VELDTOETSEN VOOR ONDERZOEK NAAR NEVENEFFECTEN VAN BESTRIJDINGSMIDDELEN

VELDTOETSEN VOOR ONDERZOEK NAAR NEVENEFFECTEN VAN BESTRIJDINGSMIDDELEN

F.M.W. de Jong
G.R. de Snoo
K.J. Canters

m.m.v. E. van der Voet

Centrum voor Milieukunde
Rijksuniversiteit Leiden
Postbus 9518
2300 RA Leiden

CML mededelingen 60

Een onderzoek in opdracht van het
Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer
Directoraat-Generaal voor het Milieubeheer
Directie Stoffen & Risicobeheersing en Directie Drinkwater, Water & Bodem

Dit rapport kan op de volgende wijze worden verkregen (voor f 20,= per exemplaar, incl. BTW en verzendkosten; een rekening wordt automatisch meegezonden):

- telefonisch: 071-277486
- schriftelijk: CML, Postbus 9518, 2300 RA Leiden, o.v.v. "CML mededeling 60, Veldtoetsen Bestrijdingsmiddelen". Het verzendadres dient daarbij duidelijk te worden aangegeven en, indien mogelijk, ook de naam van de besteller.

CIP-GEGEVENS KONINKLIJKE BIBLIOTHEEK, DEN HAAG

Jong, F.M.W. de

Veldtoetsen voor onderzoek naar neveneffecten van bestrijdingsmiddelen/
F.M.W. de Jong, G.R. de Snoo, K.J. Canters;
[met medew. van E. van der Voet]. - Leiden: Centrum voor Milieukunde,
Rijksuniversiteit Leiden. - Ill. - (CML mededelingen; 60)

Met lit. opg.

ISBN 90-5191-036-3
SISO 614.62 UDC 504.054:632.95

Trefw.: bestrijdingsmiddelen; neveneffecten.

Dankwoord

Tijdens ons onderzoek hebben wij van veel kanten medewerking gekregen. In het bijzonder moeten hierbij de leden van de begeleidingscommissie worden genoemd, te weten: ir. C.A.M. van Gestel, (RIVM, Bilthoven), dr. J.A. van Haasteren (VROM-DGM, Leidschendam), dr. J. den Hollander (LNV-NMF, Den Haag), ir. J.A. Jobsen (PD, Wageningen), dr. C.J. van Leeuwen (VROM-DGM, Leidschendam), dr.ir. P.A. Oomen (PD, Wageningen), mevr.ir. J.M. de Ruiter (VROM-DGM, Leidschendam), prof.dr. H.A. Udo de Haes, voorzitter (CML, Leiden), drs. G. van Urk (DBW/RIZA, Lelystad) en (als agendalid) dr. P. Leeuwangh (SC, Wageningen).

Daarnaast hebben ook een aantal andere deskundigen een bijdrage geleverd in de vorm van commentaar op de gedurende dit onderzoek in voorbereiding zijnde concept veldtoetsrichtlijnen. Aan de hand van dit commentaar konden we deze concepten al dan niet bijstellen. De verschillende deskundigen zijn achtereenvolgens: drs. M.P. Berg (VU-Dieroecologie, Amsterdam), C.F. van de Bund, (Bennekom), dr. G. Ernsting (VU-Dieroecologie, Amsterdam), dr.ir. C. van Heemert (Ambrosiushoeve, Hilvarenbeek), dr.ir. M. Hoogerkamp (CABO, Wageningen), dr.ir. W.C. Ma (RIN, Arnhem), drs. J. van der Linden (Leiden) en drs. A. de Ruyter (Ambrosiushoeve, Hilvarenbeek).

Verder willen wij de volgende personen bedanken. Ing. R. Faasen (DBW/-RIZA) voor zijn commentaar op de opzet van hoofdstuk 3. Dit hoofdstuk kwam mede tot stand door een belangrijke bijdrage van drs. E. van der Voet (CML, Leiden). Drs. P. Okkerman (RIVM) was zo vriendelijk om een literatuuruitdraai ter beschikking stellen over veldtoetsen voor het aquatisch milieu. Mw. J. van der Peet-van Loon en mw. M. van Rijn-van der Scheer danken wij voor hun bijdragen aan het typewerk.

Tenslotte willen wij alle andere niet met name genoemde personen bedanken, die ons tijdens het onderzoek hebben geholpen met het geven van hun adviezen of het ter beschikking stellen van hun gegevens.

F.M.W. de Jong
G.R. de Snoo
K.J. Canters

Leiden, maart 1990.

INHOUD blz.

Dit rapport bestaat uit twee delen. Deel A, het hoofdrapport, behandelt de algemene uitkomsten van het onderzoek. In deel B wordt op gedetailleerde wijze een tiental voorstellen voor veldtoetsen geformuleerd. Aangezien deel B een meer gedetailleerd uitvloeisel is van het hoofdrapport, wordt in het onderstaande alleen deel A samengevat weergegeven.

INLEIDING (H.1)

In 1989 heeft het Centrum voor Milieukunde te Leiden in opdracht van het *Ministerie VROM (DGM: Directie Stoffen & Risicobeheersing en Directie* Drinkwater, Water & Bodem) onderzoek verricht naar de mogelijkheid van het gebruik van veldtoetsen voor de toelating van bestrijdingsmiddelen. Dit onderzoek vond plaats in het kader van het project "Neveneffecten Bestrijdingsmiddelen" (= NB-project). Het accent lag in deze derde fase van dit project op het doen van voorstellen met betrekking tot dergelijke veldtoetsen.

Bij het onderzoek zijn drie doelen onderscheiden:
1 Aangeven wat de rol en de plaats van de veldtoetsen kan zijn bij de toelating van bestrijdingsmiddelen in Nederland (H.2).
2 Het ontwikkelen van een raamwerk om veldtoetsen te selecteren voor het opsporen van neveneffecten van een bestrijdingsmiddel (H.3).
3 Het ontwikkelen van veldtoetsrichtlijnen (H.4).

Voor de uitvoering van het onderzoek zijn zoveel mogelijk gegevens verzameld over veldtoetsvoorschriften en uitgevoerd veldonderzoek. Ook is een analyse uitgevoerd van het materiaal van enkele internationale organisaties.

PLAATS EN GEBRUIK VELDTOETSEN (H.2)

De noodzaak om over te gaan tot veldonderzoek is in de huidige toelatingsprocedures veelal afhankelijk van voorspellingen uit andere informatie. Eerst worden de gegevens verkregen uit laboratorium-toetsen beoordeeld en vervolgens wordt op grond van al of niet expliciete criteria nagegaan of aanvullend veldonderzoek nodig is.

Veldtoetsen in Nederland (H.2.1)
Binnen de Nederlandse toelatingsprocedure van bestrijdingsmiddelen is veldonderzoek gericht op het onderzoeken van de neveneffecten van een bestrijdingsmiddel tot nu toe niet standaard verplicht. Ook de criteria voor het eventueel uitvoeren van veldtoetsen zijn, met uitzondering van die voor honingbijen, niet concreet ingevuld. Voor een beperkt aantal overige faunagroepen kan het "in bepaalde gevallen" nodig zijn, dat er onderzoek naar toxische effecten van een middel onder veldomstandigheden wordt uitgevoerd. In het verleden is in dit verband één keer veldonderzoek uitgevoerd.

Veldtoetsen in internationaal verband (H.2.2)
De toelatingsprocedures en veldtoetsrichtlijnen van de OECD, IOBC, EPPO, FAO, EG en Raad van Europa, ontwikkeld in het kader van het neveneffecten-onderzoek worden besproken. Onder verantwoordelijkheid van de eerste drie organisaties zijn en worden daadwerkelijk richtlijnen opgesteld. De andere drie organisaties verwijzen naar richtlijnen, die elders zijn ontwikkeld. Daarnaast worden de toelatingsprocedures van Engeland, de Verenigde Staten en West-Duitsland besproken.

De criteria die aangeven wanneer tot het uitvoeren van veldonderzoek moet worden overgegaan, zijn veelal slechts globaal aangegeven. Ze berusten in de meeste gevallen op onzekerheid omtrent de toxische eigenschappen van een middel; een onzekerheid die is gebaseerd op de uitkomsten van het dan reeds verrichte laboratorium-onderzoek. In een enkel geval berust het besluit om tot uitvoering van veldonderzoek over te gaan op de schaal van het gebruik, de plaats van gebruik (bijv. direct op het water) of de mogelijke ecologische voedsel-effecten (alleen aquatisch).

Overzicht uitgevoerd veldonderzoek (H.2.3)
Hoewel er verschillende veldtoetsrichtlijnen bestaan, is het niet duidelijk in hoeverre deze richtlijnen ook daadwerkelijk in de praktijk zijn uitgevoerd. Resultaten van dergelijke studies zijn in ieder geval nauwelijks voorhanden. Wel zijn veel onderzoeksgegevens beschikbaar uit "algemeen" veldonderzoek. Dit is echter niet uitgevoerd in het kader van de toelating van bestrijdingsmiddelen.

Uit een analyse van dit algemene veldonderzoek blijkt dat er in het aquatisch milieu minder onderzoek heeft plaatsgevonden dan in het terrestrisch milieu. De meeste aquatische studies zijn gericht op de neveneffecten op vissen en insecten. Het onderzoek in het terrestrisch milieu concentreert zich rond nuttige organismen (insecten, spinnen en mijten), vogels en zoogdieren. In de meeste gevallen worden de direct toxische effecten onderzocht en krijgen ecologische effecten veel minder aandacht.

Discussie (H.2.4)
Er is discussie gaande over de mate waarin de inhoudelijke opzet van veldtoetsen strikt moet worden vastgelegd. Enerzijds wordt gesteld dat de variatie in milieufactoren en toepassingsmethoden geen standaard-veldtoetsrichtlijn toelaat, terwijl anderzijds wordt gesteld dat een 'case-by-case'-benadering (waarbij opzet in overleg tussen de aanvrager en de overheid tot stand komt) standaardisatie van de methoden, interpretatie en vergelijking van veldtoetsen in de weg staat.

Bij het opstellen van de veldtoetsrichtlijnen is in deze studie gekozen voor een relatief nauwkeurig omschreven invulling. In afwijkende situaties moet de veldtoetsrichtlijn vanzelfsprekend worden bijgesteld. De richtlijn mag in geen geval ten gevolge van een extreme situatie een legitimering vormen voor de aanvrager.

VOORSTEL SELECTIEMETHODE VELDTOETS (H.3)

Allereerst wordt een voorstel gedaan om in algemene zin tot de bepaling van de aard en grootte van het aanwezig toxisch of ecologisch risico te komen (fig. 3.1). Wanneer dit risico (zeer) groot is, wordt op basis van de ecotoxicologische risico's aanbevolen om een middel niet toe te laten

en wanneer dit risico klein is wel toe te laten. Bij een matig groot risico of onzekerheid wordt tot de uitvoering van veldonderzoek besloten.

Voor het selecteren van de voor bepaalde situaties meest geschikte veldtoetsen zijn drie aspecten nader uitgewerkt:
1 bepaling ecotoxicologisch risico
2 toespitsing op te verwachten effect(en)
3 keuze van één of meer veldtoetsen.

Deze stappen omvatten nog niet de uitvoering van de veldtoets zelf en de beoordeling van de resultaten ervan. Ze zijn uitsluitend gebaseerd op gegevens van het middel die bekend zijn op basis van laboratorium-toetsen en de eventuele verdenkingen op basis van het gebruik waarvoor het middel wordt aangevraagd. Bij de drie genoemde aspecten komen de volgende punten aan de orde.

Aard en omvang van de mogelijke neveneffecten (H.3.1)
De ecotoxicologische neveneffecten worden opgedeeld naar en afgeleid van:

toxische neveneffecten	Ecologische neveneffecten
- aanwezigheid toxisch risico	- werkingsbreedte middel
- onzekerheid bij beoordeling	- op grote oppervlakten toegepast
	- overlap met habitat
	- effectiviteit

Voor zover mogelijk worden bij elk van deze aspecten criteria en normen gegeven om ze voor de besluitvorming ten aanzien van de noodzaak tot veldonderzoek te kunnen operationaliseren.

Toespitsing op te verwachten effecten (H.3.2)
Effecten kunnen plaatsvinden op het niveau van individuen, populaties, levensgemeenschappen en ecosystemen. Uitgangspunt is dat er minstens een verdenking voor een effect op populatie-niveau moet bestaan om het uitvoeren van een veldtoets te rechtvaardigen. Een uitzondering wordt gemaakt voor beschermde of bedreigde soorten.

De verwachte effecten worden, op basis van stofeigenschappen, het gebruik en het ontvangend milieu, geconcretiseerd tot één of meer specifieke neveneffecten en toegespitst op milieucompartiment, organisme e.d. Hieruit resulteren zo nauwkeurig mogelijk aangeduide effecttypen, taxonomische groepen, milieucompartimenten en ecosysteemtypen, waarop de veldtoets zich zou moeten richten.

Selectie veldtoetsen (H.3.3)
Op basis van het voorkomen van de taxonomische groepen per milieucompartiment wordt vervolgens nagegaan, waar effecten verwacht worden en in principe dus veldtoetsen beschikbaar zouden moeten zijn (zie tabel 3.11). Bij de aansluitende, nadere keuze van toetsorganismen zijn de volgende criteria gehanteerd:
- de organismen moeten een belangrijke rol spelen in het ecosysteem;
- per milieucompartiment wordt gekeken naar de belangrijkste processen;
- de organismen moeten redelijk abundant zijn in het agrarisch gebied;
- er moet zicht zijn op praktische uitvoerbaarheid;
- de organismen mogen niet extreem ongevoelig zijn voor bestrijdingsmiddelen in het algemeen.

Per milieucompartiment wordt nagegaan welke soort of soortengroep het meest in aanmerking komt als toetsorganisme. Hierbij wordt ook een voorkeur uitgesproken. Ook wordt ingegaan op het in relatie tot het te verwachten type effect te gebruiken toetstype, waarbij onderscheid wordt gemaakt in veldonderzoek sensu stricto en semi-veldonderzoek, waartoe ook 'enclosure'-onderzoek, proefveld/slootonderzoek en kooistudies worden gerekend.

Om praktische redenen wordt de uitgesproken voorkeur tenslotte ingeperkt tot een tiental soorten of soortengroepen, waarvoor in deel B richtlijnen worden voorgesteld.

Overzicht methode (H.3.4)
De procedure (zie fig. 3.2) begint met de laboratorium-toetsen en de gebruiksgegevens. Wanneer bij de beoordeling blijkt dat er een verwaarloosbaar risico is of juist een (zeer) groot risico, is geen veldtoets vereist. In alle andere gevallen wordt in de voorgestelde opzet automatisch de selectieprocedure doorlopen. De procedure wordt zowel voor toxische als ecologische neveneffecten doorlopen. In de procedure wordt het verwachte effect gespecificeerd en worden één of meer bijpassende veldtoetsen gekozen. De procedure zoals beschreven in dit hoofdstuk is dan ten einde; de volgende stap is het uitvoeren van de veldtoets(en) en het beoordelen van de resultaten ervan, waarna toelating, afwijzing of heroverweging op grond van aanbevolen wijzigingen van het middel of de gebruiksvoorschriften kan volgen.

Voorbeelden (H.3.5)
Uit de evaluatie van de voorgestelde afwegingsprocedure aan de hand van de voorbeeldstoffen atrazin en pirimicarb blijkt dat de selectiemethode van veldtoetsen, duidelijke verschillen laat zien. Een fictieve aanvraag voor het gebruik van atrazin geeft aanleiding tot veel meer veldtoetsen dan eenzelfde aanvraag voor pirimicarb.

Discussie (H.3.6)
De voorgestelde procedure richt zich op de ecotoxicologische effecten voor niet-doelwit organismen. De beoordeling van een eventuele toelating van het middel zal altijd in samenhang met andere criteria moeten plaatsvinden.

De beoordeling van de ecologische neveneffecten is tot nu toe niet gebruikelijk. Over het criterium effectiviteit is discussie mogelijk. Immers, als de effectiviteit als een op zichzelf staand criterium zou worden gebruikt, zou dit haaks staan op het doel van het middel, want een middel wordt pas toegelaten, nadat het deugdelijk is gebleken. Toch kan gesteld worden dat het uitroeien van bijvoorbeeld alle luizen op alle percelen in een polder niet gewenst is, wanneer gelet wordt op de overleving van luizenpredatoren in dat gebied. Er wordt daarom steeds een koppeling gemaakt tussen de effectiviteit en schaal van gebruik of breedte van het werkingsspectrum.

Voor de invulling van de gehanteerde criteria schaal van gebruik, werkingsspectrum en effectiviteit met getalswaarden zijn in de literatuur geen aanknopingspunten gevonden. De nu gebruikte maten zijn gebaseerd op de gedachte dat het effect minstens op populatieniveau moet zijn terug te vinden. De gekozen waarden staan echter nog ter discussie en zullen in de toekomst nader moeten worden onderbouwd.

VOORGESTELDE VELDTOETSRICHTLIJNEN (H.4)

Voor de in hoofdstuk 3 geselecteerde soorten zijn tien veldtoetsrichtlijnen ontwikkeld, te weten voor: hogere planten, regenwormen, loopkevers, honingbijen, vogels, algen, muggelarven, waterslakken, watervlooien en vissen.

Aanpak opstellen richtlijnen (H.4.2)
Bij het opstellen van de veldtoetsrichtlijnen zijn de volgende uitgangspunten gehanteerd:
1 zoveel mogelijk aansluiten bij bestaande richtlijnen
2 zoveel mogelijk methoden overnemen uit veldonderzoek dat met succes is uitgevoerd
3 de veldtoetsen moeten kunnen aantonen of het NOEL van de onderzochte niet-doelwit organismen wordt overschreden.

De richtlijnen moeten daarnaast aan een aantal algemene eisen voldoen: de toetsen moeten ondubbelzinnige resultaten opleveren, een zodanige opzet hebben dat effecten met een acceptabele betrouwbaarheid kunnen worden waargenomen en andere factoren of combinatie-effecten kunnen worden uitgesloten. Ook moeten de veldtoetsen uitspraken doen over de praktijksituatie.

Voor de structuur van de richtlijnen is aangesloten bij de structuur van de bestaande richtlijnen voor het deugdelijkheidsonderzoek. De voorgestelde richtlijnen hebben de volgende opbouw:
1 proefvoorwaarden
2 toediening van de middelen
3 waarnemingen die verricht moeten worden.
4 evaluatie van de toetsresultaten.

De eigenlijke richtlijn wordt steeds voorafgegaan door een meer algemene paragraaf met de keuzes voor de opzet. Aansluitend wordt een schatting gegeven van de te maken netto-kosten bij integrale uitvoering van de veldtoets. Vervolgens worden bestaande richtlijnen puntsgewijs behandeld. Tot slot wordt het reeds uitgevoerde veldonderzoek samengevat en wordt de gebruikte literatuur opgesomd.

Kosten (H.4.3)
Per voorgestelde richtlijn is een ruwe schatting gemaakt van kosten van de uitvoering. Deze kostenramingen omvatten de volgende onderdelen:
1 kosten materiaal (toetsorganismen, proefvelden, veldapparatuur enz.)
2 bemonsteren (a)biotische parameters (incl. toetsorganismen)
3 meten gewenste parameters (abiotisch en biotisch)
4 verwerken en interpreteren van gegevens
5 invullen van het veldtoetsformulier.

Ter bepaling van de omvang van de werkzaamheden wordt op een aantal uiteenlopende proefkenmerken gescoord, waarop vervolgens de kostenberekening wordt gebaseerd. In tabel 4.1 staan de zeer globaal geschatte nettokosten per veldtoets weergegeven. Het blijkt dat de kosten sterk uiteenlopen, maar de grootte-orde is steeds 1 à 2 ton per veldtoets.

Discussie (H.4.4)
Bij de uitvoering van een veldtoets zou een conflict kunnen ontstaan tussen een praktisch uitvoerbare toets en een toets die aan de uitgangs-

punten voldoet. Een toets die met de voorgestelde onzekerheidsmarges een uitspraak doet zou te omvangrijk (= te kostbaar) kunnen worden. Een oplossing kan worden gevonden in een toespitsing op een 'worst case'-situatie. Door het toedienen van een hogere dosis kan de proefopzet beperkt worden. Wanneer dan geen effecten worden aangetoond, mag worden aangenomen dat er ook bij de praktijk-dosering geen effecten optreden. Wanneer echter wel effecten worden gevonden, zal de interpretatie naar de praktijkdosering zeer zorgvuldig moeten zijn.

De in deel B gepresenteerde voorstellen voor richtlijnen richten zich vooralsnog op het toetsen van de effecten van één nieuw middel op één organismen(groep) ten behoeve van een eventuele toelating. De richtlijnen zouden voor wat betreft deze drie aspecten kunnen worden uitgebreid. De effecten van meer middelen tegelijk kunnen in principe met dezelfde toetsen worden onderzocht. De effecten op meerdere organismengroepen kunnen worden onderzocht door verschillende toetsen of elementen uit verschillende toetsen te combineren. Voor het monitoren van effecten na de toelating moet de proefopzet zeker worden aangepast. Wel kunnen dezelfde waarnemingsmethoden worden gebruikt om de effecten te onderzoeken.

Voordat de voorgestelde richtlijnen ook daadwerkelijk kunnen gaan functioneren zullen ze in de praktijk moeten worden gevalideerd. Aangezien er voor het aquatisch milieu geen richtlijnen bestaan is het gewenst om aan een ontwikkeling van deze veldtoetsen de prioriteit te geven. Voor het terrestrisch milieu zouden met name de richtlijnen voor vogels, loopkevers en hogere planten moeten worden gevalideerd.

CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN (H.5)

Conclusies (H.5.1)

Geconcludeerd wordt dat het gebruik van veldtoetsen tot nu toe in Nederland een sterk ondergeschikte rol speelt bij de toelating van bestrijdingsmiddelen.

Het blijkt dat er in Nederland voor het toelaten van een bestrijdingsmiddel, met uitzondering van onderzoek aan honingbijen, geen standaardrichtlijnen worden gehanteerd. Een richtlijn wordt, indien nodig, in overleg met deskundigen van de Commissie Toelating Bestrijdingsmiddelen vastgesteld. Voor het uitvoeren van onderzoek gericht op de deugdelijkheid van een bestrijdingsmiddel bestaan er in Nederland wel richtlijnen. Deze zijn afgeleid van de EPPO-richtlijnen.

Internationaal gezien, zowel op het niveau van afzonderlijke nationale overheden als bij de internationale organisaties, wordt hieraan - en zeker op dit moment - veel meer aandacht besteed. Er blijkt een redelijk aantal veldtoetsen te bestaan voor verschillende groepen van organismen. Vooral toetsen met honingbijen, regenwormen en nuttige insecten en mijten worden vaak genoemd. Veldtoetsrichtlijnen voor het aquatisch milieu zijn bij deze ontwikkeling sterk achtergebleven.

De veldtoetsen worden bij de toelating van bestrijdingsmiddelen op twee manieren gebruikt. Ten eerste - meest voorkomend - om, voordat een middel op de markt wordt toegelaten, aanvullende gegevens te leveren. Ten tweede kunnen ze worden gebruikt om, nadat een middel is toegelaten, de nevenef-

fecten in de praktijk te onderzoeken in het kader van de post-registratie. In Nederland zou een veldtoets ook op beide manieren ingepast kunnen worden in de toelatingsprocedure.

Uit een analyse van veldonderzoek, dat buiten het kader van de toelating is uitgevoerd, blijkt dat er in vergelijking met het terrestrisch milieu weinig onderzoek in het aquatisch milieu heeft plaatsgevonden. Het onderzoek in het terrestrisch milieu concentreert zich rond nuttige organismen (insecten en spinachtigen), regenwormen, vogels en zoogdieren. Het betreft hier veelal veldonderzoek, waarbij wordt gekeken naar de direct toxische effecten. Onderzoek naar ecologische effecten is veel minder vaak uitgevoerd. In het aquatisch milieu zijn de meeste studies gericht op insecten, weekdieren, kreeftachtigen en vissen. Ook in het aquatisch milieu gaat verreweg de meeste aandacht uit naar de direct toxische effecten van de bestrijdingsmiddelen.

Er is een procedure ontworpen ter bepaling van de noodzaak tot uitvoering van een veldtoets. Vervolgens is ook aangegeven, hoe, op basis van de beschikbare gegevens, de meest geschikte veldtoets kan worden geselecteerd. Het betreft hierbij een veldtoets gericht op de ecotoxicologische effecten voor niet-doelwit organismen. De uiteindelijke beoordeling van een eventuele toelating van het middel zal altijd in samenhang met andere gegevens en criteria moeten plaatsvinden.

Om de noodzaak voor de uitvoering van een veldtoets te beoordelen worden twee ingangen gebruikt, namelijk informatie omtrent de toxische en de ecologische neveneffecten. Om de toxische neveneffecten te beoordelen wordt gebruik gemaakt van een aantal gangbare criteria, zoals toxiciteitsgegevens, gebruiksgegevens en blootstellingsgegevens (PEC). Deze vorm van beoordelen vertoont veel overeenkomsten met de huidige beoordeling van een middel, zoals die door de CTB plaatsvindt en ook internationaal wordt toegepast.

De beoordeling van de ecologische neveneffecten is tot nu toe niet gebruikelijk. De criteria schaal van gebruik en breedte van het werkingsspectrum worden hiervoor het meest relevant geacht. Immers, het op grote schaal verdwijnen van voedsel voor veel soorten is van groot belang voor soorten op een hoger trofisch niveau.

Ook de effectiviteit van een middel is hierbij van belang. Echter, wanneer de effectiviteit als een op zichzelf staand criterium wordt gebruikt, staat dit haaks op het doel waarvoor een toelating wordt aangevraagd. Een middel wordt immers pas toegelaten nadat het deugdelijk is gebleken. Toch kan gesteld worden dat het uitroeien van bijvoorbeeld alle luizen op alle percelen in een polder niet gewenst is, wanneer gelet wordt op de overleving van luizenpredatoren in dat gebied. Interessant is bovendien in hoeverre ook de algemene milieukwaliteit van het agrarisch gebied in gevaar komt, als gedacht wordt aan het overleven van 95% van de soorten in dit gebied. Er wordt daarom steeds een koppeling gemaakt tussen de effectiviteit en schaal van gebruik of breedte van het werkingsspectrum.

Uit de evaluatie van de voorgestelde afwegingsprocedure aan de hand van de voorbeeldstoffen atrazin en primicarb blijkt dat de selectiemethode voor veldtoetsen duidelijk van elkaar verschillende uitkomsten oplevert. De aanvraag voor de toelating van atrazin zou in het verleden aanleiding

hebben gegeven tot veel meer veldtoetsen dan een aanvraag voor pirimicarb.

Bij het opstellen van de uitgangspunten voor de richtlijnen is een aantal keuzen gemaakt. Er is uitgegaan van een opzet waarbij de kans dat optredende effecten ook daadwerkelijk worden aangetoond, zo groot mogelijk is.

Aanbevelingen (H.5.2)
Nadere uitwerking maar vooral het gebruik van de voorstellen, zoals gedaan in hoofdstuk 3 en 4, voor en door het beleid vormen de belangrijkste aanbevelingen van deze studie. Daarnaast komen er uit het onderzoek de volgende aanvullende aanbevelingen naar voren (onderscheid is gemaakt tussen aanbevelingen voor de binnenlandse situatie en ten aanzien van internationale samenwerking):

Nederland:
1 De toelatingsprocedure van bestrijdingsmiddelen moet meer worden opgezet volgens een getrapt systeem, waarin ook een duidelijke plaats voor veldtoetsen wordt ingeruimd.
2 Bij een dergelijke procedure zou ook de post-registratie moeten worden vermeld en voor de uitvoering hiervan aanwijzingen moeten worden gegeven.
3 Het ontwikkelen van veldtoetsrichtlijnen samen met het ontwikkelen van laboratorium-toetsen, zoals dat laatste in het kader van de PCBB op dit moment gebeurt, zou wenselijk zijn.
4 Nederland zou een voortrekkersrol moeten vervullen bij het ontwikkelen van veldtoetsrichtlijnen voor het aquatisch milieu.

Internationaal:
5 Al het onderzoek naar neveneffecten zou door één internationale organisatie moeten worden gecoördineerd.
6 Deze zelfde organisatie zou tegelijkertijd de internationale harmonisatie van neveneffecten toetsen moeten coördineren.
7 Er zou gestreefd moeten worden naar standaardisering en kwaliteit van veldmethoden, ontwikkeling van een GFP (= 'Good Field Practice').
8 Er moet gestreefd worden naar een grotere uitwisseling van kennis betreffende veldgegevens en veldtoetsgegevens.

'Follow up' (H.5.3)
De voorgestelde veldtoetsen hebben op dit moment alleen nog maar een papieren status en vormen met elkaar één van de vele mogelijkheden om de neveneffecten via veldonderzoek op te sporen. Validatie in het veld is nu een absolute noodzaak voordat tot een eventuele invoering van deze richtlijnen in de toelatingsprocedure kan worden besloten. Het is hierbij niet ondenkbaar dat in het veld een gedeelte van een veldtoets of een combinatie van (delen van) veldtoetsen wordt uitgevoerd. Met een voorstel voor het opzetten van de veldvalidatie wordt dit rapport afgesloten.

1. INLEIDING

1.1 Achtergrond en aanleiding

In 1989 is door het Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer, Directoraat-Generaal voor het Milieubeheer (Directies Stoffen & Risicobeheersing en Drinkwater, Water & Bodem) opdracht verleend tot het uitvoeren van een onderzoek naar de mogelijkheden voor het toepassen van veldtoetsen bij de toelating van bestrijdingsmiddelen, inclusief het ontwikkelen van een aantal veldtoetsrichtlijnen. De studie is een vervolg op eerder door het CML uitgevoerd onderzoek, eveneens in opdracht van het Directoraat-Generaal voor het Milieubeheer.

Het onderzoek naar de "Neveneffecten van Bestrijdingsmiddelen" (NB-project) van grootschalig in de landbouw gebruikte chemische bestrijdingsmiddelen is gestart in 1986. Fase 1 van het NB-project richtte zich met name op de neveneffecten op zoogdieren, vogels, amfibieën en reptielen (de Snoo & Canters, 1988). In een vervolgonderzoek, fase 2 van het NB-project, richtte de aandacht zich op terrestrische evertebraten en de aquatische fauna (Canters et al., 1989).

Een belangrijke uitkomst van het onderzoek in zowel fase 1 als fase 2 van het NB-project is dat de extrapolatie van laboratoriumgegevens naar de veldsituatie tot nog toe zeer problematisch is. Voor de oplossing van dit knelpunt staan in principe twee wegen open, te weten:
1) verbeteren van de voorspellingen op basis van bestaande laboratoriumgegevens of
2) verzamelen van (aanvullende) gegevens in het veld.

Het voorspellen van de milieu-risico's door middel van extrapolatie van laboratorium-onderzoek is op dit moment sterk in ontwikkeling. De resultaten hiervan worden inmiddels ook gebruikt voor het onderbouwen van ecotoxicologische normen (bijv. Stortelder et al., 1989). Voor een overzicht van de extrapolatiemethoden wordt verwezen naar het rapport "Ecotoxicologische risico-evaluatie van stoffen" van de Gezondheidsraad (1988).

Bij deze voorspellingen op basis van laboratorium-onderzoek worden gegevens over de toxiciteit en fysisch-chemische eigenschappen gecombineerd met gegevens over het gebruik van de stof en de mogelijke blootstelling van soorten. De voorspellingen kunnen plaats vinden door gebruik te maken van LC50-waarden (Slooff et al., 1983; Kooijman, 1987), van NOEL of NOEC-waarden (van Straalen, 1987; Stortelder et al., 1989), maar ook door te letten op structuureigenschappen van stoffen, bijv. QSARS. Om aan de hand van de laboratoriumgegevens de risico's te bepalen voor in het veld voorkomende organismen of ecosystemen wordt gebruik gemaakt van extrapolatie- en veiligheidsfactoren. Van Straalen (1987) gebruikt veiligheidsfactoren voor gevoelige soorten, extrapolatiefactoren voor de veldsituatie en leefmilieufactoren voor de relatie met standaardbodems. De EPA hanteert voor de stap van acute toxiciteit naar NOEL, van één soort naar meerdere soorten en van laboratorium naar veldsituatie, telkens een factor 10.

Hoewel extrapolatiefactoren steeds meer in gebruik komen zijn deskundigen het er over eens dat de wetenschappelijke basis voor de extrapolatie onvoldoende is doorgrond: '[The] Working Party members agreed that there *is at present no scientific basis for the extrapolation of acute to chronic, species to species, and from acute/chronic data on individuals to communities and ecosystems.*' (OECD, 1988; blz. 18). Het is echter de vraag of exact inzicht in de achtergronden van de extrapolatie zinvol is, omdat het, ten gevolge van de complexiteit van het milieu en het grote aantal chemische stoffen, toch noodzakelijk zou blijven onzekerheidsfactoren in te bouwen.

Behalve de onzekerheden bij het voorspellen van de toxische effecten van een stof in de veldsituatie bestaan er ook onzekerheden bij het voorspellen van de concentratie van de stof in het milieu ('Predicted Environmental Concentration: PEC') en de snelheid waarmee deze uit het milieu verdwijnt.

De huidige aandacht voor het beoordelen van de risico's van stoffen door middel van extrapolatie-methoden en modellering neemt niet weg dat er eveneens door veel deskundigen wordt aangedrongen op veldonderzoek om de risico's onder praktijkomstandigheden te beoordelen. Voor een samenvatting van een dergelijk deskundigen-oordeel, zie De Snoo & Canters (1988) en Canters et al. (1989). Hierbij wordt tevens gesteld dat veldonderzoek ook waardevol kan zijn om de modellen in de praktijk te valideren. Daarnaast wordt veldonderzoek onmisbaar geacht voor het opzetten van modelecosystemen en milieumeetnetten (Murk, 1987). Tenslotte wordt *veldonderzoek genoemd als mogelijkheid om achteraf - na toelating van een middel* - de neveneffecten van een middel te onderzoeken (zgn. post-registratie).

Voor het gebruik van veldtoetsen bij de toelating van bestrijdingsmiddelen zijn zowel voor als nadelen te noemen. Als argumenten vóór het gebruik van een veldtoets worden o.a. genoemd:

- De laboratoriumtoetsen hebben onvoldoende voorspellende betekenis voor de veldsituatie. De verschillen tussen laboratorium- en veldsituatie berusten onder meer op verschillen in de verspreiding van de stof en op de blootstelling van organismen.
- Verschillen in gevoeligheid van de blootgestelde soorten en, binnen één soort, van de blootgestelde individuen (o.a. t.g.v. verschillen in populatie-opbouw, achtergrondbelasting van de blootgestelde organismen, 'environmental stress' ten gevolge van interacties met andere stoffen en/of met andersoortige ingrepen).
- De mogelijkheid om ecologische effecten te onderzoeken; deze kunnen in het laboratorium nauwelijks worden bepaald.
- De mogelijkheid om voorspellingen en modellen in het veld te valideren.
- Het waarnemen van onverwachte (niet voorspelde) neveneffecten onder praktijkomstandigheden, die met laboratorium-onderzoek niet zijn te achterhalen.

Als beperkingen van een veldtoets worden o.a. genoemd:

- De veldomstandigheden zijn zeer wisselend, de uitkomsten kunnen niet worden herhaald en onderling worden vergeleken. Overigens mede veroorzaakt door het feit dat er geen standaard-veldtoetsrichtlijnen beschikbaar zijn.

- Ook in het veld zijn effectmetingen op populatie-niveau moeilijk uitvoerbaar door de veelal beperkte opzet (klein gebied, korte tijdsduur) van de veldtoetsen.
- Veldtoetsen kunnen eventuele effecten maskeren doordat ze te ongevoelig zijn.
- Ethische argumenten: het blootstellen van dieren aan potentiële risicovolle middelen wordt over het algemeen niet wenselijk geacht.

Ondanks de genoemde bezwaren, die verbonden zijn aan het gebruik van veldtoetsen, wordt, ook in internationaal verband, wel de betekenis van veldtoetsen onderkend, getuige de uitkomsten van de workshop 'Terrestrial field testing of pesticides' gehouden te Cambridge in september 1988 (Anonymus, 1988). Ook heeft men in landen als Engeland en de Verenigde Staten reeds een aanzet gegeven voor de ontwikkeling van veldtoetsrichtlijnen (= 'guidelines') en/of wordt verwezen naar eerder uitgevoerd veldonderzoek dat voldoet aan de normen van de desbetreffende nationale overheid.

In Nederland zijn er tot nu toe nauwelijks richtlijnen voor het uitvoeren van veldonderzoek, gericht op het vaststellen van neveneffecten en voor gebruik in het kader van de toelating van bestrijdingsmiddelen, ontwikkeld c.q. beschikbaar. Weliswaar wordt in ons land door verschillende instituten veldonderzoek uitgevoerd, maar dit vindt nauwelijks plaats in het kader van de toelating. Hierbij wordt ook van andere vraagstellingen uitgegaan. Bij dergelijk onderzoek wordt bovendien gebruik gemaakt van verschillende en vaak zeer uiteenlopende methoden en technieken, waarbij een synthese van bruikbare methoden ontbreekt. Dat betekent dat richtlijnen geheel ontbreken. Dergelijke richtlijnen voor het uitvoeren van veldtoetsen in het kader van de toelating van bestrijdingsmiddelen zouden onder meer de volgende elementen moeten bevatten:
- de condities (criteria) waaronder een veldonderzoek moet worden uitgevoerd
- de technische opzet van de veldtoets
- de wijze waarop de verkregen resultaten moeten worden geïnterpreteerd.

1.2 Doelstellingen

Op grond van het bovenstaande is het doel van het onderzoek: het aandragen van zo concreet mogelijke bouwstenen voor het uitvoeren van veldtoetsen, die gebruikt kunnen worden bij de toelating van bestrijdingsmiddelen in Nederland. Verder uitgewerkt betekent dit dat de volgende drie doelstellingen worden onderscheiden:

I. Aangeven wat de rol en de plaats van de veldtoetsen kan zijn bij de toelating van bestrijdingsmiddelen in Nederland.

II. Het ontwikkelen van een raamwerk om veldtoetsen te selecteren voor het opsporen van neveneffecten van een bestrijdingsmiddel.

III. Het ontwikkelen van veldtoetsrichtlijnen.

Bij de uitvoering van het onderzoek zijn de volgende uitgangspunten gehanteerd:
- Zo veel mogelijk aansluiten bij de bestaande toelatingsprocedure en internationaal erkende of in het buitenland reeds gehanteerde richtlijnen.
- De afwegingsprocedure om over te gaan tot het uitvoeren van veldtoetsen en de selectie van veldtoetsen moet zo inzichtelijk mogelijk zijn.

- De richtlijnen moeten zoveel mogelijk afdekkend zijn, dit wil zeggen alle milieucompartimenten en zoveel mogelijk blootgestelde functionele groepen binnen een ecosysteem. Hierbij zullen ook andere dan landbouwkundige functies worden meegenomen.
- De veldtoetsen moeten zo concreet mogelijk worden ingevuld.

Over het laatste uitgangspunt is discussie mogelijk. Enerzijds kan worden gesteld dat een goed omschreven en gedetailleerde richtlijn een houvast biedt voor zowel fabrikant als overheid, anderzijds moet er echter voor worden gewaakt dat de richtlijn niet zo strak en rigide is dat het als legitimering kan werken voor de aanvrager (mond. med. Mineau, Canada).

1.3 Onderzoeksmethode

Voor de uitvoering van het onderzoek zijn zoveel mogelijk gegevens verzameld over veldtoetsvoorschriften en uitgevoerd veldonderzoek. Hierbij is gebruik gemaakt van gegevens uit geautomatiseerde literatuurbestanden en informatie die verkregen werd door het benaderen van deskundigen.

Het literatuuronderzoek heeft plaatsgevonden door gebruik te maken van drie 'computersearches' in het BIOSIS-bestand. Twee van deze 'searches' werden reeds in het kader van fase 1 en 2 van het NB-project uitgevoerd (zie voor zoekprofielen: De Snoo & Canters, 1988; Canters et al., 1989). Deze twee 'searches' zijn aangevuld voor de periode januari 1987 - mei 1989, waarbij gebruik gemaakt is van de trefwoorden: 'pesticide, herbicide, fungicide, insecticide, acaricide, nematicide, fumigant, granulate' *of 'seeddressing'. Deze trefwoorden moesten in combinatie voorkomen met* 'field, ecosystem, (side)effect, surveillance, mapping, monitoring, population, ecological, forest, trap' of 'trapping' en in combinatie met 'effect, influence, plant, animal' of 'organism'. Buitengesloten is onderzoek met als trefwoorden 'efficacy' en 'effectiveness'. Aan de hand van dit aanvullende zoekprofiel zijn 53 artikelen gevonden.

Voor wat betreft de gegevens over in het verleden verricht aquatisch veldonderzoek heeft er een aanvulling plaatsgevonden door gebruik te maken van een literatuurbestand van het RIVM. Hieruit resulteerden nog eens 86 artikelen uit de periode 1970 tot heden.

Naast het literatuuronderzoek zijn, door het benaderen van vertegen*woordigers van ministeries en instituten in diverse Europese landen, ook* veldtoetsen en de daarbij behorende achtergrondinformatie verzameld. De aangeschreven buitenlandse instanties zijn:

België:	- Ministerie van Landbouw, Bestuur Land- en Tuinbouw, Dienst Plantenbescherming, Brussel.
Denemarken:	- National Agency of Environmental Protection, Kopenhagen.
West-Duitsland:	- Umweltbundesambt, Berlin. Der Bundesminister für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, Bonn. - Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin und Braunschweig.
Oost-Duitsland:	- Sektion Pflanzenproduktion der Martin-Luther-Universität, Halle.
Finland:	- Ministry of the Environment, Helsinki.

Frankrijk:	- Secretariat D'Etat Charge De L'Environnement, Neuilly-sur-Seine Cedex.
	- l'Association Nationale pour la Protection des Plantes, Paris.
Noorwegen:	- Norwegian State Pollution Control Authority, Oslo.
	- The Pesticides Board of the Ministry of Agriculture, As.
	- Plant Protection Institute, As.
Oostenrijk:	- Forschungsinstitut für Wildtierkunde, Wien.
Portugal:	- Centro Nacional de proteccao da Producao agricola, Oeiras.
Zweden:	- National Board on Environmental Protection, Research Department, Solna.
	- Pesticide Approval Division, kemikaliein-inspektionen, Solna.
Zwitserland:	- Federal Office for Environmental Protection, Berne.

Met uitzondering van de instanties in Denemarken, Portugal en Zwitserland hebben alle aangeschreven instellingen gereageerd. Bovendien is uit de Verenigde Staten (EPA) en Engeland (MAFF) via persoonlijke contacten op indirecte wijze materiaal. Mondelinge informatie over de procedure in Canada is verkregen van dr. P. Mineau ('Head Pesticide Evaluation, National Wildlife Research Centre', Ottawa) bij een bezoek aan het CML in augustus 1989.

Tenslotte heeft een analyse plaatsgevonden van het materiaal van enkele internationale organisaties, die zich bezig houden met de toelating van bestrijdingsmiddelen, zoals de OECD, EPPO, IOBC, FAO, EG en de Raad van Europa. Hierbij zijn ook de uitkomsten betrokken van een in september 1988 te Cambridge gehouden workshop over de problematiek rond veldtoetsen.

1.4 Opzet rapport

Het rapport bestaat globaal uit drie onderdelen:

1. In eerste instantie is onderzocht wat de huidige plaats en het gebruik van veldtoetsen is bij de toelating van bestrijdingsmiddelen. Hierbij worden onder meer diverse buitenlandse toelatingsprocedures en de Nederlandse procedure met elkaar vergeleken. Hiervan wordt verslag gedaan in hoofdstuk 2.
2. In hoofdstuk 3 wordt vervolgens aan de hand van de verkregen resultaten bij de voorafgaande stap een voorstel gedaan voor de plaats en de noodzaak voor veldtoetsen bij de toelating van bestrijdingsmiddelen in Nederland. Voor het selecteren van een geschikte veldtoets in verschillende situaties is een afwegingsprocedure geformuleerd. Hierbij wordt uitgegaan van de verschillende stof- en gebruikseigenschappen van een bestrijdingsmiddel, zoals de aard van het desbetreffende bestrijdingsmiddel (fungicide, herbicide enz., chemische groep, fysisch-chemisch en gedrag) en de toepassing/teelt. Op basis van deze informatie worden vervolgens verdenkingen opgespoord en worden de mogelijk te verwachten effecten gekoppeld aan verschillende groepen organismen. De eventuele neveneffecten kunnen uiteindelijk met behulp van verschillende veldtoetsen worden onderzocht.
3. Tenslotte worden tien concrete voorstellen voor veldtoetsen gedaan. Hierbij is als volgt te werk gegaan: op basis van verzamelde gegevens

is eerst een concept-veldtoets opgesteld. Hierbij is steeds aangegeven op welke bestaande richtlijnen en veldonderzoek dit concept is gebaseerd. Vervolgens is dit concept aan deskundigen op het betreffende onderzoeksgebied voorgelegd en op basis van de verkregen informatie zonodig bijgesteld. Hieruit resulteren de door ons voorgestelde veldtoetsrichtlijnen. In deze richtlijnen zijn ook de criteria aangegeven waaraan de uitkomsten van de toetsen moeten voldoen om bij de toelatingsprocedure gebruikt te mogen worden. De algemene uitgangspunten hiervoor zijn geformuleerd in hoofdstuk 4. De beschrijving van de voorgestelde richtlijnen is weergegeven in deel B van het rapport.

Het onderhavige onderzoek beperkt zich tot het ontwikkelen van veldtoetsrichtlijnen. Vanzelfsprekend moeten deze voorstellen voor richtlijnen in het veld worden gevalideerd. Aan de hand van de verkregen uitkomsten kunnen de definitieve richtlijnen worden opgesteld. De toetsing in het veld en de eventuele bijstelling vallen buiten fase 3 van het NB-project. In § 5.3 is wel een voorstel gedaan om deze validatie in gang te zetten en te coördineren.

1.5 Enkele begrippen

In het onderhavige rapport worden een aantal begrippen gebruikt die wellicht enige toelichting behoeven:

- **Typen neveneffecten**

In het rapport wordt een tweetal typen neveneffecten onderscheiden, te weten toxische en ecologische neveneffecten (zie ook De Snoo & Canters, 1988). Onder een **toxisch neveneffect** wordt de beïnvloeding van een organisme of populatie verstaan ten gevolge van de giftigheid van een bestrijdingsmiddel. Deze beïnvloeding kan zowel direct als indirect zijn; in het laatste geval ten gevolge van doorvergiftiging, waarbij organismen op een lager trofisch niveau als intermediair optreden. De gevolgen kunnen zowel letaal zijn als subletaal (bijv. beïnvloeding van de reproductie of gedrag).

Ecologische neveneffecten zijn altijd indirecte effecten. Ze treden op als er sprake is van een effect met een andere oorzaak dan vergiftiging. Deze neveneffecten zijn te verdelen in effecten via het voedsel en/of via de habitat. Bij voedsel-effecten verandert door het gebruik van bestrijdingsmiddelen de beschikbaarheid van voedsel voor niet-doelwit organismen. Bij habitat-effecten verandert de leefomgeving van een soort (bijv. de dekking of de beschaduwing).

- **Typen veldonderzoek**

In de literatuur worden verschillende - veelal impliciete - criteria gehanteerd voor het karakteriseren van veldonderzoek en semi-veldonderzoek. In dit onderzoek is een aantal typen veldonderzoek onderscheiden:

Veldonderzoek sensu stricto: dit is onderzoek naar de effecten van bestrijdingsmiddelen op van nature voorkomende soorten in een bestaand ecosysteem; dit ecosysteem kan natuurlijk, halfnatuurlijk of cultuur-

lijk zijn. Het te onderzoeken ecosysteem staat in verbinding met zijn omgeving en is dus niet kunstmatig geïsoleerd. Ook het plaatsen van nestkasten wordt tot het veldonderzoek sensu stricto gerekend.

N.B. Een veldonderzoek is niet gelijk aan een ecosysteem-onderzoek. In een veldonderzoek kan in tegenstelling tot een ecosysteem-onderzoek één soort of een beperkt aantal soorten of processen worden onderzocht.

Semi-veldonderzoek. Bij dit type onderzoek wordt de uitgangssituatie bewust veranderd; er vindt een manipulatie plaats. Er worden drie vormen onderscheiden:

- **'enclosure'-onderzoek:** het aanbrengen van een ruimtelijke begrenzing aan een bestaand ecosysteem. Bijvoorbeeld het met behulp van netten afzetten van een deel van een meer of het aanbrengen van een raster op een deel van een akker. Het plaatsen van bijenkorven met honingbijen behoort ook tot deze categorie. De bijen zijn namelijk in de praktijk gebonden aan het veld waarin de korven worden geplaatst.
- **proefsloot/proefveld-onderzoek:** het aanleggen van een nieuw ecosysteem door middel van het graven van proefsloten of proefvijvers dan wel het aanleggen van proefvelden. In de meeste gevallen zijn deze proefsituaties voor de te onderzoeken soort-(en) ruimtelijk geïsoleerd.
- **kooistudies:** het verhogen van de dichtheid van een of meerdere soorten, waarbij deze soorten zich in een zeer beperkte ruimte bevinden. Voorbeelden hiervan zijn het aanbrengen van kooitjes met watervlooien of vissen in het water, maar ook het plaatsen van bijenkorven in kooien. Kooistudies kunnen worden uitgevoerd binnen een 'enclosure' of een proefveld-onderzoek, maar ook binnen een veldonderzoek sensu stricto.

- **Richtlijnen c.q. protocollen**

In de literatuur wordt voor de beschrijving van de regels/voorschriften voor een (veld)toets gebruik gemaakt van zowel de begrippen "toetsprotocol" als "toetsrichtlijn", in het Engels beide aangeduid met 'guidelines'. In dit rapport wordt steeds gesproken van veldtoetsrichtlijnen. De term richtlijn wordt als meer neutraal beschouwd dan protocol, waarbij ook sprake kan zijn van een bepaalde juridische status.

2. HUIDIG GEBRUIK VAN VELDTOETSEN BIJ DE TOELATINGSPROCEDURE

In dit hoofdstuk worden de huidige plaats en het gebruik van veldtoetsen voor het onderzoeken van de neveneffecten bij de toelating van bestrijdingsmiddelen besproken. Veldtoetsen kunnen op twee manieren in de toelatingsprocedure zijn ingepast (Anonymus, 1988)[1]:

a) Veldtoetsen geïncorporeerd in het evaluatieproces als een essentieel en regulier onderdeel van de toelatingsprocedure.
b) Veldtoetsen als een niet-essentieel en niet-regulier onderdeel in het evaluatieproces en afhankelijk van het uit andere informatie voorspelde risico-niveau.

Van de eerste manier van inpassen (a) zijn geen concrete voorbeelden gevonden, hoewel hiervoor o.a. in Nederland wel voorstellen zijn gedaan (zie Canters et al., 1989). De noodzaak om over te gaan tot veldonderzoek is in de huidige toelatingsprocedures vooral afhankelijk van voorspellingen uit andere informatie (b). Hierbij wordt veelal gebruik gemaakt van een gefaseerde aanpak ('tier systems'), waarbij gegevens uit eerder uitgevoerde laboratorium-toetsen worden beoordeeld en vervolgens wordt nagegaan of veldonderzoek alsnog nodig is. Bij deze afweging is het noodzakelijk criteria te hebben aan de hand waarvan kan worden bepaald of een veldtoets moet worden uitgevoerd. In dit hoofdstuk worden de veldtoetsen zelf en de criteria voor uitvoering geïnventariseerd aan de hand van gegevens van een aantal internationale organisaties, enkele nationale toelatingsprocedures en het verslag van een in september 1988 te Cambridge gehouden workshop met als thema veldonderzoek.

Allereerst wordt ingegaan op plaats en de uitvoeringscriteria van de veldtoetsen in Nederland (§ 2.1) en vervolgens op die in het buitenland (§ 2.2). Op de inhoudelijke opzet van de toetsen wordt in dit hoofdstuk niet ingegaan; deze komt aan de orde in hoofdstuk 4. Alvorens daartoe wordt overgegaan wordt in hoofdstuk 3 een selectiemethode voor veldtoetsen voorgesteld.

2.1 Veldtoetsen in Nederland

Binnen de Nederlandse toelatingsprocedure van bestrijdingsmiddelen is veldonderzoek, voor zover althans gericht op het onderzoeken van de neveneffecten van een bestrijdingsmiddel, tot nu toe niet standaard verplicht. Voor de fauna wordt alleen bij het onderzoek naar de gevaren van een middel voor honingbijen aangegeven dat, als de LD50 in verhouding tot de hoogst aanbevolen velddosering daartoe aanleiding geeft, ook kooi- en/of veldproefgegevens noodzakelijk zijn (CTB, 1987: Aanvraagformulier A; onderdeel H.3.1). De veldproeven dienen in dat geval te worden uitgevoerd volgens de 'Guideline for evaluating the hazard of pesticides to honey bees, Apis mellifera' (EPPO, in prep.) of volgens een vergelijkbare andere methode. Hierbij moet worden opgemerkt dat gegevens over de

---

[1] Veldonderzoek naar de (neven)effecten van bestrijdingsmiddelen kan ook ná de toelatingsprocedure worden uitgevoerd, zowel in het kader van een voorlopige toelating als in de vorm van incidenten-registratie of gebiedsgerichte monitoring.

gevaren van een middel voor honingbijen alleen noodzakelijk zijn, indien het middel wordt gebruikt op bloeiende gewassen en planten, die door bijen worden bevlogen (CTB, 1987). Bij de huidige Nederlandse toelating van bestrijdingsmiddelen wordt dit in praktijk ruim opgevat, hetgeen er op neer komt dat de gevaarlijkheid voor bijen wordt onderzocht, zodra er een kans op blootstelling bestaat (mond. med. Oomen).

Voor de overige faunagroepen kan het, in het kader van de "aanvullende gegevens" en "in bepaalde gevallen", nodig zijn dat er onderzoek naar toxiciteit van een middel onder veldomstandigheden wordt uitgevoerd (CTB, 1987: Aanvraagformulier A; onderdeel H.7.2). Aanvullende gegevens kunnen worden verlangd, indien de bij andere vragen gegeven antwoorden, de aard van de toepassing of de gegevens over het gedrag van het middel in grond of water daartoe aanleiding geven. Als gevolg hiervan is in Nederland slechts één keer veldonderzoek uitgevoerd, te weten naar de mogelijke indirecte vergiftiging van insectivore vogels bij gebruik van diflubenzuron in boomgaarden (de Reede, 1982). Het onderzoek werd uitgevoerd omdat *diflubenzuron op het moment van aanvragen een middel was met een nieuw* werkingstype: de remming van het vervellingshormoon bij insecten.

In het kader van de mogelijke invloed van een middel op de nitrificatie (bodemmicroflora en daarmee samenhangende enzymatische processen) kan ook nader onderzoek onder veldomstandigheden worden gevraagd, namelijk wanneer vrij langdurige beïnvloeding van de nitrificatie kan optreden. Hierbij wordt echter niet verwezen naar standaard-veldtoetsprotocollen.

Uit het bovenstaande blijkt dat er op dit moment in Nederland voor het toelaten van een bestrijdingsmiddel, met uitzondering van de honingbijen Apis mellifera, geen richtlijnen worden gehanteerd voor de uitvoering van veldproeven voor onderzoek naar neveneffecten. In het aanvraagformulier wordt volstaan met de opmerking dat "het van groot belang [is] dat proefopzet en proefomstandigheden nauwkeurig worden omschreven. Het protocol voor dit onderzoek kan zonodig in overleg met deskundigen van de Commissie [= CTB] worden vastgesteld" (CTB, 1987: Aanvraagformulier A, onderdeel H.7.2). Tevens wordt hierbij verwezen naar het 'Working Document 7/1' van de Engelse toelatingsprocedure (zie § 2.2.2: Engeland).[1] Wel wordt opgemerkt dat, wanneer een bestrijdingsmiddel wordt geclaimd voor geïntegreerde bestrijding, ook de gevaarlijkheid voor nuttige insecten en mijten dient te worden onderzocht. De hierbij gebruikte IOBC-toetsen *kunnen deels uit veldonderzoek bestaan (zie verder § 2.2: IOBC).*

Voor het uitvoeren van veldonderzoek gericht op de **deugdelijkheid** van een bestrijdingsmiddel bestaan er wel richtlijnen (Plantenziektenkundige Dienst, zonder jaartal). Deze richtlijnen omvatten in de regel:

1 Proefvoorwaarden: o.a. keuze gewas en ras, voorwaarden met betrekking tot het optreden van de aantasting, veldjesgrootte, afmetingen, aantal objecten, herhalingen en proefveldindeling.
2 Toediening van het middel: o.a. middelen, behandelingsapparatuur, hoeveelheid spuitvloeistof, aantal en tijdstip van behandelingen, veiligheidstermijn en vermelding van de gegevens met betrekking tot de behandelingen.

[1] Opgemerkt wordt dat het onderzoek naar neveneffecten voor in Nederland toe te laten middelen veelal in het buitenland wordt verricht.

3 Waarnemingen: o.a. methoden, tijdstip en frequentie van beoordeling op aantastingen en verdere waarnemingen, zoals fytotoxiciteit, gewasontwikkeling, zichtbaar residu en opbrengstbepaling.

In totaal zijn er 36 verschillende Nederlandse richtlijnen voor het uitvoeren van veldtoetsen opgesteld. Ze differentiëren naar de te bestrijden plaag en gewasgroepen en soms naar de bespuitingsmethoden. Zo zijn er bijvoorbeeld richtlijnen voor het uitvoeren van veldproeven ter bestrijding van witte vlieg in groentegewassen door middel van gewasbespuitingen met chemische middelen en richtlijnen voor het uitvoeren van veldproeven ter bestrijding van fruitspint in fruit.

De Nederlandse veldtoetsprotocollen voor het deugdelijkheidsonderzoek zijn afgeleid van de 'EPPO Guidelines for Efficacy Evaluation of Plant Protection Products'. Sinds 1977 heeft de EPPO 141 protocollen voor het deugdelijkheidsonderzoek opgesteld, het grootste deel hiervan betreft veldonderzoek; voor een overzicht wordt verwezen naar EPPO (1989). Bij dit deugdelijkheidsonderzoek wordt in de marge aandacht besteed aan de mogelijke neveneffecten: 'Any observed environmental effects should also be recorded, especially effects on wildlife and/or beneficial organisms' (EPPO, 1989). Daarnaast bestaan er ook twee EPPO-protocollen voor het onderzoeken van neveneffecten in het veld (zie verder § 2.2: EPPO).

Tenslotte is er in Nederland de mogelijkheid om in het kader van de toelating van bestrijdingsmiddelen een middel voor proefdoeleinden te gebruiken (zgn. proefontheffing) (van Rijn, 1989). In het kader van een dergelijke ontheffing zou eventueel ook veldonderzoek kunnen worden uitgevoerd. Ook hiervoor ontbreken echter standaard-richtlijnen.

N.B. Tot nu toe wordt bij de toelating van bestrijdingsmiddelen slechts een beperkt aantal soorten in de laboratorium getoetst. In het kader van het Speerpuntprogramma Bodemonderzoek wordt een relatief groot aantal nieuwe toetsprotocollen ontworpen met andere organismen (Eijsackers & Bosma, 1989). De in dit kader in ontwikkeling zijnde protocollen betreffen tot nu toe hoofdzakelijk laboratorium-toetsen en dan alleen voor de bodemfauna en de aquatische fauna. Voor de aquatische fauna wordt ook mesocosmosonderzoek verricht (o.a. DBW/RIZA, TNO en WL, zie eveneens Eijsackers & Bosma, 1989). Voor bepaalde groepen, zoals planten en vogels, worden echter nog steeds geen protocollen ontwikkeld.

2.2 Veldtoetsen in het buitenland

In § 2.2.1 worden de activiteiten van een aantal internationale organisaties besproken, voor zover deze althans betrekking hebben op de toelating van bestrijdingsmiddelen in relatie tot veldtoetsen. In deze paragraaf wordt ook de workshop in Cambridge behandeld. In § 2.2.2 wordt ingegaan op de toelatingsprocedures van enkele afzonderlijke nationale overheden.

2.2.1 Internationale organisaties en workshop Cambridge

Achtereenvolgens worden de activiteiten van de volgende internationale organisaties besproken: OECD, IOBC, EPPO, FAO, Raad van Europa en EG. In het algemeen kan over deze activiteiten het volgende worden opgemerkt.

Onder verantwoordelijkheid van de eerste drie organisaties worden op dit moment daadwerkelijk protocollen opgesteld. De drie andere organisaties verwijzen naar protocollen die elders zijn of worden ontwikkeld.[1]

OECD

Onder verantwoordelijkheid van de 'Organisation for Economic Co-operation and Development' (= OECD) zijn veel protocollen beschreven voor het toetsen van de effecten van chemicaliën (waaronder bestrijdingsmiddelen) op biotische systemen (OECD, 1986). Het betreft alleen laboratorium--toetsen. Daarnaast geeft de OECD ook een overzicht van de gebruikte procedures voor de toelating van nieuwe stoffen (OECD, 1984).

In juni 1988 organiseerde de OECD in Washington een workshop met als thema 'Ecological Effects Assessments' (OECD, 1988). Op deze workshop zijn de bestaande toetsprotocollen onder de loep genomen en aandachtspunten voor verder onderzoek en te ontwikkelen protocollen aangegeven. In het algemeen werd gesteld dat bij het vergelijken van de verschillende toelatingsprocedures er drie stappen zijn te onderscheiden; bij elke stap neemt de complexiteit van het onderzoek toe, hetgeen gepaard gaat met een verschuiving van het accent van laboratorium-gegevens naar veldgegevens:
- 'the initial or screening stage' (met name acute toxiciteitstoetsen)
- 'an intermediate stage' (incl. chronische effecten)
- 'a comprehensive stage' (incl. bredere ecosysteemstudies).

Ten aanzien van veldtoetsen kwamen tijdens die workshop de volgende zaken naar voren:
- Aquatische organismen: Er werd opgemerkt dat in het aquatisch milieu, door de inmiddels opgedane ervaringen, micro- en mesocosmos-toetsen in de praktijk zijn uit te voeren en dat de kosten in relatie tot de verkregen gegevens gunstiger zijn komen te liggen; aangegeven werd dat met de verschillende systemen nog wel meer ervaring moet worden opgedaan en dat de mogelijkheid om 'exclosures' te gebruiken moet worden uitgebreid.
- Regenwormen: Veldtoets die erop gericht is de effecten van chemicaliën waar te nemen op (de activiteit van) regenwormen (bladvertering) en op hun populatiestructuur; deze toets is in West-Duitsland in ontwikkeling (zie verder § 2.2.2 en H.4).
- Microflora en micro/meso-bodemfauna: 'Litterbag'-toets: de afbraak van organisch materiaal wordt gemeten in nylon zakjes, die op 5 cm diepte in de grond worden ingegraven; de afbraak wordt gezien als een variabele die een indicatie geeft omtrent de microflora en de micro/mesofauna.
- Nuttige arthropoden: Kooi-, tent- en veldtoets: onderzocht wordt sterfte, gedrag en aantasting van de (predatie)functie.
- Honingbijen: Kooi-, tent- of veldtoets om het effect te onderzoeken van chemicaliën, die gebruikt worden op bloeiende gewassen; onderzocht worden sterfte, fourageergedrag, broedontwikkeling en larvale toxiciteit; er wordt aangedrongen op de ontwikkeling van een protocol.

---

[1] In deze paragraaf wordt geen overzicht gegeven van de verschillende buitenlandse toelatingsprocedures; hiervoor wordt verwezen naar publicaties van de OECD (1984, 1988) en de Raad van Europa (1989).

- Vogels: Kooi- en veldtoetsen; kooitoetsen voor de natuurlijke blootstelling; bij onderzoek met kooien is het aantal oncontroleerbare variabelen echter erg groot; verwezen wordt naar een 'draft protocol' van de EPA; veldtoets: sterfte, binomiaal naar analogie van EPA-toets en kwantificering van het sterfte; radiotelemetrie kan de betrouwbaarheid en het nut van veldtoetsen vergroten; de kosten nemen echter ook navenant toe.

Ondanks de bovengenoemde uitspraken op de workshop en de belangrijke plaats, die veldtoetsen in de gepresenteerde toelatingsschema's innemen, is de uitwerking van veldtoetsprotocollen géén afzonderlijke aanbeveling van de workshop. Waarschijnlijk wordt dit veroorzaakt door de grote twijfel bij de deelnemers over de mogelijkheden van standaard-veldtoetsen.

Eén van de aanbevelingen van de deelnemers van de workshop naar de OECD toe was wel dat de OECD de oprichting van een databank moet stimuleren; een databank waarmee gegevens uit het veld en van mesocosmos-onderzoek kunnen worden vergeleken met effecten voorspeld op grond van laboratorium-gegevens.

IOBC

De 'International Organization for Biological Control of noxious animals and plants (West Palearctic Region Section, working Group: Pesticides and beneficial organisms)' houdt zich bezig met de neveneffecten van bestrijdingsmiddelen op nuttige organismen (parasieten en predatoren van plaagorganismen). Er is een groot aantal protocollen ontwikkeld voor laboratorium-toetsen (zie: Hassan et al., 1985; IOBC, 1988). Daarnaast is er een aantal 'semi-field'- en 'field'-toetsprotocollen ontwikkeld.

De IOBC hanteert een stapsgewijze toetsing voor de neveneffecten op de nuttige organismen. Allereerst wordt in het laboratorium een initiële toxiciteitstoets uitgevoerd, waarna als het middel gevaarlijk lijkt te zijn, verder wordt getoetst in een 'semi-field'-situatie waarbij de initiële toxiciteit en de persistentie worden getoetst. Indien het middel vervolgens nog steeds gevaarlijk lijkt te zijn, wordt het in het veld getoetst.

Voor het bepalen van de gevaarlijkheid worden vier evaluatie-categorieën gebruikt (ongevaarlijk, licht gevaarlijk, matig gevaarlijk en gevaarlijk). Deze zijn gebaseerd op de mate van schade (bijv. toxiciteit) voor het onderzochte niet-doelwit organisme en de lengte van de schadelijke werking (zie verder: Hassan et al., 1985). Ook voor de interpretatie van de resultaten van de veldtoets worden deze vier evaluatie-categorieën gehanteerd. Ongevaarlijk is daarbij < 25% sterfte, licht schadelijk 25-50% sterfte, matig schadelijk 51-75% sterfte en schadelijk > 75% sterfte (Hassan et al., 1985).

In totaal zijn er op dit moment zeven veldtoetsen van de IOBC beschreven (Hassan et al., 1985; IOBC, 1988):
1 roofmijt Typhlodromus pyri in wijngaarden
2 roofmijt Typhlodromus pyri in appelboomgaarden
3 roofmijt Amblyseius finlandicus in appel- peer- en kersenboomgaarden
4 roofmijt Phytoseiulus persimilis in kassen
5 sluipwesp Encarsia formosa in kassen

6 arthropoden in akkerbouwgewassen
7 arthropoden in appelboomgaarden.

Opgemerkt wordt dat er bij de eerste vijf toetsen sprake is van het actief inzetten van deze soorten voor biologische bestrijding.

N.B. *De benadering van de IOBC, de stapsgewijze aanpak van laboratoriumtoets -> semi-veldtoets -> veldtoets, waarbij de onzekerheidsmarge over de gevaarlijkheid van een stof geleidelijk verminderd, wordt ook door deskundigen in Nederland, althans voor bestrijdingsmiddelen, toereikend geacht (Eijsackers & Bosma, 1989).*

EPPO

De 'European and Mediterrean Plant Protection Organization' (= EPPO) houdt zich vooral bezig met het onderzoeken van de deugdelijkheid van bestrijdingsmiddelen (zie § 2.1). Er bestaan echter ook twee EPPO veldtoetsprotocollen voor het onderzoeken van de neveneffecten, namelijk voor de sluipwesp Encarsia formosa (EPPO, 1989) en de honingbij Apis mellifera (EPPO, 1986). De toets voor Encarsia formosa is opgesteld volgens de IOBC-standaard. De toetsing van de neveneffecten op deze twee soorten vindt stapsgewijs plaats. De laatste stap is een steeds een veldtoets.

Bij de sluipwesp, een "nuttig" organisme, wordt de veldtoets uitgevoerd als de stof op basis van eerder uitgevoerde laboratorium-toetsen in relatie tot de gebruiksgegevens niet geclassificeerd kan worden in wel of niet gevaarlijk voor sluipwespen. De eerdere toetsen bestaan uit een residuele toxiciteitstoets, een directe contact toxiciteitstoets en een persistentie-toets. (Hierbij wordt door de EPPO voorgesteld om als grenswaarde voor de mate van gevaarlijkheid de 50% gevaarlijkheid of ongevaarlijkheid te hanteren). De veldtoets heeft als doel om in laatste instantie een uitspraak te kunnen doen over de vraag of een middel voor deze soort wel of niet gevaarlijk is en om aan te geven onder welke omstandigheden een middel eventueel ongevaarlijk is.

Ook de veldtoets voor honingbijen wordt alleen uitgevoerd als het middel op grond van eerdere laboratorium-toetsen en de gebruiksgegevens niet is te classificeren als een bij-gevaarlijk of -ongevaarlijk middel. De eerdere toetsen betreffen een toets voor de orale en de contact-toxiciteit en eventueel een kooiproef. Hierbij wordt voor de mate van gevaarlijkheid uitgedrukt in een risico-verhouding ('hazard ratio'= LD50 x dosis/ha). Een risico-verhouding van ≥ 2500 wordt voor bijen gevaarlijk geacht, een verhouding van < 50 ongevaarlijk. Ook bij honingbijen heeft de veldtoets tot doel alsnog een uitspraak te doen voor de gevaarlijkheid van stoffen, waarover na de eerder uitgevoerde toetsen nog onzekerheid bestaat.

FAO

De 'Food and Agriculture Organization of the United Nations' (= FAO) publiceerde de 'Guidelines on environmental criteria for the registration of pesticides' (FAO, 1985). Hierin wordt ingegaan op de milieucriteria voor de toelating van bestrijdingsmiddelen, bij zowel de 'pre-registration' als de 'post-registration'. Bij de registratie van bestrijdingsmidde-

len maakt de FAO gebruik van een getrapte benadering, waarbij vier stappen worden onderscheiden. De eerste stap omvat, naast de gebruikseigenschappen, de primaire gegevens van de actieve stof, zoals de fysisch-chemische eigenschappen en de toxiciteit op basis van laboratorium-experimenten. Vervolgens kunnen bij de tweede stap aanvullende laboratorium-gegevens worden gevraagd (bijv. over bioaccumulatie). In de derde stap wordt, indien gewenst, nader onderzoek verricht, hetgeen veelal inhoudt dat veldonderzoek wordt uitgevoerd. De vierde stap, ten slotte, is de post-registratie. Deze stap bestaat uit zowel chemische als biologische monitoring. Deze stap wordt uitgevoerd, wanneer er twijfel bestaat omtrent de geldigheid van eerder gedane voorspellingen.

Deze algemene benadering heeft de FAO uitgewerkt voor een zestal soortengroepen, waarbij de bij elke groep en per stap te hanteren toetsprotocollen zijn aangegeven. Het betreft hierbij overigens reeds bestaande en in ander verband ontwikkelde protocollen. De zes soortengroepen zijn achtereenvolgens: niet-doelwit micro-organismen in de bodem, niet-doelwit macro-organismen in de bodem, honingbijen, nuttige arthropoden, niet-doelwit aquatische organismen en vogels. Bij iedere groep worden telkens de criteria voor de toets, de volgorde van de toetsen, de uitvoeringsvoorwaarden en de geschikte uitvoeringswijze aangegeven. De criteria en de geschikte toetsprotocollen worden voor de verschillende soortengroepen onderstaand besproken (FAO, 1985):

1 Niet-doelwit micro-organismen in de bodem: Hierbij gaat het om de effecten op de functionele bodemprocessen, zoals respiratie en stikstof-omzetting. Veldonderzoek wordt uitgevoerd als tijdens laboratorium-experimenten significante veranderingen in deze processen worden geconstateerd. Het veldonderzoek moet dan uitsluitsel geven over de ernst van deze veranderingen. Bij stikstof-fixerende planten (met wortelknolletjes) wordt aangegeven dat de effecten alleen in kassen of in kleine veldtoetsen kunnen worden onderzocht.
Voor geschikte toetsen en aanvullende informatie wordt verwezen naar literatuur en een aantal internationale workshops en symposia, waar deze problematiek aan de orde is gekomen (zie bijv.: Greaves et al., 1980).

2 Niet-doelwit macro-organismen in de bodem: Ook bij deze groep organismen gaat het om een functionele benadering: de omzetting van organisch materiaal (vooral door regenwormen) en de predatie. Deze laatste parameter wordt verder onderzocht bij de nuttige arthropoden (zie hieronder bij 4). Bij regenwormen wordt aangegeven dat de bioaccumulatie ook van belang is in verband met mogelijke effecten op vogels. Om de effecten op regenwormen vast te stellen worden behalve laboratoriumtoetsen ook veldtoetsen aanbevolen. Voor de afbraak van organisch materiaal wordt zelfs gesteld dat dit alleen met behulp van een veldtoets is te onderzoeken. De voor de afbraak noodzakelijke condities zijn in het laboratorium niet na te bootsen.
Voor een veldtoetsprotocol met regenwormen (populatie-onderzoek) wordt verwezen naar de Engelse toelatingsprocedure (MAFF, 1986). Daarnaast wordt voor het verzamelen van de wormen en het behandelen van de grond verwezen naar reeds uitgevoerd onderzoek. Ook voor een strooiselafbraak-veldtoets wordt naar het Engelse protocol verwezen.

3 Honingbijen: Honingbijen worden belangrijk geacht vanwege hun bestuivingsfunctie en honingproductie. Veldonderzoek moet plaatsvinden als uit laboratorium-onderzoek gebleken is dat de contact LD50 van een middel kleiner is dan 10 µg actieve stof per bij, òf als meer dan 10% bijensterfte optreedt bij het dubbele van de aanbevolen dosis in een

'direct spray'-toets; bovendien moeten de bijen in het veld, bij gebruik van het middel, de kans lopen om blootgesteld te worden.
De FAO verwijst naar een kooiproef of een veldonderzoek, afhankelijk van de specifieke eigenschappen. Voor een (kleine) kooiproef worden geschikt geacht de methode van de 'Commission des Essais Biologiques' (CEB, 1982) en de richtlijnen van de BBA (BBA, 1980). Wanneer er op grond van eerder uitgevoerde toetsen geen betrouwbare uitspraak mogelijk is, kan een groter opgezette veldtoets worden uitgevoerd. Voor deze toets wordt, naast de eerder genoemde methoden, verwezen naar de Engelse veldtoetsprotocollen voor honingbijen (MAFF, 1986: Working Document 7/4) en de resultaten van een workshop betreffende de harmonisatie van toetsmethoden met honingbijen (ICBB, 1985).

4 Nuttige arthropoden (parasieten en predatoren): Deze toetsen zijn vooral nodig voor middelen die geclaimd worden voor gebruik bij de geïntegreerde bestrijding. Uitkomsten verkregen uit veldonderzoek met het plaag-predator-complex dienen zwaarder te wegen dan uitkomsten verkregen uit laboratorium-onderzoek.
Voor geschikte veldtoetsmethoden wordt verwezen naar Duitse protocollen (zie § 2.2.2) en de door de IOBC ontwikkelde methoden (zie blz 13). Tevens wordt verwezen naar de Engelse toelatingsprotocollen (MAFF, 1986).

5 Niet-doelwit aquatische organismen: Indien laboratorium-onderzoek geen adequate risico-beoordeling mogelijk maakt of als een middel intentioneel in het water wordt gebruikt, is veldonderzoek (incl. 'enclosure studies') nodig. Alleen deze toetsen zijn in staat het herstel van een aangetaste populatie te bepalen en bieden de mogelijkheid de indirecte (voedsel) effecten van de verschillende soorten in het systeem te onderzoeken.
Er wordt niet verwezen naar een bestaand veldtoetsprotocol of veldonderzoek. Wel wordt er op gewezen dat dit soort veldmethoden in ontwikkeling zijn en het onderzoek moet worden uitgevoerd in wateren waarvan de populatiedynamica van de voorkomende soorten goed bekend is.

6 Vogels: Kooi-studies met vogels zijn alleen nodig als er op basis van alleen laboratorium-experimenten geen reële risico-beoordeling plaats kan vinden. Dat wil zeggen alleen als dit wordt aangegeven door de orale toxiciteit van het middel in relatie tot het blootstellingspatroon of residuen in het voedsel van belangrijke vogelsoorten. Als de kooi-studies geen betrouwbare risico-beoordeling kunnen geven dan kunnen veldtoetsen onder praktijkomstandigheden worden uitgevoerd. Aan deze gegevens moet het meeste waarde worden gehecht.
Voor geschikte kooistudies wordt verwezen naar een EPA protocol (EPA, 1978). [N.B. Dit protocol is inmiddels overigens ingetrokken wegens methodische problemen.] Voor de veldtoets wordt verwezen naar het Engelse protocol (MAFF, 1986).

Raad van Europa

Ook de Raad van Europa houdt zich in het kader van de toelating bezig met de beoordeling van bestrijdingsmiddelen (RvE, 1984). In het kader van het onderzoeken van de neveneffecten van bestrijdingsmiddelen is vooral het hoofdstuk 'Guidance on environmental phenomena and wildlife data' van belang. Dit hoofdstuk is in mei 1989 opnieuw besproken, op een in Parijs gehouden 'hearing' van de Raad van Europa en de EPPO (RvE, 1989).

De door de RvE voorgestelde toetsingsprocedure kent een stapsgewijze opbouw. In eerste instantie laboratorium-onderzoek en vervolgens 'if any doubts remains regarding the validity of initial appreciations, studies should be carried out in the field' (RvE, 1984). Het doel van de veldtoetsen wordt omschreven als: 'to confirm predictions based on toxicology tests and to determine effects which cannot be predicted from laboratory experiments'.

Met betrekking tot de neveneffecten wordt onderscheid gemaakt tussen verschillende soortengroepen (RvE, 1989): vertebraten (vogels en zoogdieren), bodemflora en bodemfauna, insecten (nuttige insecten en spinachtigen, bestuivers en insecten "zonder betekenis") en aquatische organismen.

De belangrijkste uitkomsten van de hearing waren, dat bij de samenwerking tussen de RvE en EPPO op dit terrein de aandacht zich moet richten op en de volgende punten (RvE, 1989):
- de behoefte aan een beoordelingssysteem voor ecotoxicologische effecten, dat uitgaat van een aantal basisgegevens, vervolgens voldoende soepel kan worden gehanteerd en waarbij ook gebruik gemaakt kan worden van het oordeel van deskundigen
- de behoefte om te weten waar een uitgevoerde toets zich op richt, te weten de werkzame stof en/of de verschillend mogelijke formuleringen
- de vraag wat het beste het eerst kan worden onderzocht - en ook hoe gedetailleerd - : de effecten op ecosysteemniveau of op de een of andere soort
- de vraag of bij de toelatingsprocedure moet worden uitgegaan van een meer rigide systeem of van een meer open benadering
- hoe groot de behoefte is aan alternatieven voor gebruik naast toxiciteitstoetsen met soorten
- wat de uitgangspunten zijn bij controle en bewaking van een toelating
- het gebruik maken van het verloop van de afbraak in de tijd ter bepaling van de DT50 en de DT90 in plaats van de halfwaarde-tijd
- zorg voor een adequate interpretatie van de gegevens betreffende blootstelling, gedrag en toxiciteit.

Daarnaast wordt ten zeerste aanbevolen de gestarte samenwerking tussen de RvE en de EPPO en ook andere (internationale) organisaties hierbij te betrekken.

Europese Gemeenschappen

In februari 1989 bracht de Commissie van de Europese Gemeenschappen een "gewijzigd voorstel voor een richtlijn van de Raad [van Ministers] betreffende het op de markt brengen van tot de EEG goedgekeurde gewasbeschermingsmiddelen" uit (EG, 1989). Hierin wordt o.a. aangegeven welke gegevens noodzakelijk zijn om te komen tot "de instelling van een communautaire positieve lijst van werkzame stoffen, waarvan het gebruik a priori veilig wordt geacht voor mens, dier en milieu". Op deze positieve lijst komen de voor Europa toe te laten middelen te staan. De toelating van formuleringen mag blijven plaatsvinden op het niveau van de afzonderlijke lidstaten. De EG beoogt ook een wederzijdse erkenning van toelatingen in de lidstaten. Het is de bedoeling dat alle thans in de EC toegelaten actieve stoffen (ca. 440) in 10 jaar opnieuw worden geherevalueerd.

Bij de gegevens, die vereist zijn voor het opnemen van een middel in de communautaire positieve lijst, worden bij het milieutoxicologisch onderzoek ook gegevens op organismen onder veldomstandigheden gevraagd, bijvoorbeeld voor in de bodem voorkomende 'non target' macro-organismen zoals regenwormen (EG, 1989: bijlage II, onderdeel 7.1.9). De vereiste gegevens worden echter alleen opgesomd; er wordt niet aangegeven onder welke omstandigheden bijvoorbeeld veldgegevens moeten worden overlegd.

In januari 1990 organiseerde de British Crop Protection Council (BCPC), in Reading (UK), een symposium over de door de EG voorgestelde harmonisatie van de toelating van bestrijdingsmiddelen in Europa ('Future changes in pesticides registration within the EC'). De deelnemers, hoofdzakelijk afkomstig uit de industrie, hadden (veel) kritiek op het voorstel. Zo zijn veel essentiële details niet ingevuld - waarschijnlijk omdat hierover geen overeenstemming is te bereiken. Een probleem dat werd genoemd is bijvoorbeeld de bescherming van de data. Voorgesteld werd het voorstel van de EG stapsgewijs in te voeren: eerst het pakket van vereiste gegevens te harmoniseren, vervolgens de toetsen en tot slot de registratie. Door vertegenwoordigers van de lidstaten werd gesteld dat de economische basis voor de harmonisatie niet ten koste mag gaan van de bescherming van het milieu. Van de zijde van de industrie werd als een alternatief de voorlopige toelating genoemd. Hiermee is ervaring opgedaan in Engeland, Frankrijk en Ierland. Overigens lijkt het voorstel van de EG voor de toelating binnen Europa op de huidige situatie in de Verenigde Staten, waar op centraal niveau door de EPA de toelating van de actieve stof plaatsvindt en de toelating van de formulering in handen is van de afzonderlijke staten, die al dan niet aanvullende eisen stellen.

Workshop Cambridge

In september 1988 werd in Cambridge een workshop georganiseerd met als thema 'Terrestrial field testing of pesticides' (Anonymus, 1988). Op deze workshop werd de behoefte aan veldtoetsen nagegaan. Daarbij kwamen onder meer aan de orde: de doelen, de opzet, de interpretatie van de resultaten en de mogelijkheid om de veldtoets te gebruiken bij de post-registratie. Op de workshop hield men zich met name bezig met de neveneffecten van bestrijdingsmiddelen op vertebraten.

De deelnemers concludeerden dat er veel onzekerheden bestaan bij de beoordeling van bestrijdingsmiddelen in het veld. Een veldonderzoek moet dan ook flexibel zijn opgezet en kennis van deskundigen is essentieel voor de planning, uitvoering en interpretatie van de resultaten.

Over de noodzaak van veldonderzoek wordt gesteld:

> 'Field testing is an essential part of savety evaluation for <u>some</u>, but not <u>all</u>, products. The need should be judged on predictions of hazard based on toxicity, metabolism, use pattern, environmental fate and likely exposure of wildlife.'

Tevens wordt gezegd dat men geen vastomlijnde procedures kan hanteren om tot veldonderzoek over te gaan. Immers de veldsituatie is steeds zo verschillend dat standaard-procedures per definitie onmogelijk zijn. 'Case-by-case'-benadering, 'expert judgement' en flexibiliteit in de beslissing of een veldtoets nodig is, staan hierbij centraal.

Wel stelt men dat criteria nodig zijn om te bepalen in welke gevallen veldonderzoek nodig is. Hierbij is het echter niet mogelijk om algemene criteria op te stellen, die als 'automatic triggers' kunnen fungeren voor het bepalen van de wenselijkheid of noodzaak van veldonderzoek ten aanzien van alle vormen van bestrijdingsmiddelengebruik. Wel worden er globale aanbevelingen gedaan over het soort informatie, dat mogelijk gebruikt kan worden om te besluiten tot veldonderzoek over te gaan:

- schattingen over mogelijke blootstelling van 'wildlife' aan het bestrijdingsmiddel, gebaseerd op metingen van de concentratie van het product en de verspreiding (in bodem, water, vegetatie e.d.; afbraak en persistentie) en de ecologie en gedrag van de dieren die met het middel in aanraking komen [vergelijkbaar met het gebruik van agro-ecosystemen door De Snoo & Canters (1988)].
- toxiciteit gemeten met behulp van standaard-laboratorium-procedures of geëxtrapoleerd aan de hand van gegevens verkregen met "surrogaat soorten"
- de veronderstelde schaal van gebruik en de gebruiksmethoden
- de uitgebreidheid van 'post-registration'-observaties en 'biomonitoring schemes'.

Geen van deze aanbevelingen is echter toereikend om een mogelijk risico te indiceren. Daarvoor is 'expert judgement' nodig. Om het 'expert judgement' te helpen kan gebruik worden gemaakt van beschikbare risico-beoordelingsmethoden, zoals het ontwikkelen van een model om voorspellingen te doen op basis van een complexe combinatie van chemische en biologische eigenschappen.

In een aantal gevallen wordt volgens de deelnemers van de workshop het uitvoeren van veldtoetsen niet wenselijk geacht, te weten wanneer:

- er beschermde of bedreigde soorten worden blootgesteld of
- het middel op kleine schaal zal worden gebruikt; een (grootschalige) veldtoets is dan immers niet te rechtvaardigen.

Bij de opzet van een veldtoets wordt onderscheid gemaakt tussen 'intensive trials' (op een paar plaatsen gedetailleerd onderzoek) en 'extensive trials' (op een groter aantal locaties minder gedetailleerd onderzoek). Beide methoden hebben voor- en nadelen, maar de intensieve studies kosten veelal meer menskracht.

De methoden voor een veldtoets kunnen zowel kwalitatief als kwantitatief van aard zijn, maar moeten voldoende gevoelig zijn om negatieve effecten op te sporen. Opgemerkt wordt dat het zoeken van slachtoffers geschikt is voor het waarnemen van (het optreden van) substantiële sterfte, maar niet voor het kwantificeren ervan.

Bij de post-registratie maakt men onderscheid tussen 'monitoring' (gepland, actieve bemonstering van risicovolle populaties) en 'surveillance' (onderzoek als reactie op gerapporteerde sterfte). 'Surveillance' kan bepaalde aspecten aan het licht brengen, die niet aan de orde kwamen bij gecontroleerde experimenten, zoals niet voorspelde risico's, effecten onder ongebruikelijke omstandigheden, effecten op zeldzame soorten en het misbruik van bestrijdingsmiddelen.

2.2.2 Toelatingsprocedures in het buitenland

In de meeste Noordwest-Europese en Noord-Amerikaanse landen wordt bij de toelating van bestrijdingsmiddelen gebruik gemaakt van beslisschema's en/of toetsprotocollen, zoals die bijvoorbeeld zijn opgesteld door de OECD, EG, EPPO, Raad van Europa of FAO. Een aantal landen hanteert echter naast deze internationale standaard-voorschriften ook eigen schema's en protocollen. Drie landen, die hieraan concreet invulling hebben gegeven, te weten de Verenigde Staten, Engeland en West-Duitsland, worden in het onderstaande nader besproken.

De Verenigde Staten

In de Verenigde Staten houdt de 'Environmental Protection Agency' (= EPA) zich o.a. bezig met 'Ecological Risk Assessment'. De EPA heeft daartoe de 'Pesticide Assessment Guidelines' ontwikkeld om de aanvrager een duidelijke leidraad te geven voor de wijze waarop de toetsen moeten worden uitgevoerd. De vereiste gegevens worden ingedeeld in vier niveau's ('tiers'). Het eerste niveau omvat de basale toxiciteitsgegevens, zoals de LD50/LC50-gegevens voor vogels. Additionele toetsen (niveau 2) betreffen de reproductie- en levenscyclus-effecten; deze toetsen zijn vereist, wanneer er op grond van de basisgegevens en/of de milieu-omstandigheden problemen worden verwacht. Semi-veld of veldtoetsen (niveau 3 en 4) zijn vereist, wanneer er omvangrijke nadelige effecten worden verwacht, die niet op een andere wijze kunnen worden getraceerd (EPA, 1982a, 1986a).

Bij de besluitvorming over uit te voeren veldonderzoek wordt verwezen naar 'ad hoc'-overleg tussen de EPA en de aanvrager (EPA, 1982b). Alleen bij toetsen met planten worden duidelijke criteria gehanteerd (zie onderstaand).

Voor veldtoetsen maakt de EPA onderscheid tussen de volgende soortengroepen:

1 Terrestrische flora ('non-target area testing'): Deze toets moet- 'ad hoc' - worden uitgevoerd, wanneer de verwachte blootstelling groter is dan de in het laboratorium bepaalde EC25.
2 Terrestrische evertebraten:
   - **Honingbijen** Apis mellifera: Toetsing als uit de voorafgaande (laboratorium-)toetsen blijkt dat er een risico aanwezig is; een veldtoets is met name vereist, wanneer er aanwijzingen zijn voor het optreden van andere dan direct toxische effecten; wanneer die effecten daadwerkelijk kunnen optreden, wordt, door aanpassing van het gebruiksvoorschrift, het risico voor bijen ingeperkt.
   - **Predatoren en parasieten**: Hiervoor wordt geen protocol genoemd; er is nog discussie gaande over de invulling van het 'tier-system' voor deze soorten.
3 Vogels: Veldtoetsen zijn vereist ('ad hoc' en na overleg met de EPA), wanneer nadelige effecten te verwachten zijn op basis van eerdere toetsen en wanneer deze veldtoetsen metterdaad relevante gegevens kunnen aandragen voor de beoordeling. Voor semi-veldtoetsen wordt een samenvatting gegeven van een voor de EPA acceptabel veldtoetsprotocol (EPA, 1982a).
4 Zoogdieren: Voor de uitvoering van een veldtoets met zoogdieren gelden dezelfde voorwaarden als bij vogels.

5 Aquatische flora: Bij aquatische planten geldt dat deze toets moet worden uitgevoerd - en ook dan 'ad hoc' - als de verwachte blootstelling groter is dan de in het laboratorium bepaalde EC50 (EPA, 1982b).
6 Aquatische fauna: Veldtoets wordt 'ad hoc' en na overleg met de EPA uitgevoerd. De korte termijn semi-veldtoets wordt uitgevoerd wanneer er nadelige korte termijn effecten worden verwacht èn de semi-veldtoets voor de beoordeling bruikbare resultaten op kan leveren. Indien deze toets niet voldoet wordt een korte-termijn-veldtoets uitgevoerd. Bij een beslissing over een veldtoets worden alle laboratorium-, gebruiks- en blootstellingsgegevens betrokken. Lange-termijn-veld- of semi-veldtoetsen worden ('ad hoc' en na overleg met de EPA) uitgevoerd wanneer i) er nadelige lange termijn effecten worden verwacht, ii) er sprake is van cumulatieve effecten of iii) resultaten van de levenscyclus-toetsen hiertoe aanleiding geven. Bovendien moet vooraf worden verwacht dat een dergelijke toets bruikbare resultaten voor de beoordeling op kan leveren. Voor de uitvoering ervan bestaat geen standaard-protocol en wordt verwezen naar literatuur.

Bij nadere beschouwing blijkt dat ook bij de EPA de invulling van de toetsen grotendeels open blijft. Door de EPA wordt gesteld dat de veldomstandigheden zo divers kunnen zijn, dat een standaard-protocol voor een veldtoets niet zinvol is. Voor nadere invulling van de veldtoetsen wordt veelal verwezen naar literatuur.

De EPA streeft echter wel naar een standaard-evaluatie, de zogenoemde 'Standard Evaluation Procedures', te gebruiken bij de interpretatie van de uit de toetsen verkregen resultaten (EPA, 1986b). De hierbij gehanteerde 'risk criteria' geven aan in hoeverre de toepassing van een middel geen, een aanvaardbaar of een onaanvaardbaar risico met zich meebrengt (EPA, 1986a). Deze 'Standard Evaluation Procedures' bepalen voor een deel de randvoorwaarden voor de uitvoering van de veldtoetsen, wegens de strikte eisen aan onder andere de opzet van de toetsen.

Engeland

Ook de Engelse toelatingsprocedure kent een stapsgewijze risico-beoordeling. Hierbij worden geen 'automatic triggers' gehanteerd. De beslissing tot verder toetsen wordt genomen via 'expert judgement'. De aanvraag wordt als eerste besproken in de 'Scientific Sub-Committee'. Deze commissie bekijkt de geleverde gegevens in samenhang met andere, beschikbare gegevens. Vervolgens gaat de aanvraag via de 'Advisory Committee on Pesticides' naar de bij de toelating betrokken ministeries ('Registration Departments').

In de Engelse toelatingsprocedure concentreert men zich voor de uitvoering van veldtoetsen op indicatorsoorten, te weten **honingbijen** Apis mellifera en de **"meest risico lopende vogels"**. Voor deze soorten bestaan gedetailleerde veldtoetsprotollen in de vorm van 'Working Documents' (MAFF, 1986). Hierin wordt de achtergrond en de wijze van uitvoering van de toets uiteengezet en de beoordeling van de verkregen resultaten.

De criteria om voor deze soorten tot veldonderzoek over te gaan zijn hierbij slechts voor een deel aangegeven. Voor honingbijen moet een veldtoets (met de formulering) worden uitgevoerd, als het gewas tijdens de bloeiperiode wordt bespoten. Voor vogels moet tot veldonderzoek worden

overgegaan, als het middel direct kan worden opgenomen, zoals bij zaadontsmetting. Er zijn dan gegevens nodig over voedselsamenstelling van de soorten die naar verwachting het meest worden aangetast, en over de gebruikte formulering (MAFF, 1986).

De veldtoetsprotocollen voor honingbijen en vogels zijn gericht op het vaststellen van de korte-termijn-risico's, meestal als gevolg van de acute toxiciteit van het middel. Veldonderzoek is - volgens de Engelsen - niet geschikt om de lange-termijn-risico's te beoordelen die kunnen ontstaan door cumulatieve of chronische toxiciteit, door ophoping in de voedselketen of door het verstoorde evenwicht ten gevolge van het gebruik in de natuurlijke flora en fauna. Korte-termijn-risico's worden vooral belangrijk geacht als het middel op grote schaal wordt gebruikt en als het gebruik aanleiding geeft tot aanzienlijke sterfte. Het veldonderzoek om de korte-termijn-risico's te beoordelen is beperkt van opzet: één seizoen.

Lange-termijn-risico's kunnen, omdat ze normaliter niet leiden tot plotselinge goed waarneembare sterften, onopgemerkt blijven totdat aanzienlijke schade is veroorzaakt. Er zijn geen simpele (veld)experimentele procedures voor het meten van dergelijke risico's. Daarom en op grond van het beperkte bruikbaarheid van de toetsen bij de beoordeling van de korte-termijn-risico's voor de wilde fauna, vindt men het soms wenselijk het gebruik van middelen te monitoren; met name van die middelen die vanwege hun speciale fysische, chemische of toxicologische eigenschappen nog twijfels oproepen over het mogelijk optreden van effecten op de wilde fauna. Hiertoe kan een voorlopige toelating worden verleend, waarbij de effecten van het middel bestudeerd kunnen worden, voordat een volledige toelating in overweging wordt genomen. Een voorbeeld van een dergelijke voorlopige toelating is het onderzoek van Bunyan et al. (1981). Hierbij werden de neveneffecten van een nieuwe formulering van aldicarb (granulaat) onderzocht bij de bestrijding van aaltjes in bieten en aardappelen. Na een intensief proefveldonderzoek werden ook de neveneffecten van een commerciële toepassing gevolgd. Op basis van deze gegevens werd een minder schadelijke toepassingsmethode voorgesteld.

Naast de eerder genoemde soorten (honingbijen en vogels) is er ook een 'Working Document' handelend over het bepalen van de effecten van bestrijdingsmiddelen op macro-organismen in de bodem. Dit protocol bestaat uit drie onderdelen, te weten effecten op: i) de afbraak van organisch materiaal, ii) nuttige arthropoden (loopkevers en kortschildkevers) en iii) regenwormen. De beschrijving van het onderzoek in het veld is veel minder uitvoerig dan van het onderzoek aan vogels en honingbijen. Wel wordt de opzet en de achtergrond van de toets aangegeven en verwezen naar literatuur. Voor de uitvoering van de toetsen met deze soorten zijn geen duidelijke criteria aangegeven. Er wordt pas veldonderzoek uitgevoerd als uit het laboratorium-onderzoek "aanwijzingen" naar voren komen.

Tenslotte kan ook bij aquatische organismen veldonderzoek nodig zijn om het 'overall effect' van de formulering voor evertebraten (de voedselorganismen voor vissen) te evalueren. Een 'Working Document' ontbreekt, evenals de criteria voor de besluitvorming rond een dergelijk onderzoek. Wel wordt aangegeven dat het onderzoek uitgevoerd kan worden als er sprake is van directe bespuiting van water of oevers, of als het middel op grote schaal in bossen wordt gebruikt.

West-Duitsland

Ook de West-Duitse toelatingsprocedure bestaat globaal uit drie stappen. De laatste stap is het veldonderzoek. In algemene zin wordt gesteld dat bij veldonderzoek de reproduceerbaarheid minder wordt en de interpretatie moeilijker, naarmate er meer van de standaard-opzet wordt afgeweken (zoals in laboratorium-situaties). Daarom moet in de eerste en tweede stap van de toelatingsprocedure (laboratorium- en semi-veldonderzoek) over zoveel mogelijk middelen duidelijkheid komen omtrent de eventuele risico's. In het veld worden vervolgens alleen nog die middelen getoetst, waarvan de risico's nog onvoldoende konden worden ingeschat.

Inmiddels is deze manier van toelating reeds voor honingbijen - naar eigen zeggen - 'ideal'. De BBA streeft er naar om voor andere faunagroepen en de microflora vergelijkbare methoden te ontwikkelen. Gezien de plaats van de veldtoetsen binnen de procedure is het aantal veldtoetsprotocollen tot nu toe nog beperkt. Een tussenstand op dit moment ziet er als volgt uit (schr.med. Kohsiek):

- bodemmicroflora: bestaand protocol (sinds 1987[1]).
- bodemmesofauna: protocol in ontwikkeling
- regenwormentoets: protocol in ontwikkeling
- honingbijen: bestaand protocol (BBA, 1980)
- nuttige arthropoden: voor twee soorten bestaat een protocol (namelijk voor nuttige arthropoden in de boomteelt (BBA, 1981) en voor roofmijten in de wijnbouw (BBA, 1986).

Voor de aquatische organismen en de terrestrische vertebraten kan, indien noodzakelijk, een veldtoets in nader overleg met BBA worden opgezet. Een protocol hiervoor ontbreekt, evenals de hierbij te hanteren criteria om de noodzaak of wenselijkheid van het uitvoeren van een dergelijke toets te kunnen beoordelen.

N.B. Sinds december 1989 worden in West-Duitsland voor de toelating van een bestrijdingsmiddel ook gegevens gevraagd betreffende de effecten op nuttige organismen. Voor de vaststelling van deze effecten worden de IOBC-toetsen gebruikt (mond.med. Oomen).

2.3 Overzicht veldonderzoek

Naast de bestaande veldtoetsrichtlijnen in het kader van de **toelating** van bestrijdingsmiddelen, is er ook veel onderzoek uitgevoerd buiten dit kader. In deze paragraaf wordt hiervan een overzicht gegeven. Doel is om inzicht te krijgen in wat voor effecten in het verleden zijn beschouwd, wat voor type veldonderzoek is uitgevoerd en aan welke organismen dit is verricht. Daarom is er een semi-kwantitatieve analyse gemaakt van het voorhanden zijnde materiaal. Veel van de inhoudelijke aspecten van de afzonderlijke onderzoekingen, zoals de opzet en de methoden, zijn gebruikt bij het opzetten van de voorgestelde richtlijnen voor veldtoetsen in deel B.

---

[1] BBA Richtlinien für die amtliche Prüfung von Pflanzenschutzmitteln, Teil VI, 1-1: Auswirkungen auf die Aktivität der Bodenmikroflora; März 1987.

Voor het maken van het overzicht van het - in het verleden - uitgevoerde veldonderzoek is gebruik gemaakt van alle tot nu toe in het kader van het project "Neveneffecten van Bestrijdingsmiddelen" verzamelde literatuur (voor zoekprofiel zie hoofdstuk 1). Hieruit is een selectie gemaakt van alle literatuur over veldonderzoek naar neveneffecten van bestrijdingsmiddelen op organismen (met uitzondering van onderzoek in het kader van de incidenten-registratie en onderzoek in de tropen).

In totaal zijn op deze manier ca. 250 artikelen geselecteerd. Hiervan hebben er ca. 170 betrekking op terrestrische organismen en ca. 80 op aquatische organismen. Het blijkt dus dat - althans op grond van de door ons verzamelde gegevens - er minder aquatisch dan terrestrisch veldonderzoek is uitgevoerd.

De selecteerde literatuur is uitgesplitst naar i) type veldonderzoek, ii) effecttype en iii) soort organisme. De resultaten van de analyse zijn weergegeven in tabel 2.1. en tabel 2.2. In de tabellen is aangegeven met welke toetstypen (zie § 1.5) de verschillende effecttypen op de belangrijkste diergroepen zijn onderzocht. In de tabellen is op basis van een schatting en deeltellingen weergegeven in hoeverre onderzoek met een bepaalde organismengroep is verricht. In het onderstaande wordt nader op de beide tabellen ingegaan.

AQUATISCH	type veldonderzoek				type effect			
	vld ss	enclos	prfslt	kooi	tox.d.	tox.i.	eco.v.	eco.h.
plankton/algen	+	+	+		++	n.v.t.		
hogere planten	+		+		+	n.v.t.		
onges. wormen	+		+		+			
weekdieren	++		++		++			
gesegm. wormen	+		+		+			
kreeftachtigen	++		++		+++			
spinnen & mijt	+		+		+			
insekten	+++		+++	+	+++			
vissen	++		++	++	+++		++	
amfibieën	+				+			
reptielen								
vogels								
zoogdieren								

Tabel 2.1 Hoeveelheid getraceerd aquatisch veldonderzoek, weergegeven naar organismengroep, type veldonderzoek en effecttype; + = enig, ++ = veel en +++ = zeer veel onderzoek bekend; vld ss = veldonderzoek sensu stricto; enclos = enclosure; prfslt = proefsloot; tox.d. = toxisch direct; tox.i. = toxisch indirect; eco.v. = ecologisch voedsel en eco.h. = ecologisch habitat.

TERRESTRISCH	type veldonderzoek				type effect			
	vld ss	enclos	prfvld	kooi	tox.d.	tox.i.	eco.v.	eco.h.
hogere planten	++		+		++	n.v.t.		
onges. wormen	++		+		++			
weekdieren					+			
gesegm. wormen	+++		+++	+	+++		+	
kreeftachtigen	+				+			
spinnen & mijt	+++		+	+	+++			
insekten	+++	++	++	+	+++		+	+
amfibieën								
reptielen								
vogels	+++			+	+++	+	++	+
zoogdieren	+++			+	+++	+	+	+

Tabel 2.2 Hoeveelheid getraceerd terrestrisch veldonderzoek, weergegeven naar organismengroep, type veldonderzoek en effecttype; + = enig, ++ = veel en +++ = zeer veel onderzoek bekend; voor afkortingen zie tabel 2.1.

Type veldonderzoek

Voor het type veldonderzoek wordt uitgegaan van de indeling: veldonderzoek sensu stricto, 'enclosures', proefvelden/proefsloten en kooistudies (zie ook § 1.5). Uit zowel tabel 2.1 als tabel 2.2 blijkt dat verreweg het meeste onderzoek wordt uitgevoerd in de vorm van veldonderzoek s.s. en proefsloten/proefvijvers. Kooistudies en 'enclosure'-onderzoek komen nauwelijks voor. Uitzonderingen zijn de kooistudies met vissen en deels met andere vertebraten en de 'enclosure'-studies met insecten, waarbij het dan veelal gaat om onderzoek met bijenkorven.

Effecttype

De volgende typen neveneffecten zijn onderscheiden: direct toxisch, indirect toxisch, voedsel-effecten en habitat-effecten (zie ook § 1.5). Uit tabel 2.1 en 2.2 blijkt dat verreweg het meeste veldonderzoek zich richt op de direct toxische effecten. In een klein aantal gevallen worden ook de indirect toxische effecten onderzocht. Dit betreft bijna uitsluitend onderzoek aan vertebraten. Ook veldonderzoek naar de ecologische voedsel-effecten van bestrijdingsmiddelen is weinig gevonden en, zo er ietts werd gevonden, dan hoofdzakelijk in relatie tot vertebraten. Onderzoek naar habitatveranderingen, in relatie tot het gebruik van bestrijdingsmiddelen, is verreweg het minst gevonden.

Indien een vergelijking wordt gemaakt tussen type veldonderzoek en de onderzochte effecttypen dan is het opvallend dat toxische effecten zowel in veldonderzoek sensu stricto, in proefveld/proefslootstudies als in kooistudies worden onderzocht. Onderzoek naar ecologische effecten wordt echter hoofdzakelijk uitgevoerd in veldonderzoek sensu stricto.

Soort organisme

Ten aanzien van de soortengroepen wordt opgemerkt dat het onderzoek in het terrestrisch milieu zich voor wat betreft de evertebraten hoofdzakelijk richt op gesegmenteerde wormen, insecten, spinnen en mijten. Het betreft vooral onderzoek aan regenwormen, honingbijen en de "nuttige organismen". Daarnaast wordt ook veel aandacht geschonken aan vogels en zoogdieren. Het onderzoek aan weekdieren, kreeftachtigen, amfibieën en reptielen is achtergebleven.

Bij het onderzoek in het aquatisch milieu gaat een groot deel van de aandacht uit naar weekdieren, kreeftachtigen en insecten. Spinnen en mijten krijgen, zeker in vergelijking tot het terrestrisch milieu, weinig aandacht. Van de aquatische vertebraten krijgen hoofdzakelijk vissen de aandacht.

2.4 Discussie

Uit de bovenstaande paragrafen komt naar voren dat veldonderzoek in Nederland een ondergeschikte rol speelt. Veldonderzoek is, met uitzondering voor honingbijen, niet standaard verplicht en richtlijnen voor de uitvoering zijn nauwelijks voorhanden. Ook heeft men in Nederland nauwelijks ervaring met het uitvoeren van veldonderzoek in het kader van de toelating van bestrijdingsmiddelen. De Nederlandse toelatingsprocedure is daarmee vrijwel geheel gebaseerd op laboratorium-onderzoek. Een groot deel van het onderzoek dat op dit moment wordt uitgevoerd richt zich op de verbreding van dit laboratorium-onderzoek (meer toetssoorten) of op de verbetering van de extrapolatie van laboratorium naar veld.

Internationaal gezien, zowel op het niveau van afzonderlijke nationale overheden als bij een aantal internationale organisaties, wordt aan veldonderzoek meer aandacht besteed. De onderzochte toelatingsprocedures van Engeland, West-Duitsland en de Verenigde Staten zijn allen meer expliciet opgebouwd uit een stapsgewijze aanpak, zoals dat ook bijvoorbeeld door de OECD en de FAO wordt voorgestaan. In het algemeen is het principe dat in eerste instantie op basis van de eenvoudige laboratoriumtoetsen zoveel mogelijk duidelijkheid moet worden verkregen over de toe te laten stof. Indien er na deze toetsing twijfels bestaan wordt overgegaan tot 'semi'-veld of veldonderzoek. De criteria om van de ene fase naar de volgende te gaan zijn bij de meeste van de onderzochte toelatingsprocedures slechts globaal aangegeven en hebben alleen betrekking op toxische neveneffecten.

Het blijkt dat er internationaal gezien ook een redelijk aantal veldtoetsen beschikbaar is. Vooral toetsen met honingbijen, nuttige insecten en regenwormen worden vaak als mogelijkheid genoemd en hiervoor is inmiddels een aantal protocollen beschikbaar gekomen. Ook voor vogels is er een aantal protocollen beschikbaar. Andere organismengroepen zoals planten, aquatische organismen en zoogdieren krijgen echter minder aandacht.

Hoewel er verschillende veldtoetsprotocollen bestaan, is het niet duidelijk in hoeverre deze toetsen ook daadwerkelijk worden uitgevoerd. Resultaten van dergelijke studies zijn in ieder geval nauwelijks voorhanden. Wel zijn veel onderzoeksgegevens beschikbaar over "algemeen" veldonderzoek; onderzoek dat niet is uitgevoerd in het kader van de toelating

van bestrijdingsmiddelen. Uit een analyse van dit onderzoek blijkt dat er in vergelijking met het terrestrisch milieu weinig onderzoek in het aquatisch milieu heeft plaatsgevonden. Het onderzoek in het terrestrisch milieu concentreert zich rond nuttige organismen (insecten en spinachtigen), regenwormen, vogels en zoogdieren. Weinig onderzoek is uitgevoerd naar de neveneffecten van bestrijdingsmiddelen in het veld op (terrestrische) weekdieren (o.a. slakken), kreeftachtigen (o.a. pissebedden), amfibieën en reptielen. Het betreft hier veelal veldonderzoek sensu stricto, waarbij hoofdzakelijk wordt gekeken naar de direct toxische effecten. Onderzoek naar ecologische effecten wordt veel minder uitgevoerd.

In het aquatisch milieu zijn de meeste studies gericht op insecten, weekdieren, kreeftachtigen en vissen. Dit onderzoek wordt behalve in de vorm van veldonderzoek s.s. ook veel in proefsloten uitgevoerd. Ook in het aquatisch milieu gaat verreweg de meeste aandacht uit naar de direct toxische effecten van de bestrijdingsmiddelen.

Als een vergelijking wordt gemaakt tussen de bestaande toetsprotocollen en het "algemene" veldonderzoek dan is het opvallend dat ondanks dat er veel onderzoek wordt gedaan aan aquatische organismen in het veld, dit niet heeft geresulteerd in een groot aantal vetdtoetsprotocollen. Het moet echter op basis van de gegevens uit het "algemene" onderzoek mogelijk zijn hiervoor voorstellen te doen, terwijl hiervan ook voor terrestrische organismengroepen gebruik kan worden gemaakt (zie hoofdstuk 4)

Er wordt op het ogenblik op verschillende plaatsen discussie gevoerd over de mate waarin de inhoudelijke opzet van veldtoetsen via strikte voorschriften moet worden vastgelegd. Enerzijds wordt gesteld dat de variatie in milieufactoren en toepassingsmethoden geen standaard-veldtoetsprotocol toelaat, anderzijds wordt gesteld dat een 'case-by-case'-benadering (opzet van het onderzoek in overleg tussen aanvrager en overheid) de standaardisatie van de methoden en interpretatie en vergelijking van de resultaten in de weg staat. Vooralsnog is door ons bij het opstellen van de veldtoetsrichtlijnen gekozen voor een relatief nauwkeurig omschreven invulling. Hiervoor zijn verschillende redenen aan te voeren. Zo hoeft in Nederland, in vergelijking met bijvoorbeeld Canada of de Verenigde Staten, nauwelijks rekening te worden gehouden met sterk uiteeenlopende milieu-omstandigheden, zoals bijvoorbeeld het klimaat. Ook willen wij arbitraire elementen in de toelatingsprocedure zoveel mogelijk uitbannen. Voordeel hiervan is onder meer dat controle door derden op objectieve wijze kan worden uitgevoerd. Wel is het zo dat in afwijkende situaties het veldtoetsprotocol bijgesteld moet kunnen worden. Een standaardprotocol mag ten gevolge van een extreme situatie in geen geval een legitimatie vormen voor de aanvrager om de voorwaarden op te rekken. Overleg tussen aanvrager en overheid zal altijd nodig zijn (waarbij ook een zekere vorm van openbare controle tot de mogelijkheden zou moeten behoren). Echter, de randvoorwaarden worden door het accepteren van de voorgestelde richtlijnen wel voor een groot deel vastgelegd.

De voorgestelde richtlijnen (zie deel B) hebben dan ook het karakter van 'basis'-richtlijnen, waarop - al naar gelang de specifieke omstandigheden ten aanzien van bijvoorbeeld het middel of de toepassingswijze - aanpassingen mogelijk moeten zijn. Een dergelijk gebruik van toetsprotocollen werd ook voorgestaan door Clegg (Health and Welfare, Tunney's Pasture, Ottawa, Canada) op het symposium van de EG in januari j.l. in Reading.

Gezien de bovenstaande opmerkingen zal de uitvoering van veldtoetsen, zeker in het begin, zeker geen routinewerk zijn, doch eerder maatwerk. Overigens wordt opgemerkt dat ook de voorgestelde afwegingsprocedure een zekere flexibiliteit mogelijk maakt.

Voor Nederland zou een duidelijker omschreven plaats van de veldtoets in de toelatingsprocedure gewenst zijn. Hierbij zou moeten gelden dat uitvoering van een veldtoets alleen plaatsvindt als er op grond van de reeds uitgevoerde laboratorium-toetsen hiertoe aanleiding is, dan wel vermoedens bestaan voor ecologische risico's. De criteria die hierbij worden gehanteerd om tot de uitvoering van veldonderzoek over te gaan moeten zo veel mogelijk expliciet worden onderbouwd. In hoofdstuk 3 wordt hiervoor een voorstel gedaan.

Overigens is het zo dat de ervaringen die worden opgedaan met veldtoetsen een belangrijke bijdrage kunnen leveren aan de validatie van de, met name in ons land, in ontwikkeling zijnde extrapolatie-technieken.

3. VOORGESTELDE SELECTIEMETHODE VELDTOETSEN

In hoofdstuk 2 is een overzicht gegeven van de plaats van veldtoetsen in (inter)nationale toelatingsprocedures en is aangegeven wanneer in deze procedures veldtoetsen moeten worden uitgevoerd. In dit hoofdstuk wordt een voorstel gedaan voor een aanpak van de Nederlandse situatie. Eerst wordt de voorgestelde procedure geschetst (§ 3.1), inclusief een weergave van de noodzaak tot het uitvoeren van veldtoetsen in de Nederlandse situatie.

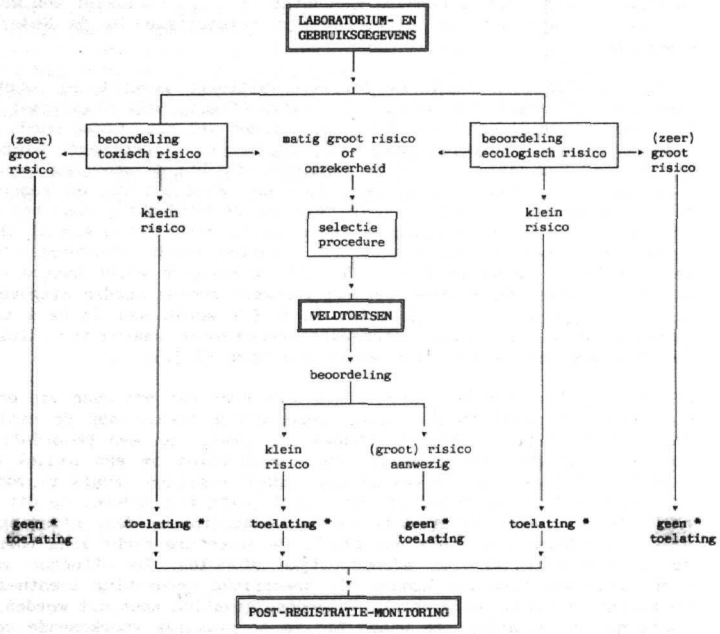
Wanneer eenmaal duidelijk is dat een veldtoets gewenst is, doet zich vervolgens de vraag voor welke toets (welk effect, welk organisme) kan of moet worden uitgevoerd. Voor het beantwoorden van deze vraag wordt in het onderstaande een selectie-procedure uitgewerkt. Uitgangspunt hierbij is dat gebruik gemaakt wordt van de gegevens, die bij de aanvraag tot toelating van een middel beschikbaar zijn: de laboratorium- en gebruiksgegevens. Aangegeven wordt hoe deze gegevens de verdenking voor het optreden van neveneffecten zodanig kunnen richten, dat slechts één of een paar veldtoetsen moet worden uitgevoerd. Hiertoe wordt allereerst bepaald welke effecten verwacht worden (§ 3.2). Vervolgens wordt aangegeven met welke organismen de veldtoetsen bij voorkeur moeten worden uitgevoerd en met welk type veldtoets (§ 3.3). In § 3.4 wordt aan de hand van een schema de gehele procedure samengevat weergegeven, waarna ter illustratie de procedure met twee stoffen wordt doorlopen (§ 3.5).

De voorgestelde procedure doet uitspraken over het optreden van ecotoxicologische neveneffecten[1]. Vanuit deze optiek moeten ook de uitkomsten van deze procedure worden beschouwd: op basis van een beoordeling van ecotoxicologische neveneffecten wordt aanbevolen om een middel al dan niet toe te laten. Een afweging met andere aspecten, zoals bijvoorbeeld de gezondheid van de mens, of een vergelijking met andere, op dit moment reeds toegelaten middelen moet elders plaatsvinden; deze afweging vormt niet het onderwerp van dit onderzoek. De procedure richt zich vooralsnog op de neveneffecten van afzonderlijke middelen. De effecten van een combinatie van middelen kunnen bij specifieke verdenking eventueel voor de toelating worden onderzocht. In andere gevallen moet dit worden onderzocht na de toelating, te weten bij in de praktijk voorkomende combinaties van bestrijdingsmiddelen.

De noodzaak tot het uitvoeren van veldtoetsen is ontstaan omdat is gebleken dat laboratoriumtoetsen niet altijd de in het veld optredende neveneffecten afdoende kunnen voorspellen. Er wordt op dit moment veel aandacht besteed aan het verbeteren van deze voorspelling (zie § 1.1). Het streven is er daarbij op gericht om de noodzaak tot het uitvoeren van een veldtoets zo klein mogelijk te maken. Indien een veldtoets wel gewenst

---

[1] Naast effecten op biota kunnen ook abiotische effecten optreden. Het gaat dan om gehaltes van bestrijdingsmiddelen in de verschillende milieucompartimenten. De gehaltes zijn voor ons onderzoek alleen van belang als op grond hiervan ecotoxicologische effecten te verwachten zijn. Daarom zullen de gehaltes in het veld alleen worden bepaald als er al een ecotoxicologisch risico aanwezig is.



Figuur 3.1 Procedure-voorstel ten aanzien van ecotoxicologische aspecten bestrijdingsmiddelen; *: uit deze procedure volgt een alleen op grond van het risico van ecotoxicologische effecten een aanbeveling voor wel of niet toelaten van een middel; een afweging met andere aspecten of ten aanzien van andere middelen moet nog plaatsvinden.

wordt geacht, geeft de procedure in dit hoofdstuk een route om te komen tot de meest geschikte veldtoets.

3.1 Aard en omvang van de neveneffecten

De in hoofdstuk 2 beschouwde procedures hebben alle globaal gesproken de volgende opbouw: eerst vindt een beoordeling plaats op basis van laboratoriumgegevens en vervolgens wordt in een aantal gevallen - bij een aanwezig risico - een aanbeveling gedaan voor het uitvoeren van een veldtoets. Deze opzet is door ons in grote lijnen overgenomen (zie fig. 3.1). Het middel doorloopt eerst de laboratoriumtoetsen en wordt vervolgens beoordeeld op grond van de kans voor het optreden van ecotoxicologische neveneffecten. Als het middel op basis van deze beoordeling niet wordt afgewezen - d.w.z. er is dan geen (zeer) groot risico aanwezig- kan blijken dat er toch een matig groot risico aanwezig is of dat er nog te veel onzekerheden zijn om een beoordeling mogelijk te maken. In dat geval wordt nagegaan of een veldtoets uitsluitsel kan geven over het mogelijk optreden van neveneffecten. Bij een klein risico wordt een veldtoets niet nodig geacht. Er worden door ons twee typen effecten onderscheiden: toxische neveneffecten en ecologische neveneffecten, die resp. in § 3.1.1 en § 3.1.2 nader worden uitgewerkt.

Wanneer de veldtoetsen zijn uitgevoerd moeten de resultaten worden geïnterpreteerd en beoordeeld, waarna toelating, afwijzing of wijzigingsvoorstellen kan volgen. Na toelating, ten slotte, is de post-registratieveldtoets aan de orde. Een dergelijke toets kan bijvoorbeeld uitspraken doen over onverwachte effecten, die niet of alleen met buiten-proportionele onderzoeksinspanning voor de toelating opgespoord hadden kunnen worden. Ook kunnen op deze wijze effecten die worden veroorzaakt door een gecombineerde werking met andere middelen of ingrepen worden onderzocht.

3.1.1 Toxische neveneffecten

De kans op het optreden van toxische neveneffecten wordt berekend op basis van de toxiciteit van een middel en de potentiële blootstelling van de niet-doelwit organismen. Voor het bepalen van de potentiële blootstelling wordt op basis van de door de fabrikant geleverde gegevens door de Commissie Toelating Bestrijdingsmiddelen (CTB) een schatting gemaakt van de verwachte concentratie in verschillende milieucompartimenten: 'Predicted Environmental Concentration' (PEC). Hierbij wordt gebruik gemaakt van gegevens over de voorgeschreven dosis, de toedieningswijze en de formulering. Ook wordt gebruik gemaakt van gegevens over persistentie en mobiliteit. Deze berekende concentratie wordt vergeleken met de toxiciteit voor verschillende groepen van organismen, waarbij - voor het berekenen van de werkelijke blootstelling - o.a. de bioconcentratiefactor en de lipofiliteit betrokken worden. Uit deze vergelijking ontstaat een beeld van de te verwachten toxische neveneffecten. Een beoordeling van deze neveneffecten door de CTB vindt plaats op grond van de omvang van het verwachte risico.

Er zijn na deze beoordeling drie mogelijkheden (zie fig. 3.1):

1. Er is een (zeer) groot toxisch risico aanwezig voor niet-doelwit organismen; op basis van de te verwachten toxische neveneffecten wordt dan geen toelating aanbevolen; in ieder geval is een veldtoets om deze

neveneffecten aan te tonen niet noodzakelijk en op ethische gronden zelfs ongewenst.

2. Er is een matig groot risico aanwezig; dit kan enerzijds direct blijken uit de beoordeling, anderzijds kunnen specifieke blootstellingsrisico's een rol spelen; granulaten kunnen bijvoorbeeld door vogels worden opgepikt en er kan een zeer hoge blootstelling ontstaan. Ook andere aanwijzingen over het optreden van neveneffecten, bijvoorbeeld uit de open literatuur, kunnen aanleiding zijn tot het uitvoeren van een veldtoets.
   Daarnaast kunnen onzekerheden ontstaan door het onvoldoende beschikbaar zijn van kwantitatieve gegevens, of van methoden voor een goede beoordeling van de laboratorium-toetsen, bijvoorbeeld bij een middel met een nieuw werkingstype. Een ander voorbeeld is dat een middel tot gevolg kan hebben dat organismen een grotere kans krijgen om gepredeerd te worden, zodat het risico voor doorvergiftiging veel groter wordt. Ook in deze gevallen is een veldtoets noodzakelijk.
3. Er is een klein risico; in dit geval is er geen veldtoets vereist voor onderzoek naar toxische neveneffecten.

Er wordt op deze plaats op gewezen dat er slechts voor een beperkt aantal standaard-organismen laboratorium-toetsen vereist zijn. Voor het aquatisch milieu zijn gegevens (standaard) vereist met betrekking tot algen, kreeftachtigen en vissen en, voor het terrestrisch milieu, zoogdieren (rat), vogels en regenwormen en in bepaalde gevallen over honingbijen. Gegevens over de effecten op de vegetatie kunnen ten dele aan het deugdelijkheidsonderzoek worden ontleend. Het is echter goed voorstelbaar dat er in bepaalde gevallen voor een goede beoordeling extra gegevens noodzakelijk zijn. Bij gebruik van een acaricide ligt het bijvoorbeeld voor de hand om effecten op mijten of spinnen te onderzoeken. Het lijkt hiervoor gewenst om primair het aantal laboratoriumtoetsen uit te breiden, zodat een betere beoordeling mogelijk wordt. Wanneer er dan na uitvoering van al de laboratoriumtoetsen een matig groot risico aanwezig blijkt te zijn, moet een veldtoets worden uitgevoerd.

3.1.2 Ecologische neveneffecten

Ecologische neveneffecten komen in de internationale procedures niet expliciet aan de orde. Er wordt door ons een procedure voorgesteld (zie fig. 3.1), die analoog is aan die voor de toxische neveneffecten: eerst vindt een beoordeling plaats op basis van laboratorium- en gebruiksgegevens. Wanneer er een matig groot risico aanwezig is, wordt bezien in hoeverre een veldtoets een uitspraak kan doen over het optreden van ecologische neveneffecten.

Een middel heeft voor een bepaalde groep organismen altijd een toxisch neveneffect; daarvoor is het immers bedoeld. Bij het bepalen van de ecologische neveneffecten gaat het erom, of bepaalde eigenschappen het waarschijnlijk maken dat ook andere dan de doelwit organismen indirect het slachtoffer worden van het middel. Een verdenking voor het optreden van ecologische neveneffecten kan ontstaan als een middel een grote werkingsbreedte heeft of als een middel op grote schaal wordt gebruikt. Voor een middel dat zeer effectief is, kan ook een verdenking ontstaan in combinatie met de werkingsbreedte of met de schaal van toepassing. Deze aspecten worden onderstaand afzonderlijk behandeld.

Werkingsbreedte

Wanneer een middel zeer specifiek werkt (één of enkele soorten worden gedood) is er voor wat betreft werkingsbreedte geen aanleiding tot de verdenking dat er ecologische neveneffecten optreden. Wanneer een middel echter breder werkt (bijvoorbeeld: toxisch voor alle arthropoden of voor alle dicotylen), zal een grotere groep van organismen worden aangetast. Wanneer door de brede werking van een middel een ecologische functie (bijvoorbeeld: decompositie of bloembestuiving) wordt aangetast moet hierover vóór de toelating in ieder geval duidelijkheid zijn. Wanneer er een verdenking bestaat dat een dergelijke functie voor meer dan 10% wordt aangetast, wordt een veldtoets noodzakelijk geacht.

De groep van indirect getroffen organismen (de predatoren of soorten die van een bepaald habitat afhankelijk zijn) is bij een breedwerkend middel mogelijk ook breder. Algemene criteria voor het uitvoeren van een veldtoets zijn moeilijk te geven. Het hangt namelijk sterk van de organismen af, die voorkomen in de gebieden waar het middel zal worden gebruikt. Het voedsel- en leefpatroon van deze organismen bepaalt wanneer er ecologische neveneffecten optreden. Kritische perioden zijn bijvoorbeeld die waarin jongen worden groot gebracht. Daarnaast spelen ook natuurlijke fluctuaties een rol en de duur van het effect. Het is daarom van belang om bij het inschatten van een potentieel risico rekening te houden met deze aspecten. Bij het uitvoeren van een veldtoets zal dit moeten gebeuren onder omstandigheden waaronder de grootste effecten worden verwacht.

Onder bovengenoemde voorwaarden kan een norm worden opgesteld voor voedsel- en habitat-effecten: wanneer er een risico bestaat dat meer dan 10% van het voedsel voor een niet-doelwit soort wordt aangetast of het habitat voor meer dan 10% wordt aangetast is een veldtoets gewenst.

Schaal van toepassing

De vraag bij de schaal van toepassing kan bijvoorbeeld zijn: Is het voor predatoren van aangetaste organismen mogelijk om verderop te gaan fouragerен? Of: Verdwijnt het habitat van een bepaalde soort over een relatief kleine oppervlakte of voor een aanzienlijk deel? Daarmee kan er op twee manieren sprake zijn van grootschaligheid. In de eerste plaats kan het middel over grote oppervlakten gebruikt worden. In de tweede plaats kan het areaal waarin het middel wordt toegepast sterk overlappen met het leefgebied van een organisme of met een specifiek ecosysteem of landschapstype.

Toepassing over grote oppervlakten

Wanneer een middel wordt aangevraagd voor gebruik in gewassen die een areaal van minstens 10.000 ha (dit is ca. 0,5 % van het totale areaal cultuurgrond) beslaan, wordt hier voorgesteld om te spreken van grootschalig gebruik. In het tabel 3.1 wordt een overzicht gegeven van het gebruik van cultuurgrond in Nederland en van de belangrijkste afzonderlijke teelten. Wanneer toepassing van een middel in één van de in tabel 3.1 genoemde teelten wordt geclaimd, wordt het gebruik dus grootschalig geacht. Wordt toepassing geclaimd voor meerdere kleine teelten dan wordt het gebruik grootschalig geacht wanneer de som van de arealen van deze teelten opnieuw de 10.000 ha te boven gaat.

algemeen	
grasland	1125
akkerbouw	787
tuinbouw	88
teelt onder glas	9
cultuurgrond totaal	2014
specifieke teelten	
snijmais	198
suikerbieten	128
cons. aardappelen	76
fabrieksaardappelen	58
zomergerst	42
groenten*	39
groene erwten	36
pootaardappelen	35
fruit*	22
graszaad	22
bloembollen*	16
zaaiuien	11
veldbonen	10

Tabel 3.1 Overzicht gebruik cultuurgrond in 1000 ha, gegevens over 1987; een *-categorie bestaat uit de som van teelten, die vanwege de grote onderlinge overeenkomsten zijn samengevoegd (bron: Anonymus, 1988).

Overlap met habitat

Wanneer het gebruik van een middel een grote overlap vertoont met een bepaald habitat (bijvoorbeeld slootkanten), is er voor dit habitat potentieel een groot risico. Het is dan noodzakelijk om voor dit habitat in het veld te onderzoeken wat de neveneffecten van dit middel zijn. Ook als het gebruik van een middel overlap vertoont met bepaalde landschappen (bijvoorbeeld een polder), is er voor die gebieden een risico voor ecologische neveneffecten. De norm van 10.000 ha geldt in die gevallen niet. Als aangesloten gebieden worden behandeld, zal per geval moeten worden bekeken of dit ecologische neveneffecten kan hebben; ook dan kan een kleiner oppervlak dan 10.000 ha aanleiding zijn voor het uitvoeren van een veldtoets.

Speciale aandacht wordt gevraagd met betrekking tot risico's voor zeldzame, bedreigde en/of beschermde soorten en habitats. Wanneer er naar aanleiding van de aanvraag van een middel de verdenking bestaat dat het middel in aanraking zal komen met deze habitats of soorten, is extra voorzichtigheid vereist. Een veldtoets met bedreigde soorten of habitats stuit echter op ethische bezwaren. In een veldtoets moet dan in een vergelijkbare situatie worden nagegaan in hoeverre blootstelling c.q. effecten zullen optreden. Op grond van de zo verkregen uitkomsten kunnen dan ten aanzien van de bedreigde soorten of habitats aanvullende toelatingseisen worden gesteld.

Effectiviteit

Elk middel wordt in principe ontworpen om zo effectief mogelijk te werken. Een middel dat zeer effectief is, brengt bij gebruik echter een groot risico met zich mee, nl. dat bepaalde organismengroepen, althans plaatselijk, volledig worden uitgeroeid. Daarom wordt, wanneer een middel zo effectief is dat het 100% van de doelwit organismen uitroeit, een veldtoets voor de ecologische neveneffecten noodzakelijk geacht. In alle andere gevallen kan de effectiviteit op zichzelf binnen het doelwitgebied niet als criterium worden gebruikt. Wanneer een middel nu een bredere werking heeft of op grote schaal wordt toegepast, kan een bijzonder effectief middel echter wel ecologische neveneffecten hebben. Daarom wordt voorgesteld om de effectiviteit in combinatie met de werkingsbreedte en de schaal van toepassing als criterium te gebruiken. Wanneer er twijfel is over een risico op basis van breedte van werking of de schaal van toepassing, kan een effectiviteit van meer dan 90% aanleiding zijn voor het uitvoeren van een veldtoets.

Resumé

In tabel 3.2 worden de aspecten die aanleiding geven tot het uitvoeren van een veldtoets samengevat weergegeven.

toxische neveneffecten	ecologische neveneffecten
aanwezigheid toxisch risico onzekerheid bij beoordeling	werkingsbreedte middel op grote oppervlakten toegepast overlap met habitat extreem effectief middel

Tabel 3.2 Samenvatting van de criteria die aanleiding geven tot het uitvoeren van een veldtoets.

3.2 Toespitsing op te verwachten effecten

Met behulp van de criteria uit § 3.1 blijkt, wanneer het uitvoeren van een veldtoets gewenst is. Op een globaal niveau heeft er dus al een toespitsing plaatsgevonden, te weten naar toxisch of ecologisch neveneffect. In deze paragraaf worden de verwachte effecten, op basis van gegevens met betrekking tot de stof (§ 3.2.1), het gebruik (§ 3.2.2) en het ontvangend milieu (§ 3.2.3), geconcretiseerd naar één of meer specifieke neveneffecten en toegespitst op milieucompartiment, organisme e.d. Een overzicht van de toegespitste effecten wordt gegeven in § 3.2.4.

Eerst wordt echter nog een aantal algemene uitgangspunten aangegeven. Effecten kunnen plaatsvinden op het niveau van individuen, populaties, levensgemeenschappen en ecosystemen. Uitgangspunt is dat er minstens een verdenking voor een effect op populatie-niveau moet bestaan om het uitvoeren van een veldtoets te rechtvaardigen. Een uitzondering wordt gemaakt voor beschermde of bedreigde soorten. Bij deze soorten mogen ook individuen niet worden aangetast. De aantasting van populaties kan gevolgen hebben voor de samenstelling van levensgemeenschappen en voor het

ecosysteem. Ecosysteem-effecten kunnen verwacht worden op basis van twee typen verdenkingen. Ten eerste kan een middel (toxische of ecologische) neveneffecten hebben op organismengroepen, die specifieke ecosysteemfuncties vervullen. Ten tweede kan een middel ingrijpen op ecosysteemprocessen, hetgeen met name bij bodemprocessen goed voorstelbaar is.

3.2.1 Stofeigenschappen

Stofeigenschappen kunnen aanwijzingen opleveren omtrent het effect of het mechanisme, waarop uiteindelijk getoetst moet worden. In tabel 3.3 wordt deze relatie voor de belangrijkst geachte stofeigenschappen weergegeven.

stofeigenschap	mechanisme	toespitsing op verw. effecten
toxiciteit	directe vergiftiging	direct toxisch effect verwante organismen/processen
persistentie	ophoping in milieu	organismen in bodem/waterbodem
lipofiliteit	ophoping in voedselketen	indirect toxisch effect op organismen eind voedselketen
mobiliteit	verspreiding in milieu	omliggende ecosystemen, m.n. sloten
werkingstype	doorvergiftiging via verhoogde beschikb. of afwijkend gedrag doelorg.	indirect toxisch effect voedsel-effect predatoren doelwit organismen
effectiviteit	volledigheid uitroeien doelwit organisme	voedsel- of habitat-effect predatoren, bloembezoekers en org. gebonden aan doelorg.
werkingsbreedte	uitroeien van breed spectrum voedsel-organismen vernietigen habitat	voedsel- of habitat-effect op predatoren doelwit organismen of habitat afhankelijke org.

Tabel 3.3 Specificatie van het te verwachten effect op grond van stofeigenschappen.

In het onderstaande worden de stofeigenschappen uit tabel 3.3 ingedeeld in (inter)nationaal geaccepteerde klassen. Van deze klassen kan gebruik worden gemaakt voor een gewichtstoekenning van een mogelijk effect.

Toxiciteit

In tabel 3.4 wordt een aantal toxiciteitsklassen voor niet-doelwit organismen onderscheiden. De klassegrenzen zijn gebaseerd op Van Gestel (1985), VROM (1985) en Hill et al. (1975). De klassen giftig en zeer giftig zijn samengevoegd. Overigens zou er naar gestreefd moeten worden om ook te werken met in 'no-effect-levels', vanwege de beschikbaarheid van gegevens wordt nu nog uitgegaan van de LC/LD50 waarden.

organismen ▸ / ▾ toxiciteitsklassen	aq. fauna (LC50 in mg/l)	regenwormen (LC50 in mg/kg grond)	bijen (LC50 in µg/bij)	vogels & zoogdieren (LD50 in mg/kg lich.gew.
I giftig/zeer giftig	< 1	< 1 - 10	<0,1 - 1	< 200
II matig giftig	1 - 10	10 - 100	1 - 10	200 - 1000
III weinig giftig	10 - 100	100 - 1000	10 - 100	1000 - 5000
IV zeer weinig giftig	> 100	> 1000	> 100	> 5000

Tabel 3.4 Toxiciteitsklassen voor niet-doelwit organismen.

Als een bepaald middel in klasse I valt zou dit aanleiding kunnen zijn om dit middel op basis van zijn toxische eigenschappen niet toe te laten. Wanneer de PEC echter zo laag is dat toelating toch wordt overwogen, geeft de toxiciteit in ieder geval een duidelijke aanwijzing voor de groep van organismen waarin de effecten moeten worden gezocht. Ook de klassen II en III richten de verdenking, maar in dit geval moet worden bezien in hoeverre er blootstelling optreedt. Bij stoffen die in klasse IV scoren, richt de toxiciteit de verdenking niet op een bepaalde groep van organismen.

Niet alle typen niet-doelwit organismen komen in deze tabel aan de orde. Voor sommige geldt dat een zinvolle vergelijking met de in de tabel genoemde organismen mogelijk is: men zou bijvoorbeeld kunnen aannemen dat voor vlinders, als bloembezoekende insecten, dezelfde waarden gelden als voor bijen. Voor andere organismen zal dat minder goed kunnen. Een oplossing hiervoor kan zijn het verzamelen van aanvullende toxiciteitsgegevens of het werken met veiligheidsfactoren.

Ook voor de flora is het waarschijnlijk mogelijk om een dergelijke indeling te maken, waarbij naast de mortaliteit ook effecten op groei en bloei worden betrokken. Hierbij kunnen gegevens wellicht worden ontleend aan het deugdelijkheidsonderzoek, waarbij in ieder geval gegevens worden verkregen over de invloed op de teelt.

Persistentie

In de notitie Milieucriteria (Tweede Kamer, 1988-1989, 21 012) worden de volgende grenzen gehanteerd:

- halfwaardetijd > 2 maanden: geen toelating (N.B. De CRMH adviseert 1 maand i.p.v. 2 maanden)
- halfwaardetijd < 1/2 - 1 maand: geen problemen verwacht.

In het tussengebied (1/2 - 2 maanden) wordt de verdenking gericht op verhoogde gehalten in bepaalde milieucompartimenten.

Lipofiliteit

Van stoffen met een log Pow > 3 wordt aangenomen dat ze (potentieel) significant accumuleren in organismen. Deze waarde is, evenals de persistentie-parameters, ontleend aan de notitie Milieucriteria; ze is strenger dan de bij de toelatingsprocedure gehanteerde waarde. Bestrijdingsmiddelen met een log Pow > 3 zouden derhalve in de toekomst niet meer toegelaten moeten worden. Bij waarden van 2 - 3 wordt het verwachte effect toegespitst op indirect toxische effecten. Wanneer deze normen te streng

zijn, kan een waarde van 3 - 5 als aanleiding tot verdenking worden gehanteerd. Deze verdenking zou zich moeten richten op organismen aan het einde van de voedselketen.

Mobiliteit

De mate van mobiliteit kan worden gerelateerd aan de parameters adsorptie (K-ads = adsorptieconstante), Rf-waarde (voor grond-dunne-laag-chromatografie), wateroplosbaarheid (S) en verdamping (P = dampspanning). Om aan deze parameters getalswaarden te koppelen wordt gebruik gemaakt van gegevens van Van Gestel (1984, 1985). Bij mobiele tot zeer mobiele middelen richten de verwachte effecten zich op de omliggende ecosystemen, met name op de sloten.

	K-ads (dm^3/kg)	Rf	S (mg/l)	P (Pa)
immobiel	> 10	0,0 - 0,09	< 0,1	< 10^{-4}
weinig mobiel	1,0 - 10	0,10 - 0,34	< 10	10^{-4} - 10^{-2}
matig mobiel	0,3 - 1,0	0,35 - 0,64	< 1000	10^{-2} - 1
mobiel	0,1 - 0,3	0,65 - 0,89	> 1000	1 - 100
zeer mobiel	< 0,1	0,90 - 1,0	>>1000	> 100

Tabel 3.5 Mobiliteitsklassen op basis van K-ads, Rf, S en P.

Werkingstype

Ook de bedoelde werking van een middel is te beschouwen als een stofeigenschap. De doelwit organismen geven aanknopingspunten voor de neveneffecten. Tabel 3.6 geeft een overzicht van de typen middelen voor wat betreft de doelwit organismen. Bij een verdenking voor een toxisch neveneffect is deze verdenking primair gericht op niet-doelwit organismen uit dezelfde groep en voorkomend in hetzelfde milieucompartiment als de doelwit organismen.

bedoelde werking	*aangrijpingspunt*
bactericiden	prokaryoten
viruciden	prokaryoten
fungiciden	schimmels
algiciden	algen
herbiciden, incl. loofdodingsmiddelen en groeiregulatoren	planten
nematiciden	ongesegm. wormen
mollusciciden	weekdieren
acariciden	mijten & spinnen
insecticiden	insecten
rodenticiden	zoogdieren

Tabel 3.6 Toespitsing effect gebaseerd op doelwit organisme.

Bij een verwacht ecologisch neveneffect gaat het om de predatoren van de doelwit organismen en om de habitat-effecten. Voor het te onderzoeken niet-doelwit organisme moet ook altijd worden gekeken naar de blootstelling en naar het werkingsmechanisme van een middel. Ook wanneer deze organismen niet verwant zijn aan het doelwit organisme moet de toxiciteit voor dergelijke organismen worden onderzocht.

Effectiviteit en werkingsbreedte
Wanneer de effectiviteit of de werkingsbreedte aanleiding zijn tot het uitvoeren van een veldtoets naar ecologische neveneffecten (zie § 3.1), moet deze toets zich richten op die organismen die voor hun voedsel of habitat afhankelijk zijn van de doelwit organismen. Wanneer een andere eigenschap aanleiding is voor het uitvoeren van de veldtoets, richten de eigenschappen effectiviteit en werkingsbreedte de verdenking vooral op niet-doelwit organismen, die verwant zijn aan de doelwit organismen.

3.2.2 Gebruik

Ook de gebruikskarakteristieken kunnen het verwachte effect nader toespitsen. Tabel 3.7 is gericht op de formulering van het middel en de methode van toepassing. Het gebruik richt het effect met name op de te verwachten aard en omvang van de verspreiding van het middel in het milieu.

toedieningsvorm	mechanisme	aangrijpingspunt
strooien korrels	direct inname (korrels) afrollen/afspoelen	bodem vogels, kleine zoogdieren slootecosysteem
spuitpoeder spuitkorrels spuitvloeistof	direct verlies afspoeling verwaaien inhalatie	vegetatie, bodem randecosystemen, m.n. sloten slootecosysteem naburige ecosystemen fauna
gieten vloeistof	direct	bodem
vliegtuig spuitvloeistof	direct zeer groot verlies verwaaien inhalatie*	vegetatie, bodem randecosyst., m.n. sloten naburige ecosystemen fauna
injecteren gas/damp	ontsnappen en verwaaien	naburige ecosystemen
spuitbus** gas	verwaaien inhalatie	naburige ecosystemen fauna

* gevaar hiervoor is zeer groot vanwege grootschalige toediening
** zeer weinig gebruikt in buitenteelt

Tabel 3.7 Specificatie van te verwachten effect op grond van formulering en toepassingsmethode van middel.

3.2.3 Ontvangend milieu

Het milieu waarin de bestrijdingsmiddelen worden gebruikt spitst de effecten toe op twee aspecten: het milieucompartiment, waar de stof gebruikt wordt en het ecosysteem- of gebiedstype waarin toepassing plaatsvindt. Het milieucompartiment is vanzelfsprekend van belang voor het specificeren van de verdenking tot effecten op bepaalde groepen organismen in meer algemene zin. In tabel 3.8 wordt dit weergegeven. Het ecosysteem- of gebiedstype (tabel 3.9) kan de verdenking richten op bepaalde levensgemeenschappen, waardoor de aanwijzingen verkregen via tabel 3.8 verder worden toegespitst. Hierbij is ook de zeldzaamheid van deze soorten of levensgemeenschappen een belangrijk aandachtspunt.

compartiment	behandeling	toespitsing
water(bodem)	slootbehandeling slootbodembehandeling	waterflora/-fauna/-ecosysteem idem
bodem	grondontsmetting slootkantbehandeling	bodemfauna en -ecosysteem oever- en waterflora waterfauna en -ecosysteem
gewas	gewasbehandeling rijbehandeling zaaivoorbehandeling loofdoding onkruidbestrijding	fauna gebonden aan niet-doelwit vegetatiefauna idem bodemfauna vegetatiegebonden fauna niet-doelwit vegetatie idem; daarnaast ook: van getroffen habitat afh. soorten
dieren	ongediertebestrijding	vogels en zoogdieren predatoren van getroffen org.
binnenshuis	grondbehandeling kasbehandeling plantgoedbehandeling zaadbehandeling ruimtebehandeling voorraadbehandeling	evt. via uitspoeling idem niet relevant niet relevant niet relevant niet relevant

Tabel 3.8 Specificatie van te verwachten effect op grond van het milieucompartiment waarin het middel wordt toegepast.

gebieds-/ecosysteemtype	aangrijpingspunt
sloot	slootecosysteem, zeldzame soorten
slootkant	slootkantecosysteem, zeldzame soorten
akker, tuinbouw en bollen	akkerflora en -fauna, zeldzame soorten verder mogelijk via uit- en afspoeling
grasland	graslandecosysteem, zeldzame soorten verder mogelijk via uit- en afspoeling
bos	bosecosysteem, zeldzame soorten
boomgaard	boomgaardflora en -fauna, zeldz. soorten
kas	*mogelijk via uitspoeling*

Tabel 3.9 Specificatie van te verwachten effect op grond van het gebiedstype of ecosysteemtype waarin middel wordt toegepast.

3.2.4 Overzicht toegespitste effecten

In de voorafgaande paragrafen is aangegeven hoe met behulp van de bij een aanvraag van een bestrijdingsmiddel beschikbare gegevens de effecten nader kunnen worden toegespitst tot een verdenking in de vorm van een specifiek effect op specifieke soortengroepen of ecosystemen in specifieke milieutypen. Hierbij is gebruik gemaakt van een aantal stof- en gebruikseigenschappen en is toegewerkt naar een zo nauwkeurig mogelijk omschreven verwacht effecttype, organisme (taxonomische groep), milieucompartiment en ecosysteemtype. In tabel 3.10 wordt samengevat weergegeven waarop de effecten kunnen worden toegespitst. Deze effecten leveren nu vervolgens de aanknopingspunten voor de veldtoetsen. Hierop wordt in de volgende paragraaf ingegaan.

effecttypen	taxonomische groep	milieu compartiment	ecosysteem type
direct toxisch effect indirect toxisch effect voedsel-effect habitat-effect	fungi plankton/algen hogere planten bacteriën *onges. wormen* weekdieren geseg. wormen kreeftachtigen spinnen/mijten insecten vissen amfibieën reptielen vogels zoogdieren	waterbodem water bodem vegetatie	sloot slootkant akker grasland bos boomgaard

Tabel 3.10 Samenvatting van de effecten waarop toespitsing plaatsvindt.

De toespitsing op de potentieel meest bedreigde niet-doelwit organismen is gebaseerd op de verwantschap met het doelwit organisme en op de toxiciteitsgegevens. Daarom worden hier meer taxonomische groepen genoemd dan bij de aan de doelwit organismen verwante groepen (tabel 3.6).

3.3 Selectie veldtoetsen

In deze paragraaf wordt ingegaan op de toetsen die gebruikt moeten worden voor het traceren van neveneffecten in het veld. Uitgangspunt is dat met de toetsen de in de vorige paragraaf genoemde effecten kunnen worden aangetoond, voor zover deze althans daadwerkelijk in het veld optreden. In § 3.3.1 wordt aangegeven welke organismengroepen in de verschillende milieucompartimenten voorkomen en waar effecten kunnen worden verwacht. In § 3.3.2 wordt vervolgens aangegeven voor welke specifieke soorten-(groepen) veldtoetsen zouden moeten worden ontwikkeld. In § 3.3.3 wordt vervolgens een keuze gemaakt voor de verder uit te werken veldtoetsen.

3.3.1 Koppeling toegespitste effecten aan veldtoetsen

In § 3.2.4 is aangegeven waarop de effecten zijn toegespitst en waar ze worden verwacht. Er zijn verschillende effecttypen onderscheiden, die op kunnen treden in verschillende milieucompartimenten, ecosysteem-typen en op verschillende organismengroepen. In tabel 3.11 worden de taxonomische groepen gecombineerd met de milieucompartimenten voor een compleet beeld van de veldtoetsen, waaraan in principe behoefte bestaat.

milieucomp. ▸ ▾ tax.gr.	waterbodem	water	bodem	"vegetatie"
fungi			X	
plankton/algen		X		
hogere planten		X	X	X
bacteriën	X		X	
ongeseg. wormen	X		X	
weekdieren	X	X	X	X
geseg. wormen	X		X	
kreeftachtigen	X	X	X	
spinnen/mijten		X	X	X
insecten	X	X	X	X
vissen		X		
amfibieën		X	X	
reptielen			X	
vogels		X	X	X
zoogdieren		(X)	X	X

Tabel 3.11 Overzicht het voorkomen van taxonomische groepen in bepaalde milieucompartimenten; de kruisjes in de tabel geven aan waar effecten verwacht kunnen worden c.q. de beschikbaarheid van veldtoetsen in principe gewenst is; (X) = eventueel gewenst.

In principe staat elk kruisje in tabel 3.11 voor een veldtoets. De ecosysteemtypen van tabel 3.9 spelen vooral een rol bij de soortskeuze in de veldtoets. Bij voorkeur moet voor een veldtoets een soort worden gekozen die in het betreffende ecosysteemtype voorkomt.

3.3.2 Keuze toetsorganismen

Uit tabel 3.11 blijkt dat er voor een aantal taxonomische groepen en milieucompartimenten een veldtoets gewenst is. Welk organisme er uiteindelijk wordt gekozen voor een veldtoets, hangt van een aantal aspecten af, zoals de rol van een organisme in het ecosysteem of de blootstelling van een organisme.

Onderstaand wordt er voor al deze toetsen een voorstel gedaan voor een toetsorganisme. Bij het compartiment bodem wordt nog een nader onderscheid gemaakt tussen in de bodem en òp de bodem levende organismen. Enerzijds omdat de blootstelling kan verschillen, anderzijds omdat het hier geheel andere organismengroepen betreft.

Bij de keuze van de organismen zijn de volgende criteria gehanteerd:
- de organismen moeten een belangrijke rol spelen in het functioneren van het ecosysteem of hiervoor representatief zijn (van belang bij de beoordeling van de resultaten);
- per milieucompartiment wordt gekeken naar de belangrijkste processen (in de bodem speelt bijvoorbeeld de decompositie een belangrijke rol, terwijl òp de bodem het complex van primaire producenten, herbivoren en carnivoren een belangrijke rol speelt);
- de organismen moeten redelijk abundant zijn in het agrarisch gebied;
- er moet zicht zijn op praktische uitvoerbaarheid, hetgeen o.a. bereikt kan worden door aan te sluiten bij bestaande richtlijnen;
- de organismen mogen niet extreem ongevoelig zijn voor bestrijdingsmiddelen in het algemeen.

In het onderstaande wordt voor de onderscheiden taxonomische groepen per milieucompartiment een keuze gemaakt voor een bepaald organisme op basis van de ecologische rol en het voorkomen. Onze voorkeur is daarbij waar van toepassing onderstreept. Telkens is aangegeven bij welke bestaande toets(richtlijn)en aansluiting kan worden gezocht.

In en op de waterbodem levende organismen

Bacteriën
De decompositie is het belangrijkste proces in de waterbodem. De decompositiesnelheid zou onderzocht kunnen worden, mogelijk met vergelijkbare methoden als op het land ('litterbag'-toets). Een dergelijke toets moet echter nog volledig worden ontwikkeld.

Ongesegmenteerde wormen
Ongesegmenteerde wormen (bijv. Nematoda) spelen in de waterbodem een minder belangrijke rol dan de gesegmenteerde wormen. Hoewel er taxonomisch gezien een groot verschil is tussen de gesegmenteerde en de ongesegmenteerde wormen komt de leefwijze en de blootstelling dusdanig overeen dat een aparte toets niet noodzakelijk wordt geacht.

Weekdieren
De driehoeksmossel wordt reeds gebruikt als indicator voor het voorkomen van bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater. In sloten komen deze echter niet in grote aantallen voor; ook andere tweekleppigen zijn over het algemeen slechts in kleine aantallen vertegenwoordigd. Gelet op het voorkomen in sloten heeft de ontwikkeling van een toets met slakken de voorkeur. Slakken vertegenwoordigen bovendien de herbivoren. Aansluiting bij het werk van TNO-MT te Den Helder met slakken in proefvijvers is gewenst.

Gesegmenteerde wormen
Van de gesegmenteerde wormen (Annelida), die in de waterbodem leven, vormen de Oligochaetae (bijv. Tubifex sp.) de belangrijkste groep. Dit is een kwantitatief veel voorkomende groep van organismen, die wordt blootgesteld via de waterbodem. Veel vertegenwoordigers spelen een belangrijke rol bij de fragmentatie van organisch materiaal. Daarom wordt voorgesteld een toets uit te voeren met Tubifex sp. Mogelijk kan hier worden aangesloten bij een op het RIVM en het RIN in ontwikkeling zijnde laboratorium-toets.

Kreeftachtigen
Toets met waterpissebed (Asellus sp.); hierbij kan aansluiting worden gezocht bij het werk op het SC (Leeuwangh, zie o.a.: Beurskens, 1986; Romijn, 1988). Ook uit eigen onderzoek (Canters et al., 1989) is gebleken, dat waterpissebedden geschikt lijken voor dergelijk onderzoek. Waterpissebedden vervullen een belangrijke rol bij de afbraak van dood plantenmateriaal; zij kunnen echter niet worden gezien als specifieke bodemorganismen, aangezien ze ook veel tussen de planten voorkomen. Daarmee zijn ze minder indicatief voor een blootstelling via de waterbodem.

Insecten
In de waterbodem zelf voorkomende insecten zijn voornamelijk muggelarven. Zij grazen het oppervlak van de waterbodem af. Muggelarven komen bovendien in grote aantallen voor. Aansluiting kan worden gezocht bij het werk van DBW/RIZA. Hier werden subletale effecten (kaakafwijkingen) bij muggelarven gevonden (van Urk & Kerkum, 1986). Verder zijn er verschillende ontwikkelingen met het gebruik van muggelarven in laboratorium- en mesocomos-studies (Eijsackers & Bosma, 1989).

In de waterkolom levende organismen

Algen
Algen zijn belangrijke primaire producenten en zijn daarmee de eerste stap in de voedselketen. Een toets voor sloten zou zich zowel moeten richten op het fytoplankton als op epifytische algen. Een algentoetst kan worden ontwikkeld in aansluiting op de reeds bestaande algentoets (NEN 6506 en OECD Guideline 201) in het laboratorium en het onderzoek van het SC in proefsloten (mond. med. Leeuwangh).

Hogere planten
Naast de algen vormen hogere waterplanten de andere groep van belangrijke primaire producenten. Door hun ruimtelijke configuratie zijn zij bovendien de habitat voor veel waterfauna-soorten en voor epifyten. In aan-

sluiting op de EPA-richtlijnen (EPA, 1982a) zou een toets met meerdere soorten hogere planten kunnen worden ontwikkeld.

Weekdieren
Op de vegetatie spelen slakken als herbivoren een belangrijke rol. Ze zijn meestal in grote aantallen aanwezig en vertegenwoordigen bovendien de herbivoren. Aansluiting bij het werk van TNO-MT te Den Helder in proefvijvers is gewenst.

Kreeftachtigen
Een toets met watervlooien zou alleen al vanwege de goede en uiterst relevante aansluiting op de laboratoriumtoetsen (NEN 6501 en OECD Guideline 202) - denk aan de extrapolatie-problematiek - moeten worden ontwikkeld. Daarnaast vormen watervlooien als 'filterfeeders' (fytoplankton) een essentiële schakel in de voedselketens in sloten.

Spinnen & mijten
Spinachtigen zouden moeten worden onderzocht vanwege de risico's van acariciden. Een toets met watermijten ligt meer voor de hand dan een toetst met waterspinnen, omdat mijten veel abundanter voorkomen. Bovendien is inmiddels enige bruikbare ervaring opgedaan met watermijten (zie Canters et al., 1989).

Insecten
Een toets met insecten moet vooral worden ontwikkeld met het oog op de risico's van insecticiden. Larven van aquatische insecten zijn in het algemeen gevoeliger dan adulten. Daarom zou een toets moeten worden ontwikkeld met insectenlarven. Door predatore insecten te kiezen wordt tegelijk dit aspect van het ecosysteem afgedekt. Vanwege de grootte zou bijvoorbeeld een toets met larven van predatore kevers of nymfen van predatore wantsen kunnen worden ontwikkeld. Echter, ook andere organismen, zoals libellen(larven) en kokerjuffer(larven), kunnen worden gebruikt. Met deze laatste groep is al enige ervaring opgedaan met laboratorium-onderzoek (Heinis & Crommentuijn, 1988).

Vissen
Toets met stekelbaarzen. Stekelbaarzen vertegenwoordigen de predatoren in de sloten. Bovendien komen stekelbaarzen juist in de kleinere sloten veel voor. Aansluiting kan worden gezocht bij het mesocosmos-onderzoek van TNO-MT.

Amfibieën
Amfibieën vormen alleen al vanwege hun beschermde status een groep van soorten, waarvoor neveneffecten ongewenst zijn. Dit betekent overigens ook dat bij een eventuele veldtoets de grootste voorzichtigheid in acht genomen moet worden. Dit is mogelijk goed te bereiken door het uitvoeren van een veldtoets met kikkerdril of kikkervisjes. Dit materiaal kan in het veld worden verzameld. Door kikkerdril te verzamelen op plaatsen waar kikkervisjes toch niet kunnen overleven, bijvoorbeeld in droogvallende sloten, is de kans op schade voor kikkerpopulaties gering. Aansluiting kan worden gezocht bij het werk van Cooke (1970, 1977, 1981). Voor een overzicht van onderzoek naar de neveneffecten van bestrijdingsmiddelen in het laboratorium en in het veld op amfibieën wordt verwezen naar Harfenist et al. (1989).

In en op de terrestrische bodem levende organismen

Fungi
Lagere schimmels en paddestoelen spelen in de bodem een belangrijke rol bij de afbraak van organisch materiaal. Bovendien spelen symbiontische schimmels (mycorrhiza) een belangrijke rol bij het vastleggen van stikstof. Vooral het ontwikkelen van een veldtoets met deze laatste groep lijkt daarom gewenst.

Bacteriën
Ook bacteriën zijn belangrijk bij de afbraak van organisch materiaal (decompositie). In een aantal gevallen worden ook toetsen voorgeschreven. Richtlijnen voor toetsen in het veld ontbreken echter nog. Aangesloten kan worden bij de in Nederland bestaande richtlijn voor laboratorium-onderzoek naar de nitrificatie (NEN 5795) en bij de bodemmicroflora-toets uit West-Duitsland (schr.med. Kohsiek).

Hogere planten
Hogere planten vertegenwoordigen het overgrote deel van de primaire productie in het terrestrisch milieu. Ze staan daarmee aan het begin van de voedselketen. Daarnaast spelen ze een belangrijke rol als waardplanten voor andere soorten en bepalen ze voor een belangrijk deel de ruimtelijke configuratie van de habitat. Vanwege het grootschalige gebruik van herbiciden staat de wilde flora in het agrarisch gebied onder grote druk (NMP, 1989). Het ontwikkelen van een veldtoets is daarom zeer gewenst. Hierbij kan worden aangesloten bij de toetsen met hogere planten in het kader van het deugdelijkheidsonderzoek (EPPO, 1989) en bij de EPA-richtlijnen.

Ongesegmenteerde wormen
Nematoden vormen een relatief diverse groep van organismen, die verschillende functies in het ecosysteem vervullen (Bongers, 1987). In aansluiting op het deugdelijkheidsonderzoek (PD, z.j.) is het goed mogelijk om, wanneer de doelwit aaltjes worden bemonsterd, tevens de soortensamenstelling van de niet-doelwit aaltjes te bepalen. Daarnaast kan worden aangesloten bij de laboratoriumtoetsen van het RIVM (van Gestel et al., 1989).

Weekdieren
Slakken die in of op de bodem leven zijn met name naaktslakken, zodat er *in principe een grote blootstelling aan een middel kan optreden; bovendien* vormen deze slakken een belangrijke voedselbron voor andere organismen. Daarom zou een veldtoets kunnen worden ontwikkeld.

Gesegmenteerde wormen
Regenwormen zetten veel bodemmateriaal om en hebben daarmee een hoge blootstelling en leveren een belangrijke bijdrage aan de decompositie. Daarnaast zijn ze van belang in verband met doorvergiftiging (bijv. als stapelvoedsel voor weidevogels, de steenuil en de das). In Duitsland is een veldtoets met regenwormen in ontwikkeling waarbij aangesloten kan worden (zie § 2.2.2). Verder kan worden aangesloten bij de in Engeland van kracht zijnde richtlijn (MAFF, 1986). Daarnaast kan worden voortgebouwd op de toetsontwikkeling van het RIVM (cf. van Gestel & Ma, 1989).

Kreeftachtigen
Pissebedden spelen een rol bij de decompositie. Er is bovendien al veel bekend over de effecten van zware metalen op pissebedden. Aangesloten kan worden bij het werk van de VU (bijv. van Wensem, 1989) en het - reeds oudere - werk van het RIN (Eijsackers, 1978).

Spinnen & mijten
Voor in de bodem zou een toets met mijten kunnen worden ontwikkeld. Er kan een relatie worden gelegd met het werk van bijvoorbeeld Van de Bund (1980). Uit het werk van Van de Bund blijkt dat bepaalde groepen roofmijten zeer gevoelig zijn voor bestrijdingsmiddelen.

Op de bodem spelen spinnen een rol als predatoren. Hier kan worden aangesloten bij het werk van de LUW (Everts et al., 1986a, 1986b, 1989).

Insecten
Voor in de bodem levende insecten ligt een toets met springstaarten voor de hand. Springstaarten komen in grote aantallen voor en spelen een belangrijke rol bij de decompositie en de mineralisatie van organisch materiaal. Aansluiting kan worden gezocht bij o.a. het werk op de VU en de LUW (cf. van Straalen & Everts, 1989), het RIN en de PD (van de Bund, 1980) en bij ontwikkelingen in Hongarije (schr.med. Oomen).

Voor òp de bodem levende organismen wordt voorgesteld om een toets met loopkevers te ontwikkelen. Als belangrijke predatoren vervullen de loopkevers - zowel ecologisch als landbouwkundig gezien - een belangrijke rol. Als uitgangspunt kan hier de in Engeland van kracht zijnde richtlijn worden genomen (MAFF, 1986). Verder kan aansluiting worden gezocht bij het werk van het RIN en de PD (Eijsackers & van de Bund, 1980) en de LUW (Everts et al., 1986a, 1986b, 1989) en bij de in het kader van de IOBC ontwikkelde toetsen (IOBC, 1988).

Amfibieën & reptielen
Aangezien deze groep, met uitzondering van kikkerdril, een beschermde status heeft, is het veroorzaken van negatieve effecten in een veldtoets niet gewenst. Echter, juist vanwege de beschermde/bedreigde status is het noodzakelijk om te weten of er negatieve effecten van bestrijdingsmiddelen zijn te verwachten. Voorgesteld wordt om op basis van een toegespitste risico-beoordeling in te schatten of er een effect op amfibieën en/of reptielen wordt verwacht; indien dit het geval is, moet er voor die situaties, waarin blootstelling op kan treden, een beperking in het gebruik worden opgelegd, dan wel een aanpassing plaatsvinden van het gebruiksvoorschrift.

Vogels
Vogels zijn zowel van belang vanuit hun betekenis voor het ecosysteem als door het belang dat er maatschappelijk (en door het beleid) aan wordt gehecht. Bij soorten die op de bodem voorkomen zijn met name vogels van belang die op de bodem van akkers of grasland fourageren (o.a. weidevogels en hoenderachtigen). Voor de methoden kan worden aangesloten bij algemene vogel-inventarisatie technieken, zoals die in Nederland zijn ontwikkeld en worden gebruikt (cf. Hustings et al., 1989). Daarnaast kan worden aangesloten bij het Engelse voorschrift (MAFF, 1986).

Zoogdieren
Kleine knaagdieren: toets met muizen. Hierbij kan worden gedacht aan een paar algemene soorten met een verschillend voedselpakket, zoals een herbivore soort (veldmuis Microtus agrestis), een insectivore soort (bosspitsmuis Sorex cf. araneus) en een omnivore soort (bosmuis Apodemus sylvaticus) (cf. de Snoo & Canters, 1988). Daarnaast kan worden gedacht aan de mol (Talpa europaea). Wellicht kan worden aangesloten bij het onderzoek naar de effecten van zware metalen van het RIN en het IVM (bijv. Ma, 1989; Denneman et al., 1989). In ieder geval kan het Engelse voorschrift (MAFF, 1986) als basis worden genomen.

Soorten die op de vegetatie voorkomen en/of de vegetatie consumeren

Weekdieren
Slakken vertegenwoordigen de herbivoren. Hoewel slakken vaak het doelwit van de bestrijding zijn kan een veldtoets zinvol zijn, vooral wanneer het gaat om ecologische effecten. Slakken kunnen bijvoorbeeld als eters van een onkruid veranderen in eters van het gewas en vormen bovendien een voedselbron voor andere soorten. Voor een richtlijn voor een veldtoets kan mogelijk worden aangesloten bij het deugdelijkheidsonderzoek.

Spinnen & mijten
Veldtoets met spinnen of mijten. Aansluiting bij het werk van de PD in het kader van het onderzoek naar geïntegreerde gewasbescherming. Verder wordt in internationaal verband zeer veel onderzoek gedaan naar mijten als 'nuttige organismen' (zie hoofdstuk 2).

Insecten
Voor vegetatiegebonden insecten lijkt een veldtoets met honingbijen geschikt; honingbijen nemen een belangrijke plaats in bij de bloembestuiving en zijn ook vanwege de honingproductie van belang. Aansluiting bij het werk van o.a. de Ambrossiushoeve en de PD en bij internationale richtlijnen (EPPO, 1986; MAFF, 1986; schr.med. Kohsiek, BBA).

Vogels
Zie ook onder bodembewonende vogels. Voor soorten die op de vegetatie voorkomen of er van eten kan bijvoorbeeld een veldtoets met insectivore of herbivore vogels worden uitgevoerd. Bij vogels zal in praktijk een scheiding tussen de via de vegetatie en de bodem blootgestelde soorten slecht mogelijk zijn, zodat in een veldtoets beide groepen worden onderzocht.

Keuze uitgewerkte veldtoetsrichtlijnen

In het kader van dit onderzoek is een keuze gemaakt voor tien nader uit te werken richtlijnen voor veldtoetsen. Er is in elk milieucompartiment gekozen voor vertegenwoordigers van de belangrijkste ecosysteemprocessen. Daartoe zijn de volgende hoofdgroepen onderscheiden: producenten, consumenten en decomposers. Hierbij is in eerste instantie uitgegaan van het kwantitatieve belang van de soorten voor een bepaalde functie. Daarnaast is gekeken of er voldoende gegevens voorhanden waren om een richtlijn op te stellen.

Producenten

Bij de producenten is er discussie mogelijk over de indeling van de milieucompartimenten. Voor de keuze van de toetssoort is dit echter niet van belang. Voor het terrestrisch milieu zijn hogere planten de belangrijkste primaire producenten, zodat de veldtoets hiermee wordt uitgevoerd. In het aquatisch milieu zijn algen de belangrijkste primaire producenten, zodat de keuze op deze groep valt.

	terrestrisch		*aquatisch*	
	in/op bodem	vegetatie	in/op bodem	waterkolom
producenten	**hogere plant**	n.v.t	n.v.t	**alg** hogere plant
consumenten	aaltje naaktslak mijt spin **loopkever** **vogel** *muis/mol*	slak spin/mijt **honingbij** **vogel**	**slak**	**slak** **watervlo** watermijt kever/wants **stekelbaars** kikkervis
decomposers	mycorrhiza bacteriën aaltje **regenworm** pissebed springstaart	n.v.t.	bacteriën tubifex waterpissebed **muggelarve**	n.v.t

Tabel 3.12 Overzicht van de gekozen toetsorganismen; voor de vet gedrukte soorten is een richtlijn uitgewerkt (zie deel B).

Consumenten

Voor de consumenten is in het terrestrisch milieu gekozen voor vogels, omdat hierbij in één toets zowel de blootstelling via de bodem als via de vegetatie kan worden onderzocht. Bovendien is er al een (Engelse) richtlijn beschikbaar, waarop kan worden voortgebouwd. De keuze voor loopkevers en honingbijen is ook gebaseerd op het feit dat hiervoor reeds richtlijnen bestaan; richtlijnen die kunnen worden aangepast aan de Nederlandse situatie. Daarnaast hebben beide soorten ook een ander dan een biologisch belang: voor loopkevers is veel belangstelling omdat ze vanuit landbouwkundig oogpunt bezien nuttig zijn; honingbijen zijn eveneens nuttig, vanwege de bloembestuiving; daarnaast hebben ze hun eigen economisch belang vanwege de honingproductie.

In het aquatisch milieu wordt gekozen voor de slak, omdat hiermee in één toets zowel de blootstelling via de bodem als via de waterkolom kan worden onderzocht. Daarnaast worden ook veldtoetsen voor watervlooien en vissen uitgewerkt, vanwege hun belangrijke rol in het aquatische ecosysteem en vanwege de directe relaties met laboratorium-toetsen.

Decomposers
In de terrestrische bodem is gekozen voor regenwormen omdat deze kwantitatief een zeer belangrijke rol (kunnen) spelen bij de decompositie, waarmee ze ook vanuit landbouwkundig oogpunt van belang zijn. In de waterbodem zijn muggelarven in het algemeen wat gevoeliger voor bestrijdingsmiddelen dan tubifex. Waterpissebedden zijn in hun voorkomen niet beperkt tot de waterbodem; ten aanzien van bacteriën is vrijwel geen veldonderzoek beschikbaar.

3.3.3 Keuze toetstype

In § 1.5 is aangegeven dat er verschillende toetstypen kunnen worden onderscheiden. De keuze van het type toets hangt in eerste instantie af van het soort organisme dat wordt onderzocht. Voor organismen met een grote ruimtelijke activiteit ligt het minder voor de hand om de effecten in een semi-veldopzet te onderzoeken. Daar staat tegenover dat in een semi-veldonderzoek, vanwege de meer gecontroleerde omstandigheden, het verwachte effect in het algemeen nauwkeuriger kan worden onderzocht. Hier staat weer tegenover dat met name de blootstelling, juist vanwege het kleinere schaalniveau van een semi-veldonderzoek, kan verschillen van de blootstelling in een praktijk situatie. Het type veldtoets hangt daarnaast af van de te meten parameter; sterfte kan waarschijnlijk goed in een semi-veldonderzoek worden bepaald, voor migratie is het duidelijk dat er geen barrière aanwezig mag zijn.

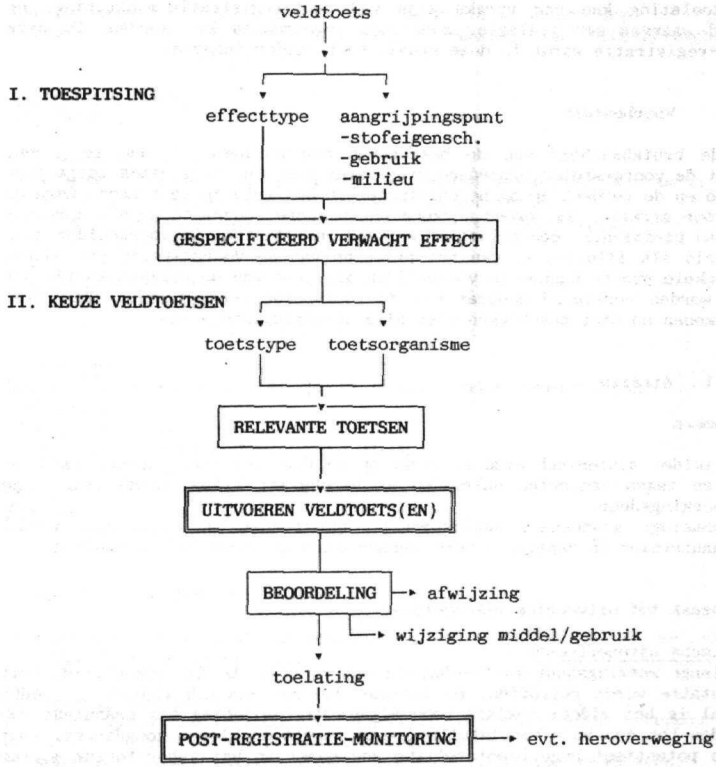
Of er bij het waarnemen van de effecten gebruik moet worden gemaakt van kooien of 'enclosures' hangt verder af van het te onderzoeken organisatie-niveau en van het verwachte effect. Effecten op populaties kunnen in principe met alle methoden worden onderzocht, waarbij de toetsen overigens moeten worden uitgevoerd met organismen die representatief of indicatief zijn voor de in praktijk blootgestelde niet-doelwit populaties. Bij effecten op levensgemeenschaps- en ecosysteem-niveau komen kooistudies nauwelijks in aanmerking.

Bij directe toxische effecten kan met kooistudies en 'enclosures' worden volstaan; bij indirecte toxische effecten (doorvergiftiging) is, mede met het oog op de blootstelling, een veldonderzoek s.s. noodzakelijk. Ook voor ecologische effecten is een veldonderzoek s.s. vereist.

3.4 Overzicht van de voorgestelde selectiemethode

In de voorgaande paragrafen zijn de vier stappen van het selecteren van de voor bepaalde situaties meest geschikte veldtoetsen uitgewerkt:
- bepaling risico-grootte of onzekerheid
- toespitsing op te verwachten effect
- keuze van het toetsorganisme
- de keuze voor één of meer veldtoetstypen.

Deze stappen omvatten nog niet de uitvoering van de veldtoets en de beoordeling van de resultaten ervan. Ze zijn uitsluitend gebaseerd op gegevens over het middel die bekend zijn op basis van laboratoriumtoetsen, en op aanwijzingen, zoals afgeleid van het gebruik waarvoor de toelating wordt aangevraagd.



Figuur 3.2 *Voorgestelde selectiemethode veldtoetsen.*

In figuur 3.1 is de globale opzet van deze procedure weergegeven. Op grond van het in § 3.1-3 besprokene is nu een nadere invulling van deze figuur mogelijk. De procedure begint met de laboratorium-toetsen en de gebruiksgegevens. Wanneer bij de beoordeling blijkt dat er alleen een verwaarloosbaar risico of juist een (zeer) groot risico aanwezig is, is geen veldtoets vereist. In alle andere gevallen wordt in de voorgestelde opzet automatisch de selectieprocedure doorlopen. In figuur 3.2 staat deze samengevat weergegeven. De procedure wordt zowel voor toxische als ecologische neveneffecten doorlopen. In de procedure worden de stappen I en II doorlopen, waarbij het verwachte effect wordt gespecificeerd en één of meer bijpassende veldtoetsen worden gekozen. De procedure zoals beschreven in dit hoofdstuk is dan ten einde; de volgende stap is het uitvoeren van de veldtoets(en) en het beoordelen van de resultaten ervan, waarna toelating, afwijzing of heroverweging op grond van aanbevolen wijzigingen van het middel of de gebruiksvoorschriften kan volgen.

Na toelating kan nog sprake zijn van post-registratie-monitoring, op grond waarvan een toelating eventueel ingetrokken kan worden. Op deze post-registratie wordt in deze studie niet verder ingegaan.

3.5 Voorbeelden

Om de bruikbaarheid van de beschreven benaderingswijze aan te geven, wordt de voorgestelde procedure uitgewerkt door van twee reeds toegelaten middelen de verdenking op neveneffecten in het veld op te sporen. Gekozen is voor atrazin, een breed werkend en op grote schaal toegepast herbicide, en pirimicarb, een selectief werkend insecticide. De voorbeelden zijn bedoeld als illustratie van het principe van de voorgestelde procedure. Op enkele punten kunnen de voorbeelden afwijken van de werkelijkheid. Dit kan worden verklaard doordat wij de voorspelde concentratie (PEC) niet berekenen en niet beschikken over alle toxiciteitsgegevens.

3.5.1 Atrazin

Algemeen

Herbicide: systemisch middel, werkt op de fotosynthese; gebruik aanbevolen tegen eenjarige onkruiden en kweekgras; middel heeft een lange werkingsduur.
Toepassing: granulaat, spuitkorrels, spuitpoeder en vloeibaar; middel aanbevolen in asperges, maïs, akkerranden en onbeteelde terreinen.

Noodzaak tot uitvoering veldtoetsen

Toxische neveneffecten
De lange werkingsduur kan leiden tot een zo hoge PEC dat ook niet-doelwit vegetatie wordt getroffen; er bestaat dan een toxisch risico. In ieder geval is het middel toxisch voor algen. De toediening als granulaat kan leiden tot een hoge blootstelling voor vogels en kleine zoogdieren. Voor deze potentieel hoge blootstelling zou eerst in het laboratorium moeten worden onderzocht of het middel toxisch is. Wanneer dit het geval blijkt te zijn kan, afhankelijk van de toxiciteitsklasse, een veldtoets vereist zijn.

Ecologische neveneffecten
De brede werking en de grote schaal van toepassing (maïs) leiden tot een risico voor het optreden van ecologische neveneffecten. Daarnaast geeft de toepassing op akkerranden een overlap met een bepaald habitat. Voor de toepassing op akkerranden zou dit ertoe kunnen leiden om het gebruik op akkerranden aan sterke beperkingen onderhevig te maken. Op grond van de bovengeschetste, te verwachten neveneffecten, moet er van worden uitgegaan dat het risico zo groot is, dat een veldtoets noodzakelijk is.

Toespitsing van de effecten

Stofeigenschappen
Toxiciteit: algen: toxisch effect op algen
akkerranden: niet-doelwit planten

Persistentie: organismen in de bodem en in de waterbodem
Breedte: effect op habitat en voedsel van vegetatiegebonden organismen

Doelwit organisme
Vegetatie

Toedieningsvorm
Door verschillende formuleringen zowel risico's van oppikken/opeten door niet-doelwit organismen als risico voor verspreiding.
granulaat: - potentieel risico voor vogels en kleine zoogdieren
- sloten
- bodem
spuiten: - sloten
- bodem
- *naburig ecosysteem*

Compartiment
Werking is systemisch; middel moet (via de bodem) worden opgenomen: bodemorganismen.
Slootkantbehandeling:
oever & water -flora -fauna -ecosysteem.

Gebiedstype/ecosysteem
Slootkantecosysteem.
Niet-doelwit akkerflora.

Verwachte toegespitste effecten

Wanneer het voorafgaande in samenhang wordt beschouwd dan worden vooral de volgende effecten verwacht:

Toxische neveneffecten
1. Direct toxisch effect op slootvegetatie: algen en hogere waterplanten
2. Direct toxisch effect op akkerrandvegetatie
3. Eventueel direct toxisch effect op vogels en kleine zoogdieren.

Ecologische neveneffecten
1. Habitat-effect op kruidbewoners
2. Voedsel-effect op vegetatie-afhankelijke fauna.

Veldtoetsen

Het bovenstaande leidt tot de aanbeveling om de volgende toetsen te gebruiken:
- Een algen- of hogere waterplantentoets: omdat het hier een direct toxisch effect betreft, moet een kooiproef in een proefvijver in principe genoeg informatie kunnen verschaffen.
- Een akkerrandvegetatie-toets.
- Voor habitat-effecten kan bijvoorbeeld een toets worden uitgevoerd met loopkevers die aan akkerranden gebonden zijn.
- Voor voedsel-effecten kan worden gedacht aan een toets met slakken; interessant is om te onderzoeken of slakken bijvoorbeeld overschakelen op het gewas in plaats van de oorspronkelijke voedselbron.

3.5.2 Pirimicarb

Algemeen

Insecticide, cholinesteraseremmer; toegestaan in veel teelten, selectief werkend tegen bladluis; toediening als spuitpoeder en spuitkorrels.

Noodzaak tot uitvoering veldtoetsen

Toxische neveneffecten
Het middel is toxisch voor vogels. Aangezien het middel niet als granulaat wordt toegepast, is het gevaar voor directe vergiftiging gering. Ook de kans op doorvergiftiging is waarschijnlijk beperkt, omdat het middel weinig persistent is. Er is echter wel een kans dat het middel via planten, die door vogels worden gegeten, een toxisch effect heeft. Bestudeerd moet worden wanneer het middel wordt toegediend en of er op dat moment een kans op blootstelling van vogels bestaat. Vervolgens moet worden bezien of het gebruiksvoorschrift kan worden aangepast of dat een veldtoets moet worden uitgevoerd.

Daarnaast is het middel matig toxisch voor bijen en predatoren. Omdat het middel op het gewas wordt toegepast, is een veldtoets gewenst (zie ook: Oomen, 1986). Het middel is weinig toxisch vissen, en het is de vraag in hoeverre de PEC hier aanleiding zou vormen voor het uitvoeren van een veldtoets; waarschijnlijk is dit niet het geval.

Ecologische neveneffecten
Het middel wordt grootschalig tegen luizen gebruikt; het is echter de vraag of het middel zo effectief is dat een effect op luizeneters wordt verwacht. Aan de hand van de deugdelijkheidsgegevens moet worden bezien of er een zo groot percentage van de luizen wordt gedood, dat een ecologisch neveneffect op kan treden.

Toespitsing van de effecten

Stofeigenschappen
Toxiciteit: toxisch voor vogels; matig tot weinig toxisch bijen en predatoren, weinig toxisch voor vissen. Voor aquatische evertebraten en voor regenwormen zijn geen toxiciteitsgegevens beschikbaar.
Mobiliteit: goed in water oplosbaar: risico voor sloten en grondwater.

Doelwit organisme
Insecten.

Toedieningsvorm
Spuitpoeder: risico voor verwaaien in sloten.
Middel tegen luizen toegepast op aanwezig gewas: groot risico voor compartiment gewas, risico voor de bodem waarschijnlijk gering.

Compartiment
Gewas: niet-doelwit vegetatiegebonden fauna.

Gebiedstype/ecosysteem
Fauna op akker of in sloten.

Verwachte toegespitste effecten

De volgende effecten worden onderscheiden:
Toxische effecten op vegetatiegebonden niet-doelwit insecten.
Afhankelijk van PEC toxische effecten op slootinsecten of vissen.

Veldtoetsen

Het voorafgaande leidt tot een aanbeveling om de volgende toetsen uit te voeren:
- Een veldtoets met honingbijen; hoewel het hier gaat om een direct toxisch effect wordt toch aanbevolen om de bijen niet in een kooi te plaatsen. Het is namelijk van belang dat er een reële blootstelling optreedt.
- Eventueel moet een veldtoets met aquatische insecten of vissen worden uitgevoerd, afhankelijk van de geschatte blootstelling.
- Een veldtoets naar de ecologische voedseleffecten kan worden uitgevoerd met predatore kevers of met spinnen; de noodzaak is afhankelijk van het percentage gedode luizen.

3.6 Discussie

In dit hoofdstuk is een procedure ontworpen die tot doel heeft de noodzaak voor de uitvoering van een veldtoets te beoordelen en vervolgens, op grond van de beschikbare gegevens, een geschikte veldtoets te selecteren. Het betreft hierbij een veldtoets gericht op de ecotoxicologische effecten voor niet-doelwit organismen. De beoordeling van een eventuele toelating van het middel zal altijd in samenhang met andere criteria moeten plaatsvinden.

Om de noodzaak voor de uitvoering van een veldtoets te beoordelen worden twee ingangen gebruikt, namelijk de toxische en de ecologische neveneffecten. Om de toxische neveneffecten te beoordelen wordt gebruik gemaakt van gangbare criteria zoals toxiciteitsgegevens, gebruiksgegevens en blootstellingsgegevens (PEC). Deze vorm van beoordelen vertoont veel overeenkomsten met de huidige beoordeling van een middel, zoals die door de CTB plaatsvindt en ook internationaal wordt toegepast.

De beoordeling van de ecologische neveneffecten is tot nu toe niet gebruikelijk. De criteria schaal van gebruik en de breedte van het werkingsspectrum worden hiervoor relevant geacht. Immers, het uitschakelen van voedsel voor veel soorten op grote schaal is van groot belang voor bijvoorbeeld soorten op een hoger trofisch niveau. Ook de effectiviteit van een middel is hierbij van belang. Echter, als de effectiviteit als een op zichzelfstaand criterium zou worden gebruikt, zou dit haaks staan op het doel van het middel, want een middel wordt pas toegelaten, nadat het deugdelijk is gebleken. Toch kan gesteld worden dat het uitroeien van bijvoorbeeld alle luizen op alle percelen in een polder niet gewenst is, wanneer gelet wordt op de overleving van luizenpredatoren in dat gebied. Interessant is bovendien in hoeverre ook de algemene milieu-

kwaliteit van het agrarisch gebied in gevaar komt, als gedacht wordt aan het overleven van 95% van de soorten in dit gebied. Er wordt daarom steeds een koppeling gemaakt tussen de effectiviteit en schaalgebruik of *breedte van het werkingsspectrum. Het is geen zelfstandig criterium.*

Voor de invulling van de gehanteerde criteria schaal van gebruik, werkingsspectrum en effectiviteit met getalswaarden zijn in de literatuur geen aanknopingspunten gevonden. De nu gebruikte maten zijn gebaseerd op de gedachte dat het effect minstens op populatieniveau moet zijn terug te vinden. Bij bepaalde soorten (bedreigd/beschermd) kunnen echter andere keuzen worden gemaakt. De gekozen waarden staan echter nog ter discussie en zullen in de toekomst nader moeten worden onderbouwd.

Op grond van de eigenschappen van het middel, het gebruik en het "ontvangend milieu" wordt vervolgens een verdenking gekoppeld aan de effecten op bepaalde organismengroepen, verdeeld over vier milieucompartimenten. Hierbij is geprobeerd zo volledig mogelijk te zijn, voor wat betreft de soortengroepen en de milieucompartimenten. Voor ieder van deze organismengroepen moet in principe een veldtoets worden ontwikkeld. Vooralsnog is er door ons echter een keuze gemaakt die gebaseerd is op ecologische relevantie. Het is echter duidelijk dat dit één keuze is, er zijn ook andere keuzes denkbaar.

Uit de voorbeelden blijkt dat de voorgestelde procedure leidt tot een beperkt aantal veldtoetsen voor een bepaald middel. In het geval van een selectief middel wordt een veldtoets gewenst geacht voor direct blootgestelde *en verwante organismen en eventueel voor een soort waarvoor* het middel (ondanks de selectiviteit) toxisch blijkt te zijn. Voor een veel minder selectief middel blijkt dat er meer veldtoetsen noodzakelijk blijken.

4. RICHTLIJNEN VOOR VELDTOETSEN

In hoofdstuk 3 is een methode uitgewerkt om de te verwachten effecten zo nauwkeurig mogelijk te omschrijven en is een keuze gemaakt voor organismen(-groepen) waarmee veldtoetsen uitgevoerd zouden moeten worden. In dit hoofdstuk wordt uiteengezet met welke methoden en uitgangspunten de toetsen worden ingevuld, te weten in de vorm van zo concreet mogelijke richtlijnen. De eigenlijke voorstellen voor richtlijnen worden gepresenteerd in deel B van dit rapport. In § 4.1 worden een aantal algemene uitgangspunten uiteengezet, die zijn gebruikt bij het opstellen van de richtlijnen. In § 4.2 wordt ingegaan op de concrete opzet van de richtlijnen en op de hierbij gehanteerde specifieke uitgangspunten. In § 4.3 wordt ingegaan op de kosten van het uitvoeren van veldtoetsen. Het hoofdstuk wordt met een discussie afgesloten (§ 4.4).

Zoals in hoofdstuk 3 is aangegeven moet aan de hand van de uitkomsten verkregen uit een veldtoets een uitspraak kunnen worden gedaan over het al dan niet aanwezig zijn van een risico. Op basis van deze uitkomsten wordt over de toelating van het middel een aanbeveling gedaan. Bij de beoordeling van de uitkomsten kunnen twee aspecten worden onderscheiden. In de eerste plaats de technische aspecten. Hierbij richt de aandacht zich o.a. op de uitvoering van de toets en de statistische bewerking van de resultaten. Deze punten komen aan de orde in § 4.2.4. In de tweede plaats vindt er een maatschappelijke beoordeling plaats, waarbij bijvoorbeeld de afweging met andere eigenschappen van een middel en met andere middelen aan de orde komt; voor dit tweede aspect wordt verwezen naar Canters et al. (1989).

4.1 Algemene uitgangspunten

Bij het opstellen van de richtlijnen zijn drie uitgangspunten gehanteerd:

1 Zoveel mogelijk aansluiting bij bestaande richtlijnen; zeker als deze richtlijnen ook in Nederland al worden nagevolgd en blijken te voldoen, is het niet zinvol om sterk van deze richtlijnen af te wijken; de richtlijnen zijn immers in het algemeen het resultaat van intensief (internationaal) deskundigen-overleg.
2 De methoden zoveel mogelijk overnemen van veldonderzoek dat reeds met succes is uitgevoerd (met succes wil hier zeggen dat er binnen een statistisch acceptabele marge een uitspraak kon worden gedaan over het optreden van neveneffecten van bestrijdingsmiddelen); literatuur over onderzoek in de tropen, over niet in Nederland geteelde gewassen en over niet in Nederland voorkomende organismen is alleen gebruikt als er voor Nederland bruikbare methoden in zijn beschreven.
3 De veldtoetsen moeten aan kunnen tonen of het NOEL van de onderzochte niet-doelwit organismen wordt overschreden door het gebruik van het te toetsen middel.

De te ontwerpen richtlijnen moeten daarnaast ook aan een aantal algemene eisen voldoen, die - hoewel ze triviaal lijken - hieronder voor de volledigheid toch worden genoemd, omdat ze gevolgen hebben voor de opzet van de veldtoetsen. Allereerst moeten de toetsen ondubbelzinnige resultaten opleveren, dat wil zeggen het moet duidelijk zijn of een waargenomen effect aan het gebruik van een bestrijdingsmiddel kan worden geweten. Dit stelt eisen aan de opzet; een controle (blanco of positief) is bijvoor-

beeld noodzakelijk. De opzet (aantal organismen, aantal replica's) moet ook zodanig zijn dat (de verschillen in) effecten met een acceptabele betrouwbaarheid kunnen worden waargenomen. Verder moet de invloed van andere factoren of combinatie-effecten zoveel mogelijk worden uitgesloten. Bovendien moeten de veldtoetsen uitspraken doen over een veldsituatie waar het betreffende bestrijdingsmiddel ook in de praktijk wordt of mogelijk zal worden gebruikt. Dit betekent dat een te behandelen gewas aanwezig moet zijn en een praktijk-dosering en toedieningsmethode moet worden gebruikt.

4.2 Specifieke uitgangspunten

Voor de structuur van de richtlijnen is aangesloten bij de structuur van de bestaande richtlijnen voor het deugdelijkheidsonderzoek (PD, z.j.). Dit betekent dat de richtlijnen de volgende opbouw hebben: 1. Proefvoorwaarden, 2. Toediening van de middelen en 3. Waarnemingen. Hieraan is een onderdeel toegevoegd, naar analogie van de NEN voorschriften: 4. Voorwaarden voor geldigheid. Voordat een richtlijn wordt gepresenteerd zal de keuze voor een bepaalde richtlijn en de elementen daaruit steeds volgens dezelfde volgorde worden besproken. Dit gedeelte wordt bovendien altijd voorafgegaan door een meer algemene paragraaf. Na de richtlijn zelf komen ook de kosten voor uitvoering expliciet aan de orde. De richtlijnen worden (voor dit rapport) steeds gevolgd door samenvattingen van bestaande richtlijnen (appendix 1) en samenvattingen van de meest relevant geachte literatuur (appendix 2). Een voorgestelde richtlijn wordt afgesloten met literatuurreferenties.

4.2.1 Proefvoorwaarden

Gewas
Bij de keuze van het proefgewas wordt gekozen voor het gewas waarvoor de hoogste dosis wordt voorgeschreven en/of waarbij de hoogste blootstelling te verwachten is. In de praktijk betekent dit dat het gewas gekozen wordt waarvoor de hoogste PEC is berekend. Voor het terrestrisch en het aquatisch milieu is dit overigens niet automatisch hetzelfde gewas.

Soorten
Het is in een veldtoets van groot belang om de effecten te bepalen op soorten die in het betreffende gebied voorkomend. Onder deze soorten moeten in ieder geval in Nederland algemeen voorkomende soorten zijn vertegenwoordigd. Daarnaast is het belangrijk om een vergelijking te kunnen maken met de resultaten van de laboratorium-toetsen. Als specifieke toetssoorten worden daarom zoveel mogelijk die soorten gekozen die ook in de laboratorium-toetsen worden gebruikt; voorgesteld wordt om deze soorten in een kooi in het proefveld te brengen.

Voor zoogdieren, vogels en vissen moeten veldtoetsen pas worden uitgevoerd, als op geen enkele andere wijze informatie kan worden verkregen. Deze toetsen spelen zich namelijk af op een groter schaalniveau dan bij evertebraten en bovendien zijn toetsen met deze vertebraten maatschappelijk minder aanvaard. Daar staat tegenover dat in het geval van twijfel beter een veldtoets kan worden uitgevoerd vóór de toelating dan dat ná de toelating neveneffecten blijken op te treden.

Referentie
In alle gevallen moet het proefveld worden vergeleken met een referentie. Deze referentie moet aan dezelfde mechanische behandelingen worden blootgesteld. Zo moet de referentie worden bespoten met een op de gebruikte formulering lijkende substantie, bijv. water of korrels. Wanneer ecologische effecten worden verwacht, kan het noodzakelijk zijn om de toxische en ecologische (neven)effecten te scheiden. In dat geval moet een tweede referentie worden gehanteerd. Op deze referentie moet een middel worden toegepast wat dezelfde bedoelde werking heeft als het te toetsen middel, maar met een veel lagere toxiciteit voor het te toetsen organisme. Bij een herbicide kan op deze manier bijvoorbeeld - door vergelijking van de beide bespoten velden - worden onderzocht of gevonden effecten worden veroorzaakt door een directe toxische werking van het middel of juist niet. Een ecologisch effect kan worden onderzocht door vergelijking met de niet chemisch behandelde referentie.

Positieve controle
Naast een onbehandelde referentie is het vaak ook wenselijk om een positieve controle te hanteren. Dit is een proefveld dat wordt behandeld met een middel met dezelfde bedoelde werking en waarvan met zekerheid bekend is dat het schadelijk is voor het toetsorganisme. Hiermee kan worden vastgesteld of er geen afwijkende omstandigheden zijn, die ervoor zorgen dat er geen effecten optreden. In het geval van zoogdieren, vogels en vissen wordt een positieve controle minder gewenst geacht, en wel om twee redenen: i) veldtoetsen met deze organismen hebben een groter schaalniveau, zodat een groter gebied wordt blootgesteld aan een gevaarlijk middel en ii) het opzettelijk doden van zoogdieren, vogels en vissen wordt maatschappelijk niet aanvaardbaar geacht, getuige de weerstanden die in de maatschappij aanwezig zijn tegen bijvoorbeeld jacht en (de bijeffecten van) ongediertebestrijding.

Toetsduur
De duur van de toets hangt af van het verwachte effect. Om maximaal gebruik te maken van de mogelijkheden die een veldtoets biedt, is het echter gewenst om een veldtoets gedurende minstens één (veld)seizoen vol te houden. Het is dan ook mogelijk om een middel volgens voorschrift meerdere malen toe te dienen. Bovendien kunnen op deze wijze ook eventuele (middel)lange-termijn-effecten worden getraceerd.

4.2.2 Toediening van de middelen

Dosering
Voor alle toetsen wordt voorgesteld om de hoogst voorgeschreven dosis te hanteren. Hiermee treedt bij normaal gebruik in principe immers het grootste risico op. In praktijk zijn er echter verschillende omstandigheden, die kunnen leiden tot (locaal) hogere belastingen, bijvoorbeeld bij overlappende spuitbanen. Daarom wordt tevens voorgeschreven om een proefveld te behandelen met het viervoudige van de maximaal voorgeschreven dosis. Hiermee is dan in ieder geval een 'worst case'-situatie bij de veldtoets betrokken. Op deze wijze wordt ook rekening gehouden met een eventueel - al of niet bewust toegepaste - hogere dosering dan de hoogst voorgeschreven. Daarnaast is de kans dat effecten niet worden gevonden wegens onvoorziene omstandigheden kleiner. Een probleem kan zich voordoen wanneer er bij de maximale dosis géén en bij de viervoudige dosis wèl een effect wordt gevonden. In dit geval is er kennelijk een potentieel

risico, hetgeen zich bij normaal gebruik blijkbaar niet voordoet. Oplossingen hiervoor kunnen wellicht worden gezocht in grotere veiligheidsmarges, bijvoorbeeld te bereiken door het voorschrijven van lagere gebruiksdoseringen. Een onderzoek kan ook worden uitgevoerd met een gradiënt van het te onderzoeken middel, zodat een dosis-effect relatie kan worden opgesteld. Een dergelijk onderzoek vereist echter een andere, uitgebreidere, proefopzet. Een veldtoets in het kader van de toelating van bestrijdingsmiddelen moet een uitspraak doen over het al dan niet optreden van neveneffecten. Daarom wordt bij de standaard-toetsen gekozen voor de maximale en de viervoudige dosis. Wanneer eenmaal een risico aanwezig blijkt te zijn, kan in alle gevallen desgewenst nauwkeuriger onderzoek worden verricht.

Voor het traceren van eventuele effecten op niet-doelwit flora die voorkomen in akkerranden buiten het te bespuiten veld worden dezelfde doseringen toegepast. Wanneer bij deze doseringen een effect wordt gevonden, kan ook een effect worden verwacht op grotere afstand, bijvoorbeeld door verwaaiing van het middel. In dit geval moet ook een proefveld worden behandeld met 1% van de maximale dosis, om een blootstelling op 100 m afstand te simuleren.

Formulering en toedieningswijze

Uit de selectie-procedure (hoofdstuk 3) kan een risico blijken uit het gebruik van een bepaalde formulering of uit de toedieningswijze. De veldtoets moet dus met deze formulering en/of toedieningswijze worden uitgevoerd. Als er voor andere formuleringen en/of toedingswijzen ook een risico aanwezig is moet de veldtoets zich in eerste instantie richten op de situatie waarin het grootste risico wordt verwacht. Eventueel moet er voor andere situatie een aparte toets worden uitgevoerd. Voor blootstelling van organismen buiten het doelwitgebied gaat de aandacht uit naar die situaties waarin de blootstelling het grootst is. Bij regulier gebruik vindt de grootste drift plaats bij de fruitteelt, en moet een toets in deze teelt worden uitgevoerd indien het middel hiervoor wordt aangevraagd.

Daarnaast zijn er een aantal toepassingen waarbij de belasting van sloten en akkerranden tot 100% op kan lopen. Dit is het geval bij behandelingen gericht op slootkanten en sloten. In dit geval behoren de sloten en slootkanten echter tot het doelwitgebied, en is het effect geen neveneffect meer. Een discussie over de wenselijkheid van dergelijke behandelingen moet in een ander kader plaatsvinden. Daarnaast kan een belasting van 100% plaatsvinden bij vliegtuigbespuitingen. Vaak zal in dit geval reeds sprake zijn van een groot risico, zodat een veldtoets niet noodzakelijk is. In het geval van een matig groot risico kan een veldtoets worden uitgevoerd; er wordt echter vooralsnog voor gekozen om de veldtoetsen te richten op het meer reguliere gebruik van bestrijdingsmiddelen.

4.2.3 Waarnemingen

De waarnemingen hangen in eerste instantie af van het verwachte effect. In hoofdstuk 3 is gesteld dat het gaat om aantasting op het niveau van populaties. Dit betekent dat in ieder geval het aantalsverloop moet worden gevolgd. Daarnaast is het zinvol om, indien mogelijk, de sterfte van organismen waar te nemen; hierdoor kunnen korte-termijn-effecten worden getraceerd. In het geval van ecologische effecten gaat het er

eveneens om het verloop in populaties waar te nemen. In principe kunnen hier dus dezelfde waarnemingen worden gedaan. Directe sterfte wordt in dit geval niet verwacht; daarentegen kan nu bijvoorbeeld migratie een rol spelen.

Bij een veldtoets is het steeds van belang om te weten of de toetsorganismen ook werkelijk worden blootgesteld. Een positieve controle geeft hierover al belangrijke informatie. Het lijkt echter zinvol om ook steeds de gehalten aan bestrijdingsmiddelen in het blootgestelde milieucompartiment en in de onderzochte organismen te meten. Causale verbanden kunnen hiermee worden beargumenteerd.

4.2.4 Voorwaarden voor geldigheid

In de Verenigde Staten heeft de EPA standaard-evaluatie-procedures (SEP) opgesteld voor de toetsresultaten. Er bestaat in principe een afzonderlijke SEP voor elke toets. Deze procedures stellen in detail vragen over de uitvoering van de toets. Wanneer er een gedetailleerde richtlijn beschikbaar is betekent dit dat een dergelijke evaluatie sterk op deze richtlijn lijkt, maar nu in vragende vorm is opgesteld. Gezien het detailniveau van de voorgestelde richtlijnen lijkt een dergelijke evaluatie minder zinvol.

Er is volgens ons wel een aantal punten te onderscheiden, dat bij de evaluatie van de toetsresultaten van belang is; het betreft de volgende aspecten:

De statistisch significantie
De gevonden verschillen moeten met een 90% eenzijdige zekerheid zijn aangetoond. Een dergelijke voorwaarden stelt hoge eisen aan de proefopzet. In een aantal gevallen zal het noodzakelijk blijken te zijn om vooraf bijvoorbeeld de abundantie van een bepaald organisme in het veld te bepalen. Aan de hand van dat voorkomen kan het aantal steekproeven worden bepaald dat noodzakelijk is voor het verkrijgen van een statistisch toetsbaar resultaat. Hierbij is het ook van belang welke verschillen moeten worden aangetoond. Er wordt hier vanuit gegaan dat een overschrijding van het NOEL met 10% moet kunnen worden aangetoond.

Effecten in de blanco controle
In laboratorium-toetsen mag de sterfte in de blanco niet groter zijn dan 10%. In het veld zal dit getal afhangen van de natuurlijke sterfte. Deze natuurlijke sterfte kan bijvoorbeeld worden bepaald door het plaatsen van het laboratorium-organisme in een onbehandeld veld. De sterfte van dit organisme zou dan de standaard kunnen vormen voor de sterfte in de blanco in het veld. Een aantal malen wordt in de literatuur een sterfte in het veld van 15% in de blanco acceptabel genoemd (bijv. EPPO, 1986).

Effecten in de positieve controle
In de positieve controle moet, in aansluiting bij de laboratoriumtoetsen 80-100% effect worden gevonden. Dit effect kan sterfte zijn of een ander verwacht effect.

4.3 Kosten

Per voorgestelde richtlijn is een zeer globale schatting gemaakt van de uitvoeringskosten. Bij het maken van deze kostenramingen is steeds de volgende benadering gehanteerd. Per veldtoets is steeds uitgegaan van de integrale uitvoering van de voorgestelde richtlijn. Bij het maken van een schatting is dus geen rekening gehouden met de mogelijkheid van het in combinatie uitvoeren van bepaalde toetsen en ook niet met de mogelijkheid van het slechts ten dele uitvoeren van een richtlijn, bij voorbeeld alleen met van nature voorkomende individuen of alleen met kooiproeven.

Ter bepaling van de omvang van de werkzaamheden voor de uitvoering van de integrale veldproef worden de volgende aspecten gescoord:

A *gebruikte soorten:*
- e = expliciet genoemde soort
- l = wilde flora/fauna èn ter plaatse voorkomend
- n = niet-inheemse flora/fauna maar wel bestand tegen (a)biotische condities in Nederland
- w = wilde flora/fauna

B aspect van organisme waarop toets in het bijzonder is gericht:
- a = aantallen
- b = biomassa of productie/groei
- c = conditie, inclusief eventuele misvormingen
- g = gedrag
- po = populatie-parameters
- r = reproductie
- s = soortensamenstelling
- ▪ = kadaveronderzoek

C type proef:
- v = veldonderzoek sensu stricto
- k = met kooi(en) en/of 'enclosure(s)'

D dosering (in vorm van formulering):
- hp = één maal hoogste praktijkdosering
- 4hp = vier maal hoogste praktijkdosering

E blanco / vergelijkingsmateriaal:
- b = experiment samen met blanco/placebo-situatie
- g = experiment samen met erkend giftig middel

F aantal malen uit te voeren:
- 1 = in enkelvoud
- 2 = in tweevoud (= in duplo)
- 4 = in viervoud

G/H aantal monsters per bemonstering/bemonsteringen gedurende gehele veldproef

De kostenraming omvat de volgende onderdelen:
1. kosten materiaal (toetsorganismen, proefvelden, veldapparatuur enz.)
2. bemonsteren (a)biotische parameters (incl. toetsorganismen)
3. meten gewenste parameters (abiotisch en biotisch)
4. verwerken en interpreteren van gegevens
5. invullen van het veldtoetsformulier.

Voor deze vijf onderdelen is steeds het aantal netto-werkdagen aangegeven, inclusief de bijkomende materiaalkosten. Om de gedachten omtrent de uiteindelijke kosten te bepalen is voor de kosten van één netto-werkdag uitgegaan van een gemiddeld bedrag van f 750. Gemiddeld, aangezien sommige werkzaamheden door een analist (MBO/HBO) kunnen worden uitgevoerd en andere werkzaamheden door een (junior-)academicus. BTW en overheadkosten zijn niet begroot, aangezien niet duidelijk is: i) welke onderdelen BTW-plichtig zijn (en tegen welk tarief) en ii) de overhead-kosten niet tot de uitvoering van de eigenlijke veldtoets worden gerekend.

De noodzakelijke laboratorium-apparatuur, met name voor het uitvoeren van concentratiemetingen, is als een p.m.-post opgenomen; met betrekking tot deze kosten wordt er vanuit gegaan dat er gebruik gemaakt kan worden van reeds beschikbare apparatuur. De p.m.-post geeft aan dat voor het gebruik dat van de apparatuur wordt gemaakt echter wel een afschrijvingsbedrag moet worden gehanteerd. De hoogte hiervan is door ons niet aangegeven, aangezien hier een sterk arbitrair element in zit.

In tabel 4.1 staan de zeer globaal geschatte netto-kosten per veldtoets weergegeven. Uit de tabel blijkt dat de kosten sterk uiteenlopen, maar de grootte-orde is steeds 1 à 2 ton per veldtoets.

	netto-kosten uitvoering veldtoets
hogere planten	f 80.000
regenwormen	175.000
loopkevers	95.000
honingbijen	100.000
vogels	100.000
algen	195.000
muggelarven	220.000
waterslakken	120.000
watervlooien	220.000
vissen	85.000

Tabel 4.1 Overzicht van de kosten van de voorgestelde veldtoetsen op basis van een zeer globale schatting en afgerond op bedragen van f 5.000.

4.4 Discussie

Bij het opstellen van de uitgangspunten voor de richtlijnen is een aantal keuzen gemaakt. Er is hierbij uitgegaan van een opzet waarbij de kans, dat optredende effecten ook daadwerkelijk worden aangetoond, zo groot mogelijk is. Eén en ander betekent wel dat de invulling van een aantal parameters is opengelaten. Een nadere invulling hangt af van de gekozen onzekerheidsmarges enerzijds en bijvoorbeeld de dichtheid van de organismen in veld anderzijds.

Bij de uitvoering van een veldtoets zou een conflict kunnen ontstaan tussen een praktisch uitvoerbare toets en een toets die aan de uitgangspunten voldoet. Een toets die met de voorgestelde onzekerheidsmarges een uitspraak doet zou te omvangrijk (= te kostbaar) kunnen worden. Een toets met een beperkte omvang kan echter leiden tot grotere onzekerheidsmarges. Een oplossing kan worden gevonden in een toespitsing op een 'worst case'-situatie. Door het toedienen van een hogere dosis kan de proefopzet beperkt worden. Wanneer dan geen effecten worden aangetoond, mag worden aangenomen dat er ook bij de praktijk-dosering geen effecten optreden. Wanneer echter wel effecten worden gevonden, zal de interpretatie naar de praktijkdosering zeer zorgvuldig moeten zijn.

De in deel B gepresenteerde voorstellen voor richtlijnen richten zich vooralsnog op het toetsen van de effecten van één nieuw middel op één organismen(groep) ten behoeve van een eventuele toelating. De richtlijnen zouden voor wat betreft deze drie aspecten kunnen worden uitgebreid. De effecten van meer middelen tegelijk kunnen in principe met dezelfde toetsen worden onderzocht. Hiervoor zijn verschillende invullingen voorstelbaar. Er kan worden gedacht aan het vervangen van een oud middel door een nieuw middel in een bestaand praktijk-gebruik, inclusief het gebruik van andere middelen. Daarnaast is het voorstelbaar dat er een verdenking bestaat voor combinatie toxiciteit of een synergistisch effect; in dat geval kunnen de betreffende middelen gezamelijk worden getoetst.

De effecten op meerdere organismengroepen kunnen worden onderzocht door verschillende toetsen of elementen uit verschillende toetsen te combineren. Voor het monitoren van effecten na de toelating moet de proefopzet zeker worden aangepast. Wel kunnen dezelfde waarnemingsmethoden worden gebruikt om de effecten te onderzoeken.

Voordat de voorgestelde richtlijnen ook daadwerkelijk kunnen gaan functioneren zullen ze in de praktijk moeten worden gevalideerd. Aangezien er voor het aquatisch milieu geen richtlijnen bestaan is het gewenst om aan een ontwikkeling van deze veldtoetsen de prioriteit te geven. Hierbij wordt de voorkeur gegeven aan een ontwikkeling van veldtoetsen met algen, watervlooien en vissen, met name vanwege de aansluiting op de reeds bestaande laboratorium-toetsen. Deze toetsing moet bij voorkeur gecombineerd plaatsvinden. Voor muggelarven en vooral slakken is minder bekend; het ligt echter voor de hand om bij een toetsing van de richtlijnen in het aquatische milieu de muggelarven en slakken gelijktijdig te onderzoeken.

Voor het terrestrisch milieu bestaan er wel een aantal richtlijnen. Een richtlijn voor regenwormen wordt op dit moment in West-Duitsland ontwikkeld. De hier voorgestelde richtlijn wijkt hiervan weliswaar op enkele

punten af, maar waarschijnlijk levert de validatie in West-Duitsland zoveel gegevens op dat een validatie van de door ons opgestelde richtlijn niet noodzakelijk is. Ook voor honingbijen is reeds een richtlijn van kracht; ook hier lijkt extra validatie van de voorgestelde richtlijn niet strikt noodzakelijk. Voor de bestaande richtlijnen met loopkevers en met name met vogels geldt dat het veel minder duidelijk is in hoeverre deze ook daadwerkelijk in het veld zijn getoetst. Een toetsing zou hier dus uitgebreider moeten plaatsvinden. Voor hogere planten geldt dat hiervoor - buiten het doelwit gebied - geen richtlijnen bestaan. Prioriteit kan worden gegeven aan het valideren van de richtlijnen loopkevers, vogels en hogere planten. Anderzijds zou ook kunnen worden gekozen voor het definitief maken van de richtlijnen voor honingbijen en regenwormen, vanwege de relatief geringe extra inspanning. Het valideren van de regenwormentoets zou gecombineerd kunnen worden met het valideren van de loopkevertoets, omdat het in beide gevallen gaat om een blootstelling van de bodem.

5. CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

5.1 Conclusies

In hoofdstuk 1 zijn voor dit onderzoek de volgende doelstellingen geformuleerd:

I. Aangeven wat de rol en de plaats van de veldtoetsen kan zijn bij de toelating van bestrijdingsmiddelen in Nederland.
II. Het ontwikkelen van een raamwerk om veldtoetsen te selecteren voor het opsporen van neveneffecten van een bestrijdingsmiddel.
III. Het ontwikkelen van veldtoetsrichtlijnen.

Per doelstelling wordt in het onderstaande de belangrijkste conclusies uit het onderzoek samengevat weergegeven. Voor meer detail-informatie wordt verwezen naar de discussie-paragrafen bij de afzonderlijke hoofdstukken.

I Mogelijke rol en plaats van de veldtoetsen in Nederland (hoofdstuk 2)

1 De Nederlandse toelatingsprocedure
De Nederlandse toelatingsprocedure is vrijwel geheel gebaseerd op laboratorium-onderzoek. Veldonderzoek speelt in dit kader een ondergeschikte rol. Het is, met uitzondering voor honingbijen, niet standaard verplicht en richtlijnen voor de uitvoering zijn nauwelijks voorhanden. Het grootste deel van het onderzoek dat op dit moment wordt uitgevoerd, richt zich op de verbreding van laboratorium-onderzoek (meer toetssoorten) of op de verbetering van de extrapolatie van laboratorium naar veld.

2 Veldonderzoek internationaal
Internationaal gezien, zowel op het niveau van afzonderlijke nationale overheden als bij een aantal internationale organisaties, wordt aan veldonderzoek meer aandacht besteed dan in Nederland.

3 Veldtoetsen in buitenlandse procedures
In het buitenland worden veldtoetsen binnen de toelatingsprocedures vooral gebruikt om, voordat een middel op de markt wordt toegelaten, aanvullende gegevens te verkrijgen. Het laboratorium-onderzoek is dan reeds verricht. Indien er na deze toetsing nog twijfels bestaan wordt overgegaan tot 'semi'-veld of veldonderzoek. De veldtoets vormt in dat geval een expliciet onderdeel van een stapsgewijze toelatingsprocedure. Daarnaast worden veldtoetsen gebruikt om, nadat een middel op de markt is toegelaten, in het kader van de post-registratie de neveneffecten in de praktijk te onderzoeken - althans zo wordt vaak op papier aangegeven. Bij het signaleren van grote of tot dan toe onbekende neveneffecten kunnen maatregelen worden genomen.

4 Veldtoetsen in de Nederlandse procedure
Voor Nederland zou een duidelijker omschreven plaats van de veldtoets in de toelatingsprocedure gewenst zijn. Hierbij zou moeten gelden dat uitvoering van een veldtoets alleen plaatsvindt als er op grond van de reeds uitgevoerde laboratorium-toetsen hiertoe aanleiding is, dan wel vermoedens bestaan voor ecologische risico's. De criteria om tot

uitvoering van veldonderzoek over te gaan moeten zo veel mogelijk expliciet worden onderbouwd (zie hoofdstuk 3). Daarnaast kunnen de veldtoetsen ook in Nederland worden gebruikt in het kader van de postregistratie en ter bepaling van de algemene milieukwaliteit.

5 ***Criteria voor veldtoetsen***
De criteria om tijdens de toelatingsprocedure van de ene fase naar de volgende te gaan zijn bij de meeste van de onderzochte toelatingsprocedures slechts globaal aangegeven en hebben alleen betrekking op toxische neveneffecten.

6 **Bestaande richtlijnen**
Het blijkt dat er internationaal gezien een redelijk aantal veldtoetsen beschikbaar is. Vooral toetsen met honingbijen, nuttige insecten en regenwormen worden vaak als mogelijkheid genoemd. Hiervoor is inmiddels een aantal richtlijnen beschikbaar gekomen. Ook voor toetsen met vogels zijn richtlijnen beschikbaar. Andere organismengroepen zoals planten, aquatische organismen en zoogdieren, krijgen echter minder aandacht.

7 ***Resultaten uitgevoerde veldtoetsen***
Hoewel er verschillende veldtoetsprotocollen bestaan, is het niet duidelijk in hoeverre deze toetsen ook daadwerkelijk worden uitgevoerd. Resultaten van dergelijke studies zijn in ieder geval nauwelijks beschikbaar.

8 **Analyse terrestrisch veldonderzoek**
Uit een analyse van veldonderzoek, dat buiten het kader van de toelating is uitgevoerd, blijkt dat er in vergelijking met het terrestrisch milieu weinig onderzoek in het aquatisch milieu heeft plaatsgevonden. Het onderzoek in het terrestrisch milieu concentreert zich rond nuttige organismen (insecten en spinachtigen), regenwormen, vogels en zoogdieren. Weinig onderzoek is uitgevoerd naar de neveneffecten in het veld op (terrestrische) weekdieren (o.a. slakken), kreeftachtigen (o.a. pissebedden), amfibieën en reptielen. Het betreft hier veelal veldonderzoek sensu stricto, waarbij hoofdzakelijk wordt gekeken naar de direct toxische effecten. Onderzoek naar ecologische effecten is veel minder vaak uitgevoerd.

9 **Analyse aquatisch veldonderzoek**
In het aquatisch milieu zijn de meeste studies gericht op insecten, weekdieren, kreeftachtigen en vissen. Dit onderzoek wordt, behalve in de vorm van veldonderzoek s.s., vaak in proefsloten uitgevoerd. Ook in het aquatisch milieu gaat verreweg de meeste aandacht uit naar de direct toxische effecten van de bestrijdingsmiddelen.

10 ***Opstellen richtlijnen***
Bij een vergelijking tussen de bestaande toetsprotocollen en het "algemene" veldonderzoek is het opvallend dat het veldonderzoek aan aquatische organismen niet heeft geresulteerd in een groot aantal veldtoetsrichtlijnen. Het moet echter, op basis van de gegevens uit het "algemene" onderzoek, mogelijk zijn hiertoe voorstellen te doen. Hiervan kan ook voor terrestrische organismengroepen gebruik worden gemaakt (zie hoofdstuk 4).

11 Standaard-richtlijnen

Er wordt op dit moment op verschillende plaatsen discussie gevoerd over de mate waarin de inhoudelijke opzet van veldtoetsen via strikte voorschriften moet worden vastgelegd. Enerzijds wordt gesteld dat de variatie in milieufactoren en toepassingsmethoden geen standaard-veldtoetsprotocol toelaat, anderzijds wordt gesteld dat een 'case-by-case'-benadering (opzet van het onderzoek in overleg tussen aanvrager en overheid) de standaardisatie van de methoden en de interpretatie en vergelijking van de resultaten in de weg staat. Vooralsnog is door ons bij het opstellen van de veldtoetsrichtlijnen gekozen voor een relatief nauwkeurig omschreven invulling. Hiervoor zijn verschillende redenen aan te voeren. Zo hoeft in Nederland, in vergelijking met bijvoorbeeld Canada of de Verenigde Staten, nauwelijks rekening te worden gehouden met sterk uiteenlopende milieu-omstandigheden, zoals bijvoorbeeld het klimaat. Ook willen wij arbitraire elementen in de toelatingsprocedure zoveel mogelijk uitbannen. Voordeel hiervan is onder meer dat controle door derden op objectieve wijze kan worden uitgevoerd. Wel is het zo dat in afwijkende situaties het veldtoetsprotocol bijgesteld moet kunnen worden. Een standaard-protocol mag ten gevolge van een extreme situatie in geen geval voor de aanvrager een legitimatie vormen om de voorwaarden op te rekken. Overleg tussen aanvrager en overheid zal altijd nodig zijn (waarbij ook een zekere vorm van openbare controle tot de mogelijkheden zou moeten behoren). Echter, de randvoorwaarden zijn, bij acceptatie van de voorgestelde richtlijnen, wel voor een groot deel vastgelegd.

12 Voorgestelde richtlijnen

De voorgestelde richtlijnen (zie deel B) hebben het karakter van 'basis'-richtlijnen, waarop - al naar gelang de specifieke omstandigheden ten aanzien van bijvoorbeeld het middel of de toepassingswijze - aanpassingen mogelijk moeten zijn. Gezien de bovenstaande opmerkingen zal de uitvoering van veldtoetsen, zeker in het begin, zeker geen routinewerk zijn, doch eerder maatwerk.

13 Validatie extrapolatie laboratorium - veld

Overigens kunnen de ervaringen die worden opgedaan met veldtoetsen een belangrijke bijdrage leveren aan de validatie van de, met name in ons land, in ontwikkeling zijnde extrapolatie-technieken.

II Ontwikkeling raamwerk, voor de selectie van een geschikte veldtoets (hoofdstuk 3)

14 Voorgestelde selectie-procedure

Er is een procedure (raamwerk) ontworpen ter bepaling van de noodzaak tot uitvoering van een veldtoets. Vervolgens is ook aangegeven, hoe, op basis van de beschikbare gegevens, de meest geschikte veldtoets kan worden geselecteerd. Het betreft hierbij een veldtoets gericht op de ecotoxicologische effecten voor niet-doelwit organismen. De uiteindelijke beoordeling van een eventuele toelating van het middel zal altijd in samenhang met andere gegevens en criteria moeten plaatsvinden.

15 Beoordeling noodzaak uitvoering veldtoetsen

Om de noodzaak voor de uitvoering van een veldtoets te beoordelen worden twee ingangen gebruikt, namelijk informatie omtrent de toxische

en de ecologische neveneffecten. Om de toxische neveneffecten te beoordelen wordt gebruik gemaakt van een aantal gangbare criteria, zoals toxiciteitsgegevens, gebruiksgegevens en blootstellingsgegevens (PEC). Deze vorm van beoordelen vertoont veel overeenkomsten met de huidige beoordeling van een middel, zoals die door de CTB plaatsvindt en ook internationaal wordt toegepast.

16 Ecologische neveneffecten

De beoordeling van de ecologische neveneffecten is tot nu toe niet gebruikelijk. De criteria schaal van gebruik en breedte van het werkingsspectrum worden hiervoor het meest relevant geacht. Immers, het op grote schaal verdwijnen van voedsel voor veel soorten is van groot belang voor soorten op een hoger trofisch niveau.

17 Effectiviteit als criterium

Ook de effectiviteit van een middel is hierbij van belang. Echter, wanneer de effectiviteit als een op zichzelf staand criterium wordt gebruikt, staat dit haaks op het doel waarvoor een toelating wordt aangevraagd. Een middel wordt immers pas toegelaten nadat het deugdelijk is gebleken. Toch kan gesteld worden dat het uitroeien van bijvoorbeeld alle luizen op alle percelen in een polder niet gewenst is, wanneer gelet wordt op de overleving van luizenpredatoren in dat gebied. Interessant is bovendien in hoeverre ook de algemene milieukwaliteit van het agrarisch gebied in gevaar komt, als gedacht wordt aan het overleven van 95% van de soorten in dit gebied. Er wordt daarom steeds een koppeling gemaakt tussen de effectiviteit en schaal van gebruik of breedte van het werkingsspectrum. Effectiviteit is echter geen zelfstandig te gebruiken criterium.

18 Criteria voor ecologische veldtoetsen

Voor de invulling met getalswaarden van de schaal van gebruik, het werkingsspectrum en effectiviteit zijn in de literatuur geen aanknopingspunten gevonden. De nu gebruikte maten zijn gebaseerd op de gedachte dat het effect minstens op populatieniveau moet zijn terug te vinden. Bij bepaalde soorten (bedreigd/beschermd) kunnen echter andere keuzen worden gemaakt. De voorgestelde klassengrenzen staan echter nog ter discussie en zullen in de toekomst nader moeten worden onderbouwd.

19 Keuze toetsorganismen

Op grond van de eigenschappen van het middel, het gebruik en het "ontvangend milieu" wordt een verdenking gekoppeld aan de effecten op bepaalde organismengroepen, verdeeld over vier milieucompartimenten. Er is geprobeerd om, voor wat betreft de soortengroepen en de milieucompartimenten, zo volledig mogelijk te zijn. Voor ieder van de organismengroepen moet in principe een veldtoets worden ontwikkeld. Vooralsnog is er door ons echter een keuze gemaakt die gebaseerd is op ecologische relevantie; ook andere keuzen zijn denkbaar.

20 Voorbeeld-stoffen

Uit de evaluatie van de voorgestelde afwegingsprocedure aan de hand van de voorbeeldstoffen atrazin en primicarb blijkt dat de selectiemethode voor veldtoetsen duidelijk van elkaar verschillende uitkomsten oplevert. De aanvraag voor de toelating van atrazin zou in het verleden aanleiding hebben gegeven tot veel meer veldtoetsen dan een aanvraag voor pirimicarb.

III Ontwikkelen van veldtoetsrichtlijnen (hoofdstuk 4; zie ook deel B)

21 Keuzen bij opzet richtlijnen

Bij het opstellen van de uitgangspunten voor de richtlijnen is een aantal keuzen gemaakt. Er is uitgegaan van een opzet waarbij de kans dat optredende effecten ook daadwerkelijk worden aangetoond, zo groot mogelijk is. Eén en ander betekent wel dat invulling van een aantal parameters is opengelaten. Een nadere invulling hangt enerzijds af van de gekozen onzekerheidsmarges en anderzijds van bijvoorbeeld de dichtheid van de organismen in veld.

22 Toepassing veldtoetsrichtlijnen

De in deel B gepresenteerde voorstellen voor richtlijnen richten zich vooralsnog op het toetsen van de effecten van één nieuw middel op één (groep) organisme(n) ten behoeve van een eventuele toelating. De effecten van meer middelen tegelijk kunnen in principe met dezelfde toetsen worden onderzocht. Hiervoor zijn verschillende invullingen denkbaar, zoals het vervangen van een oud middel door een nieuw middel in een bestaand praktijk-gebruik, inclusief het gebruik van andere middelen. Daarnaast is het voorstelbaar dat er een verdenking bestaat ten aanzien van combinatie-toxiciteit of een synergistisch effect; in dat geval kunnen de betreffende middelen gezamelijk worden getoetst.

23 Effecten meerdere organismengroepen

De effecten op meerdere organismengroepen kunnen worden onderzocht door verschillende toetsen of elementen uit verschillende toetsen te combineren. Voor het monitoren van effecten na de toelating moet de proefopzet zeker worden aangepast. Wel kunnen dezelfde waarnemingsmethoden worden gebruikt om de effecten te onderzoeken.

24 Validatie aquatische richtlijnen

Voordat de voorgestelde richtlijnen ook daadwerkelijk kunnen gaan functioneren zullen ze in de praktijk moeten worden gevalideerd. Aangezien er voor het aquatisch milieu geen richtlijnen bestaan is het gewenst om aan een ontwikkeling van deze veldtoetsen prioriteit te geven. Hierbij gaat de voorkeur uit naar de ontwikkeling van veldtoetsen met algen, watervlooien en vissen, met name vanwege de aansluiting op de reeds bestaande laboratorium-toetsen. De toetsing met de verschillende organismen moet bij voorkeur gecombineerd plaatsvinden. Over muggelarven en vooral slakken is veel minder bekend; het ligt echter voor de hand om bij een toetsing van de richtlijnen in het aquatische milieu de muggelarven en slakken gelijktijdig te onderzoeken.

25 Validatie terrestrische richtlijnen

Voor het terrestrisch milieu bestaat er wel een aantal richtlijnen. De hier voorgestelde richtlijnen voor regenwormen en honingbijen wijken niet zó sterk van bestaande richtlijnen af dat veldvalidatie strikt noodzakelijk is. Voor de bestaande richtlijnen met loopkevers en met name met vogels geldt dat het veel minder duidelijk is in hoeverre deze ook daadwerkelijk in het veld zijn getoetst. Een toetsing zou hier dus uitgebreider moeten plaatsvinden. Voor hogere planten geldt dat hiervoor - buiten het doelwit gebied - geen richtlijnen bestaan. Prioriteit kan daarom worden gegeven aan het valideren van de richtlijnen loopkevers, vogels en hogere planten.

5.2 Aanbevelingen

In hoofdstuk 3 en 4 van deel A en in deel B staan de voorgestelde afwegingsprocedure en voorgestelde veldtoetsrichtlijnen weergegeven. Het lijkt goed mogelijk om voor de toxische neveneffecten veldtoetsen in te passen in de bestaande procedure. Uit de beoordeling van de resultaten van de laboratorium-toetsen kan blijken dat er een klein, matig groot of (zeer) groot risico bestaat. Veldtoetsen moeten worden uitgevoerd wanneer er een matig groot risico aanwezig is.

Voor de ecologische neveneffecten biedt de huidige procedure te weinig aanknopingspunten. Bij de beoordeling van de noodzaak van veldonderzoek dat is gericht op het opsporen van deze neveneffecten, moeten de aspecten schaal van het gebruik, de werkingsbreedte en de effectiviteit van een middel worden betrokken. Op basis van deze aspecten wordt een schatting van het risico gemaakt, waaruit een uitspraak omtrent de grootte van het ecologisch risico resulteert. Wanneer er een matig groot risico is, moet veldonderzoek naar de ecologische neveneffecten worden uitgevoerd.

Nadere uitwerking, maar vooral het gebruik van de voorstellen, zoals gedaan in hoofdstuk 3 en 4, voor en door het beleid vormen de belangrijkste aanbevelingen van deze studie. Daarnaast komen er uit het onderzoek de volgende concrete aanbevelingen naar voren:

Nederland:

1 De toelatingsprocedure van bestrijdingsmiddelen moet, naar analogie van de situatie in andere landen, meer worden opgezet volgens een getrapt systeem, hierbij moet een duidelijke plaats voor veldtoetsen worden ingeruimd. Dit betekent o.a. dat formulier H moet worden aangepast.

2 Bij een dergelijke procedure moet ook nadrukkelijk de post-registratie worden vermeld en voor de uitvoering ervan moeten concrete aanwijzingen worden gegeven.

3 Ontwikkeling van veldtoetsrichtlijnen zou voor Nederland op dit moment waarschijnlijk goed mogelijk zijn binnen de PCBB. In dit kader worden nu diverse laboratorium-toetsen ontwikkeld. Het ontwerpen van een veldtoetsrichtlijn door de betreffende deskundigen (deskundig op het gebied van de door hen onderzochte organismen) zou wenselijk zijn en mogelijk ook informatie opleveren over de relevantie van de uitvoering van de door hen ontwikkelde toets onder (semi-)veldomstandigheden.

4 Nederland zou een voortrekkersrol kunnen vervullen op het gebied van het ontwikkelen van veldtoetsrichtlijnen voor het aquatisch milieu. Niet alleen is het aquatisch milieu voor ons land van groot belang maar tevens zijn er uitstekende onderzoeksfaciliteiten aanwezig, bijvoorbeeld in de vorm van proefsloten en mesocosmos-situaties en is er veel expertise en 'know how' beschikbaar.

Internationaal:

5 Internationaal gezien is het werkterrein voor (de ontwikkeling en het gebruik van) veldtoetsrichtlijnen verdeeld over verschillende organisaties. De EPPO richt zich op de deugdelijkheid, maar beschikt ook over enkele veldtoetsrichtlijnen voor neveneffecten; de IOBC is vooral

geïnteresseerd in nuttige organismen en dekt daardoor het veldonderzoek ook niet volledig af; de OECD houdt zich tot nu toe alleen met laboratorium-onderzoek bezig in het kader van de neveneffecten, hoewel ze onlangs wel aanbevelingen heeft gedaan voor veldtoetsrichtlijn ontwikkeling. Voorgesteld wordt om door één organisatie, bijvoorbeeld de OECD, al het onderzoek naar neveneffecten te laten coördineren, dus ook het veldonderzoek en het werk dat tot nu toe door de EPPO en de IOBC wordt gedaan.

6 De OECD kan ook de internationale harmonisatie van het onderzoek naar toetsen voor neveneffecten coördineren. Deze harmonisatie komt tot nu toe op slechts langzaam op gang en lijkt op betrekkelijk willekeurige wijze plaats te vinden. Deze willekeur wordt geïllustreerd door het gebonden zijn aan organismengroepen: vertebraten zijn ter sprake gekomen op een eenmalige workshop in Cambridge, voor honingbijen zijn er regelmatig bijeenkomsten (opnieuw in 1990) en de afstemming voor nuttige organismen wordt gedragen door IOBC; aquatische organismen dreigen daarbij bijvoorbeeld buiten de boot te vallen.

7 Zowel de EG, RvE en FAO doen voorstellen voor de opzet van toelatingsprocedures. Hierbij zal, meer dan nu het geval lijkt te zijn, gestreefd moeten worden naar een grotere onderlinge afstemming van de verschillende procedures.

8 Er moet gestreefd worden naar standaardisatie en hoogwaardige kwaliteit van veldmethoden. Hierbij verdient de ontwikkeling van een GFP (= 'Good Field Practice'), naar analogie van het laboratorium met de GLP (= 'Good Laboratory Practice'), meer aandacht.

9 Er moet gestreefd worden naar een intensievere uitwisseling van kennis betreffende veldgegevens (o.a. ook populatie-ontwikkelingen van organismen) en veldtoetsgegevens, zoals dat ook door de OECD (1988) is aanbevolen.

5.3 'Follow up' veldtoetsen

De tien voorgestelde veldtoetsrichtlijnen (zie deel B) vormen één van de belangrijkste uitkomsten van dit onderzoek. Voordat de richtlijnen eventueel in de toelatingsprocedure worden geïntegreerd, is echter een validatie in het veld noodzakelijk. Als deze validatie achterwege blijft kunnen de voorgestelde richtlijnen niet zonder meer bij de toelating worden gebruikt. Een 'follow up' van deze ontwerpende studie is daarom gewenst.

Voor de uitvoering van de validatie van de ontworpen richtlijnen moet zoveel mogelijk gebruik worden gemaakt van de faciliteiten en mogelijkheden van instituten, die op dit gebied de nodige expertise in huis hebben. Hierbij wordt o.a. gedacht aan RIVM, PD, DBW/RIZA, SC, RIN en diverse proefstations.

Onderstaand wordt een voorstel gedaan om de noodzakelijke veldvalidatie van de voorgestelde richtlijnen realiseren.

Aanpak validatie-onderzoek

Voordat kan worden overgegaan tot de daadwerkelijke uitvoering van de veldvalidatie moet eerst een aantal voorbereidingen worden getroffen met betrekking tot enerzijds de organisatorische en anderzijds de inhoudelijke aspecten van de validatie. De organisatorische aspecten betreffen de financiële mogelijkheden en beperkingen van de uitvoering van de validatie, inclusief de inpasbaarheid ervan in de reeds bestaande onderzoekingen of onderzoeksplannen van de instituten. De inhoudelijke aspecten betreffen o.a. de keuze en het gebruik van proefgebieden en de te onderzoeken bestrijdingsmiddelen. De verwachting is dat een goed doordachte *proefopzet kan leiden tot combinatie-experimenten die aanzienlijke kosten* besparingen kunnen opleveren.

Voorgesteld wordt om in 1990 een aantal voorbereidende werkzaamheden uit te voeren voor het verkrijgen van een samenhangend onderzoeksprogramma en het maken van afspraken over de financiering en de uitvoering van dit onderzoeksprogramma. De verwachting is dat dan vervolgens in 1991 met de daadwerkelijke veldvalidatie kan worden begonnen. De tijdsduur van de veldvalidatie is nog niet bekend, wel is reeds nu aan te geven dat het onderzoek c.q. de deelonderzoekingen zeer waarschijnlijk minimaal twee veldseizoenen zullen gaan omvatten; de uiteindelijke duur is afhankelijk van het te toetsen organisme, de reeds beschikbare kennis en het verloop van de validatie zelf.

Hoofddoel validatie en subdoelen voorbereiding

Hoofddoel van de 'follow up' van het onderzoek naar de mogelijkheden van veldtoetsrichtlijnen voor bestrijdingsmiddelen is:

> Nagaan in hoeverre de voorgestelde veldtoetsen in de praktijk uitvoerbaar zijn en hoe deze veldtoetsen kunnen worden gebruikt binnen de toelatingsprocedure.

Dit hoofddoel moet via een gefaseerde aanpak worden bereikt:
a. voorbereiding (1990)
b. *veldonderzoek* (1991-92)
c. integratie in procedure (1993)

Op deze plaats wordt alleen de voorbereidende fase (a) nader uitgewerkt. Daarbij worden de volgende doelen onderscheiden:
1. nagaan wat de financiële mogelijkheden zijn om het validatie-onderzoek ter hand te nemen, incl. afstemming op lopende onderzoekingen;
2. inventariseren van bereidheid, (on)mogelijkheden, wensen en voorwaarden van verschillende onderzoeksinstituten om een bijdrage te leveren aan het validatie-onderzoek;
3. opstellen van een draaiboek voor de uitvoering van de werkzaamheden, incl. onderlinge afstemming en aangeven van prioriteiten.

Werkwijze

Planning van de werkzaamheden:
t.a.v. **Beschikbare financiën** (doel 1):
- voeren van gesprekken met vertegenwoordigers van ministeries en coordinatoren van onderzoeksprogramma's over de mogelijkheden tot (mede)financiering van het veldvalidatie-onderzoeksprogramma;
- nagaan in hoeverre validatie-onderzoek kan worden afgestemd met soortgelijk onderzoek dat elders wordt uitgevoerd of in voorbereiding is en nagaan op welke wijze zou kunnen worden samengewerkt;

resultaat: inzicht in de financiële haalbaarheid en ruimte voor de uitvoering van het beoogde validatie-onderzoek, al of niet in directe relatie met ander soortgelijk onderzoek.

t.a.v. **Inventarisatie belangstelling** (doel 2):
- voeren van gesprekken met vertegenwoordigers van onderzoeksinstituten om na te gaan wat de mogelijkheden zijn om in 1991 en 1992 het validatie-onderzoek uit te voeren (expertise, 'know how' etc.), al of niet in samenwerking met of met ondersteuning vanuit het CML;
- nagaan mogelijkheden voor wat betreft samenwerking in dezelfde proefgebieden en/of sloten; sterke voorkeur voor uitvoering van toetsen onder zoveel mogelijk dezelfde proefomstandigheden.

resultaat: verslaglegging, trekken van voorlopige conclusies en opstellen concept "Onderzoeksprogramma validatie" (proefgebieden, materiaal en benodigdheden, locaties, menskracht, kosten enz.).

t.a.v. **Draaiboek, afstemming en prioriteiten** (doel 3):
- instelling van een programmacommissie;
- presentatie van concept "Onderzoeksprogramma validatie" aan betrokken vertegenwoordigers van ministeries en onderzoeksinstituten, bijvoorbeeld in de vorm van een workshop (accent op beleid);
- opstellen van een draaiboek; invulling van technisch-inhoudelijke aspecten van validatie-onderzoek in overleg met en op het niveau van de uitvoerders; nadere detaillering voor 1991; ook dit in vorm van een workshop (accent op uitvoering onderzoek);

resultaat: presentatie van draaiboek veldvalidatie 1991-92 aan en fiattering door programmacommissie.

Rapportage

De resultaten worden weergegeven in de vorm van een rapport dat als draaiboek moet dienen voor de uitvoering van de werkzaamheden in de volgende jaren. Hierin zullen ook de taken en bevoegdheden van de programmacommissie zijn opgenomen en een afbakening van de verantwoordelijkheden van de deelnemende instanties.

6. LITERATUUR

Anonymus, 1988a. Landbouwcijfers 1988. LEI/CBS, 's Gravenhage/Voorburg. 247 p.

Anonymus, 1988b. Pesticides and wildlife - field testing. Draft version. Recommendations of an international workshop on terrestrial field testing of pesticides. 12-15 September 1988, Selwyn College, Cambridge. 29 p.

BBA (Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft), 1980. Richtlinien für die Prüfung von Pflanzenbehandlungsmitteln auf Bienengefährlichkeit. Richtlinien für die amtliche Prüfung von Pflanzenbehandlungsmitteln. BBA, Braunschweig. 17 p.

BBA (Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft), 1981. Richtlinie zur Prüfung der Pflanzenschutzmitteln auf Nutzarthropoden der Baumschicht im Freiland. Richtlinien für die amtliche Prüfung von Pflanzenbehandlungsmitteln. BBA, Braunschweig. 13 p.

BBA (Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft), 1986. Richtlinie für die Prüfung der Auswirkung von Pflanzenschutzmitteln auf Raubmilben im Weinbau. Richtlinien für die amtliche Prüfung von Pflanzenbehandlungsmitteln. BBA, Braunschweig. 5 p.

Beurskens, J.E.M., 1986. Toxiciteit van flucythrinaat voor de zoetwater pissebed Asellus aquaticus L. Studentenverslag-IOB, Wageningen. 34 p. + bijl.

Bongers, T., 1988. De nematoden van Nederland. Stichting Uitgeverij Koninklijke Nederlandse Natuurhistorische Vereniging - KNNV 46, Utrecht. 408 p.

Bund, C.F. van de, 1980. De bodemfauna van bouwland in verband met neveneffecten bij het gebruik van bestrijdingsmiddelen in de praktijk. PD, Wageningen. 53 p.

Bunyan, P.J., M.J. van den Heuvel, P.I. Stanley & E.N. Wright, 1981. An *intensive field trial and an multi-site surveillance exercise on the* use of aldicarb to investigate methods for the assessment of possible environmental hazard presented by new pesticides. - Agro Ecosystems 7: 239-262.

Canters, K.J., G.R. de Snoo, F.M.W. de Jong & J. van der Linden, 1989. Neveneffecten van bestrijdingsmiddelen op terrestrische evertebraten en aquatische fauna. CML mededeling 46 (2e dr.), Leiden. 134 p. + bijlagen.

CEB (= Commission des Essais Biologiques), 1982. Méthodes d'essais destinés à connaitre les effets des insecticides sur l'abeille domestique (Apis mellifica L.). - Methode no. 95. 19 p.

Cooke, A.S., 1970. The effect of pp'-DDT on tadpoles of the common frog (Rana temporaria). - Environ. Pollut. 1: 57-71.

Cooke, A.S., 1977. Effects of field applications of the herbicides diquat and dichlobenil on amphibians. Environ. Pollut. 12: 43-50.

Cooke, A.S., 1981. Tadpoles as indicators of harmful levels of pollution in the field. Environ. Pollut. 25 (2): 123-134.

CTB (Commissie Toelating Bestrijdingsmiddelen), 1987. Aanvraag tot toelating van een bestrijdingsmiddel, toelichting bij het aanvraagformulier A, onderdeel H: Giftigheid voor in het milieu voorkomende organismen. CTB, Wageningen. 7 p.

Denneman, W.D., R. Klous, H. Aiking & W.C. Ma, 1989. Cadmium en zink effecten in de voedselketen bodem-regenworm-mol. In: Eijsackers, H. (red.); Verslag 2e Symposium Speerpuntprogramma Bodemonderzoek. Programmabureau Bodemonderzoek, Wageningen: 1 p.

EG (Europese Gemeenschap), 1989. Gewijzigd voorstel voor een richtlijn van de Raad betreffende het op de markt brengen van tot de EEG goedgekeurde gewasbeschermingsmiddelen. - Publicatieblad van de EG, COM(89) 34 def. 54 p.

Eijsackers, H., 1978. Side effects of the herbicide 2,4,5-T affecting the isopod Pholscia muscorum Scopoli. - Z. Angew. Etomol. 87(1): 28-52.

Eijsackers, H. & C.F. van de Bund, 1980. Effects on soil fauna. In: Hance, R.J. (ed.); Interactions between herbicides and the soil. Associated Press, London: 255-305.

Eijsackers, H. & T. Bosma (red.), 1989. Workshop ontwikkeling toetsprotocollen voor de land- en waterbodem, 14 en 15 februari 1989. Programmabureau Bodemonderzoek, Wageningen. 45 p.

EPA (Environmental Protection Agency), 1978. (1) Short term (small pen) field tests for hazard to birds and (2) Long-term (large) pen field tests for evaluating hazard to birds. EPA Registration of Pesticides in the US, Proposed Guidelines Federal Register 43 (312): 29732-33.

EPA (Environmental Protection Agency), 1982a. Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision E, Hazard Evaluation: Wildlife and Aquatic Organisms. - EPA 540/9-82-024. 86 p.

EPA (Environmental Protection Agency), 1982b. Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision J, Hazard Evaluation: Non-target Plants. - EPA 540/9-82-020. 55 p.

EPA (Environmental Protection Agency), 1986a. Standard Evaluation Procedure: Ecological Risk Assessment. - EPA-540/9-85-001. 95 p.

EPA (Environmental Protection Agency), 1986b. Standard Evaluation Procedure: Non-Target Plants: Target Area Testing. - EPA 540/9-86-130. 15p.

EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), 1986. Guideline for evaluating the hazards of pesticides to honey bees, Apis mellifera. EPPO (draft version). 12 p.

EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), 1989. Guidelines for the efficacy evaluation of plant protection products.- EPPO Bulletin 19 (2): 1-363.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 1985. Guidelines on environmental criteria for the registration of pesticides. FAO, Rome. 39 p.

Everts, J.W., M. Diependaal, R. Postuma, A. Scholtens, L. Wouters, R. Hengeveld & J.H. Koeman, 1986a. Animal indicators for side-effects of pesticide treatment in oilseed in winter. - Med. Fac.Landbouww. Rijksuniv. Gent 51/3a: 925-929.

Everts, J.W., J.E.M. Beurskens, J.S. Bouwhuis, A.D. Buyse, R. Hengeveld, L. Wouters, & J.H. Koeman, 1986b. Terrestrial arthropods as indicators for side-effects caused by insecticides in arable farm systems in the Netherlands. In: Wansink, J.W. & W.J. van den Brink (eds); Contaminated Soil. Elsevier, Dordrecht: 423-425.

Everts, J.W., B. Aukema, R. Hengeveld & J.H. Koeman, 1989. Side-effects of pesticides on ground-dwelling predatory arthropods in arable ecosystems. - Environmental Pollution 59: 203-225.

Gestel, C.A.M. van, 1984. Voorstel voor classificatie dampspanning en oplosbaarheid in water van bestrijdingsmiddelen. Steungroep Milieu van de CTB, Wageningen. 1 p.

Gestel, C.A.M. van, 1985. Classificatie mobiliteit, toxiciteit voor waterorganismen en bioaccumulatie. Steungroep Milieu van de CTB, Wageningen. 1 p.

Gestel, C.A.M. van & W. Ma, 1989. An approach to qsar's in terrestrial ecotoxicology: earthworm toxicity studies. In: Eijsackers, H. (red.): Verslag 2e Symposium Speerpuntprogramma Bodemonderzoek. Programmabureau Bodemonderzoek, Wageningen: 1 p.

Gestel, C.A.M. van, A.J. Schouten & J. Bakker, 1989. Ontwikkeling van toxiciteitstoetsen met vrijlevende bodemnematoden. In: Eijsackers, H. (red.); Verslag 2e Symposium Speerpuntprogramma Bodemonderzoek. Programmabureau Bodemonderzoek, Wageningen: 1 p.

Gezondheidsraad, 1988. Ecotoxicologische risico-evaluatie van stoffen. - Advies 28. Gezondheidsraad, Den Haag. 159 p.

Greaves, M.P., M.J. Poole, K.H. Domsch, G. Jagnow & W. Verstraete, 1980. Recommended tests for assessing the side-effects of pesticides on soil microflora. - Technical Report 59. Weed Research Organisation, Oxford. 59 p.

Harfenist, A., T. Power, K.L. Clark & D.B. Peakall, 1989. A review and evaluation of the amphibian toxicological literature. - Technical Report 61. Canadian Wildlife Service, Ottawa. 222 p.

Hassan, S.A., F. Bigler, P. Blaisinger, H. Bogenschütz, J. Brun, P. Chiverton, E. Dickler, M.A. Easterbrook, P. Edwards, W.D. Englert, S.I. Firth, P. Huang, C. Inglesfield, F. Klingauf, C. Kühner, M.S. Ledieu, E. Naton, P.A. Oomen, W.P.J. Overmeer, P. Pelvoets, J.N. Reboulet, W. Rieckmann, L. Samsoe-Petersen, S.W. Shires, A. Stäubli, J. Stevenson, J.J. Tuset, G. Vanwetswinkel & A.Q. van Zon, 1985. Standard methods to test the side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by the IOBC/WPRS Working Group 'Pesticides and Beneficial Organisms'. - EPPO Bulletin 15: 214-225.

Heinis, F. & T. Crommentuijn, 1988. Biomonitoring met de larven van chironomiden en kokerjuffers. - Rapport 880550. M&W Aquasense, Amsterdam. 30 p.

Hill, E.F. , R.G. Heath, J.W. Spann & J.D. Williams, 1975. Lethal detary toxicities of environmental pollutants to birds. - US Fish and Wildl. Serv. Spec. Scientific Report-Wildl. 191, Washington D.C. 61 p.

Hustings, M.F.H., R.G.M. Kwak, P.F.M. Opdam & M.J.S.M. Reijnen, 1989. Vogelinventarisaties. - Natuurbeheer in Nederland, 3. PUDOC, Wageningen. 492 p.

ICBB (International Commission for Bee Botany), 1985. Third symposium on the harmonization of methods for testing the toxicity of pesticides to bees. Rothamsted Experimental Station, England. 11 p. + bijl.

IOBC (International Organization for Biological Control of noxious animals and plants), 1988. Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficials: short description of test methods. West Paleartic Regional Section Working Group: Pesticides and beneficial organisms.- Bull. Section Regionale Ouest Palearctique XI (4): 1-143.

Kooijman, S.A.L.M., 1987. A safety factor for LC50 values allowing for differences in sensitivity among species. - Water Res. 21: 269-276.

Ma, W.C., 1989. Risicoschatting voor de bodembelasting met cadmium en lood voor terrestrische kleine zoogdieren. In: Eijsackers, H. (red.); Verslag 2e Symposium Speerpuntprogramma Bodemonderzoek. Programmabureau Bodemonderzoek, Wageningen: 1 p.

MAFF (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food), 1986. Data requirements for approval under the control of pesticides regulations. 219 p.

Murk, A.J., 1987. Ecotoxicologie - visies van 31 betrokkenen. - Rapport 7. Gezondheidsraad, Den Haag. 105 p.

NMP (Nationaal Milieubeleidsplan), 1989. Kiezen of verliezen. Handelingen Tweede Kamer, 1988-1989, 21 137, 1-2. SDU uitgeverij, 's-Gravenhage. 258 p.

OECD (*Organisation for Economic Co-operation and Development*), 1984. Summaries of selected systems. Chemicals on wich data are currently inadequate; Addendum 1: Selection criteria for health and environmental purpose: 173-190.

OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development), 1986. Guidelines for testing of chemicals. Section 2: Effects on biotic systems. OECD, Parijs. Summary 10 p. and 9 guidelines.

OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development), 1988. Draft report of the OECD workshop on ecological effects assessment. OECD, Parijs. 67 p.

Oomen, P.A., 1986. A sequential scheme for evaluating the hazard of pesticides to bees, Apis mellifera. - Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent 51/3b: 1205-1213.

PD (= Plantenziektenkundige Dienst), zonder jaartal. 36 richtlijnen voor het uitvoeren van veldproeven voor de deugdelijkheid van gewasbeschermingsmiddelen. PD, Wageningen.

Romijn, C.A.F.M., 1988. Het bepalen van de invloed van de opname via voedsel, op de toxiciteit van chloorpyrifos voor Asellus aquaticus, in een aquatisch milieu. Studentenverslag-IOB, Wageningen. 23 p. + bijl.

Reede, R.H. de, 1982. *A field study on the possible impact of the insecticide diflubenzuron on insectivorous birds.* - Agro Ecosystems 7: 327-342.

Rijn, J.F.A.T. van (red.), 1989. Gewasbeschermingsgids. Consulentschap in Algemene Dienst voor de Gewasbescherming/Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen. 575 p.

RvE (Raad van Europa), 1984. Pesticides. 6th edition. RvE, Strasbourg. 126 p.

RvE (Raad van Europa), 1989. Audition mixte du Conseil de l'Europe et de l'Organisation Europeènne pour la Protection des Plantes (OEPP) sur l'ecotoxicité des pesticides. RvE, Strassbourg. 13 p.

Slooff, W., J.H. Canton & J.L.M. Hermens, 1983. Comparison of the susceptibility of 22 freshwater species to 15 chemical compounds. I. (Sub)-acute tests. - Aquat. Toxicol. 4: 129-138.

Snoo, G.R. de & K.J. Canters, 1988. Neveneffecten van bestrijdingsmiddelen op terrestrische vertebraten. - CML mededeling 35a/b (2e dr.), Leiden. 136 p. en 115 p. [N.B. Begin 1990 is dit rapport ook verschenen in het Engels.]

Stortelder, P.B.M., M.A. van der Gaag & L.A. van der Kooij, 1989. Kansen voor waterorganismen. Een ecotoxicologische onderbouwing voor kwaliteitsdoelstellingen voor water en waterbodem. Deel 1: Resultaten en berekeningen / Deel 2: Gegevens. - DBW/RIZA-nota 89.016a/b. 178 + 19 p. en 214 p.

Straalen, N.M. van, 1987. Stofgehalten in de bodem - (geen) effecten op bodemdieren. In: Symposium Bodemkwaliteit, Ede 10-12-1986. VTCB, Leidschendam: 75-84.

Straalen, N.M. van & J.W. Everts, 1989. Ecotoxicologisch onderzoek met bodemevertebraten. - Tox-Post 2 (4): 3-8.

Urk, G. van & F.C.M. Kerkum, 1986. Misvormingen bij muggelarven uit Nederlandse oppervlaktewateren. - H_2O 19 (26): 224-227.

VROM, 1985. Bestrijdingsmiddelen. Deel 1 / Gids voor de huishouding. Staatsuitgeverij, Den Haag. 260 p.

Wensem, J. van, 1989. De invloed van bodemverontreiniging op de interactie tussen pissebedden en microflora bij de decompositie van bladmateriaal. In: Eijsackers, H. (red.); Verslag 2e symposium Speerpuntprogramma Bodemonderzoek. Programmabureau Bodemonderzoek, Wageningen: 2 p.

DEEL B: VOORSTELLEN VOOR RICHTLIJNEN VOOR VELDTOETSEN

Voorstel voor

RICHTLIJN VOOR HET UITVOEREN VAN VELDTOETSEN TER BEPALING VAN *NEVENEFFECTEN VAN CHEMISCHE BESTRIJDINGSMIDDELEN IN HET VELD OP*

TERRESTRISCHE HOGERE PLANTEN

VELDTOETS TERRESTRISCHE HOGERE PLANTEN

Algemeen

In de Verenigde Staten (zie: appendix 4.1.1) zijn er aparte richtlijnen voor veldtoetsen naar de neveneffecten op planten binnen en buiten het doelwit gebied. Dit onderscheid is in de V.S. zinvol omdat bij deze toelatingsprocedure het onderzoek naar de deugdelijkheid en naar de neveneffecten op het gewas althans op papier sterk zijn gescheiden. Binnen de akker gaat het neveneffecten onderzoek dan ook met name over het gewas. In Nederland omvat het deugdelijkheidsonderzoek naast de effectiviteit tevens de mogelijke toxische neveneffecten op het gewas.

Bij een veldtoets met hogere planten (= Cormophyta) gaat het om het vaststellen van de mogelijke effecten op niet-doelwit planten. Hierbij kan er discussie zijn over het feit of er, afgezien van het gewas, wel niet-doelwit planten, althans bezien vanuit landbouwkundig oogpunt, voorkomen in een akker. Hoewel er selectieve herbiciden bestaan, wordt in principe elke plant die zou kunnen concurreren met het gewas, ongewenst geacht. De neveneffecten op het gewas zelf worden, zoals boven aangegeven, reeds onderzocht in het kader van het deugdelijkheidsonderzoek. Voor dit protocol worden daarom de planten in de akker zelf buiten beschouwing gelaten. De meest direct blootgestelde niet-doelwit planten bevinden zich dan in de zomen van de akker. De toets richt zich daarom op deze planten. De opzet wijkt hiermee af van reeds bestaande protocollen; wel zijn voor de invulling zoveel mogelijk de methoden van de EPA en de EPPO (zie: appendix 4.1.1) overgenomen.

Dat de invloed van bestrijdingsmiddelen op planten in akkerbouwgebieden aanzienlijk is, blijkt uit onderzoek waarbij akkerranden niet werden bespoten (zie: appendix 4.1.2: Boatman, 1988; Dean, 1989). Het blijkt dat in deze niet behandelde randen de hoeveelheid kruiden zeer sterk toeneemt.

Ook buiten de akkers en hun zomen kunnen effecten worden verwacht. Door drift bij bespuiting en verdamping van de middelen vanaf het gewas komt een aanzienlijk gedeelte van de middelen in de lucht terecht. Deze middelen kunnen verderop eventueel voor een belasting zorgen; de mogelijke effecten van een dergelijke lagere belasting worden in deze toets ook meegenomen.

Proefvoorwaarden

Wanneer er andere middelen dan herbiciden worden gebruikt, is het noodzakelijk om naast de onbehandelde blanco een proefvlak te behandelen met een middel dat zich richt op dezelfde plaag, maar dat zeker niet fytotoxisch is. Op deze wijze kunnen de toxische van de ecologische neveneffecten worden gescheiden. In het geval van een insecticide kan bijvoorbeeld het verdwijnen van insecten de vraat dusdanig doen afnemen, dat een eventueel toxisch neveneffect op de planten wordt 'overruled' (Fox, 1958; Brown et al., 1987). Dit hangt uiteraard ook af van het type effect. Bij bijvoorbeeld effecten op de biomassa zijn de effecten van vraat en van

een middel slecht te van elkaar te scheiden en is een controle zoals bovengenoemd noodzakelijk; toxische verschijnselen aan de planten (bijv. necrose) zijn zonder een dergelijke controle wel goed waar te nemen.

In praktijk zullen in Nederland perceelsscheidingen/zomen bestaan uit sloten, wegbermen, bossen of houtwallen. In een veldtoets moeten voor de bossen behalve de door de EPA genoemde soorten ook twee soorten loofbomen worden onderzocht. Voor de sloten moeten de effecten op de in de slootkant voorkomende soorten kunnen worden voorspeld; de EPA richtlijn weerspiegelt de belangrijkste groepen en lijkt hiermee te voldoen.

Toediening

De bespuiting vindt plaats op het perceel aangrenzend aan de proefvlakken. Hierbij wordt zowel de hoogste dosis toegepast als vier maal de hoogste dosis. Met deze laatste dosis wordt een 'worst case'-situatie gesimuleerd, gebaseerd op de situatie waarbij percelen aan beide zijden van een zoom worden bespoten en op schommelingen, zoals die in het gebruik in praktijk op kunnen treden. Wanneer uit metingen blijkt dat geen blootstelling plaatsvindt, kan in een veldtoets het middel ook direct op de perceelsscheidingen worden gespoten. Hierbij moet dan 10% van de hoogst voorgeschreven dosis worden gebruikt. De extrapolatie van de resultaten van een dergelijke toets naar een werkelijke bespuiting van het perceel gaan echter met onzekerheden gepaard.

Wanneer bij een normale toediening effecten worden gevonden op de planten in de perceelsscheidingen/zomen bestaat de verdenking dat er effecten op kunnen treden op planten die verder van het perceel liggen (door o.a. drift). Daarom wordt in dat geval voorgeschreven om tevens toetsen uit te voeren op speciaal aangelegde proefvelden met een lagere dosis (1% van de maximaal voorgeschreven dosis), om hiermee de blootstelling met een middel van verderop gelegen planten te simuleren.

Waarnemingen

Hogere planten en (a)biotische milieufactoren
De effecten worden bepaald op de soortensamenstelling en de abundantie van de verschillende soorten. Daarnaast moeten ook fytotoxische symptomen worden waargenomen. Behalve de weersomstandigheden moeten ook de overige behandelingen van het veld, voorzover deze plaatsvinden, nauwkeurig worden genoteerd. Verder zijn ook de bodemeigenschappen van belang voor de conditie en de groei van de planten.

Middel
Het is van belang om bij bespuiting van de akker een goed beeld te hebben van de blootstelling van de proefstroken. Daarom moeten regelmatig residu metingen op gewas en bodem plaatsvinden; ook kan een merkstof (bijv. een kleurstof) aan het middel worden toegevoegd om waar te nemen of blootstelling optreedt. Ook in direct bespoten proefvelden moeten de residuen op het gewas en in de bodem worden bepaald ten einde de blootstelling vast te kunnen stellen.

Voorgestelde RICHTLIJN VELDTOETS TERRESTRISCHE HOGERE PLANTEN

1. PROEFVOORWAARDEN

1.1 Keuze van toetsorganisme en gewas

In de proefvelden moeten van de hogere planten (= Cormophyta) minstens voorkomen: drie soorten dicotylen uit drie families; drie soorten monocotylen uit drie families; varens uit twee families; één soort mos of levermos; één soort naaldboom en een loofboom van een vochtige standplaats (bijv. wilg Salix sp.) of een loofboom van een droge standplaats (bijv. meidoorn Crateagus sp.). Er kan zowel gebruik worden gemaakt van reeds aanwezige planten, als van ingezaaide c.q. aangeplante planten. Toets uitvoeren op een bodemtype waarop het middel wordt gebruikt. Toets uitvoeren in een teelt waarin de hoogste dosis wordt voorgeschreven.

1.2 Proefvoorwaarden

Toets uitvoeren in perceelsscheidingen/zomen (aangrenzend aan de te behandelen percelen). In het veld worden gelijktijdig percelen behandeld met het te toetsen middel, met een uitgesproken fytotoxisch middel en wordt een perceel behandeld met water of eventueel met een andere, op de formulering lijkende, onschuldige draagstof. Indien het te toetsen middel geen herbicide is moet tevens een proefveld worden behandeld met een uitgesproken niet-fytotoxisch middel met dezelfde bedoelde werking als het te toetsen middel. Alleen dan kan een toxisch effect worden gescheiden van een ecologisch effect.

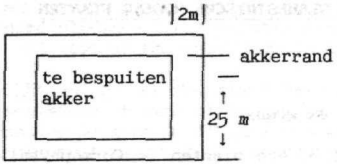
1.3 Overige proefvoorwaarden

Toets uitvoeren bij weersomstandigheden waarbij drift naar de perceelsscheidingen zal optreden. Droog weer met een matige wind in de richting van de proefvelden is gewenst. Extreme situaties (zoals langdurige droogte of neerslag) vermijden. Wanneer effecten worden gevonden bij de bovenstaande proefopzet moeten ook toetsen worden uitgevoerd met een lagere dosering (1%) om de eventuele effecten van drift over grotere afstanden op te sporen. Hiervoor dienen speciale nieuwe proefvelden te worden aangelegd die direct worden behandeld met de te toetsen dosis, een fytotoxisch middel en controles.

1.4 Technische uitvoering

Proefveldgrootte

De te behandelen percelen moeten een omvang hebben van minstens 2500 m^2. Op deze proefvelden worden aan de randen proefvlakken (stroken) gekozen van 2-3 meter breed en minimaal 25 meter lang. Deze stroken worden niet bespoten. In onderstaande figuur is aangegeven hoe een dergelijke opzet kan worden voorgesteld. Bij een nadere toetsing (zie: 1.3) met lagere dosis moeten de proefvlakken een oppervlakte hebben van minstens 50 m^2.



Proefveld

Proefveldindeling

Proef in duplo uitvoeren. De proefvelden liggen zover van elkaar af dat een wederzijdse beïnvloeding door bespuiting is uitgesloten, door een afstand tussen de velden van minstens 100 meter.

2. TOEDIENING VAN DE MIDDELEN

2.1 Middelen

Het te onderzoeken middel wordt toegepast volgens de door de producent ingediende gebruiksaanwijzing en met een praktijkformulering.

2.2 Behandelingsapparatuur

De middelen toedienen met gangbare apparatuur volgens voorschrift.

2.3 Dosering middel

Toedienen van de hoogst voorgeschreven dosis van de betreffende formulering en het viervoudige hiervan. Wanneer uit metingen blijkt dat de proefvlakken niet worden blootgesteld moet hierop direct 10% van de hoogst voorgeschreven dosis worden gespoten en het viervoudige hiervan. Wanneer een effect wordt gevonden bij bespuiting van het perceel ook 1% van de hoogste dosis toepassen op speciaal aangelegde proefvelden.

2.4 Aantal en tijdstip van de behandelingen

De behandeling vindt plaats op een tijdstip dat het middel normaal gesproken zal worden toegepast. Bespuiting van de verschillende duplo's liefst gelijktijdig, maar in ieder geval binnen een periode van twee uur, teneinde eventuele verschillen in weersomstandigheden uit te sluiten.

3. WAARNEMINGEN

Methoden en frequentie

De bemonstering vindt plaats door in de 'plots' de soortensamenstelling te bepalen en de abundantie van de verschillende soorten. Bovendien wordt

per 'plot' vier maal 25x25 cm vegetatie geoogst; hierbij wordt per soort de bedekking op maaiveldniveau bepaald, evenals het vers- en het droogge-wicht.

Bij elke bemonstering wordt gelet op fytotoxische symptomen zoals chlorose, necrose, verwelking, blad- en stamafwijkingen, afwijkingen in groei en ontwikkeling en elke andere waar te nemen aantasting.

Monstername vindt plaats één week voor de behandeling en twee weken na de behandeling, daarna om de maand tot het einde van het groeiseizoen.

Tevens worden de weersomstandigheden op de dag van bespuiting vastgelegd: neerslag, temperatuur, wind, bewolking, zon en luchtvochtigheid (incl. vochtigheid van bladeren). Tien dagen vóór en ná bespuiting: neerslag, temperatuur, bewolking en zon. Op de dag van bespuiting moeten deze gegevens op het proefveld worden waargenomen. Op de andere data bij voorkeur op het proefveld, desnoods kunnen gegevens van een nabijgelegen weerstation worden gebruikt. Daarna alleen extreme weersomstandigheden vastleggen. Gegevens over de bespuiting(en) en het bemestingsregime noteren. Voor de bodem worden de volgende eigenschappen bepaald: pH, organisch stofgehalte, bodemtype, vochtigheid en bemestingsregime.

Waargenomen worden de residuen bestrijdingsmiddel in de proefvlakken in en op de planten en de bodem. Dit vindt de eerste week dagelijks plaats; daarna gelijk met de vegetatie-bemonstering. Als het middel niet meer wordt aangetoond kan deze frequentie verder worden teruggebracht.

4. VOORWAARDEN VOOR GELDIGHEID

Toetsresultaten worden niet geaccepteerd bij onduidelijkheden in de resultaten en als in de blanco's veel aantasting optreedt of in de positieve controle weinig. Ook gevallen waarin er voorafgaande aan de toediening reeds significante verschillen tussen de proefvlakken bestonden voor wat betreft de gemeten parameters, wordt de toets niet geaccepteerd.

KOSTEN

Kenschets proefopzet:

A	B	C	D	E	F	G	H
soort	aspect	type	dosering	blanco	veelvoud	monsters	bemonst.
n w	a b c s	v k	hp	b g')	2	4	6 - 8

') wanneer geen herbicide dan ook een experiment uitvoeren met een uitgesproken niet-fytotoxisch middel

Voor de betekenis van de gebruikte codes wordt verwezen naar § 4.3 van het hoofdrapport (= deel A).

		netto-werkdagen	*materiaalkosten*
1	materiaal	5	
	- toetsorganismen		500
	- proefvelden		1.000
	- veldapparatuur		p.m.
2	bemonsteren (4x2x4x8 str.)		
	- toetsorganismen	32	
	- abiotische parameters	6	
3	meten parameters		
	- toetsorganismen	32	500
	- gehaltebepalingen	20	2.000
4	interpreteren gegevens	10	p.m.
5	invullen toetsformulier	5	n.v.t.
	totaal werkdagen	ca. 100	n.v.t.
	kostenschatting (subtot.)	f 75.000	f 4.000
	kosten totaal (volgens zeer ruwe schatting):		ca. f 80.000

Appendix 4.1.1 Overzicht bestaande protocollen voor veldtoetsen met hogere planten

Verenigde Staten (EPA, 1982, 1986a, 1986b)
Algemene eisen voor het uitvoeren van toetsen:
- Alle methoden moeten wetenschappelijk geaccepteerd zijn.
- Toets uitvoeren met geschoold personeel, waarbij voor elk onderdeel een duidelijk aanwijsbaar persoon verantwoordelijk is.
- Toets uitvoeren met actieve stof of formulering met bekende samenstelling.
- De toedieningsmethode op zich mag geen neveneffecten hebben op het te toetsen middel of organisme.
- Gezonde planten gebruiken.
- Geen beschermde of bedreigde planten gebruiken.
- De populatie-grootte van ieder behandeling of replica moet zo groot zijn dat een uitspraak met 90-95% betrouwbaarheid kan worden gedaan over een 25%- of 50%-aantasting van de planten.
- Controles gebruiken en op dezelfde wijze behandelen, zonder het middel. Wanneer een oplosmiddel of formulering anders dan water wordt gebruikt deze formulering toepassen.
- Zoveel mogelijk de commerciële toepassingsmethode gebruiken.
- Bij 'non-target area'-toetsen de volgende soorten gebruikten: drie soorten dicotylen, uit drie families; drie soorten monocotylen uit drie families; twee soorten cryptogamen uit twee families; één soort mos of levermos; één soort naaldboom.
- Bij de 'target area'-toetsen gaat het om de toxische effecten op het gewas.
- Duur van de proef zolang dat herhaalde toediening volgens voorschrift van de producent mogelijk is; metingen twee maal per week; vervolgens tot minstens twee weken en maximaal vier weken na de laatste toediening.

Waarnemingen:
- Alle variaties tussen de controle planten en de toetsplanten, zoals fytotoxische symptomen (chlorose, necrose, verwelking e.d.), blad- en stamafwijkingen, groei en ontwikkeling.

EPPO (1989)
Richtlijnen voor de deugdelijkheid van bestrijdingsmiddelen:
- Bij de deugdelijkheid van niet-herbiciden wordt alleen gekeken naar de effecten (positief en eventueel negatief) op het gewas.
- Bij de deugdelijkheid van herbiciden wordt uiteraard gekeken naar de effecten op de aanwezige (on)kruiden. Bij dit onderzoek wordt de volgende opzet gevolgd:
- 'Plots' worden geselecteerd waarvan het bekend is dat ze een gevarieerde doch homogene onkruidvegetatie hebben, die correspondeert met het werkingsspectrum van het middel.
- Toetsduur kan oplopen tot twee jaar of meer in het geval van persistente middelen.
- Omvang van de 'plots' varieert per teelt tussen ca. 10 en 100 m^2.
- Gebruik maken van te toetsen middel, een referentie-middel en een blanco. Toets in viervoud uitvoeren.
- Bespuiting uitvoeren volgens voorschrift en bij de stand van onkruid/-gewas waarbij volgens voorschrift bespuiting plaatsvindt.

Aanvullende waarnemingen tijdens tellingen:
- *Vogelgedrag (alleen door ervaren ornithologen): eerst subletale laboratorium-effecten bestuderen; in het veld veranderingen in het gedragspatroon proberen waar te nemen.*
- *Gehalten in organismen.*
  Het kan wenselijk zijn om de verspreiding van een middel te bepalen aan de hand van gehalten in organismen. Hiertoe kunnen volgens een vooraf bepaald schema vogels en eieren worden gevangen resp. geraapt en geanalyseerd op residuen en/of afwijkingen.
- Kooiproeven. Staan ter discussie maar kunnen toch informatie opleveren over werkelijke blootstelling etc. Bovendien kan met kleine proefvlakken kan worden volstaan. Er moet op worden gelet dat geen stress ontstaat en dat de vogels voldoende gewend zijn aan de kooi. Adequate referenties zijn noodzakelijk. Toch slechts uitvoeren nadat er specifieke vragen zijn die met dit type toets kunnen worden beantwoord.
- Residuen in voedsel kunnen worden bepaald en worden vergeleken met de laboratorium LC50. Hierbij wordt echter opgemerkt dat de LC50 voor vogels weinig zegt over de effecten in het veld.

Presentatie:
- Een uitgebreid rapport van de veldproef is absoluut noodzakelijk voor een beoordeling van de resultaten. Elk detail, hoe triviaal ook, dient te worden vermeld.

Nederland (CTB, 1987: onderdeel H)
Ten aanzien van vogels wordt het volgende opgemerkt: onder bepaalde omstandigheden kan een veldtoets noodzakelijk zijn; voor methoden wordt verwezen naar de Engelse toelatingsprocedure.

Appendix 4.1.2 Overzicht uitgevoerd veldonderzoek met hogere planten

Fox (1958) Effecten van insecticiden (aldrin, dieldrin en heptachloor) op ritnaalden en vegetatie van graslanden. 'Plots' van 7,6x9,2 m werden gebruikt, waarvan de helft als controle onbehandeld bleef. Effecten op de vegetatie werden bepaald door per sub-'plot' twee monsters van 20x20 cm te nemen. Op deze 'plots' werd per soort de bedekking op maaiveldniveau bepaald. De gevonden effecten zijn vooral indirecte effecten, veroorzaakt door het wegvallen van vraat door de ritnaalden.

Henderson & Clements (1977) Er werden vier locaties in graslanden van verschillende leeftijd (3-6 jaar) geselecteerd. Op elke locatie werden twee paar veldjes van 3x7 m gebruikt. Van elk paar werd één veldje behandeld met aldrin en foraat (granulaat). De opbrengst werd vier-vijf keer per jaar bepaald door een strook van 0,9x6 meter te oogsten. De soorten samenstelling werd bij de eerste oogst van het seizoen bepaald, door het met de hand sorteren van ca. 200 gram versgewicht vegetatie. Bij met insecticiden behandelde velden neemt de oogst in alle gevallen toe; in de soortensamenstelling worden wel schommelingen gevonden (tussen de twee dominante produktie-grassen), maar geen blijvende effecten.

Heijbroek & van de Bund (1982) Effecten van vruchtopvolging en bestrijdingsmiddelen in suikerbieten. Experiment in duplo: twee velden, onderverdeeld in twee blokken op 9 meter afstand met een verschillende vruchtopvolging. Deze blokken bestonden uit 6 delen met 12 rijen suikerbieten (op 50 cm) van 18 meter. In het ene veld werden door de jaren heen steeds suikerbieten geteeld. In het andere veld wintertarwe met eens in de drie jaar suikerbieten. In de verschillende velden werden bij het zaaien resp. toegepast: geen insecticide, lindaan, aldicarb en chloradizon en geen bodemherbicide. Kruiden werden geteld tussen de rijen over totaal 9 m^2, waarbij bij grote dichtheden de abundantie/distributie met behulp van schalen werd geschat. De grote invloed van herbiciden wordt aangetoond. Bij opeenvolgende bietenteelt konden wortelonkruiden niet voldoende worden bestreden en vormden een probleem. Bij het niet gebruiken van bodemherbiciden vormden de zaadonkruiden een alternatieve voedingsbron voor de springstaart Onychiurus armatus, wat een geringere schade van de kiemplanten tot gevolg had.

Brown et al. (1987) In ecologisch onderzoek wordt vaak de vraat door herbivoren experimenteel beïnvloed. Hierbij zijn de effecten van het verwijderen van herbivoren zo groot, dat een eventueel effect van het middel zelf op de vegetatie wordt 'overruled'. In dit onderzoek werd bekeken of malathion ook een directe invloed heeft op de vegetatie. Effecten werden bepaald aan vroege successie-stadia van terrestrische vegetaties, één jaar na ploegen afgemeten aan de biomassa. Vier sub-'plots' van 3x3 m werden uitgezet in een veld van 30x20 m. Twee velden werden behandeld met malathion en twee met een gelijk volume water. Bespuiting vond 's ochtends of 's avonds met een ULV (ultra low volume)-spuit plaats. In principe werd of elke 10 dagen bespoten of wanneer er bij een tweedaagse controle in 10 minuten meer dan vijf levende evertebraten werden gevonden. Het controle-veld werd met behulp van een "stofzuiger" vrijgehouden van evertebraten. Vegetatie werd drie maal bemonsterd (25x25 cm) half augustus, oktober en eind oktober. Eind oktober

werd ook de biomassa van de wortels bepaald. Onderscheid is gemaakt tussen eenjarige en meerjarige planten en grassen. Er werden vier dominante soorten gevonden: Spergula arvensis, Trifolium pratense, Rumex acetosella en Holcus lanatus. Per soort is steeds de biomassa bepaald. Toetsen: t-toets en F-toets. Daarnaast zijn soorten onder gecontroleerde omstandigheden opgekweekt (in het lab) waarbij vergelijkbare experimenten zijn uitgevoerd. Resultaten: geen significante verschillen, mede veroorzaakt door de natuurlijke spreiding in het voorkomen van de soorten. Ook in de lab-toetsen werd geen verschil gevonden. Aangegeven wordt dat labtoetsen meer tijd kosten en duurder zijn (ruimte!) dan veldtoetsen.

Ibrahim et al. (1987) Onderzoek naar effecten van verschillende herbiciden op koolzaad en kruiden (in Egypte). Controles bestonden uit onbehandelde velden en met de hand gewiede velden. Experiment bestond uit 7 verschillende middelen in twee concentraties + twee blanco's; het geheel werd in viervoud uitgevoerd in twee seizoenen. Elke 'plot' was 10,5 m^2 groot en bestond uit 6 rijen, 3,5 m lang op 50 cm van elkaar. Kruiden werden met de hand van 1 m^2 geoogst (60 dagen na zaaien en bij de oogst) en ingedeeld in drie groepen: grasachtig, breedbladig en meerjarig, waarbij overigens ook de afzonderlijke soorten werden gedetermineerd. Vers- en drooggewicht werden bepaald, reductie hierin werd bepaald t.o.v. de onbehandelde controle. De gebruikte herbiciden zijn niet effectief voor meerjarige planten. Methode bleek geschikt om verschillen in effectiviteit aan te tonen.

Lund-Hoie & Gronvold (1987) Effecten van bosbespuitingen met glyfosaat zijn bekeken op bespoten, onbespoten en met de hand vrijgemaakte 'plots'. In verschillende regio's werden gebieden onderscheiden waarin de drie "behandelingen" plaatsvonden; in deze gebieden werden 'plots' van 25 m^2 uitgezet. Effecten werden onderzocht op de successie. Hogere bomen bleken redelijk tolerant, uitgezonderd naaldbomen. Zowel bespuiting als het vrijhouden met de hand hadden een toename van de diversiteit van de vegetatie tot gevolg; in de bespoten delen was deze zelfs sterker voor hoger wordende planten, omdat ook de spar hier verdween als concurrerende soort.

Boatman (1988) Bij het 'Cereals and Gamebirds Research Project (UK)' worden akkerranden niet behandeld om een meer natuurlijke flora en fauna tot ontwikkeling te kunnen laten komen. Het blijkt mogelijk om met een gericht herbicide-gebruik de landbouwkundig ongewenste onkruiden te bestrijden en toch relatief rijke akkerranden te handhaven.

Dean (1989) Randen van grasland en akkers worden beheerd ten behoeven van natuur en recreatie (incl. jacht). Het niet behandelen van akkerranden met herbiciden en insecticiden geeft een sterke toename te zien van vegetatie en van insecten, vogels en zoogdieren.

LITERATUUR

Boatman, N., 1988. Weed management in field margins. In: The game conservancy, Annual review 1987. The Game Conservancy, Fordingbridge, Hampshire: 76-79.

Brown, V.K., M. Leijn & C.S.A. Stinson, 1987. The experimental manipulation of insect herbivore load by the use of an insecticide (malathion): The effect of application on plant growth. - Oecologia 72: 377-381.

Dean, R.J.L., 1989. Expanded field margins. Their costs to the farmer and benefits to wildlife. A report to the Nature Conservancy Council, Kemerton Court; Glos. 55 p.

EPA (Environmental Protection Agency), 1982. Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision J, Hazard Evaluation: Non-target Plants. - EPA 540/9-82-020. 55 p.

EPA (Environmental Protection Agency), 1986a. Standard Evaluation Procedure: Non-Target Plants: Target Area Testing. - EPA 540/9-86-130. 15 p.

EPA (Environmental Protection Agency), 1986b. Standard Evaluation Procedure: Non-Target Plants: Terrestrial Field Testing - Tier 3. - EPA 540/9-86-135. 11 p.

EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), 1989. Guidelines for the efficacy evaluation of plant protection products. - EPPO bulletin 19 (2): 1-363.

Fox, J.S., 1958. Some effects of insecticides on the wireworms and vegetation of grassland in Nova Scotia. Proc. Tenth Intern. Congr. Entomology 3: 297-300.

Henderson, I.F. & R.O. Clements, 1977. Grass growth in different parts of England in relation to invertebrate numbers and pesticide treatment.- J. British Grassland Society 32: 89-98.

Heijbroek W. & C.F. van de Bund, 1982. The influence of some agricultural practises on soil organisms and plant establishment of sugar beet.- Neth. J. Pl. Path. 88: 1-17.

Ibrahim, A.F., Sh.A. Shaban & Et.A. El-Metwally, 1987. Effects of some herbicides on oil seed rape (Brassica napus L.) and associated weeds. - J. Agronomy and Crop Science 158: 236-240.

Lund-Hoie, K. & S. Gronvold, 1987. Glyphosate application in forest-ecological aspects. Scand. - J. For. Res. 2: 445-468.

Voorstel voor

RICHTLIJN VOOR HET UITVOEREN VAN VELDTOETSEN TER BEPALING VAN *NEVENEFFECTEN VAN CHEMISCHE BESTRIJDINGSMIDDELEN IN HET VELD OP*

REGENWORMEN

VELDTOETS REGENWORMEN

Algemeen

Voor regenwormen (behorende tot de Olichaeta) is een richtlijn voor een veldtoets beschikbaar in Engeland (zie: appendix 4.2.1) en is een voorlopige richtlijn beschikbaar, zoals die is gepresenteerd door de BBA op een 'Richtlinienbesprechung' in april 1989 (zie: appendix 4.2.1: schr.med. Van Gestel). Voor de hier voorgestelde richtlijn wordt in principe uitgegaan van de BBA richtlijn, met name omdat hierop reeds wordt aangesloten door Nederlandse onderzoekers. Op een aantal punten is deze toets aangevuld of gewijzigd, mede aan de hand van het Engelse voorschrift.

Proefvoorwaarden

Het BBA-voorschrift spreekt een voorkeur uit voor het toetsen op een weiland (gras), omdat wormen hier in grote aantallen voorkomen. In akkers zouden minstens 100 wormen van Lumbricus terrestris en Apporectodea caliginosa per m^2 aanwezig moeten zijn. Ma (schr.med.) geeft aan dat ook Lumbricus rubellus in de proefvlakken aanwezig moet zijn. Van de Bund (1980) vermeldt dat er gemiddeld 200 regenwormen per m^2 worden aangetroffen in akkerland. Volgens Van Rhee (1970) zijn dit er 50 tot 300. Een mogelijke oplossing om bij lage dichtheden toch effecten in akkerland te kunnen meten, kan het ingraven van kisten zijn (Ebing et al., 1984), waarin regenwormen worden aangebracht. Op deze wijze is een voldoende dichtheid te waarborgen, maar wordt echter niet uitgegaan van de gevoeligheid van in het veld aanwezige wormen. Eventueel kunnen regenwormen worden gevangen door het ingraven van mestpakketjes (Satchell, 1971). Ook kan de proefopzet worden aangepast in de zin van meer of grotere submonsters. Gezien de in Nederland waargenomen aantallen wordt hier door ons gekozen voor de teelt waarop het middel wordt toegepast in plaats van een weiland; een veldtoets wordt immers juist uitgevoerd om de veldsituatie beter te kunnen voorspellen. Om deze reden wordt ook niet de voorkeur gegeven aan het plaatsen van kisten, maar, indien noodzakelijk, aan het vangen van de aanwezige wormen via mestpakketjes.

Bij het gebruik van herbiciden wordt een blanco met een voor regenwormen niet-toxisch herbicide aanbevolen. Op deze wijze kunnen de ecologische van de toxische effecten worden gescheiden. Eventueel kan onkruid met de hand worden uitgetrokken.

Toediening

Het in viervoud uitvoeren van de toets, zoals ook voorgesteld door het BBA-voorschrift, is een (minimum) vereiste in verband met het uitvoeren van een aantal statistische toetsen, zoals bijvoorbeeld een variantieanalyse.

Waarnemingen

Regenwormen en (a)biotische milieufactoren
In het BBA-voorschrift is geen monstername voorafgaand aan de toets vereist. Dit is volgens ons echter wel noodzakelijk om een eventuele "natuurlijke" clustering of verschillen in voorkomen tussen de proefvelden op het spoor te komen, bijvoorbeeld door een inhomogene verdeling van organische stof over de bodem. Na toediening vindt de eerste monstername plaats na één maand; hiermee worden dan tevens de eerder optredende effecten waargenomen (schr.med. van Gestel).

De te gebruiken "formaline-methode" wordt in principe uitgevoerd volgens Raw (1959), aangepast volgens Satchell (1971). Omdat in het protocol van de BBA, maar tevens in vele andere onderzoeken (zie: appendix 4.2.2) wordt gekozen voor een monstergrootte van 0,25 m^2, wordt de halve hoeveelheid formaline gebruikt, die Satchell voorschrijft voor 0,5 m^2.

In de literatuur (o.a. Satchell, 1971) wordt op verschillende plaatsen aangegeven dat er correctie-mogelijkheden bestaan voor o.a. temperatuur, vochtgehalte bodem, vangmethode, correlatie drooggewicht-versgewicht. Bij de voorgestelde richtlijn gaat het echter steeds om een vergelijking van verschillende behandelingen. Als er tussen de gebruikte proefvelden geen verschillen zijn in bovengenoemde factoren, zijn correcties niet noodzakelijk om de verschillen tussen de proefvelden te traceren. Dergelijke correcties kunnen echter wel nuttig zijn als verschillende proeven met elkaar worden vergeleken. Daarom wordt aanbevolen om temperatuur en vochtgehalte van de bodem toch wel te meten.

Middel
De blootstelling van de bodem en daarmee van de regenwormen kan sterk variëren afhankelijk van de bedekking van het gewas. Daarom moet de bedekking regelmatig worden opgenomen en moeten ook residuen in en op de bodem en in de regenwormen regelmatig worden bepaald.

Voorgestelde **RICHTLIJN VELDTOETS REGENWORMEN**

1. PROEFVOORWAARDEN

1.1 Keuze van toetsorganisme en gewas

In de proefvelden moeten van de regenwormen (behorende tot de Oligochaeta) in ieder geval Lumbricus terrestris, Apporectodea caliginosa en Lumbricus rubellus voorkomen. Toets uitvoeren op een bodem waarop het middel wordt gebruikt. Toets uitvoeren in een teelt met de hoogst voorgeschreven dosis. Ten behoeve van de 'worst case' bij voorkeur op de minst zware gronden.

1.2 Proefvoorwaarden

In het veld worden gelijktijdig proefvlakken behandeld met het te toetsen middel, proefvlakken met een uitgesproken regenworm-gevaarlijk middel (bijv. benomyl) en worden proefvlakken behandeld met water of eventueel met een andere, op de formulering lijkende, onschuldige draagstof. Bij onderzoek van een herbicide moet naast de blanco ook een proefvlak worden behandeld met een worm-ongevaarlijk herbicide. Proef uitvoeren op een moment dat verwacht kan worden dat de wormen niet in diapauze verkeren, dus niet bij droog en/of warm weer.

1.3 Overige proefvoorwaarden

De toets dient te worden uitgevoerd op gronden waar ten minste 100 regenwormen per m^2 aanwezig zijn, waaronder de bij 1.1 genoemde soorten. De duur van de toets bedraagt één jaar.

1.4 *Technische uitvoering*

Proefvlakgrootte

Proefvlakken moeten een omvang hebben van minstens 10x10 meter.

Proefveldindeling

Proef in viervoud uitvoeren of zoveel vaker als nodig is voor een statistische analyse (Healy, 1961; Neuhauser, 1989). De proefvelden liggen zover van elkaar af dat een wederzijdse beïnvloeding door bespuiting is uitgesloten; dit wordt gewaarborgd door een afstand tussen de velden van minstens 100 m.

2. TOEDIENING VAN DE MIDDELEN

2.1 Middelen

Het te onderzoeken middel wordt toegepast volgens de door de producent ingediende gebruiksaanwijzing en met een praktijkformulering.

2.2 Behandelingsapparatuur

De middelen toedienen met gangbare apparatuur volgens voorschrift.

2.3 Dosering middel

Toedienen van de hoogst voorgeschreven dosis van de betreffende formulering en het viervoudige hiervan. Aan alle zijden van het proefveld wordt een bufferzone van min. 2,5 m breedte meebehandeld.

2.4 Aantal en tijdstip van de behandelingen

De behandeling vindt plaats op een tijdstip dat het middel normaal gesproken zal worden toegepast. Bespuiting van de verschillende velden liefst gelijktijdig, maar in ieder geval binnen een periode van 2 uur, teneinde eventuele verschillen in weersomstandigheden uit te sluiten. Meerdere behandelingen tijdens de toets volgens voorschrift uitvoeren.

3. WAARNEMINGEN

Methoden en frequentie

De bemonstering vindt plaats door per veldje 10 monsters van 0,25 m^2 te nemen. Hierbij wordt gebruik gemaakt van de formaline-methode. Voor formaline wordt geadviseerd om 3 keer 5 liter van een 0,275% oplossing met intervallen van 10 minuten toe te passen. Bij lage aantallen wormen zijn mogelijk meer monsters noodzakelijk. Voor het bepalen van het noodzakelijke aantal monsters wordt verwezen naar Healy (1962).

Bij zeer lage aantallen regenwormen kan het vangen van wormen met behulp van mestpakketjes een beeld geven van relatieve verschillen in activiteitspatronen tussen proefvlakken. Pakketjes van 600 ml kunnen worden gebruikt. Hiervoor kan gebruik worden gemaakt van een aardewerken pot, waarin het pakketje wordt geplaatst. De pot wordt ingegraven en na 14 dagen meegenomen, zodat de wormen in het laboratorium kunnen worden uitgezocht (Satchell, 1971).

Monstername vindt plaats 1 week vóór de behandeling en 4 weken, 4 maanden en 1 jaar ná de behandeling. Bij herhaalde behandeling steeds in ieder geval na 4 weken waarnemen. In de eerste week na bespuiting worden de proefvelden dagelijks visueel geïnspecteerd om eventuele afwijkingen waar te nemen.

Waargenomen worden de abundantie en de biomassa, zowel van de afzonderlijke soorten als van de totale groep aanwezige regenwormen. Verder worden de dominantie en de verhouding adult/juvenielen bepaald. Voor de biomassa-bepaling is het van belang dat deze voor de verschillende monsters op hetzelfde moment na bemonstering wordt uitgevoerd.

Voor het bepalen van de bijdrage van regenwormen aan de afbraak van organisch materiaal kan gebruik worden gemaakt van litter-bags met verschillende maaswijdte (resp. 0,5 en 7 mm) volgens Heath et al. (1966). Hiermee

kan resp. de afbraak zonder en met regenwormen worden bepaald. Per 'plot' worden 4 zakjes van beide maaswijdten ingegraven; in elk zakje worden 50 geponste schijven van bladeren (diameter 2,5 cm) gedaan; afhankelijk van de hardheid van de bladeren moet per week of minder frequent (bijv. om de maand) naar de decompositie worden gekeken. Zie voor achtergrondinformatie ook Swift et al. (1979).

Voor het onderbouwen van een causale relatie is het van belang om ook de residuen aan bestrijdingsmiddel te bepalen. Op de dag na bespuiting en een week na bespuiting worden de residuen in en op de bodem bepaald. Bij elke bemonstering van de wormen wordt bij een gedeelte van de wormen het residu in de wormen bepaald. Tevens wordt de gewas-bedekking op het moment van bespuiting en bij de monsternames opgenomen.

Tevens worden dagelijks op vaste tijden de temperatuur en het vochtgehalte van de bodem bepaald.

4. VOORWAARDEN VOOR GELDIGHEID

Toetsresultaten worden niet geaccepteerd bij onduidelijkheden in de resultaten en als in de blanco's veel sterfte optreedt of in de positieve controle weinig sterfte. Zie hiervoor gegevens over de populatiedynamica van regenwormen (bijv. Boström, 1988).

KOSTEN

Kenschets proefopzet:

A	B	C	D	E	F	G	H
soort	aspect	type	dosering	blanco	veelvoud	monsters	bemonst.
l	a b po	v	hp 4hp	b') g	≥ 4	≥10	≥ 4

') Bij onderzoek van een herbicide moet naast de blanco ook een regenwormen-ongevaarlijk middel worden toegepast.

Voor de betekenis van de gebruikte codes wordt verwezen naar § 4.3 van het hoofdrapport (= deel A).

	netto-werkdagen	materiaalkosten
1 materiaal	5	
- toetsorganismen		500
- proefvelden		1.000
- veldapparatuur		500
2 bemonsteren (5x≥160 mnst.)		1.000
- toetsorganismen	10	
- abiotische parameters	5	
3 meten parameters		
- toetsorganismen	160	-
- gehaltebepalingen	20	1.000
- abiotische parameters	10	1.000
4 interpreteren gegevens	10	p.m.
5 invullen toetsformulier	5	n.v.t.
totaal werkdagen	ca. 225	n.v.t.
kostenschatting (subtot.)	f 168.750	f 5.000

kosten totaal (volgens zeer ruwe schatting): ca. f 175.000

Appendix 4.2.1 Overzicht bestaande richtlijnen voor veldtoetsen met regenwormen

Engeland (MAFF, 1986: Working Document 7/6)
- Proefveldjes van minimaal 10 m^2 op een veld met gewas.
- Toedienen van twee doseringen van het te toetsen middel en een toxische standaard, bijvoorbeeld benomyl.
- Toediening volgens voorschrift.
- Monstername tussen augustus en november bij behandeling in het voorjaar.
- Bemonstering volgens methode van Raw (1959); hiervoor worden frames gebruikt van 0,5 m^2; in deze frames wordt met een gieter een formaline-oplossing (50 ml 40% in 9 l water) op de bodem gegoten, op zo'n wijze dat geen plassen blijven staan; binnen 15 min. komen de meeste wormen aan het oppervlak en worden verzameld in 10% formaline.
- Per 'plot' worden 3 of 4 van dergelijke monsters genomen.
- Voor residu-bepalingen kunnen wormen worden verzameld met formaline, een electro-methode of door ze uit te graven; bij de formaline-methode is het van belang om de dieren onmiddellijk in schoon water te spoelen; bij de electro-methode worden twee electroden 10 tot 20 cm in de bodem gestoken en een wordt een schok van 220 Volt (wisselstroom) gegeven; bij lichtnet aansluiting is één schok voldoende, bij gebruik van een aggregaat moeten al naar gelang de kracht van dit aggregaat 2 schokken worden gegeven. In alle gevallen moeten de wormen minstens 24 uur op vochtig filtreerpapier worden geplaatst om hun darm te legen.

West-Duitsland (BBA, 1989, Protocol in ontwikkeling: stand van zaken n.a.v. een 'Richtlinienbesprechung' [volgens schr.med. van Gestel]):
- Proefveldjes bij voorkeur op weiland, eventueel op bouwland.
- Hoogst toegelaten dosering en een veelvoud daarvan (4 of 10 x).
- Oppervlakte per veldje 10x10 meter, toets in viervoud uitvoeren.
- Toxische standaard meenemen, bijvoorbeeld benomyl.
- Lumbricus terrestris en Apporectodea caliginosa in voldoende aantallen aanwezig (> 100/m^2).
- Monstername na 4 weken, 4-6 maanden en 1 jaar.
- 8-10 monsters ter grootte van 0,25 m^2.
- Bemonsteren met formaline-methode, eventueel in combinatie met electro-methode.

Waarnemingen:
- Parameters: abundantie, biomassa, dominantie, verhouding adulten/juvenielen.

Beoordeling:
- Volgens Heimbach (Bayer) zijn voor het aantonen van significante verschillen van 10, 20 en 25% tussen proefveldjes resp. 43, 10 en 8 monsters nodig.
- Volgens Bauchenss (BLBP) moeten, voor het vaststellen van herstel de proefveldjes gedurende 5 jaar worden gevolgd.

FAO (1985) Voor richtlijnen voor veldtoetsen verwijst de FAO naar Wright (1977), Raw (1959) en de Engelse voorschriften.

Appendix 4.2.2 Overzicht uitgevoerd veldonderzoek met regenwormen

Raw (1959) Beschrijft en vergelijkt methoden voor het bemonsteren van regenwormen. Voor de formaline-methode wordt 25 ml 40% formaline toegevoegd aan 3,785 l water. Deze oplossing wordt toegevoegd aan 0,37 m^2. Deze toediening kan eventueel na 20 minuten worden herhaald. Dezelfde behandeling kan ook worden uitgevoerd door 7 gram kaliumpermanganaat op te lossen. De "handsorteermethode" werd uitgevoerd door een bodemmonster te nemen met 21,59 cm diameter over 20,3 cm diepte, en deze 2-3 uur op wormen te doorzoeken. De methoden werden vergeleken door in boomgaarden met de eerste twee methoden 10 monsters te nemen en met de handsorteermethode 8. Met formaline-methode worden veel meer wormen bemonsterd dan met de kaliumpermanganaat-methode. Dit geldt zowel voor dieper levende als voor oppervlakkig levende soorten. Bij de handsorteermethode bleek de monsterdiepte te gering voor een dieper voorkomende soort, zoals Lumbricus terrestris. Voor de oppervlakkig levende soorten bleek de handsorteermethode de beste resultaten op te leveren.

Zicsi (1962) Voor monstername waarbij het monster met de hand wordt uitgezocht, worden verschillende oppervlakten geprobeerd. 16 monsters van 1/16 m^2 geven een representatief beeld van de populaties, althans voor de onderzochte Hongaarse bodems.

Heath et al. (1966) Onderzoeken bijdrage van regenwormen (Lumbricidae) aan afbraak van organisch materiaal door zakjes met een verschillende maaswijdte in te graven (niet en wel toegankelijk voor wormen bij resp. 0,5 en 7 mm). Hierin werden 50 schijven van bladeren (diameter 2,5 cm) van 11 verschillende plantensoorten gedaan, per plant in viervoud. Om de zeven weken werd gekeken hoe het met de afbraak stond. "Harde" bladeren werden in maximaal één jaar afgebroken; voor "zachte" bladeren bleek dat zeven weken te lang was; beter is het om gedurende de eerste vijf weken één waarneming per week te doen.

Long et al. (1967) Onderzoek naar effecten van chloordaan in de bietenteelt. 6 'plots' van 3 rijen breed en 43 meter lang werden bespoten en 6 niet. Per 'plot' werden 36 monsters van 11,4 dm^2 genomen tot een diepte van 30 cm. Van deze monsters werd een derde verzameld en met de hand uitgezocht gedurende de drie maanden volgend op behandeling. (De overige monsters werden gebruikt voor het bepalen van de effecten op andere organismen). Deze methode blijkt te voldoen om effecten op de aantallen wormen aan te tonen.

Van Rhee (1970) Het aantal regenwormen op akkers bedraagt 0,5-3 miljoen per ha. Als monstermethode wordt aanbevolen het uitgraven van 50x50x50 cm grond en het verkregen materiaal met de hand uitzoeken.

Satchell (1971) Beschrijft verschillende methoden van bemonsteren: Uit de grond jagen door stroom of irriterende vloeistof, het verzamelen en uitzoeken van grond en het verzamelen met behulp van vallen.
Voor formaline wordt geadviseerd om 3 keer 9 liter (d.w.z. 2 'gallons') van een 0,275% oplossing met een interval van 10 minuten toe te passen op een oppervlakte van 0,5 m^2. 95% van de wormen wordt op deze manier gevangen. Voor het bereiken van een grotere nauwkeurigheid moeten meerdere

'plots' worden bemonsterd. Met name voor Lumbricus terrestris kan een correctie voor temperatuur en vochtigheid van de bodem worden gemaakt volgens de formule: Gecorrigeerde populatie-omvang = waargenomen omvang x $\exp\{0{,}0075\ (T - 10{,}6)^2\} \times \exp\{-0{,}0214\ (M - 40)\}$, waarin T = bodemtemperatuur op 10 cm diepte (°C) en M = % vocht van de bodem.

Het met de hand sorteren is alleen geschikt voor grotere regenwormen (> 0,2 g). Aanvullingen voor de kleinere regenwormen kunnen plaatsvinden door bijvoorbeeld de grond in water met formaline of MgSO te plaatsen. Met de laatste oplossing komen bovendien ook de cocons bovendrijven, zodat een totaalbeeld van de populatie-opbouw wordt verkregen. Uitspoelen met water door zeven blijkt een minder praktische methode. Ook hitte-extractie is mogelijk: een voorbeeld wordt genoemd van een plastic babybad van 55x45 cm waarin op een laag gaas op 5 cm hoogte een grondmonster van 20x20x10 cm werd gelegd. In het bad stond een laag van enkele centimeters water en erboven hingen 14 lampen van 60 W. Gedurende drie uur werd verhit. De resultaten lijken over het algemeen beter dan die van methoden met formaline of het sorteren met de hand.

Vooral bij zeer lage aantallen regenwormen in de bodem kan het vangen van wormen met behulp van mestpakketjes een beeld geven van relatieve verschillen in activiteit tussen proefvlakken. Het aantal wormen blijkt gecorreleerd met de grootte van de mestpakketjes. Pakketjes van 600, 300 en 150 ml worden genoemd. Een methode om de pakketjes in het lab uit te zoeken is om ze in een aardewerken pot te plaatsen, die wordt ingegraven en na 14 dagen wordt weer wordt meegenomen.

Bij de handsorteermethode blijken grotere monsters tot een lagere efficientie te leiden. Monsters van 25x25 cm en 40 cm diep blijken te voldoen. Het aantal monsters hangt sterk af van de monstergrootte en van de dichtheid van een betreffende soort. Voor een verzamelfout < 5% wordt in een experiment bepaald dat voor de verschillende soorten van 32 tot 358 monsters moeten worden genomen.

De biomassa van wormen neemt gedurende conservering af. Het is derhalve gewenst om hiervoor te corrigeren, of om de biomassa van de verschillende monsters op eenzelfde tijdstip na conservering te bepalen. Verder dient rekening gehouden te worden met de darminhoud, en moet, wanneer geconserveerde beesten worden gewogen, de relatie droog/versgewicht worden gehanteerd c.q. vastgelegd. Ook subtielere eigenschappen zoals de grootteklasse-verdeling, groeicurves, overleving en relatieve productiviteit worden beschreven, naast het metabolisme (voeding, uitscheiding en ademhaling).

Henderson & Clements (1977) In een experiment werden tien locaties in graslanden geselecteerd. Op elke locatie werden zes paren veldjes van 2x6 m gebruikt. Van elk paar werd één veldje behandeld met aldrin en foraat (granulaat). De verschillende veldjes waren tussen de 5 en 48 maanden vooraf ingezaaid met raaigras. De evertebraten-fauna werd gedurende twee jaar bemonsterd. De regenwormen werden in november bemonsterd door per veldje twee plotjes van 0,37 m^2 met een verdunde formaline-oplossing te behandelen (Raw, 1959). Er wordt wel verschillen gevonden tussen de aantallen regenwormen, maar er wordt niet aangegeven of dit een effect is van de bestrijdingsmiddelen.

Wright (1977) Onderzoekt regenwormen in 'plots' in proefboomgaarden, een jaar nadat deze met verschillende fungiciden (waaronder benomyl) zijn bespoten. Voor de bemonstering wordt de methode van Raw (1959) gebruikt. De controle-'plots' werden dit jaar niet bespoten, echter wel in de voorafgaande jaren. Bepaald werden de aantallen en de biomassa. Effecten kunnen worden aangetoond; bij benomyl nemen alle soorten in aantal af; van Lumbricus terrestris en Allobophora chlorotica gaan alle individuen dood.

Eijsackers & van de Bund (1980) Voor de "grotere bodemfauna" wordt een proefveldgrootte van 10x10 m aanbevolen. Bemonstering kan het beste plaatsvinden door 0,25 m^2 uit te graven en met de hand uit te zoeken. Regenwormen zijn geschikt om de aantasting van bodemfuncties te onderzoeken. Wegens het relatief geringe aantal soorten zijn regenwormen minder geschikt om de effecten op de diversiteit te onderzoeken.

Bunyan et al. (1981) Met aldicarb (granulaat) werd getracht aan te tonen hoe en via welke routes een middel zich door het milieu verspreid. Twee bietenvelden werden bemonsterd; één behandeld veld en één met een onbehandelde strook. Bemonstering vond plaats op 10 plaatsen binnen het geselecteerde proefveld, vóór en 14, 28 en 56 dagen ná de behandeling (voor methode zie: Raw, 1959). Weinig wormen werden aangetroffen, waarschijnlijk door de lichte grond en de landbouwinvloeden. De grootste groep werd dood of stervend gevonden aan het oppervlak, zes dagen na toediening, waarschijnlijk veroorzaakt door opgelost aldicarb. Residuen konden niet worden aangetoond.

Edwards & Brown (1982) Studies van 2-5 jaar naar de effecten van bestrijdingsmiddelen op populaties van regenwormen in grasland op drie verschillende bodemtypen. Grasland wordt gebruikt omdat lange-termijn-onderzoek hier beter mogelijk is dan in steeds opnieuw verstoord akkerland. Bovendien zijn in graslanden zowel de aantallen individuen als het aantal soorten hoger dan in akkers. 'Plots' bestonden uit 6 m^2 met vrije stroken van 1,5 m; proeven werden steeds in drievoud uitgevoerd. Bij elk experiment werden de 'plots' behandeld met resp. het te onderzoeken middel in de voorgeschreven dosis en met 10 x de voorgeschreven dosis. Bovendien waren er steeds twee onbehandelde controles en één 'plot' met een toxische standaard (benomyl). In het geval van een herbicide werd ook een veld behandeld met paraquat; dit heeft geen toxische effecten op wormen, zodat de ecologische effecten en de toxische effecten van het te toetsen middel afzonderlijk kunnen worden vastgesteld. De middelen werden over het algemeen in het voorjaar toegepast; bemonstering vond plaats vlak vóór behandeling, en 1, 6 en 12 maanden na behandeling en daarmee in het voorjaar en het najaar als wormen actief zijn. Bemonstering vond plaats op twee vlakken van 60x60 cm, volgens een vast patroon over het proefveld. Verzamelmethode met formaline: 60x60 cm van het gewas zeer kort knippen en 9 liter 0,22% formaline toepassen, eventueel op natte of slecht doorlatende grond 4,5 liter. De wormen worden binnen 20 minuten geïdentificeerd, geteld en gewogen en zo mogelijk gescheiden in adulten en juvenielen. De aantallen worden logaritmisch getransformeerd en geanalyseerd met een variantie-analyse. Wanneer er een significant verschil is (F-toets, P=5%), wordt getoetst welke individuele 'plots' verschillen met behulp van de t-toets (P=5% of P=1%). Behandeling met paraquat heeft ook

populatie-afname tot gevolg, wegens indirecte effecten door het afsterven van de grasmat.

Ma (1982) Aangegeven wordt dat regenwormen met name in boomgaarden en grasland in grote aantallen voorkomen en een belangrijke rol spelen in de bodemprocessen. Tevens wordt aangegeven dat de aantallen in akkers sterk gereduceerd kunnen zijn i.v.m. grondbewerking e.d. Regenwormen zijn belangrijk omdat ze een rol kunnen spelen bij doorvergiftiging. Beschreven wordt een methode voor veldonderzoek naar de effecten van bemesting: proefveld op een grasland op zandgrond. Vakken van 2x2 m werden (in duplo) met verschillende hoeveelheden en soorten mest behandeld. Bemonstering vond plaats door per 'plot' in het midden een stuk grond van 50x50x50 cm uit te graven. De grond werd met de hand op regenwormen doorzocht. De biomassa werd bepaald nadat de wormen twee dagen bij 15 °C in een petrischaal met vochtig filtreerpapier hadden gelegen (darm leeg). Voor statistische beoordeling wordt gebruik gemaakt van lineaire regressie en van de chi-kwadraat toets. Onderzocht zijn: aantallen, verschuivingen in soortensamenstelling en leeftijdsopbouw. In een tweede experiment werd de invloed van hoge kopergehalten op de fecunditeit en de groei en ontwikkeling onderzocht. Hier werden proefvelden gebruikt van 5x5 m, per behandeling in duplo. Regenwormen werden verzameld door de bovenste 30 cm van de bodem gedurende 15 min. in trilling te brengen en de wormen binnen een oppervlak van 1x2 m te bemonsteren. Op deze wijze kunnen relatieve verschillen tussen populaties worden aangetoond. De monsters werden genomen drie jaar na de toepassing. Gemeten worden aantallen en biomassa per jaarklasse en per m^2, zowel per soort als voor de hele populatie. In een onderzoek naar de effecten van het gebruik van zuiveringsslib werd op dezelfde wijze een oppervlak van 3 m^2 op 60 cm van de rand van de 'plots' bemonsterd.

Forsyth (1983) Een onderzoek naar de gehalten van DDT in (a)biotische compartimenten. Toepassing als granulaat in een boomgaard. Als onderdeel wordt gekeken naar regenwormen. Deze werden bemonsterd met de methode van Raw (1959). De bemonstering vond plaats 6 dagen na toediening, verder in de eerste maand elke week en daarna om de maand. Residuen in regenwormen blijken relatief hoog, en nemen na enkele jaren af.

Ebing et al. (1984) Regenwormen geschikte indicatoren omdat ze zowel blootgesteld worden aan stoffen aan het oppervlak als in de bodem, en daarbij grote hoeveelheden grond verwerken. Daar staat tegenover dat regenwormen over het algemeen minder gevoelig zijn voor milieuvreemde stoffen. Eén experiment wordt uitgevoerd met een ingegraven kist van eternit van 120 bij 60 cm en 65 cm diep, aan de onderzijde afgesloten met gaas. Hierin worden 60 adulte individuen van Lumbricus terrestris gebracht. Na een gewenningsperiode van één week worden verschillende kisten bespoten met verschillende bestrijdingsmiddelen (volgens praktijkdosering en -formulering). In de wormen en grond wordt na 21 dagen het residu bepaald. Verschillen worden gevonden. In een tweede onderzoek worden 100-200 g wormen verzameld van verschillende teelten en geanalyseerd op residuen.

Conrady (1986) Effecten van atrazin en pentachloorfenol op de bodemevertebraten in een grasland. Proefvelden van 15 m^2 worden resp. bespoten met twee concentraties atrazin en pentachloorfenol; er is één onbespoten

veld. De proef wordt nog eens uitgevoerd met 'exclosures' van 9 m^2. Bemonstering vond plaats door per veldje vijf bodemmonsters te nemen van 20 cm diameter en 5 cm diep; de dieper voorkomende wormen werden bemonsterd door in de gaten drie keer om de 10 minuten 1 liter formaline (0,55%) te gieten. Monsters werden genomen vanaf de derde dag na toediening en daarna om de twee weken tot drie maanden na toediening. Bemonsterd werden aantallen per soort en leeftijdsklassen, biomassa. Er bleken significante effecten op juvenielen van één soort bij pentachloorfenol. De aanwezigheid van 'exclosures' heeft voor regenwormen geen effect. Aanvullend werd de verdeling van de wormen over de proefvelden bemonsterd door 15 submonsters uit elk perceel te nemen. Een analyse bleek slechts mogelijk voor twee soorten (wegens voldoende dichtheid). Er bleek dat bij deze soorten aggregatie plaatsvond na toediening, waarschijnlijk veroorzaakt door verschillen in vegetatie, waardoor de snelheid van in de bodem dringen van bestrijdingsmiddelen verschillend was.

Boström (1988) Vergelijkt formaline-methode met hand uitzoeken. De formaline-methode geeft een 7% hogere abundantie, maar een 17% lagere biomassa. Nadeel van de formaline-methode is dat zij alleen werkt als de wormen actief zijn, dus bij bepaalde temperatuur en vochtigheid. Formaline-methode: frames van 0,5 m^2 werden 5 cm de grond ingebracht, in vier-voud per plot. Hierbinnen werd het gewas verwijderd en er werd 10 liter 0,2% formaline opgebracht, twee maal met tussenpoos van een kwartier. Alle wormen die binnen 1,5 uur verschenen werden verzameld, schoongeveegd en bij 5 °C bewaard. Binnen 24 uur werden de wormen gescheiden in adulten en juvenielen, geteld, op een filtreerpapier gerold en gewogen, inclusief de darminhoud. Door deze gegevens te vergelijken met eenzelfde oppervlakte grond, waarin de wormen met de hand en met zeven werden uitgezocht, kon een correctiefactor worden opgesteld (voor de specifieke situatie).

Ma (1988) Effecten van koperhoudende mest op regenwormen. Koperhoudende mest werd in verschillende samenstellingen jaarlijks met de grond gemengd. Na drie tot vier jaar werden wormen gevangen door twee tot vier replica's te bemonsteren door middel van graven en met de hand uitzoeken, gevolgd door een formaline-extractie. Effecten van koperhoudende grond konden worden aangetoond.

Neuhauser et al. (1989) Experiment naar de effecten van oliehoudend afval op regenwormen. 20 'plots' van 4x4 m met 4 m tussenruimte worden uitgezet. De vier op de hoeken gelegen 'plots' worden niet bemonsterd om hoekeffecten uit te sluiten. Behandelingen werden in vier-voud uitgevoerd; er waren twee soorten blanco's: één totaal onbehandeld en één alleen beheerd. Bemonstering vond plaats enkele dagen voor en maandelijks na behandeling, in het groeiseizoen, met een metalen frame van 20x20x15 cm monsters te nemen. Per plotje werden drie monsters genomen, die met de hand werden uitgezocht voor bepaling van de dichtheid en de biomassa. De gegevens werden geanalyseerd met een 'one way'-variantie-analyse en met de 'Student-Newman-Keuls multiple comparison'-toets.

LITERATUUR

Boström, U., 1988. Ecology of earthworms in arable land. - Report 34, Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala. 92 p.

Bund, C.F. van de, 1980. De bodemfauna van bouwland in verband met neveneffecten bij het gebruik van bestrijdingsmiddelen in de praktijk. Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen. 54 p.

Bunyan, P.J., M.J. van den Heuvel, P.I. Stanley & E.N. Wright, 1981. An intensive field trial and a multi-site surveillance exercise on the use of aldicarb to investigate methods for the assessment of possible environmental hazards presented by new pesticides. - Agro Ecosystems 7: 239-262.

Conrady, D., 1986. Ökologische Untersuchungen über die Wirkung von Umweltchemikalien auf die Tiergemeinschaft eines Grünlands. - Pedobiologia 29: 273-284.

Ebing, W., J. Pflugmacher & A. Haque, 1984. Der Regenwurm als Schlüsselorganismus zur Messung der Bodenbelastung mit organischen Fremdchemikalien. - Berichte über Landwirtschaft 62 (2): 222-225.

Edwards, P.J. & M. Brown, 1982. Use of grassland plots to study the effect of pesticides on earthworms. - Pedobiologia 24: 145-150.

Eijsackers, H. & C.F. van de Bund, 1980. Effects on soil fauna. In: Interactions between herbicides and the soil. Academic Press, Londen: 255-305.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 1985. Guidelines on environmental criteria for the registration of pesticides. FAO, Rome. 39 p.

Forsyth, D.J., T.J. Peterle & L.W. Brandy, 1983. Persistence and transfer of ^{36}Cl-DDT in the soil and biota of an old-field ecosystem: a six-year study. Ecology 64 (6): 1620-1636.

Healy, M.J.R., 1962. Some basic statistical techniques in soil zoology. In: Murphy, P.W. (ed.); Progress in soil zoology. Butterworths, London: 3-9.

Heath, G.W., M.K. Arnold & C.A. Edwards, 1966. Studies in leaf litter breakdown. I. Breakdown rates of leaves of different species. - Pedobiologia 6: 1-12.

Henderson, I.F. & R.O. Clements, 1977. Grass growth in different parts of England in relation to invertebrate numbers and pesticide treatment. - J. Britisch Grassland Society 32: 89-98.

Long, W.H., H.L. Anderson, A.L. Isa & M.L. Kyle, 1967. Sugarcane growth responses to chlordane and microarthropods and effects of chlordane on soil fauna. - J. Economic Entomology 60 (3): 623-629.

Ma, W., 1982. Regenwormen als bio-indicators van bodemverontreiniging. Bodembescherming 15. Staatsuitgeverij, Den Haag. 111 p.

Ma, W., 1988. Toxicity of copper to lumbricid earthworms in sandy agricultural soils amended with Cu-enriched organic waste materials.- Ecological Bulletin 39: 53-56.

MAFF (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food), 1986. Data requirements for approval under the control of pesticides regulations. MAFF, Harpenden. 219 p.

Neuhauser, E.F., R.C. Norton, R.L. Loehr & D.Y. Sillman, 1989. Earthworm an soil microarthropod responses to oily waste application. - Soil Biol. Biochem. 21 (2): 275-281.

Raw, F., 1959. Estimating earthworm populations by using formalin. - Nature 184: 1661-1662.
Rhee, J.A. van, 1970. De regenwormen (Lumbricidae) van Nederland. - Wet. med. KNNV 84, Hoogwoud.
Satchell, J.E., 1971. Earthworms. In: Phillipson, J. (ed.); Methods of study in quantitative soil ecology: population, production and energy flow. - IBP Handbook 18: 107-127.
Swift, M.J., O.W. Heal, J.M. Anderson, 1979. Decomposition in terrestrial ecosystems. - Studies in Ecology 5, Blackwell: 372 p.
Wright, M.A., 1977. Effects of benomyl and some other systemic fungicides on earthworms. - Proc. Ass. Appl. Biologists: 520-524.
Zicsi, A., 1962. Determination of number and size of sampling unit for estimating Lumbricid populations of arable soils. In: Murphy, P.W. (ed.); Progress in soil zoology. Butterworhs, London: 68-71.

Voorstel voor

RICHTLIJN VOOR HET UITVOEREN VAN VELDTOETSEN TER BEPALING VAN NEVENEFFECTEN VAN CHEMISCHE BESTRIJDINGSMIDDELEN IN HET VELD OP

LOOPKEVERS

VELDTOETS LOOPKEVERS

Algemeen

Binnen de Engelse toelatingsprocedure (zie: appendix 4.3.1) bestaat een richtlijn voor een veldtoets met loopkevers (= Carabidae). Daarnaast geeft ook de IOBC aanwijzingen. De aanwijzingen uit deze toetsen zijn zoveel mogelijk overgenomen. Uit de literatuur (zie: appendix 4.3.2) blijkt dat bij kleine proefvlakken zonder barrières er meestal geen significante effecten worden gevonden (Bunyan et al., 1980; Stinner et al., 1986). Door de onderzoekers zelf wordt aangegeven dat dit niet hoeft te betekenen dat er geen effecten optreden. Waarschijnlijk waren de proefvlakken te klein, zodat loopkevers van buiten het proefvlak zeer snel hun eventueel aangetaste soortgenoten konden vervangen. Bij het gebruik van grotere proefvlakken worden wel effecten aangetoond (Berger, 1985; Heimbach, 1988). Vanwege de praktische uitvoerbaarheid wordt voor het traceren van toxische neveneffecten aanbevolen om kleine proefvlakken met barrières (zgn. 'enclosures') te gebruiken. Ook een onderzoek naar veldmethoden (Basedow, 1987) wijst in deze richting. Voor ecologische neveneffecten, die niet direct tot de dood van de organismen leiden, maar bijvoorbeeld tot emigratie, kunnen beter grote proefvlakken worden gebruikt.

Edwards & Thompson (1975) concluderen dat een veldtoets meer informatie geeft dan een laboratorium-toets. Wel geven zij aan dat veldtoetsen zeer bewerkelijk zijn. Voor wat betreft het plaatsen van de barrières blijkt uit de Engelse toelatingsprocedure dat er hiervoor in Engeland inmiddels een machine bestaat.

Proefvoorwaarden

Voor de afmetingen van de 'enclosures' wordt in de Engelse richtlijn 10 m^2 aanbevolen. In veel onderzoeken wordt echter een groter oppervlak genomen. Hier wordt aangesloten bij Eijsackers & Van de Bund (1980) die 10x10 m voorstellen. In aansluiting op in ontwikkeling zijnde laboratorium-toetsen is het gewenst dat er in ieder geval een Bembidion-soort in de proefvlakken aanwezig is. Voor de proefvlakken zonder barrières wordt door de Engelse toelating een minimum oppervlak van 0,5 ha genoemd. De IOBC noemt 3 ha. Vanwege de praktische uitvoerbaarheid wordt hier 0,5 ha als minimum aangehouden. Ook wordt een duplo in plaats van een uitvoering in drievoud voorgeschreven. De resultaten zullen echter een bepaalde statistische significantie moeten hebben, zodat het nodig kan blijken om de toets met meerdere replica's uit te voeren.

Toediening

Naast de hoogst voorgeschreven dosis wordt het viervoudige hiervan toegediend. Hiermee wordt een 'worst case'-situatie gesimuleerd. In ieder geval kunnen uitspraken over het optreden van effecten bij een toediening volgens voorschrift met meer zekerheid worden gedaan.

Waarnemingen

Loopkevers en (a)biotische milieufactoren
Met behulp van vangpotten wordt behalve het aantal organismen ook de activiteit van de organismen waargenomen (Eijsackers & van de Bund, 1980). Deze activiteit wordt naast bestrijdingsmiddelen, ook beïnvloed door bijvoorbeeld het weer, de beschikbaarheid van voedsel, de bodemstructuur etc. Ook deze parameters moeten dus worden vastgelegd bij de veldtoets. In de 'enclosures' moeten de dieren bij voorkeur levend worden gevangen en weer worden teruggezet. Dit brengt een hoge bemonsteringsfrequentie met zich mee, omdat de kevers elkaar ander opeten in de vangpotten. Voor een absolute schatting kan ook gebruik worden gemaakt van merken en terugvangen of kan een bepaald oppervlak geheel worden bemonsterd.

Middel
Voor het bepalen van de werkelijk optredende blootstelling is het van belang om ook de residuen op de bodem en op het gewas te bepalen. Bovendien moet ook de bedekking van het gewas worden geschat. De residuen in de loopkevers zelf kunnen ook worden bepaald; op deze wijze kan een gevonden resultaat worden ondersteund.

Voorgestelde **RICHTLIJN VELDTOETS LOOPKEVERS**

1. PROEFVOORWAARDEN

1.1 Keuze van toetsorganisme en gewas

Toets met loopkevers (= Carabidae): in de proefvlakken moeten Bembidion-soorten aanwezig zijn. Toets uitvoeren op een bodem waarop het middel wordt gebruikt. Toets uitvoeren in een teelt waarin de hoogste dosis wordt voorgeschreven.

1.2 Proefvoorwaarden

In het veld worden gelijktijdig proefvlakken behandeld met het te toetsen middel, proefvlakken met een uitgesproken loopkever-gevaarlijk middel (bijvoorbeeld dimethoaat) en proefvlakken met alleen water of eventueel met een andere, op de formulering lijkende, onschuldige draagstof. Bij onderzoek aan een herbicide moet tevens een extra blanco worden behandeld met een loopkever-ongevaarlijk herbicide, of een blanco die mechanisch onkruidvrij wordt gemaakt. Proef uitvoeren op beteelde grond. Bespuiting uitvoeren onder weersomstandigheden dat de kevers actief zijn, te weten bij warm en (vrijwel) droog weer.

1.3 Overige proefvoorwaarden

Voorafgaand aan de toets moet worden nagegaan hoeveel loopkevers er op het proefterrein voorkomen. Hieruit kan worden berekend hoeveel replica's noodzakelijk zijn voor een statistisch significant resultaat.

1.4 Technische uitvoering

Proefvlakken zonder barrières

Proefvlakken (zonder barrière) moeten een omvang hebben van minstens 0,5 ha. Proef minimaal in duplo uitvoeren.

'Enclosures'

'Enclosures' moeten een oppervlak hebben van minstens 100 m^2. Geschikte barrières kunnen bestaan uit polytheen-folie, gesteund door paaltjes. Het folie moet 10-15 cm diep worden ingegraven en meer dan 35 cm hoog zijn. De 'enclosures' moet aan de bovenzijde worden afgedekt met gaas, om predatie van kevers uit vangpotten door vogels te voorkomen. Barrières plaatsen na het zaaien, doch voor de toediening van het middel. Proef in viervoud uitvoeren.

Proefveldindeling

De 'enclosures' en proefvlakken liggen zover van elkaar af dat wederzijdse beïnvloeding door bespuiting is uitgesloten; dit wordt gewaarborgd door een afstand tussen de velden van minstens 100 m.

2. TOEDIENING VAN DE MIDDELEN

2.1 Middelen

Het te onderzoeken middel wordt toegepast volgens de door de producent ingediende gebruiksaanwijzing en met een praktijkformulering.

2.2 Behandelingsapparatuur

De middelen toedienen met gangbare apparatuur volgens voorschrift.

2.3 Dosering middel

Toedienen van de hoogst voorgeschreven dosis van de betreffende formulering en met het viervoudige hiervan.

2.4 Aantal en tijdstip van de behandelingen

De behandeling vindt plaats op een tijdstip dat het middel normaal gesproken zal worden toegepast. Bespuiting van de verschillende velden liefst gelijktijdig, maar in ieder geval binnen een periode van 2 uur, teneinde eventuele verschillen in weersomstandigheden uit te sluiten.

3. WAARNEMINGEN

Methoden en frequentie

De bemonstering vindt plaats door per 'enclosure' of proefvlak 8-10 vangpotten te plaatsen van ca. 10 cm diameter en 10-15 cm diep. Vier van de vangpotten in de hoeken van de 'enclosure' plaatsen. Wanneer de vangpotten kort (24-48 uur) openstaan kunnen de dieren levend worden gedetermineerd en weer vrijgelaten; dit is vooral in de 'enclosures' aan te bevelen. De vangpotten moeten dan minstens één maal per dag worden geleegd. Op de bodem van de vangpotten kan een laagje strooisel worden aangebracht, zodat de kevers weg kunnen kruipen. Bij een lagere bemonsteringsfrequentie moeten de dieren worden gedood in de vangpotten. Bij grotere proefvlakken kunnen de dieren direct worden geconserveerd door een laagje formaline 4% met zeep in de vangpotten aan te brengen. De potjes kunnen dan langer (bijv. 5 dagen) blijven staan. Het verdient aanbeveling de vangpotten af te dekken ten einde vollopen bij regen te voorkomen. Dakjes moeten iets groter zijn dan de vangpotten en op ca. 10 cm hoogte boven de vangpotten worden geplaatst.

De soortensamenstelling en de abundantie van de verschillende soorten worden bepaald. Bij voorkeur wordt ook het aantal juvenielen vastgesteld; eventueel kan de reproductie worden geschat door het waarnemen van het percentage werkzame ovaria.

Monstername vindt plaats één week vóór de behandeling en ná de behandeling in de eerste maand om de week en vervolgens om de 2 weken of om de maand. Bij proefvlakken zonder barrières is het gewenst om ook kort na behandeling te bemonsteren.

Voorafgaand aan de toets en verder om de maand wordt een schatting gemaakt van het absolute aantal loopkevers. Dit gebeurt door een raamwerk op de bodem te plaatsen, en in dit raamwerk alle kevers te vangen en te tellen. De grootte en het aantal raamwerken moeten zodanig zijn dat een schatting van het aantal met 95% betrouwbaarheid kan worden uitgevoerd.

Tevens worden tijdens de bemonstering de temperatuur en het vochtgehalte van de bodem bepaald.

Residuen worden, tegelijk met de bemonstering, bepaald op de bodem en op het gewas. Tevens wordt de bedekking van het gewas geschat. Hiernaast moeten residuen in de kevers worden bepaald. Deze bepaling kan plaatsvinden één week na toediening.

4. VOORWAARDEN VOOR GELDIGHEID

Toetsresultaten worden niet geaccepteerd bij onduidelijkheden in de resultaten en als in de blanco's veel of in de positieve controle weinig sterfte optreedt.

KOSTEN

Kenschets proefopzet:

A	B	C	D	E	F	G	H
soort	aspect	type	dosering	blanco	veelvoud	monsters	bemonst.
1	a s	v of k	hp	b') g	v:≥2 k:4	8-10")	8

') *Bij onderzoek van een herbicide moet naast de blanco ook een loopke-*
ver-ongevaarlijk middel worden toegepast.
") Eventueel samen te voegen tot één of enkele mengmonsters.

Voor de betekenis van de gebruikte codes wordt verwezen naar § 4.3 van het hoofdrapport (= deel A).

	netto-werkdagen	materiaalkosten
1 materiaal	5	
- toetsorganismen		-
- proefvelden gereed maken		2.000
- 16 'enclosures' / vallen		5.000
2 bemonsteren (4x4x1[0]x8)		500
- toetsorganismen	20	
- abiotische parameters	5	
3 meten parameters		
- toetsorg.tellen+determ.	40	-
- gehaltebepalingen	20	1.000
- abiotische parameters	5	500
4 interpreteren gegevens	10	p.m.
5 invullen toetsformulier	5	n.v.t.
totaal werkdagen	ca. 110	n.v.t.
kostenschatting (subtot.)	f 82.500	f 10.000

kosten totaal (volgens zeer ruwe schatting): ca. f 92.500

Appendix 4.3.1 Overzicht bestaande richtlijnen voor veldtoetsen met loopkevers

Engeland (MAFF, 1986: Working Document 7/6)
- Toets uitvoeren tussen juni en september, op beteelde grond.
- Zeer groot proefvlak bij vrij levende kevers (min. 0,5 ha) òf plaatsen van barrières (Edwards & Thompson, 1975); in het laatste geval is bijvoorbeeld 10 m^2 genoeg. Geschikte barrières kunnen worden gemaakt van polytheen-folie, ondersteund door paaltjes. Het folie moet 10-15 cm diep worden ingegraven en 37-45 cm hoog zijn. Barrières plaatsen na het zaaien, doch voor de toediening van het middel. Er is zelfs een machine beschikbaar voor het aanbrengen van dergelijke barrières.

Waarnemingen:
- Bemonstering met ingegraven vangpotten (1-10 cm diameter bij 10-15 cm diepte) van plastic. Per veldje voldoen 8-10 vangpotten in het algemeen. Deze vangpotten zijn gewoonlijk met een deksel afgesloten. Voor toediening en daarna om de 1, 2 of 4 weken worden de potjes 24-48 uur opengezet. De gevangen beesten worden geteld en gedetermineerd en vervolgens weer teruggezet in het veldje. Wanneer de vallen langer open blijven kan hierin een kleine hoeveelheid alcohol 50% worden gedaan om de kevers te doden en predatie in de val te voorkomen.
- Toetsen met locale toediening of andere technieken kunnen extra gegevens opleveren.

IOBC (Stevenson et al., 1985) Algemene richtlijn voor het uitvoeren van veldtoetsen in akkerbouw.
- Toets uitvoeren met naast het te toetsen middel een onbehandelde (water) controle en bij voorkeur ook een positieve controle (dimethoaat).
- Uitgewerkt voor wintertarwe: drie grote velden met hetzelfde ras, landbouwgeschiedenis en bewerking, liefst niet te ver van elkaar. De grote velden onderverdelen in twee of drie (bij positieve controle) velden van minimaal 3 ha.
- Loopkevers monsteren met vangpotten: 5-10 per veld, steeds ca. 5 dagen bemonsteren. Kleine loopkevers aanvullend bemonsteren door visueel zoeken.
- Monstertijdstippen: -10, -5, 2, 5, 10, 20 en 50 dagen vanaf de behandeling.

Er bestaat nog een aantal richtlijnen voor "nuttige organismen" bijvoorbeeld 'FAO guidelines' en Duitse 'Richtlinien'. In deze richtlijnen staan echter geen concrete voorstellen voor toetsen met loopkevers.

Appendix 4.3.2 Overzicht uitgevoerd veldonderzoek met loopkevers

Edwards & Thompson (1975) Kevers (Carabidae en Staphylinidae) kunnen belangrijke predatoren zijn op verschillende plaagorganismen. Daarom is onderzocht wat de invloed van insecticiden is op kevers. Kevers zijn zeer actief, daarom moeten zeer grote 'plots' worden gebruikt of 'enclosures' van 8x5,5 m werden uitgezet, met barrières van polytheen-folie, 15 cm ingegraven en 40 cm boven de bodem, ondersteund door houten paaltjes. De 'enclosures' lagen 4,5 meter van elkaar. De barrières werden geplaatst op het moment dat de kevers actief werden, dat wil zeggen mei/juni. Per 'enclosure' werden 8 vangpotten (10 cm diameter) geplaatst, gemarkeerd door een 1 meter hoge stok. De kevers werden elke twee dagen bemonsterd en vervolgens weer vrijgelaten op het veldje. De veldjes werden één week nadat het tellen was begonnen behandeld. Elk jaar van het in totaal vier jaar durende onderzoek werd één 'plot' bespoten met chloorfenvinfos en was er een blanco; de andere twee veldjes werden met andere te onderzoeken middelen en formuleringen behandeld. Bij chloorfenvinfos werden meer kevers gevangen dan in de blanco, waarschijnlijk omdat dit middel niet *toxisch is, maar wel de activiteit beïnvloedt, bijvoorbeeld door het* verminderen van voedsel. Het veldonderzoek was bewerkelijk (zowel het plaatsen van de 'enclosures', als het tellen) maar leverde bruikbare en reproduceerbare resultaten op. Het laboratorium onderzoek kon niet altijd de effecten in het veld voorspellen.

Eijsackers & van de Bund (1980) Proefopzet zo maken dat de belasting met bestrijdingsmiddelen de enige verschillende factor is. Voor loopkevers 'enclosures' gebruiken van 10x10 m. Met vangpotten meet je voornamelijk de activiteit. De vangkans varieert per soort, ze wordt o.a. beïnvloed door de structuur van het bodemoppervlak.

Bunyan et al. (1981) In een suikerbietenveld werden vangpotten geplaatst, waaronder 12 in een onbehandelde strook. De vallen werden gedurende zestien weken gevolgd en wekelijks verplaatst. Hoewel de resultaten moeilijk interpreteerbaar waren wegens lage aantallen, wordt toch aangegeven dat er geen aanwijzingen voor verschillen werden gevonden. Mogelijk werd *dit veroorzaakt door een snelle rekolonisatie.*

Kreutzweiler (1982) Effecten van bosbespuiting met permethrin. In één controle en één behandeld proefvlak werden loopkevers gevangen in vangpotten (12x12x10 cm) gedurende drie perioden van vijf dagen. Per 'plot' werden 20 vallen geplaatst op 5 meter afstand van elkaar; deze werden dagelijks geleegd. Er zijn geen significante verschillen gevonden.

Berger (1985) Veldonderzoek naar de invloed van pirimicarb en andere insecticiden op de bodemfauna, met speciale aandacht voor soorten, die als voedsel dienen voor fazanten en patrijzen. Nagegaan wordt of deze insectengroepen in aantal achteruitgaan bij de bestrijding van luizen met o.a. pirimicarb en oxy-demeton-methyl in bietenvelden. Twee velden (30x100 m) worden bespoten met pirimicarb (50% werkzame stof, 300 g/ha) en twee velden worden bespoten met oxy-demeton-methyl (600 ml/ha, 250 g/l); er zijn 4 controle-velden. Met 12 vangpotten per veld worden de bodemarthropoden 1 x per week geteld van 7 juni tot 2 augustus. Op 28 *juni wordt gespoten; hierbij vindt een intensievere bemonstering plaats* (eens per 2 dagen). Pirimicarb blijkt het aantal loopkevers te reduceren.

Na 7 dagen vindt herstel van de populatie plaats. Na 14 dagen is er geen verschil meer tussen het behandelde en het onbehandelde veld. Bespuiting met oxy-demeton-methyl decimeert het aantal loopkevers in een periode van 6 dagen. Na 14 dagen begint het herstel. Na 27 dagen is er geen verschil meer tussen het experimentele en het controle-veld. Geconcludeerd wordt dat het herstel van niet doelwit-insecten na een pirimicarb-bespuiting sneller optreedt dan na gebruik van oxy-demeton-methyl.

Kelly & Curry (1985) Effecten van methiocarb in wintertarwe. Vijf behandelingen werden in viervoud uitgevoerd, in 'plots' van 20x20 m met 3 meter tussen de 'plots'. Loopkevers gevangen met vijf (glazen) vangpotten per plot, die één week bleven staan, met 150 ml picrinezuur. Effecten zijn in beperkte mate gevonden, soms echter juist sterke toename van aantallen gevangen beesten na toediening.

Everts et al. (1986 & 1989) Onderzoek in koolzaad naar indicatoren voor neveneffecten. In één veld werden 60 vangpotten geplaatst in 20 groepen van 3, in vier rijen op 100 meter afstand van elkaar. In een controle veld (wintertarwe) werden 20 vangpotten geplaatst; wintertarwe is zeer geschikt als controle omdat de natuurlijke fluctuaties hier hetzelfde zijn als in koolzaad. Daarnaast werden in een ander koolzaadveld drie groepen van 8 vangpotten geplaatst, die ieder een verschillende behandeling kregen, de drie proefvelden bedroegen 60x125 meter. In de proefperiode (september-december) werden de vangpotten wekelijks geleegd. Voor spinnen werden verschillen gevonden; voor kevers werden soms wel en soms geen verschillen gevonden.

Stinner et al. (1986) Binnen drie velden met verschillende grondbewerking (geploegd en ongeploegd met mais en braakliggend) werd de invloed van een carbamaat en een organofosfaat vergeleken met een blanco. Hiertoe werden per grondbewerking de drie behandelingen op proefvlakken in viervoud toegepast. Bodemfauna wordt bemonsterd door het plaatsen van vangpotten (1 l) met 50 ml ethyleen-glycol. De vallen werden elke drie weken gedurende 24 uur geopend. Per behandeling werden 12 monsters genomen. De effecten van grondbewerking bleken groter dan de effecten van de insecticiden. Effecten op loopkevers werden maar beperkt gevonden, dit wordt mogelijk verklaard door de grote mobiliteit.

Basedow (1987) Onderzocht de voor- en nadelen van de vangpot-methode. Vooral nadelen, zoals hyperactiviteit van kevers, omvang proefvlak (zonder barrières), hoeveelheid werk en kosten. Wel werden de resultaten van de brede werking van dimethoaat bevestigd, waarbij het ontbreken van gegevens over keverlarven nog onzekerheden gaf. Veldonderzoek blijft echter een noodzakelijke aanvulling op de laboratoriumgegevens. Suggesties voor betere methoden gaan in de richting van 'enclosures' met vooraf vaststaande aantallen kevers (vaak makkelijk te kweken of te vangen).

Booij & Noorlander (1988) In verschillende teelten en bij gangbare, geïntegreerde en alternatieve bedrijven werden gedurende zes jaar loopkevers gevangen. De korte-termijn-effecten van pesticiden zijn niet te traceren wegens de verschillen tussen de teelten en het complexe gebruik van bestrijdingsmiddelen. Alleen parathion en diazinon gaven een duidelijk negatief effect te zien. Ook voor de lange termijn konden, mede wegens de grote variaties tussen de jaren, geen ondubbelzinnige uitspra-

ken worden gedaan. Wel bleek dat vooral de bedekking met (on)kruiden een belangrijke rol speelt en daarmee de indirecte effecten van herbiciden.

Von Heimbach (1988) Onderzoek naar de effecten van pyrazofos als fungicide in wintertarwe. Op een 10 ha groot wintertarwe-veld werden vier percelen van 1,3 ha onderscheiden. Eén diende als controle; één werd behandeld met pyrazofos. De andere twee proefvlakken werden met een ander fungicide behandeld. Per perceel werden kevers met vangpotten levend gevangen zowel voor (7-3 dagen) als na (3-7 dagen) de toediening. Voor loopkevers werd een relatief duidelijk activiteit-dichtheid-vermindering gevonden in de met pyrazofos behandelde velden. Dit is overigens in overeenstemming met de laboratorium-toetsen. Bij de Staphylinidae werden geen significante verschillen gevonden. Na de behandeling werd op het spoor van de tractor over 20 m^2 naar dode insecten gezocht. In het pyrazofos-veld werden veel dode beesten gevonden, (88 dode loopkevers). In de andere vakken waren dit er totaal 2. Het extraheren van bodemmonsters geeft dezelfde tendens; de aantallen zijn hier echter te laag voor significante resultaten. Op het met pyrazofos behandelde veld werd een sterke toename van bladluizen gevonden. Deze toename kan niet zonder meer aan het verdwijnen van predatoren worden toegewezen; pyrazofos beïnvloedt ook ziekten van luizen en de conditie van het tarwe.

Von Heimbach & Giri (1988) In veld en laboratorium werd het effect onderzocht van parathion en herbiciden op loopkevers en kortschildkevers. Vier velden werden onderscheiden (zie: Heimbach, 1988). Eén diende als onbehandelde controle, één werd behandeld met parathion en de twee overige met andere herbiciden. In het lab bleek parathion sterk toxisch voor zowel loop- als kortschildkevers. In het veld werd een dergelijk effect niet gevonden; een mogelijke oorzaak is dat door het tijdstip, vroeg in het jaar, het aantal uit de bodem komende dieren een effect overschaduwd. Uit bodemmonsters leek wel een effect te komen; de aantallen dieren waren echter te laag voor statistisch significante uitspraken.

Jarvis (1988) In een uitgebreid proefboerderij-experiment zijn de neveneffecten van bestrijdingsmiddelen onderzocht. Voor kevers (m.n. Bembidion obtusum) werd een sterke afname gevonden. Deze soort overwintert nabij het bodemoppervlak en niet in de perceelsranden. Op een soort die wel in perceelsranden overwintert (Agonum dorsale) werden de effecten pas later, in het tweede en derde jaar van het experiment, gevonden.

Canters et al. (1989) Op oriënterende wijze werden de epigeïsche evertebraten (éénmalig) bemonsterd met behulp van vangpotten in verschillende teelten bij verschillend middelengebruik. Per perceel werden 6 vangpotten geplaatst, gevuld met een laagje formol met zeep. De vangpotten bleven één week staan. Significante verschillen konden voor een aantal groepen epigeïsche fauna worden aangetoond, echter niet voor loopkevers.

Maaskamp et al. (1989) Gebruik van evertebraten voor de monitoring van de effecten van beheermaatregelen op graslanden op zandgronden. Loopkevers werden gevangen met vangpotten (11 cm diameter, 14 cm diep). Per perceel werden 5 potten geplaatst op 3-5 m afstand van elkaar en op 50 m vanaf de rand van het perceel. Eventueel kunnen dakjes worden aangebracht, bijvoorbeeld van hardboard met drie lange spijkers. Potten plaatsen bij gunstig weer (warm en vrijwel droog) en leeghalen na drie dagen.

LITERATUUR

Basedow, T, 1987. Problematik von Freilandversuchen zur Prüfung der Wirkung von Pflanzenschutzmitteln auf epigäische Raubarthropoden im Ackerbau. - PflKrankh. 3: 260-275.

Berger, H.K., 1985. Der Einfluss der Blattlausbekämpfung im Rübenbau auf eine ausgewählte Bodenfauna im hinblich auf das Nahrungsangebot für Rebhühner. - Pflanzenschutz (Vienna) 157 (11): 6-7.

Booij, C.J.H. & J. Noorlander, 1988. Effects of pesticide use and farm management on Carabids in arable crops. - British Crop Protection Council Mono. 40: 119-126.

Bunyan, P.J., M.J. van den Heuvel, P.I. Stanley & E.N. Wright, 1981. An intensive field trial and a multi-site surveillance exercise on the use of aldicarb to investigate methods for the assessment of possible environmental hazards presented by new pesticides. - Agro Ecosystems 7: 239-262.

Canters, K.J., G.R. de Snoo, F.M.W. de Jong & J. van der Linden, 1989. Neveneffecten van bestrijdingsmiddelen op terrestrische evertebraten en aquatische fauna. - CML mededeling 46, Leiden. 134 p. + bijlagen.

Edwards, C.A. & A.R. Thompson, 1975. Some effects of insecticides on predatory beetles. - Annals of Applied Biology 80: 132-135.

Everts, J.W., M. Diependaal, R. Postuma, A. Scholtens, L. Wouters, R. Hengeveld & J.H. Koeman, 1986. Animal indicators for side-effects of pesticide treatment in oilseed in winter. - Med. Fac.Landbouww. Rijksuniv. Gent 51/3a: 925-929.

Everts, J.W., J.E.M. Beurskens, J.S. Bouwhuis, A.D. Buyse, R. Hengeveld, L. Wouters, & J.H. Koeman, 1986. Terrestrial arthropods as indicators for side-effects caused by insecticides in arable farm systems in the Netherlands. In: Wansink, J.W. & W.J. van den Brink (eds); Contaminated Soil. Elsevier, Dordrecht: 423-425.

Everts, J.W., B. Aukema, R. Hengeveld & J.H. Koeman, 1989. Side-effects of pesticides on ground-dwelling predatory arthropods in arable ecosystems. - Environmental Pollution 59: 203-225.

Eijsackers, H. & C.F. van de Bund, 1980. Effects on soil fauna. In: Hance, R.J. (ed.); Interactions between herbicides and the soil. Academic Press, London: 255-305.

Heimbach, U. von, 1988. Nebenwirkungen einiger Fungizide auf Insecten.- Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschtzd. 40 (12): 180-183.

Heimbach, U. von & M. Giri, 1988. Untersuchungen zur Nebenwirkung einiger Pflanzenschutzmittel auf Staphyliniden und Carabiden im Freiland und Labor. - Mitt. Dtsch. Ges. Allg. Angew. Ent. 6: 521-524.

Jarvis, R.H., 1988. The Boxworth Project. In: Harding, D.J.L. (ed.); Britain since "Silent Spring". Institute of Biology, London: 46-55.

Kelly, M.T. & J.P. Curry, 1985. Studies on the arthropod fauna of a winter wheat crop and its response to the pesticide methiocarb. - Pedobiologia 28: 413-421.

Kreutzweiser, D.P., 1982. The effects of permethrin on the invertebrate fauna of a Quebec forest. - Report FPM-X-50, Forest Pest Management Institute, Canada: 44 p. + addenda.

Maaskamp, F., H. Siepel & W.K.R.E. van Wingerden, 1989. Een monitoring experiment met ongewervelde dieren in graslanden op zandgrond. - RIN-rapport 89/3, Arnhem. 58 p.

MAFF (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food), 1986. Data requirements for approval under the control of pesticides regulations. MAFF, Harpenden. 219 p.

Stinner, B.R., H.R. Krueger & D.A. McCartney, 1986. Insecticide and tillage effects on pest and non-pest arthropods in corn agro-ecosystems. - Agriculture, Ecosystems and Environment 15: 11-21.

Stevenson, J.H., M.A. Easterbrook, S.W. Shires & C. Inglesfield, 1985. Arthropod fauna in arable crops. In: Hassan, S.A. (ed.); Standard methods to test the side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by the IOBC/WPRS Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms". - EPPO Bulletin 15: 247-249.

Voorstel voor

RICHTLIJN VOOR HET UITVOEREN VAN VELDTOETSEN TER BEPALING VAN NEVENEFFECTEN VAN CHEMISCHE BESTRIJDINGSMIDDELEN IN HET VELD OP

HONINGBIJEN

VELDTOETS HONINGBIJEN

Algemeen

Veldtoetsen voor het traceren van neveneffecten van bestrijdingsmiddelen op honingbijen Apis mellifera worden reeds enkele decennia met succes uitgevoerd (zie: appendix 4.4.2). Hierbij is gebleken dat deze toetsen goed uitvoerbaar zijn en bruikbare resultaten kunnen opleveren. De opzet van deze toetsen is inmiddels zo sterk gestandaardiseerd dat de toetsresultaten reproduceerbaar zijn. Bovendien is daardoor ook een vergelijking tussen de verschillende toetsen mogelijk. In verschillende landen bestaan in het kader van de toelatingsprocedure voorschriften voor het uitvoeren van veldtoetsen met honingbijen (zie: appendix 4.4.1).

Voor het op te stellen protocol wordt in principe aangesloten bij het EPPO-protocol (zie: appendix 4.4.2), omdat dit protocol reeds internationaal is geaccepteerd en ook in Nederland wordt toegepast.

Proefvoorwaarden

De kooiproeven richten zich in principe op de toxische korte-termijn-effecten van een eenmalige bespuiting. In kooien is de hoeveelheid voedsel beperkt, zodat bij een langere duur het gebrek aan voedsel een te grote rol kan gaan spelen. Bij proeven in het open veld kunnen ook de middellange-termijn-effecten worden bestudeerd en kan een middel eventueel meerdere malen worden toegediend. Ook eventuele voedsel-effecten kunnen worden waargenomen; uit de pollen is de voedselsamenstelling immers goed te bepalen. In het hier voorgestelde protocol wordt zowel een kooi- als een veldtoets beschreven. Er bestaan ook tunnel-toetsen (zie: appendix 4.4.1). Deze zijn bedoelt voor situaties waarin in principe een veldtoets gewenst is, maar waarin het type waarnemingen in het veld niet mogelijk zijn, bijvoorbeeld bij blootstelling via honingdauw. Dit type wordt niet in het voorstel opgenomen, omdat de principe's overeenkomen met de kooiproef.

In de meeste onderzoeken wordt gebruik gemaakt van een blanco en een positieve controle. Het gebruik van beide controles biedt de meeste waarborgen voor een goed te interpreteren toetsresultaat. Ook de bestaande protocollen maken van deze controles gebruik, met uitzondering van het in West-Duitsland van toepassing zijnde protocol; hier wordt alleen getoetst met het te onderzoeken middel, waarbij overigens het dubbele van de maximaal voorgeschreven dosis wordt gebruikt. Bovendien wordt hier in tegenstelling tot de andere protocollen wel herhaling in de tijd voorgeschreven. Aangezien toetsen met de normale dosering en zonder herhalingen in de tijd goed voldoen en gezien de uitzonderingspositie van het Duitse protocol voor deze aspecten wordt hier de voorkeur gegeven aan het eerste type toetsen. Hierbij wordt de toets aanbevolen met de maximaal voorgeschreven dosis en met het viervoudige hiervan. Hierdoor is er in ieder geval een 'worst case'-situatie. Bovendien kan met meer zekerheid worden voorspeld of in praktijk effecten op zullen treden, als bijvoorbeeld de maximale dosis iets wordt overschreden. Voor het overige verschillen de

bestaande richtlijnen vooral in de mate van detail, waarin bepaalde aspecten zijn uitgewerkt, en op enkele technische punten.
De blanco wordt in principe behandeld met water, of een andere ongevaarlijke stof met dezelfde draagstof als de gebruikte formulering. Wanneer er van het te toetsen middel een belangrijk ecologisch effect wordt verwacht (bijvoorbeeld bij een herbicide) moet er naast de blanco (zo mogelijk) een bij-ongevaarlijk middel met dezelfde bedoelde werking als het te toetsen middel worden gebruikt. Alleen dan kunnen toxische en ecologische effecten worden gescheiden. Replica's in de ruimte worden met name bij kooiproeven gewenst (en mogelijk) geacht.

In de EPPO-richtlijn wordt een minimum proefveldgrootte gehanteerd van 1500 m^2. In vrijwel alle uitgevoerde onderzoeken wordt echter steeds gebruik gemaakt van minimaal 3 ha. Aangezien de EPPO de keuze voor 1500 m^2 niet beargumenteert, is gekozen voor 3 ha.

Toediening van de middelen

Naast de hoogst voorgeschreven dosis wordt het viervoudige hiervan toegediend. Hiermee wordt een 'worst case'-situatie gesimuleerd. In ieder geval kunnen uitspraken over het optreden van effecten bij een toediening volgens voorschrift met meer zekerheid worden gedaan.

De weersomstandigheden hebben grote invloed op de activiteit van de bijen. Het is van groot belang dat de bijen ook werkelijk vliegen op het moment van toepassing en dat er geen verschillen zijn tussen de verschillende proefvelden. Er moet hiertoe worden gezorgd dat de behandeling gelijktijdig of in ieder geval binnen twee uur plaatsvindt.

Waarnemingen

Honingbijen en (a)biotische milieufactoren
De belangrijkste aanvullingen op van de EPPO-richtlijn liggen op het gebied van de waarnemingen. In een aantal onderzoeken wordt gebruik gemaakt van een hogere waarnemingsfrequentie dan in de EPPO-richtlijn. Gezien de kosten die toch al gemaakt worden voor het opzetten en uitvoeren van de toetsen, lijkt het gewenst om te kiezen voor de hogere waarnemingsfrequentie. Weliswaar worden de kosten hierdoor iets verhoogd, maar de kans op ondubbelzinnige resultaten wordt sterk vergroot. Vooral bij het toetsen van middelen die een groeiregulerende werking op insecten hebben verdient het aanbeveling om ook het broed te onderzoeken.

Temperatuur en luchtvochtigheid worden waargenomen om eventuele verschillen tussen de verschillende proefvelden te kunnen traceren.

Middel
Ten einde inzicht te krijgen in mogelijke blootstellingsroutes kunnen bepalingen worden verricht aan zowel de bijen, de pollen en de honing. Hiermee kan bovendien een causale relatie tussen middel en effecten worden onderbouwd.

Voorgestelde **RICHTLIJN VELDTOETS HONINGBIJEN**

1. PROEFVOORWAARDEN

1.1 Toetsorganisme en gewas

Toets uitvoeren op een bloeiend gewas, of op planten die door honingbijen Apis mellifera worden bevlogen. Hierbij wordt een gewas gekozen waarop de hoogste dosis wordt toegepast. De kooitoets richt zich op de toxische korte-termijn-effecten van een eenmalige bespuiting. De veldtoets richt zich op de toxische lange-termijn-effecten en op ecologische effecten. Bij veldtoetsen moet, wanneer meermalige behandeling wordt aanbevolen, dit in de toets worden betrokken.

1.2 Proefvoorwaarden

De toets dient te worden uitgevoerd met, naar het oordeel van een ervaren imker, gezonde bijenvolken. In het veld wordt gelijktijdig behandeld: een proefveld met het te toetsen middel, een proefveld met een erkend bijschadelijk middel (bijv. parathion of dimethoaat) en een proefveld met een bij-ongevaarlijk middel of bijvoorbeeld alleen water. Bij de uitvoering dient een ervaren imker te worden betrokken. Proef uitvoeren wanneer er goed weer voor bijen wordt verwacht. Kooiproeven uitvoeren met minstens één duplo of zoveel meer als nodig is voor een statistische analyse.

1.3 Overige proefvoorwaarden

Kooiproeven

Uitvoering geschiedt met 1 klein volk per kooi. De volken moeten een koningin bevatten en minstens uit 3 raten bestaan en zo groot zijn dat het bloembezoek ca. 10-12 bijen/m^2 bedraagt. In ieder geval moet een dergelijk volk een harmonische opbouw hebben, met broed in alle stadia. De verschillende volken moeten afkomstig zijn van dezelfde standplaats. De duur van de toets bedraagt één week.

Veldproeven

De volken moeten een koningin bevatten en een omvang hebben van minstens 10.000-15.000 bijen. De kasten moeten uit minimaal 10-12 raten bestaan met minstens 5-6 broedraten. De toets moet worden uitgevoerd op minstens 5 km van de plaats waar de volken vandaan komen. De verschillende volken moeten op hetzelfde gewas hebben gefourageerd. Uitvoering geschiedt met minstens 4 kasten per proefveld. De duur van de toets bedraagt minimaal twee weken, tenzij de werkings- of toedieningswijze van het middel aanleiding geven tot een langere proefduur, bijvoorbeeld bij systemische middelen of bij meerdere toedieningen in de tijd.

1.4 *Technische uitvoering*

Proefveldgrootte

Kooien moeten een omvang hebben van minstens 2x2 meter en 3 meter hoog met een maaswijdte van maximaal 3 mm. Eventueel kan aan de binnenkant van de kooi een strook worden vrijgemaakt om het vinden van dode bijen gemakkelijker te maken. In de kooi moeten drinkbakjes voor de bijen worden geplaatst.

Veldjes moeten zich over een afstand van minstens 200 meter van de kasten uitstrekken en een oppervlakte hebben van minstens 3 ha. Kleinere oppervlakten zijn toegestaan; in dat geval zijn echter replica's in de ruimte vereist.

Plaatsing kasten

In kooien moeten de kasten twee dagen voor de toediening worden neergezet. Eventueel UV-absorberend folie aan de zonkant aanbrengen om te voorkomen dat de bijen naar de zon (en in het gaas) vliegen.

In de proefvelden worden per proefveld minimaal vier kasten op (één van) de hoeken van de velden geplaatst. De kasten worden twee dagen voor de toediening neergezet. In deze twee dagen wordt nagegaan of de bijen ook werkelijk voor het belangrijkste deel op het proefveld fourageren (pollenanalyse, vluchtwaarneming).

Proefveldindeling

De kooien liggen zover van elkaar af dat een wederzijdse beïnvloeding door bespuiting is uitgesloten. Dit wordt gewaarborgd door een onderlinge afstand van minstens 100 m.

Bij proefvelden wordt een afstand van minstens 500 meter aanbevolen om te voorkomen dat bijen op het andere veld terechtkomen; tussen de proefvelden moet een ander, niet voor bijen aantrekkelijk, gewas groeien.

2. TOEDIENING VAN DE MIDDELEN

2.1 Middelen

Het te *onderzoeken middel wordt toegepast volgens de door de producent* ingediende gebruiksaanwijzing en met de praktijkformulering.

2.2 Behandelingsapparatuur

De middelen toedienen met gangbare apparatuur volgens voorschrift. Bij behandelingen waarbij ook de kasten worden blootgesteld moeten deze tijdens de bespuiting kort worden afgedekt met folie.

2.3 Dosering middel

Toedienen van de hoogst voorgeschreven dosis van de betreffende formulering en het viervoudige hiervan.

2.4 Aantal en tijdstip van de behandeling

De behandeling vindt plaats twee dagen na het plaatsen van de kasten, op een tijdstip dat de bijen het gewas bezoeken, bij voorkeur in de ochtend na het opdrogen van dauw van het gewas, maar in ieder geval tussen 10.00 en 16.00 uur. Bespuiting van de verschillende velden liefst gelijktijdig, maar in ieder geval binnen een periode van twee uur, teneinde eventuele verschillen in weersomstandigheden uit te sluiten.

3. WAARNEMINGEN

Methoden en frequentie

Sterfte van bijen wordt bepaald door het plaatsen van bijenvallen voor de kasten (zie bijv.: Free et al., 1967). De bijen werpen dode soortgenoten uit de kast. De vallen moeten zo worden geplaatst dat ze de vlucht van de bijen niet belemmeren. Deze vallen worden de laatste twee dagen voor toediening één maal per dag geleegd; verder vlak voor toediening en op dezelfde dag om de twee uur; de volgende dag drie maal per dag en de daarop volgende dagen minstens één maal per dag. Er moet op worden gelet dat dode bijen niet door andere organismen (bijv. mieren) worden meegenomen; indien er hiervoor aanwijzingen bestaan moeten maatregelen worden genomen (zie: Robinson & Johansen, 1978). Bij kooiproeven moeten ook de dode bijen in de kooi (met name langs de randen) worden verzameld. Hiertoe kan een strook vrij van vegetatie worden gehouden.

Populatieschatting door schatting raatbezetting op de avond voor toediening en aan het eind van de toets; schatting volgens de methode van Jeffree (1951).

Fourageeractiviteit en gedrag op het gewas en bij de kast de eerste twee dagen één maal per dag (vlak voor en vlak na toediening) waarnemen daarna elke twee uur en de volgende dagen één maal per dag. Bij veldproeven de fouragerende bijen tellen door middel van het lopen van een vaste route in een vaste tijd, bijvoorbeeld 200 meter en 2 meter breed (deze maten zijn afhankelijk van het gewas) in 15 minuten; hierbij kan ook de activiteit bij de kast worden meegenomen. De vluchtintensiteit kan eventueel electronisch worden geteld met behulp van een lichtgevoelige cel (Kingsbury et al., 1981). Met een meetcel die inkomende en uitgaande bijen scheidt en afzonderlijk telt kan ook het aantal buiten overleden bijen worden berekend.

De **algehele conditie van het volk**, zoals ontwikkeling juvenielen, groei en afname wordt voor de verschillende behandelingen zowel één dag vóór de toediening als op de zesde dag ná toediening door een ervaren imker bepaald. Bij veldproeven kan dit 14 dagen en één maand na toediening zijn.
Wanneer een vermoeden bestaat voor **effecten op het broed** moet de conditie van het broed worden bepaald, zowel voor behandeling als 14 dagen na behandeling.

De temperatuur en de luchtvochtigheid worden gedurende de proef geregistreerd.
Bij veldproeven kan met behulp van pollenvallen de **pollenverzamel-activiteit** worden bepaald; tevens kan aan de hand van de samenstelling van de pollen worden bepaald of er inderdaad op het betreffende gewas is gefourageerd en of de samenstelling van het voedselpakket door/na de behandeling is veranderd. Wanneer de pollenverzamel-activiteit wordt bepaald verdient het aanbeveling om deze slechts in een deel van de kasten te bepalen, omdat de vallen de vliegactiviteit beïnvloeden.

Aan zowel de dode bijen, de pollen en de honing kunnen chemische bepalingen worden verricht, ten behoeve van aanvullende bewijsvoering en ten einde inzicht te krijgen in de mogelijke blootstelling.

4. VOORWAARDEN VOOR GELDIGHEID

Resultaten worden niet geaccepteerd bij onduidelijkheden in de resultaten en als in de blanco's meer dan 15% sterfte optreedt of in de positieve controle weinig sterfte. Bij de resultaten moeten ook de onbewerkte data worden meegeleverd, evenals de gebruikte statistische methoden.

KOSTEN

Kenschets proefopzet:

A	B	C	D	E	F	G	H
soort	aspect	type	dosering	blanco	veelvoud	monsters	bemonst.
e	a c g r	v of k	hp 4hp	b g	v:1 k:≥2	≥4/volk	20

Voor de betekenis van de gebruikte codes wordt verwezen naar § 4.3 van het hoofdrapport (= deel A).

	netto-werkdagen	materiaalkosten
1 materiaal	5	
- toetsorg. (6x4 volken)		12.000
- proefvelden gereed maken		2.000
- veldapp. (ca. 8 kooien)		4.000
2 bemonsteren (4x2x4x20)		1.000
- toetsorg.	30	
- abiotische parameters	5	
3 meten parameters		p.m.
- toetsorg. (gedrag e.d.)	40	
- gehaltebepalingen	10	1.000
- abiotische parameters	5	500
4 interpreteren gegevens	10	p.m.
5 invullen toetsformulier	5	n.v.t.
totaal werkdagen	ca. 110	n.v.t.
kostenschatting (subtot.)	f 82.500	f 16.500

kosten totaal (volgens zeer ruwe schatting): ca. f 100.000

Appendix 4.4.1 Overzicht bestaande protocollen voor veldtoetsen met honingbijen

Duitsland (BBA, 1980; schr.med. Petzold; schr.med. Kohsiek)
Kooi en veldtoets. In de toets in principe het dubbele van de maximale voorschreven dosis gebruiken, behalve bij vliegtuig of lv-toepassing; dan hoogste dosis.

Kooiproef
- Uitvoeren met blanco (water of talk), uitgesproken bijen-toxische stof en de te toetsen stof; twee herhalingen op verschillende tijdstippen:
- Kooi minstens 2x3 m, 2 m hoog, van metaal of plastic gaas, maaswijdte < 3,5 mm.
- Zorg voor drinkbakje in kooi; de val voor dode bijen bij kast plaatsen en een strook kaal maken aan drie (niet kast) zijden om dode bijen te vinden. *Voorkomen dat bijen te veel naar zonkant vliegen door UV-*absorberend folie.
- Aanbevolen gewas: Phacelia (Phacelia tanacetifolia), koolzaad (Brassica napus), bernagie (Borago sp.) en mosterd (Sinapis sp.).
- Aantal te plaatsen bijen hangt af van oppervlakte kooi, bloembezoek moet minstens 10-12 bijen/m^2 zijn.
- Oude, binnenkort stervende bijen verwijderen door verplaatsen kast.
- Kast ca. 2 dagen vooraf plaatsen.
- Toediening als bijen vliegen.

Waarnemingen:
- Vooraf: 1 maal per dag dode bijen tellen en vluchtdichtheid bepalen ('s middags).
- Na behandeling: 1^e uur continu-waarneming gedrag en vluchtdichtheid c.q. intensiteit. Daarna om de 2 uur dode bijen in val en gedrag. Eind dag: dode bijen aan de rand van de kooi; afhankelijk van verloop op de 2^e en 3^e dag minstens 3 waarnemingen. Als na 72 uur nog geen afwijkingen zijn gevonden wordt de proef gestopt; bij granulaten en systemische middelen geldt 1 week als periode.

Beoordelen:
- *Vergelijken drie behandelingen voor wat betreft dode bijen, gedrag en* controle van de jonge bijen.

Speciale formuleringen en werkingsmechanismen:
- Granulaten: strooien volgens handleiding
- Insectenstaafjes: tussen bloemen
- Systemische middelen: proefduur afhankelijk van werking.

Presentatie:
- *Resultaten moeten worden weergegeven op standaard-formulieren*

Veldproef
- Uitvoeren met Phacelia of koolzaad in volle bloei. Als regel geen blanco of positieve controle; wel vergelijking met kasten op plaats waar proefkasten vandaan komen.
- Oppervlak minstens 0,25 ha.
- Onderzoeken of bijen fourageren op proefvlak door pollenvallen in de kast en vlucht-waarnemingen; als blijkt dat de bijen veel honingdauw gebruiken, de proef eventueel uitstellen.
- Proef uitvoeren bij weersomstandigheden waarbij bijen vliegen en van mei tot half september met twee herhalingen in de tijd.
- Minstens vier volken 3-4 dagen vooraf plaatsen, zelfde aantal als controle.

- Behandeling 's ochtends na opdrogen planten bij een goede weersverwachting; spuitafstand 50 cm van gewas; kast en vliegplankje afdekken bij voorbijrijden spuitmachine.

Waarnemingen:
- Dode bijen tellen op strook linnen voor kasten van 1,5 m breed, elke dag op dezelfde tijd; vlak vóór bespuiting, ná bespuiting om de 2 uur, volgende dag 3 x en daarna 1 maal per dag.
- Bloembezoek: schatten op 5 vlakken van 1 m^2 verdeeld over proefveld; voor toediening een keer per dag, vlak voor en vlak na toediening; 1^e uur elke 15 min., daarna elke 2 uur; volgende dagen: minstens 1x/dag.
- Op zelfde tijdstippen als bij bloembezoek: gedrag op vliegplankje: afwijkingen en vliegrichting.
- Schatten populatie door raatbezetting, 's avonds voor toediening en de avond van de 3e dag.
- Schatting broedbestand en pollenvoorraad op 5e of 6e avond en na 4 weken een laatste schatting voor evt. lange-termijn-effecten.
- Temperatuur meten op strook linnen voor de kasten en op één van de 5 vlakken waar het bloembezoek wordt geschat, tegelijk met telling en schatting; regenmeter aan rand proefveld.
- Zo mogelijk buur(t)imkers bij proef betrekken.
- Ook uitvoeren: voedingstoets met jonge bijen: bijen voeren met in proefveld en controles verzamelde pollen.

Beoordeling:
- Dode bijen, verschuivingen in volksterkte, broedbestand, bloembezoek, gedrag op vliegplankje en voedingstoets.

N.B. Vergelijk controle met toets; verhoogde sterfte treedt in het algemeen op na verplaatsen kast en na bestuderen van de raten. Resultaten moeten worden weergegeven op standaard-formulieren.

FAO (1985) Voor methoden wordt door de FAO verwezen naar de Engelse, Duitse en Franse protocollen.

Engeland (MAFF, 1986: Working Document 7/4)
Protocol voor een veldtoets met een positieve controle, een blanco en het te onderzoeken middel. Blanco kan eventueel worden weggelaten. Replica's meestal niet haalbaar wegens kosten.

Toetsvoorwaarden:
- Toets uitvoeren met medewerking van ervaren imkers.
- De volken moeten in een goede conditie verkeren.
- Toets minstens 3 km mijl vanaf oude fourageergebied.
- Minstens vier kasten op de hoeken van de velden plaatsen, met een ongestoorde vliegweg en niet langer dan 2 dagen voor bespuiting.
- Teelt strekt zich uit over minstens 200 meter vanaf de kasten; bijvoorbeeld 3-5 ha groot, proefvelden minstens 300 meter uit elkaar.
- Behandelen bij volle bloei, wanneer bijen vliegen tussen 10.00 en 16.00 uur.
- Aangrenzende gebieden mogen niet worden bespoten.
- Duur toets: 2-3 weken.

Waarnemingen:
Het type waarnemingen hangt af van de wijze van toediening en van de ervaring van de onderzoekers. In ieder geval moet de toxiciteit worden onderzocht door de dode bijen in vallen bij de kast te verzamelen. Zo mogelijk moeten ook de volgende parameters worden bepaald:

- populatie-telling: raatbezetting vergelijken met foto's
- conditie voor en na bespuiting (eileg, ontwikkeling)
- activiteit bij de kast: aantal landingen
- pollenvallen voor bepaling bevlogen teelt (volgens Free, 1959)
- fourageeractiviteit: waarnemers lopen vaste route in vaste tijd en tellen bijen; bijv. 200 m, 2 m breed in 15 min., 3 of 4 per proefveld
- honingproductie (wegen van bijenkast)
- analyse van dode bijen, bijenwas en pollen (zie: Needham et al.,1966)
- waarnemingen aan andere nuttige insecten, bijvoorbeeld fourageergedrag of sterfte met behulp van vallen

Verenigde Staten (EPA, 1986)
Voor een acceptabel protocol wordt verwezen naar Atkins et al. (1976) en naar Robinson & Johansen (1978). Verder wordt aangegeven dat het gebruik volgens het label moet plaatsvinden. Er bestaat voor bijen een 'Standard Evaluation Procedure' (SEP) voor bijen en er zijn standaard-formulieren om de toetsresultaten op in te vullen.

EPPO (1986) Het EPPO-protocol is nog in ontwikkeling, maar wordt in Nederland reeds aangehouden (mond.med. Oomen). Het protocol is voor een belangrijk deel gebaseerd op de resultaten van het 'Third Symposium in the Harmonization of Methods for Testing the Toxicity of Pesticides to Bees' (zie: Felton et al., 1986). Onderscheiden worden: kooitoetsen, veldtoetsen en tunneltoetsen.

Kooitoets
Toets uitvoeren met een blanco (water of niets) en een positieve controle (bijv. parathion, dimethoaat), met zoveel duplo's als noodzakelijk voor een voldoende statistische analyse.
Toetsvoorwaarden:
- Gebruik van één klein gezond volk, liefst met een koningin, maar minstens met 3 raten; voorkom het opsluiten van wilde bijen in de kooi; bijvoeren kan noodzakelijk blijken.
- Kleine volken in kooien van minimaal 2x2x3 m; maximale maaswijdte 3 mm, plastic dak eventueel toegestaan.
- Geschikte teelten zijn bernagie, phacelia of mosterd en andere door bijen bevlogen teelten waarvoor het te toetsen product wordt aangevraagd.
- Alleen formuleringen; toepassing met hoogst voorgeschreven dosis op een bloeiende teelt
- Behandeling op een dag dat de bijen vliegen; voorkom bespuiten van kooiwanden.

Waarnemingen:
- Effecten waarnemen vlak voor behandeling en 0, 1, 2, 4 en 7 dagen na behandeling.
- Bepalen van fourageeractiviteit en het gedrag van de bijen in het gewas en bij de kast.
- Tellen van bijen in de vallen en in de rest van de kooi.
- Meten temperatuur en luchtvochtigheid.
- Andere waarnemingen, zoals effect op het broed, als de eigenschappen van het middel aanleiding geven tot verdenking.

Beoordeling:
- Toets herhalen als de mortaliteit in de blanco > 15% is of als er weinig sterfte is in de toxische controle.

- Resultaten bewerken met een geschikte statistische toets; ruwe data en gebruikte statistische toets altijd opgeven.

Veldtoets
Veldtoets uitvoeren op een bloeiend gewas dat door bijen wordt bevlogen en waarvoor het middel is voorgeschreven. Gebruik te toetsen produkt, ongevaarlijk produkt en positieve controle (bijv. parathion of dimethoaat).
Toetsvoorwaarden:
- Minstens drie volken enkele dagen voor de toets op de hoek van het proefveld plaatsen; goed erop letten dat de bijen alleen fourageren op het proefveld.
- Gebruik gezonde volken met minstens 10.000-15.000 bijen en minstens 10 tot 12 raten, waarvan minstens 5 tot 6 broedraten; bij verschillen in volk-omvang, deze over de proefvelden verdelen.
- Proefvelden minstens 1500 m^2; voor grote volken grotere proefvelden gebruiken; velden minstens 500-1000 m van elkaar en op enige afstand van andere bloeiende teelten.
- Replica's wel gewenst, maar vaak niet mogelijk wegens kosten of wegens gebrek aan ruimte.
- Gebruik alleen formulering.
- Gebruik referentie produkten die voor een vergelijkbaar gebruik zijn toegelaten.
- Middel toedienen volgens voorschrift wanneer de bijen actief fourageren, liefst gelijktijdig voor de verschillende proefvelden, maar in ieder geval binnen twee uur.

Waarnemingen:
- Temperatuur en luchtvochtigheid gedurende hele periode.
- Aantal fouragerende bijen, gedrag op het gewas en rond de kasten, dode bijen in vallen.
- Liefst ook waarnemen: het verzamelen van pollen (pollenvallen), samenstelling pollen in verzamelde honing, aantal bijen op raten, broedconditie en residuen in dode bijen, pollen, was en honing.
- Meten vlak voor of één dag voor behandeling en bij voorkeur 0, 1, 2, 4, 7 en 14 dagen na behandeling. Eventueel met grotere intervallen tot drie maanden na behandeling.

Beoordeling:
- Toets herhalen als de mortaliteit in de blanco > 15% is of als er weinig sterfte is in de toxische controle.
- Resultaten bewerken met een geschikte statistische toets; ruwe data en gebruikte statistische toets altijd opgeven.

Tunneltoets
Uitvoeren wanneer waarnemingen gewenst zijn, die niet in een veldtoets kunnen worden gedaan, bijvoorbeeld bij het fourageren op door luizen afgescheiden honingdauw.

<u>OECD</u> (1988)
Uit een workshop over beoordeling van ecologische effecten blijkt dat bijen geschikte representanten zijn van sociale bloembestuivers. Opgemerkt wordt dat een volk overeenkomt met een populatie en dat het makkelijk moet zijn om een levenscyclustoets te ontwerpen. Ontwikkeling van een protocol is gewenst.

Appendix 4.4.2 Overzicht uitgevoerd veldonderzoek met honingbijen

Jeffree (1951) Beschreven wordt een methode om de bijenpopulatie van een korf te schatten. Hiertoe wordt de raatbezetting vergeleken met foto's van raten met een bekende bezetting.

Free (1959) Onderzoek naar de invloed van het tijdstip van het plaatsen van bijenkorven (voor of tijdens de bloei) en de effecten hiervan op bloembezoek en bloemvoorkeur. Bij te vroeg plaatsen wordt gevreesd voor conditionering op andere bloeiende planten. Op drie proefvelden worden 4 korven per veld geplaatst en de pollensamenstelling bemonsterd met pollenvallen. *Uit de resultaten blijkt dat de invloed van het tijdstip beperkt is.* Wel is de voorgeschiedenis een belangrijke factor: de bijen vliegen het liefst op dezelfde teelt.

Free et al. (1967) Vergelijking van de effecten op honingbijen tussen het gebruik van granulaten en bespuiting voor luizenbestrijding in bloeiende veldbonen. Het toetsen van de werking op luizen mislukt, doordat er te weinig luizen zijn uitgezet. Voor het onderzoeken van de (neven)effecten van bespuiten en granulaten worden verschillende middelen gebruikt voor beide formuleringen met als argumentatie dat het geen zin heeft om een formulering te gebruiken die in praktijk niet bestaat. Er worden proefvelden gebruikt met op de hoeken 4 of 5 korven. De raatbezetting wordt onderzocht (voor methode zie: Jeffree, 1951) en een methode om dode bijen terug te vinden wordt getoetst. Voor het verzamelen van de dode bijen wordt een omgekeerde korf met bovenop een rooster voor de korf geplaatst. Aangezien dode bijen uit de korf worden geworpen worden deze in de omgekeerde korf *teruggevonden. 74% van de dode bijen wordt teruggevonden.* Als ook in de pollenvallen dode bijen worden aangetroffen wordt 89% teruggevonden. Op deze wijze is een correctie tot 100% mogelijk. Om vergiftiging als doodsoorzaak te achterhalen wordt de cholinesteraseactiviteit bepaald. Een activiteit > 66% van de controle wordt als normaal beoordeeld; een activiteit < 33% duidt op een vergiftiging. Het onderzoek kent nogal wat onzorgvuldigheden: behandelingen op verschillende tijdstippen, bij verschillend weer etc. Wel blijkt bespuiten een direct toxisch effect te hebben: met name werksters die in het bespoten veld fourageren worden getroffen. Na de bespuiting neemt het aandeel uit het bespoten veld verzamelde pollen sterk af. Over het effect van granulaten wordt opgemerkt dat meer onderzoek nodig is. Aanvullend wordt een kooiexperiment uitgevoerd: nylon kooien van 2,4x4,9 m worden op wel en niet bespoten (afgedekt bij de bespuiting) stukjes perceel geplaatst. Er blijkt nu geen sterfte op te treden, waaruit geconcludeerd wordt dat de pollen en het nectar niet giftig zijn, maar een direct contact kennelijk *de sterfte veroorzaakt.*

Robinson & Johansen (1978) Onderzoek naar de effecten op de bestuiving in een bos bij bestrijding van een mot Orgyia pseudotsugata in Douglasdennen. Hiertoe werden in het midden van elke 'plot' twee bijenkorven geplaatst. De effecten werden onderzocht door dagelijks de in vallen gevangen dode bijen te tellen (Atkins et al., 1970). Bij grote aantallen bijen werd de hoeveelheid geschat door ze met behulp van een trechter in een cilinder brengen, waarbij de relatie tussen volume en aantal bijen bekend is (Anderson et al., 1966). Tevens werd de conditie van het volk

bepaald aan de hand van het aantal bezette raten, de bezetting per raat en het oordeel van een ervaren imker. Ook werden pollenvallen (tevens vallen voor dode bijen binnen de korf) geplaatst volgens de Johansen (1960). De pollen zijn chemisch geanalyseerd. De methode blijkt te voldoen voor het waarnemen van korte- en lange-termijn-effecten.

Kingsbury & McLeod (1979) Effecten van twee vliegtuigbespuitingen met permethrin in bossen. In bespoten en onbespoten stukken bos werden in een open stuk, een dennebos en in een loofbos vijf bijenkorven geplaatst met dode bijen- en pollenvallen. Deze werden dagelijks bemonsterd en regelmatig werd het gewicht van het volk bepaald. Aan het eind van het seizoen is de productie per korf bepaald. Van één behandeld en één onbehandeld 'plot' werden de pollen op residuen geanalyseerd. Het weer tijdens de behandelingen bleek zo slecht dat de bijen de eerste twee uur niet fouragerden. Er werden geen verschillen gevonden tussen de behandelde en onbehandelde 'plots'. Het niet vinden van een korte-termijn-effect wordt mogelijk veroorzaakt door de weersomstandigheden.

Kingsbury et al. (1981) Onderzoek naar de effecten van bosbespuitingen met aminocarb en nonylfenol. Kasten werden geplaatst met voor de twee behandelingen afzonderlijke controles. Effecten werden bepaald door dode bijen- en pollenvallen en door het meten van activiteit met een fotoelectrische cel. Het korfgewicht werd bepaald door onder één van de hoeken van een korf een weegschaal te plaatsen; de conditie van het volk door regelmatig het broed en de honingproductie te schatten. Aan het einde van het experiment werd de inhoud van de korven geteld. De behandelingen vonden 's avonds plaats; als effect werd alleen een geringe sterfte op de dag na de bespuiting waargenomen. In één van de korven werd de koningin vervangen. Dit beïnvloedde de hoeveelheid verzamelde pollen voor deze korf.

Johansen et al. (1983) Onderzoek naar de effecten van insecticiden op verschillende bijensoorten. Bij het oogsten van alfalfa en mais blijft een deel van het gewas midden op het perceel staan (resp. 0,4 ha en 52,7 ha), waardoor een geïsoleerd proefveld wordt verkregen. In deze velden worden resp. 2 en 8-10 korven geplaatst met Todd-vallen (Atkins et al. 1970). Voor de wilde bijen wordt gebruik gemaakt van kleinere 'enclosures'. Resultaten: Honingbijen zijn over het algemeen gevoeliger voor insecticiden dan wilde bijen; residuen zijn groter bij lage temperatuur. Wilde bijen reageren anders dan honingbijen: honingbijen worden vaak bewegingloos terwijl wilde bijen juist zeer actief worden. Zowel residuele blootstelling in het laboratorium als de aantallen in de vallen lijken te kunnen worden gebruikt voor het voorspellen van sterfte in het veld en voor de effecten op het volk.

Stoner et al. (1983) Onderzoekt voedsel-effecten op de lange termijn met kunstmatig voedsel. Gebruikt "veldvolken van standaard-grootte": negen raten in een Langstroth-uitrusting van tien raten. Een normale sterfte bij deze volk-omvang is 100 adulte bijen per dag.

Shires et al. (1984a) Onderzoek naar de effecten van een nieuw pyrethroide op honingbijen in koolzaad. Toets op vier velden van 5,3-13 ha, elk minstens 3 km van andere koolzaadvelden. Per veld werden 8 korven met 10

raten één week voor de bespuiting geplaatst. Bij aanvang bespuiting bevatten de korven 40-80.000 bijen. Van elke 8 korven waren er 6 uitgerust met bijenvallen en 2 met pollenvallen. Toediening tussen 11.45 en 13.30 uur, bij droog en warm weer. Drie velden werden met een helikopter bespoten met resp. het te toetsen middel, parathion-methyl (bij-gevaarlijk) en fosalone (onschuldig voor bijen); het vierde veld werd met een tractor bespoten met het nieuwe middel. De korven werden niet afgedekt. Neerslag, zon en temperatuur zijn regelmatig bepaald en opgevraagd bij een weerstation. Dode bijen werden dagelijks verzameld. Pollenval bestond uit een geperforeerd stukje plastic. Drie van de acht pollenvallen bleken niet te werken, de overige werden regelmatig bemonsterd. Activiteit werd bepaald door bij het lopen van 50 meter alle bijen die binnen een afstand van 1 meter (bepaald met een stok) voorkwamen te tellen; op deze wijze werd 300 m^2 per veld bemonsterd. Van het gedrag bij de korf werden zes categorieën gemaakt, waarbij het aantal vluchten en het gedrag werden betrokken. De conditie van het volk werd 5 dagen voor, 24 uur na en 10 weken na behandeling bepaald door kleurenfoto's van de raten te maken en het broed op deze foto's te meten. Aan het eind van het seizoen werd de conditie van het volk bepaald door een professionele imker. De depositie van het middel op het gewas werd bepaald door op gewashoogte stukjes aluminiumfolie van 250x250 cm te plaatsen. Naast de dode bijen en de pollen werd ook honing en was bemonsterd, voor en drie dagen na behandeling. Hierin werd het residu bepaald. Een bio-assay werd uitgevoerd met adulte bijen in kooitjes (10x5x5 cm) die werden gevoed met pollen en nectar uit de proefvelden. Resultaat: geen extra dode bijen bij nieuw middel en fosalone, wel bij parathion. Het aandeel koolzaadpollen neemt ook bij het nieuwe middel af. Conclusie: het wel optreden van effecten bij methyl-parathion en het niet optreden van deze effecten bij fosalone en het nieuwe middel duidt erop dat de proefopzet toereikend is. Het nieuwe pyrethroide-middel had bij hogere dosering wel een repellent-werking op de fourageeractiviteit op de eerste dag. Hierdoor was waarschijnlijk ook de sterfte en het residu-gehalten gering, ondanks de hoge toxiciteit in laboratorium-toetsen.

Shires et al. (1984b) Een vergelijkbaar onderzoek als in het koolzaad (Shires et al. 1984a) wordt uitgevoerd in mosterd. Een stuk van 1,2 ha was gebruikt in een veld van 3 ha. Binnen dit stuk werden 4 veldjes van 3000 m^2 gemarkeerd en ingezaaid met mosterd met intervallen van 2 tot vier weken. Elk veldje bestond uit drie 'plots' van 20x50 m, waarbinnen het mosterdzaad over 1 meter breedte werd gestrooid, met 0,5-1 meter tussenruimte. Elke 'plot' bestond uit 10 strips waarvan er 2 niet werden bespoten. De drie 'plots' werden met resp. fosalone, methyl-parathion en het te toetsen middel behandeld. 4 korven met elk 20-30.000 bijen werden 2 tot 3 dagen voor de behandelingen geplaatst. Aanvullend op het vorige onderzoek werden hier ook dode bijen op de open stroken in het veld gezocht, hier werden overigens vrijwel geen bijen gevonden. De resultaten komen sterk overeen met het voorafgaande onderzoek.

Wilkinson & Gough (1984) Uitvoering van twee veldtoetsen gebaseerd op het Engelse voorschrift, maar op een aantal punten afwijkend, bij helicopterbespuiting met PF321 en een toxische standaard. Als oppervlak werd de voorkeur gegeven aan de praktijkschaal: 20-50 ha op ca. 12 km afstand van elkaar. Nadeel was dat sommige 'plots' wegens lokale verschillen in

weersomstandigheden minder vergelijkbaar waren. 5 korven per 'plot' waarvan 3 met bijenvallen en twee met pollenvallen. Bij tweede experiment moest (na plaatsing korven) de bespuiting wegens slecht weer worden uitgesteld; dit leidde tot betere resultaten voor wat betreft fourageren op het proefveld; het tijdsaspect van plaatsing lijkt van minder belang. Logistieke problemen leidden ertoe dan niet gelijktijdig kon worden gespoten; door het grillige weer leidde dit weer tot verschillen in weersomstandigheden tussen de verschillende behandelingen. Het aantal dode bijen leverde het duidelijkste resultaat op: geen dode bijen door het nieuwe middel, wel bij de toxische standaard. Fourageer-activiteit werd in elk proefveld bepaald op zes stroken van 1 m breed en 50 m lang. Resultaat waren echter niet ondubbelzinnig, o.a. door fluctuaties in het weer: soms geconcentreerd voedsel zoeken, soms verspreid over perceel. Waarnemingen per uur geven een beter beeld dan per twee uur. Ook activiteit bij korf sterk verschillend door weer. Electronische telling heeft de voorkeur. Broed-conditie werd vooraf en na toediening bepaald door afdruk op polytheen en later door fotografie. Het tellen van de eieren op de foto's gaf echter moeilijkheden en koste veel tijd. Pollenvallen werkten niet goed; ze waren eigenlijk alleen geschikt om het aandeel van de pollen van de teelt te bepalen. Er waren te weinig dode bijen om analyses te kunnen doen. Conclusie van de onderzoekers: bevredigende resultaten, eventueel te verbeteren door meer waarnemingen. Een conclusie kan echter ook kunnen zijn dat de veranderingen juist hebben geleid tot meer variatie en daardoor tot minder goed interpreteerbare resultaten.

Arnold & Davies (1985) Effecten van prochloraz in koolzaad. Drie 'plots' van minstens 3 ha en ongeveer 1 km van elkaar met 1 blanco en 1 positieve controle (dimethoaat). Vier korven per 'plot' enkele dagen voor behandeling. Activiteit werd voor, tijdens en na behandeling gevolgd; dode bijen werden dagelijks verzameld. Residuen werden bepaald in bijen, pollen en honing. Behandeling op bloeiend gewas met spuitmachine. Geen negatief effect gevonden. Wel residuen in bijen en pollen, nauwelijks in honing.

Celli et al. (1985) Gebruik van bijen(korven) voor de monitoring van pesticiden en zware metalen. Op 24 stations zijn steeds twee korven geplaatst met bijenvallen. Deze worden per week geleegd en wanneer meer dan 500 tot 700 dode bijen worden gevonden wordt een chemische analyse op de bijen uitgevoerd. Van 19 monsters met hoge sterfte bevatten er 74% fungiciden, 58% insecticiden en 5% acariciden.

Czarnecki et al. (1985) Onderzoek naar verzamelen door bijen van microgeïncapsuleerde producten. Bietenvelden van minimaal 3 ha op voldoende afstand van elkaar. 6 korven van 10 raten waarvan twee korven met bijenvallen, twee met pollenvallen en twee zonder vallen. Formulering werd in de avond gespoten, plus twee formuleringen van een voor bijen gevaarlijk product (parathion-methyl), een middel dat nooit op bieten wordt gebruikt (zodat residuen van experiment afkomstig moeten zijn) en een blanco. Er werden monsters genomen van bloemen, pollen uit vallen en de korf (verzameld in 8 dagen), levende fourageerders en dode bijen; op deze monsters werden residu-bepalingen uitgevoerd. Drie tot zes monsters zijn genomen in de periode van een dag voor tot 8 dagen na bespuiting. Uitgewerkt wordt een methode om de microcapsules (na kleuring) visueel in korf terug te vinden.

Gerig (1985) Behandeling van drie boomgaarden met fenoxycarb. Effecten worden onderzocht op pollen-verzamel-gedrag. Effecten op populatie-dichtheid, broedontwikkeling en mortaliteit worden niet gevonden. Over drie jaar bekeken worden geen effecten gevonden, waarschijnlijk mede doordat grote schommelingen in pollen-verzamel-activiteit optreden. De methoden zijn kennelijk nog te grof om effect op het pollenverzamelen waar te kunnen nemen. Overigens worden geen nadelige middellange-termijn-effecten gevonden.

Oomen (1985) Onderzoek naar de effecten van pyrethroiden in koolzaad bij bestrijding van koolzaadglanskever en koolzaadsnuitkever. Bij-onschuldige middelen en bij-gevaarlijke middelen worden vergeleken met het te toetsen middel. Gebruikt zijn 8 proefvelden van 24 ha op minimaal 500 meter afstand van elkaar. Er waren vier bijenvolken per teelt; gemeten werden dode bijen (in vallen en in het veld) en de intensiteit van het bloembezoek (vóór en één week na bespuiting). Tevens werd de conditie van de volken vóór en enkele weken ná bespuiting bepaald. De proefopzet blijkt te voldoen. Resultaten komen overeen met die van Shires et al. (1984a,b).

Van der Steen & Van den Eijnden (1985) Veldtoets naar de effecten van deltamethrin in koolzaad in mei. In mei vliegen de meeste bijen op dit gewas, terwijl de toetsen gewoonlijk in de zomer worden uitgevoerd. 8 proefvelden van 100 bij 24 meter op 500 meter afstand van elkaar met vier korven per veld. Gemiddeld aantal bezette raten was 14 en elk volk bezat een koningin. Korven werden geplaatst na begin van de bloei en voor bespuiting. Bij elke korf werd een bijenval geplaatst en dode bijen werden de dag voor de bespuiting verzameld, enkele uren na de bespuiting en vervolgens dagelijks tot de zesde dag na bespuiting. Elk veldje had in het midden een vrijgelaten strook; hier werd gaas neergelegd om de in het veld stervende bijen op te vangen. Ook werd de fourageer-activiteit op 100 m^2 bepaald. Behandeling van te toetsen product in drie concentraties (laagste in duplo), in twee toetsseries, met daarnaast bespuiting met fosalone en parathion. Data geanalyseerd met een variantie-analyse. Bij gebleken verschillen werden deze getoetst met de t-toets. Te toetsen middel blijkt in laagste formulering geen nadeliger effect te hebben dan fosalone.

LITERATUUR

Arnolds, D.J. & L.G. Davies, 1985. A field study of the effect on honeybees of prochloraz applied to oilseed rape. In: Third symposium on the harmonization of methods for testing the toxicity of pesticides to bees. Rothamsted Experimental Station, ICBB, England: A15.1.

Atkins, E.L., F.E. Todd & L.D. Anderson, 1970. Honey bee field research aided by Todd dead bee hive entrance trap. Calif. Agric. 24: 13-13.

BBA (Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft), 1980. Richtlinien für die Prüfung von Pflanzenbehandlungsmitteln auf Bienengefährlichkeit. Richtlinien für die amtliche Prüfung von Pflanzenbehandlungsmitteln 23-1, BBA, Braunschweig: 17 p.

Celli, G., C. Porrini & S. Tiraferri, 1985. Apiculture and the environment: The bee as biological indicator of pesticides in preliminary trials conducted in Forli Province, Italy. - Boll. Entom. Bologna XXXIX: 231-241.

Czarnecki, J.M., R. Borneck, Y. Loublier, J. Louveaux, S. Hanout, L. Prothon & F. Severin, 1985. Field experiments on toxicity of penncap m and fulkill (Microcaps) to bee colonies on blooming rape. Methods of analysis for residues in bee and pollen in the hives. In: Third symposium on the harmonization of methods for testing the toxicity of pesticides to bees. Rothamsted Experimental Station, ICBB, England: A12.1-A12.3.

EPA (Environmental Protection Agency), 1986. Field testing for pollinators. - EPA 540/9-86-140: 4 p.

EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), 1986. Guideline for evaluating the hazards of pesticides to honey bees, Apis mellifera. EPPO (draft version): 12 p.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 1985. Guidelines on environmental criteria for the registration of pesticides. FAO, Rome: 39 p.

Felton, J.C., P.A. Oomen & J.H. Stevenson, 1986. Toxicity and hazard of pesticides to honeybees: Harmonization of test methods. - Bee World: 114-124.

Free, J.B., 1959. The effect of moving colonies of honeybees to new sites on their subsequent foraging behaviour. - Agr. Sc. 53 (1): 1-9.

Free, J.B., P.H. Needham, P.A. Racey & J.H. Stevenson, 1987. The effect on honeybee mortality of applying insecticides as sprays or granules to flowering field beans. - J. Sci. Fd Agric. 18: 133-138.

Gerig, L., 1985. Treatment of blooming orchard trees with "fenoxycarb". In: Third symposium on the harmonization of methods for testing the toxicity of pesticides to bees. Rothamsted Experimental Station, ICBB, England: A16.1-A16.2.

Holmes, S.B., R.L. Millikin & P.D. Kingsbury, 1981. Environmental effects of a split application of sevin-2-oil. - Report FPM-X-46, Canadian Forestry Service: 58 p. + addenda.

Jeffree, E.P., 1951. A photographic presentation of estimated numbers of honeybees (Apis mellifera L.) on combs in 14x8½ inch frames. - The Bee World 32 (12): 89-91.

Johansen, C.A., D.F. Mayer, J.D. Eves & Ch.W. Kious, 1983. Pesticides and bees. - Environ. Entomol. 12: 1513-1518.

Kingsbury, P.D. & B.B. McLeod, 1979. Terrestrial impact studies in forest ecosystems treated with double applications of permethrin. - Report FPM-X-28, Canadian Forestry Service: 55 p. + addenda.

Kingsbury, P.D., B.B. McLeod & R.L. Millikin, 1981. The environmental impact of nonyl phenol and the matacil formulation. Part 2: Terrestrial ecosystems. - Report FPM-X-36, Canadian Forestry Service: 68 p. + addenda.

MAFF (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food), 1986. Data requirements for approval under the control of pesticides regulations. MAFF, Harpenden. 219 p.

Needham, P.H., Solly S.R.B. & J.H.Stevenson, 1966. - J. Sci. Fd. Agric. 17: 133. In: MAFF, 1986.

OECD (Organization for Economic Co-operation and Development), 1988. Draft report of the OECD workshop on ecological effects assessment. - ENV/CHEM/CM/88.25, OECD: 66 p.

Oomen, P.A., 1985. Onderzoek naar de bijengevaarlijkheid van insecticiden bestemd voor gebruik in bloeiend koolzaak. In: Jaarboek 1984, Plantenziektenkundige Dienst. - Verslagen en Mededelingen 163: 149-151.

Robinson, W.S. & C.A. Johansen, 1978. Effects of control chemical for douglas-fir tussock moth Orgyia pseudotsugata (McDonnough) on forest pollination (Lepidoptera: Lymantriidae). - Wash. St. Ent. Soc. "Melanderia" 30: 9-56.

Shires, S. W., J. Le Blanc, A. Murray, S. Forbes & P. Debray, 1984. A field trial to assess the effects of a new pyrethroid insecticide, WL85871, on foraging honeybees (Apis mellifera) in oilseed rape. - J. Apic. Res. 23 (4): 217-226.

Shires, S.W., A. Murray, P. Debray & J. Le Blanc, 1984. The effects of a new pyrethroid insecticide WL-85871 on foraging honey bees (Apis mellifera L.). - Pestic. Sci. 15: 491-499.

Steen, J. van der & J. van den Eijnde, 1985. Field test of the hazard of deltamethrin to honeybees. In: Third symposium on the harmonization of methods for testing the toxicity of pesticides to bees. Rothamsted Experimental Station, ICBB, England: A14.1-A14.4.

Stoner, A., W.T. Wilson & J. Harvey, 1983. Dimethoate (Cygon(R)): Effect of long-term feeding of low doses on honey bees in standard-size field colonies. - The Southwestern Entomologist 8 (3): 174-177.

Wilkinson, W. & H.J. Gough, 1985. Methodology used in 1984 trials with PP321 on oilseed rape in relation to UK PSPS guidelines on honeybees. In: Third symposium on the harmonization of methods for testing the toxicity of pesticides to bees. Rothamsted Experimental Station, ICBB, England: A13.1-A13.2.

Voorstel voor

RICHTLIJN VOOR HET UITVOEREN VAN VELDTOETSEN TER BEPALING VAN NEVENEFFECTEN VAN CHEMISCHE BESTRIJDINGSMIDDELEN IN HET VELD OP

VOGELS

VELDTOETS VOGELS

Algemeen

Vertebraten hebben in het algemeen een veel grotere 'home-range' dan evertebraten. Wil een onderzoek waarin effecten op verschillende vogelsoorten (= Aves) worden onderzocht tot resultaten leiden dan moet dit onderzoek grootschalig worden opgezet. Mineau & Collins (1988) geven aan dat er vele haken en ogen zitten aan veldtoetsen met vogels. Daarom moet een veldtoets niet alleen grootschalig, maar tevens zeer zorgvuldig worden opgezet. In praktijk zal het noodzakelijk zijn om veel verschillende effectparameters te bepalen. Neveneffecten op vogels zijn in principe altijd als ongewenst te beschouwen. Het is bij een verdenking voor een matig risico dan ook terecht dat een uitgebreid onderzoek plaatsvindt.

Kooiproeven (zie bijv.: Heijbroek & Koster, 1973; Messick et al., 1974) hebben veel bezwaren en een hiervoor voorgesteld EPA-protocol is inmiddels weer ingetrokken. Daarom wordt door ons geen kooitoets beschreven, maar alleen een veldtoets.

Eén van de grootste problemen die zich voordoen bij veldtoetsen met vogels is de lage dichtheden waarin vogels voorkomen. In specifieke gevallen zou deze dichtheid kunstmatig kunnen worden verhoogd, bijvoorbeeld door het plaatsen van nestkasten (Mattes et al., 1980).

Appendix 4.5.2 geeft een globaal overzicht van het uitgevoerde onderzoek naar de effecten van bestrijdingsmiddelen op vogels (gedeeltelijk overgenomen uit De Snoo & Canters, 1988). Onderzoek wordt verricht in verschillende gebieden (bossen, akkers, boomgaarden). Bovendien worden de effecten met verschillende methoden onderzocht (zoeken van kadavers, tellingen, nestwaarnemingen etc.) en worden verschillende effectparameters onderzocht (mortaliteit, reproductie, gedrag). Op grote schaal worden niet alleen toxische, maar ook ecologische neveneffecten gevonden (bijv. Hunter, 1984; Hunter & Witham, 1985; McEwen et al., 1986). Relatief veel aandacht is er voor rodenticiden wegens de grote kans op oppikken of doorvergiftiging en voor granulaten wegens de grote kans op oppikken. Voor granulaten is er discussie over de voorspellende waarde van verschillende toetsmethoden (Mineau, 1988). Uit het overzicht van het onderzoek blijkt dat er ook in Nederland onderzoek plaats heeft gevonden (o.a. Heijbroek & Koster, 1973; Brugge, 1977; de Reede, 1982).

Voor een goed beeld van de verschillende effecten is het noodzakelijk om verschillende waarnemingsmethoden te combineren. Bij het opstellen van het protocol is vooral gebruik gemaakt van twee bronnen: het bestaande Engelse protocol (zie: appendix 4.5.1) en de methoden uit Hustings et al. (1989), een overzicht van veelgebruikte methoden voor vogelonderzoek.

Proefvoorwaarden

Bij veldtoetsen met evertebraten wordt in het algemeen aanbevolen om ook een positieve controle uit te voeren, dat wil zeggen een controle met een

middel waarvan in ieder geval een effect wordt verwacht. Bij vogels is het, meer dan bij evertebraten, moeilijk acceptabel om in een positieve controle nadelige effecten te veroorzaken. Daarom wordt afgezien van deze positieve controle. Om meer zekerheid te hebben omtrent het optreden van effecten wordt een extra proefveld behandeld met het viervoudige van de hoogst voorgeschreven dosis. Op deze manier is er in ieder geval sprake van een 'worst case'-situatie en kan worden bepaald of effecten bij een overschrijding van het "normale" gebruik al dan niet op zullen treden. Daarnaast moeten waarnemingen worden verricht om er zeker van te zijn dat de vogels inderdaad aan het middel worden blootgesteld.

Uit de Engelse toelating is een minimum aantal van 20 vogelsoorten in het proefveld overgenomen. In Nederland is dit aantal alleen reëel als het proefveld grenst aan een perceel wat niet in agrarisch gebruik is. Mogelijk moet voor een "normaal" agrarisch gebied het aantal soorten worden herzien.

Toediening

Ten aanzien van de toediening wordt gekozen voor een toediening volgens voorschrift. Het is belangrijk om ook op het referentie-veld in ieder geval dezelfde handelingen te verrichten, uiteraard afgezien van het spuiten van de actieve stof. Hierbij kan eventueel worden gespoten met een onschuldig spuitvloeistof (bij voorkeur water) of granulaat. Verstoring door apparatuur e.d. is dan in ieder geval gelijk voor proefveld en referentie.

Waarnemingen

Vogels en (a)biotische milieufactoren
Bij de opzet is gekozen voor twee grote proefvelden en een referentieveld (dus geen duplo's). Dit betekent dat op deze velden zeer intensief moet worden waargenomen om de waarnemingsfout zo gering mogelijk te maken. Bij de waarnemingen wordt dan ook gekozen voor een zo nauwkeurig mogelijke methode, waarbij territoria en nesten op kaarten worden aangegeven (Hustings et al., 1989).

Middel
Wanneer kans bestaat op doorvergiftiging is het noodzakelijk om ook de residuen in de vogels te bepalen. Bij persistente middelen kan zich het verschijnsel voordoen dat deze tijdens de vogeltrek een effect op de vogels hebben. Ook bij een verdenking hiervoor moeten de residuen worden bepaald. Voor een goed beeld van de blootstelling kan het tevens noodzakelijk zijn om residuen in het voedsel van de vogels te bepalen.

Voorgestelde **RICHTLIJN VELDTOETS VOGELS**

1. PROEFVOORWAARDEN

1.1 Keuze van toetsorganisme en gewas

Toets uitvoeren met vogels (= Aves) op een bodemtype waarop het middel wordt gebruikt. Toets uitvoeren in een teelt waarin de hoogste dosis wordt voorgeschreven.

1.2 Proefvoorwaarden

Het behandelde proefveld moet worden vergeleken met een referentie-veld. In dit veld moeten dezelfde bewerkingen en bespuitingen worden uitgevoerd, nu alleen met water of met een op de formulering lijkende, onschuldige draagstof. De duur van de proef is minstens één broedseizoen, zodat effecten op de reproductie kunnen worden bepaald en het middel eventueel (volgens voorschrift) meerdere malen kan worden toegepast.

1.3 Overige proefvoorwaarden

Bij de keuze van de locaties moet rekening worden gehouden met de aanwezigheid van vogelsoorten; 20 soorten is in het algemeen voldoende. Definitieve keuze van de locatie hangt er van af of soorten die potentieel het meeste risico lopen aanwezig zijn. Het gebied moet ook enkele heggen of bosjes omvatten en liefst grenzen aan bos of hakhout. De drie proefvelden moeten zo vergelijkbaar mogelijk zijn en dezelfde vogelsoorten moeten er voorkomen. De omgeving mag niet te rijk zijn aan vogels, omdat in dat geval eventueel aangetaste vogels te snel worden vervangen door andere vogels. Het effect zou bij bijvoorbeeld territorium-telling door middel van zang in dit geval niet worden gevonden.

1.4 Technische uitvoering

Proefveldgrootte

Toets uitvoeren in een gebied van ca. 10 ha.

Proefveldindeling

Proefvelden moeten gelegen zijn in een gebied waarin het middel doorgaans zal worden gebruikt. Proef- en referentie-veld moet in hetzelfde gebied liggen, op voldoende onderlinge afstand om beïnvloeding te voorkomen. Bovendien moet de kans dat de vogels op het andere proefveld fourageren afwezig zijn.

2. TOEDIENING VAN DE MIDDELEN

2.1 Middelen

Het te onderzoeken middel wordt toegepast volgens de door de producent ingediende gebruiksaanwijzing en met een praktijkformulering.

2.2 Behandelingsapparatuur

De middelen toedienen met gangbare apparatuur volgens voorschrift.

2.3 Dosering middel

Toedienen van de hoogst voorgeschreven dosis van de betreffende formulering *en met het viervoudige hiervan.*

2.4 Aantal en tijdstip van de behandelingen

De behandeling vindt plaats op een tijdstip dat het middel normaal gesproken zal worden toegepast.

3. WAARNEMINGEN

Methoden en frequentie

De waarnemingen moeten in algemene zin worden uitgevoerd door getrainde en ervaren waarnemers; voor een aantal typen waarnemingen, zoals zang en gedrag is het noodzakelijk dat ervaren ornithologen de waarnemingen verrichten.

Kadaver-onderzoek
Het veld te voet afzoeken op banen maximaal drie meter van elkaar. Ook *zoeken buiten het proefveld en op locale rust- en slaapplaatsen.* 24-48 uur voor de bespuiting kadavers zoeken en deze verwijderen. Kadavers zoeken op de dag dat er gespoten is en later op tijdstippen te bepalen afhankelijk van de verwachte effecten. Nauwkeurig tijdstip, plaats, duur van het zoeken etc. vastleggen. Kadavers individueel verpakken in aluminiumfolie en zo snel mogelijk onderzoeken en analyseren op residuen.

N.B. Ook omtrent gedrag van predatoren waarnemingen verrichten.

Tellingen
Methode: vaste route lopen, 's ochtends en 's avonds en presentie noteren (met name zingende mannetjes). Tellingen ook op belendende percelen uitvoeren en een aantal dagen voor en na de behandeling. Zoveel mogelijk moeten territoria worden waargenomen en op kaarten worden ingetekend (zie: Hustings et al., 1989). Ook andere, niet territorium houdende vogels moeten worden genoteerd. Deze tellingen kunnen parallel of tegelijk met het kadaverzoeken plaatsvinden; voor de bespuiting moet een nauwkeurig beeld zijn verkregen van de aanwezige territoria en nesten. Na de bespuiting moet direct worden waargenomen en vervolgens de eerste twee weken dagelijks. Vervolgens kan de frequentie worden teruggebracht tot eens per twee dagen voor de eerste maand na bespuiting, en hierna tot twee maal per week. Bij deze tellingen moeten zowel het proefveld zelf als de randen intensief worden betrokken. De omliggende percelen kunnen globaler worden gevolgd. Het is van belang welke vogels vanuit de omliggende percelen op het proefveld fourageren. Het is zinvol om een beeld te hebben van de territorium-houdende vogels op een strook van 100 meter rond het proefveld. Een eventueel effect kan dan worden waargenomen door

deze vogels te volgen. Deze tellingen kunnen minder intensief zijn dan die in het proefveld zelf, bijvoorbeeld met een waarnemingsfrequentie van eens per week.

Nest-monitoring & broedsucces
Bij het tellen van de vogels moeten indien mogelijk de nesten worden genoteerd en de legselgrootte, het uitvliegpercentage en het aantal uiteindelijk volgroeide jongen worden vastgesteld. Het broedsucces kan het makkelijkst worden waargenomen in nestkasten; deze kunnen voor dit doel in het proefveld worden opgehangen.

Gedragswaarnemingen
Eerst subletale laboratorium-effecten bestuderen; in het veld veranderingen in het gedragspatroon proberen waar te nemen. Hiertoe behoort bijvoorbeeld ook het fourageergedrag en de plaats van fourageren.

Residuen
Bij specifieke verdenkingen kunnen ook andere waarnemingen worden gedaan. Het kan wenselijk zijn om de verspreiding en blootstelling van een middel te bepalen aan de hand van gehalten in organismen. Hiertoe kunnen volgens een vooraf bepaald schema vogels en eieren worden gevangen resp. geraapt en geanalyseerd op residuen en/of afwijkingen. Ook kan bij cholinesterase remmende middelen de cholinesterase-activiteit in de organismen worden bepaald. Tevens kunnen residuen in voedsel worden bepaald.

Bij een verdenking voor voedsel of habitat effecten kan ook direct naar voedsel of habitat worden gekeken; hiertoe kunnen bijvoorbeeld de effecten op insecten worden bepaald met behulp van een loopkevertoets en de effecten op de vegetatie met behulp van de terrestrische hogere plantentoets. Een voedsel effect zal vooral een belangrijke rol kunnen spelen in de voortplantingstijd.

4. VOORWAARDEN VOOR GELDIGHEID

Replica's in de tijd zijn alleen vereist bij onduidelijkheden in de resultaten en als in de blanco's veel sterfte optreedt. Een uitgebreid rapport van de veldproef is absoluut noodzakelijk voor een beoordeling van de resultaten. Elk detail, hoe triviaal ook, dient te worden vermeld. Bij de gegevens moeten in ieder geval ook de onbewerkte data worden meegeleverd, evenals de gebruikte statistische methoden.

KOSTEN

Kenschets proefopzet:

A	B	C	D	E	F	G	H
soort	aspect	type	dosering	blanco	veelvoud	monsters	bemonst.
1	a g r ▪	, v	hp 4hp	b	1	uiteenl.	10-30

Voor de betekenis van de gebruikte codes wordt verwezen naar § 4.3 van het hoofdrapport (= deel A).

	netto-werkdagen	materiaalkosten
1 materiaal	5	
- proefvelden		5.000
- veldapparatuur		p.m.
2 bemonsteren (3 x 10 ha)		p.m.
- transect-tellingen	20	
- kadaver-onderzoek	40	
- reproductie en gedrag	30	
- abiotische parameters	5	
3 meten parameters		
- abiotische parameters	5	500
- gehaltebepalingen	5	2.000
4 interpreteren gegevens	10	p.m.
5 invullen toetsformulier	5	n.v.t.
totaal werkdagen	ca. 125	n.v.t.
kostenschatting (subtot.)	f 93.750	f 7.500

kosten totaal (volgens zeer ruwe schatting): ca. f 100.000

Appendix 4.5.1 Overzicht bestaande richtlijnen voor veldtoetsen met vogels

Verenigde Staten (EPA, 1982)
Noemt wel veldtoets als mogelijkheid; er wordt echter alleen een concreet voorbeeld gegeven voor een kooitoets met kwartels:
- 8 paar vogels in kooien van 3,1x15,2 meter en 2 meter hoog. Per behandeling en controle minstens 3 kooien. Plaatsen 2 weken voor eerste bespuiting tot drie weken na laatste bespuiting.

Engeland (MAFF, 1986: Working Document 7/1)
Er zijn een aantal algemene eisen t.a.v. veldonderzoek en er wordt een overzicht gegeven van vormen van veldtoetsen die uitgevoerd kunnen worden.
Toetsvoorwaarden:
- Grote zorgvuldigheid is vereist bij het uitvoeren voor wat betreft kennis en ervaring (van met name biologen) met het waarnemen van vertebraten-populaties.
- Bij de keuze van de locaties moet rekening worden gehouden met de aanwezigheid van vogelsoorten; 20 soorten is in het algemeen voldoende; definitieve keuze van de locatie hangt er van af of soorten die potentieel het meeste risico lopen ook daadwerkelijk aanwezig zijn. Minimum te behandelen gebied minstens 10 ha met brede houtwallen of bos of hakhout aan minstens één van de randen; het achterland mag echter niet te rijk zijn aan vogels, omdat in dat geval eventueel aangetaste vogels te snel worden vervangen door andere vogels; het effect zou bijvoorbeeld bij tellen op zang in dit geval niet worden gevonden.
- Alvorens tot een veldtoets over te gaan kan het noodzakelijk zijn eerst laboratorium-methoden te ontwikkelen, bijvoorbeeld voor het analyseren van residuen.
- Behandeling uitvoeren volgens voorschrift met de hoogst voorgeschreven dosis. Tijdens behandeling een monster nemen van het middel. Behandeling nauwkeurig vastleggen.
- Een gedetailleerd protocol moet worden opgesteld, liefst met goedkeuring van de autoriteiten. Het veldteam moet echter de mogelijk hebben om in te spelen op onvoorziene omstandigheden.

Waarnemingen:
- Kadaver-onderzoek (bij elke veldtoets uitvoeren):
  Het veld afzoeken op banen op maximaal drie meter van elkaar; ook zoeken buiten het proefveld en op locale rust- en slaapplaatsen; 24-48 uur voor de bespuiting kadavers zoeken en deze verwijderen; kadavers zoeken op de dag dat er gespoten is en later op tijdstippen te bepalen afhankelijk van de verwachte effecten; het tijdstip, plaats, duur van het zoeken etc. steeds nauwkeurig vastleggen; kadavers individueel verpakken in aluminiumfolie en zo snel mogelijk onderzoeken en analyseren op residuen.
- Vogeltellingen (vooral bruikbaar voor broedende en/of territoriumhoudende vogels); methode: vaste route lopen, 's ochtends en 's avonds en presentie noteren (met name zingende mannetjes). Tellingen ook op belendende percelen uitvoeren en een aantal dagen voor en na de behandeling.
- Nest-monitoring en broedsucces.

Aanvullende waarnemingen tijdens tellingen:
- Vogelgedrag (alleen door ervaren ornithologen): eerst subletale laboratorium-effecten bestuderen; in het veld veranderingen in het gedragspatroon proberen waar te nemen.
- Gehalten in organismen.
  Het kan wenselijk zijn om de verspreiding van een middel te bepalen aan de hand van gehalten in organismen. Hiertoe kunnen volgens een vooraf bepaald schema vogels en eieren worden gevangen resp. geraapt en geanalyseerd op residuen en/of afwijkingen.
- Kooiproeven. Staan ter discussie maar kunnen toch informatie opleveren over werkelijke blootstelling etc. Bovendien kan met kleine proefvlakken kan worden volstaan. Er moet op worden gelet dat geen stress ontstaat en dat de vogels voldoende gewend zijn aan de kooi. Adequate referenties zijn noodzakelijk. Toch slechts uitvoeren nadat er specifieke vragen zijn die met dit type toets kunnen worden beantwoord.
- Residuen in voedsel kunnen worden bepaald en worden vergeleken met de laboratorium LC50. Hierbij wordt echter opgemerkt dat de LC50 voor vogels weinig zegt over de effecten in het veld.

Presentatie:
- Een uitgebreid rapport van de veldproef is absoluut noodzakelijk voor een beoordeling van de resultaten. Elk detail, hoe triviaal ook, dient te worden vermeld.

Nederland (CTB, 1987: onderdeel H)
Ten aanzien van vogels wordt het volgende opgemerkt: onder bepaalde omstandigheden kan een veldtoets noodzakelijk zijn; voor methoden wordt verwezen naar de Engelse toelatingsprocedure.

Appendix 4.5.2 Overzicht uitgevoerd veldonderzoek met vogels

McEwen et al. (1972) Veldonderzoek naar het effect van diazinon op vogels en zoogdieren. Diazinon wordt toegepast op 24 proefvelden ter bestrijding van sprinkhanen in Wyoming (5,0-8,0 02/'acre'). Voor de bespuiting worden gemiddeld 26,6 vogels per 1/2 mijl geteld. 6-8 dagen na bespuiten is het aantal getelde vogels gedaald tot 11,1. Tevens worden 8 dode vogels van de 4 algemene soorten in het gebied gevonden. Vier vogels worden nader onderzocht en bevatten 0,06-0,57 mg diazinon/kg lich.gew. Geconcludeerd wordt dat de vogelpopulatie in het gebied ten gevolge van diazinon is afgenomen.

Tait (1972) Veldonderzoek naar de mogelijke effecten van aldicarb (Temik, 10% granulaten) in suikerbieten op vertebraten. De granulaten werden, samen met de suikerbieten, in april ingezaaid op 20 'acres'. Op 10 'acres' werden suikerbieten gezaaid zonder aldicarb. De velden worden systematisch onderzocht naar de aanwezigheid van dode dieren. Er worden 4 dode dieren gevonden, één daarvan (een kneu Carduelis cannabina) bevat aldicarb. Er is geen diversiteitsverschil of aantalsverschil bij de vogels ten gevolge van de toepassing van aldicarb. Ook is er geen verschil gevonden in het aantal opgegroeide vogels.

Buckner et al. (1973) Veldstudie naar de effecten van carbaryl op vogels en kleine zoogdieren. Een bosproefveld van 20 'acres' wordt met carbaryl (Sevin-olie) bespoten (dosis onbekend). Het aantal zingende mannetjes wordt als maat voor de vogeldichtheid gebruikt. Waarnemingen worden gedaan voor het spuiten en 1, 2, en 3 weken daarna. Referentie-veld aanwezig. Er blijkt geen significant verschil te bestaan tussen het aantal soorten en individuen en het uitkomen van de eieren vóór en ná de bespuiting. Geldigheid van de uitkomsten van het onderzoek beperkt door het kleine proefveldoppervlak zonder replica's.

Heijbroek & Koster (1973) Vogels en kleine zoogdieren kunnen directdoor het oppikken van granulaten-of indirect - door het eten van gecontamineerde planten - met aldicarb worden vergiftigd. In dit semi-veldonderzoek, uitgevoerd door het IRS (Instituut voor Rationele Suikerproductie), *het RIN en de vakgroep Toxicologie van de LUW*, wordt de mogelijkheid van indirecte vergiftiging van fazanten door aldicarb nagegaan. Op 4 proefvelden (6x30 meter) worden verschillende concentraties aldicarb in de bodem gebracht (10-50 kg Temik 10 G [= 10% aldicarb granulaten] per ha). 12 kooien met in totaal 24 fazanten worden gedurende 2 weken op de proefvelden gezet. De consumptie van de dieren wordt vastgesteld. Het blijkt dat de aldicarb-residuen op de suikerbietplanten in de loop der tijd toenemen. Letale effecten op de fazanten doen zich echter niet voor. Geconcludeerd wordt dat indirecte vergiftiging (via de vegetatie) van fazanten niet plaatsvindt. Directe vergiftiging treedt echter wel op: het oppikken van enkele korrels is reeds dodelijk voor de fazanten.

Jennings & Brown (1973) Veldonderzoek waarbij bodem en wild op de aanwezigheid van aldicarb onderzocht worden. In de bodem neemt de concentratie aldicarb af van 0,134 mg/kg op de dag van toedienen tot 0,043 mg/kg na 97 dagen. Onderzocht zijn verder (gevonden en afgeschoten) muizen, spitsmui-

zen, hazen, konijnen, merels, leeuweriken, houtduiven, fazanten, rodepatrijzen en eieren van diverse vogelsoorten. Op basis van de residuen in de vogels is het risico voor de verschillende soorten voor rode patrijs > veld-leeuwerik > fazant > merel. Opvallend is dat de hoogste concentraties aldicarb veelal pas na geruime tijd na het toepassen van het middel in de dieren aanwezig is: leeuweriken maximaal 3 mg aldicarb per kg lichaamsgewicht in de lever na 64 dagen, houtduiven maximaal 1 mg/kg na 36 dagen. De allerhoogste concentratie aldicarb is aangetroffen in de krop en maag van een - dood gevonden - rode patrijs, resp. 380 en 79 mg/kg lichaamsgewicht. Bij enkele levende dieren konden, ondanks dat bij onderzoek bleek dat geen aldicarb aantoonbaar was, gedragsafwijkingen ten gevolge van vergiftiging worden vastgesteld.

Rivera (1973) Enkele dagen nadat een aangrenzend perceel behandeld was met paraquat (20%) sterft 72% van een ganzenpopulatie (van 84 vogels). De vogels konden niet op het perceel fourageren maar vermoedelijk is het middel na sterke regenval de helling afgestroomd en in de regenplassen terecht gekomen. Zodoende kwamen de ganzen toch met het middel in aanraking.

Kurtz & Studholme (1974) Veldstudie naar de effecten van carbaryl (11b/A) op vogels (vinkachtigen) na bespuiting van een proefveld (bos) van 150 'acres'. Vogels zijn drie dagen na bespuiten afgeschoten. Vogels van controle-veld en bespoten veld op carbaryl geanalyseerd. Zowel in de controle vogels als in de blootgestelde vogels worden alleen sporen van carbaryl aangetroffen. Waarschijnlijk geringe blootstelling vogels doordat weinig carbaryl de bodem bereikt. Er is geen effect waargenomen van carbaryl op bosvogels die op de bodem fourageren.

N.B. Onderzoek niet zo betrouwbaar door kleine aantal vogels, die waarschijnlijk nauwelijks zijn blootgesteld, aangezien alleen levende vogels op blootstelling zijn onderzocht. Bovendien zijn de monsters vrij lang en ongelijk over de proefgroepen bewaard gebleven.

Messick et al. (1974) Veldonderzoek naar het effect van bestrijdingsmiddelen op fazanten. In 1970 worden 24 ha o.a. met parathion bespoten (47%, 0,9 kg/ha). Onderzocht wordt de blootstelling, overleving, broedsucces, migratie, insectenconsumptie en cholinesterase-remming bij vrijlevende fazanten Phasianus colchicus en bij jongen fazanten die in kooien op de bespoten velden staan. Er blijkt geen sterfte op te treden. De jonge fazanten (5-15 dagen oud) in de kooien, vertonen enkele minuten na bespuiten evenwichtsstoornissen. Zes weken oude fazanten vertonen geen abnormale verschijnselen. Beide groepen fazanten vertonen in vergelijking met controle-dieren geen verschil in lichaamsgewicht en cholinesterase activiteit.

N.B. De in gevangenschap gehouden dieren hadden de beschikking over onbesmet voer.

Bij de vrij levende fazanten blijkt dat het aantal succesvolle nesten tussen bespoten en onbespoten gebieden niet verschilt. Enkele radiotelemetrisch gevolgde fazanten blijken het bespoten gebied niet te mijden.

Onderzocht zijn tevens de effecten van de bestrijdingsmiddelen op de voedselsituatie van de vrij levende fazanten. Het aantal insecten in de bespoten velden is veel kleiner dan in de onbespoten velden. Ook in de krop van geschoten fazanten in bespoten gebieden zijn veel minder insecten aanwezig dan in die van fazanten van onbespoten gebieden. Geconcludeerd wordt dat de toxische neveneffecten van de bestrijdingsmiddelen niet de hoofdoorzaak kunnen zijn van de achteruitgang van de fazantenstand. De gevolgen van de ecologische neveneffecten (voedseltekort) zijn in dit onderzoek niet verder uitgewerkt.

Moulding (1976) Veldonderzoek naar de effecten van carbaryl op bosvogels in naaldbossen. Vliegtuig-bespuiting van twee proefvelden van 5000 'acre', met 500 g Sevin-olie/'gallon' en 'acre'. Twee controle-velden, even groot, zijn niet bespoten. Waarnemingen aan vogels worden gedaan op zicht en geluid. Na bespuiting neemt het aantal vogels, de soortenrijkdom en de diversiteit af gedurende 8 weken tot 55% van de controle-velden. Tot aan de volgende zomer is de vogelpopulatie lager dan in de controlevelden (45%). Er is een aanwijzing dat de afname sterker is voor vogels die tussen de bladeren fourageren dan voor vogels die op de grond hun voedsel zoeken. Verklaring voor de afname wordt gezocht in het zoeken van voedsel buiten de bespoten gebieden en een afname van het reproductie succes. Er worden geen dode vogels aangetroffen. De zang neemt niet af na het bespuiten. Aantal bosvogels en soorten neemt af na carbaryl-bespuiting ten gevolge van (waarschijnlijk) indirecte voedsel-effecten of effecten op de reproductie.

Bridges & Andrews (1977) 55 wilde kalkoenen Meleagris gallapavo geschoten tijdens het jachtseizoen van 1974 in de USA (Zuid-Illinois) zijn geanalyseerd op de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen. Er zijn 12 bestrijdingsmiddelen geïdentificeerd. Slechts 4 daarvan zijn aanwezig in alle monsters, te weten: DDT, heptachloorepoxide, toxafeen en linuron. Linuron blijkt in kalkoenen persistent te zijn en goed aantoonbaar.

Brugge (1977) In 1975 wordt chloorfacinon (experimenteel) gebruikt om veldmuizen in de Alblasserwaard te bestrijden. Onderzocht wordt het effect van de bestrijding en de neveneffecten. Chloorfacinon wordt toegediend op tarwe (1,54/20 kg tarwe = 1,5 g/ha). De tarwe wordt breedwerpig uitgestrooid op 60 ha grasland, 55 ha wegbermen, 39 ha boomgaarden en 1 ha bouwland. Op het moment van toepassen is de veldmuizenpopulatie niet groot meer. Het blijkt dat niet muizen maar vogels het merendeel van de tarwe eten. Er worden op de behandelde percelen meer houtduiven, mussen, wilde eenden en zwarte kraaien waargenomen. In de krop/maag van postduif, houtduif en wilde eend wordt chloorfacinon aangetroffen. Tengevolge van chloorfacinon sterven 6 postduiven en 1 houtduif. Van 3 wilde eenden, één houtduif en één hermelijn is de sterfte waarschijnlijk veroorzaakt door het middel.

Lauenstein (1978 & 1980) In het kader van de toelating van chloorfacinon in Duitsland werden in Oldenburg twee grootschalige experimenten uitgevoerd. Chloorfacinon-tarwe (0,0075%) werd breedwerpig gestrooid (10 en 20 kg/ha). Op de behandelde velden en tot 5 km in de omtrek werd gezocht naar dode dieren. Op de behandelde velden waren meer vogels aanwezig dan op de controle-velden. In totaal werden 2000 vogels (37 soorten) geteld.

Bij het eerste experiment in 1977 werden 12 dode vogels aangetroffen. Bij een kokmeeuw, een zilvermeeuw en een waterhoentje waren er sterke aanwijzigingen voor vergiftiging. Bij een andere kokmeeuw en een spreeuw bestond verdenking. In 1978 werden tevens een aantal vogels geschoten en op de aanwezigheid van chloorfacinon onderzocht. Van deze vogels werd in één kraai, één kauw en één ekster chloorfacinon aangetroffen. Geen chloorfacinon werd gevonden in fazant, reiger en buizerd. Bij het tweede experiment in 1979-1980 werden geen door chloorfacinon gedode vogels gevonden.

Zinkl et al. (1978) Beschrijving van een incident waarbij 14 canadese ganzen omkwamen op een golfterrein maanden na toepassing van diazinon.

Bart (1979) 8 bosproefvelden, waarvan 1 van 100 ha, zijn behandeld met 1,1 kg Sevin-olie/ha. Zang van bosvogels gebruikt als maat voor de dichtheid. Na bespuiten blijkt er geen effect te zijn op het voorkomen van vogels, het totale aantal individuen en de zangtijd. Eén soort komt minder in het bespoten gebied voor. De gewichten van de vogels zijn niet verschillend na de behandeling. Verondersteld wordt dat er geen veranderingen in de fourageerbeweging van de vogels is. Geen of zeer klein effect van carbaryl op voorkomen van bosvogels.

De Weese et al. (1979) 3 velden bespoten, 350-550 ha groot met 500 g carbaryl/0,5 'gallon'.'acre' (Sevin-olie). Effect nagaan op populatie bosvogels, die zowel op geluid als visueel zijn waargenomen. Parameters: broeddichtheid, voedsel (maaginhoud), broedsucces, fourageerhoogte, cholinesterase-remming en sterfte van 20 vogelsoorten. Waarnemingen tot 14 dagen na bespuiten. Geen significante verschillen tussen het bespoten en onbespoten proefveld voor de bemonsterde parameters. Wel is de blootstelling van vogels die in de vegetatie fourageren groter dan die van op de grond fouragerende vogels, gemeten aan de maaginhoud.

Kingsbury & McLeod (1979) Veldonderzoek naar de effecten van permethrin op vogels, zoogdieren en terrestrische evertebraten in drie verschillende ecologische habitats (totale oppervlakte ongeveer 930 ha). Een open plantage, een loofbos en een naaldbos worden twee keer bespoten met 17,5 g permethrin/ha (interval van 6 dagen). In iedere ecologische habitat wordt naast een bespoten proefveld van 4 ha ook een controle-veld onderzocht. De bosvogelpopulatie wordt d.m.v. censustellingen van 5 dagen voor het spuiten tot 6 dagen na de laatste bespuiting bemonsterd (zowel visueel als op zang). Op de dag van bespuiting worden de velden afgezocht op dode of zieke vogels. In de verschillende habitats worden 44 tot 56 vogelsoorten aangetroffen. Het blijkt dat de vogelpopulaties in de 3 typen habitats niet worden aangetast door de bespuitingen met permethrin. Alleen in het naaldbos nemen de zang- en fourageeractiviteit van de vogels de tweede dag na de eerste bespuiting af. Twee dagen later zijn zowel zang- als fourageeractiviteit weer gelijk aan de controle. Bij de intensieve zoekacties zijn nergens dode of zieke vogels aangetroffen. Ook de territoria van de vogels blijven na bespuiten bezet.

Richmond et al. (1979) Veldonderzoek naar de effecten van o.a. diflubenzuron op bosvogels. Twee proefvelden (elk 129,5 ha) worden bespoten met 0,14 en 0,28 kg diflubenzuron/ha. Het aantal vogels, de soortsdiversi-

teit, het broedsucces en de aanwezigheid van dode of zieke vogels wordt onderzocht op de bespoten velden en een controle-veld. Het onderzoek duurt twee jaar. Er worden geen dode of zieke vogels gevonden in de met diflubenzuron behandelde velden. De soortsdiversiteit en het aantal broedparen verandert niet. Het broedsucces is bij 0,28 kg diflubenzuron/ha in het eerste jaar 16% minder dan in het controle-veld. Het tweede jaar is het broedsucces 11% groter dan bij de controle. Conclusie van de auteurs is dat diflubenzuron geen effect heeft op bosvogels. Vergelijkbare resultaten zijn in door de auteurs geciteerde literatuur gevonden.

Stanley & Bunyan (1979) Chloorfenvinfos is sterk toxisch voor duiven (LD50: 16 mg/kg lich.gew.). Ook in het veld doen de meeste incidenten zich voor met duiven. In totaal worden 9 incidenten vermeld (1974-1976) waarbij meer dan 150 duiven (van verschillende soorten) omkwamen ten gevolge van de consumptie van met chloorfenvinfos behandelde wintertarwe. Bij de meeste dode vogels was de hersencholinesterase-remming > 90%.

Mattes et al. (1980) Veldonderzoek naar het effect van insecticiden op de vitaliteit en reproductie van koolmezen Parus major. In 5 duitse boomgaarden worden nestkasten opgehangen om de koolmeespopulatie te vergroten of te stabiliseren. In de periode 1972-1975 worden tijdens het broedseizoen de nestkasten dagelijks gecontroleerd. De boomgaarden worden 15 tot 18 keer met bestrijdingsmiddelen bespoten, 8 keer zijn dit insecticiden zoals diazinon, dimethoaat, parathion, azinofos, omethaat, phosalon en endosulfan. Onderzocht wordt het effect van de insecticiden op de overleving van de vrouwelijke ouderdieren, het aantal en het gewicht van de eieren en de jongen, eischaaldikte, leeftijdsopbouw van de populatie en de voedselsituatie (voedselaanbod en fourageeractiviteit). Tevens worden residuen bepaald in eieren en jongen. Het meest opvallende effect van de bespuitingen is de invloed van de voedselsituatie op de vitaliteit van de koolmezen. Verschillen in populatiedichtheid, legselgrootte, sterfte, groeisnelheid van de jongen zijn terug te voeren op het voedselgebrek dat is ontstaan. Direkte effecten van de insecticiden waren een afname van de eischaaldikte. Ook afwijkingen en een verhoogde sterfte onder de jongen in het zwaarst bespoten gebied worden gevonden. Ook vertonen enkele vrouwelijke ouderdieren abnormaal gedrag.

Bunyan et al. (1981) Veldonderzoek in Suffolk naar het effect van aldicarb op bodem, evertebraten en vertebraten. Aldicarb wordt op 31 ha suikerbieten in granulaatvorm toegepast (10% actieve stof, 1,12 kg aldicarb/ha). Twee ha in het centrum van het proefveld dienen als onbespoten controle. De vertebraten worden voor en na het spuiten vergeleken. Er is geen verschil tussen bespoten en onbespoten velden. Het aantal overvliegende vogels wordt geteld. Ook de overleving van de jongen en de activiteit worden bepaald. Op basis van het aantal individuen, dat wordt gezien en de frequentie waarmee deze individuen worden waargenomen, is een risico-index berekend. Rode patrijzen, gevolgd door veld-leeuweriken, lopen de grootste risico's. Er is geen effect van aldicarb op de reproductie gevonden. Het middel kon in de eieren van diverse soorten niet worden aangetoond. Op de behandelde velden worden twee dode rode patrijzen gevonden; doodsoorzaak: aldicarb-vergiftiging. Van de 30 geschoten vogels blijkt in 73% aldicarb-residuen aangetoond te kunnen worden. Aldicarb wordt zelfs aangetroffen in vogels, die 91 dagen na de toepas-

sing geschoten zijn. 30% van de geschoten vogels vertoonde één of meer verschijnselen van een aldicarb-vergiftiging. Behalve op de proefvelden zijn tevens 8 velden waar aldicarb in de praktijk wordt gebruikt, onderzocht op de aanwezigheid van dode dieren. Twee vogels zijn mogelijk ten gevolge van aldicarb gedood. Volgens de auteurs worden risico's van aldicarb met name veroorzaakt door het oppikken van granulaten en door doorvergiftiging via regenwormen.

De Reede (1982) Veldonderzoek naar de mogelijke doorvergiftiging van vogels bij de bestrijding van insectenlarven met diflubenzuron in Nederland. Drie appelboomgaarden zijn in 1976 bespoten met 3,3 kg diflubenzuron per ha (Dimilin-25%). In 1977 is een perceel essenhakhout bespoten met 1,2 kg diflubenzuron per ha. Ter controle dienden drie appelboomgaarden en drie percelen essenhakhout. Onderzocht is de hoeveelheid diflubenzuron in de bladeren en in bladetende insecten. Het effect van de bespuitingen is nagegaan op het broedresultaat van ringmus, koolmees en pimpelmees. Het blijkt dat de bespuitingen geen effect hebben op het gewicht en de sterfte van de jongen. Het broedsucces van de vogels van de bespoten en onbespoten terreinen verschilt niet. Opgemerkt dient te worden dat in 1976 de vogels uit de bespoten boomgaarden 50-75% van hun voedsel verzamelden buiten het bespoten gebied. In 1977 verzamelden vogels wel al hun voedsel in het bespoten essenhakhout, echter na bespuiten werden nauwelijks meer bladetende insecten gegeten.

Smith (1982) Konijnen en Virginiaanse kwartels, die drie maal bespoten zijn met 3 'lb'/'acre' oxamyl onder veldomstandigheden, vertonen geen klinische of grote pathologische afwijkingen.

Balcomb (1983) Een graanveld (5 ha) wordt doorzocht naar slachtoffers van de toepassing van carbofuran (Furadan 10 granulaten, 1,12 kg actieve stof per ha). Een stervende en een zieke buizerd Buteo lineatus worden gevonden. De door-vergiftiging van deze roofvogels is waarschijnlijk veroorzaakt door het eten van kleine zoogdieren.

Balcomb et al. (1984) 15 graanvelden (totaal 195 ha) in Maryland (USA) worden behandeld met carbofuran (Furadan-10 granulaten, 1,12 kg actieve stof per ha) ter bestrijding van de graanwortelworm. Het onderzoek omvat het systematisch afzoeken van een deel van de velden 1 en 3-4 dagen na behandeling met carbofuran. Een 2 tot 3 meter brede strook wordt door waarnemers te voet afgezocht op slachtoffers. In totaal wordt 25-38 ha onderzocht; 6 dode vogels (5 soorten) worden gevonden; 5 vogels zijn zeer waarschijnlijk door carbofuran omgekomen. Op basis van de door carbofuran dood gevonden vogels (1 vogel op 5 à 7,6 ha) wordt het aantal jaarlijks door carbofuran gedode vogels in de USA geschat op meer dan 1 miljoen!

Blus et al. (1984) Onderzoek naar gevolgen van heptachloor en lindaan, toegepast als zaad-ontsmettingsmiddel, voor Canada-ganzen. In de periode 1974-1979 nam het aantal ganzen in een populatie in Umatilla af; hoogst waarschijnlijk door het gebruik van heptachloor. In de periode 1979-1983 is heptachloor vervangen door lindaan en neemt het aantal ganzen weer toe. De sterfte neemt af en het aantal broedparen stijgt weer. Er zijn geen aanwijzingen dat lindaan negatieve gevolgen zou hebben of zich ophoopt in ganzen of ganzeëieren.

Hunter et al. (1984) Semi-veldonderzoek naar de gevolgen voor jonge eenden van een carbaryl-bespuiting van meertjes. Het blijkt dat de aquatische evertebraten sterk in aantal afnemen. Vanaf twee dagen na het bespuiten neemt de groei van de eenden in de bespoten meertjes af. De eenden besteden meer tijd aan fourageren. Ondanks de sterke koude tijdens het experiment overleven de eenden echter wel. Op korte termijn is er dus wel een effect van de carbaryl-bespuiting, op lange termijn is dit niet onderzocht. De achteruitgang van zwarte zeeëenden in de laatste jaren wordt wel aan het optredende voedselgebrek geweten. Carbaryl kan bij jonge eenden tot voedseltekort leiden, waardoor de groei achterblijft.

King et al. (1984) Veldonderzoek in Texas naar het effect van parathion op het nestverdedigingsgedrag en het reproductiesucces van een meeuw, Larus atricilla. In een broedkolonie wordt bij 14 vogels 5 mg parathion (in olie) per kg lichaamsgewicht oraal toegediend. 10 controle-vogels krijgen alleen olie toegediend. Onderzocht wordt het effect op de verdediging van het nest na 6, 24 en 30 uur (parameters: vliegafstand boven een indringer en tijd, die verstrijkt voordat de vogel weer op het nest zit). Het effect op de reproductie wordt bepaald door gedurende 3 weken het aantal eieren en jongen in de nesten te tellen. Uit het onderzoek blijkt dat een eenmalige toediening van parathion geen effect heeft op het nestverdedigingsgedrag of het reproductiesucces.

Blus et al. (1985) Onderzoek in Columbia Basin, Oregon en Washington naar de gevolgen van heptachloor en lindaan, toegepast als zaadontsmettingsmiddel voor een aantal vogelsoorten zoals eenden, fazanten en eksters. In de periode 1978-1981 worden eieren van 6 vogelsoorten op de aanwezigheid van beide middelen onderzocht. Lindaan kon niet in de eieren worden aangetoond in tegenstelling tot heptachloor. Ook in de hersenen van enkele nader onderzochte vogels kon lindaan niet worden aangetoond. Het middel veroorzaakt geen negatieve effecten bij de vogels.

Hunter & Witham (1985) Twee veldexperimenten, in experiment 1 is een bosproefveld (1577 ha) voor 30% bespoten met carbaryl (840 g/ha). In experiment 2 is een heel bosproefveld (1487 ha) bespoten. Waargenomen zijn effecten op hoogte van het fourageren in de bomen, verhouding tussen de aantallen per soort, sexe, boomsoort waarin wordt gefourageerd en het aantal fouragerende vogels (tjiftjaf). In experiment 1 blijken er tot 7 dagen na bespuiten minder fouragerende vogels aanwezig te zijn. De fouragerhoogte neemt af, terwijl ook de boomsoort waarin gefourageerd wordt veranderd. Het aantal bladarthropoden is na bespuiting afgenomen. In experiment 2 zijn er geen effecten op de vogels gevonden, hoewel het aantal arthropoden sterker afneemt. De verschillen tussen de beide experimenten worden verklaard doordat in experiment 2 de uitwijkmogelijkheid, die in experiment 1 wel aanwezig is, ontbreekt.

Stone & Gradoni (1985) Beschrijving van enkele incidenten, waarbij ook vogels omkwamen ten gevolge van carbofuran.

McEwen et al. (1986) Veldonderzoek naar het effect van chloorpyrifos op strandleeuweriken Eremophila alpestris en McCown's gorzen Calcarius mccownin. 16 ha wintertarwe en twee stroken van 4 ha worden bespoten met resp. 0,56 kg en 1,0 kg pyrifos in 1,8 g/l/ha. Leeuweriken en gorzen

worden op de hoeken van de bespoten velden en in controle-gebieden afgeschoten. Hersencholinesterase-activiteit en maaginhoud van de dieren worden onderzocht. Het blijkt dat de cholinesterase-activiteit van leeuweriken 3 en 9 dagen na het bespuiten lager is dan van de controle-vogels. Op de 3e dag heeft 50% van de vogels een cholinesterase-remming van ≥ 20% (maximaal geconstateerde remming 52,1%). Op de 9e dag blijkt bij 44% van de vogels de remming 20% te zijn (maximaal 44,2%). Op de 16e dag is er geen verschil tussen de vogels van het bespoten veld en controledieren; bij één leeuwerik is de remming nog meer dan 20%. De gorzen zijn, in kleine aantallen, onderzocht op de 3e en 9e dag na bespuiting. Cholinesterase-remming werd niet aangetoond (mogelijk door de kleine steekproefomvang). Dode of zieke leeuweriken en gorzen zijn niet aangetroffen; een systematische zoekactie werd echter niet uitgevoerd. De maaginhoud van de vogels bestond zowel uit dierlijk als plantaardig materiaal. Beide vogels zijn omnivoor. Op de 3e dag na bespuiten is de consumptie van dierlijk materiaal het hoogste en hoger dan bij de controle-vogels. De grotere hoeveelheid wordt waarschijnlijk veroorzaakt door de consumptie van gedode insecten (m.n. Agrotis orthogonia). Op de 9e en 16e dag na bespuiting wordt, meer dan bij de controledieren, plantaardig voedsel gegeten, mogelijk als gevolg van een tekort aan insecten ten gevolge van de bespuiting. Deze verschuiving in het voedselaanbod kan met name van belang zijn voor de voedselvoorziening van de jongen die normaal 86-89% dierlijk voedsel krijgen.

N.B. Gesteld wordt dat cholinesterase-remming ≥ 20% een indicatie is voor blootstelling aan een cholinesterase-remmend middel en dat remming ≥ 50% een mogelijke doodsoorzaak bij vogels kan zijn; tevens kunnen dan gedragsveranderingen optreden.

Brae et al. (1988) Vergelijking van de vogelstand op alternatieve bedrijven en bedrijven met een gangbare bedrijfsvoering. Vogels werden op zicht en geluid vanaf vaste punten geteld. Zoveel mogelijk werden ook broedende vogels en territoria op kaarten genoteerd. Er werden 31 alternatieve bedrijven geselecteerd met daarbij behorend 31 zo vergelijkbaar mogelijke gangbare bedrijven. Gedurende 4 jaar werd jaarlijks tussen 15 april en 15 juni 8 maal geteld. Gecorrigeerd werd voor verschillen in habitat. Er komen gemiddeld genomen per soort meer individuen voor in de alternatieve bedrijven. Deze verschillen lijken meer te worden veroorzaakt door bestrijdingsmiddelengebruik dan door verschillen in bemesting.

Mineau (1988); Mineau & Collins (1988) Vrijwillige incidentenregistratie geeft een vertekende kijk op vogelsterfte; voor grote opvallende vogels kan de methode een beeld geven. Kleinere vogels worden echter relatief weinig gevonden, zodat deze registratie een onderschatting van de sterfte zal geven. Ook meer structurele kadaverstudies hebben veel haken en ogen: het moment van sterfte na blootstelling kan sterk variëren, de populatiedichtheid is over het algemeen gering en daarmee de kans op detectie van kadavers, de vogels kunnen buiten het proefgebied sterven etc. Aangegeven wordt om voorzichtig te zijn met veldonderzoek; er zijn voorbeelden van veldtoetsen zonder effecten, terwijl deze achteraf in praktijk wel op bleken te treden.

LITERATUUR

Balcomb, R., 1983. Secondary poisoning of red-shoulderd hawks with carbofuran. - J. Wild. Manage. 47 (4): 1129-1132.

Balcomb, R., C.A. Bowen, D. Wright & M. Law, 1984. Effects on wildlife of at-planting corn applications of granular carbofuran. - J. Wildl. Manage. 48 (4): 1353-1359.

Bart, J., 1979. Effects of acephate and sevin on forest birds.- J. Wildl. Manage. 43 (2): 544-549.

Blus, L.J., C.J. Henny, D.J. Lenhart & T.E. Kaiser, 1984. Effects of heptachlor- and lindane-treated seed on Canada geese (Branta canadensis). - J. Wildl. Manage. 48 (4): 1097-1111.

Blus, L.J., C.J. Henny & A.J. Krynitsky, 1985. Effects of heptachlor and lindane on birds, Columbia basin, Oregon and Washington (USA). - Sci. Total Environ. 46: 73-82.

Brae, L., H. Nohr & B.S. Petersen, 1988. Bird fauna in organically and conventionally farmed areas. A comparative study of bird fauna and the effects of pesticides. Myljoprojekt 102; Miljostyrelsen, Copenhagen. 116 p.

Bridges, J.M. & R.D. Andrews, 1978. Agricultural pesticides in wild turkeys in Southern Illinois. - Trans. Ill. State Acad. Sci. 69 (4): 473-484.

Brugge, T., 1977. Veldmuizen bestrijden met chloorfacinontarwe? - Landbouwk. Tijdschr. 89 (1): 10-14.

Buckner, C.H., D.G.H. Ray & B.B. McLeod, 1973. The effects of pesticides on small forest vertebrates of the spruce woods provincial forest Manitoba. - Manit. Entomol. 7: 37-45.

Bunyan, P.J., M.J. van den Heuvel, P.I. Stanley & E.N. Wright, 1981. An intensive field trial and multi-side surveillance exercise on the use of aldicarb to investigate methods for the assessment of possible environmental hazards presented by new pesticides. - Agro Ecosystems 7: 239-262.

CTB (*Commissie Toelating Bestrijdingsmiddelen*), 1987. *Aanvraag tot toelating* van een bestrijdingsmiddel, toelichting bij het aanvraagformulier A, onderdeel H: Giftigheid voor in het milieu voorkomende organismen. CTB, Wageningen. 7 p.

Deweese, L.R., C.J. Henny, R.L. Floyd, K.A. Bobal & A.W. Schultz, 1979. Response of breeding birds to aerial sprays of trichlorfon (Dylox) and carbaryl (Sevin-4-oil) in Montana forests. - Spec. Scientific Report-Wildl. 224. US Fish & Wildl. Serv., Washington D.C. 29 p.

EPA (Environmental Protection Agency), 1982. Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision E, Hazard Evaluation: Wildlife and Aquatic Organisms. - EPA 540/9-82-024. 86 p.

Heijbroek, W. & P.B. Koster, 1973. Sugar beet field evaluations of potential hazard of aldicarb to pheasants (Phasianus colchicus). Preliminary report. 6 p.

Hunter, M.L., J.W. Witham & H. Dow, 1984. Effects of a carbaryl-indiced depression in invertebrate abundance on the growth and behavior of American black duck (Anas rubripes) and mallard (Anas platyrhynchos) ducklings. - Can. J. Zool. 62 (3): 452-456.

Hunter, M.L. & J.W. Witham, 1985. Effects of a carbaryl-induced depression of arthropod abundance on the behavior of Parulinae warblers.- Can. J. Zool. 63 (11): 2612-2616.

Hustings, M.F.H., R.G.M. Kwak, P.F.M. Opdam & M.J.S.M. Reijnen, 1989. Vogelinventarisaties. - Natuurbeheer in Nederland 3. PUDOC, Wageningen. 492 p.

Jennings, D.M. & P.M. Brown, 1973. Summary of analyses for residues of Temik in soil and wildlife. 4 p.

Jobsen, J.A., 1986. Nevenwerkingen van anticoagulant rodenticiden op non-target dieren in het bijzonder predatoren en aaseters. Werknotitie: Stuurgroep M van de Commissie Toelating Bestrijdingsmiddelen. 12 p.

King, K.A., D.H. White & C.A. Mitchell, 1984. Nest defence behaviour and reproductive success of laughing gulls (Larus atricilla) sublethally dosed with parathion. - Bull. Environ. Contam. Toxicol. 33 (4): 499-504.

Kingsbury, P.D. & B.B. Mc Leod, 1979. Terrestrial impact studies in forest ecosystems treated with double applications of permethrin. - Report FPM-X-28. Forest Pest Management Institute, Ontario, Canada. 55p.

Kurtz, D.A. & C.R. Studholme, 1974. Recovery of trichlorfon Dylox and carbaryl Sevin in spraying of forest for gypsy moth. - Bull. Environ. Contam. Toxicol. 11 (1): 78-84.

Lauenstein. G., 1978. Bericht über ein Grossversuch zur Anwendung von PDD 7563 R gegen Feldmaus auf Grünland. Pflanzenschutzamt Oldenburg 1978. Unveröffentlicht. In: Preissel et al., 1983; Jobsen, 1986.

Lauenstein. G., 1980. Versuche zur Bekämpfung von Feldmäusen auf Grünland mit dem Gifgetreide "Lepit". Pflanzenschutz-Versuchsergebnisse 1980 des Pflanzenschutzamtes Oldenburg: 188-203. In: Preissel et al., 1983; Jobsen, 1986.

MAFF (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food), 1986. Data requirements for approval under the control of pesticides regulations. MAFF, Harpenden. 219 p.

Mattes, M., C. Eberle & K.-F. Schreiber, 1980. Über den Einfluss von Insectizidspritzungen im Obstbau auf die Vitalität und Reproduktion von Kohlmeisen (Parus major). - Die Vogelwelt 101 (3/4): 81-98; 132-140.

McEwen, L.C., L.R. Deweese & P. Schladweiler, 1986. Bird protection on cutworms (Lepidoptera: Noctuidae) in wheat fields and chlorpyrifos effects on brain cholinesterase activity. - Environ. Entomol. 15 (1): 147-151.

Messick, J.P., E.G. Bizeau, W.W. Benson & W.H. Mullins, 1974. Aerial pesticide aplications and ring-necked pheasants. - J. Wildl. Manage. 38 (4): 679-685.

Mineau, P., 1988. Avian mortality in agro-ecosystems. 1. The case against granular insecticides in Canada. - British Crop Protection Council Mono. 40 "Environmental effects of pesticides": 3-12.

Mineau, P. & B.T. Collins, 1988. Avian mortality in agro-ecosystems. 1. Methods of detection. - British Crop Protection Council Mono. 40 "Environmental effects of pesticides": 13-27.

Moulding, J.D., 1976. Effects of a low-persistence insecticide on forest bird populations. - Auk 93 (4): 692-707.

Preissel, H.G., A. Schneider & H.N. Nölle, 1983. Zum Vergiftungsrisiko für Vögel nach Anwendung chlorphacinonhaltiger Köderpreparate im Ganzflächen Streuverfahren. - Gesunde Pflanzen 9 (12): 364-391.

Reede, R.H. de, 1982. A field study on the possible impact of the insecticide diflubenzuron on insectivorous birds. - Agro Ecosystems 7: 327-342.

Richmond, M.L., C.J. Henny, R.L. Floyd, R.W. Mannan, D.M. Finch & L.R.DeWeese, 1979. Effects of Sevin-4-Oil, Dimilin, and Orthene on forest birds in Northeast Oregon. - Res. Paper PSW-148. Pacific Southwest Forest and Range Exp. Station. Forest Service US Dep. Agric., Berkely, Califiornia. 19 p.

Rivera, 1973. In: Environmental Protection Agency, 1982. Paraquat decision document. EPA, Washington D.C. 38 p.

Smith, L.W., 1982. Wildlife toxicity studies with oxamyl.- Environ. Toxicol. Chem. 1 (2): 157-166.

Snoo, G.R. de & K.J. Canters, 1988. Neveneffecten van bestrijdingsmiddelen op terrestrische vertebraten. CML mededeling 35a/b: 136 + 115 p.

Stanley, P.I. & P.J. Bunyan, 1979. Hazard to wintering geese and other wildlife from use of dieldrin, chlorfenvinphos and carbophenithion as wheat seed treatments. - Proc. R. Soc. Lond. B. 205: 31-45.

Stone, W.B., & P.B. Gradoni, 1985. Recent poisonings of wild birds by diazinon and carbofuran. - Northeast Environ. Sci. 4 (3/4): 160-164.

Tait, F., 1972. Aldicarb. A wildlife survey. Duphar-midox, Smarden Kent: 9 + appenda.

Zinkl, J.G, J. Rathert & R.R. Hudson, 1978. Diazinon poisoning in wild Canada geese. - J. Wildl. Manage. 42 (2): 406-408.

Voorstel voor

RICHTLIJN VOOR HET UITVOEREN VAN VELDTOETSEN TER BEPALING VAN *NEVENEFFECTEN VAN CHEMISCHE BESTRIJDINGSMIDDELEN IN HET VELD OP*

ALGEN

VELDTOETS ALGEN

Algemeen

De neveneffecten op algen (= Phycophyta) kunnen in principe worden onderzocht aan twee groepen van algen, die elk eigen randvoorwaarden stellen ten aanzien van de proefopzet (zie: appendix 4.6.2). Onderzoek aan vrijzwevende algen (fytoplankton) vindt plaats in afgesloten gedeelten in oppervlaktewateren. Onderzoek aan algen die onder natuurlijke omstandigheden op planten (epifytische) of op de bodem vastzitten, vindt meestal plaats met behulp van kunstmatig substraat. Ook bij deze groep worden in het algemeen compartimenten afgesloten om verspreiding van het middel te voorkomen. Het neveneffecten-onderzoek vindt zowel plaats in bestaande wateren als in speciaal daartoe aangelegde proefvijvers en -sloten.

Voor het onderzoek naar de (neven)effecten kunnen vervolgens twee benaderingen worden gevolgd. Bij de eerste benadering worden de soorten vooraf in kooitjes en op kunstmatige substraten opgekweekt; soorten die ook bij de laboratorium-toetsen worden gebruikt. Voor het fytoplankton kan hierbij worden gedacht aan Scenedesmus sp. (zie: NEN 6506 of OECD 'guideline 201'). Voor de epifytische algen kan bijvoorbeeld Stigeoclonium sp. worden gebruikt (cf. de Vries, 1986). Deze algen worden vervolgens in (proef)sloten geplaatst, waarna het effect van het bestrijdingsmiddel kan worden nagegaan. Bij de tweede benadering wordt het effect op de in de sloot "van nature" voorkomende algen bepaald.

Voor de Nederlandse situatie gaat de aandacht in eerste instantie uit naar de (oppervlakte-)wateren die het meest worden blootgesteld, te weten de sloten in het agrarisch gebied. In het protocol van de EPA (zie: appendix 4.6.1) wordt voor de bepaling van de effecten voornamelijk gewerkt met kunstmatige bassins. Hierin wordt dus afgeweken van het EPA protocol.

In sloten vormen de epifytische algen kwantitatief een belangrijke groep (o.a. ook flap). De aandacht richt zich dan ook vooral deze algen, terwijl ook de vrijzwevende algen worden meegenomen.

Proefvoorwaarden

Tot sloten worden zowel de kleine watergangen tussen de percelen als de grotere verzamelwatergangen gerekend. In aansluiting bij de literatuur wordt voorgesteld om een stuk sloot af te sluiten met voor water ondoordringbare barrieres, zodat geen verspreiding plaats vindt van het toegediende middel.

Aanbevolen wordt om de toets uit te voeren in die teelten waarbij de grootste kans op blootstelling bestaat. In het algemeen vindt de grootste drift bij het gebruik van bestrijdingsmiddelen plaats in de fruit- of bomenteelt. Wanneer een algen-veldtoets moet worden uitgevoerd zal deze veelal in een dergelijke teelt plaatsvinden.

Toediening

Aangezien bij een veldtoets de neveneffecten van bespuitingen in de praktijk moeten worden bepaald, wordt gekozen voor toediening van het middel aan het perceel dat aan de sloot grenst. Hierbij wordt zowel de maximale dosis toegepast als vier maal de maximale dosis. Met deze laatste dosis wordt een 'worst case'-situatie gesimuleerd, gebaseerd op de situatie waarbij percelen aan beide zijden van een sloot worden bespoten en op de variaties in het gebruik, zoals die in praktijk op kunnen treden.

De belasting van het oppervlaktewater kan door de geschetste toedieningsmethode variëren. Hierbij speelt de weersgesteldheid een belangrijke rol; daarnaast is in dit geval ook de exacte uitvoering van de behandeling van belang. Variaties in de afstand tot de sloot, bijvoorbeeld bij toelopende percelen, kunnen relatief grote verschillen in blootstelling veroorzaken. Bij de uitvoering van de toets moet daarom rekening worden gehouden met de weersomstandigheden en moet de toediening zelf nauwkeurig gebeuren.

Via metingen moet worden vastgesteld hoe groot de belasting van het oppervlaktewater is geweest. Dit kan zowel door het bepalen meten van het middel in het water als door het toevoegen van een merkstof (bijv. een kleurstof) aan het middel. Het bepalen van de belasting van het water is van groot belang voor het aantonen van een causaal verband tussen de aanwezigheid van het middel en de veranderingen bij de algen. Wanneer door onvoorziene omstandigheden geen blootstelling plaatsvindt, kan het middel ook direct aan het water worden toegevoegd. Hierbij kan die hoeveelheid worden toegevoegd, die leidt tot een berekende PEC onder praktijkomstandigheden, en het viervoudige daarvan. De extrapolatie van de resultaten van een dergelijke toets naar een werkelijke bespuiting van het perceel zal echter met onzekerheden gepaard gaan.

Waarnemingen

Algen en (a)biotische milieufactoren
Naast de groei en reproductie van de algen moet ook een aantal fysische en chemische parameters worden gemeten. Enerzijds veroorzaken bijvoorbeeld verschillen in beschikbaarheid van voedsel verschillen in de algengroei. Anderzijds kan de aantasting van algen door een bestrijdingsmiddel bijvoorbeeld een lager zuurstofgehalte tot gevolg hebben. Ook de aanwezige evertebraten kunnen een grote invloed hebben op de algen. Een middel kan bijvoorbeeld het zoöplankton beïnvloeden of juist de predatoren van het zoöplankton. Hiermee worden dan dus de grazers op de algen sterk beïnvloed. Daarom wordt tevens voorgeschreven om de evertebraten ten minste groepsgewijs en semi-kwantitatief te bemonsteren.

Middel
De concentratie bestrijdingsmiddel moet regelmatig worden bepaald. De eerste dagen na toediening moet frequent worden gemeten (enkele malen per dag); daarna kan deze frequentie afnemen tot twee maal per week. Wanneer het middel niet meer wordt aangetroffen, kan de frequentie verder worden teruggebracht.

Voorgestelde **RICHTLIJN VELDTOETS ALGEN**

1. PROEFVOORWAARDEN

1.1 Keuze van toetsorganisme en gewas

Toets met algen (= Phycophyta) zowel in het veld voorkomende (d.w.z. van nature voorkomend in de te onderzoeken sloten) als met algen die voor laboratorium-toetsen worden gebruikt. Toets uitvoeren op een bodemtype waarop het middel wordt gebruikt, in een teelt waarin de hoogste dosis wordt voorgeschreven en/of met een gewas waarin de driftpercentages het hoogst zijn. Substraat enkele weken voor aanvang van de proef begroeid laten raken met in de sloot aanwezige algen of met algen uit het laboratorium.

1.2 Proefvoorwaarden

Toets uitvoeren in sloten langs de te behandelen percelen. In het veld worden gelijktijdig percelen behandeld met het te toetsen middel en met een voor algen giftig middel. Bovendien wordt een perceel behandeld met water of eventueel met een andere, op de formulering lijkende, onschuldige draagstof. In de aangrenzende sloten worden de effecten bepaald.

1.3 Overige proefvoorwaarden

De proefsloten moeten, op zijn minst op regionale schaal bezien, een zekere representativiteit hebben; dat wil zeggen: gangbare dimensies en een doorsnee-gebruik en -beheer. Proef uitvoeren onder weersomstandigheden waaronder blootstelling van het water waarschijnlijk is (matige windsnelheid). Extreme weersomstandigheden (regen, langdurige droogte, harde wind of geen wind) vermijden.

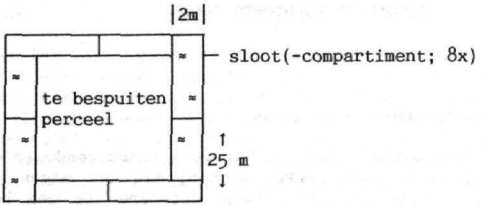
1.4 Technische uitvoering

Proefveldgrootte

De proefsloten worden in compartimenten van 25 m verdeeld; het aangrenzende perceel wordt behandeld met de te toetsen dosis.

Proefveldindeling

Voor de proefveldindeling wordt verwezen naar de figuur. De figuur staat voor één behandeling, met acht slootcompartimenten. Per behandeling is één proefveld nodig. De gehele proef moet in duplo worden uitgevoerd. Bij de voorgestelde proefveld-indeling is er, door de gekozen ordening, voor gezorgd dat de blootstelling in verband met weersomstandigheden in ieder geval in één van de sloten maximaal is. Een andere indeling, waarbij aan dezelfde voorwaarden wordt voldaan is ook toegestaan.



Proefveld-opzet

2. TOEDIENING VAN DE MIDDELEN

2.1 Middelen

Het te onderzoeken middel wordt toegepast volgens de door de producent ingediende gebruiksaanwijzing en met een praktijkformulering.

2.2 Behandelingsapparatuur

De middelen toedienen met gangbare apparatuur volgens voorschrift.

2.3 Dosering middel

Toedienen van de hoogst voorgeschreven dosis en het viervoudige van de betreffende formulering. Wanneer uit metingen blijkt dat het water niet wordt belast moet aan de sloot de hoeveelheid worden toegevoegd, die is berekend om de PEC te bereiken bij toepassing van de maximale dosis en het viervoudige daarvan.

2.4 Aantal en tijdstip van de behandelingen

De behandeling vindt plaats op een tijdstip dat het middel normaal gesproken zal worden toegepast. Bespuiting van de verschillende behandelingen en duplo's liefst gelijktijdig, maar in ieder geval binnen een periode van twee uur, teneinde eventuele verschillen in weersomstandigheden uit te sluiten.

3. WAARNEMINGEN

Methoden en frequentie

De bemonstering van de epifyten vindt plaats door per compartiment de kunstmatige substraten te verzamelen. Deze kunnen bestaan uit met nylon versterkt PVC, wat op objectglaasjes wordt geplakt. De aldus verkregen plaatjes kunnen in roestvrijstalen houders worden geplaatst of op een substraat worden geplakt. Voor aanvang van de toets deze kunstmatige substraten eerst enkele weken laten begroeien, een aantal met in de sloot voorkomende soorten en een ander gedeelte met een laboratorium-soort.

Het van nature voorkomende fytoplankton wordt bemonsterd met een buis (20 cm hoog en 3 cm doorsnede); per monster twee buizen en per proefcompartiment drie monsters. De epifytische algen worden bemonsterd door het weghalen van één plaatje per proefvlak. Op dezelfde tijdstippen wordt ook de aanwezige fauna (zoöplankton en macrofauna) bemonsterd. De macrofauna wordt bemonsterd met behulp van een standaard-net (Beltman, 1983). De hoeveelheid zoöplankton kan worden bepaald aan de hand van dezelfde monsters als genomen voor het fytoplankton. Een determinatie tot op soortsniveau is niet noodzakelijk. Determinatie moet tot op een dusdanig niveau plaatsvinden dat verschuivingen tussen grazers van algen en hun predatoren kunnen worden aangetoond.

Per compartiment worden tevens tien kooitjes geplaatst met vrijzwevende algen die ook in het laboratorium worden gebruikt. De kooitjes bestaan uit twee schijven met rand (diameter 15 cm) met daartussen een gaascilinder (maaswijdte afhankelijk van de gekozen soort). Door de rand aan de schijven kunnen de cilinders boven water worden gehaald, terwijl de vlooien in een laagje water blijven zitten. Op elke monsterdatum wordt een kooitje weggenomen om op deze wijze de groei van de algen te volgen. Tijdens de proef moeten de kooitjes zoveel mogelijk worden vrijgehouden van epifytische algen. Wanneer een kooitje dreigt dicht te groeien kan een gedeelte van de algen in een nieuw kooitje worden gebracht.

Waargenomen worden de soortensamenstelling en de abundantie van de verschillende soorten en het gehalte aan chlorofyl a.

Monstername vindt plaats één week voor de behandeling, na de behandeling gedurende de eerste maand om de week en daarna om de twee weken of om de maand. Om een directe vergelijking van de uitkomsten in het veld met de resultaten van de laboratorium-toetsen mogelijk te maken, verdient het aanbeveling om ook 48 uur na de behandeling te bemonsteren.

Tevens worden dagelijks op vaste tijden temperatuur, opgelost zuurstof, totaal CO_2-gehalte, organisch koolstof, fosfaat, stikstof, pH, oplosbaar CO_2 en geleidbaarheid bepaald. Het gehalte bestrijdingsmiddel wordt de eerste week na bespuiting drie maal daags bepaald; daarna kan tegelijk met de biologische bemonstering worden bemonsterd. Wanneer het middel niet meer aantoonbaar is, kan de frequentie verder afnemen.

4. VOORWAARDEN VOOR GELDIGHEID

Toetsresultaten worden niet geaccepteerd bij onduidelijkheden in de resultaten en als er in de blanco's veel of in de positieve controle weinig sterfte optreedt. In gevallen waarin er voorafgaande aan de toediening reeds significante verschillen tussen de proefvlakken bestonden voor wat betreft de gemeten parameters, wordt de toets niet geaccepteerd.

KOSTEN

Kenschets proefopzet:

A	B	C	D	E	F	G	H
soort	aspect	type	dosering	blanco	veelvoud	monsters	bemonst.
n l	a c') s	v k	hp 4hp")	b g	2	3 x 8	8 - 10

') d.w.z. chlorofyl-gehalte
") wanneer sloot niet wordt belast: PEC van hp en het viervoudige daarvan

Voor de betekenis van de gebruikte codes wordt verwezen naar § 4.3 van het hoofdrapport (= deel A).

	netto-werkdagen	materiaalkosten
1 materiaal	5	
- toetsorg. (gekw. epif.)		1.000
- proefvelden		1.000
- veldapparatuur		500
2 bemonsteren (4x2x3x8x10)		
- toetsorganismen	40	
- overige biot. parameters	10	
- abiotische parameters	10	
3 meten parameters		
- toetsorg.determ. (1920x)	120	2.000
- overige biot. parameters	25	p.m.
- gehaltebepalingen	20	4.000
- abiotische parameters	10	500
4 interpreteren gegevens	10	p.m.
5 invullen toetsformulier	5	n.v.t.
totaal werkdagen	ca. 245	n.v.t.
kostenschatting (subtot.)	f 183.750	f 9.000
kosten totaal (volgens zeer ruwe schatting):		ca. f 192.500

Appendix 4.6.1 Overzicht bestaande richtlijnen voor veldtoetsen met algen

Verenigde Staten (EPA, 1982, 1986)
Toetsvoorwaarden:
- Alle methoden moeten wetenschappelijk geaccepteerd zijn.
- Toets uitvoeren met geschoold personeel, waarbij voor elk onderdeel een duidelijk aanwijsbaar persoon verantwoordelijk is.
- Toets uitvoeren met actieve stof of formulering met bekende samenstelling.
- De toedieningsmethode op zich mag geen neveneffecten hebben op het te toetsen middel of organisme.
- Gezonde organismen gebruiken.
- Geen beschermde of bedreigde organismen gebruiken.
- De populatie-grootte bij iedere behandeling of replica moet voldoende groot zijn om met 90 tot 95% betrouwbaarheid een uitspraak te kunnen doen over een aantasting van 25% of 50%.
- Controles gebruiken en op dezelfde wijze behandelen, zonder het middel. Wanneer een andere formulering dan water wordt gebruikt deze formulering toepassen.
- Zoveel mogelijk de commerciële toepassingsmethoden gebruiken.
- Toedienen in 5 concentraties, regelmatig verdeeld, met stappen niet groter dan een verdubbeling. Hoogste concentratie moet worden gerelateerd aan de toediening van de maximaal voorgeschreven dosis op een waterlichaam van 15 cm diep.
- Soorten: één soort uit elke divisie algen (incl. Cyanophyta). Algen moeten ongeveer in de volgende dichtheden voorkomen: Chlorophyta: 3000 cellen/ml; Chrysophyta (marien) 1000 cellen/ml; Cyanobacteria 1000 cellen/ml en Chrysophyta 3000 cellen/ml.
- Toetsorganismen opkweken op natuurlijke bodem en in natuurlijk water of op substraat wat hierop lijkt. Kunstmatige lichtreductie kan noodzakelijk zijn om de natuurlijke situatie te simuleren. Ook andere natuurlijke omstandigheden moeten zoveel mogelijk worden benaderd.
- Toets uitvoeren in afgesloten en gecontroleerde delen van een waterlichaam of in aquaria. Niet in open water waar het middel zich kan verspreiden.
- Duur van de proef zolang dat herhaalde toediening volgens label mogelijk is; metingen twee maal per week en vervolgen tot minstens twee weken na de laatste toediening; voor algen vijf dagen.
- Als resultaten moeten worden aangeleverd: fytotoxiciteitsgegevens, gewicht, grootte of andere groeiparameters, de gemeten concentraties in het milieu en de statistische analyse-methoden.

Appendix 4.6.2 Overzicht uitgevoerd veldonderzoek met algen

Butcher et al. (1977) Effecten van verschillende concentraties chloorpyrifos in proefvijvers van 2,5x1,8x0,6 meter diep. Vijvers worden met plastic bekleed en met bladafval (48 kg drooggewicht) uit bospoeltjes gevuld. Na één jaar worden, in de lente, drie vijvers behandeld met oplopende concentraties chloorpyrifos; twee vijvers dienen als controle. Gedurende 80 dagen wordt dagelijks om 14.00 uur een groot aantal (a)biotische parameters. Ook omvang en duur van de algengroei werd bijgehouden. Negatieve effecten worden gevonden, zowel op de groei als op de soortensamenstelling van de algenpopulaties. Het betreft hier een indirect effect: de herbivore macrofauna wordt gedood, echter algen worden ook vooral gegeten door zoöplankton. Daarnaast wordt fosfor toegevoegd met het middel en komt fosfor vrij bij de afbraak van dode organismen.

Papst & Boyer (1980) In de proefvijvers van Butcher et al. (1977) werden de effecten van temefos en chloorpyrifos onderzocht. Plankton werd verzameld met een buis van 3 cm diameter en 16,5 cm lang. Bepaald werden chlorofyl en phaeo-pigment. Fytoplankton neemt sterk toe bij behandeling, zeer waarschijnlijk door de sterke achteruitgang van het zoöplankton.

Scorgie (1980) Een drainage-kanaal werd in tweeën verdeeld; één deel werd behandeld met cyanatrin. De algengroei werd gemeten op 12 glazen plaatjes in een metalen houder. Wekelijks werd één plaatje geoogst, geteld en gedetermineerd. Helaas bleek ook het controle-vak gecontamineerd met cyanatrin. Geen verschil werd gevonden in soortensamenstelling; in het behandelde vak was het aantal organismen wel veel groter. Dit werd waarschijnlijk veroorzaakt doordat de hogere planten wel sterk werden aangetast en er bij de afbraak nutriënten beschikbaar kwamen. Overigens bleek de piek van cyanatrin in het water veel later te vallen dan verwacht.

Caspers & Heckman (1981, 1982), Heckman (1982) Vergeleken wordt de soortensamenstelling in 1958 met 1980 van sloten in boomgaarden. Op de flora worden geen effecten van bestrijdingsmiddelen gevonden. De soortensamenstelling van de fauna is wel sterk gewijzigd. De sloten van 1958 lijken sterk op niet met bestrijdingsmiddelen belaste sloten van 1980.

Denoyelles et al. (1982) Zes vijvers van 0,045 ha werden opnieuw gevuld met water uit een bestaande vijver met bronwater. Om de levensgemeenschap aan te vullen werden vissen uitgezet. Atrazin werd éénmalig toegevoegd, in twee concentraties; twee vijver dienden als blanco. Eén week voor toediening en 63 dagen daarna werd dagelijks waargenomen, daarna maandelijks tot dag 136. Naast een aantal fysisch-chemische parameters werd het fytoplankton bemonsterd met een cilinder-waterhapper. Twee kolommen vormden één monster. Per vijver werden drie monsters genomen. Hierin werd de soortensamenstelling bepaald. De algen werden geconcentreerd in een sedimentatie kamer en geteld in één van de drie monsters per vijver. Biomassa werd bepaald door tellen van algen in de monsters voor de chemische analyse. Tellingen werden tweemaal verricht met zeven intervallen van 8 tot 64 µm in elk van de drie monsters per vijver. Tevens werd de CO_2 productie gemeten. Effecten werden gemeten zowel op de fotosynthese als op de successie. Na enkele dagen trad resistentie op.

Goldsborough & Robinson (1983) Effecten van simazin en terbutryn op epifyton bij bestrijding waterplanten. 'enclosures' van 1,5 mm dik PVC van 240x120 cm werden 45 cm in de bodem ingegraven. Epifyton groeide op acryl-staven (1 m en 0,62 cm diameter; ingekerfd om goede submonsters mogelijk te maken). Ondergedoken macrofyten werden verwijderd. De ongeformuleerde actieve stof werd in verschillende concentraties toegevoegd. Totaal 7 'enclosures': 1 blanco en per stof drie verschillende concentraties. Monstername 9 dagen na toediening en daarna 5 weken elke week. Elke monstername werden drie staven verwijderd en geanalyseerd op chlorofyl a. Drie anderen werden gebruikt om de CO_2-assimilatie te meten. Dagelijks werd silicium, ammonium en opgelost zuurstof bepaald op 10 cm diepte. Wekelijks werd het zuurstof-profiel, de lichtintensiteit en het gehalte bestrijdingsmiddel bepaald. Ingrijpende effecten werden gevonden. Een factor-analyse wees uit dat deze werden veroorzaakt door waterchemie, beschikbaarheid van licht, tijd en behandelingswijze. Het effect is dus niet alleen direct maar complexer. Herstel treedt echter na één week op; lange-termijn-effecten worden bij eenmalige toediening minimaal geacht.

Stephenson & Kane (1984) Effecten van parathion en linuron op ecosystemen in 'enclosures' in een meer van 10x5x1 m diep in de U.K. 'enclosures' (polyethyleen, metalen frame) werden 5 cm in de bodem geplaatst en staken boven het water uit. De diameter was 115 cm, zodat de 'enclosure' ca. 1 m^3 water bevatte. Drie behandelingen (in duplo): blanco, methyl-parathion en linuron. Op dag 0 (behandeling) en 28 werd de bedekking macrofyten geschat; op dag 49 werden ze geoogst. Zoöplankton werd voorafgaand (22, 12, 7, 4 en 2 dagen) en na (0, 1, 2, 4, 7, 12, 23 en 33 dagen) de behandeling gemonsterd op drie punten in het meer en in de 'enclosures'. Elk monster bestond uit twee submonsters met 80 cm lange buizen met een diameter van 3,5 cm. De monsters werden gezeefd en de organismen werden geconserveerd en gedetermineerd. Het water werd gebruikt voor chemische analyses en gefilterd. De algen die op het filter waren achtergebleven, werden geanalyseerd op chlorofyl a als maat voor de biomassa. Groei van algen en planten trad op in de 'enclosures' die niet met linuron waren behandeld. Daphnia's overleefden alleen in de onbehandelde controle. Gecombineerd met metingen en bio-assays is deze methode zeer bruikbaar.

Herman et al. (1986) Effecten van atrazin op epifyton in zgn. 'limnocorrals' in meren. 'Limnocorrals' (5x5x5 m) waren gemaakt van met nylon versterkt PVC en zijn 'enclosures' die tevens de waterbodem omvatten. De bovenrand was aan drijvers bevestigd en de onderkant aan de bodem. Drie 'enclosures' werden behandeld, drie dienden als blanco. Ze bleven een jaar staan. Twee behandelingen vonden plaats op dag 1 (1 juni) en dag 35. Gemonsterd werd op dag 1, 5, 14, 24, 34, 37, 42, 54, 68, 96, 137 en 329. De substraten werden drie weken voor aanvang geïnoculeerd met epifyton; wekelijks werden voedingsstoffen toegevoegd. Substraat bestond uit 6,5x4,0 cm PVC-strips, steeds twee gelijmd op een houder van drie objectglaasjes. Vier van deze houders werden samengebonden en op 0,5, 1,5, 2,5 en 3,5 meter diepte gehangen. Twaalf van deze sets werden per 'limnocorral' geplaatst, elke monsterdatum werd er één "geoogst". Eén van de strips werd dan direct geconserveerd voor determinatie, de tweede werd gebruikt voor bepaling van het organische stof- en chlorofyl-gehalte. Met behulp van gelabeld koolstof werd de assimilatie bepaald. De methode blijkt geschikt om verschillen in de gemeten parameters aan te tonen.

Yount & Richter (1986) Effecten van pentachloorfenol in kunstmatige waterstromen. In 4 kanalen van 520 m afwisselend met 30,5 meter stroom-

versnelling en poeltjes werden 3 concentraties pentachloorfenol toegevoegd, 1 kanaal was blanco. Met kunstmatig substraat (keramische plaatjes) konden de korte-, middellange- en lange-termijn-effecten van verschillende concentraties pentachloorfenol worden onderzocht. Effecten werden in alle experimenten aangetoond.

Fairchild et al. (1987) In drie experimentele stromen werden de effecten van gecontamineerd sediment onderzocht. De 'standing crop' van epifyton werd bepaald door chlorofyl a te meten op glasplaatjes. Hiertoe werd een serie plaatjes in een plexiglas houder steeds 7 dagen op de bodem van de stroompjes geplaatst, parallel aan de stroom. Elke week werden per houder drie plaatjes vervangen en geëxtraheerd met 90% aceton. Zwevende algen werden opgevangen in messing-netten van 0,14 m^2 met een maaswijdte van 364 µm. Effecten worden vooral met de laatste methode gevonden.

Hamilton et al. (1987) Onderzoek naar de effecten van atrazin in 'enclosures' van 5x5x5 m, die ook de bodem omvatten. Twee concentraties werden toegevoegd aan resp. twee 'enclosures'; twee 'enclosures' dienden als controle. Algengroei werd als volgt bepaald: met nylon versterkte PVC-strips van 7,5x2,5 cm werden op objectglaasjes geplakt. Deze glaasjes werden op 2 cm van elkaar op een baksteen geplakt (8 per steen). Deze stenen werden 53 dagen in het meer gelegd om te begroeien. Bij aanvang van het experiment werden de stenen in de 'enclosures' gehangen en begon de bemonstering door 'random' glaasjes te oogsten. Per glaasje werden steeds drie submonsters gebruikt voor resp. chlorofyl-analyse, 'radiotracking', tellen en determineren. Een jaar later wordt een vergelijkbaar experiment uitgevoerd, waarbij de glaasjes op een petrischaal worden geplakt. Beide methoden blijken geschikt om effecten aan te tonen.

Yasuno et al. (1988) Effecten van permethrin op fyto- en zoöplankton in 'enclosures' in een (klein) meer. 'enclosures' van 1 meter diameter en 3,8 m diep, gemaakt van 0,06 mm polyethyleen-film en een roestvrijstalen frame. De 'enclosures' werden in de bodem gedreven om water en sediment te isoleren. In twee 'enclosures' werd tweemaal permethrin toegediend, één 'enclosure' diende als blanco. Watermonsters werden over de hele diepte genomen met een plastic buis van 3 cm diameter elke 3e of 4e dag. 100 ml submonster werd gefixeerd en geanalyseerd op fytoplankton. Vier integrale monsters werden gezeefd door een messing 55 µm net en geconserveerd in formaline voor analyse van het zoöplankton. Verder werden bepaald: chlorofyl a, fotosynthese-activiteit, assimilatie, sedimentatie van chlorofyl a (in glazen potten op 3 m), temperatuur, pH, opgelost zuurstof en doorzicht. Ook residuen in water en bodem zijn bepaald. Het middel werd bij de eerste toediening door een buis bij de bodem toegediend en bij de tweede toediening aan het wateroppervlak. Geen effecten worden gevonden op de fotosynthese. Van de afzonderlijke soorten werd alleen Ceratium hirundinella aangetast door permethrin. Watervlooien worden sterk aangetast, vooral bij directe toediening van het middel aan het wateroppervlak, maar lijken zich ook goed te kunnen herstellen, omdat ook de predatoren vrijwel verdwijnen als gevolg van een dergelijke toediening.

LITERATUUR

Beltman, B., 1983. Van de wal in de sloot, een typologisch onderzoek aan macrofaunacoenosen. Proefschrift LUW, Wageningen. 435 p.

Butcher, J.E., M.G. Boyer & C.D. Fowle, 1977. Some changes in pond chemistry and photosynthetic activity following treatment with increasing concentrations of chlorpyrifos. - Bull. of Environmental Contamination & Toxicology 17 (6): 752-758.

Caspers, H. & Ch.W. Heckman, 1981. Ecology of orchard drainage ditches along the freshwater section of the Elbe Estuary. - Arch. für Hydrobiol./Suppl. 43 (4): 347-486.

Caspers, H. & Ch.W. Heckman, 1982. The biota of a small standing water ecosystem in the Elbe flood plain. - Arch.Hydrob./Spl. 61 (3):227-316.

DeNoyelles, F., W.D. Kettle & D.E. Sinn, 1982. The response of plankton communities in experimental ponds to atrazine, the most heavily used pesticide in the United States. - Ecology 63 (3): 1285-1293.

EPA (Environmental Protection Agency), 1982. Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision J, Hazard Evaluation: Non-target Plants. - EPA 540/9-82-020. 55 p.

EPA (Environmental Protection Agency), 1986. Standard Evaluation Procedure: Non-Target Plants: Aquatic Field Testing - Tier 3. - EPA 540/9-86-136: 11 p.

Fairchild, J.F., T. Boyle, W.R. English & Ch. Rabeni, 1987. Effects of sediment and contaminated sediment on structural and functional components of experimental stream ecosystems. - Water, Air, and Soil Pollution 36: 271-293.

Goldsborough, L.G. & G.G.C. Robinson, 1983. The effect of two triazine herbicides on the productivity of freshwater marsh periphyton.- Aquatic Toxicology 4: 95-112.

Hamilton P.B., G.S. Jackson, N.K. Kaushik & K.R. Solomon, 1987. The impact of atrazine on lake periphyton communities, including carbon uptake dynamics using track autoradiography. - Env. Poll. 46: 83-103.

Heckman, Ch.W., 1981. Long-term effects of intensive pesticide applications on the aquatic community in orchard drainage ditches near Hamburg, Germany. - Arch. Environm. Contam. Toxicol. 10: 393-426.

Herman, D., N.K. Kaushik & K.R. Solomon, 1986. Impact of atrazine on periphyton in freshwater enclosures and some ecological consequences.- Can. J. Fish. Aquat. Sci. 43: 1917-1925.

Papst, M.H. & M.G. Boyer, 1980. Effects of two organophosphorus insecticides on the chlorophyll a and pheopigment concentrations of standing ponds. - Hydrobiologia 69 (3): 245-250.

Scorgie, H.R.A., 1980. Ecological effects of the aquatic herbicide cyanatryn on a drainage channel. - J. Appl. Ecology 17: 207-225.

Stephenson R.R. & D.F. Kane, 1984. Persistence and effects of chemicals in small enclosures in ponds. - Arch. Env. Cont. Toxic. 13: 313-326.

Vries, P.J. de, 1986. Bioassays on water quality using the attached filamentous alga Stigeoclonium Kütz. Proefschrift VU, Amsterdam. 159 p.

Yasuno, M., T. Hanazato, T. Iwakuma, K. Takamura, R. Ueno & Noriko Takamura, 1988. Effects of permethrin on phytoplankton and zoöplankton in an enclosure ecosystem in a pond. - Hydrobiologica 159 (3): 247-58.

Yount, J.D. & J.E. Richter, 1986. Effects of pentachlorophenol on periphyton communities in outdoor experimental streams. - Arch. of Environ. Contam. Toxicol. 15: 51-60.

Voorstel voor

RICHTLIJN VOOR HET UITVOEREN VAN VELDTOETSEN TER BEPALING VAN NEVENEFFECTEN VAN CHEMISCHE BESTRIJDINGSMIDDELEN IN HET VELD OP

MUGGELARVEN

VELDTOETS MUGGELARVEN

Algemeen

Voor het uitvoeren van toetsen op de waterbodem wordt gedacht aan toetsen met veel voorkomende organismen zoals tubifex (= Tubificidae) of muggelarven (= Chironomidae). Voor beide groepen zijn laboratorium-toetsen in ontwikkelingen. Voor chironomiden zijn bijvoorbeeld al kweekvoorschriften beschikbaar (schr.med. van Urk). Tubificidae hebben het voordeel dat ze in de bodem leven en hieruit ook hun voedsel betrekken; bovendien is de blootstelling via de huid wellicht directer en daarmee groter dan bij muggelarven. Voor muggelarven geldt echter dat in het veld subletale effecten zijn waargenomen (van Urk & Kerkum, 1986). Het blijft de vraag of veldexperimenten aanvullende informatie kunnen opleveren; bij DBW/RIZA hoopt men daarop aan het einde van 1990 een voorlopig antwoord op te kunnen geven (schr. med. van Urk).

In het algemeen worden effecten bij insecten eerder bij larven dan bij adulten gevonden. Muggelarven bleken ook in bio-assays te reageren op bestrijdingsmiddelen (Heinis & Crommentuijn, 1988). Bovendien worden in een aantal onderzoeken wel effecten op muggelarven gevonden en niet op Tubificidae (zie: appendix 4.7.2: Grzenda et al., 1962; Crossland, 1984). Daarom wordt gekozen voor het ontwikkelen van een toets met muggelarven. Wegens de verschillen in blootstelling en samenstelling van het voedselpakket blijft het echter gewenst om ook voor Tubificidae een richtlijn te ontwikkelen. Er is tot nu toe, afgezien van het onderzoek van DBW/RIZA, erg weinig veldonderzoek met muggelarven uitgevoerd. Daarom heeft de hier voorgestelde richtlijn een voorlopig karakter.

Ten einde de kans op ondubbelzinnige resultaten zo groot mogelijk te maken worden twee benaderingen gevolgd: i) de muggelarven, die van nature in de sloot voorkomen, worden bemonsterd en ii) de muggelarven worden in bakken in de sloot gebracht. Met de tweede benadering wordt een vergelijking met laboratorium-situaties mogelijk.

Op het concept van het voorstel voor een muggelarventoets is commentaar gekregen van Van Urk (schr.med.). Uit dit commentaar wordt het gedeelte "'pitfalls' bij het werken met muggelarven" integraal overgenomen, aangezien hieruit blijkt wat voor problemen zich in het veld voordoen:

- De ontwikkeling van chironomiden kan sterk gesynchroniseerd zijn. Dit betekent dat een belangrijk deel van de populatie in dezelfde periode uitvliegt, waardoor een geweldige reductie van het aantal larven optreedt (bijv. met een factor 10 binnen een maand). Chironomiden hebben daarnaast een groot kolonisatie-vermogen, waardoor in principe weer zeer snel grote aantallen larven gevonden kunnen worden. Aantalsschommelingen kunnen daarom alleen met een goede kennis van de levenscycli van de betreffende soorten juist worden geïnterpreteerd.
- De jongste larvale stadia (1^e en 2^e stadium) zijn volgens laboratorium-gegevens het meest gevoelig voor toxische stoffen. Juist deze stadia zouden daarom in het veld onderzocht moeten worden. Ze zijn echter kort en daarom niet op ieder tijdstip aanwezig. Bovendien leven de eerste stadia planktonisch en kunnen fijnmazig gaas makkelijk passeren. Dit houdt in dat er alleen mee te experimenteren valt in afgeslo-

ten aquaria en niet in gazen kooien. Immers, de larven uit de uitgezette eipakketten kunnen makkelijk uit de kooi en andere 1e stadiumlarven kunnen de kooi makkelijk binnendringen. Bij DBW/RIZA worden voor een project in deze richting, bestemd voor de grote oppervlaktewateren, voor dergelijke kooien speciale constructies ontwikkeld.

- Tenslotte maakt Van Urk de kanttekening dat bij de voorgestelde opzet een eventueel effect van bespuitingen op de volwassen stadia van aquatische insecten buiten beschouwing blijft. Bij chironomiden is dat wellicht terecht, omdat in een populatie toch een overcapaciteit voor kolonisatie aanwezig is: er zijn geen voor larven geschikte habitats die leeg blijven, omdat er geen adulten zijn. Voor andere groepen kan dat echter totaal anders liggen (bijv. libellen).

De algemene reactie op dit commentaar ten aanzien van de voorgestelde muggelarventoets is dat de voorlopige status nog eens benadrukt wordt en dat het niet uitgesloten is dat een dergelijke toets in de praktijk toch niet haalbaar is. Meer in detail is de reactie dat bij het verder ontwikkelen van een muggelarventoets i) de kennis omtrent de levenscyclus van de meest relevante soorten in relatie tot de populatie-ontwikkeling moet worden uitgebreid en ii) het onderzoek aan de eerste larvale stadia zich vooralsnog zal moeten concentreren op "van nature" voorkomende exemplaren.

Proefvoorwaarden

Voor de Nederlandse situatie gaat de aandacht in eerste instantie uit naar die wateren die het meest worden blootgesteld, te weten de sloten in het agrarisch gebied. Tot deze sloten worden zowel de kleine watergangen tussen de percelen als de wat grotere verzamelwatergangen gerekend. Voorgesteld wordt om een stuk sloot af te sluiten met voor water ondoordringbare barrieres, zodat geen verspreiding van het toegediende middel plaats kan vinden.

Aanbevolen wordt om de toets uit te voeren in die teelten waarbij de grootste kans op blootstelling bestaat. In het algemeen vindt de grootste drift bij het gebruik van bestrijdingsmiddelen plaats in de fruit- of bomenteelt. Wanneer een muggelarven-veldtoets moet worden uitgevoerd zal deze veelal in een dergelijke teelt plaatsvinden.

Toediening

Aangezien bij een veldtoets de neveneffecten van bespuitingen in de praktijk moeten worden bepaald, wordt gekozen voor toediening van het middel aan het perceel dat aan de sloot grenst. Hierbij wordt zowel de maximale dosis toegepast als vier maal de maximale dosis. Met deze laatste dosis wordt een 'worst case'-situatie gesimuleerd, gebaseerd op de situatie waarbij percelen aan beide zijden van een sloot worden bespoten en op de variaties in het gebruik, zoals die in praktijk op kunnen treden.

De belasting van het oppervlaktewater kan door de geschetste toedieningsmethode variëren. Hierbij speelt de weersgesteldheid een belangrijke rol; daarnaast is in dit geval ook de exacte uitvoering van de behandeling van belang. Variaties in de afstand tot de sloot, bijvoorbeeld bij toelopende percelen, kunnen relatief grote verschillen in blootstelling veroorzaken. Bij de uitvoering van de toets moet daarom rekening worden gehouden met de weersomstandigheden en moet de toediening zelf nauwkeurig gebeuren.

Via metingen moet worden vastgesteld hoe groot de belasting van het oppervlaktewater is geweest. Dit kan zowel door het bepalen meten van het middel in het water als door het toevoegen van een merkstof (bijv. een kleurstof) aan het middel. Het bepalen van de belasting van het water is van groot belang voor het aantonen van een causaal verband tussen de aanwezigheid van het middel en de veranderingen bij de muggelarven. Wanneer door onvoorziene omstandigheden geen blootstelling plaatsvindt, kan het middel ook direct aan het water worden toegevoegd. Hierbij kan die hoeveelheid worden toegevoegd die leidt tot een berekende PEC onder praktijkomstandigheden, en het viervoudige daarvan. De extrapolatie van de resultaten van een dergelijke toets naar een werkelijke bespuiting van het perceel zullen echter met onzekerheden gepaard gaan.

Waarnemingen

Muggelarven en (a)biotische milieufactoren
De abundantie, de soortensamenstelling en de ontwikkeling van de muggelarven in de slootbodem moeten worden waargenomen. Daarnaast kunnen ook de uitvliegende muggen worden gevangen en onderzocht. Van de in de sloot gebrachte bakken kan ook het percentage uitkomende larven worden bepaald en kan de ontwikkeling nauwkeurig worden gevolgd. Naast de groei en ontwikkeling van de muggelarven moeten ook een aantal fysische, chemische en biotische parameters worden gemeten. Enerzijds veroorzaken bijvoorbeeld verschillen in beschikbaarheid van voedsel verschillen in de groei. Anderzijds kunnen er ook verschillen in predatoren van muggelarven optreden. Daarom wordt voorgeschreven om de evertebraten ten minste groepsgewijs en semi-kwantitatief te bemonsteren. Ook de vissen dienen te worden beschouwd.

De bemonstering van natuurlijke populaties moet, naarmate er meer bekend is over de soorten waarmee men in de praktijk te maken krijgt, verder worden verfijnd. Hierbij moet ook rekening worden gehouden met het moment van toepassing is van het te onderzoeken middel (schr. med. van Urk). Chironomiden hebben nu eenmaal een ingewikkelde levenscyclus, waardoor ook het aantal varianten van de wijze van beïnvloeding en de bemonsteringswijze toeneemt. Zo wordt bijvoorbeeld door DBW/RIZA ook nog gezocht naar het ideale bemonsteringsprogramma voor sloten en andere kleinere wateren; voor Chironomus plumosus in grotere wateren is het redelijk bekend hoe een bemonsteringsprogramma moet worden opgezet (zie: Kerkum & van Urk, 1989).

Over de frequentie van de bemonstering heeft Van Urk (schr.med.) ons het volgende meegedeeld: De ervaring is dat 10-20 monsters nodig zijn om een interval van + of - 50% met 95% betrouwbaarheid te kunnen vaststellen; de

dichtheid is dan bijvoorbeeld 10 exemplaren per hap en de 95% betrouwbaarheid van de schatting: ondergrens 5 exemplaren en bovengrens 17 exemplaren (door transformatie is de verdeling niet symmetrisch!).In de praktijk betekent dit dat sprake is van een significante reductie van de dichtheid wanneer het gevonden aantal exemplaren per hap beneden de vijf exemplaren komt. Het aantal van 10-20 happen is gebaseerd op ervaringen in vrij homogene gebieden. In sloten is echter vaak sprake van zeer heterogene gebieden en wordt zelfs niet met 20 happen een schattingsinterval van + of - 50% bereikt. Daarvoor zijn wellicht 40-50 happen nodig. Omdat de monstername zelf verstorend werkt, stelt een dergelijk aantal bij herhaling te nemen monsters ook eisen aan de minimum-grootte van het compartiment in de proefsloot. De lengte van dit compartiment moet daarom minimaal 50 m zijn.

Middel

De concentratie bestrijdingsmiddel moet regelmatig worden bepaald. De eerste dagen na toediening moet frequent worden gemeten (enkele malen per dag); daarna kan deze frequentie afnemen tot twee maal per week. Wanneer het middel niet meer wordt aangetroffen, kan de frequentie verder worden teruggebracht.

Voorgestelde **RICHTLIJN VELDTOETS MUGGELARVEN**

1. PROEFVOORWAARDEN

1.1 Keuze van toetsorganisme en gewas

Toets met muggelarven (= Chironomidae), die in de te onderzoeken slootbodems voorkomen en die in het laboratorium worden gebruikt. Toets uitvoeren op een bodemtype waarop het middel wordt gebruikt. Toets uitvoeren in een teelt waarin de hoogste dosis wordt voorgeschreven en met een gewas waarin de driftpercentages het hoogst zijn.

1.2 Proefvoorwaarden

Toets uitvoeren in sloten grenzend aan de te behandelen percelen. In het veld worden proef-percelen gelijktijdig behandeld met het te toetsen middel, met een voor muggelarven uitgesproken gevaarlijk middel en wordt een perceel behandeld met water of eventueel met een andere, op de formulering lijkende, onschuldige draagstof. In de sloten grenzend aan deze percelen worden de effecten bepaald.

1.3 Overige proefvoorwaarden

De proefsloten moeten, op zijn minst op regionale schaal bezien, een zekere representativiteit hebben; dat wil zeggen: gangbare dimensies en een doorsnee-gebruik en -beheer. Proef uitvoeren onder weersomstandigheden waaronder blootstelling van het water waarschijnlijk is (matige windsnelheid). Extreme weersomstandigheden (regen, langdurige droogte, harde wind of geen wind) vermijden.

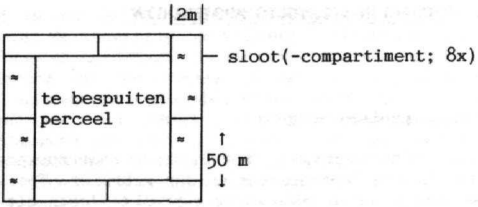
1.4 Technische uitvoering

Proefveldgrootte

De proefsloten worden in compartimenten van 50 m verdeeld, aangezien het relatief grote aantal te nemen monsters grenzen stelt aan de minimumgrootte van het proefcompartiment; het aangrenzende perceel wordt behandeld met de te toetsen dosis.

Proefveldindeling

Voor de proefveldindeling wordt verwezen naar de figuur. De figuur staat voor één behandeling waaruit acht slootcompartimenten resulteren. Per behandeling is één proefveld nodig. De gehele proef wordt in duplo uitgevoerd. Bij de voorgestelde proefveld-indeling is er, door de gekozen ordening, voor gezorgd dat de blootstelling in verband met weersomstandigheden in ieder geval in één van de sloten maximaal is. Een andere indeling, waarbij aan dezelfde voorwaarden wordt voldaan is ook toegestaan.



Proefveld-opzet

2. TOEDIENING VAN DE MIDDELEN

2.1 Middelen

Het te onderzoeken middel wordt toegepast volgens de door de producent ingediende gebruiksaanwijzing en met een praktijkformulering.

2.2 Behandelingsapparatuur

De middelen toedienen met gangbare apparatuur volgens voorschrift.

2.3 Dosering middel

Toedienen van de hoogst voorgeschreven dosis en het viervoudige van de betreffende formulering. Wanneer uit metingen blijkt dat het water niet wordt belast moet aan de sloot de hoeveelheid worden toegevoegd, die is berekend om de PEC te bereiken bij toepassing van de maximale dosis en het viervoudige daarvan.

2.4 Aantal en tijdstip van de behandelingen

De behandeling vindt plaats op een tijdstip dat het middel normaal gesproken zal worden toegepast. Bespuiting van de verschillende duplo's liefst gelijktijdig, maar in ieder geval binnen een periode van twee uur, teneinde eventuele verschillen in weersomstandigheden uit te sluiten.

3. WAARNEMINGEN

Methoden en frequentie

De bemonstering van de muggelarven, die van nature in de sloot voorkomen, vindt plaats met een bodemhapper. Per compartiment worden minstens vijf monsters genomen of zoveel meer als nodig is om de dichtheid van de muggelarven met 95% betrouwbaarheid te kunnen schatten. Hier zal een afweging moeten plaatsvinden tussen het maximale aantal monsters en de minimale verstoring van de bodem. De bemonstering vindt plaats enkele dagen voor de behandeling en na behandeling eens per week. Waargenomen

worden de soortensamenstelling en de abundantie van de verschillende soorten en eventuele afwijkingen.

Per compartiment worden verder vijf bakken geplaatst met ei-pakketten en vijf bakken met muggelarven. De bakken hebben een oppervlakte van 50x50 cm en bevatten bodemmateriaal, dat bij voorkeur uit de betreffende sloten afkomstig is. Aan de bakken met larven is gaas bevestigd dat tot boven de waterkolom uitsteekt. Op deze gazen kolommen is een muggenval bevestigd, zodat uitkomende muggen kunnen worden gevangen. De bakken bestaan uit meerdere vakken van 10x10 cm. Per monsterdatum wordt één bakje geoogst om de ontwikkeling vast te kunnen stellen. De uitkomende muggelarven leven planktonisch en kunnen gaas gemakkelijk passeren. Daarom worden de bakken met ei-pakketten, op het moment dat het uitkomen wordt verwacht, afgesloten middels een glazen kolom. Wanneer de muggelarven groter zijn en zich weer in de bodem vestigen kan dit glas worden verwijderd.

Bepaald worden de abundantie, de biomassa, eventuele (kaak)afwijkingen en de ontwikkeling van de muggelarven. Bij deze ontwikkeling wordt ook het percentage uitgekomen eieren en het percentage uitgekomen adulte muggen betrokken.

Als een verdenking bestaat voor ecologische effecten kunnen ook de algen of de macrofauna worden bemonsterd. Voor algen wordt verwezen naar de algentoets. De macrofauna en visstand worden bemonsterd met behulp van een standaard-net (Beltman, 1983). Een determinatie tot op soortsniveau is niet noodzakelijk. Determinatie moet tot op een dusdanig niveau plaatsvinden dat grote verschuivingen in de predatoren van muggelarven kunnen worden aangetoond.

Tevens worden dagelijks op vaste tijden de temperatuur, opgelost zuurstof, totaal CO_2 gehalte, organisch koolstof, fosfaat, stikstof, pH, oplosbaar CO_2 en geleidbaarheid bepaald. Het gehalte bestrijdingsmiddel wordt de eerste week na bespuiting drie maal daags bepaald; daarna kan tegelijk met de biologische bemonstering worden bemonsterd. Wanneer het middel niet meer aantoonbaar is, kan de frequentie verder afnemen.

4. *VOORWAARDEN VOOR GELDIGHEID*

Toetsresultaten worden niet geaccepteerd bij onduidelijkheden in de resultaten of als er in de blanco's veel sterfte optreedt of in de positieve controle weinig sterfte. In gevallen waarin er voorafgaande aan de toediening reeds significante verschillen tussen de proefvlakken bestonden voor wat betreft de gemeten parameters, wordt de toets niet geaccepteerd.

KOSTEN

Kenschets proefopzet:

A	B	C	D	E	F	G	H
soort	aspect	type	dosering	blanco	veelvoud	monsters	bemonst.
l n	a b c r	v k	hp 4hp')	b g	2	8	≥5 10

') wanneer sloot niet wordt belast: PEC van hp en het viervoudige daarvan

Voor de betekenis van de gebruikte codes wordt verwezen naar § 4.3 van het hoofdrapport (= deel A).

	netto-werkdagen	materiaalkosten
1 materiaal	5	
- toetsorganismen		1.000
- proefvelden		1.000
- veldapparatuur		500
2 *bemonsteren(4x2x8x5x10)*		
- toetsorganismen	30	
- overige biot. parameters	5	
- abiotische parameters	10	
3 meten parameters		p.m.
- toetsorganismen 3200	150	5.000
- overige biot. parameters	30	p.m.
- gehaltebepalingen	20	4.000
- abiotische parameters	10	500
4 interpreteren gegevens	10	p.m.
5 invullen toetsformulier	5	n.v.t.
totaal werkdagen	ca. 275	n.v.t.
kostenschatting (subtot.)	f 206.250	f 12.000

kosten totaal (volgens zeer ruwe schatting): ca. f 217.500

Appendix 4.7.1 Overzicht bestaande richtlijnen voor veldtoetsen met muggelarven

Concrete richtlijnen voor veldtoetsen met aquatische organismen zijn niet gevonden. Wel worden veldtoetsen in een aantal procedures genoemd:

Verenigde Staten (EPA, 1982). Veldonderzoek is gewenst wanneer uit andere toetsen blijkt dat er een risico aanwezig is. Voor de invulling wordt verwezen naar enkele handboeken en enkele specifieke onderzoeken die '.. can provide useful background information for conducting a simulated or actual field study ..'.

Engeland (MAFF, 1986) In het Working Document 7.1 wordt alleen opgemerkt dat onder bepaalde omstandigheden veldtoetsen met aquatische evertebraten noodzakelijk kunnen zijn.

OECD (1987). Aangegeven wordt dat veldonderzoek een belangrijke rol kan spelen. Als mogelijkheden worden bijvoorbeeld genoemd het aanbrengen van kunstmatige substraten en het plaatsen van kooitjes met organismen. Anderzijds worden ook de beperkingen van veldonderzoek onderkend.

Appendix 4.7.2 Overzicht uitgevoerd veldonderzoek met muggelarven

Grzenda et al. (1962) Onderzoek naar de effecten op de fauna in een meertje in een perzik-boomgaard; met name parathion wordt hier veel gebruikt. Er is geen onbehandelde controle. Naast een aantal fysisch/-chemische parameters wordt ook het gehalte bestrijdingsmiddelen uitgebreid gevolgd. De bodem fauna wordt verzameld met een 'Ekman dredge', 15 happen per monsterronde. Zoöplankton werd bemonsterd met een fles (3 liter) in totaal werd 15-46 liter bemonsterd en in het veld gefilterd met behulp van een plankton net. Er worden significante verschillen gevonden voor insecten en muggelarven voor en na bespuiting; voor oligochaeta wordt dit niet gevonden. Op zoöplankton worden geen effecten gevonden, zowel wat betreft aantallen als wat betreft soortensamenstelling. Over het effect op vissen wordt discussie gevoerd; één (uitgezette) soort, een zeebaars Micropterus salmoides, verdwijnt, terwijl een zonnebaars Lepomis macrochirus zich kan handhaven. Op basis van laboratorium-toetsen kan geen eenduidige uitspraak worden gedaan over de rol van parathion hierbij.

Crossland (1984) Drie proefvijvers werden belast met methyl-parathion en drie dienden als blanco. Voor methoden zie Crossland & Hillaby (1985). Macrofauna werd bemonsterd door een net 5 meter door het water te halen, drie maal per monster. Bodemfauna werd gemonsterd door met behulp van lucht een oppervlakte van 20x20 cm op te zuigen. Per vijvertje werden vijf bodemmonsters genomen. Regenboogforel Salmo gairdneri werd vooraf opgekweekt. Per vijver werden 25 vissen uitgezet (4,4-4,9 g). Na elf weken werden ze d.m.v. een electrische schok bemonsterd en gewogen. Zoals te voorspellen was op basis van de laboratorium-gegevens werden watervlooien en cyclops, in tegenstelling tot vissen, sterk aangetast door parathion. Ook andere evertebraten werden aangetast. Er trad echter herstel op en na 10 weken was het verschil met de controle gering. Bij de bodemfauna werden effecten gevonden op muggelarven, maar niet op slakken of Oligochaeten. Vissen groeiden beter in de onbehandelde vijvers. Omdat in het laboratorium geen toxisch effect wordt gevonden wordt dit geweten aan het optreden van een voedsel-effect.

Zischke et al. (1985) In proefkanalen werd onderzocht of een op basis van laboratoriumgegevens berekende toxische grens-concentratie de aquatische levensgemeenschap voldoende beschermt. Eén sloot kreeg de berekende hoeveelheid toegediend, één het drievoudige en één het negenvoudige; één sloot diende als blanco. De proefsloten waren 520 m lang en bestonden afwisselend uit 30,5 m poelen met modder bodem en 30,5 m 'gravel'-stroomversnellingen. Aan de kanalen wordt rivierwater toegevoegd dat continu wordt gecontamineerd met pentachloorfenol. Tussen de compartimenten waren roosters geplaatst om de vissen op hun plaats te houden. Water werd twee maal per week bemonsterd en geanalyseerd op bestrijdingsmiddel; hiernaast werden opgelost zuurstof, pH, temperatuur, alkaliteit, hardheid, ortho- en totaal-fosfaat, ammonia, totaal stikstof en BOD bepaald. Voor het bemonsteren van micro-evertebraten werden vallen gebruikt die 's avonds werden geplaatst en 's ochtends verwijderd; gedurende de migratie in de nacht werden de organismen gevangen. Bentische evertebraten werden bemonsterd met behulp van ingegraven stalen bakken van 0,02 m^2, gevuld met bodemmateriaal. Evertebraten werden als drift bemonsterd. De reproductie

van de slak Physa gyrina werd onderzocht door het tellen van de op een kunstmatig substraat in pakketten afgezette eieren. Verschillen werden getoetst met een variantie-analyse met een significantie grens < 0,05. In de proefkanalen werden ca. 450 voorns Pimephales promelas en ca. 55 zonnebaarzen Lepomis macrochirus uitgezet. Een gedeelte werd vooraf verdoofd en gewogen. 15 exemplaren van de tweede soort werden in een kooi (1,3x 0,9x0,9 m) geplaatst. Drie maal per week werd naar dode vissen gezocht. Van de eerste soort werd wekelijks van 50 exemplaren de groei bepaald. De ei-afzetting werd drie maal per week bepaald door 25% van 112 kunstmatige substraten te monsteren. Ook de larven werden bemonsterd met driftmetingen. Aan het eind van het seizoen werden alle vissen verwijderd, geteld en gemeten; van 10% werd het gewicht bepaald. Effecten werden gevonden op de micro-evertebraten (waaronder chironomiden en watervlooien). Deze bleken bij de middelste concentratie aangetast; de grootste abundantie werd gevonden in de controle. Voor slakken wordt een groot effect gevonden bij de hoogste behandeling; de vissen sterven bij deze behandeling; echter ook bij de andere behandelingen worden effecten gevonden. De berekende concentratie blijkt dus niet in alle gevallen de aquatische levensgemeenschap afdoende te kunnen beschermen.

Stephenson & Mackie (1986) In zes proefvijvers (10x20x2,5 m diep) werd het effect van de bestrijding van macrofyten met 2,4-D op bodemevertebraten onderzocht. Vier meertjes werden behandeld met 2,4-D (twee vormen) en twee dienden als controle. Accent van onderzoek op ecologische effecten, nl. als gevolg van het afsterven van macrofyten. De evertebratenfauna wordt bemonsterd door duikers met bodemboren (diameter 7,6 cm), negen per vijver. Gemonsterd werd de dag voor behandeling en resp. 29, 63, 91, 126 en 338 dagen na de behandeling. De monsters werden gezeefd (maaswijdte 0,26 mm) en daarna in een witte bak uitgezocht. Effecten werden op drie wijzen waargenomen: i) met behulp van een Ecological Community Analyses werden de soorten omgezet in ecologische identiteiten (voedingswijze, milieuvoorkeur etc.); vervolgens werd met een variantie-analyse onderzocht of er verschillen in deze ecologische eigenschappen waren tussen populaties uit de verschillende behandelingen; ii) er werd geanalyseerd of er verschillen waren in het verdwijnen van soorten met behulp van een cluster-analyse en iii) er werd een diversiteitsindex opgesteld voor elk submonster en met een variantie-analyse werden verschillen tussen behandelingen getraceerd. Direct toxische effecten werden niet gevonden. Na langere tijd (338 dagen) was de diversiteit in de behandelde vijvers ten opzichte van de onbehandelde vijver significant lager; in de behandelde vijvers domineerden Tubificidae; in de onbehandelde Chironomidae, Gastropoda en Tubificidae.

Van Urk & Kerkum (1986) Onderzoek naar kaakafwijkingen bij muggelarven in 19 grotere wateren in Nederland. De afwijkingen blijken positief gecorreleerd te zijn met het voorkomen van verontreinigingen in waterbodems.

Ali et al. (1988) Bestrijding van de roest-mijt in citrus-boomgaarden met diflubenzuron en de neveneffecten op waterorganismen. Effecten werden onderzocht in twee meren: één van 2 ha met een ondiep (1 m) en een diep (2-3 m) gedeelte, dat direct aan de boomgaard grenst; één ondiep (1 m) meer van 1 ha, dat niet wordt blootgesteld. Aanleiding: diflubenzuron

wordt ook gebruikt voor bestrijding van muggelarven en is zeer toxisch voor een aantal waterorganismen. De meertjes werden 4 en 1 dag voor bespuiting en 1, 3, 7, 14 28 en 56 dagen na bespuiting bemonsterd. Er werden 8 bodemmonsters in het ondiepe en 6 in het diepe gedeelte van het blootgestelde meer genomen; van het zoöplankton werden resp. 7 en 4 monsters genomen. In het controle meer werden 6 bodemmonsters genomen en 4 zoöplankton monsters. Voor de bodemmonsters werd gebruik gemaakt van een nylon net (20x20 cm en 55 cm lang, maaswijdte 0,5 mm). Er werd 40 cm2 bodem bemonsterd. Voor het diepe gedeelte werd een 'Ekman dredge' (15x15x15 cm) gebruikt; de bodemmonsters werden gefilterd door een 0,5 mm filter en in witte schaaltjes uitgezocht, geconserveerd en gedetermineerd. Het zoöplankton werd in het ondiepe gedeelte bemonsterd met een 50 cm lang conisch net (opening 20 cm, 125 µm maaswijdte) over een lengte van 6 meter. Monsters uit het diepere gedeelte werden genomen met een plankton net achter een boot. Er werden geen significante verschillen gevonden, waarschijnlijk wegens de extreem lage gehalten in het water.

LITERATUUR

Ali, A., H.N. Nigg, J.H. Stamper, M.L. Kok-Yokomo & M. Weaver, 1988. Diflubenzuron application to citrus and its impact on invertebrates in an adjacent pond. - Bull. Environ. Contam. Toxicol. 41: 781-790.

Beltman, B., 1983. Van de wal in de sloot, een typologisch onderzoek aan macrofaunacoenosen. Proefschrift LUW, Wageningen. 435 p.

Crossland, N.O., 1984. Fate and biological effects of methyl parathion in outdoor ponds and laboratory systems. II. Effects. Ecotoxicol. - Environ. Saf. 8 (5): 482-495.

Crossland, N.O. & J.M. Hillaby, 1985. Fate and effects of 3,4-dichloroaniline in the laboratory and in outdoor ponds: II. Chronic toxicity to Daphnia spp. and other invertebrates. - Environm. Toxicology and Chemistry 4: 489-499.

EPA (Environmental Protection Agency), 1982. Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision E, Hazard Evaluation: Wildlife and Aquatic Organisms. - EPA-540/9-82-024: 86 p.

Grzenda, A.R., G.J. Lauer & H.P. Nicholson, 1962. Insecticide contamination in a farm pond. Part II: Biological effects. - Trans. Am. Fish. Soc. 91 (2): 213-222.

Heinis, F. & T. Crommentuijn, 1988. Biomonitoring met de larven van chironomiden en kokerjuffers. - Rapport 880550, M&W Aquasense, Amsterdam. 30 p.

Kerkum, F.C.M. & G. van Urk, 1989. Dichtheid, biomassa en misvormingen van Chironomus-populaties in het Ketelmeer in drie opeenvolgende jaren. DBW/RIZA nota 89.072, Lelystad. 16 p.

MAFF (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food), 1986. Data requirements for approval under the control of pesticides regulations. MAFF, Harpenden. 219 p.

OECD (Organization for Economic Co-operation and Development), 1987. The use of biological tests for water pollution assessment and control.- Environmental Monographs 11. 70 p.

Stephenson, M. & G.L. Mackie, 1986. Effects of 2,4-D treatment on natural benthic macroinvertebrate communities in replicate artificial ponds.- Aquatic Toxicology 9: 243-251.

Urk, G. van & F.C.M. Kerkum, 1986. Misvormingen bij muggelarven uit Nederlandse oppervlaktewateren. - H_2O 19 (26): 224-227.

Zischke, J.A., J.W. Arthur, R.O. Hermanutz, S.F. Hedtke & J.C. Helgen, 1985. Effects of pentachlorophenol on invertebrates and fish in outdoor experimental channels. - Aquat. Toxicol. 7 (1/2): 37-58.

Voorstel voor

RICHTLIJN VOOR HET UITVOEREN VAN VELDTOETSEN TER BEPALING VAN NEVENEFFECTEN VAN CHEMISCHE BESTRIJDINGSMIDDELEN IN HET VELD OP

WATERSLAKKEN

VELDTOETS WATERSLAKKEN

Algemeen

Waterslakken (uit de groep van de Gastropoda) zijn opgenomen in de veldtoetsen vanwege hun rol als herbivoor in het aquatische ecosysteem (zie: H.3 van het hoofdrapport). De veldtoets richt zich op de waterslakken die op de waterplanten zitten. Er is tot nu toe echter zeer weinig veldonderzoek met waterslakken uitgevoerd. Daarom heeft de hier voorgestelde richtlijn een zeer voorlopig karakter.

Ten einde de kans op ondubbelzinnige resultaten zo groot mogelijk te maken worden twee benaderingen gevolgd: i) de waterslakken die in de sloot voorkomen worden bemonsterd en ii) er worden waterslakken in kooien in de sloot gebracht, bijvoorbeeld de poelslak Lymnea stagnalis, waarbij kan worden aangesloten bij de ervaring van de VU en TNO-MT (schr.med. Scholten). Hierbij moet ook een (kunstmatig) substraat worden aangebracht, waarop ei-afzetting mogelijk is; ook kunnen reeds op het substraat afgezette eieren in het veld worden gebracht.

Voor de Nederlandse situatie gaat de aandacht in eerste instantie uit naar die wateren die het meest worden blootgesteld, te weten de sloten in het agrarisch gebied.

Proefvoorwaarden

Tot sloten worden zowel de kleine watergangen tussen de percelen als de grotere verzamelwatergangen gerekend. In aansluiting bij de literatuur wordt voorgesteld om een stuk sloot af te sluiten met voor water ondoordringbare barrières, zodat geen verspreiding plaats vindt van het toegediende middel.

Aanbevolen wordt om de toets uit te voeren in die teelten waarbij de grootste kans op blootstelling bestaat. In het algemeen vindt de grootste drift bij het gebruik van bestrijdingsmiddelen plaats in de fruit- of bomenteelt. Wanneer een waterslakken-veldtoets moet worden uitgevoerd zal deze veelal in een dergelijke teelt plaatsvinden.

Toediening

Aangezien bij een veldtoets de neveneffecten van bespuitingen in de praktijk moeten worden bepaald, wordt gekozen voor toediening van het middel aan het perceel dat aan de sloot grenst. Hierbij wordt zowel de maximale dosis toegepast als vier maal de maximale dosis. Met deze laatste dosis wordt een 'worst case'-situatie gesimuleerd, gebaseerd op de situatie waarbij percelen aan beide zijden van een sloot worden bespoten en op de variaties in het gebruik, zoals die in praktijk op kunnen treden.

De belasting van het oppervlaktewater kan door de geschetste toedieningsmethode variëren. Hierbij speelt de weersgesteldheid een belangrijke rol;

daarnaast is in dit geval ook de exacte uitvoering van de behandeling van belang. Variaties in de afstand tot de sloot, bijvoorbeeld bij toelopende percelen, kunnen relatief grote verschillen in blootstelling veroorzaken. Bij de uitvoering van de toets moet daarom rekening worden gehouden met de weersomstandigheden en moet de toediening zelf nauwkeurig gebeuren.

Via metingen moet worden vastgesteld hoe groot de belasting van het oppervlaktewater is geweest. Dit kan zowel door het bepalen meten van het middel in het water als door het toevoegen van een merkstof (bijv. een kleurstof) aan het middel. Het bepalen van de belasting van het water is van groot belang voor het aantonen van een causaal verband tussen de aanwezigheid van het middel en de veranderingen bij de waterslakken. Wanneer door onvoorziene omstandigheden geen blootstelling plaatsvindt, kan het middel ook direct aan het water worden toegevoegd. Hierbij kan die hoeveelheid worden toegevoegd, die leidt tot een berekende PEC onder prak-tijkomstandigheden, en het viervoudige daarvan. De extrapolatie van de resultaten van een dergelijke toets naar een werkelijke bespuiting van het perceel zal echter met onzekerheden gepaard gaan.

Waarnemingen

Waterslakken en (a)biotische milieufactoren
De abundantie en de soortensamenstelling van de waterslakken moet worden waargenomen. Hierbij geldt als kanttekening dat een bemonsteringsprocedure vaak maar voor één soort te optimaliseren is. Bij het optimaliseren van de methode voor een bepaalde soort gaat informatie verloren over andere soorten; dit kan het gevolg zijn van zaken als andere grootte, andere diepteverdeling, andere levenscyclus enz. (schr.med. van Urk).

Eventueel kunnen in de sloot ook kunstmatige substraten worden geplaatst, zodat het afzetten en de ontwikkeling van eieren kan worden waargenomen. Daarnaast kunnen kooien met waterslakken in de sloot worden geplaatst. Deze kooien moeten dan een gedeelte van de vegetatie omvatten als voedsel voor de waterslakken. In deze kooien kan ook het afzetten van ei-pakketten en de ontwikkeling hiervan worden gevolgd. Eventueel kunnen ook ei-pakketten in de kooien worden aangebracht.

Naast de groei en ontwikkeling van de waterslakken moet ook een aantal fysische en chemische parameters worden gemeten. Enerzijds veroorzaken bijvoorbeeld verschillen in beschikbaarheid van voedsel verschillen in de slakkengroei. Anderzijds kunnen er ook verschillen in de predatie van waterslakken optreden. Daarom wordt voorgeschreven om de evertebraten ten minste groepsgewijs en semi-kwantitatief te bemonsteren en ook de algen en de hogere waterplanten kwantitatief te bemonsteren.

Middel
De concentratie bestrijdingsmiddel moet regelmatig worden bepaald. De eerste dagen na toediening moet frequent worden gemeten (enkele malen per dag); daarna kan deze frequentie afnemen tot twee maal per week. Wanneer het middel niet meer wordt aangetroffen, kan deze frequentie verder worden teruggebracht.

Voorgestelde **RICHTLIJN VELDTOETS WATERSLAKKEN**

1. PROEFVOORWAARDEN

1.1 Keuze van toetsorganisme en gewas

Toets uitvoeren met waterslakken (behorende tot de Gastropoda) uit de te onderzoeken sloten en met slakken die in de sloot worden gebracht. Toets uitvoeren op een bodemtype waarop het middel wordt gebruikt. Toets uitvoeren in een teelt waarin de hoogste dosis wordt voorgeschreven en met een gewas waarin de driftpercentages het hoogst zijn.

1.2 Proefvoorwaarden

Toets uitvoeren in sloten grenzend aan de te behandelen percelen. In het veld worden gelijktijdig percelen behandeld met het te toetsen middel, met een voor waterslakken uitgesproken gevaarlijk middel en wordt een perceel behandeld met water of eventueel met een andere, op de formulering lijkende, onschuldige draagstof. In de sloten grenzend aan deze percelen worden de effecten bepaald.

1.3 Overige proefvoorwaarden

De proefsloten moeten, op zijn minst op regionale schaal bezien, een zekere representativiteit hebben; dat wil zeggen: gangbare dimensies en een doorsnee-gebruik en -beheer. Proef uitvoeren onder weersomstandigheden waaronder blootstelling van het water waarschijnlijk is (matige windsnelheid). Extreme weersomstandigheden (regen, langdurige droogte, harde wind of geen wind) vermijden.

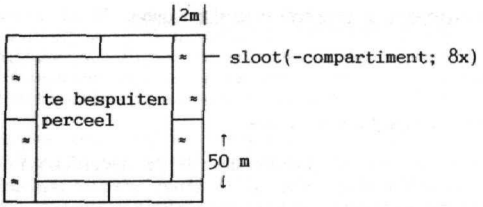
1.4 Technische uitvoering

Proefveldgrootte

De proefsloten worden in compartimenten van 50 m verdeeld, aangezien 25 m te klein wordt geacht (schr.med. van Urk); het aangrenzende perceel wordt behandeld met de te toetsen dosis.

Proefveldindeling

Voor de proefveldindeling wordt verwezen naar de figuur. De figuur staat voor één behandeling, met acht slootcompartimenten. Per behandeling is één proefveld nodig. De gehele proef moet in duplo worden uitgevoerd. Bij de voorgestelde proefveld-indeling is er, door de gekozen ordening, voor gezorgd dat de blootstelling in verband met weersomstandigheden in ieder geval in één van de sloten maximaal is. Een andere indeling, waarbij aan dezelfde voorwaarden wordt voldaan is ook toegestaan.



Proefveld-opzet

2. TOEDIENING VAN DE MIDDELEN

2.1 Middelen

Het te onderzoeken middel wordt toegepast volgens de door de producent ingediende gebruiksaanwijzing en met een praktijkformulering.

2.2 Behandelingsapparatuur

De middelen toedienen met gangbare apparatuur volgens voorschrift.

2.3 Dosering middel

Toedienen van de hoogst voorgeschreven dosis en het viervoudige van de betreffende formulering. Wanneer uit metingen blijkt dat het water niet wordt belast moet aan de sloot de hoeveelheid worden toegevoegd, die is berekend om de PEC te bereiken bij toepassing van de maximale dosis en het viervoudige daarvan.

2.4 Aantal en tijdstip van de behandelingen

De behandeling vindt plaats op een tijdstip dat het middel normaal gesproken zal worden toegepast. Bespuiting van de verschillende duplo's liefst gelijktijdig, maar in ieder geval binnen een periode van twee uur, teneinde eventuele verschillen in weersomstandigheden uit te sluiten.

3. WAARNEMINGEN

Methoden en frequentie

De bemonstering van de van nature voorkomende waterslakken vindt plaats door per compartiment de slakken te bemonsteren met behulp van een net. Daarnaast kan een vaste hoeveelheid plantenmateriaal worden geoogst; hierop wordt het aantal en de soortensamenstelling van de slakken bepaald. Per compartiment worden zoveel monsters genomen als nodig is om de dichtheid van de waterslakken met 95% betrouwbaarheid te schatten. Hierbij zal een compromis moeten worden gevonden tussen een maximale nauwkeurigheid en een minimale verstoring van de sloot. Eventueel kan de dicht-

heid van de waterslakken in de sloot kunstmatig worden verhoogd door het toevoegen van waterslakken aan de sloot; deze slakken kunnen worden gemerkt, zodat onderscheid met van nature voorkomende waterslakken mogelijk blijft en ook de verplaatsingsafstanden als maat voor de activiteit bepaald kunnen worden. Eveneens kan de groei worden gevolgd door de slakkehuisjes te meten/wegen.

De bemonstering vindt plaats enkele dagen voor de behandeling en na behandeling eens per week. Waargenomen worden de soortensamenstelling en de abundantie van de verschillende soorten en eventuele afwijkingen in gedrag of ontwikkeling.

Per compartiment worden verder vijf kooien geplaatst met 20 ei-pakketten en vijf kooien met 100 waterslakken elk (bijv. L. stagnalis). De kooien hebben een omvang van 50x50 cm en zijn zo diep als de sloot toelaat. De kooien zijn aan de onderzijde afgesloten met zeer fijn gaas en worden op de bodem geplaatst. In de kooien worden waterplanten uit de slootzonder slakken - aangebracht. Ook worden in de kooien kunstmatige substraten neergezet. De bemonstering van de slakken vindt plaats door het tellen van de slakken op de substraten. Ook wordt de ei-afzetting bepaald. In de kooien met ei-pakketten wordt de ontwikkeling van de eieren en de jonge slakken gevolgd op de substraten.

Als verdenking bestaat voor het optreden van ecologische effecten kunnen ook de epifytische algen en/of de macrofauna worden bemonsterd. Voor algen wordt verwezen naar de algentoets. De macrofauna wordt bemonsterd met behulp van een standaard-net (Beltman, 1983). Een determinatie tot op soortsniveau is niet noodzakelijk. Determinatie moet tot op het niveau plaatsvinden waarop grote verschuivingen in de predatoren en parasieten van waterslakken kunnen worden aangetoond.

Tevens worden dagelijks op vaste tijden de temperatuur, opgelost zuurstof, totaal CO_2 gehalte, organisch koolstof, fosfaat, stikstof, pH, oplosbaar CO_2 en geleidbaarheid bepaald. Het gehalte bestrijdingsmiddel wordt de eerste week na bespuiting drie maal daags bepaald; daarna tegelijk met de biologische bemonstering. Wanneer het middel niet meer aantoonbaar is, kan de frequentie verder afnemen.

4. VOORWAARDEN VOOR GELDIGHEID

Replica's in de tijd zijn alleen vereist bij onduidelijkheden in de resultaten en als in de blanco's veel sterfte optreedt of in de positieve controle weinig sterfte. In gevallen waarin er voorafgaande aan de toediening reeds significante verschillen tussen de proefvlakken bestonden voor wat betreft de gemeten parameters, wordt de toets niet geaccepteerd.

KOSTEN

Kenschets proefopzet:

A	B	C	D	E	F	G	H
soort	aspect	type	dosering	blanco	veelvoud	monsters	bemonst.
l n	a g r s	v k	hp 4hp')	b g	2	8	≥5 x 5

') wanneer sloot niet wordt belast: PEC van hp en het viervoudige daarvan

Voor de betekenis van de gebruikte codes wordt verwezen naar § 4.3 van het hoofdrapport (= deel A).

	netto-werkdagen	materiaalkosten
1 materiaal	5	
- toetsorganismen		1.000
- proefvelden		1.000
- veldapparatuur		500
2 bemonsteren (4x2x8x5x5)		
- toetsorganismen	20	
- overige biot. parameters	5	
- abiotische parameters	10	
3 meten parameters		p.m.
- toetsorganismen 1600x	50	2.000
- overige biot. parameters	10	p.m.
- gehaltebepalingen	20	4.000
- abiotische parameters	10	500
4 interpreteren gegevens	10	p.m.
5 invullen toetsformulier	5	n.v.t.
totaal werkdagen	ca. 145	n.v.t.
kostenschatting (subtot.)	f 108.750	f 9.000
kosten totaal (volgens zeer ruwe schatting):		ca. f 117.500

Appendix 4.8.1 Overzicht bestaande richtlijnen voor veldtoetsen met waterslakken

Concrete richtlijnen voor veldtoetsen met aquatische organismen zijn niet gevonden. Wel worden veldtoetsen in een aantal procedures genoemd:

Verenigde Staten (EPA, 1982). Veldonderzoek is gewenst wanneer uit andere toetsen blijkt dat er een risico aanwezig is. Voor de invulling wordt verwezen naar enkele handboeken en enkele specifieke onderzoeken die '.. can provide useful background information for conducting a simulated or actual field study ..'.

Engeland (MAFF, 1986) In het Working Document 7.1 wordt alleen opgemerkt dat onder bepaalde omstandigheden veldtoetsen met aquatische evertebraten noodzakelijk kunnen zijn.

OECD (1987). Aangegeven wordt dat veldonderzoek een belangrijke rol kan spelen. Als mogelijkheden worden bijvoorbeeld genoemd het aanbrengen van kunstmatige substraten en het plaatsen van kooitjes met organismen. Anderzijds worden ook de beperkingen van veldonderzoek onderkend.

Appendix 4.8.2 Overzicht uitgevoerd veldonderzoek met waterslakken

Harman (1976) De ondiepe gedeelten van een meer (94 ha, max. 13 m diep) werden behandeld met simazin om algengroei tegen te gaan. Waarschijnlijk waren ook residuen van andere middelen ($CuSO_4$ en diquat) aanwezig. Een afgescheiden gedeelte diende als controle. Onderzocht werden de neveneffecten op de bentische fauna. Monsters werden genomen met bodemhappers; waterslakken werden verzameld door duikers. Hiertoe werd een frame van 0,5 m^2 op de bodem geplaatst, waarbinnen alle waterslakken werden verzameld. Bij de slak Goniobasis livescens trad grote sterfte op. Pas in de lente van het volgende jaar trad herstel op. De bodembewonende slak Viviparus georgianus werd bijna geëlimineerd. Foeti werden geaborteerd en na twee dagen waren vrijwel alle waterslakken dood. Aangezien deze soort zich gewoonlijk later in het jaar niet meer voortplant vond herstel pas plaats in het volgende jaar. Uit laboratorium-experimenten was niet gebleken dat de waterslakken gevoelig waren voor de verwachte concentraties aan simazin. Mogelijk is er sprake van een gecombineerde werking, te weten van de toxische effecten op waterslakken en algen.

Zischke et al. (1985) In proefkanalen werd onderzocht of een op basis van laboratoriumgegevens berekende toxische grens-concentratie de aquatische levensgemeenschap voldoende beschermt. Eén sloot kreeg de berekende hoeveelheid toegediend, één het drievoudige en één het negenvoudige; één sloot diende als blanco. De proefsloten waren 520 m lang en bestonden afwisselend uit 30,5 m poelen met modder bodem en 30,5 m 'gravel'-stroomversnellingen. Aan de kanalen wordt rivierwater toegevoegd dat continu wordt gecontamineerd met pentachloorfenol. Tussen de compartimenten waren roosters geplaatst om de vissen op hun plaats te houden. Water werd twee maal per week bemonsterd en geanalyseerd op bestrijdingsmiddel; ook opgelost zuurstof, pH, temperatuur, alkaliteit, hardheid, ortho- en totaalfosfaat, ammonia, totaal stikstof en BOD bepaald. Voor het bemonsteren van micro-evertebraten werden vallen gebruikt die 's avonds werden geplaatst en 's ochtends verwijderd; gedurende de migratie in de nacht werden de organismen gevangen. Bentische evertebraten werden bemonsterd met behulp van ingegraven stalen bakken van 0,02 m^2, gevuld met bodemmateriaal. Evertebraten werden als drift bemonsterd. De reproductie van de slak Physa gyrina werd onderzocht door het tellen van de op een kunstmatig substraat in pakketten afgezette eieren. Verschillen werden getoetst met een variantie-analyse met een significantie grens < 0,05. In de proefkanalen werden twee vissoorten uitgezet. Een gedeelte werd vooraf ver-doofd en gewogen en een gedeelte werd in een kooi (1,3x0,9x0,9 m) geplaatst. Drie maal per week werd naar dode vissen gezocht. Van 50 exemplaren werd wekelijks de groei bepaald. De ei-afzetting werd drie maal per week bepaald door 25% van 112 kunstmatige substraten te bemonsteren. Ook de larven werden bemonsterd met driftmetingen. Aan het eind van het seizoen werden alle vissen verwijderd, geteld en gemeten (slechts van 10% het gewicht). Effecten werden gevonden op de micro-evertebraten (waaronder chironomiden en watervlooien). Deze bleken bij de middelste concentratie aangetast; de grootste abundantie werd gevonden in de controle. Voor waterslakken wordt een groot effect gevonden bij de hoogste behandeling; de vissen sterven in dat geval; echter ook bij de andere behandelingen worden effecten gevonden. De berekende concentratie blijkt dus niet altijd de aquatische levensgemeenschap afdoende te beschermen.

LITERATUUR

Beltman, B., 1983. Van de wal in de sloot, een typologisch onderzoek aan macrofaunacoenosen. Proefschrift LUW, Wageningen. 435 p.

EPA (Environmental Protection Agency), 1982. Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision E, Hazard Evaluation: Wildlife and Aquatic Organisms. - EPA-540/9-82-024. 86 p.

Harman, W.N., 1976. The effects of simazine treatments on the benthic fauna of Moriane lake, Madison County, New York. State University of New York. 16 p.

OECD (Organization for Economic Co-operation and Development), 1987. The use of biological tests for water pollution assessment and control.- Environmental Monographs 11: 70 p.

MAFF (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food), 1986. Data requirements for approval under the control of pesticides regulations. MAFF, Harpenden. 219 p.

Zischke, J.A., J.W. Arthur, R.O. Hermanutz, S.F. Hedtke & J.C. Helgen, 1985. Effects of pentachlorophenol on invertebrates and fish in outdoor experimental channels. - Aquat. Toxicol. 7 (1/2): 37-58.

Voorstel voor

RICHTLIJN VOOR HET UITVOEREN VAN VELDTOETSEN TER BEPALING VAN NEVENEFFECTEN VAN CHEMISCHE BESTRIJDINGSMIDDELEN IN HET VELD OP

WATERVLOOIEN

VELDTOETS WATERVLOOIEN

Algemeen

Uit verschillende publicaties (bijv. Zischke et al., 1985; von Peichl et al., 1984) blijkt dat laboratorium-toetsen niet altijd de effecten in het veld kunnen voorspellen. Dit wordt gedeeltelijk veroorzaakt doordat andere dan directe toxische effecten niet worden aangetoond in kortdurend toxiciteitsonderzoek en doordat niet alle soorten in het laboratorium kunnen worden onderzocht. Daarnaast treden in het veld secundaire (ecologische) effecten op die niet voorspeld konden worden (Crossland, 1983). Ook uit de bestaande procedures (zie: appendix 4.9.1) blijkt dat veldonderzoek in een aantal gevallen gewenst wordt geacht. Er worden ten aanzien van watervlooien echter geen concrete voorstellen voor richtlijnen gedaan.

De neveneffecten op watervlooien (= Cladocera) kunnen op twee manieren worden onderzocht (zie: appendix 4.9.2): de van nature voorkomende watervlooien kunnen worden bemonsterd en watervlooien kunnen in kooien in water worden uitgezet. Voor de Nederlandse situatie wordt voorgesteld om beide methoden te volgen: i) watervlooien worden in kooitjes (netten) in het water uitgezet (voor de vergelijkbaarheid met laboratorium-toetsen wordt er voor gekozen om in kooitjes dezelfde soorten te kiezen als waarmee de laboratorium-toetsen worden uitgevoerd) en ii) buiten de kooitjes kunnen de effecten op in de sloot voorkomende soorten worden bepaald.

Onderzoek is zowel uitgevoerd in bestaande wateren als in speciaal aangelegde proefvijvers en dergelijke. Voor de Nederlandse situatie gaat de aandacht in eerste instantie uit naar wateren, die het meest zijn blootgesteld, te weten de sloten in het agrarisch gebied.

Proefvoorwaarden

Met sloten worden vooral de sloten tussen de percelen bedoeld. Er wordt voorgesteld om een stuk sloot af te sluiten met voor water ondoordringbare barrières, zodat geen verspreiding plaats vindt van het toegediende middel. Hiermee wordt gedeeltelijk ingegrepen in de natuurlijke situatie: het stromingspatroon wordt opgeheven. Er wordt echter wel een 'worst case'-situatie gecreëerd omdat geen verdunning of afvoer van het middel plaats kan vinden.

Aanbevolen wordt om de toets uit te voeren in die teelten waarbij de grootste kans op blootstelling bestaat. In het algemeen vindt de grootste drift bij het gebruik van bestrijdingsmiddelen plaats in de fruit- of bomenteelt. Wanneer een watervlooien-veldtoets moet worden uitgevoerd zal deze veelal in een dergelijke teelt plaatsvinden.

Toediening

Aangezien bij een veldtoets de neveneffecten van bespuitingen in de praktijk moeten worden bepaald, wordt gekozen voor toediening van het

middel aan het perceel dat aan de sloot grenst. Hierbij wordt zowel de maximale dosis toegepast als vier maal de maximale dosis. Met deze laatste dosis wordt een 'worst case'-situatie gesimuleerd, gebaseerd op de situatie waarbij percelen aan beide zijden van een sloot worden bespoten en op de variaties in het gebruik, zoals die in praktijk op kunnen treden.

De belasting van het oppervlaktewater kan door de geschetste toedieningsmethode variëren. Hierbij speelt de weersgesteldheid een belangrijke rol; daarnaast is in dit geval ook de exacte uitvoering van de behandeling van belang. Variaties in de afstand tot de sloot, bijvoorbeeld bij toelopende percelen, kunnen relatief grote verschillen in blootstelling veroorzaken. Bij de uitvoering van de toets moet daarom rekening worden gehouden met de weersomstandigheden en moet de toediening zelf nauwkeurig gebeuren.

Via metingen moet worden vastgesteld hoe groot de belasting van het oppervlaktewater is geweest. Dit kan zowel door het bepalen meten van het middel in het water als door het toevoegen van een merkstof (bijv. een kleurstof) aan het middel. Het bepalen van de belasting van het water is van groot belang voor het aantonen van een causaal verband tussen de aanwezigheid van het middel en de veranderingen bij de watervlooien. Wanneer door onvoorziene omstandigheden geen blootstelling plaatsvindt, kan het middel ook direct aan het water worden toegevoegd. Hierbij kan die hoeveelheid worden toegevoegd, die leidt tot een berekende PEC onder praktijkomstandigheden, en het viervoudige daarvan. De extrapolatie van de resultaten van een dergelijke toets naar een werkelijke bespuiting van het perceel zal echter met onzekerheden gepaard gaan.

Waarnemingen

Watervlooien en (a)biotische milieufactoren

Naast de groei en reproductie van de watervlooien moet ook een aantal fysische en chemische parameters worden gemeten. Zo veroorzaken verschillen in beschikbaarheid van voedsel verschillen in de ontwikkeling van populaties van watervlooien. Ook kan de aantasting van watervlooien door een bestrijdingsmiddel bijvoorbeeld algenbloei tot gevolg hebben. De aanwezige evertebraten en vissen kunnen een grote invloed hebben op de watervlooien. Een middel kan de predatoren beïnvloeden. Daarom wordt tevens voorgeschreven om de evertebraten tenminste groepsgewijs en semikwantitatief te bemonsteren. Voor de vissen zal afhankelijk van de aanwezige visstand moeten worden bezien of deze uit de compartimenten moeten worden verwijderd of juist moeten worden meegenomen.

Middel

De concentratie bestrijdingsmiddel moet regelmatig worden bepaald. De eerste dagen na toediening moet frequent worden gemeten (enkele malen per dag); daarna kan deze frequentie afnemen tot twee maal per week. Wanneer het middel niet meer wordt aangetroffen, kan de frequentie verder worden teruggebracht.

Voorgestelde **RICHTLIJN VELDTOETS WATERVLOOIEN**

1. PROEFVOORWAARDEN

1.1 Keuze van toetsorganisme en gewas

Er worden de watervlooien (= Cladocera) onderzocht die in de proefsloten van nature voorkomen en een soort die in het laboratorium wordt gebruikt, bij voorkeur Daphnia magna. In de sloten moeten in iedere geval een aantal andere soorten dan D. magna voorkomen. Toets uitvoeren op een bodemtype waarop het middel wordt gebruikt. Toets uitvoeren in een teelt waarin de hoogste dosis wordt voorgeschreven en met een gewas waarin de driftpercentages het hoogst zijn.

1.2 Proefvoorwaarden

Toets uitvoeren in sloten grenzend aan de te behandelen percelen. In het veld worden gelijktijdig percelen behandeld met het te toetsen middel, met een voor watervlooien uitgesproken gevaarlijk middel en wordt een perceel behandeld met water of eventueel met een andere, op de formulering lijkende, onschuldige draagstof. In de sloten grenzend aan deze percelen worden de effecten bepaald.

1.3 *Overige proefvoorwaarden*

De proefsloten moeten, op zijn minst op regionale schaal bezien, een zekere representativiteit hebben; dat wil zeggen: gangbare dimensies en een doorsnee-gebruik en -beheer. Proef uitvoeren onder weersomstandigheden waaronder blootstelling van het water waarschijnlijk is (matige windsnelheid). Extreme weersomstandigheden (regen, langdurige droogte, harde wind of geen wind) vermijden.

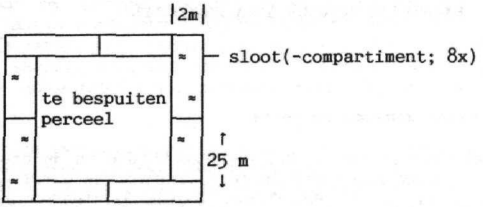
1.4 Technische uitvoering

Proefveldgrootte

De proefsloten worden in compartimenten van 25 m verdeeld; het aangrenzende perceel wordt behandeld met een te toetsen dosis.

Proefveldindeling

Voor de proefveldindeling wordt verwezen naar de figuur. De figuur staat voor één behandeling waaruit acht slootcompartimenten resulteren. Per behandeling is één proefveld nodig. De gehele proef wordt in duplo uitgevoerd. Bij de voorgestelde proefveld-indeling is er, door de gekozen ordening, voor gezorgd dat de blootstelling in verband met weersomstandigheden in ieder geval in één van de sloten maximaal is. Een andere indeling, waarbij aan dezelfde voorwaarden wordt voldaan is ook toegestaan.



Proefveld-opzet

2. TOEDIENING VAN DE MIDDELEN

2.1 Middelen

Het te onderzoeken middel wordt toegepast volgens de door de producent ingediende gebruiksaanwijzing en met een praktijkformulering.

2.2 Behandelingsapparatuur

De middelen toedienen met gangbare apparatuur volgens voorschrift.

2.3 Dosering middel

Toedienen van de hoogst voorgeschreven dosis en het viervoudige van de betreffende formulering. Wanneer uit metingen blijkt dat het water niet wordt belast moet aan de sloot de hoeveelheid worden toegevoegd, die is berekend om de PEC te bereiken bij toepassing van de maximale dosis en het viervoudige daarvan.

2.4 Aantal en tijdstip van de behandelingen

De behandeling vindt plaats op een tijdstip dat het middel normaal gesproken zal worden toegepast. Bespuiting van de verschillende duplo's liefst gelijktijdig, maar in ieder geval binnen een periode van twee uur, teneinde eventuele verschillen in weersomstandigheden uit te sluiten.

3. WAARNEMINGEN

Methoden en frequentie

De bemonstering van de van nature voorkomende watervlooien vindt plaats door per compartiment de watervlooien te bemonsteren door middel van een perspex cilinder met een diameter van 30 cm en een lengte van 30 cm, of zoveel langer als nodig is om ook vlak boven de bodem te monsteren. Voor hierdoor ontstane verschillen in volume moet worden gecorrigeerd. Per compartiment worden minstens 5 monsters of zoveel meer als nodig is om de dichtheid van de watervlooien te schatten met 95% betrouwbaarheid.

Waargenomen worden de soortensamenstelling en de abundantie van de verschillende soorten. Daarnaast wordt ook de populatie-opbouw bestudeerd: aantallen in verschillende grootte-klassen, percentages individuen met eieren in de broedholte en broedselgrootte.

Per compartiment worden 10 kooitjes geplaatst met 10 watervlooien elk, bij voorkeur een samenstelling van verschillende leeftijden. Kooitjes bestaan uit twee schijven met rand (diameter 15 cm) met daartussen een gaascylinder (maaswijdte afhankelijk van de gekozen soort). Door de rand aan de schijven kunnen de cilinders boven water worden gehaald, terwijl de vlooien in een laagje water blijven zitten. Op deze wijze kan de overleving en ontwikkeling worden gevolgd.

Monstername vindt tweemaal plaats in de week voor de behandeling, een dag na behandeling en de eerste maand tweemaal per week, daarna om de week. Als verdenking bestaat voor ecologische effecten kunnen ook de algen of de macrofauna worden bemonsterd. Voor algen wordt verwezen naar de algentoets. In ieder geval wordt dagelijks het chlorophyl-gehalte bepaald als schatter voor de hoeveelheid voedsel voor de watervlooien. Wekelijks kan de samenstelling van het phytoplankton worden bepaald. De macrofauna wordt bemonsterd met behulp van een standaard-net (Beltman, 1983). Een determinatie tot op soortsniveau is niet noodzakelijk. Determinatie moet tot op een dusdanig niveau plaatsvinden dat grote verschuivingen in de predatoren van watervlooien kunnen worden aangetoond. Voorafgaand aan de toets wordt de visstand globaal bemonsterd, voor methoden zie Cazemier & Uijtendaal (1985). Indien er grote verschillen zijn tussen de verschillende compartimenten, wordt geadviseerd de vis zoveel mogelijk te verwijderen.

Tevens worden dagelijks op vaste tijden de temperatuur, opgelost zuurstof, totaal CO_2-gehalte, organisch koolstof, fosfaat, stikstof, pH, oplosbaar CO_2 en geleidbaarheid bepaald. Het gehalte bestrijdingsmiddel wordt de eerste week na bespuiting drie maal daags bepaald; daarna kan tegelijk met de biologische bemonstering worden bemonsterd. Wanneer het middel niet meer aantoonbaar is, kan de frequentie verder afnemen.

4. VOORWAARDEN VOOR GELDIGHEID

Toetsresultaten worden niet geaccepteerd bij onduidelijkheden in de resultaten of als er in de blanco's veel sterfte optreedt of in de positieve controle weinig sterfte. In gevallen waarin er voorafgaande aan de toediening reeds significante verschillen tussen de proefvlakken bestonden voor wat betreft de gemeten parameters, wordt de toets niet geaccepteerd.

KOSTEN

Kenschets proefopzet:

A	B	C	D	E	F	G	H
soort	aspect	type	dosering	blanco	veelvoud	monsters	bemonst.
e l n	a s po	v k	hp 4hp')	b g	2	8	≥5 x 15

') wanneer sloot niet wordt belast: PEC van hp en het viervoudige daarvan

Voor de betekenis van de gebruikte codes wordt verwezen naar § 4.3 van het hoofdrapport (= deel A).

	netto-werkdagen	materiaalkosten
1 materiaal	5	
- toetsorganismen		1.000
- proefvelden		1.000
- veldapparatuur		500
2 bemonsteren (4x2x8x5x15)		
- toetsorganismen	25	
- overige biot. parameters	10	
- abiotische parameters	10	
3 meten parameters		p.m.
- toetsorganismen (4800x)	150	4.000
- overige biot. parameters	30	p.m.
- gehaltebepalingen	20	4.000
- abiotische parameters	10	500
4 interpreteren gegevens	10	p.m.
5 invullen toetsformulier	5	n.v.t.
totaal werkdagen	ca. 275	n.v.t.
kostenschatting (subtot.)	f 206.250	f 11.000

kosten totaal (volgens zeer ruwe schatting): ca. f 217.500

Appendix 4.9.1 Overzicht bestaande richtlijnen voor veldtoetsen met *watervlooien*

Concrete richtlijnen voor veldtoetsen met aquatische organismen zijn niet gevonden. Wel worden veldtoetsen in een aantal procedures genoemd:

Verenigde Staten (EPA, 1982). Veldonderzoek is gewenst wanneer uit andere toetsen blijkt dat er een risico aanwezig is. Voor de invulling wordt verwezen naar enkele handboeken en enkele specifieke onderzoeken die '.. can provide useful background information for conducting a simulated or actual field study ..'.

Engeland (MAFF, 1986) In het Working Document 7.1 wordt alleen opgemerkt dat onder bepaalde omstandigheden veldtoetsen met aquatische evertebraten noodzakelijk kunnen zijn.

FAO (1985). Veldonderzoek (incl. 'enclosure'-onderzoek) met Daphnia sp. en vissen is noodzakelijk als er naar aanleiding van voorafgaande lab-toetsen twijfel bestaat. Veldtoetsen kunnen uitspraken doen over herstel en interacties tussen soorten. Methoden zijn in ontwikkeling.

OECD (1987). Aangegeven wordt dat veldonderzoek een belangrijke rol kan spelen. Als mogelijkheden worden bijvoorbeeld genoemd het aanbrengen van kunstmatige substraten en het plaatsen van kooitjes met organismen. Anderzijds worden ook de beperkingen van veldonderzoek onderkend.

Appendix 4.9.2 Overzicht uitgevoerd veldonderzoek met watervlooien

Grzenda et al. (1962) Onderzoek naar de effecten op de fauna in een meertje in een perzik-boomgaard; met name parathion wordt hier veel gebruikt. Er is geen onbehandelde controle. Naast een aantal fysisch/-chemische parameters wordt ook het gehalte bestrijdingsmiddelen uitgebreid gevolgd. De bodem fauna wordt bemonsterd met een 'Ekman dredge', 15 happen per monsterronde. Zoöplankton werd bemonsterd met een fles (3 liter) in totaal werd 15-46 liter verzameld en in het veld gefilterd met behulp van een plankton net. Er worden significante verschillen gevonden voor insecten en muggelarven voor en na bespuiting; voor oligochaeta wordt dit niet gevonden. Op zoöplankton worden geen effecten gevonden, zowel wat betreft aantallen als wat betreft soortensamenstelling. Over het effect op vissen wordt discussie gevoerd; één (uitgezette) soort, een zeebaars Micropterus salmoides, verdwijnt, terwijl een zonnebaars Lepomis macrochirus zich kan handhaven. Op basis van laboratorium-toetsen kan geen ondubbelzinnige uitspraak worden gedaan over de rol van parathion hierbij.

Apperson et al. (1978) Onderzocht worden de neveneffecten van de bestrijding van Chaoborus astictopus met diflubenzuron. Aan verschillende rechthoekige kweekvijvers (0,06-0,2 ha, 3-5 m diep) worden verschillende hoeveelheden toegevoegd. Daarnaast werd een groter meer behandeld (18,6 ha, 5 m diep). Van C. astictopus werden de larven bemonsterd met bodemhappers, en de adulten door vallen op het wateroppervlak voor uitvliegende dieren. Zoöplankton en algen werden bemonsterd met een net. Vis werd eveneens op verschillende data gevangen met een net. Vis werd gewogen en gemeten; de maaginhoud werd geconserveerd en geanalyseerd voedsel. Van een 10% deelmonster werd het drooggewicht bepaald. Effect op watervlooien werd gevonden, met grote verschillen tussen verschillende soorten. Vissen blijken over te schakelen op ander voedsel, maar lijken hierdoor overigens niet te worden beïnvloed. Opvallend is dat de vissen na de behandeling geen copepoden meer eten, ook niet als deze weer hersteld zijn.

Rettich (1980) De nevenwerkingen van bestrijding van muskietenlarven en -poppen met permethrin en decamethrin werden onderzocht in ondergelopen bossen en boomgaarden. De omvang van de poelen varieerde van 10-20 x 3-10 m met een diepte van 30-40 cm. De neveneffecten werden visueel en alleen kwalitatief waargenomen (levende en dode organismen). Ondanks het globale karakter van de methode konden grote verschillen worden waargenomen: o.a. watervlooien werden gedood en muggelarven overleefden afhankelijk van de concentratie. Slakken overleefden daarentegen zelfs bij de hoogste concentraties.

Crossland et al. (1982) Suikerbieten- en aardappelvelden worden in Engeland bespoten met cypermethrin. In Frankrijk gebeurt dit in wijngaarden. In Engeland worden de effecten onderzocht in de naastgelegen vijvers en in Frankrijk in twee beken en een drainagekanaal. Cypermethrin is in het laboratorium sterk toxisch voor waterorganismen. Bepaald werd de depositie van het middel door het plaatsen van schijven. Vis werd bemonsterd voor residu-analyse, zoöplankton met een perspex cylinder (diameter 10 cm, diepte 50 cm); vier van deze monsters werden gemengd tot één monster en in het veld gefilterd. Macrofauna werd gemonsterd met een net dat over

een lengte van 10 m door het water werd gehaald. Er worden geen effecten gevonden. Omdat 'worst case'-situaties waren gekozen, worden ook geen effecten in ander wateren verwacht.

N.B. Voor de Nederlandse situatie zou dit anders kunnen liggen: sloten zijn over het algemeen smaller en ondieper dan de bij dit onderzoek gebruikte wateren, zodat èn het hele oppervlak wordt gecontamineerd èn het middel in minder water wordt verspreid. Bovendien worden sloten in principe over hun hele lengte (en soms aan beide zijden) blootgesteld.

Crossland (1984) Drie proefvijvers werden belast met methyl-parathion en drie dienden als blanco. Voor methoden zie Crossland & Hillaby (1985). Macrofauna werd bemonsterd door een net 5 meter door het water te halen, drie maal per monster. Bodemfauna werd gemonsterd door met behulp van lucht een oppervlakte van 20x20 cm op te zuigen. Per vijvertje werden vijf bodemmonsters genomen. Regenboogforel Salmo gairdneri werd vooraf opgekweekt. Per vijver werden 25 vissen uitgezet (ca. 4,4-4,9 g). Na elf weken werden ze d.m.v. een electrische schok bemonsterd en gewogen. Zoals te voorspellen op basis van de laboratorium-gegevens werden de watervlooien en cyclops sterk aangetast door parathion, i.t.t. de vissen. Ook andere evertebraten werden aangetast. Herstel trad echter op en na 10 weken was het verschil met de controle gering. Bij de bodemfauna werden effecten gevonden op muggelarven, maar niet op slakken of oligochaeten. Vissen groeiden beter in de onbehandelde vijvers. Dit wordt geweten aan een voedsel effect, omdat in het laboratorium geen toxisch effect wordt gevonden.

Von Peichl et al. (1984) In een vijvertje (4x2,5x0,8 m diep) werden PVC-buizen (diameter 0,5 m) geplaatst (30 cm in het sediment en 20 cm boven het oppervlak). Voor toevoeging van het middel werd drie weken lang om de 2-3 dagen een watermonster van 4 liter genomen. Uit een submonster werd het fytoplankton bepaald; uit het gehele monster werd het zoöplankton gefilterd; het water werd vervolgens weer aan het compartiment toegevoegd. Na drie weken werd aan drie van de zes compartimenten atrazin en dichlobenil toegevoegd. Hierna werd gedurende 19 weken het zoöplankton gevolgd, evenals de concentratie van de middelen in het water. Effecten werden gevonden; bij watervlooien werden deze pas na vijf dagen gevonden; volgens de onderzoekers duidt dit op toxische effecten op de reproductie of opname van het middel met het voedsel. Er werd dan ook geen correlatie gevonden met de resultaten van kortdurend laboratoriumonderzoek.

Crossland & Hillaby (1985) In zes behandelde (3,4-dichloroaniline, DCA) en drie blanco proefvijvers werd gecontroleerd of laboratorium gegevens ook in praktijk van toepassing waren. In de zes behandelde vijvers (10x5x1 m diep) werd gedurende 28 dagen een bepaalde concentratie gehandhaafd; in drie een hoge en in drie een lage. Zoöplankton (Cladocera en Copepoda) werd twee maal per week bemonsterd in sub-compartimenten van 2,5x5 m, waarvan er drie in elk vijvertje waren. Per compartiment werden 5 sub-monsters genomen met behulp van een perspex buis (10 cm diameter en 70 cm lengte), samen één monster vormend. Waargenomen werden soortensamenstelling, diversiteit en populatie-opbouw. In de meertjes werd ook een bio-assay uitgevoerd met Daphnia longispina in cilinders (1,25 m lang,

diameter 10 cm). De auteurs geven aan dat er grote verschillen in gevoeligheid bestaan tussen de soorten; in dit geval was de berekening van een maximale acceptabele concentratie gebaseerd op een van de gevoeligste organismen en bleek hiermee een "veilige" voorspeller voor de effecten.

Kaushik et al. (1985) In 'limnocorrals', compartimenten van 5x5x5 meter die ook de bodem omvatten, wordt het effect van permethrin op zoöplankton onderzocht. In de controles wordt aceton, het oplosmiddel voor permethrin, toegevoegd. Zoöplankton werd op verschillende dieptes om de week bemonsterd. Een toxisch effect wordt bij alle concentraties gevonden, bij het micro-zoöplankton echter veel later dan bij het macro-zoöplankton. Herstel treedt op; met name de kleinere soorten, die nu minder concurrentie te duchten hebben, kunnen zich snel herstellen. De soortsdiversiteit neemt echter bij alle concentraties af. De conclusie van de onderzoekers is dat deze methode zeer goed bruikbaar is voor de bepaling van effecten en mogelijk herstel.

Shires & Bennet (1985) Effecten van vliegtuigbespuitingen op wintertarwe met cypermethrin op de fauna in sloten. Monsterpunten werden gekozen naast het veld en in dezelfde sloot stroomopwaarts en stroomafwaarts. Tijdens de proef werd overigens geen stroming waargenomen. De sloot bezat een rijke visstand. In een andere sloot werd ook gemeten naast het perceel en enkele honderden meters afstand; hier bestond de visstand slechts uit stekelbaarzen Gasterosteus aculeatus en alen Anguilla anguilla. In het water werden temperatuur, opgelost zuurstof, pH, geleidbaarheid, chlorofyl gehalte en opgeloste deeltjes gemeten. De depositie van bestrijdingsmiddel werd gemeten op reeksen van 12 aluminiumfolie-platen van 250x250 mm. Watermonsters voor residu-analyses bestonden per locatie uit vier submonsters van 200-250 ml, gemengd tot één liter, waaraan 50 ml hexaan was toegevoegd. Residuen werden ook in vis bepaald: 10 dagen voor behandeling werden 2 gegalvaniseerde stalen kooitjes (maaswijdte 10 mm) van 0,5x0,5x1 m hoog met 10 karpers van ca. 10 g in de sloot geplaatst. Per monsterdatum werd per kooitje één vis geoogst. Bioassays werden uitgevoerd met slootwater en Gammarus pulex (zoetwatervlokreeftje). Zoöplankton werd bemonsterd door per monsterlocatie 8 kolommen (9 cm diameter en 50 cm of 30 cm diep) water te verzamelen en hieruit met behulp van een zeef het zoöplankton te extraheren. Macrofauna werd visueel waargenomen en bemonsterd met behulp van een net met 0,95 mm maaswijdte, dat over een lengte van 10 meter door de sloot werd gehaald. Het gedrag van vissen werd ook visueel waargenomen, zowel van kooi als vrijzwemmende vissen. Er wordt een gering toxisch effect gevonden op in de lucht ademende wantsen (Corixdae) en een sterker effect op watermijten. In de bioassays met Gammarus pulex. wordt sterfte gevonden in de eerste twee dagen na bespuiting. Bij vissen werd geen effect gevonden en konden geen residuen worden aangetoond. De zoöplankton-populaties vertoonden zulke sterke schommelingen dat een eventueel optredend effect niet kon worden aangetoond. Uit de depositie-metingen blijkt dat er op de boven- en benedenwindse slootkanten een aanzienlijke hoeveelheid bestrijdingsmiddel terecht komt, resp. 29% en 9%. In de sloot zelf is dit resp. 3 en 6 procent.

Zischke et al. (1985) In proefkanalen werd onderzocht of een op basis van laboratoriumgegevens berekende toxische grens-concentratie de aquatische levensgemeenschap voldoende beschermt. Eén sloot kreeg de berekende hoeveelheid toegediend, één het drievoudige en één het negenvoudige; één sloot diende als blanco. De proefsloten waren 520 m lang en bestonden afwisselend uit 30,5 m poelen met modder bodem en 30,5 m 'gravel'-stroomversnellingen. Aan de kanalen wordt rivierwater toegevoegd dat continu wordt gecontamineerd met pentachloorfenol. Tussen de compartimenten waren roosters geplaatst om de vissen op hun plaats te houden. Water werd twee maal per week bemonsterd en geanalyseerd op bestrijdingsmiddel; hiernaast werden opgelost zuurstof, pH, temperatuur, alkaliteit, hardheid, ortho- en totaal-fosfaat, ammonia, totaal stikstof en BOD bepaald. Voor het bemonsteren van micro-evertebraten werden vallen gebruikt die 's avonds werden geplaatst en 's ochtends verwijderd; gedurende de migratie in de nacht werden de organismen gevangen. Bentische evertebraten werden bemonsterd met behulp van ingegraven stalen bakken van 0,02 m^2, gevuld met bodemmateriaal. Evertebraten werden als drift bemonsterd. De reproductie van de slak Physa gyrina werd onderzocht door het tellen van de op een kunstmatig substraat in pakketten afgezette eieren. Verschillen werden getoetst met een variantie-analyse met een significantie grens < 0,05. In de proefkanalen werden ca. 450 voorns Pimephales promelas en ca. 55 zonnebaarzen Lepomis macrochirus uitgezet. Een gedeelte werd vooraf verdoofd en gewogen. 15 exemplaren van de tweede soort werden in een kooi (1,3x0,9x0,9 m) geplaatst. Drie maal per week werd naar dode vissen gezocht. Van de eerste soort werd wekelijks van 50 exemplaren de groei bepaald. De ei-afzetting werd drie maal per week bepaald door 25% van 112 kunstmatige substraten te monsteren. Ook de larven werden bemonsterd met driftmetingen. Aan het eind van het seizoen werden alle vissen verwijderd, geteld en gemeten; van 10% werd het gewicht bepaald. Effecten werden gevonden op de micro-evertebraten (waaronder chironomiden en watervlooien). Deze bleken bij de middelste concentratie aangetast; de grootste abundantie werd gevonden in de controle. Voor slakken wordt een groot effect gevonden bij de hoogste behandeling; de vissen sterven bij deze behandeling; echter ook bij de andere behandelingen worden effecten gevonden. De berekende concentratie blijkt dus niet in alle gevallen de aquatische levensgemeenschap afdoende te kunnen beschermen.

Goodman & Cripe (1987) Beschreven worden kooien voor het onderzoeken van effecten op aquatische organismen. Afhankelijk van het soort organismen worden kooien van verschillend formaat en netten met een verschillende maaswijdte gebruikt. De kooien worden gemaakt van polypropyleen-potten die worden doorgesneden. Tussen de op deze wijze ontstane deksels wordt nylon gaas gespannen.

Ali et al. (1988) Bestrijding van de roest-mijt in citrus-boomgaarden met diflubenzuron en de neveneffecten op waterorganismen. Effecten werden onderzocht in twee meren: één van 2 ha met een ondiep (1 m) en een diep (2-3 m) gedeelte, dat direct aan de boomgaard grenst; één ondiep (1 m) meer van 1 ha, dat niet wordt blootgesteld. Aanleiding: diflubenzuron wordt ook gebruikt voor bestrijding van muggelarven en is zeer toxisch voor een aantal waterorganismen. De meertjes werden 4 en 1 dag voor bespuiting en 1, 3, 7, 14 28 en 56 dagen na bespuiting bemonsterd. Er werden 8 bodemmonsters in het ondiepe en 6 in het diepe gedeelte van het

blootgestelde meer genomen; van het zoöplankton werden resp. 7 en 4 monsters genomen. In het controle meer werden 6 bodemmonsters genomen en 4 zoöplankton monsters. Voor de bodemmonsters werd gebruik gemaakt van een nylon net (20x20 cm en 55 cm lang, maaswijdte 0,5 mm). Er werd 40 cm2 bodem bemonsterd. Voor het diepe gedeelte werd een 'Ekman dredge' (15x15x15 cm) gebruikt; de bodemmonsters werden gefilterd door een 0,5 mm filter en in witte schaaltjes uitgezocht, geconserveerd en gedetermineerd. Het zoöplankton werd in het ondiepe gedeelte bemonsterd met een 50 cm lang conisch net (opening 20 cm, 125 µm maaswijdte) over een lengte van 6 meter. Monsters uit het diepere gedeelte werden genomen met een plankton net achter een boot. Er werden geen significante verschillen gevonden, waarschijnlijk wegens de extreem lage gehalten in het water.

LITERATUUR

Ali, A., H.N. Nigg, J.H. Stamper, M.L. Kok-Yokomo & M. Weaver, 1988. Diflubenzuron application to citrus and its impact on invertebrates in an adjacent pond. - Bull. Environ. Contam. Toxicol. 41: 781-790.

Apperson, Ch. S., Ch. H. Schaffer, A.E. Coldwell, G.H. Werner, N.L. Anderson, E.F. Dupras & D.R. Longanecker, 1978. Effects of diflubenzuron on Chaoborus astictopus and nontarget organisms and persistence of diflubenzuron in lentic habitats. - J. Econ. Entom. 71 (3): 521-527.

Beltman, B., 1983. *Van de wal in de sloot, een typologisch onderzoek aan* macrofaunacoenosen. Proefschrift LUW, Wageningen. 435 p.

Cazemier, W.G. & J.M. Uijtendaal, 1985. De samenstelling van een visstand *volgens vergelijkende visserij met zes vistuigen. RIVO, IJmuiden,* BW85-01: 54 p.

Crossland, N.O., 1984. Fate and Biological effects of methyl parathion in *outdoor ponds and laboratory systems. II. Effects. - Ecotoxicol. Environ.* Saf. 8 (5): 482-495.

Crossland, N.O. & J.M. Hillaby, 1985. Fate and effects of 3,4-dichloroaniline in the laboratory and in outdoor ponds: II. Chronic toxicity to Daphnia spp. and other invertebrates. - Environm. Toxicology and Chemistry, 4: 489-499.

Crossland, N.O., S.W. Shires & D. Bennet, 1982. Aquatic toxicology of cypermethrin. III. Fate and biological effects of spray drift deposits in fresh water adjecent to agricultural land. - Aq. Toxic. 2: 253-270.

EPA (Environmental Protection Agency), 1982. Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision E, Hazard Evaluation: Wildlife and Aquatic Organisms. - EPA-540/9-82-024. 86 p.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 1985. Guidelines on environmental criteria for the registration of pesticides. FAO, Rome. 39 p.

Goodman, L.R. & G.M. Cripe, 1987. A cage for use with small aquatic animals in field studies. - EPA/600/J-87/142. 2 p.

Grzenda, A.R., G.J. Lauer & H.P. Nicholson, 1962. Insecticide contamination in a farm pond. Part II: Biological effects. - Trans. Am. Fish. Soc. 91 (2): 213-222.

Kaushik, N.K.G., G.L. Stephenson, K.R. Solomon & K.E. Day, 1985. Impact of permethrin on zoöplankton communities in limnocorrals. - Can. J. Fish. Aquat. Sci. 42: 77-85.

MAFF (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food), 1986. Data requirements for approval under the control of pesticides regulations. MAFF, Harpenden. 219 p.

OECD (Organization for Economic Co-operation and Development), 1987. The use of biological tests for water pollution assessment and control. - Environmental Monographs 11. 70 p.

Peichl, L. von, J.P. Lay & F. Korte, 1984. Wirkung von Dichlobenil und Atrazin auf die Populationsdichte von Zooplanktern in einem aquatischen Freilandsystem. Z. Wasser-Abwasser-Forschung 17: 134-145.

Rettich, F., 1980. *Field evaluation of permethrin and decamethrin against* mosquito larvae and pupae (Diptera, Culicidae).-Acta Ent.Boh.77:89-96.

Shires, S.W. & D. Bennet, 1985. Contamination and effects in freshwater *ditches resulting from an aerial application of cypermethrin.* - Ecotoxicology and Environmental Safety 9: 145-158.

Zischke, J.A., J.W. Arthur, R.O. Hermanutz, S.F. Hedtke & J.C. Helgen, 1985. Effects of pentachlorophenol on invertebrates and fish in outdoor experimental channels. - Aquat. Toxicol. 7 (1/2): 37-58.

Voorstel voor

RICHTLIJN VOOR HET UITVOEREN VAN VELDTOETSEN TER BEPALING VAN NEVENEFFECTEN VAN CHEMISCHE BESTRIJDINGSMIDDELEN IN HET VELD OP

VISSEN

VELDTOETS VISSEN

Algemeen

Uit verschillende publicaties (Crossland, 1984; Zischke et al., 1985) blijkt dat laboratorium-toetsen niet altijd de effecten van bestrijdingsmiddelen in het veld kunnen voorspellen. Dit wordt gedeeltelijk veroorzaakt doordat andere dan directe toxische effecten niet kunnen worden aangetoond in kortdurend toxiciteitsonderzoek; daarnaast kunnen, door de aantasting van evertebraten, voedsel-effecten optreden. Uit de bestaande toelatingsprocedures (zie: appendix 4.10.1 en H.2 van het hoofdrapport) blijkt dat veldonderzoek in een aantal gevallen gewenst wordt geacht. Er worden echter geen concrete voorstellen voor protocollen gedaan.

De neveneffecten op vissen (= Pisces) kunnen op twee manieren worden onderzocht (zie: appendix 4.10.2): i) de van nature voorkomende vissen kunnen worden geïnventariseerd en ii) vissen kunnen in kooien worden uitgezet. Voor de Nederlandse situatie wordt voorgesteld om de eerste methode te richten op stekelbaarzen. Deze komen immers in de meeste sloten in grote aantallen voor en planten zich hierin ook voort. Volgens Van Urk (schr. med.) moet een dergelijke veldtoets vooral gericht zijn op subletale effecten (zoals de ontwikkeling van eieren en jongen) en niet op acute sterfte. Wat daarvoor de meest geschikte soort is, is vooralsnog onbekend; *het moet in ieder geval een soort zijn met vrij grote eieren en* larven.

Stekelbaarzen worden gebruikt in de mesocosm-experimenten van TNO (schr. med. Scholten); hierbij blijken ze te voldoen als toetsorganismen. Voor de tweede methode wordt voorgesteld om de toets zowel te richten op een in het laboratorium gebruikte soort als op stekelbaarzen. De laboratorium-soort dient voor een vergelijking met de laboratorium-toetsen. De stekelbaarzen worden ook in kooien onderzocht, omdat het dan mogelijk is om frequent waar te nemen. Met toetsen met vissen in kooien is relatief veel ervaring (Shires & Bennet, 1985; Zischke et al., 1985). Er is in Nederland momenteel echter weinig ervaring met experimenten met stekelbaarzen in kooien, zodat de methoden nog moeten worden ontwikkeld. De hier voorgestelde richtlijn heeft daarom een voorlopig karakter. Belangrijk is dat bij uitzetting van de vissen in een kooi de voedselvoorziening gewaarborgd blijft (schr.med. van Urk); dat wil zeggen niet te veel vissen in een kleine kooi.

Onderzoek met vissen is zowel uitgevoerd in bestaande wateren als in speciaal daartoe aangelegde proefvijvers en dergelijke. Voor de Nederlandse situatie gaat de aandacht in eerste instantie uit naar wateren, die het meest zijn blootgesteld, te weten de sloten in het agrarisch gebied.

Proefvoorwaarden

Met sloten worden vooral de sloten tùssen de percelen bedoeld. Er wordt voorgesteld om een stuk sloot af te sluiten met waterondoordringbare barrières, zodat geen verspreiding plaats vindt van het toegediende

middel. Hiermee wordt gedeeltelijk ingegrepen op de natuurlijke situatie; het stromingspatroon wordt opgeheven. Er wordt echter wel een 'worst case'-situatie gecreëerd omdat geen verdunning of afvoer van het middel plaats kan vinden.

Aanbevolen wordt om de toets uit te voeren in die teelten waarbij de grootste kans op blootstelling bestaat. In het algemeen vindt de grootste drift bij het gebruik van bestrijdingsmiddelen plaats in de fruit- of bomenteelt. Wanneer een vissen-veldtoets moet worden uitgevoerd zal deze veelal in een dergelijke teelt plaatsvinden.

Toediening

Aangezien bij een veldtoets de neveneffecten van bespuitingen in de praktijk moeten worden bepaald, wordt gekozen voor toediening van het middel aan het perceel dat aan de sloot grenst. Hierbij wordt zowel de maximale dosis toegepast als vier maal de maximale dosis. Met deze laatste dosis wordt een 'worst case'-situatie gesimuleerd, gebaseerd op de situatie waarbij percelen aan beide zijden van een sloot worden bespoten en op de variaties in het gebruik, zoals die in praktijk op kunnen treden.

De belasting van het oppervlaktewater kan door de geschetste toedieningsmethode variëren. Hierbij speelt de weersgesteldheid een belangrijke rol; daarnaast is in dit geval ook de exacte uitvoering van de behandeling van belang. Variaties in de afstand tot de sloot, bijvoorbeeld bij toelopende percelen, kunnen relatief grote verschillen in blootstelling veroorzaken. Bij de uitvoering van de toets moet daarom rekening worden gehouden met de weersomstandigheden en moet de toediening zelf nauwkeurig gebeuren.

Via metingen moet worden vastgesteld hoe groot de belasting van het oppervlaktewater is geweest. Dit kan zowel door het bepalen meten van het middel in het water als door het toevoegen van een merkstof (bijv. een kleurstof) aan het middel. Het bepalen van de belasting van het water is van groot belang voor het aantonen van een causaal verband tussen de aanwezigheid van het middel en de veranderingen bij de algen. Wanneer door onvoorziene omstandigheden geen blootstelling plaatsvindt, kan het middel ook direct aan het water worden toegevoegd. Hierbij kan die hoeveelheid worden toegevoegd, die leidt tot een berekende PEC onder praktijkomstandigheden, en het viervoudige daarvan. De extrapolatie van de resultaten van een dergelijke toets naar een werkelijke bespuiting van het perceel zal echter met onzekerheden gepaard gaan.

Waarnemingen

Vissen en (a)biotische milieufactoren

Naast de groei en ontwikkeling van de vissen(populaties) moeten ook een aantal fysische, chemische en biotische parameters worden gemeten. Enerzijds veroorzaken bijvoorbeeld verschillen in beschikbaarheid van voedsel verschillen in de ontwikkeling van de vissen. Anderzijds kan de aantasting van vissen door een bestrijdingsmiddel bijvoorbeeld een toename van

watervlooien tot gevolg hebben. Daarom wordt voorgeschreven om de evertebraten ten minste groepsgewijs en semi-kwantitatief te bemonsteren.

Het onderzoeken van de vissen in de tijd vormt op zich een probleem; vissen in kooien zijn in principe goed te volgen; voor de in de proefsloot zwemmende vissen is dit minder eenvoudig. Vissen kunnen bemonsterd worden door middel van een electrische stroom; op deze wijze kunnen vissen die bij aanvang van de toets zijn uitgezet aan het einde van de proef worden gevangen. Hierbij is het echter de vraag of alle aanwezige vissen worden bemonsterd; aanvullend zou het stuk sloot kunnen worden leeggepompt om zeker te zijn van een kwantitatieve bemonstering. Een meer subtiele kwantitatieve bemonstering lijkt niet voorhanden. Daarom wordt voorgesteld om naast de in de sloot zwemmende stekelbaarzen, ook stekelbaarzen in kooien te onderzoeken. Daarnaast zouden eieren en larven in de sloot kunnen worden gebracht om op die manier de effecten op verschillende levensstadia te onderzoeken. Voor de in de sloot voorkomende vissen is het ook een probleem om de uitgangssituatie vast te stellen; een kwalitatieve bemonstering is niet goed mogelijk. Daarom wordt voorgesteld om voor aanvang van de toets de compartimenten leeg te vissen, bijvoorbeeld door een electro-methode. Hierna kunnen dan stekelbaarzen in de sloot worden uitgezet, bij voorkeur de stekelbaarzen die uit de sloot afkomstig zijn, eventueel aangevuld met vissen uit de directe omgeving. Hierbij moet een verdeling in leeftijdsklassen ontstaan, zoals die gewoonlijk op het tijdstip van de toets in sloten aanwezig is.

Middel

Bij toediening van het middel op de aanliggende perceel is het essentieel om de concentratie bestrijdingsmiddel in het water regelmatig te bepalen. De eerste dagen na toediening moet frequent worden gemeten (enkele malen per dag); daar kan deze frequentie afnemen.

Voorgestelde **RICHTLIJN VELDTOETS VISSEN**

1. PROEFVOORWAARDEN

1.1 Keuze van toetsorganisme en gewas

Toets uitvoeren met driedoornige stekelbaarzen Gasterosteus aculeatus en een soort die als laboratorium-toetssoort wordt gebruikten die tevens kan overleven in de Nederlandse sloten. Toets uitvoeren op een bodemtype waarop het middel wordt gebruikt. Toets uitvoeren in een teelt waarin de hoogste dosis wordt voorgeschreven en waarin de driftpercentages het hoogst zijn.

1.2 Proefvoorwaarden

Toets uitvoeren in sloten grenzend aan de te behandelen percelen. In het veld worden proefpercelen gelijktijdig behandeld met het te toetsen middel en wordt een perceel behandeld met water of eventueel met een andere, op de formulering lijkende, onschuldige draagstof. In de sloten grenzend aan deze percelen worden de effecten bepaald.

1.3 Overige proefvoorwaarden

De proefsloten moeten, op zijn minst op regionale schaal bezien, een zekere representativiteit hebben; dat wil zeggen: gangbare dimensies en een doorsnee-gebruik en -beheer. Proef uitvoeren onder weersomstandigheden waaronder blootstelling van het water waarschijnlijk is (matige windsnelheid). Extreme weersomstandigheden (regen, langdurige droogte, harde wind of geen wind) vermijden.

Voor aanvang van de proef worden alle vissen uit het proefvlak verwijderd. Vervolgens worden stekelbaarzen in de proefvlakken gebracht, en worden stekelbaarzen en de laboratorium-toetssoort in kooien in proefvlakken geplaatst.

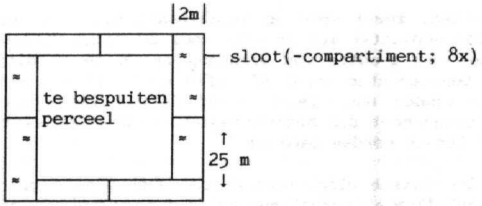
1.4 Technische uitvoering

Proefveldgrootte

De proefsloten worden in compartimenten van 25 m verdeeld; het aangrenzende perceel wordt behandeld met de te toetsen dosis.

Proefveldindeling

Voor de proefveldindeling wordt verwezen naar de figuur. De figuur staat voor één behandeling, waaruit acht slootcompartimenten resulteren. Per behandeling is één proefveld vereist. De gehele proef wordt in duplo uitgevoerd. Bij de voorgestelde proefveld-indeling is er, door de gekozen ordening, voor gezorgd dat de blootstelling in verband met weersomstandigheden in ieder geval in één van de sloten maximaal is. Een andere indeling, waarbij aan dezelfde voorwaarden wordt voldaan is ook toegestaan.



Proefveld-opzet

2. TOEDIENING VAN DE MIDDELEN

2.1 Middelen

Het te onderzoeken middel wordt toegepast volgens de door de producent ingediende gebruiksaanwijzing en met een praktijkformulering.

2.2 Behandelingsapparatuur

De middelen toedienen met gangbare apparatuur volgens voorschrift.

2.3 Dosering middel

Toedienen van de hoogst voorgeschreven dosis en het viervoudige van de betreffende formulering. Wanneer uit metingen blijkt dat het water niet wordt belast moet aan de sloot de hoeveelheid worden toegevoegd, die is berekend om de PEC te bereiken bij toepassing van de maximale dosis en het viervoudige daarvan.

2.4 Aantal en tijdstip van de behandelingen

De behandeling vindt plaats op een tijdstip dat het middel normaal gesproken zal worden toegepast. Bespuiting van de verschillende duplo's liefst gelijktijdig, maar in ieder geval binnen een periode van twee uur, teneinde eventuele verschillen in weersomstandigheden uit te sluiten.

3. WAARNEMINGEN

Methoden en frequentie

Stekelbaarzen-paartjes hebben een territorium van minimaal 1-1,5 m (mond.med. Leeuwangh) slootlengte. In een stuk sloot van 25 meter kunnen dus maximaal 16-25 paartjes worden geplaatst. Aanbevolen wordt om per slootcompartiment 20 volwassen stekelbaarzen uit te zetten. Daarnaast moeten stekelbaarzen en een laboratorium-soort in kooitjes worden geplaatst.

Per compartiment worden, zowel voor de stekelbaars als voor de laboratorium-soort 4 kooien geplaatst met in elke kooi 20 jonge vissen. Kooien bestaan uit gaas met een grootte van minstens 1x1 m en zo diep als de sloot toelaat. Per monsterdatum wordt uit elke kooi één vis weggenomen. In speciale kooien kunnen ook eieren en/of larven van stekelbaarzen worden uitgezet. Hieraan moet dan het percentage uitkomende eieren en de ontwikkeling van de larven worden gevolgd.

Monstername van de kooivissen vindt eenmaal per week plaats gedurende de eerste maand na behandeling en vervolgens om de twee weken. Om een directe vergelijking van de uitkomsten in het veld met de resultaten van de laboratorium-toetsen mogelijk te maken, verdient het aanbeveling om in ieder geval ook vier weken na de behandeling te bemonsteren. Monstername van de in de sloot uitgezette vissen vindt plaats aan het eind van het seizoen. Van alle gevangen vissen wordt het gewicht en de grootte bepaald. Bij de bemonsteringen worden ook de conditie en vergelijkbare parameters bepaald, waarbij voor subletale criteria kan worden teruggegrepen op de laboratorium-toetsen. Residuen in vissen kunnen worden bepaald voor aanvullende bewijsvoering, maar moeten worden bepaald als dode vissen worden aangetroffen. Als verdenking bestaat voor ecologische effecten kunnen ook de algen en/of de macrofauna worden bemonsterd. Voor algen wordt verwezen naar de algentoets. De macrofauna wordt bemonsterd met behulp van een standaard-net (Beltman, 1983). Een determinatie tot op soortsniveau is niet noodzakelijk. Determinatie moet tot op een dusdanig niveau plaatsvinden dat grote verschuivingen in het voedsel van de vissen kunnen worden aangetoond.

Tevens worden dagelijks op vaste tijden de temperatuur, het gehalte opgelost zuurstof, totaal CO_2 gehalte, organisch koolstof, fosfaat, stikstof, pH, oplosbaar CO_2 en geleidbaarheid bepaald. Het gehalte bestrijdingsmiddel wordt de eerste week na bespuiting drie maal daags bepaald; daarna kan tegelijk met de biologische bemonstering worden bemonsterd. Wanneer het middel niet meer aantoonbaar is, kan de frequentie verder worden verlaagd.

4. VOORWAARDEN VOOR GELDIGHEID

Toetsresultaten worden niet geaccepteerd bij onduidelijkheden in de resultaten of als in de blanco's veel sterfte optreedt. In gevallen waarin er voorafgaande aan de toediening reeds significante verschillen tussen de proefvlakken bestonden voor wat betreft de gemeten parameters, wordt de toets niet geaccepteerd.

KOSTEN

Kenschets proefopzet:

A	B	C	D	E	F	G	H
soort	aspect	type	dosering	blanco	veelvoud	monsters	bemonst.
e n	c r	v k	hp 4hp')	b g	2	8	10

') wanneer sloot niet wordt belast: PEC van hp en het viervoudige daarvan

Voor de betekenis van de gebruikte codes wordt verwezen naar § 4.3 van het hoofdrapport (= deel A).

	netto-werkdagen	materiaalkosten
1 materiaal	5	
- toetsorganismen		1.000
- proefvelden		2.000
- veldapparatuur		500
2 bemonsteren (4x2x8x10)		
- toetsorganismen	15	
- overige biot. parameters	p.m.	
- abiotische parameters	10	
3 meten parameters		p.m.
- toetsorganismen (640x)	20	500
- overige biot. parameters	5	p.m.
- gehaltebepalingen	20	4.000
- abiotische parameters	10	500
4 interpreteren gegevens	10	p.m.
5 invullen toetsformulier	5	n.v.t.
totaal werkdagen	ca. 100	n.v.t.
kostenschatting (subtot.)	f 75.500	f 7.500

kosten totaal (volgens zeer ruwe schatting): ca. f 82.500

Appendix 4.10.1 Overzicht bestaande richtlijnen voor veldtoetsen met vissen

Concrete richtlijnen voor veldtoetsen met aquatische organismen zijn niet gevonden. Wel worden veldtoetsen in een aantal procedures genoemd:

Verenigde Staten (EPA, 1982). Veldonderzoek is gewenst wanneer uit andere toetsen blijkt dat er een risico aanwezig is. Voor de invulling wordt verwezen naar enkele handboeken en enkele specifieke onderzoeken die '.. can provide useful background information for conducting a simulated or actual field study ..'.

Engeland (MAFF, 1986). In het working document 1 wordt alleen opgemerkt dat onder bepaalde omstandigheden veldtoetsen met aquatische evertebraten noodzakelijk kunnen zijn.

FAO (1985). Veldonderzoek (incl. 'enclosure'-onderzoek) met Daphnia spp. en vissen is noodzakelijk als er naar aanleiding van voorafgaande labtoetsen twijfel bestaat. Veldtoetsen kunnen uitspraken doen over herstel en interacties tussen soorten. Methoden zijn in ontwikkeling.

OECD (1987). Aangegeven wordt dat veldonderzoek een belangrijke rol kan spelen. Genoemd worden bijvoorbeeld het aanbrengen van kunstmatige substraten en het plaatsen van kooitjes met organismen. Anderzijds worden ook de beperkingen van veldonderzoek onderkend.

Appendix 4.10.2 Overzicht uitgevoerd veldonderzoek met vissen

Grzenda et al. (1962) Onderzoek naar de effecten op de fauna in een meertje in een perzik-boomgaard; met name parathion wordt hier veel gebruikt. Er is geen onbehandelde controle. Naast een aantal fysisch/-chemische parameters wordt ook het gehalte bestrijdingsmiddelen uitgebreid gevolgd. De bodem fauna wordt bemonsterd met een 'Ekman dredge', 15 happen per monsterronde. Zoöplankton werd bemonsterd met een fles (3 liter) in totaal werd 15-46 liter bemonsterd en in het veld gefilterd met behulp van *een plankton net*. Er worden *significante verschillen* gevonden voor insecten en muggelarven voor en na bespuiting; voor oligochaeta wordt dit niet gevonden. Op zoöplankton worden geen effecten gevonden, zowel wat betreft aantallen als wat betreft soortensamenstelling. Over het effect op vissen wordt discussie gevoerd; één (uitgezette) soort, een zeebaars Micropterus salmoides, verdwijnt, terwijl een zonnebaars Lepomis macrochirus zich kan handhaven. Op basis van laboratorium-toetsen kan geen eenduidige uitspraak worden gedaan over de rol van parathion hierbij.

Apperson et al. (1978) Onderzocht werden de neveneffecten van de bestrijding van Chaoborus astictopus met diflubenzuron. Aan verschillende rechthoekige kweekvijvers (0,06-0,2 ha, 3-5 m diep) worden verschillende hoeveelheden toegevoegd. Daarnaast werd een groter meer behandeld (18,6 ha, 5 m diep). Van C. astictopus werden de larven bemonsterd met bodemhappers en de adulten door vallen op het wateroppervlak voor uitvliegende dieren. Zoöplankton en algen werden bemonsterd met een net. Vis werd eveneens op verschillende data gevangen met een net. Vis werd gewogen en gemeten; de maaginhoud werd geconserveerd en geanalyseerd. Van een 10% deelmonster werd het drooggewicht bepaald. Effect op watervlooien werd gevonden; overigens met grote verschillen tussen verschillende soorten. Vissen blijken over te schakelen op ander voedsel, en lijken hierdoor niet verder te worden beïnvloed. Opvallend is dat de vissen na de behandeling geen Copepoden meer eten, ook niet als de stand hiervan na een aanvankelijke afname weer hersteld is.

Crossland et al. (1982) Suikerbieten- en aardappelvelden worden in Engeland bespoten met cypermethrin. In Frankrijk gebeurt dit in wijngaarden. In Engeland worden de effecten onderzocht in de naastgelegen vijvers en in Frankrijk in twee beken en een drainagekanaal. Cypermethrin is in het laboratorium sterk toxisch voor waterorganismen. Bepaald werd de depositie van het middel door het plaatsen van schijven. Vis werd bemonsterd voor residu-analyse; van zoöplankton en de macrofauna werd de soortensamenstelling bepaald. Er werden geen effecten gevonden. Omdat 'worst case'-situaties waren gekozen, werden ook geen effecten in andere wateren verwacht.

N.B. Voor de Nederlandse situatie zou dit anders kunnen liggen: sloten zijn over het algemeen smaller en ondieper dan de bij dit onderzoek gebruikte wateren, zodat èn het hele oppervlak wordt gecontamineerd èn het middel in minder water wordt verspreid. Bovendien worden sloten in principe over hun hele lengte (en soms aan beide zijden) blootgesteld.

Crossland et al. (1982) Suikerbieten- en aardappelvelden werden in Engeland bespoten met cypermethrin. In Frankrijk gebeurt dit in wijngaarden.

Onderzocht werden de effecten in de naastgelegen vijvers in Engeland en twee beken en een drainagekanaal in Frankrijk. Cypermethrin is in het laboratorium sterk toxisch voor waterorganismen. Bepaald werd de depositie van het middel door het plaatsen van schijven op het water. Vis werd bemonsterd voor residu-analyse; van zoöplankton en de macrofauna werd de soortensamenstelling bepaald. Er werden geen effecten gevonden. Omdat de situaties als 'worst case' waren gekozen, worden ook geen effecten verwacht in ander wateren.

N.B. Voor de Nederlandse situatie zou dit anders kunnen liggen: sloten zijn over het algemeen smaller en ondieper dan de bij dit onderzoek gebruikte wateren, zodat èn het hele oppervlak wordt gecontamineerd èn dit over een minder grote hoeveelheid water wordt verdeeld. Bovendien worden sloten in principe over hun hele lengte (en soms aan beide zijden) blootgesteld.

Crossland (1984) *Drie proefvijvers werden belast met methyl-parathion en* drie dienden als blanco. Voor methoden zie Crossland & Hillaby (1985). Macrofauna werd bemonsterd door een net 5 meter door het water te halen, drie maal per monster. Bodemfauna werd gemonsterd door met behulp van lucht een oppervlakte van 20x20 cm op te zuigen. Per vijvertje werden vijf bodemmonsters genomen. Regenboogforel Salmo gairdneri werd vooraf opgekweekt. Per vijver werden 25 vissen uitgezet (4,4-4,9 g). Na elf weken werden ze d.m.v. een electrische schok bemonsterd en gewogen. Zoals te voorspellen op basis van laboratorium-gegevens werden watervlooien en cyclops, in tegenstelling tot vissen, sterk aangetast door parathion. Ook andere evertebraten werden aangetast. Er trad echter herstel op en na 10 weken was het verschil met de controle gering. Bij de bodemfauna werden effecten gevonden op muggelarven, maar niet op slakken of Oligochaeten. Vissen groeiden beter in de onbehandelde vijvers. Omdat in het laboratorium geen toxisch effect wordt gevonden wordt dit geweten aan het optreden van een voedsel-effect.

Shires & Bennet (1985) Effecten van vliegtuigbespuitingen op wintertarwe met cypermethrin op de fauna in sloten. Monsterpunten werden gekozen naast het veld en in dezelfde sloot stroomopwaarts en stroomafwaarts. Tijdens de proef werd overigens geen stroming waargenomen. De sloot bezat een rijke visstand. In een andere sloot werd ook gemeten naast het perceel en enkele honderden meters afstand; hier bestond de visstand slechts uit stekelbaarzen Gasterosteus aculeatus en alen Anguilla anguilla. In het water werden temperatuur, opgelost zuurstof, pH, geleidbaarheid, chlorofyl gehalte en opgeloste deeltjes gemeten. De depositie van bestrijdingsmiddel werd gemeten op reeksen van 12 aluminiumfolie-platen van 250x250 mm. Watermonsters voor residu-analyses bestonden per locatie uit vier submonsters van 200-250 ml, gemengd tot één liter, waaraan 50 ml hexaan was toegevoegd. Residuen werden ook in vis bepaald: 10 dagen voor behandeling werden 2 gegalvaniseerde stalen kooitjes (maaswijdte 10 mm) van 0,5x0,5x1 m hoog met 10 karpers van ca. 10 g in de sloot geplaatst. Per monsterdatum werd per kooitje één vis geoogst. Bioassays werden uitgevoerd met slootwater en Gammarus pulex (zoetwatervlokreeftje). Zoöplankton werd bemonsterd door per monsterlocatie 8 kolommen (9 cm diameter en 50 cm of 30 cm diep) water te verzamelen en hieruit met behulp van een zeef het zoöplankton te extraheren. Macrofauna werd visueel waargenomen en bemonsterd met behulp van een net met 0,95 mm maaswijdte, dat over een lengte van 10 meter door de sloot werd gehaald. Het

gedrag van vissen werd ook visueel waargenomen, zowel van kooi als vrijzwemmende vissen. Er wordt een gering toxisch effect gevonden op in de lucht ademende wantsen (Corixdae) en een sterker effect op watermijten. In de bioassays met Gammarus pulex. wordt sterfte gevonden in de eerste twee dagen na bespuiting. Bij vissen werd geen effect gevonden en konden geen residuen worden aangetoond. De zoöplankton-populaties vertoonden zulke sterke schommelingen dat een eventueel optredend effect niet kon worden aangetoond. Uit de depositie-metingen blijkt dat er op de boven- en benedenwindse slootkanten een aanzienlijke hoeveelheid bestrijdingsmiddel terecht komt, resp. 29% en 9%. In de sloot zelf is dit resp. 3 en 6 procent.

Zischke et al. (1985) In proefkanalen werd onderzocht of een op basis van laboratoriumgegevens berekende toxische grens-concentratie de aquatische levensgemeenschap voldoende beschermt. Eén sloot kreeg de berekende hoeveelheid toegediend, één het drievoudige en één het negenvoudige; één sloot diende als blanco. De proefsloten waren 520 m lang en bestonden afwisselend uit 30,5 m poelen met modder bodem en 30,5 m 'gravel'-stroomversnellingen. Aan de kanalen wordt rivierwater toegevoegd dat continu wordt gecontamineerd met pentachloorfenol. Tussen de compartimenten waren roosters geplaatst om de vissen op hun plaats te houden. Water werd twee maal per week bemonsterd en geanalyseerd op bestrijdingsmiddel; hiernaast werden opgelost zuurstof, pH, temperatuur, alkaliteit, hardheid, ortho- en totaal-fosfaat, ammonia, totaal stikstof en BOD bepaald. Voor het bemonsteren van micro-evertebraten werden vallen gebruikt die 's avonds werden geplaatst en 's ochtends verwijderd; gedurende de migratie in de nacht werden de organismen gevangen. Bentische evertebraten werden bemonsterd met behulp van ingegraven stalen bakken van 0,02 m^2, gevuld met bodemmateriaal. Evertebraten werden als drift bemonsterd. De reproductie van de slak Physa gyrina werd onderzocht door het tellen van de op een kunstmatig substraat in pakketten afgezette eieren. Verschillen werden getoetst met een variantie-analyse met een significantie grens < 0,05. In de proefkanalen werden ca. 450 voorns Pimephales promelas en ca. 55 zonnebaarzen Lepomis macrochirus uitgezet. Een gedeelte werd vooraf verdoofd en gewogen. 15 exemplaren van de tweede soort werden in een kooi (1,3x0,9x0,9 m) geplaatst. Drie maal per week werd naar dode vissen gezocht. Van de eerste soort werd wekelijks van 50 exemplaren de groei bepaald. De ei-afzetting werd drie maal per week bepaald door 25% van 112 kunstmatige substraten te monsteren. Ook de larven werden bemonsterd met driftmetingen. Aan het eind van het seizoen werden alle vissen verwijderd, geteld en gemeten; van 10% werd het gewicht bepaald. Effecten werden gevonden op de micro-evertebraten (waaronder chironomiden en watervlooien). Deze bleken bij de middelste concentratie aangetast; de grootste abundantie werd gevonden in de controle. Voor slakken wordt een groot effect gevonden bij de hoogste behandeling; de vissen sterven bij deze behandeling; echter ook bij de andere behandelingen worden effecten gevonden. De berekende concentratie blijkt dus niet in alle gevallen de aquatische levensgemeenschap afdoende te kunnen beschermen.

Goodman & Cripe (1987) Beschreven worden kooien voor het onderzoeken van effecten op aquatische organismen. Afhankelijk van het soort organismen worden kooien van verschillend formaat en netten met een verschillende maaswijdte gebruikt. De kooien worden gemaakt van polypropyleen-potten die worden doorgesneden. Tussen de op deze wijze ontstane deksels wordt nylon gaas gespannen.

LITERATUUR

Apperson, Ch. S., Ch. H. Schaffer, A.E. Coldwell, G.H. Werner, N.L. Anderson, E.F. Dupras & D.R. Longanecker, 1978. Effects of diflubenzuron on Chaoborus astictopus and nontarget organisms and persistence of diflubenzuron in lentic habitats. - J. of Economic Entomology 71 (3): 521-527.

Crossland, N.O., S.W. Shires & D. Bennet, 1982. Aquatic toxicology of cypermethrin. III. Fate and biological effects of spray drift deposits in fresh water adjecent to agricultural land. - Aquatic Toxicology 2: 253-270.

Crossland, N.O., 1984. Fate and biological effects of methyl parathion in outdoor ponds and laboratory systems. II. Effects. - Ecotoxicol. Environ. Saf. 8 (5): 482-495.

Crossland, N.O. & J.M. Hillaby, 1985. Fate and effects of 3,4-dichloroaniline in the laboratory and in outdoor ponds: II. Chronic toxicity to Daphnia spp. and other invertebrates. - Environm. Toxicology and Chemistry, 4: 489-499.

EPA (Environmental Protection Agency), 1982. Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision E, Hazard Evaluation: Wildlife and Aquatic Organisms. - EPA-540/9-82-024. 86 p.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 1985. Guidelines on environmental criteria for the registration of pesticides. FAO, Rome. 39 p.

Goodman, L.R. & G.M. Cripe, 1987. A cage for use with small aquatic animals in field studies. - EPA/600/J-87/142. 2 p.

Grzenda, A.R., G.J. Lauer & H.P. Nicholson, 1962. Insecticide contamination in a farm pond. Part II: Biological effects. - Trans. Am. Fish. Soc. 91 (2): 213-222.

MAFF (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food), 1986. Data requirements for approval under the control of pesticides regulations. MAFF, Harpenden. 219 p.

OECD (Organization for Economic Co-operation and Development), 1987. The use of biological tests for water pollution assessment and control. - Environmental Monographs 11. 70 p.

Shires, S.W. & D. Bennet, 1985. Contamination and effects in freshwater ditches resulting from an aerial application of cypermethrin. - Ecotoxicology and Environmental Safety 9: 145-158.

Zischke, J.A., J.W. Arthur, R.O. Hermanutz, S.F. Hedtke & J.C. Helgen, 1985. Effects of pentachlorophenol on invertebrates and fish in outdoor experimental channels. - Aquat. Toxicol. 2 (1/2): 37-58.