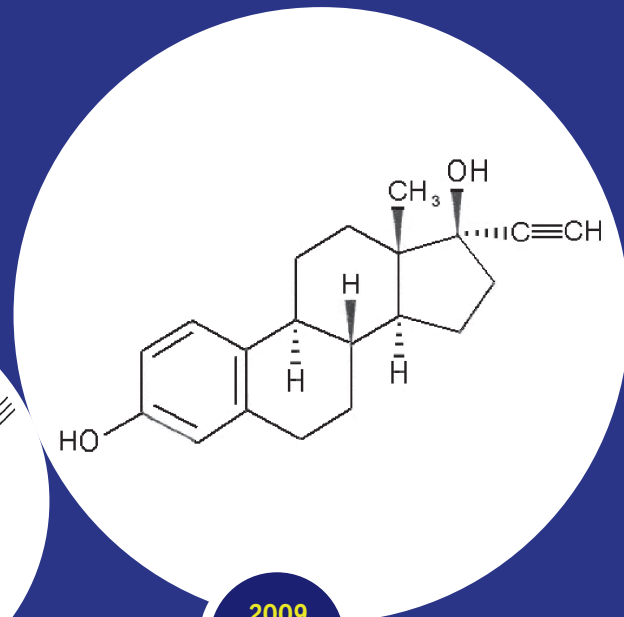
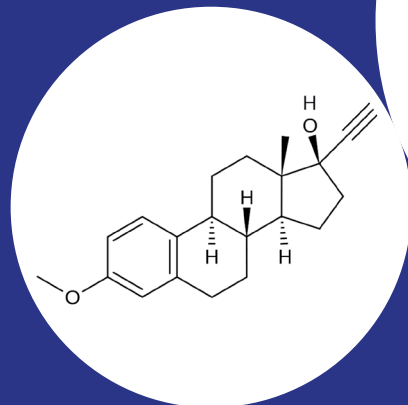


# HORMOONVERSTORING IN OPPERVLAKTEWATER; WAAR- GENOMEN EN VERONDERSTELDE EFFECTEN IN DE NATUUR



RAPPORT

2009  
38

**HORMOONVERSTORING IN OPPERVLAKTEWATER; WAARGENOMEN EN  
VERONDERSTELDE EFFECTEN IN DE NATUUR**

**RAPPORT**

2009  
**38**

ISBN 978.90.5773.458.8





## COLOFON

Utrecht, 2009

### **Uitgave**

STOWA 2009  
Arthur van Schendelstraat 816  
Postbus 8090  
3503 RB Utrecht  
Tel 030 2321199  
Fax: 030 2321766  
e-mail: [stowa@stowa.nl](mailto:stowa@stowa.nl)  
<http://www.stowa.nl>

### **Auteurs**

Joost Lahr & Marieke de Lange, Alterra, Wageningen UR

### **Met bijdragen van:**

- Juliette Legler en Timo Hamers (beiden IVM-VU), Dick Vethaak (Deltares) en Gerard Rijs (Waterdienst). Zij zijn geïnterviewd voor dit onderzoek.
- Hugh Jansman, Ton Stumpel en Piet Verdonschot (Alterra), John Beijer en Jan Cuppen (Wageningen Universiteit), David Tempelman (Grontmij|AquaSense), Arno Gutleb (Centre de Recherche Public Gabriel Lippmann, Luxemburg), Bert van Hattum (IVM-VU) en Bert Palsma (STOWA). Zij deelden vrijelijk hun kennis en ervaring met de auteurs.
- Anja Derksen (Adeco Advies), Ron van der Oost (Waternet) en Bas van der Wal (STOWA). Zij becommentarieerden een eerdere versie van deze notitie.

Deze publicatie is ook digitaal beschikbaar

### **Prepress/druk**

Van de Garde | Jémé

### **STOWA**

Rapportnummer 2009-38  
ISBN 978.90.5773.458.8

*"The science has gotten fatter, but not necessarily any better"*

Professor John Sumpter, symposium Endocrine Disrupters in the Environment, York, 2003

# TEN GELEIDE

In de pers duiken regelmatig verhalen op over verstoringen van de hormoonhuishouding van aquatische organismen. Bij een aantal diersoorten is aangetoond dat de verhouding tussen het aantal mannetjes en vrouwtjes niet meer gelijk is en soms zelfs dat geslachtsverandering optreedt.

In laboratoria is onderzoek is verricht naar de hormonale, of hormoonverstorende werking van een groot aantal stoffen. Van een aantal van deze stoffen is inmiddels aangetoond dat ze in risicovolle concentraties voorkomen in het watermilieu. Goeddeels onbekend is echter wat de daadwerkelijke, waarneembare effecten zijn van de soms relatief hoge concentraties aan hormoonverstorende stoffen zijn op organismen in de natuur.

Dat wat er wel bekend is over deze effecten in de natuur is samengevat in de notitie die nu voor u ligt.

Ir. J.M.J. Leenen,  
directeur

# SAMENVATTING

Er is sinds begin deze eeuw veel onderzoek uitgevoerd naar de effecten van hormoonverstorende stoffen. Dit is reden voor de STOWA om door middel van een literatuurstudie de huidige stand van zaken te beschrijven met betrekking tot de voor het veld relevante wetenschappelijke onderzoeksresultaten. De literatuurstudie heeft zich vooral gericht op de bevindingen sinds 2002, het jaar dat in Nederland de resultaten van het Landelijk Onderzoek oEstrogene Stoffen (LOES) werden gepubliceerd. Uit de studie blijkt dat er sindsdien veel onderzoek is gedaan, maar dat er maar beperkt vooruitgang is geboekt bij het beantwoorden van de belangrijkste vragen, namelijk in welke mate populaties van waterdieren in het veld worden aangetast, hoe wijdverbreid dit soort effecten voorkomt en hoe effectief maatregelen zoals een aangepaste zuivering zijn voor het terugdringen van de in het veld waargenomen effecten. Desondanks kan geconcludeerd worden dat vispopulaties in Nederland mogelijk gevaar lopen of dicht tegen de gevarengrens aanzitten. Er is in de literatuur minder te vinden over effecten bij macrofauna en amfibieën, maar het weinige dat er bekend is geeft wel reden tot ongerustheid. Er zou voor hormoonverstoring bij deze groepen waterdieren meer aandacht moeten komen.

*Recent onderzoek - wat is er aan de hand en hoe erg is het?*

Uit LOES bleek dat hormoonverstorende stoffen in bijna alle oppervlaktewateren worden gevonden en dat er in de buurt van sommige rwzi's mannetjesbrasems rond zwemmen die deels vervrouwelijkt zijn door hormonen in de rwzi-effluenten. Zij hebben te hoge gehalte vrouwelijke dooierewitten in het bloed en vertonen inwendige 'intersex' kenmerken. Dit soort effecten in individuele vissen is thans in een groot aantal landen en bij verschillende vissoorten geconstateerd. Daarnaast is wereldwijd vooral heel veel onderzoek in het laboratorium uitgevoerd. De vertaling van deze resultaten naar veldeffecten is helaas moeilijk. Wel is inmiddels aangetoond dat er zeer veel verschillende soorten stoffen zijn met een (zwakke) hormoonverstorende werking en dat veel vissoorten gevoelig reageren op deze stoffen.

In Canada vond een baanbrekende studie plaats. Na gecontroleerde toediening van de actieve stof uit de anticonceptiepil in een experimenteel meer stortte de populatie van een kleine vissoort, de dikkopelrits, volledig in. Het is lastig om zulke effecten in Nederland aan te tonen, het uitvoeren van een vergelijkbaar experiment stuit op ethische bezwaren. Maar misschien hoeft dit ook niet. Omdat de kenmerken van de Canadese vissen vlak voor hun verdwijnen overeen komen met dezelfde kenmerken in vissen uit sommige kleine Nederlandse oppervlaktewateren, kan geconcludeerd worden dat vispopulaties in Nederland lokaal mogelijk gevaar lopen of dicht tegen de gevarengrens aanzitten. Vanuit het voorzorgsprincipe zou dus actie moeten worden ondernomen. Het goede nieuws uit de Canadese studie is in dit verband dat de dikkopelrits zich binnen enkele jaren wist te herstellen nadat toevoeging van 'de pil' werd gestaakt.

Er is in Nederland ook eenmalig gezocht naar hormoonverstorende effecten door emissies uit de intensieve veehouderij. Effecten op vissen zijn daarbij niet vastgesteld, maar het betrof een beperkte studie.

Van macrofauna is er in vergelijking met vissen maar weinig bekend over veldeffecten die hormoonverstoorders kunnen hebben. De weinige veldstudies geven echter reden tot enige zorg. In buitenlandse studies zijn benedenstrooms van rwzi's effecten op de seksenverhou-

dingen aangetoond bij zoetwatermosselen en bij de vlokreeft *Gammarus*. In principe kan dit soort effecten ook bij Nederlandse rwzi's optreden. Dat is nog nooit onderzocht. Ook voor amfibieën zijn er steeds sterkere aanwijzingen dat hormoonverstoorders effecten op populaties in het veld hebben. Zo werden in de genoemde Canadese studie in het experimentele meer ook effecten op een kikkersoort gevonden. Omdat ook in Nederland de amfibieënpopulaties achteruitgaan, verdient de mogelijke rol van hormoonverstoring hierbij meer aandacht. Er zijn in de literatuur geen aanknopingspunten gevonden om aan te nemen dat hormoonverstorende stoffen in Nederland populatie-effecten op watervogels of op waterzoogdieren als de otter zouden hebben.

*Wat kan nu al aan het probleem gedaan worden?*

De waterschappen kunnen op basis van modelberekeningen en locatieonderzoek in kaart brengen bij welke van de rwzi's in hun beheersgebied maatregelen tegen hormoonverstoorders noodzakelijk zijn. Hiertoe kan de reeds door STOWA en RIZA uitgevoerde vergelijking op basis van het debiet van de rwzi en het ontvangende oppervlaktewater worden gebruikt als eerste stap, maar men kan ook uitgebreider modelleren zoals in Groot Brittannië is gedaan. Opnamen in het oppervlaktewater ter plekke van de rwzi moeten uitwijzen of er ook echt sprake is van hormoonverstoring, dus hoe urgent de situatie is.

Een goede waterzuivering is belangrijk. In Nederland wordt door waterbeheerders en anderen veel onderzoek gedaan naar aanvullende zuiveringstechnieken om in de rwzi hormoonverstorende stoffen (en medicijnen) te verwijderen. Echter, indien bij rwzi's maatregelen genomen gaan worden, is wel belangrijk om tegelijkertijd te blijven monitoren of de maatregelen ook daadwerkelijk een positief effect hebben op vissen en andere waterdieren ter plekke. Dit gebeurt nu niet of nauwelijks. Bij het toepassen van nieuwe zuiveringstechnieken moet van tevoren bepaald moeten worden hoe effectief deze moeten zijn om de gewenste reductie van effecten in het veld te bereiken. Dit vergt naast chemische en ecotoxicologische kennis ook biologische kennis.

*Wat moet nog worden uitgezocht?*

Hormoonverstoring moet gezien worden als een van de stressfactoren in oppervlaktewateren met een mogelijk negatief effect op populaties van kwetsbare waterdieren. In Nederland spelen veel meer stressoren een rol zoals habitatkwaliteit, nutriëntenstatus, voedselaanbod, andere verontreinigende stoffen, enzovoort. Voor het waterbeheer moet de relatieve bijdrage van de hormoonverstoring aan het geheel aan stressfactoren nader in kaart worden gebracht. Het interpreteren van gegevens uit zo'n multistress situatie vraagt een multidisciplinaire benadering.

Gezien de recente bevindingen in het buitenland is er meer kennis nodig over de lange-termijn effecten op de populaties van vissen en op effecten bij andere diergroepen. De volgende informatie is gewenst:

- Lange-termijn effecten op morfologie en populaties van vissen, inclusief seksenverhouding. Hiertoe kunnen mogelijk de monitoringgegevens van OVB/Imares toegepast worden.
- Effecten van hormoonverstoorders op kleinere vissoorten met een kortere levenscyclus, bijvoorbeeld de riviergrondel en het driedoornige stekelbaarsje.
- Effecten bij macrofauna. Dit kan terugkijkend in de tijd onderzocht worden door historische collecties van waterschappen en anderen te onderzoeken op seksenverhouding en mogelijke morfologische afwijkingen in de buurt van rwzi's. Seksenverhoudingen

van macrofaunasoorten zouden ook in de huidige monitoringprogramma's opgenomen moeten worden.

- Nader veldonderzoek aan amfibieën om de rol van hormoonverstoorders in de teruggang van populaties te kwantificeren. Mogelijk worden de amfibieënpopulaties vooral in landbouwgebieden negatief beïnvloed. Zij hebben immers een voorkeur voor kleine wateren zoals sloten en poelen.
- Effecten van hormoonverstoorders op de ecologische waterkwaliteit in veehouderijgebieden. Hierover is nog zeer veel niet bekend. Hierbij dient men wederom ook te kijken naar kleine vissoorten, amfibieën en macrofaunasoorten die in sloten voorkomen.

# DE STOWA IN HET KORT

De Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, kortweg STOWA, is het onderzoeksplatform van Nederlandse waterbeheerders. Deelnemers zijn alle beheerders van grondwater en oppervlaktewater in landelijk en stedelijk gebied, beheerders van installaties voor de zuivering van huishoudelijk afvalwater en beheerders van waterkeringen. Dat zijn alle waterschappen, hoogheemraadschappen en zuiveringsschappen en de provincies.

De waterbeheerders gebruiken de STOWA voor het realiseren van toegepast technisch, natuurwetenschappelijk, bestuurlijk juridisch en sociaal-wetenschappelijk onderzoek dat voor hen van gemeenschappelijk belang is. Onderzoeksprogramma's komen tot stand op basis van inventarisaties van de behoefte bij de deelnemers. Onderzoekssuggesties van derden, zoals kennisinstituten en adviesbureaus, zijn van harte welkom. Deze suggesties toetst de STOWA aan de behoeften van de deelnemers.

De STOWA verricht zelf geen onderzoek, maar laat dit uitvoeren door gespecialiseerde instanties. De onderzoeken worden begeleid door begeleidingscommissies. Deze zijn samengesteld uit medewerkers van de deelnemers, zonodig aangevuld met andere deskundigen.

Het geld voor onderzoek, ontwikkeling, informatie en diensten brengen de deelnemers samen bijeen. Momenteel bedraagt het jaarlijkse budget zo'n zes miljoen euro.

U kunt de STOWA bereiken op telefoonnummer: 030 -2321199.

Ons adres luidt: STOWA, Postbus 8090, 3503 RB Utrecht.

Email: [stowa@stowa.nl](mailto:stowa@stowa.nl).

Website: [www.stowa.nl](http://www.stowa.nl)





# HORMOONVERSTORING IN OPPERVLAKTEWATER; WAAR- GENOMEN EN VERONDERSTELDE EFFECTEN IN DE NATUUR

## INHOUD

TEN GELEIDE  
SAMENVATTING  
STOWA IN HET KORT

<b>1</b>	<b>INLEIDING</b>	<b>1</b>
	1.1 Waarom deze studie?	1
	1.2 Leeswijzer	1
<b>2</b>	<b>ACHTERGRONDEN VAN HORMOONVERSTORING</b>	<b>2</b>
	2.1 Werking	2
	2.2 Stoffen	2
	2.3 Bronnen	4

3	<b>HORMOONVERSTORING BIJ VERSCHILLENDE GROEPEN WATERDIEREN – EEN WETENSCHAPPELIJKE UPDATE</b>	5
3.1	Schelpen en slakken – een klassiek geval (imposex) en nieuwe bevindingen	5
3.2	Kreeftachtigen en insecten – een lastig verhaal	6
3.3	Vissen - baanbrekend onderzoek aan populaties	7
3.4	Amfibieën – steeds meer aanwijzingen voor populatie-effecten	10
3.5	Vogels – effecten op zang en broedsucces	12
3.6	Zoogdieren – de otter lijkt voorlopig veilig	12
4	<b>LOES VOORBIJ - NEDERLANDS VELDONDERZOEK SINDS 2002</b>	14
4.1	Rwzi's	14
4.2	Veehouderijgebieden	15
5	<b>ALGEMENE DISCUSSIE EN SYNTHESE</b>	17
6	<b>VERKLARENDE WOORDENLIJST</b>	20
7	<b>GERAADPLEEGDE LITERATUUR</b>	21

# 1

## INLEIDING

### 1.1 WAAROM DEZE STUDIE?

Hormoonverstorende stoffen worden in bijna alle Nederlandse wateren in lage concentraties aangetroffen. De belangrijkste bronnen van deze stoffen zijn rwzi's en riooloverstorten. Hoe erg is het dat deze stoffen in het milieu aanwezig zijn?

Aan effecten van hormoonverstorende stoffen op organismen is in Nederland in het verleden onderzoek verricht in het Landelijk Onderzoek oEstrogene stoffen (LOES) project (2002). Ook internationaal wordt er veel onderzoek verricht naar het effect van hormoonverstorende stoffen. Uit laboratoriumonderzoek blijkt dat veel verschillende stoffen hormoonverstorend kunnen werken op een scala van zoetwaterorganismen. Effecten in het veld zijn minder uitvoerig onderzocht.

In deze rapportage worden de volgende vragen onderzocht:

- Wat is bekend over het optreden van ecologische effecten van hormoonverstorende stoffen in oppervlaktewateren? Met name, welke ecologische effecten zijn ook daadwerkelijk in het veld waargenomen?
- Wat is de relevantie daarvan voor Nederland?

Deze vragen zijn allereerst door middel van literatuuronderzoek beantwoord. De focus is gelegd op natuurlijke hormonen en synthetische hormoonverstoorders (inclusief 'de pil'). Hiervoor is zowel de recente nationale als internationale literatuur verzameld. Het accent lag verder op recent onderzoek. Vooral publicaties van na LOES zijn geraadpleegd. Ten slotte zijn er interviews met enkele deskundigen afgenomen: Juliette Legler & Timo Hamers (Vrije Universiteit, Instituut voor Milieuvraagstukken), Dick Vethaak (Deltares) en Gerard Rijs (Rijkswaterstaat, Waterdienst).

### 1.2 LEESWIJZER

In hoofdstuk 2 wordt eerst kort uitgelegd wat wordt bedoeld met hormoonverstoring, welke stoffen hormoonverstoring veroorzaken en op welke wijze deze stoffen in het aquatische milieu terecht komen. In hoofdstuk 3 worden per groep waterdieren de meest relevante recente internationale onderzoeksresultaten samengevat en de relevantie daarvan voor Nederland besproken. Het Nederlandse onderzoek naar hormoonverstoring, voornamelijk in oppervlaktewateren rond rwzi's en in veehouderijgebieden, wordt behandeld in hoofdstuk 4. In hoofdstuk 5 ten slotte, wordt een synthese van de bevindingen van de literatuurstudie gepresenteerd, worden de belangrijkste kennislacunes besproken en worden aanbevelingen gedaan voor onderzoek door waterbeheerders.

# 2

## ACHTERGRONDEN VAN HORMOONVERSTORING

### 2.1 WERKING

Wat zijn nu eigenlijk hormoonverstoorders? Belangrijke processen in mensen en dieren worden in stand gehouden en geregeld door kleine hoeveelheden chemische stoffen die als boodschappers in het bloed tussen organen worden vervoerd. Dit zijn de hormonen. Belangrijke groepen hormonen zorgen voor bijvoorbeeld de groei, de stofwisseling, de geslachtelijke ontwikkeling en voortplanting, en stress- en vluchtreacties. Hormonen werken specifiek. Vaak hechten zij zich in de cel aan een zogenaamde receptor voor het specifieke hormoon, waarna een fysiologische reactie op gang komt.

Hormoonverstoring kan plaats vinden als mensen en dieren van buitenaf aan ongewoon hoge concentraties van hun lichaamseigen hormonen worden blootgesteld, of wanneer lichaamsvreemde stoffen zich gaan hechten aan een hormoonreceptor en deze stimuleren – dan spreekt men ook wel van pseudohormonen - of wanneer stoffen de receptor juist blokkeren.

Hormoonverstoring in organismen kan zich op verschillende manieren uiten. De meest beschreven effecten zijn:

- Afwijkingen in geslachtsorganen, zowel vermannelijking of vervrouwelijking. Dit wordt meestal als intersex aangeduid.
- Verandering in seksenverhouding in de populatie.
- Ongewenste productie van het vrouwelijke eiwit vitellogenine bij mannetjes (bij de meeste gewervelden, uitgezonderd zoogdieren).

Andere hormoonverstorende effecten zijn bijvoorbeeld de productie van het mannelijke “lijm eiwit” *spiggin* na (anti-)androgene blootstelling bij vrouwtjesstekelbaarzen en effecten op de werkzaamheid van het enzym aromatase dat betrokken is bij de productie van geslachtshormonen.

De hierboven beschreven effecten kunnen in principe allen leiden tot een verstoorde voortplanting en daardoor een lagere populatiegroei.

### 2.2 STOFFEN

Wanneer men het tegenwoordig heeft over hormoonverstoorders in het milieu, worden vaak stoffen bedoeld die de huishouding van de geslachtshormonen verstoren. Dit zijn ontdekkingen van de laatste 15 jaar. Bekende voorbeelden zijn oestrogene (vrouwelijke) hormonen uit urine en oestrogeen werkende stoffen in afvalwater die door hechting aan de oestrogeenreceptor vervrouwelijking veroorzaken bij mannelijke vissen, en organotinverbindingen in aangroeiwerende verf op schepen die juist androgeen (vermannelijkend) werken bij vrouwelijke zeeslakken en in de jaren '80 en '90 populaties decimeerden. Dit zijn

voorbeelden van hormoonverstoring door ongewenste stimulering van een receptor. Er zijn ook stoffen die anti-oestrogeen en anti-androgeen werken (Tabel 1).

**TABEL 1: TOELICHTING VAN TERMEN MET BETREKKING TOT DE WERKING VAN STEROÏDHORMONEN.**

Effect	Werkingsmechanisme	Resultaat
oestrogeen effect	stimulering oestrogeenreceptor	vervrouwelijking
anti-oestrogeen effect	blokking oestrogeenreceptor	ontvrouwelijking
androgeen effect	stimulering androgeenreceptor	vermannelijking
anti-androgeen effect	blokking androgeenreceptor	ontmannelijking

Van veel 'oude' verontreinigingen is inmiddels ook vast komen te staan dat ze hormoonverstoringen werken zoals organochloorbestrijdingsmiddelen (DDT), PCB's, dioxines, dibenzofuranen en bepaalde bestrijdingsmiddelen. Veel van de persistente chloorverbindingen verstoren de huishouding van de schildklierhormonen en van vitamine-A. In dit rapport wordt verder vooral op de ontwikkelingen rond de problematiek van de 'nieuwe' hormoonverstoringen verontreinigingen ingegaan, vooral stoffen die huishouding van de oestrogene en androgene hormonen verstoren. (zie Tabel 2). Deze stoffen hebben in veel gevallen effect op de geslachtskenmerken en de voortplanting. Deze stoffen zijn relevant voor het watermilieu en vaak nog niet of onvoldoende gereguleerd. Voor de oudere verontreinigingen bestaat veelal al wet- en regelgeving.

Het zou te ver gaan om hier een compleet overzicht te presenteren van stoffen en groepen stoffen met een hormonale of hormoonverstoringende werking. Er zijn de laatste tien tot twintig jaar vele stoffen gevonden met een hormonale of hormoonverstoringende werking. Daarom wordt volstaan met de belangrijkste groepen en voorbeeldstoffen hieruit (zie Tabel 2). Van chemische stoffen is de werking niet altijd exact bekend, maar de hormoonverstoringende potentie is meestal aanzienlijk lager dan die van de natuurlijke en synthetische hormonen.

**TABEL 2: VOORBEELDEN VAN HORMOONVERSTORINGENDE STOFFEN EN NIEUWE GROEPEN STOFFEN RELEVANT VOOR HET WATERMILIEU.**

\* = KRW LIJST PRIORITAIRE STOFFEN. ▲ = KRW-LIJST STOFFEN DIE NOG GEËVALUEERD GAAN WORDEN.

Stof of stofgroep	Oorsprong/toepassing	Werking
<i>Natuurlijke hormonen</i>		
17β-oestradiol (E2)	lichaamseigen	oestrogeen
17α-oestradiol (E2-17α)	lichaamseigen	oestrogeen
Oestron (E1)	lichaamseigen	oestrogeen
Oestriol (E3)	lichaamseigen	oestrogeen
Testosteron	lichaamseigen	androgeen
Dehydrotestosteron	lichaamseigen	androgeen
<i>Synthetische hormonen</i>		
17α-ethinyloestradiol (EE2)	anticonceptie	oestrogeen
Mestranol (MeEE2)	anticonceptie	oestrogeen
17β-trenbolon	groei-promotor (niet in EU)	androgeen
Melengestrol	groei-promotor (niet in EU)	progestageen
<i>Fyto-oestrogenen</i>	vnl. in soja	oestrogeen

Stof of stofgroep	Oorsprong/toepassing	Werking
<i>Chemische stoffen</i>		
▲ Bisfenol-A (BPA)	productie polycarbonaat plastics en epoxyhars, coating van blikjes	oestrogeen/ schildklierhormoon onderdrukkend
* Alkylfenoethoxylaten en alkylfenolen (APEO's & AP's resp.)	detergenten met diverse toepassingen	oestrogeen
* Ftalaten	weekmakers in plastics	oestrogeen/ anti-androgeen
* Polygebromeerde bifenylen ethers (PBDE's)	vlamvertragers in plastics en textiel	meerdere hormoonverstorende mechanismen, waaronder schildklier en vitamine A; anti-androgeen, anti-progestageen
▲ Perfluorverbindingen (PFC's)	surfactant, water-, vuil, en oliewerend polymeer. Zijn zeer persistent in milieu	vermoedelijk oestrogene werking
* Atrazine	herbicide	anti-androgeen en oestrogeen via inductie van aromatase, vitamine A antagonist
Linuron	herbicide	anti-androgeen
Vinclozolin	fungicide	anti-androgeen
Fenitrothion	insecticide	anti-androgeen
Pyrethroïden	insecticiden	oestrogeen/ anti-oestrogeen
* Organotinverbindingen	anti-fouling	androgeen (aromatase blokker)
UV filters	zonnebrandmiddelen	oestrogeen
▲ Synthetische musken	geurstoffen	oestrogeen
Triclosan en andere stoffen	ontsmettingsmiddelen	anti-oestrogeen?

Veel van de stoffen waarvan bekend is dat ze hormoonverstorend kunnen werken staan vermeld op de Nederlandse prioritaire stoffen lijst (RIVM website). De meeste stoffen staan (nog) niet op de KRW-lijst prioritaire stoffen, maar staan als Zeer Ernstige Zorg (ZEZ) stoffen gerangschikt.

### 2.3 BRONNEN

Potentiële bronnen van hormonen en hormoonverstoorders in het milieu zijn:

- Rioolwaterzuiveringsinstallaties & afvalwater – natuurlijke vrouwelijke en mannelijke hormonen uit urine en ontlasting, synthetische hormonen, chemische stoffen.
- Veehouderij (door uitspoeling en afspoeling) - natuurlijke vrouwelijke en mannelijke hormonen uit urine en mest.
- Vast afval (door lekken) – chemische stoffen.
- Atmosferische depositie – chemische stoffen (in regenwater worden ftalaten, gebromeerde vlamvertragers, alkylfenolen en synthetische muskverbindingen aangetroffen).
- Gewasbestrijding – bestrijdingsmiddelen (herbiciden, fungiciden, insecticiden).
- Aangroeiwerende verf op schepen – organotinverbindingen.
- Huishoudelijk en recreatief gebruik – UV-filters, synthetische musken, ontsmettingsmiddelen.
- Industriële en huishoudelijke producten - perfluorverbindingen.

(Geraadpleegde literatuur: Crain et al., 2007; Derksen & Lahr, 2003; Fent et al., 2008; Hamers et al., 2006; Katsiadaki et al., 2002; Lahr, 2007; Legler & Brouwer, 2003; Legler, 2008; Oehlman et al., 2008; Peters et al., 2008; Sumpter, 2005; Tyler et al., 2000; Vethaak et al., 2002; Hayes et al., 2006)

# 3

## HORMOONVERSTORING BIJ VERSCHILLENDE GROEPEN WATERDIEREN – EEN WETENSCHAPPELIJKE UPDATE

Het zijn in de jaren '90 van de vorige eeuw onder andere de oestrogene effecten bij vissen geweest die het onderzoek naar hormoonverstoring op de kaart hebben gezet en deze problematiek onder de aandacht van een groot publiek hebben gebracht. Hierna is in veel landen en op grote schaal onderzoek gedaan naar hormoonverstoorders. Onderzoek naar vissen vormde hiervan de hoofdmoot, maar er is op beperktere schaal ook gekeken naar hormoonverstoring bij andere diergroepen. In de volgende paragrafen worden de resultaten samengevat van het onderzoek met relevantie voor effecten in het veld. Iedere paragraaf behandelt een groep waterdieren.

### 3.1 SCHELPEN EN SLAKKEN – EEN KLASSIEK GEVAL (IMPOSEX) EN NIEUWE BEVINDINGEN

Een zeer bekend voorbeeld van hormoonverstoring in het veld is het effect van de organotinverbinding tributyltin (TBT) in aangroeiwerende scheepsverf op de wulk (mariene slak). Vrouwtjesslakken vermannelijken en ontwikkelen een penisanaloog. Dit wordt 'imposex' genoemd en is een androgeen (vermannelijkend) effect. Populaties langs scheepvaartroutes op zee en in de buurt van havens werden gedecimeerd. Het hormoonverstorende effect van TBT is inmiddels in het laboratorium voor meer dan 150 verschillende soorten slakken aangetoond, waaronder enkele zoetwaterslakken.

In Nederland zijn in het veld bij de zoetwater poelslak (*Lymnaea stagnalis*) de effecten onderzocht van gelijktijdige blootstelling aan TBT en een andere organotinverbinding, het pesticide triphenyltin (TFT). Er werden weliswaar imposexeffecten aangetroffen, maar deze konden niet duidelijk worden gerelateerd aan blootstelling aan TBT of TFT. Het gebruik van TFT als pesticide is inmiddels in de EU verboden. TBT mag in de EU niet meer als anti-fouling gebruikt worden en het gebruik als biocide in de houtverduurzaming wordt in de nabije toekomst verboden. Zowel TFT als TBT worden nog wel in de waterbodem aangetroffen.

In het laboratorium zijn verder voor verschillende soorten zoetwaterslakken oestrogene (vervrouwelijkende) effecten aangetoond van verschillende andere hormoonverstorende stoffen: ethinyloestradiol ('de pil', EE2), bisfenol A, octylfenol, nonylfenol. De gevonden effectconcentraties voor EE2 en bisfenol A liggen in de ng/L range. Dit is verrassend laag. Voor octylfenol en nonylfenol zijn de effectconcentraties in de µg/L range. Veldgegevens van oestrogene effecten bij zoetwaterslakken ontbreken. Dit komt waarschijnlijk omdat er (nog) geen gericht onderzoek naar is gedaan. Om de kenmerken van de geslachtsorganen te be-



studeren, moet de slak uit zijn huisje gepeuterd worden. Dit is behoorlijk arbeidsintensief werk.

Voor zoetwatermosselen is er één zeer duidelijk voorbeeld van hormoonverstoring in het veld. De populatie van zoetwatermosselen (*Elliptio complanata*) in Montreal, Canada, wordt beïnvloed door een RWZI-uitlaat. Benedenstrooms vindt men een groter percentage vrouwtjes in de populatie dan bovenstrooms (66 % om 41 %).

(Geraadpleegde literatuur: Belfroid et al., 1997 ; Gagné & Blaise, [http://www.qc.ec.gc.ca/csl/inf/inf015\\_e.html](http://www.qc.ec.gc.ca/csl/inf/inf015_e.html); Forbes et al., 2008; Jobling et al., 2004; Lagadic et al., 2007; Matthiessen, 2008; Oehlmann et al., 2000; Oehlmann et al., 2007; Schulte-Oehlman et al., 1995, 2000; Vos et al., 2000)

### 3.2 KREEFTACHTIGEN EN INSECTEN – EEN LASTIG VERHAAL

Bij ongewervelden worden groei en voortplanting, in tegenstelling tot bij gewervelde dieren, door dezelfde hormonen aangestuurd, de zogenaamde ecdysteroiden of vervellingshormonen. Groei en voortplanting zijn daarom afhankelijk van elkaar. Dit bemoeilijkt de interpretatie van effecten. Is iets een 'gewoon' toxisch effect of een specifiek hormoonverstoringseffect? Waarnemingen zullen daarom altijd in het licht van deze constatering moeten worden geïnterpreteerd.

Een veel bestudeerde groep van kreeftachtigen in zoete oppervlaktewateren zijn de vlokreeften van het geslacht *Gammarus*. Bij Londen in Engeland zijn benedenstrooms van een rwzi in populaties van *Gammarus pulex* afwijkingen waargenomen van de lengteverhouding tussen mannetjes en vrouwtjes. Deze verhouding is van belang bij het vormen van paartjes. In Duitsland zijn bij een andere *Gammarus* soort, *G. fossarum*, ook effecten in de populatie aangetoond benedenstrooms van een RWZI, maar minder uitgesproken. In Nederland is nog niet specifiek gekeken naar dit soort kenmerken bij *Gammarus*, waarschijnlijk omdat dit meer tijd kost dan alleen op soort determineren. Wel worden er incidenteel op locaties bij waterpissebedden (*Asellus aquaticus*) alleen vrouwtjes aangetroffen. Het blijft echter opletten bij het trekken van conclusies. Een verandering in aantalsverhouding tussen de geslachten bij kreeftachtigen kan bijvoorbeeld ook veroorzaakt worden door bepaalde ziekteverwekkers, de Microsporidia schimmel bij vlokreeften, *Wolbachia* bacterie bij pissebedden. Deze ziekteverwekkers vervrouwelijken de mannelijke gastheer om zo de doorgifte van de parasiet naar het nageslacht te bevorderen. Daarnaast kan ook temperatuur een effect hebben op de aantalsverhouding bij waterpissebedden. Men vindt meer mannetjes bij een hogere temperatuur. Voor de vlokreeft is dit niet beschreven.

Naar insectensoorten, inclusief de larven, is heel weinig veldonderzoek verricht. In laboratoriumonderzoek is wel aangetoond dat verschillende bekende hormoonverstorende stoffen als nonylfenol, bisfenol A, EE2, en TBT effecten laten zien op chironomidenlarven (*Chironomus riparius*). Tijdens een beperkte veldinventarisatie van volwassen chironomiden in de Dommel bij Eindhoven, de locatie uit het LOES project met de sterkste oestrogene effecten op vissen, werden geen aanwijzingen gevonden voor verstoringen van de verhouding tussen mannetjes en vrouwtjes of afwijkende uiterlijke kenmerken. Er bestaan speciale insecticiden, de zogenaamde IGR's ('Insect Growth Regulators'), die werkzaam zijn tegen insectenlarven door de huishouding van de ecdysteroiden hormonen en dus de vervelling te verstoren.

(Geraadpleegde literatuur: Gross et al., 2001; Ladewig et al., 2006a; LeBlanc, 2007; Soin & Smagghe, 2007; Tempelman, D., pers. med.)

### 3.3 VISSEN - BAANBREKEND ONDERZOEK AAN POPULATIES

In 2007 werden de eerste resultaten gepubliceerd van een studie naar de effecten van de toediening van  $17\alpha$ -ethynylöstradiol (EE2, 'de pil') aan een experimenteel meer in Canada gedurende drie jaar. Deze bleken dramatisch. Een algemene vissoort, de dikkopelrits ('fathead minnow', *Pimephales promelas*), een kleine karperachtige, werd bijna geheel geëlimineerd bij een constante EE2 concentratie van 5-6 ng/L. Voorafgaand aan deze verdwijning vertoonde mannetjesvissen de bekende symptomen van oestrogene effecten zoals vitellogenineproductie en intersexualiteit. Echter ook in vrouwtjes waren effecten waarneembaar zoals aangevaste geslachtsorganen en een vertraagde eiproductie.

Het Canadese onderzoek betekende een doorbraak omdat voor het eerst onomstotelijk kwam vast kwam te staan dat oestrogene effecten doorwerken tot op het niveau van populaties. Het unieke aan deze studie was natuurlijk dat er bij het experiment een heel meer kon worden blootgesteld, een proef die in dichtbevolkte landen met minder overgebleven natuur om ethische redenen uiteraard minder voor de hand ligt. Overigens waren de weinige overlevende dikkopelritsen enkele jaren na beëindiging van de blootstelling aan EE2 in staat in het meer weer een levensvatbare populatie te creëren. Forellen die zich voeden met de dikkopelritsen gingen ook in aantal achteruit, een indicatie voor indirecte effecten. Een andere 'minnow' soort (*Margariscus margarita*) die in het experimentele meer voor kwam, de 'pearl dace', vertoonde wel veel symptomen van oestrogene effecten zoals vitellogenineproductie in mannetjes en intersex, maar handhaafde zich qua aantallen wel beter in het meer, mogelijk doordat deze soort een langere levenscyclus heeft waardoor effecten op de gehele populatie zich pas later of bij langere blootstelling voordoen.

Wat betekenen de resultaten van deze studie nu voor Nederland? Er valt misschien een aantal zaken op te merken bij de Canadese studie. Het experiment vond plaats in een geïsoleerd meer. Hierdoor is aanwas van de vispopulaties door instroom van buitenaf niet mogelijk. In grotere en stromende wateren, zoals de meeste wateren in Nederland, is deze mogelijkheid er meestal wel (dit is juist waardoor het vaststellen van populatie-effecten in de meeste open wateren zo lastig is – maar dit terzijde). Een tweede punt betreft de blootstellingsconcentraties van 5-6 ng/L EE2. Tijdens LOES is in Nederlandse oppervlaktewateren een maximale concentratie gemeten van 0,4 ng/L, dus een factor 10 lager. Deze concentratie ligt dicht bij de detectielimiet, maar is nog wel schadelijk voor vissen. In effluenten van Nederlandse rwzi's werden concentraties tot 2,6 ng/L gemeten. In andere oppervlaktewateren in Europa zijn soms hogere gehalten EE2 gemeten dan in Nederland. Als laatste moet worden vermeld dat in de Canadese studie de EE2 concentratie kunstmatig gedurende het zomerseizoen op hetzelfde niveau werd gehouden. In werkelijkheid zal de hoeveelheid EE2 in oppervlaktewateren meer variëren. De Canadese studie is dus waarschijnlijk als een worst case voor de Nederlandse situatie op te vatten maar is zeker een reden om ongerust te zijn over de gezondheid en levensvatbaarheid van Nederlandse vispopulaties.

De studie in de experimentele meren was niet de eerste waarin effecten van hormoonverstoorders op vispopulaties aannemelijk werden gemaakt. In 1999 rapporteerden ander Canadese onderzoekers over de relatie tussen bespuitingen van bossen met insecticiden tegen de 'spruce budworm' en de jaarlijkse trek van de Atlantische zalmen (*Salmo salar*) in rivieren. De insecticiden bevatten 4-nonylfenol als oplosmiddel. Nonylfenol werkt als een

oestrogeen in vissen. Het bleek dat volgend op jaren waarin veel van het bestrijdingsmiddelen werd gespoten de hoeveelheid terugkerende zalm in de rivieren in het gebied minder was. Dit werd mogelijk veroorzaakt door een hormoonverstorend effect van nonylfenol op de ontwikkeling van de jonge zalm die naar zee trekt, waardoor de aanwas van de populatie stagneerde. Er werden ook aanwijzingen gevonden voor effecten op een andere vissoort, de blauwrugharing (*Alosa aestivalis*).

Verder is sinds 2002 in het veld vooral veel onderzoek gedaan naar fysiologische effecten bij wilde of gekooide vissen (met biomarkers zoals vitellogenine) en in het laboratorium naar de effecten van individuele stoffen op de levenscycluskenmerken. Het veldonderzoek toont aan dat er in veel landen effecten in de buurt van rwzi's of afvalwaterlozingen effecten meetbaar zijn in (mannelijke) vissen. Verhoogde vitellogeninegehalten, aromataseactiviteit en intersex worden bij meerdere vissoorten waargenomen (zie Tabel 3 voor voorbeelden). Er zijn echter ook enkele vissoorten die minder effect lijken te ondervinden (Tabel 3). Zulke verschillen kunnen samenhangen met de gevoeligheid van de soorten (fysiologie) of met hun levenscyclus en levenswijze.

In veel landen wordt op dit moment onderzoek gedaan naar de lotgevallen van hormoonverstoorders in het afvalwaterzuiveringsproces, met name de verwijdering van de steroidhormonen. Men heeft echter nog nauwelijks onderzocht in hoeverre dit soort aanpassingen ook bij wilde vissen in het veld leidt tot vermindering van oestrogene effecten. Onlangs is in Groot Brittannië het zogenaamde EDCAT project afgesloten. In dit project werden driedoornige stekelbaarsjes (*Gasterosteus aculeatus*) gemonitord in de Ray rivier voor en na het aanpassen van een rwzi door een nazuivering met actief koolstof. De kwaliteit van het rivierwater bleek echter al voor deze aanpassing verbeterd te zijn, waardoor het effect van de maatregel moeilijk was vast te stellen. Dit soort onderzoek is dus nog steeds gewenst.

**TABEL 3: VOORBEELDEN VAN EUROPESE ZOETWATERVISSEN WAARBIJ IN HET VELD TOT OP HEDEN WÉL EN NIET OF NAUWELIJKS OESTROGENE EFFECTEN ZIJN AANGETOOND IN INDIVIDUEN.**

Wel			Niet/nauwelijks		
Vissoort	Latijnse naam	Land	Vissoort	Latijnse naam	Land
Blankvoorn	<i>Rutilus rutilus</i>	UK, B, DK, S	Snoek	<i>Esox lucius</i>	UK
Brasem	<i>Abramis brama</i>	NL, D	Paling	<i>Anguilla anguilla</i>	B
Karper	<i>Cyprinus carpio</i>	NL, E	Meerforel	<i>Salmo trutta</i>	CH
Baars	<i>Perca fluviatilis</i>	S			
Riviergrondel	<i>Gobio gobio</i>	UK			
Italiaanse barbeel	<i>Barbus plebejus</i>	I			
Driedoornige stekelbaars	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	F			
Bronforel	<i>Salvelinus fontinalis</i>	S			
Regenboogforel*	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	UK			

\* vaak in kooien blootgesteld, van oorsprong Noord-Amerikaans

In het laboratorium is aangetoond dat er zeer veel stoffen zijn die een oestrogene werking in (mannelijke) vissen hebben. De natuurlijke oestrogenen zijn echter het meest potent. Nieuw is dat er steeds meer stoffen worden gevonden die een anti-androgene werking hebben. Dit leidt tot ontmannelijking van mannelijke vissen. Bekende voorbeelden van dit soort stoffen zijn bestrijdingsmiddelen als vinclozolin (een fungicide), linuron (een herbici-

de) en fenitrothion (een insecticide). Modelberekeningen voor de blankvoorn tonen aan dat de effecten van oestrogene en anti-androgene stoffen cumulatief zijn (zie box 1).

(Geraadpleegde literatuur: Brown & Fairchild, 2003; Burkhardt-Holm et al., 2008; Fairchild et al., 1999; Hecker et al., 2002, 2007; Katsiadaki et al., 2006; Kidd et al., 2007; Legler et al., 2007; Noaksson et al., 2001, 2003a, 2003b, 2005; Palace et al., 2006; Sanchez et al., 2008; Solé et al., 2002, 2003; Van Aerle et al., 2001; Versonnen et al., 2004; Vine et al., 2005; Verschoor, 2009 (VISIONAIR))

#### **Box 1 - de blankvoorn als Britse modelvis**

In Groot-Brittannië is veel onderzoek verricht naar hormoonversturende effecten bij vissen in het veld. Eind jaren '90 van de vorige eeuw toonden Britse onderzoekers aan dat bij mannelijke blankvoorns (*Rutilus rutilus*) die benedenstrooms leven van rioolwaterzuiveringsinstallaties (rwzi's) veel vrouwelijke, 'intersexuele' eigenschappen voor komen. Bij mannelijke blankvoorns wordt van nature soms wel intersexualiteit gevonden, maar de frequentie hiervan was veel groter op de meest vervuilde locaties: tot wel 100%. De mannetjes blankvoorns hadden ook te hoge concentraties dooierewit (vitellogenine) in het bloed. Sinds deze tijd staat de blankvoorn zeer in de belangstelling als indicator voor oestrogene effecten en zijn ook in andere landen vervrouwelijking bij wilde blankvoorns in vervuilde wateren aangetoond (Denemarken, België).

De blankvoorn is een karperachtige en wordt in veel soorten water aangetroffen. Hij voedt zich met plantenmateriaal en kleinere waterdieren. Hij is in Nederland zeer talrijk, heeft geen beschermde status en is geliefd in de sportvisserij. In Nederland is de mogelijke aantasting van blankvoorns door hormoonverstoring nauwelijks onderzocht. Er is van één Nederlandse locatie bekend dat er intersexualiteit voorkomt (20%), maar dit betreft een geïsoleerde waarneming.

Een aanzienlijke Britse onderzoeksinspanning richt zich sinds de jaren '90 op de blankvoorn. Zo is er aangetoond dat men de in het veld gevonden vrouwelijke kenmerken bij jonge blankvoorn mannetjes kan simuleren door deze aan effluent van rwzi's bloot te stellen en dat deze blootstelling ook leidt tot andere gezondheidseffecten bij de vissen zoals schade aan de nieren, het afweersysteem en het DNA. Belangrijk is dat de effecten op de geslachtskenmerken niet omkeerbaar zijn en leiden tot een verminderde vruchtbaarheid en verminderde productie van nakomelingen. De verantwoordelijke stoffen zijn vooral natuurlijke oestrogenen en het synthetische oestrogeen uit 'de pil' uit gezuiverd huishoudelijk afvalwater. Ook nog onbekende antimannelijke stoffen (antiandrogenen) dragen waarschijnlijk bij aan het totale effect. Het goede nieuws is dat de waargenomen effecten in blankvoorns goed zijn te voorspellen door modelberekeningen van de uitstoot van deze stoffen. Men kan dus bepalen op welke plekken de risico's het grootst zijn en daar maatregelen treffen.

Ondanks 15 jaar onderzoek heeft men in Groot Brittannië tot nu toe niet kunnen vaststellen in hoeverre de effecten op blankvoorns in het veld doorwerken op populatieniveau. Effecten op de visstand zijn enorm lastig om te onderzoeken en hangen samen met veel andere versturende en natuurlijke factoren. Gegevensbestanden met de benodigde lange-termijn waarnemingen zijn vaak verre van compleet. Dit heeft de waterautoriteiten in Groot Brittannië er echter niet van weerhouden om op basis

van al het wetenschappelijke bewijsmateriaal te besluiten om strategieën te ontwikkelen om de risico's te reduceren. Net als in andere landen richt men hiervoor het vizier eerst op geavanceerde technieken voor het zuiveringsproces in de rwzi.

(Geraadpleegde literatuur: Berckmans et al., 2007; Bjerregaard et al., 2006b; Jobling et al., 1998; Jobling et al., 2002a, 2002b; Jobling et al., 2006; Jobling et al., 2009; Lahr et al., 2006b; Liney et al., 2005, 2006; Gerritsen et al., 2003; Tyler & Jobling, 2008)

#### **Box 2 - Vermagert paling door hormoonverstoring?**

De paling (*Anguilla anguilla*) heeft een ingewikkelde levenswijze. Volwassen paling zwemt over de Atlantische Oceaan naar de Sargassozee om te paaien. Onderweg worden ze geslachtsrijp. De larven drijven met de stroom weer terug naar de Europese wateren en ontwikkelen zich ondertussen tot jonge glasaal. De glasaal kan zich tot in het zoete water laten drijven. In de binnenwateren groeien de jonge palingen via verschillende levensstadia verder op tot ze groot genoeg zijn om ook de tocht westwaarts te beginnen.

Sinds de jaren '80 is de palingstand in Europa en ook in Nederland schrikbarend achteruit gelopen. De aanwas van glasaal is nog maar 1% van die in de jaren '70. Pas geleden hebben wetenschappers uit België en Nederland ontdekt dat deze afname gelijke tred heeft gehouden met een achteruitgang van 30% in het vetgehalte van gevangen dieren die bijna volwassen zijn, de gele aal. Juist vette aal is in staat om zich succesvol voort te planten en de hypothese is dat de vetvoorraad van de dieren op dit moment niet meer voldoende is om de Sargassozee te halen of zich daar voort te planten.

De oorzaak van de achteruitgang van de paling in Europa is nog onbekend. De soort is altijd zwaar bevestigd geweest en er zijn veel andere factoren die aan de achteruitgang hebben kunnen bijdragen. Er wordt echter ook gespeculeerd dat toxische stoffen, waaronder synthetische hormoonverstoorders als gebromeerde vlamvertragers, maar ook 'klassieke' verontreinigingen als PCB's, DDT en andere gechloreerde koolwaterstoffen verantwoordelijk kunnen zijn. Palingen nemen door hun hoge vetgehalte veel van deze persistente stoffen op en deze komen vrij als tijdens de trek de vetreserve wordt aangesproken. De concentraties PCB's en DDT nemen het afgelopen decennium weer af in het milieu. Door zijn lange levenscyclus is het echter mogelijk dat we de effecten van deze stoffen pas jaren later bij de paling waarnemen.

De paling is in 2007 tot beschermde diersoort verklaard en er is een Europees herstelplan opgesteld. De vraag is echter zeer of de huidige plannen voldoende rekening houden met de mogelijke effecten van verontreiniging.

(Geraadpleegde literatuur: Belpaire et al., 2008; Geeraerts et al., 2007; Van Ginneken et al., 2009)

### **3.4 AMFIBIEËN – STEEDS MEER AANWIJZINGEN VOOR POPULATIE-EFFECTEN**

Kikkers kunnen beschouwd worden als een gevoelige indicator voor verschillende soorten milieuverstoring. Van veel soorten kikkers is uit het laboratorium bekend dat ze effecten on-

dervinden van verschillende klassieke en nieuwe hormoonverstorende stoffen: DDT, PCB's, het herbicide atrazine, en synthetische hormonen zoals de pil (EE2). De in het laboratorium gevonden effecten zijn echter maar sporadisch onderzocht in het veld. Hieronder worden kort enkele van deze studies besproken.

Uit historische observaties van de noordelijke krekeltikker (N-Amerika, *Acris crepitans*) blijkt dat het aandeel individuen met intersex in populaties toe begon te nemen tijdens industriële groei in de jaren tussen 1930 en 1945 en een piek vertoonde in de periode met de grootste DDT en PCB belasting, 1946 – 1959, om vervolgens weer af te nemen in de periode dat maatregelen werden getroffen om milieubelasting met PCB's en pesticiden terug te dringen. Dit is een belangrijke aanwijzing dat hormoonverstoring heeft bijgedragen aan de afname van deze kikkers.

Een andere veldstudie uit Amerika heeft aangetoond dat bestrijdingsmiddelen uit de landbouw hormoonverstorend kunnen werken bij de reuzenpad (*Bufo marinus*). Er kon een duidelijk verband worden afgeleid tussen toenemende druk vanuit de landbouw en effecten op de geslachtsontwikkeling. Op plaatsen met de grootste landbouwdruk kwamen meer mannetjespadden voor met intersex, dus meer vrouwelijke en minder mannelijke kenmerken. Deze padden hadden tevens verlaagde concentraties in hun bloed van het mannelijke hormoon testosteron.

Een van de meest overtuigende bewijzen dat hormoonverstoring een rol kan spelen in veldpopulaties van kikkers komt uit een experimentele veldstudie in Canada. Hierin zijn de effecten van de toevoegingen van 'de pil' (EE2) op een heel meer onderzocht (dit is dezelfde studie waarin de vispopulatie dikkopelrits instortte, § 3.3). De levensontwikkeling van kikkers, via kikkerdril en kikkervisjes naar volwassen kikkers, werd voor twee kikkersoorten gevolgd in een veldblootstellingsexperiment. Van de eerste soort (*Rana clamitans*) werd de het uitkomen van de eieren geremd maar van de tweede soort (*Rana septentrionalis*) niet. Wel werden van deze tweede soort intersex kikkervisjes aangetroffen in de veldpopulatie. De effecten waren het sterkst in het derde jaar van blootstelling, dus pas na langdurige blootstelling aan EE2 van de ouders. Of deze morfologische effecten in kikkervisjes een effect hadden op de populatie is niet verder onderzocht in deze studie.

In Nederland staan de amfibieënpopulaties onder druk, vooral als gevolg van vermindering van geschikt leefgebied. Maar uit de genoemde buitenlandse studies blijkt wel dat hormoonverstoring niet uit te sluiten valt. In hoeverre hormoonverstorende stoffen hierbij een rol spelen is niet bekend. Dit zou eigenlijk beter onderzocht moeten worden.

In Nederland zijn lokaal morfologische afwijkingen gevonden bij kikkers. Uit een onderzoek naar mogelijke oorzaken werd geconcludeerd dat de meest aannemelijke verklaring voor de misvormingen blootstelling aan een stof in water of sediment was. Hormoonverstorende stoffen, waaronder sommige pesticiden, kunnen de waargenomen misvormingen bij kikkers veroorzaken. Een andere mogelijke, maar minder waarschijnlijke, verklaring is blootstelling aan UV-licht. Deze verklaringen zijn echter niet onderzoeksmatig geverifieerd.

(Geraadpleegde literatuur: McCoy et al., 2008; Park & Kidd, 2005; Reeder et al., 2005; Vos et al., 2000)

### 3.5 VOGELS – EFFECTEN OP ZANG EN BROEDSUCCES

Vogels staan net als zoogdieren vooral via het voedsel bloot aan lichaamsvreemde stoffen. Soorten die veel dierlijk voedsel eten hebben een verhoogde kans dat zich in het lichaam persistente, hormoonverstorende stoffen ophopen. In het zoete water zijn dit onder meer aalscholvers, reigers en sterns. Onderzoekers uit de Verenigde Staten gaven Amerikaanse torenvalken (*Falco sparverius*) voedsel met daarin gebromeerde vlamvertragers in dezelfde concentraties als gemeten in forel uit de Grote Meren in de V.S. (100 ng/g natgewicht). Ze vonden negatieve effecten op het schildklierhormoon en de vitamine A huishouding van de vogels, evenals negatieve effecten op het paarvormingsgedrag, de grootte van de broedsels, het uitkomen van eieren en het uitvliedsucces van de jongen. Dit zijn ernstige effecten met duidelijke implicaties voor de populaties van visetende vogels. De gebruikte concentratie in de vis is relevant voor de Nederlandse situatie. Uit Nederlands onderzoek in de Westerschelde bleek dat de concentratie gebromeerde brandvertragers in de aal rond de 50 ng/g natgewicht lag.

Net zoals bij de zoogdieren is er bij vogels nauwelijks onderzoek gedaan naar de effecten van nieuwe hormoonverstoorders zoals oestrogenen. Wij vonden echter twee verrassende studies van effecten op vogels nabij rwzi installaties. Van spreeuwen en andere zangvogels is bekend dat ze foerageren op de macrofauna die op de filterbedden van rwzi's voorkomen. Vooral in de winter is dit voor spreeuwen een belangrijke voedingsbron. In Engeland is onderzocht wat de aanwezigheid van hormoonverstorende stoffen in macrofauna uit filterbedden voor effect kan hebben op de spreeuw (*Sturnus vulgaris*). Uit dit onderzoek blijkt dat mannetjes spreeuwen die worden gevoed met wormen waaraan een mengsel van hormoonverstorende stoffen (E2, bisfenol A, dioctylftalaat, dibutylftalaat) is toegevoegd in concentraties die in wormen van het rwzi filterbed worden gemeten, gevarieerder gaan zingen, daardoor aantrekkelijker blijken te zijn voor vrouwtjes, maar tegelijkertijd een verminderde immuunfunctie hebben. De consequentie van dit alles voor de spreeuwenpopulatie is echter nog onbekend. Uit een Canadese studie blijkt verder dat boomzwaluwen (*Tachycineta bicolor*) die bij een slibbezinkingsvijver van een rwzi foerageren in vergelijking met een referentielocatie kleinere nesten hebben en een verminderd uitvliedsucces van jongen.

Deze twee studies laten zien dat rwzi's een bron van hormoonverstorende stoffen kunnen zijn voor vogels die foerageren op insecten en wormen op de filterbedden en in het slib. De meeste rwzi's in Nederland hebben geen open filterbedden of afvalwatervijvers, waardoor vogels hier waarschijnlijk niet zo gemakkelijk kunnen foerageren. Het is echter belangrijk om de ogen open te houden voor dit soort potentiële risico en de toegang van vogels tot rwzi's te beperken.

(Geraadpleegde literatuur: Dods et al., 2005; Fernie et al., 2005; Fernie et al., 2007; Markman et al., 2008; Van den Heuvel et al., 2006)

### 3.6 ZOOGDIEREN – DE OTTER LIJKT VOORLOPIG VEILIG

Internationaal onderzoek aan mariene zoogdieren laat zien dat stoffen als PCB's, gebromeerde vlamvertragers en perfluorverbindingen zich ophopen in het vetweefsel van deze dieren. Daarnaast zijn er duidelijke aanwijzingen van hormoonverstoring door deze stoffen. In de literatuur zijn echter maar weinig gegevens te vinden over hormoonverstoring bij zoogdieren in zoete wateren, en al helemaal niet over eventuele effecten van de nieuwere hormoonverstorende verontreinigingen zoals oestrogene stoffen.



De otter (*Lutra lutra*) is onder de Nederlandse zoogdieren de toppredator van het zoete water. Dit maakt hem kwetsbaar voor verontreinigingen die zich ophopen in de voedselketen. Het verdwijnen van de otter uit Nederland in de jaren '80 van de vorige eeuw is veroorzaakt door een combinatie van aantasting van het leefgebied en verminderde voortplanting door verontreiniging van leefomgeving en voedsel door met name PCB's. Blootstelling aan PCB's en andere verontreinigende stoffen kan bij de otter leiden tot effecten in de voortplantingsorganen. In Engeland zijn otters aangetroffen met een korter penisbotje en met afwijkingen in de testis. In Canada zijn dit soort morfologische afwijkingen ook bij de otter gevonden, maar deze konden maar beperkt worden gerelateerd aan blootstelling aan PCB's, organochloorverbindingen of zware metalen.

Sinds 2002 loopt er een herintroductie programma van de otter in Nederland en hebben otters zich met succes gevestigd in gebieden als de Weerribben en de Wieden. De nieuwe populatie wordt secuur gevolgd door Alterra. Zo wordt er onder meer sectie verricht aan gestorven exemplaren, in de meeste gevallen verkeersslachtoffers. De hierboven genoemde morfologische afwijkingen zijn bij de secties in recent uitgezette Nederlandse otters niet aangetroffen. Ook tonen genetisch onderzoek van de uitwerpselen en secties van vrouwelijke exemplaren aan dat er jonge otters worden geboren. Er zijn dus geen aanwijzingen dat verontreinigingen en hormoonverstoring de voortplanting van de otter op dit moment verhinderen.

(Geraadpleegde literatuur: Harding et al., 1999; Jansman, H. pers. med.; Lyons, 2008; Niwold et al., 2003; Vos et al., 2000)



# 4

## LOES VOORBIJ - NEDERLANDS VELDONDERZOEK SINDS 2002

In 2002 kwam het rapport uit van het Landelijk Onderzoek oEstrogene stoffen (LOES). In dit lijvige rapport, in 2006 nog gevolgd door een wetenschappelijk boek, werden de resultaten gepresenteerd van een brede screening, uitgevoerd in 1999, naar het voorkomen en de effecten van deze vervrouweljkende stoffen in de Nederlandse oppervlaktewateren. Het onderzoek toonde aan dat natuurlijke oestrogene hormonen en synthetische oestrogene stoffen in ons land bijna overal als een soort grauwsluier in lage concentraties worden aangetroffen met piekwaarden van hormonen bij rwzi's. Sinds LOES is er op beperkte schaal aanvullend veldonderzoek uitgevoerd. Dit richtte zich op vissen rond rwzi's en op de vraag of de intensieve veehouderij ook een bron van hormoonverstorende stoffen en effecten in het oppervlaktewater is.

### 4.1 RWZI'S

Een belangrijke bevinding van LOES was verder dat er op sommige plekken nabij rwzi's mannelijke brasems rond zwemmen met vrouwelijke eicellen in hun testisweefsel en met onnatuurlijk hoge concentraties van het vrouwelijk (dooier)eiwit vitellogenine in het bloed. Metingen in Nederland in het kader van het Europese project COMPREHEND wezen uit dat het effluent van sommige rwzi's en industriële afvalwaterzuiveringsinstallaties inderdaad oestrogeen voor vissen is. De bevindingen van beide programma's kwamen overeen met onderzoek bij rwzi's in andere landen, met name in Groot Brittannië (zie box 1).

Aanvullend onderzoek in regionale wateren heeft sinds LOES aangetoond dat hormoonverstoring bij wilde brasems vooral optreedt in kleine wateren, waarop veel effluent van rioolwaterzuiveringsinstallaties wordt geloosd. Voorbeelden hiervan zijn de Dommel en de Aa in Noord-Brabant. In de Dommel vertonen ook gevangen mannelijke karpers duidelijke tekenen van vervrouwelijking. Op plekken verder van rwzi's vandaan maar met een hoge algemene vervuilingsgraad worden ook oestrogene effecten gemeten, maar deze zijn minder ernstig. Er zijn dus typen locaties in oppervlaktewater met een verhoogd risico op hormoonverstoring in vis. Deze kenmerken zich door een hoog debiet van de emissie door de rwzi in verhouding tot het debiet van het ontvangende oppervlaktewater. Dit soort locaties is voor Nederland in 2004 in opdracht van Rijkswaterstaat in beeld gebracht met een 'quick scan'. Deze screening wees uit dat onder normale omstandigheden zo'n 16% van de Nederlandse rwzi's tot de risicogroep behoort en bij droog weer circa 43%.

In de Dommel bij Eindhoven, de LOES locatie waar de sterkste hormoonverstorende effecten in brasems meetbaar waren, is evenals op enkele andere plaatsen in de jaren na LOES verder gezocht naar de verantwoordelijke stoffen en de oorsprong hiervan. In de galvloestof, de lever en in het maagdarmkanaal van brasems werd met een speciale test (ER-CALUX) oestrogene activiteit aangetroffen. Deze bleek voornamelijk afkomstig van natuurlijke oestrogenen, vooral 17 $\beta$ -oestradiol (E2) maar ook de metaboliëten oestron (E1) en oestriol (E3). In de Dommel was ook 17 $\alpha$ -ethinyloestradiol (EE2) oftewel 'de pil' een van de boosdoeners. Al

deze steroïdhormonen komen via het riool en vervolgens de rwzi in het oppervlaktewater terecht.

Het is dus duidelijk dat er in Nederland wateren zijn waar de gezondheid van de vissen die er vertoeven is aangetast. De voortplanting van de mannetjes is er mogelijk verstoord, maar het is onduidelijk of er effecten optreden op het niveau van de vispopulaties. Naar dit soort effecten is geen recent onderzoek gedaan. Er bestaat wel een relatief onbekend rapport van het RIVO (thans Wageningen IMARES) voor het programma COMPREHEND met een eerste screening van brasemgegevens uit Nederland van 1965-1999. Uit het onderzoek blijkt een aantal trends in sommige wateren zoals een afnemend gewicht van de mannelijke voortplantingsorganen over de jaren heen, vroegtijdige geslachtrijpheid en een geslachtsverhouding in het voordeel van vrouwtjesvissen. De auteurs van het rapport zijn echter terecht voorzichtig met het trekken van conclusies uit deze informatie omdat niet duidelijk is of het hier effecten van hormoonverstoring en van verontreinigende stoffen betreft. Aan hun aanbevelingen tot een uitgebreidere analyse en aanvullend onderzoek is geen vervolg gegeven.

(Geraadpleegde literatuur: Gerritsen et al., 2006; Houtman, 2004, 2007; Lahr et al., 2006a, 2006b; Gerritsen et al., 2003; Van der Horst & Van Hell, 2004; Vethaak et al., 2002; Vethaak et al., 2005; Winter & Sluis, 2000)

#### 4.2 VEEHOUDERIJGEBIEDEN

In 1999 concludeerde de Gezondheidsraad in haar rapport 'Hormoonontregelaars in ecosystemen' dat oestrogenen vooral ook door landbouwhuisdieren in het milieu terecht komen. De door de raad geschatte emissies door de mens bedragen slechts een fractie van die door de veestapel. De hormonen in de mest en urine van vee volgt echter een andere route. De hormonen die door mensen worden uitgescheiden komen via de rwzi in het oppervlaktewater, hormonen van landbouwhuisdieren uit de intensieve veehouderij komen eerst in de mestopslag terecht en worden daarna in de bodem ingewerkt of geïnjecteerd. De mest en urine van grazende dieren komt direct in de wei. Uit de bodem kan uitspoeling naar oppervlaktewater optreden. Echter in de mestopslag en in de bodem kan biologische afbraak van hormonen optreden en stoffen kunnen ook aan de bodem adsorberen. Uiteraard komen natuurlijke hormonen al zolang dieren (en mensen) bestaan in het milieu terecht. Het potentiële probleem in dichtbevolkte gebieden en in gebieden met een intensieve veeteelt is dat hier de emissies veel hoger zijn.

De feitelijke belasting van het oppervlaktewater door de veeteelt is veel minder goed onderzocht dan die via de rwzi. Tijdens LOES werden in een drietal monsters uit mestkelders van melkveehouderijbedrijven relatief hoge concentraties oestrogene hormonen gemeten. Ook uit diverse buitenlandse studies blijkt dat dierlijke mest, ook van varkens en kippen, veel vrouwelijke en mannelijke hormonen kan bevatten, dat deze stoffen in de bodem en het grondwater terecht komen en vervolgens kunnen uit- en afspoelen naar oppervlaktewater. Voor Groot-Brittannië is berekend dat de veestapel vier maal zoveel oestrogenen uitscheidt als de populatie mensen. Echter, maar 0,001% van de hoeveelheid die op de bodem terecht komt zou volgens het model de drains in het veld bereiken. Een recente Deense studie laat echter zien dat de uitspoeling aanzienlijk is en dat de concentraties gemeten in drainage-water drempels voor effecten in vissen overschrijden.

Na vragen van de Tweede Kamer is in Nederland door het RIVM en Rijkswaterstaat een verkennend onderzoek uitgevoerd naar de aanwezigheid en effecten van hormonen (en diergeneesmiddelen) in sloten in vijf veehouderijgebieden en een natuurgebied. Oestrogene hormonen werden in slootwater en de waterbodem aangetroffen in concentraties die vergelijkbaar waren met de 'grauwsluier' in veel andere oppervlaktewateren. Op één plek in het Westland werden eenmalig zeer hoge concentraties gevonden, ook van het hormoon in 'de pil'. Verder kon men geen effecten in brasems meten, maar dit deel van het onderzoek vond plaats op slechts twee van de onderzochte locaties. Het monsterpunt in het Westland met de hoge hormoongehalten was hier niet bij, omdat er ten tijde van het onderzoek geen brasems voor bleken te komen.

De veehouderij wordt vaak als bron van hormonen in het milieu genoemd, maar men dient zich te realiseren dat landbouwhuisdieren zelf ook bloot kunnen staan aan invloed van hormoonverstoorders van elders. Hiervoor bestaan veelal slechts indirecte aanwijzingen, bijvoorbeeld onderzoek door Wageningen UR eind jaren '90 dat aantoonde dat op bedrijven in de buurt van riooloverstorten en waar oppervlaktewater als drinkwater wordt gebruikt melkkoeien minder melk produceren en er langer over doen tot zij hun eerste kalf krijgen.

(Geraadpleegde literatuur: Boerjan et al., 2002; Burnison et al., 2003; Gezondheidsraad, 1999; Hanselman et al., 2003; Johnson et al., 2006; Kjaer et al., 2007; Lahr, 2007; Lange et al., 2002; Meijer et al., 1999; Montforts et al., 2007; Shore & Shemish, 2003; Shore et al., 2004; Vethaak et al., 2002)

# 5

## ALGEMENE DISCUSSIE EN SYNTHESE

Sinds LOES is in Nederland slechts op beperkte schaal verder onderzoek in oppervlaktewateren uitgevoerd. Er is op enkele andere plaatsten hormoonverstoring in mannelijke vissen vastgesteld. Dit effect treedt op in een deel van de kleine wateren waar rwzi effluenten weinig verdund worden. We weten dit nu van de Dommel, de Aa en de Utrechtse Vecht. Een schatting van het totale deel van de rwzi locaties in Nederland dat aan dit kenmerk voldoet is circa 16% onder gemiddelde omstandigheden en 43% bij droog weer. Dit zou neerkomen op zo'n 60 rwzi locaties of meer bij droog weer. Het is echter niet onderzocht of op al deze plekken ook echt effecten bij vissen optreden, dus wat de precieze omvang van Nederlandse problematiek nu is. Hiertoe is onderzoek ter plekke vereist. Ook zal men in het veld moeten monitoren hoe veranderingen in de procesvoering van een rwzi uitpakken voor de vissen in de ontvangende wateren. Vissen bij riooloverstortlocaties zijn nooit onderzocht.

Nader onderzoek in wilde vissen uit de Dommel heeft aangetoond dat de vervrouwelijgende effecten daar voor een groot deel zijn toe te schrijven aan de natuurlijke vrouwelijke hormonen en het actieve bestanddeel in 'de pil' in het geloosde rwzi effluent. Dit is ook in veel studies in buitenlandse wateren geconstateerd. Uit onderzoek blijkt ook dat er tussen vissoorten verschillen zijn in de mate waarin ze in het veld hinder van hormoonverstoring ondervinden. Een groot deel van de wetenschappelijke artikelen over hormoonverstoring in vissen gaat echter over laboratoriumstudies van de effecten van één of enkele individuele stoffen op één soort standaard testvis. Een goede synthese van al deze literatuur ontbreekt, waardoor het onduidelijk is wat de betekenis van al dit onderzoek is voor vissen in het veld. Het is inmiddels wel duidelijk dat er veel meer stoffen zijn die hormoonverstorend kunnen werken dan alleen de bekende boosdoeners zoals hormonen en alkylfenolen, met name ook veel bestrijdingsmiddelen. Bij monitoring van de chemische kwaliteit van wateren zou men hormoonverstoorders ook regelmatig moeten meten: hormonen (oestrogenen en androgenen), bisfenol A, ftalaten, gebromeerde vlamvertragers, perfluorverbindingen en relevante bestrijdingsmiddelen.

Het vele onderzoek heeft tevens aangetoond dat oestrogene stoffen cumulatief werken, evenals combinaties van oestrogene en anti-androgene stoffen. Voor een realistisch beeld van hormoonverstoring in het veld dient men dus naar de gecombineerde blootstelling en effecten te kijken. Onder veldomstandigheden zijn er ook nog eens vele andere stressfactoren voor vispopulaties. Dit maakt het aan de ene kant lastig om effecten op de visstand te detecteren en aan de andere kant om een waargenomen achteruitgang op conto van hormoonverstoring te kunnen schrijven. Dit is een belangrijke uitdaging voor toekomstig onderzoek.

Een klein deel van het recente buitenlandse wetenschappelijke onderzoek richtte zich op de vraag hoe de effecten op individuen doorwerken in vispopulaties. Met andere woorden, is er een effect op de visstand? In Groot Brittannië is door veel minutieus onderzoek duidelijk geworden dat aangetaste mannetjes blankvoorns minder vruchtbaar zijn en minder nakomelingen produceren. Het vaststellen van een effect op de blankvoornstand in het veld bleek echter zeer lastig. Het was in Canada dat men in een geïsoleerd meer wist aan te tonen dat vervrouwelijgende effecten kunnen leiden tot de eliminatie van vispopulaties. De

dikkopelrits, een klein visje met een korte voortplantingscyclus, verdween bijna geheel na blootstelling aan ethinyloestradiol ofwel 'de pil'. Nadat het middel niet meer werd toegediend, herstelde de populatie zich weer. Wat ouder Canadees onderzoek wees overigens al eerder uit dat de zalmtrek wordt verstoord door nonylfenol, een synthetische stof gebruikt als oplosmiddel voor bestrijdingsmiddelen waarmee bossen werden bespoten. In Nederland is nagenoeg geen onderzoek op populatieniveau verricht. Een eerste onderzoek naar historische trends in brasempopulaties die zouden kunnen duiden op hormoonverstoring leverde enkele voorzichtige aanwijzingen op, maar dit onderzoek wacht nog op een vervolg.

Het Britse en Canadese onderzoek toont echter aan dat we ons ook in Nederland zorgen moeten maken over de visstand in kleine wateren. De waargenomen afwijkingen in mannetjesvissen die hier worden gevonden zijn namelijk dezelfde als welke vooraf gingen aan de ineenstorting van de Canadese populatie. Daarnaast is in Nederland tot nu toe nooit naar hormoonverstoring in kleinere wilde vissoorten gekeken, wat op basis van de Canadese bevindingen thans wel gerechtvaardigd zou zijn<sup>1</sup>. Ook bij grotere vissoorten in grotere wateren kan echter meer aan de hand zijn. Zo vragen onderzoekers zich de laatste tijd af of de vermagering en achteruitgang van de paling in Nederland en andere Europese landen misschien verband houdt met blootstelling aan hormoonverstorende stoffen.

Er is in Nederland ook gezocht naar hormoonverstorende effecten door emissies uit de intensieve veehouderij. Effecten op vissen zijn daarbij niet vastgesteld, maar het betrof met twee verdachte locaties en één referentie een beperkte studie. Hiernaar is dus meer onderzoek nodig.

Een ander deel van de internationale wetenschappelijke inspanningen was gericht op onderzoek naar hormoonverstorende effecten bij andere groepen dieren dan vissen. Ook hier zijn enorm veel artikelen gepubliceerd over de effecten van één stofje op één testsoort. Het is duidelijk dat hormoonverstoorders in het lab effecten kunnen hebben op diverse kleinere en grotere diersoorten. Veldstudies zijn ook hier schaars, maar er worden soms wel effecten gevonden. Benedenstrooms van een rwzi in Montreal, Canada, bleek het aandeel vrouwtjes onder de aanwezige zoetwatermosselen te zijn verhoogd. In Engeland en Duitsland werden subtiele effecten op de seksenverhouding van *Gammarus* vlokreeften gevonden in de buurt van rwzi's. Mogelijk kan men dit soort effecten in historische collecties van macrofauna in Nederland nog achterhalen.

Paddenpopulaties in de VS worden waarschijnlijk aangetast door hormoonverstorende bestrijdingsmiddelen in de landbouw. In het Canadese experiment met 'de pil' waarbij een vissoort verdween, werd ook een kikkersoort aangetast. De lokaal in Nederland aangetroffen morfologische afwijkingen in kikkers worden hoogst waarschijnlijk door een chemische stof veroorzaakt, wellicht met een hormoonverstorende werking. Er komen dus steeds meer aanwijzingen dat hormoonverstoorders ook andere waterdieren dan vissen niet ongemoeid laten. Dit is reden om nader onderzoek te doen naar effecten in Nederland op de genoemde groepen waterdieren.

Er zijn in de literatuur geen aanknopingspunten gevonden om aan te nemen dat hormoonverstorende stoffen in Nederland populatie-effecten op watervogels of op waterzoogdieren als de otter zouden hebben.

1. NB - Vanaf 2009 wordt echter het onderzoek "Moeraszuiver Afvalwater" uitgevoerd, waarin Imares, Deltares, Waternet en WUR onder andere de effecten van rwzi effluent op twee generaties stekelbaarzen onderzoeken.

Samenvattend wijst de literatuurstudie uit dat er veel onderzoek is gedaan naar hormoonverstooring in waterdieren. Slechts een klein deel van al dit onderzoek richtte zich echter op de meest belangrijke vragen, namelijk in welke mate populaties van waterdieren in het veld worden aangetast, hoe wijdverbreid dit soort effecten voorkomt en hoe effectief maatregelen zoals een aangepaste zuivering zijn voor het terugdringen van de in het veld waargenomen effecten. Desondanks kan op basis van nieuw onderzoek geconcludeerd worden dat vispopulaties in Nederland mogelijk gevaar lopen of dicht tegen de gevarengrens aanzitten. Op basis van het voorzorgprincipe zijn hiervoor thans al maatregelen gewenst. Daarnaast toont het onderzoek aan dat er meer aandacht moet komen voor effecten andere diergroepen in oppervlaktewater, zoals ongewervelden en amfibieën. Er zijn bij deze groepen voldoende aanwijzingen voor het optreden van hormoonverstooring om ongerust over te zijn.

# 6

## VERKLARENDE WOORDENLIJST

APEO = alkylfenoethoxylaten

AP = alkylfenolen

BPA = bisphenol-a

E2 = 17 $\beta$ -oestradiol

EE2 = 17 $\alpha$ -ethinyloestradiol

LOES = Landelijk Onderzoek oEstrogene Stoffen

PBDE = Polygebromeerde bifenyl ethers

PFC = Perfluorverbindingen

TBT = tributyltin

TFT = trifenyyltin

## 7

## GERAADPLEEGDE LITERATUUR

## Hoofdstuk 2

- Crain D.A., Eriksen M., Iguchi T., Jobling S., Laufer H., LeBlanc G.A. & Guillette Jr L. J. (2007) An ecological assessment of bisphenol-A: Evidence from comparative biology. *Reproductive Toxicology*, **24**, 225-239.
- Derksen J.G.M. & Lahr J. (2003) *Review oestrogenen en geneesmiddelen in het milieu. Stand van zaken en kennislacunes*. STOWA rapport 2003-09. STOWA, Utrecht, 87 pp.
- Fent K., Kunz P.Y. & Gomez E. (2008) UV filters in the aquatic environment induce hormonal effects and affect fertility and reproduction in fish. *CHIMIA International Journal for Chemistry*, **62**, 368-375.
- Hamers T., Kamstra J.H., Sonneveld E., Murk A.J., Kester M.H.A., Andersson P.L., Legler J. & Brouwer A. (2006) In vitro profiling of the endocrine-disrupting potency of brominated flame retardants. *Toxicological Sciences*, **92**, 157-173.
- Hayes T.B., Case P., Chui S., Chung D., Haeffele C., Haston K., Lee M., Phoung Mi V., Marjuoa Y., Parker J. & Tsui M. (2006) Pesticide mixtures, endocrine disruption, and amphibian declines: Are we underestimating the impact? *Environmental Health Perspectives*, **114**, 40-50.
- Katsiadaki I., Scott A.P., Hurst M.R., Matthiessen P. & Mayer I. (2002) Detection of environmental androgens: A novel method based on enzyme-linked immunosorbent assay of spiggin, the stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) glue protein. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **21**, 1946-1954
- Lahr J. (2007). *Nieuwe verontreinigingen in de bodem. Een verkennende literatuurstudie naar de mogelijke risico's van hormoonverstoorders en diergeneesmiddelen*. Alterra rapport 1619. Alterra, Wageningen, 80 pp.
- Legler J. & Brouwer A. (2003) Are brominated flame retardants endocrine disruptors? *Environment International*, **29**, 879-885.
- Legler J. (2008) New insights into the endocrine disrupting effects of brominated flame retardants. *Chemosphere*, **73**, 216-222.
- Oehlmann J., Oetken M. & Schulte-Oehlmann U. (2008) A critical evaluation of the environmental risk assessment for plasticizers in the freshwater environment in Europe, with special emphasis on bisphenol A and endocrine disruption. *Environmental Research*, **108**, 140-149.
- Peters R. J. B., Beeltje H. & Van Delft R. J. (2008) Xeno-estrogenic compounds in precipitation. *Journal of Environmental Monitoring*, **10**, 760-769.
- Sumpter J.P. (2005) Endocrine disruptors in the aquatic environment: An overview. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, **33**, 9-16.
- Tyler C.R., Beresford N., Van der Woning M., Sumpter J.P. & Thorpe K. (2000) Metabolism and environmental degradation of pyrethroid insecticides produce compounds with endocrine activities. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **19**, 801-809.
- Vethaak A.D., Rijs G.B.J., Schrap S.M., Ruiter H., Gerritsen A. & Lahr J. (2002). *Estrogens and xeno-estrogens in the aquatic environment of the Netherlands. Occurrence, potency and biological effects*. RIZA/RIKZ rapport 2002.001. 292 pp.



### Hoofdstuk 3

- Belfroid A.C., Hopman-Ubbels G., Bergamin-Sassen M. & de Jong-Brink M. (1997) *Effecten van organotin verbindingen op de populatiedynamica van zoetwaterslakken in Nederland*. IVM-rapport E97/15. 30 pp.
- Belpaire C.G.J., Goemans G., Geeraerts C., Quataert P., Parmentier K., Hagel P. & De Boer J. (2009) Decreasing eel stocks: survival of the fattest? *Ecology of Freshwater Fish*, **18**, 197-214.
- Berckmans P., Witters H., Goemans G., Maes J. & Belpaire C. (2007) *Ondersteunend studiewerk en verdure karakterisatie van de Vlaamse toestand inzake hormoonverstoring: vraagstelling inzake ecologische relevantie*. VITO rapport 2007/TOX/R071 / INBO rapport R.2007.37. 160 pp.
- Bjerregaard L.B., Korsgaard B. & Bjerregaard P. (2006) Intersex in wild roach (*Rutilus rutilus*) from Danish sewage effluent-receiving streams. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **64**, 321-328.
- Brown S.B. & Fairchild W.L. (2003) Evidence for a causal link between exposure to an insecticide formulation and declines in catch of Atlantic salmon. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, **9**, 137 - 148.
- Burkhardt-Holm P., Segner H., Burki R., Peter A., Schubert S., Suter M.J.F. & Borsuk M.E. (2008) Estrogenic endocrine disruption in Switzerland: Assessment of fish exposure and effects. *CHIMIA International Journal for Chemistry*, **62**, 376-382.
- Derksen J.G.M., Geene R. & Mulder J. (2001). *Misvormde kikkers in Hollandscheveld. Mogelijke oorzaken van de misvormingen*. In opdracht van Waterschap Reest en Wieden. AquaSense rapportnummer 1684.
- Dods P.L., Birmingham E.M., Williams T.D., Ikonomou M.G., Bennie D.T. & Elliott J.E. (2005) Reproductive success and contaminants in tree swallows (*Tachycineta bicolor*) breeding at a wastewater treatment plant. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **24**, 3106-3112.
- Fairchild W.L., Swansburg E.O., Arsenault J.T. & Brown S.B. (1999) Does an association between pesticide use and subsequent declines in catch of Atlantic salmon (*Salmo salar*) represent a case of endocrine disruption? *Environmental Health Perspectives*, **107**, 349-358.
- Fernie K.J., Shutt J.L., Letcher R.J., Ritchie J.I., Sullivan K. & Bird D.M. (2008) Changes in reproductive courtship behaviors of adult American kestrels (*Falco sparverius*) exposed to environmentally relevant levels of the polybrominated diphenyl ether mixture, DE-71. *Toxicological Sciences*, **102**, 171-178.
- Fernie K.J., Shutt J.L., Mayne G., Hoffman D., Letcher R.J., Drouillard K.G. & Ritchie I.J. (2005) Exposure to polybrominated diphenyl ethers (PBDEs): Changes in thyroid, vitamin A, glutathione homeostasis, and oxidative stress in American kestrels (*Falco sparverius*). *Toxicological Sciences*, **88**, 375-383.
- Forbes V.E., Warbritton R., Aufderheide J., Van Der Hoeven N. & Caspers N. (2008) Effects of Bisphenol A on fecundity, egg hatchability, and juvenile growth of *Marisa cornuarietis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **27**, 2332-2340.
- Gagné & Blaise, [http://www.qc.ec.gc.ca/csl/inf/inf015\\_e.html](http://www.qc.ec.gc.ca/csl/inf/inf015_e.html) ;
- Geeraerts C., Goemans G., Quataert P. & Belpaire C. (2007) *Ecologische en ecotoxicologische betekenissen van verontreinigende stoffen in paling*. Studie uitgevoerd in opdracht van de Vlaamse Milieumaatschappij, MIRA, MIRA/2007/05, INBO/R/2007/40. Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, 207 pp.
- Gerritsen A.A.M., Rijs G.B.J., Klein Breteler J.G.P., Lahr J. (2003) *Oestrogene effecten in vissen in regionale wateren*. RIZA rapport 2003.019, 31 pp.
- Gross M.Y., Maycock D.S., Thorndyke M.C., Morrith D. & Crane M. (2001) Abnormalities in sexual development of the amphipod *Gammarus pulex* (L.) found below sewage treatment works. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **20**, 1792-1797.

- Harding L.E., Harris M.L., Stephen C.R. & Elliott J.E. (1999) Reproductive and morphological condition of wild mink (*Mustela vison*) and river otters (*Lutra canadensis*) in relation to chlorinated hydrocarbon contamination. *Environmental Health Perspectives*, **107**, 141-147.
- Hecker M., Tyler C.R., Hoffmann M., Maddix S. & Karbe L. (2002) Plasma biomarkers in fish provide evidence for endocrine modulation in the Elbe river, Germany. *Environmental Science and Technology*, **36**, 2311-2321.
- Hecker M., Sanderson T.J. & Karbe L. (2007) Suppression of aromatase activity in populations of bream (*Abramis brama*) from the river Elbe, Germany. *Chemosphere*, **66**, 542-552.
- Jobling S., Nolan M., Tyler C.R., Brighty G. & Sumpter J.P. (1998) Widespread sexual disruption in wild fish. *Environmental Science and Technology*, **32**, 2498-2506.
- Jobling S., Beresford N., Nolan M., Rodgers-Gray T., Brighty G.C., Sumpter J.P. & Tyler C.R. (2002) Altered sexual maturation and gamete production in wild roach (*Rutilus rutilus*) living in rivers that receive treated sewage effluents. *Biology of Reproduction*, **66**, 272-281.
- Jobling S., Coey S., Whitmore J.G., Kime D.E., Van Look K.J.W., McAllister B.G., Beresford N., Henshaw A.C., Brighty G., Tyler C.R. & Sumpter J.P. (2002) Wild intersex roach (*Rutilus rutilus*) have reduced fertility. *Biology of Reproduction*, **67**, 515-524.
- Jobling S., Casey D., Rodgers-Gray T., Oehlmann J., Schulte-Oehlmann U., Pawlowski S., Baunbeck T., Turner A.P. & Tyler C.R. (2004) Comparative responses of molluscs and fish to environmental estrogens and an estrogenic effluent. *Aquatic Toxicology*, **66**, 207-222.
- Jobling S., Williams R., Johnson A., Taylor A., Gross-Sorokin M., Nolan M., Tyler C.R., van Aerle R., Santos E. & Brighty G. (2006) Predicted exposures to steroid estrogens in U.K. rivers correlate with widespread sexual disruption in wild fish populations. *Environmental Health Perspectives*, **114 Suppl 1**, 32-39.
- Jobling S., Burn R.W., Thorpe K., Williams R. & Tyler C. (2009) Statistical modeling suggests that antiandrogens in effluents from wastewater treatment works contribute to widespread sexual disruption in fish living in English rivers. *Environmental Health Perspectives*, **117**, 797-802.
- Katsiadaki I., Morris S., Squires C., Hurst M. R., James J. D. & Scott A. P. (2006) Use of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) as a sensitive in vivo test for detection of environmental antiandrogens. *Environmental Health Perspectives*, **114**, 115-121.
- Kidd K.A., Blanchfield P.J., Mills K.H., Palace V.P., Evans R.E., Lazorchak J.M. & Flick R.W. (2007) Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **104**, 8897-8901.
- Ladewig V., Jungmann D., Köhler H.R., Schirling M., Triebkorn R. & Nagel R. (2006) Population structure and dynamics of *Gammarus fossarum* (Amphipoda) upstream and downstream from effluents of sewage treatment plants. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **50**, 370-383.
- Lagadic L., Coutellec M.-A. & Caquet T. (2007) Endocrine disruption in aquatic pulmonate molluscs: few evidences, many challenges. *Ecotoxicology*, **16**, 45-59.
- LeBlanc G. (2007) Crustacean endocrine toxicology: a review. *Ecotoxicology*, **16**, 61-81.
- Legler J., Hamers T., Wegener J.W. & Lamoree M.H. (2007) *17-ethinyloestradiol als probleemstof voor het watermilieu. Deel 1: Wetenschappelijke onderbouwing. IVM rapport E-07/18*. 27 pp.
- Liney K.E., Jobling S., Sheers J.A., Simpson P. & Tyler C.R. (2005) Assessing the sensitivity of different life stages for sexual disruption in roach (*Rutilus rutilus*) exposed to effluents from wastewater treatment works. *Environmental Health Perspectives*, **113**, 1299-1307.
- Liney K.E., Hagger J.A., Tyler C.R., Depledge M.H., Galloway T.S. & Jobling S. (2006) Health effects in fish of long-term exposure to effluents from wastewater treatment works. *Environmental Health Perspectives*, **114 Suppl 1**, 81-89.
- Lyons, G. (2008) *Effects of pollutants on the reproductive health of male vertebrate wildlife – Males under threat*. CHEM Trust report, 43 pp. [www.chemtrust.org.uk](http://www.chemtrust.org.uk)

- Markman S., Leitner S., Catchpole C., Barnsley S., Müller C.T., Pascoe D. & Buchanan K.L. (2008) Pollutants increase song complexity and the volume of the brain area HVC in a songbird. *PLoS ONE*, **3**, e1674 1671-1676.
- Matthiessen P. (2008) An assessment of endocrine disruption in mollusks and the potential for developing internationally standardized mollusk life cycle test guidelines. *Integrated Environmental Assessment and Management*, **4**, 274-284.
- McCoy K.A., Bortnick L.J., Campbell C.M., Hamlin H.J., Guillette J.L.J. & St. Mary C.M. (2008) Agriculture alters gonadal form and function in the toad *Bufo marinus*. *Environmental Health Perspectives*, **116**, 1526 - 1532.
- Niewold F.J.J., Lammertsma D.R., Jansman, H.A.H., Kuiters, A.T. (2003) *De otter terug in Nederland. Eerste fase van de herintroductie in Nationaal Park De Weerribben in 2002*. Alterra rapport 852. Alterra, Wageningen, 70 pp.
- Noaksson E., Linderoth M., Bosveld A.T.C. & Balk L. (2003) Altered steroid metabolism in several teleost species exposed to endocrine disrupting substances in refuse dump leachate. *General and Comparative Endocrinology*, **134**, 273-284.
- Noaksson E., Linderoth M., Bosveld A.T.C., Norrgren L., Zebühr Y. & Balk L. (2003) Endocrine disruption in brook trout (*Salvelinus fontinalis*) exposed to leachate from a public refuse dump. *Science of the Total Environment*, **305**, 87-103.
- Noaksson E., Linderoth M., Gustavsson B., Zebühr Y. & Balk L. (2005) Reproductive status in female perch (*Perca fluviatilis*) outside a sewage treatment plant processing leachate from a refuse dump. *Science of the Total Environment*, **340**, 97-112.
- Noaksson E., Tjärnlund U., Bosveld A.T.C. & Balk L. (2001) Evidence for endocrine disruption in perch (*Perca fluviatilis*) and roach (*Rutilus rutilus*) in a remote Swedish lake in the vicinity of a public refuse dump. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **174**, 160-176.
- Oehlmann J., Schulte-Oehlmann U., Tillmann M. & Markert B. (2000) Effects of endocrine disruptors on prosobranch snails (Mollusca: Gastropoda) in the laboratory. Part I: Bisphenol A and octylphenol as xeno-estrogens. *Ecotoxicology*, **9**, 383-397.
- Oehlmann J., Di Benedetto P., Tillmann M., Duft M., Oetken M. & Schulte-Oehlmann U. (2007) Endocrine disruption in prosobranch molluscs: evidence and ecological relevance. *Ecotoxicology*, **16**, 29-43.
- Palace V.P., Wautier K.G., Evans R.E., Blanchfield P.J., Mills K.H., Chalanchuk S.M., Godard D., McMaster M.E., Tetreault G.R., Peters L.E., Vandenbyllaardt L. & Kidd K.A. (2006) Biochemical and histopathological effects in pearl dace (*Margariscus margarita*) chronically exposed to a synthetic estrogen in a whole lake experiment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **25**, 1114-1125.
- Park B.J. & Kidd K. (2005) Effects of the synthetic estrogen ethinylestradiol on early life stages of mink frogs and green frogs in the wild and in situ. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **24**, 2027-2036.
- Pashkova I.M. & Korotneva N.V. (2000) Effects of elevated temperature on sex ratio in a population of hog slaters (*Asellus aquaticus* L.). *Biology Bulletin*, **27**, 642-645.
- Reeder A.L., Ruiz M.O., Pessier A., Brown L.E., Levengood J.M., Phillips C.A., Wheeler M.B., Warner R.E. & Beasley V.R. (2005) Intersexuality and the cricket frog decline: Historic and geographic trends. *Environmental Health Perspectives*, **113**, 261-265.
- Sanchez W., Katsiadaki I., Piccini B., Ditche J.-M. & Porcher J.-M. (2008) Biomarker responses in wild three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) as a useful tool for freshwater biomonitoring: A multiparametric approach. *Environment International*, **34**, 490-498.
- Schulte-Oehlmann U., Bettin C., Fioroni P., Oehlmann J. & Stroben E. (1995) *Marisa cornuarietis* (Gastropoda, prosobranchia): a potential TBT bioindicator for freshwater environments. *Ecotoxicology*, **4**, 372-384.

- Schulte-Oehlmann U., Tillmann M., Markert B., Oehlmann J., Watermann B. & Scherf S. (2000) Effects of endocrine disruptors on prosobranch snails (Mollusca: Gastropoda) in the laboratory. Part II: Triphenyltin as a xeno-androgen. *Ecotoxicology*, **9**, 399-412.
- Soin T. & Smaghe G. (2007) Endocrine disruption in aquatic insects: a review. *Ecotoxicology*, **16**, 83-93.
- Solé M., Barceló D. & Porte C. (2002) Seasonal variation of plasmatic and hepatic vitellogenin and EROD activity in carp, *Cyprinus carpio*, in relation to sewage treatment plants. *Aquatic Toxicology*, **60**, 233-248.
- Solé M., Raldua D., Piferrer F., Barceló D. & Porte C. (2003) Feminization of wild carp, *Cyprinus carpio*, in a polluted environment: Plasma steroid hormones, gonadal morphology and xenobiotic metabolizing system. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, **136**, 145-156.
- Tyler C. R. & Jobling S. (2008) Roach, sex, and gender-bending chemicals: The feminization of wild fish in English rivers. *BioScience*, **58**, 1051-1059.
- Van Aerle R., Nolan M., Jobling S., Christiansen L. B., Sumpter J. P. & Tyler C. R. (2001) Sexual disruption in a second species of wild cyprinid fish (the gudgeon, *Gobio gobio*) in United Kingdom freshwaters. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **20**, 2841-2847.
- Van den Heuvel-Greve M., Leonards P. & Vethaak A.D. (2006). *Dioxineonderzoek Westerschelde: meting van gehalten aan dioxinen, dioxineachtige stoffen en andere mogelijke probleemstoffen in visserijproducten, sediment en voedselketens van de Westerschelde*. Rapport RIKZ 2006.011. RIKZ, Middelburg, 80 pp.
- Van Ginneken V., Palstra A., Leonards P., Nieveen M., van den Berg H., Flik G., Spanings T., Niemantsverdriet P., van den Thillart G. & Murk A. (2009) PCBs and the energy cost of migration in the European eel (*Anguilla anguilla* L.). *Aquatic Toxicology*, **92**, 213-220.
- Verschoor M. (2009) Vissen verwijven door de pil. Hormoonverstorende stoffen maken vissen hermafrodit. *Visionair*, **3**, 24-27.
- Versonnen B. J., Goemans G., Belpaire C. & Janssen C. R. (2004) Vitellogenin content in European eel (*Anguilla anguilla*) in Flanders, Belgium. *Environmental Pollution*, **128**, 363-371.
- Vine E., Shears J., Van Aerle R., Tyler C.R. & Sumpter J.P. (2005) Endocrine (sexual) disruption is not a prominent feature in the pike (*Esox lucius*), a top predator, living in english waters. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **24**, 1436-1443.
- Vos J.G., Dybing E., Greim H. A., Ladefoged O., Lambré C., Tarazona J.V., Brandt I. & Vethaak A.D. (2000) Health effects of endocrine-disrupting chemicals on wildlife, with special reference to the European situation. *Critical Reviews in Toxicology*, **30**, 71 - 133.
- Watts M.M., Pascoe D. & Carroll K. (2002) Population responses of the freshwater amphipod *Gammarus pulex* (L.) to an environmental estrogen, 17 -ethinylestradiol. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **21**, 445-450

#### Hoofdstuk 4

- Boerjan M.L., Freijnagel S., Rhind S.M. & Meijer G.A.L. (2002) The potential reproductive effects of exposure of domestic ruminants to endocrine disrupting compounds. *Animal Science*, **74**, 3-12.
- Burnison B.K., Hartmann A., Lister A., Servos M.R., Ternes T. & Van Der Kraak G. (2003) A toxicity identification evaluation approach to studying estrogenic substances in hog manure and agricultural runoff. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **22**, 2243-2250.
- Gerritsen A.A.M., Rijs G.B.J., Klein Breteler J.G.P., Lahr J. (2003) *Oestrogene effecten in vissen in regionale wateren*. RIZA rapport 2003.019, 31 pp.

- Gerritsen A.A.M., Kroon A.G.M., Versonnen B.J., Dubbeldam M.C., Van Mullem A., Pieters J.P.F. & Lahr J. (2006) Estrogenic effects of sewage treatment plant effluents on fish in situ flow-through systems in the Netherlands, Germany, and Belgium. In: Vethaak D., Schrap M. & De Voogt P. (Eds.) *Estrogens and xenoestrogens in the aquatic environment: An integrated approach for field monitoring and effect assessment*. SETAC, 231-256.
- Gezondheidsraad (1999) Hormoonontregelaars in ecosystemen. Den Haag: Gezondheidsraad, 1999; 1999/13, 109 pp.
- Hanselman T.A., Graetz D.A. & Wilkie A.C. (2003) Manure-borne estrogens as potential environmental contaminants: A review. *Environmental Science and Technology*, **37**, 5471-5478.
- Houtman C.J., Van Oostveen A.M., Brouwer A., Lamoree M.H. & Legler J. (2004) Identification of estrogenic compounds in fish bile using bioassay-directed fractionation. *Environmental Science and Technology*, **38**, 6415-6423.
- Houtman C.J., Booij P., Van der Valk K.M., Van Bodegom P.M., Van den Ende F., Gerritsen A.A.M., Lamoree M.H., Legler J. & Brouwer A. (2007) Biomonitoring of estrogenic exposure and identification of responsible compounds in bream from Dutch surface waters. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **26**, 898-907.
- Johnson A.C., Williams R.J. & Matthiessen P. (2006) The potential steroid hormone contribution of farm animals to freshwaters, the United Kingdom as a case study. *Science of the Total Environment*, **362**, 166-178.
- Kjær J., Olsen P., Bach K., Barlebo H. C., Ingerslev F., Hansen M. & Sørensen B. H. (2007) Leaching of estrogenic hormones from manure-treated structured soils. *Environmental Science and Technology*, **41**, 3911-3917.
- Lahr J., Kuiper, R.V., Van Mullem A., Verboom B.L., Jol J., Schout P., Grinwis G.C.M., Rouhani Rankouni T., Pieters J.P.F., Gerritsen A.A.M., Giesy J.P. & Vethaak A.D. (2006) A field survey of estrogenic effects in freshwater and marine fish in the Netherlands. In: Vethaak D., Schrap M. & De Voogt P. (Eds.) *Estrogens and xenoestrogens in the aquatic environment: An integrated approach for field monitoring and effect assessment*. SETAC, 151-178.
- Lahr J., Gerritsen A.A.M., Klein Breteler J.G.P., Dubbeldam M.C., Van Mullem A., Pieters J.P.F. & Rijs G.B.J. (2006) A survey of estrogenic effects in fish in regional inland waters in the Netherlands receiving discharges from sewage treatment plants. In: Vethaak D., Schrap M. & De Voogt P. (Eds.) *Estrogens and xenoestrogens in the aquatic environment: An integrated approach for field monitoring and effect assessment*. SETAC, 179-192.
- Lahr, J. (2007). *Nieuwe verontreinigingen in de bodem. Een verkennende literatuurstudie naar de mogelijke risico's van hormoonverstoorders en diergeneesmiddelen*. Alterra rapport 1619. Alterra, Wageningen, 80 pp.
- Lange I.G., Daxenberger A., Schiffer B., Witters H., Ibarreta D. & Meyer H.H.D. (2002) Sex hormones originating from different livestock production systems: fate and potential disrupting activity in the environment. *Analytica Chimica Acta*, **473**, 27-37.
- Meijer G.A.L., De Bree J., Wagenaar J.A. & Spoelstra S.F. (1999) Sewerage overflows put production and fertility of dairy cows at risk. *Journal of Environmental Quality*, **28**, 1381-1383.
- Montforts M.H.M.M., Rijs G.B.J., Staeb J.A. & Schmitt H. (2007) Diergeneesmiddelen en natuurlijke hormonen in oppervlaktewater van gebieden met intensieve veehouderij. RIVM rapport 601500004/2007, 70 pp.
- Shore L.S. & Shemesh M. (2003) Naturally produced steroid hormones and their release into the environment. *Pure and Applied Chemistry*, **75**, 1859-1871.
- Shore L.S., Reichmann O., Shemesh M., Wenzel A. & Litaor M.I. (2004) Washout of accumulated testosterone in a watershed. *Science of The Total Environment*, **332**, 193-202.
- Van der Horst M. & Van Hell A.J. (2004) Quick-scan verdunningsratio's. In opdracht van RIZA/STOWA. Tauw rapport, 9 pp.

- Vethaak A.D., Rijs G.B.J., Schrap S.M., Ruiter H., Gerritsen A. & Lahr J. (2002). *Estrogens and xeno-estrogens in the aquatic environment of the Netherlands. Occurrence, potency and biological effects*. RIZA/RIKZ rapport 2002.001. 292 pp.
- Vethaak A.D., Lahr J., Schrap S.M., Belfroid A.C., Rijs G.B.J., Gerritsen A., de Boer J., Bulder A.S., Grinwis G.C.M., Kuiper R.V., Legler J., Murk A.J., Peijnenburg W., Verhaar H.J.M. & de Voogt P. (2005) An integrated assessment of estrogenic contamination and biological effects in the aquatic environment of The Netherlands. *Chemosphere*, **59**, 511-524.
- Winter H.V. & Sluis D. (2000) *Community programme of research on environmental hormones and endocrine disrupters (Comprehend) task 7: Screening of long-term bream data in surface water, the Netherlands*. RIVO rapport C051/00, 17 pp.

stowa

STICHTING  
TOEGEPAST ONDERZOEK WATERBEHEER

[stowa@stowa.nl](mailto:stowa@stowa.nl) [www.stowa.nl](http://www.stowa.nl)  
TEL 030 232 11 99 FAX 030 232 17 66  
Arthur van Schendelstraat 816  
POSTBUS 8090 35 03 RB UTRECHT

