

RIVM rapport 711701036/2003

Locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling

Praktijkonderzoek met de TRIADE-benadering: deel 3

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

Auteurs:

- R. Baerselman
- J. Bloem (Alterra)
- J.J. Bogte
- W.A.M. Didden (WUR)
- W. Dimmers (Alterra)
- E.M. Dirven - van Breemen
- A.C. de Groot
- H. Keidel (Blgg)
- Ch. Mulder
- WJ.G.M. Peijnenburg
- M. Rutgers
- A.J. Schouten
- H. Siepel (Alterra)
- M. Wouterse

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

Abstract

The TRIAD approach was tested for its applicability in assessing actual ecological risks on five sites around the zinc factory near Budel, in de Kempen (The Netherlands).

In this tiered approach actual risks for the local ecosystem are derived on the basis of three elements, i.e. *chemistry*, *toxicology* and *ecology*. Three sites are contaminated with mainly zinc and cadmium at different levels, that do not exceed the Dutch ‘intervention values’.

Besides total soil contents, mobile soil metal fractions and pore-water concentrations were measured during the *chemical* assessment. Relations between these fractions were analysed. Also, several variants of the toxic pressure calculations were compared. Toxic pressure calculation based on pore-water concentrations and aquatic ecotoxicological data resulted in a considerable over-estimation of ecological risks at the investigated sites.

As part of the *toxicological* assessment several bioassays were performed, which showed different sensitivities and influence of soil-pH and nutrients. There are still very few tests that can be used for acid sandy field soil.

Many soil biological analyses (microbial and soil fauna groups) were used for the *ecological* assessment. In this field study they show a larger deviation from the reference site than the chemical and toxicological indicators.

From the overall TRIAD assessment it can be concluded, among others, that selection of a non-contaminated reference site is both crucial as well as difficult. Polluted sites generally differ in more aspects from a local reference site than just in the concentration of contaminants. Although the TRIAD approach is relatively time consuming, uniformity and the scientific basis of the actual ecological assessment have improved considerably.

Therefore the TRIAD approach is recommended for the future as a standard tool to assess actual ecological risks of contaminated soil.

Voorwoord

Dit is het derde rapport over de locatiestudies die zijn uitgevoerd om de TRIADE-benadering in de praktijk te testen op toepasbaarheid in locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling. De methodiek heeft tot doel, om meer systematisch en beter onderbouwd, maatwerk te leveren bij de beoordeling van effecten op planten en dieren. In een geval van bodemverontreiniging wordt momenteel met name een (potentiële) risicoschatting gemaakt aan de hand van totaalgehalten van stoffen in de bodem. De TRIADE is een uitbreiding met twee andere wegen waar langs effecten te onderzoeken zijn. Het vergroot de kans op een goede en evenwichtige beoordeling van de actuele ecologische risico's. In een TRIADE-benadering kan tevens rekening worden gehouden met het (toekomstig) bodemgebruik en de vragen van eigenaren c.q. lokale overheden omtrent de benodigde milieukwaliteit. Het onderzoek naar de bruikbaarheid van de TRIADE-benadering heeft zich stapsgewijs verdiept en uitgebreid tot een multidisciplinair project. Aan de locatiestudie rond de bodemverontreiniging te Budel hebben een groot aantal collega's binnen en buiten het RIVM een bijdrage geleverd in de vorm van analyses in bodemmonsters en/of beschrijving van de resultaten. Dit is tot uitdrukking gebracht in de lijst van auteurs van dit rapport. Daarnaast zijn er een diverse medewerkers op verschillende laboratoria die een bijdrage aan de resultaten hebben geleverd, maar niet met namen zijn genoemd. Wij willen hen hartelijk danken voor de geleverde inspanning. Miranda Mesman en Frank Swartjes, waren deelprojectleider en projectleider van het onderzoek. De uitwerking en rapportage van dit onderzoek heeft hun geduld ernstig op de proef gesteld. Johannes Lijzen, Ton Breure en Jaap Bloem hebben tot slot de tekst kritisch doorgelezen en voorzien van suggesties voor verbeteringen.

Inhoud

Uitgebreide samenvatting 7

1. Inleiding 13

2. Methoden 17

2.1 Locatiekeuze 17

2.2 Opzet en uitvoering van de monsternamen 17

2.2.1 Vooronderzoek en definitieve selectie van de locaties 17

2.2.2 Definitieve monsternamen 20

2.3 TRIADE-onderdeel chemie 21

2.3.1 Chemische analyses 21

2.3.2 Berekening risico-indicator chemie 22

2.4 TRIADE-onderdeel Toxicologie 25

2.4.1 Bioassays 25

2.4.2 Berekening risico-indicator toxiciteit 26

2.5 TRIADE-onderdeel Ecologie 27

2.5.1 Bacterie- en schimmelanalyses 27

2.5.2 CLPP en PICT 29

2.5.3 Nematoden 30

2.5.4 Potwormen 31

2.5.5 Micro-arthropoden 32

2.5.6 Vegetatie 33

2.5.7 Berekening risico-indicator Ecologie 34

2.5.8 Statistische analyses 35

3. Resultaten en discussie 37

3.1 TRIADE-onderdeel Chemie 37

3.1.1 Bodemeigenschappen 37

3.1.2 Metaanalyses 38

3.1.3 Vergelijking van extractiemethoden 41

3.1.4 Partitie van zink 43

3.1.5 Effectberekening TRIADE-onderdeel Chemie 44

3.2 TRIADE-onderdeel Toxicologie 47

3.2.1 Uitgevoerde toxiciteitstesten 47

3.2.2 Relaties met chemische bodemeigenschappen 48

3.2.3 Effectberekening TRIADE-onderdeel Toxicologie 50

3.3 TRIADE-onderdeel Ecologie 52

3.3.1 Bacteriën en schimmels 52

3.3.2 CLPP en PICT 53

3.3.3 Nematoden 55

3.3.4 Potwormen 56

3.3.5 Micro-arthropoden 57

3.3.6 Vegetatie 59

3.3.7 Effectberekening TRIADE-onderdeel Ecologie 61

3.4 TRIADE beoordeling 63

4. Conclusies en aanbevelingen 67

Referenties 71

Bijlage 1: Verzendlijst 75

Bijlage 2: Foto's van bemonsterde locaties 77

Bijlage 3: Fysisch- chemische analyses 80

3.1: Bepaling van het organisch stofgehalte van de grond 80

3.2: Bodemextracten voor Microtox- en PAM-algentoets 80

3.3: Bepaling van het lutumgehalte en korrelgrootte-verdeling van grond 80

Bijlage 4: Resultaten chemische analyses 82

4.1: Gehaltes van zware metalen gemeten in koningswater-destructie 82

4.2: Gehaltes van zware metalen gemeten in salpeterzuur-extractie 83

4.3: Gehaltes van zware metalen gemeten in calciumchloride-extractie 84

4.4: Gehaltes van zware metalen gemeten in 'poriewater-extractie' 85

4.5: Zware metalen in grondextracten t.b.v. PAM-algentest 86

Bijlage 5: Ecologische waarnemingen 87

5.1: Nematoden 87

5.2: Potwormen 88

5.3: Micro-arthropoden 89

5.4: Vegetatie 90

Uitgebreide samenvatting

Verontreiniging van de bodem door zware metalen en organisch chemische verbindingen is een wijd verspreid probleem. Naast lokale verontreinigingen (afvalstortplaatsen, fabrieksterreinen e.d.) is er in Nederland een diffuse belasting door grootschalige toepassing van allerlei (synthetische) stoffen. Bodemverontreiniging levert risico's op voor verspreiding, blootstelling van de mens en effecten op ecosystemen. Ondanks dat de aard en oorzaak van dit soort milieuproblemen vaak relatief simpel zijn, is het inschatten van de kans op effecten gecompliceerd door de vele factoren die een rol spelen. Dit geldt met name voor de mogelijke invloed op ecosystemen, waaronder het grote aantal onzichtbare organismen dat in de bodem voorkomt. Het afleiden van normen ter bescherming van het ecosysteem of bepaalde typen van bodemgebruik wordt gehinderd door een beperkte hoeveelheid wetenschappelijke kennis op dit punt. Het heeft er toe geleid dat normstelling voor stoffen in eerste instantie is gebaseerd op beschikbare ecotoxicologische kennis uit laboratoriumonderzoek en bescherming van de mens. Voor zover validatie van deze normstelling heeft plaatsgevonden is overigens gebleken dat de beoogde bescherming van ecosystemen op het niveau van ernstige bodemverontreiniging redelijk goed wordt voorspeld. De huidige generieke normstelling voor stoffen in de bodem, is gebaseerd op toxiciteitsgegevens over totaal-gehalten van enkelvoudige stoffen. Deze benadering is noodgedwongen vrij grof en vooral geschikt voor 1^e-lijns beoordeling. Daarom worden veiligheidsfactoren gebruikt om de criteria af te leiden. De afgelopen jaren is er een toenemende behoefte aan een meer locatiespecifieke invulling, waarbij daadwerkelijke effecten en het (toekomstige) bodemgebruik in beschouwing worden genomen. Hiervoor is nieuw bodembeleid (BEVER) ontwikkeld en wordt bij diverse instituten gewerkt aan betere beoordelingstechnieken (basisbenadering en uitbreiding saneringsurgentiesystematiek; Rutgers et al., 2000a; 2000b). De TRIADE-methode maakt deel uit van 'de basisbenadering'. Het doel is ecologische risico's beter te onderbouwen door informatie te verzamelen uit drie invalshoeken (chemie, toxicologie, ecologie). De TRIADE-methode is ontwikkeld voor beoordeling van de kwaliteit van sedimenten en oppervlakte water. De toepassing in terrestrische ecosystemen is relatief nieuw en vraagt om verkennend onderzoek naar toepassingsmogelijkheden. Hiervoor is op het RIVM een onderzoekprogramma opgezet waarbij stapsgewijs verschillende aspecten zijn onderzocht in een reeks locatiestudies. Dit rapport beschrijft het derde en laatste deel hiervan. Het onderzoek is uitgevoerd in het gebied rond Budel dat bekend is om de grootschalige diffuse verontreiniging met zink, cadmium en lood door industriële activiteiten (metaalwinning uit ertsen) en de toepassing van restproducten (bijvoorbeeld in assenwegen).

Doel van het onderzoek

In aansluiting op de ervaringen met voorgaande locatiestudies (Rutgers et al., 2001; Schouten et al., 2003) en de vragen die hieruit zijn overgebleven, is het instrument van de TRIADE-beoordeling getest met het accent op de volgende onderdelen:

- aandacht voor de keuze van de lokale referentie (onbelaste bodem),
- selectie van toxiciteitstesten die geschikt zijn voor de te beoordelen bodem,

- verdieping van het onderzoek in de TRIADE onderdelen chemie en ecologie naar het zogenaamde 'tier (= trap) 2 en 3 niveau',
- toepassen van de TRIADE bij een (relatief laag) verontreinigingsniveau onder de interventiewaarde,
- statistische onderbouwing van de resultaten.

Uitgevoerd onderzoek

In het gebied rond de zinkfabriek van Budel zijn drie verontreinigde locaties onderzocht (C1, C3 en C5 in onderstaande tabel). Deze lagen op verschillende afstand tot de fabriek waardoor een gradiënt in de metaal-gehaltes van de bodem te herkennen is. Daarnaast werden op een afstand van enkele tientallen kilometers twee onbelaste terreinen gekozen (C6 en C8). De eerste betrof een jonge heide-vegetatie naast een ven in het Vresselsche Bosch, de tweede een volgroeid heideterrein bij de Eerdsche Berge. Deze laatste (C8) is uiteindelijk als lokale referentie gebruikt. Het onderzoek rond de zinkfabriek is gedaan in open terrein met (van oorsprong) heidevegetatie. Eén monsterplek werd gekozen in een gebied dat enige tijd voor landbouw in gebruik is geweest (C1). Op elke van de vijf locaties werden drie plots uitgezet en apart bemonsterd om de interne variatie te kunnen bepalen en de verschillen tussen locaties statistisch te toetsen.

Resultaten TRIADE-beoordeling

TRIADE-tabel: Gekwantificeerde effectparameters op 5 locaties met verschillende afstand tot de zinkfabriek in Budel (C3 dichtst bij de fabriek, C8 is de lokale referentie).

TRIADE-Onderdeel	Parameter	Locaties				
		C1	C3	C5	C6	C8(Ref)
Chemie	TD-combi HC ₅₀	0,45	0,46	0,11	0,00	0,00
	Risico	0,45	0,46	0,11	0,00	0,00
Toxicologie	PAM-test	0,41	0,66	0,23	0,12	0,00
	Springstaart	0,23	0,04	0,01	0,11	0,00
	Radijs	0,65	0,45	0,28	0,30	0,00
	Risico	0,46	0,44	0,18	0,18	0,00
Ecologie	Microbiologie	0,60	0,64	0,38	0,42	0,00
	Biolog	0,37	0,11	0,30	0,63	0,00
	PICT	0,11	0,47	0,43	0,00	0,00
	Schimmels	0,85	0,70	0,75	0,91	0,00
	Nematoden	0,56	0,38	0,25	0,40	0,00
	Potwormen	0,67	0,70	0,63	0,48	0,00
	Micro-arthropoden	0,61	0,45	0,85	0,76	0,00
	Vegetatie	0,82	0,82	0,83	0,21	0,00
	Risico	0,63	0,58	0,62	0,57	0,00
Oordeel chemie:		0,45	0,46	0,11	0,00	0,00
Oordeel toxicologie:		0,46	0,44	0,18	0,18	0,00
Oordeel ecologie:		0,63	0,58	0,62	0,57	0,00
Eindoordeel:		0,52	0,50	0,35	0,29	0,00
Deviatie		0,18	0,14	0,48	0,50	0,00

De indicatorwaarden van de referentielocatie (C8) zijn op nul gesteld. De andere locaties zijn hiermee vergeleken en uitgedrukt als percentage afwijking. De berekening van effectmaten en het gezamenlijke resultaat van de TRIADE-onderdelen is gebundeld in één tabel en resulteert in een risicoschatting per TRIADE-onderdeel (zie tabel). Het eindoordeel onderaan de tabel geeft een gemiddelde van de risicoschattingen uit de TRIADE-onderdelen. De deviatie is een maat voor de afwijking tussen de drie onderdelen.

De beoordeling is redelijk eenduidig voor de eerste twee locaties (C1 en C3). Het is waarschijnlijk dat de metaalgehalten in de bodem een belangrijke oorzaak zijn voor waargenomen effecten. De voormalige landbouwactiviteit op locatie C1 heeft via veranderde bodemeigenschappen (mogelijk ook pesticiden gebruik) een effect op de gevonden bodembioologische samenstelling. De locaties C5 en C6 wijken vooral op het onderdeel ecologie af van de twee andere TRIADE-onderdelen. De eindbeoordeling is hier onzeker of zou door nader onderzoek verbeterd moeten worden. Locatie C6 was aanvankelijk gekozen als mogelijke (onbelaste) referentie. Op basis van metaalgehalten en bioassays worden hier inderdaad geen effecten verwacht. De ligging (open plek in het bos) bleek echter een dusdanig afwijkend habitat te creëren dat de voorkomende planten en dieren niet meer representatief zijn voor een heideterrein. Dit is goed te zien aan het ‘ecologische effect’ ten opzichte van C8. Locatie C8 is dus uiteindelijk gekozen als lokale referentie.

Op locatie C5 is de metaalbelasting relatief gering, toch zijn de ecologische afwijkingen even groot als op de locaties C1 en C3. De ontwikkelde zinktolerantie bij bodembacteriën (PICT) wijst er op dat metalen op deze locatie van belang zijn (of zijn geweest) als stressfactor. Mogelijk spelen ook andere abiotische factoren (als grondwaterstand) een rol, waardoor het verschil tussen C5 en de referentie groter is dan verwacht wordt op basis van de metaalgehalten.

Bevindingen TRIADE-onderdeel chemie

De standaard chemische analyses werden uitgebreid met metingen aan verschillende extracten en poriewater. Op basis van deze gegevens is de toxische druk (TD) van metaalgehalten in de bodem berekend en zijn vier varianten van de berekening vergeleken. Gebleken is dat er op dit moment onvoldoende toxiciteitsgegevens zijn in de literatuur om de TD van metalen in poriewater voor terrestrische organismen rechtstreeks te kunnen schatten. Een alternatief zou de toepassing van chemische partitiemodellen zijn. Hiermee kunnen gepubliceerde toxiciteitsgegevens voor totaalgehalten in een bodem omgerekend worden naar poriewater-concentraties. Deze regressiemodellen introduceren echter extra onzekerheid of zijn niet ‘locatiespecifiek genoeg’ omdat te weinig rekening wordt gehouden met specifieke bodemeigenschappen. Een andere mogelijkheid is het gebruik van toxiciteitsgegevens over aquatische organismen. Deze benadering gaf in dit onderzoek een onverwacht hoge schatting voor de toxiciteit van de metalen in het bodemvocht. De aquatische toxiciteitsdata lijken niet zondermeer toepasbaar te zijn voor risicoschattingen in zure bodems. Recent onderzoek heeft bovendien aangetoond dat het ionengehalte in zure bodems toxische effecten van metalen kan verminderen.

Bevindingen TRIADE-onderdeel toxicologie

De keuzemogelijkheden voor geschikte bioassays met natuurlijke grond zijn nog steeds beperkt. Vooral de lage zuurgraad, geringe gehalten aan organische stof en nutriënten spelen parten. In dit onderzoek is een ‘tier 1 bioassay’ met algen (PAM-test) in bodemextract uitgevoerd, en bioassay’s met springstaarten en radijsplanten. De gekozen toxiciteitstesten bleken een verschillende gevoeligheid te hebben voor de invloed van zware metalen en bodemeigenschappen. De PAM-test wordt uitgevoerd met bodemextracten onder gestandaardiseerde omstandigheden. Er was een duidelijke relatie tussen de PAM-respons en metaalgehalten in de bodem. De bioassay met springstaarten vertoonde een verband met metalen en de zuurgraad van de bodemonsters. De groei van radijs bleek daarnaast gevoelig voor de hoeveelheid voedingsstoffen in de bodem. Het gezamenlijke resultaat van het TRIADE-onderdeel toxicologie vertoont uiteindelijk veel overeenkomst met de risicoschatting op basis van de chemie.

Bevindingen TRIADE-onderdeel ecologie

In dit TRIADE-onderdeel zijn een groot aantal verschillende bodembioologische analyses gedaan. Tevens is de vegetatie geïnventariseerd inclusief de paddestoelen, mossen en korstmossen. In tegenstelling tot de resultaten van voorgaande locatiestudies, zijn de berekende effecten binnen het onderdeel ecologie het grootst. Net als bij de toxiciteitstesten spelen in het veldonderzoek twee soorten invloeden een rol, namelijk die van de metaalgehalten en de bodemeigenschappen/ecosysteemtype. Hierdoor kunnen gemeten effecten voor een deel onterecht aan de verontreiniging worden toegeschreven. De verschillende invloeden zorgen er voor dat de ecologische afwijking ten opzichte van de referentie op alle locaties ongeveer even groot is. Deze resultaten dienen met verstand van zaken te worden geïnterpreteerd om verkeerde conclusies te voorkomen.

Conclusies en aanbevelingen

- 1) De keuze van een referentie is belangrijk voor de uitkomst van de risicoschatting. Indien dit onzorgvuldig gebeurt, kan een andere lokale referentie leiden tot een verschillend oordeel over het ecologische effect. Het is daarom aan te bevelen om een beoordeling te baseren op meerdere referentielocaties of mede op een (te ontwikkelen) landelijke database met referentiegegevens en ‘bodendoeltypen’.
- 2) De keuzemogelijkheden voor bioassays met organismen die in zure zandbodems goed gedijen zijn beperkt. In dit onderzoek zijn testen met springstaarten (*F. candida*) en radijsplanten met succes toegepast. Het is aan te bevelen om tenminste voor zure zandbodems over meer bioassays te beschikken.
- 3) De uitgebreide (‘tier 2 en 3’) TRIADE geeft een verfijning van de beoordeling en maakt de kans op fouten door uitzonderlijke waarnemingen kleiner. In dit onderzoek, bij lage verontreinigingsniveau’s, bleek dat ecologische aspecten relatief grote invloed kunnen hebben op de risicoschatting. In voorgaande veldstudies op sterk verontreinigde locaties was het juist de chemische risicobeoordeling die de grootste effecten voorspelde.
- 4) De berekening van het potentiële risico op basis van aquatische toxiciteitsdata en metalen in het poriewater gaf in dit onderzoek een onverwacht hoge effectschatting. Het lijkt geen

- bruikbare benadering voor het doorrekenen van ecologische effecten van beschikbare metalen in zure zandbodems door effecten van pH op de biologische beschikbaarheid.
- 5) De einduitkomst van de TRIADE-beoordeling weerspiegelt weliswaar de gradiënt in metaalbelasting, maar bevat ook elementen van bodemsamenstelling en grondgebruik. Deze invloeden zijn moeilijk te ontrafelen met bestaande methoden. Dit zou opgelost kunnen worden met specifieke methoden als PICT-metingen (= Pollution Induced Community Tolerance) en biomarkers. Momenteel zijn die alleen nog maar beschikbaar voor bacteriën.
- 6) De resultaten van deze locatiestudie zijn statistisch onderbouwd door aanpassing van de monsternamenstrategie. Hierdoor is beter hard te maken welke indicatoren verschillen vertonen tussen de locaties. Het bevordert de interpretatie van de deelresultaten. De statistische onderbouwing is echter minder van belang voor de TRIADE-methodiek. De TRIADE is namelijk gebaseerd op het idee van 'weight of evidence', waarin alle afwijkingen en overeenkomsten meewegen in de beoordeling. Gebruik van alleen significant verschillende indicatoren zou in dit geval 'effecten forceren'.
- 7) Tot slot dient een antwoord te worden gegeven op de vraag of de TRIADE-benadering een bruikbare verbetering oplevert ten opzichte van de huidige risicobeoordelingsmethodiek voor bodemverontreiniging. Het antwoord is ja, maar er zijn enkele voor- en nadelen die per situatie moeten worden afgewogen:
- De TRIADE vergt meer gedifferentieerd onderzoek waarbij meerdere disciplines betrokken zijn. Bij gelijkblijvende inspanning per parameter brengt dit in principe meer kosten met zich mee. Daar staat tegenover dat er een duidelijke winst in de nauwkeurigheid wordt geboekt. Door verbreding van het onderzoek kan het aantal metingen bovendien worden verminderd. Het systeem biedt tevens de mogelijkheid om het benodigde onderzoek stapsgewijs en naar behoefte uit te voeren. Een eenvoudige TRIADE is uiteindelijk niet veel duurder dan standaard bodemonderzoek.
 - Door toepassing van de TRIADE is de beoordeling of risicoschatting beter onderbouwd en meer locatiespecifiek. De uitkomst per TRIADE-onderdeel hoeft niet altijd eenduidig te zijn. Doordat onzekerheden zichtbaar worden gemaakt is er een betere basis voor verdere besluitvorming (acceptatie van de onzekerheid of uitbreiding van het onderzoek). De keuze van een geschikte lokale referentie blijkt in de praktijk een belangrijk aspect. De bodem van verontreinigde locaties is altijd in meerdere opzichten veranderd ten opzichte van de oorspronkelijke situatie. Het ecosysteem reageert hierop. De ecologische veldwaar-nemingen geven daarom een integraal beeld van de afwijking ten opzichte van een doel.
 - De PICT-methodiek (tolerantie-ontwikkeling) is momenteel één van de weinige methoden om effecten van metaalbelasting te filteren uit complex van effecten. Ontwikkeling van de methodiek en uitbreiding naar testen voor meerdere organismen is gewenst.
 - De TRIADE wordt aanbevolen voor de bepaling van locatiespecifieke ecologische risico's. Hiervoor is momenteel een protocol in ontwikkeling en zijn de beleidsontwikkelingen zodanig dat locatiespecifieke beoordelingen een belangrijkere rol gaan spelen dan voorheen.

1. Inleiding

Het voorliggende rapport is het derde (en laatste) deel in de serie veldstudies die zijn uitgevoerd om de TRIADE-methodiek in de praktijk te testen op z'n bruikbaarheid voor locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling. In de voorgaande rapporten (Rutgers et al., 2001; Schouten et al., 2003) is reeds ingegaan op de beleidsmatige en wetenschappelijke achtergrond. Hier worden nog kort de hoofdlijnen geschetst en een toelichting gegeven op de accenten die gekozen zijn bij de huidige locatiestudie.

De TRIADE-benadering is voorgesteld als methode om locatiespecifieke ecologische risico's te bepalen en daarom te gebruiken als alternatief voor de *actuele risico's* in de sanerings-urgentiesystematiek (SUS; Koolenbrander, 1995). In de huidige urgentiesystematiek worden (potentiële) ecologische risico's op simpele wijze bepaald.

In het kort (en in vakjargon) komt het er neer dat ecologische risico's worden gebaseerd op de het bodemgebruik en de omvang van de verontreiniging. De ernst wordt ingeschaald op basis van HC₅₀-waarden voor de NOEC-verdeling van soorten uit toxiciteitstesten. De HC₅₀ (hazardous concentration) is de concentratie waarbij 50% van de soorten in een ecosysteem kans hebben op effecten van een stof, doordat ze zijn blootgesteld boven hun 'no-effect-concentration'. De selectie van toetsgegevens (volgens bepaalde criteria) heeft plaats gevonden in het project 'Integrale Normstelling Stoffen' (INS). Het voordeel is dat op deze wijze gedocumenteerd vast ligt waar een norm op is gebaseerd. De afleiding van de HC₅₀-waarden volgens de INS-systematiek is wetenschappelijk redelijk actueel. Inmiddels zijn er echter ook andere varianten ontwikkeld, waarin beter rekening kan worden gehouden met de effecten van stofmengsels of lokale bodemchemische eigenschappen. Het gebruik van de NOEC-verdeling legt bovendien beperkingen op voor de beschikbaarheid van toxiciteitsgegevens, alternatieve benaderingen zijn mogelijk (Rutgers et al., 2000; Posthuma et al., 2003).

Verbeteringen in de huidige (formele) wijze van ecologische risicoschatting zijn vooral te realiseren in de manier waarop de HC₅₀-waarden worden toegepast. In de urgentiesystematiek worden stofconcentraties bijvoorbeeld vergeleken met de HC₅₀, vindt een aspecifieke bodemtypecorrectie plaats en worden gehalten onder de HC₅₀ niet meegewogen. Daarnaast is er geen bevredigende methode om de combinatie van meerdere stoffen te beoordelen. Dit gebeurt nog door het optellen van het aantal 'HC₅₀-waarde overschrijdingen'.

Ook bij verbeterde toepassing van ecotoxicologische gegevens (SSD) blijft het verband tussen potentiële effecten van normoverschrijding en werkelijke ecologische risico's grotendeels onbekend. In het begin van de beleidsontwikkeling voor stofnormen (rond 1985) is echter voor deze werkwijze gekozen omdat goede methoden voor veldonderzoek op dit punt ontbraken of te kostbaar en te arbeidsintensief werden bevonden. Inmiddels is de stand van kennis gevorderd en zijn er betere mogelijkheden om veldwaarnemingen op te nemen in een locatiespecieke beoordeling. Rutgers et al. (2000) hebben een aantal voorstellen uitgewerkt om de bestaande urgentiesystematiek te verbeteren, waarbij de TRIADE-benadering wordt toegepast.

Het RIVM-project 'Locatiespecieke Ecologische Risicobeoordeling' is destijds gestart met het opstellen van een raamwerk voor een beoordelingsmethodiek, aangevuld met rekenmethoden en gedifferentieerd naar bodemgebruik (De Zwart et al., 1999). Het beoordelingsstelsel is gebaseerd op de TRIADE-benadering (Van de Guchte, 1992; AKWA/RIZA, 2002). Hierbij maakt men gebruik van chemische, ecotoxicologische en ecologische gegevens (metingen) om tot een breder onderbouwde risicoschatting te komen van verontreinigingen op een bepaalde locatie. Daarbij bestaat de mogelijkheid voor een stapsgewijze ('tiers') aanpak. In een eerste fase van de beoordeling kunnen relatief eenvoudige en goedkope metingen worden gebruikt. Als deze een duidelijk beeld geven van de effecten van de verontreiniging, kan nader onderzoek achterwege blijven. Bij twijfel of tegenstrijdige uitslagen van de TRIADE-onderdelen kunnen hogere treden van complexiteit en onderzoeksinspanning worden ingezet. De TRIADE maakt in feite gebruik van het 'weight of evidence' principe. Hoe meer aanwijzingen er zijn voor effecten in een bepaalde richting, hoe aannemelijker het wordt dat er een serieus probleem bestaat. Alhoewel de TRIADE-benadering voor locatiespecifieke ecologische risicobenadering door De Zwart et al. (1999) zo concreet mogelijk is ingevuld, was er nog nauwelijks praktijkervaring met de toepassing er van. Aanvankelijk speelden vragen als: 'heeft de uitslag van een TRIADE-onderzoek meerwaarde boven de reguliere bodemkwaliteits-beoordeling (IW + SUS)', 'zijn bioassays en ecologische indicatoren betaalbaar meetbaar' en 'welke praktische problemen spelen er bij ecologisch veldonderzoek op verontreinigde locaties'.

In eerste instantie is het TRIADE-onderzoek toegepast op een aantal zwaar verontreinigde locaties (Volgermeer polder, Larense Wasmeren), vanuit de gedachte dat ecologische effecten daar duidelijk zouden moeten blijken. Tevens is geprobeerd om geheel verschillende soorten verontreiniging en locatie-eigenschappen in het onderzoek op te nemen (Rutgers et al., 2001). In de eerste fase van onderzoek bleek al dat de keuze van een geschikte lokale referentie lastiger is dan aanvankelijk werd verondersteld. Bovendien heeft de keuze van de lokale referentie ook verstrekende gevolgen voor de risicoschatting. Zo bleek bijvoorbeeld dat de bodemeigenschappen als zuurgraad of lutumgehalte in een schoon of oorspronkelijk gedeelte van een locatie meestal verschillen van die in een verontreinigd deel. Waargenomen effecten kunnen dan niet met zekerheid aan de verontreiniging worden toegeschreven. Een ander aspect dat meer aandacht vroeg was het vaststellen van effecten op de vegetatie en hogere dieren (vogels, zoogdieren). Als er geen inventarisaties of literatuur- gegevens beschikbaar zijn, is er uitvoeriger onderzoek en de inzet van specialisten nodig om effecten te bepalen. Daarnaast is langdurige afsluiting van een verontreinigde locatie, zoals de Volgermeer of de Larense Wasmeren, van grote invloed op het aantal soorten dieren en planten die er een ongestoorde leefomgeving vinden. Dit positieve 'hekeffect' kan de invloeden van een verontreiniging overvleugelen, zodat een inventarisatie van de voorkomende planten en dieren alleen niet voldoende is, of een verkeerd beeld geeft van de ecologische effecten.

In de tweede fase (Schouten et al., 2003) is geprobeerd een aantal van bovengenoemde aspecten te ondervangen. Naast de keuze van andere locaties en type of oorsprong van de verontreiniging, is meer aandacht besteed aan de bodemeigenschappen van de lokale

referentie en is het arsenaal aan biologische veldwaarnemingen aanzienlijk uitgebreid. Tevens is het onderzoek uitgevoerd op minder zwaar verontreinigde locaties (vloeivelden Tilburg) en is geprobeerd om een bredere gradiënt te krijgen in de monsters, en daarmee een beter beeld van de gevoeligheid van de gebruikte indicatoren. Ondanks de eerdere ervaringen en de verbeterde onderzoeksopzet bleken de resultaten uit de tweede fase nog niet geheel ontdaan van enkele struikelblokken.

Aansluitend is in 2001 en 2002 opnieuw een locatiestudie uitgevoerd (derde fase), waarbij andere aspecten van de TRIADE-benadering zijn onderzocht. Ditmaal is aandacht geschonken aan een meer grootschalige (regionale) diffuse verontreinigingsgradiënt, met concentraties onder of rond de interventiewaarde. Hiervoor is de keuze gevallen op het welbekende en veel onderzochte gebied rond de zinkfabriek te Budel. Tevens spelen in het gebied praktische vragen rond de mogelijkheden van natuurontwikkeling (zie volgende paragraaf).

De zware metalen-problematiek rond Budel is complex, en veroorzaakt door een historische verontreiniging. Zware metalen zijn in het milieu gekomen doordat circa 90 jaar lang zink gewonnen is doort het smelten van erts. Het gebied heeft ook onder invloed gestaan van vergelijkbare industriële activiteiten in de Belgische Kempen. Sinds 1973 wordt een electrolytisch proces gebruikt bij de zinkwinningen en is de emissie sterk teruggedrongen. Zink is verspreid door uitstoot in de lucht, maar ook aangevoerd via de rivieren. Het milieuprobleem strekt zich uit over bodem, oppervlaktewater en grondwater. Toepassing van sintels en as ter verharding van de bodem onder wegen en erven heeft ook lokaal voor extra milieuproblemen gezorgd. De aanpak van de milieuproblemen in de Kempen vraagt een geïntegreerde benadering. Daarom is in 1998 het project 'Actief Bodembeheer de Kempen' gestart. Hierin werken de landelijke- en provinciale overheid samen met 45 gemeenten, water- en zuiveringschappen. In het project wordt niet alleen nieuw beleid ontwikkeld, of worden bodemsaneringsoperaties gecoördineerd. Het streven is vooral naar een pragmatische en integrale aanpak om het milieuprobleem beheersbaar te maken. In het totaal beslaat het metaalbelaste (zink, cadmium, lood, arseen) gebied een oppervlak van 350 km² (waarvan 2,5 km² met cadmiumgehalten boven 2,5 mg/kg), 980 ha verontreinigde waterbodem en 250 duizend ton zinkassen. De streek rond Budel is daarmee een van de grootste gevallen van bodemverontreiniging in Nederland. Het project 'Actief Bodembeheer de Kempen' heeft een looptijd tot 2015 (Raamplan Actief Bodembeheer de Kempen 2002 t/m 2004).

Doel en opzet van het onderzoek

Het onderzoek had tot doel een uitgebreide ('tier 2 en 3') TRIADE-beoordeling toe te passen op een gradiënt van matige metaalverontreiniging in het natuurlandschap rond Budel. Het onderzoek sluit hierdoor aan bij concrete vragen over het optreden van ecologische effecten en de mogelijkheden voor natuurontwikkeling. Effecten van metaalbelasting zijn een onderdeel van het scala aan voorwaarden (bijvoorbeeld grondwaterstand, nutriëntenrijkdom etc.) die de kansen voor ontwikkeling van een natuurdoeltype bepalen. Deze bredere ecologische aspecten zijn geen onderdeel van de locatiestudie, maar komen bij het bespreken van de resultaten wel terloops aan de orde.

De locaties langs de verontreinigingsgradiënt zijn gekozen met behulp van selecties uit de (digitale) bodemkaart en een uitgebreide monsternamen vooraf. Ten opzichte van voorgaande locatiestudies is het chemisch bodemonderzoek uitgebreid met metingen in diverse extractievloeistoffen en gehalten in poriewater. Toxicologische effecten werden onderzocht met behulp van bioassays die ook geschikt zijn voor toepassing op een zure zandgrond. Biologisch veldonderzoek is uitgebreid met inventarisaties van de vegetatie, korstmossen en paddestoelen naast een uitvoerige set analyses volgens de systematiek van 'de Bodembioologische Indicator' (bacteriën, nematoden, potwormen, regenwormen, micro-arthropoden).

Tevens werd de variatie binnen en tussen de monsterpunten onderzocht door op iedere locatie drie onafhankelijke monsterseries te verzamelen. De verschillen tussen de locaties zijn met deze opzet op significantie te toetsen.

Opbouw van het rapport

Dit rapport heeft in grote lijnen dezelfde opbouw meegekregen als die van de twee voorgaande delen. De onderdelen chemie en ecologie van de TRIADE zijn meer in detail uitgewerkt en verschillen tussen monsterpunten zijn op significantie getoetst.

Het rapport heeft verder een traditionele opbouw, met beschrijving van meet- en rekenmethoden in hoofdstuk 2 en presentatie van de resultaten in hoofdstuk 3. De meetgegevens van de drie TRIADE-onderdelen worden eerst individueel besproken, daarna omgerekend tot effectmaten en tenslotte samengevat in een 'kleurentabel' waaruit een beoordeling van het locatiespecifieke risico per monsterpunt volgt. De resultaten worden toegelicht en bediscussieerd in het hoofdstuk 3. In de vorige twee rapporten zijn de algemene discussiepunten reeds uitvoerig aan bod gekomen. Daarom worden in hoofdstuk 4 alleen de conclusies van dit onderzoek op een rij gezet. Tot slot zijn zoveel mogelijk meetresultaten in de bijlagen opgenomen om inzicht te geven in de cijfers waarmee berekeningen zijn uitgevoerd.

2. Methoden

2.1 Locatiekeuze

In het gebied rond Budel zijn over een groot oppervlak verhoogde gehalten aanwezig van de metalen zink, lood, cadmium en arseen. De gradiënt is het langst vanaf de zinkfabriek in noord-oostelijke richting.

De locatiekeuze binnen de gradiënt is gestart met een vraag van de Dienst Landelijk Gebied over de geschiktheid van een terrein nabij de zinkfabriek voor de ontwikkeling van droge en natte heide. Er bestaan plannen om hier een aantal vegetatietypen te realiseren (klein zeggenmoeras, houtwallen, singels en gagelstruweel), deels op voormalige landbouwgrond. De terreinen liggen inmiddels al een aantal jaren braak. In de omgeving komt veel heidevegetatie voor (Loozerheide). Deze heidevelden zijn voor een deel in gebruik als schiet-oefenterrein.

Het bodemtype en de grondwatertrap van het (potentiële) natuurontwikkelings gebied is opgezocht in de digitale bodemkaart (1:50000) van Nederland, aan de hand van de geografische coördinaten. Vervolgens werden mogelijke referenties gezocht door in een straal van 20 km alle locaties te selecteren die aan dezelfde bodemkundige- en grondgebruiskriteria voldeden. Voor locaties met overeenkomstig bodemgebruik werd de Landgebruikkaart Nederland (LGN 3⁺, resolutie 25 x 25 m) ingezet. LGN-gegevens werden op de bodemkaart geprojecteerd. De selectie betrof het bodemtype veldpodzolgrond en kalkloze zandgrond (Hn23), met als landgebruik heide. Veldpodzolgrond is een podzolgrond (profiel met inspoelingslaag) met amorfe humus in de B-horizont. De zandkorrels hebben geen ijzerhuidjes (hydromorf kenmerk).

De speurtocht naar geschikte referentielocaties (gelijke grondsoort + heide) met behulp van het Geografische Informatie Systeem, leidde naar een gebied ten zuiden van Eindhoven. In Vresselsche Bosch en bij de Eerdsche Berge werden plekken gekozen die als schone referentie dienst konden doen. In deze locatiestudie is voor en tijdens de bemonstering veel aandacht besteed aan de keuze van geschikte referenties. Dit was één van de aandachtspunten die uit vanuit voorgaande studies (zie Schouten et al., 2003) naar voren kwam.

Om de invloed van toenemende zware metaal concentraties nader te kunnen onderzoeken werden in de nabijheid van het 'DLG-natuurontwikkelingsterrein' andere monsterpunten gezocht in een transect over het gebied dat als militair schietterrein wordt gebruikt (zie ook figuur 1).

2.2 Opzet en uitvoering van de monsternamen

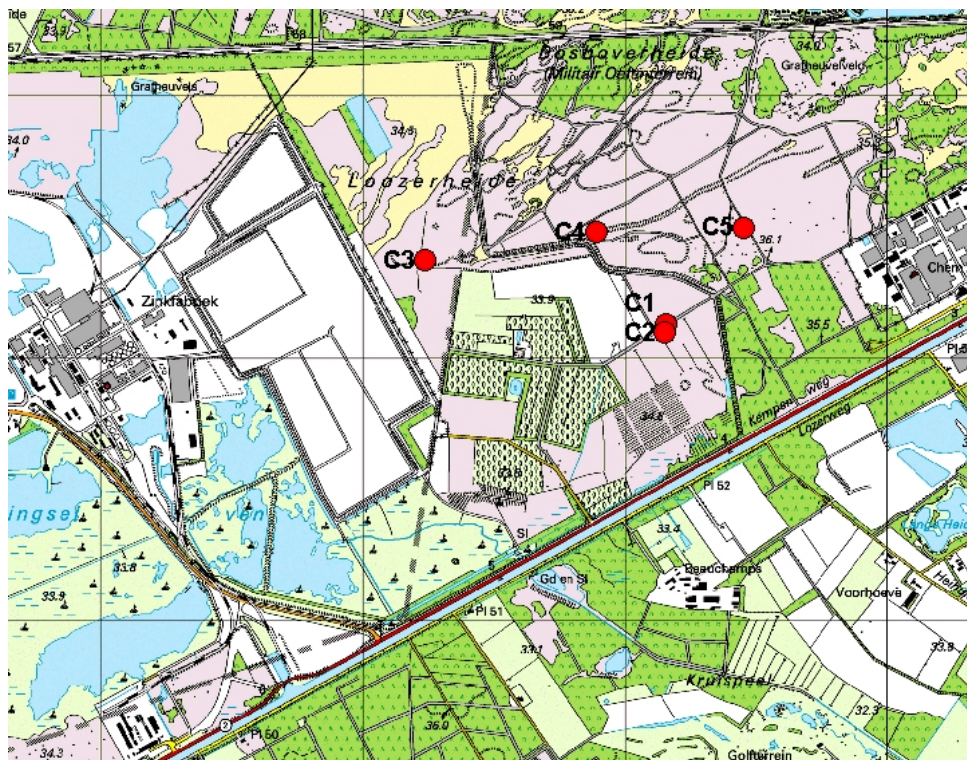
2.2.1 Vooronderzoek en definitieve selectie van de locaties

De monsternamen voor de locatiestudie Budel werd in drie fasen opgedeeld. Gezien de ervaringen in voorgaande jaren werd op 31-8-2001 eerst een oriënterende bemonstering uitgevoerd om een aantal bodemeigenschappen en gehalten aan stoffen te meten. Op basis

van de voorselectie en de DLG-vraag naar mogelijkheden van natuurontwikkeling, werden op 8 monsterpunten analyses in het veld gedaan. Deze kregen de codering C1 t/m C8. Ter plekke werd de pH van de bodem gecontroleerd en werd een indicatie van het metaalgehalte verkregen met behulp van een draagbare X-Ray Fluorescentiemeter (XRF). Vervolgens is bodemmateriaal meegenomen voor nadere analyse in het laboratorium.

Aan de hand van deze resultaten en het beschikbare budget voor het gehele onderzoek moest een selectie worden gemaakt van de 5 meest geschikte monsterplekken qua uniformiteit van de bodem en gradiënt in metaalgehalten.

Op 15-10-2001 werd opnieuw een bezoek gebracht aan het gebied. De locaties voor de definitieve monsternamen zijn hieronder beschreven en op de topografische kaart ingetekend (figuren 1, 2 en 3). In de bijlagen zijn foto's van de locaties opgenomen.

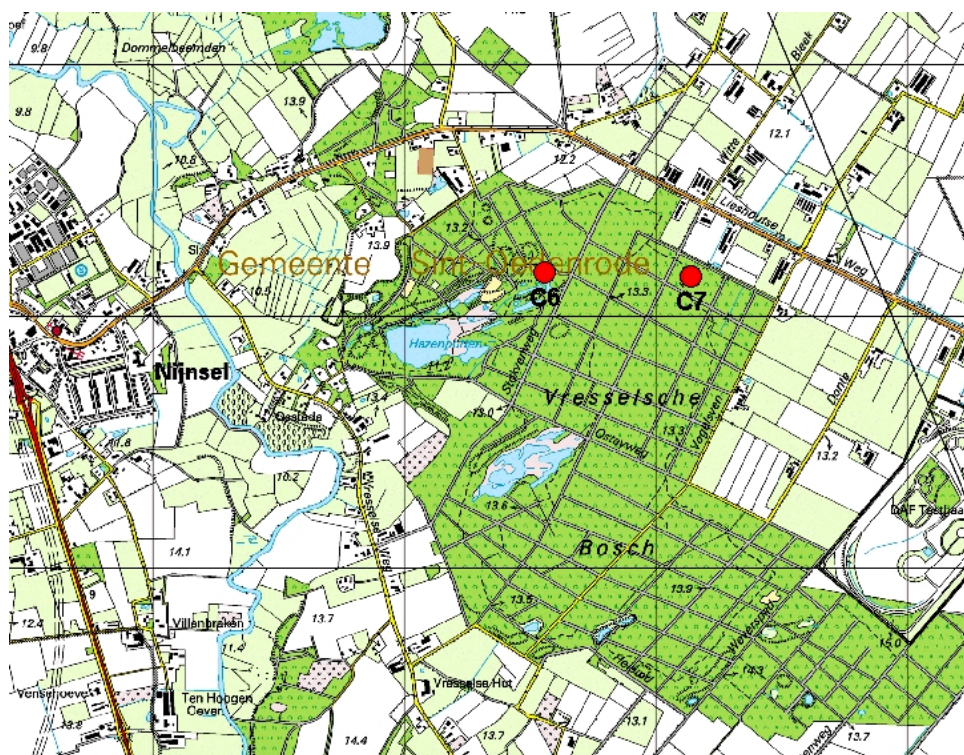


Figuur 1: Ligging van de monsterlocaties C1, C3 en C5 nabij de zinkfabriek te Budel. C2 en C4 zijn alleen bemonsterd in het vooronderzoek.

C1: is de natuurontwikkelingslocatie op voormalige landbouwgrond. De vegetatie is die van een ruderaal (verwilderd) terrein.

C3: plek het dichtst bij de fabriek, het eerste punt op de gradiënt, terrein met voornamelijk pollen pijpestrootje. Tussen de vegetatie komen diepe kuilen voor, mogelijk een gevolg van afwatering en ontstaan door de (opeenstapelende) verticale groei van de graspollen. Een dergelijke vegetatie ontwikkeling is eigenlijk kenmerkend voor hoogveen of natte heide. Het lijkt er op dat dit terrein in het verleden veel natter is geweest.

C5: is een punt in het open heideveld. Het bevond zich tussen een aantal stroken geplagde hei.



Figuur 2: Ligging van de monsterlocatie C6 in het Vresselsche bos. C7 is alleen bemonsterd in het vooronderzoek.



Figuur 3: Ligging van de monsterlocatie C8 in de Eerdsche Bergen.

C6: is een open plek naast een ven midden in het bos (figuur 2). Waarschijnlijk is de opstand rond het ven kort daarvoor weggehaald. Dit was te herkennen aan de afgezaagde boomstronken ter plekke. Mogelijk is het ven gebaggerd of uitgediept. Bij het eerste bezoek stond de dopheide en kraaihei in bloei. Tijdens de tweede bemonstering was er van de heide alleen nog wat kale plantjes over.

C8: is een relatief klein heideveld langs een zandweg en aan 3 zijden omgeven door bos. Langs het perceel bevindt zich een lage afzetting. De heidestruiken zijn er opvallend hoog (tot circa 80 cm) uitgegroeid. Deze plek lijkt het meest op een oud, ongestoord heideveld.

De locaties C6 en C8 zijn in eerste instantie als referenties gekozen. C6 zou hierbij model kunnen staan voor een meer natte heide situatie. De keuze van twee referentielocaties lijkt veel ten opzichte van de 4 plekken met verhoogde zware metaalgehalten. Een geschikte referentie is echter essentieel voor de uiteindelijke effectbeoordeling. Wanneer uit de biologische analyses blijkt dat de gekozen referentie toch afwijkend (verstoord) is, dan komt de beoogde risicoschatting op losse schroeven te staan door het ontbreken van vergelijkingsmateriaal.

De definitieve bodembemonstering vond plaats in oktober. Hierdoor kon geen volledig beeld van de samenstelling van de vegetatie worden verkregen. Om die reden is er nog een derde bezoek gebracht aan de monsterplekken. Het was de bedoeling om een tweede vegetatie-inventarisatie uit te voeren in het voorjaar of de vroege zomer. De inventarisatie kon echter pas op 22 augustus 2002 worden gemaakt. Aangezien het groeiseizoen van de vegetatie globaal in drie fasen kan worden ingedeeld (voorjaar, zomer, najaar), is er een vegetatieopname gemaakt in de zomerperiode waarin nog restanten van typische voorjaarsbloeiërs zijn terug te vinden, en in het naseizoen waarbij ook het voorkomen van paddestoelen kon worden geïnventariseerd.

2.2.2 Definitieve monsternamen

Elke locatie werd in drievoud bemonsterd om een beeld te krijgen van de variatie binnen een monsterplek en verschillen tussen locaties statistisch te kunnen toetsen. Hiervoor werden per locatie 3 plots van 10 x 10 meter uitgezet. De grenzen van de plots lagen enkele meters van elkaar. Het centrum van de plot werd gemarkeerd door er een plastic zuurkoolvaatje van 15 liter te plaatsten. Hier omheen werden de grondmonsters genomen voor verschillende typen analyses. Tevens werd binnen iedere plot een vegetatieopname gemaakt (zie 2.5.6). De volgende bodemmonsters werden verzameld:

- 1) Een bulkmonster vanuit het midden van de plot tot 20 cm diep, totaal 10 tot 15 kg zwaar, werd met een schep in het vaatje gedaan na het verwijderen van de begroeiing (zode). Dit materiaal is verzameld voor de toxiciteitstesten en daarbij behorende analyses van extracten.
- 2) Een mengmonster van circa 100 random stekken verspreid over de plot werd genomen met een zogenaamde graszodeboor (steekbuis 2,3 cm doorsnee, 10 cm lang). De bodemkerntjes

werden verzameld in een emmer en later handmatig tot een homogene massa gemengd in een brede plastic bak. Uit dit mengmonster werden glazen potten (700 ml) gevuld voor microbiologische metingen, nematodenanalyses en chemische bepalingen.

3) Per plot werd 1 steekboormonster genomen van 15 cm diep, doorsnede 5,8 cm, voor de analyse van potwormen. Potwormen zijn gevoelig voor verstoring en mechanische beschadiging. In de boor worden daarom PVC-ringen geplaatst. De boorkern komt hier in terecht. Tijdens het transport wordt de grond bij elkaar gehouden door de ringen en voor extractie van de potwormen kan het monster eenvoudig in laagjes van 2,5 cm worden opgedeeld.

Op dezelfde wijze werd op elke plot een tweede boorkern van 15 cm diepte gestoken voor de extractie van mijten en springstaarten.

4) Op iedere plot werd een plag gestoken van 20x20x20 cm. Deze werd ter plekke op het voorkomen van regenwormen gecontroleerd. In de onderzochte grondmonsters zijn geen regenwormen aangetroffen.

2.3 TRIADE-onderdeel chemie

2.3.1 Chemische analyses

Voor de bepaling van de toxische druk van het TRIADE-aspect 'Chemie' werden de meeste analyses uitgevoerd bij het RIVM. Een aantal bepalingen zijn gedaan bij het Centraal Laboratorium van het Departement Omgevingswetenschappen, sectie Bodemkwaliteit (WUR) in Wageningen.

Bodemeigenschappen en stofgehalten zijn gemeten aan de vaste fase en in verschillende extracten volgens standaard voorschriften. Daarnaast werden 'poriewatermonsters' verzameld door verzadigd bodemmateriaal te centrifugereren. De relatief droge zandgrond bevatte te weinig bodemvocht om dit op praktische wijze te verzamelen. Daarom werden monsters van 200 á 300 gram verzadigd met water (WHC100). Vervolgens werden de grondmonsters twee weken opgeslagen zodat zich een nieuw chemisch evenwicht kon instellen. De grond werd daarna in kunststof buizen gecentrifugeerd (20 min., 10000 g). Onderin de buizen bevindt zich een zeefplaat en een opvangreservoir van circa 15 ml. Het verzamelde vocht werd gefiltreerd over 0,45 µm en geanalyseerd op pH, zware metalen en opgelost koolstof (DOC).

De volgende analyses uitgevoerd aan gedroogd en gemalen bodemmateriaal: lutumgehalte, pH en gloeiverlies (LOI). De gravimetrische bepaling van het % lutum (fractie < 2 µm) werd gedaan aan een mengmonster van de drie replica's per locatie, vanwege de tijd die een dergelijke bepaling kost en de geringe variatie in deze eigenschap binnen een klein oppervlak.

In alle bodemmonsters werden totaalgehalten van de zware metalen (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn), calcium en arseen gemeten via ICP-MS na destructie in koningswater. Dezelfde analyses werden gedaan in extracten met calciumchloride (0,01 M) en salpeterzuur (0,4 M).

Bij de sectie Bodemkwaliteit-WUR werden de volgende analyses gedaan: kationenuitwisselingscapaciteit (CEC) en basebezetting (in 0,01 M BaCl₂), aluminium, ijzer, mangaan en fosfor in ammonium oxalaat-oxaalzuur extract, gemeten met ICP-AES (Houba et al., 1997). De metingen bij de sectie Bodemkwaliteit werden ook uitgevoerd aan een mengmonster per locatie in plaats van drie gerepliceerde plots. Hiervoor werd een hoeveelheid grondmonster uit drie potten (per locatie) gemengd.

2.3.2 Berekening risico-indicator chemie

Achtergrond

Voor de vertaling van stofgehalten naar potentiële (ecologische) effecten zijn verschillende werkwijzen beschikbaar. In feite zijn het varianten op het concept van de ‘species sensitivity distribution’ (SSD; Posthuma et al., 2002). De SSD is een s-vormige responscurve die opgebouwd is uit gevoeligheden van verschillende organismen voor een toxische stof. De responscurve beschrijft het verband tussen concentraties van een stof (totaalgehalten of biobeschikbare fracties) en de fractie soorten die een negatief effect ondervinden. Dit wordt ook wel de ‘potentieel aangetaste fractie’ (PAF) genoemd. In feite betreft het de respons van een theoretisch ecosysteem, gebaseerd op een serie toxiciteitstesten. De gebruikte testorganismen worden beschouwd als een representatieve steekproef van de soorten uit een (bodem)ecosysteem.

In het oorspronkelijke ontwerp voor de terrestrische TRIADE-beoordeling (De Zwart et al., 1999) is uitgegaan van de theoretisch meest geavanceerde vorm van toxische druk-berekening, de PAF. De potentieel aangetaste fractie organismen wordt geschat op basis van literatuurgegevens en de partiële biobeschikbaarheid van een stof (= gehalten in poriewater gecorrigeerd voor bodemeigenschappen op basis van chemische modellen). Tot voor kort ontbraken echter de instrumenten om snel selecties te maken van beschikbare literatuurgegevens en PAF-berekeningen op deze wijze uit te voeren voor een specifieke locatie of situatie.

Toxische Druk

In de twee voorgaande rapporten over de locatiestudies is daarom gebruik gemaakt van een andere variant voor de toxische druk (TD), zoals voorgesteld door Rutgers et al. (2000). Deze TD is eenvoudiger en meer algemeen toe te passen. De TD wordt berekend op basis van totaalgehalten in de bodem en HC₅₀-waarden zoals die gepubliceerd zijn in Notenboom et al. (1995) en Lijzen et al. (1999). De gehanteerde HC₅₀-waarden voor ‘standaard bodem’ (10% organische stof, 25% lutum) zijn als volgt: Cd: 12 mg/kg; Cr: 230 mg/kg; Cu: 190 mg/kg; Ni: 210 mg/kg; Pb: 490 mg/kg; Zn: 720 mg/kg; As: 40 mg/kg.

In tegenstelling tot de (te) eenvoudige optelling van HC₅₀-overschrijdingen in de saneringurgentiesystematiek maakt de TD-berekening gebruik van de niet-lineaire relatie tussen concentraties en effect, en de betere rekenregels voor meer-stoffen-effecten (TD_{combi}). Aangezien er bij dit veldonderzoek lokale referenties beschikbaar zijn, is in de berekeningen niet gecorrigeerd voor landelijke (generieke) achtergrondgehalten.

Ter vergelijking zijn in dit rapport ook een aantal andere (nieuwere) varianten van de TD doorgerekend. Dit zijn de TD op basis van de nieuwe SRA_{eco} -waarden, SRC_{eco} -waarden en een TD voor concentraties in het poriewater.

In het kader van de herziening van de interventie waarden voor bodem, hebben Verbruggen et al. (2001) Serious Risk Additions (SRA), Serious Risk Concentrations (SRC) en achtergrond-concentraties (C_b) afgeleid. Hierbij geldt dat $SRC = SRA + C_b$. De SRA_{eco} is als het ware een vernieuwde HC_{50} . De SRA's zijn gebaseerd op de meest recente literatuurgegevens en wetenschappelijke inzichten. Ze hebben nog geen officiële status, maar zijn voorgesteld als herziening modernisering van de huidige risicogrenzen. Voor een aantal stoffen (o.a zink) zou dit een substantiële aanpassing betekenen.

In de TD-berekeningen op basis van de SRA's zijn geen correcties van achtergrondgehalten toegepast. De metaalconcentraties op de locaties, omgerekend naar 'standdaard bodem', zijn dus rechtstreeks vergeleken met de volgende SRA_{eco} -waarden: Cd: 12 mg/kg; Cr: 120 mg/kg; Cu: 60 mg/kg; Ni: 65 mg/kg; Pb: 490 mg/kg; Zn: 210 mg/kg.

De gebruikte SRC_{eco} -waarden voor 'standaard bodem' zijn: Cd: 12,8 mg/kg; Cr: 220 mg/kg; Cu: 96 mg/kg; Ni: 100 mg/kg; Pb: 575 mg/kg; Zn: 350 mg/kg.

In de grondmonsters van Budel werden de metaalgehalten in het poriewater gemeten.

Hierdoor kan (in principe) ook de toxische druk van het poriewater worden geschat. Er zijn echter onvoldoende toxiciteitsgegevens van bodem die op basis van poriewatergehalten zijn uitgedrukt of gemeten, waardoor een referentiekader ontbreekt. Een alternatieve werkwijze is de poriewaterconcentraties te vergelijken met de toxiciteitswaarden voor aquatische organismen. Hierbij wordt aangenomen dat de blootstellingsroute in de bodem hoofdzakelijk verloopt via het poriewater en vergelijkbaar is met die in oppervlaktewater. Er is gebruik gemaakt van de SRA-waarden ('nieuwe HC_{50} ') voor oppervlaktewater uit Verbruggen et al. (2001). De $SRA_{fresh\ water}$ bedragen achtereenvolgens: Cd: 9,6 µg/l; Cr: 220 µg/l; Cu: 18 µg/l; Ni: 500 µg/l; Pb: 150 µg/l; Zn: 89 µg/l.

Rekenwijze

Individuele meetgegevens betreffende de aanwezigheid van verontreinigingen werden gebundeld tot één TRIADE-aspect chemie volgens de rekenregels beschreven door Bakker en Van de Meent (1997).

De totaalgehalten van metalen in de grondmonsters zijn eerst verwerkt tot een indicator voor de toxische druk (TD) per stof. In de rekenmethode wordt een bodemtype-correctie toegepast op basis van lutumgehalte en de organische stof in de bodem van de betreffende locatie (zie Stoffen en Normen, 1999). Gehaltes gemeten in het veld werden omgerekend naar equivalenten in 'standaard-bodem' (10% organische stof en 25% lutum).

De toxische druk volgt uit de formule-vorm voor een log-logistische verdelingsfunctie:

$$TD = \frac{1}{1 + e^{\frac{(\log HC_{50} - \log C_{metaal})}{\beta}}}$$

C_{metaal} is de gemeten concentratie in het veld omgerekend naar standaard-bodem. HC_{50} is de bijbehorende risicogrens van dit metaal (mg/kg) in standaard-bodem. De coëfficiënt β is de hellingshoek van de raaklijn in het buigpunt van de s-vormige responscurve. De β is metaalspecifiek en afhankelijk van de gebruikte toxiciteitstoetsen in de SSD. In dit onderzoek is een vaste waarde van $\beta = 0,4$ gekozen, omdat de coëfficiënt niet voor alle stoffen bekend is en de variatie betrekkelijk gering is. Uit ervaring is gebleken dat een β van 0,4 een goede gemiddelde waarde is.

Vervolgens is de gecombineerde toxische druk van de gemeten stoffen samen (TD_{combi}) berekend, met behulp van de rekenregels voor 'effectadditie'. Hierbij wordt aangenomen dat de toxische stoffen, waaraan een organisme is blootgesteld, een verschillend werkingsmechanisme hebben. De optelling wordt als volgt gedaan:

$$TD_{\text{combi}} = 1 - ((1 - TD_1) \times (1 - TD_2) \times \dots \times (1 - TD_n))$$

Hierin is TD_1 t/m TD_n de toxische druk die berekend is voor de verschillende metalen afzonderlijk.

Tenslotte wordt gecorrigeerd voor de TD op de lokale referentie. Deze wordt als het ware naar nul geschaald, ondanks dat er verhoogde gehalten aan stoffen kunnen voorkomen ten opzichte van generieke normen. De resterende toxische druk wordt $TD_{\text{antropogeen}}$ genoemd. Deze wordt geschaald naar de 'niet-aangetaste fractie' en berekend met behulp van de formule:

$$TD_{\text{antropogeen}} = \frac{TD_{\text{totaal}} - TD_{\text{referentie}}}{1 - TD_{\text{referentie}}}$$

Berekening van de TD op basis van de SRA_{eco} , SRC_{eco} en de TD in poriewater ($SRA_{\text{fresh water}}$) is op overeenkomstige wijze uitgevoerd.

Om de resultaten van verschillende indicatoren en TRIADE-onderdelen te kwantificeren en in een integraal beoordelingssysteem te kunnen verwerken is eenvormigheid vereist. De Zwart et al. (1999) hebben een voorstel gedaan voor uniforme kwantificering. Deze methode is ook in dit rapport gevolgd, dat wil zeggen dat alle resultaten van individuele indicatoren op een 'niet-OK-schaal' zijn uitgezet van 0 tot 1 (of 100%). De TD wordt reeds uitgedrukt in een getal tussen 0 en 1 waarbij de waarde 1 (100%) het theoretisch hoogst te bereiken effect aangeeft bij een oneindig grote concentratie. Transformatie naar een 0-1 schaal is dus niet meer nodig. De gebruikte parameters of indicatoren worden per TRIADE-onderdeel geometrisch gemiddeld (na log-transformatie) tot een overall-effectmaat.

2.4 TRIADE-onderdeel Toxicologie

Het TRIADE-onderdeel ‘toxicologie’ werd ingevuld met behulp van bioassays met bodemonsters van de verschillende veldlocaties. Op deze wijze werd een indicatie verkregen van de meetbare toxiciteit in deze gronden. Bij de keuze van bioassays is rekening gehouden met de zuurgraad (pH) van de te onderzoeken bodems. De experimenten zijn uitgevoerd met toets-organismen die van nature kunnen voorkomen bij een relatief lage bodem-pH. Op deze manier zou een additioneel effect van de zuurgraad in de testen uitgesloten moeten zijn. Bioassays uitgevoerd in een (waterig) bodemextract hebben meestal geen last van pH-invloed omdat de zuurgraad tijdens het experiment op een bepaalde waarde wordt ingesteld of gebufferd.

Er werden drie toetsen gebruikt ter beoordeling van de effecten: de PAM-algentoets, een groei-experiment met radijs en een reproductietoets met springstaarten. Ze worden hieronder nader beschreven.

2.4.1 Bioassays

PAM-algentoets

De PAM(= Pulse Amplitude Modulation) toets is een eenvoudige acute toxiciteitstest met groene algen (Van Beusekom et al., 1999). De PAM-test is een kortdurende screeningstest in (verdund) bodemextract van 2 mM calciumnitraat. De meetmethode is grotendeels geautomatiseerd. Met een fluorometer gekoppeld aan een autosampler en een computer wordt de remming van de fotosynthese gemeten onder invloed van toxische stoffen in het bodemextract. Het toetsorganisme is de groene alg *Selenastrum capricornutum*. Effecten van de toxicant op fotosynthese-efficiëntie worden uitgedrukt in % remming en gekwantificeerd in een EC₅₀. Extracten voor deze testen zijn gemaakt volgens de methode beschreven in de bijlagen.



Figuur 4: Opstelling van algenkweek waarmee PAM-test wordt uitgevoerd.

Radijs groei-experiment

Radijs (*Raphus sativus*) is als testorganisme gekozen omdat groeiremming pas wordt verwacht bij een pH lager dan 3 (Van Gestel et al., 1992). Het experiment wordt gestart met 10 zaden. Deze kiemen in de grondmonsters waaraan Perliet en voedingsoplossing zijn toegevoegd (Van Gestel et al., 1992). Dit wordt gedaan om de structuur van de bodem te verbeteren en te zorgen voor voldoende voedingsstoffen in de te toetsen veldgrond. Het aantal gekiemde zaden werd dagelijks genoteerd. Hieruit werd het kiempercentage ten opzichte van de referentiegrond berekend. Twee weken na zaaien werden de plantjes uitgedund tot 5 per replica, om ruimte gebrek en concurrentie om voedingsstoffen te voorkomen. Vier weken na kieming werden de planten geoogst. Het nat- en drooggewicht van de radijsknol en het blad werden gemeten.

Springstaarten-toets

De springstaart-soort *Folsomia candida* werd gebruikt voor een reproductie-experiment. Springstaarten zijn primitieve bodembewonende insecten, slechts enkele millimeters groot. *F. candida* is één van de weinige beschikbare testorganismen die van nature ook bij lage bodem-pH voorkomt. Dit is geen belemmering voor de reproductie. Volwassen dieren werden verkregen van de Vrije Universiteit Amsterdam, waar lange ervaring bestaat met het kweken van springstaarten. Met deze adulten is op het RIVM een kweek voortgezet. De toets werd gestart met jonge springstaarten, 10 tot 12 dagen oud. Er werden 5 replica's per monsterpunt ingezet. De dieren werden 4 weken blootgesteld aan de bemonsterde (verontreinigde) grond. Vervolgens werden de inmiddels tot adulten uitgegroeide juvenielen geteld. Omdat het uithalen van het experiment en het tellen van jonge dieren relatief veel tijd vergt werden er foto's gemaakt van de eindsituatie met een digitale camera op een prepareermicroscop. Door technische problemen lukte het helaas niet om de juvenielen van de foto's te tellen. Daarom zijn alleen het aantal overlevende adulten geteld. Zie voor specifieke details van de uitvoering van de *Folsomia*-toets ISO11267 (Soil Quality inhibition of reproduction of collembola (*Folsomia candida*) by soil pollutants). Ter controle van de toetsresultaten werd LUFA grond (pH 6,01) afkomstig van LUFA-instituut Speyer in Duitsland als extra controle behandeling meegenomen.

2.4.2 Berekening risico-indicator toxiciteit

De resultaten van de bioassays zijn gebruikt voor de berekening van de risico-indicator toxiciteit. Per toets zijn de gemeten effecten al uitgedrukt als afwijking (fractie, of percentage) van de effecten waargenomen in de grond van de lokale referentie. De referentie wordt hierbij op 1 of 100% gesteld.

De risicomaat van het gecombineerde TRIADE-onderdeel toxiciteit wordt verkregen door per locatie het gemiddelde te berekenen van de verschillende toetsuitslagen. Hierbij wordt het geometrisch gemiddelde genomen van het niet-beïnvloede deel (dit is 1- effect). Omrekening naar (1-effect) vindt plaats om hoge waarden zwaarder mee te laten wegen.

Na log-transformatie en berekening van het gemiddelde van de 'niet-beïnvloede delen' uit de toxiciteitstesten werd vervolgens weer teruggetransformeerd naar een gemiddelde effectmaat op lineaire schaal. Het resultaat is dus dat er meer gewicht wordt toegekend aan uitslagen van

bioassays met grotere negatieve effecten. Deze werkwijze vloeit voort uit de aanname dat waargenomen toxische effecten in een bioassay betekenis hebben, terwijl afwezigheid van effecten ook een gevolg kan zijn van vals-negatieve waarnemingen (er zijn wel effecten, maar de meetmethode neemt ze niet waar). Bij ongevoelige meetmethoden worden meer vals-negatieve uitslagen verwacht, dan vals positieve waarden (De Zwart et al., 1999).

2.5 TRIADE-onderdeel Ecologie

Het TRIADE-onderdeel Ecologie is grotendeels ingevuld met het systeem van veldwaarnemingen dat in 'de Bodembioologische Indicator' wordt toegepast (Schouten et al., 2002). De Bodembioologische Indicator is zo opgezet dat een doorsnede wordt gemaakt van het bodemecosysteem aan de hand van een voedselwebbenadering. Het geeft informatie over diversiteit van bodemorganismen, functies en enkele processen. In dit onderzoek zijn de eigenschappen van de volgende groepen bodemorganismen gemeten:

1) Bacteriën: aantal, biomassa, activiteit, genetische diversiteit, functionele diversiteit en bacteriële PICT. 2) Schimmels: lengte en biomassa schimmeldraden. 3) Nematodenfauna: dichtheid, soortensamenstelling, verhouding functionele groepen. 4) Potwormen: dichtheid en soortensamenstelling. 5) Regenwormen: dichtheid en soortensamenstelling. 6) Microarthropoden: dichtheid, soortensamenstelling en verhoudingen functionele groepen.

Naast deze bodembioologische waarnemingen werd op twee tijdstippen een uitvoerige vegetatie-inventarisatie uitgevoerd op de locaties, waarbij ook de aanwezige korstmossen en paddestoelvormende schimmels en mycorrhiza's werden beschreven.

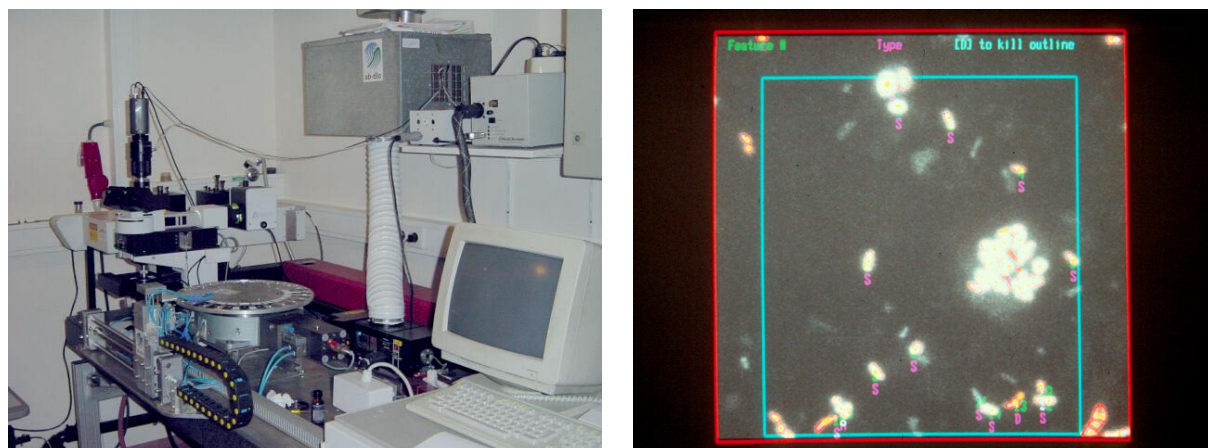
Hieronder volgt een korte toelichting op de werkwijze en analyses die gevolgd:

2.5.1 Bacterie- en schimmelanalyses

Bacteriën dragen bij aan veel bodemvormende processen, zoals mineralisatie, het vrij maken van koolstof en stikstof en de afbraak van een groot aantal verbindingen. Door Alterra werden de microbiologische eigenschappen van bodemmonsters uit Budel met diverse methoden geanalyseerd. Met de gebruikte methoden wordt zoveel mogelijk de totale (in situ) bacterie-gemeenschap gekarakteriseerd. Omdat iedere meetmethode zijn beperkingen heeft zijn meerdere parameters nodig om betrouwbare conclusies te trekken (Brookes, 1995).

De microbiële analyses werden gedaan aan het mengmonster van iedere plot (drie plots per locatie; zie ook 2.2.2). Voor de metingen werden de monsters 4 weken bij 12 °C (gemiddelde bodemtemperatuur) en 50 % 'water holding capacity' (vochtgehalte bij 50 % van de waterhoudende capaciteit) bewaard. Dit is een standaardprocedure om variatie door onder andere de weersomstandigheden op het tijdstip van monsternamen (temperatuur en vochtgehalte) zoveel mogelijk weg te nemen.

Het totaal aantal bacteriën en de afmetingen van de cellen werd bepaald door middel van directe microscopische tellingen, na kleuring met fluorescerende verbindingen (figuur 5). Uit het aantal en volume van de cellen wordt de bacteriële biomassa berekend. Deze metingen worden gedaan met een confocale laser-scan microscoop en automatische beeldverwerking (Bloem et al., 1995).



Figuur 5: Opstelling met confocale laser scan-microscoop (links) voor automatische beeldverwerking, en (rechts) foto van een preparaat met fluoriserende bacteriën tijdens de tel- en meetprocedure.

De bacteriële activiteit wordt gemeten aan de hand van de snelheid waarmee gelabeld thymidine (bouwsteen DNA) en leucine (aminozuur) wordt ingebouwd in respectievelijk het DNA en eiwitten. Dit is een maat voor de bacteriële groeisnelheid, die zeer gevoelig is voor verontreiniging (Bloem en Breure, 2003).

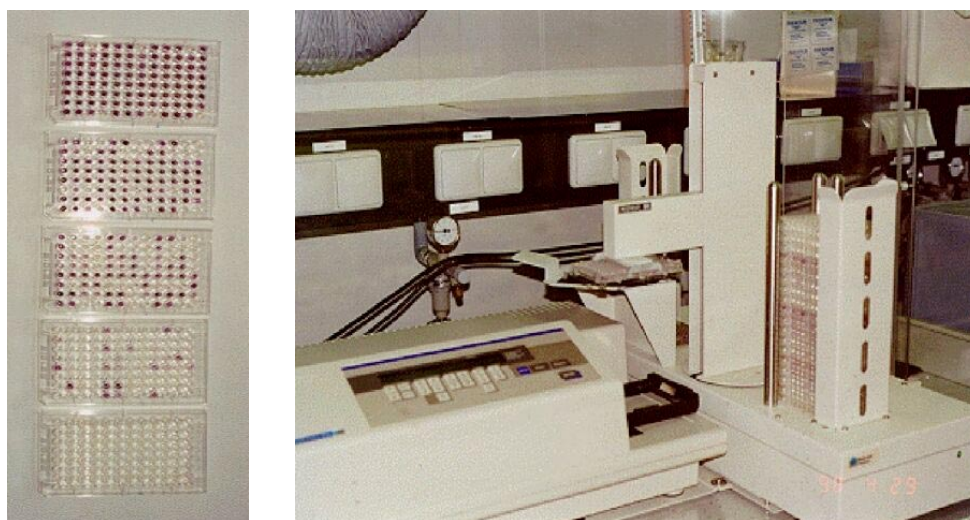
De potentiële C- en N-mineralisatie werden bepaald door monsters van 200 g gehomogeniseerde en gezeefde ($< 5\text{mm}$) grond te incuberen in luchtdichte potten bij 20°C (Bloem et al., 1994). Tussen week 1 en week 6 werden de concentraties O_2 en CO_2 in de headspace van de potten regelmatig gemeten met een gaschromatograaf. Als het O_2 gehalte was gedaald tot ongeveer 10 % werden de potten geventileerd na de metingen. De ademhaling werd berekend uit de verschillen in CO_2 concentratie tussen week 1 en week 6. De resultaten van de eerste week werden niet gebruikt om effecten van het zeven en mengen te vermijden. De potentiële N mineralisatie werd bepaald met grond uit dezelfde potten. De toename in minerale N tussen week 1 en week 6 werd gebruikt om N mineralisatiesnelheden te berekenen. Minerale N werd geëxtraheerd met 1M KCl, en NH_4 en NO_3 werden gemeten met een auto-analyzer.

De genetische diversiteit van bacteriën werd bepaald door middel van Denaturatie-Gradiënt Gel Electroforese (DGGE; Muyzer et al., 1993). Microbieel DNA werd geëxtraheerd uit de grond, gezuiverd en vermenigvuldigd door middel van PCR (Polymerase Chain Reaction). De genetische samenstelling van het DNA werd met behulp van DGGE in kaart gebracht in de vorm van een bandenpatroon. Het aantal banden is een afspiegeling van het aantal genotypen ('soorten'), en de intensiteit van een band is een maat voor de relatieve abundantie van de betreffende groep. Deze metingen zijn uitgedrukt in de Shannon Weaver index, evenness en de equitability (Schouten et al., 2002).

De totale hoeveelheid schimmeldraden in de bodem wordt bepaald door de lengte te meten onder de microscoop. Deze lengte wordt omgerekend naar koolstof-biomassa en uitgedrukt in $\mu\text{g C/g}$ droge grond.

2.5.2 CLPP en PICT

De CLPP- en PICT-metingen werden uitgevoerd op het RIVM. De Community Level Physiological Profile (CLPP) is als het ware een vingerafdruk van de afbraakroutes die voorkomen in het kweekbare deel van de bacteriegemeenschap. De CLPP wordt bepaald met behulp van Biolog-multiwell platen (ECO) met daarin 31 verschillende substraten die als voedingsbron kunnen dienen en 1 blanco. Indien een substraat wordt afgebroken wordt dit zichtbaar in een kleurreactie. De snelheid en intensiteit van deze verkleuring wordt gemeten met een colorimeter, gekoppeld aan een computer die de resultaten opslaat. De platen worden automatisch ingevoerd met behulp van een robotarm (figuur 6). Het verloop van de kleurreactie wordt gedurende 168 uur automatisch gevolgd. De resultaten kunnen worden omgerekend naar afbraaksnelheden voor verschillende substraten of som-maten voor de hele bacteriegemeenschap. Wanneer de afbraaksnelheid van ieder substraat als een unieke variabele ('aparte soort') wordt beschouwd kan met behulp van multivariate analyse het verschil of de overeenkomst tussen bacteriegemeenschappen worden berekend en zichtbaar gemaakt. De methodiek voor CLPP-metingen is beschreven door Breure en Rutgers (1999).



Figuur 6: Kleurreacties in biologplaten (links) en de robot-arm voor invoer van platen in de spectrofotometer.

Pollution Induced Community Tolerance (PICT) is een methode om veranderingen in gevoeligheid ten gevolge van een verontreiniging zichtbaar te maken. In feite wordt in het laboratorium de gevoeligheid (bijvoorbeeld een EC_{50}) van veldorganismen bepaald in een dosis-respons experiment. De PICT methodiek met behulp van Biolog-platen is op het RIVM ontwikkeld (Rutgers et al., 1998a; 1998b). In dit geval zijn GN-biologplaten gebruikt met 95 verschillende substraten en 1 blanco. Het grote voordeel van PICT-metingen is dat natuurlijke variatie in bodemeigenschappen en samenstelling van de bacterie-gemeenschap geen verstorende rol speelt. Om technische redenen is PICT tot nu toe vooral succesvol toegepast bij algen en bacteriën.

De praktische werkwijze was als volgt:

CLPP: Uit ieder monster werd een mengsel van grond en 0,01 M BisTris buffer pH 7 (verhouding 1:10 drooggew.) gemengd in een blender om de bacteriën los te maken van de bodemdeeltjes. De suspensie werd gecentrifugeerd (500 g; 10 min). Het supernatant van de gecentrifugeerde bacteriesuspensie werd verdund van 3^0 tot en met 3^{-11} . Hiermee werden ECO-platen geënt voor het bepalen van de CLPP. De verkleuring van de biologplaat werd gedurende 7 dagen twee keer per dag gemeten bij een extinctie van 590 nm. Ook werden met deze bacteriesuspensie agar platen geënt om de bacteriedichtheid te meten in de vorm van het aantal colony forming units (CFU). Tellingen werden gedaan na 2 en na 8 dagen.

PICT: Voor het bepalen van bacteriële PICT werd zink gekozen als te onderzoeken contaminant. De PICT-meting werd gedaan aan één van de drie replica's per locatie. De volgende concentratiereeks werd gebruikt: 0, 0,3, 1, 3, 10, 30, 100 en 300 mg Zn/l (als ZnCl_2). Deze werd toegevoegd aan een bacteriesuspensie, verkregen als hierboven is beschreven. In verband met de geringe average well color development (AWCD) bij de bepaling van de CLPP werd de bacteriesuspensie 3 nachten bij 20 °C geïncubeerd om de bacteriegroei te bevorderen. Van enkele verdunningen van deze gecentrifugeerde en gedecanteerde bacteriesuspensie werd met ECO platen opnieuw de AWCD vastgesteld. Daarna is een geschikte verdunning gemaakt in 0,1 M Bis-Tris buffer pH7 tot een AWCD van 1,4. Vervolgens werd voor de blootstelling van zink aan de bacteriën een incubatietijd van 4 uur aangehouden alvorens ze in de GN-Biolog platen te pipetteren. Incubatie buiten de Biolog plaat moet voorkomen dat zink in de biologplaat precipiteert. Meting van de substraatometingen gebeurde verder als hierboven omschreven. De kleuring van de GN-platen werd gedurende 260 uur gemeten met intervallen. Het meetregime was: 1 maal op de dagen 0, 1, 4, 7, 11 en 2 maal op dag 3 en 4, waarin de exponentiële groeifase wordt verwacht.

2.5.3 Nematoden

Nematoden zijn kleine wormpjes (0,2 - 2 mm lang) die in hoge aantallen en diversiteit voorkomen. Ze zijn met het blote oog echter niet of nauwelijks te zien. Nematoden zijn voornamelijk bacterie-, schimmel- en plantenwortel-eters. Ze werden geëxtraheerd uit het mengmonster van iedere plot (zie 2.2.2). De monsters werden geanalyseerd bij het Bedrijflaboratorium voor Grond en Gewasonderzoek (Blgg) te Oosterbeek.

Nematoden kunnen uit de bodem worden gehaald door een combinatie van spoel, zeef en filtertechnieken. In Nederland wordt de zogenaamde Oostenbrink-methode als standaard gehanteerd voor vrijlevende soorten (Oostenbrink 1960; Schouten 1991). Het Blgg gebruikt een variant hiervan (figuur 7).



Figuur 7: Microscopische opname van bodemnematoden (links), Oostenbrink opspoeltrechter (midden) en zeefjes met wattenfilter voor laatste extractiestap (rechts)

Na telling van het aantal in 100 gram verse grond zijn de dieren gefixeerd en circa 150 exemplaren op naam gebracht met behulp van een lichtmicroscop. Aan de hand van de aantallen en soortensamenstelling zijn diversiteitsmaten en functioneel-ecologische maten berekend. Onder de laatste vallen eigenschappen als verhoudingen tussen de voedselgroepen en de Maturity Index. De voedselgroepenindeling is gedaan volgens Yeates et al. (1993), de c-p-groepenindeling en Maturity Index volgens Bongers (1999). De indices zijn over het algemeen meer robuuste maten voor effecten in de nematoden-gemeenschap en geven een beeld van verschuivingen in ecologische processen (Ferris et al., 2001).

2.5.4 Potwormen

Potwormen (enchytraeidae) behoren evenals de regenwormen tot de orde van de oligochaeta. Ze zijn saprotroof/microtroof en waarschijnlijk vormen bacteriën een belangrijk deel van hun voedsel. Zij dragen bij aan de bodemstructuurvormende processen. Bodemmonsters werden apart genomen met een deelbare boor vanwege de kwetsbaarheid van potwormen voor mechanische beschadigingen. De monsters zijn bewerkt en geanalyseerd bij het Blgg te Oosterbeek. De potwormen werden uit de grond gehaald met behulp van de natte extractie methode (Didden, 1991). Het is een variant op de oorspronkelijke Baermann Funnel-methode. Hierbij worden schijfjes grond van 2,5 cm dikte op een filterdoek (kaasdoek) in een trechter met water geplaatst. De monsters worden van boven verwarmd waardoor de potwormen naar beneden kruipen en onder in de trechter kunnen worden opgevangen (figuur 8). De potwormen werden geteld, opgemeten en gedetermineerd. De adulten werden tot op soort gedetermineerd en de juvenielen tot opgeslacht. De lengte van de dieren kan worden gebruikt om het versgewicht te berekenen met behulp van regressie vergelijkingen (Abrahamsen, 1973).



Figuur 8: Microscopische opname van een potworm (links) en een overzicht van de trechters in een extractieopstelling (rechts).

2.5.5 Micro-arthropoden

Micro-arthropoden is een verzamelnaam voor mijten (spinachtigen) en springstaarten (primitieve insecten). Meestal staan ze hoger in de voedselketen. Ze eten voornamelijk schimmels, plantenwortels, nematoden of organisch materiaal. Deze dieren leven vaak meer aan de oppervlakte van de bodem omdat ze beter bestand zijn tegen uitdroging. Ook voor de micro-arthropoden werden aparte bodemonsters genomen op vergelijkbare manier als die voor de potwormen. De extractie, determinatie en indeling in functionele groepen is uitgevoerd door de afdeling Ecologie en Milieu van Alterra te Wageningen. De dieren worden in het laboratorium uit de bodem gehaald door middel van een Tullgren-extractie. Dit is een droge variant van Baermann Funnel-methode (figuur 9). Het monster wordt langzaam uitgedroogd doormiddel van verhitting door gloeilampen. De dieren kruipen naar beneden weg van de warmte en vallen vervolgens in een trechter. Ze worden onderin direct in een buisje met alcohol gefixeerd.



Figuur 9: Microscopische opname van een mijt (links) en een overzicht van de Tullgren extractie-apparaten met geopende kap.

Alle dieren worden individueel uit het gefixeerde materiaal geïst en in preparaat gebracht om ze onder de microscoop te determineren. De gevonden soorten werden op twee manieren in functionele groepen ingedeeld naar type voedsel dat gegeten wordt en overlevingsstrategieën (Siepel en De Ruiter-Dijkman 1993; Siepel 1994). De onderscheiden voedselgroepen zijn (vrij vertaald): arthropoden-predator, bacterie-eter, schimmeleter, schimmelgrazer, algemene predator, planteneter, plantengrazer, omnivoor en opportunistische plant/schimmeleter. Bij planteneters (herbivoren) en schimmeleters wordt onderscheid gemaakt tussen dieren die een wortelhaar of schimmeldraad in z'n geheel op eten (de grazers) en soorten die alleen de inhoud opzuigen. Ten tweede is een indeling gemaakt in Life-History Tactics (LHT) op basis van een combinatie van eigenschappen als: wijze van verspreiding, voortplanting, groei en ontwikkeling. De combinatie van eigenschappen levert in principe 12 verschillende functionele groepen op. In dit onderzoek zijn een aantal hoofdeigenschappen weer geclusterd om tendensen beter tot uiting te laten komen. Bovendien zijn een aantal functionele groepen soms slecht vertegenwoordigd waardoor de bruikbaarheid in effectbeoordeling beperkt is.

2.5.6 Vegetatie

De vegetatieopname binnen het TRIADE-onderdeel Ecologie is aanzienlijk uitgebreider uitgevoerd dan in voorgaande locatiestudies. Naast de zaadplanten (volgens Van der Meijden, 1996) zijn tevens de volgende groepen geïventariseerd, korstmossen (taxonomie volgens: Schubert et al. 1994), paddestoelen, mycorrhizaschimmels (bekeken met 10x loep), levermossen en bladmossen (Van Dort et al. 1998) en varens (vaatcryptogamen). De vegetatie-inventarisatie heeft in twee stappen plaats gevonden, in oktober 2001 en augustus 2002.

De vegetatie-inventarisaties zijn gedaan volgens het zogenaamde Zürich-Montpellier systeem. Het geeft een beeld van de vegetatiesamenstelling over een langere termijn. Deze vorm van inventarisatie van planten, die op een vaste plek aanwezig zijn, is voor het eerst beschreven door Braun-Blanquet (1951). Het voordeel van deze methode is het kwantitatieve aspect, in tegenstelling tot een simpele lijst van aangetroffen soorten (de zogenoemde Flora). In het veld werden de voorkomende plantensoorten geïventariseerd op percelen waar de bodemmonsters zijn verzameld. Het voorkomen van plantensoorten wordt op het oog in twee getallen (categorieën) vastgelegd. De dichtheid van een bepaalde soort wordt als 'Abundanz' ingeschat. Dit loopt van 'nauwelijks aanwezig' (meestal maar één plant per perceel), tot zeer frequent voorkomen. De mate van bedekking van de begroeiing ('Dominanz') werd ook ingeschat. De informatie over dichtheid en bedekking wordt gecombineerd in een schaal van zeldzaam (*r*) tot en met 5 (+, 1, 2, 3, 4, 5). Een tweede getal kenmerkt de mate van samengroei van planten van dezelfde soort ('Soziabilität'). Dit is ook een schaal van vijf eenheden. Bijvoorbeeld, een soort die in een perceel met +.3 aangegeven wordt, is een soort die gekenmerkt wordt door veel dicht-bij-elkaar gegroeide planten met lage bedekking. De samenstelling van de vegetatie geeft een beeld van de bodemgesteldheid ter plekke. Dit verschaft informatie over verstoring, voedsel beschikbaarheid, grondwaterstand e.d. De

opnames kunnen in vergelijkende zin gebruikt worden binnen een locatie, maar ook in vergelijking met een goede referentie of met standaardbeschrijvingen als Natuurdoeltypen. In de bijlage is een compleet overzicht opgenomen van de aangetroffen plantensoorten.

2.5.7 Berekening risico-indicator Ecologie

De Zwart et al. (1999) stellen voor om ecologische effecten op een locatie in eerste instantie te bepalen aan de hand van afwijkingen in de soortensamenstelling van planten en/of dieren. Met de beschikbare gegevens is dit in principe te doen voor nematoden, potwormen, micro-arthropoden en de vegetatie.

In het locatie-onderzoek is een bredere bodembioologische analyse gedaan en zijn functionele aspecten bekeken. Gezamenlijk leveren ze een groot aantal (mogelijke) indicatie-getallen op. Per groep organismen is een selectie gemaakt van indicatoren die bij voorkeur onafhankelijk van elkaar zijn en verschillende ecologische aspecten beschrijven. De volgende indicatie-getallen zijn geselecteerd om een gemiddeld ecologisch effect te berekenen:

Bacteriën: 1) thymidine-inbouwsnelheid, 2) bacteriële biomassa, 3) potentiële N-mineralisatie, 4) genetische diversiteit.

Biolog: 1) Hoeveelheid grond nodig voor 50% substraatafbraak in de platen (gg50), 2) diversiteits-indicator (hellingshoek curve).

Schimmels: biomassa van hyphen in de bodem.

Nematoden: 1) aantal taxa op genus-niveau, 2) aantal nematoden per 100g, 3) % planteneters, 4) % cp1, 5) % cp2, 6) % cp3 + cp4 + cp5.

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

Micro-arthropoden: 1) aantal per m², 2) aantal taxa per monster, 3) schimmeleeters, 4) schimmelgrazers, 5) Life History Tactics 2+3+4, 6) LHT9+10, 7) LHT11.

Vegetatie: 1) α-biodiversiteit, 2) vegetatiestructuur, 3) mycorrhiza's.

De berekening is gedaan volgens de methode die ook voor de Bodemkwaliteitsindex (BKX, Schouten et al., 2002) wordt gebruikt. In feite komt dit neer op een geometrisch gemiddelde waarbij de afwijking van de referentie op log-schaal absoluut wordt genomen. De rekenwijze heeft als voordeel dat het verschil tussen 50 % en 100 % net zo zwaar weegt als tussen 100 % en 200 % (een factor 2). Zowel een waarde kleiner als groter dan de referentie wordt als een afwijking gezien. Hoge en lage waarden kunnen elkaar dus niet opheffen in het gemiddelde. De berekening kan in de volgende formule worden samengevat:

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

Hierbij is m de referentie (op 100 % gesteld) en n zijn de meetwaarden, als percentage van de referentie.

De werkwijze kan verduidelijkt worden met het volgende versimpelde voorbeeld:

Stel: referentie = 100 %, waarde in monster 1 = 50 %, waarde monster 2 = 200%

Men krijgt dan:

- 1) log referentie = 2
- 2) log monster is 1,7, resp 2,3
- 3) de verschillen zijn $|2 - 1,7| = 0,3$
en $|2 - 2,3| = 0,3$
- 4) som van de absolute verschillen: $0,3 + 0,3 = 0,6$
- 5) gemiddeld verschil: $0,6 / 2 = 0,3$
- 6) log van 100% minus gemiddeld verschil: $2 - 0,3 = 1,7$
- 7) inverse van de log: $10^{1,7} = 50\%$ (= kwaliteitsindex)

De gemiddelde absolute afwijking wordt hier dus uitgedrukt als een percentage van de referentie. De grootte van het effect is gelijk aan 100 - kwaliteitsindex. Deze kan als effectmaat ook op een 0 - 1 schaal worden gegeven.

Bij afwijkingen kleiner dan de referentie is er een lineair verband met het berekende effect. Afwijkingen boven de referentie worden qua effect afgevlakt door de log-transformatie in de berekening. Dit heeft voordelen voor indicatoren gebaseerd op aantallen, die de neiging hebben om factorieel toe te nemen. De BKX wordt vooral ongevoelig in 'de staart van de curve' bij verschillen hoger dan een factor 10. Deze komen echter niet zoveel voor door de aard van de gekozen indicatoren.

2.5.8 Statistische analyses

Per locatie zijn alle waarnemingen of metingen in drievoud uitgevoerd. Verschillen tussen de locaties zijn vervolgens met variantie-analyse (ANOVA) getoetst op significantie met een betrouwbaarheidsgrens van 95%. De statistische toetsen zijn grotendeels uitgevoerd met het programma Statgraphics. Naast de overall significantie van de ANOVA werden paarsgewijze vergelijkingen gedaan volgens de Tukey Honest Significant Difference methode bij 95% betrouwbaarheid. Hierbij wordt gecorrigeerd voor het aantal ongeplande vergelijkingen tussen proefgroepen. Een randvoorwaarde voor de toepassing van variantie-analyse is dat de waarnemingen normaal verdeeld, en de varianties homogeen zijn. Statgraphics biedt een aantal mogelijkheden om deze aannames te toetsen. In het geval van inhomogeniteit van varianties werden de waarnemingen logaritmisch getransformeerd. Wanneer dit geen oplossing bood is in een aantal gevallen een verdelingsvrije rang-som toets toegepast. Wanneer toetsuitkomsten zijn gebaseerd op log-getransformeerde getallen, dan horen de bijbehorende gemiddelde waarden per locatie in feite ook te worden vermeld op log-schaal of als teruggetransformeerd gemiddelde. Hier is echter van afgeweken bij de presentatie van de resultaten in hoofdstuk 3. In de tabellen is steeds het rekenkundig gemiddelde gegeven. Strikt genomen hoeft de toetsuitkomst niet te gelden voor dit rekenkundig gemiddelde. Een dergelijke probleem doet zich vooral voor wanneer waarnemingen zeer scheef zijn verdeeld. De regressie-analyses, berekening van correlatie-coëfficiënten, en % verklaarde variantie zijn eveneens gedaan met het programma Statgraphics. De regressie-analyse is uitgevoerd met een lineair- en een multiplicatief model. De laatste manier van 'fitten' sluit beter aan op waarnemingen die een log-normale verdeling hebben.

3. Resultaten en discussie

3.1 TRIADE-onderdeel Chemie

In de locatiestudie zijn een groot aantal chemische analyses uitgevoerd aan bodemonsters extracten en 'poriewater'. De monsters hier aangeduid met poriewater zijn een benadering van de werkelijke poriewaterfractie in de bodem. De droge zandgrond werd eerst twee weken verzadigd met water voordat er voldoende vocht aan onttrokken kon worden (zie 2.3.1). In de volgende paragrafen wordt een overzicht gegeven van de meetresultaten en de significante verschillen tussen de locaties. Met deze gegevens zijn tevens partitie-coëfficiënten (K_p) uit veldwaarnemingen af te leiden. De resultaten hiervan zijn vergeleken met K_p -waarden uit ander onderzoek.

Tot slot zijn de chemische analyses gebruikt om een risicoschatting af te leiden volgens de daarvoor gebruikelijke methoden. Tevens is een vergelijking gemaakt van verschillende varianten voor schatting van de toxische druk (zie ook 2.3.2).

3.1.1 Bodemeigenschappen

Op de onderzochte locaties zijn de volgende bodemkenmerken gemeten: zuurgraad, gehalte organische stof, lutumgehalte, kationen-uitwisselingscapaciteit (CEC). In tabel 1 is tevens het totaalgehalte aan calcium, fosfor en de hoeveelheid opgeloste organische koolstof (DOC-poriewater) gegeven. De bodemeigenschappen bepalen de mobiliteit en beschikbaarheid van de metalen die door menselijk handelen in de bodem zijn gekomen.

*Tabel 1: Gemiddelde bodemeigenschappen (n=3, ongetransformeerde waarden) op 5 locaties met verschillende afstand tot de zinkfabriek te Budel (C3 het dichtst bij, C8 is de referentie). Getallen met overeenkomstige superscripten zijn niet significant verschillend. De p-waarde van het ANOVA-model is cursief indien deze gebaseerd is op log-getransformeerde cijfers. $p < 0,05$ wordt significant beschouwd (vet gedrukt). *=enkelvoudige meting aan mengmonster, geen toetsresultaat.*

	C1 (n=3)	C3 (n=2)	C5 (n=3)	C6 (n=3)	C8 (Ref) (n=3)	Significantie (p-waarde)
Bodemkenmerken:						
Zuurgraad (pH-CaCl ₂)	4,4 ^a	4,1 ^{ab}	3,7 ^{ab}	3,3 ^b	4,0 ^{ab}	<i>0,0680</i>
Zuurgraad (pH-KCl)	4,5 ^a	3,4 ^c	3,5 ^{bc}	2,9 ^d	3,8 ^b	0,00001
Zuurgraad (pH-porie)	6,1 ^a	4,1 ^b	4,4 ^b	3,5 ^b	4,7 ^{ab}	0,0034
Org. stof (% gloeiverl.)	3,4	3,0	3,4	4,1	0,9	<i>0,0536</i>
Lutum (%)*	1,02	0,92	0,73	0,53	0,20	
CEC (Cmol ⁺ /kg)*	5,90	1,90	4,80	1,60	0,40	
DOC (mg/l poriewater)	56,5	24,1	41,5	58,1	16,7	0,3139
Calcium (mg/kg)	761,7 ^a	70,4 ^b	0 ^b	107,5 ^b	241,8 ^b	0,0024
Fosfor (mg/kg)*	548,0	25,0	17,0	32,0	5,0	

Een aantal van deze bodemeigenschappen wordt tevens gebruikt bij de berekening van de toxische druk (bodemtype-correctie) of modellen voor biobeschikbaarheid.

De verschillende pH-metingen laten dezelfde trend zien. De hoogste waarde wordt gevonden in monsterpunt C1 (voormalige landbouwgrond) en de laagste in C6 (open plek in bos). Ondanks dat gezocht is naar monsterplekken met een identieke zuurgraad, is de onderlinge variatie toch nog een hele pH-eenheid. De variatie van de pH binnen de locaties is meestal klein, en blijft het laagst bij de $\text{pH}_{(\text{KCl})}$ -metingen. De variatie-coëfficiënt ($\text{VC} = \text{st.dev.} / \text{gemiddelde}$) is hier maximaal 6,7% (C5). Bij de andere methoden van pH-meting werd respectievelijk een maximale VC gevonden van 21% ($\text{pH}_{(\text{CaCl}_2)}$, C3) en 20% ($\text{pH}_{(\text{poriew.})}$, C5). Door deze verschillen in (interne) variatie geeft vooral de $\text{pH}_{(\text{KCl})}$ -meting een sterk significant verschil tussen de locaties.

Locatie C1 is een voormalige landbouwgrond. Ondanks dat nadere informatie ontbreekt over 'wanneer en hoe' is het vroegere gebruik nog terug te vinden in de bodem-pH en het calcium- en fosforgehalte van de grond. Het is duidelijk dat bekalking en bemesting heeft plaatsgevonden om de grond meer vruchtbaar te maken. Er is echter geen duidelijk effect op de organische stof in de bodem, of de hoeveelheid opgeloste koolstof in het poriewater. Er lijkt een gradiënt in het lutumgehalte te zijn van C1 naar C8. De verschillen zijn echter gering en niet toetsbaar. Desondanks is er bij de vergelijking tussen verontreinigde locaties met de referentie een reeks van bodemeigenschappen (pH, organische stof, lutum, CEC) die al dan niet significant afwijken, en van invloed zijn op chemische processen en de beschikbare metaalgehalten. Ook hier doet zich dus niet het ideale geval voor dat veldlocaties alleen verschillen in de mate van verontreiniging.

3.1.2 Metaalanalyses

Metaalconcentraties in de bodem kunnen op verschillende manieren worden gemeten. Het meest gebruikelijk en reproduceerbaar zijn de totaalgehalten die verkregen worden uit een destructie met sterk zuur. Het totaalgehalte zegt in principe nog maar weinig over de beschikbaarheid voor, en blootstelling van organismen. Verschillende vormen van milde extracties en het meten van gehalten in poriewater proberen daar een betere benadering voor te zijn. Op microschaal zijn er echter een groot aantal variabele factoren (bodemeigenschappen en klimaat) die bijdragen aan de (chemische) beschikbaarheid van een metaal. Daarnaast is de uiteindelijke biobeschikbaarheid soortspecifiek door de eigenschappen en het gedrag van een organisme. Voor deze complexe materie is er nog geen universele maat of bepalingmethode die altijd de beste afspiegeling is voor de belasting van het ecosysteem. In feite is er nog te weinig bekend over de relatie tussen chemische- en biologische beschikbaarheid.

In dit onderzoek zijn verschillende extractiemethoden toegepast om te zien welke factoren verschillen tussen de locaties. Daarnaast kunnen relaties worden gelegd met de gemeten biologische parameters. In de onderstaande tabellen worden de resultaten van de verschillende metaalanalyses getoond. Daarna wordt ingegaan op de onderlinge relatie tussen de extractiemethoden.

*Tabel 2: Gemiddelde totaalgehaltenes van (zware) metalen in koningswater destructie (n=3, ongetransformeerde waarden), op 5 locaties met verschillende afstand tot de zinkfabriek te Budel (C3 het dichtst bij, C8 is de referentie). Getallen met overeenkomstige superscripten zijn niet significant verschillend. De p-waarde van het ANOVA-model is cursief indien deze gebaseerd is op log-getrans-formeerde cijfers. $p < 0,05$ wordt significant beschouwd (vet gedrukt). *=enkelvoudige meting aan mengmonster, geen toetsresultaat. Interventiewaarde (IW) en streefwaarde (SW) omgerekend voor locatie C1.*

	IW (C1)	SW (C1)	C1 (n=3)	C3 (n=2)	C5 (n=3)	C6 (n=3)	C8 (Ref) (n=3)	Significantie (p-waarde)
Totaal-gehaltenes:								
Zink (mg/kg)	299	58	171,8 ^a	87,2 ^{ab}	43,3 ^{abc}	17,7 ^c	27,1 ^{bc}	<i>0,0032</i>
Lood (mg/kg)	339	54	33,6 ^{ab}	86,7 ^a	38,1 ^{ab}	19,2 ^b	5,9 ^c	<i>0,0001</i>
Cadmium (mg/kg)	7	0,5	1,7 ^a	0,6 ^b	0,3 ^b	0,2 ^b	0,2 ^b	<i>0,0004</i>
Koper (mg/kg)	93	18	11,8 ^a	11,7 ^a	5,8 ^{ab}	2,9 ^{bc}	1,5 ^c	<i>0,0001</i>
Nikkel (mg/kg)	66	11	0,9 ^b	2,4 ^a	0,2 ^b	0,8 ^b	1,1 ^{ab}	<i>0,0065</i>
Chroom (mg/kg)	198	52	5,4	7,2	1,5	4,9	7,4	0,1016
Arseen (mg/kg)	32	17	0 ^b	3,5 ^a	0,1 ^b	0 ^b	0 ^b	<i>0,00001</i>
IJzer (mg/kg)*			396	998	517	505	343	
Mangaan (mg/kg)*			61	16	16	16	14	
Aluminium (mg/kg)*			1132	320	429	227	604	

Uit de metaalanalyses van de grond (tabel 2) blijkt dat er voor bijna alle metalen significante verschillen bestaan tussen de locaties. IJzer, mangaan en aluminium zijn in enkelvoud gemeten aan een mengmonster. Deze verschillen kunnen niet op significantie worden getoetst. De metaalgehaltenes van de onderzochte monsters overschrijden nergens de interventiewaarde en blijven zelf vaak onder de berekende streefwaarde. De bodemtype correctie voor metalen (kolom IW en SW) kan voor alle vijf de locaties worden gebruikt aangezien de verschillen tussen het % lutum en organische stof klein zijn.

De grondmonsters van locatie C1 bevatten gemiddeld het meeste zink. Maar dit gehalte wijkt niet significant af van de andere twee locaties (C3, C5) dicht bij de zinkfabriek. Er is wel een duidelijk verschil met de twee locaties op afstand. De locaties C1 en C3 strijken wisselend met de eer als het gaat om de hoogste metaalconcentraties. De oorzaak hiervan is niet geheel duidelijk. De afstand tot de emissiebron is ongeveer gelijk. Er is een klein verschil in ligging ten opzichte van de windrichting. Hoogst waarschijnlijk zijn het voormalige bodemgebruik en verschillen in bodemeigenschappen (pH, CEC, grondwaterstand?) meer van invloed.

De zwak zure extractie met salpeterzuur (tabel 3) geeft in deze gronden eenzelfde beeld van de metaalgehaltenes als de destructie met koningswater. De verkregen metaalconcentraties zijn vaak bijna net zo groot als de totaal-gehaltenes. De verkregen gehaltenes aan lood zijn in twee gevallen (C3, C6) zelfs nog hoger iets dan het totaalgehalte. Dit is in feite niet mogelijk en moet geweten worden aan de inhomogeniteit van het grondmonster. Ook de salpeterzuur fracties vertonen sterke significante verschillen tussen de locaties. De patronen in de verschillen vertonen veel overeenkomst met die in tabel 2.

Tabel 3: Gemiddelde salperzuur-extraheerbare fracties (HNO_3 0,4 M) van zware metalen. --- = geen betrouwbaar toetsresultaat verkregen. Zie bijschrift tabel 2 voor verdere toelichting.

	C1 (n=3)	C3 (n=2)	C5 (n=3)	C6 (n=3)	C8 (Ref) (n=3)	Significantie (p-waarde)
HNO_3 -fractie						
Zink (mg/kg)	101,8 ^a	19,8 ^b	9,8 ^b	4,7 ^{bc}	1,7 ^c	0,0001
Lood (mg/kg)	32,3 ^{ab}	95,4 ^a	34,9 ^{ab}	22,1 ^b	4,0 ^c	0,00001
Cadmium (mg/kg)	1,8 ^a	0,2 ^b	0,2 ^b	0,1 ^b	0,02 ^b	0,00001
Koper (mg/kg)	9,0	9,8	3,5	1,7	0,4	---
Nikkel (mg/kg)	0,6 ^a	0,2 ^{ab}	0,2 ^b	0,4 ^{ab}	0,2 ^b	0,0117
Chroom (mg/kg)	2,0 ^a	0,9 ^b	0,4 ^c	0,4 ^c	0,6 ^{bc}	0,00001
Arseen (mg/kg)	0,9 ^b	3,4 ^a	1,1 ^b	0,7 ^b	0,5 ^b	0,0001

Metaalgehalten in de calciumchloride-extractie (tabel 4) zijn aanzienlijk lager dan in de twee voorgaand beschreven fracties. Dit is ook te verwachten gezien de lage zoutconcentratie in de extractievloeistof. De metalen worden hierdoor minder snel van het bodemcomplex verdrongen. Alle metalen laten weer significante verschillen zien tussen de locaties en ook de patronen in de verhoudingen tussen locaties zijn in grote lijnen gelijk aan die van de destructie en salpeterzuur-fractie. De metalen lood en koper hebben echter wel een opvallend lagere verhouding tussen de locaties C1 en C3. De concentratie van lood en koper in deze fractie is in monsters van C1 zijn significant lager dan die in C3.

Tabel 4: Gemiddelde calciumchloride-extraheerbare fracties (CaCl_2 0,01 M) van zware metalen. Zie bijschrift tabel 2 voor verdere toelichting.

	C1 (n=3)	C3 (n=2)	C5 (n=3)	C6 (n=3)	C8 (Ref) (n=3)	Significantie (p-waarde)
CaCl_2 -fractie						
Zink (mg/kg)	35,9 ^a	15,8 ^{ab}	6,1 ^b	2,8 ^{bc}	0,6 ^c	0,0002
Lood (mg/kg)	0,04 ^d	9,7 ^a	1,8 ^b	1,1 ^b	0,2 ^c	0,00001
Cadmium (mg/kg)	0,5 ^a	0,2 ^{ab}	0,1 ^{ab}	0,1 ^{bc}	0,01 ^c	0,001
Koper (mg/kg)	0,07 ^b	0,5 ^a	0,1 ^b	0,1 ^b	0,02 ^c	0,00001
Nikkel (mg/kg)	0,1 ^a	0,1 ^{ab}	0,1 ^{ab}	0,2 ^a	0,02 ^b	0,0109
Chroom (mg/kg)	0,01 ^c	0,04 ^a	0,008 ^c	0,02 ^b	0,001 ^c	0,00001
Arseen (mg/kg)	0,04 ^{ab}	0,1 ^a	0,1 ^a	0,1 ^a	0,01 ^b	0,0165

Tabel 5 geeft tot slot een samenvatting van de gehalten die in het bodemvocht van een verzadigd monster zijn gemeten. De concentraties hebben een andere eenheid, ze zijn uitgedrukt in $\mu\text{g/l}$ bodemvocht (poriewater). Er worden nog significante verschillen gevonden voor drie metalen. Vooral lood, in mindere mate cadmium, en mogelijk ook zink in het poriewater zijn gemiddeld lager in C1. Dit zou veroorzaakt kunnen worden door de bekalking en minerale bemesting (zie tabel 1) die heeft plaatsgevonden in de tijd dat de grond voor

landbouw is gebruikt. De drie metalen lijken op C1 minder oplosbaar te zijn. Dit effect speelt waarschijnlijk ook al bij lood en koper in de calciumchloride fractie van C1 en C3.

Tabel 5: Gemiddelde gehalten van zware metalen in 'poriewater'. ---= geen betrouwbaar toetsresultaat verkregen. Zie bijschrift tabel 2 voor verdere toelichting.

	C1 (n=3)	C3 (n=2)	C5 (n=3)	C6 (n=3)	C8 (Ref) (n=3)	Significantie (p-waarde)
Poriewater-fractie						
Zink (µg/l)	764	2789	1003	561	1178	---
Lood (µg/l)	9,8 ^b ^c	154,3 ^a	48,0 ^b	35,5 ^b	5,6 ^c	0,00001
Cadmium (µg/l)	4,0 ^{ab}	15,2 ^a	8,6 ^a	4,7 ^a	0,4 ^b	0,004
Koper (µg/l)	58,0 ^a	39,3 ^{ab}	25,4 ^b	17,8 ^b	4,5 ^c	0,00001
Nikkel (µg/l)	10,0	7,8	8,8	18,9	4,6	0,0619
Chroom (µg/l)	2,9	2,4	3,6	5,7	0,8	---
Arseen (µg/l)	10,3	7,3	8,5	11,5	1,7	0,2437

In de variantie-analyse wordt de spreiding van waarnemingen binnen de locaties vergeleken met die tussen locaties. Dit levert niet expliciet inzicht in de grootte van de variatie rond de gemiddelde metaalgehalten, verkregen met de diverse extractiemethoden. Dit is nader onderzocht aan de hand van de variatie-coëfficiënten (VC). In de bijlagen is een gedetailleerd overzicht opgenomen van alle meetresultaten met bijbehorende beschrijvende statistiek. Hier wordt een korte samenvatting gegeven. In het algemeen kan gesteld worden dat er geen grote of systematische verschillen zijn tussen de variatie-coëfficiënten van de metalen of de extractie-methoden, de gemiddelde VC van alle waarnemingen bedraagt 42%. Zink, lood, cadmium en koper vertonen een spreiding die vrijwel gelijk is bij alle fracties. De gemiddelde VC van zink (40 %) en cadmium (59 %) lijken hoger dan die van lood (27 %) en koper (23 %). De overige metalen (nikkel, chroom, arseen) laten meer spreiding tussen de extractiemethoden zien, maar de gemiddelde waarde wijkt niet af van de eerste vier metalen. De hoogste en laagste aangetroffen VC-waarden zijn respectievelijk 0,5 % (Cr, CaCl₂-fractie, C3) en 173 % (Cr + As, poriew., C8). De laatste wordt mede veroorzaakt doordat twee van de drie metingen een nulwaarde hebben (concentratie niet meetbaar).

3.1.3 Vergelijking van extractiemethoden

De verschillende gebruikte extractiemethoden hebben tot doel een betere benadering te geven van de beschikbare metaalgehalten. De beschikbare metalen in het bodemvocht worden gezien als een belangrijke blootstellingsroute voor organismen. Poriewatermonsters zijn echter vaak lastig te verzamelen, en de voorkomende gehalten zijn variabel in tijd en ruimte door bodem-eigenschappen en weersomstandigheden. Hét poriewatergehalte is dus eigenlijk niet goed te meten, of moet als gemiddelde uit een langere waarnemingsreeks worden geschat. In feite geldt dit ook voor de andere methoden om metaalgehalten in bodem te bepalen, al worden die meer stabiel geacht. Bij deze locatiestudie is een praktische benadering gevolgd voor de analyse van poriewaterconcentraties. Als wordt aangenomen dat

de hier gemeten poriewatergehalten een goede afspiegeling zijn van de werkelijke samenstelling van het bodemvocht, dan is te onderzoeken hoe goed de drie andere extractiemethoden hiermee correleren. In tabel 6 is een overzicht gemaakt van de correlatieve verbanden per metaal. De resultaten blijken te variëren. Alleen bij lood en koper (nikkel) is het gehalte in de poriewater-fractie goed te voorspellen met andere extractiemethoden. Het onderlinge verband tussen het totaalgehalte en de salpeterzuur- c.q. calciumchloride-extractie is meestal beter. De metalen nikkel en chroom (arseen) laten op dit punt een afwijkend patroon zien.

Zink is het belangrijkste metaal in de onderzochte gradiënt. De uitslag van de correlatieberekening met de poriewaterconcentraties wordt sterk beïnvloed door de afwijkende resultaten van locatie C1. Het zinkgehalte in de poriewatermonsters van C1 was laag in vergelijking tot de andere fracties. Dit wordt mogelijk veroorzaakt door de bodem-pH en/of de fosforgehaltes. Wanneer de correlaties worden berekend zonder de waarnemingen van C1 stijgt de coëfficiënt naar 0,53 voor de relatie tussen de analysemethoden in alle drie de combinaties. Het zelfde geldt voor cadmium. Zonder C1 stijgen de correlatiecoëfficiënten naar 0,70.

Tabel 6: Correlatie-coëfficiënten voor het verband tussen 'poriewater-gehalten' van een metaal en concentraties verkregen uit totaal-destructie, salpeterzuur-extractie en calciumchloride-extractie. Correlaties gebaseerd op 13 waarnemingen uit 5 locaties. De waarde varieert tussen 1 of -1 (volledig verband) en 0 (geen verband).

<i>Correlatie-coëfficiënten.</i>	Totaal-gehalte	HNO₃-extractie	CaCl₂-extractie
Zink-poriewater	0,16	0,06	0,19
Zink-totaal		0,90	0,94
Lood-poriewater	0,88	0,92	0,98
Lood-totaal		0,99	0,89
Cadmium-poriewater	0,15	0,03	0,24
Cadmium-totaal		0,96	0,95
Koper-poriewater	0,76	0,75	0,19
Koper-totaal		0,98	0,58
Nikkel-poriewater	-0,26	0,69	0,83
Nikkel-totaal		-0,13	-0,06
Chroom-poriewater	-0,42	-0,14	0,35
Chroom-totaal		0,18	0,04
Arseen-poriewater	-0,28	-0,09	0,55
Arseen-totaal		0,94	0,33

De lokale bodemeigenschappen, zoals die van C1, spelen dus ook op dit schaalniveau een belangrijke rol in de uiteindelijke gehalten van metalen in het poriewater. Deze kunnen het

best geschat worden aan de hand van regressiemodellen die de partitie van metalen beschrijven op basis van de bodemsamenstelling. Dit is voor zink verder uitgewerkt in de volgende paragraaf.

3.1.4 Partitie van zink

Op basis van de gemeten gehalten aan zink, zijnde het metaal dat ten gevolge van emissies in de hoogste gehalten voorkomt in de vaste fase en het poriewater, kunnen partitiecoëfficiënten worden berekend. Partitiecoëfficiënten zijn gedefinieerd als de ratio van het metaalgehalte in de vaste fase en het metaalgehalte in het poriewater:

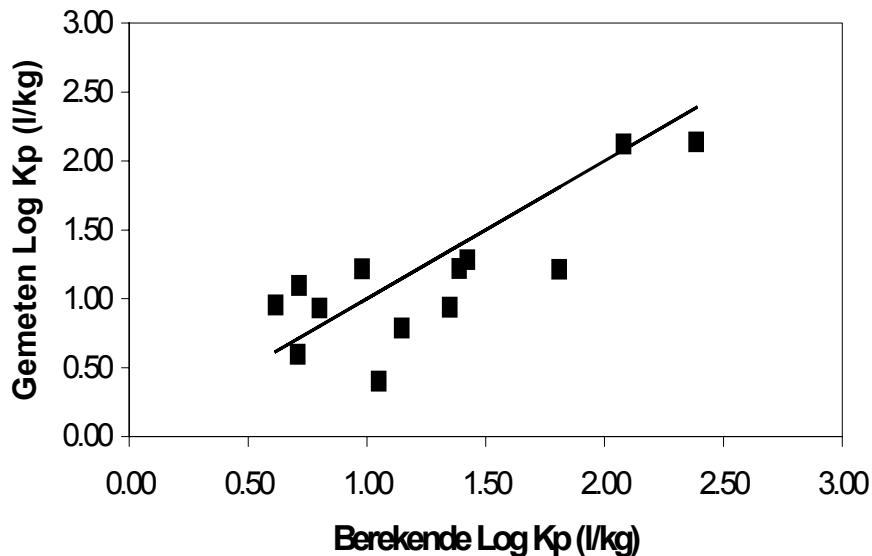
$$K_p = [Zn]_{\text{vaste fase}} / [Zn]_{\text{poriewater}} \text{ (l/kg)}$$

De gevonden K_p -waarden voor zink op de onderzochte locaties zijn samengevat in tabel 7. De partitiecoëfficiënten zijn laag door het geringe gehalte aan organische stof, lutum en de zuurgraad van de bodem. Er zijn echter significante verschillen tussen de locaties. De K_p -waarde van C8-grond is hoger dan verwacht zou worden op basis van de bodemeigenschappen. De effecten hiervan zijn uiteindelijk gering door de lage metaalgehalten op deze locatie. De locaties C3, C5 en C6 zijn relatief kwetsbare gronden, een groot deel van het aanwezige zink komt hier in het poriewater terecht.

Tabel 7: Gemiddelde K_p -waarden van zink (l/kg) op 5 locaties met verschillende afstand tot de zinkfabriek te Budel (C3 het dichtst bij, C8 is de referentie). Zie bijschrift tabel 2 voor verdere toelichting.

Kp-waarden	C1 (n=2)	C3 (n=2)	C5 (n=3)	C6 (n=3)	C8 (Ref) (n=3)	Significantie (p-waarde)
Zink	269 ^a	33 ^b	54 ^b	32 ^b	236 ^a	0,0012

Door De Groot et al. (1998) zijn modellen opgesteld voor het berekenen van de partitie van metalen in landbodems. Deze modellen voorspellen de waarde van de partitiecoëfficiënt op basis van relatief eenvoudig te meten bodemeigenschappen (met name de pH van het poriewater is een belangrijke voorspellende factor). De gemeten partitiecoëfficiënten zijn vergeleken met de voorspellingen die op basis van modellen van De Groot et al. (1998) voor deze gronden kunnen worden gedaan. De resultaten zijn grafische weergegeven in figuur 10



Figuur 10: Vergelijking van log-getransformeerde partitievoëfficiënten (K_p) gemeten voor zink in deze locatiestudie (vierkante symbolen), met de voorspelde partitievoëfficiënten voor dezelfde type bodems op basis van de modellen van De Groot et al. (1998). De lijn in de grafiek ($x=y$) geeft de situatie waarin beide methoden hetzelfde resultaat leveren.

Uit Figuur 10 blijkt dat de gemeten waarden van K_p (blokjes) redelijk overeen komen met de modelmatig voorspelde waarden. Dit betekent dat metaalpartitie in de onderzochte gronden niet wezenlijk afwijkt van metaalpartitie in die meer algemeen voor de Nederlandse bodems geldt. Aangezien het model gebaseerd is op een evenwichtssituatie betekent dit tevens dat er vanuit gegaan kan worden dat er evenwicht bestaat tussen zinkgehalten in het poriëwater en zinkgehalten in de vaste fase. Dit laatste is belangrijk omdat in geval van een niet-evenwichtssituatie de waargenomen effecten in hetzij het veld, hetzij in labtoetsen gedurende de loop van de tijd kunnen veranderen (in zowel positieve als negatieve zin).

Zowel metaalgehalten in de vaste fase als die in het poriëwater hebben geen directe relatie met ecologische effecten. Middels berekeningen van de toxische druk, kan wel een uitspraak gedaan worden over de grootte van de te verwachten (potentiële) effecten. Eén van de mogelijkheden om dit te doen, is het toepassen van de dataset met toxiciteitsgegevens voor aquatische organismen. Deze gegevens worden dan vergeleken met de gemeten poriëwatergehalten. Dit is uitgewerkt in de volgende paragraaf.

3.1.5 Effectberekening TRIADE-onderdeel Chemie

Het gezamenlijk effect van de verontreinigingen werd geschat door de toxische druk te berekenen, en deze uit te drukken op een schaal van 0 tot 1. De waarde 1 (100 %) is het hoogst bereikbare effect. De toxische druk is gebaseerd op de zogenaamde Species Sensitivity Distributions (SSD). De SSD is een model voor het aantal soorten in een ecosysteem dat mogelijk effecten ondervindt bij toenemende verontreiniging. Het verband tussen concentratie en effect heeft (op log-schaal) meestal de vorm van een sigmoïde curve.

Het ecologische effect wordt geschat door de SSD-curve 'af te lezen bij de gevonden concentratie in het milieu (Posthuma et al., 2003). De SSD-curve voor een bepaalde stof hangt af van de geselecteerde experimentele gegevens (sub-set uit de wetenschappelijke literatuur). Tevens kunnen biobeschikbaarheids-correcties worden toegepast. Het effect van een metaalgehalte kan dus op verschillende manieren worden berekend en meerdere uitkomsten leveren. Om verwarring op dit punt te voorkomen is in het project Integrale Normstelling Stoffen (INS) een duidelijk omschreven selectie van toxiciteitsgegevens gemaakt, waarmee verschillende risicogrenzen (Verwaarloosbaar Risico, Maximaal Toelaatbaar Risico, HC₅₀-waarde) zijn vastgelegd (Crommentuijn et al., 1997; Verbruggen et al., 2001).

Tot op heden zijn de formele risicogrenzen voor bodem uitgedrukt in totaalgehalten van stoffen in 'standaard-bodem' (25% lutum en 10% organische stof).

Tabel 8 geeft een overzicht van TD-berekeningen volgens een aantal varianten. In de tabel is de TD van de metaalgehalten op de referentielocatie nog niet op nul gesteld. Dit wordt wel gedaan in de uiteindelijke risicobeoordeling. De TD_{combi}-HC₅₀ komt overeen met de toxische druk-maat die in de voorgaande twee locatiestudie-rapporten is gebruikt. De berekeningen zijn per plot (replica) uitgevoerd zodat statistische vergelijking mogelijk was. Bij de andere varianten is alleen met een locatiegemiddelde gerekend.

De TD_{combi}-HC₅₀ geeft de laagste schatting van de ecologische effecten. Zink, koper en lood leveren de belangrijkste bijdrage aan de toxische druk. De TD-waarden op C1 en C3 zijn significant hoger dan op de andere locaties.

*Tabel 8: Toxische druk (TD) berekeningen voor het gecombineerde effect van zware metalen op 5 locaties met verschillende afstand tot de zinkfabriek in Budel (C3 dichtst bij de fabriek, C8 is de referentie). De schaal loopt van 0 (geen effect) tot 1 (100% effect). Getallen met overeenkomstige superscripten zijn niet significant verschillend. $p < 0,05$ wordt significant beschouwd (vet gedrukt). *=enkelvoudige berekening aan mengmonster, geen toetsresultaat.*

	C1 (n=3)	C3 (n=2)	C5 (n=3)	C6 (n=3)	C8 (Ref) (n=3)	Significantie (p-waarde)
TD _{combi} -HC ₅₀	0,54 ^a	0,55 ^a	0,26 ^b	0,15 ^b	0,17 ^b	0,00001
TD _{combi} -SRA _{eco} *	0,81	0,76	0,49	0,31	0,38	
TD _{combi} -SRC _{eco} *	0,69	0,62	0,35	0,21	0,25	
TD _{combi} -poriewater* (=SRA _{fresh water})	0,99	1,00	0,99	0,97	0,67	

De overige TD-varianten geven een aanzienlijk hogere risicoschatting. In de TD_{combi} gebaseerd op de SRA_{eco} (= 'nieuwe HC₅₀') en SRC_{eco}, komt de verlaging van de HC₅₀ voor een aantal metalen tot uiting. Bijvoorbeeld, de HC₅₀ voor zink gaat van 720 mg/kg naar

respectievelijk 210 mg/kg en 350 mg/kg. Ook de risicogrenzen voor koper, chroom en nikkel zijn naar beneden bijgesteld. Bij de SRC_{eco} gaat men er als het ware van uit dat de achtergrondgehalten (C_b) nog geen effecten veroorzaken. Pas boven de achtergrondwaarde kunnen er negatieve invloeden optreden. Tegen deze redenatie spreekt de mening dat bodemorganismen geen onderscheid kunnen maken tussen metaalionen die 'tot de achtergrondfractie behoren' en ionen die als verontreiniging aangemerkt moeten worden. In het geval van een essentieel metaal, in lage concentraties nodig als spore-element, ligt de situatie anders dan bij een xenobiotische stof. Verschillende benaderingen zijn in deze mogelijk.

Vergelijking van de poriewatergehalten met SRA-waarden voor oppervlakte water geeft een opzienbarende schatting van de toxische druk. Op basis van de oppervlaktewater-normen is er bijna overal effect op alle organismen. Het resulteert op het eerst oog in een onrealistisch hoge schatting van de toxische druk op de onderzochte locaties. Dit wordt mede veroorzaakt door het gegeven dat de onderzochte gronden relatief zuur zijn (gemiddelde pH van het poriewater is 4.5, met als laagste waarde 3.3). Metaal toxiciteit in bodems wordt in hoge mate beïnvloed door de samenstelling van de bodem c.q. het poriewater. Dit is een gevolg van het feit dat er een competitie bestaat tussen het toxische metaalion en de andere in het bodemvocht aanwezige metaalionen. Met name pH (H^+ -ionen), ook calcium, magnesium en natrium zijn belangrijk in dit verband. In het algemeen is het zo dat deze ionen via competitie beschermend werken tegen metaal toxiciteit. Een lage pH leidt in het algemeen dus tot minder toxiciteit. Een nog niet gepubliceerde studie van Iacino en Peijnenburg over de invloed van de samenstelling van het poriewater op de toxiciteit van koper voor regenwormen laat bijvoorbeeld zien dat de toxiciteit van koper voor de regenworm *Apporectodea caliginosa* met een factor 3 afneemt bij verlaging van de pH met 1 eenheid, door competitie met andere positieve ionen.

De meeste toxiciteitstoetsen met aquatische organismen worden uitgevoerd bij relatief hoge pH-waardes (ruwweg tussen 7 en 8). Aangezien verwacht kan worden dat de effecten van pH op zinktoxiciteit vergelijkbaar zullen zijn aan de pH-effecten op kopertoxiciteit, betekent dit dat bij gebruik van aquatische toetsen voor Budel-gronden al snel een overschatting van de toxiciteit met een factor 10 wordt verkregen. Bovendien is dan de beschermende werking van andere macronutriënten in het poriewater niet meegenomen. Al met al kan geconcludeerd worden dat het gebruik van aquatische toetsresultaten in geval van zure gronden tot een overschatting van de toxische druk zal leiden. Deze aanpak levert mogelijk alleen in geval van gronden met een relatief hoge pH een redelijk betrouwbare schatting van de toxiciteit op.

3.2 TRIADE-onderdeel Toxicologie

In dit TRIADE-onderdeel werden drie toxiciteitstoetsen uitgevoerd. De PAM-algentoets is te beschouwen als een ‘tier 1 experiment’ (alhoewel op dit moment alleen het RIVM deze test kan uitvoeren). Het is een snelle en relatief goedkope toets in een waterig bodemextract.

Daarnaast zijn bioassays uitgevoerd met radijs en springstaarten. Deze zijn te beschouwen als ‘tier 2’. Het zijn toetsen van langere duur (dagen tot weken), uitgevoerd met de bemonsterde grond van de veldlocaties. Tier 2 bioassays geven informatie die meer gedetailleerd en veld-relevant is. De kosten voor het uitvoeren zijn navenant hoger.

De resultaten van de uitgevoerde testen worden hieronder kort beschreven.

3.2.1 Uitgevoerde toxiciteitstesten

PAM-algentest

De resultaten van de PAM-algentest laten een duidelijke significante remming zien bij de monsters van locatie C1 en C3 (tabel 8). In C5 is de fotosynthese-remming minder, en net niet meer significant verschillend van de referentie. Locatie C8 gaf een remming van 4,4 % in het 100 % extract, ten opzichte van de interne standaard die in de PAM-test wordt gebruikt.

De spreiding in de waarnemingen binnen een locatie is het grootst in C6. De variatiecoëfficiënt is hier 68%. Op de andere locaties ligt de VC tussen 11% en 35%. De concentraties van de metalen in het PAM-test-extract zijn apart gemeten omdat de methode enigszins afwijkend is van de chemische bepalingen beschreven in het vorige hoofdstuk. De resultaten van metaalgehalten in PAM-extracten zijn opgenomen in de bijlagen. Ze vertonen grote overeenkomst met metingen in ‘poriewater’.

Radijs

Het hoogste kiempercentage van het radijszaad werd bereikt op de C3 en C5 grondmonsters, beide 77 % zes dagen na zaaien (tabel 9). Het laagste gemiddelde percentage kieming werd gevonden bij C6. De referentiegrond C8 had een kiempercentage van 67%. De kieming, en de wijze waarop dit wordt gevolgd zijn te ongevoelig om significante verschillen te onderscheiden. Vier weken na kieming werden de bladeren en de knollen geoogst en gedroogd. Locatie C1 gaf een opmerkelijk hoog drooggewicht van zowel de bladeren als de knol. Dit hangt ongetwijfeld samen met het hoge kalk en fosforgehalte in de grondmonsters van locatie C1 (zie tabel 1). Radijsplanten op de grond van C3 ontwikkelden bijna geen knol, het blad heeft hier ook het laagste gemiddelde gewicht. Er zijn echter geen significante verschillen met andere locaties, afgezien van C1. De gereduceerde ontwikkeling van de radijsknol bij C3 t/m C8 komt ook goed tot uiting in de verhouding blad-/knolgewicht. De verschillen tussen C3 en C5 zijn niet significant, waardoor geen effecten van metaalbelasting kunnen worden aangetoond. De voedingsstoffen-concentratie en pH lijken een belangrijke rol te spelen in de groeiprestaties van de radijsplanten. Blijkbaar waren de toegevoegde hoeveelheden voedingsmedium niet voldoende om dit effect uit te sluiten.

Tabel 9: Resultaten bioassays (PAM-algentest, groei radijs, overleving springstaarten) in bodemextracten en grondmonsters van 5 locaties met verschillende afstand tot de zinkfabriek in Budel (C3 dichtst bij de fabriek, C8 is de referentie). Getallen met overeenkomstige superscripten zijn niet significant verschillend. De p-waarde van het ANOVA-model is cursief indien deze gebaseerd is op log-getransformeerde cijfers. $p < 0,05$ wordt significant beschouwd (vet gedrukt).

	C1 (n=3)	C3 (n=3)	C5 (n=3)	C6 (n=3)	C8 (Ref) (n=3)	Significantie (p-waarde)
PAM % remming	45,6 ^b	70,5 ^a	27,4 ^{bc}	15,9 ^c	4,4 ^c	0,00001
Radijs kieming (%)	63	77	77	37	67	0,3004
Gewicht blad (g.dgw)	0,93 ^a	0,20 ^b	0,49 ^b	0,29 ^b	0,40 ^b	0,0008
Gewicht knol (g. dgw)	0,69 ^a	0,03 ^b	0,14 ^b	0,06 ^b	0,07 ^b	0,0005
Gew. blad/gew. knol	1,60 ^a	7,89 ^b	3,95 ^{ab}	6,47 ^{ab}	6,19 ^{ab}	0,0425
Overleving <i>Folsomia</i> . <i>candida</i> (%)	65 ^a	81 ^b	85 ^{bc}	94 ^c	84 ^{bc}	0,0002

Springstaarten-test

Overleving van de springstaarten soort *F. candida* op Budelgrond was het hoogst op Budel C6 grond. Van de 5 replica's met ieder 10 ingezette adulten overleefden er gemiddeld 94% (tabel 9). Mogelijk heeft dit te maken met het feit dat de grondmonsters van C6 uit een open plek in het bos kwamen. Bosgrond is een natuurlijk habitat voor *F. candida*. Op de referentiegrond C8 was de overleving even groot als op C5, gemiddeld respectievelijk 8,4 en 8,5 van de 10 dieren die ingezet zijn. Alleen de overleving op locatie C1 is significant lager dan in alle anderen. Het lijkt er op dat hier nog andere factoren in het spel zijn dan alleen de gehalten aan zware metalen. De resultaten van de springstaartentest komen goed overeen met vergelijkbare experimenten. Smit en Van Gestel (1996) vonden na 4 weken blootstelling aan Budelgrond, afkomstig binnen een afstand tot 1,6 km tot de Zinkfabriek, een overlevingspercentage van 70 %. De overleving in de LUFA standaardgrond was gemiddeld 94%. Volgens het ISO-voorschrift is 20 % sterfte in de blanco toegestaan (ISO, 1998).

3.2.2 Relaties met chemische bodemeigenschappen

In principe zijn een zeer groot aantal combinaties te onderzoeken tussen de biologische variabelen, verschillende metaalfracties en bodemeigenschappen. Daarbij dient ook rekening te worden gehouden met onderlinge correlaties en kan tevens naar niet-lineaire of multiële verbanden worden gezocht. De dataset met meerdere x- en y-variabelen zou geordend kunnen worden met een multivariate analyse. Voor de overzichtelijkheid is hier slechts een deel van de mogelijke relaties met de metaalgehalten uitgewerkt. De interesse gaat primair uit naar de invloed van de belangrijkste zware metalen in het poriewater en enkele (significante) bodemeigenschappen. Deze relaties zijn met behulp van eenvoudige (univariate) regressiemodellen onderzocht. Dit is gedaan met een lineair- en multiplicatief model omdat veel variabelen log-

normaal zijn verdeeld. Aangezien er een sterk verband is tussen totaalgehalten en de salpeterzuur- en calciumchloride-extraheerbare fracties zijn alleen de resultaten van regressie-analyses met totaalgehalten weergegeven naast die van poriewater.

Tabel 10: Percentage verklaarde variantie (R^2) van regressiemodellen ($Y=a+bX$) voor het verband tussen 'poriewatergehalten' c.q. totaalgehalten van zware metalen en effecten in toxiciteitstoetsen. R^2 -waarden uit een multiplicatief model ($Y=aX^b$) zijn cursief weergegeven. Significante regressiemodellen ($p < 0,05$) zijn vet gedrukt.

% verklaarde variantie (R^2).	PAM (% groeiremming)	Radijs (drooggew. blad)	Springstaart (% overleving)
pH-poriewater	2	66	70
Calcium-totaal	6	65	64
% organische stof	55	3	3
Opgeloste org. koolstof (DOC)	17	2	0,7
Zink-poriewater	83	6	2
Zink-totaal	48	43	67
Lood-poriewater	67	19	9
Lood-totaal	91	4	3
Cadmium-poriewater	69	6	0,7
Cadmium-totaal	39	56	68
Koper-poriewater	75	44	49
Koper-totaal	91	15	35

In tabel 10 zijn de resultaten samengevat van de regressiemodellen (lineair of multiplicatief) met de beste fit. Dit komt onder andere tot uiting in de hoeveelheid verklaarde variantie. Met andere woorden, welk gedeelte in de spreiding van een 'afhankelijke variabele' kan verklaard worden door bodemeigenschappen of gehalten aan metalen? Met name in een gradiëntstudie is de onderlinge correlatie van metaalgehalten en bodemeigenschappen een probleem voor de verklaring van effecten. De meeste combinaties van metalen hebben onderling een correlatiecoëfficiënt tussen 0,7 en 0,8. Ook is er vaak een sterk verband met de pH. De waarden voor de verklaarde variantie in tabel 10 zijn dus niet onafhankelijk maar geven een indicatie van de factoren die het meest bijdragen aan de effecten in de toxiciteitstoetsen. De effecten in de PAM-toets blijken het best verklaard te kunnen worden door het totaalgehalte aan lood of koper. Ook de andere metalen en poriewaterconcentraties leveren een goede verklaring, doch minder significant. Bij zink en cadmium geven juist de gehalten in poriewater het beste verband met de gemeten remming van de fotosynthese. De PAM-test wordt uitgevoerd in een medium met een vaste pH-waarde. Hierdoor is er geen verband met de oorspronkelijke zuurgraad van het monster. Mogelijk komen hierdoor ook de metaaleffecten duidelijker tot uiting.

De effecten op radijs (drooggewicht blad) worden het sterkst gestuurd door de zuurgraad en zijn verder gecorreleerd met het totaalgehalte aan cadmium in de grondmonsters. In grote lijnen geldt hetzelfde voor het % overleving in de springstaart-toets. Het is opvallend dat totaalgehalten vaak beter de effecten verklaren dan de poriewaterconcentraties. Hierbij moet wel opgemerkt worden dat chemische analyses (van veldmonsters) mogelijk niet 1 op 1 aansluiten bij omstandigheden tijdens de uitvoering van de toets.

3.2.3 Effectberekening TRIADE-onderdeel Toxicologie

De effecten in de bioassays kunnen berekend worden door de resultaten per locatie te vergelijken met een 'absolute' of de lokale referentie, en deze als fractie van de referentie uit te drukken. In bepaalde testen kunnen standaarden worden meegenomen in de vorm van OECD-medium (kunstgrond) of zogenaamde LUFA-grond. Parameters als % overleving en kieming hebben een maximumwaarde (100 %) die gehaald kan worden. In tabel 11 zijn effecten weergegeven te opzichte van een absolute referentie indien dit mogelijk is. Daardoor wordt ook het effect van de omstandigheden in de lokale referentie op de bioassay ook zichtbaar. In de overige gevallen is de gemiddelde waarde van de betreffende meting in monsters van C8 op nul gesteld.

Tabel 11: Effectmaten op basis van bioassays (PAM-algentest, groei radijs, overleving springstaarten) in bodemextracten en grondmonsters van 5 locaties met verschillende afstand tot de zinkfabriek in Budel (C3 dichtst bij de fabriek, C8 is de referentie). De schaal loopt van 0 (geen effect) tot 1 (100% effect).

Effecten (0-1 schaal)	C1 (n=3)	C3 (n=3)	C5 (n=3)	C6 (n=3)	C8 (Ref) (n=3)
PAM % remming	0,46	0,71	0,27	0,16	0,04
Radijs kieming (%)	0,37	0,23	0,23	0,63	0,33
Gewicht blad (g.dgw)	0,57	0,50	0,17	0,28	0
Gewicht knol (g. dgw)	0,89	0,62	0,48	0,12	0
gew. blad/gew. knol	0,74	0,22	0,36	0,04	0
Overleving <i>Folsomia. candida</i> (%)	0,35	0,19	0,15	0,6	0,16

De berekende effecten zijn in vrijwel alle bioassays het grootst bij de locaties C1 en C3. Zoals in het voorgaande al gebleken is, moeten effecten worden toegeschreven aan verhoogde zware metaalgehalten en bodemeigenschappen als pH en nutriëntenrijkdom. Dit geldt ook voor de boslocatie C6. Voor de groei van radijs (gewicht blad c.q. knol) is geen interne standaard beschikbaar. Deze kengetallen zijn dus geschaald ten opzichte van C8. Er is wel vergelijkingsmateriaal uit een voorexperiment waarbij radijs is opgekweekt op potgrond. De planten werden hier ruim 3 keer zwaarder dan de best groeiende exemplaren op C1. De verschillen met de groeiprestaties in C8-grond zijn nog enkele malen groter. De

eigenschappen van potgrond (pH, organische stof, nutriënten) vormen waarschijnlijk eerder een optimum voor de groei van radijs dan een geschikte referentie voor de gebruikte veldbodems.

Indien van toepassing, zijn de berekende effecten per bioassay gemiddeld voordat ze werden gebruikt in de TRIADE-beoordeling van de locaties. Hierbij werden tevens alle indicatoren (opnieuw) geschaald naar de lokale referentie. De TRIADE-beoordeling is apart beschreven in paragraaf 3.4

3.3 TRIADE-onderdeel Ecologie

Voor het TRIADE-onderdeel ecologie zijn analyses gedaan aan microbiologische eigenschappen en de soortensamenstelling van verschillende groepen bodemdieren. Daarnaast zijn vegetatieopnames gemaakt van hogere en lagere plantengroepen. Op basis van snelheid en analysekosten kunnen vegetatieopnames, nematodensamenstelling en microbiologische metingen beschouwd worden als Tier 1 onderzoek, al wijken de overige waarnemingen aan veldmonsters (potwormen, micro-arthropoden) qua methodiek niet wezenlijk af. In Tier 2 passen de Biologmetingen en het onderzoek naar genetische aanpassingen binnen de bodembacteriën (PICT). In de hoogste Tier zouden bijvoorbeeld veldmetingen aan afbraak- en mineralisatieprocessen passen of kan een voedselwebanalyse/-modellering gedaan worden. De hoogste Tier is niet toegepast in deze locatiestudie.

3.3.1 Bacteriën en schimmels

Binnen de microbiologische analyses kunnen verschillende soorten metingen worden onderscheiden, ze zijn samengevat in tabel 12.

Tabel 12: Gemiddelde waarden van microbiologische eigenschappen (n=3, ongetransformeerde waarden) in grondmonsters van 5 locaties met verschillende afstand tot de zinkfabriek in Budel (C3 dichtst bij de fabriek, C8 is de referentie). Getallen met overeenkomstige superscripten zijn niet significant verschillend. De p-waarde van het ANOVA-model is cursief indien deze gebaseerd is op log-getransformeerde cijfers. $p < 0,05$ wordt significant beschouwd (vet gedrukt). --- = geen betrouwbaar toetsresultaat verkregen.

Bodembacteriën en schimmels	C1 (n=3)	C3 (n=2)	C5 (n=3)	C6 (n=3)	C8 (Ref) (n=3)	Significantie (p-waarde)
Bacteriële biomassa ($\mu\text{g C/g drooggew.}$).	73,6	37,9	30,4	38,9	42,2	0,59
Thymidine inbouw- snelheid (pmol/g.uur).	27,2 ^a	0,4 ^d	3,4 ^{bc}	2,3 ^c	5,0 ^b	0,00001
Leucine inbouw- snelheid (pmol/g.uur).	327 ^a	124 ^c	106 ^{cd}	80 ^d	187 ^b	0,00001
Pot. N-mineralisatie (mg N/ kg.week).	6,3 ^a	7,5 ^a	5,9 ^a	7,1 ^a	1,9 ^b	0,0036
Pot. C-mineralisatie (mg C/kg.week).	69,4	110,8	67,7	68,1	59,0	---
Genetische diversiteit (aantal DNA-banden).	64,0 ^a	60,7 ^{ab}	53,7 ^{bc}	48,0 ^c	50,3 ^c	0,0005
Schimmelbiomassa ($\mu\text{g C/g drooggew.}$).	16,9 ^{ab}	33,5 ^c	30,0 ^{bc}	10,3 ^a	112,4 ^d	0,00001

Het aantal bacteriecellen en de grootte daarvan bepaalt samen de aanwezige biomassa. De gemiddelde waarde hiervan lijkt het hoogst op locatie C1 (voormalige landbouwgrond), de verschillen zijn echter niet significant. De thymidine- en leucine-inbouwsnelheid zijn maten voor de groeisnelheid van bacteriën, gebaseerd op de DNA- en eiwitsynthese in de bacteriecel. Deze activiteitsmaten vertonen wel duidelijke verschillen tussen de locaties. Het is opvallend dat de synthese-activiteit het hoogst is in monsters van C1. Dit hangt waarschijnlijk samen met de hoeveelheid voedingsstoffen (calcium en fosfor) die aanwezig is op deze locatie. In vergelijking met de referentie lijkt de DNA-synthese het meest duidelijk geremd door het gehalte aan metalen in de bodem (locaties C3 en C5). Een zelfde beeld, doch wat minder scherp, komt naar voren uit de cijfers voor de eiwitsynthese. Beide activiteitsmaten zijn op locatie C6 significant lager dan in de referentie. Aangezien dit niet kan worden veroorzaakt door de metaalconcentraties, is waarschijnlijk de lage bodem-pH van deze bosgrond een belangrijke factor.

De potentiële stikstof-mineralisatie lijkt niet beïnvloed te worden door de metaalgehalten in de bodem. De mineralisatiecapaciteit is significant lager op de referentielocatie.

De genetische diversiteit van bodembacteriën is ten opzichte van de referentie significant hoger op de meest verontreinigde locaties (C1, C3). Dit lijkt in eerste instantie vreemd omdat een selectie op tolerante genotypen wordt verwacht. Mogelijk is er op de locaties C1 en C3 sprake van een heterogener milieu in de bodem dat aanleiding geeft tot een grotere diversiteit binnen de microflora.

De hoeveelheid schimmeldraden in de bodem vertoont grote verschillen tussen de locaties. De grondmonsters van de referentie bevatten veruit de best ontwikkelde mycoflora. In dit opzicht is de schimmelbiomassa in de (zure) bosgrond van C6 opvallend laag. Mogelijk is hier toch sprake van een verstoorde of jonge bodem aan de rand van het ven. De hoeveelheid schimmels in de bodem van de voormalige landbouwgrond (C1) is significant lager dan op de andere verontreinigde locaties (C3 en C5). Waarschijnlijk zijn dit effecten van grondbewerking, kunstmest en bekalking.

3.3.2 CLPP en PICT

In het laboratorium zijn analyses gedaan aan de microbiële gemeenschap in de grondmonsters. Er zijn twee typen analyses uitgevoerd, namelijk een karakterisering van de functionele diversiteit van de microbiële gemeenschap (CLPP = community-level physiological profile) en een PICT-experiment om de verandering in gevoeligheid voor zink vast te stellen (PICT = pollution induced community tolerance). Tevens is de bacteriële dichtheid bepaald in de vorm van het aantal bacteriekolonie vormende eenheden (CFU). Uit de multivariate analyse (PCA/RDA) van de functionele diversiteit (CLPP) blijkt dat monsters groeperen in sets van drie, volgens de opzet van de monstercampagne. Dit betekent dat de verschillen tussen dicht bij elkaar gelegen monsterplots klein zijn ten opzichte van de verder liggende locaties. De conclusie is dat de heterogeniteit op lokaal niveau geen obstakel is voor dit type analyse. Tevens bleek dat de monsters C1 en C6 de meest afwijkende (hoog

of laag) diversiteit vertoonden. Dit komt overeen met het gegeven dat een aantal bodemeigenschappen van deze monsters afwijken van de monsters C3, C5 en C8.

Uit de zoektocht naar de verklarende abiotische factoren in de multivariate benadering bleek dat alleen de bodem-pH een significant effect had op de functionele eigenschappen van de gemeenschap. Er konden geen significante effecten van metalen worden aangetoond. Als de verontreiniging toch effecten veroorzaakt, worden die blijkbaar bij deze analyse overschaduwd door verschillen in de bodem-pH (zogenaamde confounding factoren). In dat geval zou in theorie wel een metaaleffect kunnen worden aangetoond door een groter aantal monsters te nemen waarmee het onderscheidend vermogen groter wordt.

In tabel 13 zijn een aantal deelresultaten uit de CLPP-meting samengevat. De bacteriedichtheid in de bodem, uitgedrukt in de hoeveelheid kweekbare cellen, verschilt niet significant tussen de locaties. Dit komt overeen met de bepaling van de bacteriële biomassa die op een andere manier werd gemeten (zie tabel 12). De log CFU50-AWCD (average well color development) geeft aan hoeveel bacteriën nodig zijn om de helft van de maximale kleuring in de biologplaat te bereiken. Het is als het ware een gecombineerde maat voor activiteit en diversiteit. De log CFU50-AWCD is het laagst in C1 en C8. C6 wijkt significant naar boven af. Zoals uit de multivariate analyse bleek vallen deze verschillen primair samen met variaties in de bodem-pH. Kengetallen als de helling van de AWCD-curve en de gg50 geven dezelfde tendensen aan. De helling van de curve is een maat voor de diversiteit van de bacterie-gemeenschap. Wanneer er slechts één 'soort' aanwezig is wordt de waarde 1. Alhoewel de verschillen niet toetsbaar zijn geven de gemiddelden aan dat de diversiteit het hoogst is in monsters van C1 en het laagst in C6.

Tabel 13: Gemiddelde waarden uit CLPP en PICT van de bacteriële community, in grondmonsters van 5 locaties met verschillende afstand tot de zinkfabriek in Budel (C3 dichtst bij de fabriek, C8 is de referentie). AWCD= average well color development. CFU= colony forming units. Zie verder bijschrift tabel 12.

Bodembacteriën	C1 (n=3)	C3 (n=3)	C5 (n=3)	C6 (n=3)	C8 (Ref) (n=3)	Significantie (p-waarde)
Log CFU/g grond	7,01	7,29	7,17	6,98	6,90	0,2677
Log CFU50-AWCD	4,56 ^a	5,26 ^{abc}	5,29 ^{bc}	5,66 ^c	4,80 ^{ab}	0,0033
Helling AWCD-curve	0,44	0,45	0,51	0,57	0,49	---
gg50 (mg grond)	3,56 ^a	9,50 ^{ab}	15,53 ^b	49,69 ^c	8,07 ^{ab}	0,0002
PICT EC ₅₀ -zink* (mg/l)	138	361	385	101	-	

De gg50 combineert gegevens over de bacteriedichtheid in de grondmonsters met die over activiteit en diversiteit. De maat geeft aan hoeveel grond er nodig is om 50% kleuring in de biolog-plaat te bereiken. Van een grondmonster met hoge bacteriedichtheid, diversiteit en activiteit is minder nodig om het 50% niveau te bereiken. De gg50 geeft de grootste

significante verschillen. Locatie C6 vertoont de minst actieve bacterie-gemeenschap. Deze conclusie stemt ook overeen met activiteitsmetingen en diversiteit van DNA uit tabel 12.

Met een analyse van PICT, kan het ‘confounder effect’ grotendeels worden uitgeschakeld. Bodemeigenschappen (bijvoorbeeld pH) spelen een ondergeschikte rol omdat de toxiciteitstoets wordt uitgevoerd binnen ieder monster afzonderlijk. In tabel 13 zijn de resultaten van de PICT-metingen weergegeven. Het experiment met C8 is mislukt door een te hoge kleuringsdichtheid in de plaat. Het levert een onbetrouwbare schatting van de EC_{50} op. Van de resterende monsters had de bacteriële gemeenschap van C6 de hoogste gevoeligheid (laagste EC_{50}) voor zink. C6 is daarom als referentie gekozen. De verdeling van de gevoeligheden per gemeenschap is vervolgens gebruikt om een effect op een schaal van 0 tot 1 uit te rekenen. De waarden zijn gekoppeld aan de effecten van zink, omdat dit metaal in de test is gebruikt. Vanwege de complexiteit is de methode om PICT te meten niet geschikt voor eenvoudige (tier 1) risicobeoordeling. De methode heeft bewezen zeer gevoelig te zijn (Rutgers et al., 1998a; 1998b), maar vooralsnog is geen herschaling overwogen.

3.3.3 Nematoden

De nematoden (aaltjes) werden met een spoel-/zeefmethode uit de bodemmonsters gehaald. De aantallen zijn vervolgens geteld en na fixatie zijn de dieren op naam gebracht met behulp van een lichtmicroscop. De gevonden soorten zijn ingedeeld naar functionele groepen op basis van voedingstype en overlevingsstrategie. De indicatorwaarden (kengetallen) zijn getoetst op verschillen tussen locaties. Een selectie van deze resultaten is gebruikt voor de ecologische risicoschatting.

Tabel 14 geeft een overzicht van de nematodenanalyses. Als eerste valt op dat het totaal aantal nematoden in monsterpunt C1 gemiddeld het hoogst is en in C8 het laagst. C1 en C5 verschillen significant van C8. Met name bacterie-etende nematoden reageren sterk op de voedselbeschikbaarheid in de bodem. De totale dichtheid op locatie vertoont waarschijnlijk nog de invloed van het voormalig gebruik als landbouwgrond. Het aantal bacterie-etters lijkt een relatie te vertonen met de bacteriële biomassa (zie tabel 12), alhoewel de verschillen met andere locaties niet significant aantoonbaar zijn.

Het gemiddeld aantal ‘soorten’ (taxonomische eenheden) verschilt niet tussen de locaties. Toch zijn in de monsters van C1 in het totaal 45 taxa aangetroffen tegen 35 op C8. De Maturity Index (MI) is een maat voor de verhouding tussen groepen met een meer of minder opportunistische levenswijze. Voedselverrijking van de bodem, bijvoorbeeld door organische mest, is goed herkenbaar in een lage waarde van de index. Een rijpe en ongestoorde bodem heeft een MI tussen de 2,5 en 3,5. Daarnaast zijn verschillende andere ecologische processen te herkennen in de afzonderlijke cp-groepen die ten grondslag liggen aan de MI. De MI is het laagst op locatie C1 en het hoogst in C8. In de monsters van C1 komt duidelijk een hoger aantal cp1-dieren (opportunisten) voor. Locatie C8 valt op door het hoge aandeel van de cp-klassen 3+4+5. Dit zijn de verstoringsgevoelige soorten.

De indeling in voedselgroepen geeft een andere doorkijk en eventueel een nadere differentiatie. In dit geval zijn de voedselgroepen echter minder onderscheidend dan de

indeling in cp-klassen. Alleen het aandeel van de omnivore soorten vertoont duidelijk significante verschillen. De omnivore en carnivore nematoden vormen een groot deel van de cp3+4+5 groep. Deze resultaten overlappen elkaar dus.

Tabel 14: Gemiddelde waarden nematodenfauna in grondmonsters van 5 locaties met verschillende afstand tot de zinkfabriek in Budel (C3 dichtst bij de fabriek, C8 is de referentie). Zie verder bijschrift tabel 12.

Nematoden	C1 (n=3)	C3 (n=3)	C5 (n=3)	C6 (n=3)	C8 (Ref) (n=3)	Significantie (p-waarde)
Aantal per 100g grond	4310 ^a	2789 ^{ab}	3948 ^a	2803 ^{ab}	1978 ^b	0,0126
Aantal Taxa	25,0	19,6	24,3	20,0	24,6	0,1524
Maturity Index	1,83 ^a	2,11 ^{ab}	2,34 ^{bc}	2,13 ^{ab}	2,58 ^c	0,0005
% cp1	33,0 ^a	3,4 ^b	4,9 ^b	8,1 ^b	3,5 ^b	0,0032
% cp2	57,7 ^a	87,7 ^b	70,5 ^{ab}	73,4 ^{ab}	57,7 ^a	0,0171
% cp3+4+5	9,2 ^a	8,9 ^a	24,6 ^{ab}	18,7 ^{ab}	38,8 ^b	0,0045
% bacterie-eters	66,7	50,2	54,4	45,5	46,5	0,1165
% carnivoren	1,5	2,4	5,7	0,7	3,6	0,0864
% omnivoren	0,7 ^a	2,4 ^{ab}	4,6 ^b	0,9 ^a	14,0 ^c	0,0001
% planteneters	24,3	22,8	14,8	31,1	15,4	0,2484
% schimmeleters	5,8	22,1	20,6	21,6	20,3	0,0718

Tot slot is het opvallend dat er geen verband wordt gevonden tussen het aandeel schimmel-etende nematoden en de schimmelbiomassa op locatie C8 (tabel 12). Op C1 na, is het percentage schimmeleters ongeveer gelijk op alle bemonsterde locaties, en komt het meest overeen met het aandeel in bosgrond. De groep schimmeleters bevat echter maar een paar soorten, waarvan bovendien niet duidelijk is in hoeverre deze ook op haarwortels van planten kunnen leven. Omgekeerd kan dit ook de reden zijn voor het relatief hoge percentage planteneters in de boslocatie C6.

3.3.4 Potwormen

Potwormen (Enchytraeidae) zijn nauw verwant aan de regenwormen, ze hebben een overeenkomstige anatomie (bouwplan). Qua grootte en functie wijken ze echter af van de regenwormen. Potwormen zijn enkele millimeters lang, meestal wit van kleur of transparant. Ze komen in grote aantallen voor (10^2 tot $10^6/\text{m}^2$) en de soortenrijkdom is tamelijk gevarieerd (10-20 taxa). Potwormen zijn kwetsbaar voor mechanische beschadiging, doordat ze slechts een dunne huid bezitten. Dode potwormen vallen zeer snel uit elkaar. Op de afzonderlijke monsterplots (drie per locatie) werd een speciale boorkern genomen voor de analyse van de voorkomende potwormen. De resultaten van de tellingen en determinaties staan in tabel 14. Het aantal potwormen per m^2 laat een oplopende trend zien met toenemende afstand tot de fabriek. De spreiding tussen de replica's is dusdanig groot dat er geen significante verschillen

kunnen worden aangetoond. Eén replica van locatie C8 had (omgerekend) het hoge aantal van 110 duizend dieren per m². Zonder deze uitschieter is het aantal potwormen in C8 circa 30 duizend per m². In deze gemiddelde waarden lijkt zich toch een trend af te tekenen waarbij de laagste aantallen worden gevonden op de meest verontreinigde locaties. In tegenstelling tot de resultaten bij ander groepen bodemorganismen is er geen invloed zichtbaar van het grondgebruik op C1. Het aantal aangetroffen soorten is in alle onderzochte locaties zeer laag. In het totaal zijn er slechts verschillende 6 genera gevonden. Deze resultaten sluiten aan bij eerdere waarnemingen aan potwormen in het gebied rond Budel (Posthuma et al., 1998). De arme en relatief droge zandgrond is waarschijnlijk een slecht habitat voor deze diergroep. Hetzelfde geldt voor regenwormen, deze zijn bij globale controle in het veld niet aangetroffen.

Tabel 15: Gemiddelde waarden potwormen in grondmonsters van 5 locaties met verschillende afstand tot de zinkfabriek in Budel (C3 dichtst bij de fabriek, C8 is de referentie). Zie verder bijschrift tabel 12.

Potwormen	C1 (n=3)	C3 (n=3)	C5 (n=3)	C6 (n=3)	C8 (Ref) (n=3)	Significantie (p-waarde)
Aantal per m ²	10724	10472	12238	18925	59299	0,2197
Aantal Taxa	3,3	1,0	1,3	2,3	2,0	0,2259

3.3.5 Micro-arthropoden

Mijten en springstaarten zijn samengenomen in de groep micro-arthropoden. De twee zijn niet direct verwant, maar behoren beide tot de geleedpotigen. In een functionele benadering van het bodemecosysteem kunnen gegevens over beide groepen worden gecombineerd. Mijten zijn kleine spinachtige beestjes (8 poten) die vrijwel overal voorkomen in een hoge dichtheid en soortendiversiteit. Er kunnen een groot aantal functionele groepen worden onderscheiden, zowel naar het type voedsel dat wordt gegeten (Siepel en De Ruiter-Dijkman, 1993) als naar overlevingsstrategie (Siepel, 1994). Springstaarten zijn primitieve bodembewonende insecten (6 poten). Onder hun achterlijf hebben ze een springvork die onder andere wordt gebruikt om aan belagers te ontkomen. Springstaarten zijn vooral schimmel- en detrituseters.

Tabel 16 geeft de resultaten van de indeling en het voorkomen van micro-arthropoden op de onderzochte locaties. In het algemeen is het aantal significante verschillen klein. Dit komt mede doordat per plot slechts één bodemkern is geanalyseerd (drie per locatie). De gegevens van drie losse bodemkernen per locatie zijn in de toetsen als replica's gebruikt. Het kleine bemonsterde oppervlak veroorzaakt soms een grote spreiding tussen de waarnemingen, waardoor verschillen niet snel significant zijn.

Het totaal aantal micro-arthropoden is gemiddeld het grootst in C6. Dit is te verwachten aangezien bossen een gunstig habitat vormen, waar de hoogste dichtheden worden gevonden. Locatie C6 wijkt ook af door het relatief hoge percentage van de voedingsgroep

plant/schimmel grazers. Binnen de overige voedselgroepen vertoont alleen het aandeel planteneters een significant verschil. Dit komt met name door het ontbreken van deze groep op locatie C8. Voor het aantonen van zware metaaleffecten zijn de twee groepen schimmel-eters van belang. De ‘grazers’ eten de hele schimmeldraad, en daarmee ook de metalen die zich in de celwand hebben opgehoopt. De andere groep (browsers) eet alleen de inhoud van de schimmeldraden, waardoor de blootstelling aan metalen kleiner is. Een effect op deze groepen is echter niet aantoonbaar. Wanneer de locaties worden vergeleken met andere gegevens over graslanden en heide-schrale graslanden, dan is het percentage fungivore grazers te laag (0% - 30%). Dit duidt op een lichte verontreiniging met zware metalen.

Tabel 16 Gemiddelde waarden micro-arthropodenfauna in grondmonsters van 5 locaties met verschillende afstand tot de zinkfabriek in Budel (C3 dichtst bij de fabriek, C8 is de referentie). Zie verder bijschrift tabel 12.

Microarthropoden	C1 (n=3)	C3 (n=3)	C5 (n=3)	C6 (n=3)	C8 (Ref) (n=3)	Significantie (p-waarde)
Aantal per m ²	22331	22205	17663	82006	27377	0,1198
Aantal Taxa	14,3	15,3	11,0	12,3	17,7	0,2906
% arthrop. predator	0,0	1,1	11,3	1,3	5,6	0,1144
% bacterie-eters	0,6	0,5	0,0	0,0	0,0	0,5742
% schimmeleters	24,0	13,6	43,4	19,6	10,8	0,612
% schimmelgrazers	13,2	25,7	8,9	5,8	30,7	0,1780
% algemene predator	19,1	12,5	12,6	6,5	12,9	0,78
% planteneters	6,3 ^a	2,0 ^{ab}	3,0 ^{ab}	1,5 ^{ab}	0,0 ^b	0,0455
% plantengrazers	7,9	17,4	15,5	29,6	28,8	0,6232
% plant/schim. grazer	0,9	0,0	1,9	30,0	0,0	0,1901
% omnivoor	7,6	17,9	2,4	5,4	4,1	0,6063
% opportunistische plant/schim.-eters	20,3	9,3	1,0	0,4	7,1	0,1698
% LHT 2	7,9 ^a	3,5 ^{ab}	10,4 ^a	0,1 ^b	0,4 ^b	0,0019
% LHT 3	6,1	2,2	0,0	0,0	0,0	0,0115¹
% LHT 4	5,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4516
% LHT 5	33,9	26,4	17,6	34,7	35,6	0,8485
% LHT 8	0,0	0,0	1,9	2,8	0,0	0,2637
% LHT 9	0,0	22,1	15,2	27,6	14,7	0,7070
% LHT 10	38,5	42,5	54,9	34,8	42,8	0,7643
% LHT 11	8,1	3,3	0,0	0,1	6,5	0,1215

¹) resultaat uit (verdelingsvrije) Kruskal-Wallis rangsom-toets

De indeling in overlevingsstrategieën (Life History Tactics) maakt gebruik van een combinatie van eigenschappen zoals wijze van verspreiding, voortplanting, groei en ontwikkeling, en synchronisatie in de levenscyclus. Ongeslachtelijke voortplanting

(parthenogenese) komt bij mijten veel, en in verschillende vormen voor. De wijze van voortplanting is te koppelen aan de overlevingskansen in een bepaald (variabel of voorspelbaar) milieu. Bijvoorbeeld: een vorm van asexuele reproductie waarbij vrouwtjes alleen vrouwelijke nakomelingen (klonen) produceren wordt thelytokie genoemd (LHT9 en 10). Deze vorm van reproductie komt meer voor in constante biotopen dan in variabele biotopen. Een constante aanwezigheid van een sterke dominante omgevingsfactor heeft een zelfde effect op de selectie van thelytokische soorten. Op locaties met zware metalen en persistente pesticide verontreinigde bodem is het percentage thelytokie hoger. Op de onderzochte locaties is het aandeel thelytokie (LHT9+10) hoog. Een duidelijk verschil tussen de locaties is langs deze weg echter niet aantoonbaar.

Significante verschillen worden gevonden bij de relatief kleine groepen met LHT2, LHT3 en LHT4. Deze drie strategieën gaan over de wijze van verspreiding met behulp van grotere insecten of andere dieren (phoresie). De hogere aantallen dieren uit de LHT2 groep in monsters van C1, C3 en C5 zijn kenmerkend voor stabiele maar verspreid voorkomende milieu's. Deze karakterisering is ook van toepassing op de meer verontreinigde gebieden rond de zinkfabriek. Het aandeel van de phoretische tactieken tezamen (LHT2+3+4) is het hoogst op C1. Dit wijst op een mechanische verstoring bij een permanente verontreiniging.

Wanneer dezelfde gegevens over de verdeling van functionele groepen worden berekend op basis van gemiddelde aantallen dieren per locatie, dan ontstaat voor sommige groepen een ander beeld van de verhoudingen dat beter aansluit bij verwachte effecten van zware metalen. De berekening van het gemiddelde percentage verloopt dan op een andere manier en levert ook andere waarden. Deze cijfers (gemiddelden) zijn echter niet op significante te toetsen en kunnen alleen via expert judgment kwalitatief worden geïnterpreteerd.

3.3.6 Vegetatie

De vegetatie is op twee tijdstippen uitvoerig geïnterpreteerd. Daarbij is ook gekeken naar het voorkomen van mossen, korstmossen en mycorrhiza-paddestoelen. De laatste zijn vruchtlichamen van symbiotische schimmels die door hun hyphae aan de natuurlijk voorkomende wortel-mycorrhiza's verbonden zijn. Afhankelijk van de vorm van 'infectie', kunnen deze schimmels in *endomycorrhizaschimmels* (voorkomend in de wortel zelf) en *ectomycorrhizaschimmels* (het mycelium is alleen maar aangekoppeld aan de wortel via mycorrhiza-openingen). Naast het voorkomen van paddestoelen is ook de aanwezigheid van schimmels op de wortels van planten (oriënterend) onderzocht.

Op deze wijze is een beeld van de hele vegetatie verkregen. De resultaten van de inventarisaties zijn in uitgebreide vorm terug te vinden in de bijlagen. Deze gegevens zijn door expert judgment op een semi-kwantitatieve manier rechtstreek omgezet in een beoordeling van de volledigheid en kwaliteit van de vegetatie volgens Braun-Blanquet (1951). Het Nederlandse systeem van plantenverbonden van Schaminée is hierbij als uitgangspunt (referentie) genomen. Vervolgens is de afwijking in het aantal soorten berekend en omgezet in een beoordeling van de diversiteit. Daarnaast is ook de vegetatiestructuur beoordeeld in de vorm van bedekkingsgraad.

Verschillen in aard tussen de locaties komen in de vegetatie duidelijk tot uiting. Omgekeerd heeft de vegetatie ook sterke invloed op de bodemeigenschappen. De locaties C1, C3 en C5 zijn in principe oorspronkelijk aan natte hei (*Molinia-Oxycocco-Sphagneteta sensu lato*) te relateren. Locatie C6 zou dus hiervoor het best als referentie voldoen. Locatie C6 ligt echter midden in een bos waardoor ook andere invloeden een rol spelen. Ook het naastliggende ven heeft ongetwijfeld invloed op de voorkomende plantensoorten. De flora van C6 vertoont daarnaast eigenschappen die kenmerkend zijn voor veenbodems, terwijl de andere locaties zandgronden zijn. Alhoewel C6 het best aan het referentiebeeld van een natte heide zou voldoen, is voor de uiteindelijke beoordeling van effecten op de vegetatie ook hier C8 gekozen als lokale referentie. C8 is een droog hei/grasland (*Nardo-Callunetea*) dat een andere soortensamenstelling heeft dan de natte hei. De kwaliteit is apart beoordeeld ten opzichte van de (literatuur)referentie voor het vegetatietype.

De seizoeninvloed op de aanwezigheid van de paddestoelenflora behoeft weinig toelichting (Mulder et al., 1995; 2003). Doordat het schimmelmycelium onder de grond zit en alleen in een beperkte periode van het jaar vruchtlichamen (paddestoelen) vormt, blijven meerdere bezoeken per jaar noodzakelijk om een complete inventarisatie af te maken. De paddestoelenflora levert belangrijke informatie over effecten in metaalverontreinigde bodems (Mulder en Breure, 2003). Ook de aanwezigheid van mycorrhiza-paddestoelen kan goed worden gebruikt als milieu-indicator (Mulder et al., 2003). De meeste soorten leveren bovendien een verhoogde bescherming tegen zware metalen aan zaadplanten.

Op de locatie C1 is de situatie voor zowel mycorrhiza-paddestoelen als korstmossen heel slecht (tabel 17). De afwezigheid van mycorrhiza-schimmels veroorzaakt waarschijnlijk mede het effect op de matige kwaliteit van de vegetatiestructuur (tabel 17).

Tabel 17: Plantensociologische kwaliteit en biodiversiteit (aantal soorten) van de vegetatie, uit twee inventarisaties op 5 locaties met verschillende afstand tot de zinkfabriek in Budel (C3 dichtst bij de fabriek). Schaal is semi-kwantitatief: heel goed= 100%, goed= 75%, redelijk= 50%, slecht= 25%, heel slecht= 0%. Beoordeling ten opzichte van beschrijving van het vegetatietype uit de literatuur.

Kwaliteit vegetatie (%)	C1 (n=1)	C3 (n=2)	C5 (n=2-4)	C6 (n=3)	C8 (n=3)
Zaadplanten	75	75	75	91,7	66,7
Mossen	50	75	75	41,7	66,7
Korstmossen	25	62,5	75	58,3	66,7
Mycorrhiza's	0	0	0	41,7	50
Vegetatiestructuur	50	100	100	75	75
α -biodiversiteit	94	82	71	141	100

Ook op de locaties C3 en C5 valt een sterke verschuiving in mycorrhizaschimmels op. Dit is tamelijk onverwacht, omdat aantal plantenwortels geïnfecteerd met mycorrhizaschimmels in veen en zandgronden met lage pH-waarden meestal het hoogste is (Mulder et al., 1995;

2003). Dat is duidelijk te zien in de hogere schimmelbezetting van de wortels in locatie C6. Op de locaties C1 t/m C3 kan in principe ook een effect worden verwacht op schimmelende organismen (aaltjes, springstaarten en mijten).

De gezamenlijke bovengrondse biodiversiteit (zaadplanten, mossen, korstmossen en paddestoelen: taxa volgens Van der Meijden 1996; Van Dort et al., 1998; Schubert et al., 1994) is het laagst op locatie C5 (Tabel 17). Door de 'veen-invloed' komen er op C6 meer soorten voor dan wordt verwacht voor dit vegetatietype. Dit resulteert in een negatieve waarde voor de effectmaat (aldus is de soortenrijkdom kwalitatief veel hoger dan verwacht).

3.3.7 Effectberekening TRIADE-onderdeel Ecologie

De resultaten van het bodemecologisch onderzoek kunnen uitgedrukt worden in een percentage effect ten opzicht van de gekozen (lokale) referentie. Wanneer alle waarnemingen en indicatoren (kengetallen) uit de voorgaande paragrafen naar effectmaten worden omgerekend, ontstaat een lange lijst die vele doublures bevat. Bij voorkeur zouden de gebruikte effecten onafhankelijk van elkaar moeten zijn en een evenwichtige bijdrage moeten leveren aan de risicoschatting. Wanneer bijvoorbeeld de procentuele verdeling van functionele groepen wordt gebruikt om een ecologisch effect te berekenen, dan bepaalt het percentage van de eerste groep mede 'wat er voor de rest overblijft'. Een ander voorbeeld is de sterke samenhang tussen effecten op aantallen en biomassa, waarbij de biomassa uit het aantal berekend is. De kwaliteitsbeoordeling moet dus zoveel mogelijk ontdaan zijn van een opeenstapeling van dezelfde effecten, oftewel van ongewenste bias.

De meeste ecologische waarnemingen hebben geen 'absolute' referentie. Hooguit kan een vergelijking worden gemaakt met gegevens uit een database waarin gegevens van verschillende inventarisaties of onderzoekprogramma's zijn samengebracht. Door het landelijk onderzoek dat de afgelopen jaren is uitgevoerd in het kader van 'de Bodembioologische Indicator' (Schouten et al., 2002) ontstaat geleidelijk wel een veel beter beeld van het voorkomen en de diversiteit van organismen in verschillende bodemtypen. Een ander aspect is de schaal waarop ecologische veldwaarnemingen variëren. Deze loopt (meestal) niet van nul tot een vast maximum zoals in een toxiciteitstoets. Bovendien gedragen variabelen als aantallen zich vaak volgens een log-normale verdeling. Verdubbeling of halvering is dan niet gelijk aan 100 % of 50 % effect. Voor kleinere organismen liggen dit soort fluctuaties meestal binnen de natuurlijke variatie. In de effectberekening wordt min of meer gecompenseerd voor extreem grote afwijkingen door verschillen met de referentie op een logaritmische schaal te middelen.

In tabel 18 is een selectie gemaakt van de indicatoren voor de effectschatting in het TRIADE-onderdeel ecologie. De waarden op de verschillende locaties zijn uitgedrukt ten opzichte van die op de lokale referentie C8. Het effect op C8 wordt dus (per definitie) op nul gesteld. Alle afwijkingen van de referentie (hoger en lager) worden als effect beschouwd. De gemiddelde effecten per groep organismen worden gebruikt in de uiteindelijke TRIADE-tabel. Hierdoor weegt elke groep even zwaar mee in het totale ecologische effect.

Tabel 18: Ecologische effecten, in percentage (absolute) afwijking ten opzichte van C8, op basis van veldwaarnemingen aan diverse groepen (bodem)organismen op 5 locaties met verschillende afstand tot de zinkfabriek in Budel (C3 dichtst bij de fabriek, C8 is de referentie).

% effect	C1 (n=3)	C3 (n=3)	C5 (n=3)	C6 (n=3)	C8 (Ref) (n=3)
Microbiologie					
Bacteriële biomassa	42,7	10,1	27,9	7,7	0
Thymidine inbouw	81,5	91,2	31,6	53,9	0
Pot. N-mineralisatie	69,7	74,3	67,3	72,8	0
Genetische diversiteit	21,4	17,0	6,2	4,6	0
Schimmelbiomassa	85,0	70,2	75,1	90,9	0
<i>biolog:</i>					
Helling AWCD-curve	8,9	7,5	5,2	15,1	0
gg50	55,9	15,1	48,0	83,8	0
PICT EC ₅₀ -zink	0,11	0,47	0,43	0	---
Nematoden:					
Aantal per 100g grond	54,1	29,1	49,9	29,4	0
Aantal Taxa	1,3	20,3	1,4	18,9	0
% cp1	89,5	3,1	29,2	57,2	0
% cp2	0,0	34,2	18,1	21,4	0
% cp3+4+5	76,1	77,0	36,5	52,4	0
% planteneters	36,7	32,6	3,8	50,6	0
Potwormen:					
Aantal per m ²	81,9	82,3	79,4	68,1	0
Aantal Taxa	40,0	50,0	33,3	14,3	0
Micro-arthropoden:					
Aantal per m ²	18,4	18,9	35,5	66,6	0
Aantal Taxa	18,9	13,2	37,7	30,2	0
% schimmeleters	55,1	20,8	75,1	45,0	0
% schimmelgrazers	56,8	16,3	71,0	81,2	0
LHT2+3+4	97,9	92,9	96,2	80,6	0
LHT9+10	33,1	11,0	18,0	7,9	0
LHT11	19,9	49,2	99,8	98,8	0
Vegetatie:					
Mycorrhiza's.	100	100	100	17	0
Vegetatiestructuur	33	33	33	0	0
Biodiversiteit	6	18	29	41	0

De berekende effecten uit de veldwaarnemingen laten een grote variatie zien, zowel in de range (hoge/lage waarden) als in mogelijke trends. Er is geen duidelijk of eenvormig beeld te destilleren uit tabel 18. De cijfers worden hier niet meer in detail besproken, omdat dit reeds in de voorgaande paragrafen is gedaan voor de achterliggende gegevens. In het algemeen kan geconcludeerd worden dat een groot aantal ecologische aspecten op de metaal-verontreinigde

locaties afwijken van de plaatselijke referentie. Zoals in het voorgaande al is aangestipt, spelen ook factoren als bodemgebruik en vegetatietype een rol. In die zin bepaalt de gekozen referentie ook de afwijking of inschatting van effecten.

De diversiteit in resultaten in tabel 18 benadrukt het belang van een scala aan ecologische indicatoren in een risicobeoordeling. Het kan voorkomen dat conclusies worden gebaseerd op (te) eenzijdige waarnemingen. Bij elkaar, of als gemiddelde, geven diverse waarnemingen een beter (meer representatief) beeld van de ecologische effecten in de bodem. Verschillende waarnemingen (indicatoren) die ten grondslag liggen aan de berekende effecten vertonen geen significante verschillen tussen de locaties. Een mogelijkheid zou zijn deze niet mee te nemen in de risicobeoordeling. De consequentie is echter dat dan de nadruk wordt gelegd op de verschillen terwijl die niet meer genuanceerd worden door indicatoren die geen effect vertonen.

3.4 TRIADE beoordeling

De TRIADE-methodiek heeft als doel een verbeterde risicoschatting te geven voor ecosystemen door chemische, ecotoxicologische en ecologische aspecten gezamenlijk in de beoordeling te betrekken. De modelmatige benadering van het potentiële ecologische risico is aangevuld met laboratorium- en veldonderzoek. In de voorgaande paragrafen zijn de onderliggende waarnemingen toegelicht. Ze worden hier gecondenseerd en gebundeld tot een slotconclusie over de mate waarin effecten waarschijnlijk optreden op de onderzochte locaties. De uitkomst van de TRIADE is voorzien van een betrouwbaarheidsmaat die aangeeft of er veel of weinig overeenstemming is in de uitslag van de drie onderdelen. Wijzen de uitkomsten van de verschillende invalshoeken in dezelfde richting, dan is het des te waarschijnlijker ('weight of evidence') dat de gevonden mate van effect juist is ingeschat. Lopen de resultaten van de TRIADE-onderdelen uiteen, dan is nader onderzoek nodig of kan geen heldere conclusie worden getrokken.

De resultaten van de drie TRIADE-aspecten zijn weergegeven in tabel 19. Aangezien het getal van de berekende effectmaat een soort schijnnaauwkeurigheid oproept, is er tevens een (arbitraire) categorie-indeling gemaakt. De indeling is voorzien van drie verschillende kleuren. De klassegrenzen zijn respectievelijk gelegd bij 20 % en 50 % effect. Dit is niet wetenschappelijk onderbouwd, maar gebaseerd op de veronderstelling dat 20 % variatie in de referentie tot natuurlijke fluctuaties gerekend mag worden. De 50 % effectgrens is een vertrouwde maat die ook ten grondslag ligt aan de HC₅₀ (gebaseerd op experimenteel bepaalde NOEC-overschrijdingen). Inhoudelijk gezien kan er net zo goed worden gekozen voor meer risico-klassen, of categorieën van gelijke grootte. De toegekende kleurcodering in groen-geel-rood heeft een suggestief neveneffect, vergelijkbaar met een stoplicht. Dit is a priori niet zo bedoeld. De kleurenindeling heeft weliswaar een signaalfunctie maar wordt in eerste instantie gebruikt voor een snelle impressie van de mate van effect op verschillende locaties en TRIADE-onderdelen. Voor details, interpretatie en nadere beoordeling moet gekeken worden naar de onderliggende cijfers waarop het resultaat is gebaseerd.

In de TRIADE-tabel van dit locatie-onderzoek zijn de resultaten van de ‘alternatieve referentie’ C6 wel opgenomen en vergeleken met C8, maar niet van een kleurencodering voorzien omdat dit niet een te beoordelen verontreinigde locatie is. De TRIADE-tabel laat zien dat er, op basis van gehalten van stoffen, in geen van de monsterpunten een overschrijding van de HC₅₀ optreedt, ook niet in de gecombineerde toxische druk van de metalen (tabel 19). In tegenstelling tot de vorige locatiestudies resulteert dit in een relatief milde beoordeling van het potentiële ecologische risico in het TRIADE-onderdeel chemie. De toxiciteitstesten geven gezamenlijk een beeld van de mogelijke effecten dat goed overeenstemt met die uit de het onderdeel chemie. Hierbij moet wel in het achterhoofd worden gehouden dat effecten, of beter afwijkingen van de referentie, zowel positief als negatief van aard kunnen zijn. Een voorbeeld is het resultaat van de radijsproef met grond van locatie C1. De radijsplanten groeiden hier veel sneller, onder andere door het hogere fosforgehalte. Dit mondt uit in een vrij hoge effectschatting op locatie C1, die niet direct te maken heeft met de aanwezigheid van metalen.

Tabel 19. TRIADE-tabel met gekwantificeerde effectparameters op 5 locaties met verschillende afstand tot de zinkfabriek in Budel (C3 dichtst bij de fabriek, C8 is de referentie) Geschatte effecten in de klasse <0,2 worden aan gegeven met groene achtergrond; tussen 0,2 en 0,5 gele achtergrond, effecten >0,5 hebben een rode achtergrond.

TRIAD- Onderdeel	Parameter	Locaties				
		C1	C3	C5	C6	C8(Ref)
Chemie	TD-combi HC ₅₀	0,45	0,46	0,11	0,00	0,00
	Risico	0,45	0,46	0,11	0,00	0,00
Toxicologie	PAM-test	0,41	0,66	0,23	0,12	0,00
	Springstaart	0,23	0,04	0,01	0,11	0,00
	Radijs	0,65	0,45	0,28	0,30	0,00
	Risico	0,46	0,44	0,18	0,18	0,00
Ecologie	Microbiologie	0,60	0,64	0,38	0,42	0,00
	Biolog	0,37	0,11	0,30	0,63	0,00
	PICT	0,11	0,47	0,43	0,00	0,00
	Schimmels	0,85	0,70	0,75	0,91	0,00
	Nematoden	0,56	0,38	0,25	0,40	0,00
	Potwormen	0,67	0,70	0,63	0,48	0,00
	Micro-arthropoden	0,61	0,45	0,85	0,76	0,00
	Vegetatie	0,82	0,82	0,83	0,21	0,00
	Risico	0,63	0,58	0,62	0,57	0,00
Oordeel chemie:		0,45	0,46	0,11	0,00	0,00
Oordeel toxicologie:		0,46	0,44	0,18	0,18	0,00
Oordeel ecologie:		0,63	0,58	0,62	0,57	0,00
Eindoordeel:		0,52	0,50	0,35	0,29	0,00
Deviatie		0,18	0,14	0,48	0,50	0,00

De invloed van specifieke bodem- en locatie-eigenschappen speelt ook een rol in de resultaten van het TRIADE-onderdeel ecologie. Met name locatie C1 en C6 wijken af door het (voormalig) grondgebruik en het omringende landschap. Dit resulteert soms in een aanzienlijke afwijking ten opzicht van de gekozen referentie. Op locatie C1 zouden effecten van pesticidengebruik een rol kunnen spelen. Dit blijft echter een vermoeden aangezien er geen metingen aan deze stoffen zijn gedaan. De effecten van zware metalen zijn een onderdeel in een complex aan factoren. Ze leveren waarschijnlijk de grootste bijdrage in de berekende afwijkingen van de locaties C3 en C5.

De indicatorgroepen schimmels (biomassa), potwormen, micro-arthropoden en vegetatie vertonen veel grote effecten (tabel 19). Bij de schimmelbiomassa wordt dit veroorzaakt door de hoge biomassa die gemeten werd op de referentie C8. In vergelijking hiermee is de afwijking op alle andere locaties aanzienlijk. Eenzelfde situatie geldt voor de potwormen, de aantallen in C8 waren gemiddeld 5 tot 6 keer hoger dan in de andere locaties. Daarnaast zijn slechts een zeer klein aantal soorten gevonden waardoor het effect van afwijkingen hierin relatief groot is. Bij de resultaten voor de micro-arthropoden is geen simpele oorzaak aan te geven voor de grote effecten. Locatie C6 wijkt af doordat het een beboste omgeving betreft. Een aantal functionele groepen of samengestelde kengetallen heeft een zeer lage waarde in C8, wat resulteert in hoge effecten op de overige locaties. De risicoschatting op basis van de vegetatie wordt tot slot sterk beïnvloed door het ontbreken van mycorrhiza's in C1, C3 en C5. Op dit onderdeel wordt 100% effect gescoord. Het heeft een aanzienlijke invloed op het effectgemiddelde van de vegetatie.

In het eindoordeel van de TRIADE geven de ecologische aspecten een grotere afwijking van de referentie dan de onderdelen chemie en toxicologie. Dit geldt vooral voor de locatie C5 (en C6). Het gemiddelde van de TRIADE-onderdelen geeft een risicoschatting die rond de 50 % ligt voor C1 en C3. De deviatie tussen de TRIADE-onderdelen is op deze locaties klein. Andersom is er op deze locaties dus vrij grote zekerheid over ecologische risico's in de orde van 50 %, vergeleken met de lokale referentie.

Voor de locaties C5 en C6 is het gemiddelde TRIADE-effect kleiner, maar de onzekerheid hierin (deviatie) is groter door de verschillende uitslagen. In C6 speelt zeker de invloed van het omringende bosecosysteem een dominante rol in de afwijking tot C8, en niet een effecten van zware metalen.

4. Conclusies en aanbevelingen

- 1) Deze locatiestudie heeft aangetoond dat het, ondanks zorgvuldige voor-bereidingen, in de praktijk vrijwel niet mogelijk is om een referentiegrond of -locatie te vinden die alleen in de factor verontreiniging verschilt van het te beoordelen gebied.
- 2) Het verschil met de referentie is echter een belangrijke factor in de risicoschatting. De keuze voor een andere lokale referentie kan leiden tot verschillend oordeel over het ecologische effect. In die zin is ook manipulatie mogelijk. Het is daarom aan te bevelen om een beoordeling te baseren op meerdere referentielocaties. Het zou tevens nuttig zijn een referentiesysteem te maken van 'bodendoeltypen' gebaseerd op een nationale database, om de bandbreedte in natuurlijke variatie te betrekken in een beoordeling. Het beoogde bodemgebruik (bijvoorbeeld natuurontwikkeling) is mede bepalend voor de 'toetsbare' afwijking tot het doel. In de keuze voor een referentie ligt ook een belangrijke taak voor lokale overheden en landeigenaren.
- 3) De metalen lood en koper vertoonden een goede correlatie tussen metaalconcentraties in het poriewaterextract en de totaalgehalten in de bodem. Dit verband was afwezig (of zwak) bij arseen, cadmium, chroom, koper, nikkel en zink. De cadmium- en zinkconcentraties in het poriewater werden op locatie C1 beïnvloed door de bodemeigenschappen. Zonder deze waarnemingen hebben cadmium en zink wel een duidelijk verband tussen beide fracties.
- 4) Een potentiële risicoschatting zou bij voorkeur gebaseerd moeten worden op toxiciteitsgegevens uitgedrukt in poriewaterconcentraties, omdat de beschikbaarheid hiermee beter wordt benaderd. Helaas ontbreken op dit moment voldoende literatuurgegevens over effecten op terrestrische organismen in relatie tot gehalten in het poriewater.
- 5) Chemische modellen voor partitie van metalen kunnen worden gebruikt om gehalten in poriewater te schatten. Dit is echter niet van nut voor de ecologische risicoschatting als toxiciteitsgegevens voor gemeten poriewatergehalten ontbreken.
- 6) De risicoschatting op basis van aquatische toxiciteitsdata en de gemeten gehalten van metalen in het poriewater resulteerde in een veel hoger effect dan het resultaat van de andere toxische druk berekeningen. Deze uitkomst lijkt niet realistisch en gaf geen bruikbaar alternatief voor de schatting van potentiële ecologische risico's in de bodem op de onderzochte locaties. Het is nog niet duidelijk of dit alleen geldt voor de gebruikte zure bodems.
- 7) De discrepantie tussen risicoschattingen met aquatische toxiciteitsdata en andere toxische drukberekeningen wordt waarschijnlijk veroorzaakt door de invloed van de zuurgraad van het poriewater op de effecten van metalen. In tegenstelling tot de verwachting op basis van oplosbaarheid, neemt het toxische effect minder sterk toe bij lagere pH door competitie met andere aanwezige ionen.
- 8) De keuzemogelijkheid voor bioassays met organismen die van nature in zure zandbodems kunnen voorkomen is nog steeds beperkt. In dit onderzoek zijn een test met springstaarten (*F. candida*) en radijsplanten met succes toegepast. In tegenstelling tot de

- (‘tier 1’) PAM-algentest in waterig extract, werden de resultaten van beide bioassays beïnvloed door bodemeigenschappen als pH en nutriëntenrijkdom.
- 9) Effecten in de PAM-algentest correleerden goed (significant) met zowel totaalgehalten van metalen in de bodem als poriewaterconcentraties. In de sterkte van de correlaties is echter ook het verband tussen de metaalfracties terug (zie punt 3) te vinden. Effecten op overleving van springstaarten en de groei van radijs bleken, tegen de verwachting in, het best te relateren aan de totaalgehalten van zink en cadmium, maar ook aan de pH en het calciumgehalte.
 - 10) De uitgebreide (‘tier 2 en 3’) TRIADE voor toxicologie en ecologie geeft een verfijning van de beoordeling en maakt de kans op fouten door uitzonderlijke waarnemingen kleiner. Het is opvallend dat in dit onderzoek bij lagere verontreinigingsniveau’s, de invloed van ecologische aspecten groter is dan de chemische risicoschatting. In voorgaande studies op locaties met hoge gehalten verontreinigingen (meerder keren interventiewaarde) was het potentiële risico van zware metalen bijna maximaal (100%), terwijl de ecologische effecten een genuanceerder beeld lieten zien. Ecologische aspecten vertonen dus niet altijd minder effect dan de chemische risicoschatting en variëren mogelijk op een andere schaal, of laten effecten zien van stoffen die niet gemeten zijn.
 - 11) De rekenmethode voor het bepalen van ecologische effecten is gebaseerd op een percentage afwijking van de gekozen referentie. De verschillen worden op een logaritmische schaal verdisconteerd en gemiddeld. De relevantie van het zo berekende effect is nog niet geheel duidelijk en hangt mede af van de natuurlijke variatie in de indicatorwaarden. In de toekomst zouden drempelwaarden en indicatorspecifieke dosis-respons relaties moeten worden afgeleid ter verbetering van de effectschatting.
 - 12) Een nadeel van de toegepaste rekentechniek voor ecologische risico’s is dat indicatoren met kleine waarden snel grote effecten vertonen (bijvoorbeeld een soortenaantal van 3 naar 6). In toekomstig onderzoek zou de rekenmethodiek en de selectie van indicatoren nog een keer kritisch moeten worden bekeken, en zo nodig aangepast.
 - 13) De einduitkomst van de TRIADE-beoordeling op de Budel-locaties weerspiegelt weliswaar de gradiënt in metaalbelasting maar bevat ook elementen van bodemsamenstelling en grondgebruik. Deze invloeden zijn moeilijk te ontrafelen met bestaande methoden. Dit zou opgelost kunnen worden door PICT-metingen (= Pollution Induced Community Tolerance) te ontwikkelen voor meer organismen dan alleen bodembacteriën.
 - 14) De resultaten van deze locatiestudie zijn statistisch onderbouwd door aanpassing van de monsterstrategie. Hierdoor is beter hard te maken welke factoren of effecten werkelijk verschillen. Men kan er voor kiezen alleen die indicatoren te gebruiken die significante verschillen vertonen. De TRIADE-methodiek is echter ook gebaseerd op het idee van ‘weight of evidence’, waarin alle afwijkingen en overeenkomsten meewegen in de beoordeling. De gevolgen van keuze voor een bepaalde variant zou in vervolgonderzoek nader aandacht moeten krijgen, en mogelijk in het uitvoeringsprotocol van de TRIADE moeten worden opgenomen.

- 15) Toepassing van de TRIADE heeft sterke en minder sterke kanten. Een TRIADE-beoordeling vergt een bredere inzet van onderzoek, de interpretatie van de resultaten is niet altijd eenduidig en er zijn verschillende hiaten in de kennisbehoefte te onderkennen. Daar staat tegenover dat de kwaliteit van de locatiespecifieke ecologische beoordeling op basis van de TRIADE een duidelijke verbetering geeft ten opzichte van de huidige saneringsurgentie-systematie, en meerwaarde levert boven de chemisch georiënteerde benadering. Daarom wordt de TRIADE aanbevolen voor de bepaling van locatiespecifieke ecologische risico's. In de toekomst dient nader onderzoek te worden verricht, met het doel de kennishiaten te verkleinen. Voor de toepassing van de TRIADE zal een protocol worden opgesteld om de uitvoering te uniformeren.

Referenties

- Abrahamsen, G., 1973. Studies on body-volume, body-surface area, density and liveweight of Enchytraeidae (Oligochaeta). *Pedobiologia* 13: 6-15.
- AKWA/RIZA, 2002. Richtlijnen nader onderzoek voor waterbodems. Ernst- & urgentiebepaling van verontreinigde waterbodems. AKWA-rapport 01.005, RIZA-nota 2001-052, ISBN 9036953960.
- Alef, K., 1995. Nitrogen mineralization in soils. In: K. Alef and P. Nannipieri (eds), *Methods in applied Soil Microbiology and Biochemistry*. pp: 240-241. Academic Press, London.
- Bakker, J. en D. van de Meent, 1997. Receptuur voor de berekening van de Indicator Effecten Toxische Stoffen (Itox). RIVM-rapport 607504003.
- Bloem, J., G. Lebbink, K.B. Zwart, L.A. Bouwman, S.L.G.E. Burgers, J.A. de Vos and P.C. de Ruiter, 1994. Dynamics of microorganisms, microbivores and nitrogen mineralisation in winter wheat fields under conventional and integrated management. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 51: 129-143.
- Bloem, J., M. Veninga, J. Shepherd, 1995. Fully automatic determination of soil bacterium numbers, cell volumes and frequencies of dividing cells by confocal laser scanning microscopy and image analysis. *Applied and Environmental Microbiology* 61, 926-936.
- Bloem, J., P.C. de Ruiter, L.A. Bouwman, 1997. Food webs and nutrient cycling in agro-ecosystems. In "Modern Soil Microbiology" (J.D. van Elsas, J.T. Trevors and E. Wellington, editors), pp. 245-278. Marcel Dekker Inc. New York.
- Bloem, J., A.M. Breure. 2003. Microbial indicators. In "Bioindicators/Biomonitors – Principles, Assessment, Concepts" (B.A. Markert, A.M. Breure and H.G. Zechmeister, editors), pp. 259-282. Elsevier, Amsterdam.
- Bongers, T., 1999. The Maturity Index, the evolution of nematode life history traits, adaptive radiation and cp-scaling. *Plant and Soil* 212: 13-22.
- Bongers, T., H. Ferris, 1999. Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. *Trends in Ecology and Evolution (TREE)* 14: 224-228.
- Braun-Blanquet, J., 1951. *Pflanzensoziologie. Grundzüge der Vegetationskunde* (2. umgearb. vermeh. Aufl.). Springer Verlag, Wien, 631 pp.
- Breure, A.M., M. Rutgers, 1999. Vaststellen van veldeffecten van milieustressoren. RIVM-rapport 607601006.
- Brookes, P.C., 1995. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. *Biology and Fertility of Soils* 19: 269-279.
- De Groot, A., W. Peijnenburg, M. van den Hoop, R. Ritsema, R.P.M. van Veen, 1998. Heavy metals in Dutch field soils: an experimental and theoretical study on equilibrium partitioning. RIVM-rapport 607220001.
- De Zwart, D., M. Rutgers, J. Notenboom, 1999. Bepaling van het locatiespecifieke ecologische risico van bodemverontreiniging: een opzet voor een beoordelingssystematiek. RIVM-rapport 711701011.

- Didden, W.A.M., 1991. Population ecology and functioning of *Enchytraeidae* in some arable farming systems. PhD Thesis Agricultural University Wageningen, 116 pp.
- Ferris, H., T. Bongers, R.G.M. de Goede, 2001. A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept. *Applied Soil Ecology* 18 (1): 13-29.
- Houba J., J. van der Lee, I. Novozamsky, 1997. Soil and Plant analysis, part 5B, syllabus. Wageningen Universiteit.
- ISO/FDIS 11267, 1998. Soil quality - Inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by soil pollutants. International Organisation for Standardisation, Genève Switzerland.
- Koolenbrander, J.G.M., 1995. Urgentie van bodemsanering. De handleiding. Sdu Uitgeverij.
- Lijzen, J.P.A., A.J. Baars, T. Crommentuijn, P.F. Otte, E. van de Plassche, M.J.G. Rikken, C.J.M. Rempelberg, A.J.A.M. Sips, F.A. Swartjes, 1999. Herziening interventiewaarden lood. Evaluatie van de afleiding van de interventiewaarde grond/sediment en grondwater. RIVM-rapport 711701013.
- Mulder Ch., A.M. Breure, 2003. Plant biodiversity and environmental stress. In: B. Markert, A.M. Breure & H. Zechmeister (eds.) *Bioindicators and Biomonitoring. Trace Metals and other Contaminants in the Environment* 6: 501-525.
- Mulder Ch., A.M. Breure, J.H.J. Joosten, 2003. Fungal functional diversity inferred along Ellenberg's abiotic gradients: Palynological evidence from different soil microbiota. *Grana* 42: 55-64.
- Mulder Ch., C.R. Janssen, J.H.J. Joosten, 1995. Distributional patterns of palynomorphs and palynodebris along an Oxycocco-Sphagnetum transect at Dwingeloo (Drenthe, the Netherlands). In: *Proceedings Jahrestreffen des Arbeitskreises für Vegetationsgeschichte der Reinhold-Tüxen-Gesellschaft*.
- Muyzer, G., E.C. de Waal en A.G. Uitterlinden, 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology* 59: 695-700.
- Notenboom, J., H.J.P. Eijsackers, F.A. Swartjes, 1995. Beoordelingssystematiek bodemkwaliteit ten behoeve van bouwvergunningaanvragen. deel III. Methodiek ter bepaling van het actuele risico voor het ecosysteem. RIVM-rapport 715810003.
- Oostenbrink, M., 1960. Estimating nematode populations by some selected methods. In: J.N. Sasser and W.R. Jenkins (eds.): *Nematology*, The University of North Carolina Press, Chapel Hill, pp. 85-102.
- Posthuma, L., C.A.M. van Gestel, C.E. Smit, D.J. Bakker, J.W. Vonk (Eds.), 1998. Validation of toxicity data and risk limits for soils: final report. RIVM-rapport 607505004.
- Posthuma, L., G.W. Suster, T.P. Traas, 2002. *Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology*. CRC-Press, Pensacola, FL., USA.
- Posthuma, L., M. Rutgers, F. Swartjes, 2003. Ecologische risico's in de bodem hanteerbaar maken. SSD - Wat kun je er mee. *Bodem* 3: 115-119.
- Rutgers, M., B.M.C. Sweegers, B. Wind, R.P.M. van Veen, A.J. Folkerts, L. Posthuma, A.M. Breure, 1998. Pollution-induced community tolerance in terrestrial microbial

- communities. In: Conference Proceedings Contaminated Soil 1998 - Volume 1. Thomas Telford, London, UK, pp 337-343.
- Rutgers, M., I.M. van 't Verlaat, B. Wind, L. Posthuma, A.M. Breure, 1998. Rapid method for assessing pollution-induced community tolerance in contaminated soil. *Environmental Toxicology and Chemistry* 17 (11): 2210 - 2213.
- Rutgers, M., T. Aldenberg, R.O.G. Franken, D.T. Jager, J.P.A. Lijzen, W.J.G.M. Peijnenburg, A.J. Schouten, T.P. Traas, D. de Zwart, L. Posthuma, 2000a. Ecologische risicobeoordeling van verontreinigde (water)bodem - voorstellen ter verbetering van de urgentiesystematiek. RIVM-rapport 711701018.
- Rutgers, M., J. Postma, J. Faber, 2000b. Uitwerking van de Basisbenadering voor de locatiespecifieke, functiegerichte ecologische risicobeoordeling van bodemverontreiniging voor de praktijk. Rapporten programma geïntegreerd Bodemonderzoek deel 29, ISBN 90-73270-43-X. PGBO Wageningen.
- Rutgers, M., J.J. Bogte, E.M. Dirven-van Breemen, A.J. Schouten, 2001. Locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling – praktijkonderzoek met een TRIADE-benadering. RIVM-rapport 711701026.
- Schouten, A.J. en K.K.M. Arp, 1991. A comparative study on the efficiency of extraction methods for nematodes from different forest litters. *Pedobiologia* 35, 393-400.
- Schouten, A.J., J.J. Bogte, E.M. Dirven van Breemen, M. Rutgers, 2003. Locatiespecifieke ecologische risicobeoordeling. Praktijkonderzoek met de TRIADE-benadering deel 2. RIVM-rapport nr 711701032.
- Siepel, H., 1994. Life-history tactics of soil microarthropods. *Biology and Fertility of Soils* 18: 263-278.
- Siepel, H., 1995. Application of microarthropod life-history tactics in nature management and ecotoxicology. *Biology and Fertility of Soils* 19:75-83
- Siepel, H., E.M. de Ruiter-Dijkman, 1993. Feeding guilds of oribatid mites based on their carbohydrase activities. *Soil Biology and Biochemistry* 25 (11): 1491-1497.
- Smit, C.E. and C.A.M. Van Gestel, 1996. Comparison of the toxicity of zinc for the springtail *Folsomia candida* in artificially contaminated polluted field soils. *Applied Soil Ecology* 3: 127-136.
- Stoffen en normen, 1999. Overzicht van belangrijke stoffen en normen in milieubeleid. Directoraat-Generaal Milieubeheer, Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer. Samsom Alphen aan de Rijn.
- Van Beusekom, S.A.M., Admiraal, W., Sterkenburg, A., De Zwart, D., 1999. Handleiding PAM-Test, ECO notitie 98/09, Laboratorium voor Ecotoxicologie, RIVM, Bilthoven.
- Van de Guchte, C., 1992. The sediment quality: an integrated approach to asses contaminated sediments. In: P.J. Newman, M.A. Piavaux, R.A. Sweeting (eds.), *River Water Quality, Ecological Assessment and Control*. ECSC-EEC-EAEC, Brussels-Luxembourg, pp 425-431.
- Van der Meijden, R., 1996 *Heukels' Flora van Nederland* (22e druk). Wolters-Noordhoff, Groningen, 678 pp.
- Van Dort K., Ch. Buter, P. van Wielink, 1998. *Veldgids Mossen*. Stichting Uitgeverij KNNV Utrecht, 272 pp.

- Van Gestel, C.A.M, W.A van Dis, E.M. Dirven -van Breemen, J.W. Kamerman, 1992. Beoordeling van gereinigde grond. IV. Toepassing van bioassays met planten en regenwormen op referentiegronden. RIVM rapport 216402003.
- Verbruggen, E.M.J, R. Posthumus, A.P. van Wezel, 2001. Ecotox SRC for soil, sediment and (ground)water: updated proposal for first series of compounds RIVM report 711701020.
- Yeates, G.W., T. Bongers, R.G.M. de Goede, D.W. Freckman, S.S. Georgieva, 1993. Feeding habits in soil nematode families and genera - an outline for soil ecologists. *Journal of Nematology* 25: 315-331.

Bijlage 1: Verzendlijst

1. Drs H.G. von Meijenfeldt - VROM/DGM/BWL, Den Haag
2. Dr. J.M. Roels - VROM/DGM/BWL
3. Ir. J.F.M. van Vliet - VROM/DGM/BWL
4. Dr. T. Crommentuijn - VROM/DGM/BWL
5. Drs. N.H.S.M. de Wit - VROM/DGM/BWL
6. Dr. Ir. A.E. Boekhold - VROM/DGM/BWL
7. Drs. D. Jonkers - VROM/DGM/BWL
8. Drs. A.W.M. Eijs - VROM/DGM/BWL
9. I. Maas - VROM/DGM/SAS
10. Ir. M. Hopman - LNV
11. J. Verlucht - LNV
12. Drs. J.J.C. Karres - LNV
13. Ir. P. van den Brand - LNV, dir ZW
14. Drs. S. Dogger - Gezondheidsraad
15. Prof. Dr. L. Brussaard - WUR
16. Prof. Dr. P.C. de Ruiter - UU
17. Dr. B. Bosveld - SETAC Europe
18. Dr. H. Vermeulen - SKB
19. Drs. P.S.H. Ouboter - NOK
20. Ir. A.B. Roeloffzen - Gemeente Rotterdam
21. Drs. J.M. Wezenbeek - Grontmij Advies & Techniek
22. K. Huismans - Grontmij Advies & Techniek
23. Prof. Dr. H.J.P. Eijsackers - Alterra
24. Dr. J.H. Faber - Alterra
25. Dr. W.C. Ma - Alterra
26. Dr. J. Harmsen - Alterra
27. Ir. J. Lahr - Alterra
28. Dr. Ir. W. de Vries - Alterra
29. Dr. N. van de Brink - Alterra
30. Dr. G. Arts - Alterra
31. Dr. T. Brock - Alterra
32. Ir. C. Cornelis - VITO
33. Dr. J. Bierkens - VITO
34. Dr. G. van Gestel - VITO
35. Dr. V. Dries - OVAM
36. Drs. J. Tuinstra - Royal Haskoning
37. Ir. R.L.M. de Poorter - Royal Haskoning
38. Dr. Ir. P. Doelman - Doelman Advies
39. Dr. Ir. S.W. Moolenaar - NMI
40. Dr. J. Postma - AquaSense
41. A. Derksen - AquaSense
42. Drs. J.J. van de Waarde - Bioclear
43. Ir. M. Wagelmans - Bioclear
44. Ing. S.C. Bos - Tauw bv
45. E. Mateman - Tauw bv
46. W. Hendriks - Witteveen en Bos
47. Drs. B. Muijs - Witteveen en Bos
48. Dr. H. Leenaers - NITG-TNO

49. M. van der Leemkule - DLG
50. Ir. C. Roghair - DLG
51. Dr. D. van der Eijk - Provincie Zuid-Holland
52. Dr. P.J. den Besten - RIZA
53. Dr. Ir. J.P.M. Vink - RIZA
54. Drs. M. Beek - RIZA
55. Dr. J. de Jonge - RIZA
56. J. Stronkhorst - RIKZ
57. A.M.C.M. Pijnenburg - RIKZ
58. Ir. T. Edelman - Projectbureau Actief bodembeheer De Kempen
59. Dr. W. Veerkamp - Shell Nederland bv
60. Dr. W.J.M. van Tilborg - VNO/NCW-BMRO
61. Dr. J.J. Vegter - TCB
62. Dr. J. van Wensem - TCB
63. Drs. J. Brils - TNO-MEP
64. Prof. Dr. N.M. van Straalen - VU
65. Prof. H.A. Verhoef - VU
66. Dr. M.P. Berg - VU
67. Dr. Ir. C.A.M. van Gestel - VU
68. Drs. M. Klein - IKC-Natuurbeheer
69. Dr. W.H. Könemann - SEC
70. Dr. T.D.H.M. Sijm - SEC
71. Drs. T.P. Traas - SEC
72. Dr. E. Verbruggen - SEC
73. Dr. R. Luttik - SEC
74. Ir. R. van den Berg - LDL
75. Dr. A.P. van Wezel - LDL
76. Dr. Ir. F.A. Swartjes - LER
77. Ir. J.P.A. Lijzen - LER
78. Ing. P.F. Otte - LER
79. Dr. A.M. Breure - LER
80. Dr. P. van Beelen - LER
81. Dr. Ir. D. van de Meent - LER
82. Dr. C.D. Mulder - LER
83. Drs. M. Mesman - LER
84. Dr. A. Sterkenburg - LER
85. Drs. D. de Zwart - LER
86. Dr. L. Posthuma - LER
87. Dr. J. Struijs - LER
- 88-100. Auteurs
101. SBC/Communicatie
102. Bureau Rapportenregistratie
103. Bibliotheek RIVM
104. Depot Nederlandse Publicaties en Nederlandse Bibliografie
- 105-109. Bureau Rapportenbeheer
- 110-120. Reserve exemplaren LER

Bijlage 2: Foto's van de bemonsterde locaties.



Locatie C1: voormalige landbouwgrond nabij zinkfabriek Budel



Locatie C3: monsterplek het dichtst bij de fabriek (zichtbaar op de achtergrond).



Locatie C5: plek op het schiet-oefenterrein. In de omgeving zijn stukken heide geplagd



Locatie C6: Open plek in het bos aan de oever van een ven, referentie, nabij Nijnsel.



Locatie C8: referentie heideterrein nabij Eerde.

Bijlage 3. Fysisch- chemische methoden

3.1 Bepaling van het organisch stofgehalte van de grond

Een bekende hoeveelheid grond (5 tot 10 gram) wordt in een oven bij 105 °C gedroogd waardoor de grond zijn poriewater verliest. Daarna wordt deze grond gedurende 1 uur verhit bij 550 °C. Daardoor zullen organische stoffen oxideren en zullen sommige verbindingen vervluchtigen (loss on ignition 1 (LOI 1) of organisch koolstof). Na deze stap wordt de grond 1 uur verhit tot 900 °C. Hierdoor zullen de carbonaten worden ontleed tot CO₂. Na iedere temperatuurstap wordt het gewicht van de grond bepaald. Het deel dat na de verhitting bij 900 °C is verdwenen is het organisch stofgehalte van de grond (LOI 2). De gewichtsafname door verhitting wordt gloeiverlies of LOI2 genoemd.

3.2 Bepaling van het lutumgehalte en korrelgrootte-verdeling van grond

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

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

Literatuur

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

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

3.3 Bodemextracten voor Microtox- en PAM-algentoets

Het extraheren van grondmonsters t.b.v. de PAM-algentoets is als volgt uitgevoerd:

Werkwijze

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

Voorbeeld: grondmonster met de volgende vochtgehalten:

Veldvochtig: 10 % H₂O. WHC 100: 50 % H₂O (volledig verzadigd).

Gewicht van 100g veldvochtige grond wordt, na aanvullen met demiwater tot WHC 100:

$100/1.1 \times 1.5 = 136.4$ g. Dus toevoegen aan 100g van deze veldvochtige grond: 36.4 ml demiwater => WHC 100.

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

2a. Eerste extractiestap (6 uur):

Extractievloeistof (2mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) toevoegen aan de grond met WHC 100 in de verhouding L/S = 0.5 (l/kg DW).

In afgesloten fles 6 uur op schudplateau bij ongeveer 230 rpm.

Laat het materiaal bezinken en giet het supernatant af.

Centrifugereren (zie punt 3) .

2b. Tweede extractiestap (18 uur):

Voeg de pellets uit de centrifugebuizen toe aan het oorspronkelijke materiaal in de schudfles.

Voeg opnieuw extractievloeistof toe in de verhouding L/S = 0.5 (l/kg DW).

In afgesloten fles 18 uur op schudplateau bij ongeveer 230 rpm.

Laat het materiaal bezinken en giet het supernatant af.

Centrifugereren (zie punt 3) .

Voeg het heldere extract toe aan het extract van de eerste stap

3. Centrifugereren:

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

10 min. centrifugereren bij 10.000 rpm (15.000 g).

Supernatant overgieten in glazen Corex centrifugebuizen en vervolgens 10 min. centrifugereren bij 20.000 rpm (40.000 g).

Supernatant uit Corexbuizen afschenken in een flesje en bewaren bij 4 °C.

4. Nabewerking:

Als er nog zwevende deeltjes zichtbaar zijn: laten bezinken en opdrijven, daarna helder deel van het extract voorzichtig overpipetteren naar een schoon flesje.

Zonodig op pH stellen. De PAM-algentest vereist een pH van ongeveer 7.

Bijlage 4: Resultaten chemische analyses

Bijlage 4.1: Gehaltes van zware metalen gemeten in koningswater-destructie.

Resultaten per replica								
Replica's	Totaal-destructie grond							
	Ca mg kg ⁻¹	Cr mg kg ⁻¹	Ni mg kg ⁻¹	Cu mg kg ⁻¹	Zn mg kg ⁻¹	As mg kg ⁻¹	Cd mg kg ⁻¹	Pb mg kg ⁻¹
C1-A	1040.82	5.94	0.35	11.20	164.86	0.00	2.10	34.27
C1-B	722.89	4.06	1.39	12.45	232.13	0.00	1.65	34.70
C1-C	521.24	6.20	1.06	11.70	118.38	0.00	1.31	31.83
C3-A								
C3-B	140.85	8.86	2.59	8.98	57.36	3.45	0.44	63.33
C3-C	0.00	5.56	2.20	14.38	117.14	3.63	0.71	110.08
C5-A	0.00	2.61	0.45	3.67	45.17	0.00	0.04	32.74
C5-B	0.00	1.34	0.08	5.28	48.19	0.00	0.26	38.05
C5-C	0.00	0.60	0.00	8.35	36.59	0.34	0.71	43.63
C6-A	0.00	2.28	0.65	3.21	25.58	0.00	0.24	20.77
C6-B	0.00	5.73	1.07	3.91	23.78	0.00	0.09	28.80
C6-C	322.58	6.75	0.60	1.53	3.75	0.00	0.24	8.10
C8-A	278.81	4.67	0.72	1.75	35.89	0.00	0.32	5.89
C8-B	347.49	12.08	1.95	1.08	19.58	0.00	0.27	5.50
C8-C	99.21	5.58	0.73	1.57	25.95	0.00	0.00	6.35

Gemiddeld lineair								
Lokatie	Totaal-destructie grond							
	Ca mg kg ⁻¹	Cr mg kg ⁻¹	Ni mg kg ⁻¹	Cu mg kg ⁻¹	Zn mg kg ⁻¹	As mg kg ⁻¹	Cd mg kg ⁻¹	Pb mg kg ⁻¹
C1	761.65	5.40	0.93	11.78	171.79	0.00	1.69	33.60
C3	70.42	7.21	2.39	11.68	87.25	3.54	0.57	86.71
C5	0.00	1.52	0.18	5.77	43.32	0.11	0.34	38.14
C6	107.53	4.92	0.78	2.89	17.70	0.00	0.19	19.23
C8	241.84	7.44	1.14	1.47	27.14	0.00	0.20	5.91

Standaardafwijking								
Lokatie	Totaal-destructie grond							
	Ca mg kg ⁻¹	Cr mg kg ⁻¹	Ni mg kg ⁻¹	Cu mg kg ⁻¹	Zn mg kg ⁻¹	As mg kg ⁻¹	Cd mg kg ⁻¹	Pb mg kg ⁻¹
C1	261.95	1.17	0.53	0.63	57.19	0.00	0.40	1.54
C3	99.59	2.33	0.27	3.82	42.27	0.13	0.19	33.06
C5	0.00	1.02	0.24	2.38	6.02	0.20	0.34	5.44
C6	186.24	2.34	0.25	1.22	12.12	0.00	0.08	10.43
C8	128.21	4.05	0.70	0.34	8.22	0.00	0.17	0.42

Variatiecoefficient (%)								
Lokatie	Totaal-destructie grond							
	Ca %	Cr %	Ni %	Cu %	Zn %	As %	Cd %	Pb %
C1	34.4	21.7	57.1	5.3	33.3		23.5	4.6
C3	141.4	32.3	11.5	32.7	48.4	3.6	32.7	38.1
C5		66.8	135.5	41.2	13.9	173.2	101.2	14.3
C6	173.2	47.6	32.7	42.4	68.4		44.2	54.3
C8	53.0	54.4	62.0	23.5	30.3		87.4	7.2

Bijlage 4.2: Gehaltes van zware metalen gemeten in salpeterzuur-extractie (0,4 M).

Resultaten per replica								
Replica's	HNO ₃ -extractie grond							
	Ca mg kg ⁻¹	Cr mg kg ⁻¹	Ni mg kg ⁻¹	Cu mg kg ⁻¹	Zn mg kg ⁻¹	As mg kg ⁻¹	Cd mg kg ⁻¹	Pb mg kg ⁻¹
C1-A	1141.93	2.37	0.58	8.82	122.81	1.15	1.84	33.30
C1-B	821.46	2.02	0.62	9.31	96.74	0.92	1.81	34.26
C1-C	714.93	1.72	0.58	8.95	85.77	0.63	1.60	29.36
C3-A								
C3-B	13.47	0.98	0.19	7.88	9.17	3.04	0.09	73.40
C3-C	27.11	0.79	0.17	11.63	30.49	3.80	0.26	117.39
C5-A	7.90	0.51	0.16	3.30	4.15	0.63	0.01	29.48
C5-B	38.70	0.42	0.18	2.95	10.97	1.52	0.20	38.83
C5-C	52.76	0.32	0.24	4.25	14.31	1.22	0.49	36.32
C6-A	70.59	0.35	0.54	2.34	5.98	0.69	0.11	29.95
C6-B	65.63	0.30	0.52	1.90	5.89	0.76	0.11	27.14
C6-C	24.45	0.48	0.18	0.77	2.19	0.70	0.02	9.16
C8-A	10.31	0.73	0.28	0.39	1.16	0.95	0.01	4.41
C8-B	35.42	0.57	0.12	0.42	2.06	0.27	0.04	2.91
C8-C	13.86	0.55	0.12	0.40	1.78	0.36	0.02	4.59

Gemiddeld lineair								
Lokatie	HNO ₃ -extractie grond							
	Ca mg kg ⁻¹	Cr mg kg ⁻¹	Ni mg kg ⁻¹	Cu mg kg ⁻¹	Zn mg kg ⁻¹	As mg kg ⁻¹	Cd mg kg ⁻¹	Pb mg kg ⁻¹
C1	892.78	2.04	0.59	9.03	101.77	0.90	1.75	32.31
C3	20.29	0.88	0.18	9.76	19.83	3.42	0.18	95.40
C5	33.12	0.42	0.19	3.50	9.81	1.12	0.23	34.88
C6	53.55	0.38	0.41	1.67	4.68	0.72	0.08	22.08
C8	19.86	0.62	0.17	0.40	1.67	0.53	0.02	3.97

Standaardafwijking								
Lokatie	HNO ₃ -extractie grond							
	Ca mg kg ⁻¹	Cr mg kg ⁻¹	Ni mg kg ⁻¹	Cu mg kg ⁻¹	Zn mg kg ⁻¹	As mg kg ⁻¹	Cd mg kg ⁻¹	Pb mg kg ⁻¹
C1	222.25	0.32	0.02	0.25	19.02	0.26	0.13	2.60
C3	9.64	0.14	0.01	2.65	15.07	0.54	0.12	31.11
C5	22.95	0.09	0.04	0.67	5.18	0.45	0.24	4.84
C6	25.33	0.09	0.20	0.81	2.17	0.04	0.05	11.28
C8	13.59	0.10	0.09	0.02	0.46	0.37	0.01	0.92

Variatiecoefficient (%)								
Lokatie	HNO ₃ -extractie grond							
	Ca %	Cr %	Ni %	Cu %	Zn %	As %	Cd %	Pb %
C1	24.9	15.9	3.6	2.8	18.7	28.9	7.6	8.0
C3	47.5	15.6	7.0	27.1	76.0	15.9	67.6	32.6
C5	69.3	22.1	22.4	19.2	52.8	40.0	104.6	13.9
C6	47.3	24.6	48.6	48.7	46.2	5.1	60.7	51.1
C8	68.4	15.7	54.1	4.7	27.5	69.7	61.9	23.3

Bijlage 4.3: Gehaltes van zware metalen gemeten in calciumchloride-extractie (0,01 M).

Resultaten per replica							
CaCl ₂ -extractie grond							
Replica's	Cr mg kg ⁻¹	Ni mg kg ⁻¹	Cu mg kg ⁻¹	Zn mg kg ⁻¹	As mg kg ⁻¹	Cd mg kg ⁻¹	Pb mg kg ⁻¹
C1-A	0.005	0.083	0.072	41.426	0.048	0.470	0.022
C1-B	0.009	0.114	0.088	36.324	0.048	0.498	0.049
C1-C	0.001	0.103	0.062	29.965	0.038	0.430	0.046
C3-A							
C3-B	0.035	0.071	0.425	6.835	0.080	0.073	8.365
C3-C	0.035	0.081	0.580	24.713	0.125	0.219	11.036
C5-A	0.001	0.022	0.123	1.833	0.015	0.025	1.485
C5-B	0.013	0.070	0.102	7.212	0.099	0.129	2.296
C5-C	0.008	0.099	0.087	9.160	0.154	0.275	1.585
C6-A	0.025	0.184	0.079	2.868	0.116	0.054	1.357
C6-B	0.021	0.189	0.060	4.257	0.144	0.067	1.422
C6-C	0.021	0.074	0.049	1.291	0.032	0.015	0.656
C8-A	0.002	0.024	0.021	0.596	0.020	0.010	0.241
C8-B	0.000	0.020	0.012	0.572	0.000	0.003	0.135
C8-C	0.000	0.028	0.015	0.742	0.000	0.006	0.196

Gemiddeld lineair							
CaCl ₂ -extractie grond							
Lokatie	Cr mg kg ⁻¹	Ni mg kg ⁻¹	Cu mg kg ⁻¹	Zn mg kg ⁻¹	As mg kg ⁻¹	Cd mg kg ⁻¹	Pb mg kg ⁻¹
C1	0.005	0.100	0.074	35.905	0.045	0.466	0.039
C3	0.035	0.076	0.503	15.774	0.102	0.146	9.701
C5	0.008	0.063	0.104	6.068	0.089	0.143	1.789
C6	0.022	0.149	0.063	2.805	0.097	0.046	1.145
C8	0.001	0.024	0.016	0.637	0.007	0.006	0.191

Standaardafwijking							
CaCl ₂ -extractie grond							
Lokatie	Cr mg kg ⁻¹	Ni mg kg ⁻¹	Cu mg kg ⁻¹	Zn mg kg ⁻¹	As mg kg ⁻¹	Cd mg kg ⁻¹	Pb mg kg ⁻¹
C1	0.004	0.016	0.013	5.742	0.006	0.034	0.015
C3	0.000	0.007	0.110	12.642	0.032	0.103	1.889
C5	0.006	0.039	0.018	3.795	0.070	0.125	0.442
C6	0.003	0.065	0.015	1.484	0.058	0.027	0.425
C8	0.001	0.004	0.005	0.091	0.011	0.004	0.053

Variatiecoefficient (%)							
CaCl ₂ -extractie grond							
Lokatie	Cr %	Ni %	Cu %	Zn %	As %	Cd %	Pb %
C1	82.6	15.7	17.7	16.0	13.1	7.3	37.3
C3	0.5	9.3	21.8	80.1	31.0	70.7	19.5
C5	83.8	61.0	17.4	62.5	78.1	87.7	24.7
C6	11.7	43.6	24.5	52.9	59.4	59.3	37.1
C8	173.2	16.2	29.1	14.4	173.2	57.8	27.8

Bijlage 4.4: Gehaltes van zware metalen gemeten in 'poriewater-extractie'.

Resultaten per replica													
Replica's	Bodemkenmerken			Poriewater									
	pH-KCl	% LOI1 450 °C	% LOI2 900 °C	pH	Ca mg l ⁻¹	Cr µg l ⁻¹	Ni µg l ⁻¹	Cu µg l ⁻¹	Zn mg l ⁻¹	As µg l ⁻¹	Cd µg l ⁻¹	Pb µg l ⁻¹	DOC gem. mg l ⁻¹
C1-A	4.76	3.22	0.08	5.82	28.63	3.74	11.65	66.24	0.92	10.17	5.78	14.03	49.17
C1-B	4.45	3.64	0.05	6.41	24.59	2.59	13.34	59.95	0.70	10.71	3.65	10.52	63.76
C1-C	4.36	3.24	0.06										
C3-A	3.41												
C3-B	3.37	2.36	0.10	4.09	8.14	1.70	6.96	32.94	3.65	2.90	20.05	146.30	21.07
C3-C	3.36	3.69	0.05	4.18	6.37	1.59	9.20	27.14	1.85	3.07	11.61	169.30	27.22
C5-A	3.76	1.39	0.07	4.26	7.77	1.49	5.92	17.21	0.67	1.20	3.61	34.51	15.03
C5-B	3.38	4.27	0.03	5.41	10.31	7.30	7.46	38.53	0.67	19.42	3.89	78.28	86.51
C5-C	3.33	4.60	0.01	3.66	12.39	1.88	13.11	20.39	1.67	5.02	18.36	31.35	22.96
C6-A	2.93	4.99	0.04	3.51	6.75	7.88	27.50	21.05	0.48	15.69	3.58	42.27	84.18
C6-B	2.93	5.79	0.03	3.34	9.14	4.76	15.12	18.63	0.65	16.56	5.23	36.81	66.04
C6-C	2.90	1.64	0.04	3.50	16.07	4.55	14.09	13.65	0.55	2.28	5.25	27.31	23.97
C8-A	3.79	0.87	0.07	4.61	4.95	0.88	10.51	5.27	0.13	2.04	0.96	5.00	10.76
C8-B	3.89	0.82	0.07	4.68	3.65	0.74	1.95	4.19	0.12	0.01	0.14	4.01	15.67
C8-C	3.83	1.02	0.07	4.74	2.78	0.84	1.39	4.10	0.09	3.11	0.12	7.83	23.52

Gemiddeld lineair													
Lokatie	Bodemkenmerken			Poriewater									
	pH-KCl	% LOI1 450 °C	% LOI2 900 °C	pH	Ca mg l ⁻¹	Cr µg l ⁻¹	Ni µg l ⁻¹	Cu µg l ⁻¹	Zn mg l ⁻¹	As µg l ⁻¹	Cd µg l ⁻¹	Pb µg l ⁻¹	DOC gem. mg l ⁻¹
C1	4.5	3.37	0.06	6.1	26.61	3.17	12.50	63.10	0.81	10.44	4.71	12.28	56.47
C3	3.4	3.03	0.08	4.1	7.26	1.64	8.08	30.04	2.75	2.99	15.83	157.80	24.15
C5	3.5	3.42	0.04	4.4	10.16	3.55	8.83	25.38	1.00	8.55	8.62	48.05	41.50
C6	2.9	4.14	0.04	3.5	10.65	5.73	18.90	17.78	0.56	11.51	4.68	35.46	58.06
C8	3.8	0.91	0.07	4.7	3.80	0.82	4.62	4.52	0.12	1.72	0.41	5.61	16.65

Standaardafwijking													
Lokatie	Bodemkenmerken			Poriewater									
	pH-KCl	% LOI1 450 °C	% LOI2 900 °C	pH	Ca mg l ⁻¹	Cr µg l ⁻¹	Ni µg l ⁻¹	Cu µg l ⁻¹	Zn mg l ⁻¹	As µg l ⁻¹	Cd µg l ⁻¹	Pb µg l ⁻¹	DOC gem. mg l ⁻¹
C1	0.21	0.24	0.01	0.42	2.86	0.81	1.20	4.45	0.16	0.38	1.50	2.48	10.32
C3	0.03	0.94	0.03	0.06	1.25	0.07	1.59	4.10	1.27	0.12	5.97	16.26	4.35
C5	0.24	1.77	0.03	0.89	2.31	3.25	3.78	11.50	0.57	9.61	8.44	26.23	39.18
C6	0.02	2.20	0.01	0.10	4.84	1.87	7.46	3.77	0.09	8.01	0.96	7.57	30.89
C8	0.05	0.10	0.00	0.07	1.09	0.08	5.11	0.65	0.02	1.58	0.48	1.98	6.43

Variatiecoëfficiënt (%)													
Lokatie	Bodemkenmerken			Poriewater									
	pH-KCl %	% LOI1 %	% LOI2 %	pH %	Ca %	Cr %	Ni %	Cu %	Zn %	As %	Cd %	Pb %	DOC gem. %
C1	4.6	7.1	18.6	6.8	10.7	25.6	9.6	7.0	19.1	3.7	31.8	20.2	18.3
C3	0.8	31.0	39.3	1.5	17.2	4.4	19.6	13.7	46.3	4.0	37.7	10.3	18.0
C5	6.7	51.6	76.7	20.0	22.8	91.3	42.9	45.3	57.2	112.5	97.9	54.6	94.4
C6	0.6	53.1	18.4	2.8	45.4	32.6	39.5	21.2	15.8	69.6	20.5	21.3	53.2
C8	1.3	11.1	4.6	1.4	28.8	9.2	110.8	14.3	18.5	91.7	118.1	35.4	38.6

Bijlage 4.5: Zware metalen in grondextracten t.b.v. PAM-algentest.

Monsternr.	Zn mg/l
C1a	1.85
C1b	2.65
C1c	2.87
C3a	3.57
C3b	11.26
C3c	11.49
C5a	1.44
C5b	2.88
C5c	3.18
C6a	1.02
C6b	1.09
C6c	0.69
C8a	0.26
C8b	0.27
C8c	0.45

Bijlage 5: Ecologische waarnemingen

Bijlage 5.1: Nematoden

Aantal nematoden per 100 g verse grond (per replica en gemiddeld per lokatie)																					
Nematodentaxa	Geslacht	Replica's															Gemiddeld per lokatie				
		C1a	C1b	C1c	C3a	C3b	C3c	C5a	C5b	C5c	C6a	C6b	C6c	C8a	C8b	C8c	C1	C3	C5	C6	C8
Achromadora	j	98	37	0	0	0	0	0	0	0	23	0	0	0	0	9	45	0	0	8	3
Acrobeles	j	293	442	56	0	0	0	0	0	0	0	0	0	31	0	0	264	0	0	0	10
Acrobeles ciliatus	v	0	0	56	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	0	0	0	0
Acroboloides	j	538	737	389	749	458	355	349	164	427	634	376	226	125	51	27	555	520	313	412	67
Acroboloides nanus	m	49	0	56	0	95	75	0	18	31	94	63	50	62	0	18	35	57	16	89	27
Aglenchus agricola	m	0	0	0	0	0	0	0	0	0	61	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0
Aglenchus agricola	v	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	25	0	0	0	0	0	0	15	0
Alaimus	j	98	37	0	0	0	0	0	18	0	0	0	0	0	0	0	45	0	6	0	0
Aphelenchoides	j	49	111	139	588	496	560	1364	346	458	470	606	288	514	293	294	99	548	723	455	367
Aphelenchoides	m	0	0	0	36	0	19	63	18	31	94	84	75	0	13	9	0	18	37	84	7
Aphelenchoides blastophthorus	m	0	0	0	89	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	30	0	4	0
Aphelenchoides saprophilus	v	0	0	0	0	0	0	0	0	0	31	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0
Aphelenchus	j	0	37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0
Aporcelaimellus	j	0	0	83	0	0	0	0	73	0	0	0	0	16	13	45	28	0	24	0	24
Aporcelaimellus obtusicaudatus	v	0	0	28	0	0	0	0	55	61	0	0	25	0	0	9	9	0	39	8	3
Bunonema	j	49	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	16	0	0	0	4
Cephalobidae	j	147	0	28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	58	0	0	0	0
Cephalobus	j	49	111	56	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	72	0	0	0	0
Cervidellus	j	49	0	0	89	19	37	63	127	31	23	0	25	0	0	9	16	49	74	16	3
Cervidellus serratus	v	0	0	0	18	0	19	0	0	61	0	0	50	0	0	0	0	12	20	17	0
Clarkus papillatus	v	49	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	0	0	16	0	0	0	5
Coslenchus	j	0	0	0	0	0	0	0	18	0	141	0	0	0	0	0	0	0	6	47	0
Criconematidae	j	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	280	178	116	0	0	0	0	191
Dauerlarve	j	0	0	0	0	0	37	32	91	122	0	0	0	0	13	0	0	12	82	0	4
Diphtherophora	j	0	295	28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	108	0	0	0	0
Ditylenchus	j	0	0	83	53	0	0	63	36	31	0	0	0	0	0	0	28	18	43	0	0
Dolichodoridae	j	244	221	167	18	0	0	0	0	31	470	293	0	0	38	9	211	6	10	254	16
Dorylaimoidea	j	0	0	0	36	57	19	222	109	214	47	21	13	93	115	71	0	37	182	27	93
Eucephalobus	j	98	627	361	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	362	0	0	0	3
Eucephalobus mucronatus	m	0	0	28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0
Eucephalobus oxyuroides	v	49	37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	0	0	0	0
Eucephalobus paracornutus	m	49	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	0	0	0	0
Eucephalobus striatus	v	0	0	28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0
Eucephalobus striatus	m	0	37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0
Eudorylaimus	j	0	0	0	107	0	0	381	0	0	0	0	0	0	0	0	0	36	127	0	0
Eudorylaimus iners	v	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	0	0	0	0	0	0	0	7	0
Eudorylaimus leuckarti	v	0	0	0	0	0	0	0	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0
Euteratocephalus	j	0	37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0
Filenchus	v	98	221	0	0	19	0	32	109	0	23	0	0	0	0	0	106	6	47	8	0
Helicotylenchus	j	0	0	0	18	57	131	32	18	0	0	0	25	0	0	0	0	69	17	8	0
Helicotylenchus pseudorobustus	v	0	0	0	36	95	280	159	218	31	0	0	38	0	0	0	0	137	136	13	0
Hemicyclophora	j	391	0	0	160	133	187	0	0	0	0	0	0	0	0	0	130	160	0	0	0
Heterocephalobus elongatus	v	98	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33	0	0	0	0
Heterocephalobus elongatus	m	0	0	28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0
Labronema paesleri	v	0	0	0	0	0	0	63	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	0	0
Laimydorus parabastiani	v	49	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	0	0	0	0
Lelenchus leptosoma	v	49	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	0	0	0	0
Malenchus andrassyi	v	0	0	0	0	0	0	0	0	0	23	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0
Mesodorylaimus	j	0	37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0
Metateratocephalus	j	0	0	0	36	95	56	159	73	733	94	84	226	78	102	89	0	62	321	134	90
Metateratocephalus crassidens	v	0	0	0	0	0	0	0	0	61	0	0	125	78	51	27	0	0	20	42	52
Microdorylaimus	j	0	0	0	0	0	93	0	0	0	0	0	0	140	280	89	0	31	0	0	170
Mononchus	j	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	64	9	0	0	0	0	29
Neodiplogasteridae	j	0	0	56	0	0	0	0	0	0	0	209	150	0	0	0	19	0	0	120	0
Nordiidae	j	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	51	0	0	0	0	0	17
Panagrolaimus	j	49	37	56	18	19	0	95	200	61	0	21	0	0	0	0	47	12	119	7	0
Panagrolaimus paetzoldi	v	98	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33	0	0	0	0
Panagrolaimus rigidus	v	0	0	0	0	0	0	32	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0
Paratrichodorus	j	0	0	0	0	0	0	0	0	31	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0
Paratylenchus	j	49	0	0	0	0	0	32	0	0	0	0	0	0	0	0	16	0	11	0	0
Plectus	j	195	221	278	339	687	635	698	673	1252	235	334	188	467	408	267	232	553	874	252	381
Plectus acuminatus	v	0	0	0	0	0	0	0	0	61	0	0	0	0	0	9	0	0	20	0	3
Plectus cirratus	v	0	0	0	18	19	0	0	0	31	0	0	0	62	0	0	0	12	10	0	21
Plectus longicaudatus	v	0	0	0	71	38	19	0	36	61	0	0	13	62	13	45	0	43	32	4	40
Plectus parietinus	v	49	0	0	0	0	0	0	36	61	0	0	0	0	0	0	16	0	32	0	0
Plectus parvus	v	0	0	0	0	0	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0
Plectus rhizophilus	v	0	0	0	0	19	0	32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	11	0	0
Pratylenchus	j	195	258	334	71	19	75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	262	55	0	0	0
Pratylenchus	m	0	0	0	18	95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	38	0	0	0
Pratylenchus penetrans	v	0	0	28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0
Prismatolaimus	j	0	0	0	0	0	0	32	36	0	0	21	38	93	89	45	0	0	23	20	76
Prismatolaimus dolichurus	v	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25									

Bijlage 5.2: Potwormen

Aantal potwormen per m2 (per replica en gemiddeld per lokatie)																																
TAXON		lengte	Replica's								Gemiddeld per lokatie								C1	C3	C5	C6	C8									
			C1a	C1b	C1c	C3a	C3b	C3c	C5a	C5b	C5c	C6a	C6b	C6c	C8a	C8b	C8c															
Achaeta	J	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	757	2271	1136	0	0	0	0	0	1009	379											
Achaeta	J	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1514	2650	0	0	0	0	0	505	883											
Achaeta	J	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	757	0	0	0	0	0	0	252	0											
Achaeta	ad	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	757	0	0	0	0	0	0	0	252	0											
cf Marionina	J	2	7949	0	757	7570	1514	7949	0	4184	1893	757	1514	2650	0	0	0	2902	5678	2019	1640	0										
cf Marionina	J	3	6435	0	4184	5299	1136	379	0	3028	0	0	0	0	0	379	0	3533	2271	1009	0	126										
cf Marionina	J	4	1136	0	379	3407	3407	757	0	0	0	0	0	0	0	0	0	505	2523	0	0	0										
Cognettia	J	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4921	0	0	1514	0	0	1640	505											
Cognettia	J	3	0	0	0	0	0	0	0	5299	0	0	8327	25360	9841	21953	0	0	1766	2776	19051											
Cognettia	J	4	0	0	0	0	0	0	0	3407	0	0	13626	21196	13626	4921	0	0	1136	4542	13248											
Cognettia	J	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9463	31794	0	0	0	0	0	3154	10598											
Cognettia	J	7	0	0	0	0	0	0	0	2271	0	0	5678	27631	3785	1514	0	0	757	1893	10977											
Cognettia	J	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1893	8706	0	0	0	0	0	631	2902											
Enchytraeus	J	2	3785	0	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1388	0	0	0	0										
Enchytraeus	J	3	1514	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	505	0	0	0	0										
Enchytraeus	J	4	0	0	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126	0	0	0	0										
Fridencia	J	2	0	0	379	0	0	0	0	3028	0	0	0	0	0	0	0	126	0	1009	0	0										
Fridencia	J	3	1514	0	0	0	0	0	0	1514	0	0	0	0	0	0	0	505	0	505	0	0										
Fridencia	J	4	0	0	0	0	0	0	0	1136	0	0	0	0	0	0	0	0	0	379	0	0										
Fridencia	ad	5	0	0	0	0	0	0	0	10977	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3659	0	0										
Fridencia	ad	6	379	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	252	0	0	0	0										
Henlea	J	2	0	757	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	252	0	0	0	0										
Henlea	J	4	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126	0	0	0	0										
Henlea	J	5	0	0	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126	0	0	0	0										
Henlea	J	7	757	0	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	379	0	0	0	0										
Onbekend	J	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1893	0	1893	0	0	0	0	631	631											
Totaal			23846	1136	7192	16276	6056	9084	0	23846	12869	757	3028	52990	118471	29523	29902	10724	10472	12238	18925	59299										

Bijlage 5.3: Micro-arthropoden

Aantal mijten per m2 (per replica en gemiddeld per lokatie)																									
	Replica's															Gemiddeld per lokatie									
Mijtentaxa	C1a	C1b	C1c	C3a	C3b	C3c	C5a	C5b	C5c	C6a	C6b	C6c	C8a	C8b	C8c	C1	C3	C5	C6	C8					
Arctoseius cetratus	4921	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1640	0	0	0	0					
Arctoseius insularis	4164	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1514	0	0	0	0					
Asca bicornis	0	0	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126	0	0	0	0					
Astigmata	0	0	0	0	0	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126	0	0	0	0				
Atropacarus striculus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1514	0	0	0	0	0	0	0	0	505	0				
Banksinoma lanceolata	0	0	0	0	379	4542	0	0	0	0	0	0	1893	0	4164	0	1640	0	0	2019					
Bdella	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	379	379	379	0	0	0	0	379					
Cheiroseius borealis	1136	0	757	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	631	0	0	0	0					
Cunaxidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1514	0	0	0	0	505					
Dendrolaelaps rectus	0	0	0	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126	0	0	0	0				
Oenoseius reticulatus	0	0	0	0	0	0	1136	0	379	0	379	0	0	0	0	0	0	505	126	0					
Diapaterobates humeralis	757	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	252	0	0	0	0					
Dicytorma fusca	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1136	0	379	0	0	0	0	505					
Diplura	0	0	0	379	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	252	0	0	0	0				
Entomobrya	0	0	1514	0	0	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	505	126	0	0	0					
Eupodidae	757	1893	1893	12112	0	1514	0	0	2650	3407	7192	1514	1514	0	1893	1514	4542	883	4037	1136					
Folsomia	0	0	0	0	0	379	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126	126	0	0					
Friesia truncata	4164	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1514	0	2271	1388	0	0	0	1262					
Histiostoma	0	0	379	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126	126	0	0	0				
Hypoaspis claviger	0	0	0	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126	0	0	0	0				
Hypoaspis praesternalis	0	379	757	0	0	0	0	0	0	0	757	0	0	379	0	379	0	0	252	126					
Isotoma	2271	379	379	0	0	0	0	0	2650	0	0	0	1514	757	757	1009	0	883	0	1009					
Leiioseius bicolor	0	0	0	0	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126	0	0	0	0				
Lepidocyrtus lignorum	379	0	0	0	0	379	0	0	0	0	0	0	0	0	379	126	126	0	0	126					
Lepidocyrtus violaceus	0	1514	8706	0	0	0	0	0	0	0	379	0	3407	0	0	3407	0	0	126	1136					
Liochthonius	3407	4921	0	379	1136	0	0	0	379	1893	6435	0	0	757	0	2776	505	126	2776	252					
Lysigamasus	0	0	0	0	0	1136	757	0	757	0	1136	0	757	757	1136	0	379	505	379	883					
Lysigamasus runcatellus	0	0	0	0	0	0	1136	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	379	0	0					
Lysigamasus vagabundus	0	0	0	0	1514	0	0	0	0	0	379	0	379	379	757	0	505	0	126	505					
Mesaphorura macrochaeta	1136	2271	379	757	379	757	0	1514	0	5299	0	0	0	0	379	1262	631	505	1766	126					
Mesostigmata	0	0	379	757	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126	252	0	0	0					
Microppia minus	0	0	0	0	7192	0	1136	0	3028	0	0	0	0	1893	2650	0	2397	1388	0	1514					
Microtritia minima	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126419	1514	0	0	0	0	0	0	42644	0					
Microtydeus	0	0	0	0	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126	0	0	0	0				
Neanura muscorum	0	0	757	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	379	252	0	0	0	126					
Nothrus silvestris	0	0	0	0	0	0	757	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	252	0	0					
Oppliella nova	0	0	0	0	1893	379	0	0	3407	0	0	0	4921	0	379	0	757	1136	0	1766					
Oppliidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	757	0	0	0	0	252					
Oribatida	379	757	0	1514	1136	3028	0	0	379	0	0	0	379	379	379	379	1893	126	0	379					
Parasitus	0	0	0	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126	0	0	0	0				
Parazercon radiatus	0	0	0	379	0	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	252	0	0	0	0				
Parisotoma notabilis	0	0	0	0	0	0	0	379	0	0	0	0	0	0	0	0	126	0	0	0	0				
Pergamasus crassipes	0	0	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126	0	0	0	0					
Praisotoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	379	0	0	0	0	0	0	126	0					
Prostigmata	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3785	0	0	0	0	3028	0	0	0	1262	1009					
Protura	0	0	0	0	0	379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126	0	0	0	0				
Pseudisotoma sensibilis	0	0	0	5678	0	757	2271	0	379	0	0	379	1136	0	0	0	2145	883	126	379					
Punctoribates punctum	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	757	1893	0	0	0	0	883					
Punctoribates quadrivertex	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	379	0	0	0	0	0	126	0					
Pygmephorus	379	1893	0	0	0	0	0	379	757	0	0	0	379	0	0	757	0	379	0	126					
Rhodacarellus silesiacus	1514	0	0	757	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	505	252	0	0	0					
Rhodacarus coronatus	0	0	0	0	0	0	379	0	2271	0	0	1136	0	0	0	0	883	379	0	0					
Rhyssotritia ardua	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6056	1893	0	0	0	0	0	2650	0	0					
Scheloniobates pallidulus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1136	0	379	0	0	0	505	0					
Scutacarus	379	1136	757	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	757	0	0	0	0					
Sminthurides malmgreni	0	0	0	0	0	0	0	0	11355	10598	4542	18168	2650	11355	3028	0	0	3785	11103	5678					
Sphaeridia pumilis	2271	1136	757	1514	1514	1514	1893	0	379	1136	757	5678	0	3028	0	1388	1514	757	2523	1009					
Stigmaeidae	0	0	0	0	379	0	379	0	1136	1514	379	0	1136	0	0	0	126	505	631	379					
Tectocephus velatus	0	0	0	0	3785	1136	0	0	1136	0	0	379	0	379	1893	0	1640	379	126	757					
Tydeidae	1514	757	1893	1136	0	0	379	0	2271	757	0	1136	0	0	0	1388	379	883	631	0					
Tyrophagus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	379	0	379	0	0	0	0	0	0	252	0					
Uropoda minima	0	0	0	0	1514	379	0	0	1136	0	0	0	0	0	0	0	631	379	0	0					
Veigaia cerva	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	379	379	0	0	0	0	252					
Veigaia nemorensis	0	0	0	0	379	0	2650	0	3028	0	0	0	0	0	0	0	126	1893	0	0					
Xenylla tullbergi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7192	5299	9463	0	0	0	0	0	0	7318	0					
Zercon	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8813	0	0	0	0	0	0	2271					
Zercoseius spathuliger	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6435	0	0	0	0	0	0	0	0	2145	0					
Totaal	29523	17411	20061	26874	22332	17411	13248	2271	37472	42392	161620	42014	31416	25360	25360	22332	22205	17663	82009	27378					

Bijlage 5.4: Vegetatie

Vegetatie-opname 2001																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																									
-----------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Vegetatie-opname 2002			C1		C3		C5		Ref. 1 (*)		Ref. 2 (**)		
			Geen mycorrhizas	Helemaal geen schimmels meer									
			Zand (podsol)	Zand (podsol) 1ste replica	Zand (podsol) 2de replica	Zand 1ste replica (A)	Zand 1ste replica (B)	Zand 1ste replica	Zandveen 2de replica	Zand 3de replica	Zand 1ste replica	Zand 2de replica	Zand 3de replica
Nr.	Taxon	Ned. naam	Ecologische groep										C8
1	<i>Arrhenatherum elatius</i>	Glanshaver	grasland op vochtige voedselrijke (kalrijke) bodem										
2	<i>Betula pendula</i>	Ruwe berk	vochtige tot droge voedselarme (zwak) zure bodem										
3	<i>Betula pubescens</i>	Zachte berk	natte voedselarme (zwak) zure bodem										
4	<i>Betula pubescens</i> (zaailing)	Zachte berk (zaailing)	natte voedselarme (zwak) zure bodem										
5	<i>Bryum capillare</i>	Gedraaid knikmos	voedselrij, van nat tot droog										
6	<i>Bryum rubens</i>	Rood knolletjes-knikmos	langs paden, in afgravingen										
7	<i>Calluna vulgaris</i>	Struikhei	vochtige tot droge voedselarme (zwak) zure bodem										
8	<i>C. vulgaris</i> var. <i>hirsuta</i>	(Behaarde) struikhei	voedselarme vochtige grond										
9	<i>Cladonia coccifera</i>	Rood bekermos	op pollen van pijpenstrootje en in naaldbossen										
10	<i>Cladonia coniocraea</i>	Smaal bekermos	op pollen van pijpenstrootje en struikhei										
11	<i>Cladonia fimbriata</i>	Koppes-bekermos	zure sandige bodem										
12	<i>Cladonia floerkeana</i>	Rode heidelicifer	zure bodem										
13	<i>Cladonia uncialis</i>	Varkenspootje	op pollen van pijpenstrootje										
14	<i>Clitocybe (=Leopisia) nebularis</i>	Nevelzwam	saprofyt op hout										
15	<i>Corynephorus canescens</i>	Buntgras	droge voedselarme zwak zure bodem										
16	<i>Deschampsia cespitosa</i>	Ruwe smele	grasland op natte matig voedselrijke bodem										
17	<i>Dropanocladus fluitans</i>	Ven-sikkelmos	natte zure bodem										
18	<i>Drosera intermedia</i>	Kleine zonnedauw	op open, natte, zure heide- en veengrond										
19	<i>Erica cinerea</i>	Rode dophei	grasland op vochtige voedselarme zwak zure bodem										
20	<i>Erica tetralix</i>	Gewone dophei	grasland op vochtige voedselarme zure bodem										
21	<i>Eupatorium cannabinum</i>	Koninginnenruid	ruigte op natte matig voedselrijke bodem										
22	<i>Fucus linatus</i>	Gestreepte nitul	vochtige tot natte, matig voedselrijke grond, ook op braakliggende grond										
23	<i>Hydrocotyle vulgaris</i>	Gewone waternavel	natte, zwak zure tot matig voedselrijke grond aan vennen en oevers										
24	<i>Hymenopus cupressiforme</i>	Gewoon blaafjesmos	zowel extreem zure als sterk basische bodem										
25	<i>Hypochaeris radicata</i>	Gewoon biggelauid	droge tot vochtige, voedselrijke graslanden en langs heiden										
26	<i>Koeleria macrantha</i> (sensu K.	Smaal fakkelgras	droge voedselarme basische bodem										
27	<i>Ligustrum vulgare</i>	Liguster	vochtige tot droge, kalrijke grond										
28	<i>Lythrum salicaria</i>	Grote kattenstaart	ruigten en hekken op vochtige voedselrijke bodem										
29	<i>Milium effusum</i>	Bosgerstgras	vochtige voedselarme zwak zure bodem										
30	<i>Molinia caerulea</i>	Pijpenstrootje	ruigte op vochtige voedselarme bodem										
31	<i>Mycena</i> sp.	Mycena (behoort tot de nadderzwammen)	saprofyt op hout										
32	<i>Nardus stricta</i>	Borstelgras	grasland op matig vochtige voedselarme (zwak) zure bodem										
33	<i>Onopordium filula</i>	Trechtertje	op (ex. geblagde) heide										
34	<i>Onopordum acanthium</i>	Vegdistel	droge voedselarme basische, gerode bodem										
35	<i>Panacisulus sphinctrinus</i>	Fransjevelkloot	bermen op zandgrond en bemeste graslanden										
36	<i>Parmelia</i> sp. 1	Schildmos	op pollen van pijpenstrootje										
37	<i>Parmelia</i> sp. 2	Schildmos	op pollen van pijpenstrootje										
38	<i>Parmelia</i> sp. 3	Schildmos	op pollen van pijpenstrootje										
39	<i>Phragmites australis</i>	Riet	ruigte op natte (matig) voedselrijke bodem										
40	<i>Poa sylvestris</i> (zaailing)	Groe den	natte tot droge voedselarme zure bodem										
41	<i>Poa pratensis</i>	Veelbeersgras	grasland op vochtige tot droge voedselrijke bodem										
42	<i>Polytrichum juniperinum</i>	Zand-haarmos	heiden en rand van zandverstuwingen										
43	<i>Polytrichum</i> sp.	Haarmos	heiden en rand van zandverstuwingen										
44	<i>Purus spinosa</i> x <i>domestica</i>	(Minder doornige) Sleedoorn	droge voedselarme basische bodem										
45	<i>Quercus robur</i> (zaailing)	Zomerelk	als kreupelhout op voedselarme, droge standplaatsen										
46	<i>Rubus caesius</i>	Dauwdraam	hekken op kalrijke grond										
47	<i>Rubus fruticosus</i>	Gewone braam	ruigte op vochtige voedselarme tot voedselrijke bodem										
48	<i>Rubus ulmifolius</i>	(le)pbraam	ruigte op vochtige voedselarme tot voedselrijke bodem										
49	<i>Russula decolorans</i>	Oranjerode grijssteelrussula	mycorrhiza van naaldhout										
50	<i>Scorododes holoschoenus</i>	Kopelbies	zandplaat in de Maas										
51	<i>Solanum nigrum</i>	Nachtschade	droge zeer voedselrijke bodem										
52	<i>Stellaria cf. media</i>	Vogelmuur	open, droge tot vochtige, voedselrijke, omgeverkte grond										
53	<i>Tragopogon pratensis</i>	Gele morgenster	grasland op vochtige tot droge voedselrijke bodem										
54	<i>Trametes hirsuta</i>	Ruig efterbankje	saprofyt op hout										
55	<i>Ulex europaeus</i>	Gaspeddoorn	droge, matig voedselarme grond op heiden en bermen										
56	<i>Vicia sepium</i>	Hegegnwikke	vochtige, voedselrijke grond aan hekken en bermen										
57	<i>Xylaria hypoxylon</i>	Gewelzwan	op liter										
			(*) Regenerationskomplex										(**) Stilstandkomplex