

Visdieven in problemen

De resultaten van veld- en experimenteel onderzoek van de kolonie visdieven (*Sterna hirundo*) bij Terneuzen, 1994-1999

Rapport RIKZ- 99.037

auteurs:

Sietse Bouma ¹⁾

Albert Holland ²⁾

Dick Vethaak ²⁾

¹⁾ Delta Uitzendorganisatie b.v.
Postbus 315
4100 AH Culemborg

²⁾ Rijksinstituut voor Kust en Zee
Postbus 8039
4330 EA Middelburg

Middelburg, December 1999

Inhoud

Voorwoord	1
Samenvatting	3
1 Inleiding	5
2 Materiaal en methoden	6
2.1 Studiegebieden	6
2.1.1 Kolonie bij Terneuzen	6
2.1.2 Referentiekolonies	7
2.2 Veldonderzoeken	8
2.2.1 Observationeel onderzoek	8
2.2.2 Chemische en toxicologische onderzoeken	8
2.2.2.1 Milieuverontreinigende stoffen in mosselen en sprut	8
2.2.2.2 Milieuverontreinigende stoffen in slib van de Westebuitenhaven	9
2.2.2.3 Aanvoer van milieuverontreinigende stoffen via de lucht	10
2.2.2.4 Milieuverontreinigende stoffen in eieren	10
2.2.2.5 PCB-gehalten en -patronen in bloed van adulte vogels	10
2.2.3 Translocatie-experiment	11
2.2.4 Overig onderzoek	11
2.2.4.1 Microbiologisch onderzoek	11
2.2.4.2 Kleverig kruiskruid (<i>Senecio viscosus</i>)	11
2.3 Methoden experimenteel onderzoek	13
2.3.1 Kunstmatige bebroeding van eieren	13
2.3.1.1 Uitkomstsucces	13
2.3.1.2 Biometrie van eieren	13
2.3.1.3 Biometrie van embryo's en kuikens	14
2.3.1.4 Embryonale CO ₂ -produktie	15
2.3.1.5 Histopathologie van kuikens	15
2.3.1.6 Morfometrie van de hersenen van kuikens	16
2.3.1.7 EROD-activiteit in de lever van embryo's	17

3 Resultaten	18
3.1 Veldonderzoeken	18
3.1.1 Observationeel onderzoek	18
3.1.2 Chemische en toxicologische onderzoeken	20
3.1.2.1 Milieuverontreinigende stoffen in mosselen en sprout	20
3.1.2.2 Milieuverontreinigende stoffen in slib van de Westbuitenhaven	20
3.1.2.3 Aanvoer van milieuverontreinigende stoffen via de lucht	21
3.1.2.4 Milieuverontreinigende stoffen in eieren	21
3.1.2.5 PCB-gehalten en -patronen in bloed van adulte vogels	22
3.1.3 Translocatie-experiment	23
3.1.4 Overige onderzoeken	
3.1.4.1 Microbiologisch onderzoek	24
3.1.4.2 Kleverig kruiskruid (<i>Senecio viscosus</i>)	24
3.2 Experimenteel onderzoek	24
3.2.1 Kunstmatige bebroeding van eieren	24
3.2.1.1 Uitkomstsucces	24
3.2.1.2 Biometrie van eieren en embryonale CO ₂ -productie	25
3.2.1.3 Biometrie van embryo's en kuikens	26
3.2.1.4 Histopathologie van kuikens	26
3.2.1.5 Morfometrie van de hersenen en EROD activiteit	26
4 Discussie	28
5 Conclusies	35
6 Literatuur	37

Voorwoord

Sinds 1979 wordt door het Rijksinstituut voor Kust en Zee (RIKZ) een monitoringprogramma uitgevoerd, waarbij het aantal broedparen en broedsucces van kustbroedvogels in het Deltagebied worden bepaald. Eén van de soorten die gemonitored wordt, is de visdief (*Sterna hirundo*).

De visdief is sinds de Derde Nota Waterhuishouding (uit 1990) gekozen als "amoebe"-soort en dient daarmee als indicatorsoort voor kustwateren en estuarine gebieden. Het is de meest algemene soort stern in ons land. De meeste visdieven in ons land broeden tegenwoordig in het Deltagebied en het waddengebied.

In de visdiefkolonie op het sluizencomplex bij Terneuzen, voorheen één van de belangrijkste visdiefkolonies langs de Westerschelde, wordt sinds 1994 een sterke daling van het aantal broedparen waargenomen. Het broedsucces in deze kolonie was sinds 1994 herhaaldelijk nihil tot slecht. Deze ontwikkeling in het aantal broedparen en broedsucces is een aanwijzing voor een verandering in de toestand van het leefmilieu van visdieven in of rond de kolonie bij Terneuzen. Zolang de oorzaak voor deze verandering niet is achterhaald, is niet uit te sluiten dat ook effecten op andere organismen, inclusief de mens, op kunnen treden.

Sinds 1994 wordt daarom door het RIKZ, in opdracht van Directie Zeeland, getracht de oorzaak voor het slechte broedsucces van visdieven bij Terneuzen te achterhalen door middel van veld- en experimentele onderzoeken. Bij de aanpak van deze onderzoeken is uitgegaan van de mogelijkheid dat zowel natuurlijke als milieutoxicologische factoren de oorzaak kunnen zijn voor de waargenomen verschijnselen. Het voor u liggende rapport geeft een overzicht van de resultaten van alle onderzoeken die in de periode van 1994 t/m 1999 zijn uitgevoerd naar het slechte broedsucces van visdieven bij Terneuzen. Deze eindrapportage is tot stand gekomen onder begeleiding van Albert Holland (RIKZ) en Dick Vethaak (RIKZ).

Instituten die de onderzoeken hebben uitgevoerd zijn:
-het Rijksinstituut voor Kust en Zee (RIKZ) te Middelburg en Haren: observationeel veldonderzoek (aantal broedparen, broedsucces, gedrag, predatie) (1979 t/m 1999),

translocatie-experiment (1998), chemische analyses van organotinverbindingen, zware metalen, PCB's en PAK's in mosselen en sprut (1998), chemische analyses van organotinverbindingen, zware metalen, PCB's en PAK's in eieren (1999), onderzoek naar de aanvoer van milieuverontreinigende stoffen via de lucht (gegevens van Directie Zeeland)(1998), onderzoek naar milieuverontreinigende stoffen in slib van het Kanaal van Gent naar Terneuzen (gegevens van Directie Zeeland)(1998).

-het Instituut voor Dierkunde en Diergezondheid (ID-DLO) te Lelystad: microbiologisch onderzoek (1994).

-het Onderzoeksinstituut voor Toxicologie (RITOX) te Utrecht: chemische analyses van PCB's, PCDD's, en PCDF's in eieren en kuikens van visdieren van Terneuzen (1995).

-het Instituut voor Bos- en Natuuronderzoek (IBN-DLO) te Wageningen en Arnhem: microbiologisch onderzoek (1997) in samenwerking met de faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Utrecht (vakgroep Pathologie, laboratorium Bijzondere diersoorten), kunstmatige bebroeding eieren (uitkomstsucces, biometrie van eieren, embryo's en kuikens, histopathologie van kuikens, morfometrie van de hersenen van kuikens) (1997, 1998), embryonale ademhaling en EROD activiteit in de lever (1998), chemische analyses van PCB's in bloed van adulte vogels (1998).

-het Rijksinstituut voor Visserijonderzoek (RIVO) te IJmuiden: chemische analyses van PBDE's in eieren (1999).

-de Nederlandse Organisatie voor Toegepast-Natuurwetenschappelijk Onderzoek (TNO) te Zeist: chemische analyses van bestrijdingsmiddelen in eieren (1999).

Informatieve gesprekken met Ton van der Zande (RIKZ Haren), Bart Bosveld (IBN-DLO Wageningen), Daphne de Roode (IBN-DLO Wageningen), Kees-Jan Meeuse (Directie Zeeland), Niek Beuzenberg (Directie Zeeland), Jacob de Boer (RIVO IJmuiden), Adrie Kaijser (VVM Terneuzen) en vele medewerkers die betrokken waren bij de verschillende onderzoeken, hebben een waardevolle bijdrage geleverd bij het tot stand komen van deze eindrapportage.

Samenvatting

Na een aanvankelijke toename van het aantal broedparen van 1979 tot 1994 wordt sinds 1994 een sterke daling van het aantal broedparen waargenomen in de visdiefkolonie op het sluizencomplex bij Terneuzen. In 1994 was het aantal broedparen nog 276, in 1999 slechts 24. Het broedsucces in deze kolonie is sinds 1994, met uitzondering van 1995, herhaaldelijk nihil tot slecht geweest. Eieren kwamen niet meer uit en vertoonden rottingsverschijnselen, kuikens vertoonden ernstige ziekteverschijnselen en stierven uiteindelijk. Sinds 1994 wordt geprobeerd de oorzaak voor de waargenomen verschijnselen te achterhalen door middel van veld- en experimentele onderzoeken. Bij deze onderzoeken is uitgegaan van de mogelijkheid dat zowel natuurlijke als milieu-toxicologische factoren de oorzaak zijn voor het slechte broedsucces.

Microbiologisch onderzoek wees uit, dat een infectieziekte als mogelijke oorzaak voor het slechte broedsucces niet waarschijnlijk is. Ook kan kleverig kruiskruid in de Terneuzense kolonie niet de oorzaak zijn voor de waargenomen verschijnselen.

Uit experimentele onderzoeken, waarbij eieren kunstmatig onder gestandaardiseerde omstandigheden uitgebroed werden, kwam naar voren dat het uitkomstsucces van Terneuzen eieren aanzienlijk lager was dan het uitkomstsucces van eieren van een referentiekolonie bij de Oesterdam. Bovendien was de broedduur voor Terneuzen eieren langer, de eischaal relatief poreuser en dikker, en de embryonale CO₂-productie lager dan voor eieren van referentiekolonies. Daarnaast werd bij kuikens van Terneuzen een mogelijk verminderde immuunfunctie uit afwijkingen in de *bursa fabricius* waargenomen en meer absolute variatie tussen hersenhelften. Aangezien de eieren kunstmatig werden uitgebroed, kon geconcludeerd worden dat de voortplantingsproblemen waarschijnlijk gekoppeld zijn aan inwendige factoren in het ei. Deze hypothese werd ondersteund door het resultaat van een translocatie-experiment, waarbij naar Terneuzen verplaatste Maasvlaktelegsels een aanzienlijk beter uitkomstsucces vertoonden dan lokaal geproduceerde eieren.

Het is onwaarschijnlijk dat het slechte broedsucces veroorzaakt wordt door dioxine-achtige verbindingen, zoals PCB's, PCDD's en PCDF's. PCB-concentraties in de eieren en bloed van adulte vogels bleken namelijk niet verhoogd ten opzichte van referentiekolonies.

Een verhoogde EROD activiteit in de lever van embryo's, als gevolg van blootstelling aan PCB's of structuurverwante stoffen, kon evenmin aangetoond worden. Uit analyses van slibmonsters uit het Kanaal van Gent naar Terneuzen en analyses van mosselen en sprout, afkomstig uit het foerageergebied van visdieven die broeden bij Terneuzen, werden ook geen aanwijzingen gevonden dat PCB's het slechte broedsucces hebben kunnen veroorzaken.

Ook lijken zware metalen niet verantwoordelijk voor het slechte broedsucces. Concentraties aan zware metalen in eieren van Terneuzen verschilden namelijk niet van die van de referentiekolonie op de Maasvlakte. De concentraties aan zware metalen in slib van het Kanaal van Gent naar Terneuzen en in mosselen en sprout, afkomstig uit het foerageergebied van visdieven die broeden bij Terneuzen, waren niet zodanig hoog dat ze als oorzaak voor de waargenomen verschijnselen aangewezen kunnen worden.

Hoewel in 1993 een groot aantal bestrijdingsmiddelen in het water van het Kanaal de grenswaarde overschreden, konden geen bestrijdingsmiddelen op een niveau van 0.1 mg/kg aangetoond worden in eieren van Terneuzen. Bestrijdingsmiddelen zijn dus waarschijnlijk ook niet de oorzaak.

Van de onderzochte stoffen zijn de vlamvertrager hexabroomcyclododecaan (HBCD) en organotinverbindingen stoffen, die mogelijk wel het slechte broedsucces hebben kunnen veroorzaken. Het gehalte HBCD in eieren van Terneuzen was namelijk 10-voudig hoger dan in eieren van de referentiekolonie op de Maasvlakte. Het gehalte van organotinverbindingen, met name TBT, in mosselen en sprout afkomstig uit het foerageergebied van visdieven die broeden bij Terneuzen, waren zodanig hoog, dat ze verantwoordelijk kunnen zijn voor de waargenomen verschijnselen. Om meer inzicht te krijgen of deze stoffen de veroorzakers zijn van het slechte broedsucces, zou gericht onderzoek naar toxicologische werkingsmechanismen en effecten in visdieven gedaan moeten worden. Bovendien zou de herkomst van deze stoffen nader bestudeerd moeten worden.

Naast de verdachte stoffen HBCD en TBT kunnen niet geanalyseerde milieuverontreinigende stoffen verantwoordelijk zijn voor het slechte broedsucces. Daarnaast is ook erg weinig bekend over de effecten van de gezamenlijke aanwezigheid van verschillende milieuverontreinigende stoffen.

1. Inleiding

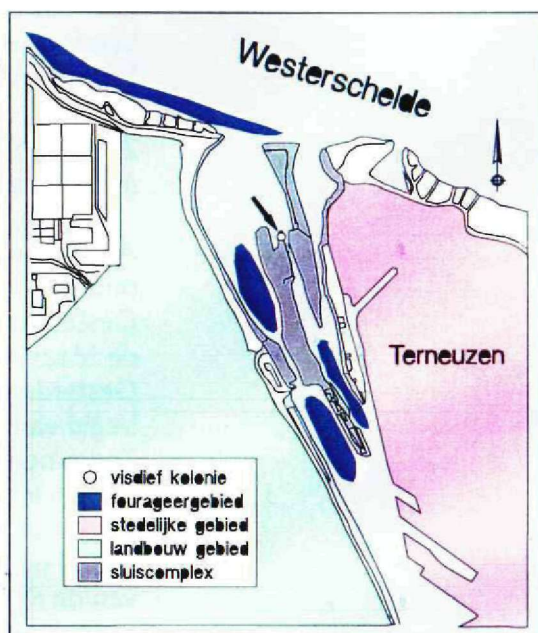
Dit rapport geeft een overzicht van verschillende onderzoeken die uitgevoerd zijn in de periode van 1994 tot en met 1999 naar de oorzaak voor het slechte broedsucces van visdieven (*Sterna hirundo*) in de kolonie op het sluzencomplex bij Terneuzen. Van 1979 tot 1994 vertoonde het aantal broedparen in deze kolonie een toenemende trend en het broedsucces was goed. In de daarop volgende jaren werd echter een aantal zorgwekkende ziekteverschijnselen waargenomen en was het broedsucces herhaaldelijk nihil tot slecht. Deze verschijnselen werden niet waargenomen in de overige kolonies in het Westerschelde-gebied. Bij de aanpak van deze onderzoeken is uitgegaan van de mogelijkheid dat milieuverontreinigende stoffen verantwoordelijk zijn voor het slechte broedsucces. In 1994 en 1995 zijn op beperkte schaal de eerste microbiologische en chemische onderzoeken uitgevoerd. Omdat deze onderzoeken geen sluitende verklaring konden geven voor de waargenomen verschijnselen, is van 1997 t/m 1999 getracht de oorzaak te achterhalen door een combinatie van veld- en experimentele onderzoeken. Aanvankelijk werden vooral toxicologische onderzoeken uitgevoerd naar de groei en ontwikkeling van embryo's en kuikens. Later richtten de onderzoeken zich voornamelijk op het opsporen van milieuverontreinigende stoffen welke mogelijk het slechte broedsucces veroorzaken. Methodologisch gezien is het zeer moeilijk om in veldonderzoek een causaal verband aan te tonen tussen milieuverontreinigende stoffen en het slechte broedsucces. Het zijn namelijk niet alleen stoffen die een effect op de voortplanting kunnen hebben. Veranderingen in omgevingsfactoren, zoals bijvoorbeeld predatiedruk en vegetatiebedekking, kunnen eveneens een essentiële rol hebben gespeeld. Het is dus nodig om effecten die zijn waargenomen in het veld multifactorieel te interpreteren. Naast milieuverontreinigende stoffen zijn daarom ook natuurlijke omgevingsfactoren onderzocht, die mogelijk van invloed zijn geweest op het slechte broedsucces.

2. Materiaal en methoden

2.1 Studiegebieden

2.1.1 Kolonie bij Terneuzen (Meininger et al. 1997)

De kolonie is gesitueerd op het sluisencomplex van Terneuzen, in beheer bij Rijkswaterstaat Directie Zeeland. De vogels broeden op een plateau gelegen tussen twee sluisoegangen.



Figuur 1 Locatie van de kolonie bij Terneuzen (Bosveld et al. 1998a)

Het plateau, met een oppervlakte van 90 x 25 m, is volgestort met grof grind. Sinds 1991 wordt de hele kolonie ieder jaar door het RIKZ met gaas omsloten om te voorkomen dat bij betreding van het terrein de jongen vanaf het plateau in het water springen. Verspreid over de grindbak liggen enkele betonnen rioolbuizen, die tijdens slecht weer als schuilplaats kunnen dienen voor jonge visdieven. Het plateau ligt enkele meters boven het hoogwaterniveau en overspoelt dus nooit.

De laatste jaren wordt de vegetatie sterk gedomineerd door kleverig kruiskruid en kleine klaproos. Verder groeit er muurpeper, akkerdistel, braam en gras. De vegetatiebedekking is sinds 1991 sterk toegenomen. In het najaar wordt de afgestorven vegetatie door Dienstkring Zeeuwsch-Vlaanderen handmatig van het terrein verwijderd. Visdieven die broeden bij Terneuzen foerageren vooral in de sluiscolken van het sluiscomplex en het aansluitende deel van het Kanaal van Gent naar Terneuzen en de Oostbuitenhaven. In mindere mate in de Westerschelde tot maximaal 2 à 3 km van de kolonie (Meininger et al. 1997, Erkman 1999).

2.1.2 Referentiekolonies (Meininger et al. 1997, Meininger en Lilipaly 1998)

Als referentiekolonies voor de verschillende onderzoeken werden een kolonie bij de Oesterdam en een kolonie in de Vogelvallei van de Maasvlakte geselecteerd. De Oesterdamkolonie is gesitueerd op een in het begin van 1996 opgespoten schiereiland in het Zoommeer nabij het Oosterschelderak. De bodem is zandig met vrij veel schelpenmateriaal. Vogels uit deze kolonie betrekken hun voedsel vooral uit de schone Oosterschelde. De kolonie van de Maasvlakte bevindt zich op een speciaal aangelegd eiland, omgeven door een ringgracht. Visdieven die broeden in de Vogelvallei van de Maasvlakte foerageren vooral in de Nieuwe Waterweg en in het havengebied. Het broedsucces in deze beide kolonies was de laatste jaren goed en er deden zich geen ziekteverschijnselen voor, zoals waargenomen in de Terneuzense kolonie.

2.2 Veldonderzoeken

2.2.1 Observationeel onderzoek

Sinds vele jaren wordt door het RIKZ het aantal broedparen en broedsucces van visdieven in de belangrijkste kolonies langs de Westerschelde bepaald. Daartoe worden kolonies bij Terneuzen, Nieuw Neuzen, Hoge Platen en Saeftinge ieder jaar gedurende de maanden mei t/m juli een aantal keren bezocht.

Tijdens deze bezoeken wordt gekeken naar het aantal broedparen, broedsucces, gedrag van de vogels, predatie en sterfte. Naar aanleiding van het slechte broedsucces in de kolonie bij Terneuzen sinds 1994 is in 1997 het broedsucces van de Terneuzense kolonie bestudeerd in vergelijking met de referentiekolonie bij de Oesterdam. In 1998 en 1999 is een vergelijking gemaakt tussen de kolonie bij Terneuzen en de referentiekolonie in de Vogelvallei van de Maasvlakte. Legsels werden gemerkt met een genummerd, houten stokje en de afzonderlijke eieren met een watervaste stift op alcoholbasis. Aanwezige kuikens werden geringd met een roestvrijstalen ring van Vogeltrekstation Arnhem.

2.2.2 Chemische en toxicologische onderzoeken

2.2.2.1 Milieuverontreinigende stoffen in mosselen en sprat

De aanwezigheid van hoge gehalten aan milieuverontreinigende stoffen in het voedsel van visdieven bij Terneuzen zou een oorzaak kunnen zijn voor het slechte broedsucces. Om dit te onderzoeken zijn in 1998 door het RIKZ mosselen en sprat afkomstig uit het foerageergebied van visdieven bij Terneuzen geanalyseerd op de aanwezigheid van polychloorbifenylen (PCB's), organotinverbindingen, zware metalen en polycyclische aromatische koolwaterstoffen (PAK's). Een beschrijving van de gebruikte methoden om deze stoffen te analyseren is gegeven door van der Zande (2000).

2.2.2.2 Milieuverontreinigende stoffen in slib van het Kanaal van Gent naar Terneuzen

Voor de beoordeling van de rol van milieuverontreinigende stoffen in het foerageergebied, waren slechts de analyseresultaten van bodemslib uit de Westbuitenhaven beschikbaar. De gegevens zijn afkomstig van Directie Zeeland en beslaan de periode 1991 t/m 1998. De geanalyseerde stoffen zijn: PCB's, PAK's, zware metalen, chloorbestrijdingsmiddelen en chloorbenzenen.

2.2.2.3 Aanvoer van milieuverontreinigende stoffen via de lucht (Wattel 1998)

Eén van de hypothesen was dat aanvoer van vervuilde lucht vanuit de in de directe omgeving aanwezige industrie een oorzaak zou kunnen zijn voor het slechte broedsucces van Vissievers bij Terneuzen. Om deze hypothese te onderzoeken is voor de periode van 1990 t/m 1998 door het RIKZ nagegaan hoe de windrichting was tijdens het broedseizoen. De gegevens zijn verzameld door HMC van Directie Zeeland die op diverse locaties in de Westerschelde gegevens inwinnen over windsnelheid en windrichting. In deze studie zijn de gegevens van de dichtstbijzijnde meetlocatie Hansweert gebruikt. De windrichting wordt gemeten in graden ten opzichte van het Noorden (Noord is dus 0 of 360°, Oost is 90°, Zuid is 180° en West is 270°).

Gegevens worden met een tijdsinterval van 10 minuten ingewonnen, hetgeen resulteert in 144 gegevens per dag. In de analyses zijn voor de windrichting daggemiddeldes berekend die vervolgens uitgezet zijn in frequentie-grafieken. Voor deze grafieken is een klasse-indeling gemaakt van 0° tot 22.5°, van 22.5° tot 45° enz. tot een laatste klasse van 337.5° tot 360°. De windrichting van de verschillende jaren is met elkaar vergeleken voor periodes variërend in lengte van 10 dagen tot het gehele broedseizoen (april t/m juni).

2.2.2.4 Milieuverontreinigende stoffen in eieren

In het broedseizoen van 1994 zijn door het RITOX eieren en kuikens verzameld bij Terneuzen voor chemisch analytisch onderzoek. Interne gehalten van een aantal milieutoxicologisch relevante PCB's, polychloordibenzo-*p*-dioxinen (PCDD's) en polychloordibenzofuranen (PCDF's) werden bepaald. In 1995 werden eieren bij Terneuzen en Saeftinge verzameld voor onderzoek op PCB-gehalten.

In 1999 zijn door het RIKZ eieren van Terneuzen en van de Maasvlakte verzameld. Van deze eieren zijn mengmonsters gemaakt die vervolgens onderworpen zijn aan verschillende analyses voor milieuverontreinigende verbindingen.

Door TNO te Zeist is gekeken naar de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen, door het RIVO-DLO te IJmuiden naar polybroomdifenylethers (PBDE's) en door het RIKZ te Haren naar organotinverbindingen, zware metalen, PCB's en PAK's. Een beschrijving van de gebruikte methoden om deze stoffen te analyseren is gegeven door van der Zande (2000).

2.2.2.5 PCB-concentraties en -patronen in bloed van adulte vogels (van den Brink 1998c)

In 1997 zijn door het RIKZ bloedmonsters genomen bij broedende visdieven van Terneuzen, de Oesterdam en Griend. In deze monsters zijn in 1998 door het IBN-DLO de concentraties aan PCB's geanalyseerd. Bovendien is een gedetailleerde analyse van de patronen van de individuele PCB-congeneren uitgevoerd. De PCB-concentraties zijn bepaald door middel van gaschromatografie gekoppeld aan massaspectrometrie (GC-MS-analyse). De gebruikte methode is uitvoerig beschreven door van den Brink (1998c).

2.2.3 Translocatie-experiment

Om te bepalen of uitwendige factoren, zoals broedgedrag van de oudervogels, een rol spelen bij het slechte broedsucces is tijdens het broedseizoen van 1998 door het RIKZ een translocatie-experiment uitgevoerd, waarbij 13 volledige drie-legsels van de Terneuzense kolonie verwisseld werden met 13 volledige drie-legsels van de kolonie van de Maasvlakte (Meininger en Lilipaly 1998).

2.2.4 Overige onderzoeken

2.2.4.1 Microbiologisch onderzoek (Bosveld et al. 1998a)

In 1994 is door het ID-DLO een microbiologisch onderzoek uitgevoerd bij kuikens van Terneuzen om te bepalen of een infectieziekte een mogelijke oorzaak is voor het slechte broedsucces. Omdat dit onderzoek geen eenduidige resultaten opleverde, is in 1997 door het IBN-DLO opnieuw een microbiologisch onderzoek uitgevoerd. De longen van kuikens, verzameld bij Terneuzen in het broedseizoen van 1997, zijn microscopisch onderzocht op de aanwezigheid van bloedparasieten. De nieren zijn microscopisch onderzocht op afwijkingen en de inhoud van de darmen is onderzocht op afwijkingen. Tevens is de microbiologische status van de dikke darm onderzocht. Dit is gedaan door monsters hieruit op agarplaten over te brengen en na verloop van tijd de mate van aanwezigheid van *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter spec.*, *Aeromonas spec.*, *Escherichia coli*, en *Streptococcus spec.*, te beoordelen.

2.2.4.2 Kleverig kruiskruid (Senecio viscosus)

De massale aanwezigheid van kleverig kruiskruid in de Terneuzense kolonie werd ook als een mogelijke oorzaak voor het slechte broedsucces gezien. De kleverige substantie van deze plant zou op de kuikens terecht komen met als mogelijk gevolg een verminderde weerstand tegen infectieziekten.

Ook zou de kleverige substantie via de adulte broedvogels op de eieren terecht komen en daar de gasuitwisseling verstoren ("dichtslibben" van de eieren). Om te bepalen of kleverig kruiskruid invloed heeft op het broedsucces is in 1996 in een deel van de kolonie het kleverig kruiskruid verwijderd. Een vergelijking is gemaakt tussen het uitkomstsucces in dit deel van de kolonie en het deel waar kleverig kruiskruid niet verwijderd is.

2.3 Experimenteel onderzoek

2.3.1 Kunstmatige bebroeding van eieren

In 1997 werden door het RIKZ eieren verzameld bij Terneuzen en de Oesterdam om een vergelijking te maken tussen de inwendige kwaliteit van eieren van Terneuzen en eieren van een schone referentiekolonie. De eieren werden in een koelbox vervoerd naar het IBN-DLO te Arnhem, waar ze kunstmatig uitgebroed werden in een Miracle broedmachine (Pherdo, Appingadam, Nederland). De eieren zijn uitgebroed bij 37.5 °C met incidenteel afwijkende temperaturen tussen 37.2 en 38.0 °C. De eieren werden automatisch gekeerd. In de broedmachine was een schaalpje (15cm id.) met water geplaatst om de vereiste relatieve luchtvochtigheid van 55% te bereiken. In 1998 zijn opnieuw eieren verzameld, ditmaal bij Terneuzen en in de Vogelvallei van de Maasvlakte. De eieren zijn in een isolatiebox getransporteerd naar het IBN-DLO te Wageningen en aldaar uitgebroed in een Hatchmaster A (Broedmij, Ni) broedstoof bij 38 °C en 55% relatieve luchtvochtigheid.

2.3.1.1 Uitkomstsucces (Bosveld et al. 1998a, 1998b)

Het uitkomstsucces is bepaald aan de hand van het percentage uitgekomen eieren. Een vergelijking is gemaakt tussen het uitkomstsucces van de eieren verzameld bij Terneuzen en eieren verzameld bij de Oesterdam en de Maasvlakte.

2.3.1.2 Biometrie van eieren (Bosveld et al. 1998a, 1998b)

Van de in 1997 en 1998 verzamelde eieren bij Terneuzen, de Oesterdam en de Maasvlakte (zie 2.3.1) zijn het eigewicht en het eivolume bepaald. Het eigewicht is gewogen met een balans tot op 0.1 g nauwkeurig. Het eivolume is bepaald met de formule van Hoyt (1979): $\text{volume (m}^3\text{)} = 0.509 \times \text{lengte} \times (\text{breedte})^2 / 1000$. Van de eieren afkomstig van Terneuzen en de

Oesterdam zijn in 1997 tevens de dikte van het eivlies, de dikte van de eischaal en het calciumgehalte in de eischaal bepaald. Het eivlies en de eischaal zijn van elkaar verwijderd en afzonderlijk gemeten met een micrometer. Het calciumgehalte in de eischaal is bepaald met een vlam atomaire absorptie spectrometer (AAS). De gebruikte methode om het calciumgehalte te bepalen, is beschreven door Bosveld et al. (1998a).

2.3.1.3 Biometrie van embryo's en kuikens (Bosveld et al. 1998a, 1998b)

In 1997 is binnen 24 uur na uitkomst sectie verricht op kuikens afkomstig van de Terneuzense kolonie en de Oesterdam kolonie. Na verdoving met diethylether is de buikwand geopend en zijn enkele inwendige organen uitgeprepareerd voor histopathologisch onderzoek (zie 2.3.1.5).

Verder zijn dijbeen, scheenbeen en handwortelbeen vrijgeprepareerd en zijn de lengtes van deze botten gemeten met een schuifmaat (tot op 0.1 mm nauwkeurig). Van de linkervleugel is de lengte van de handpennen gemeten. Nadat de lengte van de kop en de snavel gemeten zijn, is de schedel geopend en zijn de hersenen uitgenomen voor morfometrisch onderzoek (zie 2.3.1.6).

In 1998 is sectie verricht op embryo's van Terneuzen en van de Maasvlakte. Maximaal 24 uur na het ontstaan van de eerste barsten in de eischaal zijn de embryo's uit de eieren gehaald. De embryo's zijn gewogen, gedecapiteerd en vervolgens is de buikwand geopend en is de lever uitgeprepareerd voor onderzoek naar de mate van EROD activiteit (zie 2.3.1.7). Bovendien zijn de koplengte en snavelengte van de embryo's bepaald (tot op 0.1 mm nauwkeurig).

2.3.1.4 Embryonale CO₂-produktie (Bosveld et al. 1998b)

Als maat voor de embryonale ontwikkeling is in 1998 de CO₂-produktie bij eieren van Terneuzen en van de Maasvlakte gemeten. De eieren zijn geplaatst in glazen respiratiekamers, waardoor gefilterde omgevingslucht geleid werd. De CO₂-concentratie in de uitgaande lucht is gemeten in een infra red gas analyser (IRGA 225-2b-SS) gekoppeld aan een WA-328 24 channel gashandling unit. Gefilterde lucht is gebruikt als referentiewaarde. De gebruikte methode om de embryonale CO₂-produktie te meten, is beschreven door Bosveld et al. (1998b).

2.3.1.5 Histopathologie van kuikens (Bosveld et al. 1998a)

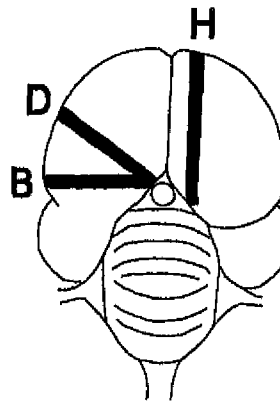
In 1997 zijn enkele inwendige organen van kuikens van Terneuzen en van de Oesterdam kolonie histopathologisch beoordeeld. Met een microtoom zijn aansneden gemaakt van de lever, thymus, wervels en ribben, geslachtsorganen, *bursa fabricius*, schildklier, nieren, en lymfoid weefsel in de blinde darm (GALT; gut associated lymphoid tissue).

Deze coupes zijn gekleurd met PAS/Best voor de beoordeling van glycogeenstapeling, met Prussian blue voor de beoordeling van ijzerstapeling, en met hematoxyline/eosine (HE) voor de algemene weefselbeoordeling. Een uitvoerige beschrijving van de histopathologische beoordeling is gegeven door Bosveld et al. (1998a).

2.3.1.6 Morfometrie van de hersenen van kuikens (Bosveld et al. 1998a)

In 1997 is de morfometrie van de hersenen van kuikens van Terneuzen en van de Oesterdam bepaald. Dit is gedaan door de hoogte, breedte en diagonaal van de grote hersenen te meten (zie figuur 2). De metingen zijn verricht met een Olympus binoculair (objectief 2x) met een geijkte schaalverdeling in het oculair.

Figuur 2 Morfometrie van de hersenen. Achteraanzicht van de hersenen met aanduiding van de assen waarlangs de breedte (B), diagonaal (D) en hoogte (H) van de hersenen gemeten zijn (Bosveld et al. 1998a).



*2.3.1.7 EROD activiteit in de lever van embryo's
(Bosveld et al. 1998b)*

Bij embryo's van Terneuzen en van de Maasvlakte is in 1998 de 7-ethoxyresorufine O-deethylase (EROD) activiteit in de microsomale fracties van de lever bepaald. Van de vrijgeprepareerde levers is eerst de microsomale fractie verkregen door middel van homogenisatie en centrifugatie. Vervolgens is het eiwitgehalte en de EROD activiteit in deze fractie bepaald. Het eiwitgehalte is bepaald door, na homogenisatie met een fluorescamine-oplossing, de hydrolyse van fluorescamine fluorimetrisch te bepalen.

Om de EROD activiteit te meten is een reactiemengsel gemaakt met de microsomale fractie en 7-ethoxyresorufine.

Na het starten van de reactie is door middel van fluorescentie de resorufine produktie gemeten als maat voor de EROD activiteit. De EROD activiteit is uitgedrukt in pmol gevormd resofurine per minuut per mg microsomaal eiwit (pmol/min.mg). De gebruikte methode is uitvoerig beschreven door Bosveld et al. (1998b).

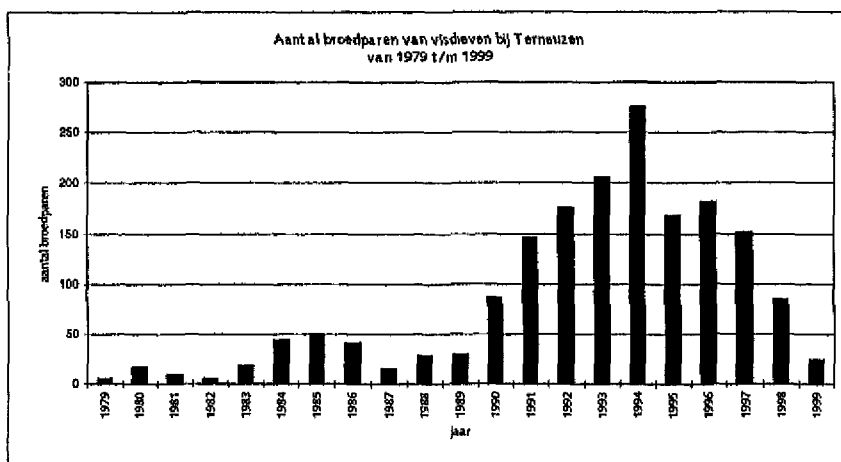
3. Resultaten

3.1 Veldonderzoeken

3.1.1 Observationeel onderzoek

Aanvankelijk namen de aantallen broedparen in de Terneuzense kolonie geleidelijk toe van 5 in 1979 tot 276 in 1994. In deze periode was het broedsucces goed. Van 1994 tot en met 1998 werd echter een aantal zorgwekkende ziekteverschijnselen binnen deze kolonie geconstateerd. Eieren kwamen niet uit en vertoonden rottingsverschijnselen; kuikens vertoonden vaak afwijkingen, zoals evenwichtsstoornissen, bloedingen aan kop, poten en vleugels, verkleefde veren, ontstoken ogen en stierven uiteindelijk. Het aantal broedparen bij Terneuzen is sinds 1994 sterk gedaald tot slechts 24 broedparen in 1999 (zie figuur 3).

Figuur 3 Aantal broedparen van visdieven bij Terneuzen van 1979 t/m 1999



Het broedsucces van de Terneuzense kolonie was in de periode van 1994 t/m 1999, met uitzondering van 1995, herhaaldelijk nihil tot slecht. Deze verschijnselen werden niet waargenomen in de overige kolonies in het Westerscheldegebied (zie tabel 1).

Tabel 1 Aantal broedparen (n) en broedsucces van visdieven in de belangrijkste kolonies langs de Westerschelde (database RIKZ).

Jaar	Westerschelde	Terneuzen		Nieuw Neuzen		Hoge Platen		Saeftinge	
	totaal	n	succes	n	succes	n	succes	n	succes
1979	441	5		70		30		200	
1980	535	17		40		100		270	
1981	586	10		40		140		260	
1982	829	5		30		350		275	
1983	931	18		20		475		290	
1984	992	44		30		550		285	
1985	1178	50		50		750		270	
1986	1404	41		145		1000		210	
1987	1583	15		250		850		430	
1988	1673	28		350		825		420	
1989	1625	29		350		725		500	
1990	1443	87		5		900		432	
1991	1558	146		90		775		522	
1992	1446	175		76		700		430	
1993	1128	206	+	44	?	530	?	381	?
1994	1292	276	0/s	31	?	640	+	321	+
1995	1404	168	+	70	±	800	-/o	339	+
1996	1437	182	0/s	27	0/p	750	±	472	±
1997	1564	152	0/s	-		1000	±	312	-/o
1998	1614	85	-/p,s	35	+	1100		384	
1999	ca.1660	24	-/p	32	0/p	1300	-	299	-/o

Noot: broedsucces: ? = onbekend; 0=nihil (<0.1 jong/paar); - =slecht (<0.5 jong/paar); ± = matig (0.5-1 jong/paar); + =goed (>1 jong/paar). Oorzaken slecht broedsucces: p=predatie; o=overspoeling; s=embryonale sterfte.

In 1998 is het slechte broedsucces bij Terneuzen mede veroorzaakt door een hoog predatiesucces van kokmeeuwen en onvolwassen zilvermeeuwen. Niet alle jongen werden ziek en zonder predatie zou het aantal uitgevlogen jongen in 1998 aanzienlijk hoger zijn geweest (Meininger en Lilipaly 1998). Het slechte broedsucces in 1999 was in belangrijke mate het gevolg van predatie door eksters (Erkman 1999). Visdieven die op een plat dak aan de westkant van het sluizencomplex dichtbij het douanegebouw broedden (waar nesten dicht bij elkaar lagen en eksters niet konden landen om de kolonie binnen te lopen), wisten in 1999 wel een aantal jongen groot te brengen. Bij deze jongen werden geen ziekteverschijnselen waargenomen, zoals beschreven voor voorgaande jaren (Erkman 1999). Vooralsnog is er geen verklaring voor, maar het duidt op een zeer lokaal effect.

Visdieven bij Terneuzen vertoonden de afgelopen jaren opvallend passief gedrag. Terwijl in 1991 de in de kolonie aanwezige onderzoekers nog zeer agressief bejegend werden, is dit de afgelopen jaren niet meer het geval. Zelfs tijdens het controleren van de nesten werden onderzoekers de laatste jaren vrijwel niet aangevallen door de oudervogels (Meininger et al. 1997, Meininger en Lilipaly 1998, Erkman 1999).

Een goede vergelijking met de referentiekolonie bij de Oesterdam in 1997 kon niet gemaakt worden, omdat alle eieren en uitgekomen jongen van de Oesterdam kolonie gepredeerd werden door Kokmeeuwen en mogelijk ook door Kauwen en Zwarte Kraaien. In tegenstelling tot de waarnemingen in de Terneuzense kolonie was het aantal broedparen en het broedsucces in de kolonie van de Maasvlakte in 1998 goed en vertoonden de uitgekomen jongen geen ziekteverschijnselen. In 1999 kon geen goede vergelijking gemaakt worden tussen de kolonie van Terneuzen en de kolonie van de Maasvlakte. In de eerste plaats kwam dit door een te gering aantal nesten in de Terneuzense kolonie en ten tweede werden in de kolonie van de Maasvlakte veel eieren en uitgekomen jongen gepredeerd door onder andere meeuwen en ratten. Het broedsucces in de kolonie van de Maasvlakte was hierdoor in 1999 zeer gering.

3.1.2 Chemische en toxicologische onderzoeken

3.1.2.1 Milieuverontreinigende stoffen in mosselen en sprot

Uit de chemische analyses bleek dat het gehalte van organotinverbindingen in de mosselen en sprot behoorlijk hoog waren. Vooral het gehalte aan Tributyltin (TBT) was erg hoog. In mosselen werden gehalten gemeten van 583 tot 747 µg Sn/kg droge stof en in sprot van 554 µg Sn/kg droge stof. Voor PCB's, zware metalen en PAK's werden geen gehalten gevonden die het slechte broedsucces zouden kunnen verklaren.

3.1.2.2 Milieuverontreinigende stoffen in slib van de Westbuitenhaven van Terneuzen.

Op beide meetpunten in de Westbuitenhaven wordt van 1991 t/m 1998 een daling van PCB-gehalten waargenomen. De gehalten aan PAK's, zware metalen, chloorbestrijdingsmiddelen en chloorbenzenen zijn op de beide punten gedurende deze periode min of meer gelijk gebleven. Er zijn geen aanwijzingen gevonden dat een bepaalde stof of stofgroep verantwoordelijk zou kunnen zijn voor het slechte broedsucces.

3.1.2.3 Aanvoer van milieuverontreinigende stoffen via de lucht (Wattel 1998)

In geen van de periodes (gehele broedperiode, een deel van de broedperiode, de afzonderlijke maanden van de broedperiode en de kortere periodes van 10 dagen) is van 1990 t/m 1998 een relatie gevonden tussen de windrichting en het broedsucces. Het is niet waarschijnlijk dat het slechte broedsucces veroorzaakt wordt door vervuilde lucht die vanuit een bepaalde richting door de wind wordt aangevoerd.

3.1.2.4 Milieuverontreinigende stoffen in eieren

De gevonden PCB-, PCDD-, en PCDF-gehaltenes in de eieren en kuikens van Terneuzen in 1994 werden vergeleken met gehaltenes van deze stoffen in visdieven uit het Haringvliet. Uit eerder onderzoek bleek dat de kolonie in het Haringvliet behoort tot de meest verontreinigde van de visdiefkolonies van Nederland (Bosveld et al. 1995). De gehaltenes in de eieren en kuikens bij Terneuzen bleken tot 25x hoger dan bij het Haringvliet. De vergelijking tussen PCB-gehaltenes in eieren van Terneuzen en eieren van Saeftinge in 1995 toonde dat de gehaltenes bij Saeftinge hoger waren dan bij Terneuzen. Bovendien toonden de analyses een verschillend chromatografisch patroon: bij eieren uit Saeftinge bleken er meerdere componenten aanwezig die relatief meer voorkomen. In 1999 werd geen verschil gevonden tussen PCB-gehaltenes in eieren van Terneuzen en van de Maasvlakte. De gehaltenes in 1994 en 1995 waren goed vergelijkbaar met de gehaltenes die in 1999 werden gevonden.

De analyses van PBDE's in 1999 wezen uit dat in het algemeen de mengmonsters van eieren van de Maasvlakte sterker verontreinigd zijn met PBDE's dan de mengmonsters van de eieren van Terneuzen. Dit geldt vooral voor de BDE congeneernummers 47 en 99. BDE 153 was hoger in de Terneuzen-eieren.

Ook werd hexabroomcyclododecaan (HBCD) aangetroffen in de eieren van de Maasvlakte en Terneuzen. Opvallend was dat de gehaltenes aan HBCD in visdiefeieren van Terneuzen (170 en 230 µg/kg natgewicht) 10-voudig hoger waren dan in die van de Maasvlakte (in beide monsters 17 µg/kg natgewicht).

Uit de in 1999 door het RIVO uitgevoerde analyses naar de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen bleek dat de volgende stoffen niet op een niveau van 0.1 mg/kg aangetoond konden worden: acetonifilen, amethryn, azinfos-ethyl, azoxystrobine,

bioalletrin, carbaryl, carboxin, chloorthalonil, chloridazon, coumafos, cyfluthrin, cyproconazool, demeton, dichlofluamide, dichloorfenthion, dicofol, fenchloorfos, fenpiclonil, fosfamidon, fluoroglycofen-ethyl, fluoroxypyr-meptyl, flutolanil, imazalil, iprodion, lenacil, pendimethalin, pirimifos-ethyl, propazin, quizalofop-ethyl, tetrachloorvinfos, thiabendazool, triadimefon, triazofos en vamidothion. Deze stoffen waren dus wel aanwezig.

Verder zijn hexachloorbenzeen en p,p'-DDE aangetroffen in de monsters.

Daarnaast toonden TIC-chromatogrammen pieken, maar de componenten waren met de beschikbare gegevens niet eenduidig te identificeren en aangezien de pieken in alle monsters voorkomen, is het de vraag of uitgebreider onderzoek zinvol is.

De gehalten aan organotinverbindingen in eieren van Terneuzen waren in 1999 niet verhoogd ten opzichte van eieren van de Maasvlakte.

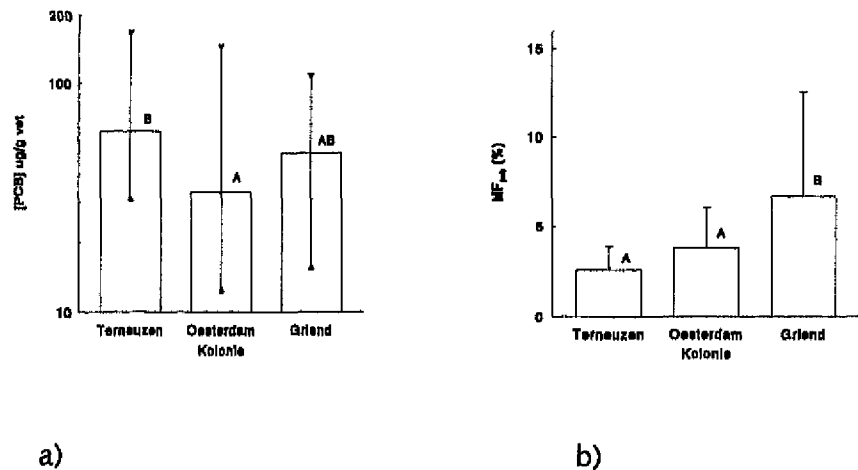
3.1.2.5 PCB-concentraties en -patronen in bloed van adulte vogels (van den Brink 1998c)

Σ -PCB-concentraties varieerde tussen kolonies. De Σ -PCB-concentraties in het bloed van adulten bij Terneuzen (61 $\mu\text{g/g}$) was significant ($p < 0.05$) hoger dan bij de Oesterdam (31 $\mu\text{g/g}$). De Σ -PCB-concentraties in het bloed van visdieven van Griend (49 $\mu\text{g/g}$) lag er tussen in (zie figuur 4a).

Het patroon van de individuele PCB-congeneren in visdieven van Terneuzen was niet significant verschillend van het patroon in visdieven van de Oesterdam (Permutatie toets $N_{\text{perm}}=200$, $\alpha=0.05$). Het patroon in visdieven van Griend was daarentegen wel verschillend ($p < 0.05$).

Σ -PCB's toonde een negatieve relatie met PCB-congeneren 28/31, 52, 61 en 95. Dit zijn congenen, waarvan Boon en medewerkers (1995) hebben vastgesteld dat ze kunnen worden omgezet door zeevogels. Dat de relatieve vermindering van de concentraties van PCB 28/31, 52, 61 en 95 inderdaad het gevolg was van metabolisme, werd ondersteund door het feit dat de som van relatieve concentraties van deze congenen (verder gedefinieerd als metaboliseerbare fractie PCB's: MF_{pcb}) een dosis-effect relatie vertoonde met Σ -PCB.

Figuur 4 a) Σ -PCB-concentraties in bloed van visdieven van Terneuzen, de Oesterdam en Griend b) Fractie metaboliseerbare PCB-congeneren (MF_{pcb}) in bloed van visdieven van Terneuzen, de Oesterdam en Griend (van den Brink 1998c).



Het lijkt erop dat bij oplopende Σ -PCB-concentraties cytochroom P450 iso-enzymen worden geïnduceerd en metaboliseerbare PCB's worden omgezet, waardoor MF_{pcb} daalt. De MF_{pcb} in het bloed van zowel visdieven van Terneuzen als van de Oesterdam was significant lager dan de MF_{pcb} in het bloed van visdieven van Griend (Student's t-toetsen; $p < 0.05$) (zie figuur 4b). Dus hoewel Σ -PCB-concentraties bij de Oesterdam lager zijn dan bij Terneuzen, lijkt het erop dat zowel bij Terneuzen als bij de Oesterdam enig metabolisme heeft plaatsgevonden. Bij Terneuzen lijkt dit gerelateerd aan Σ -PCB, bij de Oesterdam zijn er blijkbaar één of meerdere andere stoffen verantwoordelijk voor inductie van dit metabolisme.

3.1.3 Translocatie-experiment

Het uitkomstsucces van de naar Terneuzen verplaatste Maasvlaktelegsels (9 jongen uit 13 legsels) was aanzienlijk beter dan het uitkomstsucces van de lokaal geproduceerde eieren (18 jongen uit 61 legsels). Dit duidt erop dat de oorzaak voor het slechte broedsucces mogelijk ligt aan inwendige factoren in het ei en niet aan uitwendige factoren, zoals het broedgedrag van de oudervogels. Over het lot van de naar de Maasvlakte verplaatste legsels is wegens tijdgebrek weinig bekend geworden (Meininger en Lilipaly 1998).

3.1.4 Overige onderzoeken

3.1.4.1 Microbiologisch onderzoek (Bosveld et al. 1998a)

Omdat het in 1994 verzamelde materiaal in ontbinding was, leverde het toen uitgevoerde onderzoek geen duidelijke resultaten op.

Het microbiologisch onderzoek in 1997 wees uit dat een infectieziekte als oorzaak voor de waargenomen verschijnselen niet erg waarschijnlijk is. Er werden namelijk geen verhoogde aantallen bloedparasieten of pathogene bacterien in de darmen van dodelijk zieke kuikens van Terneuzen aangetroffen (Bosveld et al. 1998a).

3.1.4.2 Kleverig kruiskruid (Senecio viscosus)

In 1996 kwam de ontwikkeling van kleverig kruiskruid pas laat op gang. Hierdoor was op het moment van uitkomen van de eieren vrijwel geen verschil in de bedekking met kleverig kruiskruid in het deel van de kolonie waar het kleverig kruiskruid verwijderd was en het deel waar het niet verwijderd was. Een vergelijking tussen het uitkomstsucces in beide delen van de kolonie is niet meer gemaakt, omdat kleverig kruiskruid toch geen invloed gehad kan hebben op het uitkomstsucces.

In 1998 deden de ziekteverschijnselen zich al voor, voordat de ontwikkeling van kleverig kruiskruid op gang was gekomen. Dit ondersteunt bovengenoemde conclusie dat kleverig kruiskruid niet verantwoordelijk kan zijn voor het slechte broedsucces (Meininger en Lilipaly 1998).

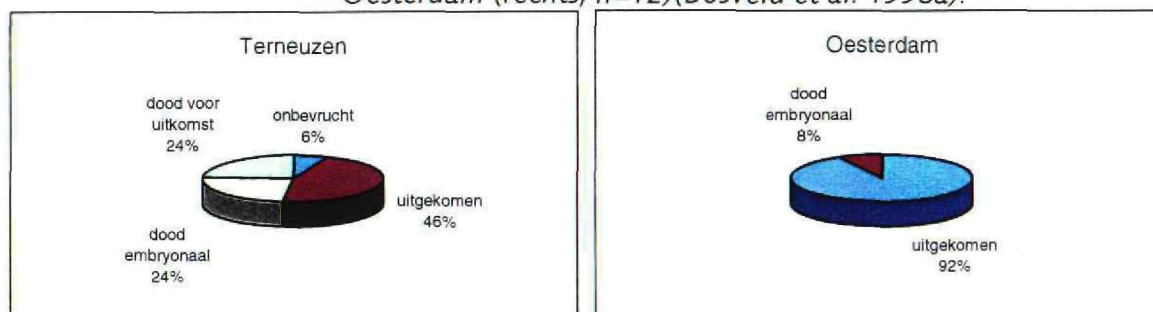
3.2 Experimenteel onderzoek

3.2.1 Kunstmatige bebroeding van eieren

3.2.1.1 Uitkomstsucces (Bosveld et al. 1998, 1998b)

Er werd in 1997 een significant verschil gevonden tussen het uitkomstpercentage van kunstmatig uitgebroede eieren van Terneuzen en eieren van de Oesterdam. Het uitkomstpercentage voor beide groepen was respectievelijk 46% en 92%. Bovendien was de broedduur voor de Terneuzense eieren 2,4 dagen langer dan voor de referentie-eieren van de Oesterdam kolonie (zie figuur 5).

Figuur 5 Uitkomstsucces en broedduur van kunstmatig uitgeoede eieren van Terneuzen (links; n=17) en de Oesterdam (rechts; n=12) (Bosveld et al. 1998a).



In 1998 bereikten wel alle embryo's het stadium van het aanpakken van de eischal, maar was de broedduur voor de Terneuzen-eieren met wederom met één dag verlengd ten opzichte van de referentie-eieren van de Maasvlakte.

3.2.1.2 Biometrie van eieren en embryonale CO₂-productie (Bosveld et al. 1998a, 1998b)

Het volume en het gewicht van de eieren van Terneuzen was niet significant afwijkend van die van de beide referentiekolonies. Ook werd geen verschil gevonden voor het calciumgehalte in de eischal van eieren van Terneuzen en van de Oesterdam kolonie.

Wel hadden eieren uit Terneuzen een significant ($p = 0.05$) dikkere eischal en eivlies ($p \leq 0.05$) dan eieren van de Oesterdam kolonie. Dit leidde tot de hypothese dat een gebrekkige gasuitwisseling mede verantwoordelijk zou kunnen zijn voor het slechte broedsucces. Mogelijk wordt door de relatief dikke eischal de embryonale ademhaling geremd, waardoor de ontwikkeling van het embryo vertraagd wordt. Op het moment van aanpakken van de eischal werd inderdaad een verminderde CO₂-productie vastgesteld bij eieren van Terneuzen ten opzichte van eieren van de Maasvlakte (t-test, $p < 0.001$), hetgeen duidt op een verminderde embryonale ademhaling. Het verschil in CO₂-productie duidt op een verschil in ontwikkelingsfase, waarbij de Terneuzense embryo's een achterstand vertonen ten opzichte van de Maasvlakte embryo's. Het lijkt erop dat de kuikens uit Terneuzen uitkomen op een moment dat de ontwikkeling nog niet voltooid is. Dit heeft mogelijk een hoge sterfte tijdens het uitkomstproces tot gevolg, omdat het embryo juist in de periode tussen het aanpakken van het ei en het volledig uit het ei kruipen een hoge inspanning moet leveren.

3.2.1.3 Biometrie van embryo's en kuikens (Bosveld et al. 1998a, 1998b)

Morfologisch waren de kuikens van Terneuzen gelijk aan de kuikens van de Oesterdam kolonie. Er werden geen significante verschillen gevonden in de afmetingen van dijbeen, scheenbeen, handwortelbeen, lengte van de handpennen in de linkervleugel en de kop. Wel bleek de snavellengte van de Terneuzen kuikens 7% langer ($p \leq 0.01$) dan die van de kuikens van de Oesterdam kolonie. Maar omdat mannelijke individuen gemiddeld een langere snavel hebben dan vrouwelijke en de geslachtsverhoudingen in de onderzochte groepen niet bekend zijn, kan aan dit resultaat geen conclusie verbonden worden. De uit het ei gehaalde embryo's van Terneuzen waren significant ($p = 0.0001$) 15% lichter van gewicht dan die van de Maasvlakte en de dooierrest voor de Terneuzen eieren was significant 26% zwaarder ($p = 0.02$) dan voor de Maasvlakte eieren. Ook hadden embryo's uit Terneuzen gemiddeld een kleinere kop ($p = 0.001$) dan die van de Maasvlakte. Deze verschillen zijn in overeenstemming met de resultaten van het onderzoek naar de embryonale CO_2 -productie, die veronderstellen dat kuikens van Terneuzen uitkomen op het moment dat de ontwikkeling nog niet voltooid is (zie 3.2.1.2).

3.2.1.4 Histopathologie van kuikens (Bosveld et al. 1998a)

Bij kuikens uit Terneuzen bleek een mogelijk verminderde immuunfunctie uit afwijkingen in de *bursa fabricius*. In de lever, thymus, nieren, schildklier, geslachtshormonen, botten en lymfoid weefsel in de darm werden geen afwijkingen gevonden die verklarend kunnen zijn voor het verminderde broedsucces.

3.2.1.5 Morfometrie van de hersenen en EROD activiteit (Bosveld et al. 199a, 1998b)

Uit de lengte, breedte en diagonaal metingen van de hersenen bleek dat bij kuikens van Terneuzen geen significant groter verschil tussen de linker- en rechterhersen helft aanwezig is, dan bij kuikens van de referentiekolonie bij de Oesterdam. Wanneer echter het absolute verschil beschouwd wordt, waarbij geen rekening gehouden wordt met het feit of de linker- of rechterhersen helft de grootste is, blijkt dat er wel een verschil tussen de beide groepen is. Bij Terneuzen kuikens is op basis van lengte, breedte en diagonaal meer absolute variatie tussen

hersenhelften dan bij de kuikens uit de Oesterdam kolonie ($p < 0.02$). Dit duidt op een verstoorde ontwikkeling van het centrale zenuwstelsel met mogelijke gevolgen voor de sturing van de fysiologische processen die de ontwikkeling en het uitkomen van de eieren induceren (Bosveld et al. 1998b). Deze afwijking is door Hensel en medewerkers (1993, 1996) in verband gebracht met een verhoogde blootstelling aan dioxine-achtige stoffen, zoals PCDD's, PCDF's en PCB's. Een verhoogde blootstelling aan deze stoffen gaat echter ook vaak gepaard met een verhoogde door het cytochroom P450 1A gekatalyseerde EROD activiteit in de lever. Hoewel de EROD activiteit in embryo's van Terneuzen (40 ± 24 pmol/mg.min) gemiddeld 25% hoger was dan in embryo's van de Maasvlakte (32 ± 18 pmol/mg.min), bleek uit statistische analyses geen significant verschil tussen beide kolonies.

Bovendien bleek uit resultaten van een eerdere studie, waarin de EROD respons in visdiefkuikens uit acht verschillende kolonies in Nederland en België gerelateerd is aan de mate van verontreiniging met dioxinen en PCB's (Bosveld et al. 1995a), dat de EROD inductie dermate gering is, dat deze niet verklarend kan zijn voor de waargenomen effecten.

4. Discussie

Na een aanvankelijke toename van het aantal broedparen van 1979 tot en met 1994 is sinds 1994 een sterke daling van het aantal broedparen waargenomen in de visdiefkolonie op het sluizencomplex bij Terneuzen. Het aantal broedparen is in de periode van 1994 t/m 1999 gedaald van 276 naar 24. In deze periode was het broedsucces, met uitzondering van 1995, herhaaldelijk nihil tot slecht. Eieren kwamen niet uit en vertoonden rottingsverschijnselen, kuikens vertoonden ernstige ziekteverschijnselen en stierven uiteindelijk. In 1999 werden bij het kleine aantal kuikens wat wel uitkwam geen ziekteverschijnselen waargenomen.

In 1998 en 1999 speelde predatie een belangrijke rol bij het slechte broedsucces. De hoge predatiedruk in 1998 en 1999 hangt mogelijk samen met het lage aantal broedparen. De eieren van een visdief die niet op het nest zit, worden ten dele beschermd door andere visdieven die op dat moment wel op hun nest zitten. Niet omdat ze de eieren van hun burens willen beschermen, maar omdat ze predatoren in de buurt van hun nest niet dulden. Deze worden weggejaagd en kunnen dan ook onbewaakte nesten niet roven. In een kolonie met een laag aantal broedparen liggen de nesten ver uit elkaar en onbewaakte nesten vallen dan makkelijk ten prooi aan predatoren (Erkman 1999). Het hoge predatiesucces kan echter ook te maken hebben met het waargenomen passieve gedrag van de oudervogels. De oorzaak voor het passieve gedrag is niet duidelijk, maar zou een gevolg kunnen zijn van blootstelling aan milieuverontreinigende stoffen. Verschillende studies hebben effecten van milieuverontreinigende stoffen aangetoond op het gedrag van oudervogels. Zo bleken meeuwen in het gebied van de Grote Meren in Amerika als gevolg van blootstelling aan milieuverontreinigende stoffen maar weinig aandacht te hebben voor hun nesten, waardoor veel kuikens stierven (zie Janssen et al. 1998). Bij zilvermeeuwen is een relatie aangetoond tussen concentraties organochloorverbindingen en de tijd die de oudervogel besteedt aan het broeden (Fox et al. 1978, Peakall et al. 1980). Ei-uitwisselingsexperimenten bij de Forster's Stern wezen op een relatie tussen het uitkomstpercentage en verstoord broedgegedrag bij vogels in een verontreinigde kolonie (Kubiak et al. 1993).

Er zijn geen aanwijzingen gevonden dat het slechte broedsucces van visdieven bij Terneuzen veroorzaakt wordt door parasitaire infecties. In de darmen van dodelijk zieke kuikens werden namelijk geen verhoogde aantallen bloedparasieten of pathogene bacteriën aangetroffen (zie 3.1.4.1). Ook bleek dat kleverig kruiskruid niet de oorzaak kan zijn, aangezien de ziekteverschijnselen zich in 1998 al voordeden op het moment dat de ontwikkeling van kleverig kruiskruid nog op gang moest komen (zie 3.1.4.2).

De experimentele onderzoeken in 1997 en 1998 toonden een groot aantal verschillen tussen de kolonie bij Terneuzen en de referentiekolonies:

- 1) Het uitkomstsucces van eieren van Terneuzen (46%) was aanzienlijk lager dan het uitkomstsucces van eieren van de Oesterdam (92%) en de broedduur van de Terneuzen eieren was verlengd ten opzichte van eieren van de Oesterdam en de Maasvlakte (zie 3.2.1.1).
- 2) Bij embryo's van Terneuzen werd een verminderde CO₂-productie vastgesteld ten opzichte van embryo's van de Maasvlakte (zie 3.2.1.2), mogelijk als gevolg van een relatief dikke eischaal van de Terneuzen eieren.
- 3) De uit het ei gehaalde embryo's van Terneuzen waren gemiddeld lichter, hadden een zwaardere dooierrest en een kleinere kop dan embryo's van de Maasvlakte, hetgeen duidt op een vertraagde ontwikkeling van de Terneuzen kuikens (zie 3.2.1.3).
- 4) Uit histopathologisch onderzoek bleek bij kuikens van Terneuzen een mogelijk verminderde immuunfunctie uit afwijkingen in de *bursa fabricius* (zie 3.2.1.4).
- 5) Er was meer absolute variatie tussen de hersenhelften bij kuikens uit Terneuzen dan bij kuikens van de Oesterdam (zie 3.2.1.5).

Omdat al deze verschillen werden gevonden in experimenten, waarbij eieren kunstmatig onder gestandaardiseerde omstandigheden werden uitgebroed, lijkt het waarschijnlijk dat de voortplantingsproblemen gekoppeld zijn aan inwendige factoren in het ei.

Deze hypothese werd ondersteund door het resultaat van het translocatie-experiment. De naar Terneuzen verplaatste Maasvlakte-legsels vertoonden een aanzienlijk beter uitkomstsucces dan de lokaal geproduceerde eieren (zie 3.1.3), terwijl eieren onder dezelfde omstandigheden door dezelfde oudervogels werden uitgebroed.

Veel van de hierboven beschreven verschillen zouden, net als het passieve gedrag van de oudervogels, het gevolg kunnen zijn van blootstelling aan milieuverontreinigende stoffen. Milieuverontreinigende stoffen kunnen door de moedervogel doorgegeven worden aan het ei en daar de embryonale ontwikkeling verstoren. Eén van de effecten van embryonale blootstelling aan toxische stoffen kan zijn, dat de ontwikkeling van het embryo vertraagd wordt (de Roode 1999), zoals waargenomen bij embryo's en kuikens van Terneuzen in vergelijking tot die van de Maasvlakte (zie 3.2.1.2 en 3.2.1.3). De verlengde broedduur van de Terneuzen eieren (zie 3.2.1.1) zou ook een effect kunnen zijn van blootstelling aan milieuverontreinigende stoffen. Eerder onderzoek bij eieren en kuikens van visdieven afkomstig uit verschillende, meer of minder vervuilde, gebieden toonde namelijk een relatie tussen PCB-concentraties in de dooier en de tijd die nodig is om de eieren uit te broeden (Bosveld et al. 1995, Murk et al. 1996). Door Hensel en medewerkers (1993, 1996) is aangetoond, dat onder invloed van TCDD en structuurverwante stoffen, zoals PCDD's, PCDF's en PCB's een asymmetrische ontwikkeling van de hersenen op kan treden, hetgeen de aangetoonde hersendimorfie bij kuikens van Terneuzen zou kunnen verklaren (zie 3.2.1.5). Zij vond echter wel een specifiek effect tussen de linker- en rechterhersenhelft, wat niet werd waargenomen bij de Terneuzen kuikens.

De milieuverontreinigende stoffen zouden afkomstig kunnen zijn van de langs het Kanaal van Gent naar Terneuzen aanwezige industrie (o.a. cokes, kunstmest, zetmeel en chemische industrie). Verschillende bedrijven lozen afvalwater en koelwater op het Kanaal waarin zich milieuverontreinigende stoffen bevinden. Hoewel de hoeveelheden milieuverontreinigende stoffen tegenwoordig laag zijn, met name in het Nederlandse deel van het Kanaal van Gent naar Terneuzen, heeft zich in de loop van de afgelopen tientallen jaren een bodemkwaliteit opgebouwd die zeer slecht is. Bij gebrek aan een geschikte bergingslocatie voor het verontreinigde slib is sanering van de bodem nog steeds niet uitgevoerd. Eerder onderzoek toonde dat een groot aantal bestrijdingsmiddelen in 1993 in het water van het Kanaal van Gent naar Terneuzen de grenswaarde, zoals vastgelegd in Evaluatie Nota Water (ENW), overschreden. Als belangrijkste probleemgroepen kwamen de organofosforbestrijdingsmiddelen en een drietal herbiciden naar voren. Een overzicht van bestrijdingsmiddelen die in 1993 bij Sas van Gent en Terneuzen de grenswaarde overschreden, is gegeven in tabel 2.

Tabel 2 Bestrijdingsmiddelen die in 1993 bij Sas van Gent en Terneuzen de grenswaarde (GW) overschreden (uit: Speuren naar Sporen III, Phernambucq et al., 1996)

Stofgroepen stof	Sas van Gent (overschr.factor>GW)	Terneuzen (overschr.factor>GW)
Organofosfor- bestrijdingsmiddelen:		
dichloorvos	30	50
cumafos	15	-
malathion	13	23
mevinfos	12	4
ethoprofos	8	-
parathion-ethyl	6	-
triazofos	3	3
azinfos-methyl	2	-
diazinon	2	-
Herbiciden:		
dinoseb	205	-
diuron	1900	300
methabenzthiazuron	3	-
Overige stoffen:		
mecoprop (MCP)	9	5
atrazine	11	-
pentachloorfenol	8	2
aldicarbulsulfoxide	-	2

Ook vindt vanuit de industrie emissie van vluchtige milieuverontreinigende verbindingen plaats naar de lucht. Over gehalten van milieuverontreinigende verbindingen in de lucht is echter maar weinig bekend.

Uit de analyses van milieuverontreinigende stoffen welke mogelijk het slechte broedsucces veroorzaken blijkt dat het onwaarschijnlijk is, dat het slechte broedsucces veroorzaakt wordt door de aanwezigheid van dioxine-achtige verbindingen, zoals PCB's, PCDD's en PCDF's. In 1995 bleken de PCB-gehalten in eieren van Terneuzen niet verhoogd ten opzichte van eieren van Saeftinge. De PCB-gehalten bij Saeftinge waren zelfs hoger dan bij Terneuzen, terwijl in Saeftinge geen ziekteverschijnselen werden waargenomen. Uit de vergelijking tussen PCB-gehalten in eieren van Terneuzen en eieren van de Maasvlakte in 1999 werden eveneens geen verhoogde PCB-gehalten aangetoond in eieren van Terneuzen. Deze vergelijking toonde geen verschil in PCB-gehalten tussen beide kolonies (zie 3.1.2.4).

Daarnaast werd in bloed van adulte vogels van Terneuzen in 1998 ook geen verhoogde PCB-concentraties aangetroffen ten opzichte van de Maasvlakte en Griend (zie 3.1.2.5). Wanneer blootstelling aan PCB's of structuurverwante stoffen plaats vindt, treedt vaak een inductie van de cytochroom P450 geassocieerde 7-ethoxyresorufine O-deethylase (EROD) activiteit op in de lever (Bellward 1994, Bosveld et al. 1995, Sanderson et al. 1994a, b). Uit de bepaling in de lever van embryo's van Terneuzen in 1998 kon geen verhoging van de EROD activiteit worden aangetoond. Ook werd geen verschil gevonden in EROD activiteit bij embryo's van Terneuzen in vergelijking met embryo's van de Maasvlakte (zie 3.2.1.5). De analyses van de slibmonsters uit de Westbuitenhaven van het Kanaal van Gent naar Terneuzen tonen aan, dat PCB-gehalten in het slib sinds 1991 gedaald zijn (zie 3.1.2.2), terwijl de ziekteverschijnselen pas sinds 1994 worden waargenomen. PCB-gehalten in mosselen en sprut waren ook niet zodanig hoog dat ze verklarend kunnen zijn voor de waargenomen verschijnselen (zie 3.1.2.1).

Het lijkt ook niet waarschijnlijk dat zware metalen verantwoordelijk zijn voor het slechte broedsucces. Er werd in 1999 geen verschil gevonden tussen de gehalten aan zware metalen in eieren van Terneuzen in vergelijking met eieren van de Maasvlakte (zie 3.1.2.4). Ook werden uit de analyses van de slibmonsters uit het Kanaal van Gent naar Terneuzen nabij 2 industriële lozingspunten (zie 3.1.2.2) en de analyses van mosselen en sprut (zie 3.1.2.1) geen aanwijzingen gevonden dat zware metalen het slechte broedsucces hebben kunnen veroorzaken.

De bestrijdingsmiddelen cumafos en triazofos die in 1993 in het water van het Kanaal van Gent naar Terneuzen de grenswaarde overschreden (zie tabel 2) konden in de eieren van Terneuzen en de Maasvlakte niet op een niveau van 0.1 mg/kg aangetoond worden (zie 3.1.2.4), maar waren wel aanwezig. Deze stoffen lijken dan ook niet verantwoordelijk voor het slechte broedsucces. Ook waren gehalten van andere geanalyseerde bestrijdingsmiddelen in de eieren van Terneuzen en de Maasvlakte niet zodanig hoog (zie 3.1.2.4), dat ze als oorzaak voor het slechte broedsucces aangewezen kunnen worden.

Uit de analyses van de eieren van Terneuzen en de Maasvlakte in 1999 bleek de vlamvertrager hexabroomcyclododecaan (HBCD) in de eieren van Terneuzen (170 en 230 µg/kg natgewicht) 10-voudig hoger dan in die van de Maasvlakte (in beide monsters 17 µg/kg natgewicht). Of HBCD verantwoordelijk kan zijn voor de waargenomen verschijnselen, zou nader onderzocht moeten worden. HBCD is een vaste stof (chemische familie: gehalogeniseerde cycloalkanen) die slecht oplosbaar is in water. Emissie van HBCD naar de atmosfeer is in principe mogelijk in de vorm van stofemissie. De jaarlijkse productie van HBCD door Broomchemie te Terneuzen sinds 1990 vertoont geen trend die een relatie zou kunnen geven met het slechte broedsucces van visdieren bij Terneuzen. Hoewel HBCD tegenwoordig één van de meest gebruikte vlamvertragers is, is tot nu toe nog maar weinig bekend over de toxicologische effecten van deze stof.

Een andere groep van milieuverontreinigende stoffen die zich in dit verband opdringt, zijn organotinverbindingen. Het gehalte van organotinverbindingen, met name tributyltin (TBT), in mosselen en sprot afkomstig uit het foerageergebied van visdieren die broeden bij Terneuzen, was erg hoog. Hoewel de gehalten aan organotinverbindingen in eieren van Terneuzen in 1999 niet verschillend waren van die van de Maasvlakte, kan het zijn dat de gehalten in de oudervogels wel verhoogd zijn, met als mogelijk gevolg het waargenomen passieve gedrag en de relatief dikke eischaal. Dit zou nader onderzocht kunnen worden.

TBT wordt vooral veel gebruikt in aangroeiwerende verven, de zogenaamde antifoulings, om de scheepshuid schoon te houden van algen, wieren, zeepokken en mosselen. Uit onderzoek is gebleken dat zeer lage concentraties al schadelijke effecten kunnen veroorzaken bij schelpdieren en vissen. Schadelijke effecten van TBT zijn: schelpverdikking bij oesters, imposex bij wulken en aantasting van het immuunsysteem van platvissen. Sinds 1990 geldt in Nederland een verbod om TBT te gebruiken op schepen kleiner dan 25 meter.

Naast de verdachte stoffen HBCD en TBT kunnen niet aangetoonde milieuverontreinigende stoffen ook verantwoordelijk zijn voor het slechte broedsucces. Een probleem bij het analyseren van milieuverontreinigende stoffen is namelijk, dat voor een aantal stoffen de detectiegrens van de geoptimaliseerde analysetechniek boven de grenswaarde ligt.

Zodra deze stoffen aangetoond worden, liggen ze dus boven de norm. Het niet aantonen betekent daarentegen niet dat de werkelijke concentraties beneden de norm liggen. Bovendien is ook erg weinig bekend over de effecten van de gezamenlijke aanwezigheid van verschillende milieuverontreinigende stoffen. Vooral voor stoffen met een vergelijkbare werking zal vaak eerder een versterkt effect dan een afgezwakt effect optreden (combinatietoxiciteit) (uit: Sporen in water, zes jaar speuren, 1996).

Nader onderzoek zou verricht moeten worden naar de aanwezigheid van milieuverontreinigende stoffen in de lucht. Hoewel de windrichting waarschijnlijk niet van invloed is geweest op de aanvoer van milieuverontreinigende stoffen (zie 3.1.2.3) zegt dit niets over de gehalten van deze stoffen in de lucht. Mogelijk vindt vanuit de langs het Kanaal aanwezige industrie emissie van vluchtige milieuverontreinigende verbindingen plaats naar de lucht en zijn de gehalten in de lucht de afgelopen jaren zodanig veranderd, dat ze het slechte broedsucces hebben kunnen veroorzaken.

Een andere mogelijke oorzaak waar tot nu toe nog niet naar gekeken is, is gebrek aan vitamines. Veel gedragsafwijkingen die beschreven zijn voor vogels met voortplantingsproblemen lijken op symptomen die bekend zijn van vitamine B1-gebrek, zoals evenwichtsverlies, lusteloosheid en zwakke poten. Vaak gaan deze verschijnselen gepaard met afwijkingen in de hersenen en kunnen de dood tot gevolg hebben (de Roode, 1999). Vitamine B1 is betrokken bij de energiehuishouding van de cel. Wanneer de concentratie aan vitamine B1 in de cel te laag wordt, ligt de energiehuishouding van de cel stil met mogelijke lethale effecten voor het desbetreffende organisme (Bosveld en de Roode, pers. mededeling). Een verstoorde vitamine A-balans kan ook leiden tot groeivertraging en lichaamsafwijkingen, maar zal minder snel lethale effecten tot gevolg hebben. Of gebrek aan vitamines een rol kan hebben gespeeld bij het slechte broedsucces van visdieven bij Terneuzen zou onderzocht kunnen worden.

5. Conclusies

Na een aanvankelijke toename van het aantal broedparen van 1979 tot en met 1994 is sinds 1994 het aantal broedparen in de visdiefkolonie op het sluizencomplex bij Terneuzen sterk gedaald. In de periode van 1994 tot en met 1999 is het aantal broedparen gedaald van 276 naar 24. In deze periode was het broedsucces, met uitzondering van 1995, herhaaldelijk nihil tot slecht. Eieren kwamen niet uit en vertoonden rottingsverschijnselen, wel uitgekomen kuikens vertoonden ernstige ziekteverschijnselen en stierven uiteindelijk.

Visdieven in de kolonie bij Terneuzen vertoonden de afgelopen jaren opvallend passief gedrag. Een mogelijk gevolg hiervan is het hoge predatiesucces van kokmeeuwen, onvolwassen zilvermeeuwen en eksters in de Terneuzense kolonie in 1998 en 1999.

Er werden geen aanwijzingen gevonden dat het slechte broedsucces veroorzaakt werd door parasitaire infecties.

Kleverig kruiskruid kan niet de oorzaak zijn voor de waargenomen verschijnselen.

De experimentele onderzoeken, waarbij eieren onder gestandaardiseerde omstandigheden werden uitgebroed, toonden een aantal verschillen tussen de Terneuzense kolonie en de referentiekolonies. Uit deze verschillen kon geconcludeerd worden dat de voortplantingsproblemen waarschijnlijk gekoppeld zijn aan inwendige factoren in het ei.

Dit werd ondersteund door het resultaat van een translocatie-experiment dat het uitkomstsucces van naar Terneuzen verplaatste Maasvlaktelegsels (9 jongen uit 13 legsels) aanzienlijk beter was dan het uitkomstsucces van lokaal geproduceerde eieren (18 jongen uit 61 legsels).

Het is onwaarschijnlijk dat dioxine-achtige verbindingen, zoals PCB's, PCDD's en PCDF's de oorzaak zijn voor het slechte broedsucces.

Er werden geen aanwijzingen gevonden dat zware metalen de oorzaak zijn voor het slechte broedsucces.

Geanalyseerde bestrijdingsmiddelen konden niet op een niveau van 0.1 mg/kg aangetoond worden in eieren van Terneuzen en de Maasvlakte en lijken dus evenmin verantwoordelijk voor het slechte broedsucces.

De concentratie aan de vlamvertrager hexabroomcyclododecaan (HBCD) was 10-voudig hoger in de eieren van Terneuzen ten opzichte van eieren van de Maasvlakte. Of deze stof verantwoordelijk is voor het slechte broedsucces zou nader onderzocht moeten worden. Ook moet het gehalte HBCD in het voedsel van de visdief nog worden vastgesteld. Tot nu toe is nog maar weinig bekend over de toxicologische effecten en herkomst van deze stof.

Het gehalte aan organotinverbindingen, met name tributyltin (TBT), in mosselen en sprot, afkomstig uit het foerageergebied van visdieven die broeden bij Terneuzen was erg hoog. Deze stof kan een rol hebben gespeeld bij het veroorzaken van het slechte broedsucces.

De hoge TBT-gehalten in het voedsel van de visdiefjes van Terneuzen heeft niet geleid tot verhoogde gehalten in de visdief-eieren van Terneuzen ten opzichte van die van de referentiekolonie in de Maasvlakte.

Het is goed mogelijk dat het effect van TBT zich in de adulte visdief manifesteert via het voedsel, zonder dat er verhoogde concentraties TBT in het ei kunnen worden aangetoond.

6. Literatuur

Boon J.P., van Schanke A., Roex E., de Boer J., Wester P. 1995. De ontwikkeling van een in-vitro assay voor de bepaling van de invloed van bio-transformatie op de bioaccumulatie van lipofiele organohalogeenvverbindingen in mariene toppredatoren. *BEON-Rapport Nr. 95-4*. BEON, Den Haag.

Bosveld A.T.C., Gradener J., Murk A.J., Brouwer A., van Kampen M., Evers E.H.G., van den Berg M. 1995. Effects of PCDD's, PCDF's and PCB's in common tern (*Sterna hirundo*) breeding in estuarine and coastal colonies in the Netherlands and Belgium. *Environmental Toxicology and Chemistry* 14: 99-115.

Bosveld A.T.C., Dorrestein G.M., Meininger P.L. 1998a. Visdieven in gevaar I: Een pilot-studie naar oorzaken van verminderd broedsucces van visdieven (*Sterna hirundo*) broedend op het sluiscomplex bij Terneuzen. *IBN-Rapport 361*, ISSN:0928-6888. Instituut voor Bos- en Natuuronderzoek (IBN-DLO), Wageningen.

Bosveld A.T.C., de Bie P.A.F., van den Brink N.W., de Roode D.F. 1998b. Visdieven in gevaar II: Vervolgstudie naar de effecten op de embryonale ademhaling en EROD activiteit bij visdieven (*Sterna hirundo*) uit de kolonie op het sluizencomplex bij Terneuzen. *IBN-Rapport 378*, ISSN:0928-6888. Instituut voor Bos- en Natuuronderzoek (IBN-DLO), Wageningen.

van den Brink N.W., Bosveld A.T.C., Brenninkmeijer A., Meininger P.L., Stienen E.W.M., van Tienen P.G. 1998c. Visdieven in gevaar III: PCB-concentraties en -patronen in bloed van broedende visdieven van Terneuzen, de Oesterdam en Griend. *IBN-Rapport 406*, ISSN:0928-6888. Instituut voor Bos- en Natuuronderzoek (IBN-DLO), Wageningen.

Erkman A.A. 1999. Broedsucces van visdieven bij Terneuzen: veldonderzoek 1999. *Memo, Delta ProjectManagement, Culemborg*.

Fox G.A., Gilman A.P., Peakall D.P., Anderka F.W. 1978. Behavioral abnormality of nesting Lake Ontario herring gulls. *J. Wildlife Management* 42:477-483.

Hensel D.S., Cheng K.M., Norstrom R.J., Whitehead P., Steeves J.D. 1993. Morphometric and histological changes in brains of great blue heron hatchlings exposed to PCDD's: preliminary analysis. In: Landis W., Hughes W., and Lewis M.A., eds. *First Symposium on Environmental Toxicology and Risk Assessment: Aquatic, Plant, Terrestrial*. ASTM STP Nr. 1179:288-303.

Hensel D.S., Martin J.W., Best D., Cheng K.M., Elliott J.E., Rosenstein D., Sikarskie J. 1996. Evaluating gross brain asymmetry: A potential biomarker for 2,3,7,8-TCDD related neurotoxicity. *Environmental Toxicology and Risk Assessment: Biomarkers and Risk Assessment- Fifth volume*, ASTM STP 1306, David A., Bengston and Diana S., Hensel, eds. American Society for Testing and Materials, 1996.

Janssen P.A.H., Faber J.H., Bosveld A.T.C. 1998. (Fe)male? How contaminants can disrupt the balance of sex hormones and affect reproduction in terrestrial wildlife species. *IBN Scientific Contributions 13*, Instituut voor Bos- en Natuuronderzoek (IBN-DLO), Wageningen.

Meiniger P.L., Arts F., Wolf P. 1997. Onderzoek naar slecht broedsucces visdieven Terneuzen 1997: veldwerk. *Memo Rijksinstituut voor Kust en Zee, Middelburg.*

Meininger P.L., Lillipaly S. 1998. Onderzoek naar slecht broedsucces visdieven Terneuzen 1998: Veldonderzoek. *Werkdocument Nr. OS-98.888X*, Rijksinstituut voor Kust en Zee, Middelburg.

Murk A.J., Boudewijn T.J., Meininger P.L., Bosveld A.T.C., Rossaert G., Ysebaert T., Meire P., Dirksen S. 1996. Effects of polyhalogenated aromatic hydrocarbons and related contaminants on common tern reproduction: integration of biological, biochemical and chemical data. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 31:128-140.

de Roode D.F. 1999. Milieuvervuiling en voortplantingsproblemen bij vogels. *Natura* 1999-5:140-142.

Sanderson J.T., Elliott J.E., Norstrom R.J., Whitehead P.E., Hart L.E., Cheng K.M., Bellward G.D. 1994a. Monitoring biological effects of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, and biphenyls in great blue herons chicks (*Ardea herodias*). *J. Toxicol. Env. Health* 41:435-450.

Sanderson J.T., Norstrom R.J., Elliott J.E., Hart L.E., Cheng K.M., Bellward G.D. 1994b. Biological effects of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and biphenyls in double-crested cormorant chicks (*Phalacrocorax auritus*). *J. Toxicol. Env. Health* 41:247-265.

Phernambucq A.J.W., Geenen J.P.W., Barreveld H.L., Molegraaf P. 1996. Speuren naar Sporen III. Verkennend onderzoek naar milieuschadelijke stoffen in de zoete en zoute watersystemen van Nederland. *Rapport RIKZ-96.016, Nota RIZA 96.035.*

Sporen in water, zes jaar speuren. Breukel R.M.A., Phernambucq A.J.W., Wilting A., Teunissen-Ordeman H.G.K., Geenen J.P.W. 1996. Evaluatie van het I-lijst onderzoek; verkennend onderzoek naar milieuschadelijke stoffen in de zoete en zoute watersystemen van Nederland in de periode 1990-1995. *Nota RIZA 96.075, Rapport RIKZ-96.036, ISBN 9036950430.*

Wattel G. 1998. Visdief-onderzoek. *Werkdocument Nr. RIKZ/AB-98.830X, Rijksinstituut voor Kust en Zee, Middelburg.*

van der Zande A.E. 1995. Onderzoek visdief eieren op PCB gehalten. *Memo 1995 Rijksinstituut voor Kust en Zee, Haren.*

van der Zande A.E. 2000. Resultaten van analyses van milieuverontreinigende stoffen in visdief eieren van Terneuzen en de Maasvlakte. *In voorbereiding Rijksinstituut voor Kust en Zee, Haren.*