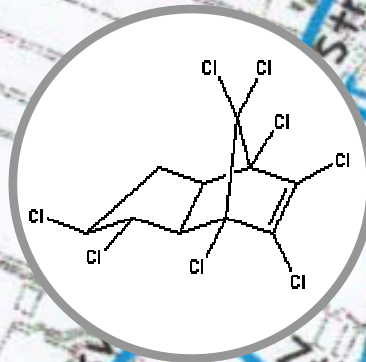
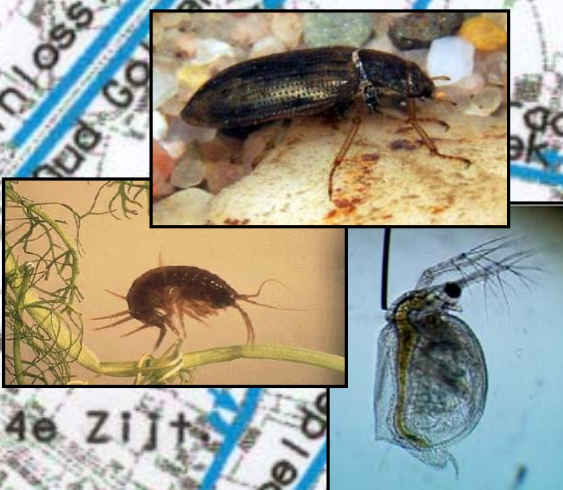




Onderzoek naar het effect van gewasbeschermingsmiddelen op de macrofauna in het stroomgebied van de Rijnbeek bij Venlo



Onderzoek naar het effect van gewasbeschermingsmiddelen op de macrofauna in het stroomgebied van de Rijnbeek bij Venlo

Auteur:

Mark van Mullekom
Studentnummer: 9804048
Stageverslag nummer 208

Begeleiders:

dr. A.M.J. Ragas - Katholieke Universiteit Nijmegen
ir. F.J.B. Kroes - Zuiveringschap Limburg
drs. ing. M.G. Boute - Zuiveringschap Limburg
drs. H. Kessels - Zuiveringschap Limburg

Stageperiode:

oktober 2001 t/m december 2001
februari 2002 t/m april 2002

Zuiveringschap Limburg
Afdeling Waterkwaliteitsbeheer
Maria Theresialaan 99
6043 CX Roermond
Postbus 314
6040 AH Roermond
tel. 0475 – 394444
fax 0475 – 311605

Katholieke Universiteit Nijmegen
Afdeling Milieukunde
Faculteit der Natuurwetenschappen,
Wiskunde en Informatica
Toernooiveld 1
6525 ED Nijmegen
tel. 024 – 3653281
fax 024 - 3653030

Voorwoord

Het voorliggende rapport is het resultaat van een doctoraalstage in het kader van de opleiding Biologie via de Afdeling Milieukunde van de Katholieke Universiteit Nijmegen. De stage is uitgevoerd bij de Afdeling Waterkwaliteitsbeheer van het Zuiveringschap Limburg in Roermond van oktober 2001 tot en met april 2002. Dit rapport betreft een onderzoek naar de effecten van bestrijdingsmiddelen, afkomstig uit de land- en tuinbouw, op de macrofaunasamenstelling in het stroomgebied van de Rijnbeek. Via de Afdeling Milieukunde van de KUN begeleidde dr. Ad Ragas deze stage. Bij het Zuiveringschap Limburg werd dit onderzoek begeleid door ir. François Kroes, drs. ing. Martin Boute en drs. Han Kessels. Graag zou ik hen willen bedanken voor de motiverende en goede begeleiding tijdens deze stage. Daarnaast wil ik nog enkele andere mensen bedanken voor de hulp bij het opzetten van experimenten, interpreteren van gegevens, verwerking van de resultaten enzovoort. Bij het Zuiveringschap Limburg zijn dit Bert Pex (opstarten van de bioassays), Barend van Maanen en Jasper Hennekens (verwerking macrofaunagegevens) en John Janssen (veldbezoek stroomgebied Rijnbeek en resultaten regen- en grondwaterbemonstering). Aan de Katholieke Universiteit Nijmegen zijn dit Mark Huijbregts (berekening van de combi-PAF), Gert-Jan van Duinen (macrofaunagegevensverwerking, TWINSPAN) en Wilco Verberk (macrofaunagegevensverwerking, CANOCO). Tenslotte is natuurlijk ook een bedankje op zijn plaats het overige personeel van de Afdeling Waterkwaliteitsbeheer: Harry, Onneke, Inge, Esther, Monique, Michel, Karin, Henk, Michiel, Brigit, Vivian, Gert, Marco, Jeannoux, Fieke en Edith: Allemaal bedankt voor de leerzame en gezellige tijd in Roermond!

Samenvatting

Met dit onderzoek is geprobeerd een indruk te krijgen van de effecten van bestrijdingsmiddelen op de macrofaunasamenstelling. Het onderzoek is uitgevoerd in het stroomgebied van de Rijnbeek bij Venlo en is toegespitst op twee belaste beken (Middendijkveenkanaal en Kikvorsbeek) en een referentiebeek (Genraaijbeek) waarbij zowel boven- als benedenstrooms onderzoek is uitgevoerd.

Omdat effectbeoordeling op basis van fysisch/chemische analyses alléén niet goed mogelijk is, is bij dit ecotoxicologisch onderzoek de TRIADE-benadering toegepast. Door combinatie van diverse onderzoeken is de waterkwaliteit beoordeeld:

1. Fysisch/chemische analyses waarbij tevens een Potentiëel Aangetaste Fractie (PAF) soorten is berekend op basis van de opgeloste concentraties bestrijdingsmiddelen en zware metalen.
2. Veldwaarnemingen: macrofaunamonsternames.
3. Ecotoxicologische toetsen: veldbioassays met *Daphnia magna* in de onderzoeksbeken en in de Rijnbeek zelf op drie plekken.

Uit de resultaten blijkt dat de nutriëntenconcentraties (N, P) in de beken het MTR overschrijden evenals de zware metalen koper, nikkel, zink en in mindere mate cadmium. De hoge concentraties nikkel en zink zijn met name veroorzaakt door pyrietoxidatie. De pyrietoxidatie wordt onder andere gestimuleerd door hoge stikstofconcentraties in de vorm van nitraat. Dit leidt tevens tot hoge sulfaatconcentraties (> MTR) in het oppervlaktewater. Uit- en afspoeling van dierlijke mest vormen in het onderzoeksgebied waarschijnlijk een belangrijke bron voor zink en koper. Kunstmest lijkt de belangrijkste bron voor cadmium.

De normoverschrijdende bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater zijn waarschijnlijk allemaal afkomstig uit de glastuinbouw. De landbouwmiddelen overschrijden het MTR niet. Op zowel de referentielocatie als de belaste locaties zijn (hoge) concentraties bestrijdingsmiddelen aangetroffen. De berekende PAF-waarde voor bestrijdingsmiddelen en zware metalen is benedenstrooms groter dan bovenstrooms en in alle zijtakken groter dan 32%. Met name de zware metalen zijn verantwoordelijk voor deze relatief hoge Potentiëel Aangetaste Fractie soorten.

De aangetroffen macrofauna in de beken indiceert een hoge organische belasting: dominante taxa zijn Tubificidae en Chironomidae. Uitzonderingen vormen het bovenstroomse deel van de Genraaijbeek en de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal waar soorten zijn aangetroffen die kenmerkend zijn voor biologisch gezonde wateren. Het oppervlaktewater in zowel de onderzoeksbeken als de Rijnbeek zelf is toxisch voor *Daphnia magna*. Alleen in het bovenstroomse deel van de Genraaijbeek overleefden de *Daphnia*'s de testperiode gedurende acht dagen. De bioassays kunnen niet als vervanging dienen van het bestrijdingsmiddelenonderzoek en zijn niet geschikt als communicatiemiddel met de doelgroep (agrariërs) omdat geen directe link kan worden gelegd tussen de sterfte van de *Daphnia*'s en de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater.

Het bleek niet mogelijk de (negatieve) invloed van bestrijdingsmiddelen op de macrofauna in het stroomgebied van de Rijnbeek statistisch te onderbouwen als gevolg van het beperkte aantal meetpunten en de vele variabelen. Normoverschrijdende concentraties bestrijdingsmiddelen lijken het voorkomen van macrofaunasoorten, die ondanks de hoge organische belasting en concentraties zwa-

re metalen kunnen overleven wel negatief te beïnvloeden: het aantal mijten- en insectentaxa lijkt af te nemen terwijl het aantal wormen- en slakkentaxa juist lijkt toe te nemen bij een toenemende hoeveelheid normoverschrijdende insecticiden en acariciden.

Het effect van het terugdringen van bestrijdingsmiddelenconcentraties in het oppervlaktewater op de macrofaunasoortensamenstelling als gevolg van aanscherping van het bestrijdingsmiddelenbeleid is groter wanneer met name de organische belasting en de concentraties zware metalen worden teruggedrongen. De ontwikkeling van de macrofaunasamenstelling is niet alleen afhankelijk van de fysisch/chemische waterkwaliteit maar ook van de stroming, het substraat en de morfologie van de beek. De relatief lage stroomsnelheden, de sliblaag op de bodem en de relatief steile oevers vormen beperkende factoren voor de ontwikkeling van 'gezonde' macrofaunagemeenschappen in de zijtakken van de Rijnbeek.

Inhoudsopgave

VOORWOORD

SAMENVATTING

INHOUDSOPGAVE

1	INLEIDING.....	1
1.1	Aanleiding	1
1.2	Probleemstelling, doelstelling en onderzoeksvragen	1
1.3	Werkwijze	2
1.4	Leeswijzer	5
2	BESTRIJDINGSMIDDELEN.....	7
2.1	Bestrijdingsmiddelen uit de land- en tuinbouw en het omringende milieu	7
2.2	Bronnen van bestrijdingsmiddelen	8
2.3	Beleid met betrekking tot bestrijdingsmiddelen	9
2.3.1	Europees beleid	9
2.3.2	Nationaal beleid	9
2.3.3	Toelatingsprocedures	11
2.3.4	Diversen	11
2.4	Afname van het bestrijdingsmiddelengebruik	11
2.5	Effecten van bestrijdingsmiddelen in aquatische milieus	12
3	GEBIEDSBESCHRIJVING.....	15
3.1	Ligging van het gebied en de onderzoeksbeken	15
3.2	Keuze van de onderzoekslocaties	16
3.3	Activiteiten nabij de onderzoeksbeken	16
3.4	Beschrijving van de onderzoeksbeken	16
3.5	Cenotypen: de huidige situatie en streefbeelden	17
4	TOEGEPASTE TECHNIEKEN.....	19
4.1	Monsternamen en –analyse oppervlaktewateren	19
4.2	Macrofaunamonsternamen	20
4.3	Veldbioassays met <i>Daphnia magna</i>	20
4.4	Combi-PAF	24
4.5	Statistische analyses	26
4.6	Bemonstering regenwaterbassins en bronputten	27
5	FYSISCH/CHEMISCHE RESULTATEN.....	29
5.1	Algemene parameters	29
5.2	Bestrijdingsmiddelen	30
5.3	Zware metalen	31
5.4	Combi-PAF	32
5.5	Regenwater- en grondwaterbemonstering	34

6	MACROFAUNA.....	35
6.1	Algemene soortenbeschrijving	35
6.2	Twinspan-analyse	39
6.3	Onderverdeling soorten naar trofisch niveau	41
6.4	K ₁₃₅ -index	42
7	BIOASSAYS.....	43
7.1	Voorwaarden bioassays	43
7.2	Fysisch/chemische parameters	43
7.3	Resultaten <i>Daphnia</i> 's	44
8	CORRELATIE TUSSEN DE VARIATIE IN MACROFAUNASAMENSTELLING EN FYSISCH/CHEMISCHE PARAMETERS.....	47
8.1	CANOCO	47
8.2	Relatie tussen bestrijdingsmiddelen en macrofaunataxa	49
9	DISCUSSIE, CONCLUSIES & AANBEVELINGEN.....	51
9.1	Discussie	51
9.1.1	Fysisch/chemische gegevens	51
9.1.2	Macrofauna	55
9.1.3	Bioassays	55
9.1.4	Correlatie tussen de variatie in macrofaunasamenstelling en fysisch/ chemische parameters	58
9.2	Conclusies	59
9.3	Aanbevelingen	61
	LITERATUURLIJST.....	63

BIJLAGEN

Bijlage 1:	Beschrijving monsterpunten
Bijlage 2:	Morfologie van de onderzoeksbeken
Bijlage 3:	Analysepakket bemonstering Rijnbeek 2001
Bijlage 4:	Geanalyseerde bestrijdingsmiddelen: codes, detectiegrenzen en MTR-waarden
Bijlage 5:	Achtergrondinformatie <i>Daphnia magna</i>
Bijlage 6:	Onderbouwing inzet bioassays
Bijlage 7:	CANOCO parameters
Bijlage 8:	Toetsresultaten NW4
Bijlage 9:	Bestrijdingsmiddelen informatie
Bijlage 10:	Macrofaunasoortenlijst 28 mei 2001
Bijlage 11:	Latijnse en Nederlandse groepsnamen van de macrofaunasoortenlijst
Bijlage 12:	Output Twinspan analyse
Bijlage 13:	De kwaliteitsindex K ₁₃₅
Bijlage 14:	Output Canonical Correspondence Analysis
Bijlage 15:	Vergelijking concentraties zware metalen en bestrijdingsmiddelen met NOEC's en LC ₅₀ - waarden voor <i>Daphnia magna</i> .

1. Inleiding

1.1 Aanleiding

Het Zuiveringschap Limburg zorgt als waterschap voor de kwaliteit van het oppervlaktewater in de provincie Limburg. In 1997 is door de afdelingen Waterkwaliteitsbeheer en Vergunningen & Handhaving van het Zuiveringschap Limburg een onderzoek gestart naar de verontreiniging van het stroomgebied van de Rijnbeek met bestrijdingsmiddelen. Dit leidde tot het rapport 'Onderzoek naar gewasbeschermingsmiddelen in het stroomgebied van de Rijnbeek bij Venlo' (Zuiveringschap Limburg, 1999). Uit dit rapport blijkt dat er meer landbouwmiddelen dan glastuinbouwmiddelen voorkomen in het stroomgebied van de Rijnbeek. Slechts drie procent van de aangetroffen landbouwmiddelen overschrijdt echter de norm. Bij de gewasbeschermingsmiddelen die in de glastuinbouw worden toegepast, is het percentage normoverschrijdingen fors hoger: 61%. De kans op mogelijke schadelijke effecten van glastuinbouwmiddelen is groot omdat relatief vaak de Maximaal Toelaatbare Risico's (MTR) worden overschreden. Het MTR geeft de concentratie aan waarbij 95% van de soorten geen nadelige effecten ondervindt (Ministerie van VROM, 1989).

In het bovengenoemde onderzoek van het Zuiveringschap Limburg (1999) is tevens de macrofauna van een belaste beek geïnventariseerd en vergeleken met de macrofauna van een onbelaste beek. Beide beken zijn wat betreft standplaatsfactoren vergelijkbaar. Verschillen tussen de macrofauna van de schonere beek en de macrofauna van de vervuilde beek bleken destijds statistisch niet significant vanwege de beperkte onderzoeksopzet.

1.2 Probleemstelling, doelstelling & onderzoeksvragen

Veel bestrijdingsmiddelen zijn in normoverschrijdende concentraties in het milieu aanwezig. Het is echter niet eenvoudig om de (schadelijke) effecten van de bestrijdingsmiddelen aan te tonen. Door de vele omgevingsvariabelen is het lastig om waargenomen effecten aan één (groep) parameter(s) toe te schrijven. De waargenomen correlaties moeten dus door middel van uitgebreid onderzoek in (duidelijke) verbanden resulteren, zodat bewijs ten aanzien van mogelijke effecten van bestrijdingsmiddelen statistisch onderbouwd kan worden. Het aantonen van schadelijke effecten op het ecosysteem biedt tevens mogelijkheden om verontreinigingen aan te pakken omdat deze effecten vaak meer indruk maken op de vervuilers dan concentratiemetingen en normoverschrijdingen.

Om inzicht te krijgen in de effecten op en concentraties van bestrijdingsmiddelen in het milieu is onderzoek noodzakelijk. Omdat op basis van fysisch/chemische analyses alléén effectbeoordeling van verontreinigingen niet goed mogelijk is, wordt in dit onderzoek de TRIADE benadering toegepast. Dit is een methode waarmee door combinatie van diverse onderzoeken de kwaliteit van het water kan worden beoordeeld:

1. Fysisch/chemische analyses;
2. Veldwaarnemingen (macrofaunaonderzoek);
3. Ecotoxicologische toetsen (bioassays in het veld of laboratorium).

Vanwege de grote variatie in het voorkomen van stoffen, tijdstip en duur van blootstelling is het niet mogelijk om altijd en overal te meten. Het toepassen van veldbioassays kan dan ook een belangrijke rol spelen bij het aantonen van bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater. De beoordeling van de waterkwaliteit met toxiciteitstesten is een goede aanvulling op de huidige stofgerichte beoordeling (Wiegman, 2001). Niet geanalyseerde of niet detecteerbare stoffen, de combinatietoxiciteit van de 'cocktail' van aanwezige stoffen, de toxiciteit van afbraakproducten, piekafvoeren enzovoort kunnen van belang zijn voor het overleven en de voortplanting van de watervlooien. Op deze wijze kan een indicatie worden verkregen van de toxiciteit voor waterorganismen die soms niet uit de fysisch/chemische resultaten is af te leiden. De TRIADE combineert dus drie wetenschapsgebieden, namelijk de fysica/chemie, de biologie en de ecotoxicologie (WWW1).

Het doel van dit onderzoek is om op basis van fysische/chemische analyses, veldmetingen en bioassays (TRIADE-benadering) een verband aan te tonen tussen de samenstelling van de macrofauna en de aanwezige bestrijdingsmiddelen. Dit gebeurt door onderzoek in het stroomgebied van de Rijnbeek aan:

1. twee belaste beken (de Kikvorsbeek en het Middendijkveenkanaal) en een referentiebeek (Genraaijbeek);
2. boven- en benedenstroomse (instroom Rijnbeek) locaties per beek.

Tevens is onderzocht of de aangetoonde bestrijdingsmiddelen aan bepaalde bronnen kunnen worden gerelateerd.

De volgende onderzoeksvragen worden in dit onderzoek beantwoord:

- Welke bestrijdingsmiddelen of andere microverontreinigingen worden aangetroffen in het onderzoeksgebied en in hoeverre vindt normoverschrijding plaats?
- Verschillen de fysisch/chemische parameters in de belaste en onbelaste beken?
- Verschilt de macrofaunagemeenschap in de belaste en onbelaste beken?
- Verschilt het boven- en benedenstroomse deel van de beken wat betreft macrofauna en/of fysisch/chemische parameters?
- Is de aanwezigheid van microverontreinigingen van invloed op de macrofaunasamenstelling?
- Is met bioassays in het veld en/of op het laboratorium een verschil in sterfte/reproductie van *Daphnia magna* waar te nemen tussen belaste en niet belaste beken en/of tussen boven- en benedenstroomse monsterpunten?
- Vormen het regenwater en/of grondwater een bron voor de bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater?

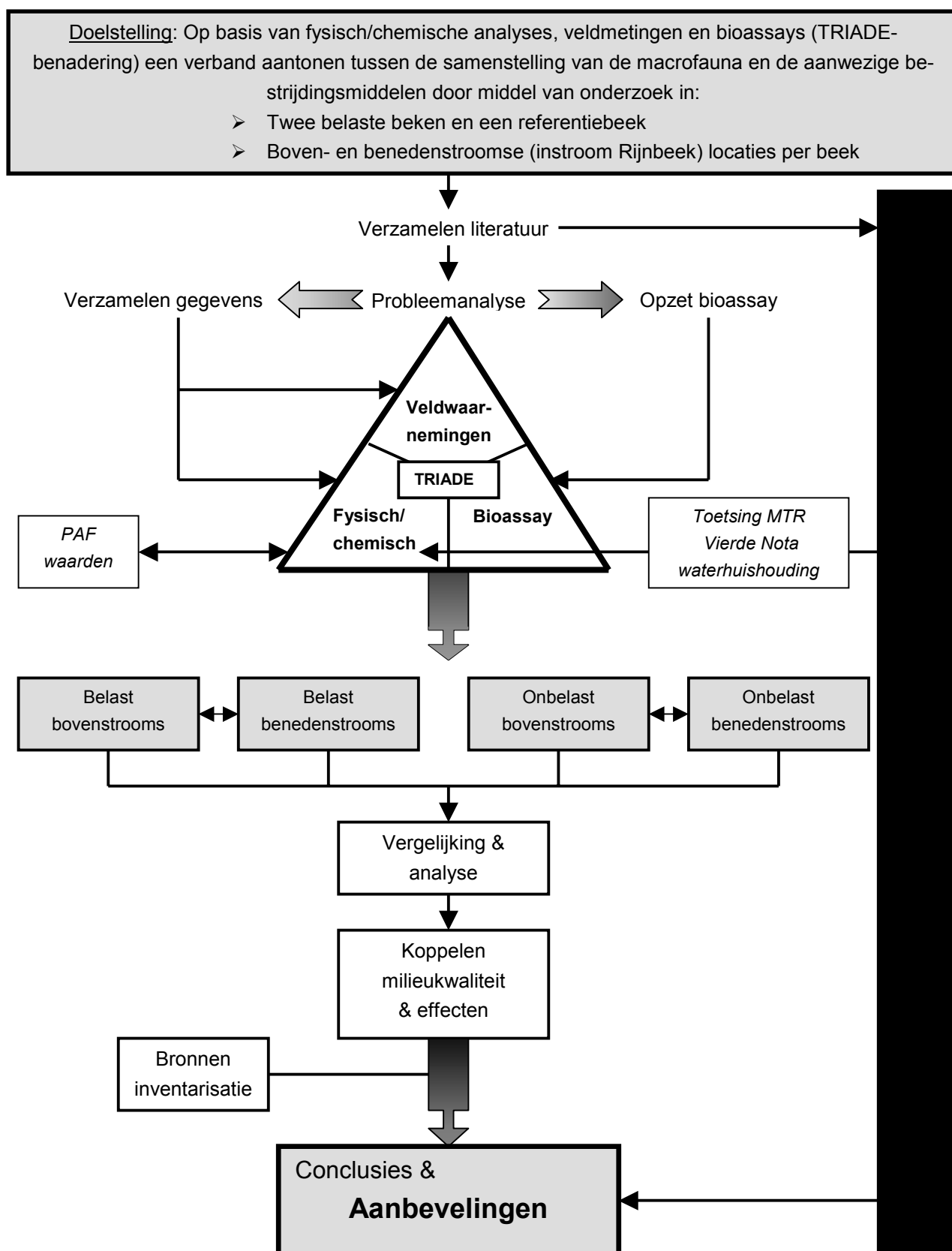
1.3 Werkwijze

Om inzicht te krijgen in eerder uitgevoerde onderzoeken is eerst een literatuurstudie ten aanzien van macrofaunastudies en (veld)bioassays. Er zijn onder andere rapporten, artikelen en aanvullende informatie opgevraagd bij het Centrum voor Milieukunde van de Rijksuniversiteit Leiden, het Zuiveringschap Hollandse Eilanden en Waarden, het RIVM, RIZA en AquaSense. De verzamelde literatuur is vervolgens gebruikt om een probleemstelling te formuleren met de daarbij behorende onderzoeksvragen.

Een veldbioassay is opgezet en uitgevoerd om de toxiciteit en directe schadelijke effecten van het oppervlaktewater in de Rijnbeek op *Daphnia magna* te bepalen. Tevens zijn de morfologische, fysische, chemische en macrofauna-gegevens verzameld. De fysisch/chemische parameters zijn getoetst aan de normen uit de 4^e Nota Waterhuishouding (Ministerie van Verkeer en Waterstaat, 1998). Daarnaast is ook een Potentieel Aangetaste Fractie soorten (combi-PAF) berekend op basis van de concentraties zware metalen en bestrijdingsmiddelen in de beken en ecotoxicologische studies. Van de karakteristieke macrofaunasoorten in de beken zijn autoecologische gegevens gezocht. Deze gegevens zijn geïntegreerd in de algemene soortenbeschrijving. Met behulp van TWINSPAN zijn vervolgens de verschillende monsterpunten op basis van verschillen en/of overeenkomsten in de macrofaunasamenstelling geclusterd of van elkaar gescheiden. Daarnaast is de soortensamenstelling per monsterpunt op basis van de voedselstrategieën van de verschillende soorten vastgesteld en zijn de monsterpunten beoordeeld op basis van de K_{135} index.

Na de afzonderlijke interpretatie van de fysisch/chemische gegevens, de macrofaunasoortensamenstelling en de bioassays zijn de fysisch/chemische en macrofaunagegegevens gecorreleerd met behulp van CANOCO. Tevens is onderzocht of er een relatie kon worden aangetoond tussen het aantal MTR-overschrijdingen van insecticiden en acariciden en het aantal aangetroffen taxa insecten en spinachtigen. Daarnaast zijn de resultaten van de bioassays verklaard met behulp van de fysisch/chemische en morfologische gegevens.

Omdat de belasting van het oppervlaktewater via atmosferische depositie ook van belang wordt geacht (Teunissen-Ordeman *et al.*, 1996) is tevens onderzocht in welke mate bestrijdingsmiddelen via atmosferische depositie in het oppervlaktewater terechtkomen, door middel van regenwaterbuffermonsternamen. De belasting van het grondwater is bepaald door middel van bronwatermonsternamen. Tenslotte zijn de resultaten van dit onderzoek bediscussieerd. Dit resulteerde in een aantal conclusies en aanbevelingen voor verder onderzoek. De inhoudelijke samenhang tussen de verschillende onderdelen van het onderzoek is weergegeven in figuur 1.



Figuur 1: Inhoudelijke samenhang tussen de verschillende onderdelen van het onderzoek.

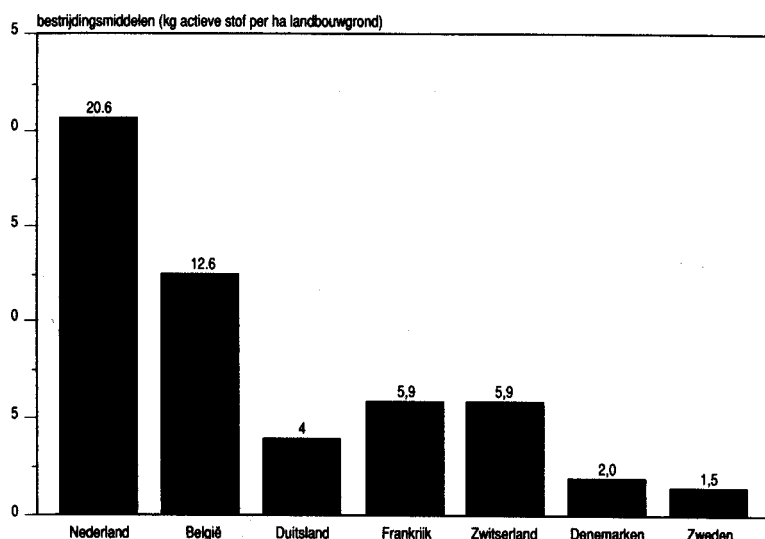
1.4 Leeswijzer

Hoofdstuk 2 bevat een algemene introductie over bestrijdingsmiddelen, een beschrijving van de mogelijke bronnen van bestrijdingsmiddelen en het Europees en nationaal bestrijdingsmiddelenbeleid. Tenslotte zijn in dit hoofdstuk de effecten van bestrijdingsmiddelen op aquatische milieus behandeld. Dit betreft vooral effecten op de macrofauna. Hoofdstuk 3 bevat een algemene gebiedsbeschrijving. De onderzoekslocaties zijn weergegeven in een overzichtsfiguur van het stroomgebied van de Rijnbeek. Tevens zijn de activiteiten nabij de onderzoekslocaties beschreven en wordt de toestand van de beken behandeld. De gebruikte materialen en methoden zijn behandeld in hoofdstuk 4. De keuze voor de onderzoekslocaties is beschreven evenals de wijze waarop de bedrijven in kaart zijn gebracht en de morfologie van de beek is beoordeeld. Verder zijn de monsternames van macrofauna en oppervlaktewateren beschreven. Daarnaast is de opzet van de bioassays behandeld. Tenslotte zijn in dit hoofdstuk de methoden beschreven die zijn gebruikt bij de gegevensverwerking zoals de combi-PAF berekeningen, TWINSPAN en CANOCO. De resultaten van het onderzoek zijn verdeeld over hoofdstuk 5 tot en met 8. Allereerst zijn in hoofdstuk 5 de fysisch/chemische gegevens behandeld. Naast enkele algemene fysisch/chemische parameters als de pH, zuurstofconcentratie en nutriënten zijn de gedetecteerde bestrijdingsmiddelen en de zware metalen in dit hoofdstuk beschreven. Tenslotte bevat dit hoofdstuk de combi-PAF waarden op basis van bestrijdingsmiddelen, zware metalen en beide stofgroepen. Hoofdstuk 6 bevat de macrofaunasamenstelling. Naast een algemene beschrijving van de dominante en karakteristieke soorten per locatie is het resultaat van de TWINSPAN-analyse opgenomen evenals de verhouding van de soorten in de verschillende beken op basis van de voedselstrategieën van de verschillende soorten en de beoordeling op basis van de K_{135} index. Hoofdstuk 7 bevat de resultaten van de bioassays waar onder andere de sterftepercentages van *Daphnia magna* per beek staan weergegeven. Hoofdstuk 8 bevat een synthese van eerder beschreven resultaten. De fysisch/chemische en macrofaunagegevens zijn gecorreleerd met behulp van CANOCO. Dit is weergegeven in twee ordinatiediagrammen. Daarnaast is vermeld in hoeverre de variatie in macrofaunasamenstelling verklaard kan worden met de variatie in de PAF-waarden en de overige parameters. Tevens is in dit hoofdstuk de relatie weergegeven tussen het aantal MTR-overschrijdingen van insecticiden en acariciden en het aantal aangetroffen taxa insecten en spinachtigen. In hoofdstuk 9 zijn tenslotte de resultaten bediscussieerd, conclusies getrokken en aanbevelingen gedaan voor verder onderzoek.

2. Bestrijdingsmiddelen

2.1 Bestrijdingsmiddelen uit de land- en tuinbouw en het omringende milieu

De chemische gewasbescherming vormt één van de grootste bronnen van xenobiotische stoffen in het milieu (Van Straalen & Verklij, 1991). Bestrijdingsmiddelen vormen een bijzondere groep stoffen: het is één van de weinige giftige stofgroepen die door de mens bewust in de leefomgeving worden gebracht. Het probleem hierbij is dat de middelen zich ook buiten het doelwitgebied verspreiden en daar ongewenste effecten kunnen hebben. Echter, zonder gewasbescherming leiden ziekten en plagen tot opbrengstderving, kwaliteitsverlies en houdbaarheidsproblemen. De noodzaak voor gewasbescherming hangt in Nederland onder andere samen met het Nederlands klimaat, de intensiviteit en de sterke specialisatiegraad. De teelt is hierdoor extra gevoelig voor ziekten en plagen (Ragas & Leuven, 1992). De Nederlandse teelt wordt per oppervlakte-eenheid gekenmerkt door zowel een hoge opbrengst, als een hoog gebruik aan bestrijdingsmiddelen (figuur 2) en meststoffen. Onder deze omstandigheden is het niet verwonderlijk dat een deel van de gebruikte bestrijdingsmiddelen ongewenste effecten in het omliggende milieu veroorzaakt (De Snoo & De Jong, 1999).



Figuur 2: Verbruik van bestrijdingsmiddelen in de landbouw in enkele landen in 1987. In Nederland worden per hectare landbouwgrond de meeste bestrijdingsmiddelen gebruikt (Copius Peereboom, 1994).

In regionale wateren die in of nabij landbouwgebieden liggen waar bestrijdingsmiddelen worden toegepast komen de hoogste concentraties en overschrijdingen van de normen van bestrijdingsmiddelen voor (De Snoo & De Jong, 1999). Het gaat hierbij voornamelijk om insecticiden en herbiciden. De normoverschrijdingen komen voor ondanks de brongerichte maatregelen die zijn genomen naar aanleiding van het 'Meerjarenplan Gewasbescherming' (Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij, 1990). Het is belangrijk zich te realiseren dat een afname van het totale bestrijdingsmiddelengebruik in massa-eenheden niet altijd samengaat met een afname van de milieudruk, aangezien meer actieve en specifieke stoffen worden ontwikkeld en op de markt komen (RIVM *et al.*, 2000 ; European Environment Agency, 1999).

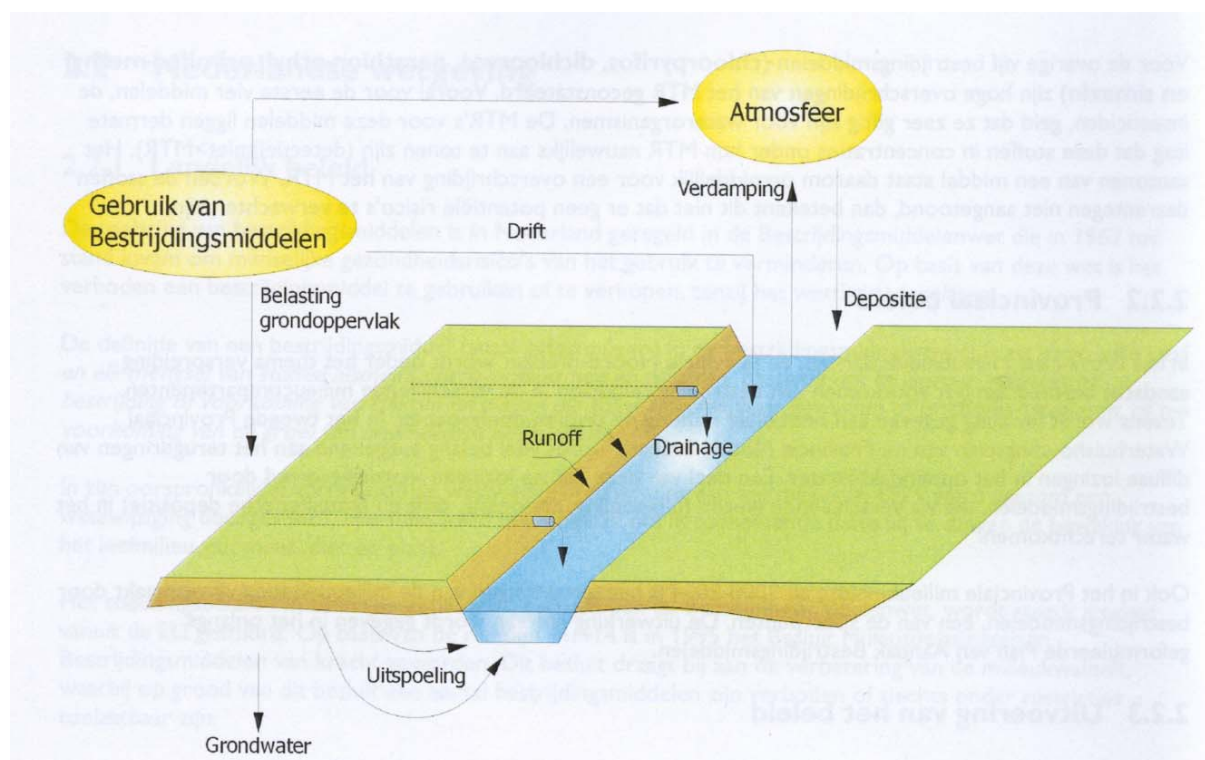
2.2 Bronnen van bestrijdingsmiddelen

Oorzaken van bestrijdingsmiddelen in aquatische systemen zijn onder andere:

- Drift vanuit de kassen;
- Aanwezigheid van gewasbeschermingsmiddelen in regenwater;
- Uitspoeling via het grondwater;
- Lozing via het drainwater;
- Historische verontreinigingen.

Via condensgootjes kunnen bestrijdingsmiddelen uit de kassen in regenwaterbassins terecht komen. Volgens het Lozingenbesluit Wet verontreiniging oppervlaktewateren-Glastuinbouw mogen glastuinbouwers die over regenwaterbassins beschikken kleiner dan 3500 m³/hectare niet overstorten op de beek (Ministerie van VROM, 1994). Niet alle tuinders beschikken echter over een regenwaterbassin. De meeste tuinders gebruiken grondwater in plaats van regenwater als gietwater voor het gewas. Overstorten uit regenwaterbassins lijken dan ook geen waarschijnlijke route voor de verspreiding van bestrijdingsmiddelen naar het omringende aquatische milieu.

In figuur 3 zijn enkele belangrijke verspreidingsroutes van bestrijdingsmiddelen naar en in het milieu weergegeven.



Figuur 3: Verspreiding van bestrijdingsmiddelen naar en in het milieu (Merkelbach & Wiskerke, 1998).

2.3 Beleid met betrekking tot bestrijdingsmiddelen

2.3.1 Europees beleid

Richtlijn 91/414/EEG van de Raad van de Europese Gemeenschappen van 15 juli 1991 betreft het op de markt brengen van gewasbeschermingsmiddelen waarbij een harmonisatie van het toelatingsbeleid door de lidstaten heeft plaatsgevonden. Lidstaten blijven verantwoordelijk voor de beoordeling van de toelating van gewasbeschermingsmiddelen. De beoordeling dient echter zowel procedureel als inhoudelijk op dezelfde wijze plaats te vinden. Tot 25 juli 2003 hebben de lidstaten de mogelijkheid om van de eisen af te wijken voor zover het gaat om gewasbeschermingsmiddelen die werkzame stoffen bevatten die nog niet op Europees niveau zijn beoordeeld én die voor 25 juli 1993 al op de markt waren. Op 25 juli 2003 dient de harmonisatie van het toelatingsbeleid te zijn gerealiseerd. Het is nu al duidelijk dat deze streefdatum niet wordt gehaald (Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij, 2001).

De EU Kaderrichtlijn Water is gericht op het beschermen en verbeteren van aquatische ecosystemen, het bevorderen van duurzaam watergebruik en het afzwakken van de gevolgen van overstromingen en droogtes. Er wordt uitgegaan van een stroomgebiedbenadering, waarbij een goede toestand van het water nagestreefd moet worden. Voor oppervlaktewater heeft dit betrekking op een goede ecologische en chemische toestand. Deze goede ecologische toestand is gedefinieerd als 'de waarden van de biologische kwaliteitselementen die een geringe mate van verstoring vertonen ten gevolge van menselijke activiteiten en slechts licht afwijken van wat normaal is voor het type oppervlaktewater in onverstoorde staat'. Onder kwaliteitselementen voor oppervlaktewateren verstaat men onder andere fytoplankton, macrofyten, macrofauna, vis, hydromorfologie en fysisch/chemische eigenschappen. In de periode 2016-2034 dient de goede ecologische toestand bereikt te zijn (RIVM, 2000^b).

2.3.2 Nationaal beleid

Wetten

De bescherming van de kwaliteit van het oppervlaktewater is in Nederland geregeld in de Wet verontreiniging oppervlaktewater (Wvo), die in 1970 van kracht is geworden. Het doel van de Wvo is verontreiniging van oppervlaktewater zoveel mogelijk te voorkomen en te bestrijden. Een belangrijk middel om deze doelstelling te verwezenlijken is het opstellen van voorschriften, het afgeven van vergunningen en het instellen van heffingen. In de Wvo is het verbod opgenomen om zonder vergunning afvalstoffen, verontreinigende of schadelijke stoffen in oppervlaktewater te brengen. De belangrijkste wetten waarmee waterkwaliteitsbeheerders bij de uitvoering van de Wvo te maken hebben, zijn de Wet Milieubeheer en de Algemene wet bestuursrecht (Awb). De Awb regelt de procedure voor vergunningverlening. De Wet Milieubeheer is sinds 1 maart 1993 van kracht en vervangt de voormalige Hinderwet, de Wet inzake de luchtverontreiniging, de Wet geluidshinder, de Afvalstoffenwet en de Wet chemische afvalstoffen.

De toelating van bestrijdingsmiddelen is in Nederland, vanaf 1962, geregeld in de Bestrijdingsmiddelenwet. Op basis van deze wet is het verboden een bestrijdingsmiddel te gebruiken of te verkopen, tenzij het wettig is toegelaten. In de Bestrijdingsmiddelenwet wordt 'bestrijdingsmiddel' als volgt gede-

finieerd: *elke stof en elk mengsel van stoffen alsmede micro-organismen en virussen, bestemd om te worden gebruikt bij bestrijding of voorkoming van ziekten en plagen die schadelijk zijn voor gewassen of landbouwhuisdieren, of ter voorkoming van de groei van ongewenste wilde planten* (Van Mill, 2000). In januari 2001 heeft de Eerste Kamer ingestemd met een wijziging van de Bestrijdingsmiddelenwet die het gebruik van landbouwkundig onmisbare middelen mogelijk maakt (Ministerie van VROM *et al.*, 2001).

AmvB's

In het Lozingbesluit Wvo-glastuinbouw worden eisen gesteld met betrekking tot de beperking van lozingen op het oppervlaktewater vanuit een glastuinbouwbedrijf. Deze maatregel is op 1 januari 1994 in werking getreden en moest in 2000 volledig worden toegepast. Daarnaast is vanaf 1 november 1996 recirculatie verplicht bij substraatteelt (WWW2).

Het Lozingenbesluit open teelt en veehouderij is vanaf 1 maart 2000 van kracht. Het wordt opgenomen in het kader van de algemene waterkwaliteitsaanpak en is gebaseerd op de Wet verontreiniging oppervlaktewateren en de Bestrijdingsmiddelenwet. Met deze maatregel wordt geprobeerd de verontreiniging van het oppervlaktewater door bestrijdingsmiddelen en meststoffen in de landbouw terug te dringen. Door middel van het instellen van teeltvrije zones voor akkerranden die grenzen aan oppervlaktewater kan drift van bestrijdingsmiddelen vanaf de percelen en het meebemesten van de slootkanten worden beperkt. De breedte van de zones is afhankelijk van de intensiteit waarmee bespoten wordt. Tuinders die onder dit besluit vallen (akkerbouw, vollegrondsgroenteteelt, bollenteelt, boomkwekerijgewassen en vaste planten, fruitteelt en veehouderij) hebben een meldingsplicht (Ministerie van Verkeer en Waterstaat, 2000).

Overheidsbeleid

Als vervolg op het Meerjarenplan Gewasbescherming (1991 tot 2001) is een nieuw gewasbeschermingsbeleid opgesteld voor de periode 2001 tot 2010: 'Zicht op gezonde teelt'. In 'zicht op gezonde teelt' (Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij, 2001) zijn door het kabinet drie doelstellingen geformuleerd om te komen tot een duurzame gewasbescherming:

1. Een vergaande vermindering van het gebruik van chemische gewasbeschermingsmiddelen.
2. Een verdere vermindering van de emissies naar het milieu.
3. Het verbeteren van de naleving van de huidige wet- en regelgeving voor gewasbeschermingsmiddelen met betrekking tot volksgezondheid, milieu en arbeidsbescherming.

De doelstelling is een vermindering van de milieubelasting met chemische gewasbeschermingsmiddelen in 2005 met 75% en in 2010 met tenminste 95% ten opzichte van het jaar 1998. In 2004 zal het nieuwe beleid worden geëvalueerd. Als in 2005 blijkt dat minder dan 90% van de bedrijven met plantaardige productie is gecertificeerd zullen per 1 januari 2005 wettelijke maatregelen worden getroffen.

In de Vierde Nota waterhuishouding (Ministerie van Verkeer en Waterstaat, 1998) wordt door middel van integraal waterbeheer gestreefd naar versterking van de uitvoering van het beleid (met name emissies, waterbodembodem, verdroging en veiligheid), verbreding van het beleidsmatige blikveld en een verdieping van het waterbeheer in de periode 1998-2006. In de Vierde Nota waterhuishouding zijn onder andere de Maximaal Toelaatbare Risiconiveaus voor microverontreinigingen vermeld. Deze betreffen het minimumkwaliteitsniveau. Voor bestrijdingsmiddelen is de getalswaarde voor het MTR-niveau technisch wetenschappelijk afgestemd op het toelatingsbeleid. Het nastreven van het MTR geldt voor waterbeheerders als een inspanningsverplichting.

2.3.3 Toelatingsprocedures

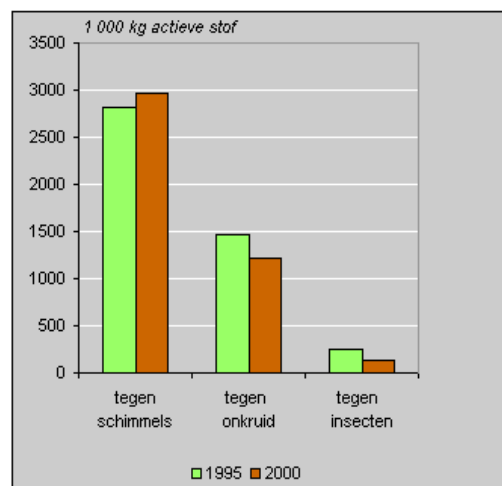
In februari 1995 is het Besluit Milieutoelatingseisen Bestrijdingsmiddelen in Nederland van kracht geworden voor de milieubeoordeling van gewasbeschermingsmiddelen waarvoor de EU-richtlijnen nog niet gelden, omdat een middel nog niet is behandeld in het kader van deze richtlijnen (WWW2). In Nederland is door de politiek de keuze gemaakt om bij de herbeoordeling van toegelaten bestrijdingsmiddelen niet aan te sluiten bij de Europese planning van de herbeoordeling van bestaande werkzame stoffen maar vooruit te lopen op een Europese beoordeling. Motivering van deze keuze was het intensieve bestrijdingsmiddelengebruik in Nederland en de voor Nederland specifieke omstandigheden zoals intensieve landbouw, hoge bevolkingsdichtheid en veel water (WWW3). De bestrijdingsmiddelenwet bepaalt dat bestrijdingsmiddelen door het College voor de Toelating van Bestrijdingsmiddelen worden beoordeeld op werkzaamheid, alsmede mogelijke schadelijke gevolgen voor het milieu, voor de volksgezondheid en voor de gebruiker. Het College voor de Toelating van Bestrijdingsmiddelen is een zelfstandig bestuursorgaan verantwoordelijk voor het nemen van beslissingen over de toelating van bestrijdingsmiddelen (WWW4).

2.3.4 Diversen

Vanaf 1 juli 1996 heeft iedereen die gewasbeschermingsmiddelen gebruikt, in bezit heeft of verhandelt een Licentie Gewasbescherming nodig (WWW2). Daarnaast is vanaf 1 januari 2001 registratie van gebruik van gewasbeschermingsmiddelen in de akkerbouw verplicht (Verordening HPA Registratie Gewasbeschermingsmiddelen, WWW5). In 2000 is een lozingenmeldingsplicht ingevoerd. Ondernemers uit de land- en tuinbouwsector die lozen moeten zich schriftelijk melden bij de waterkwaliteitsbeheerder in wiens gebied de lozing plaatsvindt. De teler moet hierbij enkele algemene gegevens over het bedrijf, de percelen en de lozingen invullen. Ook wijzigingen dienen te worden gemeld.

2.4 Afname van het bestrijdingsmiddelengebruik

Volgens het Centraal Bureau voor de Statistiek (WWW6) is het gebruik van chemische bestrijdingsmiddelen in de land- en tuinbouw tussen 1995 en 2000 gedaald van bijna 6,0 miljoen kilo naar ruim 5,3 miljoen kilo. Dit werd vooral veroorzaakt door het afgenomen gebruik per hectare. De akkerbouw was verantwoordelijk voor 70% van het totale gebruik. De hoeveelheid actieve stof die per hectare werd gebruikt door akkerbouwers en tuinders was in 2000 6,6 kg ten opzichte van 7,4 kg in 1995. Het gebruik van insecticiden was tussen 1995 en 2000 ongeveer met de helft verminderd en dat van herbiciden met ongeveer 16% (figuur



Figuur 4: Overzicht van het gebruik van fungiciden (tegen schimmels), herbiciden (tegen onkruid) en insecticiden (tegen insecten) in 1995 en 2000. (Bron: WWW6)

4). Deze daling werd vooral veroorzaakt door de inzet van moderne middelen, waarvan minder actieve stof nodig is. De afname van het gebruik van herbiciden werd daarnaast ook veroorzaakt door de toenemende mechanisatie.



2.5 Effecten van bestrijdingsmiddelen in aquatische milieus

De werking van insecticiden

(Van Wijngaarden *et al.*, 1998)

Insecticiden blijken een belangrijke groep binnen de pesticiden te zijn die schade toebrengen aan de macrofauna. Er zijn verschillende groepen insecticiden, met verschillende werkingen, te onderscheiden, zoals:

- *Acetylcholinesterase-remmers*

Binnen deze groep vallen de organofosfaat- en carbamaat-insecticiden. Ze remmen de werking van het enzym acetylcholinesterase. Door de remming van dit enzym hoopt het acetylcholine zich op bij de cholinereceptoren met verstoring (overprikkeling) van de zenuwimpulsen tot gevolg. Voorbeelden hiervan zijn dichloorvos, dime-thoat, pirimicarb en parathion-ethyl.

- *Synthetische pyrethroiden*

Net als andere grote groepen van insecticiden (bijv. organofosfaten, carbamaten en organochlo-riden) tasten pyrethroiden de functie van het zenuwstelsel aan. Er ontstaat waarschijnlijk een interactie van het pyrethroïde met natriumkanalen in de zenuwmembranen, waardoor het zenuwstelsel volledig ontregeld wordt door een continue serie zenuwimpulsen. Dit resulteert in de dood van het organisme. Voorbeelden hiervan zijn permethrin, deltamethrin en esfenvaleraat.

- *Organochloor en acyl-ureum insecticiden*

De meest toegepaste organochloor insecticide is lindaan. Lindaan vertraagt de werking van de natrium-kalium kanalen in de zenuwcellen waardoor de impulsen van de zenuwen niet meer worden doorgegeven aan de spieren. Acyl-ureumverbindingen die nog worden toegepast als insecticide zijn diflubenzuron en teflubenzuron. Deze insecticiden verstoren de aanmaak van chitine waardoor Arthropoda problemen krijgen met

Het onderzoek naar bestrijdingsmiddelen in Nederland richt zich in toenemende mate op het aantonen van neveneffecten van bestrijdingsmiddelen op niet-doelwitorganismen. De gegevens over bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater zijn echter vooralsnog niet op grote schaal gekoppeld aan gegevens over het voorkomen van biota in oppervlaktewater. Dit is wel van belang om aan te kunnen geven wat de neveneffecten zijn van bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater op de aquatische fauna (De Bok *et al.*, 1996).

In het in hoofdstuk 1 vermelde onderzoek (Zuiveringschap Limburg, 1999) is geprobeerd om naast de fysisch/chemische parameters tevens de biologische effecten van gewasbeschermingsmiddelen aan te tonen. Dit is gedaan door de macrofauna te inventariseren. Tot de macrofauna behoren de in het water levende ongewervelde dieren met een lichaamsgrootte $> \pm \frac{1}{2}$ mm (Van der Velde & Kempers, 2001). Redenen om de macrofauna te bestuderen zijn:

- De organismen zijn met het blote oog zichtbaar, relatief makkelijk in aantallen te bemonsteren en te determineren.
- Ze vormen een trofische schakel tussen micro-organismen en meio- of mesofauna enerzijds en vissen en andere toppredatoren en watervogels anderzijds.
- Door hun grote soortenrijkdom en verschillende levenswijzen, als ook de vele verschillende eisen die ze stellen aan hun milieu, zijn ze goed bruikbaar als indicatoren voor de gesteldheid van water en bodem.

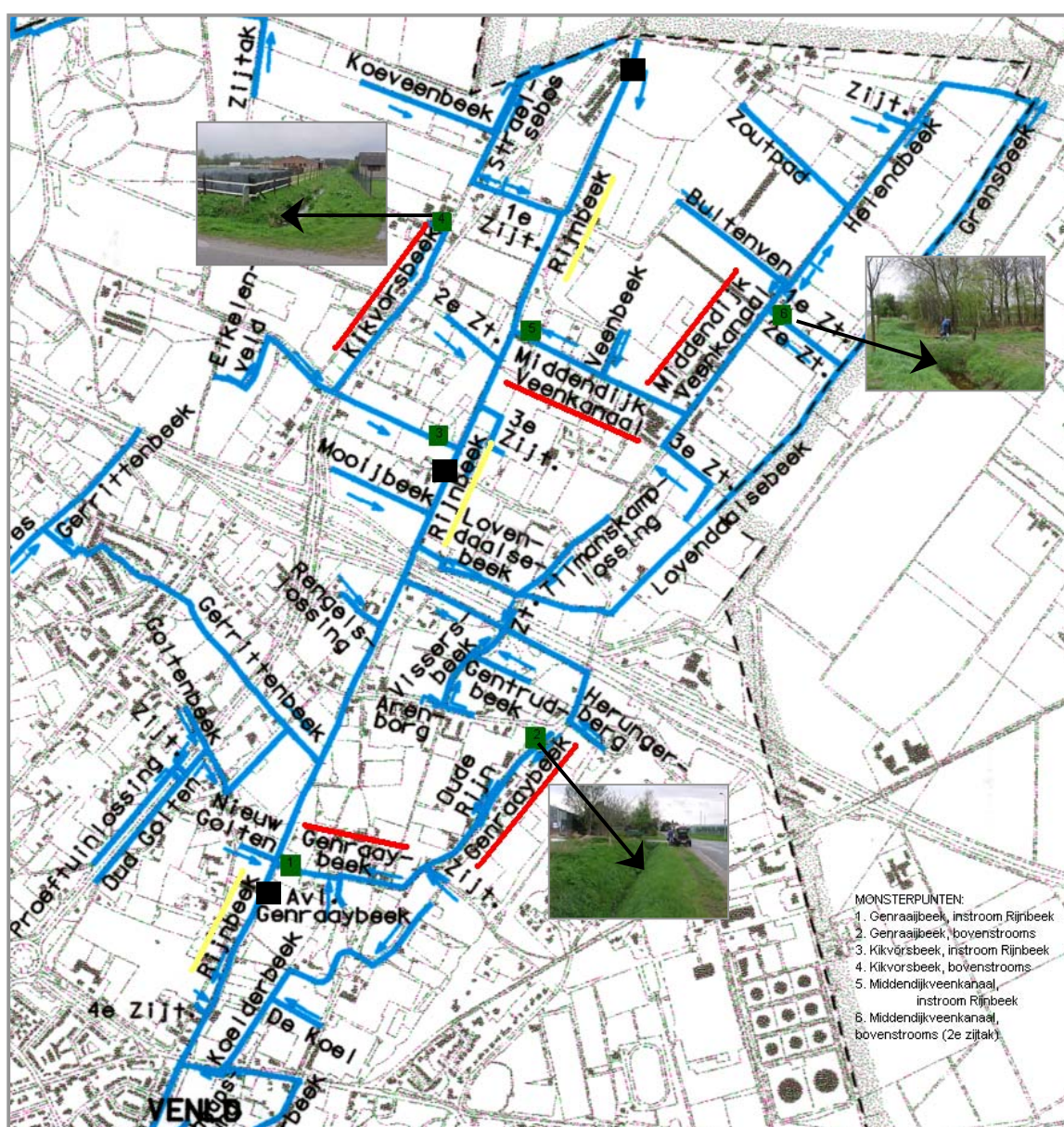
De macrofauna-inventarisatie wordt gebruikt om te bepalen of het bemonsterde oppervlaktewater biologisch gezond is. De macrofauna geeft een beeld van de waterkwaliteit over een langere periode, aangezien de verschillende macrofaunasoorten wel drie maanden tot drie jaar in het water kunnen leven. In biologisch gezond water is sprake van een hoge soortenrijkdom en een laag aantal individuen per soort: een hoge diversiteit. Kenmerkende diergroepen voor biologisch gezonde wateren zijn bijvoorbeeld kokerjuffers, libellenlarven en haften. In water met een slechte kwaliteit komen enkele algemene soorten in hoge abundanties voor. Zuurstofloos, nutriëntrijk water wordt vaak gekenmerkt door de aanwezigheid van veel muggenlarven (Spierenburg, 2001). Van Wijngaarden *et al.* (1998) en Spierenburg (2001) toonden al aan dat in wateren met insecticidenstress voornamelijk slakken en wormen domineren en relatief weinig insecten worden aangetroffen. Hydrobiologisch veldonderzoek heeft eerder uitgewezen dat in gebieden waar veel bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater voorkomen, zoals in delen van Zuid-Holland en Drenthe, verschillende soorten waterorganismen ontbreken of slechts weinig worden gevonden. Dit in tegenstelling tot schone wateren in deze gebieden, waar deze soorten nog wel voorkomen. Sommige wateren in Zuid-Holland blijken zelfs acuut dodelijk voor watervlooien (Teunissen-Ordeman *et al.*, 1996). Het is gebleken dat vooral insecticiden (organische fosforverbindingen als dichloorvos en parathion) en fungiciden (dithiocarbamaten, bijvoorbeeld maneb) problemen geven voor waterorganismen (Schrap *et al.*, 1998^b en Reus, 1995). Nematiciden en herbiciden zijn minder van belang voor het risico voor waterorganismen (Reus, 1995). De kwetsbaarheid van populaties voor toxische stoffen is groter naarmate de blootstelling hoger of langduriger, de gevoeligheid van organismen groter en het herstelvermogen van de populaties geringer is (Van Dijk & De Haan, 1997).

Naast veldonderzoek is ook middels toxiciteitstoetsen in het laboratorium de giftigheid van bestrijdingsmiddelen aangetoond. Dit is onderzocht door middel van acute en chronische toetsen. Acute toxiciteit is gerelateerd aan de sterfte van organismen. Acute testen worden vaak gebruikt om LC_{50} waarden te bepalen. De LC_{50} is de concentratie waarbij 50% van de organismen na een bepaalde blootstellingduur sterft. Naast directe sterfte kunnen ook effecten als groeiremming of het immobiel worden van organismen optreden. Deze effecten worden meegenomen in bijvoorbeeld de EC_{50} (de concentratie waarbij 50% van de organismen een effect ondervindt van de toxische stof). Chronische toxiciteit treedt op wanneer organismen over een langere periode worden blootgesteld aan giftige stoffen (Baltus *et al.*, 2001 en Schrap *et al.*, 1998^a). Met behulp van chronische testen wordt onder andere de NOEC ('No Observed Effect Concentration': de hoogste blootstellingconcentratie uit de test, waarbij geen effect op de organismen werd waargenomen) bepaald.

3. Gebiedsbeschrijving

3.1 Ligging van het gebied en de onderzoeksbeken

Het stroomgebied van de Rijnbeek ligt ten noordoosten van Venlo in een glastuinbouwgebied (met in mindere mate landbouwgrond: akkerbouw of graslanden). De stoffen die in de Rijnbeek terechtkomen, kunnen afkomstig zijn van zijtakken van de beek. De zijtakken die in dit onderzoek zijn bemonsterd zijn de Genraaijbeek, de Kikvorsbeek en het Middendijkveenkanaal. De bioassays zijn daarnaast ook op drie locaties in de Rijnbeek ingezet. Van boven- naar benedenstrooms zijn dit respectievelijk Rijnbeek grens, Rijnbeek Mooijweg en Rijnbeek Nieuwe Rijnstraat (figuur 5). Een beschrijving van de monsterpunten is terug te vinden in bijlage 1.



Figuur 5: Overzicht stroomgebied Rijnbeek waarop onderzoekslocaties zijn aangegeven

- Algemene monsterpunten
- Extra monsterpunten voor inzet bioassays

3.2 Keuze van de onderzoekslocaties

Om mogelijke neveneffecten van bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewateren aan te tonen dienen zowel onderzoekslocaties gekozen te worden die (zwaar) belast zijn als referentiegebieden met een lage belasting. Op basis van eerder uitgevoerd onderzoek (Zuiveringschap Limburg, 1999) is de keuze gemaakt voor de onderzoekslocaties in het stroomgebied van de Rijnbeek bij Venlo. Als belaste locaties zijn gekozen het Middendijkveenkanaal en de Kikvorsbeek. Als referentielocatie is voor de Genraaijbeek gekozen. In alle drie de beken zal zowel boven- als benedenstrooms (instroom Rijnbeek) worden bemonsterd om tevens de variatie langs deze stromingsgradiënt te bestuderen.

3.3 Activiteiten nabij de onderzoeksbeken

In het gebied van de onderzoeksbeken vindt voornamelijk glastuinbouw plaats. Op 22 oktober 2001 is het gebied bezocht om een indruk te krijgen van de activiteiten die van invloed zouden kunnen zijn op de onderzoeksbeken. Naast de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal vond akkerbouw (maïsteelt) plaats. Verder benedenstrooms van dit meetpunt in het Middendijkveenkanaal werden sla en (kamer)planten gekweekt in kassen. Stroomopwaarts van het bovenstroomse meetpunt in de Kikvorsbeek werd witlof geteeld. Verder stroomafwaarts richting de instroom van de Kikvorsbeek in de Rijnbeek lag een chrysanten- en een kamerplantenkwekerij. Naast het bovenstroomse monsterpunt in de Genraaijbeek werd radijs in kassen geteeld. Verder stroomsafwaarts, tenslotte, werden tomaten en kamerplanten gekweekt.

3.4 Beschrijving van de onderzoeksbeken

Belangrijke en opvallende kenmerken, van de onderzoeksbeken waar macrofaunamonsters zijn genomen, worden beschreven. De veldformulieren zijn terug te vinden in bijlage 2.

- Kikvorsbeek, bovenstrooms (OKIKV100)

Het water in de 0,5 meter brede beek was in mei helder/roodkleurig (figuur 6) en in november grijs van kleur (grijze troebeling bezonk niet na monsternamen). Dit beekdeel is semi-temporair waterhoudend. De stroming was nihil, de bodem met slib bedekt en waterplanten ontbraken. Er is geen kwelindicatie.

- Kikvorsbeek, benedenstrooms (OKIKV900)

Het water in de 0,5 meter brede beek was helder. Dit beekdeel is semi-permanent waterhoudend. De stroming was nihil, het substraat schoon (zand) en er groeiden emerse waterplanten en algen/draadwieren in de beek. Er is kwelindicatie in de vorm van een bacterie/diatomeeënvlies.

- 2^e zijtak Middendijkveenkanaal (OZTMD800)

Het water in de 1,5 meter brede beek was helder. Dit beekdeel is semi-permanent waterhoudend. Het water stroomde met een snelheid van ongeveer 5 cm/s. De bodem was met slib en ijzeroker bedekt. De waterlaag werd deels bedekt door met name algen/draadwieren en emerse waterplanten. De beek is gelegen aan een bosrand, waardoor bladinvall en beschaduwing op kan treden. Er is kwelindicatie in de vorm van ijzervlokken.



Figuur 6: foto van het water in de Kikvorsbeek, bovenstrooms op 28 mei.
Foto: M. Lamberigts

▪ Middendijkveenkanaal, benedenstrooms (OMDVK900)

Het water in de 3 meter brede beek was groengeel van kleur in mei en helder in november. Dit beekdeel is permanent waterhoudend. De stroomsnelheid was ongeveer 10 cm/s. Het substraat was schoon (zand) en er bevonden zich enkele waterplanten in de beek. Er is geen kwelindicatie.

▪ Genraaijbeek, bovenstrooms (OGENR100)

Het water in de 0,5 meter brede beek was helder. Dit beekdeel is semi-permanent waterhoudend. De stroomsnelheid was ongeveer 5 cm/s. Het substraat was schoon (zand) en er groeiden emerse waterplanten in de beek. Er is geen kwelindicatie. De beek onder andere gevoed met (door een stuwwal) gefilterd regenwater.

▪ Genraaijbeek, benedenstrooms (OGENR900)

Het water in de 1,5 meter brede beek was helder. Dit beekdeel is permanent waterhoudend en het water stroomt met een snelheid van ongeveer 10 cm/s. De bodem was met ijzeroker bedekt en er groeiden enkele emerse waterplanten in de beek. Er is kwelindicatie in de vorm van ijzervlokken.

3.5 Cenotypen: de huidige situatie en streefbeelden

In het project 'Waterstreefbeelden en watersysteemverkenningen Limburg' (Verdonschot et al., 2000) zijn op basis van biotische en abiotische omstandigheden streefbeelden ontwikkeld voor onder andere de Rijnbeek. Deze streefbeelden dienen als referentiekader voor het toekomstig (provinciaal) waterhuishoudkundig beleid en zijn richtinggevend voor de toekomstige beheersplannen van de waterschappen. Er wordt gestreefd naar een ecologische optimalisering. Bepalend zijn de potenties van het watersysteem en het duurzame gebruik. De actuele situatie in de Rijnbeek is vastgesteld op basis van monsters in de Rijnbeek in Venlo. De Rijnbeek wordt momenteel getypeerd als cenotype Gc: een genormaliseerde beek met het gemeenschapstype van de rode kieuwvedermug en de rode roofvedermug (beiden Chironomidae). Deze gemeenschap wordt vooral aangetroffen in boven- en middenlopen van laaglandbeken. Het biotoop wordt gekenmerkt door smalle tot bredere, matig diepe tot diepe bovenlopen met een zwak verval en een matige stroming. De locaties zijn weinig begroeid, het water is zwak zuur tot neutraal, α -mesosaproob, α -meso-hypertroof en meso-ionisch van samenstelling. De lopen worden onderhouden en het peil kan fluctueren. Het substraat bestaat vooral uit slib en waterplanten. De gemeenschap is matig soortenrijk en individuenrijk. Dominant zijn vedermuggen en wormen (bijvoorbeeld Oligochaeta). Het betreft stromingsmijdende en indifferente bewoners van sediment (vooral gravers en spartelaars), detritivore filtreerders-schrapers uit een polysaproob milieu.

Het doel is om de Rijnbeek in de periode tot 2030 te (laten) ontwikkelen tot het cenotype LSb: een laaglandbeekbovenloop. Door middel van meandering, spontane ecologische processen, verbetering van de zuurstofhuishouding en een toename van de stroomsnelheid kan de natuurlijke ontwikkeling in de richting van het (streefbeeld-)cenotype worden gestimuleerd met als resultaat een meanderende, kronkelende en vaak volledig beschaduwde beek. Het substraat bestaat vooral uit zand en er zijn veel organische structuren. Het betreft een β -mesosaproob, matig voedselrijk milieu met een diverse faunagemeenschap, vooral levend op vaste substraten. Veel soorten zijn rheofiel. Het betreft vooral detritivoren, detri-herbivoren, carnivoren en omnivoren. Belangrijke groepen zijn wormen, kreeftachtigen (bijvoorbeeld Amphipoda), vedermuggen (Chironomidae), vliegenlarven en kokerjuffers (Trichoptera).

Voor de zijtakken van de Rijnbeek zijn geen specifieke streefbeelden vastgelegd.

4. Toegepaste technieken

4.1 Monsternamen en -analyse oppervlaktewateren

Vanaf april 2001 zijn, gedurende zeven maanden, de onderzoeksbeken bemonsterd. Het oppervlaktewater is acht maal maandelijks bemonsterd, daarnaast zijn nog twee extra oppervlaktewatermonsters genomen aan het begin en het eind van de bioassays. Door het periodiek droogvallen van enkele beken is monsternamen niet maandelijks mogelijk geweest (tabel 1). In mei zijn geen monsters genomen. Het analysepakket van deze monsters is weergegeven in het bijlage 3. De geanalyseerde bestrijdingsmiddelen (detectiegrenzen en MTR's) zijn terug te vinden in bijlage 4.

Tabel 1: Overzicht van de data, in 2001, waarop wel (+) of geen (-) oppervlaktewatermonsters zijn genomen in de onderzoeksbeken in het stroomgebied van de Rijnbeek.

datum	OKIKV100	OKIKV900	OZTMD800	OMDVK900	OGENR100	OGENR900
23 april	+	+	+	+	+	+
15 juni	+	-	+	+	+	+
26 juli	-	-	+	+	+	+
16 augustus	+	-	-	+	-	+
17 september	-	-	+	+	+	+
3 oktober	+	+	+	+	+	+
12 oktober	-	-	+	+	+	+
29 oktober	+	+	+	+	+	+
20 november	+	+	+	+	+	+
28 november	+	+	+	+	+	+
Totaal aantal monsters	7	5	9	10	9	10

De analyses van de monsters zijn uitgevoerd door analisten in het laboratorium van het Zuiveringschap Limburg. De analyses zijn uitgevoerd zoals beschreven in 'Laboratoriumonderzoek, Methoden en Tarieven 2001' (Zuiveringschap Limburg, 2000).

De geanalyseerde parameters zijn getoetst aan het MTR en de streefwaarde indien in de Vierde Nota Waterhuishouding normen voor de betreffende stof zijn vastgesteld. De concentraties zijn gecorrigeerd voor het zwevende-stofgehalte. Van deze opgeloste concentraties is de 90-percentiel waarde getoetst aan het MTR met behulp van iBever 2.3 (Rijkswaterstaat, 2001). Omdat de zwevende-stofgehalten van april tot november 2001 ontbraken is een gemiddelde waarde bepaald op basis van eerdere monsters (vanaf 1997) in de beken. De ondergrens voor het zwevende-stofgehalte is vastgesteld op 10 mg/l. Dit houdt in dat bij een gemeten zwevende-stofgehalte van minder dan 10 mg/l voor standaardisatie 10 mg/l werd gebruikt. De ingevoerde zwevende-stofgehalten waren als volgt: OKIKV100, 54 mg/l (n=2); OKIKV900, 12 mg/l (n=8); OZTMD800, 44 mg/l (n=2); OMDVK900, 10 mg/l (n=14); OGENR100, 22,5 mg/l (n=2) en OGENR900, 10 mg/l (n=14). Het zwevende-stofgehalte van de monsters die in november zijn genomen in de Rijnbeek was wel bepaald. De monsters uit de Rijnbeek van 20 november zijn daarnaast geanalyseerd op zowel zware metalen als bestrijdingsmiddelen. Het monster van 28 november is alleen geanalyseerd op bestrijdingsmiddelen.

4.2 Macrofaunamonstername

Op 28 mei 2001 zijn met een standaardnet macrofaunamonsters genomen in de onderzoeksbeken. Voor de bemonsteringslengte geldt als richtlijn 5 meter. Elk substraattypen (inclusief vegetatie) is, min of meer naar verhouding van voorkomen, bemonsterd door schoksgewijs met het net door het water, bodem en/of vegetatie te bewegen (tegen de stroomrichting van het water in). Het standaardnet heeft een rechthoekige opening van 30 x 18 cm met een diepte van ca. 45 cm. De maaswijdte van de netstof is 0,5 mm. De macrofauna is gedetermineerd en de verschillende organismen zijn geteld. Tijdens de macrofaunamonsternamen zijn tevens veldformulieren ingevuld met betrekking tot de morfologie van de beek. De gegevens van deze veldformulieren zijn terug te vinden in bijlage 2.

4.3 Veldbioassays met *Daphnia magna*

Daphnia magna als modelorganisme

De watervlo (*Daphnia magna*, bijlage 5) staat in deze toets model voor alle kreeftachtigen. Het is aanmerkelijk dat ook vlokreeften, glaskreeften, eenoogjes, waterpissebedden en krabben nadelige gevolgen van hoge concentraties bestrijdingsmiddelen zullen ondervinden (De Geus - Van der Eijk, 1997).

Onderbouwing inzet bioassay

Alvorens de bioassays zijn ingezet is eerst nagegaan of er überhaupt wel successen (verschillen in sterfte en overleving van de *Daphnia*'s als gevolg van een verschil in belasting door bestrijdingsmiddelen) te verwachten zijn met de methode in het betreffende onderzoeksgebied. Het verwachte succes van de inzet van veldbioassays is gebaseerd op de volgende bevindingen (bijlage 6):

- Eerdere metingen door het Zuiveringschap Limburg gaven de indruk dat belaste beken over een minder diverse macrofaunasamenstelling beschikten dan de minder belaste beek.
- De concentraties van bestrijdingsmiddelen overschreden de normen uit de 4^e Nota waterhuishouding bij eerder onderzoek.
- Uit eerder onderzoek is gebleken dat er ook bestrijdingsmiddelen kunnen worden aangetroffen buiten de piekperiodes (mei, juni en juli) zoals in het najaar. Het najaar is niet ideaal voor de uitvoering van bioassays (wat betreft het percentage detecteerbare bestrijdingsmiddelen boven de detectielimiet) maar wel geschikter dan de maanden januari, februari of maart. In verband met de stageperiode was het slechts mogelijk de bioassays in november uit te voeren.

Onderzoekslocaties voor het uitvoeren van de bioassay

Op de onderstaande locaties zijn op 20 november 2001 de bioassays ingezet (met bijbehorende monstercodes):

- Referentie: Genraaijbeek
 - 1. Bovenstrooms..... OGENR100
 - 2. Benedenstrooms (instroom Rijnbeek)..... OGENR900
- Belaste locatie: Middendijkveenkanaal
 - 1. Bovenstrooms (2^e zijtak)..... OZTMD800
 - 2. Benedenstrooms (instroom Rijnbeek)..... OMDVK900
- Belaste locatie: Kikvorsbeek
 - 1. Bovenstrooms..... OKIKV100

- 2. Benedenstrooms (instroom Rijnbeek).....OKIKV900
 - Rijnbeek
 - 1. Rijnbeek grens (voor instroom kassengebied)ORIJN090
 - 2. Rijnbeek bij instroom Mooijbeek (in kassengebied)..... ORIJN200
 - 3. Rijnbeek nabij instroom Genraaijbeek (na kassengebied)..... ORIJN400

De beschrijvingen, foto's en coördinaten van de onderzoekslocatie zijn terug te vinden in bijlage 1.

Omstandigheden waaronder de bioassay zinvol kan worden uitgevoerd

Onderstaande fysisch-chemische parameters vormen de voorwaarden waaronder de bioassays uitgevoerd dienen te worden (De Jong *et al.*, 2000):

1. Temperatuur > 6 °C (periode: ± april – november)
2. Waterdiepte > 25 cm.
3. $[O_2] > 3 \text{ mg/l}$
4. pH 6-9
5. $[NO_2^-] < 6 \text{ mg/l}$
6. $[NH_4^+] < 30 \text{ mg/l}$
7. $[NH_3] < 1,2 \text{ mg/l}$
8. $[Cl^-] < 0,5 \text{ g/l}$
9. Geleidbaarheid >10 en <1700 $\mu\text{S/mm}$
10. Saliniteit < 1 promille

De meest kritische voorwaarden zijn het zuurstofgehalte en de temperatuur. Bij overschrijding van één van deze randvoorwaarden zijn de resultaten van de tests in principe onbruikbaar (Wiegman, 2001).

Opzet experiment

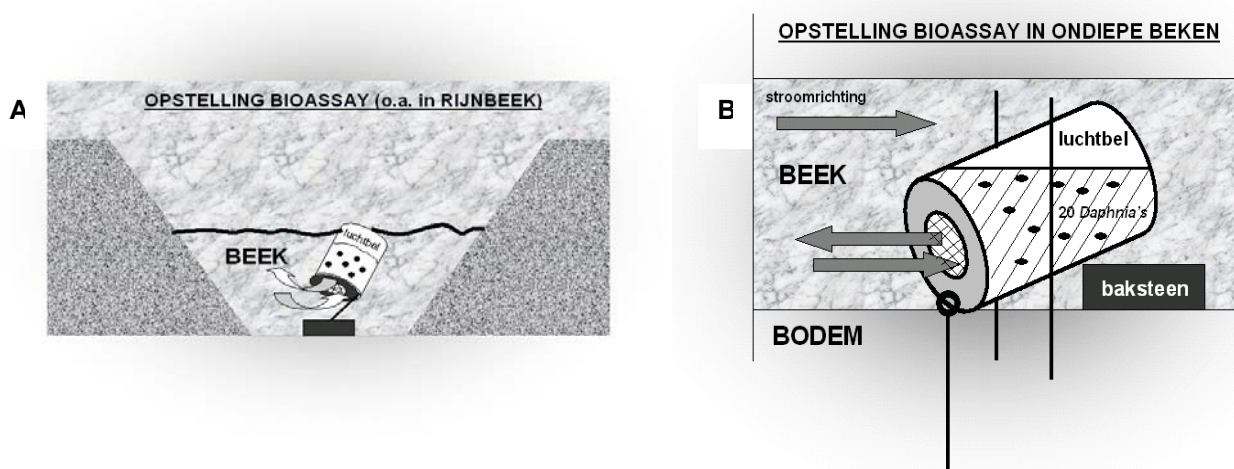
Het experiment is volgens onderstaande richtlijnen uitgevoerd:

- 2 potten ingezet per monsterpunt (De Geus - Van der Eijk, 1998): 4 per beek: 2 boven- en 2 benedenstrooms.
- Gebruik van watervlooien uit een gestandaardiseerde kweek van *Daphnia magna* bij Aqua-Sense: vrouwtjes van 10 dagen oud (Gorter & Mangelaars, 1994).
- Gebruik van glazen potten (700 ml) met een van gaas voorzien deksel (maaswijdte 300 μm). Het gaas is aan de buitenrand (ca. 1 cm) voorzien van een laagje siliconenkit (van te voren enkele dagen in het water gelegd om chemische middelen uit de kit op te laten lossen). De siliconenkit zorgt ervoor dat het gaas vast op de pot zit na het aandraaien van de deksel (figuur 7).
- Op het monsterpunt de pot voor 2/3 vullen met gebiedseigen oppervlaktewater (1/3 lucht voor voldoende zuurstof en drijfvermogen). Het vullen gebeurt door het gaasdeksel heen om te voorkomen dat er ongewenst zooplankton in de pot terechtkomt (De Geus - Van der Eijk, 1997).
- 20 watervlooien vanuit kweekmedium in de pot brengen met een glazen zuigpipet (Gorter & Mangelaars, 1994).
- De potten met ijzerdraad aan een netje stenen vastmaken (figuur 8a) of met een stok schuin in de bodem prikken (figuur 8b).
- De pot omgekeerd in het water hangen.



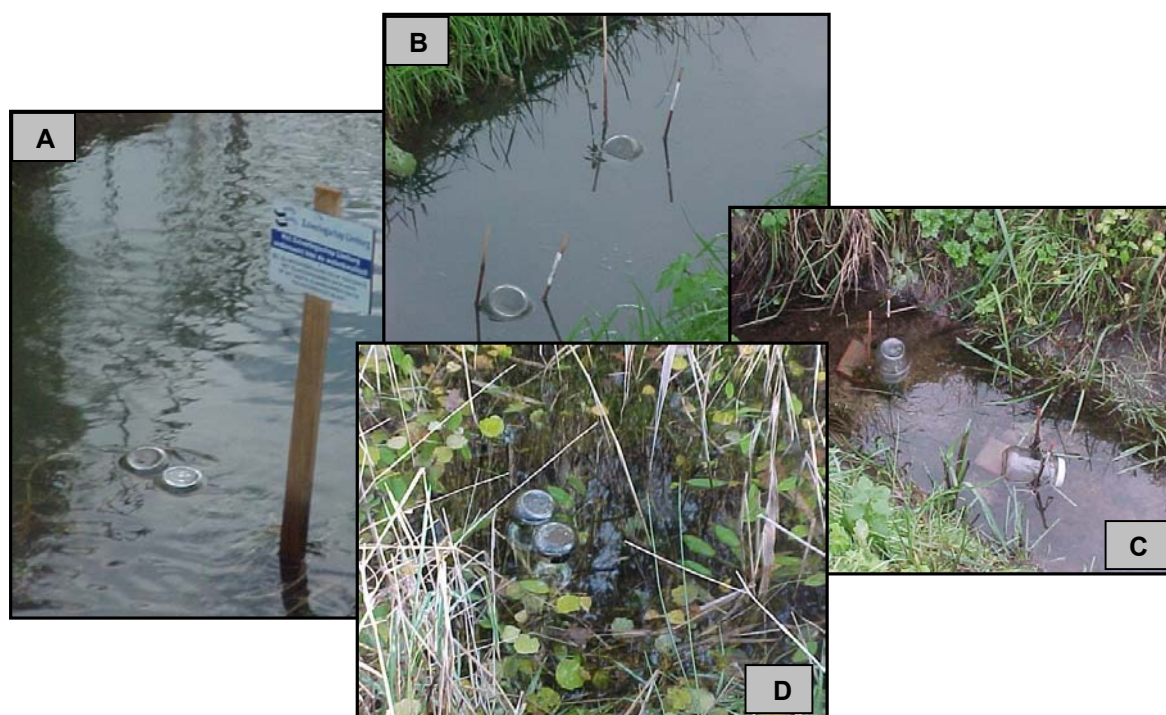
Figuur 7:
Monsterpot met een van
gaas voorzien deksel
voor de bioassays.

- Na 8 dagen zijn de potten opgehaald.



Figuur 8 A: Schematische weergave van de uitvoering van de watervlooiëntoets in diepere beken (net).
B: Schematische weergave van de uitvoering van de watervlooiëntoets in ondiepere beken (los).

In figuur 9 zijn foto's weergegeven van de ingezette bioassays. Figuur 9a en 9d zijn ingezet zoals weergegeven in figuur 8a. Figuur 9b en 9c zijn ingezet zoals weergegeven in figuur 8b.



Figuur 9 A t/m D: Foto's van de bioassays op diverse locaties in het stroomgebied van de Rijnbeek :

A: Middendijkveenkanaal, instroom Rijnbeek

B: Kikvorsbeek, bovenstrooms

C: Kikvorsbeek, instroom Rijnbeek

D: Middendijkveenkanaal, 2^e zijtak

Op de verschillende onderzoekslocaties zijn de bioassays op twee verschillende manieren (figuur 8) ingezet:

Genraaijbeek	1. Bovenstrooms.....figuur 8 B
	2. Benedenstrooms..... figuur 8 A
Middendijkveenkanaal	1. Bovenstrooms.....figuur 8 A
	2. Benedenstrooms..... figuur 8 A
Kikvorsbeek	1. Bovenstrooms.....figuur 8 B
	2. Benedenstrooms.....figuur 8 B
Rijnbeek	1. Rijnbeek grens.....figuur 8 B
	2. Rijnbeek Mooijweg.....figuur 8 A
	3. Rijnbeek Nieuwe Rijnstraat...figuur 8 A

Watervlooien

De watervlooien (*Daphnia magna*, bijlage 5) werden door AquaSense in het laboratorium onder gestandaardiseerde omstandigheden gekweekt in Elendt M4-medium (20 + 1°C, 16 uur licht en 8 uur donker, en dagelijks voeren met een groenalg-suspensie). Dit is ook het medium waarin de watervlooien werden getransporteerd. De geleverde watervlooien waren afkomstig van ouderdieren van tenminste 14 dagen oud (= derde broedsel). De watervlooien waren bij aanlevering exact 9 dagen oud. Ze zijn tot de volgende dag in leven gehouden door het aangeleverde transportvaatje bij kamertemperatuur ($\pm 20^{\circ}\text{C}$) voorzichtig te doorborrelen met (pers)lucht.

Chemische analyses

Op dag 1 en dag 8 zijn watermonsters genomen (figuur 10). De monsters die genomen zijn tijdens het inzetten van de proeven (dag 1) werden geanalyseerd op algemene parameters, zwevendestofgehalte, zware metalen en bestrijdingsmiddelen. De zware metalen analyse is bij de monsters van dag 8 niet meer uitgevoerd. Tevens zijn in het veld op dag 1 en dag 8 de pH, temperatuur, zuurstofgehalte, -verzadigingspercentage en het geleidingsvermogen bepaald. Tijdens het ophalen van de potten zijn deze parameters ook in de bioassaypotten bepaald.



Figuur 10:
Links: het vullen van de monsterflessen voor fysisch/chemische analyses.
Boven: metingen in de monsterpotten aan het einde van het experiment.

Analyses einde experiment

Na één week is gekeken naar:

- overleving: Hoeveel van de 20 watervlooien leven nog?
- activiteit: 'Normaal' bewegend/actief = +++
'Nauwelijks' bewegend' = ++
'Niet actief, op de bodem' = +
- aanwezigheid van jonge *Daphnia*'s (< 10 – 18 dagen)

Tevens is de mate van beschimmeling van de dode *Daphnia*'s genoteerd. Dit is een indicatie voor het vroeg of laat sterven van de *Daphnia*'s.

Interpretatie van de gegevens

De toets is in principe ongeldig wanneer bij de watervlooiën in de referentie gemiddeld meer dan 30% sterfte optreedt. Monsterpunten waar duidelijke verstoring heeft plaatsgevonden worden niet meegenomen. Ook monsterpunten waar fysisch chemische parameters niet binnen de vermelde grenzen liggen worden niet meegenomen (De Jong *et al.*, 2000).

4.4 Combi-PAF

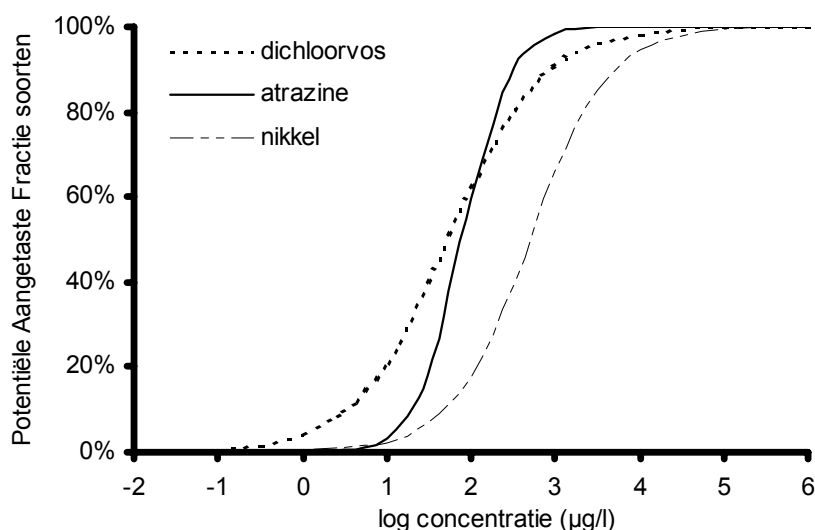
Om de toxische druk van verschillende stoffen in één getal uit te kunnen drukken is besloten op basis van zowel de concentraties zware metalen en bestrijdingsmiddelen als ecotoxicologische gegevens een PAF-waarde te berekenen: de Potentiële Aangetaste Fractie soorten. Deze waarde geeft, naast de traditionele toetsing van concentraties van toxische stoffen aan normen, informatie over potentiële gevolgen van blootstelling van planten en dieren aan een combinatie van toxische stoffen.

De PAF-curve voor een individuele stof is gebaseerd op een cumulatieve logistische functie (formule 1, Hamers *et al.*, 1996). Twee coëfficiënten bepalen de vorm en de ligging van deze curve. De α legt de 'mediane' waarde van de verdeling vast en de β is een maat voor de spreiding.

$$(1) \quad \text{PAF}_{(x)} = \frac{1}{1 + \exp(-(x-\alpha)/\beta)}$$

waarbij: $x = \log C_{\text{opgelost}} (\mu\text{g/l})$

De $\alpha_{\text{chronisch}}$ en $\beta_{\text{chronisch}}$ (formule 2 en 3) worden bepaald op basis van de beschikbare chronische toxiciteitsgegevens, de NOEC's (Hamers *et al.*, 1996). De NOEC's zijn verkregen uit laboratoriumex-



Figuur 11: Voorbeeld van een cumulatieve logistische PAF-curve voor dichloorvos ($\alpha = 1,73$, $\beta = 1,00$), atrazine ($\alpha = 1,90$, $\beta = 0,48$) en nikkel ($\alpha = 2,70$, $\beta = 0,83$).

perimenten met soorten uit verschillende taxa. De NOEC's hebben betrekking op onder andere reproductie, groei, overleving en fotosynthese en zijn afkomstig uit een RIVM-rapport van Crommentuijn *et al.* (1997).

In een PAF-curve op basis van chronische toxiciteitsgegevens, is op de y-as het percentage van het aantal soorten af te lezen waarvan de NOEC wordt overschreden. (figuur 11). De meest gevoelige soorten worden als eerste aangetast en hebben betrekking op het begin (onderste deel) van de curve. De minder gevoelige soorten worden pas aangetast bij hogere concentraties van de toxische stof en hebben betrekking op het eind (bovenste deel) van de curve.

$$(2) \quad \alpha_{\text{chronisch}} = \overline{\log(\text{NOEC's})}$$

$$(3) \quad \beta_{\text{chronisch}} = \frac{SD_{\text{NOEC's}} \cdot \sqrt{3}}{\pi}$$

Wanneer minder dan vijf NOEC's beschikbaar zijn, is gebruik gemaakt van acute toxiciteitsgegevens (LC_{50} 's). Dit was het geval bij de stoffen chloorthalonil, dichlobenil, mevinfos en pirimicarb. De LC_{50} gegevens zijn afkomstig uit de database van De Zwart (2002). De NOEC's zijn gemiddeld een factor 10 lager dan de LC_{50} 's (Chapman *et al.*, 1998). Dit geldt ook voor de waarde van $\alpha_{\text{chronisch}}$ (op basis van chronische toxiciteitsgegevens). Deze waarde ligt dus eveneens een factor 10 lager dan de waarde voor α_{acuut} (op basis van acute toxiciteitsgegevens). De maat voor de spreiding van de cumulatieve logistische curve (β) blijft hetzelfde. In dit geval worden formule 4 en 5 toegepast.

$$(4) \quad \alpha_{\text{chronisch}} = \alpha_{\text{acuut}} - 1$$

$$(5) \quad \beta_{\text{acuut}} = \frac{SD_{LC_{50}'s} \cdot \sqrt{3}}{\pi} \quad \text{waarbij geldt: } \beta_{\text{chronisch}} = \beta_{\text{acuut}}$$

De gemeten concentraties aan zware metalen en bestrijdingsmiddelen zijn totale concentraties. Voor de berekening van PAF-waarden zijn opgeloste concentraties nodig. Dit is de concentratie van een stof die biologisch beschikbaar is, en dus niet is gebonden aan het zwevende stof. De correctie vindt plaats volgens formule 6 en 7.

$$(6) \quad F_{\text{opgelost}} = \frac{1}{1 + K_p \cdot ZS}$$

waarbij: K_p = Partiticoëfficiënt *
 ZS = Zwevend stof gehalte (mg/l)

$$(7) \quad C_{\text{opgelost}} = C_{\text{totaal}} \cdot F_{\text{opgelost}}$$

*Stuurgroep Integrale Normstelling Stoffen, 1999

Van de zes monsters die genomen zijn in de Rijnbeek (ORIJN090, ORIJN200 en ORIJN400) is het zwevende-stofgehalte bekend. De concentraties zware metalen zijn alleen bepaald op 20 november. Bij de berekening van de PAF-waarde zijn deze concentraties eveneens ingevoerd op 28 november. De bestrijdingsmiddelen zijn wel op 20 en 28 november geanalyseerd. De opgeloste fractie van de aangetroffen bestrijdingsmiddelen is echter 1.00. Dit houdt in dat het zwevende-stofgehalte niet van invloed is op de opgeloste concentraties omdat de bestrijdingsmiddelen vrijwel niet binden aan zwevend stof. Omdat het zwevende-stofgehalte in dit geval alleen van invloed is op de opgeloste concentraties zware metalen (bepaald op 20 november) en niet op de bestrijdingsmiddelenconcentraties is besloten het zwevende-stofgehalte van monsters van 20 november ook op 28 november in te voeren. De bepaling van de zwevende-stofgehalten in de overige beken is beschreven in paragraaf 4.1.

Allereerst is met behulp van de hierboven beschreven formules 1 tot en met 7 een PAF-waarde berekend voor alle afzonderlijke concentraties van de geanalyseerde zware metalen en bestrijdingsmiddelen. Omdat meerdere zware metalen en bestrijdingsmiddelen in de beken zijn aangetroffen is een totale PAF-waarde berekend: de combi-PAF. Aangenomen wordt dat combinaties van stoffen, met uitzondering van narcotiserende stoffen (Verhaar *et al.*, 1992), werken volgens het principe van effect-additie, ook wel respons-additie genoemd. Het principe van effect-additie is gebaseerd op de volgende aannames (Hamers *et al.*, 1996):

- De diverse stoffen hebben een verschillend werkingsmechanisme;
- Er vindt geen interactie plaats tussen de verschillende stoffen;
- De tolerantie-correlatie is nul. Dit betekent dat er geen relatie bestaat tussen de gevoeligheid van een soort voor de verschillende stoffen. Dit mag als een 'worst case' scenario worden beschouwd.

Met behulp van formule 8 kan volgens effect additie een combi-PAF (PAF_{tot}) worden berekend (Hamers *et al.*, 1996).

$$(8) \quad PAF_{tot} = 1 - \pi (1 - PAF_x)$$

$$= 1 - (1 - PAF_1) \cdot (1 - PAF_2) \cdot \dots \cdot (1 - PAF_N)$$

Na correctie voor de natuurlijke achtergrondconcentraties in zoet water (PAF_{nat} , formule 9, Crommentuijn *et al.*, 1997) is de uiteindelijke PAF bekend die wordt veroorzaakt door antropogene verontreinigingen (PAF_{antr}). De achtergrond concentraties worden verondersteld aan de organismen voldoende van de benodigde essentiële metalen te kunnen leveren.

$$(9) \quad PAF_{antr} = \frac{PAF_{tot} - PAF_{nat}}{1 - PAF_{nat}}$$

4.5 Statistische analyses

TWINSpan

Met behulp van een 'Two Way Indicator Species Analysis' zijn de monsterpunten van elkaar gescheiden of geclusterd op basis van verschillen of overeenkomsten in de (karakteristieke) macrofaunasoortensamenstelling. Naast een kwalitatieve analyse heeft er ook een kwantitatieve analyse plaatsgevonden op basis van de pseudospecies, gebaseerd op de abundanties van de soorten. Het aantal pseudospecies is weergegeven in 'cut-levels' (grenswaarden). De zes ingevoerde 'cut-levels' (1,3,5,10,25,100) leidden tot zeven abundantiegroepen: 0-1 ; 2-3 ; 4-5 ; 6-10 ; 11-25 ; 26-100 en > 100.

CANOCO

Met behulp van CANOCO is de correlatie onderzocht tussen de variatie in macrofaunasoortensamenstelling en de variatie van de fysisch/chemische parameters. Allereerst is met behulp van de Detrended Canonical Analysis (DCA) bepaald of de gradiëntlengte unimodaal of lineair verdeeld was. Vervolgens is een indirecte 'Correspondence Analysis' (CA) en een directe 'Canonical Correspondence Analysis' (CCA) uitgevoerd. Bij de indirecte analyse zijn de macrofaunaopnamen eerst op grond van similariteit in soortensamenstelling gerangschikt. Vervolgens is deze rangschikking gecorreleerd aan de milieuvariabelen. Bij de directe analyse zijn de macrofaunaopnamen gerangschikt op basis van de gradiënt van milieuvariabelen. De variabelen zijn op deze manier direct gekoppeld aan de macrofaunasoortensamenstelling.

4.6 Bemonstering regenwaterbassins en bronputten

Op maandag 12 november is een onderzoek verricht naar mogelijke routes die bestrijdingsmiddelen kunnen afleggen om uiteindelijk in het oppervlaktewater terecht te komen. De onderstaande bedrijven zijn bemonsterd:

- Bedrijf van dhr. Henderickx (Koelderstraat 68, Venlo)
Het bedrijf is een paprikakwekerij met een teeltoppervlakte van 20.000 m². Er is alleen een grondwatermonster genomen uit een bronput met een diepte van 6 meter. Het regenwaterbassin was niet meer in gebruik.
- Gipmans BV Plantenkwekerij (Middenweg 103, Venlo)
Het bedrijf heeft een teeltoppervlakte van 60.000 m². Het grondwater is bemonsterd uit een bronput met een diepte van 60 meter. Tevens is een monster genomen in het regenwaterbassin, waarin regenwater en condenswater van het glasdek wordt opgevangen.
- Bedrijf van dhr. Keunen (Richardsweg 44, Venlo)
Het bedrijf is een gerberakwekerij met een teeltoppervlakte van 20.000 m². Het grondwater is bemonsterd uit een bronput met een diepte van 140 meter. Daarnaast is het regenwaterbassin bemonsterd.

De monsters zijn geanalyseerd op nitraat, nitriet, ammonium, ortho-fosfaat, sulfaat, chloride en de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen.

5. Fysisch/chemische resultaten

5.1 Algemene parameters

De analyseresultaten van de algemene parameters op de verschillende locaties zijn terug te vinden in bijlage 7 (CANOCO parameters: gemiddelden) en bijlage 8 (toetswaarden ten opzichte van 4^e Nota Waterhuishouding). De individuele meetwaarden zijn digitaal bijgevoegd. In onderstaande tabel 2 zijn enkele toetswaarden van fysisch/chemische parameters per locatie weergegeven.

Tabel 2: Overzicht van de toetswaarden (90-percentiel waarden, pH ondergrens is 10-percentiel waarde) van diverse algemene fysisch/chemische parameters. Het BZV is een gemiddelde waarde van april tot en met november. De kleur geeft aan of het MTR **rood** of **groen** wordt overschreden of **niet bepaald** is.

parameter	MTR	OGENR100	OGENR900	OZTMD800	OMDVK900	OKIKV100	OKIKV900
N (mg/l)	2,2	10,675	13,040	15,050	21,740	23,267	7,300
P (mg/l)	0,15	0,255	0,684	0,233	2,380	38,633	0,820
Cl ⁻ (mg/l)	200	44,0	20,0	47,0	46,0	98,0	25,0
SO ₄ ²⁻ (mg/l)	100	157,0	94,0	158,0	180,0	630,0	300,0
O ₂ (mg/l)	5,0	8,6	6,2	5,7	5,9	6,6	9,4
pH bovengrens	9,0	7,61	7,28	6,75	6,70	7,45	7,20
pH ondergrens	6,5	6,19	6,20	4,60	5,20	6,75	6,74
EGV ₂₀	nvt	296,7	355,8	540,3	600,9	993,0	461,6
BZV	mg O ₂ /l	1,36	0,27	1,38	1,16	6,74	3,13

Uit tabel 2 blijkt dat het water in het Middendijkveenkanaal vrij zuur is met een minimale pH van 4,6 (2^e zijtak, bovenstrooms) tot 5,2 (benedenstrooms). De maximale pH in alle wateren varieert van 6,7 in het benedenstroomse deel van het Middendijkveenkanaal tot 7,6 in het bovenstroomse deel van de Genraaijbeek. Het zuurstofgehalte in de beken varieert van 5,7 mg/l in de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal tot 9,4 mg/l in het benedenstroomse deel van de Kikvorsbeek. Uit de overige parameters blijkt onder andere dat de Kikvorsbeek bovenstrooms zowel het hoogste biochemisch zuurstof verbruik (BZV = 6,74 mg O₂/l) en geleidingsvermogen (EGV₂₀ = 993 µS/cm) als de hoogste stikstof- (zowel ammonium, nitriet als nitraat) en fosfaatbelasting heeft. De stikstof- en fosfaatbelasting in de Kikvorsbeek is benedenstrooms aanzienlijk lager. De Genraaijbeek is, zowel boven- als benedenstrooms, veel minder belast.

5.2 Bestrijdingsmiddelen

Van april tot en met november 2001 zijn maandelijks oppervlaktewatermonsters genomen in de verschillende onderzoeksbeken. De monsters zijn geanalyseerd op een set van 26 bestrijdingsmiddelen. De geanalyseerde bestrijdingsmiddelen zijn weergegeven in bijlage 4. Tevens is de functie van het betreffende bestrijdingsmiddel, de detectiegrens en het MTR vermeld. De concentraties van de bestrijdingsmiddelen op de verschillende locaties zijn weergegeven in tabel 3. Tevens is de waarschijnlijke herkomst (glastuinbouw of akkerbouw) van het bestrijdingsmiddel aangegeven (Zuiveringschap Limburg, 1999 ; Asselbergs *et al.*, 1996). Andere bestrijdingsmiddelen werden niet of niet boven de detectiegrens aangetroffen.

Tabel 3: Overzicht van het MTR en de (totale) bestrijdingsmiddelenconcentraties op verschillende data in de beken. De arcering van de bestrijdingsmiddelen geeft aan of de betreffende stof waarschijnlijk uit de **glastuinbouw** of de **landbouw** afkomstig is. Van de niet gearceerde bestrijdingsmiddelen is de herkomst onbekend.

locatie	datum	stof	werking	concentratie	MTR	eenheid	factor MTR-overschrijding
OGENR100	20-11-2001	parathion-ethyl	insecticide	100	2	ng/l	50
OGENR900	15-6-2001	atrazine	herbicide	20	2900	ng/l	<1
OGENR900	28-11-2001	parathion-ethyl	insecticide	110	2	ng/l	55
OKIKV100	16-8-2001	simazine	insecticide	110	140	ng/l	<1
OKIKV100	28-11-2001	dichloorvos	insecticide	580	0,7	ng/l	829
OKIKV900	23-4-2001	parathion-ethyl	insecticide	200	2	ng/l	100
OKIKV900	3-10-2001	chloorthalonil	fungicide	0,04	0,2*	µg/l	<1
OKIKV900	28-11-2001	mevinfos	insecticide	50	2	ng/l	25
OKIKV900	28-11-2001	parathion-ethyl	insecticide	140	2	ng/l	70
OZTMD800	16-6-2001	atrazine	herbicide	30	2900	ng/l	<1
OZTMD800	26-7-2001	atrazine	herbicide	30	2900	ng/l	<1
OZTMD800	12-10-2001	atrazine	herbicide	30	2900	ng/l	<1
OZTMD800	29-10-2001	atrazine	herbicide	30	2900	ng/l	<1
OZTMD800	20-11-2001	atrazine	herbicide	30	2900	ng/l	<1
OZTMD800	28-11-2001	atrazine	herbicide	30	2900	ng/l	<1
OMDVK900	15-6-2001	atrazine	herbicide	60	2900	ng/l	<1
OMDVK900	15-6-2001	pirimicarb	insecticide	0,03	0,09	µg/l	<1
OMDVK900	26-7-2001	simazine	insecticide	50	140	ng/l	<1
OMDVK900	17-9-2001	atrazine	herbicide	30	2900	ng/l	<1
OMDVK900	29-10-2001	parathion-ethyl	insecticide	50	2	ng/l	25
OMDVK900	28-11-2001	pirimicarb	insecticide	0,06	0,09	µg/l	<1
ORIJN200	28-11-2001	dichlobenil	herbicide	0,03	3,7*	µg/l	<1
ORIJN200	28-11-2001	pirimicarb	insecticide	0,12	0,09	µg/l	1,3
ORIJN400	28-11-2001	chlorigazon	herbicide	0,41	73	µg/l	<1
ORIJN400	28-11-2001	pirimicarb	insecticide	0,24	0,09	µg/l	2,7

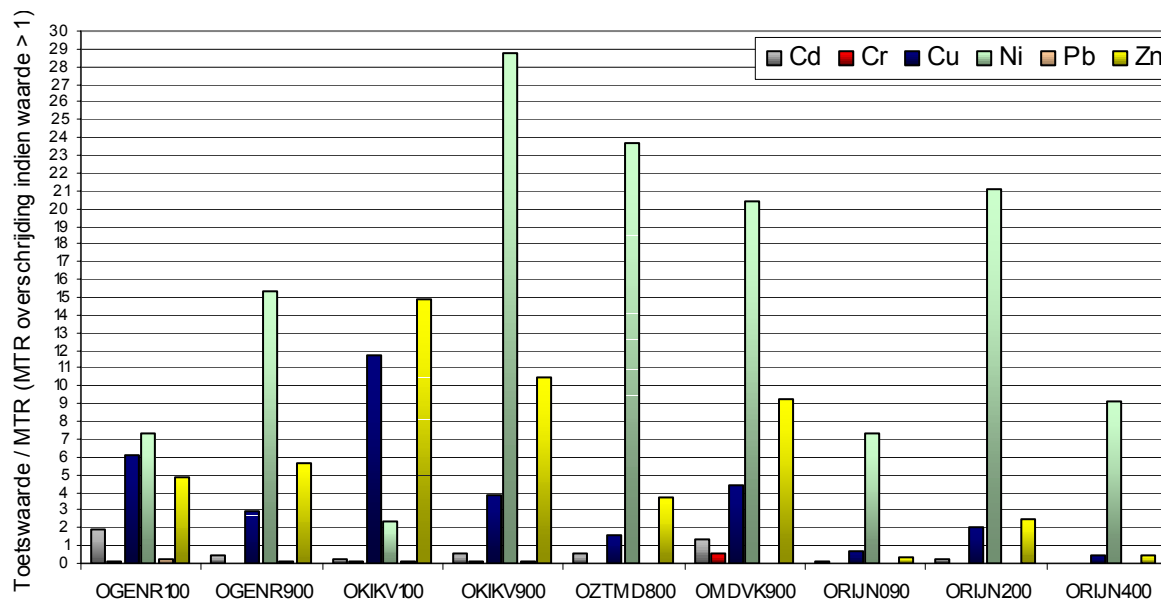
* Voorlopige normen volgens het RIVM, nog niet opgenomen in de 4^e Nota Waterhuishouding (WWW7).

In de bemonsterde beken zijn negen verschillende bestrijdingsmiddelen aangetroffen waarvan vijf insecticiden, drie herbiciden en één fungicide. Pirimicarb (ORIJN200 & ORIJN400), dichloorvos (OKIKV100), mevinfos (OKIKV900) en parathion-ethyl (OGENR900, OKIKV900 & OMDVK900) overschreden het MTR. Deze bestrijdingsmiddelen zijn allemaal insecticiden die waarschijnlijk afkomstig zijn uit de glastuinbouw. De landbouwbestrijdingsmiddelen (bijvoorbeeld atrazine en simazine) over-

schrijden het MTR niet. De 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal is alleen belast met atrazine: een herbicide dat vooral in de maïsteelt wordt gebruikt (Asselbergs *et al.*, 1996). Meer informatie over de aangetroffen bestrijdingsmiddelen is terug te vinden in bijlage 9.

5.3 Zware metalen

Uit de toetsresultaten (bijlage 8) blijkt dat naast bestrijdingsmiddelen ook zware metalen het MTR overschrijden. De MTR's voor de geanalyseerde zware metalen staan vermeld in tabel 4. De verhouding tussen de toetswaarden en de MTR's zijn weergegeven in figuur 12.



Figuur 12: Overzicht van de relatieve gehalten aan zware metalen (toetswaarden) op de verschillende onderzoekslocaties. Wanneer het relatief gehalte groter is dan 1 wordt het MTR overschreden.

Tabel 4: MTR voor totale concentraties zware metalen (Ministerie van Verkeer en Waterstaat, 1998).

stof		MTR totaal (µg/l)
Cadmium	Cd	2
Koper	Cu	3,8
Nikkel	Ni	6,3
Lood	Pb	220
Zink	Zn	40
Chroom	Cr	84

28,7 (OKIKV900). Zink en koperconcentraties zijn, met uitzondering van het middenstroomse deel van de Rijnbeek, alleen in de zijtakken van de Rijnbeek in normoverschrijdende concentraties aangetroffen. Opvallend is de relatief hoge zink- (14,9 x MTR) en koperbelasting (11,7 x MTR) bovenstrooms in de Kikvorsbeek.

Uit figuur 12 is af te leiden dat in alle beken minimaal één normoverschrijding van zware metalen plaats heeft gevonden. Met name de concentraties zink, nikkel en koper overschreden het MTR met een maximum van bijna 29 keer. Cadmium werd alleen bovenstrooms in de Genraaijbeek (1,9 x MTR) en benedenstrooms in het Middendijkveenkanaal (1,4 x MTR) in normoverschrijdende concentraties aangetroffen. Lood- en chroomconcentraties overschreden het MTR niet. Nikkelconcentraties overschreden in alle bemonsterde beken het MTR, variërend van factor 2,3 (OKIKV100) tot factor

5.4 Combi-PAF

De concentraties zware metalen en bestrijdingsmiddelen en ecotoxicologische gegevens zijn gebruikt om een combi-PAF te berekenen (paragraaf 4.4). Deze PAF-waarde (de Potentiële Aangetaste Fractie soorten) geeft, naast de traditionele toetsing van concentraties van toxische stoffen aan normen, informatie over de potentiële gevolgen van blootstelling van planten en dieren aan een combinatie van toxische stoffen. Een combi-PAF-waarde van bijvoorbeeld 0,4 wil zeggen dat op basis van de concentraties bestrijdingsmiddelen en/of zware metalen 40% van de (potentiële) soorten wordt aangetast. De combi-PAF is bepaald voor de combinatie van alle gedetecteerde zware metalen en bestrijdingsmiddelen. Daarnaast is een combi-PAF bepaald voor de zware metalen en bestrijdingsmiddelen afzonderlijk. De combi-PAF-waarden zijn weergegeven in tabel 5a t/m c.

Tabel 5: Overzicht van de combi-PAF-waarden op verschillende tijdstippen op de verschillende locaties (de grijs gearceerde cellen zijn tijdstippen waarop geen monsters zijn genomen).

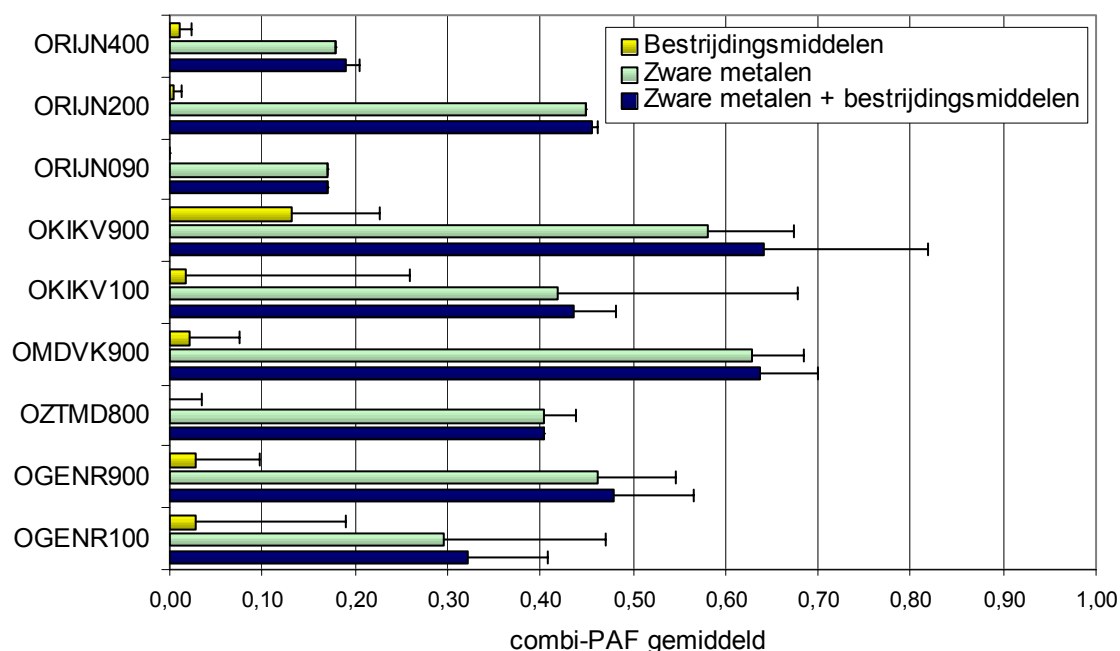
a: combi-PAF-waarden van zware metalen en bestrijdingsmiddelen;

b: combi-PAF-waarden van zware metalen;

c: combi-PAF-waarden van bestrijdingsmiddelen.

a											
locatie	23-4-2001	15-6-2001	26-7-2001	16-8-2001	17-9-2001	3-10-2001	12-10-2001	29-10-2001	20-11-2001	28-11-2001	gemiddeld
OGENR100	0,17	0,63	0,24		0,51	0,30	0,33	0,25	0,35	0,12	0,32
OGENR900	0,43	0,53	0,44	0,58	0,48	0,54	0,50	0,46	0,33	0,51	0,48
OZTMD800	0,43	0,39	0,40		0,48	0,41	0,39	0,40	0,37	0,37	0,40
OMDVK900	0,70	0,70	0,63	0,67	0,63	0,64	0,65	0,66	0,55	0,55	0,64
OKIKV100	0,28	0,66		0,51		0,39		0,82	0,14	0,25	0,44
OKIKV900	0,73					0,62		0,71	0,49	0,66	0,64
ORIJN090									0,17	0,17	0,17
ORIJN200									0,45	0,46	0,46
ORIJN400									0,18	0,20	0,19
b											
OGENR100	0,17	0,63	0,24		0,51	0,30	0,33	0,25	0,12	0,12	0,30
OGENR900	0,43	0,53	0,44	0,58	0,48	0,54	0,50	0,46	0,33	0,33	0,46
OZTMD800	0,43	0,39	0,40		0,48	0,41	0,39	0,40	0,37	0,37	0,40
OMDVK900	0,70	0,70	0,63	0,67	0,63	0,64	0,65	0,57	0,55	0,55	0,63
OKIKV100	0,28	0,66		0,50		0,39		0,82	0,14	0,14	0,42
OKIKV900	0,59					0,62		0,71	0,49	0,49	0,58
ORIJN090									0,17	0,17	0,17
ORIJN200									0,45	0,45	0,45
ORIJN400									0,18	0,18	0,18
c											
OGENR100	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,26	0,00	0,029
OGENR900	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,27	0,027
OZTMD800	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000
OMDVK900	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	0,01	0,022
OKIKV100	0,00	0,00		0,00		0,00		0,00	0,00	0,12	0,017
OKIKV900	0,33					0,01		0,00	0,00	0,32	0,132
ORIJN090									0,00	0,00	0,000
ORIJN200									0,00	0,01	0,005
ORIJN400									0,00	0,02	0,010

Figuur 13 verduidelijkt de bijdrage van zowel zware metalen als bestrijdingsmiddelen aan de totale combi-PAF. De drie verschillende gemiddelde combi-PAF-waarden zijn in deze figuur weergegeven.



Figuur 13: Overzicht van de gemiddelde combi-PAF-waarden ($\pm$ SD), per locatie, van bestrijdingsmiddelen, zware metalen en een combinatie van beide stofgroepen.

Uit tabel 5 en figuur 13 is af te leiden dat in de zijtakken van de Rijnbeek de gemiddelde PAF-waarde in de bovenstroomse beekdelen lager is dan benedenstrooms. De hoogste gemiddelde PAF-waarden zijn vastgesteld in de benedenstroomse delen van de Kikvorsbeek en het Middendijkveenkanaal. De Potentieel Aangetaste Fractie soorten is gemiddeld 64% in deze beken. In het benedenstroomse deel van de Genraaijbeek is de gemiddelde Potentieel Aangetaste Fractie soorten het laagst ten opzichte van de overige zijtakken van de Rijnbeek: 32%. De gemiddelde PAF-waarden in het boven- en benedenstroomse deel van de Rijnbeek zijn nog lager. De Potentieel Aangetaste Fractie soorten is in deze beken respectievelijk 17% en 19%. Deze waarden zijn echter minder betrouwbaar omdat er minder meetgegevens van de Rijnbeek beschikbaar zijn. Bovendien zijn de concentraties zware metalen slechts één keer bepaald (20 november). Vandaar dat in figuur 13 de standaarddeviatie ontbreekt bij de gemiddelde PAF-waarden die zijn gebaseerd op de zware metalen concentraties in de Rijnbeek. Uit de resultaten blijkt dat de uiteindelijke combi-PAF-waarde vrijwel geheel wordt bepaald door de PAF-waarde op basis van zware metalen. De hoogste PAF-waarden op basis van zware metalen zijn in de benedenstroomse delen van de Kikvorsbeek en het Middendijkveenkanaal vastgesteld op respectievelijk 58% en 63%. De PAF-waarden die zijn gebaseerd op de aangetroffen bestrijdingsmiddelen bedragen maximaal 2,9% met uitzondering van de Kikvorsbeek benedenstrooms. In deze beekdelen bedraagt de Potentieel Aangetaste Fractie soorten door bestrijdingsmiddelen 13,2%. In de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal en het bovenstroomse deel van de Rijnbeek kan op basis van de berekende PAF-waarden (0%) worden geconcludeerd dat de gedetecteerde bestrijdingsmiddelen geen toxische druk veroorzaken in het beekmilieu. Bij de berekeningen zijn echter alleen de bestrijdingsmiddelen meegenomen die boven de detectiegrens zijn aangetroffen.

5.5 Regenwater- en grondwaterbemonstering

Ter inventarisatie van mogelijke bronnen van bestrijdingsmiddelen zijn grondwatermonsters uit bronputten en monsters uit regenwaterbassins genomen. De analyseresultaten zijn weergegeven in tabel 6. In de tabel zijn alleen de bestrijdingsmiddelen vermeld die boven de detectielimiet zijn aangetroffen.

Tabel 6: Overzicht van de analyseresultaten van de grondwater- en regenwaterbassinmonsters in het stroomgebied van de Rijnbeek. Achter de gemeten bestrijdingsmiddelenconcentraties is tussen haakjes het MTR vermeld.

Parameter	BRONPUTTEN			REGENWATERBASSINS	
	6 meter	60 meter	140 meter	Gipmans BV	Dhr. Keunen
SO ₄ ²⁻ (mg/l)	56	22	18	19	12
Cl ⁻ (mg/l)	10	< 5	32	< 5	< 5
Ortho-fosfaat (mg/l)	0,40	< 0,04	< 0,04	< 0,04	< 0,04
NH ₄ N (mg/l)	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3
NO ₃ N (mg/l)	14,9	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15
NO ₂ N (mg/l)	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
NO ₃ N + NO ₂ N (mg/l)	14,9	< 0,15	< 0,15	< 0,15	0,2
BESTRIJDINGSMIDDELENCONCENTRATIES BOVEN DE DETECTIELIMIET					
Simazine (µg/l)	-	-	-	-	0,08 (0,14)
Parathion-ethyl (µg/l)	-	-	-	-	0,31 (0,002)
Diuron (µg/l)	-	-	-	0,06 (0,43)	-

Uit tabel 6 is af te leiden dat in het grondwater (uit de bronputten) geen bestrijdingsmiddelen boven de detectielimiet zijn aangetroffen. De regenwaterbassins bevatten daarentegen wel bestrijdingsmiddelen: simazine, parathion-ethyl (beide insecticiden) en diuron (herbicide). Alleen de concentratie parathion-ethyl overschrijdt het MTR (factor 155). De N- en P-belasting in de regenwaterbassins is relatief laag. Het grondwater bevat echter op een diepte van 6 meter relatief grote hoeveelheden ortho-fosfaat (0,4 mg/l) en nitraat (14,9 mg/l). Het MTR voor de totale P- en N-belasting is respectievelijk 0,15 en 2,2 mg/l. Op 60 en 140 meter diepte is deze N- en P-belasting niet meer meetbaar in het grondwater. De sulfaatconcentratie in het grondwater neemt geleidelijk af met toenemende diepte.

6. Macrofaunasamenstelling

6.1 Algemene soortenbeschrijving

De volledige macrofaunasoortenlijst in de zes bemonsterde zijtakken van de Rijnbeek is weergegeven in bijlage 10. Daarnaast zijn de verschillende soortgroepen procentueel weergegeven. Deze taartdiagrammen zijn weergegeven in figuur 20. De Nederlandse groepsnamen zijn terug te vinden in bijlage 11. Hieronder volgt een beschrijving van de macrofaunasamenstelling per beek.

Genraaijbeek Arenborg (OGENR100)

Er zijn 20 taxa aangetroffen. De vlokreeft *Gammarus pulex* (figuur 14) domineert in het bovenstroomse deel van de Genraaijbeek. Deze zuurstofminnende omnivoren, die worden onderdrukt door organische verontreiniging (Hawkes, 1979), vormen 86% van het totale aantal aangetroffen organismen. Wanneer het zuurstofgehalte toereikend is kan *Gammarus pulex* ook voorkomen in verontreinigd water (Wesenberg-Lund, 1939). Daarnaast komen onder andere de kever *Elodes* sp. en de langpootmug *Eloeophila* sp. voor die beide kenmerkend zijn voor levensgemeenschappen in bronnen en/of bronbeken (Bellmann, 1988; persoonlijke mededeling B. van Maanen, ZL). De aangetroffen platworm *Polycelis felina* is een koud-stenotherme soort met een hoog zuurstofgebruik (Den Hartog, 1962).



Figuur 14: *Gammarus pulex* (WWW8)

Genraaijbeek, instroom Rijnbeek (OGENR900)

Er zijn 21 taxa in het benedenstroomse deel van de Genraaijbeek aangetroffen. Naast Tubificidae (borstelwormen, 19%), levend in stabiele bodems met veel organisch materiaal (Klink & Dudok van Heel, 1993), komen hier vooral Chironomidae (vedermuggen, 68%) voor. De dominante Chironomidae zijn de detritusherbivoren *Procladius olivacea* en *Chironomus* gr. *thummi*. Chironomidae domineren over het algemeen in sterk organisch verontreinigde beken (Moller Pillot & Buskens, 1990).

Kikvorsbeek, bovenstrooms (OKIKV100)

Er zijn 24 taxa, waarvan 12 Coleoptera (kevers), aangetroffen. Tubificidae (detrivore borstelwormen) vormen 92% van de totale macrofauna in het bovenstroomse deel van de Kikvorsbeek. Ze indiceren een sterke organische belasting en een lage zuurstofspanning (Klink & Dudok van Heel, 1993). Daar-



Figuur 15: *Helophorus grandis* (WWW9)

naast zijn er voornamelijk Chironomidae (de vedermuggen *C. gr. thummi* en *C. gr. plumosus*), Ptychopteridae (detrivore langpootmuggen) en zeven *Helophorus* soorten (kevers, vooral herbivoren; figuur 15) aangetroffen. De *Coleoptera* (onder andere *Helophorus* sp.) die zijn aangetroffen zijn voornamelijk goed vliegende soorten die kunnen profiteren van droogval en een tijdelijk gunstig voedselaanbod (persoonlijke mededeling, B. van Maanen, ZL).

Kikvorsbeek, instroom Rijnbeek (OKIKV900)



Figuur 16: *Physa acuta*
(WWW10)

Er zijn 20 taxa in het benedenstroomse deel van de Kikvorsbeek aangetroffen. De dominante soorten waren de tweekleppige *Pisidium casertanum* en *P. subtruncatum*. Deze herbivore Bivalvia vormden samen 68% van het aantal aangetroffen soorten. Beide soorten lijken sterk resistent te zijn voor veranderingen in omgevingsfactoren, inclusief vervuiling (Dyduch-Falniowska, 1982). Verder zijn Chironomidae (de vedermuggen *C. gr. plumosus* en *C. gr. thummi*) en enkele herbivore Gastropoda (de slakken *Radix peregra/ovata* en *Physa acuta*; figuur 16) aangetroffen. Beide Gastropoda soorten kunnen overleven in instabiele wateren en zijn tolerant voor verontreinigingen (Cuppen, 1980; Verdonschot, 1990; Zuiveringsschap Hollandse Eilanden en Waarden, 1989).

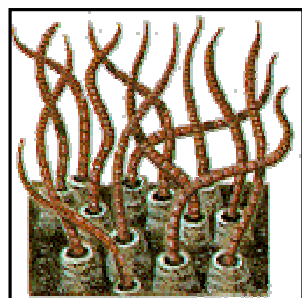
Middendijkveenkanaal, 2^e zijtak (OZTMD800)

Er zijn 29 taxa aangetroffen. De meeste organismen behoren tot de Chironomidae (vedermuggen; figuur 17) en *Isopoda* (pissebedden). De Chironomidae vormen 40% van de organismen en bestaan onder andere uit *Macropelopia* sp. (carnivoor), *C. gr. thummi* en *Tanytarsus* sp. (beiden detritusherbivoren). *Tanytarsus* spp. prefereren zuurstofrijke omstandigheden (Grzimek, 1974)). De *Isopoda* vormen 33% van de aanwezige soorten en bestaan voor 97% uit de detrivore pissebed *Asellus aquaticus*. *Asellus aquaticus* is bestand tegen organische verontreiniging en zuurstofverlaging (Verdonschot, 1990) en komt vooral voor in structuurrijke wateren met dicht plantenbegroeijsel waar veel bladval plaatsvindt (Hawkes, 1979). Daarnaast is ook de kokerjuffer *Plectrocnemia conspersa* aangetroffen. Deze soort komt vooral voor in bronbeken en bovenloopjes en is bestand tegen een licht zuur milieu en verontreiniging met zware metalen als koper, zink, aluminium en ijzer (Edington, 1964; Bis *et al.*, 1992).



Figuur 17: *Chironomus* sp.
(WWW11)

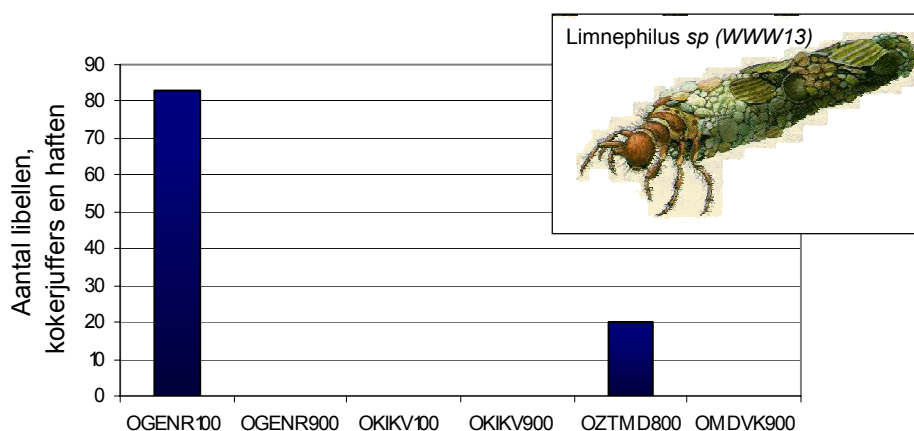
Middendijkveenkanaal, instroom Rijnbeek (OMDVK900)



Figuur 18: *Tubificidae* sp.
(WWW12)

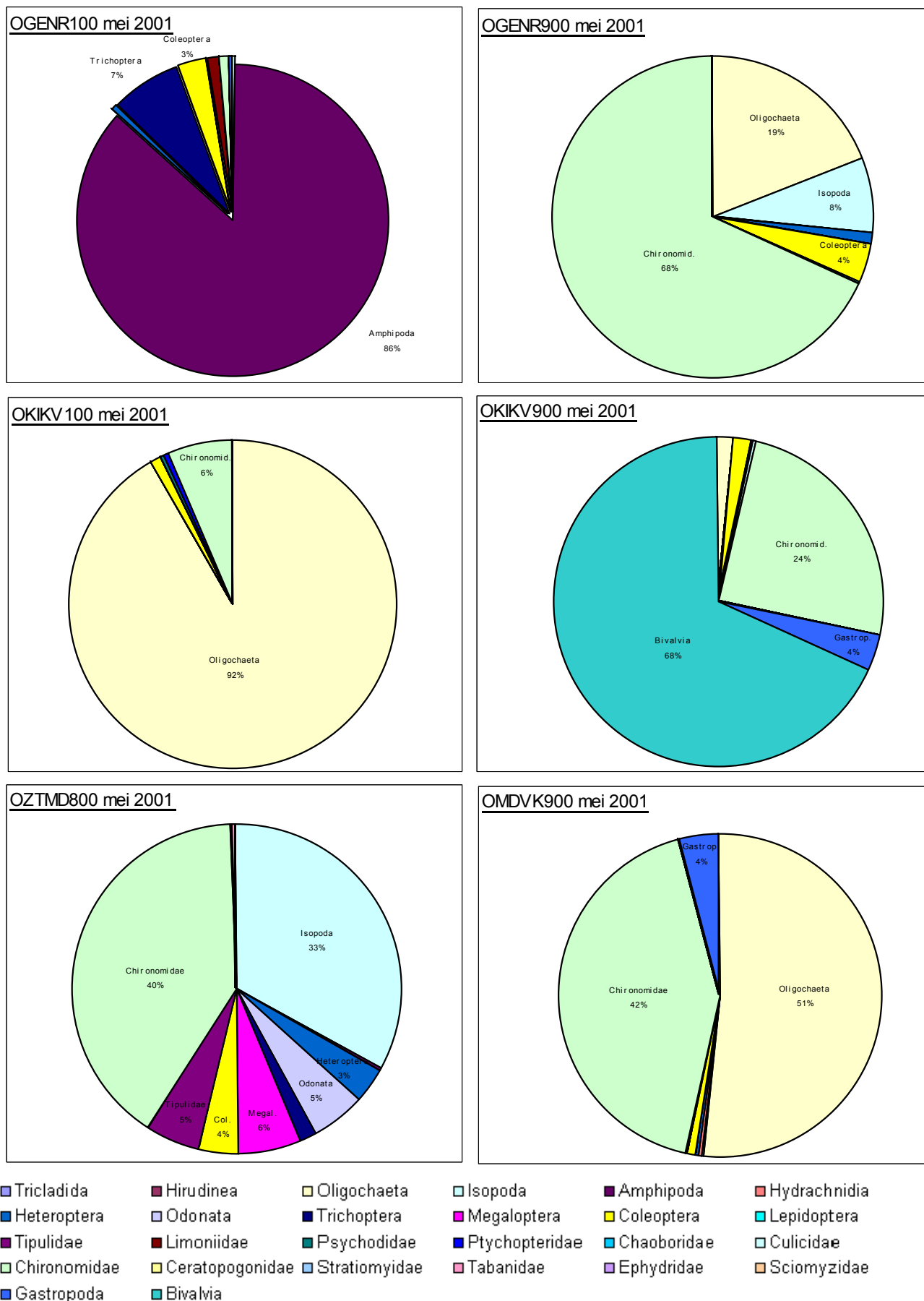
Er zijn 38 taxa aangetroffen in het benedenstroomse deel van het Middendijkveenkanaal. Dominant zijn de detrivore Tubificidae (borstelwormen, bijna 50%; figuur 18), detriherbivore Chironomidae (vedermuggen, 42%) als *Prodiamesa olivacea*, *Acricotopus lucens* en *Chironomus gr thummi* en de herbivore Gastropoda soorten (slakken, 4%) *Radix peregra/ovata* en *Physa acuta*.

Volgens Spierenburg (2001) zijn kokerjuffers (Trichoptera), libellenlarven (Odonata) en haften (Ephemeroptera) kenmerkende diergroepen voor biologisch gezonde wateren. In figuur 19 zijn de aantallen libellen, kokerjuffers en haften per locatie weergegeven.



Figuur 19: Overzicht van de aantallen individuen libellen, kokerjuffers en haften op de diverse locaties.

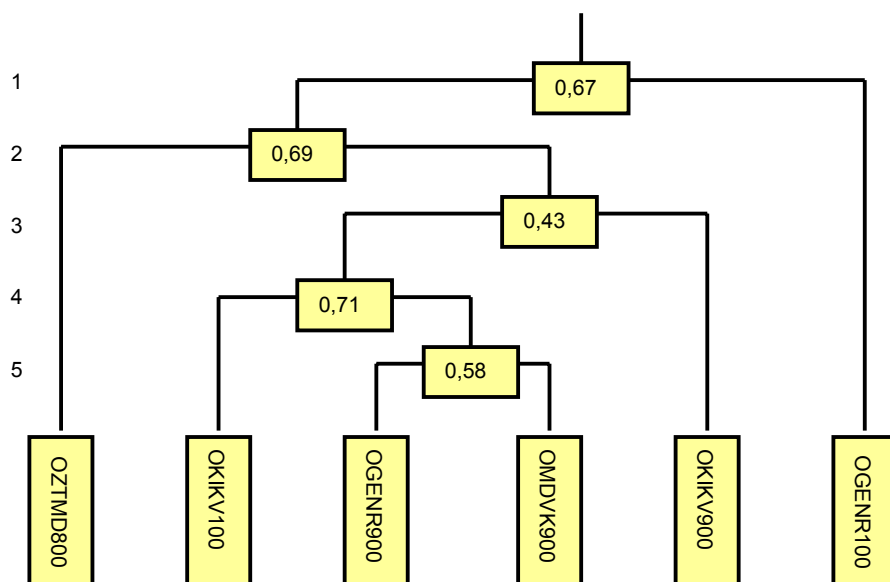
Opvallend is dat alleen bovenstrooms in de Genraaijbeek ($n_{\text{totaal}}=83$) en in de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal ($n_{\text{totaal}}=20$) individuen van de betreffende diergroepen, die karakteristiek zijn voor biologisch gezonde wateren, zijn aangetroffen. In de Genraaijbeek waren dit de kokerjuffers *Limnephilus lunatus* ($n=76$, figuur 19) en *Chaetopteryx sp* ($n=7$). In de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal de libelle *Phyrrhosoma nymphula* ($n=15$) en de kokerjuffers *Oxyethira sp* ($n=1$) en *Plectrocnemia conspersa* ($n=4$).



Figuur 20: Procentuele verdeling op basis van abundanties van de diverse macrofaunagroepen op de verschillende locaties (n=aantal individuen per locatie): OGENR100 (n=1174), OGENR900 (n=837), OKIKV100 (n=10698), OKIKV900 (n=797), OZTMD800 (n=297), OMDVK900 (n=791)

6.2 Twinspan-analyse

Met behulp van een 'Two Way Indicator Species Analysis' (paragraaf 4.5) zijn de zes monsterpunten van elkaar gescheiden of geclusterd op basis van verschillen of overeenkomsten in de macrofaunasoortensamenstelling. Locaties die wat betreft de macrofaunasamenstelling op elkaar lijken zijn in eenzelfde groep geplaatst. In figuur 21 is het TWINSpan-diagram weergegeven. Dit diagram geeft de vijf splitsingen weer.



men) in de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal en de aanwezigheid van onder andere de libelle *Pyrrhosoma nymphula*, de slijkvlieg *Sialis lutaria*, en de vedermuggen *Psectrocladius* gr. *sordidelus/limbatellus* en *Tanytarsus* sp. De laatste vier taxa zijn tolerant ten opzichte van een lage pH (Hellawell, 1986; Verdonschot, 1990)

Splitsing 3:

Het benedenstroomse deel van de Kikvorsbeek is gesplitst van de overige monsterpunten (OGENR900, OKIKV100 en OMDVK900). Enerzijds gebeurt dit op basis van de aanwezigheid van de tweekleppigen *Pisidium casertanum* en *Pisidium subtruncatum* in het bovenstroomse deel van de Kikvorsbeek. Beide soorten lijken sterk resistent te zijn voor veranderingen in omgevingsfactoren, inclusief vervuiling (Dyduch-Falniowska, 1982). Anderzijds door de afwezigheid van onder andere *Psychoda* sp. (motmuggen) en Tubificidae zonder chaetae in dit beekdeel. Deze twee taxa worden vooral aangetroffen in beken met een grote hoeveelheid organisch materiaal (Klink & Dudok van Heel, 1993; Vaillant, 1978).

Splitsing 4:

Met de 4^e splitsing wordt het bovenstroomse deel van de Kikvorsbeek afgesplitst van de twee overige monsterpunten (OGENR900 en OMDVK900). Dit gebeurt op basis van de aanwezigheid van enorme aantallen Tubificidae met chaetae (9722) in het bovenstroomse deel van de Kikvorsbeek ten opzichte van de (sneller stromende) benedenstroomse delen van de Genraaijbeek (20) en het Middendijkveenkanaal (10). In het bovenstroomse deel van de Kikvorsbeek komen daarnaast ook onder andere *Helophorus* sp. (kevers) en de vedermuggen *Ptychoptera* sp. en *Psectrotanypus varius* voor. Tubificidae, *Ptychoptera* sp. en *Psectrotanypus varius* komen vooral voor in (verontreinigde) wateren met een modderlaag op de bodem en weinig stroming (Wagner, 1978; Fritz, z.j.).

Splitsing 5:

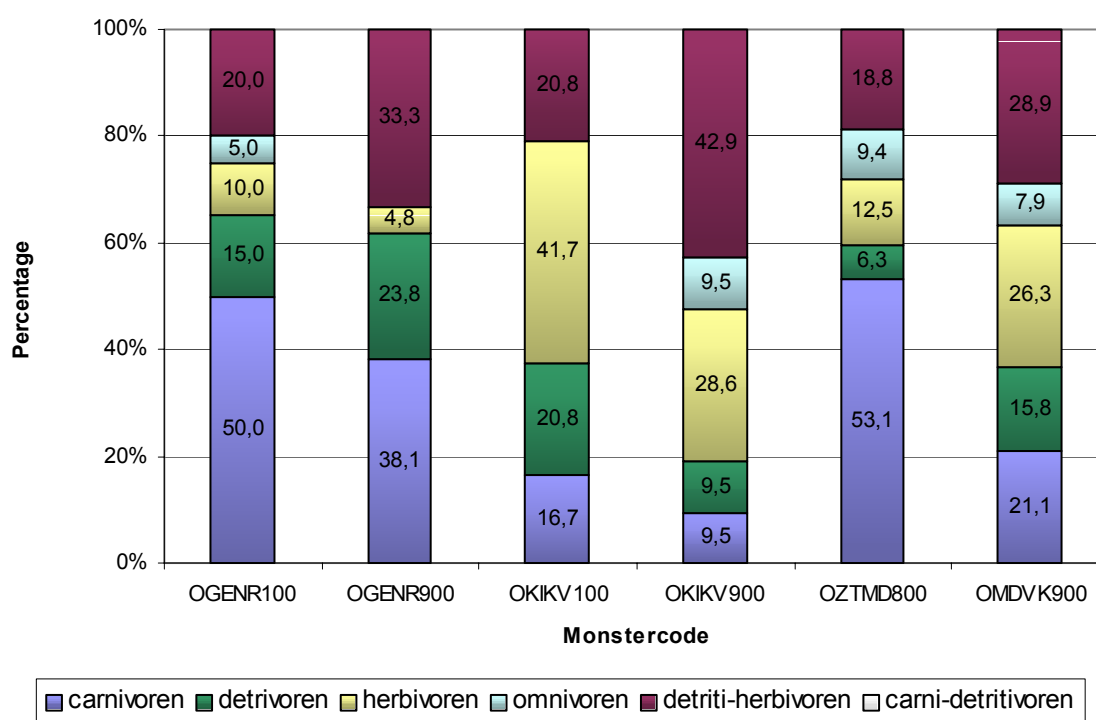
Met de laatste splitsing worden de benedenstroomse delen van het Middendijkveenkanaal en de Genraaijbeek van elkaar gescheiden. Dit gebeurt op basis van de aanwezigheid van *Hydroporus* sp. keverlarve en de vedermug *Paratendipes* gr. *albimanus* in de Genraaijbeek en de aanwezigheid van *Lumbriculidae* (borstelwormen) en de vedermug *Acricotopus lucens* in het Middendijkveenkanaal.

6.3 Onderverdeling soorten naar trofisch niveau

De macrofauna kan worden onderverdeeld naar trofisch niveau, afhankelijk van de aard van het voedsel (Verdonschot, 1990). Er wordt onderscheid gemaakt in zes trofische niveaus:

1. Carnivoren: voeden zich met levend dierlijk materiaal;
2. Detrivoren: leven van dood organisch materiaal;
3. Herbivoren: eten levend plantaardig materiaal;
4. Omnivoren: leven van zowel levend dierlijk als plantaardig materiaal;
5. Detriti-herbivoren: voeden zich met levend plantaardig en dood organisch materiaal;
6. Carni-detritivoren: eten levend dierlijk en dood organisch materiaal (Verdonschot, 1990).

De procentuele verdeling van de macrofaunasoorten over de verschillende trofische niveaus is weer-gegeven in figuur 22.



Figuur 22: Overzicht van de procentuele verdeling van de macrofaunasoorten over de trofische niveaus per monsterpunt.

Uit figuur 22 blijkt dat de soorten die zijn aangetroffen in het bovenstroomse deel van de Genraaijbeek en de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal voor minstens 50% uit carnivoren bestaan. Het percentage detriti-herbivore en herbivoren soorten is in deze beken respectievelijk $\pm$ 20% en 10%. De soortenverdeling in het benedenstroomse deel van de Genraaijbeek komt ook sterk overeen met de soortenverdeling in de twee eerder genoemde beekdelen. In de Kikvorsbeek en het benedenstroomse deel van het Middendijkveenkanaal komen naar verhouding minder carnivore soorten voor, terwijl het percentage herbivore soorten (41,7% in de Kikvorsbeek, bovenstrooms) relatief gezien veel hoger is. In de benedenstroomse Kikvorsbeek is bijna de helft van de soorten detriti-herbivore (42,9%). Carni-detritivore soorten zijn in geen enkele beek aangetroffen. In de Kikvorsbeek zijn bovenstrooms tevens geen omnivore soorten aangetroffen. Het percentage omnivore soorten in de andere beken is ook relatief laag: nog geen 10%.

6.4 K₁₃₅-index

In tabel 7 zijn de K₁₃₅-waarden (bijlage 13) van de verschillende beken weergegeven. Deze waarde is gebaseerd op indicatorsoorten die de mate van organische belasting weergeven. Hoe hoger de K₁₃₅ hoe minder de organische verontreiniging.

Tabel 7: De beoordeling van de onderzoeksbeken volgens de K₁₃₅ index.

Monstercode	K ₁₃₅	omschrijving	kwaliteitsklasse
OGENR100	481	zeer goed	10
OGENR900	216	slecht	3
OKIKV100	100	zeer slecht	1
OKIKV900	106	zeer slecht	1
OZTMD800	304	redelijk	6
OMDVK900	119	zeer slecht	1

Uit tabel 7 is af te leiden dat de Genraaijbeek bovenstrooms en in mindere mate de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal niet of nauwelijks organisch verontreinigd lijken op basis van de aangetroffen indicatorsoorten. Dit in tegenstelling tot de andere beken die op basis van de indicatorsoorten op een sterke organische verontreiniging duiden. Met name de Kikvorsbeek lijkt sterk organisch verontreinigd op basis van de aangetroffen indicatorsoorten.

7. Bioassays

Met behulp van bioassays is de toxiciteit van het oppervlaktewater voor *Daphnia magna* bepaald gedurende een periode van acht dagen. De bioassays zijn zowel uitgevoerd in drie zijtakken van de Rijnbeek (zes monsterpunten) als in de Rijnbeek zelf (drie monsterpunten).

7.1 Voorwaarden bioassays

Allereerst zijn enkele geanalyseerde fysisch-chemische parameters vergeleken met de voorwaarden waaronder bioassays volgens De Jong *et al.* (2000) zinvol kunnen worden uitgevoerd. In tabel 8 is deze toetsing weergegeven.

Tabel 8: Overzicht van het **wel** of **niet** voldoen aan de randvoorwaarden per parameter per locatie. De saliniteit is niet bepaald(nb). De waarden zijn gemiddelden van het begin (20 november) en het eind (28 november) van de bioassays.

Parameter	Rand-voorwaarde	OGENR 100	OGENR 900	OKIKV1 00	OKIKV 900	OZTMD 800	OMDVK 900	ORIJN 090	ORIJN 200	ORIJN 400
Temperatuur (°C)	> 6	9,0	10,6	8,7	9,0	8,5	10,1	10,0	9,4	10,6
Waterdiepte (cm)	> 25	10	30	10	7	40	40	15	30	40
[O ₂] (mg/l)	> 3	9,8	6,2	6,8	9,5	8,5	8,3	1,7	14,9	6,5
pH	6-9	6,67	6,23	7,22	6,57	4,92	6,22	6,43	6,47	6,96
[NO ₂] (mg/l)	< 6	<0,05	<0,05	0,36	<0,05	<0,05	<0,05	0,06	<0,05	<0,05
[NH ₄ ⁺] (mg/l)	< 30	0,15	0,20	2,55	0,30	0,20	0,65	1,10	0,30	0,40
[NH ₃] (mg/l)	< 1,2	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
[Cl] (mg/l)	< 500	10	18	72	25	43	30	50	26	28
Geleidbaarheid (µS/mm)	>10<1700	304	330	1073	515	536	679	475	480	494
Saliniteit (promille)	< 1	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb

De waterstand in het bovenstroomse deel van de Genraaijbeek (OGENR100), de Kikvorsbeek (OKIKV100 en OKIKV900) en het bovenstroomse deel van de Rijnbeek (ORIJN090) was te laag. Vandaar dat op deze locaties is gekozen voor een aangepaste proefopstelling (paragraaf 4.3). De pH in de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal was te laag (4,92) ten opzichte van de voorwaarde die een pH range van 6-9 voorschrijft. In het bovenstroomse deel van de Genraaijbeek was de zuurstofconcentratie van 1,7 mg/l te laag. Volgens de voorwaarden was een zuurstofconcentratie van minimaal 3 mg/l een vereiste. De overige parameters voldoen wel aan de randvoorwaarden.

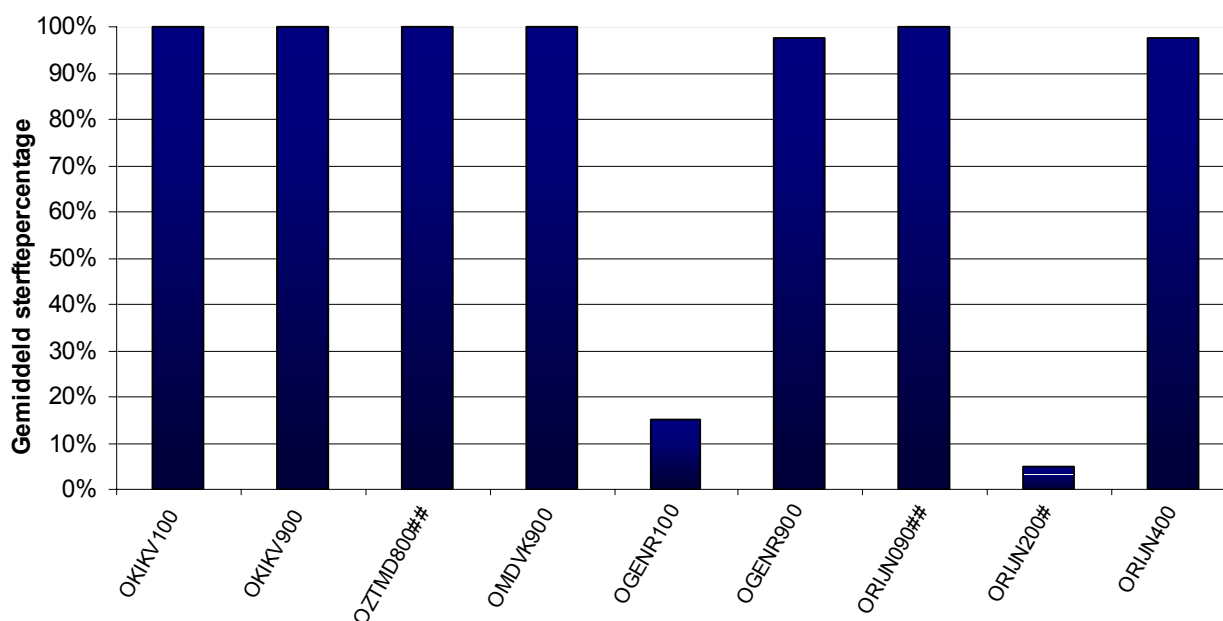
7.2 Fysisch/chemische parameters

Op het tijdstip dat de bioassays zijn ingezet zijn alleen bovenstrooms in de Genraaijbeek en in de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal bestrijdingsmiddelen boven de detectiegrens aangetoond. Van het insecticide parathion-ethyl werd in de Genraaijbeek een concentratie van 100 ng/l gemeten. Dit is een overschrijding van het MTR met een factor 50. In de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal is atrazine (herbicide) aangetoond in een concentratie (30 ng/l). Deze concentratie ligt onder het MTR van 2900 ng/l. In de overige onderzoeksbeken zijn op 20 november geen bestrijdingsmiddelen gedetecteerd.

Tijdens het ophalen van de bioassays zijn meerdere bestrijdingsmiddelen aangetroffen. De monsters uit alle beken, met uitzondering van het bovenstroomse deel van de Genraaijbeek, bevatten namelijk bestrijdingsmiddelen. In de Genraaijbeek is benedenstrooms parathion-ethyl gemeten (55 x MTR). In de Kikvorsbeek is bovenstrooms het insecticide dichloorvos gedetecteerd (828 x MTR). Benedenstrooms in de Kikvorsbeek is zowel het insecticide mevinfos (25 x MTR) als parathion-ethyl (70 x MTR) aangetroffen en in de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal is opnieuw atrazine gedetecteerd (30 ng/l). Benedenstrooms in het Middendijkveenkanaal is ook parathion-ethyl aangetroffen. Er is echter geen sprake van een normoverschrijdende concentratie (0,06 µg/l). In de Rijnbeek, locatie Mooijweg (ORIJN200), is het insecticide pirimicarb (1,3 x MTR) gedetecteerd. Verder benedenstrooms in de Rijnbeek (ORIJN400) is eveneens pirimicarb in een normoverschrijdende concentratie aangetroffen (2,7 x MTR). In het bovenstroomse meetpunt in de Rijnbeek (ORIJN090) zijn in beide monsters (20 en 28 november) geen bestrijdingsmiddelen boven de detectiegrens aangetroffen. Meer informatie over de fysisch/chemische parameters en de PAF-waarden tijdens de bioassays is terug te vinden in hoofdstuk 5 (in tabel 3 zijn de aangetroffen bestrijdingsmiddelen weergegeven).

7.3 Resultaten *Daphnia*'s

In figuur 23 zijn de gemiddelde sterftepercentages uitgezet van de watervlooien (*Daphnia magna*, bijlage 5) op de diverse locaties in het stroomgebied van de Rijnbeek.



Figuur 23: Gemiddeld sterftepercentage van 20 ingezette *Daphnia magna* gedurende een periode van 8 dagen in verschillende beken in het stroomgebied van de Rijnbeek.

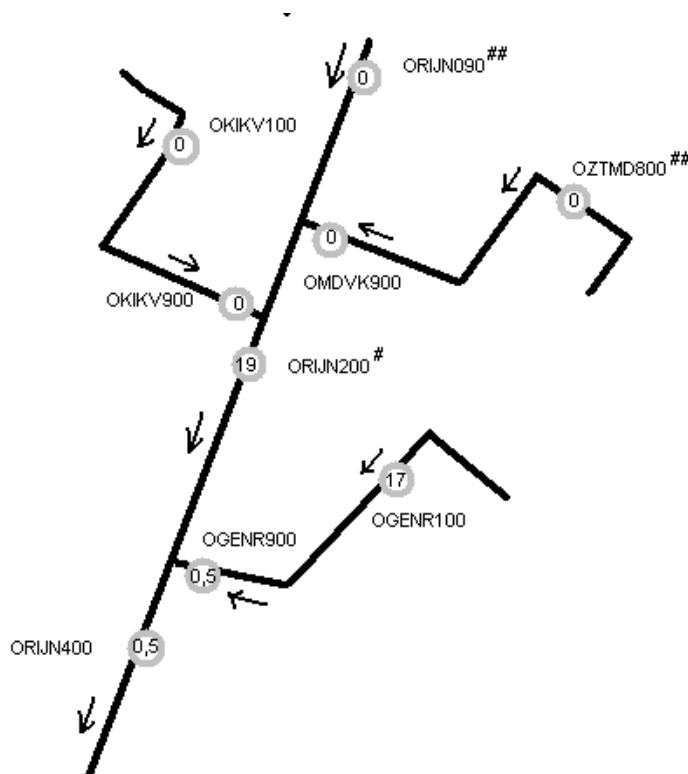
Potten teruggevonden op de kant van de beek.

Waterkwaliteit voldeed niet aan voorwaarden van bioassays.

Figuur 23 laat duidelijk zien dat in vrijwel alle beken het sterftepercentage 100% is. Uitzonderingen vormen het bovenstroomse gedeelte in de Genraaijbeek (de referentielocatie OGENR100) en de locatie Rijnbeek Mooijweg (ORIJN200). Op deze plekken stierven respectievelijk gemiddeld slechts drie en één *Daphnia magna* van de in totaal twintig ingezette organismen. Bij de locatie Rijnbeek Mooijweg (middenstrooms) werden de potten met de *Daphnia*'s op de slootkant teruggevonden. De potten zijn

hier tijdens het opschonen van dit gedeelte van de Rijnbeek op 20 november (inzetdag bioassays) door de werker neergelegd en zijn hierdoor niet gedurende acht dagen blootgesteld aan de (wisselende) waterkwaliteit.

Om de bioassay resultaten op verschillende locaties in het stroomgebied te verduidelijken is in figuur 24 het gemiddeld aantal overlevende watervlooien per locatie weergegeven.



Figuur 24: Overzicht van het stroomgebied van de Rijnbeek bij Venlo. De onderzoekslocaties met betrekking tot de bioassays zijn aangegeven, evenals het gemiddeld aantal overlevende watervlooien (n=20).

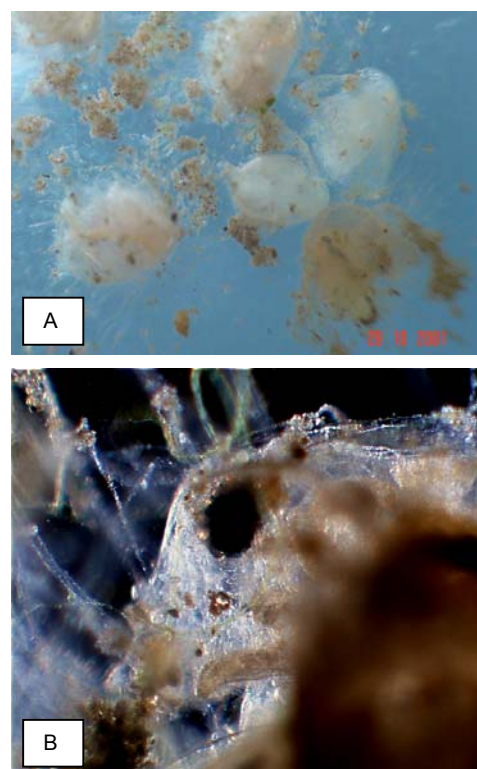
Potten teruggevonden op de kant van de beek

Waterkwaliteit voldeed niet aan voorwaarden van bioassays.

In tabel 9 is de activiteit van de (nog levende) *Daphnia*'s vermeld. Daarnaast is vermeld of er nog jonge levende *Daphnia*'s (< 10 tot 18 dagen) in de monsterpotten aanwezig waren. Het is niet bekend of deze *Daphnia*'s de jonge *Daphnia*'s zijn die tijdens het inzetten van het experiment in de monsterpotten zijn gepipetteerd, of dat dit nieuwe gereproduceerde *Daphnia*'s zijn. Bij het ophalen van de monsterpotten was duidelijk zichtbaar dat de dode *Daphnia*'s beschimmeld waren (figuur 25a en b). Omdat de mate van beschimmeling nogal verschilde per locatie is besloten deze waarnemingen tevens op te nemen in tabel 9.

Tabel 9: Activiteit van de *Daphnia*'s, aanwezigheid van levende jonge *Daphnia*'s en de mate van beschimmeling van dode *Daphnia*'s in twee monsterpotten op verschillende locaties in het stroomgebied van de Rijnbeek.

	Activiteit	Levende jongen	Beschimmeling
Monstercode			
ORIJN090 A	Geen	nee	Sterk
ORIJN090 B	Geen	nee	Sterk
ORIJN200 A	+++	Ja	n.v.t.
ORIJN200 B	+++	Ja	n.v.t.
ORIJN400 A	+/geen	nee	Matig
ORIJN400 B	Geen	nee	Matig
OKIKV100 A	Geen	nee	Sterk
OKIKV100 B	Geen	nee	Sterk
OKIKV900 A	Geen	nee	Sterk
OKIKV900 B	Geen	nee	Sterk
OZTMD800 A	Geen	nee	Sterk
OZTMD800 B	Geen	nee	Sterk
OMDVK900 A	Geen	nee	Matig
OMDVK900 B	Geen	nee	Matig
OGENR100 A	++	nee	n.v.t.
OGENR100 B	++	nee	n.v.t.
OGENR900 A	+/geen	nee	Matig
OGENR900 B	Geen	nee	Matig



Figuur 25: Foto's van dode *Daphnia magna*'s aan het eind van het experiment:

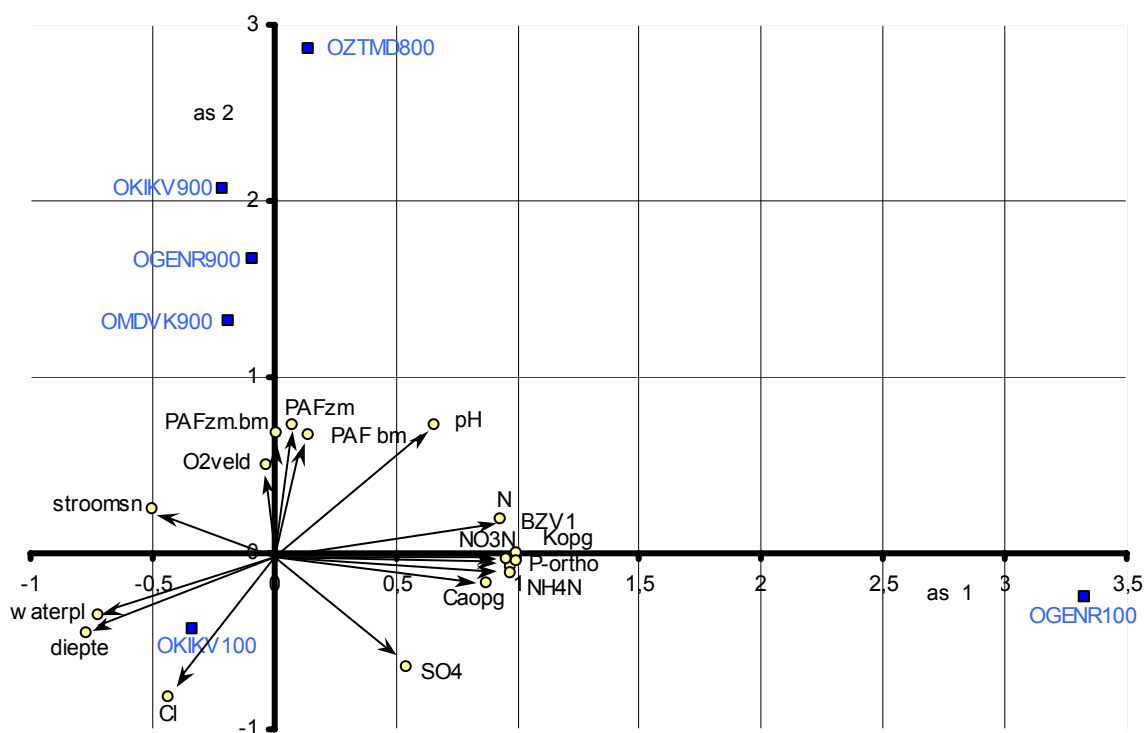
A: Beschimmelde *Daphnia magna*'s
 B: Detailopname van het kopsegment van een *Daphnia magna* waarbij duidelijk de schmelmeldraden zichtbaar zijn. Foto's: B. Pex

Alleen op de locatie Rijnbeek Mooijweg, waar de potten op de slootkant werden teruggevonden, zijn nog levende jongen in de potten aangetroffen. Zoals blijkt uit figuur 25a waren de *Daphnia*'s al in een vergevorderd afbraakstadium toen de potten werden opgehaald. Vooral in de Kikvorsbeek (OKIV100 en OKIKV900), de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal (OZTMD800) het bovenstroomse meetpunt in de Rijnbeek (ORIJN090) was de mate van beschimmeling relatief sterk.

8. Correlatie tussen de variatie in macrofauna-samenstelling en fysisch/chemische parameters.

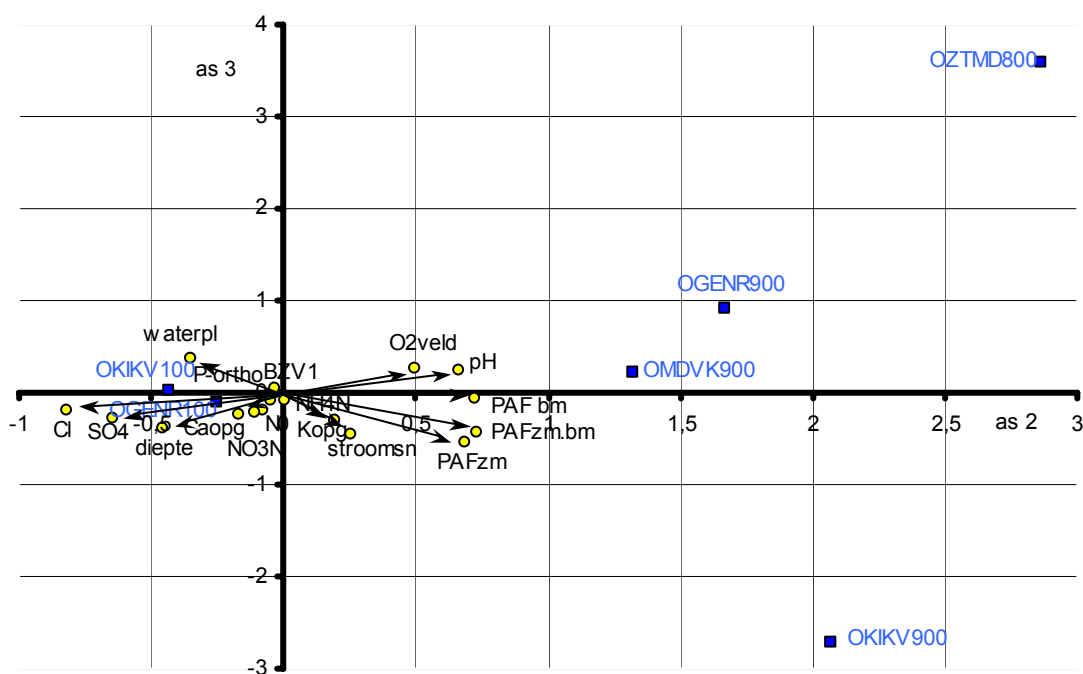
8.1 CANOCO

Met behulp van een canonische correspondentie-analyse (CANOCO, paragraaf 4.5) is de correlatie bepaald tussen de variatie in de macrofaunasamenstelling en de variatie in de fysisch/chemische parameters. Met behulp van een 'Detrended Correspondance Analysis' is vastgesteld dat de gradiënt-lengte van de parameters niet lineair maar unimodaal was verdeeld. Vervolgens is een Correspondance Analysis' (CA) uitgevoerd. Met behulp van deze indirecte analysemethode zijn de verschillen in de macrofaunasoortensamenstelling tussen de locaties gekoppeld aan de variabelen, de geselecteerde fysisch/chemische parameters. Deze correlatie is weergegeven in figuur 26 en 27. In figuur 26 zijn as 1 en 2 weergegeven. Tot en met de tweede as kan 73,4% van de variatie in macrofaunasamenstelling worden verklaard. Des te langer de pijl richting een variabele is des te groter de verklarende waarde van deze variabele.



Figuur 26: Het ordinatiediagram (as 1 en 2) op basis van de CA. De verschillende locaties zijn blauwgedrukt. De pijlen in het diagram wijzen richting de diverse parameters: stroomsn (stroomsnelheid); O2veld (zuurstofconcentratie in het veld); PAF zmbm (Potentieel Aangetaste Fractie (PAF) soorten op basis van de concentraties zware metalen en bestrijdingsmiddelen); PAF zm (PAF op basis van de concentraties zware metalen); PAF bm (PAF op basis van de concentraties bestrijdingsmiddelen); PAF zm (PAF op basis van de concentraties bestrijdingsmiddelen); pH (zuurgraad); N (totaal stikstof); NO3N (nitraatstikstof); NH4N (ammonium-stikstof); BZV1 (Biochemisch Zuurstof Verbruik); Kopg (Kalium opgelost); Caopg (calcium opgelost); P-ortho (ortho-fosfaat); SO4 (sulfaat); Cl (chloride); diepte (maximale diepte van de beek); waterpl (bedekkingspercentage door waterplanten).

Uit figuur 26 is af te leiden dat de Genraaijbeek bovenstrooms verschilt van de overige locaties. Deze locatie wordt op de eerste as anders geplaatst (3,3) ten opzichte van de overige locaties (tussen -0,33 en 0,14). Parameters die deze variatie verklaren houden verband met een lage organische belasting: stikstof totaal, nitraat, ammonium, ortho-fosfaat, calcium opgelost en kalium opgelost. De variatie in macrofaunasoortensamenstelling in het bovenstroomse deel van de Kikvorsbeek lijkt vooral te correleren met het ontbreken van waterplanten (bedekkingspercentage = 0%) en de relatief hoge sulfaatconcentratie. Het punt OKIKV100 ligt ongeveer tussen deze twee (extreme) parameters in. Op overige vier locaties (OMDVK900, OKIKV900, OGENR900 en OZTMD800) verklaren de zuurstofconcentratie, concentraties zware metalen en bestrijdingsmiddelen (PAFzmbm, PAFzm PAFbm) en in mindere mate pH de variatie in macrofaunasoortensamenstelling. In figuur 27 zijn de verschillende locaties en de verklarende parameters opnieuw weergegeven. In de figuur zijn as 2 en 3 weergegeven waarmee de verklarende parameters voor de vier laatstgenoemde locaties duidelijker te onderscheiden zijn. Tot en met de derde as kan 82,1% van de variatie in macrofaunasamenstelling worden verklaard.



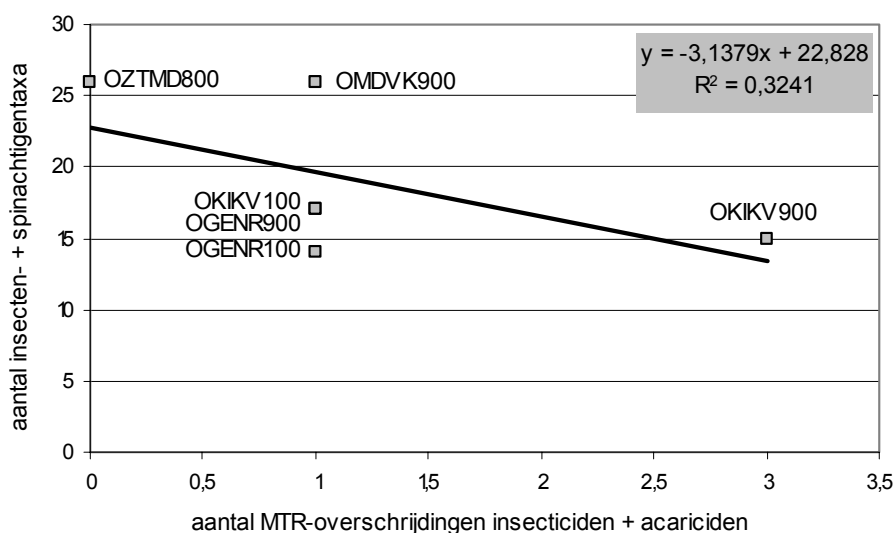
Figuur 27: Het ordinatiediagram (as 2 en 3) op basis van de CA. De verschillende locaties zijn blauwgedrukt. De pijlen in het diagram wijzen richting de diverse parameters: stroomsn (stroomsnelheid); O2veld (zuurstofconcentratie in het veld); PAF zmbm (Potentieel Aangeaste Fractie (PAF) soorten op basis van de concentraties zware metalen en bestrijdingsmiddelen); PAF zm (PAF op basis van de concentraties zware metalen); PAF bm (PAF op basis van de concentraties bestrijdingsmiddelen); PAF zm (PAF op basis van de concentraties bestrijdingsmiddelen); pH (zuurgraad); N (totaal stikstof); NO3N (nitraatstikstof); NH4N (ammonium-stikstof); BZV1 (Biochemisch Zuurstof Verbruik); Kopt (Kalium opgelost); Caopg (calcium opgelost); P-ortho (ortho-fosfaat); SO4 (sulfaat); Cl (chloride); diepte (maximale diepte van de beek); waterpl (bedekkingspercentage door waterplanten).

Uit figuur 27 is af te leiden dat de relatief lage zuurstofconcentratie en pH zijn gecorreleerd aan de variatie in macrofaunasoortensamenstelling in de benedenstroomse delen van de Genraaijbeek en het Middendijkveenkanaal en in mindere mate de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal. De relatief hoge PAF-waarden, gebaseerd op de concentraties zware metalen en/of bestrijdingsmiddelen, verklaren de variatie in macrofaunasoortensamenstelling in de benedenstroomse delen van de Kikvorsbeek en het Middendijkveenkanaal.

Vervolgens is een 'Canonical Correspondance Analysis' (CCA) uitgevoerd (bijlage 14). Met behulp van deze analysemethode is de variatie in de variabelen direct gekoppeld aan de macrofaunasoortensamenstelling. Op deze manier werd de verklarende waarde van de PAF-waarden en de overige parameters bepaald. Met behulp van de PAF-waarde voor zware metalen en de PAF-waarde voor bestrijdingsmiddelen kan (tot en met de tweede as) 39,8% van de variatie in macrofaunasoortensamenstelling worden verklaard. Voor meer dan de helft (52,1%) is deze variatie echter te verklaren met de overige parameters, inclusief de afzonderlijke concentraties zware metalen. Echter ook zonder de afzonderlijke concentraties zware metalen blijft dit percentage 52,1%.

8.2 Relatie tussen bestrijdingsmiddelen en macrofaunataxa

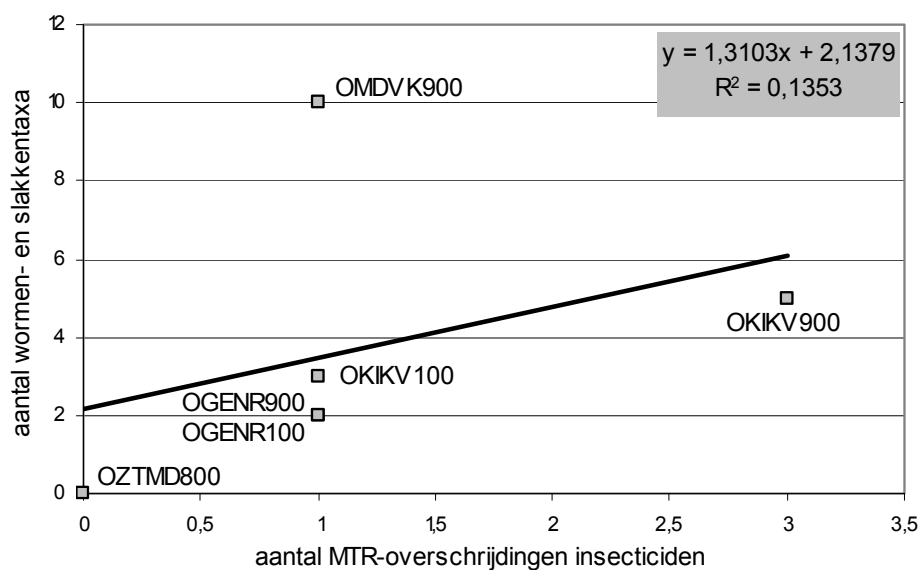
In het onderzoek naar de correlatie tussen de variatie in macrofaunasamenstelling en enkele fysisch/chemische parameters is tevens de relatie tussen de aangetroffen insecticiden en insecten nader bestudeerd. Het aantal MTR-overschrijdingen van insecticiden en acariciden (mijtendodend) per locatie (paragraaf 5.2) is gerelateerd aan het aantal op deze locaties aangetroffen taxa insecten en spinachtigen (mijten). Het spreidingsdiagram met de trendlijn is weergegeven in figuur 28.



Figuur 28: Regressielijn die het verband weergeeft tussen het aantal insecten- en spinachtigentaxa op de diverse locaties en het aantal MTR-overschrijdingen van insecticiden en acariciden op deze locaties.

De richtingscoëfficiënt van de trendlijn in figuur 28 is negatief. Dit wil zeggen dat het aantal verschillende insecten- en spinachtigentaxa negatief correleert met een toenemend aantal normoverschrijdingen van insecticiden en acariciden in het oppervlaktewater. De correlatiecoëfficiënt (0,3241) is gebaseerd op slechts 6 paren gegevens en is niet significant. De relatie is pas significant als de correlatiecoëfficiënt $\geq 0,729$ of $\leq -0,729$ is (Spierenburg, 2001).

Volgens Van Wijngaarden *et al.* (1998) en Spierenburg (2001) domineren in wateren met insecticidenstress voornamelijk slakken en wormen. In figuur 29 is het aantal aangetroffen slakken- en wormentaxa op de verschillende locaties weergegeven ten opzichte van het aantal MTR-overschrijdingen door insecticiden.



Figuur 29: Regressielijn die het verband weergeeft tussen het aantal wormen en slakken op de diverse locaties en het aantal MTR-overschrijdingen van insecticiden op deze locaties.

De richtingscoëfficiënt van de trendlijn in figuur 29 is positief. Dit wil zeggen dat het aantal wormen- en slakkentaxa positief correleert met een toenemend aantal normoverschrijdingen van insecticiden in het oppervlaktewater. De correlatiecoëfficiënt (0,1353) is gebaseerd op slechts 6 paren gegevens en is niet significant ($< 0,729$).

9. Discussie, conclusies en aanbevelingen

9.1 Discussie

9.1.1 Fysisch/chemische gegevens

Nutriënten

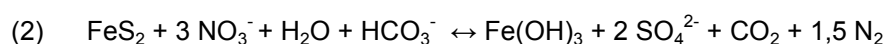
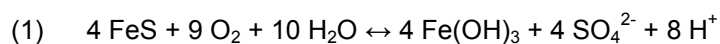
De stikstof- en fosforconcentraties overschrijden in alle beken het MTR. Over het algemeen zijn de stikstof- en fosforconcentraties (zomergemiddelden) in regionale wateren in Nederland twee keer zo hoog als de MTR's van 2,2 mg N/l en 0,15 mg P/l (RIVM, 2000^a). In de zijtakken van de Rijnbeek overschrijden de stikstofconcentraties het MTR echter met een factor variërend van 3,3 tot 10,6 en de fosforconcentraties met een factor variërend van 1,6 tot 258. Een belangrijke bron van nutriënten in het oppervlaktewater is de uit- en afspoeling van landbouwgronden. Van de afspoeling vanuit landbouwgronden komt 70 tot 90% van de stikstof en fosfor terecht in het oppervlaktewater (RIVM, 2000^b). Dit leidt tot vermessing, met name in regionale wateren. Hoge stikstof- en fosforconcentraties kunnen leiden tot volledige kroosbedekking of algenbloei in de zomermaanden (RIVM, 2000^b), zeker wanneer *Daphnia magna* niet in de beken kan overleven. *Daphnia magna* voedt zich namelijk onder andere met algen (bijlage 5). In het stroomgebied van de Rijnbeek is algenbloei in mei echter alleen waargenomen in de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal. Over het algemeen zijn de concentraties van stikstof en fosfor in het regionale oppervlaktewater lager dan in het afspoelende water als gevolg van vastlegging in de slootkant, opname door sediment en menging met ander water (RIVM, 2000^b). In de relatief kleine zijtakken van de Rijnbeek is de invloed van de af- en uitspoeling van landbouwgronden waarschijnlijk groot waardoor de MTR's met meer dan een factor twee worden overschreden. Voedselrijke kwel kan ook een oorzaak zijn van de vermessing van oppervlaktewater (RIVM, 2000^b).

Naast de af- en uitspoeling van stikstof van landbouwgronden en voedselrijke kwel, speelt ammoniumdepositie een belangrijke rol in Nederland. Wereldwijd heeft Nederland namelijk de hoogste ammoniumdepositie per gebiedseenheid door de zeer intensieve veehouderij (Lamers, 2001). De stikstofdepositie is in Nederland gemiddeld 30-40 kg N ha⁻¹jaar⁻¹ (Bobbink *et al.*, 1998) en plaatselijk zelfs 80-100 kg N ha⁻¹jaar⁻¹ (Houdijk & Roelofs, 1991) ten opzichte van een natuurlijke achtergrond depositie van 0,5-5 kg N ha⁻¹jaar⁻¹ (Aber *et al.*, 1989). Het is onduidelijk hoe af- en uitspoeling en stikstofdepositie zich ten opzichte van elkaar verhouden.

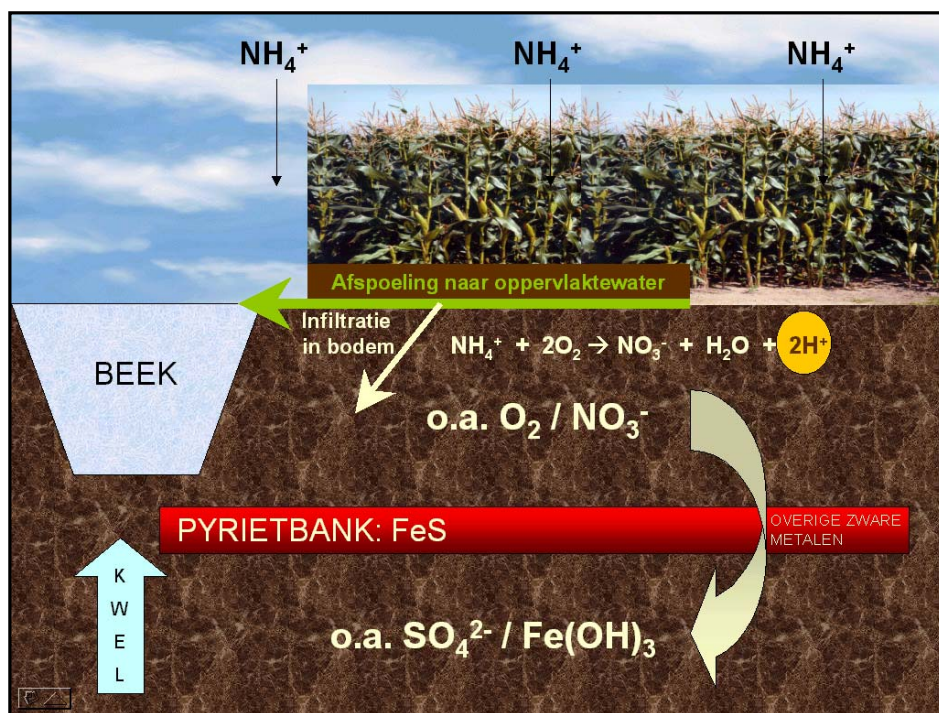
Een mogelijke oorzaak van de hoge fosforbelasting, naast de uit- en afspoeling van landbouwgronden, is de lozing van huishoudelijk afvalwater. Landelijk wordt de bijdrage van de landbouw echter relatief groter door de afname van de huishoudelijke lozingen (onder andere door de aansluiting van huishoudens op de riolering en de introductie van fosfaatvrije wasmiddelen) terwijl de uitspoeling nauwelijks afneemt (RIVM, 2000^b). Waarschijnlijk vermindert de fosforbelasting door uitspoeling van landbouwgronden in de toekomst weinig door de voortgaande oplading van de bodem met fosfor en de huidige hoge mate van fosfaatverzadiging (RIVM, 2000^b). De grijze kleur van het water in november, het relatief hoge EGV, de aanwezigheid van Tubificidae en de hoge fosforconcentraties (tabel 2) in het bovenstroomse deel van de Kikvorsbeek duiden op een mogelijke illegale lozing van huishoudelijk afvalwater.

Zware metalen

Naast de stikstof- en fosforgehalten overschrijden ook de gehalten aan enkele zware metalen het MTR. Dit betreft nikkel, koper en zink en in mindere mate cadmium. De belangrijkste oorzaak van de normoverschrijdende concentraties nikkel en zink is waarschijnlijk de aanwezigheid van pyrietbanken in het stroomgebied van de Rijnbeek. Pyrietbanken kunnen onder andere oxideren als gevolg van een verlaging van de grondwaterstand (reactievergelijking 1). Volgens IWACO (1999) kunnen verhoogde stikstofconcentraties eveneens leiden tot oxidatie van pyriethoudende Pleistocene rivierafzettingen in de bovengrond in Noord- en Midden-Limburg (reactievergelijking 2), waardoor metalen vrijkomen die in het pyriet aanwezig zijn (nikkel, zink, arseen en kobalt (Helvoort *et al.*, z.j)).

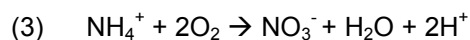


Het nitraat spoelt uit naar het grondwater en reageert vervolgens met pyriet (ijzer(di)sulfide). Bij deze oxidatiereactie wordt onder andere nitraat omgezet in stikstofgas en ijzerhydroxide en sulfaat gevormd. Deze oxidatiereactie verklaart tevens de relatief hoge sulfaatconcentraties (normoverschrijdend) in de zijtakken van de Rijnbeek. Het gevormde ijzer(hydroxide) vormt een complex met fosfaat ($\text{Fe} \sim \text{PO}_4^{3-}$ of $\text{FeO(OH)} \sim \text{PO}_4^{3-}$) waardoor fosfaat niet beschikbaar is. Hoge ijzerconcentraties voorkomen hierdoor eutrofiëring (en algenbloei in de zomermaanden) als gevolg van een hoge fosforbelasting. De pyrietoxidatie is schematisch weergegeven in figuur 30.



Figuur 30: Overzicht van pyrietoxidatie: 1) Ammonium (depositie of bemesting) oxideert tot nitraat waarbij tevens zuur wordt gevormd 2) Pyrietlaag oxideert met behulp van nitraat of zuurstof. 3) Oxidatie van de pyrietlaag leidt onder andere tot de vorming van sulfaat en het vrijkomen van ijzerhydroxide en/of andere zware metalen zoals nikkel, zink en arseen. 4) Door middel van kwel komen de zware metalen en sulfaat in het oppervlaktewater terecht.

Naast pyrietoxidatie is uitloging een bron van zware metalen in oppervlaktewater. De zuurgraad van de bodem is namelijk van invloed op de biologische beschikbaarheid van zware metalen. Een lage pH (< 5) leidt tot het oplossen of neerslaan van calciëet. De zware metalen die in (nikkel) of aan (zink) de structuur van calciëet of organische zuren zitten komen bij oplossing vrij. Als gevolg van zure neerslag (onder andere de omzetting van ammonium naar nitraat waarbij H^+ ionen vrijkomen: reactievergelijking 3) of het vrijkomen van zuur bij pyrietoxidatie, kan uitloging optreden (IWACO, 1999).



Het desorptieproces als gevolg van verzuring wordt ook wel protonbuffering genoemd (Helvoort *et al.*, z.j.). Het opkwellend grondwater bevat hierdoor mogelijk verhoogde gehalten aan zware metalen. Doordat landbouwgronden vaak worden bekalkt treedt buffering van de gevormde zuren op waardoor de invloed van protonbuffering op de relatief hoge concentraties zware metalen waarschijnlijk klein is. In de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal is deze invloed waarschijnlijk het grootst ten opzichte van de andere beken. Als gevolg van de relatief lage pH extra kunnen extra zware metalen in oplossing zijn gekomen. Wellicht is de relatief lage pH in de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal veroorzaakt door een overmatige ammoniumbelasting. Mogelijke bronnen zijn de landbouwgrond (maïs) en het bos langs de beek (extra invang ammoniumdepositie).

Pyrietoxidatie is dus waarschijnlijk de belangrijkste bron voor de metalen nikkel en zink in het oppervlaktewater. Zink heeft echter nog een andere mogelijke herkomst: veevoer bevat vaak zink en koper. Deze zware metalen komen vervolgens via (dierlijke) mest op het land (en in het grond- en/of oppervlaktewater) terecht. Kunstmest is de belangrijkste bron voor cadmium.

Zware metalen in oppervlaktewateren hebben nog andere mogelijke bronnen. Huishoudelijk afvalwater bevat vaak koper als gevolg van corrosie van koperen leidingen. Via directe lozingen of riooloverstorten kan huishoudelijk afvalwater in het oppervlaktewater terechtkomen. Diffuse antropogene belasting is ook van invloed op de concentraties zware metalen in oppervlaktewater. Voorbeelden hiervan zijn lucht- en wateremissies van industriële activiteiten, verkeer, gebiedsvreemd water, atmosferisch blootgesteld koper (dakbedekkingen bijvoorbeeld) en/of emissie van zink uit hemelwaterafvoersystemen of dakbedekkingen (IWACO, 1999). Deze emissies vormen echter geen verklaring voor de hoge concentraties zware metalen in de beken: de invloed van deze bronnen is waarschijnlijk marginaal.

De relatief hoge kopergehalten in het bovenstroomse deel van de Kikvorsbeek versterken de veronderstelling van mogelijke illegale huishoudelijke lozingen in deze beek op basis van onder andere de extreem hoge fosforbelasting. De zijtakken van de Rijnbeek worden onder andere gevoed met kwelwater. Hierdoor lijken de normoverschrijdende concentraties nikkel en zink te wijten aan pyrietoxidatie (figuur 30) en in mindere mate aan uitloging. Wanneer de stikstofbelasting wordt teruggedrongen zal minder pyriet oxideren en minder zuur worden gevormd, waardoor minder zware metalen in het oppervlaktewater terechtkomen. Het terugdringen van de hoeveelheid dierlijke mest leidt waarschijnlijk tot een afname van de concentraties zink en koper. Het terugdringen van het kunstmestgebruik leidt tot een reductie van de cadmiumconcentraties in het oppervlaktewater doordat minder uit- of afspoeeling plaatsvindt.

Bestrijdingsmiddelen en mogelijke bronnen

In de verschillende beken zijn alleen bestrijdingsmiddelen die waarschijnlijk uit de glastuinbouw afkomstig zijn in normoverschrijdende concentraties aangetroffen. Er zijn vijf bestrijdingsmiddelen aangetroffen die verboden zijn. De bestrijdingsmiddelen atrazine en mevinfos zijn vanaf eind 1999 niet meer zijn toegestaan en dichloorvos, simazine en chloridazon vanaf 1 juli 2001. Van deze vijf illegale bestrijdingsmiddelen overschrijden alleen de concentraties mevinfos en dichloorvos het MTR. De exacte herkomst van de aangetroffen bestrijdingsmiddelen is moeilijk te achterhalen, doordat de middelen in diverse teelten worden toegepast en gegevens over het bestrijdingsmiddelengebruik van de telers in het stroomgebied van de Rijnbeek ontbreken. Twee mogelijke bronnen van bestrijdingsmiddelen zijn wel onderzocht, namelijk het grond- en regenwater. In het grondwater zijn geen bestrijdingsmiddelen aangetroffen. Dit in tegenstelling tot de regenwaterbassins. Waarschijnlijk zijn de bestrijdingsmiddelen in de regenwaterbassins terecht gekomen via de condensgootjes in de kassen of via atmosferische depositie. Overstorten van regenwaterbassins vormen dus een mogelijke bron van in het oppervlaktewater aangetroffen bestrijdingsmiddelen. De meeste tuinders gebruiken echter niet regenwaterbassins maar grondwater als gietwater voor het gewas. Overstorten uit regenwaterbuffers vormen dan ook slechts incidenteel een mogelijke route voor de verspreiding van bestrijdingsmiddelen naar het omringende aquatische milieu.

Het is belangrijk zich te realiseren dat het MTR van de bestrijdingsmiddelen dichloorvos, diazinon, β -endosulfan, malathion, mevinfos, parathion-methyl en -ethyl en pentachloorfenol lager ligt dan de detectiegrens (bijlage 4) en een beperkte set van 26 bestrijdingsmiddelen is geanalyseerd. Daarnaast blijft het nemen van monsters een momentopname. Deze gegevens hebben een relatieve waarde: eerder aanwezige stoffen kunnen zijn afgebroken, verdund, vervluchtigd, over andere compartimenten zijn verdeeld of naar het benedenstroomse deel zijn afgevoerd.

Potentieel Aangetaste Fractie soorten (combi-PAF)

De combi-PAF-waarden van de zijtakken van de Rijnbeek zijn relatief hoog (figuur 13). Dit is logisch op basis van de vastgestelde MTR-overschrijdingen: wanneer het MTR is overschreden (en gebaseerd is op dosis respons curves) is het vanzelfsprekend dat PAF-waarden groter zijn dan 5%. Het MTR is gebaseerd op een bescherming van 95% van de soorten.

De combi-PAF-waarde (op basis van bestrijdingsmiddelen en zware metalen) wordt in belangrijke mate bepaald door hoge concentraties aan zware metalen. De zware metalen in de zijtakken van de Rijnbeek zijn dus voor het overgrote deel verantwoordelijk voor de toxische druk waaraan de organismen zijn blootgesteld. Ondanks het terugdringen van de hoeveelheid bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater als gevolg van een aanscherping van het bestrijdingsmiddelenbeleid, zal een behoorlijk percentage soorten waarschijnlijk niet in het water voor kunnen komen als gevolg van de hoge concentraties zware metalen in de zijtakken van de Rijnbeek.

Zelfs de referentielocaties zijn verontreinigd met zware metalen en/of bestrijdingsmiddelen: zowel het Middendijkveenkanaal als de Kikvorsbeek zijn bovenstrooms verontreinigd. De Genraaijbeek diende zowel boven- als benedenstrooms als referentiebeek maar is op beide punten eveneens belast met onder andere zware metalen. PAF-waarden van de bovenstroomse locaties zijn kleiner dan de PAF-waarden van de benedenstroomse locaties. Dit komt doordat er meer kassen langs de beken liggen die verontreinigingen (kunnen) lozen en doordat de hoeveelheid zware metalen die uit de pyrietlaag vrijkomt (nikkel, zink) en in het oppervlaktewater terecht kan komen groter is in het benedenstroomse

deel van de beek. Het oppervlak van waaruit afspoeling plaats kan vinden is eveneens groter in het benedenstroomse deel van de beek waardoor de concentraties zink, koper (beiden uit dierlijke mest) en cadmium (kunstmest) mogelijk toenemen.

De toxiciteitgegevens waarmee de PAF-waarden zijn bepaald, zijn gebaseerd op laboratoriumexperimenten. De extrapolatie van laboratoriumstudies naar veldsituaties gaat gepaard met onzekerheden, met name door de afwijkende en variërende omstandigheden in het veld. De toxiciteit van afbraakproducten van bestrijdingsmiddelen blijft eveneens onbekend. Daarnaast zijn er wellicht ook bestrijdingsmiddelen in de beken aanwezig die niet zijn geanalyseerd of die niet boven de detectiegrens zijn aangetroffen en hierdoor niet bij de bepaling van deze PAF-waarden zijn meegenomen terwijl ze wel een toxische druk in het ecosysteem veroorzaken. Nauwkeurigere detectietechnieken maken de PAF-waarde op basis van bestrijdingsmiddelen betrouwbaarder.

9.1.2 Macrofauna

De dominante macrofaunasoorten in de onderzochte beken indiceren een sterke organische belasting: er zijn veel Tubificidae (borstelwormen) en Chironomidae (vedermuggen) aangetroffen. Uitzonderingen vormen het bovenstroomse deel van de Genraaijbeek, waar zuurstofminnende soorten met de voorkeur voor een lage organische belasting zijn aangetroffen, de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal, waar relatief veel *Assellus* spp. (waterpissebedden) zijn aangetroffen en het benedenstroomse deel van de Kikvorsbeek waar relatief veel *Bivalvia* (tweekleppigen) zijn aangetroffen. De sterke organische belasting van de beken wordt bevestigd door de beoordeling met behulp van de K_{135} -index: met uitzondering van de Genraaijbeek (bovenstrooms) en de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal zijn alle beken slecht tot zeer slecht beoordeeld op basis van de aanwezigheid van indicatorsoorten die duiden op organische verontreiniging en de afwezigheid van indicatorsoorten die duiden op een lage organische belasting. Twee uitzonderingen zijn de twee beken waarin soorten (kokerjuffers, libellenlarven en haften) voorkomen die volgens Spierenburg (2001) onder andere kenmerkend zijn voor biologisch gezonde wateren. Deze twee beken zijn ook als eerste afgesplitst in de TWINSPAN analyse doordat ze de minste overeenkomsten in macrofaunasamenstelling hebben met de andere onderzochte zijtakken van de Rijnbeek. Splitsing vond plaats op basis van de afwezigheid van Chironomidae en Tubificidae. Tenslotte zijn het bovenstroomse deel van de Genraaijbeek en de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal ook de beken die qua soortenverdeling op basis van de trofische niveaus sterk met elkaar overeenkomen. Deze soortenverdeling duidt op een stabiel systeem omdat het soorten bevat die zich relatief hoog in de voedselketen bevinden (carnivoren). Het is belangrijk een verschil tussen het bovenstroomse deel van de Genraaijbeek en de overige monsterpunten in acht te nemen. In tegenstelling tot de overige zijtakken is het bovenstroomse deel van de Genraaijbeek een beekje dat waarschijnlijk niet of in mindere mate gevoed wordt met kwelwater maar met (door een stuwwal) gefilterd regenwater.

9.1.3 Bioassays

Vanwege de grote variatie in het vóórkomen van stoffen, tijdstip en duur van blootstelling is het niet mogelijk om altijd en overal de waterkwaliteit te meten. Voordelen van de toepassing van bioassays zijn dat ze een beeld geven van de effecten van de blootstelling gedurende een periode van 8 dagen en dat de mate van overleving een indicatie geeft van de toxische druk in het oppervlaktewater voor

Daphnia magna. Daarnaast geeft de bioassay een indruk van de combinatietoxiciteit van stoffen (en afbraakproducten van stoffen) en niet gedetecteerde stoffen gedurende een periode van 8 dagen. Een nadeel van de toepassing van bioassays is dat niet exact kan worden achterhaald waaraan de *Daphnia*'s zijn gestorven omdat alleen metingen zijn uitgevoerd aan het begin en het eind van de bioassays. De monsternames geven slechts een indicatie van de oppervlaktewaterkwaliteit op een bepaald moment. In de 8 dagen dat de *Daphnia*'s zijn blootgesteld aan de oppervlaktewaterkwaliteit in de Rijnbeek kunnen lozingen zijn gepasseerd, stoffen zijn afgebroken, vervluchtigd enzovoort. Bovendien is slechts een beperkt aantal bestrijdingsmiddelen geanalyseerd. Het is mogelijk dat andere bestrijdingsmiddelen die door de tuinders zijn gebruikt in het oppervlaktewater terecht zijn gekomen. Waarschijnlijk zijn hierdoor niet alle bestrijdingsmiddelen bekend waaraan de *Daphnia*'s gedurende de bioassays zijn blootgesteld. Het gebied dat de Rijnbeek door middel van lozingen en afspoeling vanuit landbouwgronden kan belasten is groter ten opzichte van de zijtakken. Door de grotere hoeveelheid water in de Rijnbeek vindt echter wel verdunning plaats van instromende concentraties.

Ondanks dat in het najaar niet de piek ligt van het bestrijdingsmiddelengebruik zijn eind november de meeste bestrijdingsmiddelen boven de detectiegrens aangetroffen (tabel 3). Op de eerste dag van de bioassays hebben opschoonwerkzaamheden in enkele beken plaatsgevonden (hele Rijnbeek en OMDVK900). Het opschoonen van de beken in het stroomgebied van de Rijnbeek (20 november) verstoort het ecosysteem en heeft mogelijk invloed gehad op de bioassays. De *Daphnia*'s in de potten die op de kant zijn gelegd (middenstroomse deel van de Rijnbeek) leefden nog. Dit duidt erop dat een te lage temperatuur of een beperkte doorstroming in de potten geen oorzaak is van de sterfte van de *Daphnia*'s op de overige locaties. De temperatuur op de oever is (met name 's nachts) namelijk lager dan de temperatuur van het water.

Het milieu in de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal en het bovenstroomse meetpunt in de Rijnbeek voldeed niet aan de randvoorwaarden die aan de bioassays zijn gesteld. De te lage pH (Middendijkveenkanaal) en het te lage zuurstofgehalte (Rijnbeek) zijn op deze locaties waarschijnlijk de oorzaak (of één van de oorzaken) voor het sterven van de *Daphnia*'s. De sterfte van de *Daphnia*'s op de overige locaties is vermoedelijk veroorzaakt door de zware metalen en/of bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater.

Om een eerste indruk te krijgen van de oorzaak van de sterfte van de *Daphnia*'s zijn de concentraties van de bestrijdingsmiddelen en zware metalen nikkel, zink, koper en cadmium vergeleken met de NOEC's en LC₅₀-waarden van deze stoffen voor *Daphnia magna* (bijlage 15). Hieruit blijkt dat de concentraties nikkel de NOEC overschrijden in het benedenstroomse deel van de Kikvorsbeek, het Middendijkveenkanaal en het middenstroomse meetpunt in de Rijnbeek. De zinkconcentratie in het benedenstroomse deel van het Middendijkveenkanaal overschrijdt eveneens de NOEC. Deze langdurende chronische toxiciteitstoetsen (niet primair op sterfte van organismen gericht) zijn in laboratoria uitgevoerd onder standaard condities en met slechts één toxische stof. De extrapolatie van de gegevens naar het veld is hierdoor lastig: in het veld zijn de milieuomstandigheden wisselend en zijn meerdere toxische stoffen aanwezig die elkaars werking mogelijk beïnvloeden. De LC₅₀-waarden worden niet overschreden. De concentraties zware metalen zijn waarschijnlijk constanter gedurende de acht dagen van de bioassay dan de bestrijdingsmiddelenconcentraties, die vooral door periodieke (punt)lozingen sterk kunnen variëren en mogelijk niet worden gemeten (afhankelijk van het bemonsteringstijdstip). Niet voor alle aangetroffen bestrijdingsmiddelen zijn toxiciteitsgegevens voor *Daphnia magna* beschikbaar. Vergelijking van de gemeten concentraties met de beschikbare toxiciteitsgege-

vens laat zien dat alleen NOEC's worden overschreden in het bovenstroomse deel van de Kikvorsbeek (dichloorvos) en het midden- en benedenstroomse deel van de Rijnbeek (in beide gevallen pirimicarb). De sterfte van de *Daphnia*'s is mogelijk veroorzaakt door bijvoorbeeld kortdurende hoge belastingen van bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater.

In tabel 10 zijn de mogelijke oorzaken van de sterfte van de *Daphnia*'s tijdens de bioassays schematisch weergegeven.

Tabel 10: Overzicht van de mogelijke oorzaken van de sterfte van *Daphnia magna* tijdens de bioassays. Weergegeven is of niet (-) of wel (+) aan de randvoorwaarden is voldaan en of de concentraties zware metalen en bestrijdingsmiddelen niet (+) of wel de NOEC's (?) of LC50-waarden (-) overschreden.

	OKIKV100	OKIKV900	OZTMD800	OMDVK900	OGENR100	OGENR900
<i>Randvoorwaarden</i>	+	+	-	+	+	+
<i>Zware metalen</i>	+	?*	?*	?*	+	+
<i>Bestrijdingsmiddelen</i>	?*	+	+	+	+	+
	ORIYN090	ORIYN200**	ORIYN400			
<i>Randvoorwaarden</i>	-	+	+			
<i>Zware metalen</i>	+	?*	+			
<i>Bestrijdingsmiddelen</i>	+	?*	?*			

* Een overschrijding van de NOEC's hoeft niet gepaard te gaan met sterfte van de *Daphnia*'s binnen 8 dagen.

** Potten teruggevonden op de slootkant

Het feit dat de *Daphnia*'s in de meeste beken niet kunnen overleven kan met name gevolgen hebben voor de waterkwaliteit in de zomermaanden wanneer algen gaan groeien. Doordat algen niet kunnen worden gegeten door de *Daphnia*'s kan algenbloei ontstaan.

De bioassays kunnen niet als vervanging dienen van het bestrijdingsmiddelenonderzoek omdat geen directe link kan worden gelegd tussen de sterfte van de *Daphnia*'s en de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater. De bioassays zouden kunnen dienen als een communicatiemiddel met de doelgroep (agrariërs). Omdat de sterfte van de *Daphnia*'s tijdens dit experiment echter niet direct te relateren is aan de bestrijdingsmiddelenconcentraties in de beken zijn de bioassays in het stroomgebied van de Rijnbeek niet geschikt als communicatiemiddel met de doelgroep.

9.1.4 Correlatie tussen de variatie in macrofaunasamenstelling en fysisch/chemische parameters

De relatie tussen de macrofaunasamenstelling en de omgevingsfactoren kan niet volledig worden verklaard met behulp van de CANOCO ordinatiediagrammen. Uit het ordinatiediagram komt duidelijk naar voren dat de variatie in de macrofaunasamenstelling in de Genraaijbeek is gerelateerd aan een lage organische belasting in deze beek. De macrofaunasoorten in de overige beken duiden daarentegen op een hoge organische belasting. De variatie in macrofaunasamenstelling correleert in deze beken (uitgezonderd het bovenstroomse deel van de Kikvorsbeek) volgens CANOCO vooral met de variatie in de PAF-waarden en de zuurstofconcentraties in het veld. De macrofaunasamenstelling in de Kikvorsbeek is echter vooral gecorreleerd aan het hoge sulfaatgehalte en het gebrek aan waterplanten.

Een probleem met CANOCO in dit onderzoek is dat relatief veel variabelen en weinig monsterpunten beschikbaar zijn. Het beperkte aantal meetpunten is een mogelijke verklaring voor het ontbreken van een statistisch significante onderbouwing van de relatie tussen het aantal insecten- en mijtentaxa, het aantal wormen- en slakcentaxa en het aantal MTR-overschrijdingen van insecticiden en acariciden. Het aantal insecten- en mijtentaxa correleert negatief met een toenemend aantal MTR overschrijdingen. Dit in tegenstelling tot het aantal wormen- en slakcentaxa dat juist positief correleert met een toenemend aantal MTR-overschrijdingen van insecticiden en acariciden. Waarschijnlijk is dit te wijten aan een lagere gevoeligheid voor deze bestrijdingsmiddelen en een toename van de hoeveelheid voedsel in de vorm van bijvoorbeeld algen als gevolg van een afname in begrazing door kreeftachtigen en insecten (indirect effect).

Over het algemeen lijkt de macrofaunasamenstelling in de beken bepaald te worden door de organische belasting. Op basis van de resultaten is het grootste deel van de toxische druk in de beken te wijten aan de concentraties zware metalen in de beken. De (normoverschrijdende) bestrijdingsmiddelen lijken echter het voorkomen van soorten, die ondanks de hoge concentraties zware metalen en nutriënten kunnen overleven in het oppervlaktewater, negatief te beïnvloeden (figuur 28). Wanneer de hoeveelheid nutriënten en de concentraties zware metalen worden teruggedrongen zal het effect van het beperken van bestrijdingsmiddelen, als gevolg van het alsmaar strenger wordende bestrijdingsmiddelenbeleid, in het oppervlaktewater waarschijnlijk groter zijn. De concentraties zware metalen en bestrijdingsmiddelen kunnen zowel een direct als indirect effect hebben op de macrofauna in de beken. Directe effecten hebben betrekking op de groei, overleving en/of reproductie van soorten. Indirecte effecten zijn ecologische effecten die het gevolg zijn van de afname in activiteit en/of dichtheid van voor de toxische stof(fen) gevoelige organismen (Van Wijngaarden *et al.*, 1998). Dit leidt tot veranderingen in de concurrentieverhoudingen tussen soorten. De toename van het aantal slakken en wormensoorten in met insecticiden belaste oppervlaktewateren is een voorbeeld van een indirect effect evenals de mogelijke algenbloei. Het verschijnsel in gestresste ecosystemen dat minder gevoelige soorten de rol van verdwenen soorten overnemen noemt men functionele redundantie (Levine, 1989). De gevoeligheid van soorten is onder andere afhankelijk van de levenscyclus van de soorten. De generatietijd, het bezit van relatief ongevoelige levensstadia en de mogelijkheid om actief tussen ecosystemen te migreren spelen hierbij een belangrijke rol. Dit beïnvloedt tevens de mogelijkheid tot herkolonisatie van sloten (Van Wijngaarden *et al.*, 1998).

Bij dit onderzoek ontbreekt een goede referentielocatie. Dit bemoeilijkt het aantonen van effecten van bestrijdingsmiddelen op de macrofauna in de beken. De onderzochte beken zijn allemaal matig tot (zeer) sterk verontreinigd. Het is onbekend welke soorten in dit gebied aanwezig zouden zijn in een schoon (vrijwel onbelast) milieu. Alleen de (potentiële) soorten op basis van streefbeelden zijn bekend. Bovendien is de macrofaunasamenstelling beïnvloed door eerdere verontreinigingen (vóór april 2001) waarvan de effecten wellicht nog merkbaar zijn. Vandaar dat in dit onderzoek de gemiddelde belasting over de periode april tot november 2001 als indicatie dient voor de belasting van de beken.

Naast de stoffen zijn ook de stroming, het substraat en de structuur van de beken van invloed op de macrofaunasamenstelling. De relatief lage stroomsnelheden, de sliblaag of het vele detritus op de bodem en de relatief steile oevers beperken de ontwikkeling van 'gezonde' macrofaunagemeenschappen in de zijtakken van de Rijnbeek ongeacht de mate van verontreiniging. De herstelmogelijkheden ten aanzien van de waterkwaliteit van de zijtakken van de Rijnbeek lijken vooral afhankelijk van de mogelijkheden om de hoeveelheid nutriënten terug te dringen. Dit kan tevens leiden tot een verlaging van de concentraties zware metalen in het oppervlaktewater, omdat de oxidatie van de pyrietlaag door nitraat afneemt. Evenals de Rijnbeek zelf (cenotype Gc) worden de meeste zijtakken van de Rijnbeek gekarakteriseerd door veel Chironomidae (vedermuggen). Door middel van het verbeteren van de zuurstofhuishouding en het terugdringen van de hoeveelheid nutriënten is het mogelijk een Ge-cenotype te ontwikkelen. Slakken, kreeftachtigen en vertermuggen hebben een belangrijk aandeel in de gemeenschap van het Ge-cenotype. Dominerende soorten zijn onder andere *Asellus aquaticus*, *Radix peregra*, Tubificidae en *Erpobdella octoculata*. Het streefbeeld van de Rijnbeek zelf is een LSb cenotype. Om dit cenotype te bereiken zal naast het terugdringen van de hoeveelheid nutriënten en het verbeteren van de zuurstofhuishouding echter een meandering van de beek en een toename van de stroomsnelheid nodig zijn. Dit streefbeeld lijkt momenteel niet realistisch voor de zijtakken van de Rijnbeek.

9.2 Conclusies

De belangrijkste conclusies die naar aanleiding van het onderzoek in het stroomgebied van de Rijnbeek kunnen worden getrokken zijn als volgt:

- In de beken zijn negen verschillende bestrijdingsmiddelen aangetroffen waarvan vijf insecticiden (parathion-ethyl, dichloorvos, simazine, mevinfos en pirimicarb), drie herbiciden (atrazine, dichlobenil en chloridazon) en één fungicide (chloorthalonil). Alleen de insecticiden pirimicarb (ORIIN200 & ORIIN400), dichloorvos (OKIKV100), mevinfos (OKIKV900) en parathion-ethyl (OGENR900, OKIIV900 & OMDVK900) overschreden het MTR. Deze bestrijdingsmiddelen zijn (waarschijnlijk) allemaal afkomstig uit de glastuinbouw.
- Ondanks een verbod op het gebruik van de bestrijdingsmiddelen atrazine, mevinfos, dichloorvos, simazine en chloridazon zijn deze aangetroffen in het oppervlaktewater.
- De hoge concentraties nikkel en zink zijn waarschijnlijk veroorzaakt door pyrietoxidatie. De pyrietoxidatie wordt onder andere gestimuleerd door hoge stikstofconcentratie. Dit leidt tevens tot hoge sulfaatconcentraties (> MTR) in het oppervlaktewater van de Rijnbeek. Uit- en afspoeling van dierlijke mest vormt een belangrijke bron voor zink en koper en kunstmest voor cadmium.
- De beken zijn in meer of mindere mate belast met nutriënten (N & P), zware metalen en/of bestrijdingsmiddelen.

- De concentraties stikstof, fosfor en zware metalen (zink, koper, nikkel en cadmium) overschreden het MTR in alle beken.
- In het bovenstroomse deel van de Kikvorsbeek wordt waarschijnlijk illegaal huishoudelijk afvalwater geloosd.
- De relatief hoge Potentiëel Aangetaste Fractie soorten (minimaal 32% in de zijtakken van de Rijnbeek) is vooral het gevolg van de normoverschrijdende concentraties zware metalen.
- De PAF-waarde van de benedenstroomse locaties is groter dan die van de bovenstroomse locaties (in de zijtakken van de Rijnbeek).
- Met uitzondering van het bovenstroomse deel van de Genraaijbeek en de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal is de macrofauna in de beken typerend voor beken met een hoge organische belasting.
- Het bovenstroomse deel van de Genraaijbeek en de 2^e zijtak van het Middendijkveenkanaal zijn relatief gezien de meest gezonde ecosystemen. De bioassays bevestigen dit beeld in het bovenstroomse deel van de Genraaijbeek.
- Het oppervlaktewater in het stroomgebied van de Rijnbeek is (met uitzondering van het bovenstroomse deel van de Genraaijbeek) toxisch voor *Daphnia magna*. Mogelijke oorzaken van de sterfte zijn de (pieklozingen van) bestrijdingsmiddelen en zware metalen.
- De bioassays kunnen niet als vervanging dienen van het bestrijdingsmiddelenonderzoek en zijn niet geschikt als communicatiemiddel met de doelgroep (agrariërs) omdat geen directe link kan worden gelegd tussen de sterfte van de *Daphnia*'s en de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater.
- Normoverschrijdende bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater lijken het vóórkomen van macrofaunasoorten, die ondanks de hoge concentraties zware metalen en nutriënten kunnen overleven, negatief te beïnvloeden: het aantal mijten- en insectentaxa correleert negatief terwijl het aantal wormen- en slakcentaxa juist positief correleert met een toenemende hoeveelheid normoverschrijdende insecticiden en acariciden. Beide relaties zijn niet significant.
- Het effect van het terugdringen van bestrijdingsmiddelenconcentraties in het oppervlaktewater, als gevolg van het alsmaar strenger wordende bestrijdingsmiddelenbeleid, zal waarschijnlijk groter zijn wanneer met name de hoeveelheid nutriënten en de concentraties zware metalen worden teruggedrongen. De macrofaunagemeenschap zal dan ook eerder herstellen.
- Naast de stoffen zijn ook de stroming, het substraat en de structuur van de beken van invloed op de samenstelling van het ecosysteem waaronder de macrofaunasamenstelling. De relatief lage stroomsnelheden, de sliblaag en de relatief steile oevers beperken de ontwikkeling van 'gezonde' macrofaunagemeenschappen in de zijtakken van de Rijnbeek ongeacht de mate van verontreiniging.
- Een statistisch significante onderbouwing van de negatieve invloed van bestrijdingsmiddelen op de macrofauna in het stroomgebied van de Rijnbeek ontbreekt als gevolg van het beperkte aantal meetpunten en de vele variabelen.
- Verontreinigd grondwater is geen waarschijnlijke bron van bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater.
- Overstorten van regenwaterbassins vormen incidenteel een mogelijke bron van bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater omdat de meeste tuinders grondwater gebruiken als gietwater voor het gewas.

9.3 Aanbevelingen

Naar aanleiding van het onderzoek volgt een aantal aanbevelingen met betrekking tot verder onderzoek en monitoring in de (nabije) toekomst:

- De afdeling Vergunningen & Handhaving van het Zuiveringschap Limburg dient de (mogelijke) huishoudelijke lozing in het bovenstroomse deel van de Kikvorsbeek te controleren en indien deze plaatsvindt te beëindigen.
- De zijtakken van de Rijnbeek dienen in mei en november 2002 opnieuw fysisch/chemisch bemonsterd te worden. Dit geeft een opnieuw een beeld van het bestrijdingsmiddelengebruik waaruit af te leiden is of de bestrijdingsmiddelen die niet meer mogen worden toegepast nog steeds worden gebruikt. Tevens is het nuttig om na te gaan of het effect van het stoppen van de huishoudelijke lozing zichtbaar is.
- Wanneer opnieuw wordt bemonsterd, dient het zwevende-stofgehalte van alle monsters te worden bepaald. Daarnaast dient een waterbodemonderzoek in het stroomgebied van de Rijnbeek te worden uitgevoerd.
- Om een indruk te krijgen van de invloed van de kwel op de concentraties zware metalen in de beken kunnen de arseenconcentraties worden bepaald. De neerslag van ijzerhydroxide heeft tot gevolg dat de gemeten ijzerconcentraties lager uitvallen. Het meten van ijzer is hierdoor minder geschikt om te relateren aan de pyrietoxidatie (Helvoort *et al.*, z.j.). Sulfaat wordt niet beïnvloed door neerslagreacties en zou daarom kunnen worden gebruikt om de concentraties zware metalen te relateren aan de pyrietoxidatie. In het veld zijn echter meerdere bronnen van sulfaat van invloed zoals de pyrietoxidatie als gevolg van het droogvallen van de beken (oxidatie met behulp van zuurstof in plaats van nitraat) of atmosferische depositie (luchtverontreiniging als gevolg van verkeer, industriële activiteiten).
- Om het effect van bestrijdingsmiddelen op de macrofauna te onderzoeken kan beter worden gekozen voor een onderzoeksopzet waarbij een groter aantal locaties wordt bestudeerd waarvan tevens fysisch/chemische gegevens (uit dezelfde periode) beschikbaar zijn. Dit kunnen locaties uit verschillende stroomgebieden zijn. De onderzoeksopzet moet beter worden afgestemd op het doel van het onderzoek. Alleen op deze wijze is een statistisch significante onderbouwing van de hypothese dat bestrijdingsmiddelen een negatieve invloed hebben op de macrofaunasoortensamenstelling mogelijk.
- Het vinden van een goede referentielocatie (mogelijk buiten het stroomgebied van de Rijnbeek) vergroot het inzicht in de effecten van verontreinigingen omdat bekend is welke soorten in de (onbelaste) beken voor zouden kunnen komen. Er dient een referentiebeek te worden gekozen zonder verontreinigende stoffen in het water maar met onder andere steile oevers en een geringe stroomsnelheid (overeenkomstige morfologie en structuur) zodat de invloed van de verontreinigde stoffen duidelijker wordt.
- Wanneer de bioassays slechts ter indicatie worden gebruikt kunnen tevens zelfgekweekte *Daphnia*'s worden gebruikt (zoals bij het RIZA in Lelystad).
- Wanneer de bioassays vaker worden gebruikt is het nuttig te informeren naar de aanschaf van biokorven (Kamps-Mulder *et al.*, 1996). De biokorf is ontwikkeld door het RIZA, heeft een betere doorstroming, is duurzamer en uitermate geschikt voor diepere wateren maar minder geschikt voor de relatief ondiepe zijtakken van de Rijnbeek.

- Voordat bioassays worden ingezet, dient men na te gaan of in de betreffende periode opschonningsactiviteiten in de beken plaatsvinden door te informeren bij de bevoegde instantie (Waterschap).
- De resultaten van dit onderzoek kunnen mede worden gebruikt om de doelgroep (agrariërs) bewust te maken van het effect van een slechte oppervlaktewaterkwaliteit op de organismen in het beekecosysteem als gevolg van onder andere de grote hoeveelheid nutriënten, hoge concentraties zware metalen en normoverschrijdende bestrijdingsmiddelenconcentraties.

Literatuurlijst

- Aber, J.D., K.J. Nadelhoffer, P. Steudler & Melillo (1989). Nitrogen saturation in northern forest systems. *Bioscience*, 39, 378-386.
- Asselbergs, D.J.M., S. van Nierop, P.A. Oomen & P.F.J. Oostelbos (1996). Gewasbeschermingsgids. Handboek voor de bestrijding van ziekten, plagen en onkruiden en de toepassing van groeiregulatoren in de land- en tuinbouw en het openbaar groen. Plantenziektenkundigedienst, Wageningen, 631 pp.
- Baltus, C., P. de Graaf, M. Talsma & M. Tonkes (2001). Acute toxiciteitstesten: zinvol voor inzicht in milieubezwaarlijkheid van afvalwater. *H₂O* 2001, nr. 9: p 20-23.
- Bellmann, H. (1988). *Leben in Bach und Teich. Pflanzen und Wirbellose der Kleingewässer*. Steinbachs Naturführer; 285 S; Mosaik Verlag. München.
- Bis, B., V. Olejnik, J. Majecki, L.W.G. Higler & P.F.M. Verdonschot (1992). Distribution pattern and structure of Trichoptera assemblages in the Lubrzanka river (Swietokrzyskie Mountains, central Poland). -Proc. 7th Int. Symp. Trichoptera:213-217.
- Bobbink, R., M. Hornung & J.G.M. Roelofs (1998). The effects of air-born nitrogen pollutants on species diversity in natural and semi-natural vegetation – a review. *Journal of ecology*, 86, 717-738.
- Bok, C.F.M. de, M. Gorree, J. de Leeuw, W.L.M. Tamis & K.J. Canters (1996). Relatie tussen bestrijdingsmiddelen en biota in oppervlaktewater: een haalbaarheidsstudie naar toepassingsmogelijkheden van multivariate analysetechnieken. CML rapport 127, STOWA rapport 96-16. Leiden: Centrum voor Milieukunde, Utrecht: STOWA.
- Chapman, P.M., A. Fairbrother & D. Brown (1998). A critical evaluation of safety (uncertainty) factors for ecological risk assessment. *Env. Tox. And Chem.*, 17, no.1, p 99-108.
- Copius Peereboom, J.W. (1994). *Basisboek milieu en gezondheid*. Uitgeverij Boom, Amsterdam.
- Crommentuijn, T., M.D. Polder & E.J. van de Plassche (1997). Maximum Permissible Concentrations and Negligible Concentration for metals, taking background concentrations into account. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Bilthoven.
- Cuppen, H.P.J.J. (1980). De Macrofauna in een aantal droogvallende- en permanente stilstaande wateren in het ruilverkavelingsgebied Brummen-Voorst. -Regionale milieu-raad Oost-Veluwe.
- Dijk, H.F.G. van & F.A.M. de Haan (1997). Risico's van bestrijdingsmiddelen voor grondwater-ecosystemen, *H₂O* 1997, volume 30, nr. 5: p155-159.
- Dyduch-Falniowska, A. (1982). Oscillations in density and diversity of Pisidium communities in two biotopes in Southern Poland. *Hydrobiological bull.* 16(2-3):123-132.
- Edington, J.M. (1964). The taxonomy of British Polycentropid larvae (Trichoptera). -Proc.Zool.Soc. London 143: 281-300.
- European Environment Agency (1999). Environment in the European Union at the turn of the century; Environmental assessment report nr. 2. European Environment Agency. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.
- Fritz, H.G. (z.j). Über die mückenfauna eines temporären stechmückenbrut-gewässers des Naturschutz-gebietes 'Kühkopf Knoblochsau'. -Hessische Faunistische Briefe 1(3):38-49.

- Geus - van der Eijk, J.G. de (1997). De watervlooiëntoets, een oriënterend onderzoek naar de bruikbaarheid in akkerbouwgebieden. Eijkpunt, Laboratorium voor methodisch grond- en gewasonderzoek, in opdracht van Zuiverings-schap Hollandse Eilanden en Waarden. Mookhoek.
- Geus - van der Eijk, J.G. de (1998). De watervlooiëntoets II, een vervolgonderzoek naar de bruikbaarheid in akkerbouwgebieden. Eijkpunt, Laboratorium voor methodisch grond- en gewasonderzoek, in opdracht van Zuiverings-schap Hollandse Eilanden en Waarden. Mookhoek.
- Gorter, M. & J. Mangelaars (1994). Het water uitgevlood, toxiciteitstoetsen met watervlooiën in het veld 1990 – 1993. Hoogheemraadschap van Delfland, Technische Dienst, Bureau Oppervlaktewater. Delft.
- Grzimek, B. (1974). (Nederlandse vertaling van de duitse versie uit 1969) Het leven der dieren. Encyclopedie van het dierenrijk Band II: Insekten.-Spectrum.
- Hamers, T., T. Aldenberg & D. van de Meent (1996). Definition Report – Indicator Effects Toxic Substances (I_{tox}). Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Bilthoven.
- Hartog, den, C. (1962). De Nederlandse platwormen (Tricladida). - Wet. mededelingen K.N.N.V. 42.
- Hawkes H.A. (1979). Invertebrates as indicators of riverwater quality.; Hfdst.2 in James,A. & L.Evinson (ed.). Biological indicators of waterquality. -John Wiley & Sons, Ltd.
- Hellawell, J. M. (1986). The biological indicators of freshwater pollution and environmental management. Pollution monitoring series Elsevier applied science, London & New York 546 pp.
- Helvoort, P.J. van, H.P. Broers, P.N.M. Schipper & C.A.J. Capello (z.j.). Zware metalen in het groundwater: pyrietoxidatie en desorptie (1). Veld- en Laboratoriumonderzoek.
- Houdijk, A.L.F.M. & J.G.M. Roelofs (1991). Deposition of acidifying and eutrophicating substances in Dutch forests. Acta Botanica Neerlandica, 40, 245-255.
- IWACO (1999). Bijzonder Inventariserend Onderzoek - nikkel, zink en arseen in waterbodems in ZO-Nederland. 's-Hertogenbosch.
- Jong, F.M.W. de, J.W. Deneer & W.L.M. Tamis (2000). Veldbioassays, Ontwikkeling van een richtlijn voor veldbioassays met watervlooiën en waterplanten voor het aantonen van bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater. CML rapport 150, Alterra rapport 061. Uitgeverij Grafisch Bedrijf, Leiden.
- Kamps-Mulder, M.A.A.J., A.J. Hendriks, C. van de Guchte (1996). Ontwikkeling van de Biokorf voor de biologische kwaliteitsbeoordeling van oppervlaktewater. Experimenten in laboratorium en veld met dimethoat en de watervlo *Daphnia magna* (Crustacea). H₂O (29), nr. 22.
- Klink, A.G. & H.C. Dudok van Heel (1993). Macro-invertebraten op de bodem van het Hollandsch diep-Haringvliet. Onderzoek naar de soortensamenstelling, dichtheden, biomassa, jaarcyclus, produktie en methodiek. -Publ. Rapp. ecologisch herstel Rijn 48-1993:52pp + 8 bijlage.
- Lamers, L.P.M. (2001). Tackling biogeochemical questions in peatlands, chapter 6: The restoration of fens in the Netherlands, 71-104.
- Levine, S.N. (1989). Theoretical and methodological reasons for variability in the responses of aquatic ecosystem processes to chemical stress. In: Levin, S.A., M.A. Harwell, J.R. Kelly & K.D. Kimball (eds.). Ecotoxicology: Problems and approaches. Springer-Verlag, New York, pp. 145-179.
- Merkelbach, R.C.M. & J.S.C. Wiskerke (1998). Regionale milieubelasting door gewasbeschermingsmiddelen uit de landbouw in Noord-Brabant; een analyse aan de hand van de Milieumeetlat voor bestrijdingsmiddelen. DLO-Staring Centrum. Rapport 565.
- Mill, G.M.J. van (2000). Brede Screening Bestrijdingsmiddelen 2000, Een onderzoek naar het voorkomen van bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater van de provincie Noord-Brabant, Waterschap de Maaskant, Hoogheemraad-

schap van West-Brabant, Waterschap de Aa, Waterschap de Dommel, Hoogheemraadschap Alm en Biesbosch, Provincie Noord-Brabant.

- Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij (1990). Meerjarenplan Gewasbescherming. Tweede Kamer, Vergaderjaar 1990-1991, 21.677. nrs. 1-4, SDU-uitgeverij, Den Haag.
- Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij (2001). Zicht op gezonde teelt, gewasbeschermingsbeleid tot 2010, Offset, Den Haag.
- Ministerie van Verkeer en Waterstaat (1998). Vierde Nota waterhuishouding – Regeringsbeslissing. Ando bv, Den Haag.
- Ministerie van Verkeer en Waterstaat (2000). Lozingenbesluit open teelt en veehouderij, Voor een betere kwaliteit van sloten, beken en plassen en ander oppervlaktewater. Adequaat communicatie-adviseurs bv.
- Ministerie van Volkshuisvesting Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer (1994). Lozingenbesluit Wvo glastuinbouw, Staatsblad van het koninkrijk der Nederlanden 699, SDU-uitgeverij, Den Haag.
- Ministerie van Volkshuisvesting Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer (1989). Omgaan met risico's. Tweede Kamer, Vergaderjaar 1988-1989, nrs. 5, 21.137, SDU-uitgeverij, Den Haag.
- Ministerie van Volkshuisvesting Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer, Ministerie van Economische Zaken, Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij & Ministerie van Verkeer en Waterstaat (2001). Milieuprogramma 2002-2005. Tweede Kamer, vergaderjaar 2001-2002, 28 0003, nrs. 1-2, SDU-uitgeverij Den Haag.
- Moller Pillot, H.K.M. & R.F.M. Buskens (1990). De larven der Nederlandse Chironomidae (Diptera) DeelC:Autoekologie en verspreiding. - Ned.faunistische mededelingen 1C.
- Ragas, A.M.J. & R.S.E.W. Leuven (1992). Bestrijdingsmiddelen: van gewasbescherming naar milieubeheer, verslag van het symposium gehouden op 30 januari 1992 aan de KUN, Vakgroep Milieukunde, Faculteit der Natuurwetenschappen, Katholieke Universiteit Nijmegen.
- Reus, J.A.W.A. (1995). De meetlat langs het bestrijdingsmiddelengebruik, H₂O 1995, volume 28, nr. 24: p25-30.
- Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, EFTEC, NTUA & IIASA (2000). European Environmental Priorities: an Integrated Economic and Environmental Assessment. RIVM-rapportnr. 481505010, Bilthoven.
- Rijksinstituut voor volksgezondheid en milieu (2000^a). Milieubalans 2000 – Het Nederlandse milieu verklaard. Samsom bv, Alphen aan den Rijn.
- Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (2000^b). Nationale Milieuverkenning 5: 2000-2030. Samsom bv, Alphen aan den Rijn.
- Rijkswaterstaat RIZA (2001). Gebruikers Handleiding Informatiesystemen, iBever versie 2.3.
- Schrap, S.M., M.A. Beek & A.C. Belfroid (1998^a). Risico's van omzettingsproducten van bestrijdingsmiddelen voor het aquatisch milieu, H₂O 1998, volume 9, p25-30.
- Schrap, S.M., R. Faasen & I.L. Freriks (1998^b). Bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater; vals positieven bij chemische analyses, H₂O 1998, volume 16, p15-17.
- Snoo, G.R. de & F.M.W. de Jong (red.) (1999). Bestrijdingsmiddelen en milieu. Uitgeverij Jan van Arkel, Utrecht.
- Stuurgroep Integrale Normstelling Stoffen (1999). Integrale Normstelling Stoffen - Milieukwaliteitsnormen bodem, water, lucht. Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer, Ministerie van Economische Zaken, Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij, Ministerie van Verkeer en Waterstaat, Den Haag.

- Spierenburg, P. (2001). Zuiveringsschap Hollandse Eilanden en Waarden, Waterkwaliteit en macrofauna in glastuinbouwgebieden, rapportage 1990-1999. Dordrecht.
- Straalen, N.M. van & J.A.C. Verkleij (1991). Leerboek Oecotoxicologie, VU Uitgeverij, Amsterdam.
- Teunissen-Ordeman, H.G.K., S.M. Schrap & P.C.M. van Noort (1996). Bestrijdingsmiddelen zeer schadelijk voor aquatisch milieu, H₂O 1996, volume 29, nr. 23: p684-687.
- Vaillant, F., 1978. Psychodidae. In Illies, J. (1978). Limnofauna Europaea.
- Velde, G. van der & A.J. Kempers (2001). Syllabus 'Ecologie en beheer van de grote rivieren'. Nijmegen: Dictatencentrale Katholieke Universiteit Nijmegen.
- Verdonshot, P.F.M. (1990). Ecologische karakterisering van oppervlaktewateren in Overijssel. Het netwerk van cenotypen als instrument voor ecologisch beheer, inrichting en beoordeling van oppervlaktewateren. Provincie Overijssel, Zwolle; Rijksinstituut voor Natuurbeheer, Leersum.
- Verdonshot, P.F.M., R.C. Nijboer, S.N. Janssen & M.W. van den Hoorn (2000). Ecologische typologie, ontwikkelingsreeksen en waterstreefbeelden Limburg, Alterra-rapport 171.1, Wageningen.
- Verhaar, H.J.M., C.J. van Leeuwen & J.L.M. Hermens (1992). Classifying environmental pollutants – structure-activity relationships for prediction of aquatic toxicity. Chemosphere 25(4): 471-491.
- Wagner, R., 1978. Ptychopteridae. In Illies, J., 1978. Limnofauna Europaea [172]
- Wesenberg-Lund, C. 1939 (reprint 1982). Biologie der süßwassertiere. Wirbellose tiere. Julius Springer, Wien; Cramer, Braunschweig; Koeltz, Koenigstein.
- Wiegman, W. (2001). Waterschap Groot Salland beoordeelt effluent rwzi met Toxbox, H₂O 2001, nr. 17: p16-18.
- Wijngaarden van, R.P.A., G.J. van Geest & T.C.M. Brock (1998). Ecologische risico's van bestrijdingsmiddelen in zoetwatersystemen. Deel 2: insecticiden. Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer (STOWA), rapportnr. 98 31. Zoetermeer
- Zuiveringsschap Hollandse Eilanden en Waarden (1989). rapport van Hydrobiologisch onderzoek bij voormalige rubberstortplaats aan de Oudenhoornse zeedijk te Oudenhoorn. -Ongepubl. intern rapport Zuiveringsschap Hollandse Eilanden en Waarden.
- Zuiveringschap Limburg (1999), Afdeling Waterkwaliteitsbeheer & Afdeling Vergunningen en Handhaving, Onderzoek naar gewasbeschermingsmiddelen in het stroomgebied van de Rijnbeek bij Venlo. Roermond.
- Zuiveringschap Limburg (2000). Laboratoriumonderzoek, Methoden en Tarieven 2001. Facilitaire Afdeling – Laboratorium. Roermond.
- Zwart, de (2002). Observed Regularities in Species Sensitivity Distribution for Aquatic Species. In: Posthuma, L., G.W. Suter II & T.P. Traas (2002). Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology, chapter 8, pp. 133-154. CRC Press Company, Washington D.C.

- Internetsites:

- WWW1, april 2002. Ecotoxicologische toetsing als onderdeel van de TRIADE-benadering voor zoet water sedimenten, TNO voeding, <http://www.voeding.tno.nl/PS.cfm?PNR=089n>.
- WWW2, april 2002. Gewasbeschermingbeleid, LTO-Nederland, <http://www.gewasbescherming.nl/index5.html>.
- WWW3, april 2002. Definitieve prioriteitenstelling, College voor de Toelating van Bestrijdingsmiddelen:, <http://www.ctb-wageningen.nl/priobew.html#E12E4>.
- WWW4, april 2002. Over het CTB, College voor de Toelating van Bestrijdingsmiddelen, <http://www.bib.wau.nl/ctb/about.html>
- WWW5, april 2002. Verordening HPA registratie gewasbeschermingsmiddelen 1999, Hoofdproductschap Akkerbouw, <http://www.hpa.nl/main/akkerbouw/index.htm>
- WWW6, april 2002. Landbouw gebruikt minder chemische bestrijdingsmiddelen, Centraal Bureau voor de Statistiek, <http://www.cbs.nl/nl/publicaties/artikelen/algemeen/webmagazine/artikelen/2002/0895k.htm>
- WWW7, april 2002. Normen voor oppervlaktewater volgens NW4, startpagina bestrijdingsmiddelen, normen, http://members.tripodnet.nl/bestrijdingsmiddelen/normen_voor_oppervlaktewater.pdf.
- WWW8, april 2002. Studies on isle of wight rivers and streams, Medina Valley Centre, http://www.field-studies.org.uk/river_studies.htm.
- WWW9, april 2002. Fotogalerie, Arbeitsgemeinschaft Rheinischer Koleopterologen, <http://www.koleopterologie.de/gallery/fhl03/helophorus-grandis-foto-koehler.jpg>
- WWW10, april 2002. Apple snails, Stijn Gesquiere, http://www.applesnail.net/content/snails_various.htm
- WWW11, april 2002. Department of entomology, University of Nebraska, http://www.entomology.unl.edu/marine_insects/chironomus.gi
- WWW12, april 2002. Bioweb, Lycee Michel-Rodange, <http://www.bioweb.lu/sapro/tubifex2.gif>
- WWW13, april 2002. Gewassergüte, Bayern, http://www.bayern.de/wwa-ho/wa_wi/gew_guet/bild/limephil.gif

- Persoonlijke mededelingen:

- Maanen, B. van. Hydrologisch medewerker, Zuiveringschap Limburg, Afdeling Waterkwaliteitsbeheer, Bureau Aquatische Ecologie.