*-DDE, *p,p'*-DDE, *p,p'*-DDT, cis-heptachloorepoxide en dieldrin) in 2002 ten opzichte van 1998 af met 50-70 %, in geval van *p,p'*-DDD zelfs met 98%. In geval van dieldrin kan de afname van gemiddeld 9,2 naar 3,6 µg/g vet voor een groot deel verklaard worden door de tussen-laboratorium verschillen tussen het IVM en Alterra. Een spreiding van 80-120% tussen laboratoria wordt acceptabel geacht. Echter, wat de oorzaak is van de grote discrepantie in geval van dieldrin, is niet duidelijk. Het lijkt aannemelijk dat er in de milieuomstandigheden voor wat betreft dieldrin niet die verbetering is opgetreden als op basis van de hier gepresenteerde concentraties verwacht zou worden. De afname van de concentraties van *p,p'*-DDE, *p,p'*-DDT, *p,p'*-DDD en cis-heptachloorepoxide, kunnen echter niet verklaard worden door tussen-laboratorium verschillen, en duidt er daarmee op dat de concentraties van deze stoffen daadwerkelijk verminderen in de tijd.

#### 4.2.3 Biomarkers en bioassays

De biomarkers en bioassays kunnen ingedeeld worden naar de stofgroep waar ze gevoelig voor zijn (Van der Oost et al. accepted). In de huidige studie zijn de dr-calux<sup>®</sup> en de EROD biomarker gevoelig voor blootstelling aan dioxine-achtige stoffen, waarbij de eerste op potentiële risico's duidt, en de EROD biomarker op actuele effecten in mollen. De er-calux<sup>®</sup> is responsief op estrogene stoffen, terwijl Acetylcholine esterase remming optreedt als gevolg van blootstelling aan fosfor-ester pesticiden. Aromatase staat ook onder invloed van dioxine-achtige stoffen, en laat bij blootstelling een verminderde activiteit zien. Steroïd hormoon niveaus zijn effect parameters, en duiden op de aanwezigheid van hormoonverstorende stoffen.

In geval van de aan dioxines en aanverwante stoffen gekoppelde biomarkers en assays laten de mollen van de locatie een verhoogde concentratie in de dr-calux<sup>®</sup> zien. Dit duidt op de aanwezigheid van dioxines of vergelijkbare stoffen in de locatie DR09, en daarmee potentiële risico's op effecten als gevolg van deze blootstelling. Eén van de gevoeligste effect-parameters waarmee blootstelling aan dioxines of aanverwante stoffen in organismen kan worden gemeten is de inductie van bepaalde leverenzymen, meetbaar met de EROD biomarker. In de mollen laat deze biomarker geen inductie zien, wat erop duidt dat er geen effecten van blootstelling aan dioxine-achtige stoffen optreden in de mollen. Het lijkt er daarmee op dat de potentiële risico's die aantoonbaar zijn met de dr-calux<sup>®</sup> metingen, zich (nog) niet manifesteren in daadwerkelijke effecten. Het is vaak zo dat een bepaalde drempelwaarde in blootstelling bereikt moet worden om effecten op de activiteit van lever enzymen te bereiken, en klaarblijkelijk is deze drempelwaarde nog niet bereikt. De toxische equivalenten (TEQs) gevonden in de mollen van locatie DR09 zijn in de range van 1,7 tot 4,3 ng/g vet.



In geval van aromatase wordt ook geen effect gemeten van de verhoogde blootstelling aan dioxineachtige stoffen. Dit lijkt daarmee vergelijkbaar met de EROD biomarker. Al met al is het voor wat betreft dioxine-achtige verontreinigingen zo, dat op de locatie DR09 potentiële risico's aantoonbaar zijn gebleken, maar deze uiten zich niet in daadwerkelijke effecten. Het is echter niet bekend wat de drempelwaarde is voor bijvoorbeeld EROD inductie in mollen, en daarmee lijkt het van belang om enerzijds de potentiële risico's van blootstelling aan deze stofgroep verder te monitoren, maar tevens om daadwerkelijke effectmetingen op te nemen in een dergelijke monitoring opzet.

Voor wat betreft de biomarkers gerelateerd aan hormoonverstorende stoffen en fosfor-ester pesticiden zijn er geen aanwijzingen die duiden op risico's van verhoogde blootstelling. Hierbij dient te worden opgemerkt dat het aantal dieren en locatie waar dieren gevangen konden worden laag is. Dit bemoeilijkt de extrapolatie van deze discussie naar een groter gebied binnen de Provincie.



## 5 Conclusies

### *Trendanalyse*

- De in 2002 gemeten concentraties *p,p'*-DDE in **wormen** van natuur locaties zijn hoger dan de concentraties op agrarische concentraties. Op de natuur locaties zijn de concentraties in 2002 ook hoger dan in 1998. Voor de andere bestrijdingsmiddelen is geen temporele en ruimtelijke variabiliteit, gerelateerd aan landgebruik, aantoonbaar gebleken. Er worden geen overschrijding van concentraties OCBs gevonden wanneer, volgens de IMB, getoetst met referentiegetallen gebaseerd op wormen uit uiterwaarden.
- In de **mollen** zijn voor verschillende OCBs overschrijding van referentiedata aantoonbaar. Met name *p,p'*-DDE, dieldrin, en cis-heptachloorepoxide zijn aandachtspunten. De concentraties vertonen in het algemeen een neergaande beweging, met name voor *p,p'*-DDE, *p,p'*-DDT, *p,p'*-DDD en cis-heptachloorepoxide, echter minder waarschijnlijk voor dieldrin.

### *Risicoanalyse*

- Uit de regenworm bioassay uitgevoerd in grond met verschillende graad van verontreiniging komt geen relatie tussen de populatiegroeisnelheid en verontreiniging naar voren. Er worden geen effecten van verontreinigingen op het voorkomen van wormen in de Krimpenerwaard verwacht.
- Een modelmatige rekensessie laat zien dat er geen potentiële risico's op doorvergiftiging van OCBs van regenworm naar hogere organismen te verwachten zijn. De interne wormenconcentraties zijn in die sessie geassocieerd met een Verwaarloosbaar Risico, wanneer getoetst aan de, van bodem-normen afgeleide, criteria.
- Met behulp van biomarkers en bioassays bij mollen is verhoogde blootstelling aan dioxine-achtige stoffen aannemelijk gemaakt op locatie DR09, en zijn potentiële risico's aantoonbaar gebleken van deze stoffen. Actuele risico's, als inductie van leverenzymen zijn niet aantoonbaar gebleken. Voor wat betreft biomarkers gerelateerd aan andere stofgroepen of werkingsmechanismen zijn geen risico's gevonden.

### *Verkenning naar andere probleemstoffen*

- Dioxine-achtige stoffen vormen een potentieel risico voor mollen.



## 6 Aanbevelingen

### *Verdere monitoring in tijd en ruimte OCBs*

In de huidige studie worden geen belangrijke trends in de tijd aangetoond voor de verschillende OCBs. Het lijkt daarmee voor de hand liggen dat nadere monitoring in de tijd niet noodzakelijk is. Echter, in de huidige studie is duidelijk dat ruimtelijke variabiliteit wel aanwezig is, en lokaal verhoogde concentraties aantoonbaar waren. Het is daarom aanbevelenswaardig om in vervolgonderzoek van PIMM minder aandacht te besteden aan herhaalde metingen op vastgestelde locaties, maar meer aandacht te besteden aan het ruimtelijk dekkend maken van de metingen, d.w.z. op meer locaties onderzoek uit te voeren.

De schaal waarop ruimtelijk variabiliteit in de huidige studie aangetoond is klein, namelijk op het niveau van wormen: enkele tientallen meters. PIMM is echter niet direct gericht op deze schaal, maar wil een provinciaal overzicht bieden. Het is daarom aanbevelenswaardig om metingen zodanig uit te voeren dat conclusies op een grotere ruimtelijke schaal getrokken kunnen worden. Mogelijk dat monitoring van mollen of andere hogere organismen (steenuil, grutto?) die blootstelling integreren over een bepaalde ruimtelijk schaal, of het gebruik van mengmonsters van wormen van verschillende sublocaties binnen een perceel, hiervoor een oplossing kan bieden.

### *'Nieuwe' stoffen voor PIMM*

De bioassays in mollen zijn beperkt uitvoerbaar gebleken, duidelijk is echter wel dat een potentieel probleem te verwachten is in relatie tot dioxine-achtige stoffen (hieronder vallen o.a. dioxines, furanen, PCBs en PAKs). Verhoogde blootstelling aan dit soort stoffen is aantoonbaar gebleken op locatie DR09, en nadere monitoring van dit soort stoffen lijkt daarmee aan de orde. In het ecologisch deel van het Verificatieonderzoek Krimpenerwaard is een relatie aantoonbaar gebleken tussen het aantal slootdempingen dat in een territorium van grutto's voorkomt, en het voorkomen van dioxine-achtige stoffen in de eieren van grutto's. Dit duidt erop dat het materiaal in slootdempingen mogelijk een bron van dit soort stoffen is. De aangetoonde potentiële risico's in de huidige studie in de mollen, en de resultaten van het Verificatie Onderzoek Krimpenerwaard duiden er op dat deze groep van stoffen nader onderzoek behoeft. Hierbij zou aandacht besteedt moeten worden aan de rol van slootdempingen als potentiële bron, al zijn andere bronnen als (illegale) stort van afval in het verleden, niet uit te sluiten.

Een andere groep nieuwe stoffen die mogelijk aandacht behoeft zijn diergeneesmiddelen die gebruikt worden in de veeteelt. Dit soort middelen omvat een zeer grote groep, waaronder antibiotica, antiparasitica etc. en wordt als veevoederadditief preventief gebruikt of als curatief geneesmiddel. In onderzoek gericht op het aquatisch milieu is het voorkomen van verschillende van dit soort stoffen aantoonbaar gebleken. Voor het terrestrisch milieu in Nederland is hiernaar minder onderzoek gedaan, echter op basis van onderzoek gedaan in ons omringende landen, is het aannemelijk dat residuen in de bodem aanwezig zijn. De risico's

hiervan zijn, zonder nadere gegevens, niet goed analyseerbaar, het lijkt echter aanbevelenswaardig hier aandacht aan te geven. Bij aanvang zou een overzicht gemaakt kunnen worden om het (lokale) gebruik van dit soort stoffen te inventariseren, wat gebruikt kan worden om potentiële risico's te duiden en de groep stoffen af te bakenen. Op basis hiervan zou een nader onderzoek gedefinieerd kunnen worden waarin daadwerkelijk metingen in bodemmonsters opgenomen kunnen worden.

In relatie tot de diergeneesmiddelen is het voorkomen van natuurlijk hormonen uit de mest in sloten vernoemenswaardig. In het landsdekkend LOES-project is gesignaleerd dat het voorkomen van deze stoffen aandacht behoeft in weidegebieden.

## Literatuur

- Aarts, J.M.M.J.G., Denison, M.S., Cox, M.A., Schalk, A.C., Garrison, P.A., Tullis, K., de Haan, L.H.J. & Brouwer, A. 1995. Species specific antagonism of Ah receptor activity of 2,2',5,5'-tertachloro- and 2,2',3,3',4,4'-hexachlorobiphenyl. *European journal of pharmacological and environmental toxicology* 293:463-474.
- Allen-Gil, S.M., Landers, D.H., Wade, T.L., Sericano, J.L., Lasorsa, B.K., Crecelius, E.A. & Curtis, L.R. 1997. Heavy metals, organochlorine pesticide and polychlorinated biphenyl contamination in arctic ground squirrels (*Spermophilus parryi*) in Northern Alaska. *Arctic* 50: 323-333.
- Bosveld A.T.C., C. Klok, J.M. Bodt & M. Rutgers. 2000. Ecologische Risico's van bodemverontreinigingen in toemaakdek in de gemeente De Ronde Venen. Alterra rapport nr 151. 94 p. Wageningen 2000.
- Hendriks, A.J., Ma, W.-C., Brouns, J.J., DeRuiter-Dijkman E.M., & Gast, R. 1995. Modelling and monitoring of organochlorine and heavy metal accumulation in soils, earthworms and shrews in Rhine-delta floodplains. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 29: 115-127.
- Klok, T.C. 1997. A quest for the role of habitat quality in nature conservation. Proefschrift Universiteit van Amsterdam. ISBN 90-76894-01-9.
- Klok, T.C. & De Roos, A.M. 1996. Population level consequences of toxicological influences on individual growth and reproduction in *Lumbricus rubellus* (Lumbricidae, Oligochaeta). *Ecotoxicology and environmental safety* 33:118-127.
- Lakhani, K.H. & Satchell, J.E. 1970. Production by *Lumbricus terrestris*. *Journal of animal ecology* 39:473-494.
- Laubscher, J.A., Dutt, G.R. & Roan, C.C. 1971 Chlorinated insecticide residues in wildlife and soil as a function of distance from application. *Pesticide Monitoring Journal* 5:251-258.
- Legler, J. 2001. Development and application of *in vitro* and *in vivo* reporter gene assays for the assessment of (xeno-) estrogenic compounds in the aquatic environment. Proefschrift Wageningen Universiteit. ISBN 90-5808-362-4.
- Legler, J. Van den Brink, C., Brouwer, A., Murk, A.J., Van der Saag, P.T., Vethaak, A.D. & Van den Burg, B. 1999. Development of a stably transfected estrogen receptor-mediated luciferase gene assay in the human T47D breast cancer cell line. *Toxicological Sciences* 48: 55-66.

- Lephart, E.D. & Simpson, E.R. 1991. Assay of aromatase activity. *Methods of Enzymology* 206:477-483.
- Murk, A.J., Legler, J., Denison, M.S., Giesy, J.P., Van de Guchte, C. & Brouwer, A. 1996. Chemical-activated luciferase gene expression (CALUX): a novel *in vitro* bioassay for Ah receptor active compounds in sediments and pore water. *Fundamental and applied toxicology* 33:149-160.
- Osovski, S.L., Brewer, L.W., Barker, O.E. & Cobb, G.P. 1995. The decline of mink in Georgia, North Carolina and South Carolina: the role of contaminants. *Archives of environmental contamination and toxicology* 29: 418-423.
- Poole, K.G., Elkin, B.T. & Bethke R.W. 1998. Organochlorine and heavy metal contaminants in wild mink in western Northwest territories, Canada. *Archives of environmental contamination and toxicology* 34: 406-413.
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. 1969. *Biometry*. Freeman, San Francisco, USA.
- Somers, J.D., Goski, F.J., & Barret, M.W. 1987. Organochlorine residues in northeastern Alberta otters. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 30:783-790.
- Tummers R.J.E. 1998. Rapportage bodemkwaliteitsmeetnet Provincie Zuid-Holland. Tauw rapport, projectnummer: 3545210. Deventer 1998
- Van den Brink, N.W. 1997. Probing for the invisible. Proefschrift Universiteit Groningen.
- Van den Brink, N.W., Groen, N.M., de Jonge, J., Wegener, J.W.M & Bosveld, A.T.C. 2001. Verontreinigingen in het rivierengebied: een bedreiging voor de steenuil? Alterra rapport 204. Alterra Wageningen UR.
- Van der Oost, R., Porte Visa, C., Van den Brink, N.W. (geaccepteerd). Biomarkers in environmental assessment. In: Den Besten, P.J. & Munawar, M. editors. *Biological Testing in Marine & Freshwaters: Trends, Relevance and Linkages to Ecosystem Health*. Society of aquatic and environmental health.
- Wegener, J.W.M., Stroomberg, G.J., Van der Horst, A., Oudhoff, K.A. & Swart, C.P. 1999. Bestrijdingsmiddelen in wormen, mollen en muizen. Instituut voor Milieuvraagstukken, Vrije Universiteit. Rapportnummer R-99/11. ISBN 90-5383-698-5.
- Wegener, J.W.M., Van der Horst, A., Oudhoff, K.A., Hop-man-Ubbels, G., Burgers, I.C.B., Leonards, P.E.G. & Mes, R. 1999b. Nader onderzoek naar het voorkomen van lindaan en drins (en andere organochloorbestrijdingsmiddelen) in mollen in Zuid-Holland. Instituut voor Milieuvraagstukken, Vrije Universiteit. Rapportnummer R-99/09. ISBN 90-5383-679-9.



## Afkortingen

IMB:	Integrale Milieubeoordelingsystematiek. Een bij de Provincie Zuid-Holland in gebruik zijnde systematiek met criteria om milieuparameters te kunnen beoordelen
VVN:	Veevoedernorm
LOC_ID	Unieke code meetlocatie, zoals gebruikt door PZH.
VOORLOPIG_LOC_ID	Werkcode meetlocatie (monster), niet-uniek. Voor eventueel gebruik door het onderzoek uitvoerende instituut.
SUBLOC1_X	In het geval van mengmonster die per locatie gesteld is uit 2 of 3 submonsters uit 2 of 3 sublocaties; x-coördinaat (in meters) van de eerste sublocatie
SUBLOC1_Y	In het geval van mengmonster die per locatie gesteld is uit 2 of 3 submonsters uit 2 of 3 sublocaties; y-coördinaat (in meters) van de eerste sublocatie
SUBLOC2_X	In het geval van mengmonster die per locatie gesteld is uit 2 of 3 submonsters uit 2 of 3 sublocaties; x-coördinaat (in meters) van de tweede sublocatie
SUBLOC2_Y	In het geval van mengmonster die per locatie gesteld is uit 2 of 3 submonsters uit 2 of 3 sublocaties; y-coördinaat (in meters) van de tweede sublocatie
SUBLOC3_X	In het geval van mengmonster die per locatie gesteld is uit 2 of 3 submonsters uit 2 of 3 sublocaties; x-coördinaat (in meters) van de derde sublocatie
SUBLOC3_Y	In het geval van mengmonster die per locatie gesteld is uit 2 of 3 submonsters uit 2 of 3 sublocaties; y-coördinaat (in meters) van de derde sublocatie
VELD_PERS_NAAM	Initialen van de persoon die het veldwerk of vooronderzoek heeft uitgevoerd
MON_DAT	Monster datum



## Appendix A Gegevens met betrekking tot de monsterlocaties regenwormen.

MON_ DAT	VELD_ PERS_ NAAM	LOC.ID	VOORLOPIG_ LOC_ID	SUBLOC 1_X	SUBLOC 1_Y	SUBLOC 2_X	SUBLOC 2_Y	SUBLOC 3_X	SUBLOC 3_Y	OPMERKING
21-10-2002	JvdP/JB	Z23	A01	103201	437453	103348	437415	103381	437379	Perceel met elektriciteitsmast. Niet bemonsterd onder mast waardoor 50 meter terug richting ingang niet mogelijk was daardoor 3e monsterpunt 100 meter verder in weiland
21-10-2002	JvdP/JB	Z24	A02	103403	437406	103430	437348	103467	437303	
6-11-2002	ML/JB	Z28	A03	105335	441877	105371	441844	105298	441913	Perceel redelijk droog
6-11-2002	ML/JB	Z27	A04	105340	441930	105391	441908	105311	441970	Perceel redelijk droog
21-10-2002	JvdP/JB	Z22	A05	108849	445504	108900	445461	108810	445531	Koeien, 2e monster ter hoogte van bosje links
23-10-2002	JvdP/JB	Z36	A06	109160	438607	109159	438556	109166	438656	Wit huis met water erachter, direct achter huis langs vaart
22-10-2002	JvdP/JB	Z35	A08			109416	438683	109430	438744	Recht tegenover nr 153 was eerst water (kaart) nu is dit betonpad. Links van betonpad
23-10-2002	JvdP/JB	Z29	A07	109408	440576	109417	440522	109385	440598	Direct achter boerderij links pad volgen, over bruggetje eerste perceel rechts. Geen hoge wormendichtheid wel mollen. Op 109389/440620 zeer hoge dichtheid A. longa.
23-10-2002	JvdP/JB	Z30	A10	109521	440042	109507	440090	109496	440132	Via nr. 31 via betonpad ovr brug, linksaf laatste weiland voor bosje helemaal aan het einde links in het weiland. Vooral A. Caliginosa, ook chlorotica rubellus octalasion geen mollen.
6-11-2002	ML/JB	KW06W-A	A09	109488	443239	109508	443194	109492	443257	Erg nat perceel. 3e monsterpunt tegen betonpad. Weinig wormen van dit punt.
5-11-2002	ML/JB	KW06W-B	A11	109549	442910	109566	442858	109533	442963	Monsters liggen ongeveer 20 meter in naastgelegen perceel. Was niet mogelijk om op het betreffende perceel te komen in verban met sloten. Bij 3e monsterpunt geen A caliginosa wel L. rubellus. Zeer veel octalasion, rosea en chlorotica
5-11-2002	ML/JB	KW05W-A	A14	111210	441520	111227	441480	111192	441565	Perceel erg stukgetrapt door het vee.
4-11-2002	ML/JB	KW05W-B	A12	111130	441350	111146	441298	111115	441392	Perceel erg nat en volledig stukgetrapt door het vee. Veel A. rosea en octalasion weining A. chlorotica
4-11-2002	ML/JB	Z32	A13	111200	442350	111178	442375	111221	442312	Benedenkerkseweg nr. 110 is de eigenaar, nr. 108 is de pachter. Eerst elden bij beiden. Schone laarzen meenemen om besmetting te voorkomen (laarzen op bedrijf verkrijgbaar). 2e monster ligt ongeveer 40 meter van 1e monster tegen een brede sloot. Veel octalasion en chlorotica

MON_ DAT	VELD_ PERS_ NAAM	LOC.ID	VOORLOPIG_ LOC_ID	SUBLOC 1_X	SUBLOC 1_Y	SUBLOC 2_X	SUBLOC 2_Y	SUBLOC 3_X	SUBLOC 3_Y	OPMERKING
4-11-2002	ML/JB	Z31	A15	111430	442155	111428	442138	111404	442138	Naast huis nr. 123. Nieuwe eigenaar: De Harting (BBO) tel. 070-3371247, 06-52401484. Zeer nat perceel, de gegraven kuil llopt vol met water. Oude land van Henk Kaptein binnen de wetering. 2e monster ongeveer 40 meter verder dan 1e monster (kan niet verder anders ligt het op de inloop van het volgende perceel. 3e monster vooraan bij het hek. veel A. chlorotica weinig octalasion.
22-10-2002	JvdP/JB	Z37	A21	116447	441477	116469	441520	116477	441422	13-11-2002 bijvangst door Annemariet/Jos. 4e perceel vanaf de franse kade te beriken vanaf bovenberg eerst breed perceel na hek linkse perceel. Zeer weinig wormen grond zeer droog (ongeveer 3 cm vochtig) ongeveer evenveel rubellus als caligunosa
5-11-2002	ML/JB	Z33	A16	114241	442290	114219	442342	114266	442234	Perceel niet plasnat (redelijk droog) goede wormenbezetting. Veel A rosea enkele octalasion en chlorotica
5-11-2002	ML/JB	Z34	A17	114270	442300	114523	442351	114290	442256	Perceel redelijk droog, goede wormenbezetting. Veel A. rosea weining octalasion en chlorotica 1 L terrestris dood
22-10-2002	JvdP/JB	Z25	A18	114490	438860	114484	438788	114502	438917	Vanaf nr 41 (ligt achter nr. 39) tot aan hk achter boerderij. Meest rechtse perceel. Hier bevindt zich ook een slootdemping. A. cupulifera. Veel caligunpsa ook rubellus chlorotica. Vrij vochtige vette grond.
6-11-2002	ML/JB	Z26	A19							Perceel vervalt, is een maisakker.
12-11-2002	AvdH/JB	KW02W	A20	116390	441120	116393	441164	116401	441074	Ruig perceel veel mollenactiviteit Door het perceel loopt een demping. 2e monster weinig A.caligunosa wel L.rubellus. 3e monsterpunt ongeveer 10 meter van de scheiding boerderijkant zeer weining wormen.
13-11-2002	AvdH/JB	KW03N	N01	105790	437550	105816	437508	105752	437563	Op het perceel geen plassen toch lopen gaatjes snel vol. 2e monster 40 meter van 1e monster, anders te dicht bij de sloot (weinig rubellus) 3e monster 4 meter van de sloot aan de rijweg en 6 meter van de binnensloot. (rosea en enkele octalasion).
12-11-2002	AvdH/JB	Z01	N02	106083	439395					Puur trilveen zeer drassig staay grotendeels blank. 80% pitriet (1e perceel met bomen. 1e monster ligt op inrit van het perceel ongeveer 50 meter van het prikkeldraad. 2e monster: tussen het pitriet wat plekjes gras 1 gaatje met 1 rubellus adult en 1 gaatje met 1 rubellus juveniel. 3e monster komt uit in de sloot langs de rand geen wormen.
12-11-2002	AvdH/JB	Z02	N03	106190	439410	106227	439383	106160	439441	Zeer nat en drassig (groot deel met pitriet). Het perceel heeft aan de linkerkant en de voorkant een verhoogde grasrand. Hierin wat mollenactiviteit en in een paar gaatjes 1 caligunosa adult en 1 rubellus subadult.

MON_ DAT	VELD_ PERS_ NAAM	LOC.ID	VOORLOPIG_ LOC_ID	SUBLOC 1_X	SUBLOC 1_Y	SUBLOC 2_X	SUBLOC 2_Y	SUBLOC 3_X	SUBLOC 3_Y	OPMERKING
12-11-2002	AvdH/JB	KW06N	N05	106860	443110	106898	443079	106828	443143	3e monster weinig caliginosa (10) op alle plekken rosea, octalasion en veel rubellus
30-10-2002	AvdH/JB	Z09	N06	108654	444184	108634	444229	108711	444158	erg nat perceel. Over een groot oppervlak uitgezocht voor wormen. Weining chlorotica rosea en octalasion.
21-10-2002	JvdP/JB	Z05	N07	108647	445538	108625	445579			Andere zijde weiland bij bosje. Veel caliginosa, chlorotica octalasion, rubellus castanis rosea.
30-10-2002	AvdH/JB	Z10	N09	108922	443892	108964	443862	108705	443901	Zeer vochtig perceel. Zeer veel chlorotica octalasion en rosea aanwezig
12-11-2002	AvdH/JB	Z08	N10	109230	445059	109268	445091	109198	445094	3/4 van het perceel staat blank. Monsters genoemd op een iets hogere strook langs de sloot.
11-11-2002	AvdH/JB	KW50N	N11	109670	436670	109667	436627	109686	436705	op het perceel een aantal plassen bij het 2e monster wordt het perceel duidelijk natter. Gegraven gaatje loopt vol met water. 3e monster op ongeveer 30 links van het hek gelegd wat breeduit gemonsterd een enkele octalasion niet veel chlorotica 1 cupulifera redelijk veel rosea.
11-11-2002	AvdH/JB	Z18	N12	109670	436780	109683	436830	109670	436751	Nat perceel (natter dan KW50N) 3e monster ligt op 40 meter van 1e monster en ongeveer 15 meter van hek. Redelijk rosea en castaneus geen chlorotica en octalasion
11-11-2002	AvdH/JB	Z17	N13	109800	437200	109797	437244	109789	437165	Nat perceel. Matige wormen bezetting, zeer plaatselijk. Rosea en chlorotica geen octalasion
28-10-2002	AvdH/JB	Z15	N14	110878	437569	110873	437518	110875	437608	Nat en weinig wormen
29-10-2002 en 30-10- 2002	AvdH/JB	Z16	N15	110930	437550	110924	437504	110934	437589	Veel puin, grint vooral op de hogere plekken. Redelijk veel octalasion.
28-10-2002	AvdH/JB	Z14	N16	112600	439658	112603	439709	112595	439614	2 chlorotica geen andere soorten.
28-10-2002	AvdH/JB	Z13	N17	112703	439670	112705	439723	112701	439620	1 chlorotica en een paar octalasion, geen andere soorten
28-10-2002	AvdH/JB	KW17N	N18	112940	439550	112950	439598	112945	439502	Erg nat, veel puin ondrelaag hogere delen zand wel rubellus nauwelijk caliginosa redlijk aantal octalasion
29-10-2002	AvdH/JB	Z11	N19	116790	441370	116786	441420	116795	441319	1e en 2e monster weing wormen. 3e monster redlijk aantal
29-10-2002	AvdH/JB	Z12	N20	116800	441790	116793	441834	116807	441742	Perceel erg slecht met wormen. Paar uur bezig ongeveer 40 rubellus

Appendix A. vervolg: Adressen en telefoonnummers eigenaren monsterlocaties met agrarische bestemmin

VOORLOP IG_LOC_I D	LOC.ID	X	Y	landgebruik	Eigenaar	Adres	Telefoon
A01	Z23	103320	437450	A	J. Borreman	Ijsseldijk West 57, 2935 CK Ouderkerk a/d Ijssel	0180-683322
A02	Z24	103360	437440	A	J. Borreman	Ijsseldijk West 57, 2935 CK Ouderkerk a/d Ijssel	0180-683322
A03	Z28	105320	441880	A	J Graafland	Schaapjeszijde 4, 2935 CK Bergambacht	0182-362325
A04	Z27	105340	441930	A	J Graafland	Schaapjeszijde 4, 2935 CK Bergambacht	0182-362325
A05	Z22	108850	445510	A	G van Wissen	Veerstalblok 11, 2831 BS Gouderak	0182-522958
A06	Z36	109160	438580	A	J Schep	Zuidbroek 153, 2861 LL Bergambacht	0182-362536
A08	Z35	109420	438730	A	J Schep	Zuidbroek 153, 2861 LL Bergambacht	0182-362536
A07	Z29	109410	440570	A	M de Vries	Benedenheulsegweg 31, 2821 LV Stolwijk	0182-362779
A10	Z30	109520	440040	A	M de Vries	Benedenheulsegweg 31, 2821 LV Stolwijk	0182-362779
A09	KW06W-A	109490	443240	A	C.M. van Dieren	Beijerseweg 99, 2821 NE Stolwijk	0182-513309
A11	KW06W-B	109530	442910	A	C.M. van Dieren	Beijerseweg 99, 2821 NE Stolwijk	0182-513309
A12	KW05W-B	111130	441350	A	J. Verburg	Benedenkerkseweg 139, 2821 LC Stolwijk	0182-342923
A14	KW05W-A	111210	441520	A	J. Verburg	Benedenkerkseweg 139, 2821 LC Stolwijk	0182-342923
A13	Z32	111200	442350	A	W. Boer	Benedenkerkseweg 86, 2821 LE Stolwijk	0182-341264
A15	Z31	111430	442180	A	W. Boer	Benedenkerkseweg 86, 2821 LE Stolwijk	0182-341264
A21	Z37	116480	441540	A	M. Rooken	Bovenberg 130, 2861 BD Bergambacht	0182-382994
A16	Z33	114240	442290	A	G. Anker	Schoonouwensegweg 9, 2821 NW Stolwijk	0182-342259
A17	Z34	114270	442300	A	G. Anker	Schoonouwensegweg 9, 2821 NW Stolwijk	0182-342259
A18	Z25	114490	438860	A	J. Hakkesteegt	Tussenlanen 41, 2861 CC Bergambacht	0182-351393
A19	Z26	114580	438570	A	J. Hakkesteegt	Tussenlanen 41, 2861 CC Bergambacht	0182-351393
A20	KW02W	116390	441120	A	van Zwienen	Bovenberg 126, 2861 BD Bergambacht	0182 - 380624

## Appendix A. monsterlocaties mollen

VELD_PERS_NAAM	LOC.ID	VOORLOPIG_LOC_ID	Coördinaten (X, Y)	Opmerkingen
voorbezoek JvdP/Jacobs	DR16	E03	108880 418350	Zeer nat weiland, geen mollenactiviteit waarneembaar. Wel activiteit op direct aangrenzende dijk. Met toestemming van PZH dit als locatie aangewezen. Betreft perceel op zuidplaatje (ten zuiden van Dordrecht) direct grenzend aan de Merwede, achter winterdijk.
voorbezoek JvdP/Jacobs	DR09	E02	101430 423350	Zeer ruig terrein, rundvee. Door ruigheid en oneffenheid zeer moeilijk om hier levende mollen te vangen. Betreft perceel in polder groot koninkrijk. In beheer van natuurmonumenten. Beheerder Henk Maaier 0186-691446 of 06-54295287.

## Appendix A. monsterlocaties grond voor wormen bioassays

VELD_PERS_NAAM	LOC.ID	Coördinaten (X, Y)	Opmerkingen
JvdP/JB	AW04N	126840 435750	Betreft perceel in polder Blommendaal, Gemeente Meerkerk, direct ten oosten van de A27. Monsterlocatie ligt in natuurreserveaat. Bij verzamelen grond rundvee en stier. In overleg met Bosveld, grond ongeveer 25 meter vanaf parallelweg bemonsterd.
JB	KW15W	110850 442200	
JB	KW01N	106740 437840	





## Appendix B. Concentraties OCBs in wormen (ng/g vet); <: concentraties lager detectielimiet

LOC.ID	Monstercode	Species	Vet (mg)	Vet (%)	o,p'-DDE	$\alpha$ -endosulfan	$\alpha$ -chlordaen	p,p'-DDE	dieldrin	o,p'-DDD	endrin	$\beta$ -endosulfan	p,p'-DDD	o,p'-DDT	endosulfansulfaat	p,p'-DDT
Z05	PIMM-16	A. caliginosa	9.4	0.20	<26.6	<266	<66.5	43.9	71.9	<26.6	<266	<266	<26.6	<66.5	<26.6	<26.6
Z07	PIMM-18	A. caliginosa	10.7	0.20	<23.4	<234	<58.4	49.2	283.6	<23.4	<234	<234	14.5	<58.4	<23.4	22.5
Z08	PIMM-62	A. caliginosa	11.4	0.21	<22.0	<220	<54.8	22	136.3	<22.0	<220	<220	<22.0	<54.8	<22.0	<22.0
Z09	PIMM-24	A. caliginosa	7.3	0.15	<34.3	<343	<85.6	30.1	103.3	<34.3	<343	<343	<34.3	<85.6	<34.3	<34.3
Z10	PIMM-26	A. caliginosa	9.2	0.19	<27.2	<272	<67.9	62.1	98.3	<27.2	<272	<272	<27.2	<67.9	<27.2	22.7
Z11	PIMM-28	A. caliginosa	9.6	0.19	<26.0	<260	<65.1	63.1	123.8	<26.0	<260	<260	14.1	<65.1	<26.0	<26.0
Z12	PIMM-30	A. caliginosa	11.2	0.22	<22.3	<223	<55.8	32.1	137	<22.3	<223	<223	<22.3	<55.8	<22.3	23.6
Z13	PIMM-32	A. caliginosa	9	0.18	<27.8	<278	<69.4	45.5	194.4	<27.8	<278	<278	<27.8	<69.4	<27.8	23.3
Z14	PIMM-34	A. caliginosa	9	0.17	<27.8	<278	<69.4	39.9	123.5	<27.8	<278	<278	<27.8	<69.4	<27.8	<27.8
Z15	PIMM-36	A. caliginosa	12.3	0.20	<20.3	<203	<50.8	41.9	<50.8	<20.3	<203	<203	15.9	<50.8	<20.3	<20.3
Z16	PIMM-38	A. caliginosa	11.3	0.22	<22.1	<221	<55.3	27.6	154.7	<22.1	<221	<221	<22.1	<55.3	<22.1	<22.1
Z17	PIMM-64	A. caliginosa	8.3	0.15	<30.0	<300	<75.3	42.9	134.8	<30.0	<300	<300	<30.0	<75.3	<30.0	<30.0
Z18	PIMM-66	A. caliginosa	5.6	0.10	<44.6	<446	<111	68	198.5	<44.6	<446	<446	<44.6	<111	<44.6	<44.6
Z22	PIMM-12	A. caliginosa	12.5	0.22	<18.8	<188	<50.0	39.3	167.1	<18.8	<188	<188	<18.8	<50.0	<18.8	12.1
Z23	PIMM-14	A. caliginosa	9.8	0.22	<25.5	<255	<63.8	33.5	128.9	<25.5	<255	<255	<25.5	<63.8	<25.5	24.4
Z24	PIMM-06	A. caliginosa	9.7	0.20	<25.8	<258	<64.4	23.8	92.5	<25.8	<258	<258	<25.8	<64.4	<25.8	16.9
Z25	PIMM-22	A. caliginosa	10.3	0.18	<24.3	<243	<60.7	60.2	163.6	<24.3	<243	<243	21.7	<60.7	<24.3	<24.3
Z27	PIMM-42	A. caliginosa	10.3	0.20	<24.3	<243	<60.7	24.5	120.4	<24.3	<243	<243	<24.3	<60.7	<24.3	<24.3
Z28	PIMM-44	A. caliginosa	11.9	0.17	<21.0	<210	<52.5	28.7	185.8	<21.0	<210	<210	<21.0	<52.5	<21.0	<21.0
Z29	PIMM-20	A. caliginosa	11.1	0.21	<22.5	<225	<56.3	38	60.4	<22.5	<225	<225	14.2	<56.3	<22.5	13.7
Z30	PIMM-08	A. caliginosa	12.6	0.22	<19.8	<198	<49.6	40.6	93.4	<19.8	<198	<198	<19.8	<49.6	<19.8	<19.8
Z31	PIMM-46	A. caliginosa	8.1	0.15	<31.0	<310	<77.2	43.6	96.7	<31.0	<310	<310	19	<77.2	<31.0	31.5
Z32	PIMM-48	A. caliginosa	11	0.17	<22.7	<227	<56.8	40.2	45.2	<22.7	<227	<227	<22.7	<56.8	<22.7	<22.7
Z33	PIMM-50	A. caliginosa	9	0.14	<28.0	<280	<69.4	28.1	64.6	<28.0	<280	<280	<28.0	<69.4	<28.0	<28.0
Z34	PIMM-52	A. caliginosa	9.8	0.16	<25.5	<255	<63.8	132.6	63.6	<25.5	<255	<255	38.7	<63.8	<25.5	124.2
Z35	PIMM-02	A. caliginosa	12	0.21	<20.8	<208	<52.1	27.4	<52.1	<20.8	<208	<208	<20.8	<52.1	<20.8	31.3
Z36	PIMM-10	A. caliginosa	6.8	0.13	<36.8	<367	<91.9	61	136.1	<36.8	<367	<367	<36.8	<91.9	<36.8	<36.8
Z37	PIMM-04	A. caliginosa	9.4	0.19	<26.6	<266	<66.5	40.5	170.3	<26.6	<266	<266	<26.6	<66.5	<26.6	36.9

LOC.ID	Monstercode	Species	Vet (mg)	Vet (%)	o,p'-DDE	$\alpha$ -endosulfan	$\alpha$ -chlordan	p,p'-DDE	dieldrin	o,p'-DDD	endrin	$\beta$ -endosulfan	p,p'-DDD	o,p'-DDT	endosulfansulfaat	p,p'-DDT
Z37	PIMM-68	A. caliginosa	9.6	0.15	<26.0	<260	<65.1	47.2	169.2	<26.0	<260	<260	18.9	<65.1	<26.0	40.1
KW02W	PIMM-70	A. caliginosa	10.6	0.15	<23.6	<236	<59.0	37.9	158.8	<23.6	<236	<236	22.6	<59.0	<23.6	<23.6
KW03N	PIMM-72	A. caliginosa	12.6	0.20	<19.8	<198	<49.6	40.6	209.1	<19.8	<198	<198	<19.8	<49.6	<19.8	<19.8
KW05W-A	PIMM-54	A. caliginosa	9	0.15	15.3	<280	<69.4	57.2	194.5	<28.0	<280	<280	22.7	<69.4	<28.0	<28.0
KW05W-B	PIMM-56	A. caliginosa	8.6	0.15	<29.1	<291	<72.7	59.9	96.9	<29.1	<291	<291	19	<72.7	<29.1	61.9
KW06N	PIMM-76	A. caliginosa	13.2	0.22	<19.0	<190	<47.5	90.4	<47.5	<19.0	<190	<190	<19.0	<47.5	<19.0	<19.0
KW06W-A	PIMM-58	A. caliginosa	10.8	0.18	<23.1	<231	<57.9	31.3	125.3	<23.1	<231	<231	<23.1	<57.9	<23.1	23.2
KW06W-B	PIMM-60	A. caliginosa	11.2	0.20	<22.3	<223	<55.8	21.5	107	<22.3	<223	<223	<22.3	<55.8	<22.3	<22.3
KW17N	PIMM-40	A. caliginosa	8	0.22	<31.3	<313	<78.1	52.5	<78.1	<31.3	<313	<313	185.2	<78.1	<31.3	182.2
KW50N	PIMM-74	A. caliginosa	11.4	0.19	<22.0	<219	<54.8	48.3	130.6	<22.0	<219	<219	<22.0	<54.8	<22.0	<22.0

Appendix B. vervolg.

LOC.ID	Species	HCBu	QCB	HCB	$\alpha$ -HCH	$\alpha+\gamma$ -HCH	$\delta$ -HCH	$\epsilon$ -HCH	Heptachloor	aldrin	isobenzaan	isodrin	OCS	cis-HCE	trans-HCE
Z05	A. caliginosa	<26.6	8.8	12.5	<26.6	14	82.9	<26.6	<26.6	<66.5	<66.5	<66.5	<66.5	<26.6	<266
Z07	A. caliginosa	<23.4	10.5	38.9	<23.4	<23.4	163.6	<23.4	<23.4	<58.4	<58.4	<58.4	<58.4	22.2	<234
Z08	A. caliginosa	<22.0	8.4	11.1	<22.0	<22.0	83.5	<22.0	<22.0	<54.8	<54.8	<54.8	<54.8	23.3	<220
Z09	A. caliginosa	<34.3	12.7	7.6	<34.3	<34.3	<34.3	<34.3	<34.3	<85.6	<85.6	<85.6	<85.6	<34.3	<343
Z10	A. caliginosa	<27.2	12.1	11.9	<27.2	<27.2	151.6	<27.2	<27.2	<67.9	<67.9	<67.9	<67.9	<27.2	<272
Z11	A. caliginosa	<26.0	15.6	14.5	<26.0	13.7	64.6	<26.0	<26.0	<65.1	<65.1	<65.1	<65.1	28.3	<260
Z12	A. caliginosa	<22.3	8	8.7	<22.3	11.6	64.8	<22.3	<22.3	<55.8	<55.8	<55.8	<55.8	23.3	<223
Z13	A. caliginosa	<27.8	9.3	9.2	<27.8	18.1	38.5	<27.8	<27.8	<69.4	<69.4	<69.4	<69.4	28.5	<278
Z14	A. caliginosa	<27.8	9.3	11	<27.8	<27.8	88	<27.8	<27.8	<69.4	<69.4	<69.4	<69.4	24.1	<278
Z15	A. caliginosa	<20.3	7.4	7	<20.3	18.3	83.7	<20.3	<20.3	<50.8	<50.8	<50.8	<50.8	<20.3	<203
Z16	A. caliginosa	<22.1	5.5	10.8	<22.1	<22.1	48.9	<22.1	<22.1	<55.3	<55.3	<55.3	<55.3	20.9	<221
Z17	A. caliginosa	<30.0	7.7	16.9	<30.0	<30.0	<30.0	<30.0	36	<75.3	<75.3	<75.3	<75.3	24.5	<300
Z18	A. caliginosa	<44.6	9.5	21.4	<44.6	<44.6	<44.6	<44.6	23.1	<111	<111	<111	<111	34.7	<446
Z22	A. caliginosa	<18.8	13	14.5	<18.8	28.6	<18.8	<18.8	<18.8	<50.0	<50.0	<50.0	<50.0	35.7	<188
Z23	A. caliginosa	<25.5	8.9	14.9	<25.5	24	36.5	<25.5	<25.5	<63.8	<63.8	<63.8	<63.8	<25.5	<255
Z24	A. caliginosa	<25.8	8.7	10.1	<25.8	<25.8	<25.8	<25.8	<25.8	<64.4	<64.4	<64.4	<64.4	<25.8	<258
Z25	A. caliginosa	<24.3	11.5	11	<24.3	<24.3	187.9	<24.3	<24.3	<60.7	<60.7	<60.7	<60.7	25.4	<243
Z27	A. caliginosa	<24.3	8.6	12.1	<24.3	<24.3	94	<24.3	<24.3	<60.7	<60.7	<60.7	<60.7	17.3	<243
Z28	A. caliginosa	<21.0	5.9	13.9	<21.0	<21.0	176.6	<21.0	<21.0	<52.5	<52.5	<52.5	<52.5	23.3	<210
Z29	A. caliginosa	<22.5	8.2	9.6	<22.5	<22.5	153.2	<22.5	<22.5	<56.3	<56.3	<56.3	<56.3	<22.5	<225
Z30	A. caliginosa	<19.8	6.9	8.6	<19.8	<19.8	<19.8	<19.8	<19.8	<49.6	<49.6	<49.6	<49.6	<19.8	<198
Z31	A. caliginosa	<31.0	7.3	6.8	<31.0	<31.0	111.5	<31.0	<31.0	<77.2	<77.2	<77.2	<77.2	23.5	<310
Z32	A. caliginosa	<22.7	6	11.5	<22.7	11.6	<22.7	<22.7	<22.7	<56.8	<56.8	<56.8	<56.8	14.2	<227
Z33	A. caliginosa	<28.0	6.8	8.3	<28.0	38	<28.0	<28.0	<28.0	<69.4	<69.4	<69.4	<69.4	22	<280
Z34	A. caliginosa	<25.5	9.2	13.8	<25.5	<25.5	<25.5	<25.5	<25.5	<63.8	<63.8	<63.8	<63.8	29	<255
Z35	A. caliginosa	<20.8	8.3	5.5	<20.8	14.6	<20.8	<20.8	<20.8	<52.1	<52.1	<52.1	<52.1	<20.8	<208

Z36	A. caliginosa	<36.8	10.3	18.6	<36.8	<36.8	<36.8	<36.8	<36.8	<91.9	<91.9	<91.9	<91.9	<36.8	<367
Z37	A. caliginosa	<26.6	11.1	7.6	<26.6	<26.6	<26.6	<26.6	<26.6	<66.5	<66.5	<66.5	<66.5	<26.6	<266
Z37	A. caliginosa	<26.0	6.8	9.8	<26.0	<26.0	<26.0	53.3	<26.0	<65.1	<65.1	<65.1	<65.1	24	<260
KW02W	A. caliginosa	<23.6	5.8	18.7	<23.6	<23.6	341	176.5	<23.6	<59.0	<59.0	<59.0	<59.0	26	<236
KW03N	A. caliginosa	<19.8	4.9	12.5	<19.8	<19.8	274	184.8	<19.8	<49.6	<49.6	<49.6	<49.6	22.8	<198
KW05W-A	A. caliginosa	<28.0	16.8	20.9	<28.0	<28.0	<28.0	<28.0	<28.0	<69.4	<69.4	<69.4	<69.4	24.3	<280
KW05W-B	A. caliginosa	<29.1	9.1	12.2	<29.1	<29.1	<29.1	<29.1	31.2	<72.7	<72.7	<72.7	<72.7	24.5	<291
KW06N	A. caliginosa	<19.0	7	16.2	<19.0	<19.0	<19.0	<19.0	<19.0	37.2	<47.5	<47.5	<47.5	<19.0	<190
KW06W-A	A. caliginosa	<23.1	7.5	10.3	<23.1	<23.1	83.1	<23.1	14	<57.9	<57.9	<57.9	<57.9	27.5	<231
KW06W-B	A. caliginosa	<22.3	9.6	11.3	<22.3	27	<22.3	<22.3	<22.3	<55.8	<55.8	<55.8	<55.8	24.7	<223
KW17N	A. caliginosa	<31.3	8.4	6.5	<31.3	<31.3	88.8	<31.3	<31.3	<78.1	<78.1	<78.1	<78.1	<31.3	<313
KW50N	A. caliginosa	<22.0	8.1	14.1	<22.0	<22.0	438	<22.0	<22.0	<54.83	<54.8	<54.8	<54.8	30.8	<219

Appendix B. vervolg

LOC.ID	Monstercode	Species	Vet (mg)	Vet (%)	o,p'-DDE	$\alpha$ -endosulfan	$\alpha$ -chlordan	p,p'-DDE	dieldrin	o,p'-DDD	endrin	$\beta$ -endosulfan	p,p'-DDD	o,p'-DDT	endosulfansulfaat	p,p'-DDT
Z05	PIMM-15	L. rubellus	12.6	0.25	<19.8	<198	<49.6	57.9	49.7	<19.8	<198	<198	<19.8	<49.6	<19.8	<19.8
Z07	PIMM-17	L. rubellus	13.5	0.23	<18.5	<185	<46.3	47.3	214.6	<18.5	<185	<185	17.7	<46.3	<18.5	36
Z08	PIMM-61	L. rubellus	11	0.18	17.4	<227	<56.8	38.3	90.3	<22.7	<227	<227	<22.7	<56.8	<22.7	<22.7
Z09	PIMM-23	L. rubellus	13.7	0.25	<18.3	<183	<45.6	71.8	107.6	<18.3	<183	<183	<18.3	<45.6	<18.3	<18.3
Z10	PIMM-25	L. rubellus	12	0.21	<20.8	<208	<52.1	69.9	183.9	<20.8	<208	<208	17.2	<52.1	<20.8	<20.8
Z11	PIMM-27	L. rubellus	13.5	0.27	<18.5	<185	<46.3	46.3	146.1	<18.5	<185	<185	10.3	<46.3	<18.5	15.9
Z12	PIMM-29	L. rubellus	11.3	0.22	<22.1	<221	<55.3	26.5	91.9	<22.1	<221	<221	<22.1	<55.3	<22.1	17.9
Z13	PIMM-31	L. rubellus	14.4	0.24	<17.4	<174	<43.4	33.8	53.6	<17.4	<174	<174	11.6	<43.4	<17.4	20.9
Z14	PIMM-33	L. rubellus	14.1	0.25	<17.7	<177	<44.3	58.3	<44.3	<17.7	<177	<177	<17.7	<44.3	<17.7	<17.7
Z15	PIMM-35	L. rubellus	12.1	0.21	<20.7	<207	<51.7	57.3	<51.7	<20.7	<207	<207	<20.7	<51.7	<20.7	<20.7
Z16	PIMM-37	L. rubellus	16.5	0.25	<15.2	<152	<37.9	62.7	128.4	<15.2	<152	<152	<15.2	<37.9	<15.2	<15.2
Z17	PIMM-63	L. rubellus	16.1	0.23	<15.5	<155	<38.8	84.7	<38.8	<15.5	<155	<155	<15.5	<38.8	<15.5	<15.5
Z18	PIMM-65	L. rubellus	11	0.19	<22.7	<227	<56.8	51.1	<56.8	<22.7	<227	<227	<22.7	<56.8	<22.7	<22.7
Z22	PIMM-11	L. rubellus	12	0.19	<20.0	<200	<52.1	35.2	74.1	<20.0	<200	<200	<20.0	<52.1	<20.0	<20.0
Z23	PIMM-13	L. rubellus	13.3	0.24	<25.5	<255	<47.0	28.1	98.8	<25.5	<255	<255	<25.5	<47.0	<25.5	30.1
Z24	PIMM-05	L. rubellus	13.8	0.27	<18.1	<181	<64.4	19.6	<64.4	<18.1	<181	<181	<18.1	<64.4	<18.1	13
Z25	PIMM-21	L. rubellus	9.9	0.24	<25.3	<253	<63.1	53.4	<63.1	<25.3	<253	<253	16.9	<63.1	<25.3	18.9
Z27	PIMM-41	L. rubellus	16.5	0.27	<15.2	<152	<37.9	<15.2	58.5	<15.2	<152	<152	<15.2	<37.9	<15.2	<15.2
Z28	PIMM-43	L. rubellus	8.3	0.13	<30.0	<300	<75.3	25.2	<75.3	<30.0	<300	<300	<30.0	<75.3	<30.0	<30.0
Z29	PIMM-19	L. rubellus	13	0.24	<19.4	<194	<48.1	28.1	<48.1	<19.4	<194	<194	<19.4	<48.1	<19.4	<19.4
Z30	PIMM-07	L. rubellus	16.6	0.23	<15.1	<151	<37.7	55.7	116.6	<15.1	<151	<151	<15.1	<37.7	<15.1	18.8
Z31	PIMM-45	L. rubellus	11.4	0.21	<22.0	<220	<54.8	42.2	52.7	<22.0	<220	<220	19.9	<54.8	<22.0	41.9
Z32	PIMM-47	L. rubellus	10	0.20	<25.0	<250	<62.5	36.7	129.1	<25.0	<250	<250	<25.0	<62.5	<25.0	<25.0
Z33	PIMM-49	L. rubellus	13.7	0.25	<18.2	<182	<45.6	26.1	59.7	<18.2	<182	<182	<18.2	<45.6	<18.2	<18.2
Z34	PIMM-51	L. rubellus	13	0.22	<19.2	<192	<48.1	210.8	<48.1	<19.2	<192	<192	47.9	<48.1	<19.2	<19.2
Z35	PIMM-01	L. rubellus	13	0.24	<19.2	<192	<48.1	18.2	<48.1	<19.2	<192	<192	<19.2	<48.1	<19.2	<19.2

Z36	PIMM-09	L. rubellus	12	0.20	<20.8	<208	<52.1	40	93.9	<20.8	<208	<208	<20.8	<52.1	<20.8	<20.8
Z37	PIMM-03	L. rubellus	10.6	0.23	<23.6	<236	<59.0	24.2	<59.0	<23.6	<236	<236	<23.6	<59.0	<23.6	11.9
Z37	PIMM-67	L. rubellus	3.4	0.05	<73.5	<735	<183	39.9	125.6	<73.5	<735	<735	<73.5	<183	<73.5	<73.5
KW02W	PIMM-69	L. rubellus	15	0.26	<16.7	<167	<41.7	31.6	65.7	<16.7	<167	<167	19.3	<41.7	<16.7	<16.7
KW03N	PIMM-71	L. rubellus	15.5	0.25	<16.0	<160	<40.3	28.1	<40.3	<16.0	<160	<160	<16.0	<40.3	<16.0	<16.0
KW05W-A	PIMM-53	L. rubellus	14.7	0.23	<17.0	<170	<42.5	56.9	67.2	<17.0	<170	<170	26.1	<42.5	<17.0	<17.0
KW05W-B	PIMM-55	L. rubellus	12.6	0.20	15.4	<198	<49.6	74.7	100.2	<19.8	<198	<198	30	<49.6	<19.8	<19.8
KW06N	PIMM-75	L. rubellus	13.8	0.23	<18.0	<181	<45.3	74.2	<45.3	<18.0	<181	<181	<18.0	<45.3	<18.0	<18.0
KW06W-A	PIMM-57	L. rubellus	14.9	0.22	11.8	<168	<41.9	20.3	84.1	<16.8	<168	<168	10.2	<41.9	286.3	<16.8
KW06W-B	PIMM-59	L. rubellus	4.8	0.08	<52.1	<521	<130	30.8	<130	<52.1	<521	<521	<52.1	<130	<52.1	<52.1
KW17N	PIMM-39	L. rubellus	14.3	0.25	<17.5	<175	<43.7	52.1	<43.7	<17.5	<175	<175	24.9	<43.7	<17.5	<17.5
KW50N	PIMM-73	L. rubellus	13.9	0.21	<18.0	<180	<45.0	61.2	100.9	<18.0	<180	<180	<18.0	<45.0	<18.0	<18.0

Appendix B. vervolg

LOC.ID	Species	HCBu	QCB	HCB	$\alpha$ -HCH	$\alpha+\gamma$ -HCH	$\delta$ -HCH	$\epsilon$ -HCH	Heptachloor	aldrin	isobenzaan	isodrin	OCS	cis-HCE	trans-HCE
Z05	L. rubellus	<19.8	6.9	12.4	<19.8	<19.8	<19.8	<19.8	<19.8	<49.6	<49.6	<49.6	<49.6	<19.8	<198
Z07	L. rubellus	<18.5	7.2	17.6	<18.5	<18.5	<18.5	<18.5	<18.5	<46.3	<46.3	<46.3	<46.3	18.9	<185
Z08	L. rubellus	<22.7	13.6	12	<22.7	29.8	<22.7	<22.7	<22.7	<56.8	<56.8	<56.8	<56.8	21.9	<227
Z09	L. rubellus	<18.3	6.4	23.1	<18.3	<18.3	290.7	<18.3	<18.3	<45.6	<45.6	<45.6	<45.6	18.7	<183
Z10	L. rubellus	<20.8	10.6	4.4	<20.8	391.6	<20.8	<20.8	<20.8	<52.1	<52.1	<52.1	<52.1	<20.8	<208
Z11	L. rubellus	<18.5	7.5	5.4	<18.5	14.3	37.9	<18.5	<18.5	<46.3	<46.3	<46.3	<46.3	24.9	<185
Z12	L. rubellus	<22.1	5.1	3.1	<22.1	<22.1	20.1	<22.1	<22.1	<55.3	<55.3	<55.3	<55.3	<22.1	<221
Z13	L. rubellus	<17.4	4.5	3.6	<17.4	21.3	27.8	<17.4	<17.4	<43.4	<43.4	<43.4	<43.4	14.4	<174
Z14	L. rubellus	<17.7	7	4.6	<17.7	<17.7	<17.7	<17.7	<17.7	<44.3	<44.3	<44.3	<44.3	14.7	<177
Z15	L. rubellus	<20.7	9.7	2.6	<20.7	<20.7	<20.7	<20.7	<20.7	<51.7	<51.7	<51.7	<51.7	19.7	<207
Z16	L. rubellus	<15.2	7	5.7	<15.2	<15.2	<15.2	<15.2	<15.2	<37.9	<37.9	<37.9	<37.9	17	<152
Z17	L. rubellus	<15.5	6.7	11	<15.5	<15.5	<15.5	<15.5	<15.5	<38.8	<38.8	<38.8	<38.8	17.7	<155
Z18	L. rubellus	<22.7	4.9	7.6	<22.7	<22.7	<22.7	<22.7	15.9	<56.8	<56.8	<56.8	<56.8	24.2	<227
Z22	L. rubellus	<20.0	5.5	7.2	<20.0	12.6	<20.0	<20.0	<20.0	<52.1	<52.1	<52.1	<52.1	<20.0	<200
Z23	L. rubellus	<25.5	8.4	6.3	<25.5	28.7	23	<25.5	<25.5	<47.0	<47.0	<47.0	<47.0	<25.5	<255
Z24	L. rubellus	<18.1	8.9	4.2	<18.1	9.3	<18.1	<18.1	<18.1	<64.4	<64.4	<64.4	<64.4	<18.1	<181
Z25	L. rubellus	<25.3	8.6	9.5	<25.3	<25.3	<25.3	<25.3	<25.3	<63.1	<63.1	<63.1	<63.1	<25.3	<253
Z27	L. rubellus	<15.2	8.1	5.1	<15.2	<15.2	<15.2	<15.2	<15.2	<37.9	<37.9	<37.9	<37.9	18	<152
Z28	L. rubellus	<30.0	5.6	8.5	<30.0	<30.0	<30.0	<30.0	<30.0	<75.3	<75.3	<75.3	<75.3	28.3	<300
Z29	L. rubellus	<19.4	5.8	4.2	<19.4	<19.4	<19.4	<19.4	<19.4	<48.1	<48.1	<48.1	<48.1	<19.4	<194
Z30	L. rubellus	<15.1	7.4	6.3	<15.1	<15.1	<15.1	<15.1	<15.1	<37.7	<37.7	<37.7	<37.7	<15.1	<151
Z31	L. rubellus	<22.0	4.6	6.4	<22.0	20.3	123.4	33.4	<22.0	<54.8	<54.8	<54.8	<54.8	19.1	<220
Z32	L. rubellus	<25.0	7.3	5.1	<25.0	16.8	105.7	<25.0	<25.0	<62.5	<62.5	<62.5	<62.5	<25.0	<250
Z33	L. rubellus	<18.2	3.5	6.1	<18.2	48.6	<18.2	15.9	<18.2	<45.6	<45.6	<45.6	<45.6	15.1	<182
Z34	L. rubellus	<19.2	5	8	<19.2	<19.2	<19.2	<19.2	<19.2	<48.1	<48.1	<48.1	<48.1	15.2	<192
Z35	L. rubellus	<19.2	6.2	4.6	<19.2	<19.2	<19.2	<19.2	<19.2	<48.1	<48.1	<48.1	<48.1	<19.2	<192

Z36	L. rubellus	<20.8	5.6	4.1	<20.8	10.4	<20.8	<20.8	<20.8	<52.1	<52.1	<52.1	<52.1	<20.8	<208
Z37	L. rubellus	<23.6	9.8	5.3	<23.6	<23.6	<23.6	<23.6	<23.6	<59.0	<59.0	<59.0	<59.0	<23.6	<236
Z37	L. rubellus	<73.5	9.1	6.1	<73.5	<73.5	<73.5	<73.5	49.1	<183	<183	<183	<183	<73.5	<735
KW02W	L. rubellus	<16.7	3.9	6.9	<16.7	<16.7	199.8	248.9	<16.7	<41.7	<41.7	<41.7	<41.7	24.8	<167
KW03N	L. rubellus	<16.0	4.1	6.9	<16.0	<16.0	295.9	163.7	<16.0	<40.3	<40.3	<40.3	<40.3	17.1	<160
KW05W-A	L. rubellus	<17.0	6.9	8.1	<17.0	<17.0	<17.0	<17.0	8.8	<42.5	<42.5	<42.5	<42.5	11.7	<170
KW05W-B	L. rubellus	<19.8	14.3	6.6	<19.8	32.9	<19.8	<19.8	<19.8	<49.6	<49.6	<49.6	<49.6	24.4	<198
KW06N	L. rubellus	<18.0	6.7	8.9	<18.0	<18.0	442.8	<18.0	<18.0	<45.3	<45.3	<45.3	<45.3	<18.0	<181
KW06W-A	L. rubellus	<16.8	10.6	3.2	<16.8	13.8	115.3	<16.8	28.2	<41.9	<41.9	<41.9	<41.9	21.2	<168
KW06W-B	L. rubellus	<52.1	16.7	7.6	<52.1	<52.1	173.2	<52.1	38.8	<130	<130	<130	<130	<52.1	<521
KW17N	L. rubellus	<17.5	6.1	4.9	<17.5	<17.5	<17.5	<17.5	<17.5	<43.7	<43.7	<43.7	<43.7	<17.5	<175
KW50N	L. rubellus	<18.0	5.4	9.5	<18.0	<18.0	423.2	<18.0	<18.0	26.7	<45.0	<45.0	<45.0	31.4	<180



## Appendix C Detectielimieten (range) voor de verschillende stoffen.

*In de laatste kolom staat het aantal monsters dat boven de detectielimiet is aangetoond*

	Range ng/g vet	Aantal boven detectiegrens (n =38)
$\alpha$ -endosulfan	156-714	0
$\alpha$ -chlordan	39-179	0
<i>p,p'</i> -DDE	16-71	37
<i>p,p'</i> -DDD	16-71	12
<i>p,p'</i> -DDT	16-71	10
dieldrin	39-179	23
<i>o,p'</i> -DDD	16-71	0
<i>o,p'</i> -DDE	16-71	3
<i>o,p'</i> -DDT	39-179	0
endrin	156-714	0
aldrin	39-179	1
isodrin	39-179	0
$\beta$ -endosulfan	156-714	0
endosulfansulfaat	16-71	1
HCBu	16-71	0
QCB	2-7	38
HCB	16-71	38
$\alpha$ -HCH	16-71	0
$\delta$ -HCH	16-71	21
$\epsilon$ -HCH	16-71	3
heptachloor	16-71	4
isobenzaan	39-179	0
OCS	39-179	0
cis-HCE	2-7	25
trans-HCE	156-714	0



## Appendix D Individuele gewichten (mg) wormen in bioassay: AW04N.

*Grijze cellen geven mortaliteit aan.*

Potnummer		AW04N_1	AW04N_2	AW04N_3	AW04N_4	AW04N_5	AW04N_6
<b>Controle week 4</b>							
Individuele wormgewichten	1	113	120	91	72	198	126
	2	81	96	69	68	132	116
	3	75	87	68	65	86	101
	4	68	69	63	61	78	99
	5			57			71
	6			52			61
<b>Controle week 8</b>							
Individuele wormgewichten	1	127	207	130	145	399	254
	2	181	297	206	137	150	327
	3	92	294	242	142	131	233
	4	130	133	160	127	117	188
	5	148			117		
	6			167			127
<b>Controle week 12</b>							
Individuele wormgewichten	1	357	710	612	378	991	891
	2	355	648	552	376	391	752
	3	309	461	339	349	303	520
	4	230	310	401	283	337	738
	5	201			427		
	6			242			343
<b>Controle week 16</b>							
Individuele wormgewichten	1	607	1069	1043	537	1720	1116
	2	630	999	906	534	734	900
	3	622	652	660	529	673	884
	4	483	497	635	453	594	799
	5	426			585		
	6			443			317
<b>Controle week 20</b>							
Individuele wormgewichten	1	1215	1390	1600	853	2503	1275
	2	1339	1414	1646	803	1237	1429
	3	894	963	1107	740	1082	1226
	4	994	893	1025	678	998	1141
	5	1055			1302		
	6			853			519
<b>Controle week 24</b>							
Individuele wormgewichten	1	1590	1449	1738	873	2531	1552
	2	1474	1453	1614	910	1613	1493
	3	1285	773	1674	870	1315	1444
	4	1274	1052	1383	804	1336	1318
	5	1146			1291		
	6			1176			620
<b>Controle week 28</b>							
Individuele wormgewichten	1	1845	1614	1854	1004	2652	1652
	2	1680	1571	1747	959	1879	1533
	3	1338	1257	1626	858	1772	1518
	4	1298			1567		
	5	1266			1427		
	6			1327			562



## Appendix E Individuele gewichten (mg) wormen in bioassay: KW15W.

### *Grijze cellen geven mortaliteit aan.*

Potnummer		KW15W_1	KW15W_2	KW15W_3	KW15W_4	KW15W_5	KW15W_6
<b>Controle week 4</b>							
Individuele wormgewichten	1	137	149	178	81	99	111
	2	121	141	88	70	83	97
	3	118	132	86	54	80	72
	4	95	103	72	50	75	61
	5	89	97	71	Niet gezien	72	53
	6	42	76	68		62	52
<b>Controle week 8</b>							
Individuele wormgewichten	1	59	124	164	29	88	45
	2	134	158	138	80	85	55
	3	209	165	183	160	92	70
	4	326	219	144	152	95	64
	5	329	270	158	157	128	157
	6	357	377	424		181	188
<b>Controle week 12</b>							
Individuele wormgewichten	1	845	988	834	441	493	573
	2	957	698	493	513	355	470
	3	898	751	398	388	214	175
	4	580	559	428	200	220	163
	5	394	342	317	60	199	96
	6	202	569	301		172	83
<b>Controle week 16</b>							
Individuele wormgewichten	1	1479	1534	1086	717	1034	963
	2	1467	1243	952	658	812	719
	3	1387	1181	750	588	520	259
	4	1032	944	526	293	508	249
	5	846	885	449	89	452	166
	6	425	608	652		432	72
<b>Controle week 20</b>							
Individuele wormgewichten	1	2070	2083	1698	1113	1729	1657
	2	1808	1758	1429	1005	1438	1203
	3	1853	1548	1388	1023	950	528
	4	1536	1712	1330	482	986	486
	5	1387	1263	979	134	975	336
	6	846	977	953		929	Niet gezien
<b>Controle week 24</b>							
Individuele wormgewichten	1	2039	1993	1944	1347	2137	2055
	2	2003	1980	1793	1319	1726	1472
	3	1834	1847	1505	1206	1425	805
	4	1766	1771	1273	672	1424	594
	5	1722	1135	1176	201	1328	565
	6	1085	1114	1074		1320	117
<b>Controle week 28</b>							
Individuele wormgewichten	1	2281	2246	2228	1589	2216	2100
	2	2274	2144	2140	1583	1973	1662
	3	2150	2112	1610	1321	1826	1196
	4	2038	1959	1404	874	1642	785
	5	1716	1202	1202	231	1613	504
	6	1354	1160	1151		1375	126

Appendix E. Individuele gewichten (mg) wormen in bioassay: KW01N. Grijze cellen geven mortaliteit aan.

Potnummer		KW01N_1	KW01N_2	KW01N_3	KW01N_4	KW01N_5	KW01N_6
<b>Controle week 4</b>							
Individuele wormgewichten	1	96	138	163	72	90	103
	2	90	94	93	63	87	91
	3	78	76	90	63	85	90
	4	64	73	86	59	70	78
	5	60	70	70	54	69	55
	6	20	64	64	51	52	
<b>Controle week 8</b>							
Individuele wormgewichten	1	56	101	453	41	77	46
	2	161	135	113	64	97	181
	3	145	132	182	88	73	160
	4	169	202	203	79	213	283
	5	287	273	178	135	179	254
	6	263	350	168	139	167	
<b>Controle week 12</b>							
Individuele wormgewichten	1	871	901	965	404	526	711
	2	678	747	478	349	490	611
	3	561	504	458	206	458	561
	4	446	398	465	206	231	372
	5	415	383	444	176	189	127
	6	154	283	317	62	141	
<b>Controle week 16</b>							
Individuele wormgewichten	1	1098	1476	1421	859	1060	1069
	2	867	1393	877	762	1054	910
	3	808	955	832	511	954	771
	4	733	776	779	463	534	610
	5	598	770	771	451	471	258
	6	269	620	583	121	374	
<b>Controle week 20</b>							
Individuele wormgewichten	1	1468	1603	1962	1476	1627	1737
	2	1202	1807	1543	1427	1582	1593
	3	1332	1898	1404	910	1642	1350
	4	1653	1451	1399	1085	1042	1213
	5	1412	1524	1310	945	905	637
	6	554	1235	1114	289	818	
<b>Controle week 24</b>							
Individuele wormgewichten	1	2043	1906	2039	1813	1834	1991
	2	1817	1882	1863	1530	1772	1763
	3	1629	1809	1765	1476	1712	1590
	4	1616	1780	1570	1245	1286	1497
	5	1434	1634	1562	1139	1135	1065
	6	946	1577	1290	518	1071	
<b>Controle week 28</b>							
Individuele wormgewichten	1	2647	2176	2305	1800	2054	2171
	2	2155	2170	2085	1751	1982	2011
	3	1794	2088	2035	1617	1793	1748
	4	1777	1893	1925	1616	1520	1655
	5	1747	1854	1799	1253	1494	1510
	6	1457	1841	1325	886	1251	

## Appendix F Concentraties van de verschillende OCBs in levers van mollen

(ng/g vet); <: concentraties lager detectielimiet.

Mol	mg vet	Vet %	p,p'-DDT	p,p'-DDE	o,p'-DDE	o,p'-DDD	p,p'-DDD	dieldrin	endrin	aldrin	isodrin	$\alpha$ -endosulfan	$\beta$ -endosulfan
1	4.4	1.9	238	462	< 60	< 60	85	4407	< 600	< 150	< 150	< 600	< 600
2	12.8	3.3	104	270	< 20	< 20	27	4058	< 200	< 50	< 50	< 200	< 200
3	5.0	1.8	462	919	< 50	< 50	148	3414	< 500	< 125	< 125	< 500	< 500
4	9.6	2.4	< 60	85	< 25	< 25	< 25	3893	< 250	< 60	< 60	< 250	< 250
5	10.8	2.4	210	173	< 25	< 25	105	2491	< 250	< 60	< 60	< 250	< 250
6	15.3	3.9	125	112	< 20	< 20	55	2918	< 200	< 50	< 50	< 200	< 200

Mol	cis-HCE	trans-HCE	QCB	HCB	$\alpha$ -HCH	$\beta$ + $\gamma$ -HCH	$\delta$ -HCH	$\epsilon$ -HCH	heptachloor	isobenzaan	OCS	HCBu	$\alpha$ -chlordan
1	633	< 600	< 11	< 11	< 60	< 60	< 60	< 60	< 60	< 150	< 150	< 60	< 150
2	938	< 200	3.9	< 4	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	27.5	< 50	< 20	< 50
3	1040	< 500	< 10	< 10	< 50	< 50	< 50	< 50	< 50	< 125	< 125	< 50	< 125
4	770	< 250	< 5	< 5	< 25	< 25	< 25	< 25	< 25	< 60	< 60	< 25	< 60
5	555	< 250	< 5	< 5	< 25	< 25	< 25	< 25	< 25	< 60	< 60	< 25	< 60
6	2167	< 200	< 3	< 3	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	< 50	< 50	< 20	< 50





## Appendix G Literatuur gegevens waarop de normering van Wegener et al. 1999, en van de huidige studie op is gebaseerd

*(Van den Brink et al. 2001 alleen voor huidige studie gebruikt).*

Component	Soort		Gehalte ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ vers)	Locatie	Opm.	Referentie
QCB	spitsmuis	Soricidae	16	Uiterwaarden	1	Hendriks et al. 1995
QCB	mol	Talpa europea	<0.1	Friesland	1	Wegener et al. 1999b
QCB	spitsmuis	Crosidura russula	0.09	Uiterwaarden	1	Van den Brink et al. 2001
HCB	woelmuis	Clethrionomys rutilus	0.46-0.61	Canada	2	Poole et al. 1998
HCB	haas	Lepus americanus	0.12-0.16	Canada	2	Poole et al. 1998
HCB	grondeekhoorn	Spermophilus parryu	0.05-1.0	Alaska	2	Allen-Gil et al 1997
HCB	mol	Talpa europea	<0.1	Friesland	1	Wegener et al. 1999b
HCB	nerts	Mustela vison	0.21-0.67	Canada	2-3	Poole et al. 1998
HCB	otter	Lutra canadensis	3-4	Canada	3	Somers et al. 1987
HCB	spitsmuis	Crosidura russula	0.26	Uiterwaarden	1	Van den Brink et al. 2001
DDE	grondeekhoorn	Spermophilus parryu	0.12-14	Alaska	1	Allen-Gil et al 1997
DDE	witvoetmuis	Peromyscus spec.	6-69	20 km van toepassing	3	Laubscher et al. 1971
DDE	spitsmuis	Soricidae	15-95	Uiterwaarden	1	Hendriks et al. 1995
DDE	mol	Talpa europea	1.7-5.6	Friesland	1	Wegener et al. 1999b
DDE	spitsmuis	Crosidura russula	0.37	Uiterwaarden	1	Van den Brink et al. 2001
som DDE/d/t	woelmuis	Clethrionomys rutilus	0.09-0.44	Canada	1	Poole et al. 1998
som DDE/d/t	haas	Lepus americanus	0.03-0.04	Canada	1	Poole et al. 1998
som DDE/d/t	grondeekhoorn	Spermophilus parryu	0.12-40	Alaska	1	Allen-Gil et al 1997
som DDE/d/t	mol	Talpa europea	3-13	Friesland	1	Wegener et al. 1999b
som DDE/d/t	nerts	Mustela vison	1.2-9.5	Canada	3	Poole et al. 1998
som DDE/d/t	spitsmuis	Crosidura russula	1.7	Uiterwaarden	1	Van den Brink et al. 2001
hce	grondeekhoorn	Spermophilus parryu	0.54-4.4	Alaska	1	Allen-Gil et al 1997
hce	spitsmuis	Soricidae	3.2-44	Uiterwaarden	1	Hendriks et al. 1995
hce	mol	Talpa europea	3-7.5	Friesland	1	Wegener et al. 1999b
hce	spitsmuis	Crosidura russula	3.1	Uiterwaarden	1	Van den Brink et al. 2001

Appendix G. vervolg.

Component	Soort		Gehalte ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ vers)	Locatie	Opm.	Referentie
dieldrin	woelmuis	<i>Clethrionomys rutilus</i>	8-12	Canada	1	Poole et al. 1998
dieldrin	haas	<i>Lepus americanus</i>	8-13	Canada	1	Poole et al. 1998
dieldrin	grondeekhoorn	<i>Spermophilus parryu</i>	0.74-71	Alaska	1	Allen-Gil et al 1997
dieldrin	mol	<i>Talpa europea</i>	32-140	Friesland	1	Wegener et al. 1999b
dieldrin	nerts	<i>Mustela vison</i>	2-16	Canada	3	Poole et al. 1998
dieldrin	nerts	<i>Mustela vison</i>	63-110	Oostkust VS	3	Osovski et al. 1995
dieldrin	spitsmuis	<i>Crosidura russula</i>	4.1	Uiterwaarden	1	Van den Brink et al. 2001

1. Gebruikt bij afleiding norm achtergrond waarden huidige studie

2. Monsters verzameld in Arctisch gebied. Bij (semi-) vluchtige stoffen kunnen de achtergrond-concentraties hier verhoogd zijn. Data niet gebruikt voor afleiden norm.

3. Monsters verzameld van (semi-) aquatische top-predator. Niet gebruikt voor afleiden norm.

## Appendix H Foto's van de percelen in het Drechtse Stedengebied waar mollen zijn gevangen



*Foto 1. Ingang perceel DR16*



*Foto 2 Perceel DR16*



*Foto 3 Perceel DR09*