

**OECOTOXICOLOGISCHE EVALUATIE VAN  
REFERENTIEWAARDEN VOOR GEHALTEN VAN  
BESTRIJDINGSMIDDELEN IN DE BODEM**

T P Traas  
C A J Denneman  
E N G Joosse-van Damme  
N M van Straalen

Vakgroep Oecologie en Oecotoxicologie  
Vrije Universiteit Amsterdam

**OECOTOXICOLOGISCHE EVALUATIE VAN  
REFERENTIEWAARDEN VOOR GEHALTEN VAN  
BESTRIJDINGSMIDDELEN IN DE BODEM**

TP Traas

CAJ Denneman

ENG Joosse-van Damme

NM van Straalen

Vakgroep Oecologie en Oecotoxicologie

Vrije Universiteit Amsterdam

Rapportage in opdracht van de Technische commissie bodembescherming

TCB A89/10-R

Leidschendam  
april 1989

Technische commissie bodembescherming, Postbus 450, 2260 MB Leidschendam, telefoon 070-3174358

## **SAMENVATTING**

Bij de heroverweging van de toelating van bestrijdingsmiddelen, die op het ogenblik plaatsvindt, worden ook de milieu-effecten van deze stoffen betrokken. Met name het gedrag van bestrijdingsmiddelen in de bodem en de neveneffecten op het bodemleven staan in de belangstelling. In dit rapport wordt een aanzet gegeven tot het schatten van risico's van concentraties van bestrijdingsmiddelen voor het bodemmilieu. Tevens worden de risico's die op kunnen treden bij de in de referentiewaarden vastgelegde concentraties geëvalueerd.

Op dit moment staan er een aantal methoden ter beschikking om concentraties met oecologisch relevante en verantwoorde risico's voor het bodemoecosysteem aan te geven (Kooijman 1987, Slooff et al 1986, van Straalen 1987, van Straalen & Denneman 1988). De methoden gaan uit van effecten op individuele proefdiersoorten die geëxtrapoleerd worden naar complexere systemen. In Hfst. 2 worden de specifieke voor- en nadelen van deze methoden besproken, waarna een beargumenteerde keuze wordt gemaakt voor de RAB (Risiko-Analyse Bodemverontreiniging)-methode (van Straalen 1987, van Straalen & Denneman 1988). Deze methode gaat uit van het principe dat in een multifunctionele bodem negatieve effecten op bodemdierpopulaties zo min mogelijk op mogen optreden. Hiertoe wordt in de methode gebruik gemaakt van een extrapolatiemodel dat zich richt op de bescherming van het grootste gedeelte van de bodemlevensgemeenschap op het niveau van het no-effect-level. Er wordt een HCp-waarde ('Hazardous Concentration' voor p% van de soorten in een levensgemeenschap) voorgesteld. De HCp geeft een concentratie weer waarbij een bepaald percentage (p) van de bodemfaunasoorten met overschrijding van hun NOEC (no-observed-effect-concentration, d.w.z. de hoogste van een serie getoetste concentraties waarbij geen significante effecten optreden) geconfronteerd wordt. Bij toepassing stelt Van Straalen een beschermingspercentage van 95% (p=5%) voor. Dit uitgangspunt is ook in dit rapport in de meeste gevallen aangehouden.

In Hfst. 3 is deze methode toegepast op de bestrijdingsmiddelen lindaan, aldrin, diëldrin, atrazin, carbaryl en carbofuran. Het blijkt dat de referentiewaarden zoals voorgesteld in het Milieuprogramma (MPV 1987, 1988) voor aldrin en diëldrin mogelijk te hoog zijn. In het geval van aldrin kunnen, gegeven een kans van 5% op een verkeerde beoordeling door steekproeffouten, bij 10% van de soorten negatieve effecten optreden, voor diëldrin geldt dat voor 11% van de soorten. Bij de referentiewaarde voor lindaan van 1.0 µg/kg wordt 5% niet volledig beschermd. Voor het herbicide atrazin is de berekende HC5 kleiner of gelijk aan 15.2 mg/kg. De carbamaten carbaryl en carbofuran zijn bijzonder toxisch voor het bodemleven. De HC5 is voor carbaryl kleiner of gelijk aan 0.2 µg/kg en voor carbofuran kleiner of gelijk aan 3.3 µg/kg.

Een correcte toepassing van de RAB-methode stelt eisen aan het scala van de te toetsen soorten, de blootstelling aan de toxische stof, de parameters waaraan effecten van de toxische stof worden bepaald en de proefopzet. In de discussie (Hfst. 4) wordt

geconstateerd dat de onderzoeken waarop de waarden gebaseerd zijn niet in alle opzichten voldoen aan de gestelde eisen. Bovendien blijkt dat er bijzonder weinig onderzoek aan oecologisch relevante diersoorten is verricht waarin no-effect-levels van bestrijdingsmiddelen zijn bepaald. In Hfst 5 wordt daarom een aanzet gegeven tot standaardisering van de RAB-methode. Zo dient in de methode een zo groot mogelijk en taxonomisch divers scala van proefdieren gebruikt te worden, die representatief moeten zijn:

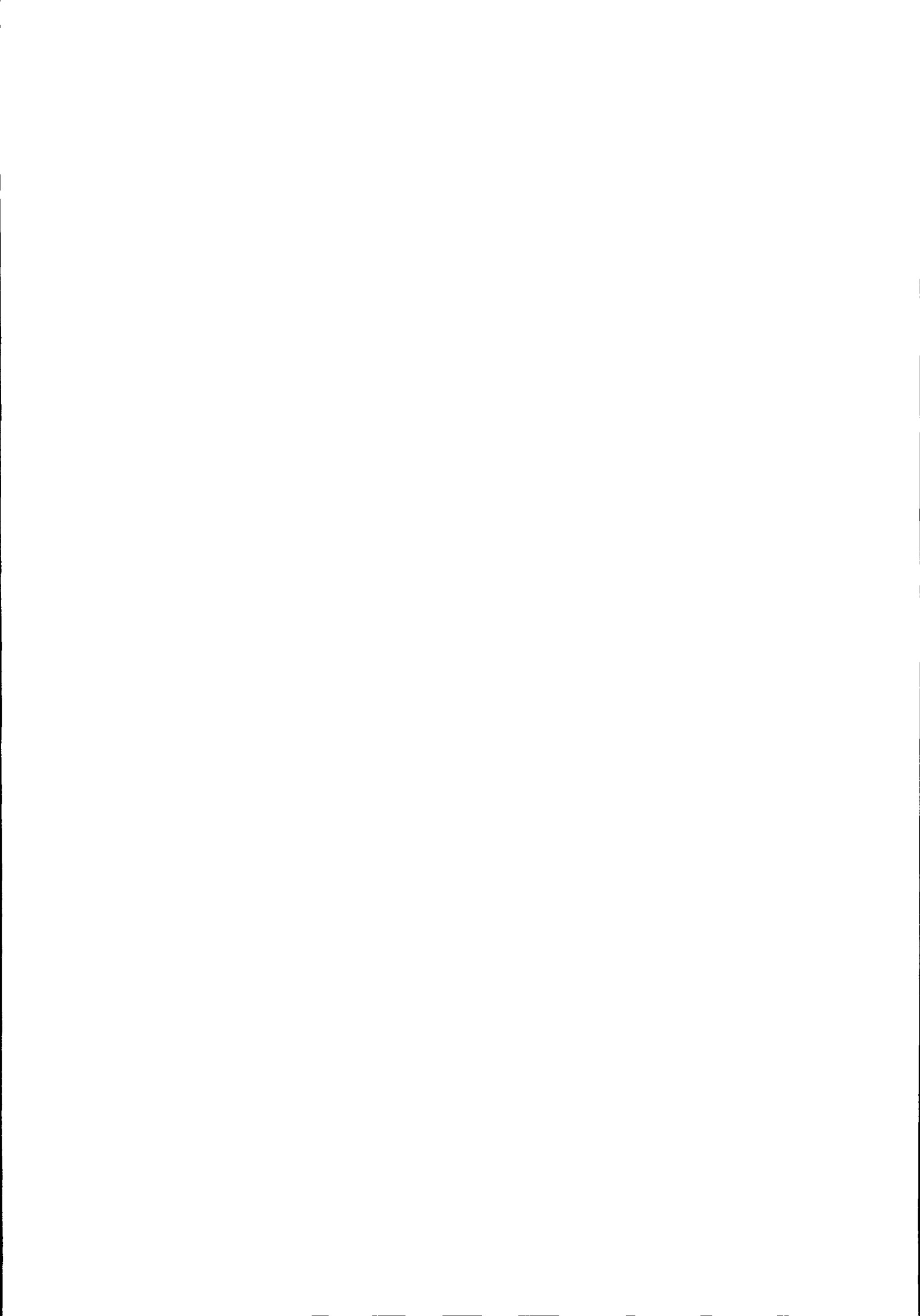
- ten aanzien van hun functionele rol in het bodemsysteem,
- ten aanzien van bouwplan, dat wil zeggen het aanwezig zijn van verschillende morfologisch en fysiologisch bepaalde verwerkingsmechanismen, en
- ten aanzien van de blootstellingsroute

Het bepalen van effecten van bestrijdingsmiddelen zou bij voorkeur aan dezelfde parameter moeten geschieden. Vanwege de populatiedynamische consequenties valt hierbij het criterium reproductie te prefereren.

Op grond van deze standaardisering van de RAB-methode is het mogelijk om op verantwoorde wijze bestaande referentiewaarden voor gehalten van bestrijdingsmiddelen in de bodem te evalueren en indien nodig nieuwe waarden te bepalen.

**INHOUDSOPGAVE.**

Samenvatting.....	1
Inhoudsopgave.....	3
Hoofdstuk 1: Inleiding .....	4
Hoofdstuk 2. Risicoschattingsmethoden.....	7
2.1 Risicoschatting o g.v extrapolaties tussen oecologische niveau's .....	7
2.2 Risicoschatting o g v. variatie in gevoeligheid tussen organismen .....	11
2.3 Risicoschatting o g v. variatie in no-effect-levels van bodemorganismen ..	16
Hoofdstuk 3: Risicoschatting voor gehalten van bestrijdings- middelen in een standaardbodem .....	22
3.1 inleiding.....	22
3.2 literatuuronderzoek.....	22
3.3 NOEC-, NOLC- en NEL-waarden .....	23
3.4 standaardbodem.....	23
3.5 velddoseringen .....	24
3.6 bepaling van HC5-waarden bij enkele geselecteerde bestrijdingsmiddelen.....	25
3.7 overzicht van de berekende waarden .....	35
Hoofdstuk 4 Discussie.....	40
4.1 evaluatie van de berekende waarden.....	40
4.2 blootstelling aan de toxische stof.....	41
4.3 no-effect-levels, NOEC- en NOLC-waarden.....	42
4.4 soortskeuze.....	44
4.5 relatie tussen laboratoriumtoetsen en veldtoxiciteit .	44
4.6 begeleidend onderzoek.....	46
Hoofdstuk 5: Standaardisering .....	48
5.1 inleiding.....	48
5.2 soortskeuze.....	48
5.3 parameterkeuze.....	52
5.4 proefopzet.....	52
5.5 conclusie.....	53
Verantwoording.....	53
Literatuur.....	54
Bijlage NOE(L)C-waarden voor bestrijdingsmiddelen .....	59



## **Hoofdstuk 1: INLEIDING**

Het bodembeleid in Nederland begint met het inwerkingtreden van de Wet Bodembescherming vaste vorm te krijgen. Dit brengt met zich mee dat thans een heroverweging van de toelating van bestrijdingsmiddelen aan de orde is. Toetsing vindt momenteel vooral nog plaats vanuit het oogpunt van de toxicologie en is gericht op de volksgezondheid. Het is wenselijk dat ook bodembeschermingsaspecten meer in de beoordeling betrokken worden. Recentelijk verrichtte het Centrum voor Milieukunde te Leiden (CML) in opdracht van VROM een studie naar de neveneffecten van bestrijdingsmiddelen op vertebraten (de Snoo & Canters 1987) en werd door het CML een workshop georganiseerd over neveneffecten op evertrebraten (april 1988)

Tot op heden wordt in de toelatingsprocedure voor bestrijdingsmiddelen slechts in beperkte mate toxiciteitsonderzoek voorgeschreven waarna effecten op levensgemeenschappen in de bodem worden bestudeerd. Zo zijn er gegevens vereist over de invloed van bestrijdingsmiddelen op bodemademhaling en stikstofomzettingen. Bodemademhaling is echter een relatief ongevoelige parameter en kan zowel positief als negatief worden beïnvloed. Somparameters zijn bovendien het resultaat van de activiteiten van veel bodemorganismen, ongeacht hun aantallen of de diversiteit. Hierdoor is het onzeker wanneer er werkelijk sprake is van schadelijke effecten.

Effectgerichte beoordeling van de bodemkwaliteit heeft een aanzet gekregen in de Discussienotitie Bodemkwaliteit van het ministerie van VROM (1986) en het daarop volgende Advies Bodemkwaliteit van de VTCB (1986). Effecten kunnen op verschillende integratieniveaus worden gemeten, aan individuele organismen, aan populaties en op oecosysteem-niveau (Blanck 1984, Slooff 1985). Op intuïtieve gronden wordt vaak de voorkeur gegeven aan oecosysteem-metingen omdat deze meer oecologisch relevant worden geacht, de suggestie wekken dat er inzicht ontstaat in de vitaliteit van het gehele systeem en meer aanspreken dan het welzijn van individuele bodemorganismen. Mede doordat de ontwikkeling van oecosysteem-experimenten zich nog in een beginstadium bevindt, is het vaak niet goed mogelijk reproduceerbare, en in kwantitatief opzicht betrouwbare resultaten te boeken. Dit hangt samen met het feit dat bij dergelijke experimenten een evenwicht gevonden moet worden tussen enerzijds oecologische relevantie en anderzijds praktische haalbaarheid. Dit kan leiden tot het bepalen van effecten op relatief ongevoelige somparameters, waardoor wellicht ten onrechte geconcludeerd wordt dat systeempparameters in het algemeen minder gevoelig zijn dan individuele parameters (Slooff et al. 1986).

De huidige praktijk, waarbij de milieugevaarlijkheid van bestrijdingsmiddelen voor de bodem alleen gebaseerd wordt op het milieuchemisch gedrag en effecten ten aanzien van nitrificatie en bodemademhaling, is te beperkt. Ook soortscriteria (criteria ontleend aan de respons van elke soort apart) kunnen perspectief bieden en dienen gebruikt te

worden

Een soort die hierbij sterk in de belangstelling staat is de regenworm *Eisenia foetida*. De representativiteit van *E. foetida* voor de groep van regenwormen is onderzocht door Heimbach (1985) en Neuhauser et al. (1985). Sommigen oordelen hierover positief (Haque & Ebing 1983, Heimbach 1985), anderen gaan ervan uit dat een toetsorganisme zo gevoelig mogelijk moet zijn (Ma 1983, Cairns 1986) en vinden de soort minder geschikt, omdat zij in de meeste gevallen ongevoeliger is dan andere wormsoorten (Gilman & Vardanis 1974, Dean-Ross 1983, Eijsackers 1985). Hoewel de gevoeligheid en representativiteit van een soort uiteraard van groot belang zijn, lijkt het bezwaarlijker dat de toelating slechts gebaseerd wordt op zo weinig effectcriteria. De milieugevaarlijkheid van een bestrijdingsmiddel voor de bodem dient te worden beoordeeld op grond van effecten op de totale bodemlevensgemeenschap inclusief de duur en de herstelbaarheid van deze effecten.

In oecotoxiciteitsonderzoek wordt vaak een analyse gemaakt van effecten op groei, reproductie en overleving. Door middel van oecotoxicologische toetscriteria kunnen de populatie-dynamische consequenties van de bij afzonderlijke organismen waargenomen effecten, nagegaan worden (Kooijman & Metz 1984, van Straalen et al. 1988b). Op grond van mortaliteit alleen is het inschatten van effecten op populatieniveau niet goed mogelijk, omdat effecten op de reproductie al kunnen optreden bij een blootstellingsniveau dat nog niet in sterfte resulteert (Ma 1983, Slooff & Canton 1983). Anderzijds is het bij gebruik van zeer specifieke sublethale parameters zoals bijvoorbeeld enzymactiviteiten vaak niet mogelijk om de effecten op overleving en reproductie van een individu te kwantificeren naar populatiegroei.

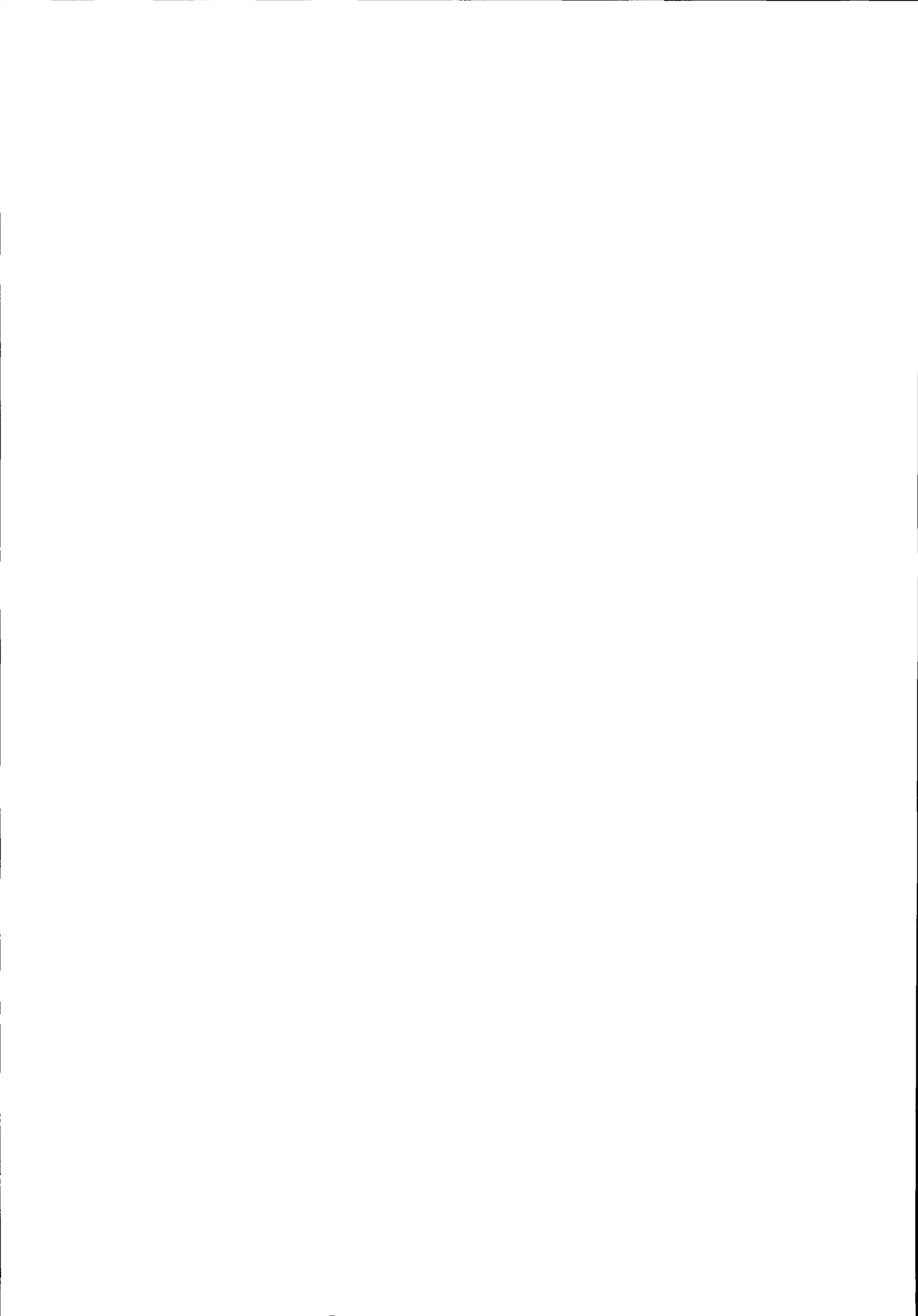
Om op basis van effecten op individuele soorten toch uitspraken te kunnen doen over complexere systemen, is een extrapolatiemethode noodzakelijk. Dit betekent evenwel dat er eisen gesteld moeten worden aan de keuze van toetsorganismen. Zij moeten representatief, gevoelig, oecologisch relevant en functioneel belangrijk zijn. Eén diersoort kan nooit representatief worden geacht voor de overige soorten in het bodemoecosysteem of het gehele systeem. De gevoeligheden van dieren in een oecosysteem lopen daarvoor te sterk uiteen (Slooff et al. 1983). Op de keuze van toetssoorten komen we in een later stadium nog uitgebreid terug (zie 5.2.).

In dit rapport wordt een kritische analyse gegeven van de risicoschattingsmethoden die ter beschikking staan om op basis van effecten op individuele proefdieren tot oecologisch relevante en verantwoorde evaluatie en indien gewenst herziening van referentiewaarden te komen. Een methode waarmee op basis van no-observed-effect-concentrations een risicoschatting, die leidt tot het bepalen van een HCp-waarde uitgevoerd wordt (van Straalen 1987, 1988), lijkt momenteel het meest inzichtelijk en de beste mogelijkheden te bieden (hfst. 2). HC staat voor 'Hazardous Concentration' en 'p' voor percentage; de HCp geeft de concentratie weer, waarbij een bepaald percentage (p) van de soorten in het bodemsysteem negatieve effecten zal ondervinden. De methode zal hier aangeduid worden als de RAB -methode (Risiko Analyse Bodemverontreiniging). De Gezondheidsraad (1988) heeft dezelfde methoden



geëvalueerd en een risicoschattingsprocedure voorgesteld, waarin de RAB-methode een centrale plaats inneemt. Voor een zestal uiteenlopende bestrijdingsmiddelen wordt deze methode, voor zover de literatuurgegevens dit toelaten, toegepast. De gebruikte gegevens hebben uitsluitend betrekking op effecten van persistente stoffen op bodemdieren. Dit betekent dat hier nog geen aandacht besteed wordt aan het milieuchemisch gedrag van stoffen, aan effecten op planten en micro-organismen en aan herstelprocessen, die ook bij minder persistente stoffen van belang zijn. In een vervolgstudie zullen ook herstelprocessen worden betrokken. Daarbij zullen ook de mogelijkheden om de RAB-methode voor andere milieu's (bv. onderwaterbodems) te gebruiken onderzocht worden.

Op basis van de uitgevoerde berekeningen worden bestaande referentiewaarden geëvalueerd en in sommige gevallen nieuwe waarden voorgesteld, waarbij zoveel mogelijk gebruik is gemaakt van literatuur over neveneffecten (hfst 3). Het perspectief en de bruikbaarheid van de methode wordt in hfst 4 besproken. Tenslotte wordt een poging gedaan te komen tot een standaardisering van oecotoxicologische toetsen ten behoeve van de bodembescherming (hfst 5).



## **Hoofdstuk 2: RISICOSCHATTINGSMETHODEN**

In het kader van een beleid dat gericht is op het handhaven en waar nodig herstellen van de multifunctionaliteit van de bodem zijn door de Nederlandse overheid voor veel stoffen, waaronder bestrijdingsmiddelen, referentiewaarden opgesteld (MPV 1987, 1988). De referentiewaarden zijn voor zware metalen ontleend aan in het landelijk gebied aangetroffen gehalten. Voor organische verbindingen is gebruik gemaakt van een eenvoudig milieuchemisch model dat concentraties van stoffen in de vloeibare fase aan die in de vaste fase relateert. Met behulp van deze relaties zijn referentiewaarden voor de bodem afgeleid van oppervlakte- en grondwaternormen, die deels een aquatisch ecotoxicologische achtergrond hebben. Het is echter, aangezien de waarden niet direct aan ecotoxicologische onderzoeksgegevens met betrekking tot de bodem getoetst zijn, onduidelijk of hierbij de multifunctionaliteit inderdaad gewaarborgd is. Daarom is het nodig methoden te ontwikkelen waarmee oecologisch relevante waarden vastgesteld kunnen worden en waarmee ook de betrouwbaarheid van de bestaande referentiewaarden geschat kan worden (Vegter 1988). Inzicht in de relatie tussen gehalten van toxische stoffen en de bijbehorende risico's voor het bodemmilieu is nodig als basis voor betrouwbare normen. Drie methoden staan hierbij in de belangstelling (Slooff et al. 1986, Kooijman 1987, van Straalen 1987, van Straalen & Denneman 1988).

Deze methoden zijn gebaseerd op een modelmatige aanpak. Hieronder zullen wij van elke methode kort het principe en de belangrijkste voor- en nadelen bespreken. Een uitgebreidere vergelijking en evaluatie van de methoden wordt gegeven door de Gezondheidsraad (1988). In elk van de drie methoden vinden aannamen en keuzen plaats die bepalend zijn voor het uiteindelijk resultaat. De betrouwbaarheid van deze keuzen en aannamen zal daarom zwaar wegen bij de beoordeling van elke methode. Er wordt tenslotte een keuze gemaakt voor een methode die in het bodembeleid gebruikt zou kunnen worden. De toepassingsmogelijkheden ervan bij bestrijdingsmiddelen komen in hoofdstuk 3 aan bod.

### **2.1 Risicoschatting op grond van extrapolaties tussen oecologische niveau's**

#### *Methode Slooff*

Milieuwetgeving houdt zich voor een deel bezig met het vaststellen van normen voor potentieel milieugevaarlijke toxische stoffen. Hiertoe heeft zij behoefte aan oecotoxicologische onderzoeksgegevens. Deze betreffen echter meestal resultaten uit eenvoudige acute experimenten, terwijl het te beschermen milieu een veel grotere mate van complexiteit bezit. Om dit probleem op te lossen worden twee benaderingswijzen gevolgd. Men kan uitgaan van experimenten aan kunstmatige oecosystemen of men kan proberen de resultaten van eenvoudige experimenten zo te extrapoleren dat zij voor het schatten van de toxiciteit van complexere systemen gebruikt kunnen worden (Suter et al. 1983, Blank 1984). De methode Slooff (Slooff et al. 1986) hanteert de tweede werkwijze.

In de methode zijn een drietal relaties vastgelegd:

1. de toxiciteit van (een) getoetste soort(en) t.o.v. andere (niet-getoetste) soorten
2. de acute t.o.v. de chronische toxiciteit
3. de toxiciteit op single-species-niveau t.o.v. die op hogere organisatieniveau's (oecosystemen).

De met de derde, op oecosystemen gerichte relatie berekende waarden bieden de meeste mogelijkheden om bestaande referentiewaarden (MPV 1987, 1988) te evalueren. Daarom zal hierop het accent liggen.

De relaties zijn gebaseerd op gegevens uit aquatische milieu's. Dit betekent dat bij toepassing ervan voor terrestrische milieu's aangenomen wordt dat de variatie binnen de gebruikte parameters in beide milieu's vergelijkbaar is. De mate van betrouwbaarheid van deze aanname is onzeker. Bovendien is er beduidend meer onderzoek op aquatisch dan op terrestrisch gebied uitgevoerd. Het lijkt daarom verstandig na te gaan of de kennis op het gebied van de aquatische oecotoxicologie aangewend kan worden voor de bodembescherming.

Voor elk van de drie relaties is een onzekerheidsfactor (OF) bepaald, terwijl voor de tweede en de derde relatie ook een extrapolatieformule is opgesteld.

De OF voorspelt op grond van een experimenteel bepaalde parameter (bv. de gevoeligheid van een soort voor een toxische stof, A) met 95% betrouwbaarheid het interval waarbinnen een andere, qua grootte onbekende parameter (bv. de gevoeligheid van een andere soort voor de toxische stof, B) zich bevindt. In formule:  $A/OF < B < AxOF$ .

Voor de eerste relatie geldt dat men de grootte van de OF als volgt heeft berekend: van een groot aantal (35) aquatische organismen zijn de toxiciteiten voor 15 stoffen bepaald. Deze toxiciteiten zijn vervolgens voor elk mogelijk tweetal vergeleken. Hieruit bleek dat de OF minimaal 3 en maximaal 1985 kan bedragen. Ten tweede viel op dat de gemiddelde gevoeligheid van de getoetste vertegenwoordigers van diverse fyta verschilde.

Om de relatie tussen acute (uitgedrukt in LC50) en chronische (uitgedrukt als no-observed-effect-concentration (NOEC)) toxiciteit te bepalen, zijn voor dezelfde organismen beide toxiciteiten voor 164 stoffen vergeleken. Hierbij is de logaritme van de toxiciteit op beide niveau's voor een groot aantal stoffen tegen elkaar uitgezet en is m.b.v. lineaire regressie de best passende lijn bepaald. Deze geldt als extrapolatieformule. Er bleek de volgende relatie te bestaan:

$$\log \text{NOEC} = -1.28 + 0.95 \log \text{LC50} \quad (1)$$

De onzekerheidsfactor is 25.6.

De relatie tussen de toxiciteit op single-species- en oecosysteemniveau werd eveneens bepaald door de logaritme van de toxiciteit op beide niveau's voor een groot aantal stoffen tegen elkaar uit te zetten. Dit leverde de volgende relaties op:

$$\log \text{NOEC}(\text{oecosystemen}) = 0.55 + 0.81 \log \text{LC50}(\text{single species}) \quad (2),$$

met een onzekerheidsfactor van 85.7 en

$$\log \text{NOEC}(\text{oecosystemen}) = 0.63 + 0.85 \log \text{NOEC}(\text{single species}) \quad (3),$$

met een onzekerheidsfactor van 33.5.

Als belangrijke voordelen van de methode Slooff kunnen genoemd worden:

- De methode gaat zoveel mogelijk uit van bestaande onderzoeksgegevens en is snel toepasbaar.
- De methode steunt op wetenschappelijk onderzoek en is reproduceerbaar.
- De experimenten, waarop de methode gebaseerd is, zijn grotendeels eenvoudig uitvoerbaar, relatief goedkoop en weinig tijdrovend.
- Er worden onzekerheidsfactoren gebruikt om onderschatting van toxische effecten te kunnen voorkomen.
- Met de derde relatie probeert men rekening te houden met verschil in gevoeligheid tussen soorten en interacties.

Als nadelen van de methode Slooff kunnen genoemd worden:

- De extrapolatieformules zijn niet stofgebonden, dit betekent dat er per stof in principe een vergelijkbare variatie tussen de in de extrapolatieformules vermelde factoren aangenomen wordt; uit meerdere bronnen (Slooff et al. 1983, Adema 1985, Mance, 1987) valt echter op te maken dat de toxiciteit zowel soort- als stofafhankelijk is. Daarom lijkt het in ieder geval wenselijk onderscheid tussen verschillende stoffen te maken. Indien dit niet gebeurt, kan er onderschatting van de variatie in toxiciteit voor organismen en/of oecosystemen voor sommige stoffen optreden.
- De extrapolatieformules zijn evenals de onzekerheidsfactoren afhankelijk van de gehanteerde onderzoeksgegevens, zij leggen de hierin aanwezige patronen in gevoeligheden vast en men gaat er vanuit dat deze ook voor niet onderzochte soorten en/of oecosystemen gelden. Dit betekent dat het hanteren van andere onderzoeksgegevens andere formules op zal leveren.
- De grootte van de gebruikte onzekerheidsfactoren hoort bij het midden van de regressielijn. Aan de uiteinden is de onbetrouwbaarheid echter groter, waardoor voor stoffen met toxiciteitswaarden in die gedeelten een te lage onzekerheidsfactor gehanteerd wordt.
- De betrouwbaarheid van de gebruikte toxiciteitswaarden voor kunstmatige oecosystemen is dubieus. Volgens Kooijman (1985) is de kans op onderschatting van de gevoeligheid van oecosystemen groot.
- De wijze waarop met de gegeven relaties en onzekerheidsfactoren gewerkt moet worden, is in het betreffende artikel onduidelijk. Uit andere bronnen (Janssen et al. 1987, Krajnc et al. 1987) valt te achterhalen dat bij meer dan één beschikbare NOEC de laagste waarde ingevuld dient te worden. Dit betekent dat de geëxtrapolerde waarde uiteindelijk slechts van deze laagste waarde afhangt. Bovendien zal de waarde in het algemeen lager uitvallen naarmate het aantal beschikbare onderzoeksgegevens toeneemt. De invloed van de ingevulde waarde is dus zeer groot. Hoe groot deze kan zijn, valt als volgt te illustreren. Van een aantal stoffen zijn NOEC's voor een aantal organismen bepaald (Slooff and Canton, 1983). Op grond van deze waarden kan op drie manieren met formule (3) de NOEC voor oecosystemen berekend worden:
  - a. het gemiddelde van de per soort bepaalde NOEC's wordt ingevuld.
  - b. aangenomen wordt dat slechts één NOEC bepaald is en de hoogste van de bepaalde waarden wordt gekozen.
  - c. als b met de laagste van de bepaalde NOEC's.
 In tabel 1 staan de op grond hiervan berekende waarden.

tabel 1. NOEC's voor ecosystemen ( $\mu\text{g/l}$ ) volgens de methode Slooff, berekend op drie verschillende manieren (zie tekst).

stof	gemiddelde NOEC	hoogste NOEC	laagste NOEC
Kaliumdichromaat	105.34	319.9	6.38
Natriumbromide	$20.0 \times 10^3$	$43.0 \times 10^3$	319.9
Tetrapropyleen- benzeensulfonaat	287.23	859.7	17.15
2,4-Dichlooraniline	109.22	319.9	2.42
p-Nitrotolueen	196.26	319.9	17.15

- De extrapolaties zijn lineair en gaan (grafisch uitgezet) niet door het punt (0,0); dit houdt in dat er een concentratie bestaat waarbij beide parameters een gelijke grootte of gevoeligheid bezitten. De concentratie waarbij dit bij (3) het geval is valt te berekenen door te stellen:  
 $\text{NOEC (single-species)} = \text{NOEC (oecosysteem)} = a$ ,  
 Formule (3) wordt dan:  
 $\log a = 0.63 + 0.85 \log a$ ,  
 dit geldt voor  $a = 15.85 \times 10^3 \mu\text{g/l}$ .  
 Dit betekent dat voor stoffen met een NOEC op single-species-niveau lager dan  $15.85 \times 10^3 \mu\text{g/l}$  aangenomen wordt dat zij op single-species-niveau gevoeliger zijn dan op oecosysteemniveau. Bij hogere NOEC's geldt het omgekeerde. Deze aanname kan tot onveilige normen leiden indien een stof afwijkt van dit beeld, d.w.z. wanneer een stof zeer toxisch is op oecosysteemniveau bij een relatief hoge (wel lager dan  $15.85 \times 10^3 \mu\text{g/l}$ ) NOEC op single-species-niveau.
- De relaties zijn eenheidsafhankelijk, d.w.z. zij gaan in de vorm waarin zij opgesteld zijn alleen op voor de eenheden op grond waarvan zij bepaald zijn ( $\mu\text{g/l}$ ). Dit betekent dat men toxiciteitswaarden die in andere eenheden gegeven worden, eerst om moet zetten in de juiste eenheid of dat men de omrekeningsformule uit moet breiden met een factor die corrigeert voor het gebruik van verschillende eenheden.  
 De eenheidsafhankelijkheid kan gedemonstreerd worden door in formule (3) een bepaalde concentratie op drie manieren in te vullen:
  - I als  $\text{NOEC (ss)} = 2 \text{ mg/l}$ ,  
 dan  $\log \text{NOEC(oeco)} = 0.63 + 0.85 \log 2$   
 en  $\text{NOEC (oeco)} = 7.69 \text{ mg/l}$ .
  - II als  $\text{NOEC (ss)} = 2 \times 10^3 \mu\text{g/l}$ ,  
 dan  $\log \text{NOEC(oeco)} = 0.63 + 0.85 \log 2 \times 10^3$   
 en  $\text{NOEC (oeco)} = 2.73 \times 10^3 \mu\text{g/l} = 2.73 \text{ mg/l}$
  - III als  $\text{NOEC (ss)} = 2 \times 10^{-3} \text{ g/l}$ ,  
 dan  $\log \text{NOEC(oeco)} = 0.63 + 0.85 \log 2 \times 10^{-3}$   
 en  $\text{NOEC (oeco)} = 21.67 \times 10^{-3} \text{ g/l} = 21.7 \text{ mg/l}$ .

Samenvattend kan gesteld worden dat de methode Slooff aantrekkelijke eigenschappen heeft, zoals de mogelijkheid tot extrapolatie van het ene type

experiment naar het andere en extrapolatie naar hogere organisatieniveau's. De methode heeft echter enkele belangrijke nadelen, welke samenhangen met de aannamen waarop de extrapolaties gebaseerd zijn en met het (lineaire) karakter van de extrapolaties zelf. Toepassing van de methode in kwalitatief opzicht bijvoorbeeld om een indicatie van de toxiciteit van stoffen te verkrijgen of om reeds afgeleide normen te toetsen aan de variatie in bestaande toxiciteitsdata, is mogelijk. In kwantitatief opzicht, zoals voor het bepalen van risico's van bodemconcentraties, is toepassing niet wenselijk.

## 2.2 Risicoschatting op grond van variatie in gevoeligheid tussen organismen

### *Methode Kooijman*

Een veel gehanteerde werkwijze om normen te stellen gaat als volgt. Men bepaalt de LC50 van een toxische stof voor een bepaald organisme. De LC50 is de concentratie van een stof, waarbij de overlevingskans half zo groot is als in de blanco. Deze waarde wordt vervolgens door een gekozen veiligheidsfactor gedeeld en als zodanig of als norm gebruikt (Copius Peereboom 1976), of met bestaande normen vergeleken.

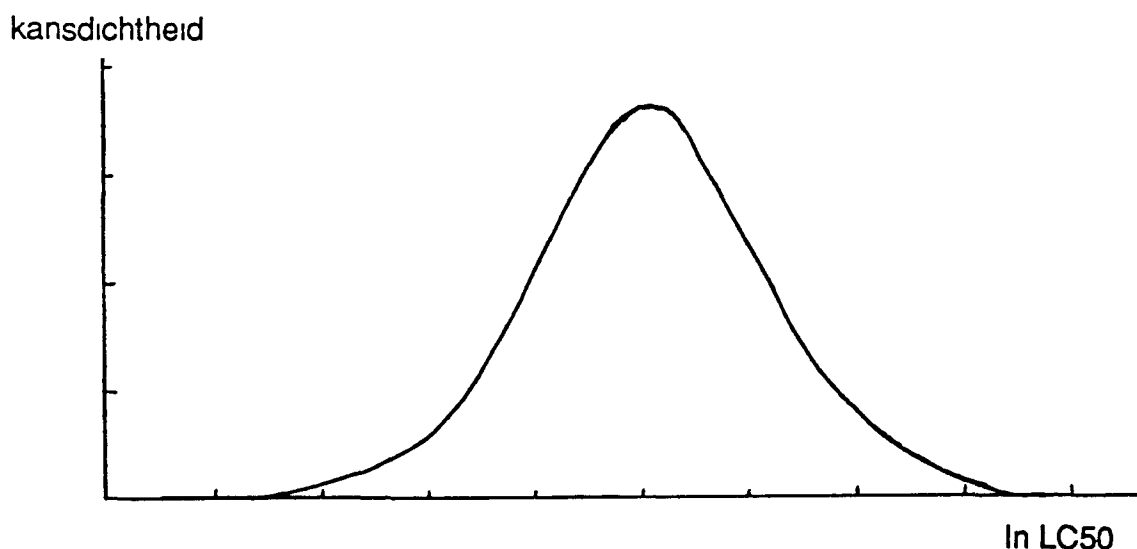
Aan een dergelijke methode kleven echter enkele bezwaren:

1. Het resultaat is afhankelijk van de onderzochte soort.
2. De experimenten hebben een acuut karakter, terwijl in werkelijkheid chronische toxiciteit voorkomt. Acute toxiciteit veroorzakende concentraties zijn hoger met als gevolg dat de uiteindelijke norm te hoog uitvalt.
3. De veiligheidsfactor is vrij willekeurig gekozen. Het is meestal de bedoeling dat deze factor compenseert voor zowel het verschil in gevoeligheid tussen (het) proeforganisme(n) en niet getoetste organismen als voor een eventueel grotere gevoeligheid bij de mens. In hoeverre de factor hieraan ook werkelijk voldoet is onduidelijk.
4. Er worden op grond van onder laboratoriumomstandigheden bepaalde resultaten uitspraken gedaan over veldomstandigheden.
5. Er worden op grond van eenvoudige experimenten aan meestal één soort uitspraken gedaan over complexe oecosystemen.

Kooijman (1987) heeft een methode ontwikkeld waarin voor een belangrijk deel aan bovenstaande bezwaren tegemoet wordt gekomen. De methode is met name voor aquatische milieu's ontwikkeld. Het basisprincipe is echter algemeen geldig, zodat onderzoek naar de toepasbaarheid voor het bodemmilieu gerechtvaardigd is.

Kooijman gaat uit van een levensgemeenschap, die bestaat uit een bepaald aantal soorten. Elke soort kent zijn eigen specifieke gevoeligheid voor een toxische stof. Als maat voor de gevoeligheid neemt men bij voorkeur de chronische LC50. Omdat meestal meer acute dan chronische toxiciteitsgegevens bekend zijn, zal soms tot het werken met acute waarden moeten worden overgegaan. Men neemt aan dat de verdeling van alle soortspecifieke LC50-waarden tesamen log-logistisch is. Dit wil

zeggen dat de gevoeligheid van een soort een logistische relatie vertoont met de logaritme van de concentratie van een toxische stof (wanneer in deze paragraaf over logaritme gesproken wordt, wordt steeds de natuurlijke logaritme bedoeld) Deze aanname is gebaseerd op het uit vele onderzoeken naar voren gekomen gegeven dat dosis-effect relaties bij individuen van een soort een log-normale of een log-logistische relatie kennen. In de meeste gevallen wordt een log-normale verdeling gehanteerd. Er zijn echter argumenten aan te voeren om in dit geval een log-logistische verdeling te gebruiken. Beide verdelingen blijken vergelijkbare resultaten op te leveren, maar het gebruik van een log-normale heeft als nadeel dat het formules oplevert, welke numeriek opgelost moeten worden, terwijl een dergelijke verdeling verder geen duidelijke voordelen boven een log-logistische verdeling heeft. Ter illustratie is in grafiek 1 een zeer schematische weergave van een log-logistische verdelingscurve weergegeven.



grafiek 1. Schematische weergave van een log-logistische kansverdeling.

Als eindpunt van de methode neemt Kooijman die concentratie, waarvoor geldt dat de kans dat de LC50 van de gevoeligste soort in de gemeenschap deze concentratie overschrijdt, niet groter is dan een bepaalde gekozen waarde (bijv. 0.05). Hij duidt deze concentratie aan als HCS (Hazardous Concentration for Sensitive species). Deze HCS berekent men aan de hand van experimenteel bepaalde LC50's van een aantal soorten. Wanneer men aanneemt dat deze waarden willekeurige trekkingen uit een log-logistische verdeling voorstellen, kan men de LC50 van de gevoeligste soort van een, uit  $n$  soorten bestaande levensgemeenschap schatten. De gemiddelde LC50 van de proeforganismen gedeeld door een veiligheidsfactor (VF) geeft de uiteindelijke HCS. De grootte van de VF hangt grotendeels af van de spreiding in gevoeligheid tussen de onderzochte soorten en van het aantal soorten waaruit de gemeenschap bestaat. Er wordt vanuit gegaan dat de spreiding tussen de onderzochte soorten representatief is voor de spreiding in de totale gemeenschap. Omdat er een kans bestaat dat deze aanname bij een gering aantal onderzochte soorten onjuist is, vindt er een aan het aantal gerelateerde correctie plaats.



De berekening van de HCS (Hazardous Concentration for Sensitive species) kan plaatsvinden met de formule

$$HCS = \frac{\exp(X_m)}{VF}$$

Hierin is  $X_m$  de gemiddelde  $\ln LC50$  van de onderzochte soorten  
 VF is een veiligheidsfactor waarvoor geldt

$$VF = \exp \left( \frac{3 s_m C_n d_m}{\pi^2} \right)$$

In  $s_m$  wordt de spreiding (d m v de standaarddeviatie) tussen de  $\ln LC50$  waarden van de onderzochte soorten weergegeven In formule

$$s_m = \sqrt{\frac{\sum (X_i^2 - X_m^2)}{m-1}}$$

$X_i$  zijn de afzonderlijk bepaalde  $\ln LC50$ 's en  $m$  is het aantal bepaalde  $LC50$ 's  
 $C_n$  staat voor

$$C_n = \ln \frac{(1-\delta_1)^{(1/n)}}{(1-(1-\delta_1))^{(1/n)}}$$

$C_n$  wordt dus bepaald door het aantal soorten ( $n$ ) in de levensgemeenschap en zorgt ervoor dat bij toename van het aantal soorten de uiteindelijke HCS een lagere waarde heeft (Het is ook intuïtief aan te voelen dat het gevoeligste organisme gevoeliger zal zijn bij een groter aantal organismen)  $\delta_1$  is de kans dat de  $LC50$  van het gevoeligste organisme in een gemeenschap kleiner is dan de berekende HCS (in het geval dat de ligging van de verdeling bekend is),  $\delta_1$  wordt arbitrair gekozen (bijv 0.05)

$d_m$  is die waarde waarvoor geldt

$$P(s_m > d_m) = \delta_2$$

Dit betekent in de praktijk dat  $d_m$  een veiligheidscorrectie is voor fouten die kunnen optreden in de schatting van de ligging van de verdeling  $d_m$  geeft een correctie voor het geval dat de geschatte spreiding afwijkt van de werkelijke spreiding (die onbekend is) Naarmate het aantal onderzochte soorten groter wordt, is de kans op een afwijkende schatting kleiner en verdwijnt de invloed van  $d_m$  Voor  $\delta_2$  wordt in principe dezelfde waarde als voor  $\delta_1$  gekozen  $d_m$  kan in een tabel afgelezen worden (tabel 2). Voor het totstandkomen van de formules wordt verwezen naar Kooijman (1987).

Tabel 2  $d_m$  waarden, waarvoor geldt dat  $P(s_m > d_m) = \delta_2$  Ontleend aan Kooijman (1987)

m	$\delta_2$				
	0 01	0 025	0 05	0 1	0 5
2	5 09	4 15	3 72	2 91	1 12
3	4 58	3 87	3 40	2 77	1 41
4	4 25	3 60	3 22	2 70	1 56
5	3 99	3 42	3 06	2 64	1 65
6	3 74	3 25	2 93	2 59	1 68
7	3 52	3 11	2 82	2 53	1 68
8	3 34	2 99	2 72	2 49	1 69
9	3 20	2 90	2 65	2 45	1 69
10	3 09	2 83	2 59	2 42	1 70
11	3 01	2 77	2 56	2 39	1 70
12	2 95	2 73	2 53	2 36	1 71
13	2 91	2 70	2 51	2 34	1 71
14	2 88	2 67	2 50	2 32	1 72
15	2 86	2 65	2 49	2 30	1 72
20	2 76	2 56	2 44	2 24	1 76
30	2 62	2 42	2 30	2 19	1 77
$\infty$	1 814	1 814	1 814	1 814	1 814

De methode heeft enkele duidelijke voordelen, waarvan de volgende genoemd kunnen worden:

- Het maakt in principe niet uit van welke onderzoeksorganismen uit wordt gegaan.
- De veiligheidsfactor is niet arbitrair vastgesteld, maar op een rationele en reproduceerbare wijze afgeleid uit onderzoeksgegevens.
- De veiligheidsfactor is stofgebonden.
- De methode maakt optimaal gebruik van uit toxiciteitsexperimenten afkomstige gegevens
- De methode bevat een schatting van de risico's horend bij de berekende HCS-waarden. Deze houdt zoals gezegd in, dat de kans, dat de HCS de LC50 van het gevoeligste organisme in een oecosysteem overschrijdt, een gekozen geringe waarde (bijv. 0 05) is
- Er is duidelijk aangegeven, welke toxiciteitsonderzoeken als basis moeten dienen.
- De methode is soms direct of anders op korte termijn toepasbaar.
- De methode is reproduceerbaar.

Op enkele punten blijkt de methode niet optimaal:

- Er wordt uitgegaan van de parameter sterfte. Dit is in vergelijking met andere parameters, zoals bijv. reproductie, een ongevoelige maat.
- Er wordt geen rekening gehouden met verschillen tussen laboratorium- en veldomstandigheden.
- De aanname dat de onderzochte organismen als aselechte trekkingen uit een levensgemeenschap beschouwd kunnen worden gaat niet altijd op. De keuze van deze organismen vindt vaak plaats op grond van de geschiktheid voor laboratoriumonderzoek, waardoor het risico bestaat dat de toetsorganismen een beperkte en onderling verwante groep vormen. Het is bekend dat verwante soorten vaak ook een verwante gevoeligheid voor toxische stoffen bezitten (LeBlanc 1984,

Erickson & Stephan 1985, Mance 1987). Dit betekent dat de spreiding in de levensgemeenschap te laag ingeschat kan worden.

- Er worden op grond van experimenten op single-species-niveau waarden bepaald voor levensgemeenschappen.
- Er zijn niet altijd voldoende chronische toxiciteitsgegevens beschikbaar, waardoor soms met acute waarden gewerkt moet worden. Acute waarden zijn weliswaar hoger dan chronische maar dit betekent niet, dat de uiteindelijke HCS-waarde hoger uitvalt, omdat deze grotendeels afhankelijk is van de spreiding in de LC50's. Omdat de spreiding bij acute waarden beduidend groter is dan bij chronische waarden, valt de HCS niet snel hoger en wellicht zelfs nog lager uit. Ter illustratie hiervan geven wij in onderstaande tabel HCS-waarden gebaseerd op drie verschillende LC50's. De gebruikte chronische LC50's zijn uit de acute berekend volgens Kooijman (1987).

Tabel 3. HCS-waarden gebaseerd op acute en chronische LC50-waarden voor verschillende soorten aquatische organismen (in µg/l). Uit Holden (1983)

<u>stof</u>	<u>HCS-waarde</u> <u>LC50 24 uur</u>	<u>HCS-waarde</u> <u>LC50 96 uur</u>	<u>HCS-waarde</u> <u>LC50 ∞</u>
DDT	1.99 x 10 <sup>-3</sup>	3.12 x 10 <sup>-3</sup>	4.74 x 10 <sup>-3</sup>
Aldrin	8.79 x 10 <sup>-2</sup>	9.17 x 10 <sup>-3</sup>	7.01 x 10 <sup>-3</sup>
Dieldrin	0.21	4.01 x 10 <sup>-2</sup>	3.00 x 10 <sup>-2</sup>
Endrin	4.35 x 10 <sup>-3</sup>	3.86 x 10 <sup>-3</sup>	4.17 x 10 <sup>-3</sup>
Heptachloor †	0.11	0.15	7.08 x 10 <sup>-6</sup>
Toxapheen	5.67	0.15	2.45 x 10 <sup>-2</sup>
Methoxychloor	10.95	18.39	18.51
HCH	0.42	1.11	1.45

† Het verschil tussen de waarden LC50 96 uur en LC50 ∞ bij heptachloor is zeer groot. Dit wordt veroorzaakt doordat bij de bepaling van de gebruikte toxiciteitsgegevens waarschijnlijk fouten zijn gemaakt. Dit betekent enerzijds dat aan de waarde voor heptachloor niet al te veel waarde gehecht mag worden en anderzijds dat de berekening van chronische toxiciteiten uit acute beïnvloed wordt door de nauwkeurigheid van de gegevens.

Uit het feit dat de blootstellingsperiode wel een groot effect heeft op de gemiddelde LC50, maar slechts een klein effect heeft op de uiteindelijk berekende waarde, kan geconcludeerd worden, dat de berekening van HCS-waarden op grond van acute waarden verantwoord is, tenzij de duur van de experimenten extreem kort is. Enkele van bovenstaande problemen kunnen opgelost worden door strakke richtlijnen ten aanzien van de te gebruiken toxiciteitsexperimenten te formuleren. Hierbij kan gedacht worden aan een protocol waarin zaken als soorts- en parameterkeuze aan bod komen. Op dit punt komen we in hoofdstuk 5 nog terug.

Samenvattend kan het volgende gesteld worden: de methode Kooijman kent enkele duidelijke voordelen in vergelijking met de methode Slooff, zoals stofafhankelijke veiligheidsfactoren en een schatting van de risico's van de berekende waarden. Zij is

echter ook op enkele punten, zoals onduidelijkheid over de relatie tussen laboratorium- en veldomstandigheden en een relatief ongevoelige parameter (LC50) als basis, minder ideaal

De methode is bovendien opgesteld voor aquatische milieu's. Zij houdt dus uiteraard geen rekening met verschillen in bodemtypen. Er is daarom op basis van deze methode een meer op de bodembescherming gerichte methode ontwikkeld, die in paragraaf 2.3 besproken wordt

### **2.3 Risicoschatting op grond van variatie tussen no-effect-levels van bodemorganismen**

#### *Methode van Straalen*

Bij deze methode, opgesteld door van Straalen (van Straalen 1987, van Straalen & Denneman 1988) en gebaseerd op Kooijman (1987), wordt uitgegaan van het principe dat in een multifunctionele bodem geen negatieve effecten mogen optreden op bodemdierpopulaties. De methode schat een concentratie waarbij een bepaald percentage (p) van de soorten in een levensgemeenschap negatieve effecten zal ondervinden. Deze concentratie wordt als HCp (Hazardous Concentration voor p% van de soorten) aangegeven. De methode maakt het mogelijk aan te geven welk deel van de bodemfauna bij een bepaalde concentratie van een toxische stof het risico loopt om negatief beïnvloed te worden. Zij zal worden aangeduid als RAB (Risico-Analyse Bodemverontreiniging)-methode. Bij het hanteren van de methode in een praktijkvoorbeeld werd één component van het bodemleven, nl. de ongewervelde bodemdieren (bodemevertebraten) geanalyseerd.

De procedure is als volgt: men verzamelt gegevens van chronische toxiciteitsexperimenten uitgevoerd met een aantal op bouwplan geselecteerde bodemevertebraten. Aangenomen wordt dat de verschillen in bouwplan gepaard gaan met verschillen in gevoeligheid. Uit de proeven wordt per soort de hoogste concentratie zonder waargenomen negatieve effecten op groei of reproductie bepaald, de zgn. no-observed-effect-concentration (NOEC). (Gemakshalve worden hier de termen NOEC en NEL door elkaar gebruikt. In werkelijkheid gaat het nagenoeg altijd om waargenomen effecten, dus NOEC's.) Op grond van de NOEC's kan grotendeels volgens de in paragraaf 2.2 besproken methode van Kooijman (1987) een HCp-waarde berekend worden. Van de methode Kooijman wordt echter op twee manieren afgeweken. Ten eerste is er het gebruik van NOEC's in plaats van LC50-waarden en ten tweede wordt bij het vaststellen van de HCp voorgesteld toe te staan dat bij een bepaald laag percentage van alle bodemorganismen de NOEC wordt overschreden. Door Van Straalen wordt een percentage van 5% voorgesteld. Deze waarde wordt als redelijk voorbeeld in dit rapport aangehouden. Dit laatste betekent, dat de invloed van het aantal soorten in een levensgemeenschap op de grootte van de berekende eindwaarde, welke in de methode uit 2.2 aanzienlijk is, hier uitgeschakeld wordt.

Hieruit volgt dat in vergelijking met de methode van Kooijman (1987) de formule voor de  $C_n$  een andere vorm krijgt:

$$C_n = \ln \left( \frac{(1-\delta_1)}{\delta_1} \right)$$

$\delta_1$  staat in deze formule dus voor de fractie soorten, waarbij overschrijding van de NOEC plaatsvindt;  $\delta_1$  is gelijk aan  $p/100$ . Verder blijven de formules voor de VF en de HCS (met hier de HC5 als eindpunt) gelijk. Een gedetailleerde afleiding van de formules wordt gegeven in van Straalen & Denneman (1988).

De veiligheidsfactor is gebaseerd op laboratoriumomstandigheden en moet daarom geëxtrapoleerd worden naar veldomstandigheden. Van Straalen kiest voor een extrapolatiefactor van één, omdat er volgens hem evenveel argumenten voor een factor groter dan één als voor een factor kleiner dan één zijn aan te voeren (zie tabel 4)

Tabel 4. Argumenten voor (+) en tegen (-) een laboratoruim-veld-extrapolatiefactor groter dan 1.

- 
- + In het laboratorium worden dieren onder optimale omstandigheden getoetst
  - In het veld is het effect-relevante deel van de concentratie lager.
  - + In het veld worden dieren blootgesteld aan combinaties van stoffen.
  - In het veld treden compensatiemechanismen op.
  - In het veld zijn dieren aangepast.
  - + Aanpassingen gaan vaak met kosten gepaard.
- 

De gebruikte experimentele omstandigheden verschillen in de meeste gevallen van die in een standaardbodem. Bij het vaststellen van de HC5 wordt hiervoor gecorrigeerd door een leefmilieufactor te introduceren. Deze factor corrigeert d.m.v. omrekeningsformules, die per groep in chemische karakteristieken vergelijkbare bestrijdingsmiddelen gedefinieerd zijn, voor het feit dat de beschikbaarheid van bestrijdingsmiddelen samenhangt met het organisch stofgehalte van een bodem. De bepaling van deze factor kan plaatsvinden door gebruik te maken van het continusysteem uit het milieuprogramma (MPV 1987, 1988). Indien de gebruikte onderzoeksgegevens op dezelfde manier bepaald zijn kan correctie achteraf, d.w.z. na berekening van de HC5, plaatsvinden. In andere gevallen dient correctie per NOEC te gebeuren. De gemiddelde NOEC van de proeforganismen gedeeld door de veiligheids- en de extrapolatiefactor en gecorrigeerd voor de leefmilieufactor levert uiteindelijk een HC5 voor de betreffende stof op. Van Straalen stelt dat de berekende waarde een factor 2 tot 5 kan afwijken van het onbekende werkelijke gehalte, waarbij 5% van de NEL's van alle bodemorganismen overschreden wordt. Redenen voor een dergelijke afwijking kunnen bijvoorbeeld gelegen zijn in experimentele onnauwkeurigheden, in de keuze van de proeforganismen en in de onzekerheid bij de extrapolatie naar natuurlijke omstandigheden.

De RAB-methode maakt gebruik van het model van Kooijman en heeft logischerwijze de reeds genoemde voordelen (zie 2.2). Daarnaast zijn nog enkele voordelen aan te geven:

- De methode maakt het mogelijk aan te geven welk percentage van de organismen in een levensgemeenschap nadelige effecten zal ondervinden bij een bepaalde bodemconcentratie. Dit is ook mogelijk voor de door de overheid opgestelde referentiewaarden.
- De methode is opgesteld voor bodemmilieu's.
- NOEC's sluiten beter aan bij het karakter van de te beoordelen referentiewaarden.
- Er wordt gebruik gemaakt van de overzichtelijke en eenvoudig te hanteren wijze van correctie voor verschillende bodemtypen, die in het milieuprogramma 1988-1991 (MPV, 1987) beschreven wordt.
- De methode gaat uit van effecten op reproductie of groei. Deze parameters zijn gevoeliger dan overleving (Denneman et al 1987), terwijl effecten erop duidelijk kunnen doorwerken op populatieniveau, wat betekent dat zij van belang zijn voor het oecologisch functioneren van een populatie.
- De methode introduceert een laboratorium-veld extrapolatiefactor.
- Hoewel de methode voor terrestrische milieu's is opgesteld, zijn de eigenschappen dusdanig dat toepassing bij aquatische milieu's in principe mogelijk is

Aan de RAB-methode kleven echter ook enige nadelen:

- Het werken met NOEC's i.p.v. met LC50-waarden betekent dat er momenteel minder gegevens beschikbaar zijn, zodat er in meer gevallen onderzoek nodig is, voordat men de methode kan toepassen.
- Men gaat uit van NOEC's aan groei of reproductie. Dit betekent dat twee verschillende grootheden door elkaar gebruikt worden. Het is niet zeker of in dat geval de aanname omtrent de verdeling van de gevoeligheden nog volkomen gerechtvaardigd is. Aangezien reproductie uit ander onderzoek als het gevoeligste criterium naar voren komt (Mayer et al. 1985) en de populatieontwikkeling van veel organismen sterk door reproductie bepaald wordt, lijkt het werken met NOEC's voor reproductie het meest ideaal.
- Er wordt geen rekening gehouden met het feit dat interacties tussen organismen wellicht een andere gevoeligheid bezitten dan de organismen afzonderlijk.
- Van Straalen stelt als eindpunt een zogenaamde HC5 voor, ofwel die concentratie waarbij maximaal 5% van de organismen in een levensgemeenschap met overschrijding van hun NOEC geconfronteerd wordt. Indien een dergelijke waarde beleidsmatig toegepast zou worden, moet men zich wel realiseren dat hierbij één van elke 20 soorten in een levensgemeenschap negatieve effecten zal ondervinden. Omdat het niet denkbeeldig is dat nadelige beïnvloeding van een dergelijk percentage soorten ook indirect kan doorwerken op (een deel van) de overige 95%, zou men zich af kunnen vragen of niet voor een voorzichtiger eindpunt gekozen zou moeten worden. Zo streeft bijvoorbeeld Kooijman, door zich te richten op het gevoeligste organisme, bescherming van alle soorten na.
- Van Straalen illustreerde de werking van de methode aan de hand van een rekenvoorbeeld, waarin hij uitgaat van toxiciteitsexperimenten met cadmium. Hij gebruikt in zijn rekenvoorbeeld een beperkte groep bodemorganismen, namelijk de ongewervelden en beperkt zich binnen deze groep tot die organismen die de toxische stof op een vergelijkbare manier, via het voedsel, naar binnen krijgen. Het

werken met een vrij beperkte en bovendien verwante groep van bodemorganismen heeft als nadeel dat er tussen dergelijke organismen een vergelijkbare gevoeligheid kan bestaan (LeBlanc 1984, Erickson & Stephan 1985, Mance 1987), zodat de variatie tussen de proeforganismen de werkelijke variatie onderschat waardoor een te lage veiligheidsfactor gehanteerd wordt.

Het gebruik van een te lage veiligheidsfactor kan betekenen, dat het aantal organismen dat nadelige effecten ondervindt op kan lopen tot (ruim) boven de 5%. Het lijkt daarom zinvol uit te gaan van NOEC's, die aan een (in taxonomisch en functioneel opzicht) breed scala van organismen bepaald zijn.

De overheid heeft referentiewaarden voor het bodemmilieu (MPV 1987, 1988) opgesteld. Deze waarden hebben, samenhangend met de wijze van bepalen, de volgende eigenschappen.

- De gemaakte keuzen en aannamen zijn met argumenten onderbouwd.
- Het doel, waarvoor de waarden zijn vastgesteld, wordt duidelijk vermeld.
- De waarden zijn bodemgericht.
- Er wordt enigszins rekening gehouden met verschillen in bodemtypen.
- Er zijn waarden voor een breed scala aan stoffen opgesteld.
- De waarden kunnen op het moment gehanteerd worden, zonder dat er eerst (tijdrovend) onderzoek nodig is.

De in dit rapport besproken methoden kunnen gebruikt worden om de bestaande referentiewaarden te evalueren, een risicoschatting erop toe te passen en eventueel nieuwe waarden voor te stellen. Uit de besprekingen volgt dat indien alle voor- en nadelen van de drie methoden op een rijtje worden gezet, de met de RAB-methode berekende HC5-waarden in vergelijking met de referentiewaarden de meeste extra gunstige eigenschappen blijken te bezitten. Dit wordt geïllustreerd in tabel 5.

De methode kan voor meerdere doeleinden gebruikt worden:

- Berekening van HCp's voor nieuwe stoffen en wellicht op grond daarvan een bijdrage leverend in de besluitvorming omtrent het al dan niet toelaten van nieuwe stoffen.
- Berekening van HCp's voor bestaande stoffen; hiermee kan in het brongerichte beleid rekening worden gehouden, bv. door regulering van de produktie, het transport of de lozing van een stof.
- Aangeven van de risico's, in de vorm van het percentage niet volledig beschermde organismen in een levensgemeenschap, behorend bij een bepaalde concentratie van een toxische stof. Hiervoor is het handig de formules voor de HCp en de VF (zie 2.2 en 2.3) zodanig te schrijven dat bij een bepaalde bodemconcentratie de fractie onbeschermde soorten ( $\delta_1$ ) gemakkelijk berekend kan worden:

$$\delta_1 = \left( \exp \left[ \pi^2 (X_m - \ln C) / 3d_m s_m \right] + 1 \right)^{-1},$$

waarbij C staat voor de bodemconcentratie van de stof.

Voor toepassing van de extrapolatiemethode zijn onderzoeksgegevens nodig. Op dit moment is hier enerzijds een tekort aan terwijl er anderzijds grote verschillen bestaan in de wijze waarop dergelijke onderzoeken uitgevoerd worden. Deze problemen

kunnen opgelost worden door het opstellen van een protocol waarin duidelijk vermeld staat welke onderzoeken nodig zijn en op welke wijze zij uitgevoerd moeten worden om toepassing van de methode zo optimaal mogelijk te maken. Een goed protocol zou ook betekenen dat enkele belangrijke problemen van de methode, zoals bv. soorts- en parameterkeuze opgelost worden. Daarbij is het wellicht ook mogelijk rekening te houden met effecten op oecosysteemniveau. In hoofdstuk 5 wordt een aanzet voor de ontwikkeling van een dergelijk protocol gegeven.



Tabel 5a Inventarisatie van de eigenschappen van drie risicoschattingmethoden.

<u>Eigenschappen</u>	<u>Slooff</u>	<u>Kooijman</u>	<u>Van Straalen</u>
Risicobeoordeling aanwezig	+	+	+
Onderbouwde keuzen en aannamen	+	+	+
Reproduceerbaar	+	+	+
Duidelijk eindpunt	+	+	+
Actueel (nieuwe onderzoeksgegevens inpasbaar)	+/-	+	+
Wetenschappelijk onderzoek als basis	+	+	+
Eénduidig/voor meer stoffen bruikbaar	+	+	+
Veiligheidsfactor (VF)	+	+	+
Stofgericht (VF per stof)	-	+	+
Bodemgericht	-	-	+

5b Inventarisatie van de kenmerken, welke in de in de methoden gehanteerde risicobeoordelingen vertegenwoordigd zijn.

Betrouwbaarheid VF	-	+	+
Omvang schattingsfouten	-	+	+
Kwetsbare levensstadia	-	-	-
Herstelmechanismen	-	-	-
Verslechterende omstandigheden	-	-	-
Synergistische en additieve effecten	-	-	-
Experimentele onzekerheid	-	-	+

+ = aanwezig

- = niet aanwezig

+/- = gedeeltelijk aanwezig

### **Hoofdstuk 3: RISICOSCHATTING VOOR GEHALTEN VAN BESTRIJDINGSMIDDELEN IN EEN STANDAARDBODEM**

#### **3.1 Inleiding.**

De Risico-Analyse Bodemverontreiniging (RAB) volgens van Straalen (van Straalen 1987, van Straalen & Denneman 1988) gaat uit van het principe dat er in een multifunctionele bodem negatieve effecten mogen optreden bij een bepaald gering percentage van de bodemdieren (zie 2.3) Zoals gezegd wordt in het vervolg het door van Straalen voorgestelde percentage van 5% aangehouden. Er wordt gebruik gemaakt van chronische toxiciteitswaarden uit de open literatuur. De methode biedt de mogelijkheid aan te geven welk percentage van de soorten in de bodemfauna beschermd wordt bij de door de overheid opgestelde referentiewaarden.

Voor een zestal bestrijdingsmiddelen zal de wijze waarop tot een HC5 (Hazardous Concentration voor 5% van de soorten) gekomen is worden besproken en vergeleken met de referentiewaarde uit het milieuprogramma (MPV 1987, 1988). Er zal worden toegelicht hoe op grond van veld doseringen bodemconcentraties van bestrijdingsmiddelen kunnen worden berekend. Tenslotte zal in een aantal gevallen geschat worden welk percentage organismen in een levensgemeenschap (tijdelijk) onbeschermd is bij een redelijke veld dosering van het middel. Alle technische gegevens omtrent de toepassing en dosering van de middelen zijn ontleend aan de Gewasbeschermingsgids (1985).

#### **3.2 Literatuuronderzoek.**

Het zoeken naar literatuur is begonnen met bestaande bestanden aan de VU, omtrent o.a. trifenyltinverbindingen en dithiocarbamaten, en op het RIVM. Tevens is gebruik gemaakt van de volgende computerbestanden:

Toxline van 1965 tot maart 1988,

Medline van 1966 tot april 1988 en

Biological abstracts van 1983 tot april 1988

De literatuurbestanden zijn onderzocht op (neven)effecten van bestrijdingsmiddelen op de volgende taxonomische groepen:

Oligochaeta	Thysanura
Isopoda	Diplura
Collembola	Hemiptera
Arachnidae	Chilopoda
Coleoptera	Diplopoda

Door middel van doorverwijzing in de relevant geachte literatuur is overig bruikbaar onderzoek opgespoord. De bijlage bevat de meeste van de NOEC- en NOLC-waarden die zijn verzameld. De zes voorbeeldstoffen zijn uitgekozen op relevantie voor de normstelling en op voldoende beschikbaarheid van gegevens.

### 3.3 NOEC-, NOLC- en NEL-waarden.

In veel artikelen wordt een discrete reeks concentraties gepresenteerd waarbij het effect van een bestrijdingsmiddel op een toxicologisch criterium wordt vastgesteld. Zo'n parameter kan bijvoorbeeld sterfte, groei of reproductie zijn. De hoogste concentratie waarbij nog geen effect wordt geconstateerd is de 'highest no observed effect concentration' (NOEC). In het geval van sterfte is dit dan de 'highest no observed lethal concentration', de NOLC. Het echte 'no effect level' (NEL) ligt ergens tussen de NOEC en de lowest observed effect concentration (LOEC). Om de echte NEL met redelijke betrouwbaarheid vast te stellen moeten voldoende gegevens beschikbaar zijn om de dosis-effect-relatie wiskundig te beschrijven. Slechts in een uitzonderingsgeval is hier aandacht aan geschonken (Ma 1983), zodat noodgedwongen in de onderstaande gevallen steeds met NOEC's of NOLC's is gewerkt. In veel artikelen wordt een reeks concentraties gepresenteerd met het bijbehorende percentage sterfte. Om NOE(L)C-waarden af te leiden zijn artikelen gebruikt, waarbij de NOE(L)C waarde duidelijk te onderscheiden was van de LOEC waarde. In sommige gevallen (bijv. Cathey 1982) kon er gebruik gemaakt worden van NOE(L)C waarden die door de auteurs in de begeleidende tekst werden vermeld. Vanwege het gebrek aan gegevens moest helaas soms de toevlucht worden genomen tot resultaten van experimenten waarbij het toetsmedium onvoldoende werd beschreven (zie 3.6).

### 3.4 Standaardbodem

Het organisch stofgehalte van de bodem is van belang voor de toxiciteit van stoffen vanwege het lipofiele karakter van veel bestrijdingsmiddelen en de sterke hechting aan bodemcolloïden of dood organisch materiaal. In een veenbodem zal dezelfde concentratie bestrijdingsmiddel minder effect op het bodemmilieu hebben dan in een zandige bodem. Per experiment wordt daarom de NOEC of NOLC aangepast voor een bodem met een organisch stofgehalte van 10 %, de zgn. standaardbodem. Hierbij wordt de volgende formule gebruikt (Lexmond 1987):

$$Vr(s) = Vr(i) / Os(i) \times Os(s) \text{ waarbij}$$

$$Vr(s) = \text{NOEC of NOLC voor standaardbodem (mg of } \mu\text{g/kg)}$$

$$Vr(i) = \text{NOEC of NOLC in bodem i (mg of } \mu\text{g/kg)}$$

$$Os(s) = \text{organisch stofgehalte in standaardbodem (10 \%)}$$

$$Os(i) = \text{organisch stofgehalte in bodem i (in \%)}.$$

Bij een organisch stofgehalte van kleiner dan 2% of groter dan 30% wordt een waarde van resp. 2% en 30% aangehouden (MPV 1987, 1988).

Men moet zich realiseren dat deze omrekening een sterke simplificatie van de complexe situatie in een bodem inhoudt. Het rapport 'Grondgebonden residuen van bestrijdingsmiddelen' van Boekhold (1988) laat zien dat er meer verbanden tussen de beschikbaarheid van bestrijdingsmiddelen en bodemkarakteristieken bestaan. Verbanden met belangrijke bodemeigenschappen, zoals pH en kleigehalte, kunnen tussen verschillende groepen bestrijdingsmiddelen bovendien aanzienlijk uiteen lopen. Het blijkt dat er nog veel onderzoek nodig is, voordat de beschikbaarheid van bestrijdingsmiddelen voldoende duidelijk is. Dergelijk onderzoek zou ook kunnen

leiden tot betrouwbaardere omrekeningsformules. Zolang er nog geen betere alternatieven voorhanden zijn, kan de hierboven gegeven omrekening gehandhaafd blijven.

De beschrijving van het substraat in de gebruikte artikelen in 3.6 is vaak gebrekkig en het organisch stofgehalte wordt soms niet vermeld. Hierdoor werd het noodzakelijk schattingen hiervan te maken voor enkele zandsubstraten. In enkele gevallen bleek de concentratie van het bestrijdingsmiddel berekend te zijn op basis van natgewicht. In deel 3.6 is vermeld in welke gevallen een omrekening naar concentraties op basis van drooggewicht is verricht.

### 3.5 Velddoseringen

Het is mogelijk om een schatting te maken van de concentratie van een bestrijdingsmiddel in de bodem, als gegevens beschikbaar zijn omtrent de velddosering van een stof (in kg/ha of l/ha) en de hoeveelheid actieve stof in de fabrieksformuleringen (Gewasbeschermingsgids 1985). Lexmond (1987) heeft een aantal formules ontwikkeld over het verband tussen de belasting van de bodem en het hieruit resulterende gehalte van een bestrijdingsmiddel:

$$G = \frac{A}{\rho_b \cdot z} \quad [1]$$

waarin:

G = stofgehalte in de grond ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  droge stof)

A = aangevoerde hoeveelheid stof ( $\text{mg} \cdot \text{m}^{-2}$ )

$\rho_b$  = dichtheid van de grond ( $\text{Mg} \cdot \text{m}^{-3}$ )

z = bemonsteringsdiepte (m)

De dichtheid van de grond ( $\rho_b$ ) is een functie van het organische stofgehalte. In een standaardbodem is dit 10% (0.10) :

$$1/\rho_b = 0.60 + 3.42 \cdot H \quad [2]$$

waarin:

H = organisch stofgehalte als fractie.

Naarmate H toeneemt neemt  $1/\rho_b$  toe en  $\rho_b$  af. Zeer humeuze bodems hebben dus een lagere dichtheid. De coëfficiënten werden door Lexmond & Edelman (1986) experimenteel bepaald. Door [2] in [1] te substitueren ontstaat een formule met het verband tussen stofgehalte en het organisch stofgehalte:

$$G = \frac{A}{z} (0.60 + 3.42 \cdot H) \quad [\text{voor een standaardbodem}].$$

Deze formule is opgesteld voor persistente en weinig mobiele verbindingen, zoals gehalogeneerde koolwaterstoffen. Mobiele en of snel afbreekbare verbindingen zullen zich niet homogeen en langdurig over de bovenste bodemlaag verdelen. Voor niet-persistente verbindingen is het toepassen van deze omrekening naar bodemconcentraties slechts een poging om bodemconcentraties te schatten die kort na een velddosering kunnen optreden.

### 3.6 Bepaling van HC5-waarden bij enkele geselecteerde bestrijdingsmiddelen

#### Lindaan

Lindaan ( $\gamma$ -1,2,3,4,5,6-hexachloorcyclohexaan) is een persistent insekticide en wordt o.a. gebruikt als grondbehandelingsmiddel tegen ritnaalden, emelten en springstaarten en als gewasbeschermingsmiddel tegen kevers, rupsen en wantsen. In het MPV (1987, 1988) is een maximale referentiewaarde vermeld voor HCH-isomeren van 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  droge stof. Er zijn een viertal onderzoeken gevonden die toepasbaar zijn in de RAB-methode. Per experiment wordt achtereenvolgens vermeld: auteur, soort, parameter, wijze van blootstelling en blootstellingsduur, informatie over de omrekening naar een standaardbodem en de NOE(L)C waarde voor een standaardbodem.

1	auteur soort parameter blootstelling blootstellingsduur NOEC standaardbodem	Ma 1982 <i>Lumbricus rubellus</i> (Oligochaeta, Lumbricidae) Coconproductie, NOEC 10 mg/kg Via substraat, zavelgrond met 3.4 % org. stof 6 weken 29.4 mg/kg
2	auteur soort parameter blootstelling  blootstellingsduur omrekening  NOEC standaardbodem	Stenersen 1979 <i>Eisenia foetida</i> (Oligochaeta, Lumbricidae) Gedrag (optreden van 'tonic tremors'), NOEC < 8 mg/kg Via substraat, mengsel van veenmos, klei en water, concentratie berekend op natgewicht. 30 dagen op basis van drooggewicht NOEC < 12 mg/kg. Gesteld het org. stofgehalte is A: $\geq 30\%$ , B: 20% A : < 4 mg/kg B : < 6 mg/kg
3	auteur soort parameter  blootstelling  blootstellingsduur omrekening  NOEC standaardbodem	Fayolle 1979 <i>Lumbricus terrestris</i> (Oligochaeta, Lumbricidae) strooiselafbraak, NOEC 1.7 mg/kg (omgerekend van g/ha naar mg/kg volgens de door Fayolle vermelde formule) Via substraat, mengsel van twee soorten zand. Org. stofgehalte is volgens opgave 'laag'. Concentratie gegeven op basis van natgewicht. 7 dagen Op basis van drooggewicht NOEC = 2.3 mg/kg Gesteld het org. stofgehalte is A: 2% , B: 6% A : 11.5 mg/kg B : 3.8 mg/kg

4	auteur	Thompson & Gore 1972
	soort	<i>Folsomia candida</i> (Collembola, Isotomidae)
	parameter	Mortaliteit, NOLC < 0.01 mg/kg
	blootstelling	Via substraat, zand met 0.7 % org. stof
	blootstellingsduur	24 uur
	NOLC standaardbodem	< 0.05 mg/kg

Aangezien er in twee artikelen verschillende NOEC-waarden zijn berekend, ontstaan er 4 mogelijke combinaties van NOEC-waarden. Hiervoor zijn de veiligheidsfactoren (VF) en de bijbehorende HC5-waarden berekend. Er is dus vanuit gegaan dat een overschrijding van de NOE(L)C toegestaan bij 5% van de soorten van de bodemfauna is toegestaan (zie hfst 2 voor de gebruikte formules):

combinatie	Gemiddelde ln (NOEC of NOLC)	VF	HC5
1,2a,3a,4	2.87 mg/kg	3382	0.85 µg/kg
1,2a,3b,4	2.17 mg/kg	2322	0.94 µg/kg
1,2b,3b,4	2.41 mg/kg	2591	0.93 µg/kg
1,2b,3a,4	3.17 mg/kg	3616	0.88 µg/kg

In dit rekenvoorbeeld voor lindaan blijkt de berekende HC5 weinig te veranderen door variaties die het gevolg zijn van omrekening naar een standaardbodem. Dit ontstaat doordat de uiterste waarden (29.4 mg/kg in onderzoek 1 en 0.05 mg/kg in onderzoek 4) de spreiding grotendeels bepalen en de gekozen combinaties (2a,b en 3a,b) binnen deze uitersten liggen. De spreiding ( $s_m$ ) tussen de ln NOE(L)C's wordt hierdoor relatief gering beïnvloed. In twee van de vier onderzoeken is een NOEC of NOLC gebruikt die in werkelijkheid kleiner is dan de vermelde waarde. Het is aannemelijk dat bij gebruik van de werkelijke NOE(L)C's de spreiding ( $s_m$ ) nog meer zal toenemen.

Door invulling in de formule voor  $\delta_1$  van referentiewaarden uit het MPV (1987, 1988) of geschatte bodemconcentraties in het veld kan het percentage onbeschermde dieren berekend worden (zie paragraaf 2.3).

In het ontwerp basisdocument hexachloorcyclohexanen (RIVM 1987) wordt 10 µg/kg lindaan ( $\gamma$  HCH) als voorlopige streefwaarde voor het bodemoecosysteem voorgesteld. De hier berekende HC5 ligt daar ver onder. Als uitgegaan wordt van de hier berekende referentiewaarde van 0.85 µg/kg droge stof, is bij een waarde van 10 µg/kg 11.4% van de soorten niet volledig beschermd. In het MPV (1987, 1988) wordt een referentiewaarde van 1 µg/kg genoemd, vermoedelijk voor alle HCH isomeren samen. 1 µg/kg lindaan leidt volgens een gelijksoortige berekening tot 5.3% niet volledig beschermde soorten.

Bij een velddosering van bijvoorbeeld een grondbehandeling van bieten tegen ritnaalden kan op grond van de formules uit 3.6 de bodemconcentratie lindaan worden geschat:

3.5 l lindaan per hectare (21 % actieve stof, d.w.z. 210 g/l) = 73.5 mg  $\cdot$  m<sup>-2</sup>  
volgens de formules van Lexmond (zie 3.6) is

$$G = \frac{A}{z} (0.60 + 3.42 \cdot H)$$

waarbij voor de bemonsteringsdiepte (z) 0.2 m is genomen, en voor het organisch stof gehalte (H) 10 % is genomen, namelijk dat van een standaardbodem.

$$G = \frac{73.5}{0.2} (0.60 + 0.342) = 346.2 \text{ } \mu\text{g/kg droge stof.}$$

Deze mogelijke veldconcentratie kan op dezelfde manier als de referentiewaarden van het MPV gesubstitueerd worden in de formule voor  $\delta_1$ . Een veldconcentratie van 346.2  $\mu\text{g/kg}$  resulteert er volgens deze berekening in dat 31.7 % van de soorten niet volledig beschermd is tegen neveneffecten van linaan. In dit voorbeeld is er vanuit gegaan dat het bestrijdingsmiddel zich homogeen over de bovenste 20 cm zal verdelen. In werkelijkheid zal de concentratie met de diepte afnemen. Het is aannemelijk dat er een exponentiële verdeling van de stof over het bodemprofiel ontstaat. Dit betekent dat het percentage soorten dat niet volledig beschermd is eveneens met de diepte zal afnemen en dat de berekende waarde evenals de concentratie een gemiddelde waarde voor de bovenste 20 cm weergeeft. In een vervolgonderzoek zal op modelmatige wijze nader op deze problematiek worden ingegaan.

**Aldrin**

Het insecticide aldrin (hexachloor-hexahydro-dimethanonafaleen) is een zeer persistente koolwaterstof en is niet meer toegelaten in Nederland. Aldrin is opgenomen in de lijst van referentiewaarden voor de bodemkwaliteit (MPV 1987, 1988). Bij een organisch stofgehalte van 10 % mag er van deze stof niet meer dan 10 µg/kg droge stof aanwezig zijn. Er zijn 3 verschillende soorten in dit rekenvoorbeeld gebruikt; een worm, een kever en een springstaart.

1	auteur	Cathey 1982
	soort	<i>Lumbricus terrestris</i> (Oligochaeta, Lumbricidae)
	parameter	Mortaliteit, NOLC = 13 mg/kg
	blootstelling	Via substraat, papiersnippers gemengd met water. Concentratie gegeven op basis van natgewicht (1 l water per pond papier (engels pond = 0.454 g)
	blootstellingsduur	32 dagen
	omrekening	Op basis van drooggewicht NOLC = 41.6 mg/kg Papier is grotendeels cellulose, org. stofgehalte is groter dan 30 %.
	NOLC standaardbodem	13.9 mg/kg
2	auteur	Thompson & Gore 1972
	soort	<i>Folsomia candida</i> (Collembola, Isotomidae)
	parameter	Mortaliteit, NOLC = 0.1 mg/kg
	blootstelling	Via substraat, zand met 0.7 % org. stof.
	blootstellingsduur	24 uur.
	NOLC standaardbodem	0.5 mg/kg
3	auteur	Tomlin 1975 a
	soort	<i>Pterostichus melanarius</i> (Coleoptera, Carabidae) 1-instar larven.
	parameter	Mortaliteit, NOLC = 0.05 mg/kg
	blootstelling	Via substraat, zand met 0.7 % org. stof.
	blootstellingsduur	24 uur.
	NOLC standaardbodem	0.25 mg/kg

Deze 3 NOLC waarden zijn gebruikt om de VF en de bijbehorende HCp te berekenen, zoals hieronder weergegeven:

fractie	Gemiddelde van ln (NOEC of NOLC)	VF	HCp
δ = 0.05	1.2 mg/kg	689.8	1.74 µg/kg
δ = 0.01	1.2 mg/kg	26 923.0	0.04 µg/kg



De gebruikte waarden in dit voorbeeld zijn allemaal NOLC's. Men moet zich realiseren dat bij een beschermingspercentage van 95% toch nog één op de 20 soorten niet volledig beschermd wordt tegen sterfte. Een keuze voor een  $\delta$  kleiner dan 0.05 ( $p < 5\%$ ) lijkt daarom gerechtvaardigd, zodat de voor te stellen waarde dan onder  $1.74 \mu\text{g}/\text{kg}$  droge stof ligt. In dit rekenvoorbeeld neemt de veiligheidsfactor sterk toe wanneer de fractie van de bodemfauna die niet wordt beschermd kleiner wordt.

Het percentage bodemdieren dat niet volledig beschermd wordt tegen mortaliteit bij een referentiewaarde van  $10 \mu\text{g}/\text{kg}$  grond (waarde MPV 1987, 1988) bedraagt 10.4 %

## Dieldrin

Dieldrin (hexachloor-octahydro-epoxy-dimethanonafaleen), een insecticide, mag nog zeer beperkt gebruikt worden (Gewasbeschermingsgids 1985) en is een zwarte lijst stof. De vastgestelde referentiewaarde in het milieuprogramma bedraagt voor dieldrin 10 µg/kg. Voor dieldrin kon slechts beschikt worden over twee experimenten met een regenworm en een parthenogenetische springstaart. Twee diersoorten is tevens het minimum aantal waarop de methode toepasbaar is.

1	auteur	Cathey 1982
	soort	<i>Lumbricus terrestris</i> (Oligochaeta, Lumbricidae)
	parameter	Mortaliteit, NOLC = 13 mg/kg
	blootstelling	Via substraat, papiersnippers gemengd met water, zie bij aldrin.
	blootstellingsduur	32 dagen
	omrekening	Op basis van drooggewicht NOLC = 41.6 mg/kg. Org. stofgehalte ≥ 30 %
	NOLC standaardbodem	13.9 mg/kg
2	auteur	Thompson & Gore 1972
	soort	<i>Folsomia candida</i> (Collembola, Isotomidae)
	parameter	Mortaliteit, NOLC = 0.1 mg/kg
	blootstelling	Via substraat, zand met 0.7 % org. stof.
	blootstellingsduur	24 uur
	NOLC standaardbodem	0.5 mg/kg

fractie	onbeschermd	Gemiddelde van ln (NOEC of NOLC)	VF	HCp
δ = 0.05		2.6 mg/kg	2.508	1.1 µg/kg
δ = 0.01		2.6 mg/kg	201.909	0.01 µg/kg

Uit bovenstaande tabel blijkt dat bij een  $\delta$  van 0.05 waarbij 95% van de soorten in de bodem beschermd wordt, de toxiciteit van dieldrin ongeveer overeenstemt met die van aldrin. In het geval van dieldrin is de spreiding in de ln NOLC waarden ( $s_m$ ) en de correctiefactor  $d_m$  groter dan voor aldrin. Dit hangt samen met het gebruik van slechts twee soorten. Hierdoor wordt de veiligheidsfactor bij het toenemen van het percentage beschermde dieren bijzonder hoog.

Evenals voor aldrin geldt voor dieldrin dat de maximale referentiewaarde uit het MPV (1987, 1988) (10 µg/kg) te hoog is om ongewenste effecten op sterfte van soorten in de bodemfauna te voorkomen. Het blijkt dat bij een bodemconcentratie van 10 µg dieldrin per kg grond 10.9 % van de soorten niet volledig beschermd wordt tegen sterfte.

## Atrazin

Atrazin (2 chloor-4 ethylamino-6 isopropylamino-1,3,5 triazine) is een herbicide en wordt gebruikt tegen éénjarige onkruiden en kweekgras op akkerranden, in maïs en op onbeteelde terreinen. Atrazin heeft een hoge oplosbaarheid in water (33 mg/l bij 20 °C). De analyse is gebaseerd op drie springstaarten en een worm (*E. eugeniae*, een afrikaanse soort).

- |   |  |  |
|---|--|--|
| 1 | auteur<br>soort<br>parameter<br>blootstelling<br>blootstellingsduur<br>omrekening<br>NOLC standaardbodem     | Caseley & Eno 1966<br><i>Eudrilus eugeniae</i> (Oligochaeta, Eudrilidae)<br>Mortaliteit, NOLC = 32 mg/kg<br>Via substraat, zand, org stofgehalte is onbekend<br>32 dagen<br>Gesteld het org stofgehalte is A : 2% B : 8%<br>A : 160 mg/ kg<br>B : 40 mg/ kg  |
| 2 | auteur<br>soort<br>parameter<br>blootstelling<br><br>blootstellingsduur<br>omrekening<br>NOLC standaardbodem | Subagja & Snider 1981<br><i>Tullbergia granulata</i> (Collembola, Onychiuridae)<br>Mortaliteit, NOLC = 1000 mg/kg<br>Via het voer, atrazin gemengd door gist.<br>Concentratie atrazin op basis van drooggewicht.<br>22 weken<br>Voer bevat meer dan 30 % org. stof.<br>333 3 mg/ kg  |
| 3 | auteur<br>soort<br>parameter<br>blootstelling<br>blootstellingsduur<br>NOLC standaardbodem                   | Subagja & Snider 1981<br><i>Folsomia candida</i> (Collembola, Isotomidae)<br>Mortaliteit, NOLC = 600 mg/kg<br>Via het voer, zie boven.<br>22 weken<br>200 mg/kg  |
| 4 | auteur<br>soort<br>parameter<br><br>blootstelling<br>blootstellingsduur<br>omrekening<br>NOEC standaardbodem | Mola et al. 1987<br><i>Onychiurus armatus</i> (Collembola, Onychiuridae)<br>Ovipositie en ontwikkeling van de eieren. NOEC =<br>10 mg/kg. (bij 20 mg/kg reeds 62,7% sterfte)<br>Via substraat (zand); org stofgehalte is onbekend<br>60 dagen<br>Gesteld het org. stofgehalte is A : 2%, B : 8 %.<br>A : 50 mg/ kg<br>B : 12.5 mg/kg |

combinatie	Gem In(NOEC of NOLC)	VF( $\delta=0.05$ )	VF ( $\delta=0.01$ )	HC5( $\delta=0.05$ )	HC1( $\delta=0.01$ )
1a,4a	152.0 mg/kg	10.1	36.9	15.2 mg/kg	4.1 mg/kg
1a,4b	107.5 mg/kg	68.6	733.5	1.6 mg/kg	0.2 mg/kg
1b,4a	107.5 mg/kg	19.9	106.1	5.4 mg/kg	1.0 mg/kg
1b,4b	75.9 mg/kg	76.5	870.3	1.0 mg/kg	0.1 mg/kg

In de artikelen van Caseley & Eno (1) en Mola et al. (4) is het organisch stofgehalte van het gebruikte zand niet gegeven. In de schattingen hiervan is het minimum organisch stofgehalte aangehouden (2%) en een vrij hoge waarde (8%). In tegenstelling tot het voorbeeld voor linaan werkt de variatie die ontstaat door verschillende schattingen van het organisch stofgehalte relatief sterk door in de uiteindelijk berekende HCp. Bij een  $\delta$  van 0.05 varieert deze met een factor 15, bij een  $\delta$  van 0.01 met een factor 40. Omdat de parameter mortaliteit is, wordt hier ook de HCp berekend voor een beschermingspercentage van 99%. In het geval waar het organisch stofgehalte van het zand 2% is (combinatie 1a, 4a) is de bovengrens van de HC1 4.1 mg/kg. Wanneer gekozen wordt voor een organisch stofgehalte van 8% (combinatie 1b, 4b, minder waarschijnlijk) is de ondergrens van de HC1 0.1 mg/kg.

Atrazin kan direct na het zaaien worden toegediend, en de veld dosering zal dus in zijn totaliteit op de bodem terecht komen. Er wordt uitgegaan van een veld dosering van 3 kg atrazin per hectare.

3 kg (50 % actieve stof) / 10.000 m<sup>2</sup> = 150 mg . m<sup>-2</sup> actieve stof.

Ingevuld in de formules van Lexmond (1987):

$$G = \frac{A}{z} (0.60 + 3.42 \cdot H) = \frac{150}{0.2} (0.942) = 707 \mu\text{g/kg droge stof.}$$

Het onzekerheidsbereik van een  $\delta$  van 0.01 loopt van 0.1 tot 4.1 mg/kg. Het is dus mogelijk dat onder ongunstige condities een veld dosering atrazin tot gevolg kan hebben dat gevoelige soorten niet volledig beschermd worden tegen sterfte.

## Carbaryl

Carbaryl (methyl-1-naftylcarbamaat) is een insecticide met cholinesterase remmende werking. Carbaryl wordt onder andere gebruikt tegen rupsen en kevers in groente-, fruit- en sierteelt. In het MPV (1987, 1988) is voor deze stof geen referentiewaarde opgenomen. In dit rekenvoorbeeld voor carbaryl zijn, evenals bij dieldrin, slechts twee soorten gebruikt die echter sterk verschillen in gevoeligheid.

1	auteur	Cathey 1982
	soort	<i>Lumbricus terrestris</i> (Oligochaeta, Lumbricidae)
	parameter	Mortaliteit, NOLC = 10 mg/kg
	Blootstelling	Mengsel van water en papiersnippers, zie aldrn
	blootstellingsduur	32 dagen
	omrekening	Op basis van drooggewicht NOLC = 32 mg/kg Org stofgehalte is maximaal (30%)
	NOLC standaardbodem	10.7 mg/kg
2	auteur	Thompson & Gore 1972
	soort	<i>Folsomia candida</i> (Collembola, Isotomidae)
	parameter	Mortaliteit, NOLC = 0.05 mg/kg
	blootstelling	Via substraat, zand met 0.7% org. stof
	blootstellingsduur	24 uur
	NOLC standaardbodem	0.25 mg/kg

fractie	onbeschermd	Gemiddelde van In (NOEC of NOLC)	VF	HCp
$\delta = 0.05$		1.64 mg/kg	6.925	0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$
$\delta = 0.01$		1.64 mg/kg	984.930	1.6 ng/kg

Carbaryl is bijzonder toxisch voor bodemdieren. Bij een beschermingspercentage van 95% is de berekende HC5 slechts 0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , terwijl effecten op gevoeliger parameters dan mortaliteit niet in beschouwing zijn genomen. De voor te stellen waarde voor carbaryl zal dus beneden de 0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  liggen.

Omdat carbaryl behalve tegen regenwormen in sportvelden niet voor grondbehandelingen wordt gebruikt is er geen berekening gemaakt van de schade die een velddosering kan veroorzaken.

## Carbofuran

Carbofuran (2,3 dihydro-2,2-dimethylbenzofuran-7-yl-methylcarbamaat) is een insecticide en kent een breed toepassingsgebied in vele teelten. De enkele gegevens die voorhanden waren betroffen voornamelijk nauw verwante soorten.

1	auteur	Tomlin 1975 a
	soort	<i>Onychiurus justus porteri</i> (Collembola, Onychiuridae)
	parameter	Mortaliteit, NOLC = 0.5 mg/kg
	blootstelling	Via substraat, zand met 0.7% org stof
	blootstellingsduur	24 uur
	NOLC standaardbodem	2.5 mg/kg
2	auteur	Tomlin 1975 a
	soort	<i>Hypogastrura armata</i> (Collembola, Poduridae)
	parameter	Mortaliteit, NOLC = 0.1 mg/kg
	blootstelling	Via substraat, zand met 0.7% org stof
	blootstellingsduur	24 uur
	NOLC standaardbodem	0.5 mg/kg
3	auteur	Tomlin 1975 a
	soort	<i>Folsomia candida</i> (Collembola, Isotomidae)
	parameter	Mortaliteit, NOLC = 0.01 mg/kg
	blootstelling	Via substraat, zand met 0.7% org. stof
	blootstellingsduur	24 uur
	NOLC standaardbodem	0.05 mg/kg
4	auteur	Tomlin 1975 b
	soort	<i>Pterostichus melanarius</i> (Coleoptera, Carabidae) 1-instar larven
	parameter	Mortaliteit, NOLC = 0.05 mg/kg
	blootstelling	Va substraat, zand met 0.7% org. stof
	blootstellingsduur	24 uur
	NOLC standaardbodem	0.25 mg/kg

fractie			
onbeschermd	Gemiddelde van ln (NOEC of NOLC)	VF	HCp
$\delta = 0.05$	0.4 mg/kg	107.2	3.3 $\mu\text{g/kg}$
$\delta = 0.01$	0.4 mg/kg	1472.9	0.2 $\mu\text{g/kg}$

De gepresenteerde HCp's zijn berekend op basis van een slechts 24 uur durende blootstelling aan carbofuran. Zij geven dus slechts een indruk van de gevoeligheden voor acute mortaliteit. Desondanks wordt duidelijk dat bij een verantwoord percentage bescherming ( $\delta < 0.05$ ) de HCp nadert naar 1  $\mu\text{g/kg}$ , een zeer lage waarde.

Carbofuran wordt in een aantal teelten gebruikt voor grondbehandelingen tegen insecten. Voor twee voorbeelden is doorgerekend welke bodemconcentraties mogelijkterwijze kunnen optreden, en welk percentage dieren dan nog beschermd is.

Grondbehandeling van ui en prei tegen uievlieg (*Delia antiqua*):

Velddosering is 22 l/ha (200 g actieve stof per l) =

$$4400 \text{ g} / 10\,000 \text{ m}^2 = 440 \text{ mg} / \text{m}^2$$

$$G = \frac{A}{z} (0.60 + 3.42 \cdot H) = \frac{440}{0.2} (0.942) = 2072.4 \text{ } \mu\text{g} / \text{kg} \text{ droge stof.}$$

Wanneer deze bodemconcentratie wordt ingevuld in de formule voor  $\delta_1$  (zie 2.3), blijkt dat 75.3 % van de soorten in de bodem niet volledig beschermd wordt tegen sterfte.

Grondbehandeling van aardbei in de volle grond tegen de lapsnuitkever (*Otiorrhynchus spec.*):

Velddosering is 12.5-25 l/ha (200 g actieve stof per l). Uitgaande van een velddosering van 12.5 l/ha = 2500 g / 10 000 m<sup>2</sup> = 250 mg / m<sup>2</sup>

$$G = \frac{A}{z} (0.60 + 3.42 \cdot H) = \frac{250}{0.2} (0.942) = 1177.5 \text{ } \mu\text{g} / \text{kg} \text{ droge stof.}$$

Bij deze velddosis blijkt 68.1 % van de soorten niet beschermd tegen sterfte. Het is dus aannemelijk dat bij toepassing van dit middel een groot aantal niet-doelsoorten gedood wordt.

### 3.7 Overzicht van de berekende advieswaarden

In de navolgende tabel zijn de met de RAB-methode (zie 2.3) berekende HCp's samengevat. De waarden zijn vermeld bij beschermingspercentages van 95 en 99 procent ( $\delta$  is respectievelijk 0.05 en 0.01 ofwel  $p$  is 5 en 1%).

Tabel 6 HCp-waarden ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) berekend volgens de RAB-methode voor zes verschillende bestrijdingsmiddelen bij verschillende beschermingspercentages (1-p), gegeven een kans van 5% op een verkeerde beoordeling door steekproeffouten. Voor afkortingen zie 3.3

stof	type waarde	$\delta = 0.05$ (p=5%)	$\delta = 0.01$ (p=1%)
lindaan	NOE(L)C	0.85	$8.9 \times 10^{-3}$
aldrin	NOLC	1.74	0.04
dieldrin	NOLC	1.10	0.01
atrazin	NOE(L)C	$15.20 \times 10^3$	$4.10 \times 10^3$
carbaryl	NOLC	0.20	0.0016
carbofuran	NOLC	3.30	0.20

Indien de waarde uitsluitend op NOLC's gebaseerd is, verdient het aanbeveling uit te gaan van een beschermingspercentage van 99%. In de andere gevallen kan 95% gehanteerd worden.

In 3.6 is berekend welk percentage dieren onbeschermd is bij referentiewaarden die door de overheid zijn vastgesteld voor de stoffen lindaan, aldrin en dieldrin. In tabel 7 zijn deze resultaten samengevat.

Tabel 7 Percentage soorten dat bij voorgestelde referentiewaarden in het MPV (1987, 1988), en het ontwerp basisdocument hexachloorcyclohexanen (RIVM1987) niet volledig beschermd is, gegeven een kans van 5% op een verkeerde beoordeling door steekproeffouten.

stof	voorgestelde referentiewaarde	% niet volledig beschermde soorten bij de referentiewaarde
lindaan	1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (MPV)	5.3 %
	10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (RIVM)	11.4 %
aldrin	10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (MPV)	10.4 %
dieldrin	10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (MPV)	10.9 %

In figuur 1a-1f wordt voor de zes bestrijdingsmiddelen het percentage beschermde soorten uitgezet tegen de concentratie in een standaardbodem met een organisch stofgehalte van 10%.



Fig 1. Grafische weergave van het geschatte percentage beschermden soorten als functie van de concentratie van zes bestrijdingsmiddelen in een standaardbodem  $10^6 \text{ ng} = 1 \text{ mg}$

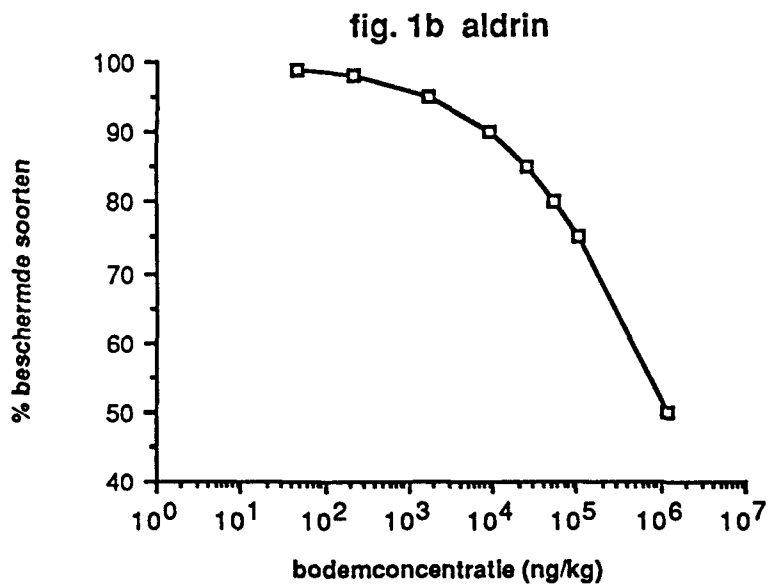
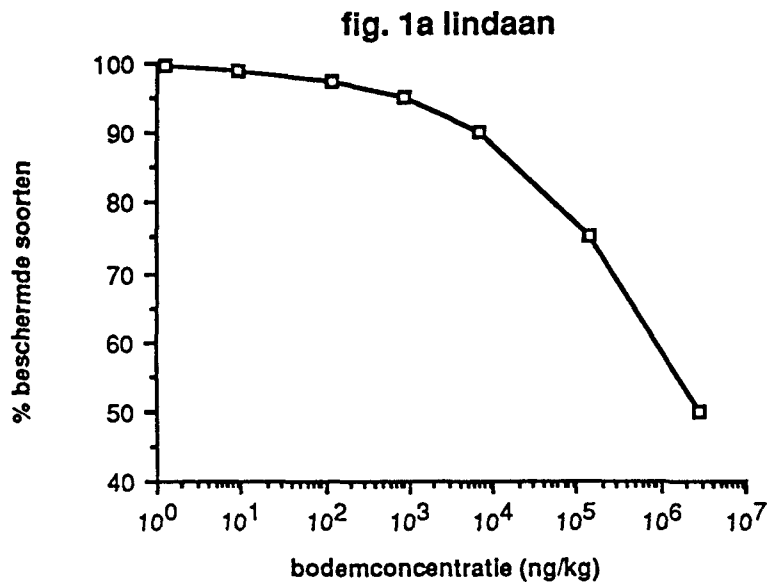


fig. 1c dieldrin

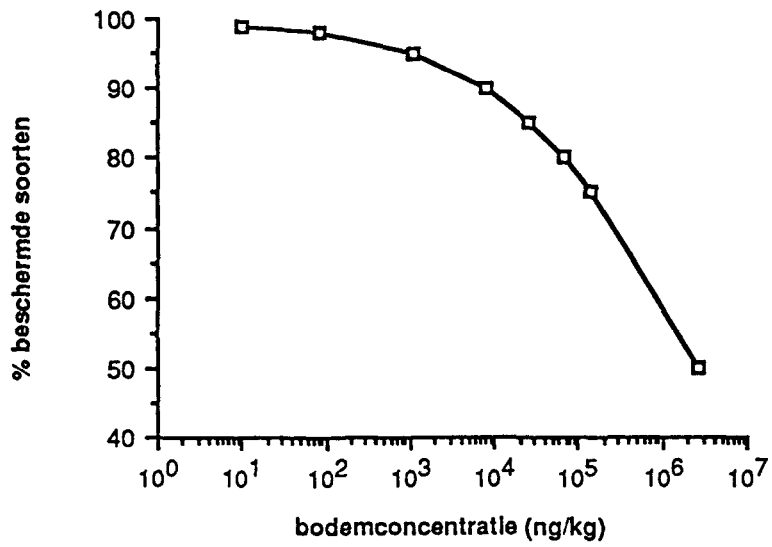


fig. 1d atrazin

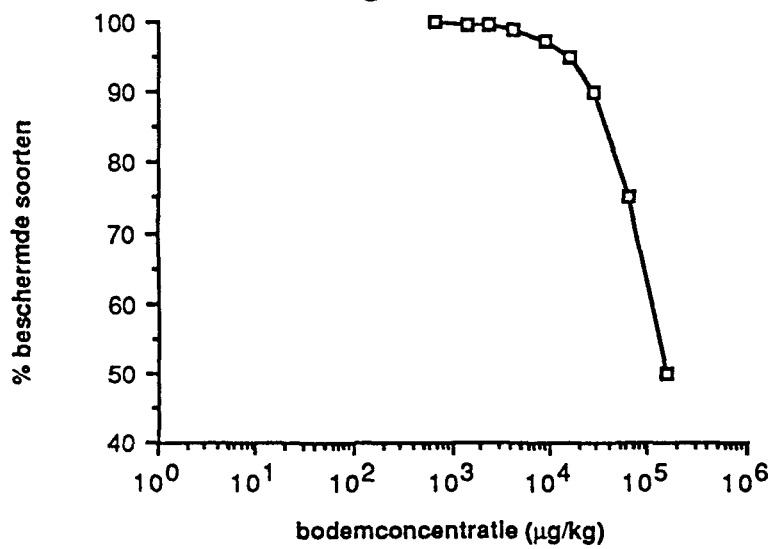


fig. 1e carbaryl

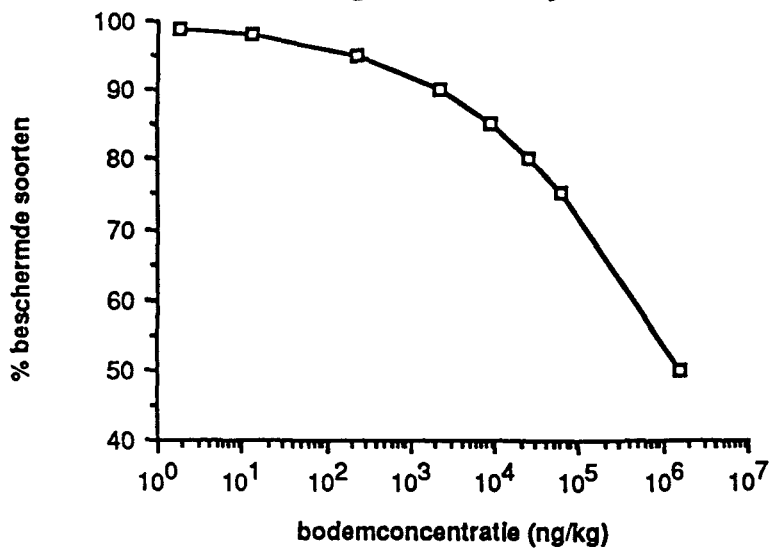
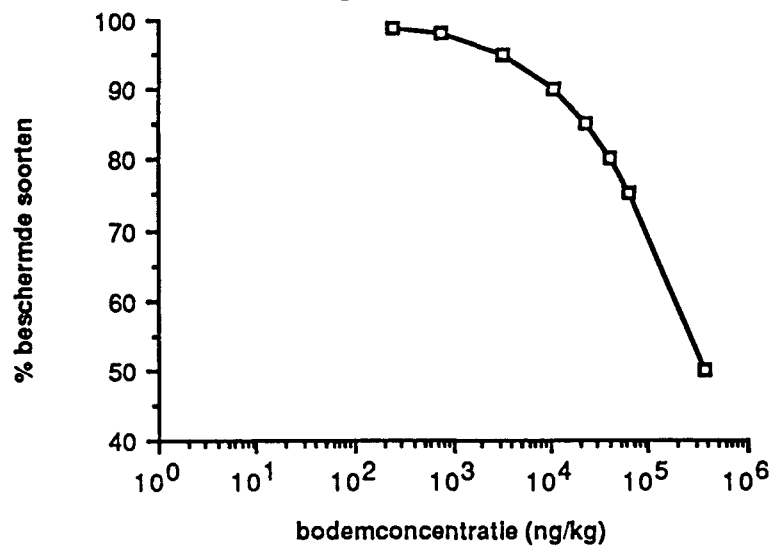


fig. 1f carbofuran



## **Hoofdstuk 4: DISCUSSIE**

### **4.1 Evaluatie van de berekende HC-waarden**

De voor zes bestrijdingsmiddelen met de RAB-methode (zie 2.3) berekende HCp-waarden (Hazardous Concentration voor p% van de soorten in een levensgemeenschap) kunnen met bestaande normen of voorgestelde referentiewaarden vergeleken worden. De referentiewaarde voor HCH-isomeren (1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) in het MPV (1987, 1988) zou, toegepast op linaan, gegeven een kans van 5% op een verkeerde beoordeling door steekproeffouten, 5.3% van de soorten niet volledig beschermen tegen ongewenste neveneffecten. Dit lijkt niet ongunstig, maar hierbij moet worden bedacht dat voor twee van de vier gebruikte onderzoeken slechts een maximale waarde voor de NOEC voorhanden was. De werkelijke NOEC zal lager zijn dan de waarde waarmee gerekend is. Hierdoor is de spreiding tussen de InNOEC waarden ( $s_m$ ) waarschijnlijk te laag ingeschat, zodat de waarde zoals berekend (0.85  $\mu\text{g}/\text{kg}$  droge stof) mogelijk te hoog is. Het beschermingspercentage van 5.3% kan dus te optimistisch blijken.

Bij de berekening voor aldrin en dieldrin zijn slechts twee of drie NOLC-waarden gebruikt. Ondanks deze beperking blijken er vergelijkbare waarden te kunnen worden afgeleid. Voor aldrin en dieldrin zijn resp. 10.4 en 10.9 % van de bodemorganismen niet volledig beschermd tegen sterfte bij de referentiewaarde voor deze stoffen (10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  grond). Het is te verwachten dat bij het gebruik van NOEC's de HCp-waarden nog lager zullen liggen dan nu berekend, zodat voor deze stoffen de referentiewaarden uit het MPV te hoog gekozen lijken.

Voor de berekening van referentiewaarden voor atrazin ontbreken helaas adequate bodemgegevens. Niettemin is uitgaande van een p van 1% de waarde niet hoger dan 4.1  $\text{mg}/\text{kg}$  grond. Voor atrazin is op dit moment geen officiële referentiewaarde voor de bodem beschikbaar. Wanneer alleen op basis van wormtoetsen een waarde voor de bodem zou worden vastgesteld, zou er een sterke onderschatting van de toxiciteit van atrazin voor het bodemoecosysteem plaatsvinden. Eén springstaartsoort blijkt namelijk veel gevoeliger te zijn. Dit onderstreept nogmaals de noodzaak in toxiciteitstoetsen dieren te gebruiken, die verschillen in bouwplan en functie (zie 5.2).

Voor carbaryl blijkt een acceptabele waarde (bij een beschermingspercentage van 95%) kleiner dan 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  grond te zijn. Door het gebruik van twee soorten werkt de invloed van de correctiefactor voor het gebruik van weinig soorten ( $d_m$ ) en de spreiding in de In NOLC waarden sterk door bij het stijgen van het percentage beschermde bodemsoorten (zie fig 1e). De berekende veiligheidsfactor voor een  $\delta$  van 0.01 ( $p=1\%$ ) is extreem hoog. Toch wordt het verschil in gevoeligheid tussen de twee gebruikte soorten nog onderschat, omdat de NOLC voor de zeer gevoelige springstaart gebaseerd is op acute toxiciteit. Als gevolg van een chronische blootstelling zou de NOLC van de springstaart lager zijn, en de veiligheidsfactor als gevolg daarvan nog hoger.

De gegevens voor carbofuran laten zien dat bij een beschermingspercentage van 99% de waarde in dezelfde orde van grootte ligt als bij de drins. Afhankelijk van de

persistentie en mobiliteit van de carbamaten zal de ernst van belasting van het bodemoecosysteem met deze stoffen in vergelijking met de drins nader geëvalueerd moeten worden.

Zoals uit de bespreking van de berekende HCp-waarden naar voren komt, blijken er factoren te bestaan, bijvoorbeeld samenhangend met de keuze van de toetssoorten of de onderzochte parameter, die verschillen tussen de diverse gebruikte publicaties. Hierdoor is de vergelijkbaarheid van de toxiciteitsgegevens niet altijd optimaal. Dit betekent dat aan de getallen nog geen absolute waarde mag worden toegekend, zoals ook reeds gesteld is bij de toepassing van de methode op cadmium (van Straalen 1987, 1988). Veeleer moeten deze waarden worden gezien als een goede indicatie voor de potentiële toxiciteit van bestrijdingsmiddelen voor de bodemfauna. De waarden kunnen een meer absoluut karakter krijgen door te streven naar standaardisatie van oecotoxicologisch onderzoek op de belangrijkste knelpunten. Factoren die daarbij van belang zijn, zoals keuze van ecologisch relevante toetssoorten, vermijden van externe stressfactoren en vergelijkbare blootstellingsmethoden worden in de volgende paragrafen bediscussieerd. Daarna zal in hoofdstuk 5 een aanzet voor de standaardisatie zelf worden gegeven.

#### 4.2 Blootstelling aan de toxische stof

Het is het vaak niet mogelijk om toxiciteitsgegevens uit verschillende onderzoeken zonder meer met elkaar te vergelijken, omdat de dieren in verschillende experimenten op zeer uiteenlopende wijze aan een toxische stof blootgesteld worden. De meest gebruikte wijzen zijn injectie, immersie, contact via een residuïlm van het middel op een substraat (glas of filtreerpapier), topicale applicatie, verwerking in het voer of menging door een (kunstmatige) bodem.

De toxiciteit van stoffen kan sterk samenhangen met de concentratie van de stof in het bodemvocht (van Gestel et al. 1987). Regenwormen komen via de huid veelvuldig in contact met het bodemvocht. Het onderdompelen van wormen in bepaalde concentraties van een bestrijdingsmiddel (bijv. Lebrun et al. 1981) lijkt om die reden een bruikbare toetsmethode. Verontreinigende stoffen kunnen echter sterk hechten aan bodemkolloïden, zodat de biologische activiteit in grond sterk verlaagd is ten opzichte van die in water (Ma 1982). Om gegevens uit immersietoetsen te kunnen vertalen naar blootstelling via de bodem moet bekend zijn welke concentratie in het bodemvocht resulteert uit een bepaalde toevoeging aan een bodem. Deze gegevens zijn voor de gekozen experimenten niet bekend. Door onderdompeling wordt bovendien alleen de contacttoxiciteit bepaald (Dean-Ross 1983). Bij chronische blootstelling in een bodem zullen wormen bovendien verontreinigde grond eten. Dit wordt in immersietoetsen niet nagebootst, en maakt deze methode daardoor minder geschikt.

Het bespuiten van oppervlakken met een bekende hoeveelheid per cm<sup>2</sup> is goed vergelijkbaar met velddoseringen van een middel (l of kg/ha). Zolang echter niet exact bekend is in welke bodemconcentraties dit resulteert, is ook deze blootstellingswijze niet bruikbaar.

Blootstelling aan de toxische stof is ook te realiseren door de stof door het voer te mengen (o.a. Subagja & Snider 1981). Voedsel dat deel uitmaakt van een bodem, zoals strooisel of schimmels, moet dan teruggerekend worden naar een standaardbodem. Er wordt daarbij van uitgegaan dat het voedsel overeenkomt met een bodem van meer dan 30% organische stof. Deze blootstellingswijze is op deze manier goed te gebruiken. Het nadeel van deze methode is dat dieren het voer kunnen vermijden (Eijsackers 1978, Subagja & Snider 1981). Omdat de dieren niet eten, kan sterfte van de dieren ook het gevolg zijn van hongering. Het directe toxische effect van een stof door ingestie wordt in dit geval gekoppeld aan het indirecte effect van hongering.

In veel experimenten wordt het bestrijdingsmiddel vermengd met een substraat. Vaak betreft dit zand, of een mengsel van verschillende bodems en water. Niet altijd wordt het exacte organisch stofgehalte vermeld. De concentratie van het bestrijdingsmiddel wordt soms berekend op basis van een mengsel van grond en water. Om terug te kunnen rekenen naar concentraties op basis van drooggewicht, moet het exacte vochtgehalte van de mengsels bekend zijn en dit gegeven ontbreekt soms (Stenersen 1979) Bij het bepalen van het organisch stofgehalte van een bodem van papiersnippers en water ontstaan interpretatieproblemen (Caseley & Eno 1966). Om deze redenen zijn er voor toxiciteitstoetsen in EG verband standaardbodems ontwikkeld de 'artisol', een kunstmatig substraat met glaspereels en de 'artificial soil', een bodem bestaande uit kwartzand, kaolienklei en veenmosturf (Heimbach 1984) Deze substraten maken het mogelijk reeksen van wormtoetsen te doen die goed vergelijkbaar zijn. Helaas worden bij deze toetsen over het algemeen slechts LC50-waarden bepaald en meestal geen NOEC-waarden.

Het hanteren van verschillende blootstellingsmethoden maakt het vergelijken van resultaten uit toxiciteitsexperimenten vaak moeilijk. Bovendien kan het ontbreken van gegevens over organisch stofgehalte, vochtgehalte en manier van concentratieberekening problemen opleveren bij omrekening naar een standaardbodem. De onzekerheid die resulteert uit het niet nauwkeurig bekend zijn van het organisch stofgehalte leidt in het voorbeeld voor lindaan slechts tot een geringe variatie in de berekende norm (0.85-0.94  $\mu\text{g}/\text{kg}$  grond). In het voorbeeld voor atrazin is de variatie in de berekende norm bij een  $\delta$  van 0.05 al vrij groot (tussen de 1.0 en 15.2  $\text{mg}/\text{kg}$ ) en wordt bij het dalen van  $\delta$  steeds groter. Dit is uiteraard een ongewenste situatie. Bij een juiste beschrijving van de bodem en een standaardisering van het substraat is deze blootstellingswijze evenwel het meest eenvoudig te hanteren, en het best te vergelijken met de veldsituatie. Om deze redenen is de voorkeur te geven aan blootstelling via de bodem.

#### 4.3 No-effect-levels, NOEC- en NOLC-waarden

NOEC-waarden zijn voor het aquatische milieu redelijk beschikbaar (Slooff & Canton 1983, Slooff et al. 1983). Deze situatie is geheel anders voor de soorten in het bodemoecosysteem. Uitgebreid literatuuronderzoek mede m.b.v. computerbestanden leverde slechts enkele NOEC-waarden voor soorten in het bodemoecosysteem op. Alleen voor lindaan zijn meerdere NOEC-waarden gevonden. In de meeste gevallen moest echter de toevlucht worden genomen tot NOLC-waarden.

In het voorbeeld voor linaan zijn verschillende NOEC's door elkaar gebruikt: coconproductie, gedrag, strooiselafbraak en mortaliteit. In de RAB-methode wordt er van uitgegaan dat de verdeling van de gevoeligheden van soorten voor toxische stoffen log-logistisch is. Wanneer echter de gevoeligheid van soorten bepaald wordt aan verschillende parameters, is het niet zeker of de aanname omtrent de verdeling van de gevoeligheden nog volledig geldig is (zie hoofdstuk 2). Er kan dan immers sprake zijn van verschillende verdelingen per parameter, die door elkaar lopen. Het identificeren van het absolute NEL door te zoeken naar de gevoeligste parameter per soort is tijdrovend en ondoenlijk. Afhankelijk van het aangrijpingspunt van de toxische stof, kan bovendien per stof de gevoeligste parameter variëren. Om dit probleem te voorkomen zouden de NOEC-waarden aan dezelfde parameter bepaald moeten worden.

Indien alleen met NOLC-waarden wordt gerekend doet dit probleem omtrent de aanname van de verdeling van de gevoeligheden zich niet voor. De berekende waarden hebben dan betrekking op mortaliteit, zodat bij  $\delta = 0.05$  één op de twintig soorten niet volledig beschermd wordt tegen sterfte. Dit rechtvaardigt het gebruik van een  $\delta$  kleiner dan 0.05 in het geval van sterfte.

Het toepassen van acute toxiciteitswaarden heeft als nadeel dat de waarde afneemt bij een verlenging van de periode van blootstelling (zie bijv. Holden 1983). Dit hoeft niet altijd van veel invloed te zijn op de uiteindelijke HCp-waarde. Omdat de spreiding bij acute waarden veel groter is dan bij chronische waarden, valt de uiteindelijke norm waarschijnlijk niet veel hoger uit dan bij gebruik van chronische NOLC's, zoals blijkt uit tabel 3 (hfst 2), waar dit voor een aantal LC50's is doorgerekend. Omdat in de meeste voorbeelden verschillende blootstellingstijden door elkaar zijn gebruikt, moet per voorbeeld de invloed op de waarde ingeschat worden. In het voorbeeld voor linaan is de NOLC voor de gevoeligste soort ( $< 0.05$  mg/kg) gebaseerd op een acute waarde (24 uur). Bij een chronische NOE(L)C zal deze waarde lager zijn, zodat de spreiding ( $s_m$ ) in dit voorbeeld groter zal worden. Het gebruik van een chronische NOE(L)C leidt in dit voorbeeld dus tot een hogere veiligheidsfactor en een lagere HCp.

In de berekeningen voor aldrin, dieldrin en carbaryl zijn de NOLC's van de gevoeligste soorten alle bepaald op basis van acute toxiciteit. Het gebruik van chronische NOLC-waarden kan voor deze stoffen ook leiden tot een grotere spreiding, een hogere veiligheidsfactor en een lagere HCp. Dit is echter niet zeker. Alle toetsen die in het atrazin-voorbeeld zijn gebruikt, zijn chronisch, en dus is de berekende range van de HCp's aannemelijk. De NOLC-waarden die gebruikt zijn bij carbofuran zijn acute toxiciteitsgegevens. Gezien de berekeningen uit tabel 3 zal de uiteindelijke waarde op basis van chronische toxiciteit vermoedelijk wat lager uitvallen.

Ondanks de variatie in blootstellingsduur geldt voor bijna alle voorbeelden dat dit geen overschatting van de toxiciteit van de stoffen tot gevolg heeft gehad in deze specifieke berekeningen, eerder een onderschatting. Meer zekerheid biedt het gebruik van NOEC-waarden. Hierbij wordt er a priori van uitgegaan dat de blootstelling chronisch is, wat het best te vergelijken is met veldcondities.

#### 4.4 Soortskeuze

De toepassing van de RAB-methode op bestrijdingsmiddelen biedt interessante perspectieven. De methode dient uit te gaan van het gebruik van een zo groot mogelijk aantal geselecteerde bodemdieren. Derhalve is de keuze van soorten mede bepalend voor de relevantie van de berekende HCp-waarden voor het bodemoecosysteem. In de hiervoor behandelde voorbeelden is van een beredeneerde keuze van soorten vanwege het gebrek aan gegevens uiteraard geen sprake geweest.

Afhankelijk van bouwplan en gedrag kunnen soorten verschillen in gevoeligheid en op verschillende manieren blootgesteld worden. Volgens het principe van de methode dient een aselecte trekking gemaakt te worden uit de soorten van het bestudeerde oecosysteem zodat een afspiegeling wordt verkregen van de natuurlijke variatie in gevoeligheid in dat oecosysteem. Het aantal soorten uit het bodemoecosysteem dat als proefdier wordt gebruikt is echter klein en beperkt zich voornamelijk tot wormen en enkele geleedpotigen. Uit vergelijkend toxiciteitsonderzoek aan vier verschillende wormen blijkt dat binnen de Oligochaeta de toxiciteit van een stof (uitgedrukt in een LC50 waarde) sterk gecorreleerd is (Neuhauser et al. 1986). Dit geldt voor een groot aantal chemische stoffen, waaronder ook bestrijdingsmiddelen. Ook binnen verschillende fyta van aquatische organismen blijkt de toxiciteit van stoffen gecorreleerd te zijn (LeBlanc 1984, Slooff et al. 1986). De soorten in de voorbeelden van 3.6 zijn bijna allemaal wormen en springstaarten. Uit de voorbeelden voor lindaan, aldrn, dielrnn en carbaryl blijkt dat regenwormen bijna altijd minder gevoelig zijn voor deze stoffen dan springstaarten. De toxiciteit van lindaan en atrazin zou dan ook sterk onderschat worden als alleen regenwormen in de methode zouden worden toegepast. Het gebruik van twee verschillende diergroepen is echter een te weinig diverse afspiegeling van de soorten in het bodemoecosysteem en het is nodig om een zo gevarieerd mogelijk aantal soorten toe te passen. Een eerste aanzet van een mogelijke standaardisering van de te gebruiken diersoorten wordt in hfst. 5 gepresenteerd.

#### 4.5 Relatie tussen laboratoriumtoetsen en veldtoxiciteit

De toxiciteit in het veld is afhankelijk van veel factoren, die in het laboratorium moeilijk of niet nagebootst kunnen worden (Bouché 1984). De concentratie van een toxische stof in laboratoriumtoetsen wordt berekend op grond van een homogene verdeling over het voer of de bodem. Bij acute toxiciteitstoetsen gedurende enkele uren of dagen zal de concentratie weinig veranderen. Bij een blootstelling langer dan enkele dagen, neemt de concentratie van de toxische stof wel degelijk af (Ma 1982, 1983). De bodemconcentratie in het veld is moeilijk voorspelbaar. Direct na toediening zal de concentratie in de bovenste centimeters van de grond erg hoog zijn, omdat de stof zich nog niet heeft verspreid in de bodem. Afhankelijk van de persistentie en mobiliteit van de stof zullen dieren gedurende langere tijd zijn blootgesteld aan de stof. Bijkomende complicerende factoren zijn o.a. biodegradatie van de stof en de vorming van toxische metabolieten. In principe kan, bij voldoende gegevens over het gedrag van de stof in de bodem, berekend worden hoe lang het na een velddosering duurt voordat de concentratie van een bestrijdingsmiddel gedaald is tot het gewenste referentieniveau.



Op dit moment staan echter onvoldoende gegevens over het gedrag van stoffen ter beschikking om dit betrouwbaar te kunnen voorspellen.

De berekeningen van bodemconcentraties op grond van de velddosering van een stof kennen een aantal beperkingen. Sommige stoffen die behandeld zijn in de voorbeelden worden niet op de bodem maar op het gewas gespoten, bijvoorbeeld carbaryl. Er moet dan geschat worden welke hoeveelheid op de bodem terecht komt, en in welke bodemconcentraties dit resulteert. Dit is niet goed in te schatten en maakt het onmogelijk te bepalen welk percentage bodemdieren niet meer beschermd is bij een bespuiting met bijv. carbaryl.

In een aantal voorbeelden is er vanuit gegaan dat de velddosering zich homogeen verdeelt over de bovenste 20 cm van de bodem. Dit is voor akkerbodems een gebruikelijke diepte om van uit te gaan. In het voorbeeld voor lindaan resulteerde dit in een dosis waarbij ruim dertig procent van de bodemdieren niet meer beschermd werd tegen neveneffecten. In het geval van atrazin kon worden vastgesteld dat de mogelijkheid bestaat dat dieren niet beschermd worden tegen sterfte. De omrekening van velddosering naar bodemconcentratie geldt eigenlijk alleen voor persistente stoffen, zoals gehalogeneerde koolwaterstoffen. Het is te verwachten dat de bodemconcentratie van bepaalde middelen door uitspoeling en biodegradatie slechts kortstondig zo hoog zal zijn, als de omrekening voorspelt. Atrazin heeft bijvoorbeeld een hoge oplosbaarheid in water en zal deels uitspoelen. De bodemconcentratie van een stof vertoont dus een verticale gradient (Loch et al 1987) en een tijdsafhankelijke afname.

Aanvullend veldonderzoek ter onderbouwing van de betrouwbaarheid van de RAB-methode zal aandacht moeten schenken aan het gedrag van een toxische stof in de grond in de tijd. Zo zal een bestrijdingsmiddel niet homogeen verdeeld zijn. In de bovenste lagen zal er meer bestrijdingsmiddel aanwezig zijn dan in de diepere lagen. Bovendien zal deze verdeling in de tijd niet constant zijn. Door uitspoeling dringt een bestrijdingsmiddel steeds dieper door in de grond waar het echter ook weer afgebroken wordt. Hierdoor bestaat een zeer complex effect op de populatiedynamiek van de bodemfauna. Het verdient aanbeveling te zoeken naar mogelijkheden om een risico-evaluatie van dergelijke processen in de methode in te bouwen.

Bij de beoordeling van de toepassing van bepaalde concentraties bestrijdingsmiddelen zal de gevoeligheid van het te bestrijden schade-insekt in belangrijke mate bepalend zijn. Een ongevoelig en dus moeilijk te bestrijden organisme kan op twee manieren aangepakt worden, d.m.v. een middel met of een hoge persistentie of een hoge toxiciteit. Uit onderzoek (Edwards 1969, Edwards & Thompson 1973, Pimentel & Edwards 1982) is gebleken dat gebruik van middelen met een hoge toxiciteit effectiever is, hoewel niet-persistente middelen meestal gemakkelijker ontweken kunnen worden door dieren. De tijdsduur van herstel van de door een middel aangerichte schade wordt door beide groepen van stoffen anders beïnvloed. Maar omdat hersteltijden ook afhangen van andere factoren, zoals de levenscyclus van diersoorten, migratie vanuit aangrenzende gebieden of diepere bodemlagen en het bodemtype, is het nog niet goed mogelijk op betrouwbare wijze een relatie tussen de eigenschappen van een stof en de te verwachten hersteltijd te

leggen. In het algemeen kan gesteld worden dat nog veel aanvullend onderzoek nodig is om inzicht te verkrijgen in het herstelvermogen van bodems en de te tolereren herstelperiode.

#### 4.6 Begeleidend onderzoek

De procedure zoals toegepast in Hfst. 3 genereert waarden door extrapolatie van laboratoriumexperimenten. Er kunnen in het veld echter allerlei factoren een rol spelen (van Straalen 1987, van Straalen & Denneman 1988) die in het laboratorium niet kunnen worden nagebootst, o a.:

- De stof gedraagt zich in het veld anders dan in het laboratorium (vervluchtiging, biodegradatie, vorming van toxische metabolieten, uitspoeling).
- In het veld treden er combinatie effecten van stoffen op.
- In het veld treden er interacties tussen soorten op (predatie en concurrentie)
- In het veld zijn dieren blootgesteld aan een combinatie van natuurlijke stress-factoren en de chemische belasting

Het is vooralsnog niet mogelijk om een protocol op te stellen waarin met al deze complicerende factoren rekening wordt gehouden. Om onzekerheden in de RAB-methode zoals tot nu toe beschreven te verkleinen is op enkele punten onderzoek nodig.

- **Toetsing extra soorten.** De HCp-waarde kan geverifieerd worden door de toxische stof uit te testen op soorten, die niet gebruikt zijn om de waarde af te leiden.
- **Complexere toetssystemen.** Het werken met multispecies-testsystemen is nog weinig ontwikkeld voor het terrestrische milieu. In het algemeen wordt toxiciteitsonderzoek aan bodemdieren verricht onder sterk kunstmatige omstandigheden. Dat het mogelijk is om onderzoek aan bodemdieren in oecologisch relevantere opstellingen te verrichten wijst het onderzoek door van Straalen et al. (1988a) uit. In micro-oecosystemen werd het effect van trifenyln-verbindingen op pissebedden bestudeerd. De bladafbraakactiviteit werd geremd bij 10 µg trifenylnhydroxide (TPTH) per gram droog blad. De door pissebedden bewerkstelligde ammoniumvorming in het strooisel werd echter al bij een lagere concentratie geremd (NOEC = 1 µg/g droog blad). In micro-oecosystemen is het dus mogelijk interacties tussen dieren en de habitat te bestuderen (van Wensem 1988). Dit biedt perspectieven om complexere relaties tussen dieren en het leefmilieu onder invloed van bestrijdingsmiddelen te bestuderen, en om vast te kunnen stellen of deze interacties meer kwetsbaar zijn dan effecten op soorten.
- **Veldcontrole.** Veel veldonderzoek is verricht naar effecten van bestrijdingsmiddelen op het bodemoecosysteem. Het tellen of determineren van de vele dieren in de proefvelden of -vlakken is bijzonder arbeidsintensief en stelt beperkingen aan de proefopzet. De meeste veldexperimenten zijn uitgevoerd met slechts 1 of 2 concentraties van een stof, die vaak in de voorgeschreven velddos

wordt toegepast. Mede hierdoor is het vaststellen van dosis-effect relaties in het veld niet eenvoudig. De meest gebruikte parameter bij veldexperimenten is mortaliteit. Deze kan worden beïnvloed door allerlei biotische en abiotische factoren die echter maar deels beschreven kunnen worden en waarvan de invloed op de mortaliteit maar zeer ten dele verklaard kan worden. Omdat elk veldonderzoek qua condities eigenlijk uniek is, is het extrapoleren van veldgegevens of het vergelijken van veldgegevens onderling bijna niet mogelijk. Het identificeren en verklaren van alle veldfactoren die de toxiciteit van een stof kunnen beïnvloeden lijkt vooralsnog onmogelijk.

- **Combinaties van stoffen.** Een extra complicerende factor vormt het verschijnsel combinatietoxiciteit. In het veld is er vaak sprake van de aanwezigheid van meer dan één toxische stof. De consequenties van combinaties van stoffen zijn in de meeste gevallen onduidelijk en dienen derhalve nader onderzocht te worden

## **Hoofdstuk 5: STANDAARDISERING**

### **5.1 Inleiding**

De methode zoals tot nu toe toegepast stelt bepaalde eisen aan de experimenten waaruit NOE(L)C waarden zijn berekend. In dit hoofdstuk wordt een stelsel van voorwaarden beschreven om de RAB-methode zo optimaal mogelijk toe te passen. De volgende aspecten worden van belang geacht bij het standaardiseren van de methode:

- De gekozen soorten dienen representatief te zijn voor het bodemoecosysteem.
- De 'no-effect-levels' dienen bepaald te zijn aan oecologisch relevante parameters, zoals groei of reproductie.
- De proefopzet dient te voldoen aan eisen met betrekking tot:
  - a. blootstellingswijze
  - b. blootstellingsduur
  - c. experimentele omstandigheden
  - d. vaststellen van het 'no-effect-level'.

### **5.2 Soortskeuze**

In toxiciteitstoetsen voor het terrestrische milieu wordt gebruik gemaakt van een beperkt aantal soorten. Het meeste toxiciteitsonderzoek bij dieren is verricht aan wormen, springstaarten, mijten en loopkevers (Boström & Lofs-Holmin 1982). Bepaalde fyta worden echter nauwelijks gebruikt in toxiciteitstoetsen. Spinnen bijvoorbeeld zijn slechts sporadisch gebruikt (Patel et al. 1986).

In principe gaat de methode uit van een aselechte trekking van soorten. Aangenomen wordt dat de op die manier gekozen toetstsoorten een spreiding in gevoeligheid en een gemiddelde gevoeligheid bezitten, die representatief zijn voor een totale levensgemeenschap. Een dergelijke keuze uit het bodemmilieu stuit echter op onoverkomelijke praktische problemen. Immers zij zal ook soorten opleveren die moeilijk te handhaven zijn onder laboratoriumcondities. Bovendien is de kans groot, dat onvoldoende kennis over de omstandigheden waaronder groei en reproductie van de gekozen soorten optimaal verlopen, aanwezig is. Daarom moet bij de soortskeuze noodgedwongen afgeweken worden van het principe van een aselechte keuze. Dit moet echter op een manier gebeuren waarbij nog wel geldt, dat de gekozen soorten representatief zijn in hun gevoeligheid voor een totale levensgemeenschap. Een goede methode is dan om op grond van een aantal belangrijke criteria een zo breed mogelijk scala aan toetstsoorten te kiezen. Zolang verder onderzoek naar de gevoeligheid van een breed scala aan organismen en naar de verdeling van deze gevoeligheden ontbreekt, moet aangenomen worden dat een dergelijke keuze vergelijkbaar is met een aselechte keuze.

Voor de keuze van een zo representatief mogelijk scala aan bodemorganismen kunnen de volgende criteria opgesteld worden:

*-Representativiteit ten aanzien van oecologische functie*

Gebaseerd op dit uitgangspunt zou de verzameling toetsorganismen minstens vertegenwoordigers moeten omvatten vanuit elk van de volgende groepen:

- primaire producenten
- microbiële saprotrofen
- saprofage ongewervelden
- microbivore ongewervelden
- carnivoren

**-Representativiteit ten aanzien van taxonomie**

Gestreefd moet worden naar een zodanige samenstelling van het pakket toetsorganismen dat daarin soorten vanuit verschillende taxonomische groepen vertegenwoordigd zijn, aangezien binnen eenzelfde taxonomische groep verwante gevoeligheden kunnen bestaan (Erickson & Stephan 1985, Mance 1987).

**-Representativiteit ten aanzien van bouwplan**

Bij bodemorganismen blijkt de gevoeligheid verband te houden met het bouwplan van het dier, d.w.z. met het bezit van morfologisch en fysiologische bepaalde verwerkingsmechanismen. Dit betekent dat bij uitvoering van toxiciteitsexperimenten aan meerdere proeforganismen uitgegaan dient te worden van organismen met uiteenlopende bouwplannen.

**-Representativiteit ten aanzien van blootstellingsroute**

Het pakket organismen zou recht moeten doen aan de verschillende manieren waarop organismen blootgesteld kunnen worden, in samenhang met de verdeling van een stof over de verschillende componenten van de bodem (bodemvocht, bodemlucht, minerale bodem, dood organisch materiaal, levend organisch materiaal).

**-Geschiktheid voor laboratoriumonderzoek**

De definitieve soortkeuze zal mede gebaseerd moeten worden op argumenten van kweekbaarheid en experimentele manipuleerbaarheid. De toets moet ook binnen redelijke tijd uitvoerbaar zijn (enkele weken), waarbij toetsing van een stof simultaan aan meerdere individuen mogelijk moet zijn.

Een compleet pakket toxiciteitstoetsen voor de bodem bevat op grond van deze criteria zowel planten, micro-organismen als dieren. Een aantal standaardtoetsen is reeds beschikbaar of in een vergevorderd stadium van ontwikkeling (toetsen met sla en haver, microbiële toetsen zoals bodemademhaling en nitrificatie en de regenwormtoets met *Eisenia foetida*). Met name voor de bodemfaunacomponent is een belangrijke lacune te signaleren. Wanneer de bovengenoemde criteria toegepast worden op de bodemfauna leidt dit tot het volgende voorstel tot een invulling naar diergroepen:

**-nematoden.** Aaltjes behoren tot de groep van de rondwormen. Ze leven in interstitieel water en vertegenwoordigen verschillende voedingsstrategieën. De dieren worden nog weinig gebruikt voor toxiciteitsonderzoek.

**-regenwormen.** Regenwormen vervullen een belangrijke rol bij de vorming en instandhouding van een goede bodemstructuur en dragen sterk bij aan de turnover van stikstof en de mineralisatie (Ma 1982). Regenwormen zijn tevens een belangrijke voedselbron voor veel vogelsoorten, reptielen en kleinere zoogdieren. De blootstelling

van wormen aan bestrijdingsmiddelen verloopt behalve via ingestie van grond ook voor een belangrijk deel via de huid. Deze wijze van blootstelling zorgt voor aantoonbare effecten bij de opname van bestrijdingsmiddelen. De opname van bestrijdingsmiddelen door de huid is sterk afhankelijk van de lipofiliteit van de stof (Lord et al. 1980). Wormen beschikken over fysiologische aanpassingen om zware metalen te detoxificeren. Lood, cadmium en zink kunnen in het chloragogeenweefsel van het darmkanaal worden opgeslagen en in zgn. "waste nodules" (Andersen & Laursen 1982). Excretie kan plaatsvinden door de kalkklieren. Mogelijk kunnen deze specifieke aanpassingen ook een rol spelen in de detoxificering van bestrijdingsmiddelen. Een geschikte regenworm voor toxiciteitsonderzoek is *Lumbricus rubellus*, een soort die algemeen voorkomt in grasland en bosgrond en vrij oppervlakkig graaft. Aan deze worm zijn groei en reproductie makkelijk kwantificeerbaar (Ma 1982). Het meeste toxiciteitsonderzoek is echter gedaan met *Eisenia foetida*.

**-Springstaarten.** Springstaarten behoren tot de herbivoren en meestal tot de saprofagen. Hun voedsel bestaat uit schimmelhyfen of schimmelsporen, algen, pollenkorrels, bacteriën en rottend organisch materiaal. In veel levensgemeenschappen in de bodem zijn springstaarten in grote aantallen vertegenwoordigd (tot tienduizenden per m<sup>2</sup>). Springstaarten leveren een belangrijke bijdrage aan de afbraak en mineralisatie van organisch materiaal en kunnen deze processen door de begrazing stimuleren (Swift et al. 1979). Springstaarten stoten bij vervelling het middendarm-epitheel af. Zware metalen kunnen gedetoxificeerd worden door opname in intracellulaire granula in het darmepitheel en vervolgens via de vervelling worden uitgescheiden (van Straalen et al. 1987). In hoeverre dit specifieke mechanisme een rol speelt in de detoxificering van bestrijdingsmiddelen is nog onbekend. Springstaarten kunnen gemakkelijk gekweekt worden en groeien en reproducen onder laboratoriumcondities (Janssen & Joosse 1987). Blootstelling is zowel via het voer als via het substraat te realiseren (Thompson & Gore 1972). Veel fundamentele kennis is aanwezig over *Orchesella cincta*, *Tomocerus minor*, *Onychiurus armatus* en *Folsomia candida* (Bengtsson et al. 1983, Joosse & Verhoef 1987, van Straalen et al. 1987).

**-Pissebedden.** Pissebedden behoren tot de kreeftachtigen. Het zijn strooiselafbrekers en ze stimuleren de microbiële afbraak o.a. door vergroting van de oppervlakte van het strooiselmateriaal. Net als springstaarten spelen ze een belangrijke rol in de decompositie en mineralisatie van de strooisellaag. Pissebedden zijn vooral talrijk op neutrale of kalkrijke bodem en hun aantal kan oplopen van 250 (*Philoscia spec.*) tot 5000 (*Armadillidium spec.*) per m<sup>2</sup>. Pissebedden hebben een bouwplan dat sterk afwijkt van de overige bodemdieren. Ze beschikken namelijk over een middendarmklier, een leverachtige structuur die functioneert in het detoxificeren van giftige stoffen. Gekozen zou kunnen worden voor *Porcellio scaber* of *Philoscia muscorum*, algemeen voorkomende en abundante soorten uit loofbossen. Zij zijn eenvoudig te verzamelen in het veld en zeer goed hanteerbaar in het laboratorium (van Capelleveen 1987). Ook de kweekbaarheid hoeft geen probleem te zijn (van de Hoeven 1987).

**-Kevers en spinnen.** Saprofagen kunnen prooi zijn voor diverse soorten predatoren zoals spinnen, kevers of duizendpoten. Predatoren worden blootgesteld via het substraat en via de prooi. Afhankelijk van de bouw van het dier en de aard van de stof kan deze worden geaccumuleerd, zoals lood bij duizendpoten (van Capelleveen 1987), of relatief snel worden uitgescheiden zoals pentachloorfenol bij loopkevers (Gruttke et al. 1986). Onder gecontroleerde omstandigheden kan zowel de blootstelling via het substraat als via de prooi bestudeerd worden (zie ook 5.4). Gekozen zou kunnen worden voor *Notiophilus biguttatus*, een zeer algemeen voorkomende loopkever in bossen. Deze kever is een rover van springstaarten, en komt in enkele tientallen per m<sup>2</sup> voor. Over deze kever is veel fundamentele kennis aanwezig (Ernsting 1978). Hij kan onder laboratoriumcondities worden gehouden. *N. biguttatus* beschikt niet over organen die metalen accumuleren. Interessant is de vorming van reserves in vetlichamen in verband met de lipofiliteit van bestrijdingsmiddelen. Onder de spinachtigen kunnen de hangmatspinnen aanbevolen worden. Zij worden blootgesteld via prooi (springstaarten) en (voor apolaire stoffen) vanuit de bodem. De soort *Oedothorax apicatus* is goed hanteerbaar, en gevoelig gebleken voor deltamethrin (Everts et al. 1986). De opname vindt vooral plaats via de poten (residuele blootstelling).

**-Oribatide mijten.** Evenals de springstaarten zijn mijten een zeer belangrijke en diverse groep in het bodemoecosysteem. Er zijn fytofage, saprofage en predatoire mijten. Binnen deze groep bestaan er grote verschillen in gevoeligheid voor bestrijdingsmiddelen (Hoy 1980). De oribatide mijten spelen een belangrijke rol in het decompositieproces door begrazing van de microflora en fragmentatie van het strooisel. Ze kunnen in enorme hoeveelheden voorkomen in de bosbodem, tot enkele tienduizenden per m<sup>2</sup> (Hogervorst 1988). Laboratoriumexperimenten met mijten zijn vaak uitgevoerd met roofmijten uit boomgaarden met het oog op het gebruik in de geïntegreerde bestrijding (van Zon & Wysoki 1978, Overmeer & van Zon 1981). Laboratoriumexperimenten met soorten die relevant zijn voor het bodemoecosysteem zijn echter schaars. De oribatide milt *Platynothrus peltifer* is zeer talrijk in bosbodems (tot 20 % van het totale aantal Oribatida). Kennis omtrent habitatvoorkeur en reproductie is aanwezig (Hogervorst 1988, Schobben 1988). *P. peltifer* heeft een relatief korte reproductiecyclus en voorplanting is in het laboratorium te realiseren, zodat deze soort interessante mogelijkheden biedt om op te nemen in het toetsassortiment. De eileg is zeer gevoelig voor Cd (van Straalen et al 1988b).

**-Carnivore muizen.** Carnivore muizen, als vertegenwoordigers van de zoogdieren, kunnen aan bestrijdingsmiddelen worden blootgesteld via prooien (allerlei evertebraten). Kleine zoogdieren zijn geschikte organismen voor de biomonitoring van voedselketenaccumulatie (Ma 1987). Het gebruik als toetsorganismen voor toxiciteitsproeven zou mede gezien moeten worden in het licht van gegevens te ontleen aan farmacologisch en medisch-toxicologisch onderzoek aan knaagdieren.

### 5.3 Parameterkeuze

Zoals in de discussie reeds uiteengezet is het niet wenselijk NOEC's te vergelijken die bepaald zijn aan verschillende parameters. Het gebruik van waarden die aan dezelfde parameter zijn bepaald doet het meeste recht aan de aanname omtrent de verdeling van de gevoeligheden in de levensgemeenschap (zie hfst 2). Mortaliteit en reproductie zijn de parameters die het sterkst doorwerken op populatieniveau (Kooijman 1985). Sterfte is echter een relatief ongevoelig effect, omdat het een gevolg is van reeds eerder verstoorde fysiologische functies van het dier (Stenersen 1979). Op deze gronden ligt reproductie als parameter voor het bepalen van NOEC- of NEL-waarden op het moment het meest voor de hand. In de meeste gevallen zal het aantal geproduceerde eieren of nakomelingen relatief eenvoudig te bepalen zijn.

### 5.4 Proefopzet

#### *a. Blootstellingswijze*

De omrekening van de toxiciteit van bestrijdingsmiddelen in laboratoriumexperimenten naar die in een standaardbodem vraagt een blootstellingswijze die voor alle dieren vergelijkbaar is en die niet teveel afwijkt van de natuurlijke blootstellingswijze in de bodem. Omdat blootstelling aan de toxische stof via het voer door het dier vermeden kan worden, zou de blootstelling zowel via voer als via substraat gerealiseerd dienen te worden. Voor wormen zijn voedsel en substraat gelijk. Predatoren zouden blootgesteld moeten worden aan de stof via substraat en via de prooi. De prooidieren moeten met vergelijkbare concentraties in voedsel en substraat zijn blootgesteld. Kweekomstandigheden zullen verschillende substraten voor verschillende dieren vereisen. Dit vereist een nauwkeurige beschrijving van het substraat en moet minimaal de pH, het organisch stofgehalte, het lutumgehalte en de minerale samenstelling omvatten. De 'artificial soil' van de *Eisenia*-toets is een internationaal geaccepteerd standaardsubstraat, maar is misschien niet voor alle organismen bruikbaar.

#### *b: Blootstellingsduur.*

In de toelatingsprocedure voor bestrijdingsmiddelen kan chronisch toxiciteitsonderzoek aan aquatische organismen worden verlangd. Dit is gewenst als er bijvoorbeeld grote expositiekansen zijn voor waterorganismen, de stof mogelijk accumuleert of als er onvoldoende kennis is over de lange termijn effecten van de stof. Leeuwangh (1985) stelt dat het gevoeligste stadium uit de levenscyclus van een organisme in de toets kan worden gebruikt om de testprocedure te bekorten. Er wordt dan bijvoorbeeld alleen naar de embryo-larvale stadia en de reproductiefase gekeken. In de hier voorgestelde procedure is gekozen voor de reproductiefase. De blootstellingsperiode dient lang genoeg te zijn om een natuurlijke reproductieperiode te doorlopen, of meerdere indien dit de kwantificering vergemakkelijkt. Om de dieren te toetsen onder zo optimaal mogelijke omstandigheden, is het noodzakelijk ze te laten acclimatiseren aan de proefomstandigheden vóór de blootstelling.

#### *c: Experimentele omstandigheden*

Abiotische factoren kunnen van grote invloed zijn op de toxiciteit van bestrijdingsmiddelen. Bij een temperatuur van 24 °C zijn sommige bestrijdingsmiddelen, bv. lindaan, minder toxisch voor springstaarten dan bij 13 °C en



omgekeerd (Thompson & Gore 1972) De meest toxische situatie die in het veld optreedt, kan echter in het lab niet geïdentificeerd worden (Bouché 1984) Om de toxische effecten van een stof zo zuiver mogelijk te kunnen vaststellen, wordt daarom gepleit voor kweekomstandigheden waarin geen andere stressfactoren dan veroorzaakt door de te onderzoeken stof aanwezig zijn Kennis omtrent de oecologie van de gekozen soorten is daarbij onontbeerlijk.

#### *d. Vaststellen van het no-effect-level*

Concentratierreeksen in toxiciteitstoetsen zijn vaak opgezet met een rede van 10. De NOEC en de LOEC verschillen dan een factor 10. Dit betekent dat het werkelijke NEL door de NOEC vrij sterk onderschat kan worden. Het berekenen van het NEL door het geometrisch gemiddelde van NOEC en LOEC te nemen is ook geen oplossing, omdat dit geen recht doet aan de specifieke dosis-effect-relatie. Het verdient daarom aanbeveling de toxiciteitstoetsen dusdanig op te zetten dat het mogelijk is om de dosis-effect-relatie wiskundig te beschrijven. Ma (1983) heeft dit voor de dosis-effect-relatie van een aantal bestrijdingsmiddelen op regenwormen gedaan. Hierdoor wordt het mogelijk het eigenlijke NEL met een 95 % betrouwbaarheidsinterval te schatten Indien dit niet mogelijk of praktisch is, zou de hoogste concentratie waarbij statistisch nog geen effect valt aan te tonen als NOEC moeten worden gebruikt Hierbij moet rekening gehouden worden met het feit dat de concentratie-volgorde in een toxiciteitsexperiment bekend is, zodat de gewone t-toets onvoldoende onderscheidend vermogen heeft Verbeterde methoden zijn ontwikkeld door Williams (1971, 1972).

## **5.5 Conclusie**

De ontwikkeling van toxiciteitstoetsen voor de bodem staat nog in de kinderschoenen. Bij de toepassing van een verantwoorde risico-analyse voor residuen van bestrijdingsmiddelen in de bodem, is het niet voorhanden zijn van relevante en gestandaardiseerde toxiciteitsgegevens een groot knelpunt. De boven geformuleerde criteria en keuzes kunnen echter bijdragen aan een versnelde ontwikkeling van verantwoorde toetsmethoden.

## **Verantwoording**

Dit rapport werd geschreven in opdracht van de Technische Commissie Bodembescherming (TCB). De auteurs zijn het RIVM, m.n. Ir. C.A.M. van Gestel en Drs P.H.A M. Melis, erkentelijk voor beschikbaarstelling van het literatuurbestand en assistentie bij het literatuuronderzoek.

## LITERATUUR.

- ADEMA, D M.M (1985) Toetsoptimalisatie met water- en bodemorganismen Vakbl. Biol 15/16 82-86
- ANDERSEN, C & LAURSEN, J (1982) Distribution of heavy metals in *Lumbricus terrestris*, *Aporrectodea longa* and *A rosea* measured by atomic absorption and X ray fluorescence spectrometry  
Pedobiologia 24 347- 356
- BENGTSSON, G , GUNNARSSON, T & RUNDGREN, S (1983) Growth changes caused by metal uptake in a population of *Onychiurus armatus* (Collembola) feeding on metal polluted fungi Oikos 40 216-225
- BLANCK, H (1984) Species dependent variation among aquatic organisms in their sensitivity to chemicals  
Ecological Bulletins 36 107-119
- BOEKHOLD, A E (1988) Grondgebonden residuen van bestrijdingsmiddelen een analyse van milieuhygenische risico's Concept-rapport Vakgroep Bodemkunde en Plantenvoeding, Landbouw Universiteit Wageningen
- BOSTROM, U & LOFS-HOLMIN, A (1982) Testing side effects of pesticides on soil fauna - a critical literature review Swedish University of Agric Sciences, Department of Ecology & Environmental Research rapport nr 12, 1982 Uppsala
- BOUCHÉ, M B (1984) Ecotoxicologie des lombriciens 1- Ecotoxicité contrôlée Acta Oecologia, Oecol applic 5(3) 271-287
- BUND, C F van de (1981) De bodemfauna van bouwland in verband met neveneffecten bij het gebruik van bestrijdingsmiddelen in de praktijk PD rapport 1981
- CAIRNS, J jr (1983) The case form simultaneous toxicity testing at different levels of biological organisation Aquatic toxicology and hazard assesment sixth symposium ASTM STP 802. Eds Bishop, W E Cardwell, R D Heidolph, B B pp 111-127 Philadelphia 1983
- CAIRNS, J jr (1986) The myth of the most sensitive species  
Bioscience 36 (10) 670-672
- CAPELLEVEEN, H E van (1987) Ecotoxicity of heavy metals for terrestrial isopods Proefschrift, Vrije Universiteit Amsterdam
- CASELEY, J C & ENO, C F (1966) Survival and reproduction of two species of earthworms and a rotifer following herbicide treatments Proc. Soil Sci Soc Am 30 346-350.
- CATHEY, B (1982) Comparative toxicities of five insecticides to the earthworm, *Lumbricus terrestris*.  
Agriculture and Environment 7: 73-81
- COPIUS PEEREBOOM, J W (1976) Chemie, mens en milieu Van Gorcum, Assen
- DEAN-ROSS, D (1983) Methods for the assesment of the toxicity of environmental chemicals to earthworms Regulatory Toxicol & Pharmacol 3: 48-59.
- DENNEMAN, C A J (1987) Normstellingsmethoden voor de bodem - risicobeoordeling en veiligheidsfactoren Doctoraalscriptie oecotoxicologie, Vrije Universiteit, Amsterdam

- DENNEMAN, W D , CAPELLEVEEN, H E van & STRAALEN, N M van (1985) Bijdrage aan de oecologische normstelling van bodembescherming Discussienotitie bodemkwaliteit, bijlage IV, VTCB
- DOELMAN, P & HAANSTRA, L (1983) De invloed van zware metalen op de bodemmicroflora Bodembeschermingsreeks nr 20, ministerie van VROM, staatsuitgeverij 's-Gravenhage
- EDWARDS, C A (1969) Soil pollutants and soil animals *Sci American* 220 88-99
- EDWARDS, C A & THOMPSON, A R (1973) Pesticides and the soil fauna *Residue Reviews* 45: 1-79
- EIJSACKERS, H (1978) Side effects of the herbicide 2,4,5, T affecting mobility and mortality of the springtail *Onychiurus quadricellatus* Gisin (Collembola) *Z ang Ent* 86 349-372
- EIJSACKERS, H J P (1985) De betekenis van ecotoxicologisch onderzoek, een nabeschuiving Vakblad voor biologen 65(13/14) 122-125
- ERICKSON, R J & STEPHAN, C E (1985) Calculation of the final acute value for water quality criteria for aquatic life US-EPA, 600/X-84-040
- ERNSTING, G (1978) Predation on springtails Proefschrift Vrije Universiteit Amsterdam
- EVERTS, J W , BEURSKENS, J E M , BOUWHUIS, J S , BUYSE, A D , HENGEVELD, R , WOUTERS, L & KOEMAN, J H (1986) Terrestrial arthropods as indicators for side-effects caused by insecticides in arable farm systems in the Netherlands In *Contaminated Soil* Eds Assink, J W & Brink, W J van den Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht pp 423-425
- FAYOLLE, L (1979) Conséquences de l'apport de contaminants sur les lumbriciens III essais de laboratoire *Doc Pédozool I(1)* 34-65
- FREY, F (1976) Untersuchungen über die Wirkungen von im Obstbau verwendeten Herbiziden auf den Testnematoden *Acroboloïdes Buetschlii* (de Man 1884) Steiner und Bührer 1933 *Z Pflkr Pflanzenschutz* 83 434-441.
- GESTEL, C A M van, MA, W , WEGMAN, R C C , LAGAS, P , DIS, W A van, HERBOLD, H A , BODT, J , RUITER, E de & HOEKSTRA, J A (1987) Toxiciteit en bioaccumulatie van chloorfenolen in regenwormen in relatie tot de beschikbaarheid in de bodem RIN Arnhem en RIVM Bilthoven, rapp nr 718479001
- GEWASBESCHERMINGSGIDS (1985) Handboek voor de bestrijding van ziekten, plagen en onkruiden en de toepassing van groeiregulatoren in de akkerbouw, veehouderij, tuinbouw en het openbaar groen Ed Rijn, J.F A T. van. CAD gewasbescherming/PD, Wageningen.
- GEZONDHEIDSRAAD (1988). Ecotoxicologische risico-evaluatie van stoffen No 28, 's-Gravenhage
- GILMAN, A P & VARDANIS, A (1974) Carbofuran Comparative toxicity and metabolism in the worms *Lumbricus terrestris* L and *Eisenia foetida* Sav. *J agric Food Chem.* 22: 625-628.
- GRUTTKE, H , KRATZ, W., PAPPENHAUSEN, U., WEIGMANN, G , HAQUE , A & SCHUPHAN , I (1986) Transfer von 14C -Na-PCP in Modell-Nahrungsketten Verhandlungen Gesellschaft für Ökologie, Band XIV pp 451-455, Hohenheim 1984.
- HAQUE, A & EBING, W (1983) Toxicity determination of pesticides to earthworms in the soil substrate *Z Pflanzenkr.Pflanzenschutz* 90 (4). 395-408.

- HEIMBACH, F. (1984) Correlations between three methods for determining the toxicity of chemicals to earthworms *Pestic Sci* 15 605-611.
- HEIMBACH, F. (1985) Comparison of laboratory methods using *Eisenia foetida* and *Lumbricus terrestris* for the assessment of the hazard of chemicals to earthworms *Z Pflanzenkr Pflanzenschutz* 92(2) 186-193
- HOEVEN, N van der (1988) Onderzoek naar het verband tussen lengte, oppervlakte en gewicht van de pissebed *Porcellio scaber* TNO rapport nr R 88/057, MT-TNO, Delft
- HOGERVORST, R (1988) De indicatorwaarde van bodemfauna voor de vitaliteitsontwikkeling van dennebossen verklaard op grond van pH- voorkeur en mineraalbehoefte Doctoraalverslag oecotoxicologie, Vrije Universiteit Amsterdam
- HOLDEN, A V (1973) Effects of pesticides on fish In Edwards, C A (ed) *Environmental Pollution by Pesticides* Plenum, London
- HOY, J B (1980) Ecological impact of lindane on a pine plantation soil microarthropod community *Environ Entomol* 9 164-174
- JANSSEN, G M & JOOSSE, E N G (1987) Reproduction and growth in Collembola under laboratory conditions *Pedobiologia* 30 1-8
- JANSSEN, P J C M , KOTEN-VERMEULEN, J E M van, KRAJNC, E I , CANTON, J H , GESTEL, C A M van, HEIJDEN, C A van der & HEIJNA-MERKUS, E (1987) Integrated criteria document hexachlorohexanes, Appendix to report nr 758473004 RIVM, Bilthoven
- JOOSSE, E N G & VERHOEF, H A (1987) Developments in ecophysiological research on soil invertebrates *Adv Ecol Res* 16 175-248
- KARNAK, R E & HAMELINK, J L (1982) A standardized method for determining the acute toxicity of chemicals to earthworms *Ecotox Environ Saf* 6 216-222
- KOOIJMAN, S A L M (1985) Toxicity at population level In . *Multispecies testing* Ed Cairns, J jr pp 143-164 Pergamon Press, New York
- KOOIJMAN, S A L M (1987) A safety factor for LC50 values allowing for differences in sensitivity among species *Water Res* 21.269-276
- KOOIJMAN, S A L M & METZ, J A J (1984) On the dynamics of chemically stressed populations The deduction of population consequences from effects on individuals *Ecotox Environ. Saf* 8 254-274.
- KRAJNC, E I , GESTEL, C.A M van, MULDER, H.C.M , VRIJER, F I de, SINKELDAM, F I de, VINK, G J , CANTON, J H , APELDOORN, M E. van & JANUS, J A (1987) Integrated criteria document cadmium effects, Appendix to report nr. 758476002. RIVM, Bilthoven.
- LEBLANC, G A (1984) Interspecies relationship in acute toxicity of chemicals to aquatic organisms *Environ Toxicol Chem* 3 47-60
- LEBRUN, P , MEDTS, A de & WAUTHY, G. (1980). Eco-toxicologie comparie et bioactivité de trois insecticides carbamates sur une population experimentale de vers de terre, *Lumbricus herculeus* *Pedobiologia* 21.225-235

- LEEJWANGH, P (1985) Het voorspellen van milieueffecten van chemische stoffen op grond van toxiciteitsonderzoek in het laboratorium Vakblad voor biologen 65 (13/14) 18-24.
- LEXMOND, T M (1987) Huidige achtergrondwaarden als referentiewaarden voor het gehalte voor weinig mobiele en persistente verontreinigende stoffen in grond In VTCB symposium bodemkwaliteit (dec 1986) VTCB M86/44.
- LEXMOND, Th M & EDELMAN, Th (1986). Voorlopige referentiewaarden en huidige achtergrondgehalten voor een aantal zware metalen en arseen in de bovengrond van natuur-terreinen en landbouwgronden Verslagen en mededelingen 1986-2, Vakgroep Bodemkunde en Plantenvoeding, Landbouwuniversiteit Wageningen.
- LOCH, J P.G , GAST, L F.L & MAAREN, H L J van (1986) Residuen van geselecteerde bestrijdingsmiddelen in het ondiepe grondwater van enige kwetsbare Nederlandse grondsoorten Resultaten van de eerste onderzoeksfase RIVM rapport no 840256001, Bilthoven
- LORD, K A , BRIGGS, G G , NEALE, M C. & MANLOVE, R (1980) Uptake of pesticides from water and soil by earthworms Pestic Sci 11 ,401- 408
- MA, W (1982) Regenwormen als bioindicatoren van bodemverontreiniging Bodembeschermingsreeks nr 15, Ministerie van VROM, Staatsuitgeverij 's-Gravenhage
- MA, W (1983) Meten van nevenwerkingen van bestrijdingsmiddelen en andere stoffen in laboratoriumtoetsingen met regenwormen RIN Arnhem, ministerie van VROM
- MA, W (1987) Heavy metal accumulation in the mole *Talpa europea*, and earthworm as an indicator of metal bioavailability in terrestrial environments Bull Environ. Contam Toxicol 39 933-938
- MANCIE, G (1987) Pollution threat of heavy metals in aquatic environments In Pollution Monitoring Series Advisory editor K Mellanby Elsevier Applied Science, London and New York
- MAYER, F L Jr , MAYER, K S & ELLERSIECK, M R (1986) Relation of survival to other endpoints in chronic toxicity tests with fish Environ Toxicol Chem 5 737-748
- MILIEUPROGRAMMA 1988-1991 (1987) Tweede kamer, stuk 20202 nrs 1-2, Staatsuitgeverij 's-Gravenhage
- MILIEUPROGRAMMA 1989-1992 (1988) Tweede kamer, stuk 20803 nrs 1-2, Staatsuitgeverij 's-Gravenhage
- MINISTERIE VROM (1986) Discussienotitie bodemkwaliteit Opgenomen in. Advies Bodemkwaliteit, VTCB Leidschendam, VTCB A86/02- II
- MOLA, L , SABATINI, M A , FRATELLO, B. & BERTOLANI, R. (1987). Effects of atrazine on two species of Collembola (Onychiuridae) in laboratory tests Pedobiologia 30: 145-149
- NEUHAUSER, E F , DURKIN, P.R , MALECKI, M R & ANATRA, M. (1986) Comparative toxicity of ten organic chemicals to four earthworm species Comp. Biochem Physiol. 83C:197-200.
- OVERMEER, W P.J & ZON, A Q van (1981) A Comparative study of the effect of some pesticides on three predacious mitespecies *Typhlodromus pyri*, *Amblyseius potentillae* and *A. bibens* (Acarina, Phytoseidae) Entomophaga 26(1) 3-9

- PATEL, B H , PILLAI, G K & SEBASTIAN, P A (1986) A preliminary study on the effect of insecticides on spiderlings of four species Actas X Congr Int Aracnol Jaca, Espana 1986 Ed Barrientos, J A Deel I 253-255
- PIMENTEL, D & EDWARDS, C A (1982) Pesticides and ecosystems Bioscience 32 595-600
- RIVM (1987) Ontwerp basisdocument hexachloorcyclohexanen Eds Slooff, W & Matthijsen, A J C M RIVM rapport nr 758473004, Bilthoven.
- SCHOBHEN, J H M (1988) Het effect van cadmium op lethale en sublethale criteria van *Platynothrus peltifer* (Oribatide mijt) Doktoraal verslag Oecotoxicologie, Vrije Universiteit Amsterdam
- SLOOFF, W (1985) The role of multispecies testing in aquatic toxicology In Multispecies toxicity testing Ed Cairns, J jr pp 45-60 Pergamon Press, New York.
- SLOOFF, W & CANTON, J H (1983) Comparison of the susceptibility of 11 freshwater species to 8 chemical compounds II (semi) chronic toxicity tests Aquat Toxicol 4 271-282
- SLOOFF, W , CANTON, J H & HERMENS, J L M (1983) Comparison of the susceptibility of 22 freshwater species to 11 chemical compounds I (sub) acute toxicity tests Aquat Toxicol 4 113-128
- SLOOFF, W , OERS, J A M van & ZWART, D de (1986) Margins of uncertainty in ecotoxicological hazard-assessment Environ Toxicol Chem 5 841-852
- SNOO, G R de & CANTERS, K J (1987) Neveneffekten van bestrijdingsmiddelen op terrestrische vertebraten Deel 1 en deel 2, CML mededelingen 35 a en 35 b, Leiden 1987
- STENERSEN, J (1979) Action of pesticides on Earthworms Part 1 the toxicity of cholinesterase-inhibiting insecticides to earthworms as evaluated by laboratory tests Pestic Sci 10 66-74
- STRAALEN, N M van (1987) Stofgehalten in de bodem (geen) effecten op bodemdieren In VTCB symposium bodemkwaliteit (dec 1986) VTCB M86/44
- STRAALEN, N M van & DENNEMAN, C A J (1988) Ecotoxicological evaluation of soil quality criteria Paper presented on the 1st European Conference on Ecotoxicology, Copenhagen, October 1988 (submitted for publication in Ecotox Environ Saf)
- STRAALEN, N M van, BURGHOUTS, T B A , DOORNHOF, M J , GROOT, G M , JANSSEN, M P M , JOOSSE, E N G , MEERENDONK, J H van, THEEUWEN, J P. J J , VERHOEF, H A & ZOOMER, H R (1987). Efficiency of lead and cadmium excretion in populations of *Orchesella cincta* (Collembola) from various contaminated forest soils J. Appl. Ecol 24: 953-968
- STRAALEN, N M van, JAGERS OP AKKERHUIS, G A J M. & WENSEM, J van (1988a) Effecten van trifenyltinhydroxide in een bodem micro-oecosysteem Wetenschapswinkel Vrije Universiteit , Amsterdam
- STRAALEN, N M van, GOEDE, R G M de & SCHOBHEN, J H M (1988b) Population consequences of cadmium toxicity to soil microarthropods Ecotox Environ Saf , in press
- SUBAGJA, J & SNIDER, R J (1981) The side effects of the herbicides atrazine and paraquat upon *Folsomia candida* and *Tullbergia granulata* (Insecta, Collembola) Pedobiologia 22 141- 152
- SUTER, G.W. II, VAUGHAN, D S & GARDNER, R.H (1983). Risk assessment by analysis of extrapolation for effects of pollutants on fish Environ Toxicol. Chem 2 369-378

- SWIFT, M J , HEAL, O W & ANDERSON, J M (1979) Decomposition in terrestrial oecosystems Blackwell Scientific Publications, Oxford
- THOMPSON, A R & GORE, F L (1972) Toxicity of twenty nine insecticides to *Folsomia candida* Laboratory studies J Econ Entomol 65 1255-1260.
- TOMLIN, A D (1975a) The toxicity of insecticides by contact and soil treatment to two species of ground beetles (Coleoptera Carabidae) Can Entomol 107 529-532
- TOMLIN, A D (1975b) Toxicity of soil applications of insecticides to three species of springtails (Collembola) under laboratory conditions Can Entomol 107 769-774
- TOMLIN, A D (1977) Toxicity of soil applications of the fungicide Benomyl and two related analogues, to three species of Collembola Can Entomol 109 1619-1620.
- VEGTER, J J , ROELS, J M & BAVINK, H F (1988) Soil quality standards science or science fiction Proc 2nd TNO Congress on Soil Contamination Hamburg
- VINK, K (1988) Effecten van dithiocarbamaten op micro-organismen in de bodem Biologiewinkel rapport 8801 VU Amsterdam, Biologiewinkel en vakgroep Oecologie & Oecotoxicologie
- VONK, J W , ADEMA, D M M & BARUG, D (1986) Comparison of the effects of several chemicals on microorganisms, higher plants and earthworms In Contaminated Soil, pp 191- 201 Eds Assink, J W & Brink, W J van den Martinus Nijhoff Publishers Dordrecht
- VTCB (1986) Advies bodemkwaliteit, VTCB Leidschendam VTCB A86/02
- WENSEM, J van (1988) A terrestrial micro-ecosystem for measuring effect of pollutants on isopod-mediated litter decomposition Proc Int Conf Environmental Bioassay Techniques, Lancaster, 1988 Hydrobiologia, in press
- WILLIAMS, D A (1971) A test for differences between treatment means when several dose levels are compared with a zero dose control Biometrics 27 103-117
- WILLIAMS, D A (1972). The comparison of several dose levels with a zero dose control Biometrics 28 519-531
- ZON, A Q van, & WYSOKI, M (1978) The effect of some fungicides on *Phytoseiulus persimilis* (Acarna, Phytoseiidae) Entomofaga 23 371-378

## Bijlage NOE(L)C waarden voor bestrijdingsmiddelen

In deze bijlage is een groot deel van de gevonden NOE(L)C waarden vermeld. De referenties zijn opgenomen in de literatuurlijst van dit rapport. Stoffen waar slechts één waarde voor is gevonden en stoffen die in Nederland onbekend of niet toegelaten zijn, zijn in het algemeen weggelaten. Deze NOE(L)C waarden kunnen niet zonder meer worden ingevuld in de RAB-methode (van Straalen 1987, van Straalen & Denneman 1988). Hiertoe dient eerst een kritische beschouwing van de proefomstandigheden gemaakt te worden, om een omrekening naar een standaardbodem te kunnen maken. Zie hiervoor de procedure als beschreven in hfdst. 3.

stofnaam	diersoort	NOE(L)C waarde	auteur(s).
Carbaryl	<i>Lumbricus terrestris</i>	NOLC 10 mg/kg NOEC < 1.5 mg/kg	Cathey 1982 idem
	<i>Eisenia foetida</i>	NOLC >64 mg/kg	Stenersen 1979
	<i>Folsomia candida</i>	NOLC 0.05 ppm	Thompson & Gore 1972
Aldrin	<i>Lumbricus terrestris</i>	NOLC 13 mg/kg NOEC < 1.5 mg/kg	Cathey 1982 idem
	<i>Folsomia candida</i>	NOLC 0.1 mg/kg	Thompson & Gore 1972
	<i>Pterostichus melanarius</i>	NOLC 0.05 mg/kg	Tomlin 1975 b
Dieldrin	<i>Lumbricus terrestris</i>	NOLC 13 mg/kg NOEC < 1.5 mg/kg	Cathey 1982 idem
	<i>Folsomia candida</i>	NOLC 0.1 mg/kg	Thompson & Gore 1972
Parathion	<i>Lumbricus terrestris</i>	NOLC 10 mg/kg NOEC < 1.5 mg/kg	Cathey 1982 idem
	<i>Eisenia foetida</i> , <i>Allolobophora caliginosa</i> , <i>Allolobophora chlorotica</i> , <i>Lumbricus rubellus</i>	NOEC 8 mg/kg	Stenersen 1979
	<i>Folsomia candida</i>	NOLC 0.01 mg/kg	Thompson & Gore 1972
DDE	<i>Lumbricus terrestris</i>	NOLC 14 mg/kg NOEC < 1.5 mg/kg	Cathey 1982 idem
Endrin	<i>Folsomia candida</i>	NOLC 0.01 mg/kg	Thompson & Gore 1972
	<i>Lumbricus terrestris</i>	NOLC 13 mg/kg	Cathey 1982
Benomyl	<i>Lumbricus terrestris</i>	NOLC 0.3 mg/kg	Karnak & Hamelink 1982
	<i>Lumbricus terrestris</i>	NOEC 6 mg/kg	Haque & Ebing 1983
	<i>Allolobophora caliginosa</i>	NOEC 0.25 mg/kg	Lofs-Holmin 1982
	<i>Onychiurus justus porter</i>	NOLC 1.0 mg/kg	Tomlin 1977.
	<i>Hypogastrura armata</i>	NOLC 1.0 mg/kg	idem
	<i>Folsomia candida</i>	NOLC 1.0 mg/kg	idem
Carbofuran	<i>Onychiurus justus porter</i>	NOLC 0.5 mg/kg	Tomlin 1977
	<i>Hypogastrura armata</i>	NOLC 0.1 mg/kg	idem
	<i>Folsomia candida</i>	NOLC 0.01 mg/kg	idem
	<i>Pterostichus melanarius</i>	NOLC 0.05 mg/kg	Tomlin 1975 b
	<i>Folsomia candida</i>	NOLC < 0.005 mg/kg	Thompson & Gore 1972
	<i>Eisenia foetida</i>	NOLC > 64 mg/kg	Stenersen 1979
	<i>Lumbricus rubellus</i>	NOLC << 4 mg/kg	idem
<i>Allolobophora caliginosa</i>	NOLC << 4 mg/kg	idem	



Paraoxon	<i>Eisenia foetida</i>	NOLC 16 mg/kg	Stenersen 1979
	<i>Allolobophora caliginosa</i>	NOLC 16 mg/kg	Stenersen 1979
Chlorfenvinfos	<i>Folsomia candida</i>	NOLC 1 mg/kg	Thompson & Gore 1972
	<i>Onychiurus justus porteri</i>	NOLC 0.1 mg/kg	Tomlin 1975a
	<i>Hypogastrura armata</i>	NOLC 2.0 mg/kg	idem
	<i>Folsomia candida</i>	NOLC 0.1 mg/kg	idem
	<i>Pterostichus melanarius</i>	NOLC 2.0 mg/kg	Tomlin 1975 b
Aldicarb	<i>Folsomia candida</i>	NOLC 1 mg/kg	Thompson & Gore 1972
	<i>Lumbricus terrestris</i>	NOEC 0.15 mg/kg	Fayolle 1979
DNOC	<i>Lumbricus terrestris</i>	NOEC 8.65 mg/kg	Fayolle 1979
Triadimefon	<i>Eisenia foetida</i>	NOEC 125 mg/kg	Haque & Ebing 1983
	<i>Lumbricus terrestris</i>	NOLC >1000 mg/kg	idem
Atrazin	<i>Lumbricus terrestris</i>	NOLC >64 mg/kg	Caseley 1966
	<i>Eudrilus eugeniae</i>	NOLC 32 mg/kg	idem
	<i>Allolobophora longa</i>	NOLC > 120 mg/kg	Ma 1983
	<i>Onychiurus apuanicus</i>	NOLC < 2.5 mg/kg	Mola et al 1987
	<i>Onychiurus armatus</i>	NOEC 10 mg/kg	idem
	<i>Tullbergia granulata</i>	NOLC 1000 mg/kg	Subagja & Snider 1981
	<i>Folsomia candida</i>	NOLC 600 mg/kg	idem
Diuron	<i>Acrobeloides buetschlii</i>	NOEC 2.8 mg/kg	Frey 1976
	<i>Lumbricus terrestris</i>	NOLC 32 mg/kg	Caseley 1966
	<i>Eudrilus eugeniae</i>	NOLC 8 mg/kg	idem
Buturon	<i>Acrobeloides buetschlii</i>	NOEC 1.9 mg/kg	Frey 1976
Paraquat	<i>Acrobeloides buetschlii</i>	NOEC 0.39 mg/kg	Frey 1976
	<i>Tullbergia granulata</i>	NOLC 1000 mg/kg	Subagja & Snider 1981
	<i>Folsomia candida</i>	NOLC 600 mg/kg	idem
Azinfosmethyl	<i>Lumbricus rubellus</i>	NOEC 3 mg/kg	Ma 1981
	<i>Folsomia candida</i>	NOLC 0.5 mg/kg	Thompson & Gore 1972
Lindaan	<i>Lumbricus rubellus</i>	NEL 10 mg/kg	Ma 1982
	<i>Allolobophora caliginosa</i>	NOLC 40 mg/kg	Ma 1983
	<i>Allolobophora longa</i>	NOLC $\geq$ 80 mg/kg	Ma 1983
	<i>Folsomia candida</i>	NOLC < 0.01 mg/kg	Thompson & Gore 1972
	<i>Eisenia foetida</i>	NOEC < 8 mg/kg	Stenersen 1979
	<i>Lumbricus terrestris</i>	NOEC 1.7 mg/kg	Fayolle 1979
Quintozeen	<i>Allolobophora caliginosa</i>	NOLC 200 mg/kg	Ma 1983
	<i>Lumbricus rubellus</i>	NOEC 200 mg/kg	Ma 1983
D-D	<i>Lumbricus rubellus</i>	NOEC 2 mg/kg	Ma 1982
'Phorate'	<i>Folsomia candida</i>	NOLC 0.005 mg/kg	Thompson & Gore 1972
	<i>Onychiurus justus porteri</i>	NOLC 0.01 mg/kg	Tomlin 1975a
	<i>Hypogastrura armata</i>	NOLC 0.001 mg/kg	idem
	<i>Folsomia candida</i>	NOLC 0.001 mg/kg	idem
	<i>Pterostichus melanarius</i>	NOLC 0.01 mg/kg	Tomlin 1975 b

Heptachloor	<i>Folsomia candida</i>	NOLC 0.01 mg/kg	Thompson & Gore 1972
	<i>Onychiurus justus porteri</i>	NOLC 1.0 mg/kg	Tomlin 1975a
	<i>Hypogastrura armata</i>	NOLC 1.0 mg/kg	idem
	<i>Folsomia candida</i>	NOLC 0.1 mg/kg	idem
	<i>Pterostichus melanarius</i>	NOLC 0.01 mg/kg	Tomlin 1975 b
Pentachloor- fenol	<i>Lumbricus terrestris</i>	NOLC 10 mg/kg	Vonk et al 1986
	<i>Eisenia foetida</i>	NOEC 5.6 mg/kg	idem
Heptachloor epoxide	<i>Onychiurus justus porteri</i>	NOLC 0.5 mg/kg	Tomlin 1975a
	<i>Hypogastrura armata</i>	NOLC 0.5 mg/kg	idem
	<i>Folsomia candida</i>	NOLC 0.001 mg/kg	idem