

RIVM rapport 711701032/2003

Locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling
Praktijkonderzoek met de TRIADE-benadering: deel 2

A.J. Schouten, J.J. Bogte, E.M. Dirven-van Breemen
en M. Rutgers (eds.)

Auteurs: R. Baerselman
P. van Beelen
J. Bloem (Alterra, Wageningen)
J.J. Bogte
E.M. Dirven-van Breemen
H. Keidel (Blgg, Oosterbeek)
M. Rutgers
A.J. Schouten
M. Wouterse

Dit onderzoek werd verricht in opdracht en ten laste van het Ministerie voor Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer (VROM), Directoraat-Generaal voor Milieubeheer, Directie Bodem, Water, en Landelijk Gebied (BWL), in het kader van project MAP-Milieu 711701 'Risico's in relatie tot bodemkwaliteit'.

RIVM, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven, telefoon: 030-2749111; fax: 030-2742971; Email:
aj.schouten@rivm.nl

Abstract

Report: *Site specific ecological risk assessment, application of the TRIAD approach: part 2.*

This report describes the results of a research programme on the application of the so-called TRIAD approach for site specific ecological risk assessment of soil pollution. This approach means to optimise the estimation of actual ecological effects in a specific area or ecosystem, by gathering multiple evidence along various ways. The TRIAD includes three pillars consisting of a chemical, toxicological and ecological assessment. Each pillar of the TRIAD can be extended over three tiers, representing low, middle and high levels of sophistication. In this second phase of the field research, three locations were investigated with emphasis on the selection of a local reference site and ecological measurements. Pollution Induced Community Tolerance (PICT) has been introduced. It was the intention to select moderate pollution levels and to sample gradients, for the detection of increasing effects.

In practice, fulfilling the research objective appeared to be more difficult than expected. A clear gradient in pollution was only present at one location. Different levels of soil contamination often appears to coincide with alterations in soil characteristics like pH and organic matter content. These confounding factors hamper simple conclusions about direct ecological effects of pollutants.

The chemical, toxicological and ecological measurements were integrated to an effect estimation per TRIAD-pillar and one overall assessment. Effects were scaled from 0 to 1 and divided into 3 colour-categories to obtain a better overview.

It was hard to select a suitable local reference. Such a reference is critical for the assessment and has to be completed with a more general ecological reference for a given soil type.

Although most bioassays and ecological indicators were able to characterise the samples, they showed much lower effects than predicted from the measured concentrations of pollutants.

The (chemical) Toxic Pressure method, based on Species Sensitivity Distributions, seems to give an overestimation of ecological effects. It is also less discriminating in situations of multiple substance pollution exceeding Serious Risk Levels.

Voorwoord

Dit rapport beschrijft de tweede fase in het praktijkonderzoek naar de bruikbaarheid van de TRIADE-benadering voor locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling. In deze tweede fase werd gekozen voor een uitbreiding van de ecologische veldwaarnemingen en werd gestreefd naar betere locale referenties voor verontreinigde percelen. Het onderzoek is een vervolg op studies uitgevoerd in 1999. De resultaten hiervan zijn verschenen in Rutgers et al. (2001). Omwille van de vergelijkbaarheid met het voorgaande onderzoek is in dit rapport een zelfde structuur en opbouw aangehouden. Tevens werd getracht het rapport zelfstandig leesbaar te maken, zonder te veel in herhalingen of verwijzingen te vallen.

Inmiddels is er een derde fase van start gegaan, waarin opnieuw verdieping van de TRIADE methodiek heeft plaatsgevonden. Het verslag van dit onderzoek zal naar verwachting ook in de eerste helft van 2003 verschijnen.

Het onderzoek werd mogelijk gemaakt door de medewerking van locatiebeheerders, collega's van andere onderzoekinstellingen en binnen het RIVM. Christian Mulder en Harm van Wijnen hebben het manuscript kritisch doorgelezen en van commentaar voorzien. Met het risico niet volledig te zijn willen we de volgende personen bedanken voor de samenwerking, hun bijdrage aan de resultaten en het tot stand komen van het rapport:

Alterra: An Vos (microbiologische analyses); Gerard Jagers op Akkerhuis, Wim Dimmers, Henk Siepel (determinatie micro-arthropoden).

Wageningen Universiteit en Research: Wim Didden (uitwerken potwormenanalyses)

Blgg: Christel Siepman (analyse regenwormen).

Witteveen & Bos: Barry Muijs

Goois Natuurreservaat: Hr P. Ubbink

RIVM: Rens van Veen, Carlo Strien, (chemische analyses); Bert van Dijk, Arthur de Groot, (monsternamen); Miranda Mesman, Leo Posthuma, Willie Peijnenburg, Dick de Zwart en Frank Swartjes.

Inhoud

Uitgebreide samenvatting 7

1 Inleiding 11

- 1.1 *Achtergrond en uitgangspunten van het Decision Support System – Locatiespecifieke Ecologische Risico's (DSS-LER) 11*
- 1.2 *Doel en aanpak van de tweede fase praktijkonderzoek 12*
- 1.3 *Leeswijzer 13*

2 Meet- en rekeninstrumenten voor de TRIADE 15

- 2.1 *Chemie 15*
 - 2.1.1 Berekening risico-indicator milieuchemie 16
- 2.2 *Toxicologie 16*
 - 2.2.1 Biossays met bodemextracten: Microtoxtoets en PAM-algentoets 17
 - 2.2.2 Acute en chronische test: sla 17
 - 2.2.3 Berekening risico-indicator toxiciteit 17
- 2.3 *Ecologie 18*
 - 2.3.1 Vegetatie 18
 - 2.3.2 Bait-lamina test 18
 - 2.3.3 Bodembiologische Indicator 18
 - 2.3.4 PICT-metingen 20
 - 2.3.5 Berekening risico-indicator ecologie 21
- 2.4 *Berekening van het Locatiespecifieke Risico uit de TRIADE 25*

3 Resultaten locatie-studies 27

- 3.1 *Algemeen 27*
- 3.2 *Locatie 1: Tilburg 27*
 - 3.2.1 Inleiding 27
 - 3.2.2 Bemonstering en onderzoek 28
 - 3.2.3 Resultaten bodemkenmerken en chemie 29
 - 3.2.4 Meetbare toxiciteit 30
 - 3.2.5 Ecologische waarnemingen 31
 - 3.2.6 TRIADE-beoordeling 34
- 3.3 *Locatie 2: Laarder Wasmeren 37*
 - 3.3.1 Inleiding 37
 - 3.3.2 Bemonstering en onderzoek 37
 - 3.3.3 Resultaten bodemkenmerken en chemie 38
 - 3.3.4 Meetbare toxiciteit 40
 - 3.3.5 Ecologische waarnemingen 41
 - 3.3.6 TRIADE-beoordeling 44
- 3.4 *Locatie 3: Doetinchem 47*
 - 3.4.1 Inleiding 47
 - 3.4.2 Bemonstering en onderzoek 47
 - 3.4.3 Bodemkenmerken en chemie 48
 - 3.4.4 Meetbare toxiciteit 50
 - 3.4.5 Ecologische waarnemingen 51

3.4.6 TRIADE-beoordeling 52

4 Discussie 55

5 Conclusies en aanbevelingen 63

Literatuur 65

Overzicht bijlagen 68

Bijlage 1. Plattegronden en foto's van de onderzoekslocaties 69

Bijlage 2. Fysisch- chemische methoden 75

Bijlage 3. Bioassays 78

Bijlage 4. Resultaten (bodem)biologisch veldonderzoek 80

Bijlage 5. resultaten chemische analyses 87

Verzendlijst 88

Uitgebreide samenvatting

Achtergronden van het onderzoek

In dit onderzoek werd de TRIADE-benadering toegepast bij drie verschillende locatiespecifieke ecologische risicobeoordelingen. Het is een volgende stap in de ontwikkeling van een beslissingsondersteunende methodiek, die op termijn de ecologische component van de huidige urgentiesystematiek voor bodemverontreiniging zou kunnen aanvullen of vervangen. Voorgaande fasen werden beschreven in De Zwart et al. (1999) en Rutgers et al. (2000; 2001). De TRIADE-benadering gaat er van uit dat het ecologisch risico niet 'te vangen' is in een eenvoudige methodiek. Daarom worden meerdere aspecten van de (effecten van) verontreiniging in beschouwing genomen, en in de beoordeling meegewogen.

Doelen

In aansluiting op zwaar verontreinigde bodems die in de eerste fase zijn onderzocht, had dit onderzoek tot doel:

- 1) De bruikbaarheid van de TRIADE uitproberen op minder extreem verontreinigde locaties, met een verontreinigingsgraad tussen de streefwaarde en circa twee keer de interventiewaarde.
- 2) Effecten meten langs een concentratie-gradiënt, om een beeld te krijgen van de gevoeligheid van de indicatoren en het meetsysteem, met de laagste concentratie als referentie.
- 3) Meer aandacht geven aan de keuze van een geschikte lokale referentie.
- 4) Ervaring opdoen met een uitgebreide TRIADE-beoordeling ('tiers', laag-midden-hoog), om meetmethoden te optimaliseren, vooral binnen de onderdelen ecologie en chemie.

Opzet van het onderzoek

Voor het praktijkonderzoek werden bodemonsters gebruikt van drie verschillende locaties met bodemverontreiniging, namelijk een terrein met vervuild slib uit de Laarder Wasmeren (belangrijkste verontreinigingen: chroom, koper, lood en zink), een verlaten woonwagenterrein / autoslooterrein in Doetinchem met stortplaatsen van olie en kabelbrand-plekken (koper, lood, zink en PAK) en de voormalige vloeivelden bij Tilburg (zware metalen, met name chroom).

De TRIADE-benadering bevat drie elementen, namelijk een chemische, toxicologische, en ecologische analyse. Het onderzoek is als volgt uitgevoerd: bij het milieuchemische onderdeel werden de totaalconcentraties van metalen en diverse organische stoffen geanalyseerd in bodem en poriewater (of extracten). Hieruit werd de antropogeen geïnduceerde Toxische Druk op het ecosysteem geschat. De berekeningen werden gedaan met behulp van vastgestelde HC₅₀-waarden en rekenregels voor combinatie-toxiciteit.

Het TRIADE-onderdeel toxiciteit werd in de bodemonsters gemeten met behulp van een aantal bioassays, namelijk Microtox, een toets met algen (PAM) en kieming van slazaad.

Ecologische observaties werden gedaan aan de vegetatie op de locatie en aan de samenstelling

van dominante groepen binnen de bodemfauna. Hiervoor werd een analyse gedaan met behulp van de *Bodembiologische Indicator* (BoBI) op de locaties Laarder Wasmeren en vloeivelden Tilburg. De volgende bodemecologische analyses zijn gedaan: microbiologische eigenschappen (dichtheid, activiteit, diversiteit), samenstelling nematodengemeenschap, potwormen, regenwormen, en micro-arthropoden. Daarnaast werden mineralisatiesnelheden gemeten en de adaptatie van de microbiële gemeenschap aan zware metalen met behulp van de Pollution Induced Community Tolerance methode (PICT).

Alle waarnemingen (metingen en berekeningen) werden omgezet naar effecten, op basis van rekenregels of zonodig expert judgement. Effecten werden uitgedrukt op een schaal van 0 tot 1, teneinde onderlinge vergelijking mogelijk te maken, en samengevat in een TRIADE-beoordelingstabel.

Resultaten

In onderstaande tabel zijn de eindresultaten van de locatiestudies samengevat. De gevonden risicogetallen zijn ingedeeld in drie **arbitraire** categorieën. Deze zijn van een kleur voorzien om de TRIADE-tabellen overzichtelijk te maken: groen (effect 0-0,2); geel (0,2-0,5) en rood (0,5-1). In milieuchemisch opzicht komt een risico van 0,5 (50%) overeen met de HC₅₀ of interventiewaarde.

Samenvatting TRIADE-beoordeling Tilburg Vloeivelden				
Monster	zone A	zone B	zone C	
Aantal maal overschrijding HC50 (Cr)	0	7	13	
TRIADE-onderdelen				
Oordeel chemie:	0,00	0,75	0,94	
Oordeel toxicologie:	0,14	0,21	0,30	
Oordeel ecologie:	0,00	0,24	0,50	
Eindoordeel:	0,05	0,47	0,73	
deviatie	0,14	0,52	0,57	

Samenvatting TRIADE-beoordeling Laarder Wasmeren				
Parameter	WAS224	WAS222	WAS232	
Aantal keer overschrijding HC50 (Cr)	12	77	48	
TRIADE-onderdelen				
Oordeel chemie:	0,00	1,00	1,00	
Oordeel toxicologie:	0,11	0,43	0,83	
Oordeel ecologie:	0,03	0,83	0,88	
Eindoordeel:	0,05	0,96	0,98	
Deviatie	0,10	0,50	0,15	

Samenvatting TRIADE-beoordeling voormalige autosloperij Doetichem							
Parameter	D1A	D3A	D4A	D5A	D7A	D9A	D11A
Aantal keer overschrijding HC50 (Cu)	4	30	0	1	0	104	210
TRIADE-onderdelen							
Oordeel chemie:	0,85	0,98	0,68	0,72	0,00	1,00	1,00
Oordeel toxicologie:	0,00	0,16	0,30	0,30	0,00	0,42	0,31
Oordeel ecologie:	0,63	0,52	0,55	0,47	0,00	0,51	0,58
Eindoordeel:	0,61	0,81	0,54	0,53	0,00	0,94	0,97
Deviatie	0,76	0,71	0,34	0,37	0,00	0,54	0,61

In de tabel zijn de monstercodes van de locale referenties met lichtblauw aangegeven. De onderzoek-resultaten en uitgebreide TRIADE-tabellen zijn beschreven in hoofdstuk 3.

De TRIADE-beoordeling laat onder andere zien dat er bij minder extreme verontreiniging grotere verschillen optreden tussen de TRIADE-onderdelen. Sommige onderdelen scoren in dat geval goed, maar anderen nog slecht. Dit resulteert tevens in een grotere onzekerheid (deviatie) in het eindoordeel. In een dergelijke situatie wordt verdieping van het onderzoek aanbevolen.

Conclusies

Ten aanzien van de gestelde doelen kunnen de volgende conclusies worden getrokken:

- 1+2) De verontreinigingsgraad was op twee van de drie locaties (te) hoog door de aanwezigheid van een cocktail aan stoffen. De monsters van de vloeivelden Tilburg voldeden het best aan de doelstelling om een uitgebreide TRIADE-beoordeling uit te voeren langs een gradiënt van matig verontreinigde bodems. De methodiek gaf ook hier onderscheid met een gradatie in effecten weer, en is dus ook op minder vervuilde locaties bruikbaar.
- 3) De keuze van een goede referentie blijkt een belangrijk en kritisch aspect in de beoordelingsmethodiek. Wederom bleek het in de praktijk moeilijk om (zelfs) binnen een locatie plekken te vinden die alleen verschillen in de mate van verontreiniging. Het voormalig bodemgebruik en het ontstaan van de verontreiniging gaat vaak gepaard met verandering in bodemkenmerken als pH en organische stof. Desalniettemin blijft een locale referentie bij benadering de beste oplossing voor een beoordelingssysteem. De beoordeling zou uitgebreid kunnen worden met een meer algemene referentie voor een bepaald bodem- of ecosysteemtype.
- 4) Ervaringen met een uitgebreide TRIADE-beoordeling:
 - a) Berekening van de Toxische Druk op basis van stofconcentraties leidt systematisch tot een veel hogere risicoschatting dan gegevens uit bioassays en veldonderzoek. De Toxische Drukberekening (TD) is weinig onderscheidend voor locaties waar interventiewaarden meervoudig overschreden worden.
 - b) Binnen het onderdeel zijn poriewaterconcentraties om de mate van effect te berekenen. Dit blijkt echter weinig verbetering in het onderscheid tussen monsters te geven bij zware verontreinigingen. Slechts in een beperkt aantal gevallen leidde poriewaterconcentraties tot lagere (theoretische) effectscores.
 - c) De keuze van bioassays, toegesneden op een bepaald bodem- of ecosysteemtype, is zeer beperkt. Bestaande biotoetsen zijn vaak niet geschikt voor grondsoorten uit het veld, waardoor teruggegrepen moet worden naar algemene toetsen (Microtox of PAM) met grondextracten.
 - d) Een groot aantal bodemecologische indicatoren zijn gemeten. De meeste gaven onderscheid tussen de monsters. De methodiek van de Bodembioologische Indicator lijkt daarom tevens geschikt voor het beoordelen van ecologische effecten van bodemverontreiniging. De waargenomen effecten waren kleiner dan op grond van het

TRIADE-onderdeel chemie verwacht zou worden. Daarbij speelde een gebrek aan duidelijke concentratiegradiënten (tussenschakels) op twee van de drie locaties parten. Voor het eerst is gebruik gemaakt van de PICT-methode om adaptaties van micro-organismen ten gevolge van de verontreiniging vast te stellen. PICT bleek duidelijk aantoonbaar voor de metalen zink en nikkel (Tilburgse vloeivelden). Micro-organismen uit de bodemonsters van de Laarder Wasmeren vertoonden allen een hoge tolerantie, waardoor geen onderscheid tussen de verschillende monsterpunten te maken was.

Aanbevelingen:

- 1) De capaciteit en middelen voor het onderzoek zijn aangewend om in de breedte (verschillende locaties, verontreinigingen) informatie te krijgen over de toepasbaarheid van de TRIADE. Door het ontbreken van meerdere waarnemingen per locatie zijn de resultaten nog niet statistisch te vergelijken. Het onderzoek zou zich in een volgende fase meer moeten richten op uitbreiding van het aantal metingen (replica's) per locatie waardoor verschillen hard te maken zijn en een betrouwbaarheidsinterval bij de berekende effecten gegeven kan worden.
- 2) In het TRIADE-onderdeel chemie wordt de Toxische Druk berekend op basis van chemische bepalingen en de verhouding tot de HC_{50} voor verschillende stoffen. Deze manier van risicobeoordeling is in feite niet locatiespecifiek, omdat gebruik gemaakt wordt van een generieke HC_{50} . Het verdient de voorkeur om de Toxische Druk (indien mogelijk) af te leiden uit Species Sensitivity Distributions, van groepen of soorten die in de bodem van de betreffende locatie aanwezig zijn. Uit een recente studie (Dirven et al., 2002) is echter gebleken dat de noodzakelijke toxicologische gegevens hiervoor beperkt zijn en met een aantal principiële vragen omgeven. Nadere uitwerking van dit vraagstuk is gewenst.
- 3) In deze drie locatiestudies is geen aandacht besteed aan de eisen die het bodemgebruik stelt aan de ecologische kwaliteit. Deze werkwijze is wel opgenomen in 'de Basisbenadering' (Rutgers et al., 1998). Het materiaal van de verontreinigde locaties is alleen gebruikt om ervaring op te doen met de TRIADE-methode. Het verdient aanbeveling om in een volgende fase een meer complete locatiebeoordeling uit te voeren volgens de voorgestelde methodiek.
- 4) Gebleken is dat de keuze van ingekleurde (groen-geel-rood) TRIADE-tabellen als presentatie-vorm teveel een waarde-oordeel suggereren, of een associatie met saneringsurgentie oproepen. Dit is niet de bedoeling en wetenschappelijk niet voldoende onderbouwd. Het is aan te bevelen om in overleg met de opdrachtgever ('het beleid') te komen tot een onderbouwde en praktisch toepasbare presentatievorm voor de verschillende risico's of risicoklassen.

Ter voorbereiding van een eindadvies over uniformering van de methodiek voor locatiespecifieke risicobeoordeling, kan een demonstratie-project worden opgezet. Hierin kan alle opgedane ervaring in het juiste stramien (de Basisbenadering) in de praktijk worden gebracht, op een locatie waarvoor een beheers- en saneringsplan in ontwikkeling is. Hierbij dient de werking en uitkomst van de Basisbenadering te worden vergeleken met de huidige urgentiesystematiek.

1 Inleiding

1.1 Achtergrond en uitgangspunten van het Decision Support System – Locatiespecifieke Ecologische Risico's (DSS-LER)

In Nederland komen naar schatting 175000 gevallen van bodemverontreiniging voor. Ze zijn ontstaan voor de invoering van de Wet Bodembescherming, die uit 1987 stamt. Aan de hand van de urgentiesystematiek wordt bepaald of de locatie al dan niet met urgentie moet worden gesaneerd. Dit hangt onder andere af van de stofgehalten, het volume en het verspreidingsrisico. Volgens de laatste schattingen zijn er op dit moment circa 60000 locaties als urgent geclassificeerd (Milieubalans, 2002). Dat wil zeggen dat hier de interventiewaarde voor één of meer stoffen wordt overschreden. Sinds de invoering van de urgentiesystematiek is er nieuwe kennis gekomen over chemische en ecologische aspecten. Bovendien heeft het bodembeleid zich aangepast aan nieuwe inzichten en beleidsmatige behoeften (BEVER, 1999). De sanering hoeft niet per definitie te leiden tot gehalten op streefwaarde-niveau, maar kan afhankelijk gemaakt worden van het beoogde bodemgebruik, de Bodem GebruiksWaarden. Daarnaast speelt nog steeds het gegeven dat er geen beoordelingssysteem is voor de concentratierange tussen de streefwaarde en interventiewaarde. Met andere woorden, de effecten en beperkingen voor het bodemgebruik zijn hier niet duidelijk. Bij verschillende belanghebbenden heerst de mening dat generieke (landelijke) normen of beoordelings-methoden alleen, op zich niet voldoende zijn toegesneden om een goede oplossing te bieden voor plaatselijke problemen.

Het voorgaande was aanleiding voor de ontwikkeling van een betere en kwantitatieve methode voor locatiespecifieke risicobeoordeling. Een groot aantal mensen en (onderzoeks)organisaties heeft bijgedragen aan de ontwikkeling van een conceptueel model hiervoor. Een eerste aanzet werd gegeven door Rutgers et al. (1998). Op basis hiervan hebben De Zwart et al. (1999) een nadere invulling voorgesteld van de systematiek. Deze gaat uit van een driedelige en stapsgewijze beoordeling, de zogenaamde TRIADE-benadering. Hierin worden 1) de milieuchemie, 2) toxiciteit van grondmonsters en 3) ecologische effecten in het veld, afzonderlijk gemeten en tot een geïntegreerde beoordeling c.q. risicoschatting verwerkt. De stapsgewijze (getrapte) benadering zit in de diepgang van het onderzoek. Deze kan variëren van enkele simpele en algemene waarnemingen tot een uitgebreid experimenteel- en veldonderzoek. De laatste optie geeft de grootste zekerheid op een juiste beoordeling van effecten. Echter, deze mate van detail is waarschijnlijk niet altijd nodig. Een stapsgewijze benadering kan de complexiteit en bijkomende kosten doseren en zo mogelijk beperken. Tot slot is het beoogde bodemgebruik in principe van invloed op de beoordeling van het risico.

De volgende fase was het uitproberen en toetsen van de TRIADE-benadering. Hiertoe werden in eerste instantie drie ernstig verontreinigde locaties uitgezocht van verschillende aard.

Hierop werd een ‘eerste trap beoordeling’ uitgevoerd met enkele uitbreidingen om zoveel mogelijk ervaring op te doen. De resultaten zijn beschreven in Rutgers et al. (2001).

Kort samengevat kwam uit dit onderzoek onder andere naar voren dat:

a) zorgvuldige keuze van een locale of algemene referentie cruciaal is voor de beoordeling van effecten, b) milieuchemische beoordeling mogelijk een overschatting geeft en geen gradatie in ernst meer geeft bij hogere gehalten of combinaties van stoffen, c) de keuze van bioassays en toetsorganismen zoveel mogelijk moet worden afgestemd op de veldomstandigheden, d) een beter inzicht in ecologische effecten in het veld de voorkeur heeft, e) het beoogde bodemgebruik lang niet altijd duidelijk is of differentiërend werkt voor de keuze van toetsen en ecologische parameters, f) expert-judgment over ecologische effecten vaak moeilijk te krijgen is.

1.2 Doel en aanpak van de tweede fase praktijkonderzoek

De ervaringen uit het eerste locatiestudies zijn het vertrekpunt geweest voor de tweede stap in het praktijkonderzoek, met het doel het concept op een aantal punten uit te diepen.

In het voorjaar van 2000 werden opnieuw drie locaties uitgezocht, dit keer met minder ernstige verontreinigingen en een duidelijke gradiënt. Dit waren een vloeiveld in Tilburg, een verlaten woonwagenterrein annex autosloperij in Doetinchem en vloeivelden rondom de Laarder Wasmeren (Hilversum). Deze drie locaties zijn in mei, juni, augustus en september 2000 bemonsterd. In het najaar en vroege voorjaar van 2001 zijn de diverse analyses en berekeningen uitgevoerd.

De doelen van het onderzoek waren de volgende: 1) De bruikbaarheid van de TRIADE uitproberen op minder extreem vervuilde locaties, met een verontreinigingsgraad tussen de referentiewaarde en circa 2 keer de interventiewaarde. 2) Effecten meten langs een concentratie-gradiënt, om een beeld te krijgen van de gevoeligheid van de indicatoren en het meetsysteem, met de laagste concentratie als referentie. 3) Meer aandacht geven aan de keuze van een geschikte locale referentie. 4) Ervaring op doen met een uitgebreide TRIADE-beoordeling (‘tiers’, laag-midden-hoog), om meetmethoden te optimaliseren, vooral binnen de onderdelen ecologie en chemie.

Bij de keuze van de locaties is meer aandacht besteed aan een goede (locale) referentie met overeenkomende bodemeigenschappen (bijvoorbeeld pH). Tevens werden de ecologische veldwaarnemingen uitgebreid volgens de systematiek van de Bodembologische Indicator. Een deel van de biologische analyses werd uitbesteed of in samenwerking met andere instituten gedaan. Aanvullende werd gebruik gemaakt van de mogelijkheden van het eigen laboratorium (ECO) voor de keuze van additionele en praktische effectparameters.

1.3 Leeswijzer

In de voorliggende rapportage wordt in een aantal hoofdstukken verslag gedaan van de tweede ronde praktijkonderzoek:

- in hoofdstuk 2 wordt een overzicht en gedetailleerde beschrijving gegeven van de gebruikte meet- en rekeninstrumenten,
- in hoofdstuk 3 zijn de onderzoeksresultaten gerangschikt per bestudeerde locatie. De uitslagen van de verschillende TRIADE-elementen worden apart gepresenteerd, zodat een indruk ontstaat van de mogelijkheden voor toekomstige toepassing van een beoordelingssystematiek in de praktijk,
- in de discussie (hoofdstuk 4) worden de ervaringen voor wat betreft de betekenis van de resultaten voor de beoordelingspraktijk besproken. Er wordt speciale aandacht besteed aan de keuze van referenties en de inzetbaarheid c.q. beperkingen van bepaalde meetmethoden of indicatoren,
- in hoofdstuk 5 zijn de conclusies van het onderzoek op een rij gezet en worden aanbevelingen gedaan voor verder onderzoek,
- in de bijlagen zijn technische details opgenomen van de bemonsterde locaties, gebruikte methodieken, inventarisaties en de resultaten van analyses.

2 Meet- en rekeninstrumenten voor de TRIADE

De Zwart et al. (1999; blz. 37) geven een overzicht van de parameters die in de verschillende lagen van een beoordeling toegepast kunnen worden. Het gelaagde systeem heeft tot doel om kostenefficiënt, en zonodig in fasen, metingen volgens de TRIADE-benadering uit te voeren. In de TRIADE-benadering worden onderzoeksparameters ingezet vanuit drie verschillende invalshoeken. Deze zijn: 1) milieuchemie, effectparameters op basis van gehalten aan stoffen in de bodem of biota, 2) effectparameters op basis van toxiciteit in monsters van de locatie met behulp van bioassays, 3) ecologische parameters op basis van veldwaarnemingen van de locatie.

De diverse effectparameters worden geïntegreerd tot een eindoordeel, de risicoschatting. De bij het onderzoek gebruikte bepalingen en methoden worden in dit hoofdstuk beschreven.

2.1 Chemie

Het onderzoek werd uitgevoerd op drie locaties, namelijk vloeivelden nabij Tilburg, Laarder Wasmeren (Hilversum) en Doetinchem (voormalige autosloperij). In de bijlagen zijn foto's en plattegronden opgenomen. Op de drie locaties werden enkele algemene bodemkenmerken bepaald, namelijk: zuurgraad, gehalte organische stof en lutumfractie. De gebruikte (standaard) methoden zijn nader omschreven in de bijlagen.

De bodemmonsters van de locatie Tilburg werden verder geanalyseerd op totaalgehalten van de zware metalen Zn, Pb, Cu, Cd, Ni, Cr en Hg. De monsters van de Laarder Wasmeren (Hilversum) werden bovendien onderzocht op het voorkomen van Ba, Co, Mo, Sb (antimoon), As, olie en PAK. De bodemmonsters van Doetinchem werden geanalyseerd op totaalgehalten van de zware metalen Zn, Pb, Cu, PAK en olie.

Naast de totaal-gehalten aan zware metalen werd in de tweede fase van het praktijkonderzoek ook de concentratie van stoffen in het poriewater geanalyseerd. De manier van poriewater verzameling en het analysepakket verschilde enigszins per locatie, afhankelijk van de meest voorkomende stofgehalten in de verontreiniging:

- Locatie Tilburg: poriewater werd verzameld door het centrifugeren van bodemmateriaal uit een mengmonster. Voor dit doel is gebruik gemaakt van speciaal geconstrueerde kunststof buizen, met onderin een zeefplaat en opvangreservoir. Om voldoende bodemvocht te kunnen extraheren werd de grond eerst op 75% van de water holding capacity gebracht (WHC75) en 10 weken bij 4 °C bewaard om in evenwicht te komen. Het poriewater werd geanalyseerd op gehalten van de metalen Cd, Cu, Pb, Zn, Ni en Cr.
- Uit de monsters van de locatie Laarder Wasmeren werd op identieke wijze poriewater onttrokken als hierboven beschreven. Naast Cd, Cu, Pb, Zn, Ni en Cr werd tevens As

gemeten. De analyses van organische stoffen werden geselecteerd op basis van de verwachte vervuiling ter plaatse en door eerder uitgevoerd onderzoek van adviesbureau's.

- Van de locatie Doetinchem werden geen poriewatermonsters verzameld. Wel zijn waterige extracten gemaakt voor bioassays met microorganismen en algen. Deze extracten werden gebruikt als kunstmatige poriewater, ze moeten als benadering van de gehalten in het bodemvocht worden beschouwd. In de extracten werd het gehalte van de metalen Cd, Cu, Pb en Zn gemeten (zie ook bijlage 2.4).

2.1.1 Berekening risico-indicator milieuchemie

Individuele meetgegevens betreffende de aanwezigheid van verontreinigingen werden gebundeld tot één TRIADE-aspect volgens daarvoor geschikte rekenmodellen. De chemische analyses zijn verwerkt tot een indicator voor de Toxische Druk (TD) per stof en de totale toxische druk van de gemeten stoffen samen (TD_{combi}), volgens Rutgers et al. (2000a). Bij de berekening van de TD en TD_{combi} wordt rekening gehouden met de niet-lineaire relatie tussen de aanwezigheid van verontreiniging en het veronderstelde effect, volgens de zogenaamde Species Sensitivity Distribution (SSD). Tevens werd rekening gehouden met de 'natuurlijke' achtergrondconcentraties door locale referentiemonsters te analyseren.

Bij de invulling van de eerste trede in de TRIADE dienen eenvoudige toetsen te worden ingezet. Daarom werd de TD berekend op basis van de totaalconcentraties van verontreinigde stoffen gecorrigeerd voor een standaardbodem (zie ook Rutgers et al., 2001)

Bij dit onderzoek is ook getracht om een invulling te geven aan de tweede trede. Hiervoor is op een vergelijkbare manier met de TD gerekend op basis van het gehalte aan gemeten metalen in het poriewater en grondextracten van de locatie Doetinchem. Voor poriewater of grondwater bestaan echter geen HC_{50} -waarden. In plaats hiervan zijn normen voor oppervlakte water gebruikt. Bij deze benadering moet dus worden aangenomen dat blootstelling aan stoffen in het bodemvocht dezelfde effecten geeft als in het oppervlakte water ecosysteem. Gezien de verschillen tussen bodem en water en de daarin voorkomende organismen, is deze werkwijze slechts een benadering van mogelijke effecten bij gebrek aan beter. In de berekeningen van de TD-poriewater is gecorrigeerd voor het gehalte metalen dat is opgelost in grondwater. Er is gebruik gemaakt van een 'hypothetisch' oppervlaktewater ecosysteem, afkomstig uit de methodiek van de SRA (Serious Risk Addition for ecosystems), Verbruggen et al. (2001). De Toxische Druk van poriewater is als volgt gedefinieerd:

$$TD_{poriewater} = 1 / \{1 + \text{Exp}[\log SRA_{metaal} - \log (\text{gemeten conc. in het poriewater} - \text{conc. opgelost in grondwater})]\}$$

2.2 Toxicologie

Met behulp van bioassays werd een indicatie verkregen van de meetbare toxiciteit in de bodemonsters van de locaties. In de lage trede, waarin eenvoudige toetsen staan zoals de acute toxiciteitstoetsen, werden voor alle drie de locaties de Microtox en de PAM-algentoets

(zie bijlagen 3) uitgevoerd. Als de middelste trede werd de zaadkiemingstest gedaan. Voor de hoge trede zijn geen toetsen uitgevoerd. De resultaten van deze testen zijn ingezet voor de bepaling van de risico-indicator toxicologie.

Hieronder volgt een korte omschrijving van de verschillende bioassays.

2.2.1 Bioassays met bodemextracten: Microtox-toets en PAM-algentoets

De Microtox (NEN 6516, SOP ECO/064/01) is een kortdurende screeningstest met een luminiserende bacteriestam (*Vibrio fischeri*, voorheen *Photobacterium phosphoreum*) in het (verdunde) extract van een bodemmonster.

De PAM-(Pulse Amplitude Modulation)-algentoets is eveneens een kortdurende screeningstest in (verdund) bodemextract (Van Beusekom et al., 1999). Met de fluorometer wordt de remming van de fotosynthese onder invloed van toxische stoffen in het bodemextract gemeten bij de groene alg *Selenastrum capricornutum*. De extracten voor deze testen zijn gemaakt zoals beschreven in bijlage 2.4.

2.2.2 Acute en chronische test: sla

In de zaadkiemingstest werd slazaad (*Lactuca sativa*) direct blootgesteld aan de grondmonsters. De grond werd op 75% waterhoudende capaciteit gebracht. Per locatie werden 2 kunststof petrieschalen gevuld met grond (WHC 75%). Vervolgens werden per schaal 40 slazaadjes op de grond gelegd. De schalen werden geïncubeerd onder gecontroleerde condities voor wat betreft lichtregime 16 uur licht 8 uur donker en 6000 lux, luchtvochtigheid 80% en temperatuur 20 °C, gedurende 1 week. Het percentage gekiemde zaden werd dagelijks bepaald en hieruit werd de kiemvertraging ten opzichte van de referentiegrond berekend.

2.2.3 Berekening risico-indicator toxiciteit

Per toets zijn de gemeten effecten uitgedrukt als afwijking van de gekozen referentie (fractie, of percentage). De referentie wordt hierbij op 1 of 100% gesteld. De effectparameter van het TRIADE-onderdeel toxiciteit wordt verkregen door per bodemmonster (=te beoordelen plek/gebied) het geometrisch gemiddelde te berekenen van de verschillende toetsuitslagen. Hierbij wordt het gemiddelde genomen van het niet-beïnvloede deel (dit is 1- effect). De berekeningswijze kan ook in de volgende vorm worden weergegeven:

$$(1 - \text{Effect}_{\text{gemiddeld}}) = \{(1 - \text{Effect}_1) \times (1 - \text{Effect}_2) \times \dots \times (1 - \text{Effect}_N)\}^{1/N}$$

De uitkomst is gelijk aan een berekening van een geometrisch gemiddelde waarin een log-transformatie wordt toegepast.

Omrekening naar (1-effect) vindt plaats omdat lage waarden zwaarder meewegen dan hoge waarden in een geometrisch gemiddelde. Een lage (1 - effect) ontstaat wanneer het effect groot is. Het (geometrisch) gemiddelde niet-beïnvloede deel uit de toxiciteitstesten wordt

vervolgens weer teruggetransformeerd naar een gemiddelde effectmaat op lineaire schaal. Het resultaat is dus dat er meer nadruk wordt gelegd op uitslagen van bioassays met grotere negatieve effecten.

2.3 Ecologie

De Zwart et al. (1999) stellen voor om ecologische afwijkingen van een locatie in eerste instantie te bepalen aan de hand van afwijkingen in de soortensamenstelling van planten en/of dieren. Vegetatie-inventarisaties zijn relatief gemakkelijk te maken, onder andere doordat planten voor langere tijd op een vaste plek aanwezig zijn. Een goede fauna-inventarisatie vraagt meer tijd en specialistische kennis. Metingen aan bodemorganismen hebben het voordeel dat de monsters meegenomen kunnen worden naar het laboratorium, waar de extracties en analyses plaatsvinden.

Ecologische effecten zijn in dit onderzoek op vier verschillende manieren gemeten. De inzet van beschikbare instrumenten was echter niet op alle locatie gelijk. Hieronder volgt een toelichting.

2.3.1 Vegetatie

In het veld werden de voorkomende plantensoorten geïnventariseerd op dezelfde terreintjes waar bodemmonsters zijn verzameld. De samenstelling van voorkomende planten geeft een beeld van de bodemgesteldheid ter plekke. Het verschaft informatie over verstoring, voedselbeschikbaarheid, grondwaterstand en dergelijke. Doordat er maar eenmalige een inventarisatie van de voorkomende soorten is uitgevoerd, hebben deze inventarisaties een beperkte dekking. Desalniettemin kunnen ze in vergelijkende zin gebruikt worden binnen een locatie, zeker als een goede referentie voorhanden is. Ook is de mate van bedekking van de begroeiing genoteerd.

2.3.2 Bait-lamina test

Activiteit van bodemdieren aan de hand van een Bait-lamina test. Dit is een PVC-stripje van 15 cm lang en 5 mm breed, met een serie gaatjes van 2 mm in diameter. Deze gaatjes zijn gevuld met voedingsmedium, een verhard mengsel van cellulose en zemelen. De strip wordt in de grond gestoken op een te onderzoeken locatie om de vraatactiviteit van bodemdieren te bepalen. Dit wordt in percentage van gevulde en aangevreten gaatjes uitgedrukt. De Bait - lamina test is toegepast op de Laarder Wasmeren locaties.

2.3.3 Bodembologische Indicator

Ecologische effecten zijn verder uitgebreid onderzocht aan het voorkomen van belangrijke groepen bodemorganismen. Hiervoor is de systematiek van de Bodembologische Indicator (BoBI) gebruikt (Schouten et al., 1997; 1999). De metingen vormen tezamen een doorsnede door het bodemvoedselweb. In BoBI zijn de volgende groepen opgenomen: microorganismen,

nematoden, potwormen, wormen, mijten en springstaarten. Aan ieder van deze groepen worden verschillende kenmerken (indicatoren) gemeten. Gezamenlijk geven de metingen een beeld van de situatie in de bodem, zowel wat betreft de diversiteit als functionele aspecten.

Hieronder volgt een korte toelichting op de bepalingen die deel uitmaken van BoBI.

a) *Microbiologische eigenschappen* worden beschreven door: aantal, biomassa, activiteit en genetische diversiteit, fysiologische diversiteit en mineralisatiesnelheden. Bacteriën en schimmels zijn de belangrijkste afbrekers van dood organisch materiaal in de bodem. Door predatie of vraat van bodemdieren op microörganismen ontstaat een voedselketen en wordt de snelheid van afbraak gestimuleerd. Alle microbiologische eigenschappen werden gemeten aan mengmonsters van de verschillende locaties of proefveldjes.

Bacteriële biomassa werd bepaald met behulp van microscopische telling van met fluoriserende verbindingen gekleurde bacteriën in het bodemmateriaal. De activiteit wordt bepaald aan de hand van inbouwsnelheden van radioactief gelabeld ^3H thymidine en ^{14}C leucine in respectievelijk DNA en eiwitten. De genetische diversiteit van bacteriën werd bepaald door middel van Denaturatie-Gradiënt Gel Electroforese (DGGE) (Muyzer et al., 1993). Microbieel DNA werd geëxtraheerd uit de grond, gezuiverd en vermenigvuldigd door middel van PCR (Polymerase Chain Reaction). De genetische samenstelling van het DNA werd met behulp van DGGE in kaart gebracht in de vorm van een bandenpatroon. Het aantal banden is een afspiegeling van het aantal genotypen ('soorten').

Fysiologische diversiteit van de microbiële gemeenschappen werd gemeten met behulp van multi-compartiments platen van de firma Biolog[®]. Deze platen bevatten een voor micro-organismen geschikt medium, een kleurindicator voor metabolische activiteit, en per putje (well) een specifiek koolstofsubstraat. Het verkleuringspatroon in de Biolog-plaat is specifiek voor de microbiële gemeenschap en de substraten die kunnen worden afgebroken (Biolog-toets). Tijdens een periode van 7 dagen wordt de snelheid en intensiteit van kleuring gemeten in een verdunningsreeks van bacteriedichtheden. Uit de waarnemingen worden responsiecurven afgeleid. Hieraan worden vervolgens verschillende karakteristieken ontleend.

De potentiële mineralisatie-capaciteit van koolstof en stikstof werd gemeten door bodems te incuberen, en het zuurstofverbruik c.q. productie van minerale stikstof te meten.

b) *Nematodenfauna*: dit zijn kleine wormpjes (0,2 – 2 mm lang) die in hoge aantallen en diversiteit voorkomen. Ze zijn met het blote oog echter niet of nauwelijks te zien. Nematoden zijn voornamelijk bacterie- schimmel- of plantenwortel-eters. Ze kunnen uit de bodem gehaald worden door een combinatie van spoel, zeef en filtertechnieken. In Nederland wordt de Oostenbrink-methode als standaard gehanteerd voor vrijlevende soorten (Oostenbrink, 1960). De nematoden zijn geëxtraheerd uit hetzelfde mengmonster dat verzameld werd voor chemische- en microbiologische analyses. Na telling zijn ze gefixeerd en op naam gebracht met behulp van een lichtmicroscop.

c) *Potwormen*: Potwormen zijn nauw verwant aan regenwormen. Ze zijn echter maar enkele mm's lang, en daarmee slechts een slag groter dan nematoden. Potwormen leven van dood organisch materiaal en kleinere organismen. Ze werden verzameld door per locatie 6 bodemkernen te steken (diameter 6 cm, hoogte 15 cm) met een speciale boor. In de boor

worden PVC-ringen geplaatst van 2,5 cm hoogte. Na het steken van het monster blijft de grond in de PVC-ringen. De boorkern kan zo ongestoord naar het laboratorium worden overgebracht. Het monster wordt vervolgens in schijfjes opgedeeld. Deze worden afzonderlijk geëxtraheerd met behulp van een natte Baerman funnel methode (Didden, 1991). De potwormen werden geteld, gemeten en gedetermineerd met behulp van een lichtmicroscop. Adulte potwormen werden tot op soort gedetermineerd, juvenielen tot op geslacht.

d) Wormen: Wormen zijn een belangrijke schakel naar de bovengrondse voedselketen. Ze dragen bij aan de strooiselafbraak, doorluchting, menging, drainage van de bodem, en stimulatie van de microflora door het verkleinen van organisch materiaal.

De samenstelling van de regenwormengemeenschap wordt bepaald door blokken grond ('plaggen' van 20x20x15 cm) in het laboratorium te onderzoeken op aanwezigheid van wormen. Deze zijn vervolgens gewogen en gedetermineerd op soortsniveau en levensstadium (adult/juveniel). Met deze manier van monstren worden soorten met een levenswijze dieper in de bodem niet meegenomen.

e) Micro-arthropoden: Micro-arthropoden zijn kleine insecten en mijten (spinachtigen). Meestal staan ze hoger in de voedselketen. Ze eten schimmels, plantenwortels, nematoden of organisch materiaal. Deze dieren leven vaak meer aan de oppervlakte van de bodem omdat ze beter bestand zijn tegen uitdroging. Ze worden verzameld door steekboormonsters (diameter 6 cm) te nemen van de bovenste 5 cm van de bodem. De dieren worden in het laboratorium uit de bodem gehaald door middel van een Tullgren-extractie. Het monster wordt langzaam uitgedroogd, waardoor de dieren naar beneden kruipen. Ze vallen vervolgens in een trechter en worden direct in alcohol gefixeerd. De monsters worden geteld en de dieren in preparaat gebracht om ze onder de microscoop te determineren.

Het beoordelingssysteem van de Bodembioologische Indicator mondt uit in een Bodemkwaliteitsindex die de gemiddelde afwijking tot een referentie in één getal uitdrukt. Deze werkwijze (rekenmethode) vertoont veel overeenkomst met de manier waarop een risico-indicator in de TRIADE tot stand komt.

2.3.4 PICT-metingen

PICT is de afkorting voor Pollution Induced Community Tolerance (door de vervuiling geïnduceerde tolerantie van een levensgemeenschap). Het is een methode om genetische veranderingen door verontreinigingen vast te stellen. Bij deze methode worden organismen uit het veld onder gecontroleerde omstandigheden in het laboratorium blootgesteld aan verschillende concentraties van een vermoedelijke giftig stof. De organismen die buiten al gewend waren om met deze stof om te gaan zullen ook in het laboratorium een grotere tolerantie voor die stof vertonen. De PICT-methode is hierop gebaseerd. Organismen die in het laboratorium een aantoonbaar grotere tolerantie voor een bepaalde stof vertonen waren kennelijk in het veld al gewend om met deze stof om te gaan.

De PICT methode is onder meer van belang voor het herkennen van de daadwerkelijke effecten van metalen in de bodem. Bij metalen is het vaak wel duidelijk dat een hoge

metaalconcentratie in de bodem aanwezig is, maar dat hoeft niet te betekenen dat het metaal ook giftig is voor organismen. Metalen kunnen op allerlei manieren stevig aan bodemdeeltjes gebonden worden waardoor de giftigheid van het metaal sterk afneemt. Met behulp van de PICT-methode kan de giftigheid van metalen in de bodem eenduidig vastgesteld worden. Wanneer er bijvoorbeeld alleen nog maar zink tolerante organismen in een bepaalde bodem voorkomen dan kan aangenomen worden dat het aanwezige zink in die bodem zodanig giftig is dat zink gevoelige organismen in die bodem uitgestorven zijn. Na een waarneming van metaal-specifieke tolerantie kan er nog twijfel zijn omtrent de specifieke rol van andere metalen, omdat metalen immers meestal als mengsel aanwezig zijn. Dit kan dan verder onderzocht worden door PICT te meten voor de andere verdachte metalen, om zo de zogenaamde kruis-tolerantie te kwantificeren.

Het in detail beschrijven van de nieuw gebruikte technieken en rekenmethoden vormt een publicatie op zich en past niet binnen het kader van dit rapport. Daarom is gekozen voor een korte explicatie op hoofdlijnen.

De PICT methode kan in principe met allerlei organismen uitgevoerd worden maar in de praktijk is het het meest handzaam om kleine organismen te gebruiken zoals algen, nematoden of bacteriën. Voor dit onderzoek zijn bodembacteriën gebruikt van verschillende locaties. De activiteit van de bacteriën werd gemeten met behulp van Biolog[®]-microtiterplaten. Deze microtiterplaten bestaan uit 96 putjes met in 31 verschillende voedingsstoffen. Wanneer er voldoende bacteriën in een putje terechtkomen die op de betreffende voedingsstof kunnen groeien dan zal er na een dag of drie een kleuring van het putje optreden. De activiteit van de bacteriën leidt tot de omzetting van een kleurloze indicator in een paars gekleurde stof. Een efficiëntie-voordeel van de Biolog methode is dat de meting van grote aantallen putjes met allemaal verschillende activiteiten kan gebeuren met behulp van robots. Op deze manier kan snel een enorme hoeveelheid gegevens gegenereerd worden. De tolerantie van de bacteriën kan gemeten worden door de bacteriën voor de activiteitsbepaling bloot te stellen aan verschillende concentraties van metalen. Indien er tolerantie (PICT) aanwezig is in bepaalde monsters, dan kunnen de tolerante bacteriën immers bij een veel hogere metaalconcentratie doorgroeien dan de gevoelige bacteriën, en dit werkt door in de ent die in de putjes gedaan wordt. Het uiteindelijke resultaat, is een tolerantiegraad uitgedrukt als (toegenomen) EC₅₀-waarde. Deze wordt vergeleken met de EC₅₀-waarden van een lokale referenties, of van controlegronden (met lage metaal-concentraties), maar ook met de geldende normen.

2.3.5 Berekening risico-indicator ecologie

In de tweede fase van het praktijkonderzoek was het niet haalbaar om eenzelfde mate van detail aan te brengen in de ecologische waarnemingen op alle drie locaties. De risico-indicator ecologie is dus niet univorm van samenstelling op alle locaties. In de monsters van de locatie te Doetinchem werd alleen de nematodenfauna geanalyseerd. Op de locatie Tilburg is een analyse volgens de Bodembioologische Indicator (BoBI) toegepast. Dit omvat dus

nematodenanalyses, wormen en potwormen abundantie, microbiële activiteit en Biolog experimenten. Tevens is een PICT-meting gedaan om genetische adaptaties van bodembacteriën te bepalen. Voor de Laarder Wasmeren zijn naast BoBI-analyses en PICT-metingen ook Baitlamina testen en eigen vegetatie-inventarisaties gebruikt om de ecologische effecten in de monsters (of proefveldjes) te beoordelen.

Een risicoschatting wordt verkregen door ecologische waarnemingen in de verontreinigde terreinen te vergelijken met de lokale referenties en deze uit te drukken in een mate (%) van afwijking.

In het eerste praktijkonderzoek werd alleen de vegetatie en de nematodenfauna gebruikt voor een schatting van de ecologische effecten. Het omzetten van kengetallen voor nematoden naar een risicoschaal gebeurde daarbij volgens verschillende formules, met in achtname van de range waarin een kengetal kan variëren. In dit tweede praktijkonderzoek is de procedure vereenvoudigd. De rekenmethode van de bodemkwaliteitsindex hanteert voor elk kengetal dezelfde transformatie, namelijk de procentuele afwijking ten opzichte van de referentie. Hierbij wordt geen onderscheid gemaakt tussen positieve of negatieve afwijkingen. In principe wordt dezelfde methode toegepast als voor het berekenen van effecten binnen de TRIADE-onderdelen Chemie en Ecotoxicologie, op detailpunten zijn er echter een aantal verschillen.

De volgende werkwijze is gevolgd om effecten te schatten binnen de verschillende ecologische indicatorgroepen:

1. **Vegetatie-inventarieringen** zijn gebruikt voor een *kwalitatieve* beoordeling. Dat wil zeggen dat een schatting is gegeven van de range (bijvoorbeeld 20-50%) waarin een mate van verstoring ligt, afhankelijk van de aangetroffen soorten op het tijdstip van monstername. De inschatting van het effect is dus gemaakt op basis van expert-judgement. Deze beoordeling is hoofdzakelijk in vergelijkende zin bruikbaar.
2. **Bait-lamina metingen:** Het aantal (en gedeelte) van de aangevreten voedselpellets werd omgerekend naar een percentage vraat per strip (bait-lamina stick). Indien het voedselmedium uit alle gaatjes verdwenen is, is de vraat 100%. Per veldje werden de waarnemingen van 9 strips gemiddeld. De resultaten van de verontreinigde percelen werden uitgedrukt ten opzichte van de lokale referentie.
3. **Bodembiologische Indicator:** BoBI bestaat uit een doorsnede van het bodemecosysteem. Van iedere groep worden een aantal kengetallen afgeleid, waardoor een lijst met ecologische eigenschappen ontstaat. In principe wordt per kengetal op log-schaal de absolute afwijkingen tot de referentie berekend. Het geometrisch gemiddelde van alle afwijkingen wordt naar een 0 – 1 range geschaald. Dit resulteert in een bodemkwaliteitsindex (BKX) voor de onderzochte monsters (Schouten et al., 2000; 2002). De berekening kan op de volgende wijze in een formule worden weergegeven:

$$BKX = 10^{\frac{\sum_{i=1}^n |\log m - \log n_i|}{n}}$$

Hierbij is **m** de waarde van de referentie (op 100 % gesteld) en **n** is de meetwaarde, als percentage van de referentie (**m**).

De waarde van de BKX wordt beïnvloed door de gebruikte indicatoren, en de wijze waarop deze gemiddeld worden. In dit rapport is per organismegroep een gemiddelde effectmaat berekend uit de kengetallen. Het gemiddelde van de groepen bepaalt samen met de overige ecologische afwijkingen (bijvoorbeeld vegetatie) de risico-indicator voor het TRIADE-onderdeel ecologie (zie ook 2.4). In de BKX-berekeningen voor de risicoindicator ecologie zijn de volgende kengetallen opgenomen:

Microorganismen: 1) thymidine-inbouwsnelheid, 2) leucine-inbouwsnelheid, 3) bacteriële biomassa, 4) potentiële C-mineralisatie, 5) potentiële N-mineralisatie.

Biolog: 1) aantal kweekbare cellen (CFU/gram grond), 2) aantal bacteriën nodig voor 50% substraatafbraak in de platen (CFU-50awcd), 3) diversiteits-indicator (hellingshoek curve).

Nematoden: 1) aantal taxa op genus-niveau, 2) aantal nematoden per 100 g, 3) % bacterie-eters, 4) % schimmel-eters, 5) % planten-eters, 6) % cp1, 7) % cp2, 8) % cp3 + cp4 + cp5. De ‘cp-indeling’ is een ecologische classificatie op een colonizer – persister schaal (Bongers, 1990). In feite komen hier kolonisatie- en successiemechanismen in tot uiting (zie ook toelichting in paragraaf 3.2.5). Een soortgelijk proces speelt zich af na verstoringen door bemesting en verontreinigingen.

Potwormen: 1) aantal per m², 2) aantal soorten.

Wormen: 1) aantal per m², 2) biomassa, 3) aantal soorten.

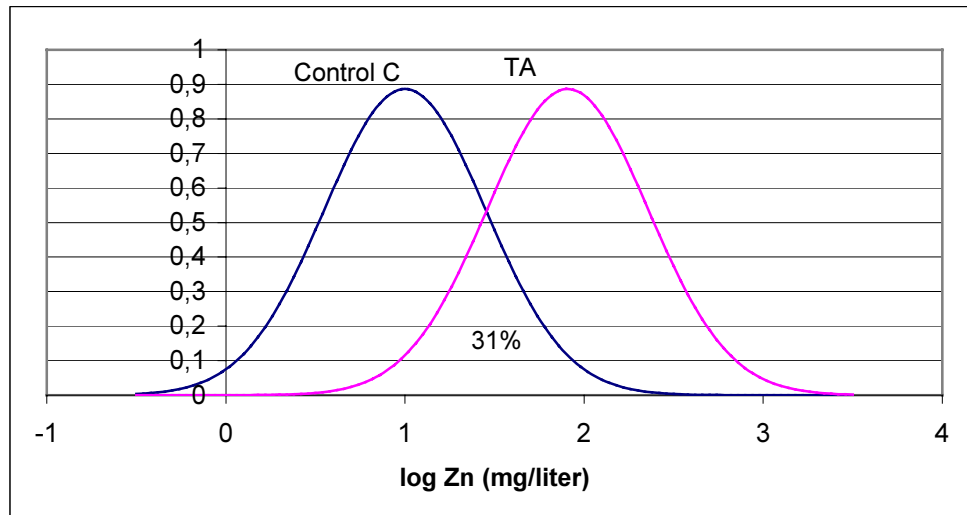
Er zijn verschillende mogelijkheden en varianten voor de lijst van indicatoren die in de risicoberekening worden opgenomen. Indien vergelijkbaarheid van beoordelingen gewenst is, moet zoveel mogelijk een vaste methode worden gebruikt. Uitwerking van de micro-arthropoden analyses was helaas nog niet beschikbaar tijdens het schrijven van dit rapport. Ze zijn daarom niet meegenomen in de berekeningen. De ruwe gegevens zijn wel gebundeld in bijlage 4.

4. PICT-metingen:

De PICT-methode maakt het mogelijk om de ‘werkelijk aangetaste fractie’ van microorganismen te berekenen. De werkwijze vertoont veel overeenkomst met de huidige normafleiding voor stoffen, via de Potentieel Aangetaste Fractie (PAF) die uit Species Sensitivity Distributions (SSD's) wordt berekend.

In het geval van PICT wordt er uitgegaan van de locale gevoeligheidsverdeling van bacteriën voor verschillende metalen in microtiterplaten. Deze kan worden vergeleken met een algemene of locale referentie. Figuur 1 illustreert de manier waarop een effect wordt berekend. De curve links is gebaseerd op een schone (algemene) controle grond. De log-EC₅₀ van de substraatafbraak-activiteit volgt een normale verdeling met gemiddelde log(10)=1,0 en standaarddeviatie 0,45. De rechter curve in figuur 1 laat de verdeling zien voor minst verontreinigde grond van de locatie Tilburg (TA), met een gemiddelde van log(81)= 1, 9 en een geschatte standaarddeviatie van 0,45. De gevoeligheids-verschuiving

kan worden bepaald door de overlap van beide curves te berekenen. Deze overlap is 31% en dat betekent dus dat het verschil in gevoeligheid tussen controle C en TA gelijk is aan $100\% - 31\% = 69\%$. De uitkomst van deze berekening is de lokale tolerantie-toename of het $\text{Effect}_{(\text{PICT})}$.



Figuur 1: Berekening van de tolerantie-toename uit de gevoeligheidsverdelingen voor zink, van bodembacteriën van een verontreinigde grond TA en controle grond C.

De PICT-meting bestaat uit het experimenteel blootstellen van een microbiële gemeenschap aan een concentratiereeks van een bepaalde stof. Dit gebeurt door bacteriën uit de bodem te extraheren, ze in een buffer (Bis-Tris, pH 7) bloot te stellen aan een concentratiereeks, en ze vervolgens op te kweken in een biologplaat. Aan de hand van de groeisnelheid van de microflora op verschillende substraten van een biologplaat wordt de EC_{50} (in mg/l) voor het onderzochte metaal berekend.

Wanneer op een locatie meerdere probleemstoffen aanwezig zijn, kan de tolerantie per stof worden gemeten. Het gecombineerde effect van alle metalen samen, kan berekend worden volgens de formule voor respons-additie (analoog aan Toxische Druk en Multi Substance-PAF):

$$1\text{-PICT totaal} = (1\text{-PICT Zn}) \times (1\text{-PICT Ni}) \times (1\text{-PICT Cu}) \times (1\text{-PICT Cr}).$$

De gecombineerde PICT zou ook kunnen worden omschreven als de Lokaal Aangetaste Fractie (LAF). De combi-PICT moet niet gezien worden als een absoluut nauwkeurig getal maar slechts als indicatie voor de aanpassing van de microflora op de vervuilde locaties. De schattingen zijn vrij gevoelig voor de gemaakte aannamen en de keuze van een van de andere controlegronden leidt tot verschillen van maximaal 20%.

2.4 Berekening van het Locatiespecifieke Risico uit de TRIADE

De schatting van het risico in het TRIADE-onderdeel ecologie kwam tot stand door het geometrische gemiddelde te berekenen van de beschikbare effectmaten. Het aantal ecologische effectmaten verschilde per locatie, en daarmee dus de breedte van de basis waarop de beoordeling gebaseerd is. Er kan eventueel een vorm van weging worden ingebouwd door de manier waarop effecten worden gemiddeld. Wanneer bijvoorbeeld 1 toxicologische effectmaat wordt gemiddeld met 10 ecologische, dan is de bijdrage van het toxicologische deel klein. Dit kan terecht zijn omdat de hoeveelheid ecologische informatie veel groter is. Wanneer de ecologische effecten eerst tot 1 gemiddelde zijn omgerekend, dan wordt de bijdrage van de TRIADE-onderdelen gelijk. In dit rapport is voor de laatste methode gekozen omdat er vooralsnog geen reden is om een bepaald TRIADE-onderdeel zwaarder in de berekeningen mee te wegen.

Na alle voorgaande stappen is de berekening van het locatiespecifieke risico reeds grotendeels gebeurd. Voor de gehele TRIADE werd een overall-risico berekend door opnieuw een gemiddelde te nemen van het (gemiddeld) risico van de onderdelen chemie, toxicologie en ecologie. Bij de berekening van het gemiddelde werd eerst weer de $(1 - \text{effect})$ -waarde genomen, gevolgd door een logaritmische transformatie. Het gemiddelde van het ‘niet beïnvloede deel’ werd vervolgens terug-getransformeerd om een gemiddeld effect te krijgen. Zoals in voorgaande paragrafen werd toegelicht geeft deze rekenwijze meer gewicht aan grotere verstoringen.

De gebruikte deviatie is een arbitraire eenheid die de verschillen tussen de uitslagen van de TRIADE-onderdelen kwantificeert. De deviatie_(TRIADE) wordt berekend uit de standaarddeviatie $\times 1,73$. Hierdoor varieert de spreidingsmaat ook op een schaal van 0 tot 1.

In aansluiting op de gevolgde werkwijze in de eerste fase van de locatiestudies (Rutgers et al., 2001), werd eenzelfde klassenindeling gemaakt voor de verkregen risicogetallen per indicatorgroep of TRIADE-onderdeel. De drie klassen hebben een kleurenaanduiding gekregen, die bedoeld is om de resultaten snel overzichtelijk te maken. De indeling is als volgt: effecten van 0% tot 20% (0-0,2) zijn met een groene kleur aangegeven, effecten van 20% tot 50% (0,2-0,5) met geel en 50%-100% (0,5-1) rood. De indeling in drie groepen is tamelijk arbitrair en niet gemaakt om een waardeoordeel (normering) te geven. De toegekende kleuren leggen echter snel associatie naar ‘goed of slecht’. Dit is niet terecht omdat er voor de TRIADE-onderdelen toxiciteit en ecologie geen formele normen zijn.

De uitkomsten van de (berekende of gemeten) effectmaten heeft een verschillende achtergrond in de TRIADE-onderdelen, ze betekenen dus niet altijd hetzelfde. Enerzijds maakt dit de resultaten cryptisch, anderzijds is de TRIADE er juist op gericht om ongelijksoortige maten te combineren in één beoordelingsmethodiek. In het TRIADE-onderdeel chemie appelleert de 50% grens (en de kleur rood) aan de HC₅₀, die veelal

overeenkomt met de interventiewaarde en de kwalificatie ‘ernstig gevaar voor het ecosysteem’.

Resultaten van individuele bioassays en veldwaarnemingen hebben een andere betekenis, die nog niet aan een formeel normenstelsel gekoppeld is. Deze aspecten zijn in ontwikkeling en maken deel uit van het onderzoek. In de nabije toekomst kan dit leiden tot een andere vertaalslag tussen ecologische veldwaarnemingen en risicomaten. In het ideale geval zou een responscurve beschikbaar moeten zijn, die het verband beschrijft tussen het verloop van een ecologische parameter en de mate van effect die hier aan wordt toegekend (vergelijkbaar met een effectcurve voor de Species Sensitivity Distribution). Bij de uitwerking van de resultaten van deze drie locatiestudies zijn de toxicologische en ecologische waarnemingen uitgedrukt als % afwijking van de referentie (zie voorgaande paragrafen). Ze worden in principe op een lineaire schaal beschouwd. De toegepaste log-transformatie in het geometrisch gemiddelde geeft meer gewicht aan op grote effecten in het TRIADE-onderdeel toxicologie. Het gezamenlijke ecologische effect is berekend volgens de methode van de Bodemkwaliteitsindex. De rekenwijze heeft tot gevolg dat er een verschil is in de waardering van effecten, die hoger of lager zijn dan de waarde in de referentie. Bij kleinere waarden dan de referentie verloopt de schaal lineair, daarboven wordt het effect afgevlakt (Schouten et al., 2002).

3 Resultaten locatie-studies

3.1 Algemeen

Hieronder zijn de onderzoekresultaten van de locaties Tilburg vloeivelden, Laarder Wasmeer, en (voormalige) autosloperij Doetinchem nader uitgewerkt. Het onderzoek had tot doel de methodiek voor schatting van het locatiespecifieke ecologische risico in de praktijk uit te proberen en verder te ontwikkelen. Dit is gedaan op basis van ervaringen uit de eerste fase van het praktijkonderzoek (Rutgers et al., 2001). Het onderzoek is dus **niet** opgezet om een beoordeling van de betreffende locaties als zodanig uit te voeren. De monstername was hier bovendien niet op afgestemd. Op de gebruikte locaties is de aard en omvang van de verontreiniging reeds uitvoerig geïnventariseerd door milieuadviesbureau's. Meestal is er een saneringsplan klaar (of inmiddels uitgevoerd).

Het onderzoek op de drie locaties was gericht op het vergelijken van een beperkte aantal monsters, die hoofdzakelijk variëren in de mate van verontreiniging. Alleen op de locatie te Tilburg kon een duidelijke gradiënt worden onderzocht. Op de andere twee locaties werd zoveel mogelijk rekening gehouden met de vergelijkbaarheid van de grondmonsters en de plek die als referentie moest worden gekozen.

3.2 Locatie 1: Tilburg

3.2.1 Inleiding

De Tilburgse vloeivelden liggen ten noorden van de stad, in het gebied De Zandleij. Het vloeiveldencomplex heeft een oppervlak van circa 100 ha, en wordt opgedeeld door een stelsel van kanalen en betonnen goten (inlaat-kanalen en afvoer-sloten). Het terrein wordt ongeveer sinds 20 jaar niet meer als vloeiveld gebruikt. Een gedeelte van het terrein is rond die tijd reeds met bomen beplant. De grond van de vloeivelden is verontreinigd met arseen en zware metalen tot boven de interventiewaarde. In het verleden is het terrein niet gesaneerd vanwege de kosten die hiermee gemoeid zijn. De vernieuwing van het bodemsaneringsbeleid heeft er toe bijgedragen dat nu anders met de verontreiniging kan worden omgegaan. Er is een beheersconstructie ontwikkeld waarin de aanleg van een park-bos gecombineerd wordt met onderhoudsbekalking en monitoring van bodem en grondwater. Tevens wordt aanvullend onderzoek gedaan in een samenwerkings-verband van de gemeente, provincie, Alterra en Witteveen & Bos.

Voor dit onderzoek is gebruik gemaakt van een proefveld (no.1) uit het SKB-project Noorderbos Tilburg. Het is een proefveld dat als controle dient voor verschillende methoden om metalen te immobiliseren. Het terrein is onbekalkt gebleven en enkele maanden (februari/maart 2000) voor de monstername ingeplant met jonge eikenbomen van circa 1 meter hoog, in een raster van 2 x 2 meter.

3.2.2 Bemonstering en onderzoek

Het veldwerk werd uitgevoerd op 15 mei 2000. Het bemonsterde proefveld had een afmeting van circa 85 bij 25 meter. Het verbindt in de lengte richting een voormalige aanvoer- en afvoersloot (zie situatieschets in bijlage 1a). Uit vooronderzoek van Witteveen+Bos was bekend hoe de metaalgehalten in de bodem verdeeld zijn. Zoals te verwachten is in een stelsel van vloeivelden, is er een gradiënt ontstaan tussen het aanvoerpunt en de afvoersloot. Er werd gekozen voor een monstername in drie zones. In een smalle strook van 5 meter breed werden parallel aan de afvoersloot monsters gestoken uit het minst verontreinigde deel. Deze strook werd zone A genoemd en is de locale referentie. In het midden van het terrein werd een iets bredere baan (ca. 10m) genomen voor monsters uit een matig verontreinigde bodem (zone B). Een soortgelijke strook werd gekozen op het hoogste deel van het proefveld tegen het dijkje van het voormalige inlaatkanaal. Dit werd zone C, het meest vervuilde gedeelte. De bodem van het proefvak was droog en grof zandig met een vreemde licht-bruine kleur. Tijdens de bemonstering werd een beknopte inventarisatie gemaakt van de vegetatie.

De dag van monstername en de week daaraan vooraf waren uitgesproken zomers. Op 15 mei 2000 steeg de middagtemperatuur tot circa 30 °C. Het verzamelde materiaal werd zoveel mogelijk in de schaduw gehouden om snelle uitdroging te voorkomen. Al te grote temperatuurs-veranderingen werden tegengegaan door de monsters in koelboxen naar het laboratorium te brengen.

In de drie proefvakken (zones A, B, C) werden verschillende series bodemmonster gestoken:

- a) Met behulp van een z.g. graszodeboor (diam. 2,3 cm, 10 cm lang, met verzamelbeker) werd een groot mengmonster van ca. 10 kg gemaakt door 200 kernen te steken. Dit mengmonster werd gebruikt voor bodemchemisch onderzoek, poriewateranalyses, microbiologie (inclusief Biolog en PICT), en nematodenanalyses. Tevens werd dit materiaal gebruikt voor de bioassays (PAM, Microtox, sla-kientest).
- b) Bodemmonsters voor potwormen- en mijten-analyses werden genomen met een deelbare steekboor met een binnendiameter van 6 cm. Per proefvak werd voor beide groepen ieder 3 kernen gestoken.

Monsters voor bodemmijten bestonden uit kernen van 5 cm hoogte. Het materiaal werd in een plastic zakje naar het laboratorium vervoerd. Bij de potwormen-monsters werden eerst PVC-ringen in de boor geplaatst. Hiermee werden monsters van 15 cm hoog gestoken. De ringen houden de grond bijeen en beschermen tegen mechanische beschadiging van de dieren. De ringen met het monster worden in een afsluitbare plastic buitenkoker getransporteerd.

- c) Regenwormen werden verzameld door in elk proefvak 3 plaggen van 20x20x15 cm te steken. Deze werden meegenomen en in het laboratorium uitgedroogd.

Onderzoek:

Het merendeel van de biologische analyses zijn uitgevoerd bij Alterra (microbiologie, mijten) en het Bedrijfslaboratorium voor grond en gewasonderzoek (nematoden, potwormen, regenwormen). Chemische palingen werden op het RIVM (o.a. poriewater-analyses) en Alterra gedaan. Bioassays werden op het RIVM uitgevoerd. Voor deze laatste metingen werd de grond op het lab gezeefd (4 mm), gemengd en veldvochtig opgeslagen bij 4 °C. Vervolgens werd de ‘water holding capacity’ (WHC50), het lutum- en organisch stofgehalte en de pH-KCl bepaald. De bodemonsters werden tevens geanalyseerd op zware metalen.

3.2.3 Resultaten bodemkenmerken en chemie

In tabel 1 zijn de resultaten samengevat van enkele bodemkenmerken en chemische analyses. Naast de totaalgehalten zijn ook metingen gedaan aan concentraties van metalen in poriewater.

*Tabel 1: Bodemkenmerken en chemische analyse van bodemonsters uit de vloeivelden Tilburg (proefveld 1). Zone A is de locale referentie, zone C het meest verontreinigde deel. *= overschrijding interventiewaarde voor het betreffende monster.*

Locatie Tilburg vloeivelden	zone A	zone B	zone C	locale HC ₅₀ (zone A)
Bodemkenmerken:				
Zuurgraad (pH-KCl)	4,5	5	4,7	
Zuurgraad (pH-H ₂ O)	5,7	6,1	5,7	
Organische stof %	5,9	5,9	11,4	
Fosfor (PAL, mg P ₂ O ₅ /100g grond)	55	76	146	
Lutum (%)	3,0	2,0	3,0	
Vochtgehalte (veldmonsters)	8,0	7,6	19,4	
Chemie:				
<i>Totaal gehalten (mg/kg)</i>				
Cadmium	0,33	0,48	1,66	8
Chroom	187*	923*	1713*	129
Koper	10	18	60	107
Nikkel	5	21	51	78
Lood	27	44	132	340
Zink	46	88	257	349
Kwik	0,1	0,2	0,9	7
<i>Gehaltes in poriewater (µg/l)</i>				SRA (opp.water)
Arseen	40	167	384	
Cadmium	10	42	47	9,6
Chroom	216	585	971	220
Koper	179	404	1435	18
Nikkel	91	337	634	500
Lood	82	83		150
Zink	325	400	1355	89

In de drie bemonsterde zones vertonen de zuurgraad (pH) en het lutumgehalte van de bodem weinig verschillen. Dit geldt niet voor het organische stofgehalte. Deze is duidelijk hoger in zone C (inlaat van het vloeiveld), hetgeen ook terug te vinden is in het vochtgehalte van de bodemonsters. Er is geen gradiënt in het organisch stof van de bodem zichtbaar (tussen C en A). Waarschijnlijk zijn de organische delen destijds het eerst uit het effluent gesedimenteed, en was de afstand tussen de monsterpunten nu te groot om een gradiënt zichtbaar te maken. Het fosforgehalte van de bodem (PAL-getal) kan model staan voor de hoeveelheid voedingsstoffen. Deze is het hoogst in zone C. Mogelijk is er ook een relatie tussen fosfor en de hoeveelheid organische stof.

De totaalgehalten van alle gemeten metalen laten wel een duidelijke gradiënt zien. In zone C zijn de concentraties een factor 5 à 10 hoger dan aan het eind van het vloeiveld (zone A). In tabel 1 is ter vergelijking de HC₅₀ gegeven van de referentiegrond. Deze is gebaseerd op het % lutum en organische stof in de monsters uit de referentiezone. Voor de monsters uit zone B en C, met afwijkende bodemeigenschappen, gelden iets andere HC₅₀-waarden. Overschrijding hiervan is met een asterix aangegeven in de tabel. De totaalgehalten van chroom overschrijden de HC₅₀-waarde in zone B (7x) en C (13x) ruim.

Metaalconcentraties in het poriewater vertonen dezelfde trends als die in de bodem. Dit wijst er op dat organismen in de bodem daadwerkelijk blootgesteld zijn aan verhoogde gehalten. In vergelijking met de norm voor oppervlakte water, overschrijden chroom én koper de risicogrens.

3.2.4 Meetbare toxiciteit

De toxiciteit van de grondmonsters werd bepaald met behulp van drie bioassays. De Microtox-toets en de PAM-algentoets werden uitgevoerd met extracten van de grondmonsters. De wijze waarop deze extracten werden gemaakt is beschreven in bijlage 2.4.

Tabel 2 geeft de resultaten van de testen. Bij de Microtox-toets is het toxische effect (EC₅₀) aangegeven als percentage van de extractconcentrering; d.w.z. die verdunning of concentratie waarbij 50% reductie aan lichtopbrengst wordt gemeten in een suspensie met luminiserende bacteriën. De meting vindt plaats bij pH 7.

Tabel 2: Toxiciteit van bodemonsters uit de vloeivelden Tilburg (proefveld 1) in bioassays met standaard toetsorganismen. Zone A is de locale referentie, zone C het meest verontreinigde deel.

Locatie Tilburg vloeivelden	zone A	zone B	zone C
Toxicologie			
Microtox (EC ₅₀ in % concentrering) met 95% betr. interval	182 (11 – 2843)	106 (34 – 332)	76 (54 – 105)
PAM-algentest (% remming)	-4,6	-5,2	-0,6
Sla-kiemingstest (% na 3 dagen)	100	95	90

Het toxisch effect in de Microtox-toets was het kleinst bij zone A. Hier moet het monster 182% geconcentreerd worden om de EC₅₀ te bereiken. De monsters uit zone B en C moesten respectievelijk tot 106% en 76% van het oorspronkelijke volume worden geconcentreerd c.q. verdund. Het effect lijkt gerelateerd aan de oplopende van de metalen die aanwezig zijn op deze locatie. Het betrouwbaarheidsintervallen rond de EC₅₀-berekening zijn echter groot, en overlappen elkaar. De brede 95% betrouwbaarheidsintervallen ontstaan mede doordat de EC₅₀-waarde via extrapolatie geschat moest worden. In dit geval zou het beter zijn om een EC₂₀ te gebruiken. In tegenstelling tot de standaard uitvoering van de Microtox-test, zou het beter zijn een verdunningsreeks van 90, 45, 22,5 en 11,25% volume te testen. Hierdoor kunnen toxische effecten eerder worden aangetoond.

Bij de PAM-algentoets is het toxisch effect weergegeven als percentage remming van de fotosynthese in een onverdunde algensuspensie. Er is geen remming van de fotosynthese waargenomen bij de algen blootgesteld aan extracten van de grondmonsters uit zone A, B of C. De tabel laat negatieve waarden zien voor de remming. Strikt genomen is er dus sprake van een groei stimulering ten opzicht van de controle.

Meting van de metaalconcentraties in de extracten voor de PAM-test leert dat deze circa 4x zo hoog zijn in de zone C-monsters (zie bijlage 5.1). Mogelijk is de relatief hoge pH (8,5) waarbij de meting plaats vindt van belang. De metalen waren mogelijk verminderd beschikbaar in deze test.

Bioassays met sla (kieming) werden ingezet in de gezeefde, gemengde grondmonsters onder gecontroleerde condities. De kieming van het aantal slazaden bleek gerelateerd aan de oplopende van de metalen in de geteste bodemonsters. De pH van de bodemonsters lag tussen de 4,5 en 5,0. In deze pH-range is er geen effect op de kieming van slazaad te verwachten, maar wel op de verdere groei. Er is een klein verschil in de snelheid van kieming. Na drie dagen zijn alle zaden gekiemd in de locale controle, tegen 95% en 90% in de verontreinigde bodem.

3.2.5 Ecologische waarnemingen

In deze serie locatiestudies zijn een groot aantal (bodem)ecologische waarnemingen gedaan, om de optredende effecten in het veld zou goed mogelijk te schatten. Hieronder worden de resultaten van de verschillende metingen uitgebreid beschreven, om een beeld te geven van de parameters die in de bodemkwaliteitsbeoordeling zijn betrokken. In de uiteindelijke risicobeoordeling zijn deze gegevens per taxonomische groep gecomprimeerd tot een meer overzichtelijke lijst.

1) *De vegetatie* werd alleen globaal beschreven op het tijdstip van monsternamen. Grassen werden verzameld en voor determinatie meegenomen naar laboratorium. Er werden geen gedetailleerde inventarisaties gemaakt in de drie zones. Vegetatie-gegevens zijn dan ook niet gebruikt voor de ecologische beoordeling van deze locatie. De vegetatie werd (nog) gedomineerd door grassen. Door de bosaanplant zal de aard van de vegetatie snel veranderen.

De volgende planten werden gevonden: geknikte vossenstaart, echte witbol, zachte dravik, herderstasje, ereprijs en boterbloem. Uit de globale observaties lijkt naar voren te komen dat de vegetatie tamelijk eenzijdig is en arm van samenstelling. Opvallend was dat er alleen langs de aanvoersloten brandnetels groeide. Dit sluit aan bij de grotere voedselrijkdom (organische stof en stikstof) in die zone.

2) *Microbiële eigenschappen* worden gemeten aan de totale in situ aanwezige microflora. Naast de aantallen en biomassa zijn activiteitsmaten gemeten. Gezamenlijk geven een zo volledig mogelijk beeld van de microbiologische toestand.

De meeste microbiologische kengetallen blijken hetzelfde patroon te volgen. Ze zijn het laagst in de lokale referentie (zone A) en nemen toe naar de inlaatzone van het vloeiveld. De potentiële koolstof-mineralisatie vormt de enige uitzondering (tabel 3).

In het kader van het SKB-project Noorderbos Tilburg is door Alterra soortgelijk onderzoek uitgevoerd op de vloeivelden (Muijs et al., in druk). Hierbij zijn vergelijkbare resultaten gevonden. Waarschijnlijk hangt de reactie van de microflora sterk samen met het gehalte aan organische stof in de bodem. Uit ander onderzoek is gebleken dat bij ernstig verontreiniging met nikkel, chroom en zink grote reducties van de bacteriële biomassa zijn waar te nemen (Bloem et al., 2000). Ondanks het hoge gehalte aan chroom (1713 mg/kg) in zone C en verhoogde concentraties in het poriewater zijn de metalen in deze omstandigheden blijkbaar niet schadelijk of beschikbaar voor de bodembacteriën.

Het fysiologisch profiel van de microbiële bodemfauna werd met behulp van Biolog-metingen bepaald. Ook bij deze metingen bleek dat het aantal kweekbare kolonies in zone C bijna twee keer zo hoog was als in de andere twee proefvlakken. De hoeveelheid bacteriën die nodig is om 50% van de substraten af te breken is het kleinst in zone C. Dit wijst op een grotere diversiteit in 'soorten' of afbraakroutes binnen de bacteriepopulaties ter plekke. De indicator 'helling' is een andere maat voor de diversiteit van fysiologische processen; deze toont echter geen duidelijke verschillen.

De meting van Pollution Induced Community Tolerance volgens de Biolog methode is een heel nieuwe mogelijkheid om effecten, in de vorm van genetische aanpassingen van bodembacteriën, zichtbaar te maken. In dit onderzoek werd de techniek voor het eerst op grotere schaal voor veldonderzoek ingezet. In tabel 3 zijn de resultaten van de PICT-meting uitgedrukt als EC_{50} van de microbiële gemeenschap voor 4 geteste metalen. De EC_{50} is berekend als gemiddelde van veranderingen in de afbraaksnelheid van 31 substraten (in een Biolog-plaat). De berekeningen laten zien dat er tolerantie ontwikkeld is voor de metalen zink en nikkel. Ook uit deze metingen blijkt dat de verhoogde chroom-concentratie geen effecten veroorzaakt in de gebruikte grondmonsters.

3) *De nematodenfauna*: in de bodemmonsters werd het aantal nematoden geteld en de samenstelling bepaald door determinatie van de soorten. De nematoden werden zowel naar voedselgroepen ingedeeld als naar 'coloniser-persister groepen'. De laatste is een ecologische indeling op basis van levensstrategie (r-K strategie). De cp-indeling van nematoden ligt ten grondslag aan de Maturity Index (Bongers, 1990).

De nematodendichtheid lijkt toe te nemen van zone A naar C (tabel 3), ondanks de toenemende van metalen in de grond. Waarschijnlijk heeft dit wederom te maken met de hoeveelheid organische stof en voedseldichtheid. Bacteriën zijn een belangrijke voedselbron voor nematoden. De bacteriebiomassa is in zone C bijna twee maal zo hoog als in zone A (tabel 3). De soortenrijkdom vertoont wel een afname met de verontreiniging van 27 naar 20 taxa. Mogelijk zijn hier de gevolgen van een selectieproces (nog) zichtbaar.

Tabel 3: Ecologische kenmerken van bodemmonsters uit de vloeivelden Tilburg (proefveld 1). Zone A is de locale referentie, zone C het meest verontreinigde deel.

Locatie Tilburg vloeivelden	zone A	zone B	zone C
Microbiologie:			
Bacteriële biomassa (µg C/g grond)	50	65,4	91,1
Thymidine inbouw (pmol/g/h)	39,3	61,4	99,1
Leucine inbouw (pmol/g/h)	332,5	436,4	734,1
Pot. C mineralisatie (mg C/kg/wk)	79,9	56,5	67,9
Pot. N mineralisatie (mg N/kg/wk)	7,5	8,2	9,7
Biolog:			
Aantal kweekbare cellen /g	$7,94 \times 10^7$	$7,08 \times 10^7$	$1,66 \times 10^8$
Aantal bij 50% substraatomettingen	$2,14 \times 10^5$	$6,76 \times 10^4$	$8,22 \times 10^4$
Helling curve substraatomettingen	0,52	0,54	0,54
PICT (microörganismen):			
EC ₅₀ zink (mg/l)	81	137	155
EC ₅₀ nikkel (mg/l)	15	15	46
EC ₅₀ koper (mg/l)	3	5	6
EC ₅₀ chroom (mg/l)	5	8	7
Nematoden:			
Totaal aantal per 100g	3927	6563	7300
Aantal taxa (geslachten)	27	24	20
% bacterie-eters	64	69	67
% schimmel-eters	2,5	1,9	2,5
% planten-eters	25	20	23
% cp1	9	10	11
% cp2	49	50	79
% cp3+4+5	42	40	11
Maturity Index	2,5	2,5	2,2
Potwormen:			
Aantal per m ²	1177	1177	235
Aantal genera	2	2	1
Regenwormen:			
Aantal per m ²	105	97	145
Aantal soorten	1	1	1
Versgewicht (g/m ²)	18,3	27,5	29,7

De verdeling van soorten over de drie grootste voedselgroepen blijft in de bemonsterde zones tamelijk constant. Er is vooral een opvallende verschuiving in de cp-groepenverdeling. De cp1 groep is kenmerkend voor (plotselinge) voedselrijkdom. Hier is slechts een lichte trend in

te zien met de verdeling van organische stof en nutriënten in de bodem. Opvallender zijn de effecten op de cp2 en cp3-5 groepen. De cp2-groep omvat veel soorten die zich hebben aangepast aan het overleven in moeilijke omstandigheden (droogte, voedselschaarste, zure grond,). Het aandeel van cp2 is het hoogst in zone C. De cp3-5 groep bevat de grotere, meer gespecialiseerde en gevoelige soorten. Deze vertonen een duidelijke procentuele afname in zone C. De Maturity Index geeft de gezamenlijke trend van de cp-groepen weer, en heeft een lagere waarde in het verontreinigde deel.

4) *Potwormen* zijn geanalyseerd op dichtheid en soortensamenstelling. Beide waren zeer laag. Dit kan te maken hebben met de grondsoort en de droogte te tijde van de monsternamen. Desondanks zijn er gemiddeld minder potwormen aangetroffen in de verontreinigde zone. Er waren drie steekboormonsters uit elke zone, zodat de onderlinge verschillen statistisch konden worden getoetst. Deze bleken niet significant door de spreiding in de afzonderlijke waarnemingen. In de monsters zijn maar 2 genera aangetroffen, *Cognettia* en *Fridericia*. Daarnaast konden enkele dieren worden toegedeeld aan de familie *Enchytraeidae*. De laatste groep was de enige in zone C.

5) Ook *regenwormen* bleken op de vloeivelden schaars aanwezig op het moment van monsternamen. Er werden alleen exemplaren gevonden uit het genus *Lumbricus*. De aantallen per vierkante meter zijn tot stand gekomen door vermenigvuldiging van relatief kleine dichtheden in de plaggen, en zijn daardoor variabel en onzeker. Per zone zijn 3 plaggen verzameld, met de replica's zijn de onderlinge verschillen statistisch te toetsen. Het totaal aantal gevonden wormen was in zone C gemiddeld wat hoger, evenals het versgewicht. Deze verschillen zijn echter niet significant.

3.2.6 TRIADE-beoordeling

De hierboven besproken TRIADE-onderdelen zijn elk afzonderlijk omgerekend tot een risicogetal op een schaal van 0 tot 1 (of 0 – 100%). Ze zijn vervolgens verwerkt tot een eindoordeel per monster. De resultaten staan vermeld in tabel 4. De grondmonsters zijn gesorteerd van minst vervuild naar meest vervuild (regel 'Som TD metalen'). Ter vergelijking is ook de HC₅₀-overschrijding van chroom (als belangrijkste verontreiniging) aangegeven. De TRIADE-elementen werden geïntegreerd tot één eindoordeel door het geometrisch gemiddelde te berekenen van de 3 risicogetallen voor chemie, toxicologie en ecologie. Wanneer de uitslagen van de TRIADE-onderdelen sterk verschillen, dan komt dit ook tot uiting in de deviatie. Deze geeft in feite de onzekerheid in de eindbeoordeling. Wijzen de TRIADE-onderdelen in dezelfde richting, met gelijke effecten, dan zal de deviatie klein zijn. Een grote deviatie maakt het eindoordeel onzeker door uitbreiding van het onderzoek kan hier verbetering in worden gebracht.

In de TRIADE-tabel zijn de kengetallen van de locale referentie in principe op nul gesteld. De effecten op andere monsterplekken zijn ten opzichte van deze referentie berekend. Bij het

onderdeel toxicologie heeft de Microtox-toets een eigen standaard blanco. Er is voor gekozen om de Microtox-resultaten weer te geven ten opzichte van deze referentiewaarde. Ecologische indicatoren kunnen zowel een hogere als lagere waarden hebben dan de lokale referentie. Beide typen responsies worden als afwijking beschouwd en als ‘absoluut effect’ meegewogen. De berekende toxische dosis (TD) op basis van chemische samenstelling van de monsters is hoog in zone B en C. De gezamenlijke totaalgehalten aan metalen in zone B geven al haast een maximaal potentieel effect van 83%. De berekening van de TD in poriewater, met behulp van de SRA voor oppervlakte water, levert een lagere schatting van het effect. Aangezien veel organismen via het poriewater worden blootgesteld, zou deze benadering een betere schatting van het ecologische effect moeten opleveren.

Tabel 4: Overzichtstabel met gekwantificeerde effectparameters in 3 monstervakken op de locatie vloeivelden Tilburg, gerangschikt in de drie TRIADE-onderdelen en geschaald naar een risico van 0 tot 1. De deviatie kwantificeert verschillen tussen uitslagen van de TRIADE-onderdelen, op een schaal van 0 tot 1. Effecten zijn ingedeeld in drie klassen.

Triade Aspect	Parameter	zone A	zone B	zone C
	Aantal maal overschrijding HC ₅₀ (Cr)	0	7	13
Chemie	Som TD metalen antropogeen	0,00	0,83	0,97
	Som TD poriewater	0,00	0,62	0,89
	Risico	0,00	0,75	0,94
Toxicologie	Microtoxtoets	0,36	0,48	0,62
	PAM-algentoets	0,00	0,00	0,00
	Sla-kieming	0,00	0,05	0,10
	Risico	0,14	0,21	0,30
Ecologie	Biolog	0,00	0,35	0,44
	PICT	0,00	0,47	0,71
	Microbiologie	0,00	0,25	0,42
	Nematoden	0,00	0,15	0,32
	Potwormen	0,00	0,00	0,68
	Wormen	0,00	0,15	0,24
	Risico	0,00	0,24	0,50
Oordeel chemie:		0,00	0,75	0,94
Oordeel toxicologie:		0,14	0,21	0,30
Oordeel ecologie:		0,00	0,24	0,50
Eindoordeel:		0,05	0,47	0,73
deviatie		0,14	0,52	0,57

Bij de bioassays (TRIADE-toxicologie) werd niet in alle gevallen een resultaat gemeten dat aan de hand van de zou worden verwacht. Bovendien is het aantal uitgevoerde toetsen klein. Het gezamenlijke toxicologische risico laat een toename zien met de verontreiniging. De uitkomst wordt echter duidelijk gestuurd door de Microtox-toets.

De ecologische aspecten vertonen ook effecten die parallel lopen aan de verontreiniging. De effectschattingen op potwormen en regenwormen worden beïnvloed door het geringe aantal dieren en soorten dat in de monsters werd aangetroffen. In de vorige paragraaf werd er reeds op gewezen dat er tevens correlaties zijn met andere bodemeigenschappen als organische stofgehalte en voedselrijkdom. Deze factoren zijn helaas verstrengeld waardoor het effect niet zondermeer aan de verontreiniging alleen is toe te schrijven. Zowel positieve als negatieve afwijkingen van de referentie worden in de rekenmethode gezien als een effect.

3.3 Locatie 2: Laarder Wasmeren

3.3.1 Inleiding

De Laarder Wasmeren zijn een groep ondiepe meren (vennen) aan de oostkant van Hilversum. Samen met de omringende stuifzanden, heidevelden, graslanden en bos vormen ze het natuurreservaat de Laarder Wasmeren en zijn aangewezen als beschermd natuurmonument (Provinciaal beleid). Ook vallen ze binnen toekomstig bodembeschermingsgebied en grondwaterbeschermingsgebied II voor drinkwaterproductie (Provinciaal Milieubeleidsplan). Dit natuurgebied is circa 84 ha groot en maakt onderdeel uit van de ecologische verbindingszone tussen het Gooi en de Utrechtse Heuvelrug en de nationale en provinciale ecologische hoofdstructuur (EHS).

Het oppervlaktewater en de waterbodems zijn ernstig verontreinigd door langdurige lozing van ongezuiverd afvalwater op de meren. Het bezonken slib is in kleine depots op de kant gezet en bevat ernstig verontreinigd materiaal. Een deel van het terrein is ook bevoeid met vervuild meerwater zodat de landbodem ook verontreinigd is.

De bestemming van de locatie is 'natuur' (uitgangspunt wet bodembescherming). De plannen zijn om de bagger en grond te verwijderen (sanering) zodat de hierboven genoemde risico's verdwijnen en het ecosysteem zich weer vanuit een schone situatie kan herstellen (IWACO, 1998). De terreineigenaar (Gooisch Natuurreservaat) wil het gebied tot voedselarme venen en natte heide ontwikkelen.

3.3.2 Bemonstering en onderzoek

Op 22 juni 2000 werd een bezoek gebracht aan de Laarder Wasmeren. Het gebied is niet vrij te betreden. Toegang werd verkregen door medewerking van de terreinbeheerder. Naar aanleiding van de ervaringen uit de eerste fase van de locatie-studies (Rutgers et al., 2001) werden nu drie slibdepots uitgekozen met een verschillende mate van verontreiniging. De selectie werd gemaakt op basis van de analyses (metalen en organische stof) en beschrijvingen van het IWACO-onderzoek uit 1994 en 1995. De plekken werden vooraf (op papier) zo uitgekozen dat er een vervuilingsgradiënt bemonsterd zou kunnen worden, bij overeenkomstige bodemeigenschappen. Hieronder volgt een nadere omschrijving van de monsterpunten, een kaartje en uitgebreide vegetatiebeschrijving zijn opgenomen in de bijlagen 1b en 4.6.

WM224: Dit perceel is een slibdepot maar met relatief lage concentraties aan metalen, volgens het IWACO-rapport uit 1993. Algemene indruk: een groot slibdepot tussen hoge wallen gelegen, met een gevarieerde vegetatie en alleen op en langs de wallen struiken en bomen. Op het terrein grazen regelmatig koeien. Deze plek diende in dit onderzoek als lokale referentie voor de andere twee percelen.

WM222: Dit is een langgerekt slibdepot van 1977 met zandwalletjes omgeven. Het is een open terrein, met een dichte graszode en hier en daar een enkele boompje. De bodem bestaat uit een dichte laag van onverteerd organisch materiaal (20-30 cm). Hierin zijn nog rietstengels te herkennen. Daarop bevindt zich een dikke laag doorwortelde graszode, met daaronder een

zandlaag. Algemene indruk: Fris groen, weinig dood hout. Veel kleine kikkers aanwezig op het land en uitwerpselen van vossen. Volgens de beschikbare informatie is dit terrein matig verontreinigd.

WM232: Dit is een perceel dat in 1977 als slibdepot is gebruikt. Volgens het IWACO onderzoek uit 1993 bevinden zich hier hoge concentraties metalen. Algemene indruk: open grazige vlakte met hier en daar een kale plek met geel, roodbruin verkleurd gras en gelig verkleurde pitrus, veel dood hout. Een aantal verschillende boom soorten en een enkele verloren kruidachtige plant.

Op de drie percelen zijn monsters genomen volgens de methode van de Bodembologische indicator (zie hfdst. 2), bestaande uit: een mengmonster van 200 kerntjes (diam. 2,3 cm) uit de bovenste 10 cm de bodem; 3 plaggen (20x20x15 cm) om wormen te verzamelen; drie kernen (diam. 6 cm) voor potwormen, en drie voor mijten met dezelfde boor. De monsters zijn bij 4 °C bewaard tot aan de verwerking. De grond uit het mengmonster is ook gebruikt voor chemische analyses en bioassays. Het materiaal is gezeefd om de grove delen zoals takken en stenen te verwijderen.

Op de locatie zijn Bait-lamina strips geplaatst om een activiteitsmeting van bodemfauna uit te proberen. Op ieder monsterpunt werden 3 x 3 strips geplaatst. Deze zijn 3 weken later opgehaald en bekeken in het laboratorium, om het aantal aangevreten voedselpellets te tellen.

3.3.3 Resultaten bodemkenmerken en chemie

De metingen aan bodemkenmerken van de monsters laten een aantal opmerkelijke resultaten zien (tabel 5). In de eerste plaats blijkt er een verschil van ongeveer anderhalve pH-eenheid te zijn tussen de 3 monsterpunten, ondanks de globale screening die in het veld was uitgevoerd. De hoogst gemeten waarde was pH 5,6 en de laagste waarde pH 3,7. Het gemeten gehalte van organische stof lag tussen de 21% en 46% op de slibdepots en was lager dan verwacht op basis van het uiterlijk van de monsters. Mogelijk komt dat door het zeven van het monster over een 4 mm zeef. Een deel van de grove plantenresten (o.a. rietstengels) worden hierdoor uit het te analyseren monster gehaald. De monsterpunt WM224 heeft een aanzienlijk lager organische stof en lutum gehalte. Dit komt mogelijk doordat dit monsterpunt geen slibdepot was zoals aangegeven in het kaart-materiaal, maar een vloeiveld. Op deze aspecten wijkt de locale referentie dus af van de andere percelen. Monster WM232 heeft een behoorlijk hoog fosforgehalte, wat op een sterk geëutrofiëerde voormalige waterbodem wijst. Helaas ontbreekt deze meting voor het monsterpunt WM222.

De monsters WM222 en WM232 bevatten sterk verhoogde gehalten aan zware metalen, ze zijn haast niet meer te rangschikken op volgorde van verontreiniging. De totaalgehalten in WM222 zijn meestal hoger dan in WM232. De onderzoeksopzet met een gradiënt van verontreinigingen (WM232 > WM222 > WM224) komt hiermee niet tot uiting. De poriewater-concentraties in WM232 maken dat deze locatie uiteindelijk als meest vervuild wordt beoordeeld.

*Tabel 5: Bodemkenmerken en chemische analyse van drie percelen uit de Laarder Wasmeren. Perceel WM224 is de lokale referentie. De locale HC₅₀ is gebaseerd op de bodemkenmerken in WM224. *= overschrijding interventiewaarde voor het betreffende monster.*

Locatie Laarder Wasmeren	WM224	WM222	WM232	locale HC ₅₀ (WM224)
Bodemkenmerken:				
Zuurgraad (pH-KCl)	5,57	4,02	3,7	
Zuurgraad (pH-H ₂ O)	?	?	?	
Organische stof %	20,74	44,1	46,2	
Fosfor (PAL, mg P ₂ O ₅ /100g grond)	46	---	209	
Lutum (%)	1	4	4	
Vochtgehalte (veldmonsters)				
Chemie:				
<i>Totaal gehaltes (mg/kg)</i>				
Arseen	4,3	36	33	33
Cadmium	27*	289*	155*	13
Chroom	1503*	10206*	6341*	120
Koper	204*	2052*	1599*	148
Nikkel	144*	303*	365*	66
Lood	442*	2461*	1709*	414
Zink	281	1943*	891*	433
Kwik	4,4	9,3	23,5*	10
				SRA
<i>Gehaltes in poriewater (µg/l)</i>				(opp.water)
Arseen	4,3	9,9	12	
Cadmium	35	808	2457	9,6
Chroom	59	53	110	220
Koper	64	283	1651	18
Nikkel	223	1596	11849	500
Lood	1,9	4,4	45	150
Zink	440	8280	27300	89

Alle gemeten metalen (cadmium, chroom, koper, nikkel, lood en zink) springen er uit als stoffen waarvoor problemen verwacht kunnen worden. De HC₅₀-waarde voor deze stoffen in een standaard bodem (10% O.S., 25% lutum) ligt respectievelijk bij 12, 230, 190, 210, 490 en 720 mg/kg (Swartjes, 1999; Lijzen et al., 1999). Concentraties minerale olie en PAK(tot) zijn niet gemeten in deze bodemmonsters. De gehaltes van de metalen cadmium, koper en zink in het poriewater overschrijden de Serious Risk Addition (SRA) voor oppervlaktewater (Verbruggen et al., 2001). Die van nikkel wordt alleen in de monsters WM222 en WM232 overschreden. Het is opvallend dat de concentraties van chroom en lood in de bodem hoog zijn ten opzichte van de concentraties van deze metalen in het poriewater. De concentraties van cadmium, nikkel en zink in de bodem zijn juist relatief laag t.o.v. die gevonden in het poriewater. Dit geldt vooral voor het cadmium- en nikkelgehalte in het poriewater van WM232 deze zijn 2457 en 11849 µg/l. De pH in dit perceel is met een waarde van 3,7 de

laagste van de drie monsters, en zorgt waarschijnlijk voor een hoge oplosbaarheid. Op basis van de totaalgehalten zou monster WM222 als meest verontreinigd aangemerkt worden, de poriewaterconcentraties wijzen WM232 aan als sterkst vervuild.

Monster WM224 was als lokale referentie gekozen, doch overschrijdt voor de metalen cadmium, chroom, nikkel koper en lood de lokale HC₅₀. Effecten van deze metalen zijn dan ook niet uit te sluiten. Desondanks zijn de concentraties van de gemeten metalen in WM224 vele malen lager dan die in de monsters WM222 en WM232. In deze laatste monsters overschrijdt chroom respectievelijk 77x en 48x de HC₅₀.

3.3.4 Meetbare toxiciteit

De resultaten van het toxicologisch onderzoek zijn samengevat in de hieronder staande tabel 6.

Tabel 6: Toxiciteit van bodemonsters uit de Laarder Wasmeren in bioassays met standaard toetsorganismen. Perceel WM224 is de lokale referentie.

Locatie Laarder Wasmeren	WM224	WM222	WM232
Toxicologie			
Microtox (EC ₅₀ in % concentrering.) met 95% betr. interval	232 (130- 416)	54 (44 - 66)	4 (1.5 - 9)
PAM-algentest (% remming)	-0,3	38,4	78,6
Sla-kiemingstest (% na 3 dagen)	100	85	81

De resultaten van de bacteriële Microtox-test en de PAM-algentest laten een duidelijk effect zien in monster WM222 en WM232. In de Microtox-test had het pure extract van WM232 al bijna een toxiciteit op EC₅₀ –niveau. Voor de andere monsters was daar respectievelijk een concentrering van 54% en 232% voor nodig. De PAM-algentest gaf een iets lager toxicologisch effect in vergelijking met de Microtox-test. Maar het effect in het monster WM232 was altijd groter dan dat in monster WM222. Concentraties van metalen in schudextracten van de bodemonsters (voor Microtox en PAM) laten zien dat de bloedstelling in WM232-extracten twee keer zo hoog was als in WM222.

De overige testen werden rechtstreeks uitgevoerd met grondmonsters zelf. De slakiemingstest gaf bruikbare resultaten. Op dag 9 werd in grond van WM224 100 % kieming van slazaad waargenomen. Op dit zelfde tijdstip was in monster WM222 en monster WM232 85% en 81% gekiemd. Het verloop van de kieming in de tijd gaf ook informatie over de mate van remming. Na 11 dagen was ook al het zaad in monster WM232 voor 100% gekiemd. Bij de monsters WM222 en WM232 zou de lagere pH een rol kunnen hebben spelen. Bij een pH tussen 5 en 7 wordt een optimaal groei-resultaat verkregen.

3.3.5 Ecologische waarnemingen

Een deel van de ecologische waarnemingen was te uitgebreid om in deze paragraaf in detail weer te geven. Het betreft vooral soortenlijsten van planten en bodemorganismen, deze gegevens zijn in bijlage 4 opgenomen. De resultaten van het onderzoek aan veldmonsters zijn samengevat in tabel 7

Tabel 7: Ecologische kenmerken van bodemmonsters uit Laarder Wasmeren. WM224 is de locale referentie.

Locatie Laarder Wasmeren	WM224	WM222	WM232
Vegetatie (aantal soorten)	26	17	8
Microbiologie:			
Bacteriële biomassa (µg C/g grond)	80,3	116,9	197,7
Thymidine inbouw (pmol/g/h)	26,7	10,6	2,1
Leucine inbouw (pmol/g/h)	355,8	226,4	114,3
Pot. C mineralisatie (mg C/kg/wk)	86,9	266,4	191,8
Pot. N mineralisatie (mg N/kg/wk)	12,5	21,6	17,2
Biolog:			
Aantal kweekbare cellen /g	1,15 x 10 ⁸	1,70 x 10 ⁸	1,78 x 10 ⁸
Aantal bij 50% substraatomzettingen	5,18 x 10 ⁴	6,22 x 10 ⁴	3,61 x 10 ⁵
Helling curve substraatomzettingen	0,48	0,28	0,22
PICT (microörganismen):			
EC ₅₀ zink (mg/l)	454	321	447
EC ₅₀ nikkel (mg/l)	18	25	42
EC ₅₀ koper (mg/l)	5	7	7
EC ₅₀ chroom (mg/l)	5	7	7
Nematoden:			
Totaal aantal per 100g	4953	1000	457
Aantal taxa (geslachten)	24	24	20
% bacterie-eters	55	64	46
% schimmel-eters	1	14	40
% planten-eters	37	19	12
% cp1	9,0	19,2	7,0
% cp2	70,0	65,6	88,7
% cp3+4+5	21,0	15,2	4,2
Maturity Index	2,3	2	2
Potwormen:			
Aantal per m ²	2236	471	6119
Aantal genera	3	2	2
Regenwormen:			
Aantal per m ²	17	0	0
Aantal soorten	1	0	0
Versgewicht (g/m ²)			
Activiteit bodemdieren (Bait-lamina, in gem. aantal lege voedselpellets)	5,1	0,2	0,33

1) **Vegetatie:** de soortensamenstelling op de monsterpaats geeft een indruk van de bodemgesteldheid. Dit omdat planten het best gedijen op plaatsen die met hun ecologische eisen overeenkomen. Een voorbeeld van een floristische terreinkarakterisering kan gegeven worden aan de hand van monster WM224. Aan de samenstelling van de vegetatie is te zien dat het gaat om: ***een aan zoet watermoeras op vochtige venige grond*** (Wolfspoot, Pitrus, Wilg, Barbarakruid, Duizendknoop, Moeraswalstro, Moeraswilgeroosje) ***met toch wel wat droge open*** (Schapenzuring, Kruiskruid) ***grazig*** (Kruipende boterbloem) ***braak liggende plekken met akker onkruiden*** (Akkerdistel, Gewone hennepnetel, Dovenetel), ***waar sterke betreding en verstoring van de bodem*** (Grote weegbree, Ridderzuring, Brandnetel en Braam) ***spelen, aan de rand van een houtwal*** (Hondsdrif, Berk).

Het aantal gevonden plantensoorten nam sterk af van de locale referentie (27 op WM224) naar het meest verontreinigde perceel (8 op WM232). Deze getallen gelden voor het moment dat de inventarisaties gemaakt werden. Maar in vergelijkende zin geven ze een goed beeld van de floristische situatie.

2) **Microbiële eigenschappen:** In het meest verontreinigde monster (WM232) werd de hoogste microbiële biomassa gevonden. Dit is in eerste instantie verrassend. De (potentiële) koolstof- en stikstofmineralisatie metingen hadden ook hogere waarden in de sterkst vervuilde monsters. Tegelijkertijd waren de activiteitsmaten als de snelheid van DNA- en eiwitsynthese in WM222 en WM232 aanzienlijk lager dan in de locale referentie.

De microbiële kengetallen laten in eerste instantie dus tegenstrijdige effecten zien. Een goede verklaring is lastig te geven mede doordat verschillen niet statistisch te toetsen zijn. Hoogst waarschijnlijk spelen hier meerdere effecten, van gehalte aan organische stof, pH, en metalen door elkaar. In principe zijn aantallen en activiteit van bodembacteriën gecorreleerd aan de hoeveelheid afbreekbaar organisch materiaal in de bodem. In de zin zou er een groot verschil moeten bestaan tussen WM224 en de andere twee monsters. De hogere microbiële biomassa in WM232 kan tevens ontstaan zijn doordat predatoren (bacterie-eters) uit andere groepen ontbreken, of doordat inactieve bacteriën worden meegeteld in de gebruikte methoden. De potentiële koolstof- en stikstofmineralisatie worden als relatief ongevoelige processen beschouwd. Deze zijn in eerste instantie gerelateerd aan de hoeveelheid (actieve) biomassa, maar worden waarschijnlijk ook weer negatief beïnvloed door pH en zware metalen in de bodem. De thymidine- (DNA) en leucine- (eiwit) synthese zijn heel basale en de meest gevoelige fysiologische processen in de bacteriecel. Waarschijnlijk geven deze hier het best de effecten van metalen weer.

De diversiteit en activiteit in microbiologische afbraakroutes werd gemeten met Biolog. Het aantal kweekbare kolonies laat eenzelfde trend zien (laag in de referentie) als de directe tellingen van bacteriën in de bodem. In WM232 zijn er echter bijna 10x zoveel bacteriën nodig om 50% van de substraten af te kunnen breken.

Ook in monsters van de Laarder Wasmeren werd de Pollution Induced Community Tolerance gemeten. Genetische aanpassing van de microflora lijkt in eerste instantie vooral uit de testen met nikkel naar voren te komen. In vergelijking met een schone controle grond of de locale referentie van de monsters uit Tilburg blijken alle Wasmeer monsters en enorme tolerantie te

hebben ontwikkeld voor zink en nikkel. Deze is al aanwezig in het relatief schone monster WM224 en het grootst in WM232.

3) **De nematodenfauna** vertoonde ook een afname met de vervuilingsgradiënt, van 5000 naar 450 individuen per 100g grond. De pH speelt hier mogelijk een rol bij. In het algemeen worden de meeste nematodensoorten gevonden in licht-zure gronden. De bodem-pH in WM232 is echter nog geen beperkende factor voor het merendeel van de nematodensoorten, maar kan wel invloed hebben op de dichtheid. Het aantal gevonden genera (geslachten) is laag in alle drie de monsters, en geeft in eerste instantie niet zoveel onderscheid. Anderzijds kan het ook verwonderlijk genoemd worden dat er bij dergelijke metaalconcentraties nog steeds een redelijk scala aan nematodentaxa te vinden is. De optelsom van het gevonden aantal soorten geeft in dit geval meer duidelijkheid, ondanks de toename in onzekerheid die inherent is aan dit determinatie-niveau. Het getelde aantal soorten is op de drie monsterpunten is als volgt: WM224: 36, WM222: 32, WM232: 26.

Ingedeeld naar voedselgroepen zijn er een aantal opmerkelijke effecten te zien. Vooral het aandeel (%) van de planteneters neemt sterk af ten gunste van het percentage schimmeleeters bij toegenomen verontreiniging. Dit wordt voornamelijk veroorzaakt door dieren van het geslacht *Aphelenchoides*, die als ‘taai en tolerant’ te boek staan. In de monsters WM222 en WM232 nemen ze niet alleen in relatieve zin (%), maar ook absoluut in aantal toe ondanks de sterke afname van de totale nematodendichtheid.

De indeling volgens ‘life history tactics’ in colonizer-persister groepen geeft een overtuigend beeld in de afname van de verstoringsgevoelige groep cp3+4+5. De hierboven genoemde *Aphelenchoides* behoort tot de cp2 groep. Het effect is vooral in WM232 te zien. De Maturity Index maakt geen onderscheid meer tussen de twee meest verontreinigde monsters. Dit kan mede veroorzaakt worden door het feit dat in WM222 relatief veel ‘cp1- dieren’ zijn aangetroffen. De cp1 groep neemt sterk toe bij (organische) voedselverrijking, bijvoorbeeld door koeienmest (Ettema en Bongers, 1993). Het is waarschijnlijk dat de reactie van de cp1-nematoden samenhangt met de graasactiviteiten van de koeien die in het terrein aanwezig zijn. Tijdens de monsternamen verbleef een deel van de kudde overigens op perceel 224.

De $MI_{(2-5)}$ is een variant op de Maturity Index die speciaal wordt gebruikt om effecten van verontreinigingen anders dan voedselrijkdom duidelijker in beeld te brengen. Voor de Wasmeer-monsters is de $MI_{(2-5)}$ als volgt: WM224: 2,42; WM222: 2,29; WM232: 2,09. Via deze benadering is er dus nog onderscheid te maken tussen de twee meest verontreinigde percelen. In WM232 worden de grootste effecten gevonden.

4) Het voorkomen van **potwormen** werd onderzocht aan drie bodemkernen per perceel. De dichtheid was laag. Ter vergelijking: in graslanden op zandgrond van het Landelijk Meetnet Bodemkwaliteit (LMB) worden gemiddeld 20000 potwormen per m² aangetroffen. In het LMB worden gemiddeld 5 soorten per locatie gevonden, uit een totaal van 18.

De verschillen tussen de individuele bodemmonsters waren groot. Op WM232 werd in één kern een relatief groot aantal potwormen gevonden, waardoor de schatting van het aantal

per m² op dit perceel het hoogst is. Toetsing van de gegevens (aantal/m²) leverde echter geen significante verschillen ($p=0,42$) op tussen de drie percelen.

5) Ook **regenwormen** werden nauwelijks aangetroffen in de monsters van de Laarder Wasmeren. Slechts in één plag uit perceel WM224 werden twee wormen aangetroffen van de soort *Lumbricus rubellus*. Voor zover op basis van een eenmalige bemonstering geconcludeerd kan worden, lijken er nauwelijks regenwormen in de bemonsterde percelen voor te komen. Het is waarschijnlijk dat de metalen in de bodem hier een rol bij spelen, al is de historie en samenstelling van de grond ook van belang. Dit komt onder andere tot uiting in de lokale referentie.

6) **Activiteit bodemdieren**: Op de drie monsterplekken is geprobeerd om een beeld van de bodemfauna-vraataktiviteit te krijgen met behulp van de Bait-lamina test. De methode is in Duitsland ontwikkeld en eerder toegepast in verontreinigde bodems (Paulus et al., 1999). Helaas is er nog niet zoveel ervaring met toepassing van de methode in Nederlandse bodems. In alle drie de percelen was vraataktiviteit te meten volgens de Bait-lamina methode. De hoogste activiteit werd gevonden in de lokale referentie WM224. Dit wijst op hogere dichtheden en/of meer activiteit.

De test is simpel en snel uitvoerbaar. De ecologische relevantie van het toegepaste voedingsmedium in de strips zou beter onderzocht moeten worden. Tevens is niet precies bekend welke bodemdieren van het medium eten. Dit kunnen in principe verschillende groepen bodemorganismen zijn zoals: nematoden, springstaarten, mijten, insectenlarven, potwormen en regenwormen. In het laboratorium is waargenomen dat wormen het medium eten en zelfs door de gaatjes in de strips kruipen. Het is niet duidelijk of dit in het veld ook het geval is. WM224 was wel het enige perceel waar regenwormen voorkwamen.

3.3.6 TRIADE-beoordeling

In tabel 8 zijn de meetgegevens uit de drie TRIADE-onderdelen samengevat en omgerekend naar een effectmaat tussen 0 en 1. De berekening van de Toxische Druk (TD) in de monsters WM222 en WM232 komt erg hoog uit (0,999) door de hoge verontreinigingsgraad van met name zware metalen (zie tabel 8). Dit geldt ook voor de poriewaterconcentraties, en de TD-berekening op basis van SRA voor oppervlaktewater (zie 2.1.1).

De toxiciteitsmetingen gaven in het algemeen een duidelijk negatieve respons bij de monsters van de verontreinigde velden. De sla-kientest leverde relatief weinig effecten op, waardoor de schatting van het gemiddelde toxicologisch risico omlaag getrokken wordt.

Ook de ecologische waarnemingen geven in grote lijnen een zelfde beeld. De effect-schattingen voor de vegetatie wijken iets af van de andere indicatoren, omdat een ander referentiebeeld gebruikt is. Beoordeling van de vegetatie, op basis van eigen inventarisatie, wees uit dat het effect op de lokale referentie niet 0 moest zijn, maar waarschijnlijk een getal tussen 0 en 0,2. Dit is gebaseerd op een vergelijking met het natuurdoeltype wat voor dit gebied kan worden gekozen. De resultaten van de PICT-meting zijn niet in de beoordeling

betrokken, omdat de hoge tolerantie die reeds in WM224 aanwezig is, het onmogelijk maakt de PICT van de andere percelen uit te drukken ten opzichte van WM232. Absoluut gezien is het effect rond de 80% voor alle drie de percelen.

Tabel 8: Overzichtstabel met gekwantificeerde effectparameters van 3 monsters van de locatie Laarder Wasmeren, gerangschikt in drie TRIADE-onderdelen. WM224 is de locale referentie. De deviatie kwantificeert verschillen tussen uitslagen van de TRIADE-onderdelen, op een schaal van 0 tot 1. Effecten zijn ingedeeld in drie klassen.

Triade Aspect	Parameter	WAS224	WAS222	WAS232
	Aantal keer overschrijding HC ₅₀ (Cr)	12	77	48
Chemie	Som TD metalen antropogeen	0,00	1,00	1,00
	Som TD poriewater antropogeen	0,00	0,96	1,00
	Risico	0,00	1,00	1,00
Toxicologie	Microtoxtoets	0,30	0,65	0,97
	PAM-algentoets	0,00	0,38	0,79
	Kieming <i>L. sativa</i>	0,00	0,15	0,19
	Risico	0,11	0,43	0,83
Ecologie	Biolog	0,00	0,31	0,65
	Microbiologie	0,00	0,49	0,68
	Nematoden	0,00	0,56	0,72
	Vegetatie	0,20	0,35	0,90
	Potwormen	0,00	0,63	0,51
	Wormen	0,00	1,00	1,00
	Baitlamina	0,00	0,96	0,94
	Risico	0,03	0,83	0,88
Oordeel chemie:		0,00	1,00	1,00
Oordeel toxicologie:		0,11	0,43	0,83
Oordeel ecologie:		0,03	0,83	0,88
Eindoordeel:		0,05	0,96	0,98
Deviatie		0,10	0,51	0,15

De volgorde van de respons op de verontreiniging wijkt alleen af bij de potwormen. Dit komt door het relatief hoge aantal dat gevonden werd in de monsters van WM232. Gezien de aard van de resultaten zijn de kengetallen voor de potwormen, regenwormen en de Bait-lamina test in dit geval het minst onderscheidend tussen de twee (zwaar) verontreinigde percelen. Ze dragen bij aan een relatief hoge risicoschatting voor het TRIADE-onderdeel Ecologie op deze locatie. Indicatoren met lage waarden of aantallen zijn gevoelig voor verschillen veroorzaakt door toevalstrekkers. Wanneer, zoals bij de regenwormen, in bepaalde monsters slechts 1 soort in lage aantallen voorkomt terwijl op een andere plek geen wormen worden aangetroffen, dan is het effect direct 100%. In feite zou een indicator(groep) robuust moeten zijn op de

referentieplek om een bruikbare effectschatting op de verontreinigde locaties te kunnen geven. Een dergelijk selectie criterium is in dit onderzoek nog niet gebruikt. Het gemiddelde ecologisch risico sluit uiteindelijk redelijk aan bij die van het TRIADE-onderdeel chemie. De totale beoordeling van de drie percelen in de Laarder Wasmeren laat een zeer hoog risico zien van de verontreinigde velden. De uitslag van de TRIADE-onderdelen is tamelijk unaniem. Alleen voor monster WM222 is de deviatie nog groot, door het resultaat van het onderdeel Toxicologie. Op dit punt zou het onderzoek verder uitgebreid moeten worden.

3.4 Locatie 3: Doetinchem

3.4.1 Inleiding

Het voormalige woonwagencentrum annex autosloperij aan de Christoffelstraat te Doetinchem bevindt zich aan de noordzijde van Doetinchem buiten de bebouwde kom, midden in een agrarisch gebied. Het nu bosachtige terrein had voorheen ook een agrarische functie, maar is in 1978 in gebruik genomen als woonwagencentrum. Het terrein is ruim 11 hectare groot en bestaat uit drie delen:

- Het sloopterrein (verhard met puin).
- Het woonwagenterrein (onverhard middenveld met asfalt rondweg).
- Het sportterrein (onverhard).

Vanaf 1978 tot aan 1989 werden op het terrein auto's gesloopt, kabels, verfblikken, koelkasten en plastic e.d. verbrand. De grond onder de puinlaag is verontreinigd met hoge concentraties koper, lood en zink, en in lagere concentraties ook met cadmium, nikkel, EOX, mineralie olie, fenolen, arseen, kwik, organo-pesticiden, PAK's en in geringe mate ook met dioxinen. Als gevolg van het kabelbranden waren rondom het sloopterrein asruggen ontstaan, die in 1995 zijn verwijderd.

Ook het woonwagenterrein vertoonde sterke vervuiling, maar deze bevond zich in de berm van de ringweg rondom de woonwagenstandplaatsen. De grond was daar op sommige plaatsen sterk vervuild met koper en lood, maar in mindere mate ook met zink, cadmium, EOX, nikkel, arseen, PAK's, fenolen en minerale olie. Op het middenterrein, met bos en de standplaatsen werd geen vervuiling geconstateerd. Ook het sportterrein is onderzocht, maar daar zijn geen verontreinigingen aangetroffen.

De (inmiddels uitgevoerde) beheersplannen met het terrein waren: het door middel van hekken ontoegankelijk maken van het sloopterrein, voorlopig zonder verwijdering van de restvervuiling; en het saneren van vervuilde plaatsen van het woonwagenterrein, met als nieuwe bestemming een asielzoekerscentrum.

3.4.2 Bemonstering en onderzoek

Bij het kiezen van de monsterlocaties is gebruik gemaakt van de resultaten van onderzoek door milieu-adviesbureaus. Er werd gekozen voor bemonstering van het voormalige woonwagenterrein. De reden hiervoor was, dat er op het terrein een ruime variatie aan verontreiniging aanwezig was (zie 3.4.1) en dat het goed toegankelijk was voor bemonstering. De grond van het sloopterrein was wegens de dikke puinlaag moeilijk te bemonsteren en het sportveld was in het verleden niet gebruikt voor vervuilende activiteiten.

Elf locaties op het woonwagenterrein werden bemonsterd. De selectie van de locaties was gebaseerd op eerdere onderzoeksresultaten die door adviesbureau Tauw in kaart waren gebracht en visuele waarneming tijdens de bemonstering. Er werd gestreefd naar het verkrijgen van een aantal sterk, middelmatig en weinig vervuilde monsters en er werd gezocht naar zo schoon mogelijk referentiegrond op hetzelfde terrein. Er werd zowel bemonsterd op

maaiveld-niveau (A-monsters) als wel op een diepte van ongeveer 30 cm (B-monsters). Dit laatste om een indruk te krijgen over de eventuele verspreiding van de vervuiling naar diepere lagen. Het terrein viel vooral op door een verwilderde begroeiing en veel zwerfvuil van allerlei aard. Hieronder volgen enige kenmerken van de monsterpunten, gebaseerd op verwachte vervuiling (volgens eerdere rapportage) en visuele waarneming tijdens de eigen bemonstering. De nummers van de bemonsteringslocaties staan vermeld op de plattegrond van bijlage 1c.

Monsterpunt 1 en 2: voormalige olie-stortput. Verharde inham van de weg rondom het woonwagenterrein. De punten 1 en 2 bevinden zich op 1 m afstand van elkaar. Verwachting: vooral vervuild met olieproducten, weinig tot matig met zware metalen. Waarneming: geen olie zichtbaar of te ruiken in de monsters van de boven- en onderlaag. Grondmonsters: bovenlaag sterk humusachtig, onderlaag zand.

Monsterpunt 3: in bos op ongeveer 3 m afstand van olie-zakput. Verwachting: matige vervuiling met olieproducten en zware metalen. Waarneming: humuslaag lijkt olieachtig, zwerfvuil, dieper zandmonster schoon.

Monsterpunt 4: in bos langs verbindingsspad sloofterrein/woonwagenterrein. Verwachting: geringe vervuiling met olieproducten en zware metalen. Eigen waarneming: zwerfvuil, geen olie zichtbaar of te ruiken in monsters boven- en onderlaag (beide vooral zand).

Monsterpunt 5: in bos bij peilbuizen op ongeveer 3 m afstand van olie-zakput. Verwachting: matige vervuiling met olieproducten en zware metalen. Waarneming: zwerfvuil, humuslaag lijkt olieachtig, dieper zandmonster schoon.

Monsterpunt 6: in berm van rondweg, zand, voormalige plaats voor het schoonbranden van kabels. Verwachting: sterke vervuiling met zware metalen en PAK's. Waarneming: veel metaalresten (koperoxide) en ander zichtbaar vuil.

Monsterpunt 7 en 8: open gedeelte van het middenterrein (standplaats woonwagens). Verwachting: schone referenties. Waarneming: locatie 7 vooral begroeid met mos, monsterpunt 8 met hogere begroeiing. Zowel boven- als onderlaag visueel schoon.

Monsterpunt 9, 10 en 11: in berm van rondweg, zand, lange strook met in het verleden veel sloop-, en brand-activiteit. Verwachting: veel vervuiling met zware metalen en PAK's. Waarneming: sterk vervuild met metaaldelen, kunststof en ander zwerfvuil. Van locatie 10 werd alleen een monster genomen op maaiveld.

3.4.3 Bodemkenmerken en chemie

In tabel 9 (A-monster) en tabel 10 (B-monsters) staan de analyseresultaten vermeld van de bodemkenmerken en chemische verontreinigingen. Bij de chemische analyses is bij een deel van de monsters gekozen voor die verontreinigingen die in het vooronderzoek de hoogste waarden lieten zien.

De maaiveld-monsters met de sterkste vervuiling zijn D6A, D9A, D10 en D11A (berm rondweg). Vooral de waarden voor koper, lood en PAK's zijn hier extreem hoog. Ook flink

vervuild, maar aanzienlijk minder dan op bovengenoemde locaties zijn de monsters D1A t/m D3A (stortput en omgeving).

De monsters D4A en D5A (bos) zijn matig vervuild, terwijl de monsters 7A en 8A (middenterrein) kunnen worden beschouwd als schone lokale referentie.

Van een beperkt aantal ondergrondmonsters werd alleen het gehalte aan koper, lood en zink bepaald. Vooral monster 6B is sterk vervuild met koper en lood. Bij de monsters D2B, D3B, D9B en D11B is de vervuiling een stuk geringer, terwijl de monsters D1B, D4B en D5B relatief schoon zijn.

Tabel 9: Bodemkenmerken en chemische analyse van de elf maaiveld-monsters (A-monsters). Monster D7 is de locale referentie. De locale HC₅₀ (HC₅₀ LR) is gebaseerd op de bodemkenmerken in D7. Norm voor olie en PAK zijn interventiewaarden

Locatie Doetinchem	D1A	D2A	D3A	D4A	D5A	D6A	D7A	D8A	D9A	D10	D11A	HC ₅₀ LR
Bodemkenmerken:												
Zuurgraad (pH-KCl)	6,52	6,13	6,72	3,61	4,83	6,96	5,63	5,24	6,48	6,85	7,48	
Organische stof %	7,9	38,8	6,4	4,4	5,2	4,8	1,1	4,4	13,3	14,0	11,5	
Lutum (%)	0,7	1,7	---*	4,5	3,6	2,8	0,8	4,4	3,0	1,7	0,9	
Chemie:												
<i>Totaalgehalten in droge grond</i>												
Koper (mg/kg)	506	2176	3422	97	190	24927	38	18	13666	29568	24932	85
Lood (mg/kg)	458	924	3737	52	138	13314	10	14	9695	6323	16363	299
Zink (mg/kg)	176	230	575	58	127	962	21	43	1399	3208	4516	278
Minerale olie (µg/kg)	90	200	160	50	70	510	10	70	690	1140	1610	1x10 ⁶
10 PAK's VROM tot. (µg/kg)	436	942	2857	269	573	177021	40	128	19899	14238	63300	40000
Overige PAK's tot. (µg/kg)	184	348	1192	109	196	67593	14	57	7222	4558	20906	

* lutumbepaling mislukt

Tabel 10: Chemische analyse van de ondergrond-monsters (B-monsters, op 30 cm diepte).

Locatie Doetinchem	D1B	D2B	D3B	D4B	D5B	D6B	D9B	D11B
Chemie:								
<i>Totaalgehalten in droge grond</i>								
Koper (mg/kg)	34	328	203	15	46	10732	410	166
Lood (mg/kg)	21	399	258	16	25	3930	248	74
Zink (mg/kg)	73	147	72	45	49	587	102	60

3.4.4 Meetbare toxiciteit

Aan de hand van de chemische analyses werden een aantal monsters geselecteerd die sterk (D9A, D11A), matig (D1A, D3A) en weinig vervuild waren (D4A, D5A), met als schone referentiemonster D7A. Met extracten van deze monsters werden een aantal toxiciteitstoetsen uitgevoerd in het laboratorium: de Microtoxtoets, de PAM-algentoets. De sla-kiemtoets werd uitgevoerd met grondmonsters. De resultaten van de toetsen staan vermeld in tabel 11.

Bij de Microtoxtoets gaven de twee meest vervuilde monsters (D9A en D11A) het sterkste toxische effect. De EC_{50} wordt bereikt bij respectievelijk 41% en 76% concentrering van het gebruikte extract. Ook monster D4A vertoonde een gering effect, maar bij de overige monsters was de toxiciteit met deze methode niet meetbaar.

Bij de PAM-algentoets bleek de sterkste remming van de fotosynthese op te treden bij de relatief schone monsters D4A en D5A, gevolgd door D9A en D11A. Bij D3A was het effect nog iets geringer. Door het ontbreken van replicaties is niet aan te geven of deze verschillen statistisch significant zijn. De PAM-toets lijkt in deze monsters een wisselend resultaat te geven dat niet direct te koppelen is aan de gemeten totaalgehaltenes.

Bij de slakiemtest is er alleen een gering remmend effect op de kieming merkbaar bij de sterkst vervuilde (D9A en D11A) en weinig vervuilde (D4A en D5A) grondmonsters. Bij de monsters D4A en D5A kan het effect mede worden veroorzaakt door de lagere pH.

Tabel 11: Toxiciteit van bodemonsters uit Doetinchem in bioassays met standaard toetsorganismen.

Locatie Doetinchem	D1A	D3A	D4A	D5A	D7A (ref.)	D9A	D11A
Toxicologie							
Microtox (EC_{50} in % concentrering)	-	-	270	-	-	41	76
Met 95% betr. interval			**			25-69	46-125
PAM-algentest (% remming)	-5	18	53	52	2	35	21
Sla-kiemingstest (% na 3 dagen)	100	100	96	98	100	98	96

**= betrouwbaarheidsinterval niet te berekenen

Ten behoeve van de Microtox- en de PAM-toets werden extracten gemaakt van de grondmonsters (bijlage 2.4). Van de extracten zijn vervolgens de zink-, koper-, cadmium-, en loodgehalten bepaald. De resultaten daarvan staan vermeld in bijlage 5.1. Van de monsters met de hoogste totaalgehaltenes hebben ook de extracten de hoogste concentraties, terwijl het extract van het referentiemonster de laagste waarden heeft. Bij de matig en weinig vervuilde monsters is het onderscheid tussen de extractgehaltenes minder duidelijk dan tussen de totaalgehaltenes. Vooral het zinkgehalte in het extract van D4A is onwaarschijnlijk hoog, maar zou wel de uitkomsten van de PAM-test kunnen verklaren.

3.4.5 Ecologische waarnemingen

Op het woonwagenterrein was vooral sprake van een verwilde begroeiing met veel doorgeschoten bomen en struiken (berk, es, populier, vlier, sleedoorn, liguster, hazelaar, sneeuwbes). Daar onder was nauwelijks begroeiing, terwijl de open delen van het middenterrein vooral bedekt waren met mos en gras.

Ter beoordeling van de ecologische kwaliteit van de bodem werd de samenstelling van de nematodenfauna van de geselecteerde monsters geanalyseerd. In bijlage 4.1c staan de volledige resultaten vermeld van de nematodentellingen in de geselecteerde grondmonsters (aantallen per 100 gram verse grond). In tabel 12 worden per grondmonster behalve de totaalstellingen, ook het aantal taxa (geslachten en families), de percentages voedselgroepen, de percentages van de cp-groepen en de Maturity Index gegeven.

Tabel 12: Ecologische kenmerken (alleen nematodendata) van bodemmonsters uit Doetinchem.

Locatie Doetinchem	D1A	D3A	D4A	D5A	D7A (ref.)	D9A	D11A
Nematoden:							
Totaal aantal per 100g vgew.	5213	2760	4238	3075	2625	1590	1335
Aantal taxa (geslacht,familie)	22	12	18	21	18	14	20
%bacterie-eters (Bf)	66	60	36	61	55	46	14
%schimmel-eters (Hf)	8	5	7	0	2	11	18
%planten-eters (Pf)	11	5	54	28	33	43	78
%cp1	39	57	17	3	3	24	19
%cp2	29	25	34	50	79	64	68
%cp3+4+5	33	18	49	47	18	13	14
Maturity Index	2,20	1,62	2,42	2,65	2,32	1,89	1,95

Op grond van de nematodenanalyses zijn de monsters D11, D9, en D3 het meest verstoord. In D9 en D11 zijn de aantallen het laagst, D3 valt op door de geringe diversiteit. In D11 is het aantal planteneters hoog. In sterk verontreinigde gronden kan de celinhoud van plantenwortels een relatief schoon, of gedetoxificeerd voedingsmedium zijn. D3 heeft verder een opvallend lage Maturity Index, door het grote aandeel van de cp1-groep. Dit wijst op een voedselverrijking door organische stof. Dergelijke waarden worden bijvoorbeeld gevonden in sterk bemeste bodems. De bacteriële afbraak van een organische verontreiniging kan tot een zelfde effect leiden. De monsters D4 en D5 hebben een relatief hoge MI-waarde. Dit wijst in eerste instantie op een redelijk stabiele bodem, en lijkt samen te hangen met de geringe verontreiniging in deze monsters. Toename van de MI is echter ook gevonden in proefvelden met zinkverontreiniging. In zo'n geval is er sprake van een selectieve blootstelling, waardoor gevoelige dieren uit de cp5 groep met een bepaalde voedselbron of niche toch in hogere dichtheid voor kunnen komen. Dit effect kan ook optreden in de monsters D4 en D5. Voor een nadere verklaring en analyse moet de soortensamenstelling in beschouwing worden genomen.

3.4.6 TRIADE-beoordeling

De chemische analyses, toxiciteitstoetsen en ecologische waarnemingen (de TRIADE-onderdelen) zijn omgerekend tot getallen die relatieve risico's van elk monster aangeven. De resultaten van de risico-berekeningen staan vermeld in tabel 13.

Het onderdeel chemie van de TRIADE bestaat uit twee soorten resultaten: die van het gecombineerde risico (som TD) van zware metalen, PAK's en minerale olie in de grondmonsters zelf, en die van het risico van de zware metalen zoals gemeten in de extracten van de grondmonsters. Deze extracten waren gemaakt voor de Microtox- en PAM-toets en worden hier beschouwd als kunstmatig poriewater. De resultaten van het TRIADE-onderdeel chemie weerspiegelen duidelijk de HC₅₀-overschrijding op basis van de chemische analyses zoals vermeld in paragraaf 3.4.3 (tabel 9).

Tabel 13: Overzichtstabel met gekwantificeerde effectparameters van 7 monsters van de locatie Doetinchem gerangschikt in de drie TRIADE-onderdelen. D7 is de locale referentie. De deviatie kwantificeert verschillen tussen uitslagen van de TRIADE-onderdelen, op een schaal van 0 tot 1. Effecten zijn ingedeeld in drie klassen.

Triade Aspect	Parameter	D1A	D3A	D4A	D5A	D7A (Ref)	D9A	D11A
	Aantal keer overschrijding HC ₅₀ (Cu)	4	30	0	1	0	104	210
Chemie	Som TD metalen+org. st.	0,94	1,00	0,38	0,72	0,00	1,00	1,00
	Som TD Calciumnitraat extr.	0,63	0,62	0,84	0,73	0,00	0,95	0,96
	Risico	0,85	0,98	0,68	0,72	0,00	1,00	1,00
Toxicologie	Microtoxtoets			0,27			0,71	0,57
	PAM-algentoets	0,00	0,16	0,51	0,50	0,00	0,33	0,19
	Sla-kieming	0,00		0,04	0,02	0,00	0,02	0,04
	Risico	0,00	0,16	0,30	0,30	0,00	0,42	0,31
Ecologie	Nematoden	0,63	0,52	0,55	0,47	0,00	0,51	0,58
	Risico	0,63	0,52	0,55	0,47	0,00	0,51	0,58
Oordeel chemie:		0,85	0,98	0,68	0,72	0,00	1,00	1,00
Oordeel toxicologie:		0,00	0,16	0,30	0,30	0,00	0,42	0,31
Oordeel ecologie:		0,63	0,52	0,55	0,47	0,00	0,51	0,58
Eindoordeel:		0,61	0,81	0,54	0,53	0,00	0,94	0,97
Deviatie		0,76	0,71	0,34	0,37	0,00	0,54	0,61

Bij het TRIADE-onderdeel toxiciteit geven de meest vervuilde monsters (D9A en D11A) het hoogste risico, met name door de uitslag van de Microtox-test. Helaas kon deze toets niet met alle monsters worden gedaan. Dit bemoeilijkt de onderlinge vergelijking. Het resultaat van de PAM-toets veroorzaakt een hoger toxicologisch risico voor de monsters D4A en D5A, terwijl D4A en D5A minder vervuild zijn dan D1A en D3A op basis van totaalgehalten. Het risico van de monsters D9A en D10A is, met een gering verschil, het hoogst in de reeks.

De toxicologische beoordeling is door het geringe aantal toetsen op een smalle leest geschoeid. Mogelijk geven de gemiddelde effectwaarden van het onderdeel toxicologie een vertekend beeld.

De ecologische risico-getallen, herleid uit de samenstelling van de nematodenfauna, geven geen oplopend effect bij toename van de verontreiniging te zien. Wel is duidelijk dat er aanzienlijke verschillen zijn tussen (het op nul gestelde) referentiemonster en de overige waarnemingen. De berekende effecten liggen allemaal in dezelfde range, maar hebben mogelijk een verschillende achtergrond. In de vorige paragraaf zijn reeds enkele verklaringen aangegeven aan de hand van de samenstelling van functionele groepen.

Bij het eindoordeel zijn de drie TRIADE-onderdelen samengevat tot één risicogetal per grondmonster. Deze getallen weerspiegelen vooral de Toxische Druk op basis van de chemische analyses. De hoge schatting van het risico in dit onderdeel werkt sterk door in het eindresultaat. Ondanks de beperkte omvang van de TRIADE-onderdelen toxicologie en ecologie in het onderzoek op deze locatie, leveren de metingen enige differentiatie tussen de afzonderlijke monsters bij lagere vervuilingsgraad. De gemeten toxicologische en ecologische effecten zijn lager dan op grond van HC₅₀-overschrijdingen wordt verwacht. In de meest vervuilde monsters is het ecologisch risico duidelijk het hoogst. De deviatie in het eindoordeel is groot in bijna alle monsters. Om met meer zekerheid een uitspraak te kunnen doen over het locatiespecifieke ecologische risico is uitbreiding van het onderzoek nodig.

4 Discussie

Leeswijzer voor de discussie

Referenties zijn een essentieel onderdeel van de beoordeling, omdat ze de basislijn, het nul-effect niveau, aangeven. Het opdoen van ervaring met de keuze van (locale referenties) was één van de doelen van het onderzoek beschreven in dit rapport. Niet alle aspecten van de referentieproblematiek werden belicht, maar de drie locatiestudies leverden toch een flink aantal bevindingen op.

Een andere doel was uitbreiding van onderzoek aan het ‘stiefkindje’ van de TRIADE, de ecologische waarnemingen. Hier is ook aandacht aan besteed op twee van de drie locaties, zij het in beperkte mate door de geringe omvang van de onderzoekscapaciteit (en middelen) in het project.

Een steeds terugkerende discussie betreft de onbalans in de TRIADE; het lijkt alsof het milieuchemische onderzoek stevast tot een hogere risicoschatting leidt. Ook hieraan wordt kort aandacht besteed. In de discussie wordt niet ingegaan op de andere aspecten van toepassing van de TRIADE-benadering voor locatiespecifieke risicobeoordeling, zoals bijvoorbeeld de indeling in verschillende ‘tiers’ of lagen en de ecologische relevantie van de toetsen. De meeste overige discussiepunten werden reeds behandeld in het rapport van de vorige locatiestudies (Rutgers et al., 2001). Aan het eind van deze discussie wordt kort ingegaan op de bredere context van locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling bij het bodembeleid. Dit komt uitgebreider aan de orde in de afsluitend ‘covernotitie’ over dit project, die in 2003 zal verschijnen.

Referenties Algemeen

Bij een locatiespecifieke risicobeoordeling zijn voor de interpretatie van alle TRIADE-onderdelen referenties nodig. De bodemchemische aspecten (metalen, organische verontreinigingen) worden vergeleken met streef- en interventiewaarden, die bovendien voorzien zijn van een bodemtypecorrectie. Dit soort referentiewaarden bestaat nog niet voor bioassays en veldgegevens. In het project Bodembioologische Indicator wordt momenteel een grootschalige inventarisatie uitgevoerd van het voorkomen van verschillende groepen bodemorganismen in de belangrijkste bodemtypen en grondgebruikvormen. Op basis van deze gegevens kunnen in principe ecologische ‘bodemdoeltypen’ worden samengesteld. In een pilot-project is dit al een keer gedaan met gegevens die over de nematodenfauna beschikbaar zijn (Van der Waarde et al., 2002).

Referenties voor verontreinigde locaties moeten momenteel nog tijdens het onderzoek worden gekozen en verzameld. Een referentielocatie, of een referentie binnen het te onderzoeken terrein, biedt uitkomst in sommige, maar niet alle gevallen. In het ideale geval zou per bioassay een algemene referentie of de geëigende set referentiegegevens bepaald moeten worden. Hoewel de referentiekeuze met de benodigde deskundigheid dient te gebeuren, is een zekere subjectiviteit niet te vermijden. Aanbevolen wordt om bij elk onderzoek t.b.v. ecologische risicobeoordeling vooraf een set (potentiële) referentielocaties te

selecteren, en achteraf ruimte te nemen om de keuzes te evalueren (inclusief de implicaties van de keuze voor de risicobeoordeling). Hieronder wordt per TRIADE-onderdeel de referentieproblematiek bediscussieerd en richtlijnen voor keuze gegeven.

Referenties voor ecologische onderzoek

Voor dit onderdeel is de keuze van de referentie het meest cruciaal. Elk ecosysteem heeft specifieke aspecten die slechts met moeite op een andere locatie aangetroffen kunnen worden. De theoretisch optimale referentielocatie is die locatie waarbij alles hetzelfde verondersteld mag worden, behalve de verontreiniging. Deze situatie lijkt zich in de bodem niet voor te doen, mede door de inhomogeniteit van dit milieucompartiment. De grootste kans op een bruikbare referentielocatie voor wat betreft de combinatie tussen bodemtype en type ecosysteem heeft men in principe zo dicht mogelijk bij de verontreinigde locatie. Voor het selecteren van een referentielocatie is vaak een vooronderzoek nodig, waarbij men zowel naar uiterlijk overeenkomend type ecosysteem zoekt, als naar een vergelijkbaar bodemtype en bodemkarakteristieken, waarbij er nog steeds een duidelijk verschil is in het niveau van de verontreiniging. Wanneer andere factoren (bijvoorbeeld pH, lutum of organische stof) dan de verontreiniging verschillend zijn, bestaat de kans dat de waargenomen effecten niet door verontreiniging, maar door deze zogenaamde ‘confounders’ worden veroorzaakt. Alhoewel het vaak plausibel lijkt dat gevonden effecten veroorzaakt worden door een verontreiniging, kan dat statistisch niet worden hard gemaakt. Het is dus belangrijker dat potentiële confounding factoren zoveel mogelijk worden uitgesloten, dan dat er wordt gestreefd naar een zo schoon mogelijke referentielocatie. De gradiëntbemonstering van de vloeivelden bij Tilburg leek het meest kansrijk voor een bruikbare locale referentie voor veldecologisch onderzoek. Het organische stof gehalte bleek achteraf in de meest vervuilde zone echter twee keer zo groot als de zone die gebruikt moest worden als referentie. Dit had onder andere effecten op de bodembacteriën en de nematodenfauna. Het hogere percentage organische stof bindt ook een groter deel van de metalen die in het bodemvocht oplossen, en beïnvloedt (beperkt) waarschijnlijk een deel van de ecologische effecten.

In het geval van sterk (antropogeen) verstoorde locaties, zoals stortplaatsen, slootdempingen, baggerdepots, onder verharding, etcetera, is het soms zeer moeilijk om relevante referentielocaties te selecteren. Bij de vloeivelden c.q. baggerdepots van de Laarder Wasmeren en bij het terrein in Doetinchem bleek de kans op ‘confounders’ groot, ondanks de extra aandacht die er vooraf aan is besteed. De referentielocaties, hoewel dicht in de buurt geselecteerd, verschilden in een aantal eigenschappen toch van de verontreinigde percelen wat betreft bodemparameters zoals pH. Alleen bij zeer sterke verontreiniging, zoals bijvoorbeeld bij de Laarder Wasmeren, kan men dan vrij zeker (maar nooit 100%) zijn dat de waargenomen verschillen grotendeels geweten kunnen worden aan de verontreiniging. Bij het uitvoeren van veldonderzoek moet men dus zeer beducht zijn op de zogenaamde type 2 fout, namelijk dat er wel meetbare verschillen zijn, maar dat ze niet veroorzaakt worden door de verontreiniging.

Er zijn een aantal benaderingen mogelijk om het optreden van een type 2 fout te voorkomen: Ten eerste kunnen referentiemonsters worden geselecteerd binnen het verontreinigde gebied

zelf, wanneer de verontreiniging voldoende heterogeen verdeeld is. In dat geval zijn binnen bijvoorbeeld een stortplaats verontreinigings-gradiënten te vinden. Deze aanpak is met succes toegepast binnen de Toemaakdekgebieden in centraal West Nederland (Bosveld et al., 2000). Toemaakdek is als gevolg van 100 jaren agrarische praktijk in het veengebied ontstaan en is een 20 tot 50 cm dikke organisch top laag, die afwijkt van het veenpakket eronder. Deze laag is verontreinigd met zware metalen. De referentielocatie werd verkregen door zeer veel monsters te nemen van het toemaakdek, en deze te rangschikken op metaalgehalte. Alleen de relatief schone en de relatief verontreinigde monsters werden vervolgens veldecologisch geanalyseerd (in dit geval op de microbiële gemeenschap).

Een andere mogelijkheid is organismen in het veld te onderzoeken die relatief onafhankelijk van de bodem leven (kleine zoogdieren, vogels). Het nadeel is echter ook meteen dat deze organismen niet direct aan de bodemverontreiniging worden blootgesteld, maar in het 'gunstigste' geval via het voedsel. Aspecten als selectief foerageergedrag en een relatief grote 'home-range' van deze organismen maken de interpretatie van dit type onderzoek vaak ingewikkeld. Een andere type onderzoek waarbij de kans op type 2 fouten relatief klein is, is de bepaling van het optreden van gemeenschapstolerantie bij verontreiniging volgens de PICT-methode. Hierbij wordt de gevoeligheid van een gemeenschap voor een stof die deel uitmaakt van de verontreiniging experimenteel bepaald. Tolerantie verschuiving binnen de gemeenschap is dan een indicator voor effecten van de verontreiniging. In die gevallen waarbij naast PICT ook naar andere effecten werd gespeurd, kon bijna altijd een relatie worden aangetoond (zie review Boivin et al., 2002). Daarmee is PICT dus een gevoelige methode om effecten te meten. Voor bodemecosystemen is de PICT-methode alleen beschikbaar voor microbiële gemeenschappen.

Tot slot kan er gebruik gemaakt worden van een theoretische referentie. Dit is mogelijk als voor de betreffende inventarisatie algemene gegevens beschikbaar zijn uit de literatuur (bijvoorbeeld afkomstig van eerdere veldonderzoeken). Bij voldoende gegevens kan dan de theoretisch te verwachten samenstelling van het ecosysteem berekend worden, op basis van de omgevingsfactoren (zonder verontreiniging) en de ecologische amplitude van soorten. Een dergelijke benadering wordt voor terrestrische ecosystemen ook gehanteerd in de natuurdoeltypen-systematiek. Momenteel wordt gewerkt aan de opbouw van een bodembologisch databestand voor Nederland (Breure et al., 2002). Overigens is de variatie (bandbreedte) in de ecologische respons voor een set bodemparameters vrij groot, zodat de eventuele effectberekeningen veel onzekerheid kennen. Niettemin zal deze werkwijze in bepaalde gevallen uitkomst kunnen bieden.

Referenties voor bioassays

De betekenis van bioassays is dat de uitslag informatie levert over meetbare toxiciteit in monsters. Het is een respons van een testorganisme op alle toxische stoffen in het medium. Daarmee zegt het direct iets over de beschikbaarheid van deze stoffen in het testsysteem, inclusief het organisme. Toetsuitslagen van een bioassay kunnen het beste in een effectmaat worden omgezet als er gegevens zijn over referentiewaarnemingen. Overigens kan bij bioassays in sommige gevallen aangenomen worden dat het referentieniveau gelijk is aan een

nul-niveau voor wat betreft de toxiciteit. Vaak is bij een gegeven test het nulniveau een goede referentie, mits de reguliere controles (blanco waarnemingen aan het testorganisme) worden uitgevoerd, bij voorbeeld in een standaardmedium. In de vorige rapportage (Rutgers et al., 2001) werd reeds uitvoerig het onderscheid tussen verschillende type bioassays bediscussieerd. Te onderscheiden zijn:

1. Bioassays met het gehele, ongeroerd grondmonster.
2. Bioassays met het gehele, maar bewerkte grondmonster (gezeefd, gemengd, aangepaste zuurgraad).
3. Bioassays met onvolledige grondmonsters en kunstmatige media (bijvoorbeeld extracten).

Binnen iedere categorie kan als variant gewerkt worden met organismen van de veldlocatie of laboratorium-organismen.

Bij het experimentele onderzoek, beschreven in dit rapport, is gebruik gemaakt van de eerste en derde categorie bioassays. De eerste categorie heeft intrinsiek meer realiteitswaarde dan de derde, omdat het onderzoek optimaal gebruik maakt van de natuurlijke omstandigheden (ongemanipuleerd, intact monster), maar de voordelen van een gecontroleerd laboratoriumonderzoek benut (logistiek). Echter, beperkingen van het testorganisme, of beperkingen in de zin van het ontbreken van geschikt referentiemateriaal kunnen het gebruik en de betekenis van de eerste categorie bioassays sterk beïnvloeden. Daarnaast kunnen de condities in het monster dermate specifiek zijn dat het moeilijk is om een geschikt testorganisme te vinden (extreme milieus, zoals zout, zuur, alkalisch, etc). Wanneer het testorganisme te ongevoelig is voor de betreffende verontreiniging bestaat er een kans op een vals-negatieve uitslag.

De derde categorie bioassays heeft relatief weinig last van ongeschikte referentiemonsters of ongeschikte testcondities, omdat deze aangepast kunnen worden (bijvoorbeeld de pH in elutriaten). Met elutriaten kunnen ook verdunningen van het monster worden gemaakt, zodat een dosis-effect relatie kan worden afgeleid.

Bij de toepassing van bioassays is een vals-positieve uitslag ook mogelijk. De oorzaak van de waargenomen effecten op het testorganisme is namelijk niet altijd eenduidig gekoppeld aan de aanwezigheid van toxische stoffen. Dit kan ondervangen worden door goede referenties te gebruiken, dat wil zeggen bodemonsters of gegevens die in alle opzichten (fysisch chemische eigenschappen, nutriëntgehalte en dergelijke) overeenkomen met de verontreinigde bodem, behalve voor wat betreft de verontreiniging. In de praktijk moeten er vaak concessies worden gedaan aan het referentiemonster. Voor de sla kiemtest of overlevingstesten kunnen andere referenties gebruikt worden zoals OECD-kunstgrond. Maar voor reproductietesten of sla groeitest en biomassabepalingen is een referentie van een schone vergelijkbare grond nodig.

Bij de bereiding van een elutriaat (onvolledig en gemanipuleerd monster) is het van belang dat in onderzoeken ten behoeve van risicobeoordeling vergelijkbare protocollen worden gebruikt. Alleen dan kan verwacht worden dat de bepaling van de toxiciteit vergelijkbare resultaten oplevert als de testorganismen in de verschillende laboratoria dezelfde respons vertonen.

Samenvattend kan gesteld worden dat toetsen met een ongestoorde veldbodem de hoogste ecologische relevantie hebben, met de grootste kans op vals-positieve uitslagen. Toetsen met elutriaten en vaste testorganismen bereiken een hogere graad van standaardisatie en vergelijkbaarheid, maar zijn minder representatief voor de beoordeling van effecten in het veld. In de praktijk worden de mogelijkheden vaak ernstig beperkt door de geringe keuze aan bruikbare toetsen en het gebrek aan mogelijkheden om bodem-bioassys op routinematige basis uit te besteden.

Referenties voor milieuchemisch onderzoek

Voor een stofgericht, milieuchemisch onderzoek lijkt de referentiediscussie van ondergeschikt belang te zijn. Immers, de verontreiniging zelf is het probleem, en de niet-verontreinigde situatie is vanzelfsprekend de referentie. In de praktijk echter is een niet-verontreinigde situatie moeilijk te definiëren, zeker in het geval van zware metalen. Alle metalen en ook de meeste organische stoffen komen ook van nature voor, zodat het niet simpel de nulconcentratie is die als referentie gebruikt kan worden. Een referentie voor milieuchemisch onderzoek wordt ook vaak de achtergrondconcentratie genoemd, namelijk de concentratie van een stof die in de (theoretisch) niet-verontreinigde situatie zou voorkomen. Er zijn twee opties voor het verkrijgen van achtergrondconcentraties voor een milieuchemisch onderzoek, namelijk eigen onderzoek aan relatief schone locaties of het gebruik van gegevens uit bestaande databases voor achtergrondgehalten in Nederland. In dit verband dient men ook rekening te houden met de 'essentialiteit' van stoffen (sommige stoffen zijn nodig voor het optimaal functioneren van organismen). Het voert in dit kader te ver om te bediscussiëren hoe 'essentialiteit' behandeld moet worden bij locatiespecifieke risicobeoordeling. Deze discussie wordt gevoerd in het project Integrale Normstelling Stoffen (INS) en Achtergrondwaarden in Nederland (project AW2000).

Onbalans in TRIADE elementen

Bij dit en in het vorige rapport beschreven onderzoek (Rutgers et al., 2001) is gebleken dat de TRIADE-beoordeling momenteel waarschijnlijk niet in balans is. In theorie zouden bij een (oneindig) grote aantal waarnemingen in elk TRIADE-onderdeel de verschillen tussen de onderdelen tot nul gereduceerd worden. Anders gezegd, in principe vervallen bij een oneindige hoeveelheid gegevens de conceptuele onzekerheden. In de praktijk zal dit niet gebeuren en zullen bij een groter wordende dataset de verschillen tussen TRIADE-onderdelen een vaste waarde krijgen. Er zijn een aantal mogelijke oorzaken te benoemen:

1) Er zijn onvoldoende aanknopingspunten voor een realistische weergave van de resultaten op de effectschaal van 0 tot 1, bijvoorbeeld het niet verdisconteren van beschikbaarheid c.q. indirecte effecten geeft een bias in de beoordeling. 2) Het criterium waarop getoetst wordt is intrinsiek gevoeliger of minder gevoelig voor verontreiniging, waardoor geen effect wordt waargenomen. Dat betekent dat de steekproef niet groot genoeg is om de TRIADE in balans te brengen, de uitslagen van de drie onderdelen zijn verschillend. 3) De relatieve bijdrage van elke aparte parameter aan de totale beoordeling is niet goed ingeschat (niet alle onderdelen dragen in gelijke mate bij aan het functioneren van het ecosysteem). In de praktijk wordt

voorlopig elk onderzoek even zwaar gewogen, totdat toenemend inzicht aangeeft dat dit tot een onjuiste risicoschatting leidt. Mogelijk moeten er wegingsfactoren worden ingevoerd.

Bij een verontreiniging zullen zowel chemische als toxicologische als ecologische aspecten optreden. Het is echter de vraag, of en hoe die tot elkaar in verhouding staan.

Bij de uitgevoerde locatiestudies is gebleken dat de milieuchemische beoordeling bijna altijd tot een hogere risicoschatting leidt, dan de andere TRIADE-onderdelen. Een aantal specifieke oorzaken ligt hier mogelijk aan ten grondslag:

Bij het hier beschreven onderzoek, is volgens de geldende werkwijze voor het vaststellen van een HC₅₀, gebruik gemaakt van NOEC-waarden als toxicologisch criterium. Dit is het meest gevoelige eindpunt van een toxiciteitstoets. Bij de bioassays en de ecologische waarnemingen wordt veelal gescoord op minder gevoelige eindpunten, zoals overleving, of daadwerkelijke verschuiving in het ecosysteem. Als gevolg van deze mismatch mag verwacht worden dat de beoordeling van effecten in onbalans is. Met een minder gevoelig criterium, zoals LC₅₀ en EC₅₀, zal de effectschatting lager uitkomen in het TRIADE-onderdeel toxicologie.

De blootstelling (biobeschikbaarheid) is in het veld lager dan in de standaard toxiciteitstoetsen, hierdoor zal het milieuchemisch onderzoek tot een te hoge risicoschatting leiden. Het mag echter ook niet uitgesloten worden dat de blootstelling in veldsituaties door bodemeigenschappen (bijv. pH) juist hoger is dan in standaard toxiciteitstoetsen. In dit opzicht verdient het in de eerste plaats de voorkeur om bioassays uit te voeren met grond van de verontreinigde locatie als testmedium voor toetsorganismen.

Bij de in dit rapport beschreven studies bleek dat de schatting van effecten op basis van poriewatergehalten wel leidde tot enige nuancering in (verlaging van) de berekende effecten, maar dat de verschillen tussen milieuchemisch onderzoek en de andere TRIADE elementen nog steeds groot zijn.

Het milieuchemische onderzoek houdt in het algemeen geen rekening met compenserende ecologische processen in het ecosysteem, wanneer door verontreiniging sommige soorten of microbiologische processen niet goed functioneren. Als gevolg hiervan kan beperkte milieustress opgevangen worden door andere soortgroepen (redundantie), die beter functioneren, zodat het netto ecologisch effect wordt versluierd.

Ecologische waarnemingen

Het milieubeleid heeft ten aanzien van de concentraties van stoffen in het milieu tot doel de mens en ecosystemen te beschermen tegen negatieve effecten. Ecosystemen zijn echter complex en worden slechts ten dele begrepen. Ten aanzien van de bodembescherming heeft dit er toe geleid dat voor het schatten van effecten gebruik gemaakt is van een ecotoxicologische benadering in combinatie met een statistische extrapolatie systematiek. De generieke benadering is een waardevol instrument voor een grove risicoschatting. In feite is het een noodoplossing die op termijn verbeterd zou moeten worden. Langzaam is echter een algemeen gevoel ontstaan dat een ecologische benadering te moeilijk is en niet tot bruikbare resultaten leidt. Het gebrek aan bodembioologische gegevens is hier mede debet aan. De locatiestudies hebben laten zien dat er verbetering in de situatie mogelijk is. Weliswaar zijn

terrestrische- of bodemecosystemen meer dan de selectie kengetallen in de Bodembologische Indicator, maar de waarnemingen hebben zeker een toegevoegde waarde. Voor een volledig beeld zouden veel meer bovengrondse organismen deel moeten uitmaken van het beoordelingssysteem. Voor een beperkt aantal verontreinigde locaties (bijvoorbeeld de Volgermeerpolder uit de eerste serie TRIADE-studies) zijn er inventarisaties van vogels, zoogdieren, insecten en slakken (Tenner et al., 1999). Het nadeel van deze inventarisaties is vaak dat ze niet bij een éénmalig bezoek af te ronden zijn (dit geldt in mindere mate ook voor de vegetatie). Grotere organismen zijn bovendien minder plaatsgebonden en kunnen bijvoorbeeld fourageren in een schoon gebied en nestelen in een verontreinigd terrein, dat rustig is vanwege het feit dat het niet toegankelijk is voor het publiek. Met andere woorden, vaak is er een groot ‘hekeffect’ in ontoegankelijke gebieden. Afhankelijk van het soort gebied of de bestemming gaat er hier ook overlap optreden tussen natuur- en milieubescherming. Voor een aantal hogere organismen of doelsoorten zijn gegevens over doorvergiftiging beschikbaar. Het verzamelen van deze informatie vergt vaak uitgebreider onderzoek, dat echter niet geschuwd zou mogen worden, zeker niet gezien de belangen en kosten die met sanering gemoeid zijn. Expert-judgement wordt in de opzet van de TRIADE-methodiek genoemd als één van de eerste stappen om een ecologische beoordeling uit te voeren. In de praktijk blijkt dat echter niet zo snel en makkelijk uitvoerbaar. Dit hangt echter ook samen met de kennis en het werkterrein van de betreffende onderzoekers. Dit onderdeel van de TRIADE zou meer aandacht moeten krijgen in een volgende fase van het project. Het is nog niet duidelijk in hoeverre er bruikbare ontwikkelingen en standaardisatie heeft plaatsgevonden bij terrestrisch ecologisch onderzoek, op een zodanige wijze dat het kosteneffectief is in te zetten voor de locatiestudies.

De bodemecologische waarnemingen hebben nog te kampen met het feit dat er geen ‘bodem-natuurdoeltypen’ bestaan. Toch begint een oplossing hiervoor in zicht te komen. Door een grootschalig onderzoekprogramma als de Bodembologische Indicator ontstaat er snel een beeld van het voorkomen en de diversiteit van bodemorganismen in verschillende grondsoorten en landgebruiktypen. Deze kennis kan gebruikt worden om een meer algemene referentie te geven voor de bodembologische situatie op verontreinigde locaties. Wanneer dat mogelijk is blijft een met zorg gekozen lokale referentie van groot belang in verband met het specifieke historische bodemgebruik ter plekke.

Tot besluit

De TRIADE wordt steeds vaker toegepast bij locatiespecifieke risicobeoordeling. Het is een geschikte methode om de conceptuele onzekerheden bij de ‘standaard’ stofgerichte beoordelingen te verminderen. Met name bij ernstige verontreinigde locaties, omdat de risico’s niet voor iedereen even duidelijk zijn, omdat ze niet simpelweg kunnen worden afgelezen aan ‘verwoestijning’, of ernstige aantasting van het ecosysteem. Ecosystemen hebben de neiging nog lang ‘groen’ te blijven, ook al is er verontreiniging pregnant aanwezig (bijvoorbeeld boven de interventiewaarde). Bij de lokale beheerders en bevoegde gezagen dringt zich daarom de vraag op of sanering in alle gevallen wel nodig en gewenst is: sanering

zelf heeft immers vaak wel desastreuze gevolgen voor het ecosysteem; in ieder geval op de korte termijn.

Deze krachten vormen overigens wel het gevaar van een oneigenlijk gebruik de systematiek, namelijk door de potentiële effecten van stofgehalten te bagatelliseren. De TRIADE-benadering is een uitstekend instrument om de relatieve risico's nauwkeurig in beeld te brengen. De TRIADE is veel minder geschikt om het absolute risico aan te geven; in dat opzicht scoort de systematiek niet persé beter dan de stofgerichte, milieuchemische beoordeling. Het feit dat de huidige TRIADE in onbalans lijkt te zijn versterkt overigens het idee dat de huidige generieke normstelling 'te streng' is om hetzelfde concept toe te passen bij een locatiespecifieke risicobeoordeling. Om deze ongemakkelijke situatie te verbeteren is op korte termijn extra inspanning gewenst voor de andere TRIADE-elementen. De achterstand op de stofgerichte benadering is immers groot, terwijl er ook nu nog steeds meer aandacht aan wordt besteed. De extra inspanning moet dan wel gericht zijn op het gebruik van biologische technieken in een context van een risicobeoordeling. Dat houdt in dat het raamwerk voor toepassing van dit type gegevens ten alle tijden benut moet worden, bijvoorbeeld in de hier geschetste TRIADE. Pas dan kan de ervaring worden benut voor een verbetering van de huidige kwantitatieve TRIADE.

5 Conclusies en aanbevelingen

- De TRIADE is een geschikte methode om de conceptuele onzekerheden bij de ‘standaard’ stofgerichte beoordelingen te verminderen. Dit geldt met name bij ernstige verontreinigen, waar chemische normen (gebaseerd op totaal concentraties) niet meer onderscheidend zijn.
- Berekening van de op basis van stofconcentraties lijkt systematisch tot een veel hogere risicoschatting te leiden dan gegevens uit bioassays en veldonderzoek. De berekening is weinig onderscheidend voor locaties waar interventiewaarden meervoudig overschreden worden.
- Binnen het onderdeel chemie is gebruik gemaakt van gemeten poriewater-concentraties om de mate van effect (Toxische Druk) te berekenen. Dit blijkt in beperkte mate een beter onderscheid te geven en te leiden tot lagere effectniveau's. Voor poriewater of grondwater bestaan geen HC₅₀-waarden. In plaats hiervan zijn normen voor oppervlaktewater gebruikt. Daarbij wordt aangenomen dat blootstelling aan stoffen in het bodemvocht dezelfde effecten geeft als in een aquatisch ecosysteem. Gezien de verschillen tussen bodem en water en de daarin voorkomende organismen levert ook deze methode geen optimale risicoschatting.
- De keuze van bioassays, toegesneden op een bepaald bodem- of ecosysteemtype, is zeer beperkt. Bestaande biotoetsen zijn vaak niet geschikt voor grondsoorten uit het veld, waardoor teruggegrepen moet worden naar algemene toetsen (Microtox of PAM) met grondextracten.
- Er zijn verschillende bodemecologische indicatoren gemeten volgens de systematiek van ‘de Bodembioologische Indicator’. De meeste gaven onderscheid tussen de monsters, maar een lager effect dan op grond van het TRIADE-onderdeel chemie verwacht zou worden. Daarbij speelde een gebrek aan duidelijke concentratiereeksen parten.
- Het feit dat de huidige TRIADE in onbalans lijkt te zijn versterkt het idee dat de huidige normstelling ‘te streng’ is om hetzelfde concept toe te passen bij een locatiespecifieke risicoboorndeling. Dit vraagt op korte termijn om een extra inspanning voor de ontwikkeling van toxicologische en ecologische methoden.
- Er bestaat een gevaar voor oneigenlijk gebruik van de TRIADE-systematiek, wanneer potentiële effecten worden gebagataliseerd. Ook de TRIADE-benadering is (noodgedwongen) slechts een beperkte steekproef uit de toxicologische en ecologische eigenschappen. Daar staat tegenover dat een risicoboorndeling uiteindelijk tot doel heeft om effecten op het ecosysteem te schatten. Het ligt dan ook voor de hand om meer aandacht te geven aan de ecologische aspecten ter plekke, zeker nu zich daarvoor betere mogelijkheden aandienen.

- De verontreinigingsgraad was op twee van de drie locaties hoger dan verwacht op basis van beschikbare informatie vooraf. De monsters van de vloeivelden Tilburg voldeden het best aan de doelstelling om een uitgebreide TRIADE-beoordeling uit te voeren langs een gradiënt van matig verontreinigde gronden. De methodiek gaf ook hier onderscheid met een gradatie in effecten weer, en is dus ook op minder vervuilde locaties bruikbaar.
- Het verkrijgen van geschikte referentiegegevens is binnen elk TRIADE-onderdeel een essentieel aspect van de beoordeling. Bij het ontbreken van een goede lokale referentie zou teruggevallen moeten kunnen worden op een algemeen beoordelingskader voor elk TRIADE-onderdeel. Ecologische waarnemingen zijn het meest afhankelijk van geschikte referentiegegevens.
- Voor sommige toetsen (Microtox, PAM) kan gekozen worden voor een theoretische referentie of een gestandaardiseerd nul-niveau. Dit geldt ook voor PICT-metingen en vegetatie-opnames.

Aanbevelingen:

- Het onderzoek op de verontreinigde locaties is oriënterend uitgevoerd bij zoveel mogelijk verschillende situaties. Door het ontbreken van herhaalde waarnemingen zijn de verschillen tussen proefvelden niet statistisch te onderbouwen. Het onderzoek zou zich in een volgende fase meer moeten richten op uitbreiding van het aantal metingen (replica's per proefveld) waardoor effecten statistisch kunnen worden aangetoond.
- In het TRIADE-onderdeel chemie wordt de Toxische Druk berekend op basis van chemische bepalingen en de verhouding tot de HC_{50} voor verschillende stoffen. Deze manier van risicobeoordeling is in feite **niet** locatiespecifiek, omdat gebruik wordt gemaakt van een generieke HC_{50} . Het verdient de voorkeur om de Toxische Druk zo mogelijk af te leiden uit Species Sensitivity Distributions, van groepen of soorten die in de bodem van de betreffende locatie aanwezig zijn. De haalbaarheid hiervan zou nader onderzocht moeten worden.
- De HC_{50} is gebaseerd op de verdeling van No Effect Concentrations van stoffen in standaard laboratorium-testen. Deze lijkt een overschatting te geven van de effecten die in het veld kunnen worden waargenomen. Ondanks de veiligheidsmarge die hiermee ingebouwd is voor ecosysteemprocessen die niet gemeten kunnen worden, is het zinvol te onderzoeken of een betere afsteming tussen theorie en praktijk te bereiken is door potentiële risico's te baseren op EC_{50} -waarden uit laboratorium experimenten.
- In deze drie locatiestudies is geen aandacht besteed aan de eerste stappen uit de Basisbenadering. Hiermee is afgeweken van de oorspronkelijke methodiek waar de TRIADE deel van uit maakt. Ter voorbereiding van een eindadvies over uniformering van methodiek voor locatiespecifieke risicobeoordeling, kan een demonstratie-project worden opgezet. Het is aan te bevelen om hierin de Basisbenadering uit te voeren met een TRIADE, naast een beoordeling volgens de huidige Urgentie-systematiek (SUS).

Literatuur

- BEVER, 1999. Van trechter naar zeef, afwegingsproces saneringsdoelstelling. Eindredactie T. Edelman, UPR BEVER, Sdu uitgevers, Den Haag, ISBN 90 12 088437.
- Boivin, M.Y., A.M. Breure, L. Posthuma, M. Rutgers, 2002. Determination of field effects on contaminants – significance of Pollution-Induced Community Tolerance. Human and Ecological Risk Assessment vol. 8, no 5: 1035-1055.
- Bongers, T., 1990. The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia* 83: 14-19
- Bloem, J., L. Bouwman, P. Bolhuis, M. Veninga, A.Vos, 2000. TRIADE: veldinventarisaties van micro-organismen en microcosmosproeven. NOBIS 98-1-28.
- Boivin, M., Y., A.M. Breure, L. Posthuma, M. Rutgers, 2002. Determination of field effects of contaminants – significance of Pollution-Induced Community Tolerance. Human and Ecological Risk Assessment: vol 8 (5) 1035-1055.
- Bosveld, A.T.C., T.C. Klok, J.M. Bodt, M. Rutgers, 2000. Ecologische risico's van bodemverontreinigingen in toemaakdek in de gemeente De Ronde Venen. Alterra-rapport 151, Research Instituut voor de Groene Ruimte, Wageningen.
- Breure, A.M., A.J. Schouten, M. Rutgers, 2002. Het bodemleven als indicator voor duurzaam bodemgebruik. *Bodem* 4: 149-159
- De Zwart, D., M. Rutgers, J. Notenboom, 1999. Bepaling van het locatiespecifieke ecologische risico van bodemverontreiniging: een opzet voor een beoordelingssystematiek. RIVM rapport 711701011.
- Didden, W.A.M., 1991. Population ecology and functioning of Enchytraeidae in some arable farming systems. PhD Thesis Agricultural University Wageningen, 116 pp.
- Dirven, E.M., P.L.A. van Vlaardingen, W.J.G.M. Peijnenburg, D.T.H.M. Sijm, L. Posthuma, 2002. Pilotstudie naar toetsing van ecologische relevantie van soorten voor normstelling. RIVM rapport 607220007.
- Ettema, C.H., T. Bongers, 1993. Characterization of nematode colonization and succession in disturbed soil using the Maturity Index. *Biology and Fertility of Soils* 16: 79-85.
- INS, 1999. Integrale Normstelling Stoffen, milieukwaliteitsnormen bodem, water en lucht. Interdepartementale stuurgroep INS. VROM, Den Haag.
- IWACO, 1995. Eindrapportage Nader onderzoek Laarder Waschmeercomplex. Incl. bijlagen.
- IWACO, 1998. Eindrapportage Ecohydrologisch inrichtingsplan Laarder Wasmeren.
- Lijzen, J.P.A., A.J. Baars, G.H. Crommentuijn, P.F. Otte, E. van de Plassche, M.G.J. Rikken, C.J.M. Rompelberg, A.J.A.M. Sips, F.A. Swartjes, 1999. Herziening interventiewaarde lood: evaluatie van de afleiding van de interventiewaarde grond/sediment en grondwater. RIVM rapport 711701013.
- Milieubalans, 2002. Het Nederlandse milieu verklaard, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu. Uitgeverij Kluwer Alphen aan den Rijn.

- Muijs, B., J.E. Groenenberg, W. Hendriks, J. Bloem, W. Ma, A. Verheggen, R. Aben, in druk. Noorderbos Tilburg fase A: opname nulsituatie en eerste monitoringsronde. CUR/SKB, Gouda.
- Muyzer, G., E.C. de Waal, A.G. Uitterlinden, 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology* 59: 695-700.
- Oostenbrink, M., 1960. Estimating nematode populations by some selected methods. In: J.N. Sasser & W.R. Jenkins(eds.): *Nematology*, The University of North Carolina Press, Chapel Hill, pp. 85-102.
- Paulus R., J. Römbke, A. Ruf, L. Beck, 1999: A comparison of the litterbag-, minicontainer- and bait lamina-method in an ecotoxicological field experiment with diflubenzuron and btk. *Pedobiologia* 43:120-133.
- Rutgers, M., J. Faber, J. Postma, H. Eijsackers, 1998. Locatiespecifieke ecologische risico's: een basisbenadering voor functiegerichte beoordeling van bodemverontreiniging. Rapporten Programma geïntegreerd Bodemonderzoek deel 16, ISBN 90 73270 308, Programma geïntegreerd Bodemonderzoek, Wageningen, The Netherlands.
- Rutgers, M., J. Postma, J. Faber, 2000. Uitwerking van de Basisbenadering voor de locatiespecifieke, functiegerichte ecologische risicobeoordeling van bodemverontreiniging voor de praktijk. Rapporten Programma geïntegreerd Bodemonderzoek deel 29, ISBN 90-73270-43-X, PGBO, Wageningen, The Netherlands.
- Rutgers, M., J.J. Bogte, E.M. Dirven-van Breemen, A.J. Schouten, 2001. Locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling – praktijkonderzoek met een TRIADE-benadering. RIVM rapport 711701026.
- Schouten, A.J., L. Brussaard, P.C. de Ruiter, H. Siepel, N.M. van Straalen, 1997. Een indicatorsysteem voor life support functies in relatie tot biodiversiteit. RIVM rapport 712910005.
- Schouten, A.J. A.M. Breure, J. Bloem, W. Didden, P.C. de Ruiter, H. Siepel, 1999. Life support functies van de bodem: operationalisering t.b.v. het biodiversiteitsbeleid. RIVM rapport 607601003
- Schouten, A.J., J. Bloem, A.M. Breure, W.A.M. Didden, G. Jagers op Akkerhuis, H. Keidel, M. Rutgers, 2002. Bodembologische Indicator 1999, ecologische kwaliteit van graslanden op zandgrond bij drie categorieën melkveehouderijbedrijven. RIVM rapport 607604003.
- Schouten, A.J., J. Bloem, W.A.M. Didden, M. van Esbroek, P.C. de Ruiter, M. Rutgers, H. Siepel, H. Velvis, 2000. Pilotproject Bodembologische Indicator voor Life Support Functies van de Bodem. RIVM rapport 607604001.
- Swartjes, F.A., 1999. Risk-based assessment of soil and groundwater quality in the Netherlands: standards and remediation urgency. *Risk Analysis* 19: 1235-1249.
- Tenner, W.A., A. Brouwer, M. Melchers, G. Wijten, 1999. Volgermeerpolder, natuurwaarde en kansen voor natuurontwikkeling. Dienst Ruimtelijke Ordening Amsterdam, Planteam Openbare ruimte, Groen en Stadsecologie.

- Van Beusekom, S.A.M., W. Admiraal, A. Sterkenburg, D. de Zwart, 1999. Handleiding PAM-Test, ECO notitie 98/09, Laboratorium voor Ecotoxicologie, RIVM, Bilthoven.
- Van der Waarde, J., M. Wagelmans, R. Knoben, T. Schouten, J. Bogte, R. de Goede, T. Bongers, W. Didden, P. Doelman, H. Keidel, F. Kerkum, J. de Jonge. Eindrapportage Analyse nematoden bestand. SKB project 99.1259.
- Verbruggen, E.M.J., R. Posthumus, A.P. van Wezel, 2001. Ecotox SRC for soil, sediment and (ground)water: updated proposal for first series of compounds. RIVM report 711701020.

Overzicht bijlagen

Bijlage 1. Plattegronden en foto's van de onderzoekslokaties

- 1.1 Vloevelden Tilburg
- 1.2 Laarder Wasmeren
- 1.3 Doetinchem

Bijlage 2. Fysisch-chemische methoden

- 2.1 Bepaling van het organisch stofgehalte van de grond
- 2.2 Bepaling van het lutumgehalte en korelgrootteverdeling van van de grond
- 2.3 Minerale olie-analyse
- 2.4 Bodemextracten voor Microtox- en PAM-algentoets

Bijlage 3. Bioassays

- 3.1 Toxiciteitsbepalingen met *Vibrio fischerii* volgens de Microtox-toetsmethode
- 3.2 PAM-algentoets
- 3.3 Slakiem-experiment
- 3.4 Biolog-experimenten

Bijlage 4. Ecologische waarnemingen

- 4.1a Nematoden Tilburg
- 4.1b Nematoden Laarder Wasmeren
- 4.1c Nematoden Doetinchem
- 4.2 Microbiologische kenmerken Tilburg en Laarder Wasmeren
- 4.3 Wormen Tilburg en Laarder Wasmeren
- 4.4 Potwormen Tilburg en Laarder Wasmeren
- 4.5 Mijten Tilburg
- 4.6 Vegetatie Laarder Wasmeren

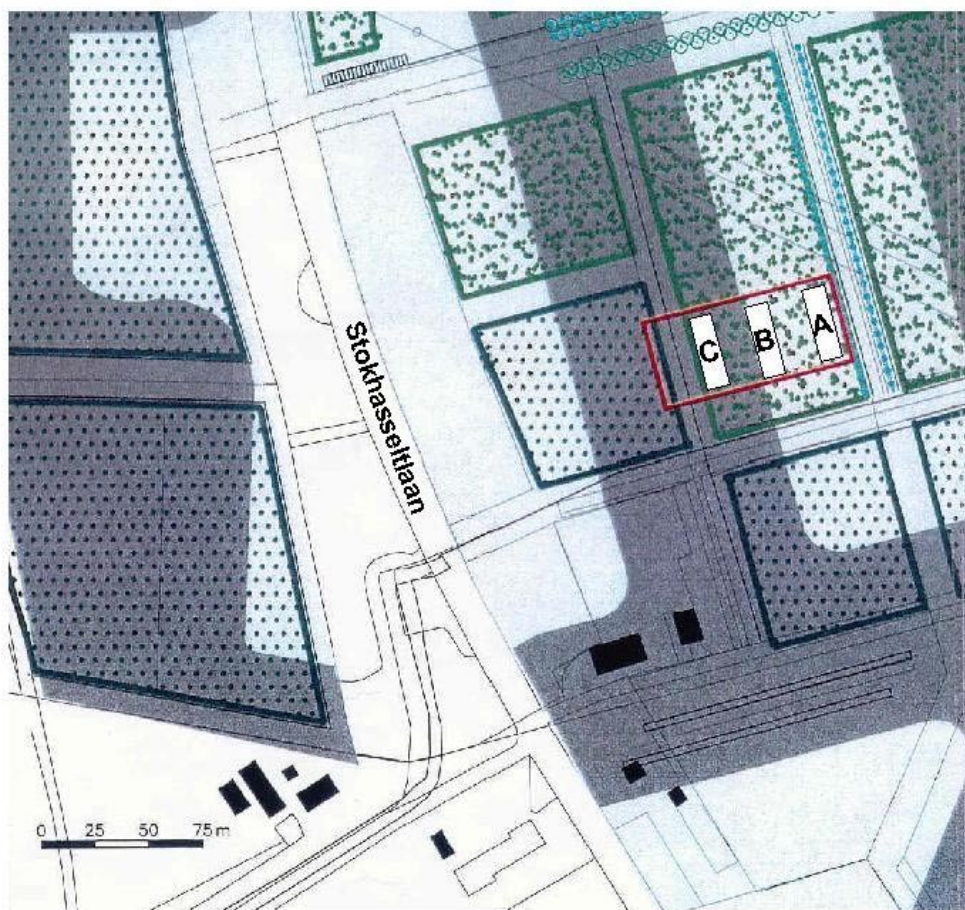
Bijlage 5. Chemische analyses

- 5.1 Zware metalen in grondextracten
- 5.2 Analyses organische verbindingen

Verzendlijst

BIJLAGE 1. PLATTEGRONDEN EN FOTO'S VAN DE ONDERZOEKSLOKATIES

1.1 Vloevelden Tilburg



Plattegrond vloevelden Tilburg

Bemonsteringslokaties: proefveld 1 (rood kader) met zones A, B en C

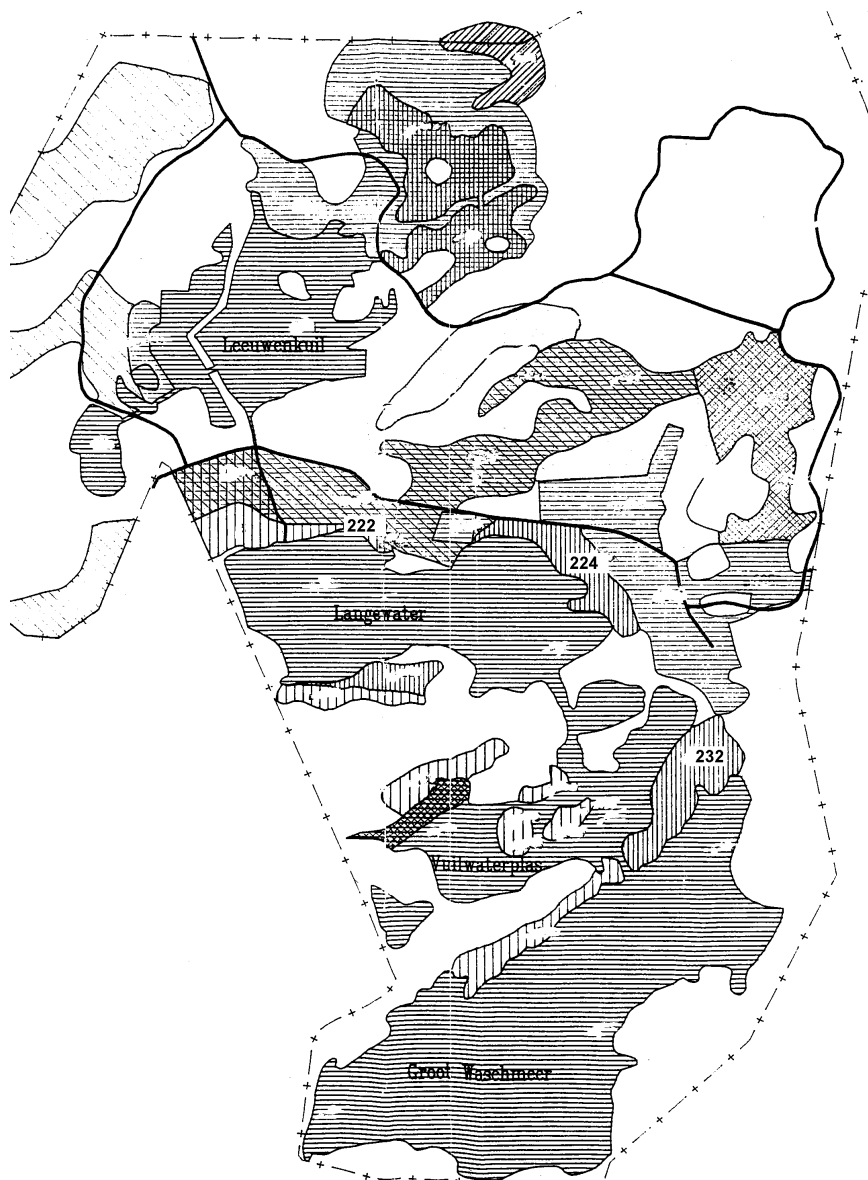


Vloevelden Tilburg – overzicht proefveld 1



Vloevelden Tilburg – zone A van proefveld 1

1.2 Laarder Wasmeren



Plattegrond Laarder Wasmeren

Bemonsteringslokaties: veldnummers 222, 224 en 232

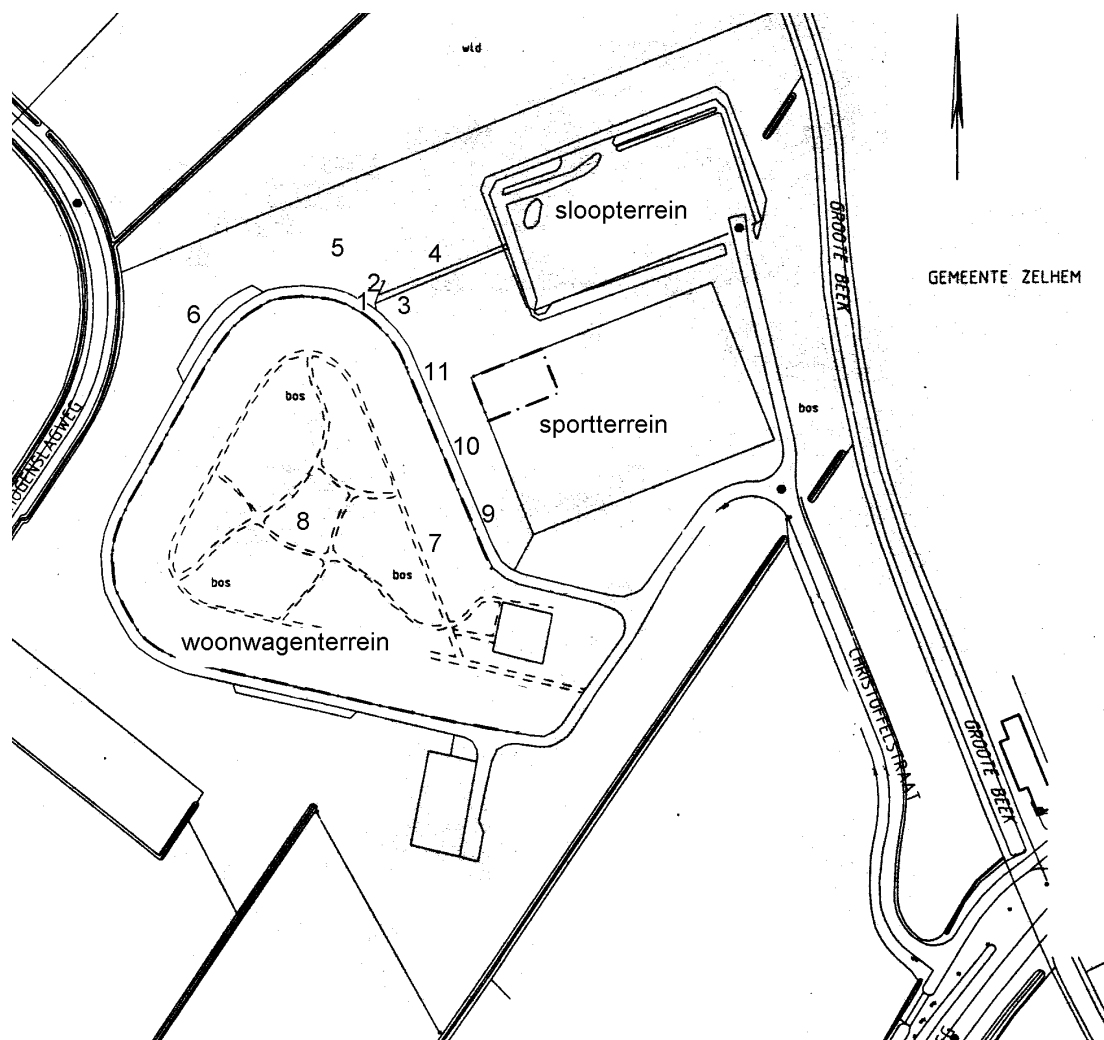


Laarder Wasmeren – overzichtsfoto



Laarder Wasmeren - veldnummer 222

1.3 Doetinchem



Plattegrond lokatie Doetinchem

Bemonsteringslokaties: nummers 1 t/m 11 (voor beschrijving zie tekst hst 3.4.2)



Doetinchem – rand woonwagenterrein (lokatie 9)



Doetinchem – rand woonwagenterrein (lokatie 10)

BIJLAGE 2. FYSISCH- CHEMISCHE METHODEN

2.1 Bepaling van het organisch stofgehalte van de grond

Een hoeveelheid grond wordt in een oven bij 105 °C gedroogd waardoor de grond zijn poriewater verliest. Daarna wordt deze grond verhit bij 450 °C of 550 °C. Daardoor zullen organische stoffen oxideren, zal kristalwater ontwijken en zullen sommige verbindingen vervluchtigen.

Na deze stap wordt de grond verhit tot 900 °C. Hierdoor zullen de carbonaten worden ontleed tot CO₂. Na iedere temperatuurstap wordt het gewicht van de grond bepaald. Het deel dat na de verhitting bij 900 °C is verdwenen is het organisch stofgehalte van de grond, ook wel gloeiverlies genoemd.

2.2 Bepaling van het lutumgehalte en de korrelgrootte-verdeling van grond

Bij deze methode wordt het lutumgehalte en de korrelgrootteverdeling van grond- en waterbodemmonsters berekend als percentage van het drooggewicht van het monster. De grond wordt behandeld met waterstofperoxyde om de organische stof te oxideren. Daarna volgt een behandeling met zoutzuur om de aanwezige carbonaten om te zetten in koolstofdioxide. Nadat de zandfractie door zeven is afgescheiden wordt de fractie kleiner dan 38 µm overgebracht in een standcilinder. De lutum fractie wordt vervolgens bepaald door op van tevoren vastgestelde tijdstippen en diepten een exacte hoeveelheid suspensie uit de cilinder te pipetteren en in te dampen en te wegen. Daarna worden de lutum-fractie en eventuele andere fracties berekend op basis van drooggewicht. De korrelgrootteverdeling van de fracties > 38 µm wordt bepaald door het op de zeef achtergebleven materiaal te drogen, te zeven en te wegen.

De randvoorwaarden van deze methode is dat het monster deeltjes bevat van < 2 mm en dat het gehalte aan anorganisch koolstof bekend is.

Literatuur

NEN 5753 (13 aug. 1991): Bepaling van lutumgehalte en korrelgrootteverdeling met behulp van zeef en pipet, Nederlands Normalisatie-Instituut, Delft.

SOP ECO/313: Bepaling van lutumgehalte en korrelgrootteverdeling met behulp van zeef en pipet.

2.3 Minerale olie-analyse

De analyses zijn uitgevoerd op basis van de voorschriften van ontwerp NEN5733.

Per (gedroogd) grondmonster is circa 10 gram geëxtraheerd met tweemaal 20 ml freon-112.

Het extract is via een glasvezelfilter overgebracht in een 50 ml maatkolf en aangevuld tot de streep. Daarna is circa 1 gram florisil toegevoegd ter verwijdering van eventuele

meegeëxtraheerde polaire verbindingen. Vervolgens is circa 3 ml extract overgebracht in een 1 cm kwartscuvet voor de extinctiebepaling met IR. Tevens is een blanco-analyse uitgevoerd. De extinctiemetingen zijn uitgevoerd met een Perkin-Elmer 2000 FT-IR spectrometer, resolutie 2/cm, 16 scans co-added. Per spectrum is gecorrigeerd voor de oplosmiddelabsorpties door subtractie van het spectrum van freon-112. Vervolgens is aan de hand van de gemeten extincties bij 3050, 2958 en 2925/cm volgens voorschrift de concentratie aan minerale olie berekend in mg/kg droge stof (formule onder 8.5.1 uit ontwerp NEN 5773).

2.4 Bodemextracten voor Microtox- en PAM-algentoets

Het extraheren van grondmonsters voor de Microtox- en PAM-toets is als volgt uitgevoerd:

A. Materialen:

Schudplateau.

Centrifuge (max 20000 rpm).

Demiwater.

Extractievloeistof: 2mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

B. Methode

1. Veldvochtige grond op WHC 100 brengen (WHC = water holding capacity)

Voorbeeld: grondmonster met de volgende vochtgehalten:

Veldvochtig: 10 % H_2O . *WHC 100*: 50 % H_2O (volledig verzadigd).

Gewicht van 100g veldvochtige grond wordt, na aanvullen met demiwater tot WHC 100:
 $100/1,1 \times 1,5 = 136,4 \text{ g}$.

Dus toevoegen aan 100g van *deze* veldvochtige grond: 36,4 ml demiwater => WHC 100.

Totaal wordt de extractievloeistof aan de grond toegevoegd in de verhouding Liquid/Solid = 1 (l/kg drooggewicht). De extractie wordt gedurende 24 uur uitgevoerd in twee stappen, iedere keer met de halve hoeveelheid extractievloeistof. Eerst een stap van 6 uur, daarna een stap van 18 uur.

2a. Eerste extractiestap (6 uur)

- Extractievloeistof toevoegen aan de grond met WHC 100 in de verhouding $\text{L/S} = 0,5$ (l/kg DW).
- In afgesloten fles 6 uur op schudplateau bij ongeveer 230 rpm.
- Laat het materiaal bezinken en giet het supernatant af.
- Centrifugeren (zie punt 3).

2b. Tweede extractiestap (18 uur)

- Voeg de pellets uit de centrifugebuizen toe aan het oorspronkelijke materiaal in de schudfles.
- Voeg opnieuw extractievloeistof toe in de verhouding $\text{L/S} = 0,5$ (l/kg DW).
- In afgesloten fles 18 uur op schudplateau bij ongeveer 230 rpm.
- Laat het materiaal bezinken en giet het supernatant af.

- Centrifugeren (zie punt 3).
- Voeg het heldere extract in gelijke verhouding toe aan het extract van de eerste stap

3. Centrifugeren

Ook het centrifugeren wordt uitgevoerd in twee stappen. Bij de eerste stap wordt het grove materiaal afgescheiden, waarna de nog troebele vloeistof bij hoge snelheid wordt afgedraaid om het helder te krijgen. De twee stappen worden als volgt uitgevoerd (beide gekoeld bij 5 °C):

- 10 minuten centrifugeren bij 5000 rpm (4000 g) in ruime centrifugebuizen.
- Supernatant overgieten in glazen Corex centrifugebuizen en vervolgens 10 min. centrifugeren bij 20.000 rpm (40.000 g).
- Supernatant uit Corexbuizen afschenken in een flesje en bewaren bij 4 °C.

4. Nabewerking

- Als er nog zwevende deeltjes zichtbaar zijn: laten bezinken en opdrijven, daarna helder deel van het extract voorzichtig overpipetteren naar een schoon flesje.
- Zonodig op pH stellen. De Microtox- en/of PAM-testen vereisen een pH van ongeveer 7.

BIJLAGE 3. BIOASSAYS

3.1 Toxiciteitsbepalingen met *Vibrio fischeri* volgens de Microtox toetsmethode

Het Microtox toetsmethode (Microbics Corporation, Carlsbad, CA) is een gestandaardiseerd testsysteem, waarbij gebruik gemaakt wordt van de bioluminescerende bacteriestam *Vibrio fischeri*, een mariene bacterie (voorheen: *Photobacterium phosphoreum*). Deze bacterie produceert luciferine, een energierijke stof die als nevenprodukt van de citroenzuurcyclus ontstaat. Onder invloed van het enzym luciferase kan uit deze stof energie vrijgemaakt worden in de vorm van licht. Als de bacterie in contact komt met een stof die ingrijpt in het metabolisme of de membranen verstoort, dan zal er minder luciferine aangemaakt kunnen worden en zal een vermindering van lichtafgifte optreden. Deze lichtafgifte wordt gemeten met een lichtgevoelige cel. De mate van reductie van de luminescentie is evenredig met de toxiciteit van een monster.

Literatuur

NEN norm 6516: Water - Bepaling van de acute toxiciteit met behulp van *Photobacterium phosphoreum*, augustus 1991.

3.2 PAM-algentoets

De groenalg *Selenastrum capricornutum* wordt gedurende 4.5 uur blootgesteld aan een concentratie van een toxicant (hier: aan een grondextract). Hierna wordt de remming van de fotosynthese-efficiëntie bepaald met behulp van een PAM-fluorometer, die gekoppeld is aan een autosampler en een computer. Vervolgens worden de effecten van de toxicant op het fotosynthese-efficiëntie gekwantificeerd (EC₅₀).

Literatuur

Handleiding PAM-TEST. RIVM, ECO notitie 98/09. S.A.M. van Beusekom, W. Admiraal, A. Sterkenburg, D. de Zwart

3.3 Slakiem-experiment

Bij deze methode worden plantenzaden van de soort *Lactuca sativa* aan grondmonsters blootgesteld, waarna de kieming van de zaden wordt geregistreerd.

Allereerst wordt de WHC (Water Holding Capacity) van de grondmonsters bepaald, en worden deze op WHC 75 gebracht met behulp van milli-Q water. Daarna worden per monster twee petrieschalen met grond gevuld en worden er per schaal 40 zaden op de grond gelegd.

Het vochtgehalte van de grond wordt dagelijks middels wegen gecontroleerd en zonodig op peil gebracht met behulp van milli-Q water. De grondmonsters met zaden worden geïncubeerd in een klimaatkamer bij 80% RV, een temperatuur van 20 °C en een licht (6000LUX)/donker regiem van 16h/8h. Dagelijks wordt het aantal ontkiemde zaden genoteerd. Kiemingspercentage en de kiemvertraging in de verschillende gronden wordt bepaald.

3.4 Biolog-experimenten

De Biolog-methode lijkt qua technische opzet veel op een bioassay, maar is in feite een methode om ecologische waarnemingen te berichten aan microbiologische populaties. Uit grond worden bacteriesuspensies geëxtraheerd door grond te mengen met met BisTris buffer. Van deze suspensies wordt een verdunnings reeks gemaakt in fysiologisch zout. Een gedeelte van deze verdunningen wordt uitgeplaat op agarplaten met Tryptin Soya Broth. Na incubatie bij 34 °C worden de kolonie vormende units (CFU's) op deze platen geteld na twee en acht dagen. Het andere gedeelte van deze verdunningen wordt in microtiterplaten gepipetteerd. De platen bevatten 96 welletjes met verschillende substraten (koolstofbronnen en redoxkleurstof) voor bacteriën. De verkleuring van de welletjes van de platen, onder invloed van de omzetting van de koolstofbron wordt twee keer per dag gemeten gedurende 7 dagen met behulp van een Biolog apparaat. De condities gedurende de meetperiode zijn 20 °C en 95% RV. De metingen van beide experimenten (CFU's en Biolog) worden in hiervoor speciaal geschreven programma's uitgewerkt. De resultaten bestaan uit het gemiddelde aantal CFU's, AWCD (Average Well Color Development) en de CLPP (Community-Level Physiological Profile).

BIJLAGE 4. RESULTATEN (BODEM)BIOLOGISCH VELDONDERZOEK

4.1a Nematoden Tilburg

Aantal nematoden per 100 g verse grond				
	Vloeiervelden Tilburg			
Nematodentaxa	TV-A	TV-B	TV-C	Totaal
Acrobeles	143	123	551	817
Acrobeles ciliatus	48			48
Acrobeles mariannae			46	46
Acrobeloides B	119	164	459	742
Acrobeloides C			46	46
Alaimus	24	41		65
Anaplectus	119	902	1240	2261
Anaplectus granulosus	48	205	275	528
Aphelenchoides	48	41	184	272
Aphelenchus	24	41		65
Aporcelaimellus	71	246	138	455
Aporcelaimellus obtusicaudatus			92	92
Aporcelaimellus paraobtusicaudatus	24			24
Cephalobidae	48	164	367	579
Clarkus	71			71
Clarkus papillatus		41	92	133
Dauerlarve	48	123		171
Diphtherophora	24			24
Diploscapter			46	46
Ditylenchus		41		41
Dolichodoridae	595	328	1010	1933
Dorylaimoidea	95	287	138	520
Eucephalobus	190	410	781	1381
Eucephalobus mucronatus			46	46
Eucephalobus oxyuroides	286	164	321	771
Eucephalobus striatus	48		92	139
Helicotylenchus	24	82	46	152
Helicotylenchus pseudorobustus	48	82		130
Hemicycliophora	24			24
Heterocephalobus			46	46
Meloidogyne naasi	24			24
Metateratocephalus	405	287		692
Mononchidae	24			24
Neodiplogasteridae		123		123
Panagrolaimus	24	205	138	367
Panagrolaimus detritophagus			46	46
Panagrolaimus rigidus	24		46	70
Plectidae		82		82
Plectus	286	205		491
Plectus parietinus		41		41
Pratylenchus	71	82	92	245
Pratylenchus crenatus		41		41
Pratylenchus penetrans		41		41
Prismatolaimus	238	164		402
Qudsianematidae	24			24
Rhabditidae	214	164	321	700
Teratocephalus	214	943	46	1204
Teratocephalus terrestris		82		82
Thonus minutus	24			24
Thornematidae			92	92
Trichodoridae		123		123
Trichodorus	48	82	92	221
Tylenchidae	71	82	184	337
Tylenchorhynchus		205	184	389
Tylenchorhynchus dubius	48	123		171
Tylenchorhynchus maximus			46	46
Wilsonema	24			24
Totaal	3927	6563	7300	

4.1b Nematoden Laarder Wasmeren

Aantal nematoden per 100 g verse grond				
	Laarder Wasmeren			
Nematodentaxa	Was-222	Was-224	Was-232	Totaal
Acrobeles		31		31
Acrobeloides B	117	530	73	719
Acrobeloides C	13	31	3	47
Acrobeloides D	6		3	9
Acrolobus 1soort!		31		31
Acrolobus emarginatus		31		31
Alaimus	13			13
Anaplectus	13			13
Aphelenchoides	123	31	174	328
Aporcelaimellus		31	6	37
Aporcelaimellus obtusicaudatus		62		62
Cephalenchus			3	3
Cephalobidae	58	125	20	203
Cephalobus persegnis		31		31
Cervidellus	6			6
Clarkus		62		62
Coslenchus costatus	6			6
Cuticularia			3	3
Dauerlarve		31	3	34
Diplogasteridae	13		3	16
Ditylenchus	13		6	19
Dolichodoridae	19			19
Dorylaimoidea	6	156	6	168
Eucephalobus	71	841	34	946
Eucephalobus mucronatus		62		62
Eucephalobus oxyuroides	6	93		100
Eucephalobus striatus	6			6
Eumonhystera		62	3	65
Helicotylenchus	6	93		100
Helicotylenchus pseudorobustus		31		31
Hemicyclophora		62		62
Metateratocephalus	13	31		44
Monhysteridae	6	31	3	40
Panagrolaimus	45	93	20	159
Paratylenchus	6	561	3	570
Paratylenchus nanus		125	6	130
Paratylenchus projectus		343	6	348
Plectidae	6	31	6	43
Plectus	71	93	25	190
Plectus longicaudatus	6			6
Plectus parvus	6			6
Pratylenchus			3	3
Prismatolaimus	13	125		138
Prismatolaimus intermedius		62		62
Qudsianematidae	6			6
Rhabditidae	97	187	3	287
Teratocephalus tenuis	6			6
Teratocephalus	45	62	6	113
Thornematidae	19	62		82
Trichodorus		31		31
Tylenchidae	149	561	34	744
Tylenchorhynchus dubius			3	3
Wilsonema		93	6	99
Wilsonema otophorum		31		31
Totaal	1000	4953	457	

4.1c Nematoden Doetinchem

Aantal nematoden per 100 g verse grond																
DOE TINCHEM	A = maaiveld								B = 30 cm beneden maaiveld							
Nematodentaxa	D1A	D3A	D4A	D5A	D7A	D9A	D11A	Totaal A	D1B	D3B	D4B	D5B	D7B	D9B	D11B	Totaal B
Acrobeles					1059			1059	72	4		12	222		6	317
Acrobeloides nanus	181	113	223	333	79	318	47	1294	362	12	145	122	62	21	19	743
Alaimus			37	130	16			183			36	37		17		90
Anaplectus	217						8	225								
Anaplectus granulosus	36							36				12				12
Aphelenchoides	109	56			32	114	39	350	43			12		3	13	72
Aphelenchoides bicaudatus	109							109				12				12
Aphelenchus							23	23				12		3		16
Aporcelaimellus				19				19		4	54					58
Aporcelaimellus obtusicaudatus					16			16				98				98
Bastania				278				278			54		12	3		70
Bastania gracilis	36							36								
Cephalenchus hexalineatus							86	86				37			71	107
Cephalobus persegnis									289							289
Cervidellus				333			16	349			54	61		21	13	149
Chiloplacus									14							14
Clarkus papillatus	72		37					110				24		7		31
Coslenchus costatus	36		37				94	167	14		108					123
Criconematidae			37	185	16		351	590	14		90	61		7	96	269
Cuticularia oxycerca	36						16	52	723	60		12		3		799
Dauerlarve	1955	1033				191	47	3225		4	90	12		3	13	123
Diphtherophora communis			186		16			202			1085	637		3		1725
Diplogasteridae	36							36	72				12	3		88
Discolaimus															6	6
Ditylenchus	36	38	112			38	47	270	14	8	36	12		3		74
Dolichodoridae	217			315	221	38	8	799	43		18			3		65
Dorylaimoidea	145		112	259	237			753		4	54	49	49	10		167
Dorylaimus stagnalis	36							36								
Eucephalobus striatus	36	56		130		13	8	243	101	4		37				142
Eumonhystera			37			13		50				12				12
Gracilacus			1784					1784			18				6	25
Helicotylenchus pseudorobustus	36			19	142			197	14				99	35		148
Hemicycliophora		413			269	13		695	72	188			1729	122		2111
Hemicycliophora conida						13		13								
Hemicycliophora macristhmus										60						60
Heterocephalobus elongatus	72							72								
Malenchus							16	16							13	13
Mesodorylaimus bastiani	253							253								
Metaterocephalus	72		112	56				239		4						4
Panagrolaimus						38		38	58							58
Paramphidelus														3		3
Paratrichodorus				259	111		8	378		8	36	171		21	6	243
Paratylenchus						114	406	520	116	20	470			28	32	666
Paratylenchus neoamblycephalus											90					90
Plectus	36	19	223	259	111	13	8	669	14	12	18			3		48
Plectus parietinus			37					37		4						4
Plectus parvus												37				37
Pratylenchus		19		37		382		437		16	18	184	12	10	6	247
Pratylenchus penetrans						13		13								
Prismatolaimus	145	94	483	241	16	102	39	1119		16	36	24	25	10		112
Prismatolaimus intermedius										16						16
Protorhabditis oxyuroides	181	75						256								
Rhabditidae	869	563	335	74	47	153	39	2080	130	68	163	73		17	71	522
Rotylenchus			112					112	43				12		6	62
Rotylenchus uniformis					79		16	95						3		3
Sectionema pseudoventrale				19				19								
Teratocephalus		113		19				131		16	18					34
Teratocephalus costatus	181							181								
Thonus rhopalocercus (cf)					16			16								
Trichodorus														38		38
Trichodorus viruliferus													12			12
Tripyla filicaudata				19				19								
Tylenchidae	36	169	223	56	32	25	16	556		20	36	86	37	31	26	236
Tylenchorhynchus dubius	36		74					111					12			12
Wilsonema			37	37				74						3		3
Wilsonema otophorum					111			111								
Xiphinema diversicaudatum												49	12			61
Totaal	5213	2760	4238	3075	2625	1590	1335		2213	548	2730	1898	2310	443	405	

4.2 Microbiologische kenmerken Tilburg en Laarder Wasmeren

Lokaties	Thymidine	Leucine	Bacterial	Potential	Potential	Biolog			
	incorporation	incorporation	biomass	C-mineralization	N-mineralization	log CFU/g	log CFU-50	Helling	µg grond /
	(pmol/g.h)	(pmol/g.h)	(µg C/g dry soil)	(mg C/kg.wk)	(mg N/kg.wk)		awcd		50%omz.cap.
Vloeiervelden Tilburg									
TV-a	39,29	332,49	49,98	79,93	7,45	7,90	5,33	0,52	2691,53
TV-b	61,37	436,38	65,37	56,52	8,23	7,85	4,83	0,54	954,99
TV-c	99,10	734,09	91,05	67,90	9,68	8,22	4,92	0,54	495,45
Laarder Wasmeren									
Was-222	10,64	226,37	116,94	266,40	21,63	8,23	4,79	0,28	366,44
Was-224	26,72	355,83	80,31	86,93	12,54	8,06	4,71	0,48	450,82
Was-232	2,13	114,33	197,74	191,78	17,25	8,25	5,56	0,22	2027,68

4.3 Wormen Tilburg en Laarder Wasmeren

Aantal wormen per m ²						
Taxon	TV-a	TV-b	TV-c	Was-222	Was-224	Was-232
LUMSP	80,0	23,5	50,5		8,3	
LUMRUB	11,4	35,3	40,4		8,3	
Totaal	91,4	58,8	90,9	0,0	16,7	0,0

4.4 Potwormen Tilburg en Laarder Wasmeren

Aantal potwormen per m ²								
Lokatie	Taxon	Diepte						Totaal
Vloevelden Tilburg		A	B	C	D	E	F	
TV-A	Enchytraeus sp.	6						6
	Fridericia cf paroniana	2						2
	Fridericia sp.	2						2
	<i>Totaal</i>	10						10
TV-B	Cognettia sp.			1		1	1	3
	Enchytraeidae		1					1
	Enchytraeus sp.			3		2	1	6
	<i>Totaal</i>		1	4		3	2	10
TV-C	Enchytraeus sp.		2					2
	<i>Totaal</i>		2					2
Laarder Wasmeren								
Was-222	Cognettia sp.					1		1
	Enchytraeidae	3						3
	<i>Totaal</i>	3				1		4
Was-224	Enchytraeidae	3						3
	Enchytraeus buchholzi			3				3
	Enchytraeus sp.			3	2			5
	Fridericia	2	1					3
	Henlea cf ventriculosa	2						2
	Henlea perpusilla		1					1
	Henlea sp.				2			2
	<i>Totaal</i>	7	2	6	4			19
Was-232	Cognettia sp.	20	25					45
	Enchytraeus sp.	6					1	7
	<i>Totaal</i>	26	25				1	52

4.5 Mijten en springstaarten Tilburg

	Aantal mijten per monster (132 cm 3)									
Soorten mijten	TV a-1	TV a-2	TV a-3	TV b-1	TV b-2	TV b-3	TV c-1	TV c-2	TV c-3	Totaal
Amblyseius		1		1						2
Ceratophysella denticulata					6	4		1		11
Cheiroseius borealis		3	4	1					1	9
Demodex			34	5						39
Entomobryo lanuginosa					1					1
Eryophiidae	2								1	3
Erythraidae	1									1
Eupodes	9	11	10	18	17	7	8	3	12	95
Friesea truncata			1							1
Geholaspis longispinosus								1		1
Isotoma antennalis							627	8	23	658
Isotomiella minor		3						5		8
Isotomurus palustris	36	81	53	44	65	76	67	15	16	453
Lasioseius berlesei	5	5		1	2	2		1	2	18
Leioseius bicolor	10	1	2	2	10	3	7	5	14	54
Lepidocyrtus cyaneus			2				2			4
Lepidocyrtus lignorum		2	1			1				4
Liocthonius		4							1	5
Mesaphorura			2		5	5	10	4		26
Microppia minus	1	5	6	1	27		3		177	220
Microtydeus subteraneus	40	10	55	11	22	12	8	1	16	175
Onychiurus		1						1	1	3
Oppiidae	14	4	4	2	2		1	1	3	31
Peloptulus phaenotus		2	2							4
Pergamasus	7	4	18	4	1	4	49	7	10	104
Podocinum	2					1				3
Protodinychus punctatus							7			7
Pseudachorutes	3	5	7	11	21	9	7	1	18	82
Pygmephorus		5	15		1	1		1	4	27
Scutacarus	94	31	120	2	69	19		1	95	431
Scutovertex minutus	2	4								6
Sminthuridae			1	10			10	4	11	36
Sminthurinus	2	5								7
Symphyla							1			1
Tarsonemus	6		4	1	5					16
Tectocephus velatus	35	9	3	18	34					99
Trichoribates trimaculatus	23	4	2	4				2	2	37
Tydeus		2								2
Tyrophagus		2	5	8	9	2				26
Uropoda minima						1				1
Veigaia									1	1
Totaal	292	204	351	144	297	147	807	62	408	2712

4.6 Vegetatie Laarder Wasmeren

Vegetatie veld 222:

- Distel *Cirsium arvense*
- Brandnetel *Urtica urens*
- Biezen *Juncus effusus*
- Muur *Stellaria*
- Hoornbloem *Cerastium*
- Schapen zuring *Rumex acetosella*
- Jacobskruiskruid *Senecio jacobaeae*
- Wolfspoot *Lycopus europaeus*
- Varen
- Haarmosmos
- Braam *Rubus fruticosus*

Bomen:

- Vlier *Sambucus ebulus*
- Zomereik *Quercus robur*
- Drents krentebom *Amelanchier lamarckii*
- Berk *Betula* (kort door vraat)

Vegetatie veld WM224:

- Schapenzuring *Rumex acetosella* (droge open plaatsen)
- Kruiskruid *Senecio jacobaea* (zonnige licht beschaduwde droge grazige plaatsen, weinig bemeste graslanden, op lichte grond)
- Akkerdistel *Cirsium arvense* (grazige en braakliggende grond, akkeronkruid)
- Braam *Rubus fruticosus* (open en braak liggende grond)
- Ridderzuring *Rumex acetosa* (op open en verstoorde grond)
- Duizendknoop *Poligonum* (verstoorde (bouw)plaatsen braakliggend land op natte plaatsen)
- Kruipende boterbloem *Ranunculus repens* (open, grazige of beschaduwde min of meer vochtige plaatsen)
- Boterbloem *Ranunculus sp.* vochtige ruderaal plaatsen (op en tussen puin groeiend)
- Vergeet me niet *Myosotis sp.*
- Brandnetel *Urtica urens* (bouwland)
- Wolfspoot *Lycopus europaeus* (aan zoet water, moerassen)
- Hondsdraf *Glechoma hederacea* (houtwallen, grazige vochtige open plaatsen)
- Moeraswalstro *Galium palustre* (natte plaatsen)
- Pitrus *Juncus effusus* (moerassige plaatsen, langs waterkant en in vochtig grasland)
- Moeraswilgeroosje *Epilobium palustre* (natte plaatsen)
- Grote weegbree *Plantago major* (onbebouwde, sterk betreden plaatsen)
- Dovenetel *Lamium purpureum* (akker onkruid)
- Gewone hennepnetel *Galeopsis tetrahit* (tussen laag hout, langs wegen, akker onkruid)
- Gewoon barbakruid *Barbarea vulgaris* (vochtige plaatsen en langs wegen)
- Witte klaver *Trifolium repens*
- Hoornbloem *Cerastium*
- Gras (niet nader gedetermineerd)
- Berk *Betula*
- Wilg *Salix*
- Braam *Rubus fruticosus*
- Varen (niet nader gedetermineerd)

Vegetatie veld WM232:

- Vlier *Sambucus ebulus*
- Lijsterbes *Sorbus*
- Krentebloom *Amelanchier lamarckii*
- Berk *Betula*
- Vogelkers *Prunus serotina*
- Kleine Brandnetel *Urtica urens*
- 'Gras'
- Muur *Stellaria*

BIJLAGE 5. RESULTATEN CHEMISCHE ANALYSES

5.1 Zware metalen in grondextracten

	Extracten t.b.v. PAM / Microtox - bepalingen					
	Calciumnitraat-extractie (2mM)					
	Zn	Cu	Cd	Pb	pH-gem.	pH
Monstercode	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	PAM	Microtox
Doetinchem						
D 1A	131	421	2	354	8,7	6,9
D 3A	159	442	2	310	8,7	6,7
D 4A	1415	337	2	22	8,6	6,8
D 5A	597	188	1	33	8,7	6,4
D 7A	56	43	1	7	8,7	6,4
D 9A	1071	1786	2	654	8,9	6,8
D 11A	294	10012	7	150	8,8	6,9
Wasmeren						
WAS 222	5237	392	460	34	8,6	6,6
WAS 224	405	161	22	161	8,5	6,8
WAS 232	10863	681	1078	31	8,5	6,6
Tilburg *						
T A1	300	25	8	21	8,5	6,8
T A2	228	23	1	25	8,5	6,8
T B1	376	35	1	34	8,5	6,9
T B2	408	41	0	33	8,5	6,8
T C1	1224	144	3	101	8,5	6,9
T C2	1491	122	1	67	8,5	6,8
	* A1/A2 - B1/B2 - C1/C2: duplo-extracten Tilburg-monsters					

5.2 Analyses organische verbindingen

Analyses organische verbindingen grondmonsters Doetinchem											
	D 1A	D 2A	D 3A	D 4A	D 5A	D 6A	D 7A	D 8A	D 9A	D 10	D 11A
10 PAK's VROM (µg/kg)											
Anthraceen	8,5	31	76	5,3	13	4186	<0,5	1,4	378	347	1696
Benzo(a)anthraceen	47	113	344	28	59	21449	3,3	12	2041	1448	7637
Benzo(a)pyreen	52	107	291	29	56	16931	4,1	11	2241	1611	6499
Benzo(ghi)peryleen	51	89	219	27	52	12696	3,8	9,8	1665	1128	5922
Benzo(k)fluorantheen	31	57	188	19	37	10341	3,0	8,0	1363	952	3558
Chryseen	64	133	367	37	68	23216	4,0	16	1989	1346	6502
Fenanthreen	46	131	277	26	53	16069	2,6	20	2000	1424	8872
Fluorantheen	69	170	771	54	155	53540	7,4	26	5892	4589	16267
Indeno(123cd)pyreen	56	97	235	38	59	13647	5,7	18,8	2154	1387	5615
Naftaleen	12	14	89	<11	23	4946	<11	<11	176	<11	732
Totaal	436	942	2857	269	573	177021	40	128	19899	14238	63300
Overige PAK's (µg/kg)											
Benzo(b)fluorantheen	89	145	445	53	91	23798	7,3	27	3098	2011	7669
Dibenzo(ah)anthraceen	8,7	15	51	6,7	12	2651	0,9	2,5	387	222	732
Fluoreen	4,7	15	86	<2,5	4,6	5096	<2,5	<2,5	245	127	861
Pyreen	81	173	610	50	89	36048	6,0	28	3492	2198	11644
Totaal	184	348	1192	109	196	67593	14	57	7222	4558	20906
Minerale olie (µg/kg)	90	200	160	50	70	510	10	70	690	1140	1610

VERZENDLIJST

1. Drs H.G. van Meijenfeldt, VROM/DGM/BWL, Den Haag
2. Dr. J.M. Roels – VROM/DGM/BWL
3. Dr. G.H. Crommentuijn – VROM/DGM/BWL
4. Drs. N.H.S.M. de Wit – VROM/DGM/BWL
5. Dr. Ir. A.E. Boekhold – VROM/DGM/BWL
6. Drs. D. Jonkers – VROM/DGM/BWL
7. Drs. A.W.M. Eijs – VROM/DGM/BWL
8. I. Maas – VROM/DGM
9. Ir. M.M. Mensink – LNV
10. J. Verlucht - LNV
11. Drs. J.J.C. Karres – LNV
12. Ir. P. van den Brand - LNV, dir ZW
13. Drs. S. Dogger - Gezondheidsraad
14. Prof. Dr. P.C. de Ruiter - UU
15. Dr. H. Vermeulen - SKB
16. Drs. P.S.H. Ouboter - NOK
17. Ir. A.B. Roeloffzen – Gemeente Rotterdam
18. Drs. J.M. Wezenbeek - Grontmij Advies & Techniek
19. K. Huismans – Grontmij Advies & Techniek
20. Prof. Dr. H.J.P. Eijsackers - Alterra
21. Dr. J.H. Faber - Alterra
22. Dr. W.C. Ma - Alterra
23. Dr. J. Harmsen - Alterra
24. Dr. Ir. W. de Vries – Alterra
25. Dr. H. Kros - Alterra
26. Dr. B. Bosveld - Alterra
27. Dr. T. Brock – Alterra
28. Dr. J. Bierkens – VITO
29. Dr. V. Dries - OVAM
30. Drs. J. Tuinstra – Royal Haskoning
31. Ir. R.L.M. de Poorter – Royal Haskoning
32. Dr. Ir. P. Doelman – Doelman Advies
33. Drs. I. Canter Cremers – Waterschap Rijn en IJssel
34. Dr. Ir. S.W. Moolenaar - NMI
35. Dr. J. Postma – AquaSense
36. Ir. J. Lahr – AquaSense
37. A. Derksen - AquaSense
38. Drs. J.J. van de Waarde – Bioclear
39. Ing. S.C. Bos - Tauw bv

40. E. Mateman – Tauw bv
41. W. Hendriks -Witteveen en Bos
42. Drs. B. Muijs – Witteveen en Bos
43. Dr. H. Leenaers - NITG-TNO
44. M. van der Leemkule – DLG
45. Ir. C. Roghair - DLG
46. D. van der Eijk - Provincie Zuid-Holland
47. Dr. P.J. den Besten – RIZA
48. Dr. Ir. J.P.M. Vink - RIZA
49. Drs. M. van Elswijk – RIZA
50. Ir. L.R.M. de Poorter – RIZA
51. Drs. M. Beek – RIZA
52. Dr. J. de Jonge - RIZA
53. J. Stronkhorst – RIKZ
54. A.M.C.M. Pijnenburg - RIKZ
55. Ir. T. Edelman – Projectbureau Actief bodembeheer De Kempen
56. Dr. W. Veerkamp - Shell Nederland bv
57. Dr. K.H. den Haan – VNO/NCW-BMRO
58. Dr. W.J.M. van Tilborg – VNO/NCW-BMRO
59. Drs. M. Koene – Stichting Natuur en Milieu
60. Dr. J.J. Vegter - TCB
61. Dr. J. van Wensem - TCB
62. Drs. J. Brils - TNO-MEP
63. Dr. M.C.Th. Scholten - TNO-MEP
64. Prof. Dr. N.M. van Straalen - VU
65. Prof. H.A. Verhoef – VU
66. Dr. M.P. Berg - VU
67. Dr. Ir. C.A.M. van Gestel - VU
68. Drs. M. Klein - IKC-Natuurbeheer
69. Dr. A.P. van Wezel - LDL
70. Dr. T.D.H.M. Sijm – SEC
71. Drs. T.P. Traas – SEC
72. Dr. E. Verbruggen - SEC
73. Drs. R. Luttik - SEC
74. Dr. Ir. F.A. Swartjes – LER
75. Ir. R.O.G. Franken - RIM
76. Ir. J.P.A. Lijzen – LER
77. Drs. T. Aldenberg - LER
78. Ir. R. van den Berg – LDL
79. Ir. A.H.M. Bresser - DMN
80. Dr. W.H. Könemann - SEC
81. Drs. J.H. Canton - LER

-
82. Dr. A.M. Breure – LER
 83. Dr. P. van Beelen - LER
 84. Dr. Ir. D. van de Meent – LER
 85. Dr. C.D. Mulder - LER
 86. Ing. A.C. de Groot - LER
 87. Drs. M. Mesman - LER
 88. Dr. A. Sterkenburg – LER
 89. Dr. Ir. W.J.G.M. Peijnenburg – LER
 90. Drs. D. de Zwart – LER
 91. Dr. L. Posthuma - LER
 92. Dr. J. Struijs - LER
 - 93 –103. Auteurs
 104. SBC/Voorlichting
 105. Bureau Rapportenregistratie
 106. Bibliotheek RIVM
 - 107 Depot Nederlandse Publicaties en Nederlandse Bibliografie
 - 108–116. Bureau Rapportenbeheer
 - 117–125. Reserve exemplaren LER