

RIVM rapport 650010034/2002

**Ecotoxicologische MTR's voor Etheen
in Lucht**

J.A. Janus

Dit onderzoek werd verricht in opdracht en ten laste van het Directoraat-Generaal Milieubeheer, Directie Klimaatverandering en Industrie (DGM/KvI), in het kader van project 650010.

Titel: Ecotoxicologische MTR's voor Etheen in Lucht.

Trefwoorden: Etheen
Ethylene
Maximaal Toelaatbaar Risiconiveau (MTR)
Maximum Permissible Concentration (MPC)
Luchtkwaliteitsnormen
Air Quality Guidelines

Datum publicatie: December 2002

Opdrachtgever: Ir. A.P.M. Blom, Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer, Directoraat-Generaal Milieubeheer, Directie Klimaatverandering en Industrie (VROM/DGM/KvI)

RIVM-projectnummer: M/650010

Auteur: Drs. J.A. Janus (RIVM/SEC)

Adviseurs: Dr. W. Slooff (RIVM/SEC)
Drs. T.P. Traas (RIVM/SEC)
Dr. W. Slob (RIVM/SIR)
Dr. ing. J.A. van Jaarsveld (RIVM/LED)

Abstract

In this report an ecotoxicological Maximum Permissible Concentration (MPC) has been derived for intermittent exposure of plants to ethylene in air, based on the results of field studies. In addition, the current ecotoxicological MPCs for ethylene in air, based on the results of laboratory studies in which plants were continuously exposed to ethylene in air, have been evaluated.

Inhoud

SAMENVATTING	7
1. INLEIDING	9
2. HUIDIGE LUCHTKWALITEITSNORMEN	11
2.1 MTR'S EN ONDERLIGGENDE ADVIESWAARDEN (NEDERLAND).....	11
2.2 LUCHTKWALITEITSNORMEN IN HET BUITENLAND.....	11
3. ONDERZOEKSPROJECT PLANT RESEARCH INTERNATIONAL	13
(NEDERLAND, 1999-2001)	
3.1 (SEMI-)VELDONDERZOEKEN MET AARDAPPEL.....	14
3.1.1 OTC-experiment 2000.....	15
3.1.2 OTC-experiment 2001.....	17
3.2 MODELMATIG ONDERZOEK.....	19
4. VELDONDERZOEK BIJ INDUSTRIËLE PUNTBRONNEN IN NEDERLAND	21
4.1 DSM (GELEEN).....	21
4.2 OVERIGE INDUSTRIËLE PUNTBRONNEN.....	25
5. ONDERZOEKSPROJECT ALBERTA'S RESEARCH COUNCIL (CANADA, 1997-1999)	27
5.1 FASE 1: SELECTIE GEVOELIGE GEWASSEN EN STADIA.....	27
5.2 FASE 2: ACUTE TOXICITEITSTESTEN.....	28
5.3 FASE 3: CHRONISCHE TOXICITEITSTESTEN.....	28
5.4 CHRONISCHE TOXICITEITSTESTEN – AANVULLEND ONDERZOEK.....	29
6. EVALUATIE EN VOORSTELLEN MTR'S	33
6.1 LOKAAL ROND INDUSTRIËLE PUNTBRONNEN.....	33
(DISCONTINUE BLOOTSTELLING).....	33
6.1.1 Langdurende blootstelling (hele jaar).....	33
6.1.2 Kortdurende blootstelling (piekconcentraties).....	36
6.2 EVALUATIE VAN HUIDIGE MTR'S.....	38
6.2.1 MTR van 300 µg/m ³ als maximum uurgemiddelde.....	38
6.2.2 MTR van 9 µg/m ³ als maximum 24-uurgemiddelde.....	38
LITERATUUR	43
BIJLAGE 1: ONDERZOEKSPROJECT ALBERTA'S RESEARCH COUNCIL	47
(CANADA, 1997-1999)	
FASE 1: SELECTIE GEVOELIGE GEWASSEN EN STADIA.....	47
FASE 2: ACUTE TOXICITEITSTESTEN.....	49
FASE 3: CHRONISCHE TOXICITEITSTESTEN.....	50
CHRONISCHE TOXICITEITSTESTEN – AANVULLEND ONDERZOEK.....	51
BIJLAGE 2: EVALUATIE OTC-EXPERIMENTEN (EFFECT OP BLOEI)	55
BIJLAGE 3: NOEC'S VOOR AFLEIDING UURGEMIDDELDE MTR	59
VERZENDLIJST	65

Samenvatting

In dit rapport is op grond van de resultaten van veldonderzoeken een ecotoxicologisch Maximaal Toelaatbaar Risiconiveau (MTR) afgeleid voor discontinue blootstelling van planten aan etheen in lucht, waarbij het discontinue blootstellingsregime van een Nederlandse industriële puntbron (DSM in Geleen) als uitgangspunt is genomen. Voor dergelijke bronnen is een $MTR_{\text{discontinue}}$ afgeleid van $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (43 ppb), als 95-percentiel van 24-uursgemiddelden, geldend voor langdurende blootstelling. Daarnaast is voor kortdurende blootstelling aan piekconcentraties een MTR afgeleid van $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (260 ppb) als 95-percentiel van uurgemiddelden, dit op grond van de resultaten van laboratoriumonderzoeken.

In Nederland gelden momenteel de volgende ecotoxicologische MTR's voor etheen in lucht: $9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (8 ppb) als maximum 24-uursgemiddelde, geldend voor continue blootstelling, en $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (260 ppb) als maximum uurgemiddelde.

Aanbevolen wordt het MTR van $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ als maximum uurgemiddelde te herzien tot de in dit rapport afgeleide waarde van $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ als 95-percentiel van uurgemiddelden, omdat zowel de destijds gebruikte ecotoxicologische extrapolatiemethode als de onderliggende toxiciteitsgegevens niet voldoen aan de huidige beoordelingscriteria. Verder wordt aanbevolen om het maximum 24-uursgemiddelde MTR van $9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ te herzien, omdat ook deze waarde niet is afgeleid volgens de huidige beoordelingscriteria en bovendien ongeveer gelijk is aan de bovengrens van de natuurlijke achtergrondconcentratie van etheen in lucht. Er kan in dit rapport nog geen nieuw voorstel voor een MTR voor continue blootstelling worden gegeven, omdat daarvoor eerst een (her)evaluatie en actualisering van de nu beschikbare toxiciteitsgegevens nodig is.

1. Inleiding

Etheen (C_2H_2) is een gasvormige verbinding die zowel wordt geëmitteerd door natuurlijke bronnen (vegetaties) als door antropogene bronnen (industriële puntbronnen, met name verbrandingsinstallaties, en diffuse bronnen, met name verkeer). In planten speelt endogeen etheen een rol als “verouderingshormoon”, met effecten op onder meer de ademhaling, fotosynthese, groei, bloei en veroudering (abscissie van bladeren/bloemen en vruchtrijping). Onder ongunstige groei-omstandigheden neemt de endogene vorming van etheen toe (“stress-etheen”). De endogene vorming van etheen is mede afhankelijk van de blootstelling aan exogeen etheen. Door de bijdrage van antropogene bronnen, met name industriële puntbronnen, kan de achtergrondconcentratie van etheen aanzienlijk worden verhoogd, met een kans op fytotoxische effecten (planten zijn gevoeliger voor etheen in lucht dan dieren en de mens). In landelijke gebieden variëren de concentraties van etheen in de buitenlucht van circa 0,1 tot 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, waarbij de natuurlijke achtergrondconcentratie afhankelijk is van seizoen, aanwezige vegetatie en tijd (dag of nacht). Recente gegevens over de landelijke achtergrondconcentratie in de buitenlucht in Nederland zijn alleen beschikbaar voor de locatie Kollumerwaard, gelegen in het landelijk gebied (dus buiten de invloedssfeer van specifieke bronnen, behalve verkeer): in de periode 1996 t/m 2001 was de uurgemiddelde concentratie op deze locatie meestal rond de 1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, met een totaal traject van 0,005 tot 12 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (gegevens Landelijk Meetnet Luchtkwaliteit). In een bos in Canada, eveneens gelegen buiten de invloedssfeer van antropogene etheenbronnen (inclusief verkeer), varieerden de concentraties van 3 à 4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (‘s nachts) tot 14 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (‘s middags), waarschijnlijk samenhangend met de metabole activiteit van de planten (Reid en Watson, 1985). In stedelijke gebieden variëren de concentraties van circa 0,5 tot 20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en hoger, bijvoorbeeld jaargemiddelde concentraties van 10-20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ met maximale uurgemiddelden van 70-90 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ in zeer drukke verkeerssituaties. Rond industriële puntbronnen kunnen de jaar-gemiddelde concentraties en vooral de piekconcentraties nog aanzienlijk hoger zijn. De bovengenoemde concentratiegegevens zijn gebaseerd op gegevens voor Nederland en andere landen en zijn behalve uit de hier genoemde referenties ook afkomstig uit verschillende andere literatuurbronnen.

De in Nederland geldende luchtkwaliteitsnormen (Maximaal Toelaatbare Concentraties, MTR's, zie Hoofdstuk 1) voor etheen zijn afgeleid op basis van laboratoriumonderzoek met planten (begassingsexperimenten), waarbij de planten voor kortere of langere tijd continu werden blootgesteld aan etheen. De MTR's gelden dan ook voor continue blootstelling gedurende een bepaalde periode (1 uur respectievelijk 24 uur). Rond belangrijke industriële etheen-emittenten in Nederland worden de MTR's, vooral die voor het 24-uursgemiddelde, regelmatig overschreden (zie Hoofdstuk 4). Bij dergelijke bronnen is er sprake van een discontinue blootstelling die wordt bepaald door de combinatie van het emissiepatroon en de weersomstandigheden. Er zijn sterke aanwijzingen, mede op grond van in Nederland uitgevoerde veldonderzoeken rond etheen-emittenten, dat planten onder condities zoals die voorkomen rond dergelijke bronnen minder gevoelig zijn voor etheen dan wordt voorspeld op grond van laboratoriumonderzoek met continue blootstelling. Om deze reden is door Plant Research International te Wageningen een uitgebreid onderzoek, inclusief (semi-) veldexperimenten, uitgevoerd naar de effecten van etheen op planten onder condities zoals die voorkomen rond DSM.

In opdracht van VROM/DGM/KvI heeft het RIVM de resultaten van bovengenoemd PRI onderzoek (zie Hoofdstuk 3), alsmede de resultaten van (eerdere) veldonderzoeken bij industriële puntbronnen (zie hoofdstuk 4) en de resultaten van een recent Canadees onderzoek

(zie Hoofdstuk 5) gebruikt voor een evaluatie van de huidige ecotoxicologische MTR's (zie hoofdstuk 6). De evaluatie is vooral gericht op de situatie-specifieke condities rond industriële puntbronnen zoals DSM.

Bij de evaluatie staan twee vragen centraal:

- 1) Kan er op basis van de resultaten van de veldonderzoeken en verdere gegevens, waaronder de resultaten van modelberekeningen waarin de resultaten van de veldonderzoeken zijn verwerkt, een situatie-specifieke MTR worden afgeleid voor een discontinu blootstellingsregime zoals dat voorkomt bij industriële puntbronnen? Het gaat bij deze vraag om een voorstel voor een MTR voor discontinue blootstelling, waarbij de blootstellingssituatie zoals die voorkomt rond DSM als uitgangspunt is genomen. De geëvalueerde veldonderzoeken betreffen zowel de door PRI uitgevoerde (semi-) veldonderzoeken in "Open Top Chambers" waarin het discontinue blootstellingsregime bij DSM werd gesimuleerd als de veldonderzoeken die in de jaren 1977-1991 bij DSM zijn uitgevoerd onder praktijkomstandigheden.
- 2) Is er op basis van alle nu beschikbare gegevens een herziening van de huidige MTR's voor continue blootstelling nodig? Hierbij is het met name van belang of een eventueel verschil in gevoeligheid onder laboratoriumcondities *versus* veldcondities kan worden uitgedrukt in een extrapolatiefactor. Ook is de afleiding van de huidige MTR's getoetst aan de nieuwe inzichten, zowel voor wat betreft de gebruikte ecotoxicologische extrapolatiemethode als de onderliggende ecotoxicologische gegevens.

Alle in dit rapport vermelde gegevens hebben betrekking op blootstelling van planten aan etheen in lucht, hetzij blootstelling in begassingsexperimenten (in het laboratorium of in het veld), hetzij blootstelling in het veld onder praktijkomstandigheden bij industriële puntbronnen, behalve de testen met ethephon ("vloeibaar etheen") die zijn beschreven in paragraaf 5.1.

2. Huidige luchtkwaliteitsnormen

2.1 MTR's en onderliggende advieswaarden (Nederland)

In Nederland gelden de volgende luchtkwaliteitsnormen voor etheen (VROM, 2000a,b)¹:

MTR:	300 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (260 ppb) als <u>maximum</u> uurgemiddelde;
MTR:	9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (8 ppb) als <u>maximum</u> 24-uursgemiddelde;
Streefwaarde:	0,5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0,43 ppb) als jaargemiddelde.

De huidige MTR's (Maximaal Toelaatbare Risiconiveaus) zijn door VROM gelijkgesteld aan de ecotoxicologische advieswaarden die door Van der Eerden (1987) zijn afgeleid met het Concentratie x Tijd model (C x T model), ook "envelopbenadering" genoemd. Beide MTR's zijn gebaseerd op een "effectgrenslijn" voor zeer gevoelige planten (voor minder gevoelige planten werd een andere effectgrenslijn bepaald, resulterend in hogere advieswaarden).

Tot 1998 golden MTR's (eerder "grenswaarden" genoemd) van 300 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ als 99,99 percentiel van uurgemiddelden respectievelijk 30 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ als 99,7 percentiel van 24-uursgemiddelden over een jaar.

In Tabel 2.1 wordt een overzicht gegeven van de ecotoxicologische advieswaarden voor etheen in lucht, zoals die vanaf 1984 in Nederland zijn afgeleid. Alle waarden zijn gebaseerd op de resultaten van laboratoriumonderzoek met planten (begassingsexperimenten waarin de planten voor kortere of langere tijd continu werden blootgesteld), uitgezonderd de waarden uit Tonneijck en Van Dijk (1994): de door deze auteurs afgeleide advieswaarden van 75 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ als 24-uursgemiddelde respectievelijk 45 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ als groeiseizoengemiddelde zijn gebaseerd op veldonderzoek bij DSM (relatie tussen het vóórkomen van epinastie bij aardappel en de etheenconcentratie, zie ook Hoofdstuk 4 van dit RIVM rapport). De door Tonneijck en Van Dijk (1994) afgeleide advieswaarden (inclusief de waarde van 1150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ als uurgemiddelde) gelden alleen voor industriële locaties, dit in tegenstelling tot de overige advieswaarden die een landelijke dekking hebben.

2.2 Luchtkwaliteitsnormen in het buitenland

Er zijn in de EU landen en in Canada en de Verenigde Staten geen nationaal geldende luchtkwaliteitsnormen voor etheen vastgesteld op grond van effecten op planten of andere ecotoxicologische gegevens (Wörsten et al., 2001).

In de Canadese provincie Alberta gelden momenteel de volgende interim luchtkwaliteitsnormen voor etheen ("Alberta Air Quality Guidelines"): een 6-uursgemiddelde van

¹ Het MTR van 9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ als 24-uursgemiddelde geldt sinds eind 1998. In "Stoffen en Normen 1999" (VROM, 1999) staat als MTR voor het 24-uursgemiddelde nog een waarde van 30 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ vermeld. Het MTR van 300 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ als uurgemiddelde en de streefwaarde van 0,5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ als jaargemiddelde gelden al langer.

120 µg/m³ (104 ppb) en een 30-dagen gemiddelde van 50 µg/m³ (44 ppb), beide geldend voor het groeiseizoen (1 mei – 30 september) gedurende de dag (03.00-22.00 uur). Buiten het groeiseizoen en gedurende de nacht zijn de normen niet van toepassing, omdat wordt aangenomen dat gewassen dan niet gevoelig zijn (Alberta Environment, 1999). Deze interim normen, vastgesteld in 1998, worden momenteel geherevalueerd op grond van de resultaten van het “Alberta’s Ethylene/Crop Research project” (zie Hoofdstuk 5).

Tabel 2.1. Chronologisch overzicht van eerder afgeleide advieswaarden (µg m⁻³) ter bescherming van planten tegen negatieve effecten van etheen (Uit Dueck et al., 2002b).

Bron	Blootstel- lingduur		Effectgrens- waarde	Methode
Gezondheidsraad, 1984	1 uur	Gevoelige planten	120	C x T ¹
		Minder gevoelige planten	300	C x T
	24 uur	Gevoelige planten	12	C x T
		Minder gevoelige planten	30	C x T
Van der Eerden, 1987	1 uur	Gevoelige planten	300	C x T
		Minder gevoelige planten	1500	C x T
	24 uur	Gevoelige planten	9	C x T
		Minder gevoelige planten	20	C x T
Slooff et al., 1991	1 uur	Vegetatie	30	MTR ²
	24 uur		2	MTR
Tonneijck en Van Dijk, 1994	8 uur	Vegetatie	13	C x T
			14,3	MTR
	4 weken		6,1	C x T
			3,8	MTR
Tonneijck en Van Dijk, 2000	1 uur	Vegetatie	1150	
	24 uur		75 ⁴	Model ³
	Groeiseizoen		45	Model

¹ Concentratie x tijd model, afleiding volgens de zogenaamde envelopbenadering (zie Tonneijck en Van Dijk, 1994).

² Maximaal Toelaatbaar Risiconiveau berekend voor bescherming van 95% van de plantensoorten (betrouwbaarheid 95%) volgens de Aldenberg en Slob (1993) methode.

³ Berekend met het etheen-epinastie model vlg. Tonneijck en Van Dijk (1999)

⁴ Als 90-percentiel

3. Onderzoeksproject Plant Research International (Nederland, 1999-2001)

In de periode 1999-2001 is in Nederland een uitgebreid onderzoek naar de effecten van etheen op planten uitgevoerd door Plant Research International in Wageningen (opdrachtgever DSM, met medefinanciering door de nationale overheid (VROM/DGM/KvI) en de provinciale overheden van Limburg en Zeeland). Het zwaartepunt van het onderzoek lag bij experimenteel onderzoek (met name: (semi-)veldonderzoek) en modelmatig onderzoek met het landbouwgewas aardappel.

Het primaire doel van het onderzoek was het leveren van wetenschappelijke informatie voor de afleiding van luchtkwaliteitsnormen voor een locatie-specifieke risicobeoordeling rond DSM in Geleen (Limburg), een industriële puntbron waar etheen wordt geëmitteerd bij de polyethyleen productie.

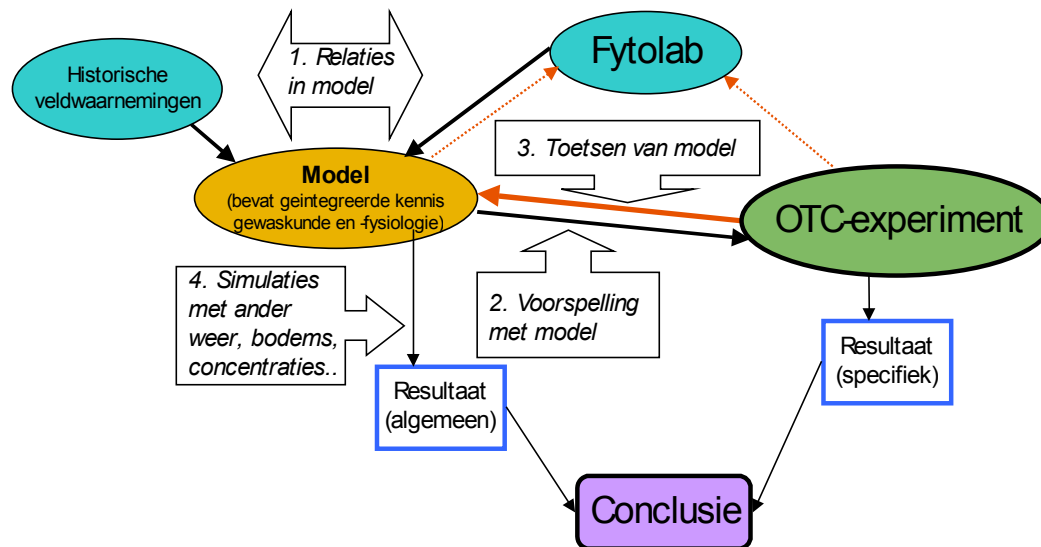
Er werd gekozen voor aardappel als toetsgewas omdat

- er al veldgegevens over de effecten van etheen bij aardappel beschikbaar waren uit een meerjarig monitoringsprogramma rond DSM;
- dit gewas relatief gevoelig is voor etheen;
- er veel fysiologische kennis over dit gewas beschikbaar is;
- dit gewas in Limburg en andere regio's in Nederland van groot economisch belang is.

Fasen van het onderzoek

1. (Semi-)veldonderzoeken naar effecten bij aardappel (chronische toxiciteit bij discontinue blootstelling: begassingsexperimenten in "Open Top Chambers" in het veld).
2. Modelmatig onderzoek (verkenningen, verdere ontwikkeling, validatie en scenarioberekeningen) naar effecten bij aardappel. In deze fase ook fysiologisch onderzoek voor modelontwikkeling.
3. Verdere evaluatie van veldonderzoeken naar de effecten bij aardappel (biomonitoringsprogramma rond DSM, 1982-1991) (zie Hoofdstuk 4).
4. Verdere evaluatie van veldonderzoeken naar de effecten bij petunia en afrikaantje (biomonitoringsprogramma rond DSM, 1977-1983) (zie Hoofdstuk 4).

In dit hoofdstuk worden de proefopzetten en resultaten van fase 1 en fase 2 weergegeven, vooral op grond van het eindrapport van het project (Dueck et al., 2002b). Voor verdere gegevens over deze twee fasen (schematisch weergegeven in Figuur 1) wordt verwezen naar de voorafgaande jaarrapporten (Van der Eerden en Van Dijk, 2000; Dueck en Van Dijk, 2001; Dueck et al., 2002a). Voor de resultaten van fase 3 en 4 wordt verwezen naar Hoofdstuk 4.



Figuur 3.1. Algemene aanpak van het etheen-project (uit Dueck et al., 2002b)

3.1 (Semi-)veldonderzoeken met aardappel

In deze fase van het onderzoek werden twee (semi-)veldonderzoeken met aardappel (*Solanum tuberosum*, cv. *Bintje*) uitgevoerd, in “Open-Top Chambers” (OTC’s). De onderzoeken werden in 2000 respectievelijk 2001 uitgevoerd in een proefveld bij het PRI in Wageningen. De discontinue blootstellingsregimes in beide experimenten zijn gebaseerd op een analyse van concentratiemetingen rond DSM met betrekking tot hoogte, duur en frequentie van piekconcentraties. De blootstellingsregimes in het tweede experiment zijn mede gebaseerd op de resultaten van het eerste experiment. De etheenconcentratie in de controle (“0” ppb) was de achtergrondconcentratie in de buitenlucht; deze werd in 2000 eenmalig bepaald en was <10 ppb (detectielimiet). De totale blootstellingsperiode omvatte bijna de volledige levenscyclus, vanaf het vroeg vegetatieve stadium (eenstengelige planten) tot aan de uiteindelijke aardappeloogst. Elke OTC bevatte 44 planten en elke behandeling werd uitgevoerd in triplo (experiment 2000) respectievelijk in duplo (experiment 2001).

Toxicologische eindpunten

1. **Kwalitatief:** Schade (veroudering: hoogte van het gele blad), bedekkingsgraad, groei (planthoogte) en blad epinastie.
2. **Kwantitatief:** Vegetatieve eindpunten (groei en sterfte) en reproductieve eindpunten (bloei en knolopbrengst).

Vegetatief: Sterfte (aantal), groei (hoogte), biomassa (droge stofgewicht, in g/m² van respectievelijk loof, ondergrondse delen exclusief knollen, en de totale plant).

Reproductief: bloei (aantal bloemtrossen), knolopbrengt (droge stofgewicht, in g/m²), misvorming knollen (aantal) en knolsortering (grootte).

Alle eindpunten zijn wekelijks bepaald, uitzonderd blad epinastie (dagelijkse observaties) en biomassa eindpunten (loof, totale plant, ondergrondse delen exclusief knollen,

knolopbrengst, misvorming knollen en knolsortering); deze werden bepaald aan het eind van het experiment.

3.1.1 OTC-experiment 2000

Proefopzet

Blootstellingsregime: blootstelling aan 0, 200, 400 of 800 ppb (2 of 4 maal per week gedurende 3 uur per blootstelling en evenredig verdeeld over de dag (11.00-14.00 uur) en nacht (0.00-03.00 uur)). Elk blootstellingsregime werd uitgevoerd in triplo, zie verder Tabel 3.1.

Blootstellingsperiode: Eind mei tot begin september.

Tabel 3.1. *Setpoints en gemeten niveaus van etheen (ppb) gemiddeld voor de blootstellingsperioden gedurende de looptijd van het begassingsexperiment in ieder van 18 Open-Top Chambers in 2000 (Uit Dueck et al., 2002b).*

OTC	Etheen (ppb)			OTC	Etheen (ppb)		
	Setpoint ¹	Gemiddelde	Standaard deviatie		Setpoint	Gemiddelde	Standaard deviatie
1	0 (controle)	-	-	10	0 (controle)	-	-
2	200 4pw ²	222,1	28,6	11	400 2pw	391,8	46,0
3	400 2pw ³	409,7	42,9	12	800 2pw	814,1	77,7
4	400 4pw	426,4	46,4	13	400 2pw	414,3	67,9
5	200 2pw	213,2	19,7	14	200 2pw	221,7	25,3
6	800 2pw	792,8	69,6	15	800 2pw	771,9	94,6
7	200 4pw	223,3	41,7	16	200 4pw	208,6	39,4
8	400 4pw	365,8	68,8	17	0 (controle)	-	-
9	200 2pw	215,6	24,0	18	400 4pw	413,8	46,0
Buiten		<10					

¹ iedere blootstelling duurt drie uur; overdag van 11.00 – 14.00 uur; 's nachts van 0.00 – 3.00 uur

² Tweemaal 's nachts en tweemaal overdag.

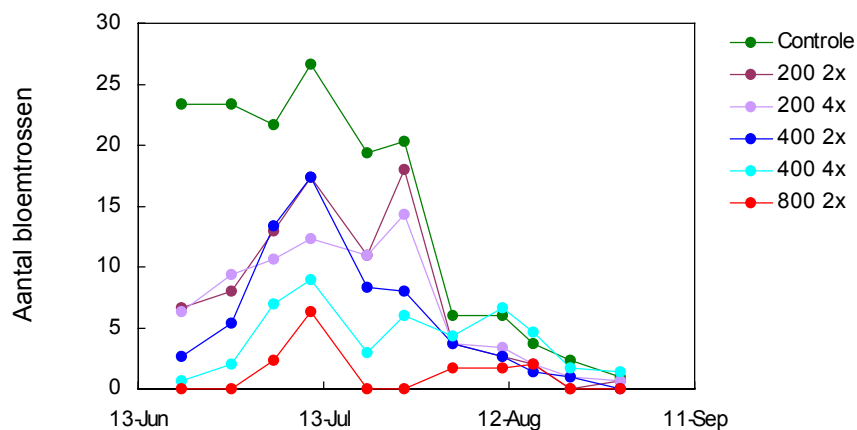
³ Eenmaal 's nachts en eenmaal overdag.

Resultaten

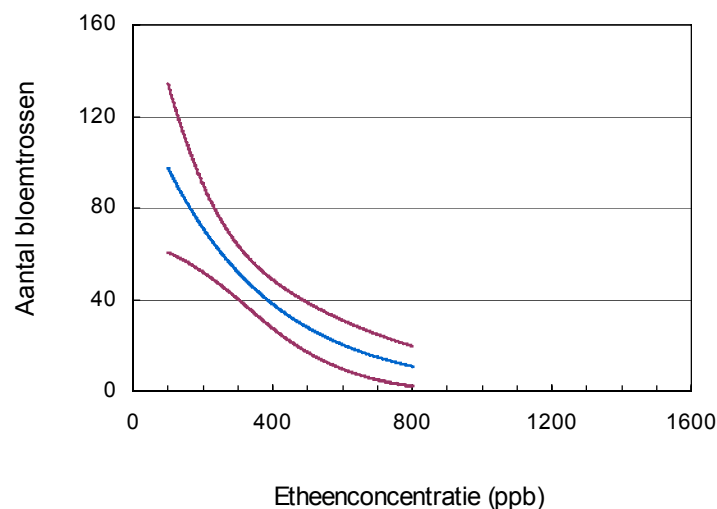
1. Bloei: Uitgaande van het gemiddelde aantal bloemtrossen per OTC in de belangrijkste bloeiperiode (20 juni – 26 juli; in totaal 6 waarnemingen, zie Figuur 3.2) was er een statistisch significant effect van de etheenconcentratie op het aantal bloemtrossen: het aantal bloemtrossen nam sterk af met toenemende etheenconcentratie. De frequentie van de blootstelling (2 of 4 maal per week) had geen invloed op het aantal bloemtrossen, met de kanttekening dat de 800 ppb behandeling alleen werd getest bij een frequentie van 2 maal per week. Figuur 3.3 geeft voor deze gegevens de relatie tussen het gemiddelde aantal bloemtrossen en de etheenconcentratie (waarbij de gegevens per concentratie zijn samengevoegd), alsmede het 95%-betrouwbaarheids-interval. De met een LSD-toets geschatte concentratie waarbij het effect significant ($p = 0,05$) afweek van de controle is 170 ppb (LOEC).
2. Knolopbrengst (en andere opbrengstparameters): Geen statistisch significant effect. Alleen bij 800 ppb was er een afname met circa 15% van de knolopbrengst (en

dientengevolge een zelfde afname van de totale biomassa), maar dit effect was niet statistisch significant. De afname van de knolopbrengst was gerelateerd aan de knolgrootte.

3. Epinastie: Alleen 2 maal in week 25 (eind juni) geconstateerd in alle behandelingsgroepen (niet in de controle). De intensiteit (aantal gekromde bladeren en sterkte van de kromming) was onafhankelijk van de etheenconcentratie en blootstellingsfrequentie.
4. Er waren geen effecten op de overige toxicologische eindpunten.



Figuur 3.2. Gemiddeld aantal bloemtrossen bij aardappel per etheenbehandeling op verschillende tijdstippen gedurende het groeiseizoen 2000 (Uit Dueck et al., 2002b)



Figuur 3.3. Relatie tussen het aantal bloemtrossen (gesommeerd over 6 meetdagen) en de etheenconcentratie (blauwe lijn). Het 95%-betrouwbaarheidsinterval is eveneens aangegeven (paarse lijnen). Vergelijking: $y = e^{(5.2 - 0.0031x)}$ waarbij y is aantal bloemtrossen en x is etheenconcentratie (ppb). De standaarddeviaties voor de geschatte parameters zijn achtereenvolgens 0.29 en 0.00077 (Uit Dueck et al., 2002b).

3.1.2 OTC-experiment 2001

Proefopzet

Blootstellingsregime: blootstelling aan 0, 100, 200, 400, 800 of 1600 ppb (2 of 4 maal per week gedurende 3 uur per blootstelling en evenredig verdeeld over de dag (11.00-14.00 uur) en nacht (0.00-03.00 uur)). Ten opzichte van het eerste OTC-experiment was er nu zowel een lagere (100 ppb) als een hogere (1600 ppb) etheenconcentratie opgenomen, teneinde mogelijk een NOEC te kunnen afleiden voor bloei respectievelijk knolopbrengst. Elk blootstellingsregime werd uitgevoerd in duplo, zie verder Tabel 3.2.

Blootstellingsperiode: Eind mei tot eind augustus.

Tabel 3.2. *Setpoints en gemeten niveaus van etheen (ppb) gemiddeld voor de blootstellingsperioden gedurende de looptijd van het begassingsexperiment in ieder van 18 Open-Top Chambers in 2001.*

OTC	Etheen (ppb)			OTC	Etheen (ppb)		
	Setpoint ¹	Gemiddelde	Standaard deviatie		Setpoint	Gemiddelde	Standaard deviatie
1	800 2pw ²	710,5	140,4	10	400 4pw	388,7	66,7
2	1600 4pw ³	1537,1	138,2	11	800 4pw	780,5	107,1
3	800 4pw	744,9	100,7	12	1600 2pw	1508,7	202,6
4	0 (controle)	-	-	13	100 2pw	145,9	101,6
5	400 4pw	377,6	60,1	14	200 2pw	196,6	97,7
6	200 2pw	219,5	54,8	15	1600 4pw	1514,9	237,3
7	400 2pw	408,0	82,7	16	800 2pw	758,2	143,7
8	400 2pw	359,7	75,2	17	0 (controle)	-	-
9	100 2pw	111,8	93,4	18	1600 2pw	1541,9	210,6
Buiten		<10					

¹ Iedere blootstelling duurt drie uur; overdag van 11.00 – 14.00 uur; 's nachts van 0.00 – 3.00 uur

² Eenmaal 's nachts en eenmaal overdag.

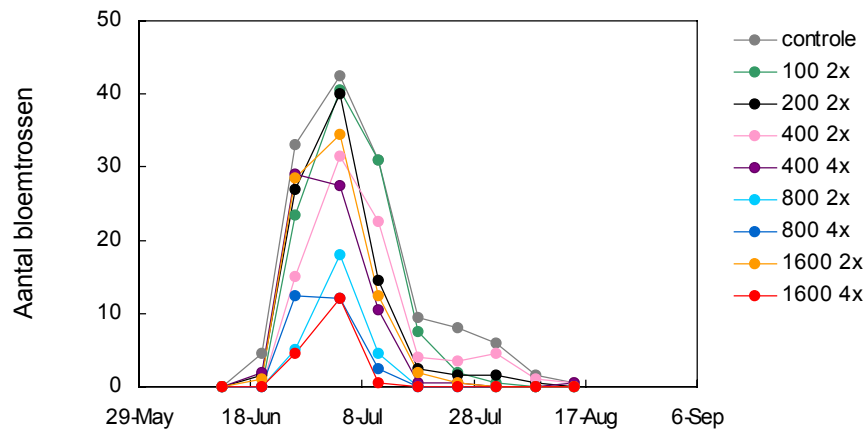
³ Tweemaal 's nachts en tweemaal overdag.

Resultaten

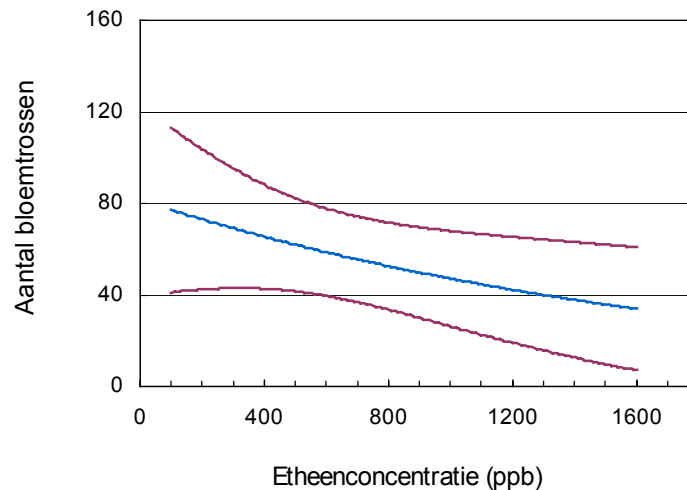
1. Bloei: Uitgaande van het gemiddelde aantal bloemtrossen per OTC in de belangrijkste bloeiperiode (26 juni – 11 juli; in totaal 3 waarnemingen, zie Figuur 3.4) was er een trend van afnemend aantal bloemtrossen met toenemende etheenconcentratie, maar volgens de PRI analyse was het effect niet statistisch significant ($0,05 < p < 0,10$) in tegenstelling tot de resultaten van het eerste OTC-experiment. De blootstellingsfrequentie (2 of 4 maal per week) had geen invloed op het aantal bloemtrossen, behalve bij de 1600 ppb behandeling: bij 1600 ppb 2 maal per week werd een relatief gering effect op het aantal bloemtrossen gevonden, terwijl bij 1600 ppb 4 maal per week een zeer sterke afname werd gevonden. Figuur 3.5 geeft voor deze gegevens de relatie tussen het gemiddelde aantal bloemtrossen en de etheenconcentratie (waarbij de gegevens per concentratie zijn samengevoegd), alsmede het 95%-betrouwbaarheidsinterval.
2. Knolopbrengst (en andere opbrengstparameters): Geen statistisch significant effect.
3. Epinastie: Diverse malen waargenomen aan de jongste bladeren, in de periode van 11 juni tot 4 juli, met name in de 400, 800 en 1600 ppb behandelingsgroepen (niet in de controle). De intensiteit (aantal gekromde bladeren en sterkte van de kromming) was

onafhankelijk van de etheenconcentratie en blootstellingsfrequentie, behalve op één dag waarop de sterkte van de kromming varieerde van licht in de 100 ppb behandeling tot sterk in de 1600 ppb behandeling.

- Er waren geen effecten op de overige toxicologische eindpunten.



Figuur 3.4. Gemiddeld aantal bloemtrossen bij aardappel per etheenbehandeling op verschillende tijdstippen gedurende het groeiseizoen 2001 (Uit Dueck et al., 2002b).



Figuur 3.5. Relatie tussen het aantal bloemtrossen (gesommeerd over 3 meetdagen) en de etheenconcentratie (blauwe lijn). Het 95%-betrouwbaarheidsinterval is eveneens aangegeven (paarse lijnen). Het effect was niet significant! (Uit Dueck et al., 2002b).

3.2 Modelmatig onderzoek

Proefopzet

Voorafgaand aan de OTC-experimenten (zie 3.1) is het project gestart met het uitvoeren van enkele verkenningen naar het effect van etheen op de productiviteit (knolopbrengst) van aardappel, uitgaande van een bestaand gewasgroeimodel. Met dit model zijn effecten van etheen op verschillende eindpunten (epinastie, fotosynthese en veroudering) doorgerekend voor wat betreft het effect op de knolopbrengst (*verkenningsfase*). Uit deze fase bleek het effect op de fotosynthese het meest cruciaal voor wat betreft het effect op knolopbrengst. Vervolgens is het model verder ontwikkelend, op grond van fysiologisch onderzoek met aardappel (laboratoriumonderzoek), dat met name gericht was op effecten van etheen op processen die de fotosynthese beïnvloeden. Dit resulteerde in een “etheenmodule” waarin de beide hoofdeffecten (het optreden van epinastie en afname van fotosynthese) van etheen op de knolopbrengst zijn verwerkt (*ontwikkelingsfase*). Het verdere onderzoek was gericht op de relatie tussen de blootstelling aan etheen en het effect daarvan op knolopbrengst voor situaties in de buitenlucht en voor blootstellingsregimes die realistisch zijn voor de omgeving van DSM. Hierbij zijn de resultaten van de OTC-experimenten gebruikt voor toetsing van het model (*validatiefase*) en zijn aanvullende scenarioberekeningen uitgevoerd, onder meer voor historische situaties zoals die in de periode 1982-1988 voorkwamen rond DSM (*verdere modelberekeningen*).

Resultaten

Modelverkenningen en -ontwikkeling

1. De knolopbrengst is het gevoeligst voor het effect op fotosynthese, gevolgd door epinastie en veroudering. Vanwege het geringe effect van veroudering (en het ontbreken van een significant effect op veroudering in de OTC-experimenten) zijn alleen fotosynthese en epinastie opgenomen in de etheenmodule.
2. Het effect van etheen op de fotosynthese is concentratie-afhankelijk, begint 1-4 uur na aanvang van de blootstelling en vertoont geen direct herstel na beëindiging van de blootstelling.
3. De fotosynthese werd bij langdurige begassing (24 uur bij 400 ppb) niet alleen door reversibele sluiting van de huidmondjes gereduceerd (resultierend in een afname van de huidmondjes-geleidbaarheid) maar er is ook een direct, deels irreversibel negatief effect op de fysische en biochemische processen van de fotosynthese (effecten op chloroplasten). Bij een begassing van minder dan 12 uur treedt dit irreversibele effect op de fysische en biochemische processen niet op.
4. Het effect van etheen (door reversibele daling van fotosynthese) op de productie zal bij korte begassingsperiodes (< 5 uur) met voldoende hersteltijd (1-2 etmalen) verwaarloosbaar zijn.

Modelvalidatie

1. Een effect van etheen op de knolopbrengst werd zichtbaar vanaf een blootstellingregime van 400 ppb 4 maal per week gedurende 3 uur per blootstelling, maar alleen bij 1600 ppb was er >5% afname van de knolopbrengst (met een maximum van 10% afname bij 1600 ppb 4 maal per week). Dit gold voor een *worst-case* scenario en voor klimatologische omstandigheden zoals die optraden in OTC's (ca 18 % minder zonnestraling dan buiten en 3-6 °C hogere temperaturen). Hierbij moet worden aange-

tekend dat de gesimuleerde bodembedekking in de OTC's (en daarmee de knolopbrengst in absolute zin) veel lager was dan de werkelijk gemeten bodembedekking in de OTC's. Dit wordt wellicht veroorzaakt doordat het gewas zich in de OTC's, ondanks alle genomen voorzorgsmaatregelen, niet geheel als een gewas in het vrije veld ontwikkelde. De éénstengelige planten werden in de OTC's langer dan in het veld en ontwikkelden meer blad dan het model onder OTC-omstandigheden berekent. Als hiervoor in het model wordt gecorrigeerd dan wordt de gesimuleerde opbrengstderving door etheen in de OTC's nog aanzienlijk kleiner.

Verdere modelberekeningen

1. De voorspelde opbrengstderving door etheen in (vol)veldomstandigheden (gemiddeld 18% meer straling en gemiddeld 3-6 °C lagere temperatuur dan in de OTC's) op basis van gemeten etheen-blootstellingen rond DSM in 1982-1988, bedroeg minder dan 3%.
2. Onder (vol)veldomstandigheden treedt een gemiddelde derving van de knolopbrengst van 5% op bij een discontinue blootstelling gedurende het gehele groeiseizoen aan meer dan 1600 ppb 4 maal per week gedurende 3 uur per blootstelling.
3. Onder dezelfde omstandigheden treedt een gemiddelde knolopbrengstderving van 10% of meer op bij discontinue blootstelling gedurende het gehele groeiseizoen aan meer dan 2000 ppb 4 maal per week gedurende 3 uur per blootstelling.

4. Veldonderzoek bij industriële puntbronnen in Nederland

4.1 DSM (Geleen)

In de periode 1977 tot en met 1991 zijn bij DSM in Geleen veldonderzoeken uitgevoerd naar de effecten van etheen op verschillende plantensoorten (petunia, afrikaantje en aardappel) waarbij de blootstelling plaatsvond onder praktijkomstandigheden. De gegevens van deze veldonderzoeken zijn samengevat in Tonneijck en Van Dijk (2000) en in Dueck et al., (2002b). Voor uitgebreidere gegevens wordt verwezen naar Tonneijck et al. (1999, 2000 en 2002).

De veldonderzoeken betreffen:

1. Effecten bij petunia's (*Petunia nyctaginiflora* Juss. cv. White Joy) en afrikaantjes (*Tagetes erecta* cv. Sovereign). Toxicologische eindpunten: groei en bloei. (1977 t/m 1983)
2. Effecten bij aardappel (*Solanum tuberosum* cv. Bintje). Toxicologische eindpunten: epinastie en knolopbrengst. (1982 t/m 1991).

Volgens de gegevens in Tonneijck et al. (2002) zijn deze plantensoorten relatief gevoelig voor etheen en bruikbaar als indicatorplanten in biomonitoringsprogramma's

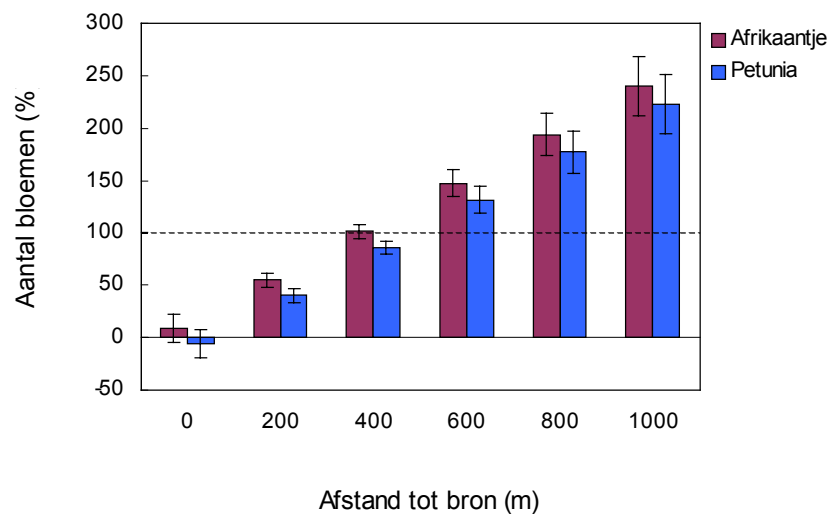
Proefopzet:

- Bepaling van effecten en etheenconcentraties in het groeiseizoen (mei t/m augustus/september) onder praktijkomstandigheden bij DSM.
- Effecten bij petunia's en afrikaantjes werden bepaald op afstanden van circa 0 tot 1000 meter van de polyethyleen productie units (onder meer in noordoostelijke richting, dus benedenwinds ten opzichte van de overheersende zuidwestenwind).
- Effecten bij aardappel werden alleen bepaald op circa 1000 meter afstand van de polyethyleen productie units (benedenwinds); dit punt ligt aan de grens van het bedrijfsterrein. Epinastie werd bij een jonge aardappelplant continu bepaald via automatische filmopnames (één beeld per elke 5 of 10 minuten). Per groeiseizoen werden, opeenvolgend, 3 tot 4 jonge planten gebruikt.
- Etheenconcentraties werden in de periode 1982 t/m 1991 gedurende mei t/m augustus continu bepaald op circa 1000 meter afstand van de polyethyleen productie units (benedenwinds), dus bij het 1000 meter punt waarbij effecten werden bepaald. Monsterperiode: 10 minuten. Uit de 10-minuten gemiddelde etheenconcentraties zijn vervolgens de uurgemiddelde, 24-uurgemiddelde en groeiseizoengemiddelde concentraties bepaald.
- Controlepunt voor alle gewassen: op 5 km afstand van het DSM terrein.

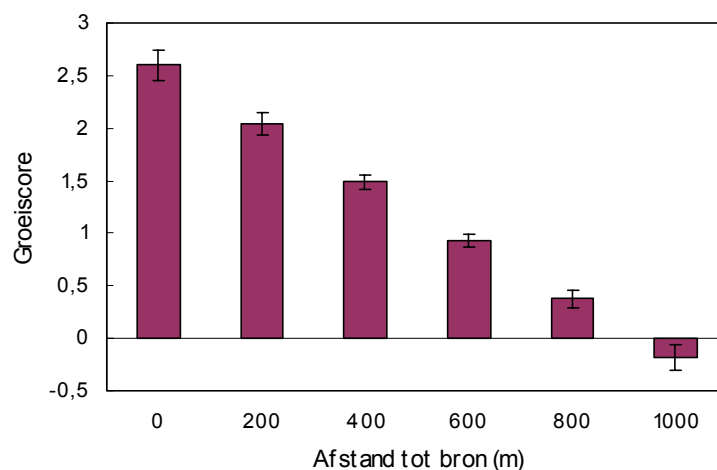
Resultaten

Petunia's en afrikaantjes - groei en bloei (Tonneijck et al., 2002)

Zowel voor bloei (aantal bloemen) als voor groei was er een duidelijk afstand-gerelateerd (en dus: etheenconcentratie-gerelateerd) effect, in alle gevallen met een lineair verband, zie Figuur 4.1 respectievelijk Figuur 4.2. De groei van de planten was het meest gevoelig, met nog een geringe remming op 800 meter afstand van de bron; op 1000 meter afstand (grens bedrijfsterrein) was er geen effect meer op de groei. De bloei van de planten werd tot een afstand van circa 500 meter geremd; op grotere afstand (500 tot 1000 m) was er een stimulatie van de bloei.



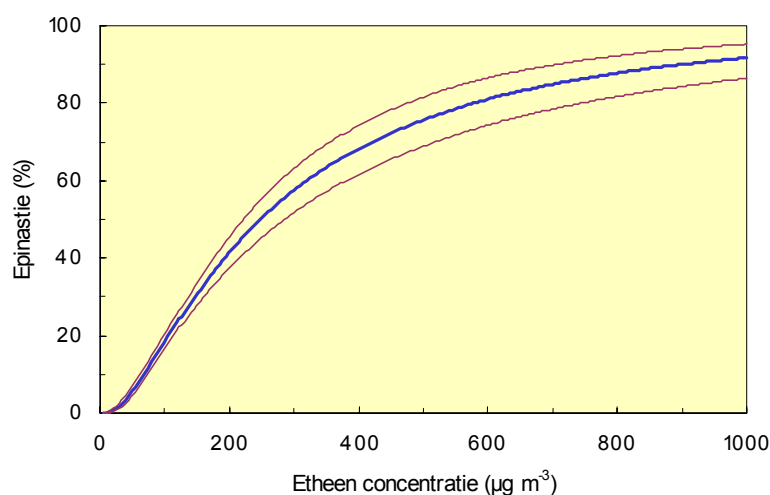
Figuur 4.1. Het aantal bloemen als percentage van de controle (%) bij afrikaantje en petunia op verschillende afstanden tot de bron van etheen voor de periode 1977-1983 (uit Dueck et al., 2002b).



Figuur 4.2. Gemiddelde groei van de twee indicatorplanten (afrikaantje en petunia) op verschillende afstanden tot de bron van etheen voor de periode 1977-1983. Voor de beoordeling van de groei werden de volgende scores gehanteerd: 0 is groei niet geremd, 1 is licht geremde groei, 2 is matig geremde groei en 3 is ernstig geremde groei. De groei van de controleplanten was niet geremd (score 0). (Uit Dueck et al., 2002b)

Aardappel - epinastie (Tonneijck et al., 1999, 2000)

Op grond van alle waarnemingen in de periode 1984-1991 is door Tonneijck et al. (1999) een relatie afgeleid tussen de uurgemiddelde etheenconcentratie en het vóórkomen van epinastie (uitgedrukt als percentage van de tijd), zie figuur 4.3. Daaruit is berekend dat bij een uurgemiddelde etheenconcentratie van $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (44 ppb) respectievelijk $70 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (61 ppb) in circa 5% van de tijd (1,2 uur per etmaal) respectievelijk 10% van de tijd (2,4 uur per etmaal) epinastie optreedt.



Figuur 4.3. *Epinastie (%) in aardappel als functie van de uurwaarden van etheen. Het 95-betrouwbaarheidsinterval is eveneens aangegeven (Uit: Dueck et al., 2002b).*

In Tabel 4.1 worden voor de jaren 1982 en 1983 de effecten op groei en bloei van petunia's en afrikaantjes weergegeven voor een locatie op de grens van het DSM terrein. In de tabel is ook het berekende percentage epinastie weergegeven, berekend op grond van de gemiddelde respectievelijk 95-percentiel concentratie. Alleen voor deze twee jaren zijn gegevens beschikbaar over zowel de effecten op petunia's en afrikaantjes op deze locatie als over de bijbehorende etheenconcentraties.

Tabel 4.1. *Etheenniveau, waargenomen effecten op bloei en groei bij petunia en afrikaantje en het berekende niveau van epinastie bij aardappel op 1000 meter afstand van de bron voor 1982 en 1983 (uit Dueck et al., 2002b).*

Jaar	Etheen ($\mu\text{g m}^{-3}$)		Bloemen (%)		Groei ¹	Epinastie (% van de tijd)	
	Gemiddeld	95 perc.	Petunia	Afrikaantje		Gem.	95 perc.
1982	61	282	159	124	0,14	8	55
1983	15	78	92	137	0,08	0,3	13

¹ Voor de beoordeling van de groei werden de volgende scores gehanteerd: 0 is groei niet geremd, 1 is licht geremde groei, 2 is matig geremde groei en 3 is ernstig geremde groei. De groei van de controleplanten was niet geremd (score 0).

Aardappel – knolopbrengst (Tonneijck et al., 2000)

Op 1000 meter afstand van de bron (op de plek waarop ook epinastie werd bepaald) werd in de periode 1982-1990 ook het effect op de knolopbrengst (versgewicht) bepaald. In 1982, het jaar met verreweg de hoogste groeiseizoengemiddelde etheenconcentratie ($61 \mu\text{g}/\text{m}^3$, *versus* 16 tot $35 \mu\text{g}/\text{m}^3$ in 1983-1991) was de knolopbrengst circa 24% hoger dan die in het controleveld. In 1989, een jaar met een relatief lage groeiseizoengemiddelde etheenconcentratie ($17 \mu\text{g}/\text{m}^3$) was de knolopbrengst circa 20% lager dan die in het controleveld. Gebaseerd op de gecombineerde gegevens voor alle jaren was er geen statistisch significant effect op de knol-opbrengst (bij een significantieniveau van $p = 0,05$). Dit geldt zowel voor de totaalopbrengst als voor de opbrengst uitgesplitst in 3 grootte-klassen (<40 mm, 40-60 mm en >60 mm).

Blootstellingsregime bij DSM (uit ongepubliceerde gegevens DSM)

Er is bij DSM sprake van een min of meer continue emissie van etheen door grondlekken en door ontgassing van de polyetheenproductie units (waarbij etheen dat vrijkomt gedurende het polymerisatieproces wordt geëmitteerd via een dertig meter hoge schoorsteen). Echter, door de wisselende weersomstandigheden is er sprake van een discontinue blootstelling, waarbij de concentraties op de grens van het bedrijfsterrein vooral worden bepaald door de emissie via de schoorsteen. Deze reguliere emissie leidt op de grens van het bedrijfsterrein tot piekconcentraties die zelden hoger zijn dan 100 à $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en zelden langer duren dan 6 uur achtereen (zie ook figuur 2 in Tonneijck et al. (2000), waarin het blootstellingsprofiel op de grens van het bedrijfsterrein is weergegeven voor een 300 uur durende periode in 1988). Zo kwamen in de groeiseizoenen van de jaren 1982 t/m 1991 in totaal 58 episodes voor met een gemiddelde concentratie $>100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ met een duur van minimaal 6 uur achtereen; de maximale duur per episode was 24 uur. Het aantal episodes met gedurende minimaal 6 uur achtereen een gemiddelde concentratie $>200 \mu\text{g}/\text{m}^3$ respectievelijk $>400 \mu\text{g}/\text{m}^3$ was 9 respectievelijk 2, met een maximale duur per episode van 11 uur respectievelijk 6 uur². Naast bovengenoemde reguliere emissie is er door storingen incidenteel (4-5 maal op jaar) sprake van een uitstoot van een relatief grote hoeveelheid etheen in één keer. Bij deze zogenaamde “decomps” wordt etheen opgestuwd naar een hoogte van 100 à 150 meter, waardoor verspreiding over een groter gebied plaatsvindt dan bij de reguliere emissie op 30 meter hoogte. De totale hoeveelheid etheen die per jaar wordt uitgestoten bij de “decomps” is maximaal enkele procenten van de totale jaarlijkse emissie, maar de relatief grote hoeveelheid die per “decomp” wordt uitgestoten leidt tot kortstondige piekconcentraties die op de grens van het bedrijfsterrein aanzienlijk hoger kunnen zijn dan $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (met incidenteel maximum uurgemiddelde etheenconcentraties tot 1000 à $3500 \mu\text{g}/\text{m}^3$) en kan ook buiten het bedrijfsterrein kortstondig tot duidelijk verhoogde etheenconcentraties leiden.

² De bovengenoemde en verder in dit rapport genoemde gegevens over de etheenconcentraties op de grens van het bedrijfsterrein van DSM beperken zich tot de jaren 1982 t/m 1991, omdat de gegevens voor die jaren zijn gekoppeld aan de resultaten van de veldonderzoeken naar de effecten van etheen. Er zijn ook gegevens over de etheenconcentraties die in latere jaren zijn gemeten; deze zijn niet meegenomen in dit rapport.

4.2 Overige industriële puntbronnen

Bij Dow Benelux (Terneuzen) en Shell Nederland Chemie (Moerdijk) zijn ook effecten bij verschillende gewassen onderzocht, waarbij soms ook effecten zijn gevonden. Echter, meestal onbreken etheenconcentratie metingen op de betreffende locaties. Onderstaande gegevens zijn uit Tonneijck en Van Dijk (2000).

Dow Benelux (Terneuzen)

In veldonderzoek bij Dow Benelux werden in 1978 effecten gevonden bij petunia en afrikaantje (afname van aantal en diameter van de bloemen) en bij aardappel (epinastie), maar er zijn geen bijbehorende etheenconcentraties bepaald. Eenmaal werd een directe link gelegd tussen het stopzetten/starten van een productie-eenheid en het optreden van epinastie bij aardappel.

Shell Nederland Chemie (Moerdijk)

Bij Shell Nederland Chemie werd in de periode 1976-1983 veldonderzoek uitgevoerd met petunia en aardappel. Er werden geen aan etheen-gerelateerde effecten gevonden, behalve in 1983: in dat jaar werd enig verband gevonden tussen hogere etheenconcentraties en kleinere bloemdiameter bij petunia respectievelijk verminderd knolgewicht bij aardappel. Het gemiddelde van de tien hoogste uurwaarden op drie locaties varieerde in 1983 van 14-70 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ voor de blootstellingsperiode van petunia en van 18-44 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ voor aardappel.

5. Onderzoeksproject Alberta's Research Council (Canada, 1997-1999)

In de periode 1997-1999 is in Canada een uitgebreid onderzoek naar de effecten van etheen op planten uitgevoerd door de Alberta Research Council, in het kader van het "Alberta's Ethylene/Crop Research Project" (opdrachtgevers: petrochemische industrie en provinciale overheid). Het betreft laboratoriumonderzoek met verschillende soorten landbouwgewassen en bomen die van economisch belang zijn in de provincie Alberta. Het doel van het onderzoek was tweeledig:

- Het leveren van wetenschappelijke informatie voor de verdere afleiding van luchtkwaliteitsnormen.
- Het leveren van wetenschappelijke informatie voor locatie-specifieke risicobeoordelingen.

Fasen van het onderzoek

1. Selectie van gevoelige landbouwgewassen en gevoelige ontwikkelingsstadia in testen met ethephon (eenmalige besproeiing met "vloeibaar etheen").
2. Acute toxiciteitstesten met de gevoelige landbouwgewassen en ontwikkelingsstadia (begassing met continue blootstelling).
3. Chronische toxiciteitstesten met de gevoelige landbouwgewassen; idem met boomsoorten (begassing met continue blootstelling) en aanvullend onderzoek met het gevoeligste gewas (begassing met discontinue blootstelling).

Alle testen betreffen potproeven die werden uitgevoerd in een kas onder grotendeels niet-gecontroleerde omstandigheden. De begassing met etheen (fase 2 en 3) vond plaats in aparte blootstellingskamers met meer gecontroleerde omstandigheden dan die in de kas. Zie Li en Archambault (1999a) voor een uitgebreide beschrijving van de blootstellingskamers en het begassingssysteem. Na de blootstelling aan ethephon (besproeiing) dan wel etheen (begassing) werden de landbouwgewassen verder gekweekt tot aan de uiteindelijke oogst na zaadrijping en werden uiteenlopende vegetatieve en reproductieve eindpunten onderzocht. Bij de boomsoorten (alleen getest in fase 2) werden alleen zaadontkieming en vegetatieve eindpunten bij zaailingen onderzocht. Zowel een remming als een stimulatie van de eindpunten werd als effect beschouwd, mits statistisch significant ($p \leq 0,05$).

In dit hoofdstuk worden de proefopzetten en resultaten kort weergegeven. Voor een uitgebreidere beschrijving wordt verwezen naar Bijlage 1.

5.1 Fase 1: Selectie gevoelige gewassen en stadia

Proefopzet

In deze fase, gerapporteerd in Archambault en Li (1999b), werden 5 landbouwgewassen (gerst (2 cultivars), tarwe (2 cultivars), haver (1 cultivar), erwten (1 cultivar) en koolzaad (2 cultivars)) eenmalig besproeid met ethephon (2-chloroethylphosphonic acid: $\text{Cl-CH}_2\text{-CH}_2\text{-PO}_3\text{H}_2$), "vloeibaar etheen" genoemd, dat in de plant snel wordt omgezet in etheen, chloride

en fosfonaat. Met elke cultivar werden 7 testen uitgevoerd, met 7 verschillende ontwikkelingsstadia gedurende de levenscyclus, variërend van het vroegste vegetatieve stadium (kiemplanten of zaailingen) tot en met de reproductieve fase kort voor de uiteindelijke oogst (in laatste behandlingsstadium: zaadrijping bijna volledig).

Resultaten

1. Alle gewassen en cultivars: Blootstelling in vroege vegetatieve stadia leidde tot reversibele effecten op vegetatieve groei eindpunten; de effecten waren na enkele weken niet meer aantoonbaar, behalve bij erwten (bij dit gewas was het effect op vegetatieve groei irreversibel). De blootstelling in vroege vegetatieve stadia leidde niet tot effecten op de zaadopbrengst.
2. Koolzaad: Blootstelling in vroege vegetatieve stadia leidde tot blad chlorose, blad necrose, blad epinastie en soms ontbladering; ook deze effecten waren reversibel.
3. Bij gerst, tarwe en koolzaad waren de late vegetatieve stadia en de vroege reproductieve stadia het gevoeligst, in ieder geval voor wat betreft het effect op zaadopbrengst en zaadkwaliteit.

Op grond van de resultaten werden gerst cv. *Harrington*, koolzaad cv. *Quantum* en erwten cv. *Carrera* geselecteerd voor de begassingsexperimenten in fase 2 en 3 van het onderzoek.

5.2 Fase 2: Acute toxiciteitstesten

Proefopzet

In deze fase, gerapporteerd in Archambault en Li (2001), werden 3 landbouwgewassen (gerst, erwten en koolzaad) in het gevoeligste ontwikkelingsstadium en 2 boomsoorten (spar en den) als zaad respectievelijk als 3-maanden oude zaailingen blootgesteld aan nominale etheenconcentraties van 10 (controle), 75, 150, 300, 600 of 1200 ppb, gedurende 1, 3, 5, 6 of 12 uur. De actuele concentraties verschilden minder dan 10% van de nominale concentraties.

Resultaten

1. Landbouwgewassen: Geen effecten op vegetatieve of reproductieve eindpunten (alleen de gegevens voor reproductieve eindpunten zijn in detail gerapporteerd).
2. Boomsoorten: Geen effecten op zaadontkieming of vegetatieve groei van zaailingen.
3. Alle plantensoorten (landbouwgewassen en boomsoorten): geen effect op fotosynthese.

5.3 Fase 3: Chronische toxiciteitstesten

Proefopzet

In deze fase, gerapporteerd in Archambault en Li (2001), werden 3 landbouwgewassen (gerst, erwten en koolzaad) continu blootgesteld aan nominale etheenconcentraties van 10 (controle), 50, 100, 150, 250 of 400 ppb gedurende een periode die verschillende gevoelige ontwikkelingsstadia (laat vegetatief tot vroeg reproductief) omvatte voor wat betreft effecten op reproductieve eindpunten, met name zaadopbrengst en zaadkwaliteit. De blootstellingsduur was 26 dagen voor gerst, 16 dagen voor erwten en 31 dagen voor koolzaad. In een tweede test met gerst werd de concentratie van 400 ppb vervangen door een van 30 ppb en werd de blootstellingsduur beperkt tot 14 dagen. De actuele concentraties verschilden minder dan 10% van de nominale concentraties.

Resultaten

1. Alle gewassen: Reproductieve eindpunten (in ieder geval: zaadopbrengst) waren gevoeliger dan vegetatieve eindpunten. In het onderstaande wordt daarom alleen ingegaan op de effecten op de zaadopbrengst (uitgedrukt als totale zaadgewicht per pot). In Bijlage 1 worden zowel de effecten op reproductieve als vegetatieve eindpunten beschreven.
2. Gerst: In zowel de 26-d als 14-d test werd bij alle concentraties een statistisch significante afname van de zaadopbrengst gevonden (concentratie-gerelateerd), met in de 26-d test een afname van 59% bij 50 ppb (oplopend tot bijna 100% afname bij ≥ 250 ppb) en in de 14-d test een afname van 63% bij 30 ppb en 72% bij 50 ppb (oplopend tot bijna 100% afname bij ≥ 100 ppb).
3. Koolzaad: Bij alle concentraties een statistisch significante afname van de zaadopbrengst, met een afname van 20% bij 50 ppb (oplopend tot 77% afname bij 400 ppb).
4. Erwt: Concentratie-gerelateerde afname van de zaadopbrengst, met een afname van $<10\%$ bij 50 en 100 ppb (niet statistisch significant) en $>10\%$ bij 150 ppb en hoger (statistisch significant; oplopend tot 73% afname bij 400 ppb) indien de planten van alle groepen werden geoogst op het moment dat de controleplanten oogstrijp waren. Er werd geen effect op de zaadopbrengst gevonden wanneer de planten per groep pas werden geoogst als ze oogstrijp waren.
5. Alle gewassen: Geen effect op de zaadkwaliteit.
6. Kwalitatieve eindpunten: Bij erwt: rank- en stengelbreuk, rank- en bladepinastie, vertakking, chlorose en necrose. Bij gerst: afvallen van bloemen, chlorose en necrose. Bij koolzaad: kleinere bloemknoppen, kleinere bloemen en afvallen bloemen.

5.4 Chronische toxiciteitstesten – aanvullend onderzoek

In fase 3 van het onderzoek werd nog een aantal chronische testen uitgevoerd (Archambault en Li, 2001). In al deze testen omvatte de blootstelling het gevoeligste stadium voor wat betreft effecten op reproductieve eindpunten (met name: zaadopbrengst). In het onderstaande worden alleen de resultaten voor zaadopbrengst (uitgedrukt als totale zaadgewicht per pot) gerapporteerd, tenzij vegetatieve eindpunten gevoeliger waren.

1. **Chronische toxiciteitstesten (continue blootstelling) met gerst en erwt, om de kritische blootstellingsduur te bepalen.**

Proefopzet

Blootstellingsconcentratie: 50 ppb (controle: 10 ppb).

Blootstellingsduur: 0, 3, 6, 12, 18 en 24 dagen (gerst) respectievelijk 0, 12, 16, 20, 24 en 28 dagen (erwt).

Resultaten

Gerst: Blootstellingsduur-gerelateerde afname van de zaadopbrengst, met een afname van 41% na 3 dagen blootstelling en oplopend tot 89% afname na 24 dagen blootstelling.

Erwt: Geen effecten.

2. Chronische toxiciteitstesten (discontinue blootstelling, gedurende 6 uur per etmaal) met gerst, om de gevoeligste periode gedurende het etmaal te bepalen.

Proefopzet

Blootstellingsregime: Blootstelling aan 200 ppb gedurende 6 uur per dag: 0.400-10.00 uur (donker/licht), 10.00-16.00 uur (licht), 16.00-22.00 uur (licht) of 22.00-04.00 uur (donker), gedurende een periode van 30 opeenvolgende dagen. Controle: 10 ppb (continu in de controlegroep en discontinu in de blootstellingsgroep).

Resultaten

Alleen de blootstelling gedurende het eerste dagdeel (10.00-16.00 uur) resulteerde in een statistisch significante afname van de zaadopbrengst (afname met 50%).

3. Chronische toxiciteitstesten met gerst (discontinue blootstelling, 5 blootstellingen gedurende 6 uur per etmaal, met intervallen), om de hersteltijd te bepalen.

Proefopzet

Blootstellingsregime: discontinu, in totaal 5 blootstellingen aan 250 of 500 ppb gedurende 6 uur per etmaal (10.00-16.00 uur, de gevoeligste periode voor dit gewas), met intervallen van respectievelijk 0, 1, 3 en 5 dagen. In een verdere test waren er in totaal 3 blootstellingen met een interval van 11 dagen. Controle: 10 ppb (continu in de controlegroep en discontinu in de blootstellingsgroep). Vanwege experimentele problemen werden 3 series testen uitgevoerd; de experimentele problemen bemoeilijken de interpretatie, maar ondanks dat worden de resultaten bruikbaar geacht.

Resultaten

Bij blootstelling aan 250 ppb was er in bijna alle gevallen een statistisch significante afname van de zaadopbrengst, met een afname van circa 25% tot 75%. De gegevens voor zaadopbrengst laten wel een trend zien van afnemend effect met toenemend interval (maar niet echt duidelijk, mede door de experimentele problemen), maar een interval van 5 of zelfs 11 dagen was niet genoeg om een duidelijk effect op de zaadopbrengst te voorkomen. De gegevens voor blootstelling aan 500 ppb (alleen in tweede serie meegenomen) zijn te beperkt voor evaluatie.

4. Chronische toxiciteitstest met gerst (discontinue blootstelling, met een blootstellingsregime gebaseerd op dat van een industriële etheenbron).

Proefopzet

Blootstellingsregime: Discontinuu gedurende een periode van in totaal 30 dagen. Het blootstellingsregime, met een aantal een tot meerdere uren durende piekconcentraties tussen de 50 en 300 ppb, is gebaseerd op monitoringsgegevens bij een industriële puntbron (worst-case maand van drie jaren)³. Controle: 10 ppb (continu in de controlegroep en discontinu in de blootstellingsgroep).

³ Het blootstellingsregime bij deze industriële puntbron (weergegeven in Figuur 7.1 in Archambault en Li (2001) voor een periode van 30 dagen) is redelijk goed vergelijkbaar met dat bij DSM (weergegeven in Figuur 2 in Tonneijck et al. (2000) voor een periode van 12,5 dag), zowel voor wat betreft de hoogte van de piekconcentraties als de frequentie en duur van de piekconcentraties.

Resultaten

Statistisch significante toename van de bovengrondse biomassa (plus 15%) en wortelbiomassa (plus 40%). Geen effecten op verdere vegetatieve eindpunten en geen effecten op reproductieve eindpunten (zaadopbrengst en zaadkwaliteit).

6. Evaluatie en voorstellen MTR's

6.1 Lokaal rond industriële puntbronnen (discontinue blootstelling)

6.1.1 Langdurende blootstelling (hele jaar)

Op grond van de resultaten van de bij DSM uitgevoerde veldonderzoeken (Hoofdstuk 4) en die van de twee (semi-)veldexperimenten in "Open Top Chambers" met discontinue blootstellingsregimes die gebaseerd zijn op een analyse van concentratiemetingen rond DSM met betrekking tot hoogte, duur en frequentie van piekconcentraties (Hoofdstuk 3), wordt geconcludeerd dat het huidige MTR van $9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ als maximum 24-uursgemiddelde te streng is voor discontinue blootstellingsregimes zoals bij DSM⁴. De belangrijkste argumenten voor deze conclusie zijn de volgende:

1. Er is sprake van discontinue blootstelling, terwijl het huidige MTR gebaseerd is op continue blootstelling.
2. Veldonderzoek bij DSM met petunia's en afrikaantjes in de periode 1977-1983 geeft aan dat zowel bloei als groei van deze planten duidelijk werden geremd op korte afstand van de bron (dus bij relatief hoge etheenconcentraties), maar dat er vanaf circa 500 meter van de bron geen effect meer was op de bloei (althans: geen remming) en dat er op de grens van het bedrijfsterrein (op circa 1000 meter afstand van de bron) geen effect meer was op de groei. Voor de periode tot 1982 zijn geen etheenconcentraties voor de grens van het bedrijfsterrein bekend, maar in 1982 werd op de grens van het bedrijfsterrein geen remming van bloei en groei van beide plantensoorten gevonden bij een groeiseizoengemiddelde etheenconcentratie van $61 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (zie Hoofdstuk 4).
3. Veldonderzoek bij DSM met aardappel in de periode 1983-1990 geeft aan dat er op de grens van het bedrijfsterrein geen effect was op de knolopbrengst of de knolsortering, bij groeiseizoengemiddelde etheenconcentraties van 16 tot $61 \mu\text{g}/\text{m}^3$. In het jaar met de hoogste groeiseizoengemiddelde concentratie ($61 \mu\text{g}/\text{m}^3$) werd relatief de hoogste knolopbrengst gevonden en in een jaar met bijna de laagste groeiseizoengemiddelde concentratie ($17 \mu\text{g}/\text{m}^3$) werd relatief de laagste knolopbrengst gevonden (Relatief: ten opzichte van het controle proefveld op 5 km afstand van DSM) (zie Hoofdstuk 4).
4. Veldonderzoek bij DSM naar het vóórkomen van epinastie bij jonge aardappelplanten in de periode 1984-1991 geeft aan dat bij een gemiddelde etheenconcentratie van $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ respectievelijk $70 \mu\text{g}/\text{m}^3$ in circa 5% van de tijd (1,2 uur per etmaal) respectievelijk 10% van de tijd (2,4 uur per etmaal) epinastie optreedt (zie Hoofdstuk 4).
5. De twee (semi-)veldexperimenten met aardappel in "Open Top Chambers" (OTC's), met discontinue blootstelling (2 of 4 maal per week gedurende 3 uur per blootstelling) aan $230\text{-}920 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (200-800 ppb) respectievelijk $115\text{-}1840 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (100-1600 ppb) resulteerden in een duidelijk concentratie-gerelateerd effect van etheen op de bloei (afnemend aantal bloemtrossen met toenemende etheenconcentratie, zie Hoofdstuk 3).

⁴ Zie Hoofdstuk 4 voor gegevens over het blootstellingsregime bij DSM.

Het discontinue blootstellingsregime was gebaseerd op historische meetgegevens bij DSM. Op grond van de gecombineerde gegevens voor beide jaren en beide blootstellingsfrequenties is door het RIVM een EC10 afgeleid van $49 \mu\text{g}/\text{m}^3$, met een 90%-betrouwbaarheidsinterval van $38\text{-}69 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Voor verdere gegevens over deze EC10 berekening en de argumentatie om de gegevens voor beide jaren en blootstellingsfrequenties te combineren wordt verwezen naar Bijlage 2. Er waren geen effecten op de overige onderzochte reproductieve eindpunten (waaronder knolopbrengst) en vegetatieve eindpunten (groei en biomassa); wel werd incidenteel respectievelijk diverse malen het vóórkomen van epinastie geconstateerd. (Hoofdstuk 3)

Uitgangspunten voor afleiding MTR voor discontinue blootstelling

1. De resultaten van de OTC-experimenten met het landbouwgewas aardappel; dit zijn de enige beschikbare (semi-)veldexperimenten met gecontroleerde blootstelling in combinatie met een blootstellingsregime dat realistisch is voor de blootstellingspraktijk bij DSM én waarin bij de onderzochte plantensoort (aardappel) alle relevante toxicologische eindpunten werden onderzocht in levenscyclustesten. De resultaten van deze experimenten geven aan dat bloei (aantal bloemtrossen) het meest gevoelige toxicologische eindpunt is bij aardappel. Op grond van de combineerde resultaten van beide experimenten is een EC10 van $49 \mu\text{g}/\text{m}^3$ afgeleid voor het effect op bloei (zie Bijlage 2); de EC10 wordt beschouwd als NOEC equivalent. Opgemerkt wordt dat aardappel wellicht niet het meest geschikte modelgewas is voor wat betreft bestudering van het effect op bloei, omdat bloei bij dit gewas zelf niet direct relevant is voor de reproductie (dit gebeurt via het ontkiemen van de knollen) en omdat aardappelplanten een gering aantal bloemtrossen vormen. Per OTC met 44 planten werden in de controle-groepen per wekelijkse telling in de belangrijkste bloeiperiode circa 10 tot 40 bloemtrossen gevonden (met een maximum van 46), resulterend in een gemiddeld aantal bloemtrossen van 20-30 per OTC in het eerste experiment en 30-40 per OTC in het tweede experiment. Bloei is ecotoxicologisch echter een zeer relevant eindpunt en effecten van etheen op bloei (ontwikkeling en abscissie van bloemen) zijn aangetoond bij vele plantensoorten (zie onder andere Woltering, 1987, Tonneijck en Van Dijk, 1994 en de in Bijlage 3 opgenomen studie van Dostal et al., 1991). Bijvoorbeeld, in het onderzoek van Woltering (1987) werd bij 17 van de 26 soorten bloemdragende sierplanten die gedurende 24 of 72 uur waren blootgesteld aan etheenconcentraties van 3500 tot $17000 \mu\text{g}/\text{m}^3$ abscissie van bloemen, bloemknoppen of volledige bloeiwijzen gevonden. Bovendien blijkt uit het onderzoek van Dostal et al. (1991) en gegevens in Tonneijck en Van Dijk (1994) dat een effect op bloei al kan optreden bij kortdurende blootstelling gedurende 2 à 8 uur.
2. In de OTC-experimenten was er geen statistisch significant verschil in effect op bloei bij blootstelling gedurende 2 respectievelijk 4 maal per week, evenredig verspreid over de week. Elke blootstellingsperiode duurde 3 uur, resulterend in een totale blootstellingsduur van 6 uur per week (3,5% van de tijd) en 12 uur per week (7% van de tijd) bij respectievelijk 2 maal/week en 4 maal/week blootstelling. Gemiddeld genomen komt dit overeen met een totale blootstellingsduur van 5% van de tijd per week.
3. De OTC-experimenten met aardappel zijn chronische toxiciteitsexperimenten (levenscyclus) waarin alle relevante eindpunten zijn onderzocht.
4. Aardappel is relatief gevoelig voor etheen ten opzichte van andere gewassen, dus er is geen extrapolatiefactor toegepast voor variatie in gevoeligheid van de verschillende

plantensoorten⁵. De gevoeligheid van aardappel voor etheen blijkt zowel uit de resultaten van laboratoriumexperimenten met continue blootstelling (Zie o.a. Van der Eerden, 1987 en Tonneijck en Van Dijk, 1994) als uit de resultaten van de OCT-experimenten, met een EC10 van 49 µg/m³ voor bloei bij discontinue blootstelling; deze waarde is relatief laag ten opzichte van de effectconcentraties in laboratoriumexperimenten met uiteenlopende plantensoorten.

5. Het MTR geldt vanaf de grens van het bedrijfsterrein, dus alleen buiten het bedrijfsterrein.

Dit resulteert in de volgende advieswaarde voor het MTR voor discontinue blootstelling:

MTR_{discontinu}: 50 µg/m³ (43 ppb), als 95-percentiel van 24-uursgemiddelden

Het MTR_{discontinu} is gelijkgesteld aan de NOEC (EC10) uit de gecombineerde resultaten van de OTC-experimenten en is, conform het huidige MTR voor continue blootstelling, uitgedrukt als een 24-uursgemiddelde waarde. Vanwege de gemiddelde blootstellingstijd in de OTC-experimenten (5% van de tijd per week) is er gekozen voor een MTR_{discontinu} als 95-percentiel van 24-uursgemiddelde concentraties.

Zowel de absolute waarde van het MTR_{discontinu} (50 µg/m³, als 24-uursgemiddelde) als de 95-percentiel waarde worden ondersteund door de veldonderzoeken bij DSM met aardappel (toxicologische eindpunten: epinastie en knolopbrengst) en petunia's en afrikaantjes (toxicologische eindpunten: groei en bloei). De DSM veldonderzoeken naar het vóórkomen van epinastie bij jonge aardappelplanten geven aan dat bij een gemiddelde etheenconcentratie van 50 µg/m³ respectievelijk 70 µg/m³ in circa 5% van de tijd respectievelijk 10% van de tijd epinastie optreedt. Epinastie op zich wordt niet beschouwd als een ecotoxicologisch relevant eindpunt omdat het effect vaak slechts enkele bladeren betreft, snel reversibel is en bij relatief kortdurend optreden niet tot effecten op ecotoxicologisch relevante eindpunten leidt, althans niet op knolopbrengst van aardappel⁶. Het vóórkomen van epinastie wordt vooral beschouwd als signaalfunctie, omdat concentraties die tot epinastie leiden ongeveer op een grensniveau liggen waarboven effecten op ecotoxicologisch relevante eindpunten kunnen optreden. In de DSM veldonderzoeken werd geen effect gevonden op knolopbrengst bij aardappel en groei en bloei bij petunia's en afrikaantjes bij groeiseizoengemiddelde concentraties tot en met 61 µg/m³; de bijbehorende 95-percentiel van 24-uursgemiddelde concentraties was 89 µg/m³. Het ontbreken van effecten op bloei bij petunia's en afrikaantjes bij jaargemiddelde concentraties tot en met 61 µg/m³ in vergelijking met de EC10 van 49 µg/m³ voor bloei bij aardappel (OTC –experimenten) geeft aan dat aardappel voor wat betreft dit eindpunt gevoeliger is dan petunia's en afrikaantjes (plantensoorten die ook relatief gevoelig zijn voor etheen, zie Hoofdstuk 4) en dat het voorgestelde MTR_{discontinue} voldoende beschermend is onder praktijkomstandigheden. Dit laatste wordt bevestigd door het resultaat van een Canadees laboratoriumonderzoek met gerst (een gewas dat eveneens relatief gevoelig is voor etheen) waarin bij een discontinue blootstellingsregime dat redelijk goed vergelijkbaar is met dat bij DSM geen negatieve effecten werden gevonden (zie Hoofdstuk 5).

⁵ Bij de afleiding van een MTR wordt normaal gesproken uitgegaan van gegevens voor meerdere soorten en wordt het MTR gelijk gesteld aan het 95%-beschermingsniveau (HC5) dat vooral wordt bepaald door de gegevens voor de gevoeligste soorten (zie ook 6.1.2 en Bijlage 3) of wordt een extrapolatiefactor toegepast op de laagste toxiciteitswaarde.

⁶ De reversibele aard van epinastie blijkt onder andere ook uit de resultaten van het onderzoek van Woltering (1987), waarin dit effect werd gevonden bij verschillende soorten sierplanten die gedurende 24 of 72 uur waren blootgesteld aan etheenconcentraties van 3500 tot 17000 µg/m³. In alle gevallen was het effect binnen enkele dagen verdwenen.

Bij de voorgestelde advieswaarde voor het $MTR_{\text{discontinu}}$ wordt opgemerkt dat deze alleen geldt voor discontinue blootstellingsregimes die min of meer vergelijkbaar zijn met dat bij DSM. Op grond van de geraadpleegde gegevens is het niet duidelijk in hoeverre het blootstellingsregime bij andere industriële puntbronnen in Nederland vergelijkbaar is met dat bij DSM.

Bij de voorgestelde advieswaarde voor het $MTR_{\text{discontinu}}$ wordt verder opgemerkt dat een 95-percentiel waarde van 24-uursgemiddelen op zich mogelijk niet voldoende beschermend is bij een discontinue blootstellingspatroon waarbij binnen een relatief korte tijd een aantal blootstellingsperiodes van meer dan 3 uur voorkomt met concentraties die aanzienlijk hoger zijn dan $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Om deze reden is er in het onderstaande ook een MTR als uurgemiddelde afgeleid. De combinatie van beide MTR's moet een te frequente en te sterke mate van overschrijding van het $MTR_{\text{discontinu}}$ voorkómen.

6.1.2 Kortdurende blootstelling (piekconcentraties)

Als MTR voor kortdurende blootstelling aan piekconcentraties zou het huidige MTR van $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ als maximum uurgemiddelde genomen kunnen worden. Dit MTR is door VROM gelijk gesteld aan de door Van der Eerden (1987) afgeleide 1-uurgemiddelde "effectgrenswaarde" (afgeleid uit de "effectgrenslijn" voor de gevoeligste planten), waarbij de volgende resultaten bepalend waren voor de afleiding van de maximum uurgemiddelde waarde:

Orchidee: Bij 1 uur blootstelling aan $345 \mu\text{g}/\text{m}^3$: beschadiging van bloedelen (verdroging);

Tulp: Bij 1 uur blootstelling aan $460 \mu\text{g}/\text{m}^3$: versnelde bloemveroudering;

Leeuwebek: Bij 1 uur blootstelling aan $575 \mu\text{g}/\text{m}^3$: versnelde bloemveroudering.

Deze resultaten zijn echter gebaseerd op effecten bij snijbloemen, niet op effecten bij intacte planten. Conform het ook door Tonneijck en Van Dijk (1994) gebruikte criterium dat alleen effecten bij intacte planten relevant zijn voor de afleiding van ecotoxicologische normen, worden deze resultaten niet relevant geacht en wordt aanbevolen dit MTR te herzien, zie onderstaande.

In Bijlage 3 (Tabel A t/m C) wordt een overzicht gegeven van de resultaten van kortdurende begassingsexperimenten met in totaal 16 verschillende plantensoorten, resulterend in (soortgemiddelde) NOEC's van $383 \mu\text{g}/\text{m}^3$ tot $>1380 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Het overzicht is gericht op experimenten met een blootstellingsduur van maximaal 3 uur. In alle testen werd het effect op fotosynthese bepaald, met uitzondering van de test met springzaad; in deze test werd abscissie van bloemkronen bepaald. In 5 van de experimenten was de blootstellingsduur 12 uur; deze zijn ook in het overzicht opgenomen (in Tabel C) omdat er in die experimenten geen effect werd gevonden op de fotosynthese bij $1380 \mu\text{g}/\text{m}^3$, een hogere concentratie dan die in de overige kortdurende experimenten. In testen met in totaal 11 plantensoorten werd er geen effect op de fotosynthese gevonden bij de hoogste testconcentratie (1150 of $1380 \mu\text{g}/\text{m}^3$), resulterend in "ongelimiteerde" NOEC's. Deze gegevens, weergegeven in Tabel C, zijn niet bruikbaar voor de afleiding van een ecotoxicologische advieswaarde conform de huidige beoordelingsmethodiek (statistische extrapolatie) omdat onbekend is hoeveel hoger de "echte" NOEC ligt. Voor 6 plantensoorten zijn een of meer bruikbare NOEC's beschikbaar die direkt konden worden afgeleid uit de testresultaten ("echte" NOEC's) of die met extrapolatiefactoren geschat zijn uit effectconcentraties, conform Traas (2001); deze waarden zijn opgenomen in Tabel A en Tabel B in Bijlage 3. Op de 6 (soortgemiddelde) NOEC's (Tabel A), die variëren van 383 tot $1150 \mu\text{g}/\text{m}^3$, is statistische

extrapolatie toegepast met de methode van Aldenberg en Jaworska (2002)⁷. Dit resulteert in een mediane HC5 (95%-beschermingsniveau) van 270 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (90%-betrouwbaarheidsinterval: 100-420 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) en een mediane HC50 (50%-beschermingsniveau) van 640 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (90%-betrouwbaarheidsinterval: 430-950 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)⁸. De verdeling van de NOEC's laat een steile helling zien (zie Figuur A in Bijlage 3), resulterend in een relatief klein verschil (circa factor 2) tussen de mediane HC5 en de mediane HC50.

Met betrekking tot de bovengenoemde mediane HC5 van 270 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en de onderliggende gegevens worden de volgende opmerkingen gemaakt:

- De HC5 is gebaseerd op de NOEC's voor een beperkt aantal plantensoorten ($n = 6$), waarbij 5 van de 6 NOEC's zijn gebaseerd op eindpunt fotosynthese. Bij 10 andere plantensoorten werd geen effect op de fotosynthese gevonden bij een veel hogere concentratie (1150 of 1380 $\mu\text{g}/\text{m}^3$).
- Uit de resultaten van het PRI onderzoek met aardappelplanten blijkt dat het effect op fotosynthese reversibel is bij een blootstellingsduur van <12 uur. Er is bij dergelijke kortdurende blootstelling sprake van een tijdelijke afname van de huidmondjesgeleidbaarheid door sluiting van de huidmondjes; er is geen sprake van irreversible effecten op fysische en biochemische processen op chloroplast niveau. Deze resultaten worden bevestigd door de resultaten van het onderzoek van Kays en Pallas Jr. (1980) en Pallas Jr. en Kays (1982), waarin het effect op fotosynthese bij pindaplanten blootgesteld aan 1150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ gedurende 2,5 tot 6 uur ook wordt beschreven als reversibel (zie Bijlage 3). Wel kan er afhankelijk van de blootstellingsduur en blootstellingsconcentratie sprake zijn van een "naijl" effect, d.w.z. dat het effect op de fotosynthese nog een aantal uren tot een dag na beëindiging van een relatief kortdurende blootstelling aanwezig is (zie Hoofdstuk 3 en Bijlage 3). Archambault en Li (2001) concludeerden op grond van literatuurgegevens dat bij kortdurende blootstelling tot ca. 24 uur effecten op fotosynthese bij verschillende gewassen zijn gevonden (zie ook Bijlage 3), maar dat een dergelijke kortdurende blootstelling niet leidt tot verdere effecten; zo zouden effecten op de groei pas optreden bij blootstelling gedurende minimaal 24 uur. Dit komt overeen met de resultaten van het eigen onderzoek van Archambault en Li (2001), zie Hoofdstuk 5 en Bijlage 1.
- De bij de berekening van de HC5 gebruikte NOEC's zijn gebaseerd op een blootstellingsduur van 2-3 uur, dus langer dan 1 uur. Echter, het tijdsaspect voor wat betreft het begin van een effect op de fotosynthese lijkt soort-afhankelijk. Uit het PRI-onderzoek met aardappel (modelmatig onderzoek en onderliggend fysiologisch onderzoek) blijkt dat het effect op fotosynthese bij aardappelplanten pas 1-4 uur na het begin van de blootstelling begint (afhankelijk van de blootstellingsconcentratie), terwijl uit de resultaten van het onderzoek van Pallas en Kays Jr. (1982) blijkt dat er geen relevant verschil in effect op de fotosynthese bij pindaplanten is bij blootstelling aan 1150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ gedurende een blootstellingsduur van 0,25 tot 2 uur. Wel werd in laatstgenoemd onderzoek gevonden dat het effect langer doorgaat naarmate de blootstellingsduur langer is (zie voetnoot [2] bij Tabel A in Bijlage 3).

⁷ Met deze methode van Aldenberg en Jaworska (2000), de methode die momenteel de voorkeur geniet (zowel binnen het RIVM als bijvoorbeeld in het EU-programma Bestaande Stoffen), wordt de HC5 berekend op grond van een normale verdeling van log-getransformeerde NOEC's. De gebruikte NOEC's voldoen aan dit verdelingspatroon (statistisch getoetst, onder meer met de Anderson-Darling test; $p \leq 0,01$).

⁸ Ter vergelijking: Bij weglaten van de NOEC van 383 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ voor springzaad (eindpunt: abscissie van bloemkronen), dus alleen op basis van de 5 NOEC's voor fotosynthese: mediane HC5 (95%-beschermingsniveau) is 310 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (90%-betrouwbaarheidsinterval: 98-480 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) en mediane HC50 is 710 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (90%-betrouwbaarheidsinterval: 450-1100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$).

Op grond van deze gegevens wordt geconcludeerd dat de waarde van $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ als uurgemiddelde MTR op zich geen herziening behoeft: deze waarde is praktisch gelijk aan de HC5 die is berekend uit de NOEC's die zijn afgeleid uit kortdurende testen. Wel wordt deze waarde als maximum uurgemiddelde te streng geacht, omdat de HC5 grotendeels gebaseerd is op het effect op fotosynthese en omdat fotosynthese bij een blootstellingsduur <12 uur reversibel is. Om deze redenen worden kortdurende overschrijdingen van het uurgemiddelde MTR van $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ toelaatbaar geacht en is gekozen voor een 95-percentiel waarde. Dit resulteert in de volgende advieswaarde voor het uurgemiddelde MTR:

MTR: $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (260 ppb) als 95-percentiel van uurgemiddelden

Met betrekking tot dit uurgemiddelde MTR wordt opgemerkt dat een onderscheid tussen discontinue en continue blootstelling geen betekenis heeft: deze waarde is weliswaar gebaseerd op toxiciteitsgegevens voor "continue" blootstelling, maar de blootstelling was van zeer korte duur (enkele uren).

6.2 Evaluatie van huidige MTR's

6.2.1 MTR van $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ als maximum uurgemiddelde

Zoals aangegeven in 6.1.2 wordt aanbevolen het huidige MTR van $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ als maximum uurgemiddelde als volgt te herzien:

MTR: $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (260 ppb) als 95-percentiel van uurgemiddelden

6.2.2 MTR van $9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ als maximum 24-uursgemiddelde

Voor een gegronde evaluatie van deze waarde en een eventuele herziening op grond van de huidige beoordelingsmethodiek (statistische extrapolatie) is een nadere analyse van alle nu beschikbare toxiciteitsgegevens (effecten op planten) nodig. Hoewel er goede literatuuroverzichten van deze gegevens beschikbaar zijn (met name Tonneijck en Van Dijk, 1994 en Alberta Environment, 1999) zijn deze overzichten niet direct bruikbaar voor een analyse van de testresultaten, omdat de meeste resultaten in deze overzichten zijn gerapporteerd als (LO)EC's, dus als (laagste) effectconcentraties en niet als NOEC's. Verder is bij de LOEC's niet altijd het percentage remming ten opzichte van de controle vermeld, zodat een schatting van de NOEC uit de LOEC (conform bijlage 3) niet altijd mogelijk is en beperken deze twee overzichten zich bij de afleiding van advieswaarden tot studies waarin effecten zijn gevonden bij concentraties $\leq 1150 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (1000 ppb). Tenslotte is een evaluatie van de selectiecriteria nodig (algemeen en voor wat betreft de toxicologische eindpunten). Bijvoorbeeld, in Tonneijck en Van Dijk (1994) zijn alleen testen in begassingssystemen met luchtcirculatie geaccepteerd en is een groot aantal testen in gesloten begassingssystemen zonder luchtcirculatie verworpen.

Zonder evaluatie van de toxiciteitsgegevens kunnen wel de volgende opmerkingen bij dit MTR worden gemaakt:

1. Het huidige MTR van $9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ als maximum 24-uursgemiddelde is door VROM gelijk gesteld aan de door Van der Eerden (1987) afgeleide 24-uursgemiddelde “effectgrenswaarde” (afgeleid uit de “effectgrenslijn” voor de gevoeligste planten, Bij de gevoeligste soorten werd een effect gevonden bij 24 of 48 uur blootstelling aan $12 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en bij 100 dagen blootstelling aan $8 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (continue blootstelling in laboratorium-experimenten). Bij een afleiding van een MTR conform de huidige beoordelingsmethodiek (statistische extrapolatie op grond van NOEC-waarden) worden alle relevante resultaten gebruikt, dus ook die voor minder gevoelige soorten, hetgeen mogelijk resulteert in een hoger MTR.

2. In Slooff et al. (1991) en in Tonneijck en Van Dijk (1994) zijn HC5-waarden berekend van 2 respectievelijk $3,8 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (beide geldend voor langdurende blootstelling), maar in tegenstelling tot de huidige beoordelingsmethodiek betreft dit de linker 95%-betrouwbaarheidswaarde van de HC5 (“lower limit”) terwijl tegenwoordig de 50%-betrouwbaarheidswaarde van de HC5 (mediane waarde), dus een hogere waarde, wordt genomen als MTR.

Verdere gegevens betreffende dit punt

- Bij de HC5 berekening in Slooff et al. (1991) is uitgegaan van gegevens uit Van der Eerden (1987); dit betrof vooral (LO)EC's, waaruit in Slooff et al. (1991) steeds een factor 2 is toegepast om de NOEC te schatten ($\text{NOEC} = \text{LOEC}/2$) omdat de effectpercentages t.o.v. de controle (meestal) niet gerapporteerd waren in Van der Eerden (1987). Bij effectpercentages $>20\%$ resulteert dit in een te hoge NOEC, omdat bij effectpercentages $>20\%$ hogere extrapolatiefactoren moeten worden toegepast (zie ook Bijlage 3). De in Slooff et al. (1991) geselecteerde gegevens hebben betrekking op experimenten met een blootstellingsduur van minimaal 10 dagen.
- In Tonneijck en Van Dijk (1994) heeft een herevaluatie van de door Van der Eerden (1987) gebruikte gegevens plaatsgevonden, waarbij op grond van hun criteria (waaronder het alleen accepteren van studies met intacte planten en van studies in begassings-systemen met luchtcirculatie) een aantal van de door Van der Eerden gebruikte studies zijn verworpen. Uit een nadere analyse van de gegevens zal moeten blijken in hoeverre dit ook studies betreft die door Van der Eerden zijn gebruikt bij de afleiding van de 24-uursgemiddelde “effectgrenswaarde”. Over de verder door Tonneijck en van Dijk (1994) gebruikte NOEC's kan op dit moment geen uitspraak worden gedaan, omdat in hun rapport vooral LOEC's zijn gerapporteerd en niet de NOEC's die zijn gebruikt bij de HC5 berekening. Door Tonneijck en Van Dijk (1994) zijn advieswaarden voor kortdurende blootstelling (8 uur) en langdurende blootstelling (4 weken) afgeleid, waarbij voor andere blootstellingsduren “een interpolatie is toegepast door de data te verschuiven langs curves parallel aan de effectgrenslijn tot de gewenste blootstellingsduur”.
- Voor een actualisering van de in Tonneijck en Van Dijk (1994) vermelde gegevens moeten minimaal de gegevens in het literatuuroverzicht van Alberta Environment (1999) en de recente studies uit het in Hoofdstuk 5 en Bijlage 1 beschreven onderzoek van Archambault en Li (2001) worden meegenomen.

3. Het is onduidelijk in hoeverre er bij de door Van der Eerden (1987) gebruikte resultaten rekening is gehouden met de achtergrondconcentratie van etheen. Zowel de door Van der Eerden (1987) gebruikte laagste effect concentraties als de daaruit afgeleide MTR zijn ongeveer gelijk aan de bovengrens van de natuurlijke achtergrondconcentratie ($10 \mu\text{g}/\text{m}^3$). Aangezien etheen een van nature voorkomende stof is, zou de zogenaamde “toegevoegd risico-benadering” toegepast moeten worden. In de “toegevoegd risicobenadering” worden de NOEC's afgeleid op grond van de toegevoegde concentratie in de test en wordt uit deze NOEC's de HC5 berekend. De HC5 wordt dan beschouwd als de “Maximaal Toelaatbare Toevoeging” (MTT). Het MTR wordt vervolgens berekend uit de som van de MTT en de

achtergrondconcentratie (C_b), dus $MTR = MTT + C_b$. De toegevoegd risicobenadering wordt in Nederland sinds eind jaren negentig toegepast in het project “Integrale Normstelling Stoffen” (zie o.a. Crommentuijn et al., 1997) dat de basis vormt voor de milieunormering in Nederland.

4. Op grond van de geëvalueerde gegevens kan geen extrapolatiefactor voor laboratoriumcondities *versus* veldcondities worden afgeleid, omdat in bijna alle laboratorium-experimenten sprake was van continue blootstelling en er in de veldonderzoeken bij DSM en in de (semi-)veldexperimenten in de OTC's sprake was van discontinue blootstelling⁹. Er is dus sprake van twee variabelen (continue *versus* discontinue blootstelling en laboratoriumcondities *versus* veldcondities), waarbij de invloed van de afzonderlijke variabelen niet kan worden bepaald.

Verdere gegevens betreffende dit punt:

In laboratorium-experimenten met aardappel (continue blootstelling) werd een verminderde knolopbrengst gevonden bij 98 dagen blootstelling aan $20 \mu\text{g}/\text{m}^3$ respectievelijk groei-remming bij 28 dagen blootstelling aan $27 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Van der Eerden, 1987). In veldonderzoeken bij DSM (discontinue blootstelling onder praktijkomstandigheden) werd geen effect op de knolopbrengst gevonden bij groeiseizoengemiddelde concentraties tot en met $61 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Hoofdstuk 4). In de OTC-experimenten met aardappel (discontinue blootstelling onder (semi-)veldcondities) werd geen effect op de groei en op knolopbrengst gevonden bij concentraties tot en met $1840 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Voor eindpunt bloei, het gevoeligste eindpunt bij aardappel, werd in het eerste OTC-experiment een effect gevonden bij $200 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (laagste test concentratie; de berekende LOEC voor het 5%-significantieniveau is $170 \mu\text{g}/\text{m}^3$, zie Hoofdstuk 3). De EC10 voor bloei op grond van de gecombineerde OTC-experimenten is $49 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (zie 6.1.1 en Bijlage 2).

Op basis van bovenstaande gegevens wordt geconcludeerd dat er voor wat betreft de toxicologische eindpunten groei en knolopbrengst bij aardappel een groot verschil in gevoeligheid is tussen continue blootstelling onder laboratoriumcondities ten opzichte van discontinue blootstelling onder veldcondities. Voor wat betreft het effect van etheen op bloei bij aardappel, het meest gevoelige toxicologische eindpunt bij dit gewas, kan geen conclusie worden getrokken omdat dit effect alleen in de OTC-experimenten is onderzocht.

Concluderend wordt gesteld dat het huidige MTR van $9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ als maximum 24-uursgemiddelde is afgeleid volgens een tegenwoordig niet meer gebruikte ecotoxicologische extrapolatiemethode én dat bij deze methode alleen gebruik is gemaakt van de gegevens voor de gevoeligste soorten in plaats van de gegevens voor alle soorten (dus ook die voor minder gevoelige soorten). Afgezien hiervan is het onduidelijk of de gegevens die aan dit MTR ten grondslag liggen voldoen aan de huidige criteria en of er rekening is gehouden met de natuurlijke achtergrondconcentratie van etheen. Verder wordt opgemerkt dat een MTR, mits conform de huidige beoordelingsmethodiek afgeleid uit chronische toxiciteitstesten en subchronische toxiciteitstesten met gevoelige ontwikkelingsstadia, wordt beschouwd als een MTR voor langdurende blootstelling, dus meer als een jaargemiddelde waarde (bijvoorbeeld op grond van 24-uursgemiddelden, al of niet gekoppeld aan een percentiel-waarde) dan als een maximum 24-uursgemiddelde waarde.

Om bovengenoemde redenen wordt geadviseerd het MTR van $9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ te herzien, hoewel er in dit rapport nog geen nieuw voorstel voor een MTR voor continue blootstelling kan worden gegeven. Zoals eerder aangegeven is hiervoor een (her)evaluatie en actualisering van de toxiciteitsgegevens nodig. Zolang er nog geen herziening heeft plaatsgevonden kunnen de bovengrens van de natuurlijke achtergrondconcentratie ($10 \mu\text{g}/\text{m}^3$) en het in paragraaf 6.1

⁹ Alleen in enkele testen die zijn opgenomen in Hoofdstuk 5 en enkele testen die zijn vermeld in Tonneijck en van Dijk (1994) was er sprake van discontinue blootstelling.

afgeleide MTR voor discontinue blootstelling ($MTR_{\text{discontinu}}: 50 \mu\text{g}/\text{m}^3$, als 95-percentiel van 24-uursgemiddelden) indicatief worden beschouwd als de twee niveaus waartussen het MTR voor continue blootstelling zal moeten liggen.

Literatuur

Alberta Environment (1999)

Alberta's Ambient Air Quality Guidelines Ethylene (Interim Guidelines), Publication No. T/460, Environmental Sciences Division, Alberta Environment, Edmonton, Canada

Aldenberg, T en J.S. Jaworska (2000)

Uncertainty of the hazardous concentration and fraction affected for normal species sensitivity distributions, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 46, 1-18

Archambault, D. en X. Li (2001)

Response of Barley, Field pea, Canola and Tree seedlings to Ethylene Exposure, Alberta's Ethylene/Crop Research Project, Report III, Alberta Research Council, Vegreville, Alberta, Canada

Crommentuijn, T, M.D. Polder en E.J. van de Plassche (1997)

Maximum Permissible Concentrations and Negligible Concentrations for metals, taking background concentrations into account, Report No. 601501 001, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne (RIVM), Bilthoven

Dostal, D.L., N.H. Agnew, R.J. Gladon en J.L. Weigle (1991)

Ethylene, simulated shipping, STS, and AOA affect corolla abscission of New Guinea Impatiens, *HortScience* 26(1):47-49

Dueck, Th.A. en C.J. van Dijk (Eds.) (2001)

Verbeterde Normstelling voor Effecten op Gewassen van Immissies van Etheen rond DSM, Jaarrapport 2000: 'Open-Top Chamber' Experiment en Modelberekeningen, Nota 62, Plant Research International (PRI), Wageningen

Dueck, Th.A., C.J. van Dijk, C. Grashoff, J. Groenwold en A.E.G. Tonneijck (2002a)

Verbeterde Normstelling voor Effecten op Gewassen van Immissies van Etheen rond DSM, Jaarrapport 2001: 'Open-Top Chamber' Experiment en Modelberekeningen, Nota 155, Plant Research International (PRI), Wageningen

Dueck, Th.A., C.J. van Dijk, A.E.G. Tonneijck, C. Grashoff en J. Groenwold (2002b)

Verbeterde Normstelling voor Effecten op Gewassen van Immissies van Etheen rond DSM, Eindrapport: Basis voor Advieswaarden, Nota 182, Plant Research International (PRI), Wageningen

Govindarajan, A.G. en B.W. Poovaiah (1982)

Effect of root zone carbon dioxide enrichment on ethylene inhibition of carbon assimilation in potato plants, *Physiol. Plant* 55: 465-469

Kays, S.J. en J.E. Pallas Jr. (1980)

Inhibition of photosynthesis by ethylene, *Nature* 285: 51-52

- Li, X. en D. Archambault (1999a)
Design and Performance of ARC's Ethylene Exposure System, Alberta's Ethylene/Crop Research Project, Report I, Alberta Research Council, Vegreville, Alberta, Canada
- Li, X. en D. Archambault (1999b)
The Effects of Ethephon on Barley, Wheat, Oats, Field peas and Canola: A Screening Test for the Determination of Ethylene Sensitivity, Alberta's Ethylene/Crop Research Project, Report II, Alberta Research Council, Vegreville, Alberta, Canada
- Pallas Jr., J.E. en S.J. Kays (1982)
Inhibition of photosynthesis by ethylene – A stomatal effect, *Plant Physiology* 70: 598-601
- Reid, D.A en K. Watson (1985)
Ethylene as an air pollutant. In: J.A. Roberts and G.A. Tucker (1985), Ethylene and Plant Development, Proceedings of the 39th University of Nottingham Easter School in Agricultural Science, held March 26-30, 1984, in Sutton Bonington, England (ISBN 0-407-00920-5), Butterworths, Kent, England, 277-286
- Slob, W. (2002)
Dose-response modeling of continuous endpoints, *Toxicological Sciences* 66: 298-312
- Slooff, W, P.F.H. Bont, J.A. Janus en E. Rab (1991)
Exploratory report Ethylene, Report No. 710401 010, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne (RIVM), Bilthoven
- Tonneijck, A.E.G. en C.J. van Dijk (1994)
Toxicologische Advieswaarden voor Effecten van Etheen op Planten, Rapport 15, Instituut voor Agrobiologisch en Bodemvruchtbaarheidsonderzoek, Dienst Landbouwkundig Onderzoek (AB-DLO), Wageningen
- Tonneijck, A.E.G., W.F. ten Berge, B.P. Jansen en C. Bakker (1999)
Epinastic response of potato to atmospheric ethylene near polyethylene manufacturing plants, *Chemosphere* 39 (10), 1617-1628
- Tonneijck, A.E.G. en C.J van Dijk (2000)
Effecten van Etheen op Planten rond Lokale Bronnen, Nota 42, Plant Research International (PRI), Wageningen
- Tonneijck, A.E.G., B.P. Jansen en C. Bakker (2000)
Assessing the effects of atmospheric ethylene on epinasty and tuber yield of potato (*Solanum tuberosum* L.) near polyethylene manufacturing plants, *Environmental Monitoring and Assessment* 60, 57-69
- Tonneijck, A.E.G., W.F. ten Berge en B.P. Jansen (2002)
Monitoring the effects of atmospheric ethylene near polyethylene manufacturing plants with two sensitive plant species, *Environmental Pollution* (in druk)

Traas, T.P. (Ed.) (2001)

Guidance Document on Deriving Environmental Risk Limits, Report No. 601501 012, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne (RIVM), Bilthoven

Van der Eerden, L.J. (1987)

Grenswaarden voor Effecten van Etheen op Planten, Concept Rapport R 344, Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek (IPO), Wageningen

Van der Eerden, L.J.M. en C.J. van Dijk (Eds.) (2000)

Verbeterde Normstelling voor Effecten op Gewassen van Immissies van Etheen rond DSM, Jaarrapport 1999: Probleemverkenning en Bouw van een Model-Subroutine voor Etheen, Nota 4, Plant Research International (PRI), Wageningen

VROM (1999)

Stoffen en Normen 1999 - Overzicht van belangrijke stoffen en normen in het milieubeleid (ISBN 90 6092 802 4), Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijk Ordening en Milieubeheer, Directoraat-Generaal Milieubeheer (VROM/DGM), Samsom Uitgeverij, Alphen aan den Rijn.

VROM (2000a)

Notitie MTR-waarden voor Etheen ter Bescherming van Planten (ongepubliceerd), Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijk Ordening en Milieubeheer, Den Haag

VROM (2000b)

Discussienotitie Normstelling Etheen (ongepubliceerd), Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijk Ordening en Milieubeheer, Den Haag

Woltering, E.J. (1987)

Effects of ethylene on ornamental pot plants: A classification, *Scientia Hort.* 31: 283-294

Wörsten, M.A.D, J. Blok en E.J. van de Plassche (2001)

International Environmental Quality Standard Setting, Royal Haskoning, Nijmegen

Bijlage 1: Onderzoeksproject Alberta's Research Council (Canada, 1997-1999)

In de periode 1997-1999 is in Canada een uitgebreid onderzoek naar de effecten van etheen op planten uitgevoerd door de Alberta Research Council, in het kader van het "Alberta's Ethylene/Crop Research Project" (opdrachtgevers: petrochemische industrie en overheid). Het betreft laboratoriumonderzoek met verschillende soorten landbouwgewassen en bomen die van economisch belang zijn in Alberta. Het doel van het onderzoek was tweeledig:

- Het leveren van wetenschappelijke informatie voor de verdere afleiding van luchtkwaliteitsnormen.
- Het leveren van wetenschappelijke informatie voor locatie-specifieke risicobeoordelingen.

Het onderzoek werd uitgevoerd in drie fasen:

1. Selectie van gevoelige landbouwgewassen en gevoelige ontwikkelingsstadia in testen met ethephon ("vloeibaar etheen").
2. Acute toxiciteitstesten met de gevoelige landbouwgewassen en ontwikkelingsstadia (begassingsexperimenten met continue blootstelling).
3. Chronische toxiciteitstesten met de gevoelige landbouwgewassen; idem met boomsoorten (begassingsexperimenten met continue blootstelling) en aanvullend onderzoek met het gevoeligste gewas (begassingsexperimenten met discontinue blootstelling).

Alle testen betreffen potproeven die werden uitgevoerd in een kas onder niet-gecontroleerde omstandigheden, behalve voor wat betreft de fotoperiode en, gedurende zaadontkieming en vroege groei van de boomsoorten (getest in fase 2), de relatieve vochtigheid. De begassing met etheen (fase 2 en 3) vond plaats in aparte blootstellingskamers met meer gecontroleerde omstandigheden (fotoperiode en lichtintensiteit, temperatuur en relatieve vochtigheid) dan die in de kas. Zie Li en Archambault (1999a) voor een uitgebreide beschrijving van de blootstellingskamers en het begassingssysteem. Na de blootstelling aan ethephon (besproeiing) dan wel etheen (begassing) werden de landbouwgewassen verder gekweekt tot aan de uiteindelijke oogst na zaadrijping en werden uiteenlopende vegetatieve en reproductieve eindpunten onderzocht. Bij de boomsoorten (alleen getest in fase 2) werden alleen zaadontkieming en vegetatieve eindpunten bij zaailingen onderzocht. Zowel een remming als een stimulatie van de eindpunten werd als effect beschouwd, mits statistisch significant ($p \leq 0,05$).

Fase 1: Selectie gevoelige gewassen en stadia

In deze fase, gerapporteerd in Archambault en Li (1999b), werden 5 verschillende landbouwgewassen (in totaal: 8 cultivars, zie verderop) in een kas blootgesteld aan ethephon (2-chloroethylphosphonic acid: $\text{Cl-CH}_2\text{-CH}_2\text{-PO}_3\text{H}_2$), "vloeibaar etheen" genoemd, middels een eenmalige besproeiing. Met elke cultivar werden 7 testen uitgevoerd, met 7 verschillende ontwikkelingsstadia gedurende de levenscyclus, waarbij per test een eenmalige besproeiing van een bepaald ontwikkelingsstadium plaatsvond. Na de eenmalige blootstelling aan ethephon werden de planten in de kas verder gekweekt tot aan de uiteindelijke oogst (na

zaadrijping) waarna een aantal vegetatieve en reproductieve eindpunten werd bepaald (zie verderop). De 7 ontwikkelingsstadia varieerden van het vroegste vegetatieve stadium (kiemplanten of zaailingen) tot en met de reproductieve fase kort voor de uiteindelijke oogst (in laatste behandelingsstadium: zaadrijping bijna volledig).

Ethephon wordt na opname in de plant omgezet in etheen, chloride en fosfonate. De omzetting vindt plaats bij pH-waarden van 5 en hoger en verloopt snel: in proeven met gerst werd na circa 8 uur de maximum etheenconcentratie in de plant gemeten. Opgemerkt wordt dat de blootstelling aan ethephon niet kan worden vertaald naar blootstelling aan gasvormig etheen, maar dat blootstelling aan ethephon wordt beschouwd als bruikbaar voor een screening van de gevoeligheid voor etheen.

Geteste gewassen en cultivars

Gerst (*Hordeum vulgare*) cv. AC Lacobe (6 rij) en cv. Harrington (2 rij)

Tarwe (*Triticum aestivum*) cv. CDC Teal en cv. AC Taber

Haver (*Avena sativa*) cv. Derby

Erwt (*Pisum sativum*) cv. Carrera

Koolzaad (*Brassica sp.*) cv. Quantum (*B. napus*) en cv. Reward (*B. rapa*)

Toxicologische eindpunten

1. Kwalitatief: Schade (afvallen van bladeren en bloemen; chlorose), bepaald door observaties en foto's).

2. Kwantitatief: Verschillende vegetatieve eindpunten (groei) en reproductieve eindpunten (zaadopbrengst). Bij alle landbouwgewassen minimaal de volgende eindpunten onderzocht: Vegetatief: hoogte van de grootste plant per pot en bovengrondse biomassa (meestal ook ondergrondse biomassa).

Reproductief: zaadopbrengst: aantal en gewicht van de aren (graan) dan wel peulen (overige gewassen) per plant of pot; aantal en gewicht van de zaden per pot, en gewicht per duizend zaden. Zaadkwaliteit: bepaald door samenstelling/inhoud (bij granen en erwt: calorische inhoud en stikstofgehalte; bij koolzaad: olie-, eiwit-, calcium- en fosforgehalte).

Resultaten

1. Alle gewassen en cultivars: Blootstelling in vroege vegetatieve stadia leidde tot reversibele effecten op vegetatieve groei eindpunten; de effecten waren na enkele weken niet meer aantoonbaar, behalve bij erwt; bij dit gewas was het effect op vegetatieve groei irreversibel. De blootstelling in vroege vegetatieve stadia leidde niet tot effecten op de zaadopbrengst.
2. Koolzaad: Blootstelling in vroege vegetatieve stadia leidde tot blad chlorose, blad necrose, blad epinastie en soms ontbladering; ook deze effecten waren reversibel.
3. Bij gerst, tarwe en koolzaad waren de late vegetatieve stadia en de vroege reproductieve stadia het gevoeligst, in ieder geval voor wat betreft het effect op zaadopbrengst en zaadkwaliteit.

Op grond van de resultaten werden gerst cv. Harrington, koolzaad cv. Quantum en erwt cv. Carrera geselecteerd voor de begassingsexperimenten in fase 2 en 3 van het onderzoek.

Fase 2: Acute toxiciteitstesten

In deze fase, gerapporteerd in Archambault en Li (2001), werden 3 landbouwgewassen in het gevoeligste ontwikkelingsstadium (geselecteerd in fase 1) en 2 boomsoorten als zaad respectievelijk als 3-mnd oude zaailingen blootgesteld aan nominale etheenconcentraties van 10 (controle), 75, 150, 300, 600 of 1200 ppb, gedurende 1, 3, 5, 6 of 12 uur. De actuele concentraties verschilden minder dan 10% van de nominale concentraties. De landbouwgewassen werden na de begassing (in het vroeg reproductieve stadium) verder gekweekt in de kas tot aan de uiteindelijke oogst (na zaadrijping). Na blootstelling van de 3-maanden oude zaailingen van de boomsoorten werden deze in de kas verder gekweekt gedurende ruim 3 maanden.

Geteste gewassen

Gerst (*Hordeum vulgare*) cv. Harrington

Erwt (*Pisum sativum*) cv. Carrera

Koolzaad (*Brassica napus*) cv. Quantum

Spar (*Picea glauca*)

Den (*Pinus contorta*)

Toxicologische eindpunten

Alle landbouwgewassen en boomsoorten: Kwalitatief: zie 5.1.

Landbouwgewassen: Kwantitatief: vegetatieve en reproductieve eindpunten, met de nadruk op reproductie (gerelateerd aan zaadopbrengst en zaadkwaliteit) (zie ook 5.1). Verder: fotosynthese.

Boomsoorten: Kwantitatief: zaadontkieming en groeikracht/ontwikkeling van de kiemplanten (groeikracht/ontwikkeling 2 weken na de blootstelling van de grondmonsters met zaden bepaald) en vegetatieve eindpunten (hoogte, stamdikte, aantal takken, biomassa) van de blootgestelde 3-mnd oude zaailingen (snelle groei fase). Verder: fotosynthese, gemeten tijdens de blootstellingsperiode (en in sommige gevallen ook in periodes na de blootstelling).

Resultaten

1. Landbouwgewassen: Geen statistisch significante effecten (ANOVA) van etheen concentratie en blootstellingsduur op vegetatieve of reproductieve eindpunten (alleen de gegevens voor reproductieve eindpunten zijn in detail gerapporteerd). Geen statistisch significante relatie (lineaire regressie) tussen dosering (C x T) en reproductieve eindpunten¹⁰.
2. Boomsoorten: Geen statistisch significante effecten (ANOVA) van etheen concentratie en blootstellingsduur op zaadontkieming of vegetatieve groei van zaailingen. Wel een statistisch significante correlatie (lineaire regressie, met een P-waarde voor het 95% betrouwbaarheidsinterval <0,05 tussen de dosering (C x T) en zaadontkieming bij den (toename), zaailing hoogte bij spar (afname) en bovengrondse zaailing biomassa bij (toename). Echter, de bijbehorende R²-waarden voor deze correlaties (resp. 0,007, 0,018 en 0,018) waren niet significant.
3. Alle plantensoorten (landbouwgewassen en boomsoorten): geen effect op fotosynthese.

¹⁰ Dosering: Concentratie (in ppb) x Tblootstellingstijd (in uren).

Fase 3: Chronische toxiciteitstesten

In deze fase, gerapporteerd in Archambault en Li (2001), werden 3 landbouwgewassen (gerst, erwt en koolzaad) blootgesteld aan nominale etheenconcentraties van 10 (controle), 50, 100, 150, 250 of 400 ppb gedurende een periode die verschillende gevoelige ontwikkelingsstadia (geselecteerd in fase 1) omvat. Bij alle drie de gewassen omvatte de blootstellingsperiode zowel (laat) vegetatieve als (vroeg) reproductieve stadia; de totale blootstellingsduur was 26 dagen voor gerst, 16 dagen voor erwt en 31 dagen voor koolzaad. In een tweede test met gerst werd de concentratie van 400 ppb vervangen door een van 30 ppb en werd de blootstellings-duur beperkt tot 14 dagen. De actuele concentraties verschilden minder dan 10% van de nominale concentraties. De gewassen werden na de begassing verder gekweekt in de kas tot aan de uiteindelijke oogst (na zaadrijping).

Geteste gewassen

Gerst (*Hordeum vulgare*) cv. Harrington

Erwt (*Pisum sativum*) cv. Carrera

Koolzaad (*Brassica napus*) cv. Quantum

Toxicologische eindpunten

Kwalitatief: zie 5.1.

Kwantitatief: vegetatieve en reproductieve eindpunten, met de nadruk op reproductie (gerelateerd aan zaadopbrengst) (zie ook 5.1)

Resultaten

1. Gerst: In de 26-d test werd een concentratie-gerelateerde afname van de zaadopbrengst gevonden, met effecten op aantal en gewicht van de aartjes en op aantal, gewicht en "grootte" (gewicht per 1000 stuks) van de zaden. Deze effecten resulteerden in een statistisch significante afname van het totale zaadgewicht per pot met 59% bij 50 ppb en oplopend tot (bijna) 100% afname bij ≥ 250 ppb. In de 14-d test werden dezelfde effecten gevonden, met een afname van het totale zaadgewicht per pot met 63% bij 30 ppb, 72% bij 50 ppb en oplopend tot (bijna) 100% afname bij ≥ 100 ppb. In de 14-d test was de zaadopbrengst (totale zaadgewicht per pot) in alle groepen, inclusief de controle, ruim 5-maal lager dan die in overeenkomstige groepen in de 26-d test (door een bladluisplaag in de 14-d test), maar de bijna dezelfde relatieve opbrengsverliezen bij overeenkomstige concentraties wijzen ook in de 14-d test duidelijk op een effect van etheen. In één of beide testen werden bij 250 en/of 400 ppb ook effecten gevonden op enkele vegetatieve eindpunten, namelijk het aantal uitlopers (toename), wortelbiomassa (toename) en planthoogte (afname, met een maximum van 10%, maar statistisch significant in tenminste een van de twee testen).
2. Koolzaad: Zaadopbrengst (totale zaadgewicht per pot): concentratie-gerelateerde afname, met een statistisch significante afname van 20% bij 50 ppb en oplopend tot 77% afname bij 400 ppb. De afname van de zaadopbrengst was gerelateerd aan een afname van het aantal zaden. Verder waren er effecten op enkele vegetatieve eindpunten, namelijk planthoogte (afname, met een maximum van 40%) en bovengrondse biomassa (afname, met een maximum van 18%).
3. Erwt: Zaadopbrengst (totale zaadgewicht per pot): concentratie-gerelateerde afname, met een afname van <10% bij 50 en 100 ppb (niet-statistisch significant) en >10% bij 150 ppb en hoger (statistisch significant), oplopend tot 73% afname bij 400 ppb indien de planten

van alle groepen werden geoogst op het moment dat de controleplanten oogstrijp waren. De afname van de zaadopbrengst was gerelateerd aan een afgenomen zaad“grootte” (gewicht per 1000 zaden); het aantal peulen verdubbelde bij ≥ 250 ppb). Er werd geen effect op de zaadopbrengst gevonden wanneer de planten per groep pas werden geoogst als ze oogstrijp waren (maar er is dus duidelijk een vertraging in de reproductieve ontwikkeling door de blootstelling aan etheen). Verder waren er effecten op enkele vegetatieve eindpunten, namelijk bovengrondse biomassa (toename), wortelbiomassa (toename) en planthoogte (toename).

4. Alle gewassen: De effecten op de reproductieve eindpunten (in ieder geval op zaadopbrengst uitgedrukt als totaal gewicht per pot) waren ernstiger dan die op de vegetatieve eindpunten.
5. Alle gewassen: Geen effect op de zaadkwaliteit.
6. Kwalitatieve eindpunten: Bij erwt: rank- en stengelbreukbreuk, rank- en bladepinastie, vertakking, chlorose en necrose. Bij gerst: afvallen van bloemen, chlorose en necrose. Koolzaad: afvallen van bloemen, kleinere bloemknoppen en kleinere bloemen. Er is niet gerapporteerd bij welke concentratie(s) deze kwalitatieve eindpunten worden beïnvloed.

Chronische toxiciteitstesten – aanvullend onderzoek

In fase 3 van het onderzoek werden nog de volgende testen uitgevoerd:

1. Chronische toxiciteitstesten met gerst (cv. Harrington) erwt (cv. Carrera), om de kritische blootstellingsduur te bepalen.
2. Chronische toxiciteitstesten (discontinu, gedurende 6 uur per etmaal) met gerst (cv. Harrington), om de gevoeligste periode gedurende het etmaal te bepalen.
3. Chronische toxiciteitstesten met gerst (discontinu, 5 blootstellingen gedurende 6 uur per etmaal, met intervallen), om de hersteltijd te bepalen.
4. Chronische toxiciteitstest met gerst (discontinu, met een blootstellingsregime gebaseerd op dat van een industriële etheenbron).

In alle gevallen omvatte de blootstelling het gevoeligste stadium voor wat betreft effecten op reproductieve eindpunten (met name: zaadopbrengst) en werden de gewassen na de volledige blootstellingsperiode verder gekweekt tot aan de uiteindelijke oogst (na zaadrijping). Zie 5.1 voor de toxicologische eindpunten (in deze testen echter alleen kwantitatieve eindpunten bepaald, geen kwalitatieve zoals epinastie. Wel de zaadkwaliteit (samenstelling/inhoud) bepaald.

1. Chronische toxiciteitstesten (continue blootstelling) met gerst en erwt, om de kritische blootstellingsduur te bepalen.

Blootstellingsconcentratie: 50 ppb (controle: 10 ppb).

Blootstellingsduur: 0, 3, 6, 12, 18 en 24 dagen (gerst) respectievelijk 0, 12, 16, 20, 24 en 28 dagen (erwt).

Resultaten

Gerst: Blootstellingsduur-gerelateerde afname de zaadopbrengst (totale zaadgewicht per pot), met een afname van 41% na 3 dagen blootstelling en oplopend tot 89% afname na 24 dagen blootstelling. De afname was gerelateerd aan een afname van het aantal zaden en een afname

van de zaadgrootte (gewicht per 1000 stuks). Er waren geen effecten op vegetatieve eindpunten.

Erwt: Geen effecten, noch op reproductieve noch op vegetatieve eindpunten.

2. Chronische toxiciteitstesten (discontinue blootstelling, gedurende 6 uur per etmaal) met gerst, om de gevoeligste periode gedurende het etmaal te bepalen.

Blootstellingsregime: Blootstelling aan 200 ppb gedurende 6 uur per dag: 04-10 uur (donker/licht), 10-16 uur (licht), 16-22 uur (licht) of 22-04 uur (donker), gedurende een periode van totaal 30 opeenvolgende dagen. Controle: 10 ppb (continu in de controlegroep en discontinu in de blootstellingsgroep).

Resultaten

Alleen de blootstelling gedurende het eerste dagdeel (10-16 uur) resulteerde in een statistisch significante afname van de zaadopbrengst (totale gewicht per pot), met een afname van 50%; de afname was voornamelijk gerelateerd aan het aantal zaden. Blootstelling gedurende het tweede dagdeel (16-22 uur) resulteerde in een statistisch significante afname van de planthoogte maar dit effect was gering (6% afname). In 3 van de 4 gevallen was er een geringe, maar statistisch significante toename van de bovengrondse biomassa.

3. Chronische toxiciteitstesten met gerst (discontinue blootstelling, 5 blootstellingen gedurende 6 uur per etmaal, met intervallen), om de hersteltijd te bepalen.

Blootstellingsregime: discontinu, 5 blootstellingen aan 250 of 500 ppb gedurende 6 uur per etmaal (10 uur 's ochtend tot 4 uur 's middags, de gevoeligste periode voor dit gewas, zie vorige serie experimenten), met intervallen van respectievelijk 0, 1, 3 en 5 dagen. In een verdere test waren er 3 blootstellingen met een interval van 11 dagen. Controle: 10 ppb (continu in de controlegroep en discontinu in de blootstellingsgroep). Vanwege experimentele problemen werden 3 testreeksen uitgevoerd. In de eerste reeks werden de controlegroep en de 1-dag interval groepen abusievelijk continu belicht en in de derde reeks ging de extra toegevoegde duplo controlegroep verloren door een schimmelinfectie. In de tweede reeks werden twee behandelingsgroepen negatief beïnvloed door een insectenplaag (dit betreft de 500 ppb, 3-d interval groep en een niet nader aangegeven groep).

Opmerking: Waarschijnlijk (tenzij niet alle gegevens in het rapport zijn weergegeven, zijn de volgende testreeksen uitgevoerd:

test reeks 1: alleen 250 ppb; intervallen: 0, 1, 3, 5 en 11 dagen.

test reeks 2: 250 en 500 ppb; intervallen: 0, 1 en 3 dagen;

test reeks 3: alleen 250 ppb; intervallen: 0, 1, 3 en 5 dagen.

Resultaten

Bij blootstelling aan 250 ppb was er in bijna alle gevallen een statistisch significante afname van de zaadopbrengst (en een of meer onderliggende reproductieve eindpunten die de zaadopbrengst bepalen), met een afname van circa 25% tot 75%. De gegevens voor zaadopbrengst laten wel een trend zien van afnemend effect met toenemend interval (maar niet echt duidelijk, mede door de experimentele problemen), maar een interval van 5 of zelfs 11 dagen was niet genoeg om een duidelijk effect op de zaadopbrengst te voorkomen.

Evenals in de eerder beschreven testen was er geen effect op de zaadkwaliteit en was het effect op zaadopbrengst ernstiger dan dat op vegetatieve eindpunten.

De gegevens voor blootstelling aan 500 ppb (alleen in tweede serie meegenomen) zijn te beperkt voor evaluatie.

4. Chronische toxiciteitstest met gerst (discontinue blootstelling, met een blootstellingsregime gebaseerd op dat van een industriële etheenbron).

Blootstellingsregime: Discontinu gedurende een periode van in totaal 30 opeenvolgende dagen. Het blootstellingsregime, met een aantal een tot meerdere uren durende piekconcentraties tussen de 50 en 300 ppb, is gebaseerd op monitoringsgegevens bij een industriële puntbron (worst-case maand van drie jaren). Controle: 10 ppb (continu in de controlegroep en discontinu in de blootstellingsgroep).

Resultaten:

Statistisch significante toename van de bovengrondse biomassa (plus 15%) en wortelbiomassa (plus 40%). Geen effecten op verdere vegetatieve eindpunten en geen effecten op reproductieve eindpunten (zaadopbrengst en zaadkwaliteit).

Literatuur

Archambault, D. en X. Li (2001)

Response of Barley, Field pea, Canola and Tree seedlings to Ethylene Exposure, Alberta's Ethylene/Crop Research Project, Report III, Alberta Research Council, Vegreville, Alberta, Canada

Li, X. en D. Archambault (1999a)

Design and Performance of ARC's Ethylene Exposure System, Alberta's Ethylene/Crop Research Project, Report I, Alberta Research Council, Vegreville, Alberta, Canada

Li, X. en D. Archambault (1999b)

The Effects of Ethephon on Barley, Wheat, Oats, Field peas and Canola: A Screening Test for the Determination of Ethylene Sensitivity, Alberta's Ethylene/Crop Research Project, Report II, Alberta Research Council, Vegreville, Alberta, Canada

Bijlage 2: Evaluatie OTC-experimenten (effect op bloei)

In beide OTC-experimenten (zie Hoofdstuk 3) was er een concentratie-gerelateerd effect op de bloei (afname van het aantal bloemtrossen bij toenemende etheenconcentratie). Er was per concentratie geen effect van de blootstellingsfrequentie (2 maal per week *versus* 4 maal per week) op het aantal bloemtrossen, althans niet statistisch significant. Voor de twee afzonderlijke experimenten (uitgevoerd in het jaar 2000 respectievelijk 2001) zijn de gegevens over het aantal bloemtrossen per concentratie samengevoegd en statistisch geanalyseerd door PRI. Hierbij is uitgegaan van het aantal bloemtrossen dat tijdens de belangrijkste bloeiperiode was gevormd. Volgens hun analyse van de relatie tussen het aantal bloemtrossen en de etheenconcentratie was er in het eerste jaar een statistisch significant effect, resulterend in een LOEC van 170 ppb ($196 \mu\text{g}/\text{m}^3$), zijnde de met behulp van een LSD-toets geschatte concentratie waarbij het effect significant ($p = 0,05$) afweek van de controle; de laagste test concentratie in dit experiment was 200 ppb. In het tweede experiment was het effect op het aantal bloemtrossen volgens de PRI analyse niet statistisch significant ($0,05 < p < 0,10$).

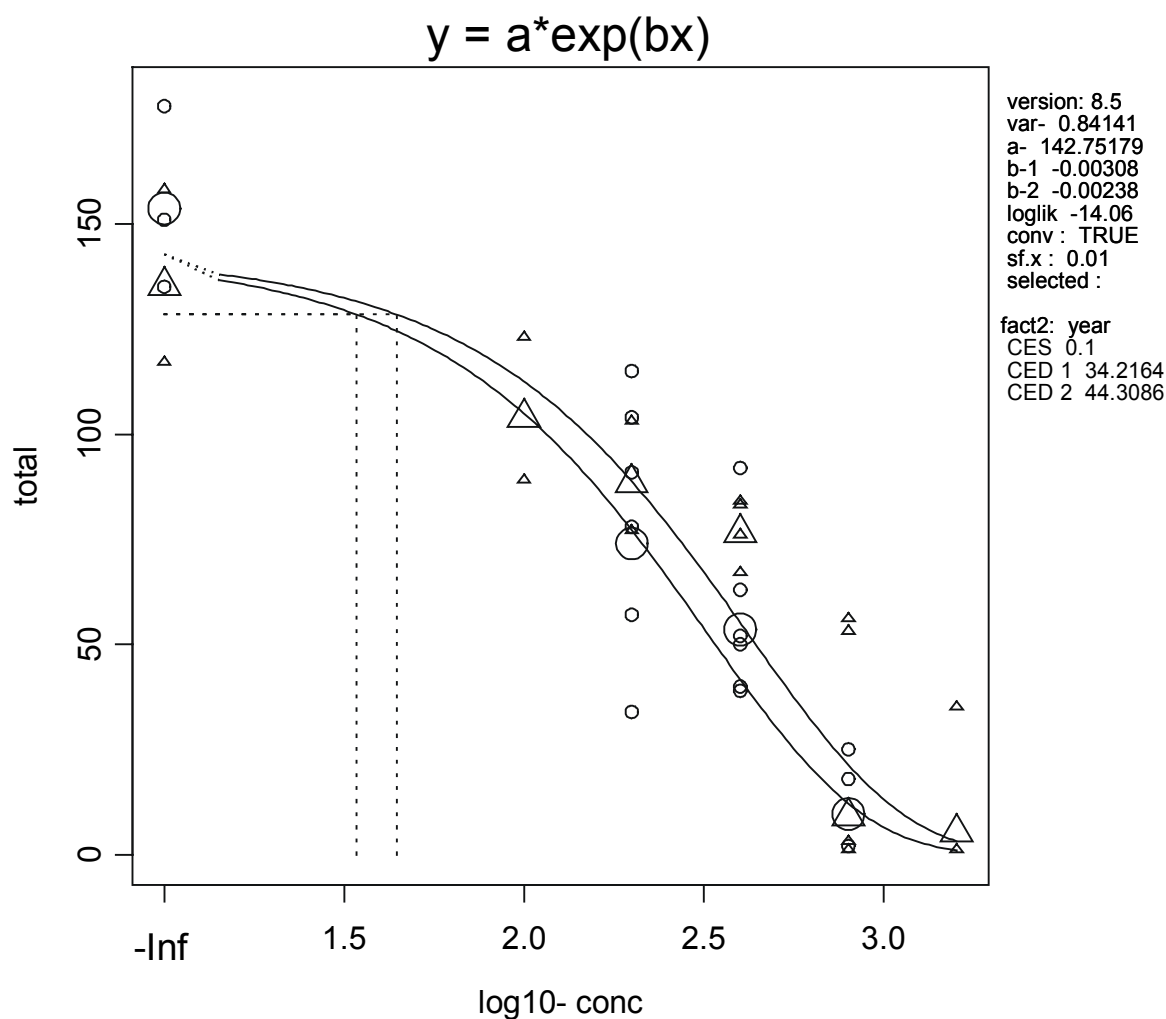
Het RIVM heeft de gegevens voor bloei geanalyseerd op grond van de door PRI verstrekte basisgegevens (maar nu op grond van de totale bloeiperiode¹¹) en komt tot de volgende conclusies:

- Er is inderdaad geen statistisch significant effect van de blootstellingsfrequentie, dus de gegevens per concentratie mogen worden samengevoegd.
- In het tweede experiment werd bij 1600 ppb 2 maal/week een relatief hoog aantal bloemtrossen gevormd, terwijl bij 1600 ppb 4 maal/week het aantal bloemtrossen zeer sterk was afgenomen. Gezien de overige resultaten van beide experimenten wordt het resultaat bij 1600 ppb 2 maal/week beschouwd als afwijkend ("uitbijter"). Deze uitbijter is meegenomen in de PRI analyse, waardoor er geen statistisch significant effect werd gevonden maar slechts een trend van afnemend aantal bloemtrossen met toenemende etheenconcentratie. Wanneer het resultaat van deze uitbijter buiten beschouwing wordt gelaten, is er geen statistisch significant verschil tussen de twee concentratie-respons curves die gebaseerd zijn op het best fittende model ($y = a \cdot \exp(b/x)$, uit Slob, 2002; zie ook figuur 1), hetgeen ook blijkt uit de hieruit berekende EC10-waarden en de 90%-betrouwbaarheidsintervallen: 34 ppb (90% CI: 25-56 ppb) respectievelijk 44 ppb (90% CI: 34-62 ppb), dus de gegevens van beide experimenten mogen worden samengevoegd. Dit resulteert in de concentratie-respons curve in figuur 2 en een hieruit afgeleide EC10 van 43 ppb (90% CI: 33-60 ppb)¹². De EC10 van 43 ppb ($49 \mu\text{g}/\text{m}^3$) is door het RIVM

¹¹ Het tijdens de totale bloeiperiode gevormde aantal bloemtrossen wijkt weinig af van de tijdens de belangrijkste bloeiperiode gevormde aantal bloemtrossen, dus dit verschil in uitgangspunt in de PRI en RIVM analyses zal zeer waarschijnlijk geen significant effect op de uitkomst van de analyses hebben. Het RIVM heeft gekozen voor analyse van het totale aantal bloemtrossen, omdat er een tendens is dat de bloei later begint en eerder ophoudt bij blootstelling aan etheen.

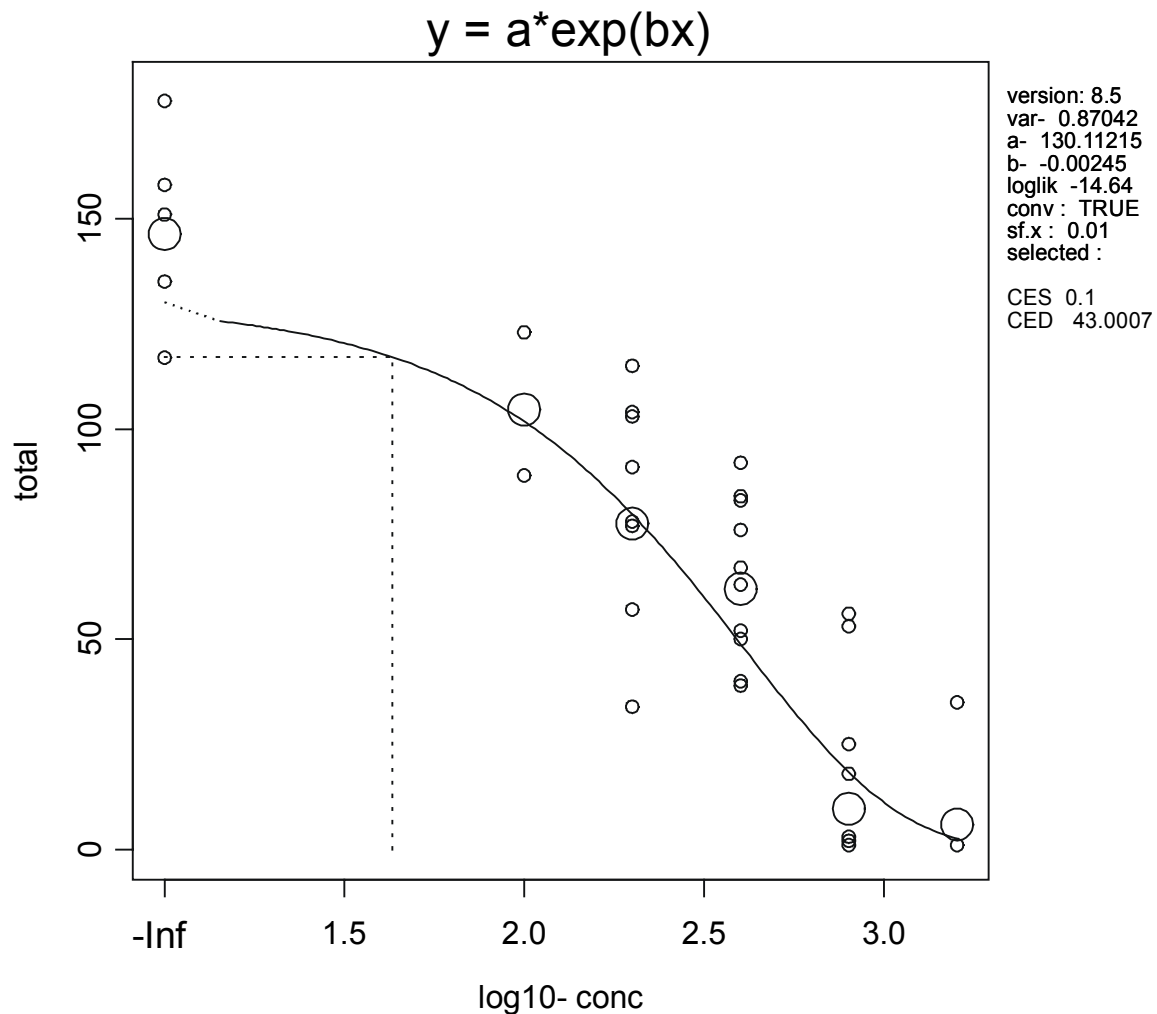
¹² Ter vergelijking: Berekening van de EC10 op grond van de gecombineerde gegevens inclusief de uitbijter resulteert in een waarde van 27 ppb (best fittende dosis-respons model: $y = a \cdot [c - c \cdot \exp(-x/b)]$) (RIVM, uit Slob, 2002).

als uitgangspunt genomen in het voorstel voor een lokale MTR rond industriële puntbronnen met discontinue blootstelling (zie Hoofdstuk 6).



*Figuur 1. Totaal aantal bloemtrossen bij aardappel als functie van de log-concentratie (ppb)
- Resultaten voor OTC-experiment 2000 (rondjes) en OTC-experiment 2001
(driehoekjes)*

De grote markers geven de (geometrische) gemiddelden weer. In deze analyse zijn de waarnemingen van beide jaren apart beschouwd, onder de aanname dat de dosis-respons in beide jaren verschillend is, resulterend in twee verschillende schattingen voor de parameter b voor beide jaren. Echter, de bijbehorende log-likelihood waarde is niet significant hoger dan die in figuur 2 en er is geen reden om aan te nemen dat beide jaren werkelijk verschillen. CED=EC10.



*Figuur 2. Totaal aantal bloemtrossen bij aardappel als functie van de log-concentratie (ppb).
- Resultaten voor gecombineerde gegevens uit beide OTC-experimenten.*

De grote markers geven de (geometrische) gemiddelden weer. In deze analyse zijn de waarnemingen van beide jaren samengenomen, onder de aanname dat de dosis-respons in beide jaren gelijk is. CED=EC10.

Literatuur

Slob, W. (2002)

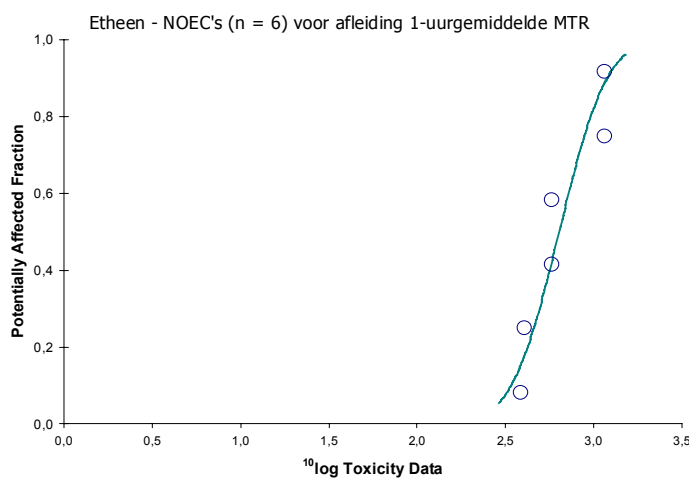
Dose-response modeling of continuous endpoints, *Toxicological Sciences* 66: 298-312

Bijlage 3: NOEC's voor afleiding uurgemiddelde MTR

Tabel A. Kortdurende (≤ 3 uur) begassingsexperimenten met etheen:
(soortgemiddelde) NOEC's ($n = 6$) gebruikt voor HC5 berekening.

Plantensoort	Blootstellingsduur (uur)	Gerapporteerde LOEC ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	(Geschatte) NOEC ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	Toxicologisch eindpunt	Referentie
Aardappel <i>Ipomoea batatas</i> 'Red Jewel'	2,5 uur	1150 = EC(10%)	1150	f	Pallas Jr. en Kays, 82 [2]
Aardappel <i>Solanum tuberosum</i> 'Russet Burbank'	3 uur	575 = EC(10%)	575	f	Govindarajan en Poovaiah, 82 [4]
Artisjok <i>Helianthus tuberosus</i>	2,5 uur	1150 = EC(7%)	1150	f	Pallas Jr. en Kays, 82 [2]
Springzaad <i>Impatiens hawkeri</i> 'Sunfire'	2 uur	1150 = EC(27%)	383 (LOEC/3)	a	Dostal et al., 91 [3]
Zonnebloem <i>Helianthus annuus</i> 'CM90RR'	2,5 uur	1150 = EC(12%)	575 (LOEC/2)	f	Pallas Jr. en Kays, 82 [2]
Pinda <i>Arachis hypogaea</i>	2,5 uur		400 *	f	

* Geometrisch gemiddelde NOEC voor pinda (*Arachis hypogaea*), berekend uit de 9 NOEC's uit Tabel B.
a = abscissie van bloemkronen; f = fotosynthese. Voetnoten: zie verderop.



Figuur A. Verdeling van (soortgemiddelde) NOEC's uit kortdurende begassingsexperimenten met etheen ($n = 6$, uit Tabel A) ("Species Sensitivity Distribution", SSD)

Tabel B. Kortdurende (≤ 3 uur) begassingsexperimenten met etheen: NOEC's gebruikt voor berekening soortgemiddelde NOEC voor pinda (*Arachis hypogaea*).

Plantensoort	Blootstellingsduur (uur)	Gerapporteerde LOEC ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	(Geschatte) NOEC ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	Toxicologisch eindpunt	Referentie
Pinda <i>Arachis hypogaea</i> 'Florunner'	2 uur	288 = EC(33%)	115	f	Kays en Pallas Jr., '80 [1]
Pinda <i>Arachis hypogaea</i> 'Florunner'	2,5 uur	1150 = EC(29%)	383 (LOEC/3)	f	Pallas Jr. en Kays, 82 [2]
Pinda <i>Arachis hypogaea</i> 'Early runner'	2,5 uur	1150 = EC(35%)	383 (LOEC/3)	f	Pallas Jr. en Kays, 82 [2]
Pinda <i>Arachis hypogaea</i> 'Florigiant'	2,5 uur	1150 = EC(30%)	383 (LOEC/3)	f	Pallas Jr. en Kays, 82 [2]
Pinda <i>Arachis hypogaea</i> 'NC-4'	2,5 uur	1150 = EC(32%)	383 (LOEC/3)	f	Pallas Jr. en Kays, 82 [2]
Pinda <i>Arachis hypogaea</i> 'P1262129'	2,5 uur	1150 = EC(20%)	575 (LOEC/2)	f	Pallas Jr. en Kays, 82 [2]
Pinda <i>Arachis hypogaea</i> 'P1288160'	2,5 uur	1150 = EC(27%)	383 (LOEC/3)	f	Pallas Jr. en Kays, 82 [2]
Pinda <i>Arachis hypogaea</i> 'Spanhoma'	2,5 uur	1150 = EC(10%)	1150	f	Pallas Jr. en Kays, 82 [2]
Pinda <i>Arachis hypogaea</i> 'White G II'	2,5 uur	1150 = EC (25%)	383 (LOEC/3)	f	Pallas Jr. en Kays, 82 [2]

f = fotosynthese

Voetnoten: zie verderop.

Voetnoten Tabel A en B

[1] Kays en Pallas, Jr. (1980). Pinda cv. Florunner: 33%, 56% en 100% remming van de fotosynthese bij 2 uur blootstelling aan respectievelijk 288, 575 en 1150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$; geen effect bij 115 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. In deze 2 uur durende test werd een veel grotere mate van effect gevonden bij 1150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (100% remming) dan in een tweede, 2,5 uur durende test met dezelfde pinda cultivar (29% remming bij 1150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$), zie Pallas Jr. en Kays (1982). De resultaten van de tweede test met deze cultivar zijn overeenkomstig met die voor de overige pinda cultivars (10% tot 35% remming bij 1150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$).

[2] Pallas, Jr. en Kays (1982). Fotosynthese: mg $\text{CO}_2/\text{dm}^2/\text{uur}$. Het verschil in effect op de fotosynthese bij de verschillende gewassen en pinda cultivars, alle gedurende 2,5 uur blootgesteld aan 1150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, wordt toegeschreven aan de intrinsieke fotosynthese capaciteit: hoe hoger de intrinsieke fotosynthese capaciteit, hoe groter over het algemeen het remmende effect van etheen. In de testen met aardappel *I. batatas* respectievelijk artisjok *H. tuberosus* werd 10% respectievelijk 7% remming van de fotosynthese gevonden bij 1150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Hoewel dit effect statistisch significant was ($p < 0,001$) is de NOEC gelijkgesteld aan 1150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, omdat het percentage remming maximaal 10% was én omdat remming van fotosynthese bij kortdurende blootstelling reversibel is (zie ook het onderstaande).

In aanvullende testen werd Pinda cv. Florunner gedurende 0,25 uur, 0,5 uur, 1 uur, 2 uur, 4 uur en 6 uur blootgesteld aan 1150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$; de blootstelling begon om 10.00 uur. Resultaat: hoe langer de blootstellingsduur, hoe groter de mate van remming van de fotosynthese en hoe langer de benodigde tijd voor volledig herstel (ca. 8 uur bij 0,25-0,5 uur blootstelling respectievelijk >12 uur bij 1-6 uur blootstelling; alleen bij 6 uur blootstelling was de volgende dag nog een effect meetbaar). Naarmate de blootstellingstijd langer was, was het tijdstip van begin van het effect korter, variërend van ca. 1,5 uur bij 0,25 uur blootstelling tot ca. 30 minuten bij 6 uur blootstelling. Bij blootstelling gedurende 0,5 t/m 2 uur varieerde het maximale percentage remming van 30%-40% (dus: geen relevant verschil wat dit betreft, maar bij 1 en 2 uur blootstelling was het effect wel langer meetbaar); bij 4 of 6 uur blootstelling was het maximale percentage remming aanzienlijk hoger, namelijk ca. 70% respectievelijk 90%.

[1] en [2] Fotosynthese gemeten aan de bovenste volgroeide bladeren van 1-2 maanden oude planten. Op grond van hun resultaten werd door Pallas Jr. en Kays geconcludeerd dat het effect van etheen een reversibel effect op de huidmondjes betreft (sluiting huidmondjes; dus afname van doorlaatbaarheid). Voor chlorophyll afbraak is volgens deze auteurs een aanzienlijk langere blootstellingsduur (3-4 dagen) en een aanzienlijk hogere blootstellingsconcentratie (minimaal 11500 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) nodig, gezien de resultaten van onderzoek met tabaksplanten.

[3] Dostal et al. (1991). Testen uitgevoerd met planten met 6-11 bloemen (4 planten per behandeling). Blootstelling gedurende 2, 4 of 6 uur aan 1150, 5750 of 11500 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Bij 2 uur blootstelling aan deze concentraties was het percentage bloemkroon abscissie respectievelijk 27%, 45% en 50%. Bij 4 uur blootstelling was dit percentage ruim 80% tot bijna 100% (toenemend met toenemende concentratie) en bij 6 uur blootstelling was dit percentage 100% bij alle concentraties.

[4] Govindarajan, A.G. en B.W. Poovaiah (1982). Fotosynthese (mg $\text{CO}_2/\text{dm}^2/\text{uur}$) gemeten aan volgroeide bladeren van 3-4 weken oude planten. Bij 3 uur blootstelling aan 575, 1150, 8625 of 11500 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ werd de fotosynthese met respectievelijk 10%, 18%, 20% en 20% geremd. Volgens de auteurs van de studie was dit effect statistisch significant, maar er is niet aangegeven voor welke concentraties dit geldt. Conform de interpretatie van de resultaten met betrekking tot fotosynthese uit de overige studies is de NOEC gelijk gesteld aan de concentratie die resulteerde in 10% effect (zie voetnoot [2] voor de argumenten hiervoor). Het effect van etheen op de fotosynthese werd bij gelijktijdige blootstelling van de wortelzone aan CO_2 praktisch geheel opgeheven.

Tabel C. Kortdurende begassingsexperimenten met etheen: NOEC's niet bruikbaar voor HC5 berekening.

Plantensoort	Blootstellingsduur (uur)	Gerapporteerde LOEC ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	(Geschatte) NOEC ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	Toxicologisch eindpunt	Referentie
Aardappel <i>Solanum tuberosum</i> 'LaSota'	2,5 uur	-	> 1150 *	f	Pallas Jr. en Kays, 82 [2]
Boon <i>Phaseolus coccineus</i>	2,5 uur	-	> 1150 *	f	Pallas Jr. en Kays, 82 [2]
Boon <i>Phaseolus vulgaris</i>	2,5 uur	-	> 1150 *	f	Pallas Jr. en Kays, 82 [2]
Erwt <i>Pisum sativum</i> 'Wando'	2.5 uur	-	> 1150 *	f	Pallas Jr. en Kays, 82 [2]
Klaver <i>Trifolium repens</i>	2.5 uur	-	> 1150 *	f	Pallas Jr. en Kays, 82 [2]
Mimosa <i>Mimosa pudica</i>	2,5 uur	-	> 1150 *	f	Pallas Jr. en Kays, 82 [2]
Gerst <i>Hordeum vulgare</i> 'Harrington'	12 uur	-	> 1380 *	f, (g, r)	Archambault en Li, 01 [1]
Erwt <i>Pisum sativum</i> 'Carrera'	12 uur	-	> 1380 *	f, (g, r)	Archambault en Li, 01 [1]
Koolzaad <i>Brassica napus</i> 'Quantum'	12 uur	-	> 1380 *	f, (g, r)	Archambault en Li, 01 [1]
Spar <i>Picea glauca</i>	12 uur	-	> 1380 *	f, (g)	Archambault en Li, 01 [1]
Den <i>Pinus contorta</i>	12 uur	-	> 1380 *	f, (g)	Archambault en Li, 01 [1]

f = fotosynthese; g = groei (vegetatief); r = reproductie (zaadopbrengst)

* Geen effect bij de hoogste concentratie ("ongelimiteerde" NOEC).

Voetnoten Tabel C

[1] Blootstellingsduur van 12 uur, gevolgd door een "herstelperiode" waarin de planten verder werden gekweekt in de kas zonder blootstelling, zie verder "Fase 2" in Hoofdstuk 5 en Bijlage 1. De fotosynthese werd gemeten tijdens de blootstellingsperiode. De vegetatieve en reproductieve eindpunten werden bepaald na een herstelperiode. De aangegeven tijdsduur en concentratie zijn de langste respectievelijk hoogste van de test reeks.

[2] Zie voetnoot 2 bij Tabel A en Tabel B.

Verdere toelichting bij Tabellen A t/m C

In de meeste testen werd slechts één etheenconcentratie gebruikt. In de testen van Kays en Pallas (1980), Govindarajan en Poovaiah (1982) en Archambault en Li (2001) werden meerdere etheenconcentraties gebruikt.

Afleiding NOEC uit effectgegevens (conform Traas, 2001)

NOEC = LOEC bij $\leq 10\%$ effect;

NOEC = LOEC/2 bij $>10\%$ maar $\leq 20\%$ effect;

NOEC = LOEC/3 bij $>20\%$ maar $\leq 50\%$ effect.

Aanvullende gegevens over effect op fotosynthese (Squier *et al.*, 1985, uit Alberta Environment, 1999)

Es: 15% remming bij 28 uur blootstelling aan $281 \mu\text{g}/\text{m}^3$;

Sojaboon: 20% remming bij 28 uur blootstelling aan $112 \mu\text{g}/\text{m}^3$;

Pinda (cv. Jumbo Virginia): 50% remming bij 28 uur blootstelling aan $281 \mu\text{g}/\text{m}^3$;

Tabak: 70% remming bij 28 uur blootstelling aan $589 \mu\text{g}/\text{m}^3$;

Mais: Geen effect bij 28 uur blootstelling aan 112 tot $4600 \mu\text{g}/\text{m}^3$.

Literatuur

Alberta Environment (1999)

Alberta's Ambient Air Quality Guidelines Ethylene (Interim Guidelines), Publication No. T/460, Environmental Sciences division, Alberta Environment, Edmonton, Canada

Dostal, D.L., N.H. Agnew, R.J. Gladon en J.L. Weigle (1991)

Ethylene, simulated shipping, STS, and AOA affect corolla abscission of New Guinea Impatiens, *HortScience* 26(1):47-49

Govindarajan, A.G. en B.W. Poovaiah (1982)

Effect of root zone carbon dioxide enrichment on ethylene inhibition of carbon assimilation in potato plants, *Physiol. Plant* 55: 465-469

Kays, S.J. en J.E. Pallas Jr. (1980)

Inhibition of photosynthesis by ethylene, *Nature* 285: 51-52

Pallas Jr., J.E. en S.J. Kays (1982)

Inhibition of photosynthesis by ethylene – A stomatal effect, *Plant Physiology* 70: 598-601

Squier, S.A., G.E. Taylor Jr., W.J. Selvidge en C.A. Gunderson (1985)

Effect of ethylene and related hydrocarbons on carbon assimilation and transpiration in herbaceous and woody species, *Environ. Sci. Technol.* 19: 432-437

Traas, T.P. (Ed.) (2001)

Guidance Document on Deriving Environmental Risk Limits, RIVM Report No. 601501 012, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne, Bilthoven

Verzendlijst

1. A.P.M. Blom (DGM/KvI)
2. plv. DG Milieubeheer
3. Hoofd DGM/KvI
4. D. Jung (DGM/SAS)
5. E.M. Maas (DGM/SAS)
6. S. Dogger (Gezondheidsraad, Den Haag)
7. L.M. Vermeulen (Provincie Zeeland, Dir. RMW, Middelburg)
8. M. Buring (Provincie Limburg, Afd. Vergunningen, Maastricht)
9. J.H.M. Haenen (Provincie Limburg, Afd. Stedelijke Leefomgeving, Maastricht)
10. W.F. ten Berge (DSM, Heerlen)
11. T. Stijnen (DSM, Geleen)
12. Th. A. Dueck (PRI, Wageningen)
13. C.J. van Dijk (PRI, Wageningen)
14. A.E.G. Tonneijck (PRI, Wageningen)
15. C. Grashof (PRI, Wageningen)
16. J. Groenwold (PRI, Wageningen)
17. L. Blair (Alberta Environment, Edmonson, Alberta, Canada)
18. K.R. Foster (Alberta Environment, Edmonson, Alberta, Canada)
19. Depot Nederlandse Publicaties en Nederlandse Bibliografie
20. Directie RIVM
21. Sectordirecteur Milieurisico's en Externe Veiligheid (MEV)
22. Sectordirecteur Milieu- en Natuur Planbureau (MNP)
23. Hoofd Stoffen Expertise Centrum (RIVM/SEC)
24. Hoofd Laboratorium voor Ecologische Risico's (RIVM/LER)
25. Hoofd Laboratorium voor Toxicologie (RIVM/TOX)
26. Hoofd Luchtkwaliteit en Europese Duurzaamheid (RIVM/LED)
27. J.A. van Jaarsveld (RIVM/LED)
28. W. Slob (RIVM/SIR)
29. E. Schols (RIVM/IMD)
30. W. Slooff (RIVM/SEC)
31. T.P. Traas (RIVM/SEC)
32. T.G. Vermeire (RIVM/SEC)
33. C.W.M. Bodar (RIVM/SEC)
34. J.A. Janus (RIVM/SEC)
35. SBC / Communicatie
36. Bureau Rapportenregistratie
37. Bibliotheek RIVM
38. Bibliotheek RIVM/SEC
- 39-40 Reserve-exemplaren
- 41-50 Bureau Rapportenbeheer