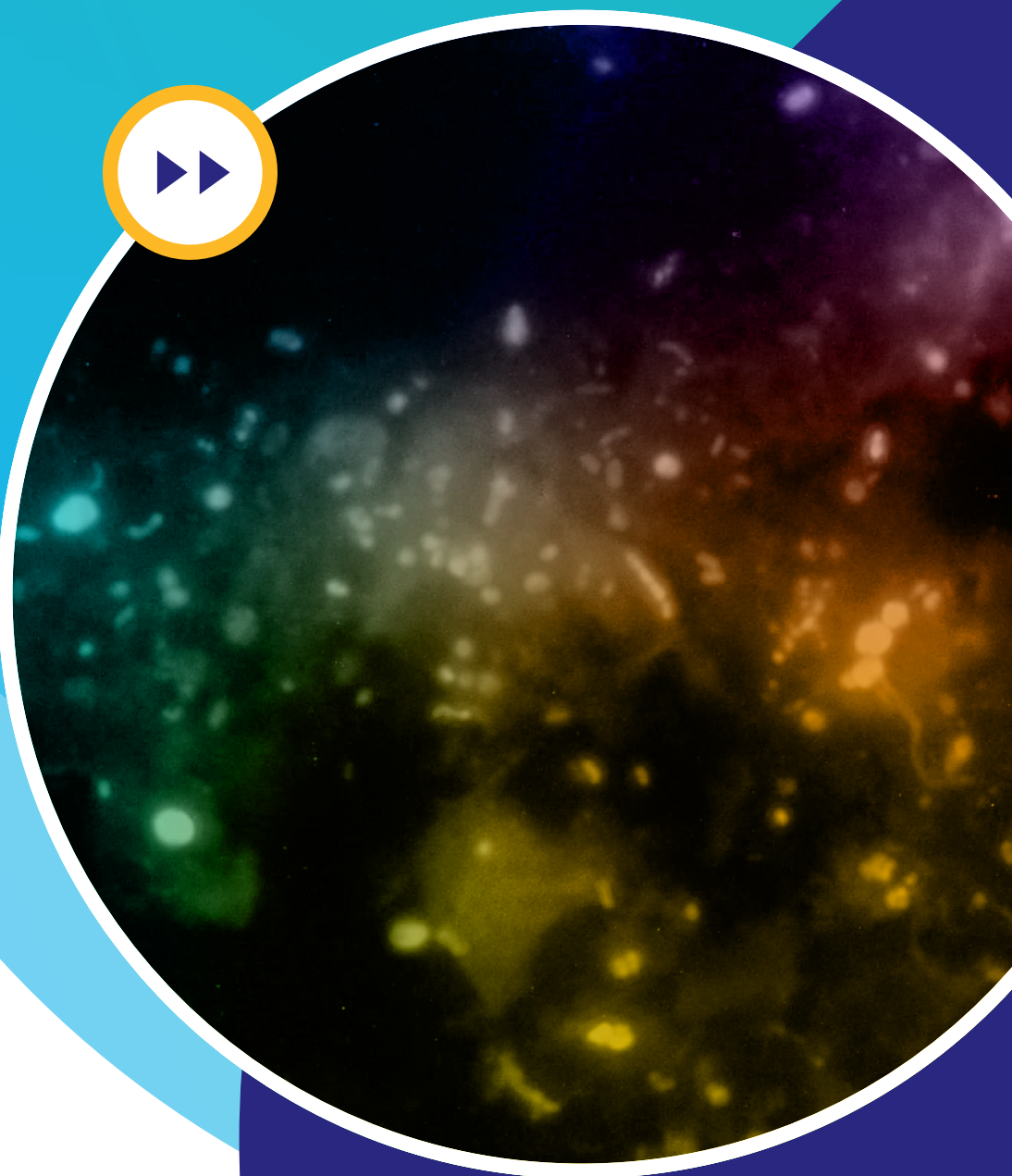


WATERKWALITEIT GRONDWATER - Bodembioologische bescherming

▶▶ KIWK 2022-24



Kennisimpuls
WATERKWALITEIT

▶▶ KIWK IN HET KORT

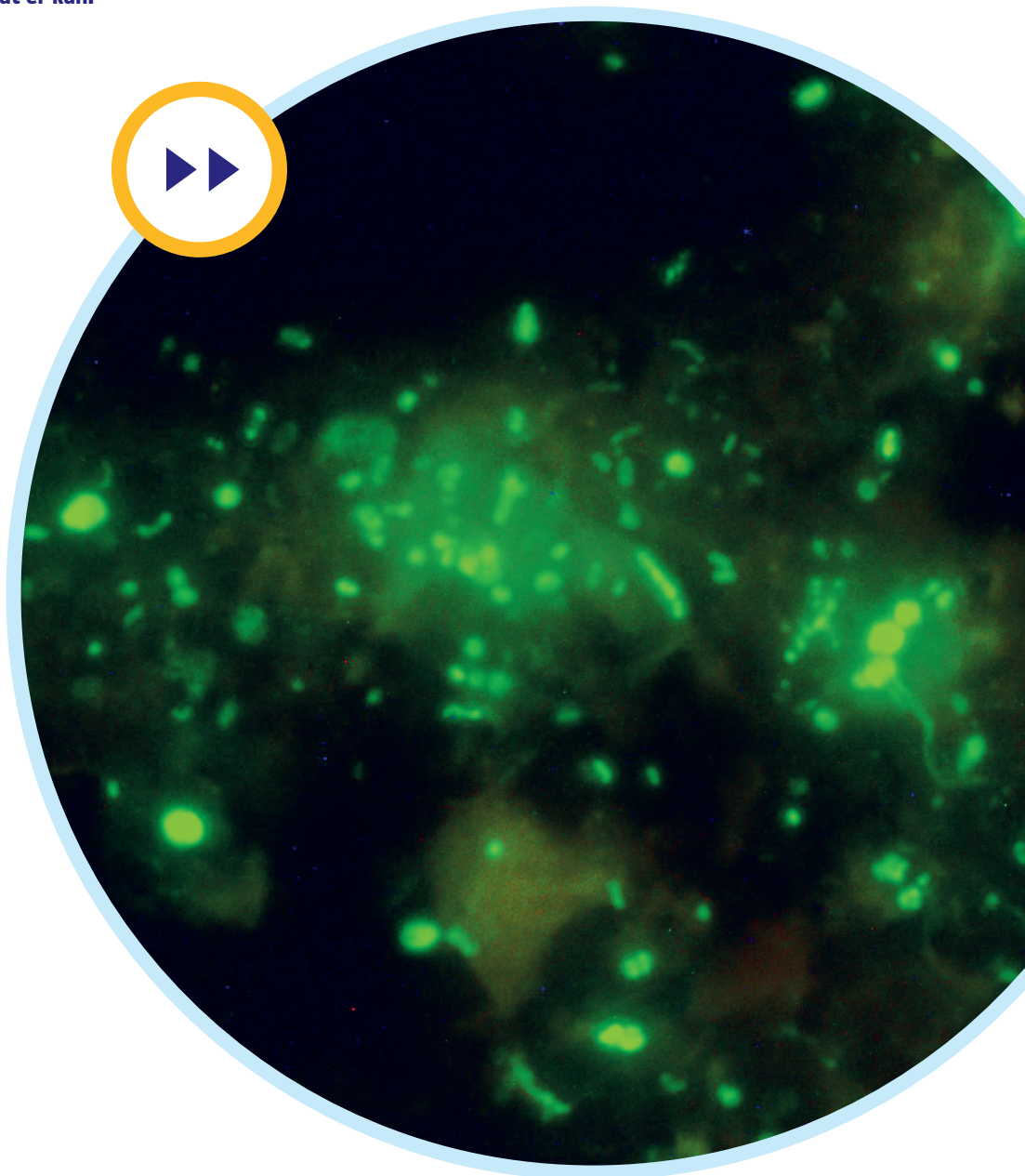
Dit rapport is geschreven in het kader van het project **Goed Grondwater nu: schoon drinkwater straks** van de Kennisimpuls Waterkwaliteit.

In de Kennisimpuls werken Rijk, provincies, waterschappen, drinkwaterbedrijven en kennisinstituten aan meer inzicht in de kwaliteit van het grond- en oppervlaktewater en de factoren die deze kwaliteit beïnvloeden. Daarmee kunnen waterbeheerders en andere partijen de juiste maatregelen nemen om de waterkwaliteit te verbeteren en de biodiversiteit te vergroten.

In het programma brengen partijen bestaande en nieuwe kennis bijeen, en maken ze deze kennis (beter) toepasbaar voor de praktijk. Hiermee verstevigen ze de basis onder het waterkwaliteitsbeleid. Het programma is gestart in 2018 en duurt vier jaar. Het wordt gefinancierd door het ministerie van Infrastructuur en Waterstaat, STOWA, waterschappen, provincies en drinkwaterbedrijven.

Kennisimpuls Waterkwaliteit.

Beter weten wat er speelt en wat er kan.



▶▶ COLOFON

Opdrachtgever Kennisimpuls Waterkwaliteit (KIWK)

Auteurs Jaap Bloem¹, Bas van der Zaan², Martine Kox², Anniek de Jong², Wim Dimmers¹, Arriënne Matser¹, Erik Dekker³, Michiel Rutgers³

¹Wageningen Environmental Research, ²Deltares, ³RIVM

Gebruikerscommissie Kennisimpuls Waterkwaliteit Goed Grondwater nu: schoon drinkwater straks

Janco van Gelderen	Provincie Utrecht
Eric Castenmiller	Provincie Limburg, voorzitter
Matthijs ten Harkel	Provincie Noord Brabant
Suzanne van den Bos	Provincie Gelderland
Juliaan Prast	Ministerie van IenW
Brigitta Putters	WML
Mark van Lokven	Waterschap De Dommel
Almer Bolman	Waterschap Vallei en Veluwe
Martin de Jonge	Vitens
Alissa Zuidgeest	DCMR Milieudienst Rijnmond
Fransisco Leus	ILT
Sandra Verheijden	Brabant Water

Vormgeving Shapeshifter.nl | Utrecht

Cover Micro-organismen in de bodem, gekleurd met een fluorescerende marker. In een theelepeltje grond zitten miljoenen bacteriën die bijdragen aan de bodembioïologische bescherming van het grondwater.

STOWA-rapportnummer 2022-24
ISBN 978.90.5773.980.4

Copyright De informatie uit dit rapport mag worden overgenomen, mits met bronvermelding. De in het rapport ontwikkelde, dan wel verzamelde kennis is kosteloos verkrijgbaar.

Disclaimer Deze uitgave is met de grootst mogelijke zorg samengesteld. Niettemin aanvaarden de auteur(s) en de uitgever geen enkele aansprakelijkheid voor mogelijke onjuistheden of eventuele gevolgen door toepassing van de inhoud van dit rapport.

▶▶ VOORWOORD

Het Kennisimpuls Waterkwaliteit-project 'Vergrijzing van grondwater door menselijke invloeden met nadruk op langetermijneffecten' richt zich op de kwaliteit van grondwater op de lange termijn. Een van de bedreigingen voor een duurzaam gebruik van het grondwater is de aanwezigheid van veel verschillende antropogene stoffen. Hoewel veel van deze stoffen net onder de norm blijven vormen ze toch een bedreiging voor toekomstig gebruik. Echt schoon grondwater wordt steeds schaarser.

De nadelige effecten van menselijk ingrepen werken niet 1-op-1 door op de kwaliteit van het (diepere) grondwater; er zijn drie barrières die ervoor zorgen dat deze effecten worden vertraagd en verminderd.

- Geohydrologische bescherming bestaat uit slecht doorlatende lagen die stoffen tegenhouden.
- Bodembioologische bescherming wordt geboden door organismen in de bodem die stoffen afbreken.
- Geochemische bescherming bestaat door de aanwezigheid van reactieve mineralen en sedimentair organisch materiaal (SOM) in de ondergrond die stoffen vastleggen of afbreken.

Voorliggend rapport gaat over de bodembioologische barrière. Het laat zien in welke bodems een hoger en een lager zelfreinigend vermogen wordt verwacht. Micro-organismen in de bodem zijn cruciaal voor het zelfreinigend vermogen en tegelijkertijd gevoelig voor stress ten gevolge van die verontreinigingen. MS-PAF-berekeningen van de door "Meerdere Stoffen Potentieel Aangetaste Fractie" laten zien bij welke grondwatermonsters effecten worden berekend en welke stoffen daarvoor verantwoordelijk zijn. In een praktijkproef werden, voor het eerst, effecten van een mengsel van de meest voorkomende pesticiden in landbouwgrond onderzocht in een concentratiereeks. De maximale concentraties in het veld blijken niet ver onder de waarden te liggen waar remming van microbiële activiteit (c.q. het zelfreinigend-vermogen) kan optreden. De relatie tussen de bodemkwaliteit en de bodembioologische bescherming is nog een belangrijke kennisleemte

Ook voor de geohydrologische barrière en geochemische barrière zijn beschermingskaarten gemaakt. Deze worden in aparte rapportages toegelicht.

Eric Castenmiller (Provincie Limburg)

Voorzitter gebruikerscommissie 'Goed Grondwater nu: schoon drinkwater straks'

▶▶ INHOUD

	Kennisimpuls Waterkwaliteit in het kort	2
	Voorwoord	4
1	INLEIDING	6
2	AANPAK	7
2.1	Potentiële risico's	7
2.2	Empirische toetsen	7
3	POTENTIËLE RISICO'S	8
3.1	Bobi database	8
3.2	Atlas natuurlijk kapitaal (ANK)	8
3.3	ms-PAF modellering van door meerdere stoffen Potentieel Aangetaste Fractie	9
4	EMPIRISCHE TOETSEN	12
4.1	Concentratiereeks van mengsel van pesticiden	12
4.2	Spiken van de grond	12
4.3	Microbiologische analyses	13
4.4	Statistiek	13
4.5	Resultaten	13
4.6	Discussie	18
5	CONCLUSIES/ AANBEVELINGEN	19
6	DANKWOORD	20
7	REFERENTIES	21
8	BIJLAGE 1 Literatuurstudie	22
9	BIJLAGE 2 msPAF-klassen voor alle monsters boven de detectielimiet	26

▶▶ 1 INLEIDING

Gezonde bodems bevatten een grote hoeveelheid en diversiteit aan bodemleven, en leveren allerlei ecosysteemdiensten, waaronder omzetting en afbraak van verontreinigingen (zelfreinigend vermogen). Met name bacteriën en schimmels spelen hierbij een grote rol. Ondanks de kleine afmetingen (1/1000 mm) vormen ze door de grote aantallen (miljoenen per gram grond) veruit het grootste aandeel (circa 80%) in de totale biomassa in de bodem. Hoe kleiner het organisme hoe groter de oppervlakte/volume verhouding, en hoe intenser het contact met de bodem. Daardoor kunnen ze verbindingen met lage concentraties afbreken, maar ondervinden ze ook een sterke blootstelling aan opgeloste toxische verbindingen. Micro-organismen zijn dus cruciaal voor het zelfreinigend vermogen en tegelijkertijd gevoelig voor stress.

Er zijn zorgen over de 'vergrijzing' van bodem en grondwater door de cocktail van verontreinigingen zoals bestrijdingsmiddelen, nutriënten, diergeneesmiddelen, en allerlei opkomende stoffen. Deze cocktail kan er toe leiden dat organismen nadelige effecten ondervinden, waardoor het zelfreinigend vermogen van de bodem achteruitgaat. De bovengrond (0-25 cm) wordt het sterkst belast met verontreinigingen. Hier zijn de concentraties het hoogst (milligrammen per kilogram), evenals de hoeveelheden en diversiteit van het bodemleven. In de onverzadigde zone is verder meer zuurstof beschikbaar voor een snelle aerobe afbraak van organische verbindingen. Een groot deel van de verontreinigingen wordt door bacteriën en schimmels afgebroken, een klein deel komt terecht in het grondwater waar uiteindelijk de concentraties veel lager zijn (microgrammen per liter). Het bodemleven in de bovengrond vormt dus een belangrijke bodembioologische barrière voor bescherming van de grondwaterkwaliteit.

Het doel van dit werkpakket is het verkrijgen van inzicht in de vraag of

- (1) verontreinigd water in de grond negatieve effecten heeft op de microbiële gemeenschap,
- (2) en daarmee op het zelfreinigend vermogen van de bodem,
- (3) en hoe hangen de risico's samen met bodemtype en landgebruik, i.c. waar zijn de risico's het grootst en welke maatregelen kunnen helpen om via duurzaam bodembeheer eventuele risico's te beperken.

Deze vragen zijn zowel theoretisch-modelmatig als experimenteel (empirisch) benaderd.

▶▶ 2 AANPAK

LITERATUURSTUDIE

Een beknopte literatuurstudie ([bijlage 1](#), afgerond in juni 2020) wees er op dat verontreinigingen wel degelijk effect kunnen hebben op de microbiële gemeenschap in de bodem. Zo kan de samenstelling van de gemeenschap aangetast worden, maar ook het functioneren. De effecten van verontreinigingen op de micro-organismen hangen mede af van de samenstelling van de gemeenschap, de grondsoort, het landgebruik en het bodembeheer. Door deze complexe interacties zijn effecten van verontreinigingen vaak niet eenduidig, laat staan wanneer cocktails van verontreinigingen de bodem belasten.

De activiteit, biomassa en structuur van de microbiële gemeenschap zijn gevoelig voor stress door verontreinigingen en bestrijdingsmiddelen. Phospholipid fatty acids (PLFA) in de celmembranen van bacteriën en schimmels worden gebruikt als biomarkers voor het kwantificeren van de biomassa en structuur van (brede) microbiële groepen. Dieper inzicht in de bacteriële gemeenschap kan worden verkregen middels sequensen (= ophelderen genetische code) van het 16S rRNA gen. Ook kan de aanwezigheid van functionele genen op DNA niveau gemonitord worden middels q-PCR, wat een indicatie kan zijn voor de aanwezigheid van een bepaalde microbiële functies in het bodemsysteem.

Nitrificeerders bestaan uit een kleine maar essentiële groep specialisten die maar langzaam herstellen na stress. Archaea daarentegen zijn juist stress-bestendiger. Door verschillen in tolerantie kunnen verhoudingen tussen groepen micro-organismen veranderen, wat uiteindelijk ook microbiële afbraakprocessen kan beïnvloeden.

De potentiële nitrificatie (ammonium oxidatie), functionele genen voor de stikstofkringloop, en de hoeveelheden en samenstelling van de microbiële gemeenschap (PLFA, DNA) hebben we daarom gebruikt als gevoelige indicatoren voor effecten van een cocktail van verontreinigingen in de empirische toetsen.

2.1 POTENTIËLE RISICO'S

Potentiële risico's werden onderzocht door:

- Raadpleging van de database van het Bodembio-logische Indicator project (Bobi)
- Raadpleging Atlas Natuurlijk Kapitaal (ANK)
- Berekeningen van de 'door meerdere stoffen Potentieel Aangetaste Fractie' (ms-PAF)

De resultaten worden beschreven onder [hoofdstuk 3](#).

2.2 EMPIRISCHE TOETSEN

Actuele risico's voor de microbiële gemeenschap en de nitrificatie werden onderzocht in potproeven met grond van een akker op zand. In een potproef werd een concentratiereeks met de meest voorkomende verontreinigingen in landbouwgrond toegevoegd.

De resultaten worden beschreven onder [hoofdstuk 4](#).

▶▶ 3 POTENTIËLE RISICO'S

3.1 BOBI DATABASE

In de database van het Bodembioïogische Indicator project (Bobi, Rutgers *et al.*, 2007, 2014)) is gezocht naar aanwijzingen voor effecten door stress, en zo ja in welke categorieën van bodemtype en landgebruik. Dit geeft inzicht in de categorieën die meer en minder kwetsbaar zijn voor toxische effecten.

In de Bobi database met waarnemingen van 1997 tot 2014 (>40 locaties per jaar) zijn honderden locaties bekeken op aanwijzingen voor geremde nitrificatie (omzetting van NH₄ in NO₃). In het eerste jaar 1997 is de potentiële nitrificatie gemeten door grond 3 weken te incuberen met een overmaat NH₄SO₄. Op de meeste locaties werd vrijwel alles omgezet in NO₃. Van 20 groente- en tuinbouwbedrijven op diverse grondsoorten hadden er desondanks 3 een sterk gereduceerde potentiële nitrificatie van toegevoegd ammonium. In de jaren daarna is overgestapt op meting van potentiële N mineralisatie (6 weken incubatie). Hierbij is niets toegevoegd en wordt de mineralisatie van de in de bodem aanwezige organische stof gemeten. Bijna altijd is er na de incubatie slechts een zeer kleine fractie NH₄ en is bijna al de minerale stikstof aanwezig in de vorm van NO₃. In een gestrest systeem wordt maandenlang alleen NH₄-stikstof gevonden, bijvoorbeeld in experimenten waar de bodembiodiversiteit stapsgewijs was gereduceerd door fumigatie (Griffiths *et al.*, 2000).

In 1999 is er gemeten op 100 locaties grasland op zand. Twee melkveehouderij bedrijven hadden een gehalte van 25 en 15% NH₄ van het minerale stikstof in de bodem. In 2001 werd op de Ossekampen (gras op zware klei met 20% OS, bij Wageningen) 30-60% NH₄ gevonden in proefvlakken die geen N bemesting kregen. Dat effect werd echter niet in alle vergelijkbare proefvakken gevonden. Bemeste proefvlakken vertoonden volledige nitrificatie. In 2003 waren er 50 gras op veen locaties (SSEO, Demmerik en anderen) die bijna geen nitrificatie vertoonden. In 2010 bij gras op veen was dat slechts het geval op 3 van de 40 locaties, waaronder weer Demmerik. Het lijkt vooral voor te komen op nattere locaties (droge stofgehalten 30-50%), en kan samenhangen met zuurstofbeperking van de ammonium oxidatie. Naast de natte veengronden werd geremde nitrificatie gevonden in bossen op zand (De Vries *et al.*, 2019). Dit hangt samen met de lage pH (<3.5). In het algemeen waren er dus slechts incidenteel aanwijzingen voor geremde nitrificatie. In natuurgebieden kan dit komen door lage beschikbaarheid van minerale N en de zure bodem. In veengebieden door hoog vochtgehalte en lage zuurstofconcentraties. In de incidentele waarnemingen in akkers op lichte grond (groenteteelt) zou het te maken kunnen hebben met toxische effecten van pesticiden.

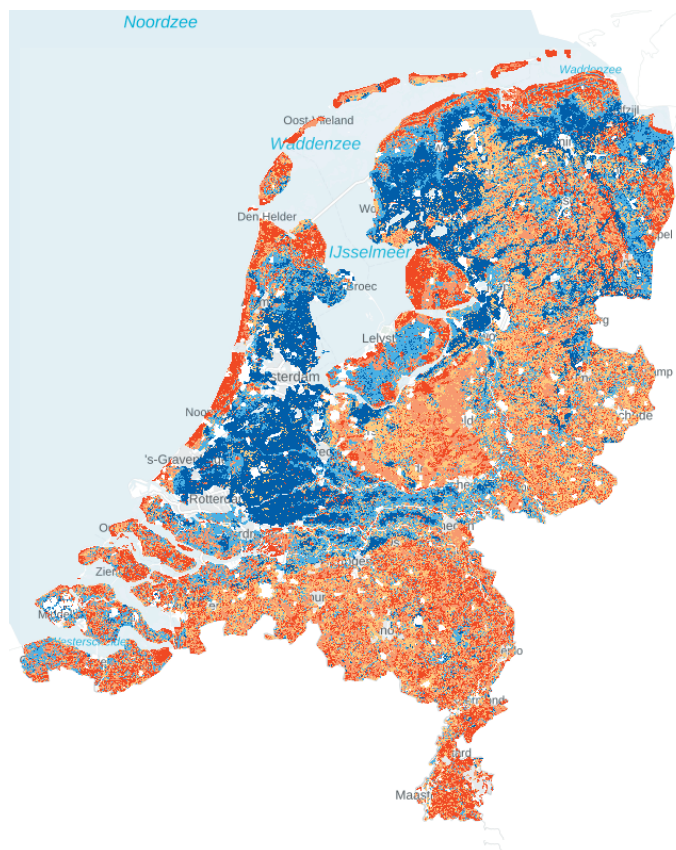
3.2 ATLAS NATUURLIJK KAPITAAL (ANK)

Op basis van Bobi data (o.a. hoeveelheden micro-organismen, microbiële activiteit en mineralisatie) zijn vanaf 2014 kaarten gemaakt voor de Atlas Natuurlijk Kapitaal (ANK). Eén daarvan geeft een landelijk beeld van het verwachte zelfreinigend vermogen van de bodem (figuur 1).

Hieruit kan worden afgeleid op welke locaties het hoogste en het laagste zelfreinigend vermogen kan worden verwacht. De kaart wijst op hogere waarden voor klei en veen, en lagere waarden voor zand. Grasland en bos hebben hogere waarden dan akker- en tuinbouw omdat het organische stofgehalte en de hoeveelheden bodemorganismen groter zijn. Klei en organische stof in de bodem adsorberen een deel van de verontreinigingen waardoor de biologische beschikbaarheid lager wordt. Deze bodemkenmerken leiden in het algemeen tot meer micro-organismen in de grond, waardoor in principe het zelfreinigend vermogen wordt verhoogd. Naar verwachting zijn de potentiële risico's, van effecten van verontreinigingen op bodemleven, het grootst op lichte grond die intensief wordt gebruikt. Dit zijn met name akker- en tuinbouwbedrijven op zandgrond. Daar is in theorie ook de kans op uitspoeling het grootst.

FIGUUR 1

Kaart van het (verwachte) zelfreinigend vermogen. Dit is gebaseerd op extrapolatie van microbiële biomassa en activiteit die met regressie modellen is berekend op basis van algemeen beschikbare data van bodemeigenschappen. Blauw is hoger dan gemiddeld, rood is lager dan gemiddeld. (Atlas Natuurlijk Kapitaal)



3.3 MS-PAF MODELLERING VAN DOOR MEERDERE STOFFEN POTENTIEEL AANGETASTE FRACTIE

Met bestaande chemische data van grondwater uit het stroomgebied van de Maas 'brede screening' werd met de reken-tool voor ms-PAF modellering (multi substance PAF; Posthuma *et al.*, 2019) op basis van een R-programma het verwachte (potentiële) effect van meerdere stoffen op het grondwaterecosysteem berekend. Dit in samenwerking met het KIWK-Toxicologie project. Het R-programma heeft voor 673 organische microverontreinigingen stof- en toxiciteitsgegevens beschikbaar om de msPAF te berekenen.

Van de in totaal 321 monsters uit de Brede screening Maas hebben 171 monsters (53% van het totaal) een concentratie van een stof boven de detectielimiet. Als geen enkele stof boven de detectielimiet wordt aangetroffen (bij 150 monsters), dan geldt derhalve dat de ecologische effecten niet berekend kunnen worden en vermoedelijk erg klein zijn. Voor de 171 monsters met een of meer stoffen boven de detectielimiet is de msPAF berekend. De msPAF geeft het gecombineerde effect van de aanwezige contaminanten weer op de potentiële aanwezige soorten in het water. De msPAF wordt uitgedrukt als een fractie of percentage van de potentieel aanwezige soorten dat een msPAF effect ondervindt. Het betreft hierbij de msPAF op basis van de No Observed Effect Concentrations (NOECs), de chronische msPAF.

Voor 150 monsters is geen msPAF berekend. De vermoedens waarom de reken-tool voor deze 150 monsters geen msPAF is berekend heeft, zijn:

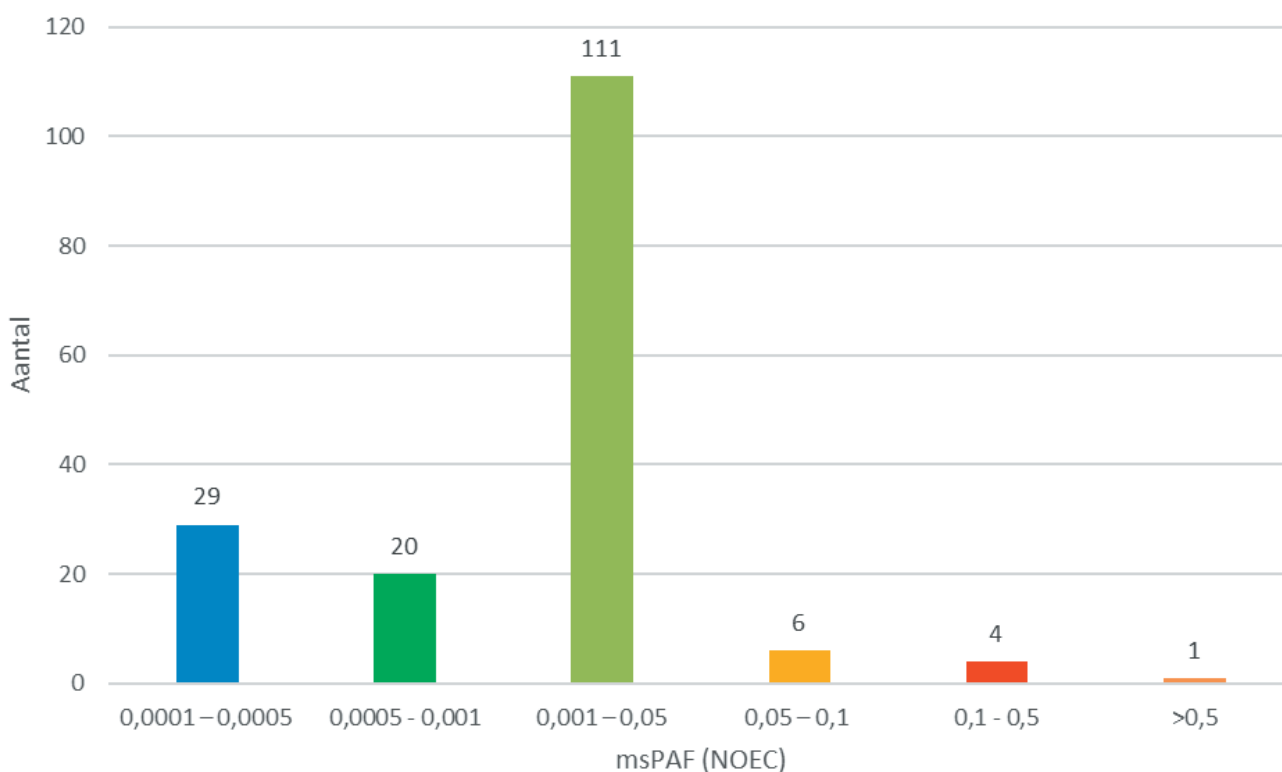
- i) er is geen SSD beschikbaar,
- ii) de CASnrs of Aquocodes worden niet herkend,
- iii) er worden kleine PAF waardes ($< 0,0001$) berekend, deze worden niet meegenomen in de berekening van de msPAF.

Uiteindelijk bleek dat 51 stoffen geen SSD hadden, zes stoffen staan niet in chemistrylist op basis van Aquocode, vier stoffen staan niet in chemistrylist op basis van CAS, en 1 CAS-nummer werd niet herkend.

De 171 monsters waarvoor wel een msPAF-waarde berekend werd zijn in zes msPAF-categorieën onderverdeeld. In Figuur 1 is een frequentiediagram van de msPAS in deze zes categorieën weergegeven. Hieruit is te concluderen dat de ecologische effecten in de monsters van de screening Maas meestal in de range van 0,001 - 0,05 vallen (111 van de 171). In 11 monsters (3,4% van het totaal) is de msPAF hoger dan 0,05. Deze waarde, die handelt over maximaal 5% van de soorten die een begin van een effect ondervindt - en dus 95% geen enkel direct effect. Dit concept is gebruikt om het Maximaal Toelaatbaar Risico (MTR) te definiëren voor aantasting van de biodiversiteit in ecosystemen). In vijf monsters is de msPAF boven de 0,1, waaronder 1 monster met een msPAF van boven de 0,5. Dat wil zeggen dat in vijf monsters meer dan 10% van de potentieel aanwezig soorten een effect zou ondervinden en in 1 monster zou 50% van de potentieel aanwezig soorten een effect ondervinden. Monsters met meer dan 10% effect op de potentieel aanwezig soorten geldt dus slechts in 0,01% van de waarnemingen.

FIGUUR 2

Frequentieverdeling ms-PAF (weergegeven als range) voor de monsters met een gehalte hoger dan de detectielimiet uit de dataset Screening Maas.



In [Bijlage 2](#) zijn de ms-PAF klassen weergegeven voor alle monsters met waarnemingen boven de detectielimiet.

In twaalf monsters waren de berekende PAF-waarden voor individuele stoffen groter dan 0,05 (PAF_{noec} > 0,05). De stoffen die dat betrof waren: isoproturon, terbutrin, metribuzin (herbiciden), fenitrothion, lambda-cyhalothrin, ethylchloorpyrifos (allen biociden) en het hormoon 17beta-estradiol. Het biocide ethylchloorpyrifos werd vijf keer aangetroffen, en lambda-cyhalothrin twee keer met een PAF > 0,05.

TABEL 1

Identificatie van stoffen met een hoge PAF (PAF > 0,05).

Stofnaam	Groep	PAF-waarde
isoproturon	Herbicide, insecticide	0,42
fenitrothion	Insecticide	0,23
lambda-cyhalothrin	Insecticide	0,23
lambda-cyhalothrin	Insecticide	0,19
17beta-estradiol	Hormoon	0,17
Ethylchlorpyrifos	Insecticide	0,088
Ethylchlorpyrifos	Insecticide	0,075
Ethylchlorpyrifos	Insecticide	0,073
Ethylchlorpyrifos	Insecticide	0,070
Terbutrin	Herbicide, insecticide	0,064
Metribuzin	Herbicide	0,063
Ethylchlorpyrifos	Insecticide	0,056

In [Bijlage 2](#) zijn de msPAF-waarden weergegeven voor alle monsters boven de detectielimiet

De conclusie is dat meetbare concentraties organische microverontreiniging voorkomen in ruim de helft (53%) van de monsters uit het grondwater van het stroomgebied van de Maas. De concentraties van deze stoffen in het grondwater leiden tot een toxische belasting van het grondwater met een msPAF in de range van 0,001 - 0,05. Dit kan op grote ruimtelijke schaal tot ecologische effecten leiden in het grondwater.

►► 4 EMPIRISCHE TOETSEN

4.1 CONCENTRATIEREEKS VAN MENGSEL VAN PESTICIDEN

Omdat naar verwachting de potentiële risico's van verontreinigingen voor het bodemleven het grootst zijn op lichte grond die intensief wordt gebruikt, zijn de empirische toetsen uitgevoerd in een potproef met grond van het proefbedrijf Vredepeel (Limburg). De monsters (0-25 cm diepte) werden in januari 2021 genomen uit een gangbaar akkerbouwsysteem (proef Bodemkwaliteit op zand) met een relatief lage organische stof aanvoer (1000 kg effectieve organische stof/ha/jaar). Aan de grond werd een mengsel van de in de praktijk meest voorkomende verontreinigingen toegevoegd, in een reeks met toenemende concentraties gebaseerd op recent onderzoek.

In 2015 (april-oktober) werd het voorkomen van 76 pesticide-residuen onderzocht in 317 landbouwbodems uit 11 EU lidstaten (Silva *et al.*, 2019). Meer dan 80% bevatte residuen (25% had 1 residu, 58% had mengsels van twee of meer residuen) met in totaal 166 verschillende combinaties. De individuele gehalten lagen onder de respectievelijke normen voor toxiciteit. Het hoogste individuele gehalte was 2.05 mg/kg, het hoogste totale pesticiden gehalte was 2.87 mg/kg. Deze studie laat zien dat het voorkomen van mengsels van pesticiden residuen eerder regel dan uitzondering is, terwijl de risico's van zulke mengsels voor het bodemleven onbekend zijn. De meeste monsters uit West Europa en Nederland bevatten 2 tot 5 residuen.

De potproef werd uitgevoerd met de vijf in West Europa meest voorkomende residuen op basis van gemeten mediane concentraties (tabel 2). De maximale waarden waren 3-15x hoger dan de mediaan. Bovendien werd een antibioticum (antibacterieel diergeneesmiddel) toegevoegd (Lahr *et al.*, 2018). Op deze wijze is het mengsel gebaseerd op realistische waarden. Ter vergelijking zijn de hoeveelheden per kg omgerekend naar kg per hectare, voor een laag van 0 tot 20 cm diepte met een bulkdichtheid van 1.5 gram/cm³. Bij de teelt van aardappelen en uien ligt het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen rond de 10-20 kg werkzame stof per hectare, in de bollenteelt loopt het op tot boven de 100 kg/ha (lelies) (bron C.B.S.).

TABEL 2

*Stoffen en concentraties in het pesticidenmengsel dat aan de grond werd toegevoegd. Gebaseerd op Silva *et al.*, 2019.*

Stof	Type	Concentratie (x mediaan)					
		0	1	3	9	27	81
					mg/kg		
Glyphosate (GLY)	herbicide	0	0.14	0.42	1.26	3.78	11.34
Boscalid (BOS)	fungicide	0	0.04	0.12	0.36	1.08	3.24
Tebuconazole (TEB)	fungicide	0	0.02	0.06	0.18	0.54	1.62
Epoxiconazole (EPI)	fungicide	0	0.02	0.06	0.18	0.54	1.62
Imidacloprid (IMI)	insecticide	0	0.02	0.06	0.18	0.54	1.62
Oxytetracycline (OTC)	antibioticum	0	0.005	0.015	0.045	0.135	0.405
Totaal mg/kg			0.3	0.7	2.2	6.7	20.0
Totaal kg/ha			0.7	2.2	6.7	20.0	59.9

4.2 SPIKEN VAN DE GROND

Het mengsel werd toegevoegd in een reeks van 6 stappen met steeds een 3x hogere concentratie, van 1 tot 81x de mediane concentraties. De blanco (0) kreeg geen verontreinigingen maar wel een identieke behandeling. De proef werd in 4-voud uitgevoerd, en effecten werden gemeten na 2 en 21 dagen.

Voor de toevoeging werd de grond in een koelcel (4°C) ingedroogd tot 30% van het waterhoudend vermogen, waarna 25% werd “gespiked” met de moeilijk oplosbare pesticiden boscalid, tebuconazole, epoxiconazole en imidacloprid in aceton (Brinch *et al.*, 2002). De aceton werd verwijderd door het te verdampen. Daarna werden de goed oplosbare stoffen glyfosaat en oxytetracycline toegevoegd met water. De 25% “gespikete” grond werd gemengd met de 75% schone grond en op een voor microbiële activiteit optimaal vochtgehalte gebracht van 55% van de waterhoudende capaciteit.

4.3 MICROBIOLOGISCHE ANALYSES

Een deel (100 gram) van de grond werd geïncubeerd bij 25°C. Na 24 uur (dag 1) werd 25 gram gebruikt voor bepaling van de potentiële nitrificatie met een snelle ammonium oxidatie test (NEN-ISO 15685). Hierbij werd 25 gram grond gedurende 6 uren in suspensie geschud in 100 ml testmedium met 1,5 mmol/l (NH₄)₂SO₄ en 5 mmol/l NaClO₃, bij 25°C. De (overmaat) ammonium wordt door de nitrificerende bacteriën geoxideerd tot nitriet (NO₂). De chloraat remt de omzetting van nitriet in nitraat. De ophoping van nitriet tussen t=2 en t=6 uur is een maat voor de nitrificatie. Omdat de langzaam groeiende nitrificeerders zich binnen een paar dagen niet kunnen herstellen van stress wordt deze test beschouwd als een zeer gevoelig toxiciteitstest.

Een ander deel (100 gram) van de grond werd gebruikt voor een (ecologisch relevantere) potentiële nitrificatietest gedurende 3 weken bij 25°C rechtstreeks in de grond verrijkt met 1 mg (NH₄)₂SO₄ per gram, zonder de nitrificatierepeller chloraat en niet in suspensie, waarbij de toename van nitraat tussen dag 0 en dag 21 werd gemeten als maat voor de nitrificatie (Alef & Nannipieri, 1995).

Daarnaast werden op dag 2 en dag 21 monsters ingevroren bij -80°C voor bepaling van microbiële phospholipid fatty acids (PLFA, Heijboer *et al.*, 2016). PLFA vormen de celmembraan van levende cellen en worden gebruikt als biomarkers voor de hoeveelheid (biomassa) en globale structuur van de microbiële gemeenschap. Hierbij wordt onderscheid gemaakt tussen schimmels en (verschillende groepen) bacteriën. Gram positieve bacteriën zijn in het algemeen langzaam groeiende bacteriën met een dikkere celwand die moeilijker afbreekbare stoffen kunnen afbreken. Gram negatieve bacteriën hebben een dunnere celwand, gebruiken gemakkelijker afbreekbare substraten en kunnen sneller groeien.

DNA werd geïsoleerd van de ingevroren monsters van dag 2 en dag 21 met de DNeasy Powersoil Pro Kit (Qiagen) volgens het protocol. De kwantiteit van genen die specifiek zijn voor bacteriën en archaea, en functionele genen die betrokken zijn bij de stikstofkringloop en antibiotica resistentie werd gemeten met de ‘kwantitatieve polymerase kettingreactie’ (qPCR). Ammonia mono-oxygenase (amoA) zorgt voor oxidatie van ammonium (nitrificatie), en nitraat reductase (narG) en nitriet reductase (nirK) zorgen voor reductie van nitraat en nitriet tot uiteindelijk N₂ (denitrificatie) (Jetten, 2008). De functionele genen tetW en sul1 coderen voor resistentie tegen respectievelijk tetracycline en sulfonamide (Boxhall *et al.*, 2003). Dit zijn antibacteriële stoffen die in diergeneesmiddelen worden gebruikt en met mest in de bodem terecht kunnen komen.

4.4 STATISTIEK

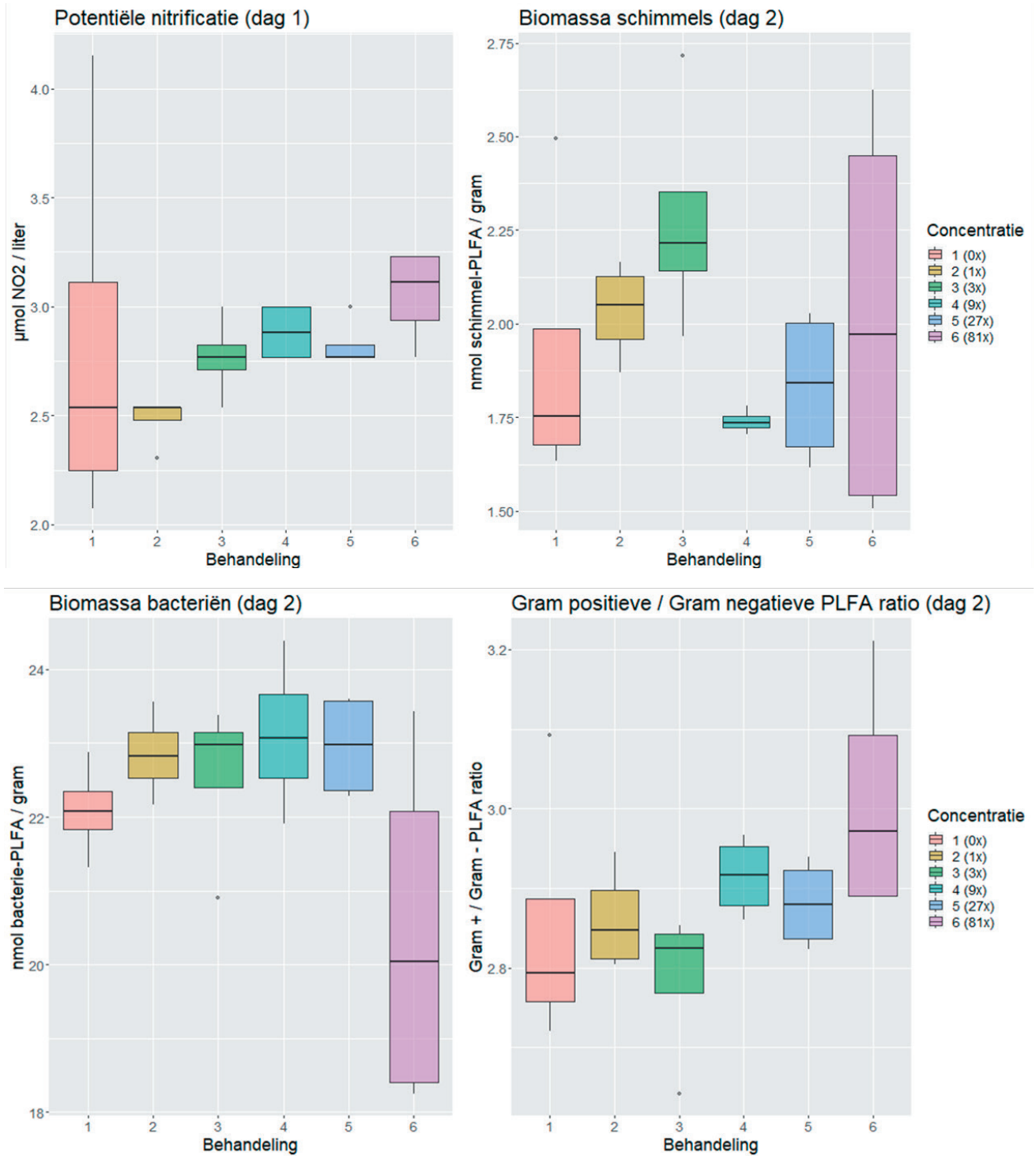
De resultaten werden statistisch getoetst door middel van variantie analyse (anova). Parameters die (ook na log transformatie) niet normaal verdeeld waren werden getoetst met de niet-parametrisch Kruskal-Wallis test. De resultaten worden weergegeven in boxplots. Deze tonen de mediaan, het 25% en 75% percentiel, minimum en maximum, gebaseerd op 4 replicaties per behandeling (pesticiden concentraties). Significante verschillen (P<0,05) worden in de figuren aangegeven met verschillende letters (a, b). P waarden tussen 0.05 en 0.10 worden beschouwd als een trend.

4.5 RESULTATEN

Kort na toediening van het mengsel van verontreinigingen vertoonde de potentiële nitrificatie in suspensie (dag 1) geen remming, maar een toenemende trend met de pesticiden concentratie (P=0,068) (figuur 3). De hoeveelheid schimmels (dag 2) was het hoogst bij 3x de mediane concentratie, maar de verschillen waren niet statistisch significant. De bacteriële biomassa vertoonde een trend (P=0,081) van hogere waarden met pesticiden, behalve bij de hoogste concentratie. Ook was er een toenemende trend (P=0,082) in de verhouding tussen Gram positieve en Gram negatieve bacteriën.

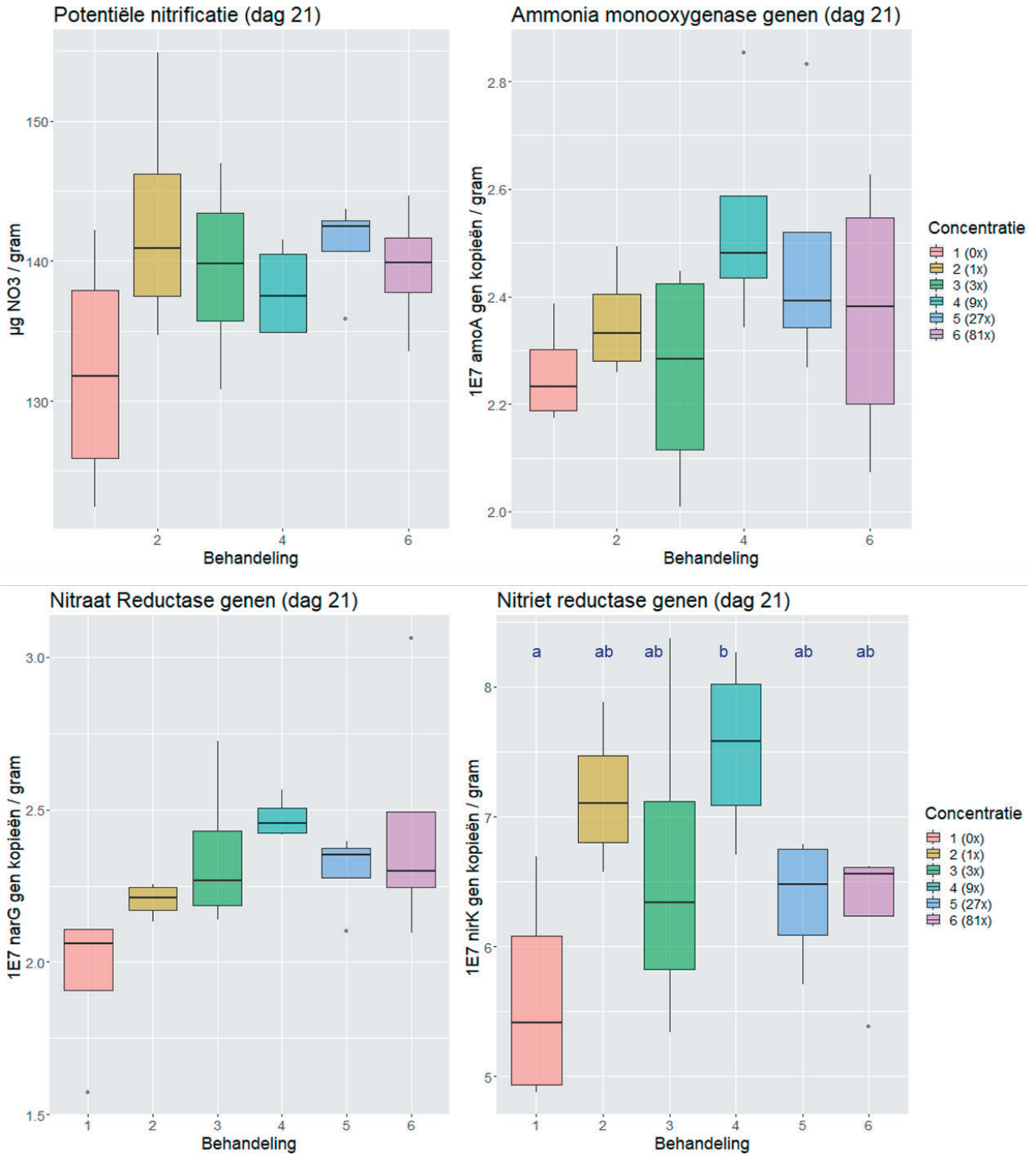
FIGUUR 3

Korte termijn effect van toenemende concentratie (0-81x mediaan) van het mengsel van verontreinigingen op de potentiële nitrificatie ($P=0,068$), schimmelbiomassa (n.s., niet significant), bacteriële biomassa ($P=0,081$) en de verhouding tussen Gram positieve en Gram negatieve bacteriën ($P=0,082$).



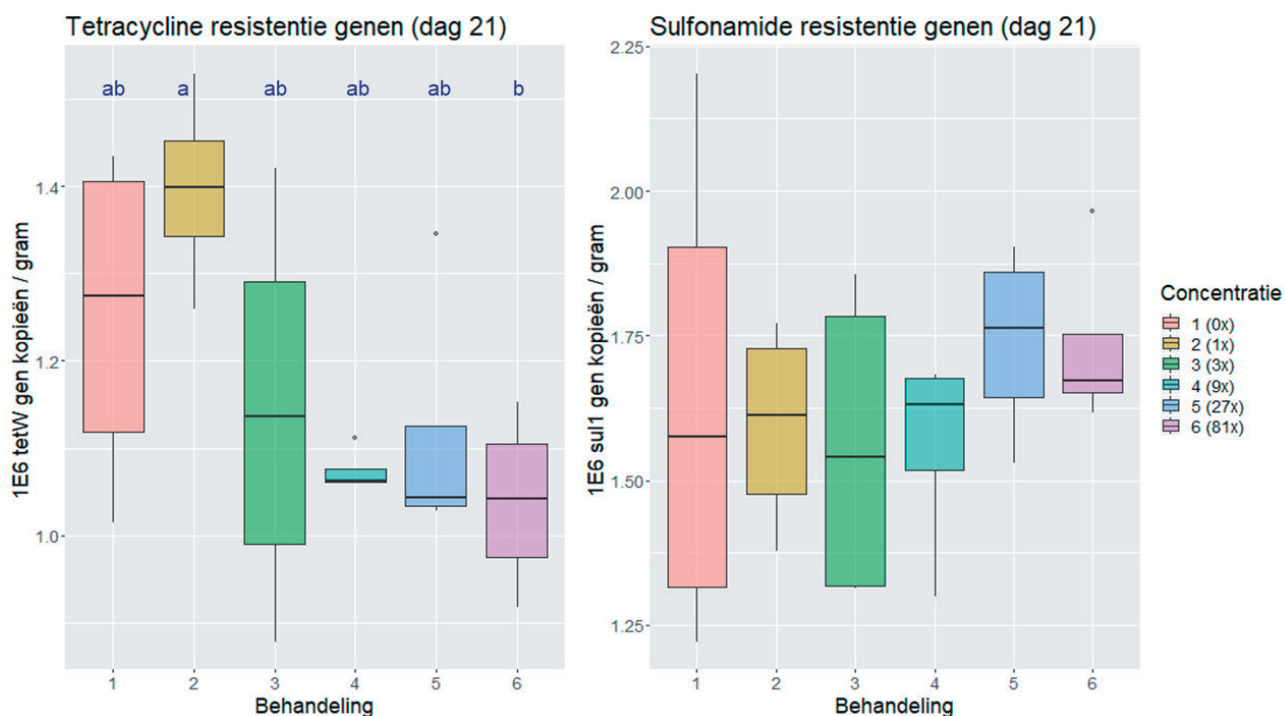
FIGUUR 4

Langere termijn effect van toenemende concentratie (0-81x mediaan) van het mengsel van verontreinigingen op de potentiële nitrificatie (n.s.), en de functionele genen voor ammonia mono-oxygenase (n.s.), nitraat-reductase ($P=0,065$) en nitriet-reductase ($P=0,043$).



FIGUUR 5

Het effect van toenemende concentratie (0-81x mediaan) van het mengsel van verontreinigingen op de genen voor tetracycline resistentie ($P=0,043$) en sulfonamide resistentie (n.s.).



Ook op wat langere termijn, na 21 dagen, vertoonde de potentiële nitrificatie in de grond geen remming (figuur 4). De bij de nitrificatie betrokken ammonia mono-oxygenase genen vertoonden een vergelijkbaar beeld van eerder hogere dan lagere waarden met pesticiden, hoewel de verschillen niet significant waren. De bij denitrificatie betrokken functionele genen waren het meest talrijk bij 9x de mediane pesticiden concentratie. Voor nitraat reductase was dit een trend ($P=0,065$), voor nitriet reductase was het verschil met de blanco (0x mediaan) significant ($P=0,043$).

De tetracycline resistentie genen namen af bij toenemende concentratie pesticidenmengsel (waaronder oxytetracycline), met de hoogste waarde bij 1x de mediane concentratie en de laagste waarde bij de hoogste concentratie van 81x de mediaan (figuur 5). Dit verschil was significant ($P=0,043$). Het aantal sulfonamide resistentie genen werd niet beïnvloed door het mengsel van verontreinigingen.

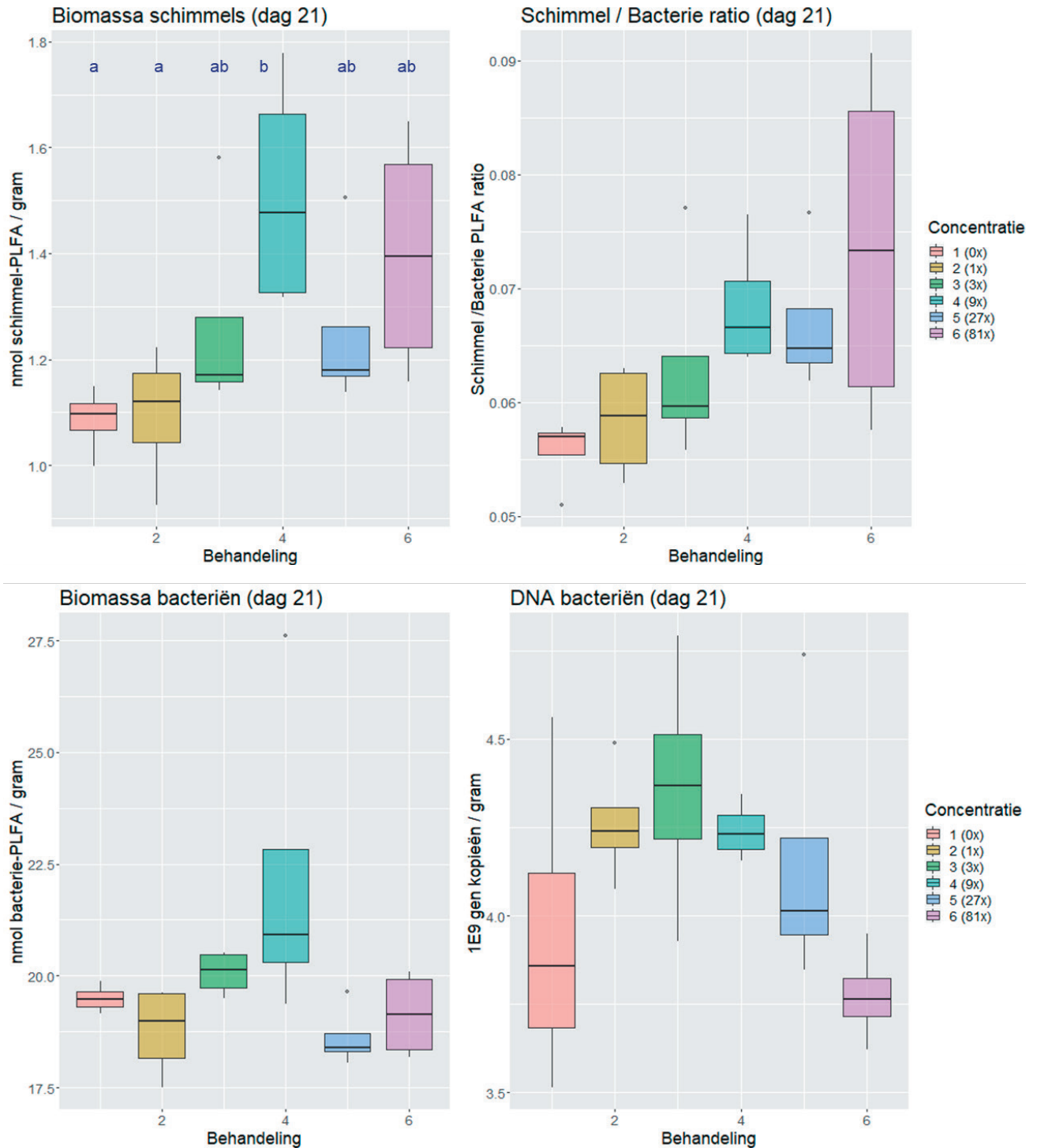
Terwijl de toename van schimmels na 2 dagen nog niet significant was, was dit na 21 dagen wel het geval, met de hoogste schimmelbiomassa bij 9x de mediane concentratie pesticiden ($P=0,019$) (figuur 6). De schimmel/bacterie verhouding nam toe en was het hoogst bij de hoogste pesticiden concentratie ($P=0,045$). Dit kwam doordat de bacteriebiomassa wel een stijgende trend vertoonde tot de hoogste waarden bij 9x de mediane pesticiden concentratie, maar bij nog hogere concentraties niet meer was verhoogd ($P=0,085$). De hoeveelheid bacterieel DNA vertoonde een vergelijkbare trend ($P=0,089$) met de hoogste waarden bij 3x de mediane pesticiden concentratie.

Omdat het beeld voor Gram positieve bacteriën, Gram negatieve bacteriën en de totale hoeveelheid microbiële PLFAs (28 PLFA biomarkers) gelijk was aan het beeld voor de totale hoeveelheid bacteriën (10 bacterie-specifieke PLFAs) worden hier voor geen figuren getoond. Bij de Gram positieven was er net geen trend ($P=0,11$), terwijl het verloop significant was voor de Gram negatieven ($P=0,047$) en nog sterker voor de totale hoeveelheid PLFA ($P=0,026$).

Archaea droegen ongeveer 0,3% bij aan het totale microbiële DNA en werden niet beïnvloed door het pesticidenmengsel.

FIGUUR 6

Langere termijn effect van toenemende concentratie (0-81x mediaan) van het mengsel van verontreinigingen op de schimmelbiomassa ($P=0,019$), schimmel/bacterie verhouding ($P=0,045$), de bacteriële biomassa ($P=0,085$) en het aantal bacteriële genen ($P=0,089$).



4.6 DISCUSSIE

Het pesticidenmengsel gaf, bij concentraties tot 81x de in landbouwbodems gemeten mediane (achtergrond)waarden, geen remming van de nitrificatie en nitrificerende bacteriën. Dit komt overeen met het nauwelijks voorkomen van geremde nitrificatie in landbouwbodems volgens de Bobi database.

Ondanks de aanwezigheid van fungiciden en bactericiden in het toegediende mengsel van pesticiden namen de hoeveelheden schimmels en bacteriën toe bij concentraties tot 3-9x de mediaan. De verhoogde microbiële activiteit is een weerspiegeling van het zelfreinigend-vermogen van de bodem. Echter bij nog hogere concentraties was er geen verdere toename van schimmels, en waren de bacteriën niet meer verhoogd. Dit wijst erop dat de groei van met name bacteriën werd verhinderd bij deze concentraties van 27 en 81x. De in landbouwbodems waargenomen maximale concentraties waren 3x de mediaan voor het insecticide, 8-10x voor de fungiciden en 15x de mediaan voor het herbicide (Silva *et al.*, 2019). De maximale concentraties lijken dus niet ver onder de waarden te liggen waar remming van microbiële activiteit (c.q. het zelfreinigend-vermogen) kan optreden. Dit onderstreept het belang van zorgvuldig gebruik van bestrijdingsmiddelen.

De toenemende schimmel/bacterie verhouding bij hogere pesticidenconcentraties (figuur 6) wijst er op dat schimmels minder gevoelig zijn dan bacteriën. Bacteriecellen zijn aanzienlijk kleiner dan schimmeldraden, hebben daardoor een grotere oppervlakte/volume verhouding, waardoor ze sterker worden blootgesteld aan toxische stoffen. De toenemende verhouding tussen Gram positieve en Gram negatieve bacteriën (figuur 3), en het sterkere significante effect op de Gram negatieven ($P=0,047$ versus 0,11) wijst er op dat de Gram negatieve bacteriën gevoeliger zijn dan Gram positieve bacteriën. Gram negatieve bacteriën hebben een dunnere celwand en in het algemeen een hogere groeisnelheid. Actief groeiende cellen zijn het meest kwetsbaar voor toxische stress en antibiotica die met name de groei remmen.

Voor zover bekend is dit het eerste onderzoek naar effecten van een realistisch mengsel van de meest voorkomende pesticiden op de micro-organismen in de bodem, op één tijdstip en één akkerbouwsysteem. De proef werd uitgevoerd met grond van een akkerbouwsysteem met een relatief lage organische stof aanvoer (1000 kg effectieve organische stof/ha/jaar). Deze bodem bevat relatief lage hoeveelheden bacteriën en schimmels, een lagere afbraak en mineralisatie van organische stof, en daardoor naar verwachting een lager zelfreinigend vermogen. Een belangrijke resterende vraag is wat de effecten van pesticiden zouden zijn in een (aangrenzende) bodem met een meer gangbare, twee keer zo hoge organische stof aanvoer en een hogere microbiële biomassa. Het is mogelijk dat het actievere bodemleven pesticiden sneller afbreekt en zo de risico's reduceert. Maar het zou ook kunnen dat sneller groeiende micro-organismen juist gevoeliger zijn voor remming, omdat er meer te remmen valt. Verder is van belang dat in gangbare akkerbouwsystemen de aanwezige micro-organismen waarschijnlijk al aangepast en in staat zijn om pesticiden af te breken. Niet aangepaste bodems (zoals nabijgelegen biologisch beheerde akkers en natuurterreinen) zijn mogelijk gevoeliger voor verontreinigingen. De relatie tussen de bodemkwaliteit en de bodembiologische bescherming is een belangrijke kennisleemte. Meer inzicht is nodig om effecten van landgebruik en de effectiviteit van (duurzaam) bodembeheer en handelingsperspectieven beter te kunnen inschatten.

►► 5 CONCLUSIES/ AANBEVELINGEN

De literatuurstudie wees er op dat verontreinigingen wel degelijk effect kunnen hebben op de microbiële gemeenschap in de bodem. De biomassa en structuur van de microbiële gemeenschap zijn gevoelig voor verontreinigingen en bestrijdingsmiddelen. Dit werd bevestigd door de empirische toetsen. Ook ammonium oxidatie (nitrificatie) wordt beschouwd als zeer gevoelig voor pesticiden en (toxische) stress. Dit laatste werd niet bevestigd door dit onderzoek.

In de database met honderden metingen van het Bodembio-logische Indicator (Bobi) project (1997-2014) werden slechts incidenteel aanwijzingen gevonden voor geremde nitrificatie, met name in akkers op lichte grond (groenteteelt).

Op basis van Bobi data (o.a. hoeveelheden micro-organismen, microbiële activiteit en mineralisatie) zijn kaarten gemaakt voor de Atlas Natuurlijk Kapitaal (ANK). Eén daarvan geeft een landelijk beeld van het verwachte zelfreinigend vermogen van de bodem. Deze is het laagst op lichte grond die intensief wordt gebruikt, zoals bij akker- en tuinbouw op zandgrond. Daar zijn naar verwachting de potentiële risico's van effecten van verontreinigingen op bodemleven het grootst. Deze verwachtingen over effecten van bodemtype, landgebruik en bodembeheer zijn echter gebaseerd op expert judgement en niet empirisch getoetst. Hier is dus nog een belangrijke kennisleemte.

Met ms-PAF (door meerdere stoffen potentieel aangetaste fractie) -modellering werd het verwachte effect van verontreinigende stoffen in grondwater uit het stroomgebied van de Maas op het ecosysteem berekend. De ecologische effecten in 321 monsters van de screening zijn in het algemeen gering. In 171 monsters (53%) werden stofconcentraties aangetroffen boven de detectielimiet. Er waren 12 monsters met een PAF-waarde groter dan 0,05 voor een individuele stof. De volgende zeven stoffen leveren de grootste bijdragen aan het opgetelde effect in deze twaalf monsters: isoproturon, terbutrin, metribuzin (allen herbiciden), en fenitrothion, lambda-cyhalothrin, ethylchloorpyrifos (allen biociden) en het hormoon 17beta-estradiol.

De concentraties in (grond)water liggen in de orde van een microgram per liter. In landbouwbodems (0-20 cm) liggen de concentraties van pesticiden in de orde van een milligram per kilogram.

Omdat de potentiële risico's van verontreinigingen voor het bodemleven het grootst lijken op lichte grond die intensief wordt gebruikt, zijn empirische toetsen uitgevoerd in een potproef met zandgrond (0-25 cm diepte) van een gangbaar akkerbouwsysteem met lage organische stof aanvoer op proefbedrijf Vredepeel (Limburg). Aan de grond werd een mengsel van de vijf in West Europese landbouwbodems meest voorkomende verontreinigingen toegevoegd, in een reeks met toenemende concentraties. Het betreft 1 herbicide, 3 fungiciden en 1 insecticide op basis van gemeten mediane concentraties. Bovendien werd een antibioticum (antibacterieel diergeneesmiddel) toegevoegd.

Tot concentraties van 9x de mediane waarden werden geen negatieve effecten van het pesticidenmengsel gevonden in de gebruikte zandgrond. De microbiële groei werd gestimuleerd door de toegevoegde pesticiden. Dit weerspiegelt afbraak en zelfreinigend vermogen. Bij nog hogere concentraties van 27x en 81x de mediaan namen schimmels niet meer toe en was de toename van bacteriën geremd. De maximale concentraties in landbouwbodems waren 3x de mediaan voor het insecticide, 8-10x voor de fungiciden en 15x de mediaan voor het herbicide (Silva *et al.*, 2019). De maximale concentraties lijken dus niet ver onder de waarden te liggen waar remming van microbiële activiteit (c.q. het zelfreinigend-vermogen) kan optreden. Dit onderstreept het belang van zorgvuldig gebruik van bestrijdingsmiddelen.

Voor zover bekend is dit het eerste onderzoek naar effecten van een realistisch mengsel van de meest voorkomende pesticiden op de micro-organismen in de bodem, op één tijdstip en één akkerbouwsysteem.

De risico's voor het bodemleven en het belang van een hogere bodemkwaliteit zou verder opgehelderd kunnen worden door vergelijkbare toetsing van een naastgelegen gangbaar akkerbouwsysteem met een 2x zo hoge (standaard) organische

stof input en meer bodemleven, en een biologisch systeem waar geen chemische gewasbescherming wordt gebruikt en de microbiële biomassa nog hoger is.

Ook is er vrijwel niets bekend over mogelijke effecten van klimaatverandering met grotere extremen in temperatuur en vocht waardoor grote schommelingen in microbiële activiteit en stoffenconcentraties met hoge pieken van uitspoeling zouden kunnen optreden. Hierbij zouden ook cascade effecten door het hele bodemvoedselweb en op andere ecosysteemdiensten kunnen optreden.

▶▶ 6 DANKWOORD

De auteurs danken Wim Beltman (WENR) en Joris Dijkstra (TNO) voor constructief advies bij de voorbereiding van de empirische toetsen, en Ton Schouten (RIVM) voor het grondig reviewen van dit rapport.

►► 7 REFERENTIES

- Alef, K. and P. Nannipieri, 1995. *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*, pp. 240-241. Academic Press, London.
- Atlas Natuurlijk Kapitaal. <https://www.atlasnatuurlijkkapitaal.nl/kaarten?config=58bf95bc-67bf-402d-a355-af211ad33949&activeTools=layercollection,search,info,bookmark,measure,draw&activateOnStart=layercollection&gm-x=205910.400000000008&gm-y=449248.000000000006&gm-z=3&gm-b=1544180834512,true,1;1554715635499,true,0.8>
- Boxall A, Kolpin D, Halling-Sørensen B, Tolls J (2003) Are veterinary medicines causing environmental risks? *Environ Sci Technol* 8:286-294.
- Brinch, U. C., Ekelund, F., & Jacobsen, C. S. (2002). Method for spiking soil samples with organic compounds. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 1808-16.
- De Vries, W., M.J. Weijters, J.J. de Jong, S.P.J. van Delft, J. Bloem, A. van den Burg, G.A. van Duinen, E. Verbaarschot & R. Bobbink (2019). Verzuring van loofbossen op droge zandgronden en herstelmogelijkheden door steenmeeltoediening. Rapport OBN229-DZ. Vereniging van Bos- en Natuurterreineigenaren (VBNE), Driebergen.
- Griffiths, B.S., K. Ritz, R.D. Bardgett, R. Cook, S. Christensen, F. Ekelund, S. Sørensen, E. Bååth, J. Bloem, P. de Ruiter, J. Dolfing, and B. Nicolardot. 2000. Ecosystem response of pasture soil communities to fumigation-induced microbial diversity reductions: an examination of the biodiversity-ecosystem function relationship. *Oikos* 90, 279-294.
- Heijboer, A., H.F.M. ten Berge, P.C. de Ruiter, H.B. Jørgensen, G.A. Kowalchuk, J. Bloem. 2016. Plant biomass, soil microbial community structure and nitrogen cycling under different organic amendment regimes; a ¹⁵N tracer-based approach. *Applied Soil Ecology* 107, 251 - 260.
- Jetten, MSM (2008). The microbial nitrogen cycle. *Environmental microbiology*, 10(11):2903-2909
- Lahr, J., Derksen, A., Wipfler, L., van de Schans, M., Berendsen, B., Blokland, M., Dimmers, W., Bolhuis, P., & Smidt, R. 2018. Diergeneesmiddelen & hormonen in het milieu door de toediening van drijfmest: Een verkennende studie in de Provincie Gelderland naar antibiotica, antiparasitaire middelen, coccidiostatica en natuurlijke hormonen in mest,(water) bodem, grondwater en oppervlaktewater. Wageningen Environmental Research, rapport 2898.
- Rutgers M., C. Mulder, A.J. Schouten, J. Bloem, J.J. Bogte, A.M. Breure, L. Brussaard, R.G.M. de Goede, J.H. Faber, G.A.J.M. Jagers op Akkerhuis, H. Keidel, G.W. Korthals, F.W. Smeding, C. ten Berg, N. van Eekeren. 2007. Typeringen van bodemecosystemen in Nederland met tien referenties voor biologische bodemkwaliteit. RIVM rapport 607604008 96 pp.
- Silva, V., Mol, H.G.J., Zomer, P., Tienstra, M., Ritsema, C.J., Geissen, V. 2019. Pesticide residues in European agricultural soils. A hidden reality unfolded. *Science of the Total Environment*, 653, pp. 1532-1545.
- Posthuma, L., J. van Gils, M.C. Zijp, D. van de Meent, D. de Zwart (2019). "Species sensitivity distributions for use in environmental protection, assessment, and management of aquatic ecosystems for 12 386 chemicals." *Environmental Toxicology and Chemistry* 38(4): 905-917.
- Rutgers M., Schouten T., Bloem J., Buis E., Dimmers W., van Eekeren N., de Goede R.G.M., Jagers op Akkerhuis G.A.J.M., Keidel H., Korthals G., Mulder C., Wattel-Koekkoek E.J.W. 2014. Een indicatorsysteem voor ecosystemendiensten van de bodem : Life support functions revisited. RIVM Rapport 2014-0145,129 pp.
- CBS, <https://www.cbs.nl/nl-nl/nieuws/2022/02/landbouw-gebruikt-minder-gewasbeschermingsmiddelen>

▶▶ 8 BIJLAGE 1 LITERATUURSTUDIE

EFFECTEN VAN VERONTREINIGINGEN OP MICRO-ORGANISMEN IN DE BODEM

Beknopt literatuuronderzoek

Jaap Bloem, Martine Kox, Bas van der Zaan, Augustus 2020

8.1 SAMENVATTING

Deze literatuurstudie wijst er op dat verontreinigingen wel degelijk effect kunnen hebben op de microbiële gemeenschap. Zo kan de samenstelling van de gemeenschap aangetast worden, maar ook het functioneren. De effecten van verontreinigingen op de micro-organismen hangen deels af van de samenstelling van de gemeenschap, de grondsoort, het landgebruik en het bodembeheer. Door deze complexe interacties zijn effecten van verontreinigingen vaak niet eenduidig, laat staan wanneer cocktails van verontreinigingen de bodem in gaan.

8.2 VERONTREINIGINGEN EN MICRO-ORGANISMEN

Micro-organismen spelen een belangrijke rol bij ecosystemendiensten van de bodem, waaronder het zelfreinigend vermogen. Maar wat is er bekend over de effecten van verontreinigingen op de micro-organismen in de bodem en daarmee op het zelfreinigend vermogen van de bodem? In ons onderzoek verstaan wij onder verontreinigingen bestrijdingsmiddelen, hormonen, diergeneesmiddelen, toxische stoffen, en afbraakproducten van al deze stoffen.

De mobiliteit van bestrijdingsmiddelen wordt mede bepaald door de fysisch-chemische eigenschappen zoals oplosbaarheid en afbreekbaarheid. Via diverse routes kunnen bestrijdingsmiddelen het grondwater en uiteindelijk zelfs het drinkwater bereiken (Lahr *et al.* 2019). Bovengenoemde fysisch-chemische eigenschappen van verontreinigingen zorgen ervoor dat bepaalde verontreinigingen zoals een aantal diergeneesmiddelen en hormonen juist wel¹ teruggevonden worden in de bodem en anderen juist helemaal niet² (Lahr *et al.* 2018). Ondanks dat sommige verontreinigingen lang in de bodem kunnen verblijven (persistent zijn), konden zij in 2 onafhankelijke studies niet teruggevonden worden in het grondwater (Lahr *et al.* 2018; Verhagen & Pieter Ottow, 2017).

De grootste risico's van bodemverontreiniging voor micro-organismen vormen bestrijdingsmiddelen en afbraakproducten daarvan. Bestrijdingsmiddelen zijn gemaakt om levende cellen uit te schakelen. Hieronder vallen ook antimicrobiële diergeneesmiddelen. Hierover, en over het zelfreinigend vermogen van de bodem is nog erg weinig bekend en er wordt vooral gepleit voor onderzoek (Puente-Rodríguez *et al.*, 2019). Er is redelijk veel bekend over het voorkomen van bestrijdingsmiddelen en residuen in water maar veel minder over de bodem. In Europees onderzoek bleek meer dan 80% van de bodems verontreinigd door mengsels van bestrijdingsmiddelen. De meest voorkomende verontreinigingen zijn herbiciden met name glyfosaat en het voornaamste afbraakproduct AMPA (aminomethylphosphonic acid), en breed spectrum fungiciden. Er zijn wel veel zorgen, maar er is weinig kennis over de toxiciteit van deze mengsels voor het bodemleven (Silva *et al.*, 2018, 2019).

Voor glyfosaat en AMPA wordt gewaarschuwd dat de concentraties en het gebruik ervan toenemen. De effecten van glyfosaat en AMPA op het bodemleven zijn niet eenduidig. Tot nu toe zijn voornamelijk korte termijn effecten gemeten (1-3

1 'Oxytetracycline, flumequine, tilmicosine, (amino)flubendazol, toltrazuril(-sulfon) (analyse niet geheel conform de kwaliteitscriteria), androstendion en β -testosteron' (*ibid.*).

2 De antibiotica doxycycline, ciprofloxacin, enrofloxacin en het antiparasiticum ivermectine (*ibid.*).

maanden) waaruit bleek dat de microbiële gemeenschap zich daarna herstelde. Er werd geconcludeerd dat er geen negatieve effecten van bestrijdingsmiddelen op het microbiële leven zijn bij zorgvuldig gebruik (binnen wettelijke normen) (Hartmann *et al.*, 2015; Schlatter, 2017; Storck *et al.*, 2018; Van Bruggen *et al.*, 2018; Rodríguez-Cruz, 2019). Toch, kunnen de negatieve effecten worden verhuld door stimulerende effecten van het gedode plantenmateriaal. Dit maakt het hoge gebruik van glyfosaat controversieel en zorgwekkend, vanwege de potentiële gevaren voor ecosysteem- en drinkwaterkwaliteit (Carvalho, 2017, Silva 2018).

Andere studies omschrijven effecten van bestrijdingsmiddelen op organismen die buiten de doelgroep vallen (non-target) als niet doorslaggevend (Niemeyer *et al.*, 2018). Non-target effecten van bestrijdingsmiddelen komen veel voor en kunnen potentieel ecosysteemprocessen beïnvloeden. Effecten van pesticiden zijn soms negatief en soms positief, en vertoonden geen verband met bovengrondse diversiteit van planten (Eisenhauer, *et al.*, 2009).

Opkomende verontreinigingen zoals poly- en perfluoroalkyl stoffen (PFAS) kunnen ook effecten hebben op micro-organismen. Een opkomende PFAS sodium p-perfluorooxide nonenoxybenzene sulfonate (OBS) veroorzaakte een dosis afhankelijke remming van ammonium oxidatie (nitrificatie) en verschuivingen in de microbiële gemeenschap. Tolerante archaea (vroeger ook archaebacteriën genoemd) en ammonium oxiderende archaea (AOA) namen toe, en gevoelige bacteriën en ammonium oxiderende bacteriën (AOB) namen af. AOB vormen in het algemeen de belangrijkste nitrificeerders (Ke *et al.* 2020). Dit duidt aan dat specifieke verontreinigingen een specifieke microbiële functie in de bodem (in dit geval ammonium oxidatie) kunnen aantasten. De verandering in de structuur van de microbiële gemeenschap zal tot een nieuw evenwicht leiden (van AOB naar AOA in bovenstaand geval), de vraag blijft echter in hoeverre de aangetaste functie daarin stabiel behouden wordt.

Andere, meer bekende verontreinigingen die het bodemleven kunnen beïnvloeden zijn meststoffen, zoals nitraat. Nitraat uit bemesting is voor landbouw noodzakelijk, maar kan het grondwater verontreinigen door uitspoeling. Nitraat is niet toxisch voor het bodemleven, maar een hogere stikstofinput kan veranderingen in de microbiële gemeenschap veroorzaken, waaronder een lagere schimmel/bacterie verhouding (De Vries *et al.*, 2006 en 2007). Er zijn aanwijzingen dat in bodems met meer schimmels minder stikstof uitspoelt (De Vries *et al.*, 2006, 2011, 2012). Ook werd minder nitraat gevonden in grondwater onder bodems met hoger organische stofgehalte (Van der Wal *et al.* 2019). Dit hangt mogelijk samen met een hogere denitrificatie en minder nitraat uitspoeling. Dit wijst erop dat naast samenstelling van de microbiële gemeenschap, ook de bodemkwaliteit een rol speelt bij het zelfreinigend vermogen van de bodem.

8.3 BODEMBEHEER

Met bodembeheer kunnen de effecten van verontreinigingen op het zelfreinigend vermogen van de bodem (micro-organismen) mogelijk gemitigeerd worden. Zo kan (verhoogde) toevoer van organische stof zoals rioolslib of groencompost de effecten van bestrijdingsmiddelen op micro-organismen verminderen (Rodríguez-Cruz, 2019). Organische bemesting bevordert het bodemleven. Bij een vergelijking van micro-organismen in de bodem onder verschillende landbouwpraktijken bleken effecten van zorgvuldig, binnen de (Zwitserse) normen, toegepaste chemische gewasbeschermingsmiddelen (herbiciden, fungiciden en insecticiden) van ondergeschikt belang (Hartmann *et al.*, 2015). Dit doet vermoeden dat de microbiële samenstelling met name door de bodem en landbouwpraktijken beïnvloed wordt en dat gebruik van gewasbeschermingsmiddelen van ondergeschikt belang is.

Echter bij een vergelijking van twee typen landgebruik bleken microbiële gemeenschappen in een boomgaard veel gevoeliger voor het fungicide tetraconazole dan de gemeenschappen in de bodem van grasland. Microbiële membraanlipiden (phospholipid fatty acid, PLFA) biomarkers lieten afname zien van Gram positieve bodembacteriën, en toename van stress markers (Sułowicz *et al.*, 2016). Kortom, bodembeheer, landgebruik en ook grondsoort beïnvloeden de effecten van verontreinigingen op de microbiële gemeenschap. Niet elke combinatie van landgebruik, bodembeheer en grondsoort zal een mitigerend effect teweeg brengen. Hoe dat werkt en welke combinaties effect hebben, zijn vragen voor vervolgonderzoek.

8.4 GEVOELIGE MICROBIOLOGISCHE PARAMETERS

De activiteit, biomassa en structuur van de microbiële gemeenschap zijn gevoelig voor stress door verontreinigingen en bestrijdingsmiddelen (Jacobsen & Hjelmsø, 2014; Franco-Andreu *et al.*, 2016; Newman *et al.*, 2016; Romano-Armada *et al.* 2019; Sułowicz *et al.*, 2016). PLFA biomarkers (membraanlipiden) van bacteriën en schimmels bieden inzicht in de biomassa en structuur van (brede) microbiële groepen. Dieper inzicht in de bacteriële gemeenschap kan worden verkregen middels sequenzen van het 16S rRNA gen. Ook kan de aanwezigheid van functionele genen op DNA niveau gemonitord worden middels q-PCR, wat een indicatie kan zijn voor de aanwezigheid van een bepaalde microbiële functies in het bodemsysteem.

Nitrificeerders bestaan uit een kleine maar essentiële groep specialisten die maar langzaam herstellen na stress. De ammonium oxidatie (nitrificatie), hoeveelheden functionele genen en de samenstelling van nitrificerende bacteriën en archaea, worden beschouwd als zeer gevoelig voor pesticiden en (toxische) stress (Jacobsen & Hjelmsø, 2014).

8.5 KLIMAATVERANDERING, EEN EXTRA STRESSOR BOVENOP VERONTREINIGINGEN?

Negatieve effecten van pesticiden op hoeveelheden micro-organismen en enzymactiviteit kunnen worden versterkt door droogte. Waarschijnlijk hangt dit samen met verminderde afbraak en toenemende persistentie en concentraties (Franco-Andreu *et al.*, 2016).

8.6 REFERENTIES LITERAATURSTUDIE

- Carvalho, F.P. Pesticides, environment, and food safety (2017) *Food and Energy Security*, 6 (2), pp. 48-60.
- De Vries, F.T., E. Hoffland, N. Van Eekeren, L. Brussaard and J. Bloem. 2006. Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting management. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 2092-2103.
- De Vries, F.T., J. Bloem, N. van Eekeren, L. Brussaard and E. Hoffland. 2007. Fungal biomass in pastures increases with age and reduced N input. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 1620-1630.
- De Vries, F.T., J. W. van Groenigen, E. Hoffland and J. Bloem. 2011. Nitrogen losses from two grassland soils with different fungal biomass. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 997-1005.
- De Vries, F.T. J. Bloem, H. Quirk, C. Stevens, R. Bol and R. D. Bardgett. 2012. Extensive management promotes plant and microbial nitrogen retention in temperate grassland. *PLoS ONE* 7(12) art. no. e51201.
- Eisenhauer, N., Klier, M., Partsch, S., Sabais, A.C.W., Scherber, C., Weisser, W.W., Scheu, S. No interactive effects of pesticides and plant diversity on soil microbial biomass and respiration (2009) *Applied Soil Ecology*, 42 (1), pp. 31-36.
- Franco-Andreu, L., Gómez, I., Parrado, J., García, C., Hernández, T., Tejada, M. Behavior of two pesticides in a soil subjected to severe drought. Effects on soil biology (2016) *Applied Soil Ecology*, 105, pp. 17-24.
- Hartmann, M., Frey, B., Mayer, J., Mäder, P., Widmer, F. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming (2015) *ISME Journal*, 9 (5), pp. 1177-1194.
- Jacobsen, C.S., Hjelmsø, M.H. Agricultural soils, pesticides and microbial diversity (2014) *Current Opinion in Biotechnology*, 27, pp. 15-20.
- Ke, Y., Chen, J., Hu, X., Tong, T., Huang, J., Xie, S. Emerging perfluoroalkyl substance impacts soil microbial community and ammonia oxidation (2020) *Environmental Pollution*, 257, art. no. 113615
- Lahr, J., Moermond, C., Montforts, M., Derksen, A., Bondt, N., Puister-Jansen, L., De Koeijer, T., & Hoekstra, P. (2019). Diergeneesmiddelen in het milieu: Een synthese van de huidige kennis: Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer. STOWA 2019-26
- Lahr, J., Derksen, A., Wipfler, L., van de Schans, M., Berendsen, B., Blokland, M., Dimmers, W., Bolhuis, P., Smidt, R. (2018). Diergeneesmiddelen & hormonen in het milieu door de toediening van drijfmes: Een verkennende studie in de Provincie Gelderland naar antibiotica, antiparasitaire middelen, coccidiostatica en natuurlijke hormonen in mest, (water)bodem, grondwater en oppervlaktewater. Wageningen: Wageningen Environmental Research. Wageningen, Wageningen Environmental Research, Rapport 2898.
- Newman, M.M., Lorenz, N., Hoilett, N., Lee, N.R., Dick, R.P., Liles, M.R., Ramsier, C., Kloepper, J.W. Changes in rhizosphere bacterial gene expression following glyphosate treatment (2016) *Science of the Total Environment*, 553, pp. 32-41.
- Niemeyer, J.C., de Santo, F.B., Guerra, N., Ricardo Filho, A.M., Pech, T.M. Do recommended doses of glyphosate-based her-

- bicides affect soil invertebrates? Field and laboratory screening tests to risk assessment (2018) *Chemosphere*, 198, pp. 154-160.
- Puente-Rodríguez, D., Bos, A.P., Lahr, J. & Hoeksma, P., 2019. Antimicrobiële resistentie en residuen van diergeneesmiddelen (antibiotica) in een circulaire veehouderij; Tegengaan van verspreiding via mest en milieu. Wageningen Livestock Research, Rapport 1213.
- Rodríguez-Cruz, M.S., Pose-Juan, E., Marín-Benito, J.M., Igual, J.M., Sánchez-Martín, M.J. Pethoxamid dissipation and microbial activity and structure in an agricultural soil: Effect of herbicide rate and organic residues (2019) *Applied Soil Ecology*, 140, pp. 135-143.
- Romano-Armada, N., Amoroso, M.J., Rajal, V.B. Construction of a combined soil quality indicator to assess the effect of glyphosate application (2019) *Science of the Total Environment*, 682, pp. 639-649.
- Schlatter, Daniel C., Chuntao Yin, Scot Hulbert, Ian Burke, Timothy Paulitz, 2017. Impacts of Repeated Glyphosate Use on Wheat-Associated Bacteria Are Small and Depend on Glyphosate Use History. November 2017 Volume 83 Issue 22 e01354-17 *Applied and Environmental Microbiology*.
- Silva, V., Montanarella, L., Jones, A., Fernández-Ugalde, O., Mol, H.G.J., Ritsema, C.J., Geissen, V. Distribution of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in agricultural topsoils of the European Union (2018) *Science of the Total Environment*, 621, pp. 1352-1359.
- Silva, V., Mol, H.G.J., Zomer, P., Tienstra, M., Ritsema, C.J., Geissen, V. Pesticide residues in European agricultural soils - A hidden reality unfolded (2019) *Science of the Total Environment*, 653, pp. 1532-1545.
- Storck, V., Nikolaki, S., Perruchon, C., Chabanis, C., Sacchi, A., Pertile, G., Baguelin, C., Karas, P.A., Spor, A., Devers-Lamrani, M., Papadopoulou, E.S., Sibourg, O., Malandain, C., Trevisan, M., Ferrari, F., Karpouzas, D.G., Tsiamis, G., Martin-Laurent, F. Lab to field assessment of the ecotoxicological impact of chlorpyrifos, isoproturon, or tebuconazole on the diversity and composition of the soil bacterial community (2018) *Frontiers in Microbiology*, 9 (JUN), art. no. 1412, .
- Sułowicz, S., Cyco, M., Piotrowska-Seget, Z. Non-target impact of fungicide tetraconazole on microbial communities in soils with different agricultural management (2016) *Ecotoxicology*, 25 (6), pp. 1047-1060.
- Van Bruggen, A.H.C., He, M.M., Shin, K., Mai, V., Jeong, K.C., Finckh, M.R., Morris, J.G., Jr. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate (2018) *Science of the Total Environment*, 616-617, pp. 255-268.
- Van der Wal, A., W. Hennen en T. de Koeijer. 2019. Bodem- en waterkwaliteit in de Nederlandse landbouw. Relatie tussen bodemorganische stof en nitraatuitspoeling op melkveebedrijven op zandgrond. *Bodem* 5, 34-36.
- Verhagen, F., & Pieter Ottow, B. (2017). Rapportage meetronde grondwaterkwaliteit provincie Gelderland 2015: Meetronde grondwaterkwaliteit: Royal HaskoningDHV in opdracht van Provincie Gelderland. WATBE6478101100R001F01.

►► 9 BIJLAGE 2 MSPAF-KLASSEN VOOR ALLE MONSTERS BOVEN DE DETECTIELIMIET

SampleID	Chronic.All
B43G0138.001:22-1-2016	0,5102851
B44G0237.002:10-2-2016	0,00024198
B44G0237.002:14-2-2012	0,00023517
B44G0238.001:22-10-2007	0,07275408
B44G0238.001:37893	0,00314197
B44H0098.001:14-3-2016	0,01705795
B44H0175.001:25-1-2016	0,02878125
B44H0175.002:25-1-2016	0,02400405
B45B0121.001:13-2-2012	0,00051385
B45B0121.001:27-1-2016	0,00014811
B45B0264.001:12-1-2016	0,00085508
B45B0307.002:1-10-2007	0,00048649
B45B0555.001:6-3-2012	0,00187457
B45B0564.001:7-4-2016	0,00262967
B45C0370.002:4-3-2016	0,00032844
B45D0121.001:19-1-2012	0,0009141
B45D0121.001:28-1-2016	0,0007686
B45D0121.002:19-1-2012	0,00561057
B45D0121.002:28-1-2016	0,01044312
B45E0392.001:6-3-2012	0,00193231
B45E0392.001:7-4-2016	0,00285548
B45E0392.001:9-9-2003	0,00197705
B45E0400.001:6-3-2012	0,00189622
B45F0204.001:1-1-1998	0,00130789
B45F0995.001:8-3-2016	0,00053808
B45G0098.001:1-1-1998	0,04177403
B45G0989.001:12-3-2012	0,23168967
B46C0054.001:13-11-2007	0,00160255
B46C0054.001:23-2-2016	0,00053808
B46C0109.001:13-11-2007	0,01709878
B46C0109.001:21-1-2016	0,02644795
B46C0109.001:37934	0,00926004
B46D0189.001:21-1-2016	0,02170267
B46D0373.001:15-8-2007	0,00422728
B46D0373.002:15-8-2007	0,00010764
B49B0399.001:6-3-2012	0,00174457
B49B0579.002:7-12-2007	0,00031387
B49E0297.001:1-1-1998	0,00194332
B49E0297.001:15-1-2008	0,01876217
B49E0297.001:37888	0,00186516
B49F0531.001:4-4-2016	0,00053212
B49G0208.001:15-1-2016	0,00961522

SampleID	Chronic.All
B50A0301.001:18-12-2007	0,00084379
B50A0302.001:25-9-2003	0,00087143
B50B0291.001:37890	0,03631028
B50D0012.001:1-1-1998	0,00192375
B50F0155.001:26-1-2016	0,17253722
B50F0156.001:17-3-2016	0,00254508
B50F0439.001:26-1-2016	0,0272385
B50F0439.001:30-1-2012	0,02778869
B50G0079.001:4-3-2016	0,00068989
B50G0079.003:4-3-2016	0,002921
B50H0043.001:1-1-1998	0,00167694
B50H0043.001:27-11-2007	0,06995603
B51A0138.001:24-3-2016	0,00163571
B51B0104.001:10-3-2016	0,00372562
B51B0104.001:21-2-2012	0,00422636
B51B0105.001:21-3-2016	0,00029976
B51C0150.001:1-1-1998	0,00130789
B51C0150.001:37883	0,00034994
B51C0393.0051:9-9-2003	0,00057376
B51C0394.001:6-4-2016	0,00033932
B51D0209.001:1-1-1998	0,00264496
B51D0209.001:15-2-2008	0,00031387
B51E0131.001:18-3-2016	0,00316824
B51E0133.001:1-1-1998	0,00130789
B51F0106.001:1-10-2007	0,00209951
B51F0106.001:9-9-2003	0,01490128
B51F0250.001:1-1-1998	0,00348046
B51F0250.001:10-1-2012	0,00182422
B51F0250.001:2-2-2016	0,0091896
B51F0250.001:23-10-2007	0,00419839
B51F0250.001:37873	0,00537905
B51G0228.001:3-10-2007	0,00083706
B51G0683.001:9-9-2003	0,00182363
B52A0116.001:23-3-2016	0,00029976
B52A0162.001:23-2-2016	0,00157537
B52A0162.001:6-12-2007	0,00058345
B52B0235.002:7-6-2016	0,0001861
B52B0299.001:19-9-2007	0,000156
B52B0299.001:22-6-2016	0,00025332
B52B0597.001:1-10-2007	0,00285628
B52B0599.001:09/09/2003	0,00057376
B52B0599.001:1-10-2007	0,00461981

SampleID	Chronic.All
B52B0599.001:12-4-2016	0,00023175
B52B0599.001:8-3-2012	0,00060267
B52D0110.001:1-6-2016	0,01148841
B52D0110.001:18-10-2007	0,08059912
B52D0110.001:2-8-2012	0,00234048
B52E0104.001:22-3-2012	0,0006898
B52G0211.001:28-6-2016	0,00304192
B52G0211.003:28-6-2016	0,00256247
B52H0046.001:15-6-2016	0,00164913
B52H0046.001:3-5-2012	0,0021029
B57A0036.001:1-1-1998	0,00343773
B57A0036.001:22-11-2007	0,00258246
B57A0036.001:24-2-2016	0,00022075
B57A0036.001:37880	0,00298112
B57A0067.002:10-3-2016	0,01344726
B57A0068.001:1-1-1998	0,00394939
B57A0068.001:10-3-2016	0,00367479
B57A0068.001:28-11-2007	0,00376521
B57A0068.001:37883	0,00559523
B57E0114.001:21-3-2016	0,00443361
B57E0114.001:6-3-2012	0,00184569
B57E0339.001:2-10-2007	0,00677159
B57E0339.001:9-9-2003	0,02412524
B57E0340.001:12-4-2016	0,0066904
B57F0086.001:7-7-2016	0,00089919
B57G0017.001:6-3-2012	0,00177347
B58A0153.001:8-8-2007	0,00073437
B58A0154.001:8-8-2007	0,00073437
B58A0155.001:29-3-2012	0,00019613
B58A0155.003:29-3-2012	0,00031289
B58A0155.003:6-7-2016	0,00143839
B58C0341.002:17-10-2007	0,0751335
B58C0341.002:27-5-2016	0,00231276
B58C0342.001:17-10-2007	0,04479793
B58C0343.001:17-10-2007	0,00057515
B58C0345.001:17-10-2007	0,00821408
B58C0345.001:26-5-2016	0,00681062
B58C0345.001:27-5-2016	0,00337685
B58C0345.002:17-10-2007	0,02269952
B58C0350.001:18-10-2007	0,07029388
B58C0353.001:2-4-2012	0,00395445
B58C0353.001:24-7-2007	0,03202377
B58C0365.002:26-5-2016	0,00029976
B58C0365.002:27-5-2016	0,00149077
B58D0666.001:26-3-2012	0,00937149
B58D0666.001:4-7-2016	0,00372708
B58E0202.001:19-9-2007	0,00134639
B60A0356.001:22-10-2007	0,00023535

SampleID	Chronic.All
B60A0356.001:6-6-2016	0,00100784
B60A0364.001:23-10-2007	0,0134782
B60A0364.002:6-6-2016	0,00108676
B60A1757.001:6-6-2016	0,00132729
B60B0102.001:14-8-2012	0,00253641
B60B0124.001:20-3-2012	0,0003715
B60B0124.001:4-7-2016	0,00035858
B60C1081.001:13-7-2016	0,00234446
B60C1081.001:20-3-2012	0,00130928
B61F0310.001:18-5-2016	0,00156862
B62A0355.001:18-5-2016	0,00145816
B62A0391.001:11-10-2007	0,00023535
B62A0430.001:15-10-2007	0,00103952
B62A0432.001:15-10-2007	0,00442141
B62A0445.001:24-5-2016	0,00194835
B62A0481.001:18-5-2016	0,00170222
B62A2946.001:24-5-2016	0,00158922
B62B0890.001:25-5-2016	0,00307968
B62B0900.001:29-6-2016	0,00122237
B62B0911.001:25-5-2016	0,003538
B62C0096.001:24-5-2016	0,00236501
CPGB-022:3-10-2007	0,00010764
CPGB-026:3-10-2007	0,00126969
CPGE-062:11-10-2007	0,00358657
CPGE-062:17-8-2012	0,03259216
CPGE-062:20-7-2016	0,02028749
CPMA-002:19-7-2016	0,00102905
CPMA-002:3-10-2007	0,22943333
CPMA-034:20-7-2016	0,02216759
CPMA-034:3-10-2007	0,01011001
CRGE-032:8-10-2007	0,05648296
MPGE-006:9-10-2007	0,0001143
MPGU-007:4-12-2007	0,00352864
MPGU-008:9-10-2007	0,00016744
MPNO-001:17-8-2012	0,00245042
MPNO-001:21-7-2016	0,00607875
MPNO-002:9-10-2007	0,00043168
UBEY-002:1-10-2007	0,00013241
UBEY-025:1-10-2007	0,18953877



Kennisimpuls
WATERKWALITEIT