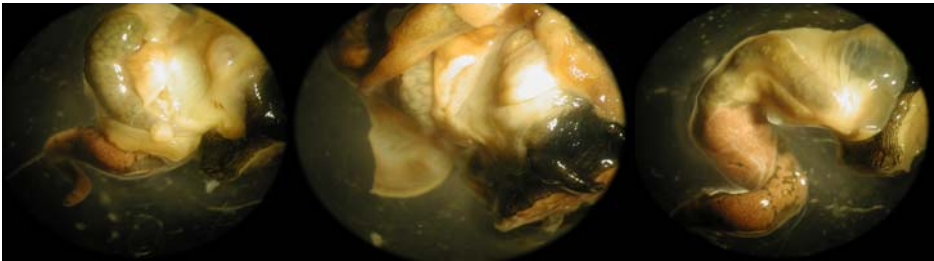


# TBT-gehalten en effecten bij de Gewone Alikruik (*Littorina littorea*) en de Gevlochten Fuikhoorn (*Nassarius reticulatus*) langs de Nederlandse kust in 2010

N.H.B.M. Kaag, J. Jol & M. Hoek-van Nieuwenhuizen

Rapport C130/10A



zaaknummer 31018672/4500

## IMARES Wageningen UR

Institute for Marine Resources & Ecosystem Studies

Opdrachtgever:

Rijkswaterstaat Waterdienst  
M. van der Weijden  
Postbus 17  
8200 AA Lelystad

Publicatiedatum:

4 januari 2012

**IMARES** is:

- een onafhankelijk, objectief en gezaghebbend instituut dat kennis levert die noodzakelijk is voor integrale duurzame bescherming, exploitatie en ruimtelijk gebruik van de zee en kustzones;
- een instituut dat de benodigde kennis levert voor een geïntegreerde duurzame bescherming, exploitatie en ruimtelijk gebruik van zee en kustzones;
- een belangrijke, proactieve speler in nationale en internationale mariene onderzoeksnetwerken (zoals ICES en EFARO).

Dit rapport vervangt C130/10, van 26 oktober 2010

© 2012 IMARES Wageningen UR

IMARES is onderdeel van Stichting DLO,  
geregistreerd in het Handelsregister  
nr. 09098104,  
IMARES BTW nr. NL 8113.83.696.B16

De Directie van IMARES is niet aansprakelijk voor gevolgschade, noch voor schade welke voortvloeit uit toepassingen van de resultaten van werkzaamheden of andere gegevens verkregen van IMARES; opdrachtgever vrijwaart IMARES van aanspraken van derden in verband met deze toepassing.

Dit rapport is vervaardigd op verzoek van de opdrachtgever hierboven aangegeven en is zijn eigendom. Niets uit dit rapport mag weergegeven en/of gepubliceerd worden, gefotokopieerd of op enige andere manier gebruikt worden zonder schriftelijke toestemming van de opdrachtgever.

A\_4\_3\_1-V10.0

# Inhoudsopgave

Samenvatting .....	5
1. Inleiding.....	7
2. Methode.....	9
Intersex en imposex.....	9
Chemische analyses .....	10
3. Resultaten .....	12
Intersex Gewone Alikruiken .....	12
Imposex Gevlochten Fuikhoorns .....	12
Organotin gehalten .....	14
4. Discussie en conclusie .....	16
5. Literatuur.....	18
6. Kwaliteitsborging.....	20
Verantwoording .....	22
Bijlage .....	24



# Samenvatting

Sinds 2005 analyseert IMARES in opdracht van Rijkswaterstaat (RIKZ, later de Waterdienst) het voorkomen van intersex bij de Gewone Alikruik (*Littorina littorea*) die op vaste locaties langs de Nederlandse kust verzameld worden. Het doel van dit onderzoek is effecten van verontreiniging met organotinverbindingen vast te stellen.

Gewone Alikruiken zijn in vergelijking met andere gastropoden echter vrij ongevoelig voor TBT. In overleg met de opdrachtgever worden vanaf 2009 naast de Gewone Alikruiken ook Gevlochten Fuikhoorns (*Nassarius reticulatus*) verzameld. Dit wordt gedaan tijdens de schelpdierbemonsteringen die IMARES in opdracht van het Ministerie van LNV uitvoert. Bij de Gevlochten Fuikhoorn resulteert TBT in imposex verschijnselen, een gevoeligere parameter dan intersex.

Bij de Gewone Alikruiken werden op geen van beide onderzochte locaties intersex verschijnselen aangetroffen. Bij de Gevlochten Fuikhoorn werd een lichte mate van imposex geconstateerd voor de Zuid-Hollandse kust (Stadium 1a en 3b; VDSI 0,17-0,47). Op de meest noordelijke locaties werden geen imposex verschijnselen aangetroffen bij de Gevlochten Fuikhoorn.

In alle bemonsterde dieren zijn organotin-gehalten geanalyseerd. In geen enkel monster werden meetbare concentraties phenyltin-verbindingen aangetroffen. Butyltin-verbindingen waren in de Gewone Alikruik iets hoger dan in de Gevlochten Fuikhoorn. Er was geen aantoonbare relatie tussen gehalten en de mate van de effecten.

Op basis van de imposex-resultaten bij de Gevlochten Fuikhoorn, vallen drie locaties in OSPAR Assessment Class C (TERHDE6, LOSWND04 en BREEVTN16).



# 1. Inleiding

Sinds 2005 analyseert IMARES het voorkomen van intersex bij Gewone Alikruiken (*Littorina littorea*) die op vaste locaties langs de Nederlandse kust verzameld worden. Het doel van dit onderzoek is effecten van verontreiniging met organotinverbindingen, (specifiek tributyltinverbindingen, TBT) vast te stellen.

Gewone Alikruiken zijn algengrazers en in vergelijking met andere gastropoden vrij ongevoelig voor TBT. Blootstelling aan TBT kan leiden tot intersex, een afwijking waarbij de vrouwelijke genitaliën vergroeien tot mannelijke genitaliën. Bij roofslakken resulteert blootstelling aan TBT in imposex. Hierbij ontwikkelen de vrouwtjes naast normale vrouwelijke genitaliën, ook mannelijke genitaliën, die uiteindelijk de oviduct (eileider) blokkeren, wat leidt tot steriliteit (en sterfte) (Bauer *et al.*, 1995). Imposex treedt al bij veel lagere TBT-gehalten op dan intersex.

De Purperslak (*Nucella lapillus*) is een van de gevoeligste soorten met betrekking tot TBT. Deze soort komt voor in de Zeeuwse wateren en vertoont voldoende variatie in imposex om een realistisch onderscheid te kunnen maken tussen locaties met betrekking tot de TBT belasting (Kaag & Jol, 2007). Door de beperkte verspreiding is deze soort echter niet geschikt om als indicatorsoort voor de gehele Nederlandse kustzone te dienen.

Een alternatief zou de Gevlochten Fuikhoorn (*Nassarius reticulatus*) kunnen zijn. Deze soort wordt sinds enkele jaren steeds talrijker aangetroffen tijdens de jaarlijkse schelpdiersurveys die IMARES in opdracht van het Ministerie van LNV uitvoert in de Nederlandse wateren. Ook de Gevlochten Fuikhoorn vertoont imposex en is gevoeliger dan de Gewone Alikruik, maar niet zo extreem gevoelig als de Purperslak (Stroben *et al.*, 1992a; Bryan *et al.*, 1993; Oehlmann *et al.*, 1996). In 2009 zijn daarom niet alleen Gewone Alikruiken verzameld op de standaardlocaties, maar zijn ook op vijf locaties Gevlochten Fuikhoorns verzameld (Kaag *et al.*, 2009). De keuze van de locaties was te voren alleen globaal bepaald (monding Westerschelde, monding Europoort en voor de kust van Noord-Holland), aangezien niet bekend was waar de aantallen hoog genoeg zouden zijn voor het verzamelen van een voldoende groot monster. Het bemonsteringsplan voor 2010 is geënt op de resultaten van 2009 (Tabel 1).

Tabel 1 Voorstel onderzoekslocaties 2010

Gebied	Locatie	Soort
Noordzee kustzone	Monding Westerschelde	Gevlochten Fuikhoorn
	Monding Oosterschelde	Gevlochten Fuikhoorn
	Monding Haringvliet	Gevlochten Fuikhoorn
	Scheveningen	Gevlochten Fuikhoorn
	Monding Noordzeekanaal	Gevlochten Fuikhoorn
Waddenzee	Rotazijl	Gewone Alikruik
	Eemshaven	Gewone Alikruik

Bij de Gewone Alikruiken is de mate van intersex vastgesteld en is het organotin-gehalte in het weefsel van de dieren bepaald. Bij de Gevlochten Fuikhoorns is de mate van imposex vastgesteld en is ook het organotin-gehalte in het weefsel van de dieren bepaald.





## 2. Methode

### Intersex en imposex

Gewone Alikruiken werden op 21 mei 2010 verzameld op twee Waddenzee locaties (Tabel 2). Op beide locaties zijn voldoende Gewone Alikruiken verzameld voor de analyse van minimaal 40 individuen op het voorkomen van intersex en chemische analyse van de weefsels op organotin-verbindingen. De verzamelde Gewone Alikruiken zijn dezelfde dag gekoeld (koelbox met voldoende koelementen) naar het laboratorium in Yerseke vervoerd. Uitvoering van de intersex-analyse is gedaan in overeenstemming met standaardvoorschrift RIKZ SPECIE-11 (Jol, 2004). Intersex bij Gewone Alikruiken kan in een gradueel systeem geclassificeerd worden, waarbij 4 stadia worden onderscheiden, lopend van 0 (geen effect) tot 3 (volledig steriliteit). De ISI (intersex index) is het gemiddelde intersex stadium van de populatie:

som intersex stadia alle vrouwtjes/aantal vrouwtjes

Gevlochten Fuikhoorns werden tussen 30 maart en 25 mei 2010 verzameld tijdens de schelpdierbemonstering (Tabel 3). Tijdens deze bemonstering werden de schelpdieren bemonsterd met de IMARES-bodemschaaf in raaien van 150 meter lang. De schaaft is 15 cm breed, zodat een totale oppervlak van 22,5 m<sup>2</sup> wordt bemonsterd. De verzamelde Gevlochten Fuikhoorns werden zo mogelijk nog dezelfde dag aan boord van het schip geanalyseerd. De imposex-analyse is uitgevoerd conform Stroben *et al.* (1992b). Imposex bij Gevlochten Fuikhoorns kan in een gradueel systeem geclassificeerd worden, waarbij 5 stadia worden onderscheiden, lopend van 0 (geen effect) tot 4 (penis met volledige vas deferens). Er zijn geen aanwijzingen dat steriliteit optreedt bij Gevlochten Fuikhoorns (stadia 5 en 6).

De belangrijkste karakteristiek voor de populatie is de VDSI (Vas Deferens Sequence Index). Dit is het gemiddelde imposex stadium in de populatie:

som imposex stadia alle vrouwtjes/aantal vrouwtjes

Daarnaast kan ook de relatieve lengte van de vrouwelijke penis worden uitgedrukt in een index. De RPLI (Relative Penis Length Index) is gedefinieerd als:

$$\frac{\text{gemiddelde lengte van de vrouwelijke penis}}{\text{gemiddelde lengte van de mannelijke penis}} \times 100$$

Vanwege de extreme lengte-breedte verhouding wordt ook vaak de RPSI (RPLI squared) berekend:

$$\frac{\text{gemiddelde lengte van de vrouwelijke penis}^3}{\text{gemiddelde lengte van de mannelijke penis}^3} \times 100$$

De indexen zijn in principe gebaseerd op alle vrouwtjes (Gibbs *et al.*, 1987; Gibbs, 1999).

Alle onderzochte dieren zijn voorbehandeld voor de analyse op organotin verbindingen. Deze voorbehandeling bestaat uit het zoveel mogelijk verwijderen van de schaal en operculum, schoonspoelen en invriezen. De ingevroren monsters zijn naar het laboratorium van IMARES in IJmuiden gebracht voor analyse op organotin-gehalten.

Tabel 2 Datum van bemonstering Gewone Alikruiken in 2010 en locaties van de monstergebieden

Datum	Locatiennaam	DONAR locatiecode	Coördinaten (WGS84)		RD-coördinaten (m)	
			N	E	X	Y
21-5-2010	Waddenzee-West Roptazijl	ROPTZL	53°12.585'	005°26.244'	158353	580347
21-5-2010	Eems-Dollard Eemshaven vak 1	EEMSHVN	53°27.166'	006°50.024'	251096	608359

Tabel 3 Datum van bemonstering Gevlochten Fuikhoorns in 2010 en locaties van de monstergebieden. Bij de locatiennaam is tussen haakjes de meest nabije DONAR locatiecode gegeven.

Datum	Locatiennaam (DONAR locatiecode)	Coördinaten (WGS84)		RD-coördinaten (m)	
		N	E	X	Y
10/05/2010	Terheyde (TERHDE6)	52°06'	004°05'	65663	457663
14/04/2010	Scheveningen (LOSWND04)	52°08'	004°10'	71435	461272
30/03/2010	Katwijk (BREEVTN16)	52°14'	004°20'	83007	472219
20/04/2010	Ijmuiden (IJMDN7)	52°30'	004°29.5'	94189	501742
19/05/2010	Petten (PETTBI)	52°50'	004°32.5'	98018	538791
25/05/2010	Noorderhaaks (MIJNBVKQ02)	52°58'	004°32.5'	98192	553627

## Chemische analyses

Voor elke locatie is een mengmonster gemaakt van de weefsels van alle 40 onderzochte slakken.

### Organotin:

Zes organotinverbindingen worden gerapporteerd (MBT, DBT, TBT, MPhT, DPhT en TPhT) als kation. Bij deze methode wordt de extractie en derivatisering simultaan uitgevoerd. Een korte beschrijving van de methode is als volgt: Water gebufferd tot een pH 4-5 en een mengsel van azijnzuur en natrium acetaat, methanol en hexaan worden toegevoegd aan het monster. Na een continue toevoeging van natriumtetraethylboraat gedurende 15 minuten en continu roeren, wordt de pH boven de 12 gebracht met natriumhydroxide. De organische laag wordt d.m.v. centrifugeren gescheiden van de waterfase en het extract wordt gefractioneerd over een aluminiumoxide kolom. De stoffen worden, na concentratie van het monster, met behulp van GC-MS geanalyseerd (SIM mode). De analyse van organotinverbindingen is door de Raad voor Accreditatie opgenomen bij de geaccrediteerde verrichtingen op hun website (geldig van 21/12/2010 t/m 01/04/2013). De componenten TBT en DBT zijn geaccrediteerd (testlaboratoriumnummer L097, verrichting nummer 8).

Het volgende Interne Standaard Werkvoorschriften (ISW) is gebruikt:

Organotin ISW 2.10.3.024 Biota en milieumatrices: Bepaling van Organotin met behulp van GC-MS

Onderstaande stoffen zijn geanalyseerd en gerapporteerd als gehalte Sn of kation. In het rapport zullen verder de afkortingen gebruikt worden om de stof aan te duiden.

<b>Stofnaam</b>	<b>Afkorting</b>	<b>CAS nummer</b>
Tributyltin	TBT	688-73-3
Dibutyltin	DBT	1002-53-5
Monobutyltin	MBT	78763-54-9
Trifenyln	TPhT	668-34-8
Difenyln	DPhT	1011-95-6
Monofenyln	MPhT	2406-68-0

### 3. Resultaten

#### Intersex Gewone Alikruiken

In 2010 werd geen intersex waargenomen in de geanalyseerde Gewone Alikruiken. Meer dan de helft van de monsters bestond uit vrouwtjes.

Tabel 4 Resultaten intersex analyse Gewone Alikruik (*Littorina littorea*)

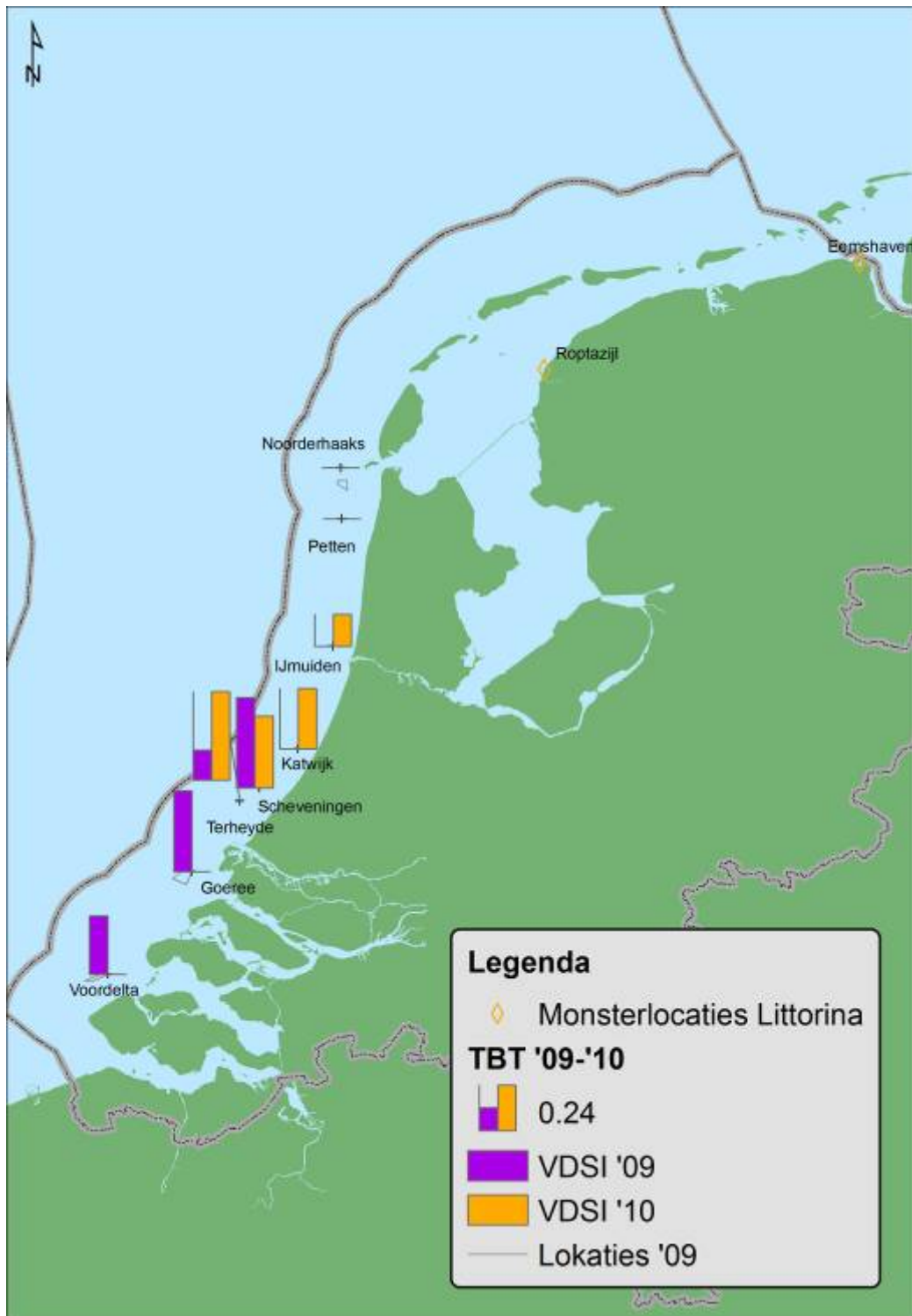
Lokatie	Jaar	Aantal onderzochte Gewone Alikruiken	♀ totaal	♀ met intersex	Intersex index	stadium			
						0	1	2	3
ROPTZL	2010	40	26	0	0	26			
EEMSHVN	2010	40	21	0	0	21			

#### Imposex Gevlochten Fuikhoorns

Op vier van de vijf onderzochte locatie werden slakken met imposex verschijnselen aangetroffen (Tabel 5; Figuur 1). In bijna alle gevallen betrof het stadium 1a (eerste stadium penis ontwikkeling), op twee locaties werd een vrouwtje met stadium 3b (vorming vas deferens, maar zonder penis ontwikkeling) aangetroffen. Naar het noorden toe verdwijnen de imposex verschijnselen De relatieve penislengte (RPLI) vertoont een vergelijkbaar beeld als de VDSI.

Tabel 5 Aantal vrouwtjes en mate van imposex bij de Gevlochten Fuikhoorn (*Nassarius reticulatus*) in 2010. RPLI (Relative Penis Length); RPSI (Relative Penis Length Squared); VDSI (Vas Deferens Sequence Index)

(Meest nabije) DONAR locatie	aantal onderzochte Gevlochten Fuikhoorns	♀ totaal	♀ imposex	RPLI	RPSI	VDSI	stadium				
							0	1a	2	3b	4
TERHDE6	40	17	8	1.23	0.000186	0.47	9	8			
LOSWND04	40	26	10	0.90	0.000073	0.38	16	10			
BREEVTN16	40	25	6	0.88	0.000068	0.32	19	5		1	
IJMDN7	40	30	3	0.13	0.000000	0.17	27	2		1	
PETTBI	37	20	0	0		0	20				
MIJNBVKQ02	40	17	0	0		0	17				



Figuur 1 Ligging van de gebieden waar de Gewone Alikruik (*Littorina littorea*) en de Gevlochten Fuikhoorn (*Nassarius reticulatus*) werden verzameld in 2010. Bij de gebieden waar de Gevlochten Fuikhoorn werd verzameld is ter indicatie de VDSI weergegeven voor 2009 (paars) en 2010 (groen).

## Organotin gehalten

In tabel 6 en 7 zijn de gehalten van de organotin-verbindingen in Gewone Alikruik en Gevlochten Fuikhoorns weergegeven.

Tabel 6 Organotin gehalten in Gewone Alikruik 2010, uitgedrukt als Sn of kation in  $\mu\text{g}/\text{kg}$  natgewicht

DONAR locatie	MBT Sn	DBT Sn	TBT Sn	MPhT Sn	DPhT Sn	TPhT Sn
ROPTZL	0.5	2.2	4.9	<0.2	<0.2	<0.1
EEMSHVN	1.5	4.0	6.6	<0.3	<0.3	<0.2
	kation	kation	kation	kation	kation	kation
ROPTZL	0.7	4.3	12	<0.4	<0.5	<0.4
EEMSHVN	2.2	7.8	16	<0.5	<0.6	<0.5

Tabel 7 Organotin gehalten in Gevlochten Fuikhoorn 2010, uitgedrukt als Sn of kation in  $\mu\text{g}/\text{kg}$  natgewicht

locatie	MBT Sn	DBT Sn	TBT Sn	MPhT Sn	DPhT Sn	TPhT Sn
TERHDE6	0.9	2.2	3.5	<0.1	<0.1	<0.08
LOSWND04	0.4	1.2	2.6	<0.2	<0.1	<0.09
BREEVTN16	<0.3	<0.3	1.4	<0.3	<0.3	<0.2
IJMDN7	<0.3	0.5	0.8	<0.1	<0.2	<0.2
PETTBI	1.0	2.1	3.3	<0.1	<0.1	<0.08
MIJNBVKQ02	0.5	1.0	2.2	<0.1	<0.1	<0.08
	kation	kation	kation	kation	kation	kation
TERHDE6	1.4	4.3	8.6	<0.2	<0.3	<0.2
LOSWND04	0.6	2.4	6.5	<0.3	<0.3	<0.3
BREEVTN16	<0.5	<0.6	3.5	<0.5	<0.6	<0.5
IJMDN7	<0.5	0.9	2.0	<0.5	<0.6	<0.5
PETTBI	1.5	4.2	8.2	<0.2	<0.3	<0.2
MIJNBVKQ02	0.7	2.0	5.4	<0.2	<0.3	<0.2

De OSPAR richtlijn voor de rapportagegrens voor TBT is  $1 \mu\text{g}/\text{kg}$  nat gewicht uitgedrukt als Sn (OSPAR Agreement, 2009).

De rapportagegrenzen bij de toegepaste methode worden afgeleid van de laagste gemeten standaard. Vanwege verschillen in ingewogen hoeveelheden (4-10 gr nat materiaal) worden verschillende rapportagegrenzen gerapporteerd in Tabel 5 en 6. Een compromis voor de rapportagegrenzen in de monsters is weergegeven in de bijlage. Door alle 40 geanalyseerde slakken op te werken, voldoet de gerapporteerde rapportagegrens voor TBT aan bovengestelde richtlijn.

De meeste organotin-gehalten liggen op of boven de rapportagegrens. Er is echter geen duidelijke relatie tussen het butyltin gehalte in de slakken en de VDSI.

De Kaderrichtlijn Water hanteert een concept biotanorm voor tributyltin (kation) van  $230 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Dit betreft een Milieukwaliteitsnorm voor prioritare stoffen voorgesteld door het Fraunhofer Instituut (CIS Data Sheets). Alle gemeten gehalten liggen ver beneden deze norm.

In Tabel 8 zijn de gemeten gehalten in een gecertificeerd referentiemateriaal (CRM) mosselen weergegeven. Alle waarden vallen binnen de 2s-grenzen.

Tabel 8 Resultaten van de analyses van referentie materialen. Gehaltes in  $\mu\text{g}$  kation/kg drooggewicht. Vetgedrukt zijn waarden binnen de 2s-grenzen.

	CRM-CE477 (Mossel)	IMARES 2010
MBT	1500 $\pm$ 280	<b>1549</b>
DBT	1540 $\pm$ 120	<b>1523</b>
TBT	2200 $\pm$ 190	<b>2060</b>

In Tabel 9 zijn de resultaten van de Quasimeme ringonderzoeken in biota opgenomen. Deze resultaten zijn niet meegenomen in de analyse van de ringtest door Quasimeme, omdat ze niet tijdig aangeleverd konden worden. De beoordeling is achteraf uitgevoerd.

Tabel 9 Resultaten Quasimeme ringonderzoeken in biota 2009 en 2010.

Matrix	Excercise 862 Round 58			Excercise 880 Round 60		
	Mean	Z-score	Qualification	Mean	Z-score	Qualification
	<b>QSP030BT</b>			<b>QSP032BT</b>		
TBT	nb	-	Blanc	21.580	1.51	Satisfactory
DBT	2.60	-	Blanc	2.220	0.06	Satisfactory
MBT	<0.6	-	Blanc	0.180	-1.06	Satisfactory
TPhT	<0.6	-	Blanc	<0.05		Blanc
DPhT	0.900	-	Blanc	<0.08		Blanc
MPhT	<0.6	-	Blanc	<0.1		Blanc
	<b>QSP031BT</b>			<b>QSP033BT</b>		
TBT	nb	-	Blanc	13.580	2.58	Questionable
DBT	9.20	1.2	Satisfactory	9.850	0.08	Satisfactory
MBT	<0.9	-	Blanc	4.170	-1.65	Satisfactory
TPhT	0.900	-	Blanc	<0.05		Blanc
DPhT	<0.7	-	Blanc	<0.08		Blanc
MPhT	<0.8	-	Blanc	<0.1		Blanc

Voor verreweg de meeste resultaten kon, vanwege statistische overwegingen door Quasimeme, geen Z-score berekend worden. Aan deze resultaten is de kwalificatie Blanc toegekend. Waar wel Z-scores berekend konden worden, voldeden deze aan het criterium  $-2 < Z\text{-score} < 2$  (Satisfactory). Alleen de gevonden waarde voor TBT in monster QSP033BT week iets verder af van het gemiddelde en krijgt de kwalificatie 'Questionable' ( $-3 < Z\text{-score} < 3$ ).

## 4. Discussie en conclusie

Op geen van beide bemonsterde locaties werden intersex-verschijnselen gevonden bij de Gewone Alikruiken. De organotin-gehalten in deze slakken zijn iets hoger dan werd gevonden bij de Gevlochten Fuikhoorns. Door zijn geringere gevoeligheid vertonen de Gewone Alikruiken geen verschijnselen van intersex meer.

In 2009 zijn voor het eerst Gevlochten Fuikhoorns verzameld langs de Nederlandse kust. Deze vertoonden in beperkte mate verschijnselen van imposex (Kaag *et al.*, 2009). In 2010 werden wederom Gevlochten Fuikhoorns verzameld. Gepoogd werd zoveel mogelijk te verzamelen op locaties die ook in 2009 bemonsterd werden. Ten zuiden van de Nieuwe Waterweg werden echter te weinig Gewone Fuikhoorns gevonden (hooguit 1 à 2 per locatie). Er is daarom voor gekozen om in het noordelijk deel enkele extra locaties te bemonsteren.

VDSI en RPLI waren duidelijk hoger op de drie meest zuidelijke locaties. Op locatie IJmuiden waren beide parameters slechts in geringe mate verhoogd, terwijl nog verder naar het noorden geen imposex verschijnselen werden aangetroffen.

Ten opzichte van 2009 werd in 2010 bij locatie TERHED6 een duidelijk hogere VDSI aangetroffen. Ten opzichte van 2009 werd echter ook ca. 5 km meer naar het noordwesten, richting Loswal Noord, bemonsterd. De VDSI bij LOSWND04 was in 2010 iets lager dan in 2009.

De VDSI van de Gevlochten Fuikhoorns valt bij drie meest zuidelijk gelegen locaties in OSPAR Assessment Class C (VDSI 0,3 -<2,0), waarbij bij de meest gevoelige soorten (i.c. *Nucella*) 30-100% van de vrouwtjes verschijnselen van imposex vertonen (in dit onderzoek 24% tot 47% bij *Nassarius*). Dit indiceert dat de EAC (Environmental Assessment Criteria) voor TBT wordt overschreden en dat het risico bestaat dat bij de meer gevoelige soorten van het ecosysteem negatieve effecten optreden (OSPAR, 2003; 2004).

Er zijn in dit onderzoek organotin-gehalten bepaald in het weefsel van alle op imposex geanalyseerde slakken. De rapportagegrenzen voor de analyse van organotin-verbindingen zijn door het analyseren van grotere hoeveelheden monster duidelijk omlaag gegaan. In de Gevlochten Fuikhoorns worden iets lagere butyltin-gehalten aangetroffen dan in de Gewone Alikruiken. Er is echter geen duidelijke relatie tussen butyltin-gehalten in het weefsel van de slakken en VDSI bij de Gevlochten Fuikhoorns. Op de locaties PETTBI en MIJNBVKQ02 werden geen slakken met verschijnselen van imposex aangetroffen, maar de butyltin-gehalten zijn vergelijkbaar aan die van slakken uit TERHDE6 en LOSWND04 waar imposex verschijnselen het sterkst waren.

Vanwege de moeilijkheden bij het meten van de penislengte bij Gevlochten Fuikhoorns, is er dit jaar voor gekozen de relatieve penislengte van de vrouwtjes in zowel RPLI als in RPSI uit te drukken. Bij de RPSI wordt de gemiddelde penislengte van de vrouwtjes eerst tot de derde macht verheven en dan gedeeld door de gemiddelde penislengte van de mannetjes tot de derde macht. Meetfouten worden daardoor ook sterk vergroot. Bij de RPLI worden de gemiddelde penislengtes direct op elkaar gedeeld. Ter vergelijking met 2009 zijn in Tabel 10 de RPLI en RPSI waarden uit 2009 en 2010 weergegeven. Aangezien de penislengte verder geen rol speelt in de beoordeling, maar alleen gebruikt wordt als aanvullende informatie, heeft dit verder geen consequenties voor de indeling in EAC.

Tabel 10 RPLI en RPSI in Gevlochten Fuikhoorns in 2009 en 2010.

DONAR	RPLI		RPSI	
	2009	2010	2009	2010
GOERE10	1.00	-	0.000101	
VOORDTOTSDDL	1.08	-	0.000128	
TERHDE6	0.40	1.23	0.000006	0.000186
LOSWND04	1.72	0.90	0.000507	0.000073
BREEVTN16	-	0.88	-	0.000068
IJMDN7	-	0.13	-	0.000000





## 5. Literatuur

- Bauer B., P. Fioroni, I. Ide, S. Liebe, J. Oehlmann, E. Stroben & B. Watermann (1995) TBT effects on the female genital system of *Littorina littorea*: A possible indicator of tributyltin pollution. *Hydrobiologia* 309:15-27.
- Bryan G.W., G.R. Burt, P.E. Gibbs & P.L. Pascoe (1993) *Nassarius reticulatus* (Nassariidae: Gastropoda) as an indicator of tributyltin pollution before and after TBT restrictions. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 73(4):913-929.
- Gibbs P.E., G.W. Bryan, P.L. Pascoe & G.R. Burt (1987) The use of the dogwhelk, *Nucella lapillus*, as an indicator of tributyltin (TBT) contamination. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 67:507-523.
- Gibbs P.E. (1999) Biological effects of contaminants: Use of imposex in the dogwhelk (*Nucella lapillus*) as a bioindicator of tributyltin pollution. *ICES Techniques in Marine Environmental Sciences*, No. 24.
- Jol J. (2004) Vaststellen van intersex bij Alikruik (*Littorina littorea* L.). RIKZ standaardvoorschrift SPECIE-11.
- Kaag N.H.B.M. & J. Jol (2007) Monitoring imposex bij de purperslak, *Nucella lapillus*, in de Zeeuwse wateren. IMARES rapport C112/07.
- Kaag N.H.B.M., J. Jol & M. Hoek-van Nieuwenhuizen (2000) TBT-gehalten en effecten bij de Gewone Alikruik (*Littorina littorea*) en de Gevlochten Fuikhoorn (*Nassarius reticulatus*) langs de Nederlandse kust in 2009. IMARES rapport C113/09.
- Oehlmann J., E. Stroben, U. Schulte-Oehlmann, B. Bauer, P. Fioroni & B. Markert (1996) Tributyltin biomonitoring using prosobranchs as sentinel organisms. *Fresenius J. Anal. Chem.* 354(5-6):540-545.
- OSPAR (2003) Harmonisation of criteria for the assessment of TBT-specific biological effects. OSPAR MON 03/3/1-E.
- OSPAR (2004) Provisional JAMP Assessment Criteria for TBT - Specific Biological Effects. OSPAR Agreement 2004-15.
- OSPAR (2009) JAMP Guidelines for Contamination Specific Biological Effects. OSPAR Agreement 2008-09.
- Projectplan chemisch meetnet MWTL 2009. Monitoren van biologische effecten door organotinverbindingen in mariene slakken. RWS.
- Standaard voorschrift A646. Analyse van butyltin en phenyltin verbindingen in mosselen, RIKZ, Haren, 1999.
- Stroben E., J. Oehlmann & P. Fioroni (1992a) *Hinia reticulata* and *Nucella lapillus*. Comparison of two gastropod tributyltin bioindicators. *Mar. Biol.* 114:289-296.
- Stroben E., J. Oehlmann & P. Fioroni (1992b) The morphological expression of imposex in *Hinia reticulata* (Gastropoda: Buccinidae): A potential indicator of tributyltin pollution. *Mar. Biol.* 113(4):625-636.
- Werkdocument RIKZ/ITL 99.667x. Validatie van de organotin-analyse in mosselen (Standaard voorschrift A646).



## 6. Kwaliteitsborging

IMARES beschikt over een ISO 9001:2008 gecertificeerd kwaliteitsmanagementsysteem (certificaatnummer: 57846-2009-AQ-NLD-RvA). Dit certificaat is geldig tot 15 december 2012. De organisatie is gecertificeerd sinds 27 februari 2001. De certificering is uitgevoerd door DNV Certification B.V. Daarnaast beschikt het chemisch laboratorium van de afdeling Milieu over een NEN-EN-ISO/IEC 17025:2005 accreditatie voor testlaboratoria met nummer LO97. Deze accreditatie is geldig tot 27 maart 2013 en is voor het eerst verleend op 27 maart 1997; deze accreditatie is verleend door de Raad voor Accreditatie.

Om de kwaliteit van de analyses te garanderen participeert IMARES in de door QUASIMEME georganiseerde ringtesten betreffende imposex en intersex in mariene slakken (BE-1) en de analyse van organotinverbindingen in biota.



# Verantwoording

Rapport C130/11A  
Projectnummer: 430.51060.01

## Verantwoording

Dit rapport is met grote zorgvuldigheid tot stand gekomen. De wetenschappelijke kwaliteit is intern getoetst door een collega-onderzoeker en het betreffende afdelingshoofd van IMARES.

Akkoord:

P. de Vries  
Onderzoeker



Handtekening:

Datum:

4 januari 2012

Akkoord:

Drs. J.H.M. Schobben  
Afdelingshoofd



Handtekening:

Datum:

4 januari 2012



## Bijlage

De rapportagegrenzen zijn afhankelijk van de hoeveelheid ingewogen monster en is dus eigenlijk voor ieder monster verschillend, een compromis voor de rapportagegrenzen is in onderstaande tabel weergegeven in ng/g natgewicht, uitgaande van een inweeg van 10 gram monster

Component	rapportagegrens
TBT als Sn	<0.09
DBT als Sn	<0.1
MBT als Sn	<0.1
TPhT als Sn	<0.05
DPhT als Sn	<0.08
MPhT als Sn	<0.1
TBT als kation	<0.2
DBT als kation	<0.2
MBT als kation	<0.2
TPhT als kation	<0.2
DPhT als kation	<0.2
MPhT als kation	<0.2