

TNO-rapport  
TNO-MEP – R 98/429

TNO Milieu, Energie  
en Procesinnovatie

TNO-MEP  
Business Park E.T.V.  
Laan van Westenenk 501  
Postbus 342  
7300 AH Apeldoorn

Telefoon: 055 549 34 93  
Fax: 055 541 98 37  
Internet www.mep.tno.nl

## Literatuurstudie naar de effecten van pesticiden op marien zoöplankton

Datum  
maart 1999

Auteur(s)  
R.G. Jak  
E.M. Foekema  
D.P.C. van der Veen  
C.C. Karman

Projectnummer  
29424

Trefwoorden  
Pesticiden  
Zoöplankton  
Noordzee  
Dosis-effect relaties

Alle rechten voorbehouden.

Niets uit deze uitgave mag worden  
vermenigvuldigd en/of openbaar  
gemaakt door middel van druk, foto-  
kopie, microfilm of op welke andere  
wijze dan ook zonder voorafgaande  
toestemming van TNO.

Indien dit rapport in opdracht werd  
uitgebracht, wordt voor de rechten en  
verplichtingen van opdrachtgever en  
opdrachtnemer verwezen naar de  
Algemene Voorwaarden voor onder-  
zoeksopdrachten aan TNO, dan wel  
de betreffende terzake tussen de  
partijen gesloten overeenkomst.  
Het ter inzage geven van het  
TNO-rapport aan direct belang-  
hebbenden is toegestaan.

© 1998 TNO

Bestemd voor  
RWS Directie Noordzee  
Dr. W. Zevenboom

Het kwaliteitssysteem van TNO Milieu, Energie en  
Procesinnovatie voldoet aan ISO 9001.

TNO Milieu, Energie en Procesinnovatie is een nationaal en  
internationaal erkend kennis- en contractresearch instituut  
voor bedrijfsleven en overheid op het gebied van duurzame  
ontwikkeling en milieu- en energiegerichte procesinnovatie.



Nederlandse Organisatie voor toegepast  
natuurwetenschappelijk onderzoek TNO

Op opdrachten aan TNO zijn van toepassing de Algemene  
Voorwaarden voor onderzoeksopdrachten aan TNO zoals  
gedeponeerd bij de Arrondissementsrechtbank en de  
Kamer van Koophandel te 's-Gravenhage

## Samenvatting

Dit rapport omvat een literatuurstudie naar de effecten van pesticiden op marien (meso)zoöplankton. Het bevat een overzicht van toxiciteitsgegevens van pesticiden op (marien en zoetwater) zoöplankton welke op een floppydisk bij dit rapport zijn geleverd. Tevens is een korte bibliografie opgenomen van publicaties betreffende de effecten van pesticiden op marien zoöplankton (Bijlage I).

De studie maakt deel uit van een nader onderzoek om het inzicht te vergroten in de mogelijke relatie tussen het optreden van algenbloei langs de Nederlandse kust, de verontreiniging van het zeemilieu en de graasdruk van het zoöplankton. Pesticiden, met name insecticiden, zouden de graasdruk van het zoöplankton dermate kunnen remmen dat de begrazing van algen afneemt, en een algenbloei indirect gestimuleerd wordt. In dit rapport is een inventarisatie en een analyse van literatuurgegevens betreffende de effecten van pesticiden op marien (meso)zoöplankton uitgevoerd.

De verzamelde toxiciteitsgegevens zijn gebruikt voor het opstellen van dosis-effect relaties, welke zijn opgesteld voor een aantal geselecteerde effect-parameters. Deze selectie is gemaakt op basis van parameters welke de levenscyclus van copepoden beschrijven, effect-parameters welke voortkomen uit toxiciteitstoetsen en parameters welke in een zoöplankton-graasmodule van een eutrofiëringsmodel worden gebruikt. Effecten op de volgende parameters zijn geselecteerd: sterfte, reproductie, groei en graassnelheid. Opgemerkt moet worden dat de effecten van stoffen op deze parameters op verschillende wijze ingeschat kunnen worden. Zo kunnen effecten op reproductie bijvoorbeeld worden bepaald op het aantal eieren dat geproduceerd wordt en het aantal eieren dat uitkomt. Vooralsnog is er geen selectie gemaakt.

Het belangrijkste knelpunt vormt de zeer geringe hoeveelheid beschikbare informatie omtrent de effecten van pesticiden op marien zoöplankton. De gegevens zijn afkomstig uit de AQUIRE database en een bestand beschikbaar gesteld door de US-Environmental Protection Agency (Pesticide Ecological Effects Database). Slechts voor 3 van de 70 onderzochte stoffen is informatie gevonden die specifiek betrekking heeft op mariene copepoden. Voor het opstellen van dosis-effect relaties is daarom noodgedwongen ook gebruik gemaakt van gegevens voor zoetwater zoöplankton. Voor 8 stoffen zijn gegevens gevonden betreffende zoetwater copepoden. Voor de effecten op zoetwater cladoceren (watervlooien zoals *Daphnia magna*) is voor 54 stoffen informatie gevonden, deze betreffen voornamelijk effecten op sterfte.

De aannames die bij het opstellen van de dosis-effect relaties zijn uitgevoerd zijn beschreven en bediscussieerd. Deze betreffen de helling van de dosis-effectrelatie en de ratio's tussen acute en 'chronische' toxiciteitsgegevens. Vooralsnog zijn geen

extrapolatiefactoren voorgesteld die een onderscheid aangeven tussen de gevoeligheid van marien en zoetwater zoöplankton en de gevoeligheid van verschillende effect-parameters. Deze extrapolatiefactoren kunnen nader onderzocht worden door ook gebruik te maken van gegevens die betrekkenig hebben op andere stoffen dan pesticiden.

De vraag of pesticiden via een remming van de begrazing van het zoöplankton op fytoplankton bijdragen aan het optreden van algenbloei kan nog niet worden beantwoord. Hiervoor zijn toxiciteitsgegevens nodig die betrekking hebben op de effecten van pesticiden op zowel micro- als mesozöplankton. Meetgegevens van pesticiden in het kustwater (in het kader van de chemische monitoring rijkswateren; MWTL) komen op korte termijn beschikbaar. De in dit rapport gepresenteerde effect-concentraties kunnen dan een indicatie geven van welke stoffen het hoogste risico vormen.

## Inhoud

	pagina
Samenvatting .....	2
1. Inleiding.....	5
1.1 Doelstelling .....	5
1.2 Achtergrond.....	5
1.3 Aanpak .....	7
1.4 Leeswijzer .....	8
2. Parameters in modellen en toxiciteitstesten met copepoden.....	9
2.1 Levenscyclus copepoden.....	9
2.2 Populatie dynamische parameters in zoöplankton modellen.....	10
2.3 Effect-parameters in toxiciteitstesten met marien zoöplankton .....	11
2.3.1 Overleving .....	12
2.3.2 Reproductie.....	13
2.3.3 Ontwikkeling .....	14
2.3.4 Voedsel opname.....	15
2.3.5 Zuurstof consumptie .....	16
2.4 Keuze parameters voor het opstellen van dosis-effectrelaties .....	17
3. Effecten van pesticiden op zoöplankton.....	18
3.1 Gegevens .....	18
3.1.1 Verzamelen.....	18
3.1.2 Gegevensoverzicht.....	18
3.2 Effecten van pesticiden .....	21
3.2.1 Algemeen .....	21
3.2.2 Effecten op copepoden .....	22
3.3 Toxiciteitsgegevens overig zoöplankton.....	23
4. Opstellen van dosis-effectrelaties.....	25
4.1 Beschrijving dosis-effect relaties .....	25
4.2 Dosis-effect relaties voor geselecteerde pesticiden .....	27
5. Discussie en conclusies .....	29
6. Referenties .....	33
7. Verantwoording .....	37
Bijlage I Samenvatting publicaties betreffende effecten pesticiden op mariene copepoden .....	38
Bijlage II MTR's, werking en aanwezigheid .....	44
Bijlage III Toxiciteitswaarden voor dosis-effectrelaties voor cladoceren .....	46

## 1. Inleiding

### 1.1 Doelstelling

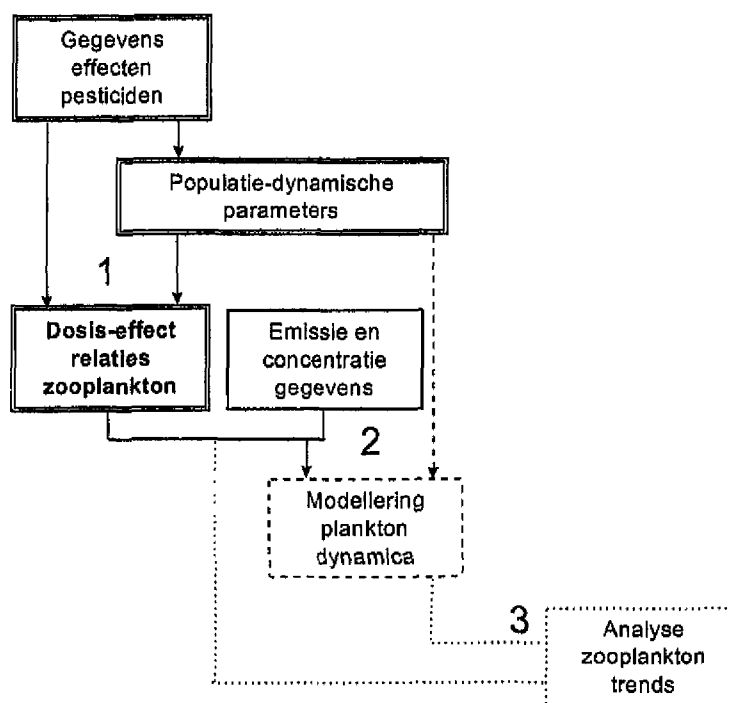
In deze literatuurstudie wordt de mogelijke relatie tussen het optreden van algenbloei langs de Nederlandse kust, de verontreiniging van het zeemilieu en de graasdruk van het zoöplankton nader onderzocht. De studie is met name gericht op effectconcentraties van pesticiden op marien (meso)zoöplankton. Hiertoe is een inventarisatie en een analyse van literatuurgegevens betreffende de effecten van pesticiden op marien (meso)zoöplankton uitgevoerd. Daarnaast zijn aanvullende toxiciteitsgegevens voor zoetwater zoöplankton verzameld om dosis-effect relaties op te stellen voor relevante populatie-dynamische parameters, passend in een raamwerk voor risicoanalyse.

### 1.2 Achtergrond

Naast de stimulerende werking van nutriënten op de productie van fytoplankton, kan ook een verminderde begrazing door zoöplankton leiden tot verhoging van dichtheden en veranderingen in de soortensamenstelling van fytoplankton (Jak & Michielsen, 1996). Voor het zoete water is aangetoond dat pesticiden (met name insecticiden), welke vooral toegepast worden in de periode dat de zoöplankton activiteit hoog is, vaak zeer toxisch zijn voor kreeftachtig zoöplankton. Experimenten met marien plankton laten zien dat bij veldrelevante (havens) concentraties tributyltin effecten op zoöplankton optreden waarbij fytoplanktonconcentraties toenemen (Jak *et al.*, 1998). Of effecten van pesticiden ook optreden in het Nederlandse kustwater hangt af van de verspreiding van pesticiden vanaf het land naar de zee (met name door transport via de atmosfeer), van de hierdoor ontstane concentraties in het (kust)water en van de gevoeligheid van het mariene zoöplankton en de graasspecificiteit van marien zoöplankton op marien fytoplankton.

Of er relevante effecten van pesticiden op de begrazingsdruk door zoöplankton optreden (of in het verleden opgetreden zijn) kan nader worden onderzocht via beantwoording van de volgende deelvragen (Figuur 1):

1. Wat zijn effectconcentraties van pesticiden op zoöplankton
2. Wat is de rol van zoöplanktonbegrazing op algenontwikkeling
3. Wat is de trend in biomassa en gemeenschapsstructuur van het zoöplankton in het kustwater



*Figuur 1* Stapsgewijze analyse voor het analyseren van mogelijke effecten van stoffen (pesticiden) van de toxiciteit van stoffen (pesticiden) op zoöplankton. De dubbelomlijnde blokken vormen de onderdelen van de huidige studie

#### Ad.1

Dosis-effectrelaties voor pesticiden (en andere relevante stoffen) kunnen middels een literatuurstudie onderzocht worden. Middels een literatuurstudie kunnen schattingen gemaakt worden van de effecten (sterfte, reproductie, graassnelheid) van pesticiden op marien zoöplankton (met name copepoden). De beschikbare gegevens omtrent de effecten van stoffen worden echter meestal niet uitgedrukt in een gereduceerde graasdruk.

Concentraties van pesticiden in het kustwater kunnen globaal worden geschat met behulp van een model dat de emissie, atmosferisch transport en depositie beschrijft. Deze berekeningen zouden bijvoorbeeld uitgevoerd kunnen worden voor het tuinbouwgebied in het Westland (glastuinbouw Zuid-Holland) waar door TNO-MEP reeds emissieschattingen en (lucht)concentratieingen worden uitgevoerd.

Vanuit de concentratie- en effectschatting kan de relevantie van effecten van pesticiden op de graasdruk van het zoöplankton worden geschat, op basis van dosis-effect relaties. Uit de hieruit verkregen voorlopige schattingen kunnen (een beperkt aantal) probleemstoffen worden geïdentificeerd en kunnen eventuele kennisleemtes met betrekking tot relevante toxiciteitsgegevens worden aangegeven.

In V&W doelsubsidie-kader worden testmethodieken (o.a. mini-enclosures) ontwikkeld en toegepast om de effecten van pesticiden op de graasdruk van natuurlijke zoöplanktongemeenschappen te schatten. Deze zouden op termijn kunnen worden ingezet om de leemtes in kennis op te vullen.

#### Ad 2.

De rol van zoöplanktonbegrazing op de algendynamiek kan uitgewerkt worden middels incorporatie van begrazing in een eutrofiëringsmodel. Hierbij is het zinvol om zowel microzoöplankton en mesozoöplankton (copepoden) dynamisch te modelleren. In een eerste aanzet zijn begrazingseffecten middels een forcing-function van de zoöplanktonbiomassa gemodelleerd voor de fytoplankton-dynamiek in het Marsdiepgebied (BLOOM II) (Jak & Michielsen, 1996). Recent is bij het Waterloopkundig laboratorium een begin gemaakt met de dynamische modellering van zoöplankton in BEON-Garden kader. Een verfijning van het model en evaluatie (interpretatie en validatie) van modeluitkomsten kan een beter inzicht geven in de rol van begrazing met relatie tot algenbloeien. Daarbij is het vanuit het oogpunt van begrazing tevens zinvol om een verder onderscheid te maken in de fytoplankton groepen, bijvoorbeeld op basis van soorten en/of grootteklassen.

#### Ad 3.

Een analyse van zoöplanktongegevens over de afgelopen decennia zou inzicht kunnen verschaffen over trends in zoöplankton en begrazingsdruk in relatie tot eutrofiëring en microverontreinigingen. Hiertoe zijn de volgende gegevens beschikbaar:

- (Meso)zoöplankton gegevens Continuous Plankton Recorder (temporele variatie, beperkt traject Terneuzen - Gothenburg). Opgemerkt moet worden dat slechts een geringe hoeveelheid gegevens betrekking heeft op de kustzone van het NCP waar verwacht wordt dat pesticidenconcentraties relatief hoog zijn.
- (Micro)zoöplankton monitoring (Biologisch monitoringprogramma RWS; EXP-BMN). De gegevens bevatten informatie over de aantallen individuen binnen bepaalde grootte-classes. Hieruit kan alleen met grote onnauwkeurigheid de biomassa kan worden geschat. Hierdoor wordt ook de schatting van de graasdruk (op basis van biomassa geschat) onnauwkeurig.
- Gegevens NIOZ (ruimtelijke variatie, beperkte data vanaf 1973). De gegevens omvatten geen aaneengesloten tijdseries.

### 1.3 Aanpak

De onderhavige studie heeft betrekking op de analyse van toxiciteitsgegevens en het opstellen van dosis-effectrelaties voor relevante parameters (omlijnde blokken in Figuur 1). Voor dit laatste wordt aangesloten bij gangbare parameters die worden gebruikt in de dynamische modellering van zoöplankton in eutrofiëringsmodellen.

Een ecologische risicobeoordeling voor het effect van pesticiden op de graasdruk wordt opgesteld door vergelijking van potentiële blootstellingsconcentraties met (potentiële) effectconcentraties voor zoöplankton ('PEC/PNEC-benadering').

De volgende informatie wordt gebruikt voor het afleiden van dosis-effectrelaties :

1. Literatuur is geïnventariseerd op basis van een zoekactie in twee toxiciteitsbestanden betreffende de effecten van pesticiden op marien zoöplankton. Deze gegevensbestanden zijn AQUIRE , en de 'Pesticide Ecotoxicity Database welke in ontwikkeling is bij 'EPA's Office of Pesticide Programs (VS). Aanvullende informatie is gevraagd bij externe experts. De huidige studie heeft alleen betrekking op copepoden (kreeftachtigen) die het mesozoöplankton in de Noordzee domineren.
2. Op basis van de geïnventariseerde gegevens zijn dosis-effectrelaties van pesticiden op relevante variabelen (sterfte, reproductieremming, graasremming) opgesteld. Deze zijn opgesteld voor populatie parameters die aansluiten bij populatie-modellen waarbij op simpele wijze de effecten geïntegreerd worden tot effecten op de populatie-ontwikkeling.

#### 1.4 Leeswijzer

In hoofdstuk 2 wordt de levenscyclus van copepoden kort beschreven ter introductie van de uitwerking van parameters welke in (dynamische) zoöplankton modellering en bij het vaststellen van ecotoxische effecten gebruikt worden.

In hoofdstuk 3 wordt een overzicht gegeven van de informatie betreffende de effecten van pesticiden op zoöplankton.

In hoofdstuk 4 worden dosis-effectrelaties opgesteld op basis van toxiciteitsgegevens voor marien zoöplankton, aangevuld met gegevens voor zoetwater zoöplankton.

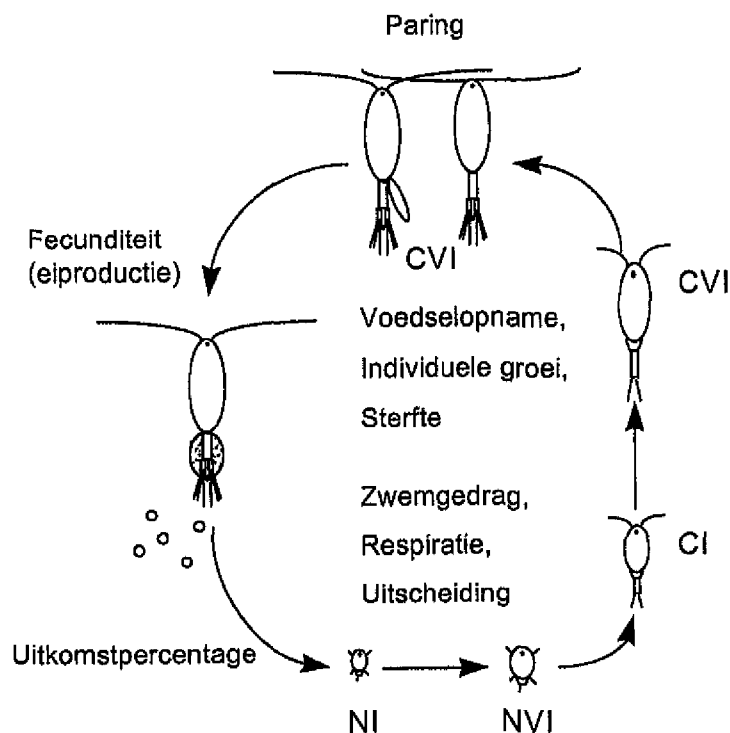
In hoofdstuk 5 wordt aangegeven waar zich de belangrijkste gebreken in informatie voordoen en welke aannames die gebruikt zijn voor het opstellen van dosis-effectrelaties beter onderbouwd dienen te worden. Tevens worden de belangrijkste conclusies getrokken.



## 2. Parameters in modellen en toxiciteitstesten met copepoden

### 2.1 Levenscyclus copepoden

Een kort overzicht van de levenscyclus van copepoden wordt (globaal) beschreven ter introductie van relevante parameters voor dynamische modellering en de keuze van ecotoxicologische effect parameters voor het opstellen van dosis-effectrelaties



*Figuur 2 De levenscyclus van copepoden. N is nauplius-stadium (1 t/m 6), C is copepodieten-stadium (1 t/m 6, waarvan adulte het laatste is) en aangegeven wat de belangrijkste processen zijn in relatie tot de populatie-dynamica begrazing.*

De reproductie van copepoden is vrijwel exclusief seksueel (in tegenstelling tot cladocere kreeftachtigen, bv. *Daphnia*, die het zoetwater zoöplankton domineren en waarbij reproductie vooral parthenogenetisch plaatsvindt). Het aandeel mannetjes in een populatie is meestal iets lager dan dat van vrouwtjes. Vóór de bevruchting wordt door een pakketje sperma (spermatofoor) vlak bij de genitale opening van het vrouwtje bevestigd. Het vrouwtje kan meerdere spermatoforen met zich meedragen. Eén 'broedsel' wordt via één spermatofoor bevrucht, een volgend broedsel via een nieuwe. Bij het verlaten van het lichaam worden de eieren bevrucht.

De eieren worden bij de meeste calanoïde copepoden geloosd in het water, uitzonderingen zijn ondermeer *Eurytemora* spp. en *Pseudocalanus* spp. waarbij de

vrouwtjes een eizakje meedragen. Uit de eieren (70-130  $\mu\text{m}$ ) komen na één tot enkele dagen de larven uit. Het eerste stadium larven wordt nauplius I genoemd (NI). Er worden 6 stadia doorlopen (NI t/m NVI), waarbij na iedere vervelling de grootte en soms het aantal poten toeneemt. Gedurende de eerste nauplius-stadia wordt bij veel soorten geen voedsel opgenomen. Na de laatste vervelling ontstaat het eerste copepodiet stadium (CI). Deze lijkt op de volwassen dieren, hebben 5 paar poten en antennen welke nog niet zijn uitontwikkeld. Copepodieten vervellen 5 keer tot het adulte stadium is bereikt (CVI) en waarbij de geslachten verschillend zijn. De gehele cyclus van ei tot volwassen dier duurt van ca. 10 dagen tot vele maanden, afhankelijk van de soort, voedselbeschikbaarheid en de temperatuur. In het Nederlandse kustwater is de generatietijd van de dominante soorten (*Temora longicornis*, *Acartia clausi*, *Centropages hamatus*, *Pseudocalanus elongates*) in het voorjaar ca. 3-4 maanden en in de zomer ongeveer 2 tot 4 weken.

## 2.2 Populatie dynamische parameters in zoöplankton modellen

Voor het doel om de effecten van een door toxische effecten verminderde begrazing wordt bij voorkeur gebruikt gemaakt van een eutrofiëringsmodel, waarbij de respons van verschillende algengroepen kan worden gespecificeerd. Door Riegman *et al.* (1998) is recent in het kader van het BEON-Garden project een uitbreiding van het MANS-BLOOM model gemaakt met een dynamische zoöplanktonmodule. Hierin kunnen de effecten van graas expliciet worden meegenomen. De graasdruk kan in principe per algengroep worden berekend en er kan rekening worden gehouden met de voedselpreferentie van verschillende soort(groep)en zoöplankton (Jak & Michielsen, 1996).

De *dynamiek van de zoöplanktonbiomassa* wordt als volgt berekend (uit Riegman *et al.*, 1998):

$$\frac{dc_z}{dt} = \left( (1 - F_{ff}) \cdot R_{inges} - R_{resp} - R_{mort} \right) \cdot c_z$$

Waarin:

$c_z$	= zoöplanktonbiomassa	[gC.m <sup>-3</sup> ]
$t$	= tijd	[d]
$R_{inges}$	= ingestie per eenheid van biomassa	[gC.gC <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ]
$R_{resp}$	= respiratie	[d <sup>-1</sup> ]
$R_{mort}$	= mortaliteit	[d <sup>-1</sup> ]
$F_{ff}$	= fecale fractie	[-]

De toename in de zoöplanktonbiomassa komt dus neer op de opgenomen hoeveelheid voedsel (ingestie) minus de fecale fractie die dit oplevert en de verliesposten respiratie en mortaliteit. Voor het beschrijven van de effecten van toxische stoffen sluiten de termen voor ingestie en mortaliteit het best aan.

De term voor *ingestie* wordt als volgt berekend:

$$R_{ingest} = R_{ingest,20} \cdot Tc_{ingest}^{(T-20)} \cdot \max\left(0, \min\left(1, \frac{C_{food} - C_{trash}}{C_{lim} - C_{trash}}\right)\right)$$

Waarin:

$R_{ingest,20}$	= ingestie bij 20°C	[gC.gC <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ]
$Tc_{ingest}$	= temperatuurcoëfficiënt ingestie	[-]
$T$	= temperatuur	[°C]
$C_{food}$	= hoeveelheid beschikbaar voedsel	[gC.m <sup>-3</sup> ]
$C_{trash}$	= voedseldrempel waaronder geen graas plaatsvindt	[gC.m <sup>-3</sup> ]
$C_{lim}$	= minimum voedselconcentratie waarbij maximale ingestie mogelijk is	[gC.m <sup>-3</sup> ]

De term voor mortaliteit wordt als volgt berekend:

$$R_{mort} = R_{l,mort,20} \cdot Tc_{mort}^{(T-20)} + R_{2,mort} \cdot c_z$$

Waarin:

$R_{l,mort,20}$	= Mortaliteit bij 20 °C	[d <sup>-1</sup> ]
$R_{2,mort}$	= Mortaliteit ten gevolge van predatie en autopredatie	[m <sup>3</sup> .gC <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ]
$Tc_{mort}$	= Temperatuurcoëfficiënt mortaliteit	[-]

De parameters die gebruikt kunnen worden voor het beschrijven van de effecten van pesticiden zijn:

- ingestie (reductie voedselopname per eenheid biomassa)
- respiratie (toename respiratie)
- mortaliteit (toename sterfte)
- biomassa toename (groei)

### 2.3 Effect-parameters in toxiciteitstesten met marien zoöplankton

In toxiciteitstoetsen met marien zoöplankton wordt veelal gebruik gemaakt van de calanoïde copepode *Acartia tonsa*. De acute toxiciteitstest met deze soort is dan ook door de OSPAR geaccepteerd als een van de methoden voor het bepalen van de milieu effecten van in de offshore-industrie toegepaste chemicaliën (Hanstveit 1996; Weideborg *et al.*, 1997). Vooral voordat de keuze voor *A. tonsa* is bepaald zijn veel testen uitgevoerd met andere soorten zoals de harpacticoïde copepoden *Nitocra spinipes* (Hanstveit, 1996) en *Tisbe battagliai* (Hanstveit, 1996). Andere calanoïde soorten waarvan gepubliceerde toxiciteitstoetsen zijn aangetroffen zijn ondermeer *Acartia clausi* (Buttino, 1994; Moraituo-Apostolopoulou & Verriopoulos, 1979), *Acartia hudsonica* (Sharp & Stearns, 1997; Moraituo-Apostolopoulou, 1978), *Temora longicornis* (Sharp & Stearns, 1997; Spooner & Corkett, 1974), *Centropagus typicus* (Spooner & Corkett, 1974), *Calanus finmarchicus* en *Eurytemora affinis* (Hall *et al.*, 1988; Ott *et al.*, 1978).

Als test-medium wordt in de meeste gevallen gebruik gemaakt van natuurlijk zeewater dat vooraf gefilterd en in sommige gevallen tevens geautoclaveerd wordt, er kan echter ook kunstmatig zeewater gebruikt worden (zie bijvoorbeeld Girling, 1989). De saliniteit van het test-medium dient volgens het ISO-voorschrift TC147/SC5/WG2 'Determination of acute lethal toxicity to marine copepods' (Hanstveit, 1996) tussen 29 en 36 ppt te liggen. Blijkens publicaties worden echter regelmatig testen bij lagere saliniteit uitgevoerd, tot 15 ppt (Toudal & Rijsgard, 1987). De aanbevolen watertemperatuur van 20°C lijkt wel redelijk te worden opgevolgd.

Afhankelijk van de proefopzet kan de duur van een test variëren van een respiratie meting in 20 uur (Moraitou-Apostolopoulou & Verriopoulos, 1982; Moraitou-Apostolopoulou & Verriopoulos, 1979), tot het toetsen van een volledige levenscyclus in ca. 30 dagen (Ward *et al.*, 1979).

De traditionele effect-parameter in toxiciteitstoetsen is natuurlijk mortaliteit, daarnaast wordt er in toetsen met mariene copepoden aandacht besteed aan sublethale effecten op de reproductie, de groei/ontwikkeling, de voedselopname en de zuurstofconsumptie. In de volgende paragrafen worden deze effect-parameters en de wijze waarop effecten hierop bepaald worden, nader beschreven welke betrekking hebben op de effecten van stoffen in het algemeen (niet uitsluitend pesticiden).

### 2.3.1 Overleving

Een standaard toetsmethode voor het bepalen van de acute lethale toxiciteit van mariene copepoden wordt beschreven in ISO TC147/SC5/WG2. Volgens dit voorschrift wordt de  $LC_{50}$  na 24 en/of 48 uur bepaald. Regelmatig worden echter ook  $LC_{50}$ 's van 72 (Sosnowski *et al.*, 1979; Hall *et al.*, 1988; Sharp & Stearns, 1997) of zelfs 96 uur gerapporteerd (Sosnowski & Gentile, 1978; Hollister *et al.*, 1980; Ward & Ballantine, 1985). De verhouding van het aantal testorganismen en het volume van het test vat varieert. Als regel geeft het ISO voorschrift een maximale dichtheid van 1 individu per 0.5 ml. Voor *Acartia tonsa* wordt echter een volume van 5 ml per individu geadviseerd. In de praktijk blijken deze test volumes nogal te variëren. Kusk & Petersen (1997) beschrijven een geslaagde 48 uren toxiciteitstoets met *A. tonsa* met 20 individuen in slechts 25 ml, terwijl anderen testen uitvoerden met 10 individuen in 100 ml (Girling, 1989; Hollister *et al.*, 1980) of zelfs in 15-voud met één enkel exemplaar *Acartia clausi* in 50 ml (Moraitou-Apostolopoulou & Verriopoulos, 1982).

Doorgaans worden de toetsen in statische systemen of semi-statische systemen met periodieke verversing (na 24-48 uur) uitgevoerd, waarin de dieren niet gevoerd worden. Ook in het ISO-voorschrift wordt een statisch systeem zonder voeding beschreven.

Het vaststellen van sterfte door de afwezigheid van zwemgedrag kan bij de kleine copepoden voor problemen zorgen. Om meer zekerheid te krijgen worden ogenschijnlijk bewegingloze individuen in sommige gevallen mechanisch tot beweging geprikkeld (Moraituo-Apostolopoulou, 1978; Moraituo-Apostolopoulou *et al.*, 1979), of gedurende 10 seconden onder een binoculair gecontroleerd op de afwezigheid van bewegende lichaamsdelen (Hanstveit, 1996). Een andere mogelijkheid voor het verkrijgen van meer zekerheid over bewegingsloze copepoden, is het invoeren van een recovery periode. Ott *et al.* (1978) brachten niet-bewegende copepoden (*Eurytemora affinis*) na een 24 uur durende blootstelling over naar schoon water. De dieren die na 24 uur verblijf onder deze schone omstandigheden nog niet bewogen werden als dood beschouwd.

### 2.3.2 Reproductie

In menige toets met mariene copepoden worden effecten op het reproductie proces bepaald. Dit type experimenten kan in twee groepen verdeeld worden, de eerste is gericht op de fecunditeit (het aantal eieren dat per vrouw per tijdseenheid geproduceerd wordt), de tweede groep van experimenten richt zich op het uitkomstsucces van eieren, in sommige gevallen worden beide stappen gecombineerd in een experiment.

Effecten op de fecunditeit kunnen worden vastgesteld door reeds bevruchte wijfjes aan een concentratiereeks van de te testen stof bloot te stellen. Bij deze opzet is het mogelijk de wijfjes individueel bloot te stellen in 10-35 ml test medium (resp. Hall *et al.*, 1988; Tester & Costlow, 1981), en de productie van de eieren per individu te bepalen. In de meeste gevallen worden echter een aantal geslachtsrijpe copepoden gezamenlijk blootgesteld. Hierbij kunnen weer bevruchte wijfjes gebruikt worden (Buttino, 1994; Toudal & Rijsgard, 1987) of manlijke en vrouwelijke copepoden gezamenlijk bloot gesteld worden (Sunda *et al.*, 1987; Ott *et al.*, 1978; Moraituo-Apostolopoulou & Verriopoulos, 1979). De verhouding waarin de beide geslachten worden ingezet is soms willekeurig en afhankelijk van de verhouding in de kweek populatie (Moraituo-Apostolopoulou & Verriopoulos, 1979) en wordt in andere gevallen vooraf bepaald; bijvoorbeeld 12-15 wijfjes en 1 man in 350 ml (Sunda *et al.*, 1987) of 5-7 wijfjes en 2 mannen in 50 ml (Ott *et al.*, 1978). De looptijd van de testen kunnen oplopen tot enkele dagen. In de meeste gevallen wordt elke 24 uur het aantal geproduceerde eieren bepaald. Sunda *et al.* (1987) namen eerst een acclimatisatie periode van 48-72 uur in acht, waarna zij de eiproduktie in de volgende ca. 20 uur bepaalden. De meeste testen worden onder semi-statische omstandigheden uitgevoerd, terwijl niet in alle gevallen voedsel wordt toegediend.

Een manier om de eiproduktie gedurende een leven te bepalen wordt beschreven in Ott *et al.* (1978). Vijf wijfjes van *Eurytemora affinis* werden met 2 mannetjes blootgesteld aan naftaleen in 50 ml test medium met voer. Dagelijks werden de adulten overgebracht naar een verse oplossing en werden de geproduceerde eieren

geteld. Van de adulten werden de doden verwijderd, sterfte onder de mannetjes werd gecompenseerd. De test werd beëindigd bij sterfte van het laatste wijfje. Uit de resultaten van de test bleek dat chronische blootstelling van naftaleen zowel een effect had op de fecunditeit en op de levensduur van de wijfjes. De eiproductie werd dus geremd vanwege een kortere vruchtbare periode (eerdere sterfte) en een lagere productiesnelheid van eieren.

Voor het bepalen van het uitkomst-succes van copepoden eieren worden eieren uit een onbelaste kweek populatie blootgesteld aan een concentratiereeks van de te testen stof. Deze procedure wordt beschreven in Kusk & Petersen (1997) en Sunda *et al.* (1990) waarbij respectievelijk 30 eieren in 90 ml en 100 eieren in 400 ml medium werden geplaatst. Na ca. 96 uur worden het aantal nauplius larven geteld. In beide testen werd tevens na ruim een week, een telling uitgevoerd van het aantal nauplii, copepodieten en adulten waarbij een uitspraak kon worden gedaan over de ontwikkelingssnelheid.

In de hierboven beschreven proefopzet zijn de ouderdieren niet aan de teststof blootgesteld geweest. Het lijkt meer realistisch om het uitkomstpercentage te bepalen van eieren van ouderdieren die zelf ook zijn blootgesteld. Bij deze benadering worden meerdere adulte vrouwelijk copepoden gezamenlijk (50-60 ind/l; Tester & Costlow, 1981; 7-14 ind/ 200ml; Buttino, 1994) of individueel (1/10 ml : Hall *et al.*, 1988) aan een concentratiereeks van de teststof blootgesteld. Gedurende enkele dagen worden de geproduceerde eieren verzameld en geïncubeerd in dezelfde testconcentratie als waar de ouderdieren in verblijven. Na 48 uur wordt het aantal uitgekomen eieren bepaald door het tellen van het aantal lege eischalen (Buttino, 1994) of het aantal larven (Hall *et al.*, 1988).

### 2.3.3 Ontwikkeling

Een logisch vervolg op de toxiciteitstoetsen waarbij het uitkomst percentage van de eieren wordt bepaald vormen toetsen waarbij de ontwikkeling van nauplii tot adult wordt bekeken. Beide effect-parameters kunnen uiteraard goed gecombineerd worden (zoals het geval in bijvoorbeeld Ward *et al.*, 1979 en Sunda *et al.*, 1990).

Voor het vaststellen van effecten op de ontwikkeling van de larven worden nauplii larven aan een concentratiereeks van de teststof blootgesteld. De dichtheden die hierbij gehanteerd worden zijn sterk variabel: 10-16 individuen in 350 ml (Bushong *et al.*, 1990) en 100 individuen in 1 liter (Ward *et al.*, 1979). De larven worden gehouden in semi-statische systemen (Sunda *et al.*, 1990; Bushong *et al.*, 1990) of systemen met continue verversing, en gevoed met een mengsel van ten minste twee algensoorten in een concentratie van ca.  $6 \cdot 10^4$  cel/l. Na 6 (Bushong *et al.*, 1990), 9 dagen (Sunda *et al.*, 1990) of zelfs 20 dagen (Ward *et al.*, 1979) worden de overlevende nauplii, copepodieten en adulten geteld.

Een andere test voor het vaststellen van effecten op de populatie ontwikkeling van mariene copepoden wordt beschreven in Girling (1989). Hierbij werden 25 adulte *Acartia tonsa* in 1 liter blootgesteld aan een concentratie reeks van productiewater. Het betrof een doorstroom-systeem en de dieren werden gevoerd met een mengsel van 4 algensoorten in een concentratie van  $2 \cdot 10^4$  cel/ml. Gedurende 21 dagen werd wekelijks het aantal adulten per testvat bepaald. Een effect op de populatieontwikkeling werd als significant beschouwd indien het aantal adulten na 21 dagen beneden het aanvangsaantal ligt. Hoewel de test op zich zinvolle informatie op kan leveren kan over de arbitraire effectgrens gediscussieerd worden. In de referentie situatie neemt de copepoden dichtheid in 21 dagen 6-8 keer toe. Hoewel in sommige laag gedoseerde deze toename slechts 3 maal bedraagt, wordt dit toch niet als effect aangemerkt.

#### 2.3.4 Voedsel opname

De mate van voedselopname door copepoden wordt op verschillende wijzen bepaald. Bij de meest directe methode wordt de afname van de voedsel (algen) concentratie in het test medium bepaald. Hiertoe worden 10-20 adulte copepoden in ca. 500 ml test medium geplaatst. In het test medium is met een mengsel van algensoorten (Moraitou-Apostolopoulou & Verriopoulos, 1982; Moraitou-Apostolopoulou & Verriopoulos, 1979) of met één enkele soort (Toudal & Rijsgard, 1987) een algen concentratie van 500 (Moraituo-Apostolopoulou & Verriopoulos, 1979) of 1500 cellen per ml gecreëerd. De toets wordt ingezet als concentratiereeks waarbij als referentie tevens een testvat zonder copepoden wordt gebruikt. Bij aanvang van de test en na 24 uur wordt de algendichtheid in het medium bepaald. Bij de berekening van de geconsumeerde algen wordt gecorrigeerd voor de sterfte van de algen in de referentievaten zonder copepoden. De resultaten kunnen worden uitgedrukt als de klaringsnelheid (clearance rate, F) of als de insliknelheid (ingestion rate, I) (Toudal & Rijsgard, 1987).

Hierin kan de klaringsnelheid (*clearance rate*) als volgt worden vastgesteld:

$$F = \left( \frac{V}{n \cdot t} \right) \cdot \ln \left( \frac{C_{t_0} \cdot C_{kt}}{C_t \cdot C_{kt_0}} \right)$$

waarin:

$V$	= volume test vat	[ml]
$n$	= aantal copepoden	
$t_0$	= start incubatie	
$t$	= tijdsduur afloop incubatie	[uren]
$C$	= algenconcentratie in testvat	[cellen.ml <sup>-1</sup> ]
$C_k$	= algenconcentratie in referentievat	[cellen.ml <sup>-1</sup> ]

De insliksnelheid  $I$  (*ingestion rate*) kan als volgt worden vastgesteld:

$$I = C \cdot F$$

waarbij:

$$C = \frac{(C_t - C_{t_0})}{\ln\left(\frac{C_t}{C_{t_0}}\right)}$$

Een directere aanpak voor het bepalen van de voedsel opname werd gevolgd door Sharp & Stearns (1997). Zij plaatsten *Acartia tonsa*, *A. hudsonica* en *Temora longicornis* gedurende 72 uur in test medium met 'niet limiterend voedselaanbod' (*Skeletonema costatum*, 1000 cellen/ml) en een concentratiereeks van koper. Na de twee uur durende blootstelling werden de copepoden verzameld, uitwendig gespoeld en gehomogeniseerd in aceton. De hoeveelheid phaeopigmenten (afbraakproduct van chlorofyl) in het aldus verkregen extract werd spectrofotometrisch bepaald. De hoeveelheid opgenomen voedsel werd uitgedrukt als ng phaeopigment per individu.

De hoeveelheid geproduceerde fecaliën (fecale pellets) kan ook worden gebruikt als maat voor de hoeveelheid opgenomen voedsel. Spooner & Corkett (1974) onderzochten de invloed van gesuspenderde olie op de productie van fecale pellets bij *Acartia clausi*, *Temora longicornis* en *Centropagus typicus*. In 2 ml test medium werden 5 adulte exemplaren geplaatst bij een voedseldichtheid van 120 000 cellen per ml (*Tetracelmis suecica*) en een concentratiereeks van gesuspenderde olie. Na 20 uur blootstelling werd de hoeveelheid geproduceerde pellets bepaald. Een andere aanpak wordt beschreven in Buttino (1994), waarbij 46 adulte vrouwelijke copepoden in 50 ml test medium met algen (*Prorocentrum minimum* en *Phaeodactylum tricornutum*) werden geplaatst om gedurende 10 dagen dagelijks de productie van de fecale pellets te bepalen. Deze langere waarnemingstijd, of het instellen van een acclimatisatie periode voordat de meting begint lijkt aan te bevelen aangezien de productie van de pellets in de loop van het experiment kan toenemen. Waarschijnlijk ten gevolge van de aanpassing aan de test omstandigheden en/of het voedselaanbod (Spooner & Corkett, 1974).

Voedselopname/fecale pellet productie is positief gecorreleerd met de eiproductie (Toudal & Rijsgard, 1987, Buttino, 1994, Moraitou-Apostolopoulou & Verriopoulos, 1979).

### 2.3.5 Zuurstof consumptie

De zuurstofconsumptie wordt weinig gebruikt als effect-parameter in toxiciteitstoetsen met copepoden. Toxicanten stress leidt tot een hogere zuurstof consumptie (Moraitou-Apostolopoulou & Verriopoulos, 1982; Moraitou-



Apostolopoulou & Verriopoulos, 1979). Om de zuurstof consumptie te bepalen wordt een adulte copepode (in de genoemde referenties betreft het *A. clausi*) in 1.5 ml zuurstof-verzadigd zeewater in een hermetisch afgesloten buis geplaatst. Na een blootstellingsperiode van 20 uur (14°C) wordt het zuurstofgehalte in de buis bepaald.

## 2.4 Keuze parameters voor het opstellen van dosis-effectrelaties

De beschrijving van de zoöplankton module in het MANS-BLOOM model beperkt zich tot een gering aantal parameters. De verandering in populatie-biomassa wordt berekend uit de ingestie (minus fecale fractie), de respiratie en mortaliteit. Van deze parameters wordt alleen de mortaliteit vaak in toxiciteitstesten gebruikt. Voor deze testen, die echter veelal acute effecten bij een korte blootstellingstijd betreffen waarvoor hoge, vaak niet voor het veld relevante, concentraties worden gebruikt. Ook de ingestiesnelheid is een bruikbare parameter in toxiciteitstesten, maar wordt vooralsnog niet op brede schaal gebruikt. Er bestaat ook geen geprotocoliseerde toets. In toxiciteitstesten wordt ook wel groei van individuen meegenomen, en kan uit levenscyclus experimenten de populatiegroei worden bepaald. In de MANS-BLOOM zoöplanktonmodule wordt de *verandering* in zoöplanktonbiomassa ( $dc_z/dt$ ) op 'individueel' niveau direct doorvertaald naar de groei op populatieniveau door vermenigvuldiging met de zoöplanktonbiomassa ( $c_z$ ). In principe zouden toxiciteitstesten die de overall biomassa toename van zoöplanktonpopulaties schatten direct bruikbaar zijn om effecten op de reductie van de zoöplanktonbiomassa in het model te kunnen incorporeren.

In de zoöplankton module van MANS-BLOOM is reproductie niet expliciet meegenomen. Deze kan worden verdisconteerd door een extra term op te nemen in de beschrijving van de biomassa-ontwikkeling (zie 2.2, p. 5) waarbij de reductie van de populatie-ontwikkeling afhankelijk is van groei en reproductie (een fractie van de populatiegroeisnelheid).

### 3. Effecten van pesticiden op zoöplankton

#### 3.1 Gegevens

##### 3.1.1 Verzamelen

Stoffen voor deze studie zijn geselecteerd uit de WSV-studie over bestrijdingsmiddelen (Teunissen-Ordelman & Schrap, 1996). Stoffen zijn *niet* geselecteerd indien bekend was dat de effecten van de stof op algen ernstiger zijn dan op zoöplankton. De gegevens zijn in verschillende bronnen gezocht.

Gestart is met een zoekactie in het toxiciteitsbestand AQUIRE, beschikbaar bij RWS-RIZA. Voor de geselecteerde stoffen zijn gegevens gezocht voor soorten/soortgroepen marien zoöplankton en zoetwaterzoöplankton. Een extra zoekactie is uitgevoerd voor mariene kreeftachtigen.

Daarnaast is het bestand 'Pesticide Ecological Effects Database' (PEED) beschikbaar gesteld door de USEPA, welke gebruikt wordt door de 'Environmental Fate and Effects Division of the Office of Pesticide Programs'. Hieruit zijn toxiciteitsgegevens voor de relevante stoffen betrekking hebbend op copepoden (zoet en zout) en cladoceren (zoet) geselecteerd. In het gegevensbestand staat het effecttype niet expliciet vermeld, behalve als het LOEC's betreft met effecten op groei, reproductie en sterfte. In de andere gevallen is daarom aangenomen dat het om effecten op sterfte gaat, hetgeen aannemelijk is gezien het grote aantal kort durende (geprotocoliseerde) testen.

Aanvullende gegevens zijn geïnventariseerd aanwezig in het TNO literatuurbestand (TNOLIT). De totale hoeveelheid gegevens uit de verschillende bestanden blijkt voor mariene copepoden zeer beperkt. Daarom is contact gezocht met een aantal auteurs/experts op het gebied van stoftoetsen met planktonorganismen:

- F. Mayer, US-Environmental Protection Agency (USEPA)
- O. Kusk, Danish Technical University
- B.E. Bengtsson, Stockholm University

Behalve de via F. Mayer verkregen PEED database van de USEPA zijn geen relevante additionele gegevens verkregen.

##### 3.1.2 Gegevensoverzicht

Geconstateerd is dat de beschikbare hoeveelheid toxiciteitsgegevens over de effecten van pesticiden op marien zoöplankton, met name copepoden, zeer beperkt is. Dit kan goed geïllustreerd worden aan de hand van de database van de USEPA (PEED). Deze omvat 12889 gegevens betreffende EC<sub>50</sub>'s, LC<sub>50</sub>'s en LOEC's voor pesticiden voor verschillende toepassingsgebieden op uiteenlopende organismen

(van algen tot amfibieën). Eén gegeven (record) heeft hierbij betrekking op één toxiciteitswaarde, bv een  $LC_{50}$ , van een stof op een soort bij een bepaalde blootstellingsduur. Uit één publicatie kunnen meerdere gegevens voortkomen indien  $LC50$ 's voor verschillende blootstellingsduur en/of voor verschillende soorten zijn bepaald.

Van de 12889 gegevens hebben er 2238 betrekking op kreeftachtigen. In Tabel 1 is een overzicht van de hoeveelheid informatie uit het bestand weergegeven waaruit blijkt dat de hoeveelheid gegevens ongeveer voor de helft bestaan uit gegevens voor zoetwater zoöplankton (vooral *Daphnia magna*). Daarnaast hebben veel gegevens betrekking op aasgarnalen (ca. 300, vooral *Mysidopsis bahia*), garnalen (ruim 300), gammariden (ca. 170) en krabben (ca. 100). Slechts drie gegevens zijn aanwezig voor mariene copepoden.

*Tabel 1 Overzicht van het aantal gegevens (toxiciteitswaarden voor verschillende stoffen, soorten, effect-parameters, blootstellingsduren en testsoorten) uit het US-EPA bestand (PEED) betreffende de effecten van pesticiden met verschillende toepassingsgebieden op de groep van kreeftachtigen en de subgroepen cladoceren (alle zoet) en copepoden (alle marien)*

Werkingsgebied	marien		zoet
	Kreeftachtigen	Copepoda	Cladocera
Insecticide	858	1	384
Herbicide	698		396
Microbiocide	281	2	180
Fungicide	235		146
Anders	166		17

De uit het AQUIRE en het PEED databestand voortkomende gegevens, zijn weergegeven in Tabel 2. Van een aantal stoffen zijn geen gegevens voor zoöplankton gevonden (Tabel 3).

*Tabel 2 Overzicht van beschikbare gegevens van geselecteerde pesticiden op zoö-plankton met aangegeven het werkingsgebied (i=insecticide, h=herbicide, f=fungicide, n= nematocide), de verwachte relatieve toxiciteit (+ = toxischer voor zoöplankton dan voor andere groepen) en typen zoöplankton (1 = mariene copepoden; calanoiden, 2 = mariene copepoden harpacticoiden, 3a = zoete copepoden; calanoiden, 3b = zoete copepoden; cyclopoiden, 4 = zoete cladoceren*

Naam	Casnummer	chemische groep	werking	toxiciteit		type zoöplankton			
				zoöplankton*		1	2	3a	3b
2,4-D	94-75-7	chloorfenoxycarbonzuren	h					X	X
Aldicarb	116-06-3	carbamaten	n(i)	+					X
Anilazin	101-05-3	triazinen	f						X
Atrazin	1912-24-9	triazinen	h	+	X				X
Azinofosmethyl	86-50-0	organofosforbestrijdingsmiddelen	i						X
Bentazon	50723-80-3	thiadiazoolverbindingen	h						X
Bifentrin	82657-04-3	synthetische pyrethroiden	i	+					X
Captan	133-06-2	carboximiden	f						X
Carbendazim	10605-21-7	carbamaten	f						X
Carbofuran	1563-66-2	carbamaten	i						X
Chloorfenvinfos	470-90-6	organofosforbestrijdingsmiddelen	i	+					X
Chloorprofam	101-21-3	carbamaten	h						X
Chloorthalonil	1897-45-6	diversen	f						X
Chlorpyrifos	2921-88-2	organofosforbestrijdingsmiddelen	i						X
Cyfluthrin	68359-37-5	synthetische pyrethroiden	i	+					X
Cypermethrin	52315-07-8	synthetische pyrethroiden	f	+					X
Diazinon	333-41-5	organofosforbestrijdingsmiddelen	i	+					X X
Dichlobenil	1194-65-6	benzotriïlen	h			X			X
Dichloorvos	62-73-7	organofosforbestrijdingsmiddelen	i	+			X		X
Diïflubenzuron	35367-38-5	fenylureumherbiciden	i	?	X				
Dimethoaat	60-51-5	organofosforbestrijdingsmiddelen	i	+					X X
Diuron	330-54-1	fenylureumherbiciden	h						X
DNOC	534-52-1	fenolherbiciden	h(i)	+					X
Endosulfan	115-29-7	organochloorbestrijdingsmiddelen	i	+	X		X	X	X
Esfenvaleraat	66230-04-4	synthetische pyrethroiden	i	+			X	X	X
Fenvalerate	51630-58-1	synthetische pyrethroiden	i	?		X			
HCB	118-74-1	organochloorbestrijdingsmiddelen	f						X
Heptachloor	76-44-8	organochloorbestrijdingsmiddelen	i				X	X	X
Lindaan (γ-HCH)	608-73-1	organochloorbestrijdingsmiddelen	i	+					X
Linuron	330-55-2	fenylureumherbiciden	h						X
Malathion	121-75-5	organofosforbestrijdingsmiddelen	i	+			X	X	X
Maneb	12427-38-2	dithiocarbamaten	f	+		X			X
MCPA	94-74-6	chloorfenoxycarbonzuren	h			X			X
MCPP (mecoprop)	7085-19-0	fenoxypionzuren	h			X			
Methomyl	16752-77-5	carbamaoyloximen	i	?	X				X
Metolachlor	51218-45-2	aniliden	h						X
Metoxuron	19937-59-8	ureumverbindingen	h						X X
Metoxychlor	72-43-5	organochloorbestrijdingsmiddelen	i	+					X X
Mevinfos	26718-65-0	organofosforbestrijdingsmiddelen	i	+					X
Oxamyl	23135-22-0	carbamaten	n(i)						X
Oxydemeton-methyl	301-12-2	organofosforbestrijdingsmiddelen	i						X

Naam	Casnummer	chemische groep	werking	toxiciteit		type zoöplankton				
				zoöplankton*		1	2	3a	3b	4
Parathion(-ethyl)	56-38-2	organofosforbestrijdingsmiddelen	i							X
Parathion methyl	298-00-0	organofosforbestrijdingsmiddelen	i	+	X	X	X	X	X	X
Permethrin	52645-53-1	synthetische pyrethroiden	i							X
Propachloor	1918-16-7	aniliden	h							X
Propoxur	114-26-1	carbamaten	i							X
Quilzalofop-ethyl	76578-14-8	chloorfenoxycarbonsuren	h							X
Simazin	122-34-9	triazinen	h					X		X
Thiabendazool	148-79-8	carbamaten	f			X				
Thiram	137-26-8	dithiocarbamaten	f	+						X
Triallaat	2303-17-5	dithiocarbamaten	h							X
Trichloorfon	52-68-6	organofosforbestrijdingsmiddelen	i							X
Trifluralin	1582-09-8	nitroanilinen	h	+			X	X	X	X
Zineb	12122-67-7	dithiocarbamaten	f	+						X
Ziram	137-30-4	dithiocarbamaten	f	+						X

*Tabel 3* Stoffen waarvoor in het *AQUIRE* en *PEED* bestand géén gegevens zijn gevonden welke betrekking hebben op zoet en marien zoöplankton (codering werkingsgebied als in Tabel 2).

Naam	Casnummer	chemische groep	werking
Benomyl	17804-35-2	carbamaten	f
Carboxin	5234-68-4	aniliden	f
Chloridazon	1698-60-8	bentazon en chloridazon	h
Methabenzthiazuron	18691-97-9	fenylureumherbiciden	h
Dinoterb	1420-07-1	fenolherbiciden	h
Fenpropathrin	64257-84-7	synthetische pyrethroiden	i
Fentin	668-34-8	organotinverbindingen	f
Fluazinam	79622-59-6	dinitroanilneverbindingen	f
Heptenofos	23560-59-0	organofosforbestrijdingsmiddelen	i
Isoproturon	34123-59-6	fenylureumherbiciden	h
Pirimicarb	23103-98-2	carbamaten	i
Prochloraz	67747-09-5	conazolen	f
Procymidon	32809-16-8	carboximiden	f
Pyrazofos	13457-18-6	organofosforbestrijdingsmiddelen	i
Tolclofos-methyl	57018-04-9	organofosforbestrijdingsmiddelen	f

## 3.2 Effecten van pesticiden

### 3.2.1 Algemeen

In Bijlage II zijn voor de geselecteerde pesticiden Maximaal Toelaatbare Risiconiveau's (MTR's) en indicatieve MTR's aangegeven, is het werkingsgebied aangegeven (target organismen), en is aangegeven of de stof ook in het zoute water is aangetroffen. Indien voldoende gegevens aanwezig zijn worden MTR's geschat aan de hand NOEC-waarden uit laboratoriumtesten. Bij het MTR wordt de waarde geschat waarbij ten hoogste 5% van soorten in een ecosysteem blootgesteld wordt boven zijn NOEC. Indien weinig toxiciteitsgegevens bekend

zijn worden extrapolatiewaarden gebruikt, waarbij een veiligheidsmarge wordt ingebouwd, die groter wordt naarmate het aantal gegevens geringer, en de aard van de gegevens minder gevoelige testparameters betreft. Dit houdt in dat in het geval van alleen acute  $EC_{50}$ -waarden voor sterfte de veiligheidsfactor groter is dan de wanneer chronische effecten op bijvoorbeeld reproductie bekend zijn. Een consequentie van deze methodiek is dat de MTR's voor stoffen waarvoor slechts weinig gegevens voorhanden zijn een relatief lage waarde kunnen krijgen door toepassing van een grote veiligheidsmarge.

### 3.2.2 Effecten op copepoden

De hoeveelheid getraceerde toxiciteitsgegevens voor copepoden, welke relevant zijn voor de geselecteerde stoffen, is zeer gering. In Tabel 4 zijn de gegevens voor zowel zoetwater als van mariene copepoden weergegeven. Slechts voor drie stoffen zijn gegevens voor mariene copepoden gevonden. Alle gevonden gegevens voor copepoden betreffen de effecten op de overleving. Per combinaties van effect en effecttype is de laagste toxiciteitswaarde geselecteerd ('worst-case' benadering). Wetenschappelijke publicaties over de effecten van pesticiden op mariene copepoden zijn samengevat in Bijlage I.

Tabel 4 Gegevens betreffende de effecten van de geselecteerde pesticiden voor zoet- en zoutwater copepoden. Mariene (en brakwater) soorten zijn vet aangegeven, MOR = mortaliteit; nv=niet vermeld.

Copepoden		Duur	Effect	Type	Concentratie
Stof	Soort	(dagen)	parameter	effect	(µg/l)
2,4-D	Spicodipt chilospinus	2	EC50	MOR	1850
2,4-D	Spicodipt chilospinus	1	EC50	MOR	2400
2,4-D	Eudiptomus gracilis	4	EC50	MOR	144100
atrazin	<b>Acartia tonsa</b>	4	EC50	MOR	94
atrazin	<b>Eurytemora affinis</b>	8	LOEC	MOR	6000
atrazin	<b>Eurytemora affinis</b>	8	LOEC	MOR	17500
atrazin	<b>Eurytemora affinis</b>	8	LOEC	MOR	25000
atrazin	<b>Eurytemora affinis</b>	8	MATC	MOR	5010
atrazin	<b>Eurytemora affinis</b>	8	MATC	MOR	14600
atrazin	<b>Eurytemora affinis</b>	8	MATC	MOR	20900
atrazin	<b>Eurytemora affinis</b>	8	NOEC	MOR	4200
atrazin	<b>Eurytemora affinis</b>	8	NOEC	MOR	12250
atrazin	<b>Eurytemora affinis</b>	8	NOEC	MOR	17500
diazinon	Cyclops sp	7	EC50	MOR	2510
dichloorvos	Diaptomus forbesi	nv	EC5	MOR	24
dichloorvos	Diaptomus forbesi	nv	EC95	MOR	123
dimethoaat	Cyclops strenuus	4	EC50	MOR	2
endosulfan	<b>Acartia tonsa</b>	4	EC50	MOR	0.03
endosulfan	<b>Acartia tonsa</b>	4	EC50	MOR	0.05
endosulfan	Eucyclops sp	2	EC50	MOR	0.1
endosulfan	<b>Acartia tonsa</b>	4	EC50	MOR	0.12
endosulfan	<b>Acartia tonsa</b>	4	EC50	MOR	0.28
endosulfan	<b>Acartia tonsa</b>	4	EC50	MOR	0.4
endosulfan	<b>Acartia tonsa</b>	4	EC50	MOR	0.45
endosulfan	Diaptomus sp	2	EC50	MOR	0.6
endosulfan	Spicodipt chilospinus	2	EC50	MOR	40
endosulfan	Spicodipt chilospinus	1	EC50	MOR	50
endosulfan	Eucalanus sp	1	EC50	MOR	176
endosulfan	<b>Acartia sp</b>	1	EC50	MOR	243
heptachloor	Cyclops sp	7	EC100	MOR	100
heptachloor	Diaptomus sp	7	EC100	MOR	100
malathion	Diaptomus forbesi	nv	EC5	MOR	73.5
malathion	Eucyclops sp	2	EC50	MOR	1
malathion	Diaptomus sp	2	EC50	MOR	2
metoxuron	Cyclops strenuus	2	EC50	MOR	122000
parathion methyl	<b>Acartia tonsa</b>	4	EC50	MOR	28
parathion methyl	Diaptomus forbesi	nv	EC95	MOR	2520
trifluralin	Eucyclops sp	2	EC50	MOR	50
trifluralin	Diaptomus sp	2	EC50	MOR	80

### 3.3 Toxiciteitsgegevens overig zoöplankton

Voor de effecten van zoetwater zoöplankton (uitsluitend cladocere kreeftachtigen) zijn voor 54 van de 68 geselecteerde pesticiden in totaal 471 toxiciteitsgegevens

gevonden. Deze zijn in digitale vorm opgeleverd. Van deze gegevens hebben 334 testen een duur van maximaal 5 dagen en sterfte als effect parameter. De meeste gegevens komen voort uit testen met de watervlo *Daphnia magna* (317), gevolgd door *Daphnia pulex* (60) en *Ceriodaphnia dubia* (37). Vooral sterfte wordt als effect-parameter getoetst (407 gegevens), gevolgd door reproductie (46), groei (11) en voedsel opname (7).

De effecttypen zijn op de volgende wijze geaggregeerd om te komen tot een beperking naar de in 2.4 beschreven effect-parameters.

- Sterfte; alleen gegevens gecodeerd als mortaliteit (MOR) in AQUIRE en de niet gespecificeerde effecten in PEED
- Reproductie; effecten gecodeerd als REP (reproductie) in AQUIRE en 'eggs layed' en 'eggs hatched' in PEED
- Groei; GRO ('growth') and PGR (population growth) in AQUIRE, 'growth' in PEED (alleen voor LOEC's)
- Graas; FLT ('filtration rate') en FCR (food consumption rate) in AQUIRE

Hoewel de ontwikkeling en voortplanting van cladoceren verschilt met die van copepoden, worden de effecttypen op dezelfde wijze toegepast. De belangrijkste verschillen in de levenscyclus zijn de voornamelijk aseksuele (parthenogenetische) voortplanting van cladoceren, de ontwikkeling van eieren in het moederdier, en het per soort variërende aantal vervelling tot het volwassen stadium wordt bereikt.

De volgende effecten zijn beschouwd:

- $EC_{50}$ ; effect grootte is 50%
- LOEC (Lowest Observed Effect Concentration); de laagste testconcentratie (boven de NOEC) waarbij een effect wordt waargenomen. Aangenomen is dat de LOEC gelijk is aan de  $EC_{10}$ .
- NOEC (No Observed Effect Concentration); laagste testconcentratie (onder de LOEC) waarbij geen effect wordt waargenomen. De MATC (Maximum Acceptable Toxicant Concentration = geometrisch gemiddelde van NOEC en LOEC) is ook als NOEC beschouwd, wat een lichte onderschatting van de effectgrootte betekent. Aangenomen is dat de NOEC gelijk is aan de  $EC_5$ .

Een 'worst-case' benadering is toegepast door uit de gegevensset voor de combinaties van effect en effecttypen de laagste waarden te selecteren.



## 4. Opstellen van dosis-effectrelaties

### 4.1 Beschrijving dosis-effect relaties

Dosis-effect relaties worden meestal beschreven met een cumulatieve log-logistische verdeling of een cumulatieve log-normale verdeling. Bij grafische weergave is de kromme sigmoïdaal van vorm. De log-logistische kromme wordt beschreven met twee parameters, de  $EC_{50}$  waarde (het buigpunt van de curve) en de hellingshoek op dat punt (de helling):

$$P_i = \frac{\left(\frac{C_j}{\alpha}\right)^{\frac{1}{\beta}}}{1 + \left(\frac{C_j}{\alpha}\right)^{\frac{1}{\beta}}}$$

waarin:

$P_i$	= fractie effect bij concentratie $i$	[-]
$C_i$	= concentratie $i$	$[\mu\text{g.l}^{-1}]$
$\alpha$	= $EC_{50}$	$[\mu\text{g.l}^{-1}]$
$\beta$	= Parameter waarvan de inverse proportioneel is met de maximale helling van de dosis-effect kromme	[-]

Door Smit *et al.* (1995) is een analyse van hellingshoeken uitgevoerd, welke ondermeer betrekking had op toxiciteitsgegevens van acute (48 uur) toetsen met *Daphnia magna* en 96 uren toetsen met diverse organismen. Uit deze gegevens zijn de in Tabel 5 gepresenteerde waarden van  $\beta$  en de daarmee corresponderende ratio tussen de  $EC_{50}$  en  $EC_5$  bepaald. Uit Tabel 5 blijkt dat de gemiddelde waarde voor  $\beta$  voor *D. magna* 0.33 bedraagt. Een twintigtal gegevens van deze dataset heeft betrekking op de effecten van pesticiden op de overleving van *D. magna*, 12 gegevens voor 48 uur en 8 gegevens voor 21 dagen blootstelling. De waarden van  $\beta$  en de  $EC_{50}/EC_5$  ratio zijn 0.42 en 3.82 voor 48 uur blootstelling en 0.38 en 2.98 voor 21 dagen blootstelling. De spreiding in de populatie neemt dus af bij langere blootstelling. Opgemerkt moet worden dat het aantal gegevens voor de analyse beperkt is.

Tabel 5 Percentielen voor hellingsparameter  $\beta$  en de corresponderende  $EC_{50}/EC_5$  ratio voor toxiciteitgegevens voor *Daphnia* (48 uur) en diverse organismen (96 uur)

Hellingen Percentile	EC50/EC5		$\beta$	
	96h	48h	96h	48h
10	1.6	1.9	0.17	0.23
50	2.6	2.9	0.36	0.33
90	11.4	13.6	0.92	0.99

Op basis van bovenstaande gegevens wordt een vaste hellingwaarde gekozen voor de dosis-effect relatie van de verschillende stoffen. Hierbij bedraagt de gekozen waarde voor  $\beta$  0.4, overeenkomend met een  $EC_{50}/EC_5$  ratio van 3.

Omdat voor veel stoffen alleen acute effecten op sterfte bekend zijn, en niet op voor het veld relevantere chronische blootstellingsduur en subletale effecten als groei-, graas- en reproductievermindering, is het zinvol een extrapolatie te gebruiken voor de doorvertaling van acute naar chronische effecten.

Een indicatie voor het verschil in acute mortaliteit en chronische reproductie effecten is door Heger *et al.* (1995) geanalyseerd op basis van een groot aantal toxiciteitsgegevens. Het doel hierbij was te komen tot een applicatiefactor waaruit de chronische effecten voorspeld kunnen worden uit acute gegevens. Hiertoe is een 'Acute to Prolonged toxicity Ratio' (APR) bepaald. Veel van de beschikbare toxiciteitsgegevens hebben betrekking op *Daphnia magna*. Voor deze soort zijn APR's opgesteld op basis van 48 uren  $EC_{50}$  voor immobiliteit en NOEC's (No Observed Effect Concentration) voor immobiliteit, verminderde groei of reproductie over een blootstellingsperiode van 21 dagen.. Voor de berekening van de APR is de laagst gevonden  $EC_{50}$  van een stof gedeeld door de laagst gevonden NOEC voor die stof. Hierdoor neemt de APR over het algemeen af als er meer  $EC_{50}$ 's beschikbaar zijn.

In Tabel 6 zijn de APR's (gemiddelde, mediane, minimum en maximum waarde) weergegeven voor verschillende stofgroepen. Voor 'Pesticiden totaal' zijn ook gegevens van ondermeer mollusciciden, acariciden en rodenticiden betrokken. De gegevens hebben uitsluitend betrekking op gegevens voor de actieve stof (chemische stof), en dus niet op geformuleerde producten (mengsel met daarin actieve stof). Nieuwe stoffen zijn chemicaliën die na 1981 geproduceerd of geïmporteerd zijn. Voor deze stoffen zijn meer en beter geprotocoliseerde testgegevens beschikbaar dan voor 'Bestaande stoffen'. Daarnaast is ook het percentage gegevens aangegeven over verschillende klassen ( $APR \leq 10$ , APR 10-100 et cetera).

Tabel 6 APR ('Acute to Prolonged toxicity Ratio' = ratio van  $LC_{50}$  en NOEC) voor *Daphnia magna* voor verschillende stofgroepen en het percentage gegevens verdeeld over verschillende klassen van de APR-waarden. Uit: Heger et al., 1995.

APR	Insecticiden	Fungiciden	Herbiciden	Pesticiden (totaal)	Nieuwe stoffen	Bestaande stoffen
aantal	35	32	59	141	39	94
gemiddeld	144	61	2676	1175	2793	113
mediaan	3	26	9	9	33	25
minimum	0.001	0.7	0.005	0.001	0.02	2
maximum	3540	388	142276	142276	100000	3000
>1000	3%	0%	10%	1%	5%	3%
100-1000	8%	16%	10%	8%	15%	15%
10-100	22%	53%	25%	29%	36%	53%
≤10	67%	31%	55%	62%	44%	27%

Uit de analyse blijkt dat de APR voor pesticiden over het algemeen lager is dan voor de andere stofgroepen. Dit betekent dat de verschillen in acute en chronische toxiciteitsgegevens voor *D. magna* voor pesticiden relatief gering zijn. Dit geldt, op basis van de mediane waarde, met name voor insecticiden en herbiciden. Voor deze groepen is het percentage stoffen waarvoor de  $APR \leq 10$  is groot. Geconcludeerd wordt dan ook dat de toxiciteit van sterk toxische stoffen niet veel toeneemt met een verlengde test.

Voor de extrapolatie om vanuit acute  $EC_{50}$ 's (mortaliteit) een NOEC te schatten is een ratio van 9 gekozen. Als NOEC zal een  $EC_5$  worden gehanteerd. Hieruit volgt dat een acute  $EC_{50}$  drie maal hoger is dan een chronische  $EC_{50}$ , en dezelfde verhouding geldt voor de verhouding van de  $EC_5$  voor acute en chronische blootstelling.

## 4.2 Dosis-effect relaties voor geselecteerde pesticiden

Voor het opstellen van de dosis-effect relaties is per stof de laagste  $EC_{50}$ , LOEC en NOEC geselecteerd per effecttype (sterfte, reproductie, groei, graas) voor copepoden (marien en zoetwatersoorten) en zoetwater cladoceren. Voor copepoden betreft het uitsluitend effecten op sterfte, voornamelijk  $EC_{50}$ -waarden bij een korte blootstellingsduur.

De gegevens voor zoetwaterorganismen zijn omvangrijker en betreffen meer stoffen. De gegevens zijn weergegeven in Bijlage III.

*Tabel 7 Toxiciteitsgegevens (in µg/l) voor het opstellen van dosis-effectrelaties voor sterfte, gebaseerd op gegevens voor marien (vet weergegeven) en zoetwater copepoden voor effecten op sterfte. d = blootstellingsduur in dagen, n is het aantal beschikbare gegevens.*

Stof	EC <sub>50</sub>	d	n	LOEC	d	n	NOEC	d	n
2,4-D	1850	2	3						
Atrazin	94	10		6000	8	3	4200	8	6
Diazinon	2510	7	1						
Dimethoat	2	4	1						
Endosulfan	0.03	4	12						
Malathion	1	2	2						
Metoxuron	122000	2	1						
Parathion methyl	28	4	2						
Trifluralin	50	2	2						

## 5. Discussie en conclusies

### Raamwerk

In dit rapport is een werkwijze voorgesteld om eventuele ecotoxicologische effecten van pesticiden op zoöplankton te kwantificeren. De studie is in een raamwerk geplaatst waarin is aangegeven hoe de invloed van een verminderde begrazing op fytoplanktonbloeien geschat kan worden.

Als eerste stap zijn gegevens geïnventariseerd over de effecten van pesticiden, waarbij de (toxiciteit-)effectparameters aangesloten dienen te worden bij een modelmatige beschrijving(en) voor zoöplanktonontwikkeling welke gebruikt wordt in eutrofiëringsmodellen. Om dit te bereiken is een evaluatie uitgevoerd van wetenschappelijke literatuur naar de effectparameters gebruikt in testen met mariene copepoden (kreeftachtigen) welke het (meso)zoöplankton in de Noordzee domineren. Daarnaast is een dynamisch zoöplankton model overgenomen (Riegman *et al.*, 1998) om te onderzoeken of de gebruikte parameters aansluiten bij die in toxiciteitstesten. Hoewel de parameters deels betrekking hebben op dezelfde termen (zoöplanktonbiomassa, ingestie, mortaliteit) is de omschrijving van deze termen als effectparameters in toxiciteitstesten erg variabel. Daarnaast wordt in het overgenomen model reproductie niet als afzonderlijke term gebruikt. Het effect van reproductie is impliciet opgenomen in de biomassaontwikkeling.

Voor de parameters die wel overeenkomen tussen het zoöplanktodynamisch model en de effectparameters uit toxiciteitstesten is de relatie niet altijd eenduidig. In het geval van mortaliteit is het effect duidelijk. Voor andere effecttypen (reproductie, graassnelheid, groei) zijn door verschillen in opzet van testen de effectparameters verschillend, hoewel samengevat onder dezelfde term. Voor reproductie kunnen bijvoorbeeld effecten genoemd worden als verminderde eiproductie (aantallen), verminderd uitkomstpercentage, verlenging van het pre-adult stadium. Hoewel voor al deze parameters een  $EC_{50}$  opgesteld kan worden, wordt niet direct duidelijk wat hiervan de consequenties zijn voor de populatieontwikkeling en de graasdruk van het zoöplankton. Overigens is dit geen specifiek probleem voor de vraagstelling van deze studie, maar geldt hij algemeen voor ecotoxicologische risico evaluaties.

### Toxiciteitsgegevens en dosis-effect relaties

Gebleken is dat de hoeveelheid gegevens over de toxiciteit van pesticiden voor (mariene) copepoden zeer schaars is. Voor het afleiden van de dosis-effectrelaties zijn daarom ook gegevens voor zoetwater zoöplanktonsoorten verzameld. Dit betreft met name cladoceren (watervlooien), welke ook tot de kreeftachtigen behoren en een vergelijkbare ecologische niche in het ecosysteem hebben. Op basis van de verzamelde gegevens kan geen uitspraak worden gedaan over de relatieve gevoeligheid van beide verschillende soortgroepen. Mogelijk is de gevoeligheid van soorten die in relatief stabiele milieu's leven voor wat betreft

waterkwaliteit (*s.l.*) en omgevingsfactoren (bijvoorbeeld oceanen), hoger dan voor soorten die in veel dynamischer milieus voorkomen (Jak, 1997). Bij het gebruik van zoetwatergegevens is daarom de nodige voorzichtigheid geboden.

Bij het afleiden van de toxiciteitswaarden is de laagste waarde per combinatie van effect en effect-type geselecteerd. Dit betekent dat een 'worst-case' benadering is gevolgd, waardoor effecten van pesticiden niet onderschat worden. In het opgebouwde gegevensbestand is de aarde van 'gevoelige' effect-parameters als de NOEC-waarde hoger dan voor een minder gevoelige effect-parameter als de  $EC_{50}$  voor sterfte. Dit wordt ondermeer veroorzaakt door het beperkt aantal gegevens en door het samenvoegen van verschillende soorten. Daarnaast zijn bij het opstellen van de dosis-effectrelaties aannames gedaan over de helling van de kromme en de verhouding tussen acute en chronische effecten. Voor beide is een vaste (mediane) waarde gekozen. De spreiding is echter zeer groot, waardoor de chronische effecten bij afleiding uit acute gegevens tot orden van grootte kan afwijken van de werkelijke verhoudingen. Dit probleem kan slechts met experimenteel onderzoek naar de effecten van pesticiden op marien zoöplankton opgelost worden.

#### **Begrazing en algenbloei**

De huidige studie is gericht geweest op de effecten van pesticiden op copepoden die het mesozöplankton domineren. Daarnaast vormt een belangrijke component in de begrazing van het fytoplankton in het kustwater de groep van microzöplankton. Deze groep is niet in deze studie betrokken. Het microzöplankton is een taxonomisch zeer diverse groep. Zelfs als alle soorten tezamen genomen worden, is het aantal toxiciteitsgegevens waarschijnlijk zeer klein. Juist voor de bestudering van de effecten van stoffen op microzöplankton, en het indirecte effect op de fytoplanktonontwikkeling, is het gebruik van 'multi-species' testen een aantrekkelijke optie. Zowel het micro- als het mesozöplankton heeft bovendien preferenties en verschillen in graascapaciteit voor verschillende fytoplanktonsoorten, ondermeer afhankelijk van grootte en de aanwezigheid van afstotende of toxische bestanddelen in de algencel. Hierdoor kan het effect 'graassnelheid', meestal vastgesteld met bolvormige goed begraasbare algencellen, niet zonder meer gekoppeld worden aan die op veldschaal.

#### **Pesticiden**

In deze studie zijn gegevens verzameld voor een grote hoeveelheid pesticiden. Voor slechts een deel van het totaal aantal aan pesticiden dat toegepast wordt in Nederland worden metingen in de Noordzee verricht. Stoffen die zowel in 1992 als 1993 in het Noordzee kustwater de grenswaarde of het (indicatieve) MTR overschreden zijn atrazin, diazinon, dichloorvos, malathion, mevinfos, mecoprop, chloortoluron (Teunissen-Ordelman & Schrap, 1996). Deze lijst wordt mogelijk langer indien meer stoffen gemeten worden. Duidelijk is dat vooral organofosforverbindingen, organotinverbindingen, naast een beperkt aantal stoffen uit andere stofgroepen, probleemstoffen voor het oppervlaktewater zijn (RWS, 1996). Juist voor deze pesticide-groepen zijn kreeftachtigen vaak zeer gevoelig.

### Vervolgonderzoek

Een groot probleem voor de beantwoording van de vraag of pesticiden bijdragen tot het optreden van algenbloei in de kustzone vormt het gebrek aan relevante toxiciteitsgegevens en (recente) concentratie metingen van een breed scala aan pesticiden. In het kader van andere projecten worden op beide vlakken studies uitgevoerd. De resultaten van concentratie metingen worden op korte termijn verwacht vanuit het chemisch monitoring programma, onderdeel van de algemene monitoring Rijkswateren. Vanuit deze monitoring, onderdeel van MWTL, komen meetgegevens beschikbaar over pesticidenconcentraties gemeten in 1997 en 1998. (De gegevens van voor deze tijd worden als minder betrouwbaar beschouwd).

Behalve met dit literatuuronderzoek wordt door TNO in het kader van het V&W doelfinancieringsonderzoek 'Bronnen en effecten van pesticiden' ook onderzoek verricht naar de betekenis van atmosferische depositie van pesticiden in het Nederlandse zeemilieu en naar de effecten van pesticiden op zoöplankton mede in relatie tot de interactie tussen (meso)zoöplankton en fytoplankton. In dit onderzoek, dat vooral gericht is op experimentele methodiekontwikkeling, worden pesticiden toegepast waarvan een hoog risico verwacht wordt. Hierdoor zou het gebrek aan relevante gegevens voor een zeer beperkt deel verminderd kunnen worden. In dit onderzoek wordt echter niet expliciet aandacht besteed aan microzoöplankton.

Voor het opstellen van dosis-effectrelaties zijn een aantal aannames gedaan ten aanzien van de helling van de curve, en de verhouding tussen effecten bij korte blootstellingsduur (acute effecten op sterfte) en 'chronische' effecten op subletale effectparameters. Hiervoor zijn gemiddelde waarden aangegeven, maar opgemerkt moet worden dat de spreiding in individuele gevallen hoger dan een orden van grootte kan zijn. Vooralsnog is geen analyse gemaakt tussen de relatieve gevoeligheid van marien zoöplankton en zoetwater zoöplankton, omdat de hoeveelheid gegevens voor pesticiden zeer beperkt is. Deze informatie zou bruikbaar zijn om een extrapolatie mogelijk te maken van de relatief grote hoeveelheid gegevens voor zoetwater zoöplankton naar het mariene zoöplankton. In een vervolgonderzoek zou een analyse van deze verhouding kunnen worden geschat, waarbij ook informatie van andere stoffen dient te worden betrokken. Daarnaast zou inzicht in de relatieve gevoeligheid van verschillende effectparameters extrapolatie mogelijk maken, of althans een schatting kunnen geven, voor effecten op parameters waarvoor weinig gegevens zijn gevonden (bijvoorbeeld effecten op sterfte naar effecten graas, groei en reproductie). Deze verhoudingen zullen echter sterk bepaald worden door het werkingsmechanisme van de specifieke stoffen.

Bij de bestudering van de relatie tussen de effecten van pesticiden en het optreden van algenbloei is het gebruik van modelecosystemen aantrekkelijk vanwege de hoge diversiteit in soortgroepen (fytoplankton, micro- en mesozoöplankton) en soorten, en de trofische interacties tussen de trofische niveaus. Hoewel dergelijke

systemen geen exacte weergave geven van de natuurlijke veldomstandigheden, kan een goed inzicht verkregen worden in toxiciteitsniveau's van stoffen en de relatieve gevoeligheid van belangrijke groepen in het voedselweb. Hierdoor kan duidelijk worden wat de consequenties van stoffen (pesticiden) zijn op het functioneren van het pelagisch ecosysteem.

Bij de modellering van fytoplanktonbegrazing door het zoöplankton, een volgende stap in het aangegeven raamwerk, zal ondermeer aandacht besteed dienen te worden aan de begraasbaarheid van fytoplanktonsoorten, door zowel micro-zoöplankton als meso-zoöplankton, op een meer gedetailleerd niveau (soorten of functionele groepen in plaats van taxonomische groepen).



## 6. Referenties

Bushong S.J., M.C. Ziegenfuss, M.A. Unger & L.W. Hall (1990): Chronic tributyltin toxicity experiments with the Chesapeake Bay copepod, *Acartia tonsa*. Environ. Toxicol. Chem. 9:359-366.

Buttino I. (1994): The effect of low concentrations of phenol and ammonia on egg production rates, fecal pellet production and egg viability of the calanoid copepod *Acartia clausi*. Mar. Biol. 119:629-634.

Crommentuijn T., D.F. Kalf, M.D. Polder R. Posthumus & E.J. van de Plassche (1997): Maximum Permissible Concentrations and Negligible Concentrations for pesticides. RIVM report No. 601501002.

Girling A.E. (1989): Acute and chronic toxicity of produced water from a North Sea oil production platform to the calanoid copepod *Acartia tonsa*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 43:280-286.

Hall L.W., S.J. Bushong, W.S. Hall & W.E. Johnson (1988): Acute and chronic effects of tributyltin on a Chesapeake Bay copepod. Environ. Toxicol. Chem. 7:41-46.

Hanstveit A.O. (1996): Selected test guidelines recommended by the Oslo and Paris Commissions (OSPAR) for environmental testing of chemicals and drilling fluids to be used in the North Sea area. Valid by September 1995. TNO Nutrition and Food Research Institute.

Heger W., S.-J. Jung, S. Martin & H. Peter (1995): Acute to prolonged toxicity to aquatic organisms of new and existing chemicals and pesticides. Chemosphere 31:2707-2726.

Hollister T.A., G.S. Ward & P.R. Parrish (1980): Acute toxicity of a #6 fuel oil to marine organisms. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 24:656-661.

Jak R.G. (1997): Toxicant-induced changes in zooplankton communities and consequences for phytoplankton development. Proefschrift, Vrije Universiteit, Amsterdam.

Jak R.G. & B.F. Michielsen (1996): Algenbegrazing: een nadere analyse van de invloed van toxicanten op het ontstaan van eutrofiëringsproblemen. BEON Rapport nr. 96-4.

- Jak R.G., M. Ceulemans, M.C.Th. Scholten & N.M. van Straalen (1998): Effects of tributyltin on a coastal North Sea plankton community in enclosures. *Environ Toxicol Chem* 17: 1840-1847.
- Karman C.C. (1996): Ecotoxicological risk of produced water discharged from oil production platforms - combined toxicity of the individual components. TNO Rapport R96/492
- Kusk K.O. & S. Petersen (1997): Acute and chronic toxicity of tributyltin and linear alkylbenzene sulfonate to the marine copepod *Acartia tonsa*. *Environ. Toxicol. Chem.* 16:1629-1633.
- Moraitou-Apostolopoulou M. (1978): Acute toxicity of copper to a copepod. *Mar. Pollut. Bull.* 9:278-280.
- Moraitou-Apostolopoulou M., G. Verriopoulos & P. Palla (1979): Temperature and adaptation to pollution as factors influencing the acute toxicity of Cd to the planktonic copepod *Acartia clausi*. *Tethys* 9:97-101.
- Moraitou-Apostolopoulou M. & G. Verriopoulos (1979): Some effects of sub-lethal concentrations of copper on a marine copepod. *Mar. Pollut. Bull.* 10:88-92.
- Moraitou-Apostolopoulou M. & G. Verriopoulos (1982): Toxicity of chromium to the marine planktonic copepod *Acartia clausi*, Giesbrecht. *Hydrobiologia* 96:121-127.
- Ott F.S., R.P. Harris & S.C.M. O'Hara (1978): Acute and chronic toxicity of naphthalene and three methylated derivatives to the estuarine copepod, *Eurytemora affinis*. *Mar. Environ. Res.* 1:49-58.
- Riegman R., H. Los & C. Peeters (1998): BEON-graden. Giftige algen en de reductie van de nutriëntenbelasting. Eindrapport. BEON rapport 98-4. NIOZ RIKZ WL.
- RWS (1996): Sporen in water, zes jaar speuren. RWS rapport RIKZ-96.036 & RIZA-notanr. 96.075.
- Sharp A.A. & D.E. Stearns (1997): Sublethal effects of cupric ion activity on the grazing behaviour of three calanoid copepods. *Mar. Pollut. Bull.* 34:1041-1048.

Smit M.G.D., H.P.M. Schobben & C.C. Karman (1995): Hellingen van concentratie-effect relaties: Een verkennend onderzoek.  
TNO rapport R95/135

Sosnowski S.L. & J.H. Gentile (1978): Toxicological comparison of natural and cultured populations of *Acartia tonsa* to cadmium, copper, and mercury.  
J. Fish. Res. Bd. Can. 35:1366-1369.

Sosnowski S.L., D.J. Germond & J.H. Gentile (1979): The effect of nutrition on the response of field populations of the calanoid copepod *Acartia tonsa* to copper.  
Water Res. 13:449-452.

Spooner M.F. & C.J. Corkett (1974): A method for testing the toxicity of suspended oil droplets on planktonic copepods used at Plymouth. In: L.R. Beynon & E.B. Cowell (eds.), Ecological aspects of toxicity testing of oils and dispersants. Applied Science Publishers, Essex, England/Institute of Petroleum, Great Britain. pp. 69-74.

Sunda W.G., P.A. Tester & S.A. Huntsman (1987): Effects of cupric and zinc ion activities on the survival and reproduction of marine copepods.  
Mar. Biol. 94:203-210.

Sunda W.G., P.A. Tester & S.A. Huntsman (1990): Toxicity of trace metals on *Acartia tonsa* in the Elizabeth river, southern Chesapeake Bay Atlantic Ocean.  
Est. Coast. Shelf Sci. 30:207-222.

Tester P.A. & J.D. Costlow (1981): Effect of insect growth regulator dimilin (TH 6040) on fecundity and egg viability of the marine copepod *Acartia tonsa*.  
Mar. Ecol. Prog. Ser. 5:297-302.

Teunissen-Ordelman H.G.K. & S.M. Schrap (1996): Watersysteemverkenningen. Bestrijdingsmiddelen.  
RWS RIZA nota 96.040.

Toudal K. & H.U. Riisgard (1987): Acute and sublethal effects of cadmium on ingestion, egg production and life-cycle development in the copepod *Acartia tonsa*.  
Mar. Ecol. Prog. Ser. 37:141-146.

Ward T.J., E.D. Rider & D.A. Drozdowski (1979): A chronic toxicity test with the marine copepod *Acartia tonsa*. In: L.L. Marking & R.A. Kimerle (eds.), Aquatic toxicology. ASTM STP 667, pp. 148-158.

Ward G.S & L. Ballantine (1985): Acute and chronic toxicity of atrazine to estuarine fauna.  
*Estuaries* 8:22-27.

Weideborg M., E.A. Vik, G.D. Ofjord & O. Kjonno (1997): Comparison of three marine screening tests and four Oslo and Paris Commission procedures to evaluate toxicity of offshore chemicals.  
*Environ. Toxicol. Chem.* 16:384-389.

## 7. Verantwoording

Naam en adres van de opdrachtgever:

RWS-Directie Noordzee  
t.a.v. Dr. W. Zevenboom  
Postbus 5807  
2280 HV Rijswijk (Z.H.)

Namen en functies van de projectmedewerkers:

R.G. Jak	Projectleider
E.M. Foekema	Onderzoeks medewerker
D.P.C. van der Veen	Onderzoeks assistent
C.C. Karman	Wetenschappelijk adviseur

Namen van instellingen waaraan een deel van het onderzoek is uitbesteed:

Datum waarop, of tijdsbestek waarin, het onderzoek heeft plaatsgehad:

september 1998 - maart 1999

Ondertekening:



R.G. Jak  
Projectleider  
datum: 30 maart 1999

Goedgekeurd door:



M.C.Th. Scholten  
Afdelingshoofd  
datum: 30 maart 1999

## Bijlage I Samenvatting publicaties betreffende effecten pesticiden op mariene copepoden

**Linden E., B.E. Bengtsson, O. Svanberg en G. Sundström.** 1979. The acute toxicity of 78 chemicals and pesticide formulations against two brackish water organisms, the bleak (*Alburnus alburnus*) and the harpacticoid *Nitocra spinipes*. *Chemosphere* Nos. 11/12, pp 843-851.

De toxiciteit van 78 chemicaliën, waaronder 28 pesticiden, werd getest op de alver (*Alburnus Alburnus*) en de harpactoïde copepode *Nitocra spinipes*. De resultaten zijn uitgedrukt als de 96h-LC(I)50; de nominale concentratie van een stof waarbij 50 procent van de toetsorganismen gedood werden gedurende 96 uur. Onder de geteste stoffen waren anorganische en organische stoffen (ijzerzouten, oplosmiddelen en een paar complexe organotin bevattende stoffen), pesticiden en andere industriële chemicaliën (PCB-verters, phtalaates en gechloteerde paraffinen).

De gepresenteerde resultaten zijn voortgekomen uit onderzoek uitgevoerd door The Brackish Water Toxicology Laboratory in Studsvik, Zweden in opdracht van the Swedish Products Control Board. Doel van het onderzoek was gegevens te genereren voor organismen uit brak- en zoutwater (Oostzee). Belangrijkste criterium voor het selecteren van stoffen was de interesse van de Products Control Board. De acute toxiciteitsdata zijn niet bedoeld als "veilige concentraties" of relevant om mogelijke lange termijn effecten te kunnen voorspellen, maar biedt een basis om de meest dramatische toxiciteitseffecten van de geteste stoffen te kunnen vergelijken.

De test met *N. spinipes* werd uitgevoerd in 15 ml cultuurbuizen gevuld met 10 ml gefiltreerd brak water van 7 ‰ (afkomstig uit een baai uit de Oostzee) bij kamertemperatuur (20-22 °C) of bij 10 °C. In de testen werden minstens 6 concentraties en een blanco ingezet. De testoplossingen werden niet ververst en niet belucht gedurende 96 uur. Per concentratie werden 2 x 10 *N. spinipes* volwassen exemplaren van 3 - 6 weken oude culturen ingezet. Tijdens de test werden de dieren niet gevoerd. De actuele concentraties van de testoplossingen werden niet bepaald en ook werd de pH niet aangepast. Stoffen met een lage oplosbaarheid in water werden eerst in (een niet toxische hoeveelheid) aceton opgelost en vervolgens aan de systemen toegevoegd.

De 96h-LC(I)50 voor dichlobenil, fenvaleraat, maneb, MCPA, MCPP en thiabendazol werden vastgesteld met behulp van de grafische methode volgens Litchfield en Wilcoxon op respectievelijk 270 µg/l, 1.9 µg/l, 110 µg/l (bij 10 °C), 4300 µg/l, 87000 µg/l en 24000 µg/l.

**Ward G.S.** en L. Ballantine. 1985. Acute and chronic toxicity of atrazine to estuarine fauna. *Estuaries* Vol. 8, No. 1, p. 22-27.

Acute en chronische testen werden uitgevoerd met estuarine envertebraten en vissen om de mogelijke effecten van gemeten concentraties atrazin in estuaria te kunnen evalueren.

De test werd uitgevoerd in statische systemen met de calanoïde copepod *Acartia tonsa*, in gefilterd natuurlijk zeewater van 20 ‰ bij  $20 \pm 1$  °C. De experimentele methode werd uitgevoerd volgens de methode beschreven door The Committee on Methods for Toxicity Tests with Aquatic Organisms (EPA, 1975). *Acartia tonsa* werd getest in 50 x 90 mm glazen bakjes met een inhoud van 100 ml. Iedere concentratie werd met 10 exemplaren *Acartia* in drievoud getest. Temperatuur waarbij de test werd uitgevoerd was  $20 \pm 1$  °C. De testsystemen werden niet belucht en de organismen werden gedurende het experiment niet gevoerd. Resultaten van de test werden uitgedrukt als 96 h LC50.

De 96h-LC50 waarde voor copepoden werd vastgesteld op 94 µg/l. Uit de test blijkt dat een veiligheidsfactor van 0.1-0.2 voor atrazin in estuariene milieus redelijk is, gezien de geschatte veiligheidsfactoren van 0.1-0.2 voor killi's (*Cyprinodon variegatus*; eileggende tandkarper) en 0.08-0.19 voor aasgarnalen (gebaseerd op de 96h-LC50 voor aasgarnalen en de gevonden overleving van vissen). Gebruik van de veiligheidsfactor 0.1 bij de meest gevoelige soort in de acute test levert een NOEC op van ongeveer 9 µg/l voor estuarine fauna. Het is daarom niet de verwachting dat de maximum gemeten concentratie van ongeveer 2 µg/l atrazin in de estuaria een ongunstig effect op de estuarine fauna zal hebben. *Acartia tonsa* bleek in dit onderzoek van de geteste estuariene organismen (*Crassostrea virginica*, *Mysidopsis bahia*, *Palaemonetes pugio*, *Penaeus duorarum*, *Uca pugilator*, *Leiostomus xanthurus* en *Cyprinodon variegatus*) het gevoeligst.

**Roberts M.H., J.E. Warinner, C.F. Tsai, D. Wright en L.E. Cronin. 1982.**  
Comparison of estuarine species sensitivities to three toxicants. Arch. Environm. Contam. Toxicol. 11, 681-692.

De acute toxiciteit van gelijktijdig geteste verwante soortparen van soorten werd bepaald voor drie toxicanten: laurylsulfaat, cadmium en Lannate® (methomyl). Eén van de soorten in het experiment werd gekozen volgens advies van de US-EPA, terwijl de andere een verwante soort is. De soortparen bestonden uit *Prorocentrum minimum* - *Pseudoisochrysis paradoxa* - *Skeletonema costatum* (phytoplankton), *Neomysis americana* - *Mysidopsis bahia* (aasgarnalen), *Eurytemora affinis* - *Acartia tonsa* (copepoden) en *Menidia menidia* - *Cyprinodon variegatus* (vissen). Voor iedere toxicant lieten de soortparen gelijkwaardige LC 50's zien. De LC50s verschilden niet meer dan een factor 4.7 met uitzondering van de phytoplankton respons op cadmium, waarbij *Prorocentrum minimum* gevoeliger bleek dan de andere phytoplankton soorten. Aasgarnalen bleken het meest gevoelig voor cadmium en Lannate, en algen waren het meest gevoelig voor laurylsulfaat.

Beide soorten copepoden, *Acartia tonsa* en *Eurytemora affinis*, werden verzameld uit het veld en gedurende 2 weken geconditioneerd aan testomstandigheden (22 °C, 10 ‰). De dieren werden gevoed met *Pseudoisochrysis paradoxa*, incidenteel aangevuld met *Thalassiosira pseudonana* of *Prorocentrum minimum*. De copepoden werden blootgesteld in Pyrex glazen bekertjes onder statische omstandigheden zonder beluchting. Alle toetsdieren waren van dezelfde generatie in verhouding tot de wilde populatie (3 tot 6 bevruchte vrouwtjes brachten in iedere beker ongeveer 20 exemplaren voort. Omdat *Acartia* eieren over langere tijd afzet, werden vrouwtjes elke twee dagen van beker naar beker overgezet om een gelijkmatige verdeling te krijgen van de larven. Nauplii werden random ingezet). Na de blootstellingsperiode van 96 uur werd een kleurmiddel gebruikt om de levende van de dode exemplaren te kunnen scheiden.

Er was significante mortaliteit in de controlegroepen, variërend van 8 tot 20 % (gemiddeld 15 %) voor *Acartia* en 21 tot 24 % (gemiddeld 22 %) voor *Eurytemora*. Het effect van de insecticide Lannate was voor beide copepoden bijna gelijk. De 96h-LC50 voor *E. affinis* bedraagt 290 µg/l, voor *A. tonsa* is dit 410 µg/l.



**Hall L.W., M.C. Ziegenfuss, R.D. Anderson en D.P. Tierney.** 1995. The influence of salinity on the chronic toxicity of atrazine to an estuarine copepod: implications for development of an estuarine chronic criterion. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 28, 344-348.

Doel van deze studie was het vaststellen van het effect van een reeks saliniteiten (5, 15 en 25 ppt) op de chronische toxiciteit van atrazin op de copepode *Eurytemora affinis* tijdens een 8-daagse levenscyclus toets.

Copepoden werden gekweekt bij een temperatuur van 23-25 °C en saliniteiten van 7, 15 en 23 ‰. De toetsdieren werden gevoerd met een dieet van gelijke hoeveelheden van twee phytoplankton soorten, t.w. *Thalassiosira pseudonana* en *Isochrysis galbana*.

Als toxicant werd atrazin gebruikt. Geautoclaveerd estuarien water werd gebruikt voor de controle-systemen en als verdunningsmiddel voor de systemen met de toxicant. H-W Marinemix of gede-ioniseerd water werd aan het estuariene water toegevoegd om de gewenste saliniteiten (5, 15 en 25 ppt) te bereiken.

De experimenten met *Eurytemora* werden uitgevoerd in statische systemen, met een eenmalige verversing van het medium (op dag 4). Alle bekersglazen werden in een broedstoof geplaatst om een continue temperatuur van 25 °C te bereiken en een lichtregime van 16 uur en 8 uur donker te bereiken.

De standaard waterkwaliteitsparameters werden aan het begin, op dag 4 en aan het eind van het experiment gemeten. Een aantal geselecteerde testsystemen (laag, midden en hoge concentraties) werden op dag 0 en dag 8 bemonsterd voor analyse op atrazin. Van alle drie de controle systemen werd op dag 0 een monster genomen voor atrazin-analyse.

De ingezette nominale concentraties bedroegen 0, 4.2, 6.0, 8.58, 12.25, 17.5 en 25 mg/l atrazin. Iedere testconcentratie werd bereid door een stockoplossing (25 mg/l) van atrazin van de gewenste saliniteit te verdunnen.

De testen werden gestart met nauplii-larven van minder dan 24 uur oud. De organismen werden in 150 ml bekersglazen blootgesteld in testkamers, opgebouwd uit polycarbonaatbuizen met een uitwendige diameter van 3.8 cm met een lengte van 5.0 cm. Het volume van de kamers was 40 ml. De bodem van de testkamer werd afgedekt met 53 µm Nitexdoek. De nauplii werden geteld door een klein deel van de larven in een glazen pipet op te zuigen en te bekijken onder een microscoop met een vergroting van 15x. Het aantal ingezette toetsdieren en de corresponderende testkamer werden genoteerd. De nauplii werden dagelijks gevoerd met 1.0 ml van de algenmix. De algendichtheden waren ongeveer 1-2 x 10<sup>4</sup> *Isochrysis* cellen/ml en 2-3 x 10<sup>3</sup> *Thalassiosira* cellen/ml.

Na 8 dagen werd in ieder testsysteem overleving, ontwikkeling en reproductie gecontroleerd. Ontwikkeling werd bepaald door het aandeel van de onvolwassen populatie te tellen. Reproductie werd vastgesteld als het percentage eieren-dragende vrouwtjes. De geconserveerde copepoden werden geteld en onderzocht met behulp van een binoculair en ingedeeld in: zwanger vrouwtje; niet-zwanger vrouwtje; mannetje en onvolwassen.

De No Observed Effect Concentration (NOEC) en de Lowest Observed Effect Concentration (LOEC) bij 5 ‰ waren respectievelijk 12.25 en 17.5 mg/l. De berekende chronische waarde (CW), gemiddelde van NOEC en LOEC, kwam uit op 14.6 mg/l. De NOEC en LOEC bij 15 ‰ waren respectievelijk 17.5 en 25 mg/l, de CW 20.9 mg/l. De NOEC en LOEC bij 25 ‰ waren respectievelijk 4.2 en 6.0 mg/l, CW 5.01 mg/l. Er is een significant verschil tussen chronische waarden bij 5 ‰ (14.6 mg/l) en 25 ‰ (5.01 mg/l) en tussen 15 ‰ (20.9 mg/l) en 25 ‰ (5.01 mg/l), maar niet tussen chronische waarden van 5 ‰ en 15 ‰.

De toxiciteit is hoger bij minder gunstige saliniteiten.

**Rajendran N. & V.K. Venugopalan. 1988. Toxicity of organochlorine pesticides to zooplankton of Vellar estuary. Indian J. Mar. Sci.17: 168-169.**

De acute toxiciteit van organochloor pesticiden (p,p'-DDT, lindaan en endosulfan) werd vastgesteld voor verschillende soorten zoöplankton (*Acartia* sp., *Eucalanus* sp., *L*

*ucifer* sp. en *Sagitta* sp.) uit het Vellar estuarium. DDT bleek het meest toxisch voor het onderzochte zoöplankton, gevolgd door lindaan en endosulfan. *Sagitta* sp. bleek minder gevoelig voor DDT en endosulfan dan de andere soorten.

Het zoöplankton dat in het estuarium werd verzameld en op soort werd geselecteerd kon gedurende 24 uur acclimatiseren aan laboratoriumomstandigheden en werd gevoerd met een algensuspensie.

Voor de test werd gebruik gemaakt van volwassen exemplaren. De gewenste concentratiereeks werd aangemaakt met technical grade pesticiden (0.001 tot 0.5 ppm) en bereid met behulp van aceton. Van de toxicant werd 0.1 ml aan het, met 100 ml beluchte en gefilterde estuarine water gevulde, experimentele vat toegevoegd. De waarden van saliniteit, pH, temperatuur en zuurstofconcentratie, bepaald tijdens het verzamelen van het zoöplankton, werden aangehouden gedurende het experiment. Het zoöplankton werd 24 uur blootgesteld. Ieder uur werd het aantal dode en stervende dieren gescored. Als de mortaliteit van de controlegroep boven de 15% uitsteeg werden de resultaten van de toets als ongeldig beschouwd. Alle experimenten werden eenmaal in drievoud uitgevoerd en herhaald.

De 24h-LC50s en de betrouwbaarheidsintervallen werden berekend met de methode volgens Finney. De LC50s van lindaan voor *Acartia* en *Eucalanus* waren respectievelijk 67 µg/l en 157 µg/l, die voor endosulfan waren respectievelijk 0.243 en 0.176 µg/l en van DDT 28 en 12 µg/l.

## Bijlage II MTR's, werking en aanwezigheid

MTR = Maximaal Toelaatbaar Risiconiveau (soms betreft het indicatieve waarden) (Uit: Crommentuijn et al., 1997, Teunissen-Ordelman & Schrap, 1996).

VR = Verwaarloosbaar Risiconiveau (bronnen als MTR)

Werking: h = herbicide, n = nematicide, i = insecticide, f = fungicide

Aangetroffen in zout water (1992/1993): [-] niet gerapporteerd, - = niet onderzocht, + = onderzocht en aangetoond, 0 onderzocht, maar niet gevonden (Teunissen-Ordelman & Schrap, 1996).

Naam	chemische groep	Oppervlakte-water		Aangetroffen (zout)	
		MTR (µg/l)	VR (ng/l)	1992/1993	werking
2,4-D	chloorfenoxycarbonzuren	9.9	99	+/+	h
Aldicarb	carbamaten	0.098	0.98	0/0	n(i)
Anilazin	triazinen	0.085	0.85	-/-	f
Atrazin	triazinen	2.9	29	-/+	h
Azinfosmethyl	organofosforbestrijdingsmiddelen	0.012	0.12	0/0	i
Benomyl	carbamaten	0.15	1.5	-/-	f
Bentazon	bentazon en chloridazon	64	640	0/+	h
Bifentrin	synthetische pyrethroiden	0.0011	0.011	-/-	i
Captan	carboximiden	0.11	1.1	-/-	f
Carbendazim	carbamaten	0.11	1.1	-/-	f
Carbofuran	carbamaten	0.015		0/0	i
Carboxin	aniliden	1.2		-/-	f
Chlorfenvinfos	organofosforbestrijdingsmiddelen	0.002	0.02	-/-	i
Chloorprofam	carbamaten	30.2		-/-	h
Chloorthalonil	diversen	-		[-]	f
Chloridazon	bentazon en chloridazon	73	730	+/+	h
Chlorpyrifos	organofosforbestrijdingsmiddelen	0.0028		-/-	i
Cyfluthrin	synthetische pyrethroiden	0.0014		-/-	i
Cypermethrin	synthetische pyrethroiden	0.00009	0.0009	-/-	i
Diazinon	organofosforbestrijdingsmiddelen	0.037	0.37	+/+	i
Dichlobenil	benzotriolen	-		-	h
Dichloovos	organofosforbestrijdingsmiddelen	0.0007	0.007	+/+	i
Diflubenzuron	fenylureumherbiciden	0.003		-/-	i
Dimethoat	organofosforbestrijdingsmiddelen	23	230	+/+	i
Dinoterb	fenolherbiciden	0.034	0.34	0/0	h
Diuron	fenylureumherbiciden	0.43	4.3	+/+	h
DNOC	fenolherbiciden	21	210	+/+	h(i)
Endosulfan	organochloorbestrijdingsmiddelen	0.0004		-/-	i
Esfenvaleraat	synthetische pyrethroiden	0.001		-/-	i
Fenpropathrin	synthetische pyrethroiden	0.0027		[-]	i
Fentin	organotinverbindingen	0.00078	0.0078	[-]	f
Fenvalerate	synthetische pyrethroiden	-		[-]	i

Naam	chemische groep	Oppervlakte-water		Aangetroffen (zout)	
		MTR (µg/l)	VR (ng/l)	1992/1993	werking
Fluazinam	dinitroanilineverbindingen	-		[-]	f
HCB	organochloorbestrijdingsmiddelen	-		[-]	f
Heptachloor	organochloorbestrijdingsmiddelen	-		[-]	i
Heptenofos	organofosforbestrijdingsmiddelen	0.02	0.2	[-]	i
Isoproturon	fenylureumherbiciden	0.32	3.2	+/+	h
Lindaan (γ-HCH)	organochloorbestrijdingsmiddelen	0.77		-/-	i
Linuron	fenylureumherbiciden	0.25	2.5	+/+	h
Malathion	organofosforbestrijdingsmiddelen	0.013	0.13	+/+	i
Maneb	dithiocarbamaten	0.012	0.12	-/-	f
MCPA	chloorfenoxycarbonzuren	250		+/+	h
MCPP (mecoprop)	fenoxypropionzuren	3.9	39	-/-	h
Methabenzthiazuron	fenylureumherbiciden	1.8	18	+/+	h
Methomyl	carbamaoyloximen	0.08	0.8	[-]	i
Metolachloor	aniliden	0.2	2	+/+	h
Metoxuron	ureumverbindingen	0.6		0/+	h
Metoxychlor	organochloorbestrijdingsmiddelen	0.001		-/0	i
Mevinfos	organofosforbestrijdingsmiddelen	0.0016	0.016	+/+	i
Oxamyl	carbamaten	1.8	18	-/-	n(i)
Oxydemeton-methyl	organofosforbestrijdingsmiddelen	0.035	0.35	-/-	i
Parathion methyl	organofosforbestrijdingsmiddelen	0.011	0.11	[-]	i
parathion(-ethyl)	organofosforbestrijdingsmiddelen	0.0019	0.019	+/0	i
permethrin	synthetische pyrethroiden	0.0002	0.002	-/-	i
Pirimicarb	carbamaten	0.09	0.9	-/+	i
Prochloraz	conazolen	-		[-]	f
Procymidon	carboximiden	11		-/-	f
Propachloor	aniliden	1.3	13	+/0	h
Propoxur	carbamaten	0.01	0.1	0/0	i
Pyrazofos	organofosforbestrijdingsmiddelen	0.04	0.4	[-]	i
Quizalofop-ethyl	chloorfenoxycarbonzuren	0.8		-/-	h
Simazin	triazinen	0.14	1.4	+/+	h
Thiabendazool	carbamaten	24		-/-	f
Thiram	dithiocarbamaten	0.032		-/-	f
Tolclofos-methyl	organofosforbestrijdingsmiddelen	0.79	7.9	-/+	f
Triallaat	dithiocarbamaten	1.9	19	-/-	h
Trichloorfon	organofosforbestrijdingsmiddelen	0.001	0.01	-/-	i
Trifluralin	nitroanilinen	0.037	0.37	-/0	h
Zineb	dithiocarbamaten	1	10	-/-	f
Ziram	dithiocarbamaten	18		-/-	f



