

Nederlands Instituut voor Visserij Onderzoek (RIVO) BV

Postbus 68
1970 AB IJmuiden
Tel.: 0255 564646
Fax.: 0255 564644
E-mail: visserijonderzoek.asg@wur.nl
Internet: www.rivo.wageningen-ur.nl

Centrum voor
Schelpdier Onderzoek
Postbus 77
4400 AB Yerseke
Tel.: 0113 672300
Fax.: 0113 573477

Rapport

Nummer: C062/05

Resultaten van het RWS-RIKZ JAMP 2005 monitoring-programma van schar (*Limanda limanda* L.): Biologische gegevens van schar en milieukritische stoffen in schar

Dr. M.J.J. Kotterman

Opdrachtgever: RWS/RIKZ
Postbus 20907
2500 EX 's-Gravenhage

Project nummer: 3421227009

Contract nummer: RKZ-1521

Akkoord: prof.dr. J. de Boer

Handtekening: _____

Datum: 7 oktober 2005

Aantal exemplaren: 5
Aantal pagina's: 12
Aantal bijlagen: 15

In verband met de
verzelfstandiging van de
Stichting DLO, waartoe tevens
RIVO behoort, maken wij sinds 1
juni 1999 geen deel meer uit van
het Ministerie van Landbouw,
Natuur en Voedselkwaliteit. Wij
zijn geregistreerd in het
Handelsregister Amsterdam nr.
34135929
BTW nr. NL 811383696B04.

De Directie van het Nederlands Instituut voor Visserij Onderzoek (RIVO) BV is niet aansprakelijk voor gevolgschade, alsmede voor schade welke voortvloeit uit toepassingen van de resultaten van werkzaamheden of andere gegevens verkregen van het Nederlands Instituut voor Visserij Onderzoek (RIVO) BV; opdrachtgever vrijwaart het Nederlands Instituut voor Visserij Onderzoek (RIVO) BV van aanspraken van derden in verband met deze toepassing.

Dit rapport is vervaardigd op verzoek van de opdrachtgever hierboven aangegeven en is zijn eigendom. Niets van dit rapport mag weergegeven en/of gepubliceerd worden, gefotokopieerd of op enige andere manier zonder schriftelijke toestemming van de opdrachtgever.

Inhoudsopgave

| | |
|---|----|
| Inhoudsopgave | 2 |
| Samenvatting | 3 |
| 1. Inleiding | 4 |
| 2. Taakomschrijving RIVO..... | 5 |
| 3. Materialen en methoden..... | 6 |
| 3.1 Uitvoering visserij..... | 6 |
| 3.2 Bemonstering | 6 |
| 3.2.1 Werkplan | 6 |
| 3.2.2 Bemonstering voor histologie en analyses van PAKs en DNA | 7 |
| 3.2.3 Bemonstering voor bestandsopnamen..... | 7 |
| 3.2.4 Bemonstering voor leeftijdsopbouw..... | 8 |
| 3.2.5 Bemonstering voor visziekteregistraties | 8 |
| 3.2.6 Bemonstering voor analyses van PCBs, HCB en spoorelementen..... | 9 |
| 3.2.7 Bemonstering voor conditieberekening..... | 9 |
| 3.3 Analysemethoden..... | 9 |
| 3.3.1 PCBs en HCB..... | 9 |
| 3.3.2 Kwik | 9 |
| 3.3.3 Koper, zink, cadmium en lood | 10 |
| 3.3.4 Vet | 10 |
| 3.3.5 Vocht..... | 10 |
| 3.4 Kwaliteitsborging | 10 |
| 4. Resultaten | 12 |

Samenvatting

In opdracht van RWS/RIKZ werd door het RIVO in het kader van het Joint Assessment and Monitoring Program van OSPARCOM het scharonderzoek 2005 uitgevoerd. De werkzaamheden bestonden uit het verzamelen van monsters schar en het analyseren van deze monsters op biologische parameters en milieukritische stoffen.

De gegevens van dit onderzoek worden hierbij gepresenteerd. Het bemonsteringsprogramma is geheel uitgevoerd. In tegenstelling tot de voorgaande jaren is de bemonstering nu uitgevoerd met het schip "de Zirfaea". Ondanks de andere manier van vissen die dit met zich heeft meebracht is de bemonstering goed verlopen.

Niet alle benodigde scharren konden worden gevangen, in enkele gevallen (grote, mannelijke scharren voor visziekteonderzoek) bleven de aantallen beneden de norm. De werkzaamheden werden volgens protocol uitgevoerd.

1. Inleiding

De in dit rapport beschreven werkzaamheden werden door het Nederlands Instituut voor Visserijonderzoek uitgevoerd op basis van een opdracht van Rijkswaterstaat-Rijksinstituut voor Kust en Zee in het kader van het Joint Assessment and Monitoring Program van OSPARCOM. De opdracht hield in het uitvoeren van activiteiten voor het verkrijgen van biologische gegevens van schaar en het aanleveren van deze gegevens. Tevens diende materiaal te worden verzameld voor chemisch onderzoek, ten dele voor analyse-uitvoering door RIVO. Tenslotte moesten de biologische gegevens en de analyseresultaten in diverse vormen worden aangeleverd.

De opdracht is bekrachtigd in overeenkomst RKZ-1521 en geldt voor een termijn van een jaar. De uitvoering in 2005 is de dertiende van een serie van opeenvolgende jaarlijkse bemonsteringen.

Vanuit het RIKZ werd het project geleid en gecoördineerd door R. Bovelander. Vanuit het RIVO fungeerde dr. M.J.J. Kotterman als projectleider. De veldwerkzaamheden op zee werden verricht door J. Jol en E. van Barneveld van RIVO. De leeftijd van de vissen werden afgelezen door P. Groot (RIVO), de analyses van PCBs, HCB, PAKs en spoorelementen werden uitgevoerd door de afdeling M&V van het RIVO.

2. Taakomschrijving RIVO

In het kader van de bovengenoemde opdracht werden aan het RIVO de volgende werkzaamheden opgedragen:

1. Het organiseren van visserijwerkzaamheden
2. Het uitvoeren van visserij
3. Het bemonsteren van totale vangsten inclusief afvalmateriaal
4. Het bemonsteren van schar
5. Het uitvoeren van biologisch onderzoek
6. Het verzamelen van materiaal voor chemische analyses
7. Het uitvoeren van chemische analyses
8. Het presenteren van de verzamelde gegevens

3. Materialen en methoden

3.1 Uitvoering visserij

De visserij werd uitgevoerd met het onderzoekingsvaartuig *Zirfaea* van de meetdienst Noordzee. De visserij vond plaats van 7 tot 10 maart.

De weersomstandigheden in deze periode waren redelijk, al was er de laatste dag een stevige wind.

Als vistuig werd een 6 m boomkornet gebruikt met een maaswijdte van 4 cm. Omdat in het verleden bij visserij met de *Tridens* met een dubbel boomkornet van 8 meter trekken van 30 minuten werden gedaan, zijn er nu langere trekken uitgevoerd (tot 1,5 uur).

Er werd gevist op vergelijkbare posities als in 2003, te weten:

Locaties bemonstering schar 2005 voor visziekte-monitoring en chemische analyses.

| Locatiecode | Gemidd. beviste positie | Omschrijving | DONAR locatiecode |
|--------------|-------------------------|------------------------------|-------------------|
| 6-S | 53°42'N 04°49'E | ± 50 km NW. van Terschelling | TERSLNWT40 |
| 14-S | 52°28'N 03°25'E | ± 90 km W. van Callantsog | IJMDWT80 |
| Ts 235/275-S | 55°15'N 03°12'E | Doggersbank | DOGGBK |

Deze posities wijken op grond van (eerdere) ervaringen betreffende mindere vangsten of onbevisbare bodem soms iets af van de oorspronkelijk gekozen posities.

Alle gegevens uit het visserijlogboek worden vermeld in bijlage 1, een kaart met de beviste locaties wordt gegeven in bijlage 2.

3.2 Bemonstering

3.2.1 Werkplan

Bij iedere trek werden visserijgegevens als positie, trekduur en vissnelheid genoteerd. Op iedere locatie werd tevens temperatuur, zuurstofspanning en saliniteit gemeten van de hele waterkolom.

Als de vangst aan dek kwam werd direct een aantal levendige scharren uitgezocht om te worden bemonsterd voor histologische doeleinden naast analyses van PAKs en DNA (3.2.2). Dit jaar werd ook informatie over maag- en darminhoud en herkenbare voedselresten bepaald.

Vervolgens werd alle schar uitgezocht voor een bestandsopname (3.2.3), bij grotere vangsten werd hiertoe een a-select genomen deelmonster gebruikt. Tegelijkertijd werd alle afvalmateriaal geregistreerd. Bij de eerste trek op iedere locatie werd tevens een bestandsopname van overige vis en benthos uitgevoerd.

Vervolgens werd de vangst voor zowel leeftijdsbepaling (3.2.4) als visziekteregistratie (3.2.5) bemonsterd. Tenslotte werd de voor analyses van PCBs, HCB en spoorelementen (3.2.6) bruikbare schar uitgeselecteerd en ingevroren. Van deze groep werden in een later stadium tevens conditiefactoren berekend (3.2.7).

3.2.2 Bemonstering voor histologie en analyses van PAKs en DNA

Direct nadat de vangst aan dek kwam werd een aantal scharren geselecteerd, per locatie 15 mannetjes en 15 vrouwtjes, merendeels uit de eerste trek, van 20-25 cm voor nader onderzoek.

Van deze vissen werden individuele gal- en levermonsters verzameld voor respectievelijk PAKs analyse en DNA onderzoek. Tevens werden individuele levermonsters verzameld voor histologische doeleinden en in een fixatief bewaard.

De benodigde vis werd, net als vorig jaar, niet op basis van een gezonde status geselecteerd, maar a-select uit de vangst genomen. Deze vis werd tevens op de ziektereregistratie- en bestandslijsten toegevoegd.

Van alle vissen werden lengte, dicht gewicht en gewichten van lever en gonade bepaald. Een overzicht van deze gegevens wordt vermeld in bijlage 3.

3.2.3 Bemonstering voor bestandsopnamen

Voor het onderdeel samenstelling en dichtheid werden van iedere trek alle scharren geslacht en lengte bepaald en waar nodig ook het gewicht. Bij alle vangsten werd hiertoe een a-select genomen deelmonster gebruikt. De eerder uit de vangst genomen vis voor histologie werd hierbij meegeteld.

De aantallen per trek per half visuur, verdeeld in lengteklassen, worden gegeven in bijlage 4. De gemiddelde aantallen per locatie per ha, verdeeld volgens lengte- zowel leeftijdsklassen, zijn weergegeven in bijlage 5.

Bij de eerste trek op iedere locatie werd ook de gehele overige vangst of een deelmonster daarvan bemonsterd. Hierbij werden de aantallen van de verschillende soorten vis en benthos

genoteerd, de vis werd ook gemeten. De resultaten hiervan worden, per 90 minuten vissen, gegeven in bijlage 6.

Voorts werd bij iedere trek ook het opgeviste afvalmateriaal geregistreerd, een overzicht hiervan wordt gegeven in bijlage 7.

3.2.4 Bemonstering voor leeftijdsopbouw

Op iedere locatie werden van vijf scharren per cm-klasse geslacht, (dicht) gewicht en leeftijd bepaald. Een overzicht van het aldus verzamelde materiaal, uitgebreid met de voor contaminanten analyse geselecteerde dieren, wordt gegeven in bijlage 8.

Hieruit werden vervolgens, per gebied en geslacht afzonderlijk, de verdelingen berekend van de diverse leeftijden binnen elke cm-klasse. Deze worden gegeven in bijlage 9.

Bij de berekening van een bestand in leeftijdsklassen was het incidenteel nodig, wegens het ontbreken van leeftijdsmateriaal van een bepaalde lengte, deze verdeling te schatten. Dit geschiedde indien mogelijk door interpolatie uit de omringende cm-klassen.

3.2.5 Bemonstering voor visziekteregistraties

Het onderzoek op visziekten diende a-select te geschieden, daarom werd alle voor diverse doeleinden, al of niet selectief, uit de vangst genomen schar hierbij meegeteld.

Voor het onderzoek werd de vis eerst schoon gespoeld, vervolgens werden van diverse lengtegroepen protocollair vastgestelde aantallen onderzocht. Deze normen werden in de hogere lengteklassen meestal niet gehaald door geringe aanwezigheid in de vangsten.

Alle schar werd uitwendig onderzocht op het voorkomen van epidermale papilloma's, Lymphocystis infecties, huidzweren, pigmentafwijkingen (groen-zwart verkleuring, hypermelanisatie) en Stephanostomum infecties. De vis van 20 cm en groter werd bovendien inwendig onderzocht op de aanwezigheid van Glugea infecties en levertumoren. Van de ziekten glugea, stephanostomum en groen pigment werd de plaats van de aandoening niet vermeld omdat deze ziekten respectievelijk altijd voorkomen bij de darm, onderkant en bovenkant van de schar. Naast het voorkomen werd bij alle aandoeningen tevens naar de mate van infectie gekeken. Voorts werden lengte en geslacht genoteerd.

Een overzicht van de verzamelde gegevens over visziekten wordt per trek, geslacht en lengtegroep afzonderlijk in tabelvorm gegeven in bijlage 10. Een samenvatting per locatie volgens ICES model wordt gegeven in bijlage 11. Geheelde aandoeningen staan wel vermeld, doch werden niet meegeteld in de ICES modellen. Ook hypermelanisatie en Stephanostomum infecties worden niet op de ICES modellen vermeld.

3.2.6 Bemonstering voor analyses van PCBs, HCB en spoorelementen

Voor de analyse van milieukritische stoffen (PCBs, HCB, spoorelementen) werden per trek ± 25 uitwendig gezonde vrouwelijke scharren uit de 20-24 cm klasse uit de vangst gezocht en op een snelle wijze ingevroren. Dit geschiedde door ze in een plastic zak in een dunne laag op droogijs te spreiden, de lucht eruit te duwen en vervolgens ook met droogijs te bedekken. Op deze wijze wordt de vis zeer snel ingevroren en blijft met name de lever compact en in een later stadium eenvoudig uit te prepareren. De plakken werden gelabeld en ± 2 maanden diepgevroren (-20°C) bewaard.

Bij de verdere verwerking werd deze vis op inwendige aandoeningen onderzocht en toegevoegd op de formulieren voor ziekteregistratie. Vervolgens werden van 20 zowel in- als uitwendig gezonde exemplaren per trek (60 per locatie) lever en spierweefsel uitgerepareerd voor contaminanten analyse.

Als biologische parameters werden lengte, geslacht, (dicht) gewicht en leeftijd bepaald; deze worden gegeven in bijlage 12.

De uiteindelijke analyseresultaten staan vermeld in bijlage 14.

3.2.7 Bemonstering voor conditieberekening

De conditiefactoren werden berekend door per locatie at random 25 gezonde vrouwen van 20-24 cm te selecteren. De berekening geschiedde volgens 100 maal (gestript) gewicht in g gedeeld door lengte in cm^3 , de uitkomsten inclusief uitgangsmateriaal staan vermeld in bijlage 13.

3.3 Analysemethoden

3.3.1 PCBs en HCB

De monsters worden opgewerkt door middel van een Soxhlet extractie. De chloorverbindingen worden uit de lipidfractie geïsoleerd door een tweevoudige kolomchromatografische scheiding, waarna analyse plaatsvindt met behulp van gaschromatografie. De monsters worden gemeten tegen een kalibratielijn.

3.3.2 Kwik

Voor de bepaling wordt het monster in een teflon buis gedestruerd met salpeterzuur in een microwave oven. Bij de bepaling van het gehalte aan kwik in het destruaat wordt vlamloze atoom absorptie spectrometrie toegepast. De monsters worden gemeten tegen een kalibratielijn.

3.3.3 Koper, zink, cadmium en lood

Voor koper, zink, cadmium en lood werd de methode met microwave destructie en ICP-MS gebruikt. Voor de bepaling wordt het monster in een teflon buis gedestruëerd met salpeterzuur in een microwave oven. Het gehalte aan koper, cadmium, lood en zink in het destruaat wordt bepaald met behulp van ICP-MS. Om te corrigeren voor respectievelijk matrixeffecten en fluctuaties in de apparatuur wordt standaardadditie toegepast en gemeten in aanwezigheid van voor de te bepalen componenten geschikte diverse interne standaarden.

3.3.4 Vet

De bepaling van vrij extraheerbaar vet wordt uitgevoerd als onderdeel van de PCB analyse. Na de Soxhlet extractie wordt een deel van het extract drooggedampt en het residue gewogen. De totaal vet bepaling geschiedt volgens een aangepaste versie van de Bligh en Dyer methode, gebaseerd op een koude chloroform-methanol extractie.

3.3.5 Vocht

Voor de bepaling wordt het monster gemengd met een oppervlakte vergrotende stof (hyflo), vervolgens gedroogd in een stoof en na afkoelen in een exiccator gewogen.

3.4 Kwaliteitsborging

De kwaliteit van de analysemethoden van de afdeling Milieu en Voedselveiligheid wordt op verschillende manieren gewaarborgd. De methoden zijn uitvoerig gevalideerd. Enkele resultaten van de validatieparameters staan weergegeven in bijlage 15. De juistheid van de analysemethoden wordt regelmatig getoetst door deelname aan ringonderzoeken waaronder aan het QUASIMEME-project. Resultaten van ronde 38 en 40 staan weergegeven in bijlage 15. Daarnaast worden de resultaten van elke (serie van) meting(en) gecontroleerd door het gebruik van gecertificeerd en/of intern referentiemateriaal. De "gecertificeerde" gehalten en de waarden van de waarschuwingsgrens (tweemaal standaarddeviatie) van de gebruikte referentiematerialen staan weergegeven in bijlage 15. Deze gegevens worden in kwaliteitscontrolekaarten bijgehouden conform ISW nr. K006 (Baerveldt, 1999). Het totale managementsysteem van het RIVO voldoet aan de criteria gesteld in de norm NEN-ENISO 9001:2000. Een certificaat hiervoor is verkregen op 27 februari 2001 en geldig tot 15 december 2006, het laatste controlebezoek vond plaats op 14-15 oktober 2004.

Daarnaast voldoet het cluster Milieu en Voedselveiligheid sinds 27 maart 1997 aan de accreditatie criteria voor testlaboratoria zoals vastgelegd in NEN-EN-ISO/IEC 17025:2000. Het huidige certificaat is verkregen op 27 maart 1997 en geldig tot 27 maart 2009. Het laatste controlebezoek vond plaats op 2-3 november 2004.

De methoden voor PCB, HCB, PAks, koper, zink, lood, cadmium, vetgehalte en vochtgehalte zijn geaccrediteerd.

Hierbij werden de volgende Interne Standaard Werkvoorschriften (ISWs) gebruikt:

| | |
|----------------------------|---|
| Kwik | ISW A021 "Vis en visserijproducten. Bepaling van kwik door vlamloze atoom absorptie spectrometrie" |
| Koper, zink, cadmium, lood | ISW A099 "Vis en visserijproducten. Bepaling van het gehalte cadmium, koper, lood en zink na microwave destructie met inductief gekoppeld plasma-massa spectrometrie" |
| PCBs, HCB | ISW A002 "Vis en visserijproducten. Bepaling van PCBs en andere gehalogeneerde microverontreinigingen in vis" |
| Vetgehalte | ISW A004 "Vis en visserijproducten. Bepaling van het totaal vetgehalte volgens Bligh and Dyer" |
| Vochtgehalte | ISW A034 "Vis en visserijproducten. Bepaling van het gehalte aan vocht (droogstoofmethode)" |

4. Resultaten

De verzamelde gegevens en analyse uitkomsten worden gegeven in tabellen. De gegevens over visziekten worden verwerkt tot een ICES-data file, de uitkomsten van de chemische analyses tot een D(onar)I(nterface)F(ile). De tabellen worden gepresenteerd op aparte bijlagen volgens onderstaande lijst:

| <i>Bijlage</i> | <i>aantal</i> | |
|----------------|-----------------|--|
| <i>nummer</i> | <i>tabellen</i> | |
| 1 | 1 | Gegevens uit visserijlogboek |
| 2 | 1 | Kaart met posities |
| 3 | 3 | Biologische parameters histologie, PAKs- en DNA-vis |
| 4 | 3 | Bestandsopname schar, per trek |
| 5 | 2 | Bestandsopname schar |
| 6 | 3 | Bestandsopname gehele vangst |
| 7 | 1 | Registratie afvalmateriaal |
| 8 | 3 | Basismateriaal leeftijdsopbouw |
| 9 | 3 | Lengte/leeftijd sleutels |
| 10 | 9 | Registratie visziekten, per trek |
| 11 | 3 | Registratie visziekten vgl. ICES model |
| 12 | 3 | Biologische parameters PCBs-, HCB- en spoorelementen-vis |
| 13 | 3 | Conditiefactoren |
| 14 | 2 | Analyse uitkomsten |
| 15 | 3 | Validatiegegevens |