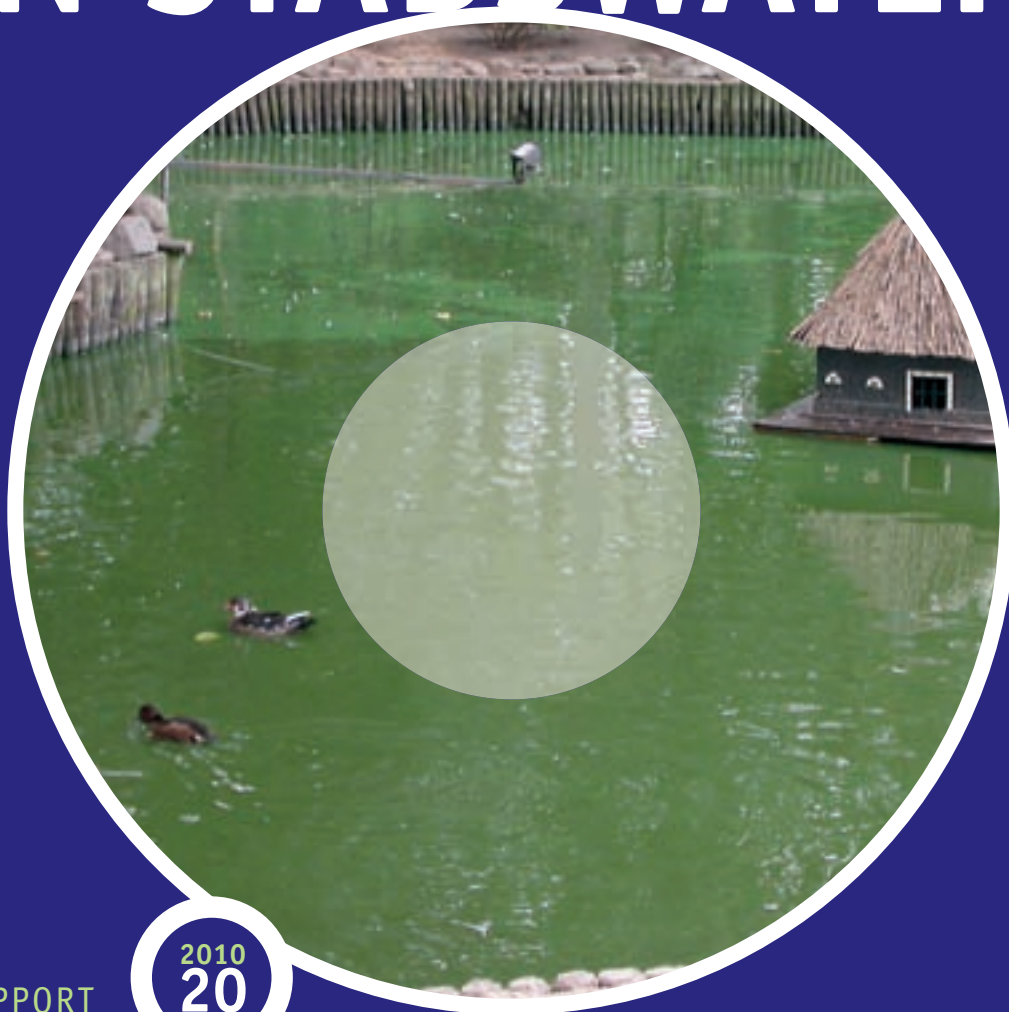


stowa

VERKENNEND ONDERZOEK NAAR BLAUWALGENBLOEI  
IN DE WOONOMGEVING

# BLAUWALGEN IN STADSWATER



RAPPORT

2010  
20

VERKENNEND ONDERZOEK NAAR BLAUWALGENBLOEI IN DE WOONOMGEVING  
BLAUWALGEN IN STADSWATER

STOWA

2010

20

ISBN 978.90.5773.483.0



# COLOFON

Amersfoort, mei 2010

UITGAVE STOWA, Amersfoort

AUTEUR M. Lurling Wageningen Universiteit en Researchcentrum  
J.F.X. van Oosterhout Wageningen Universiteit en Researchcentrum  
W. Beekman Wageningen Universiteit en Researchcentrum

REDACTIE H. van Dam Adviseur Water en Natuur

FOTO'S OMSLAG EN IN RAPPORT M. Lurling Wageningen Universiteit en Researchcentrum

DRUK Kruyt Grafisch Adviesbureau

STOWA rapportnummer 2010-20  
ISBN 978.90.5773.483.0

# TEN GELEIDE

In januari 2006 is door Wageningen University begonnen met een inventarisatie van bloei van cyanobacteriën ('blauwwieren') in de woonomgeving. Uit pragmatische overwegingen werd gestart met de Molenwielvijver in Sint-Oedenrode, waar 's zomers regelmatig cyanobacteriënbloei optreedt. In de extreem warme zomer werd een 'snapshot' van tientallen vijvers in Brabant en Gelderland gemaakt. Tijdens het overheerlijke weer voor het veldwerk troffen de onderzoekers geregeld vissers, hondenbezitters en kinderen bij of zelfs in de blauwgroene soep. Ze werden regelmatig aangesproken door omwonenden, die hen haast smekend verzochten iets aan die 'stinkende brij' te doen.

Nadat een journalist bij de onderzoekers had geïnformeerd over waterkwaliteitsproblemen in die zomer en zij hun observaties hadden verteld, stonden de stadswateren en de blauwalgenproblematiek ineens volop in de belangstelling. Niet iedereen was daar blij mee. Na lezing van dit rapport komt u echter wellicht tot het inzicht dat de cyanobacteriënproblematiek reëel is en dat een beeld als hieronder, van in de groene drab spelende kinderen, vrij algemeen voorkomt en dat niet alleen op de officiële zwemlocaties.

Dit rapport geeft een beeld wat zoal in de leefomgeving aan cyanobacteriënbloei kan voorkomen en welke gevolgen de voorspelde veranderingen in het klimaat kunnen hebben op het overal aanwezige oppervlaktewater in de nabijheid van bebouwing.

Mede naar aanleiding van de bevindingen in dit rapport is een heel onderzoekprogramma gestart, dat moet leiden tot een stevig gefundeerde aanpak van blauwalgen. De STOWA vond het onderzoek en de resultaten ervan zo interessant, dat besloten is het rapport onder te brengen in de STOWA-rapport-tenreeks. Aanvullend argument daarbij is dat de inhoud van het rapport nauw aansluit bij STOWA-rapport 2009-43 'Blauwalgen: giftig groen. De biologie en risico's van cyanobacteriën'.

Utrecht, mei 2010

De directeur van de STOWA

Ir. J.M.J. Leenen

# SAMENVATTING

Stadswateren vervullen vaak een belangrijke recreatieve functie. De ligging in directe nabijheid van bebouwing en makkelijke bereikbaarheid maakt dat de bevolking door allerlei activiteiten op en nabij het water geregeld contact heeft met het oppervlaktewater in de woonomgeving. Dit water kan door riooloverstorten, lokaasgebruik in de hengelsport en (voeren van) aanwezige watervogels in de loop der jaren aanzienlijk vermest geraken. Als gevolg van de voedselrijkdom van het water kunnen in de veelal relatief kleine, stilstaande en ondiepe stedelijke wateren blauwalgen (cyanobacteriën) zich tot hoge dichtheden vermenigvuldigen. Het vermogen van cyanobacteriën om diverse gifstoffen te produceren en in hoge concentraties te accumuleren aan het wateroppervlak (een drijfslag te vormen), veelal gepaard gaande met stankoverlast, leidt tot onwenselijke situaties met mogelijk schadelijke effecten voor mens en dier.

De leerstoelgroep Aquatische Ecologie en Waterkwaliteitsbeheer van Wageningen University is in 2006 begonnen met een inventarisatie van cyanobacteriënbloei in stedelijk water. De hoeveelheid cyanobacteriën, de soortensamenstelling, het voorkomen van drijfslagen, de hoeveelheid gifstoffen en een aantal milieuv variabelen worden in kaart gebracht. Om een eerste indruk te verkrijgen van de cyanobacteriënbloei in oppervlaktewater in de woonomgeving, is in de zomer van 2006 (juli, augustus) een kleine selectie van 50 verschillende stadswateren in Noord-Brabant en Gelderland bemonsterd. Twee vijvers zijn gedurende 2006 intensiever bemonsterd om een indruk te verkrijgen van het verloop van de cyanobacteriënbloei in deze vijvers.

De cyanobacteriën werden gekwantificeerd en onderscheiden van eukaryote algen met behulp van *in vivo* chlorofyl-*a* fluorescentie. Gecontroleerde laboratoriumtests lieten een zeer goed onderscheidend vermogen van de gebruikte apparatuur (PHYTO-PAM) zien. Het onderzoek toont aan dat spectrofluorometrie een zeer snelle methode is om cyanobacteriën te kwantificeren en te onderscheiden van eukaryote algen.

In 17 van de 50 onderzochte wateren werden vrijwel geen cyanobacteriën aangetroffen of was de hoeveelheid cyanobacteriënchlorofyl-*a* minder dan  $20 \mu\text{g l}^{-1}$ . In 13 wateren waren cyanobacteriën in behoorlijke hoeveelheden aanwezig (tot  $380 \mu\text{g l}^{-1}$ ), maar was er geen drijfslag. De resterende twintig wateren hadden een drijfslag en veelal hoge concentraties cyanobacteriën.

De meest voorkomende dominante cyanobacterie in de bloeien was *Microcystis* (52% van de bemonsterde bloeien), gevolgd door *Anabaena* (22% van de bemonsterde bloeien), *Planktothrix* (11% van de bemonsterde bloeien) en *Woronichinia* (7% van de bloeien). *Microcystis* soorten bleken ook de meest potente drijfslagvormers.

Omdat levertoxines het vaakste voor lijken te komen in een cyanobacteriënbloei, is in dit onderzoek in eerste instantie gekeken naar deze zogeheten microcystines. In zes wateren overschreed de in de waterkolom gemeten particuliere microcystineconcentratie de richtlijn van  $20 \mu\text{g l}^{-1}$ ; de hoogste gemeten concentratie in deze studie was  $95 \mu\text{g l}^{-1}$ . In drijfslagen werden veruit de hoogste microcystineconcentraties gemeten, tot ruim  $28000 \mu\text{g l}^{-1}$ . Daarnaast werd in alle geanalyseerde drijfslagmonsters het neurotoxische aminozuur BMAA aangetrof-

fen. BMAA was aanwezig in een vrije, oplosbare vorm en in een aan eiwit gebonden fractie. Het is evident dat het grootste gevaar voor mens en dier schuilt in deze drijfslagen, zelfs als er relatief lage concentraties microcystine worden gemeten, omdat er andere cyanotoxines aanwezig kunnen zijn. Maar ook vanwege het ontbreken van langetermijnstudies naar consequenties van geregelde blootstelling aan cyanogiffen, en omwille van onduidelijkheid betreffende mogelijke blootstellingroutes, is het aan te bevelen terughoudendheid te betrachten in blootstelling aan cyanobacteriënbloei en dan in het bijzonder drijfslagen. Adequate informatievoorziening en voorlichting aan burgers/omwonenden is hier gewenst.

Bij negen wateren werd een waarschuwing aangetroffen, wat in zeven gevallen gerechtvaardigd bleek. De wijze waarop burgers worden gewaarschuwd voor een cyanobacteriënbloei en drijfslag varieert enorm. Het is aan te bevelen een duidelijk en uniform waarschuwings- of informatiebord te realiseren.

Er werden 112 meldingen in de media gevonden over bloei van cyanobacteriën in 2006. Er zijn hotspots te onderscheiden rondom Enschede, in de Gooi- en Vechtstreek en in Noord-Brabant. Het is echter hoogst onwaarschijnlijk dat de problemen hier groter zijn dan elders. Er werden namelijk ook drijfslagen gevonden in vijvers in de 'blinde vlekken', waarover in de media geen meldingen zijn gevonden (bijvoorbeeld in Bennekom, Ede, Nijmegen en Wageningen) en waar ook ter plekke bij de vijvers geen waarschuwingen zijn aangetroffen. Adequate informatievoorziening ontbreekt nog veelal. Hier ligt wellicht een taak voor de regionale overheden. De zomer van 2006 kan gezien worden als een natuurlijk klimaatscenario-experiment. De overmatige bloeien van cyanobacteriën en drijfslagvorming in diverse oppervlaktewateren in 2006, onderstrepen de noodzaak voor aanvullende (en op zeer korte termijn effectieve) maatregelen om de KRW-doelstellingen te halen en mensen een veilige leefomgeving te bieden.

# 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 6,5 miljoen euro.

U kunt de STOWA bereiken op telefoonnummer: 033 - 460 32 00.

Ons adres luidt: STOWA, Postbus 2180, 3800 CD Amersfoort.

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

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

# SUMMARY

Urban waters often have important functions for recreation. Due to the proximity of houses and easy accessibility the inhabitants are regularly in contact with surface water bodies in their environment. Often these water bodies are polluted by storm water sewer outfalls, us of lure for fishes and (feeding of) water birds. In such enriched relatively small, stagnant and shallow urban water bodies cyanobacteria (blue green algae) can attain high densities. The capability of cyanobacteria to produce various toxins and to accumulate in high concentration at the water surface, often accompanies with odour problems causes undesirable situations with possibly harmful effects for humans and animals.

The Department of Aquatic Ecology and Water Quality Management at Wageningen University started an inventory of blooms of blue greens in urban waters in 2006. The quantity and species composition of cyanobacteria, the occurrence of floating masses, the quantity of toxic substances and a number of environmental variables were recorded. In order to get a first impression of the size of the problem a survey was carries out in fifty urban water bodies in the provinces of Noord-Brabant and Gelderland in July and August 2006. The changes in cyanobacteria were followed more intensively in two ponds in the course of the same year.

The cyanobacteria were quantified and distinguished from eukaryotic algae by means of *in vivo* chlorophyll-*a* fluorescence. Controlled laboratory tests showed a very good discriminative power of the PHYTO-PAM equipment used. The results show that spectrofluorometrie is a very rapid method for to quantify cyanobacteria and to distinguish them from eukaryotic algae.

In 17 out of the 50 investigated water bodies cyanobacteria were virtually absent or present with chlorophyll-*a* concentrations below 20 µg l<sup>-1</sup>. In 13 ponds cyanobacteria were present with conspicuous amounts (up to 280 µg l<sup>-1</sup>) without floating algal masses. In the other twenty water bodies surface blooms were observed, with often high concentrations of blue greens.

The most frequent dominant bloom former was *Microcystis* (52% of the blooms sampled), followed by *Anabaena* (22%), *Planktothrix* (11%) and *Woronichinia* (7%). *Microcystis* are also the most powerful formers of floating blooms.

As liver toxins are obviously the most frequent toxins in blooms of cyanobacteria these so called microcystines were studied at first. In six ponds the particle concentration of microcystine in the water column exceeded the standard of 20 µg l<sup>-1</sup>; the highest measured concentration was 95 20 µg l<sup>-1</sup>. By far the highest concentrations, over 28 000 µg l<sup>-1</sup> were measured in floating blooms. Moreover in all analysed samples of floating blue greens the neurotoxic amino acid BMAA was found. BMAA was present both in a free, soluble form and as a fraction bound to proteins. Obviously the floating blooms cause the highest risks for animal and human health, even if low concentrations of microcystine are measured, because other cyanotoxins may be present. As long-term studies on the effects of regular exposure to cyanotoxins are absent, and in order to provide clarity about the ways of exposure, it should be recommended to avoid exposure to blooms of blue green algae and particularly to floating blooms. Proper supply of information to inhabitants is needed.

Safety notices were seen at nine water bodies, what warranted in seven cases. As there presently is a large variation in the ways that people are warned against the risks of blue greens it is recommended to realize a uniform cautionary notice.

On the internet 112 mentions of blue green blooms in The Netherlands during the summer of 2006 were found. There are clear hotspots around the city of Enschede, between Amsterdam and Utrecht and in the province of Noord-Brabant. However, it is highly improbable that the problems here are larger than at other places, because also blooms of blue greens were



observed at 'blind spots', without records in the media, e.g. in Bennekom, Ede, Nijmegen and Wageningen, where also safety notices were lacking.

The summer of 2006 can be regarded as a natural experiment in the global warming scenario. The excessive growth of cyanobacteria and the formation of floating blooms in this summer emphasize the necessity of supplementary (and on the short term very effective) measures in order to comply with the targets set by the European Water Framework Directive

# DE STOWA IN BRIEF

The Foundation for Applied Water Research (in short, STOWA) is a research platform for Dutch water controllers. STOWA participants are all ground and surface water managers in rural and urban areas, managers of domestic wastewater treatment installations and dam inspectors.

The water controllers avail themselves of STOWA's facilities for the realisation of all kinds of applied technological, scientific, administrative legal and social scientific research activities that may be of communal importance. Research programmes are developed based on requirement reports generated by the institute's participants. Research suggestions proposed by third parties such as knowledge institutes and consultants, are more than welcome. After having received such suggestions STOWA then consults its participants in order to verify the need for such proposed research.

STOWA does not conduct any research itself, instead it commissions specialised bodies to do the required research. All the studies are supervised by supervisory boards composed of staff from the various participating organisations and, where necessary, experts are brought in.

The money required for research, development, information and other services is raised by the various participating parties. At the moment, this amounts to an annual budget of some 6,5 million euro.

For telephone contact number is: +31 (0)33 - 460 32 00.

The postal address is: STOWA, P.O. Box 2180, 3800 CD Amersfoort.

E-mail: [stowa@stowa.nl](mailto:stowa@stowa.nl).

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



# BLAUWALGEN IN STADSWATER

## INHOUD

	TEN GELEIDE	
	SAMENVATTING	
	STOWA IN HET KORT	
	SUMMARY	
	STOWA IN BRIEF	
<b>1</b>	<b>INLEIDING</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>BLAUWALGEN IN 50 STADSWATEREN</b>	<b>2</b>
2.1	De locaties en de metingen	2
2.2	Cyanobacteriën in water in de woonomgeving	3
2.3	Chlorofyl- <i>a</i> in stedelijk water	6
2.4	Blauwalgengif: Microcystine-LR equivalenten	7
2.5	Blauwalgengif: het neurotoxische aminozuur BMAA	9
2.6	Milieuvariabelen	9
<b>3</b>	<b>BLAUWALGEN IN TWEE VIJVERS</b>	<b>12</b>
3.1	De Molenwielvijver	12
3.2	De Kienehoefvijver	17
<b>4</b>	<b>BLAUWALGEN IN DE MEDIA</b>	<b>24</b>

<b>5</b>	<b>DISCUSSIE</b>	<b>28</b>
<b>5.1</b>	<b>De cyanogiffen</b>	<b>28</b>
	5.1.1 Hepatotoxines (microcystines)	28
	5.1.2 Neurotoxines (BMMA)	29
<b>5.2</b>	<b>De detectie van cyanobacteriën</b>	<b>30</b>
<b>5.3</b>	<b>De cyanobacteriën</b>	<b>31</b>
<b>5.4</b>	<b>De waarschuwingen</b>	<b>33</b>
<b>5.5</b>	<b>En verder...</b>	<b>36</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSIES</b>	<b>38</b>
<b>7</b>	<b>REFERENTIES</b>	<b>39</b>
	<b>BIJLAGEN</b>	
1	Monsterlocaties 2006	43
2	Fluorometrische bepaling van chlorofyl-a	45
3	Monsternamen en analyses	51
4	Waterkwaliteitsvariabelen	55
5	Correlatiematrix	56
6	Mediameldingen van cyanobacteriënbloei in 2006	57

# 1

## INLEIDING

Om een eerste indruk te verkrijgen van de cyanobacteriënbloei in oppervlaktewater in de woonomgeving, is in de zomer van 2006 (juli, augustus) een eenmalige bemonstering uitgevoerd in een selectie van 50 verschillende stadswateren in Noord-Brabant en Gelderland. Twee vijvers zijn intensiever bemonsterd, respectievelijk van januari tot en met december (Molenwielvijver te Sint-Oedenrode) en juli tot december (Kienehoefvijver te Sint-Oedenrode), om een indruk te verkrijgen van het verloop van de cyanobacteriënbloei in deze vijvers. Hierbij is een eerste inventarisatie gemaakt van aanwezige cyanobacteriën.

Omdat in Nederland tot dusver vooral (varianten van) de gifstof *microcystine* (zijn) is aangetroffen (STOWA, 2000) en ook wereldwijd deze groep levertoxines het vaakst voor lijken te komen in cyanobacteriënbloei, is in dit onderzoek gekeken naar microcystines. Hierbij zijn zowel de concentraties microcystine in de waterkolom als in eventuele drijflagen bepaald.

Naast de screening op cyanobacteriën, drijflagen en microcystines is gekeken of de chlorofyl-*a* concentratie ook bepaald kan worden op basis van fluorescentie en of hiermee cyanobacteriën goed onderscheiden kunnen worden van eukaryote algen. Verder is er een inventarisatie gemaakt van meldingen van cyanobacteriënbloei in de media om een beeld te verkrijgen van de verspreiding over Nederland.

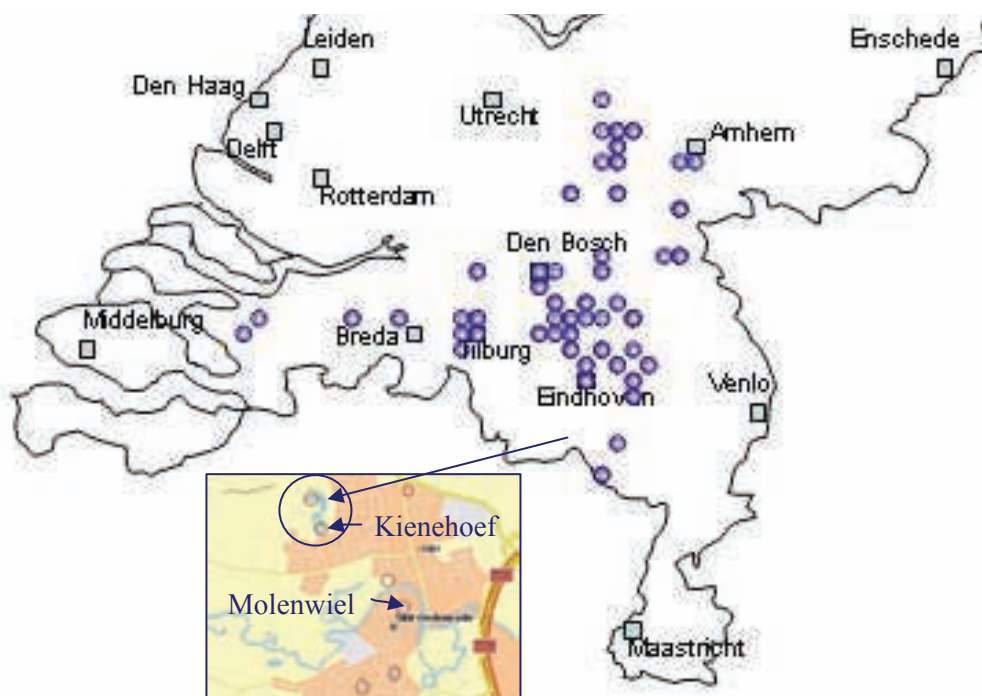
# 2

## BLAUWALGEN IN 50 STADSWATEREN

### 2.1 DE LOCATIES EN DE METINGEN

In de zomer van 2006 (juli en augustus) is een eenmalige bemonstering uitgevoerd in 50 verschillende stadswateren om een eerste indruk te verkrijgen van de *in situ* concentraties microcystine in zowel het water als in eventuele drijfslagen. De bemonsterde wateren lagen in Noord-Brabant en het zuidwesten van Gelderland (Figuur 2.1; Bijlage 1).

FIGUUR 2.1 LOCATIES VAN DE IN 2006 BEMONSTERDE STADSWATEREN.



Twee vijvers zijn frequenter bemonsterd: de Molenwielvijver te Sint-Oedenrode is in de periode 13 januari - 28 december 49 maal bemonsterd, terwijl een tweede water in deze gemeente, de Kienehoefvijver, 18 maal is bemonsterd in de periode 11 juli - 1 december (inzet in Figuur 2.1). Deze twee wateren zijn gevolgd om een indruk te verkrijgen van het verloop van de cyanobacteriënbloei in deze vijvers.

Elk stadswater is met behulp van een steekbuis bemonsterd waarbij water verzameld is in een 2 liter fles voor verdere analyse in het laboratorium. Ter plekke zijn van het water de zuurgraad (pH), het elektrische geleidingsvermogen (EGV), de zuurstofconcentratie en de temperatuur bepaald.

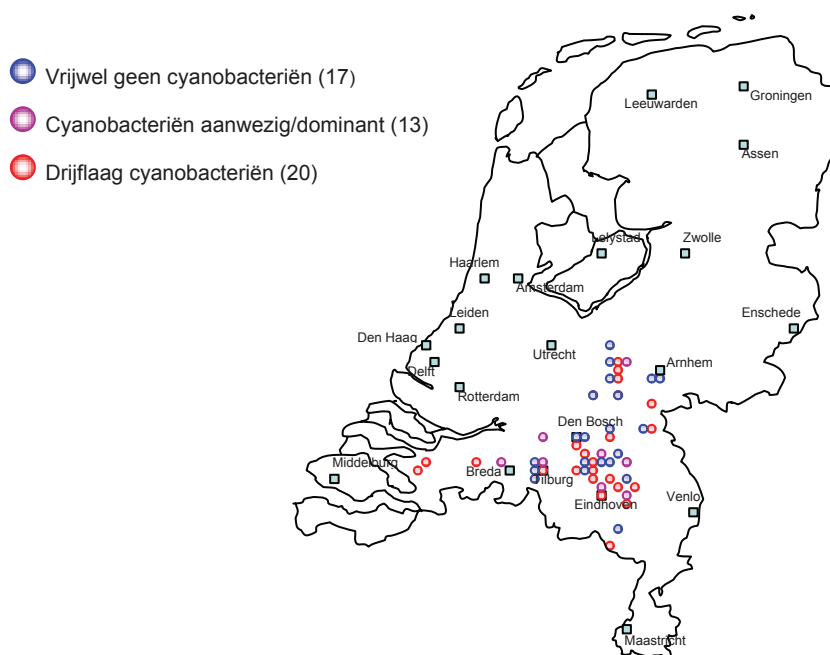
In het laboratorium is van elk monster de troebelheid (turbiditeit) bepaald, is het chlorofyl-*a* gehalte bepaald met behulp van zowel een spectrofotometrische methode (extractie) als een fluorescentie methode (met behulp van een PHYTO-PAM) (Bijlage 2), is een schatting verkre-

gen van het aandeel cyanobacterie chlorofyl-*a*, is de zwevende stofconcentratie bepaald en de concentratie microcystine gemeten. Tevens zijn van elk monster zowel de opgeloste- als totaal stikstof en fosfaat concentraties bepaald, zijn van levend materiaal digitale opnames van de aanwezige cyanobacteriën gemaakt en is een submonster gefixeerd met Lugol (6 % v/v) voor verdere microscopische analyse. Een gedetailleerde beschrijving van de analyses is te vinden in Bijlage 3.

## 2.2 CYANOBACTERIËN IN WATER IN DE WOONOMGEVING

In 17 van de 50 onderzochte wateren werden vrijwel geen cyanobacteriën aangetroffen of was de hoeveelheid cyanobacteriën chlorofyl-*a* minder dan  $20 \mu\text{g l}^{-1}$ . In 13 wateren waren cyanobacteriën in behoorlijke hoeveelheden aanwezig of dominant variërend van  $22 \mu\text{g l}^{-1}$  (Breda; totaal chl-*a* =  $30 \mu\text{g l}^{-1}$ ) tot  $380 \mu\text{g l}^{-1}$  (Someren). De resterende twintig wateren met veelal hoge hoeveelheden cyanobacteriën hadden tevens een drijfslag (Figuur 2.2).

FIGUUR 2.2 OVERZICHT VAN DE MONSTERLOKATIES MET WEINIG CYANOBACTERIËN (BLAUWE SYMBOLEN; CYANO-CHLOROFYL-A  $\leq 20 \mu\text{g l}^{-1}$ ), MET HOGE HOEVEELHEDEN OF DOMINANTIE VAN CYANOBACTERIËN (PAARSE SYMBOLEN) OF MET DRIJFLAGEN VAN CYANOBACTERIËN (RODE SYMBOLEN) IN 2006



De *Microcystis*-soorten (*M. aeruginosa*, *M. flos-aquae*, en in mindere mate *M. wesenbergii*) bleken met 52% van de gevallen het meest frequent voor te komen. Ook werden ze het vaakst als dominante drijfslagvormer aangetroffen (Tabel 2.1). Ze domineerden in elf drijfslagen, terwijl ze in drie andere drijfslagen subdominant waren. *Anabaena*-soorten (*A. flos-aquae*, *A. spiroides*, *A. circinalis*) waren in 22% van de wateren met cyanobacteriënbloei dominant. Ze domineerden vijf drijfslagen, terwijl ze in vijf andere drijfslagen subdominant waren. *Woronichinia naegeliana* was in 7% van de wateren met cyanobacteriënbloei dominant, domineerde in twee drijfslagen en bleek subdominant in vier andere drijfslagen. *Planktothrix agardhii* vormde in één water een stevige drijfslag en was subdominant in vier andere drijfslagen. *Aphanizomenon flos-aquae* werd slechts in één drijfslag als subdominante medevormer aangetroffen, terwijl *A. gracile* in twee wateren de dominante drijfslagvormer was (Tabel 2.1).

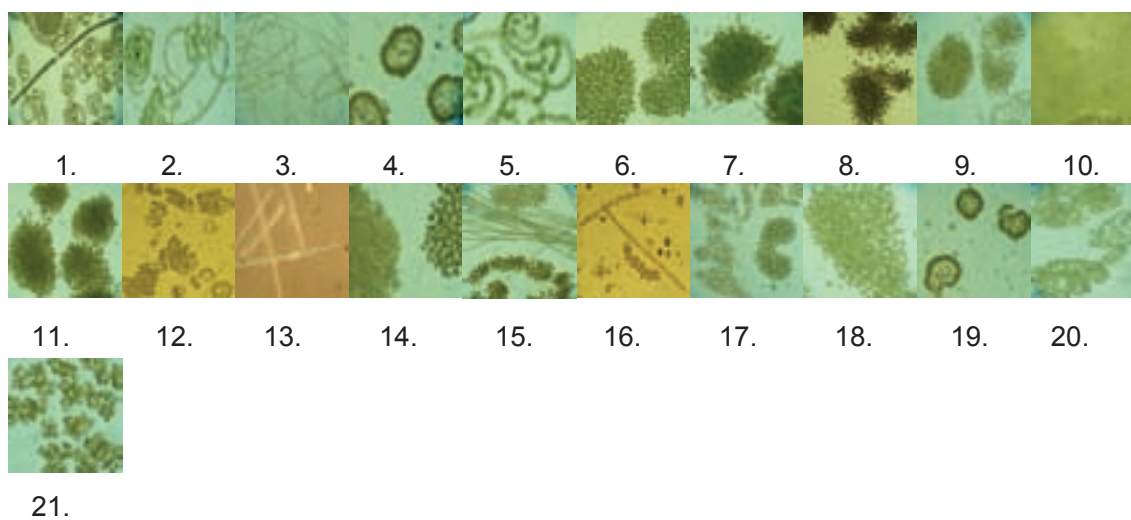


TABEL 2.1 LOCATIE VAN EEN AANGETROFFEN DRIJFLAAG EN DOMINANTE CYANOBACTERIËN IN DE DRIJFLAAG (INCL. FOTO)

Locatie	Dominant	Ruim aanwezig
1. Beek en Donk	<i>Anabaena</i>	---
2. Bennekom	<i>Anabaena</i>	---
3. Bergen op Zoom	<i>Planktothrix</i>	---
4. Bostel	<i>Woronichinia</i>	<i>Microcystis, Anabaena</i>
5. Budel	<i>Anabaena</i>	---
6. Deurne	<i>Microcystis</i>	---
7. Ede (3)	<i>Microcystis</i>	---
8. Eindhoven	<i>Microcystis</i>	---
9. Etten-Leur	<i>Microcystis</i>	---
10. Grave	<i>Microcystis</i>	<i>Aphanizomenon</i>
11. Heesch	<i>Microcystis</i>	<i>Anabaena</i>
12. Helmond	<i>Anabaena</i>	<i>Planktothrix</i>
13. St-Oedenrode (1 <sup>a</sup> )	<i>Aphanizomenon</i>	<i>Anabaena</i>
14. St-Oedenrode (1 <sup>b</sup> )	<i>Microcystis</i>	<i>Woronichinia, Planktothrix</i>
15. St-Oedenrode (2)	<i>Aphanizomenon</i>	<i>Microcystis, Planktothrix</i>
16. Nijmegen	<i>Anabaena</i>	<i>Planktothrix</i>
17. Schijndel	<i>Microcystis</i>	<i>Woronichinia</i>
18. Steenberg	<i>Microcystis</i>	<i>Woronichinia</i>
19. St-Michiëlsgestel	<i>Woronichinia</i>	<i>Microcystis, Anabaena</i>
20. Tilburg (4)	<i>Microcystis</i>	<i>Woronichinia, Anabaena</i>
21. Wageningen (1)	<i>Microcystis</i>	---

FOTO'S VAN MATERIAAL VAN DRIJFLAAG UIT TABEL 2.1, NUMMERS KOMEN OVEREEN MET DE BETREFFENDE AANDUIDING IN TABEL 2.1.

VOORBEELDEN VAN DE AANGETROFFEN DRIJFLAGEN ZIJN IN FIGUUR 2.3 WEERGEGEVEN



FIGUUR 2.3 VOORBEELDEN VAN DRIJFLAGEN IN 2006: A = BEEK EN DONK, B = BENNEKOM, C = BERGEN OP ZOOM, D = BOXTEL, E = BUDEL, F = HEESCH, G = STEENBERGEN, H = WAGENINGEN

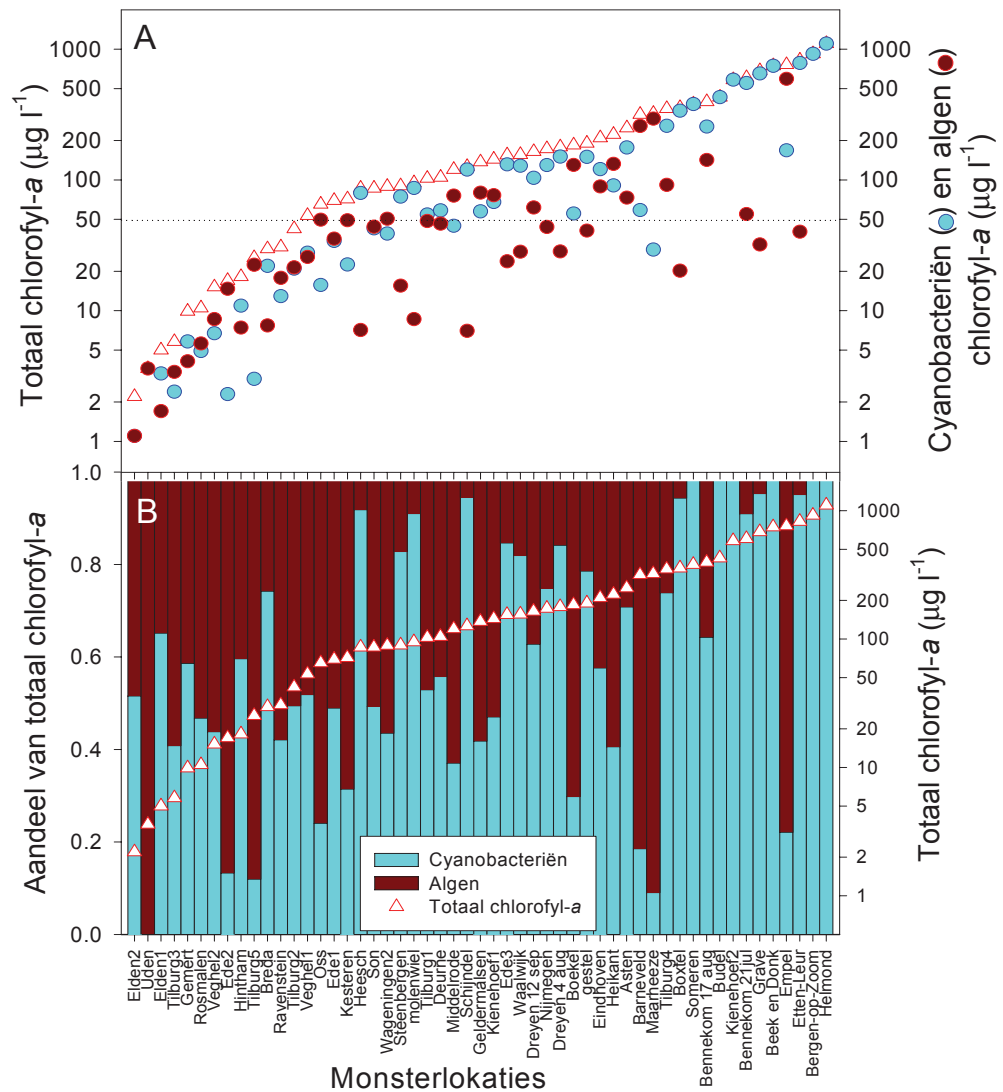


### 2.3 CHLOROFYL-A IN STEDELIJK WATER

Het totaal chlorofyl-*a* gehalte varieerde van 2 tot 1102  $\mu\text{g l}^{-1}$  (Figuur 2.4). In 58% van de wateren was het chlorofyl-*a* gehalte meer dan 100  $\mu\text{g l}^{-1}$ . Zestig procent van de wateren had een cyanobacteriën-chlorofyl-*a* gehalte van  $\geq 50 \mu\text{g l}^{-1}$  en in 42% was dit zelfs meer dan 100  $\mu\text{g l}^{-1}$ . Cyanobacteriën werden op basis van hun karakteristieke fluorescentie in vrijwel alle wateren gedetecteerd. In 13 wateren was de bijdrage van cyanobacteriën aan het totale chlorofyl-*a* gehalte meer dan 90%; in zes van deze wateren was het vrijwel 100% (Figuur 2.4).

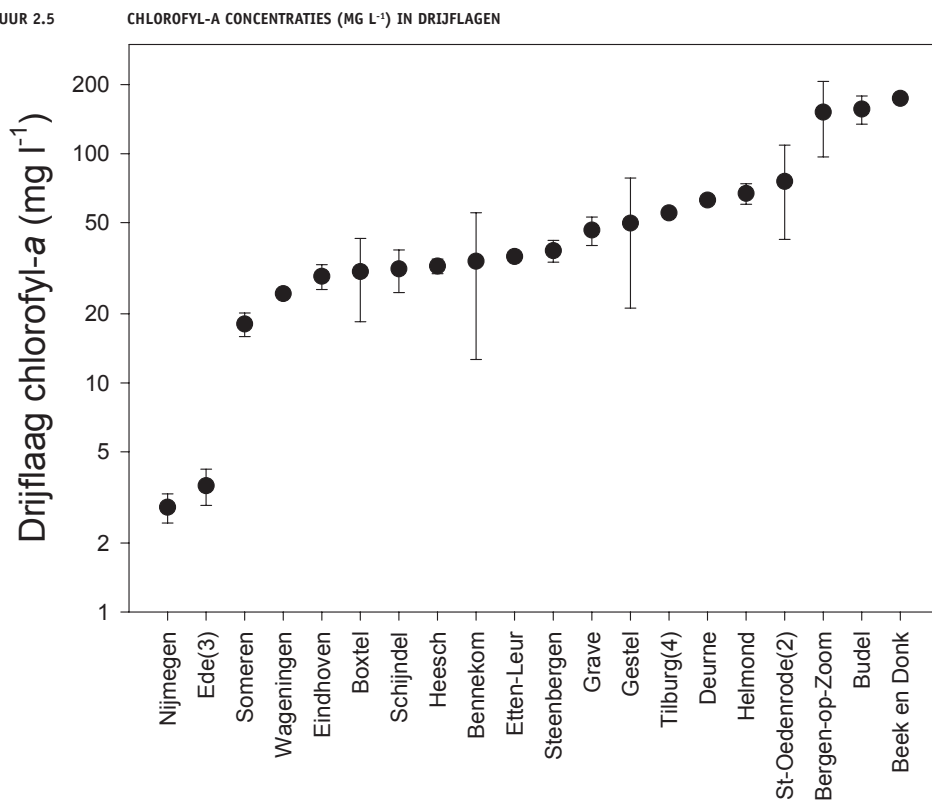
FIGUUR 2.4

TOTAAL CHLOROFYL-A ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) GEHALTE EN DE CORRESPONDERENDE CONCENTRATIES VAN CHLOROFYL-A VAN CYANOBACTERIËN- EN EUKARYOTE ALGEN (A), ALSMEDE HET AANDEEL CYANOBACTERIËN- EN EUKARYOTE ALGEN AAN HET TOTAAL CHLOROFYL-A GEHALTE (B) VOOR DE VERSCHILLENDE MONSTERLOCATIES IN 2006



Drijflagen van cyanobacteriën werden aangetroffen in wateren met een relatief hoge cyanobacteriën-chlorofyl-*a* concentratie (mediaanwaarde van 298  $\mu\text{g l}^{-1}$ ). In drijflagen was de chlorofyl-*a* concentratie 20 tot 1000 hoger dan in het water van de betreffende vijver. De chlorofyl-*a* concentratie in drijflagen varieerde tussen 2.9 en 174  $\text{mg l}^{-1}$  met een mediaanwaarde van 37  $\text{mg l}^{-1}$  (Figuur 2.5).

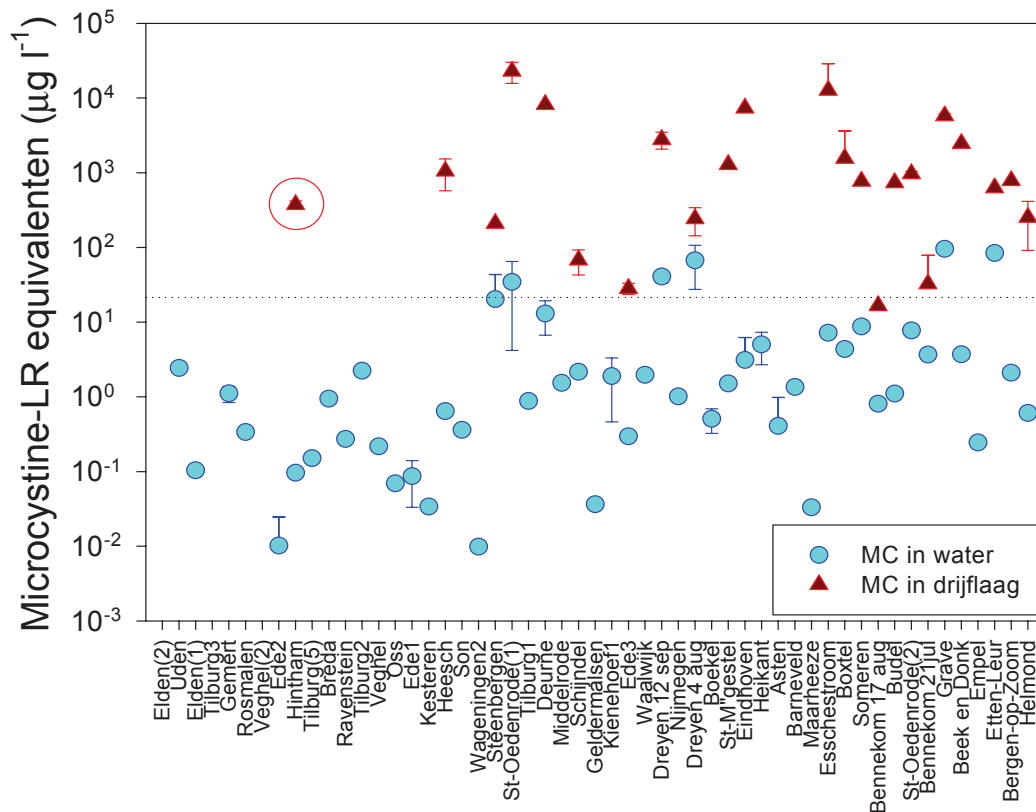
FIGUUR 2.5



#### 2.4 BLAUWALGENGIF: MICROCYSTINE-LR EQUIVALENTEN

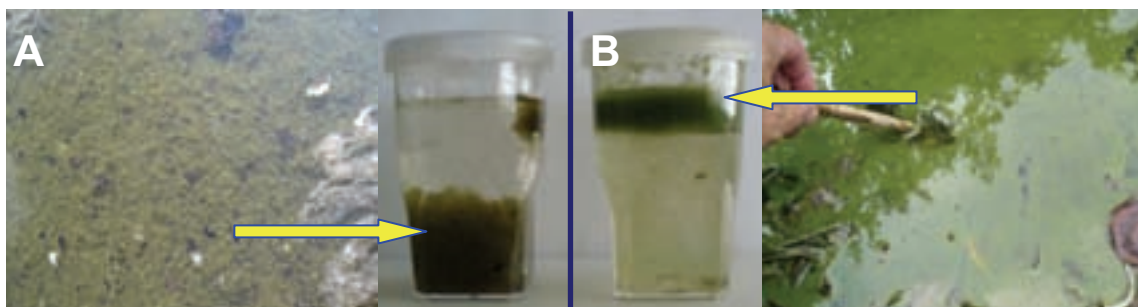
De hoogste microcystineconcentratie gemeten in de waterkolom was 95  $\mu\text{g l}^{-1}$ ; zes wateren hadden in de waterkolom een microcystine concentratie van  $\geq 20 \mu\text{g l}^{-1}$  (Figuur 2.6). Deze zes wateren werden gedomineerd door *Microcystis* en de microcystineconcentratie bleek positief gecorreleerd met de concentratie van cyanobacteriënchlorofyl-*a* in deze wateren (Pearson  $\rho = 0.867$ ;  $p = 0.025$ ). Echter wanneer van alle wateren met dominantie van *Microcystis* de microcystine- en cyanobacteriënchlorofyl-*a* concentraties bekeken worden, blijken er twee subgroepen te bestaan: Eén met relatief hoge en één met relatief lage microcystineconcentraties. Bijvoorbeeld in het ene water met een concentratie van cyanobacteriënchlorofyl-*a* van 79  $\mu\text{g l}^{-1}$  was de microcystine concentratie 0.6  $\mu\text{g l}^{-1}$ , terwijl in een andere water met een chlorofyl-*a* concentratie van 75  $\mu\text{g l}^{-1}$  de microcystineconcentratie 20  $\mu\text{g l}^{-1}$  was. Zo ook varieerde de microcystineconcentratie tussen 0.3 en 3.1  $\mu\text{g l}^{-1}$  in vier wateren met concentraties van chlorofyl-*a* tussen 120 en 130  $\mu\text{g l}^{-1}$ , maar werd in twee andere wateren met concentraties chlorofyl-*a* van 103 en 150  $\mu\text{g l}^{-1}$ , een microcystineconcentratie gemeten van respectievelijk 41 en 67  $\mu\text{g l}^{-1}$ .

FIGUUR 2.6 MICROCYSTINE-LR CONCENTRATIE (MC,  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) IN DE WATERKOLOM (CYAANBLAUWE CIRKELS) EN IN DRIJFLAGEN (DONKERRODE DRIEHOEK) VOOR DE IN DE ZOMER VAN 2006 BEMONSTERDE STADSWATEREN. DE RODE CIRKEL INDICEERT EEN Dikke BENTHISCHE LAAG VAN *APHANOCAPSA*. DE STIPPELLIJK GEEFT  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  MICROCYSTINE (DE MAXIMAAL TOELAATBARE CONCENTRATIE IN ZWEMWATER) AAN.



In de drijfslagen zijn microcystineconcentraties variërend van  $17 \mu\text{g l}^{-1}$  (drijfslag van *Anabaena*) tot ruim  $28000 \mu\text{g l}^{-1}$  (drijfslag van *Microcystis*) gemeten (Figuur 2.6). Eén van de wateren had een dikke benthische laag van *Aphanocapsa* (Figuur 2.7). Deze laag bleek  $374 (\pm 44) \mu\text{g l}^{-1}$  microcystine te bevatten (Figuur 2.6).

FIGUUR 2.7 AFBELDING VAN EEN BENTHISCHE LAAG VAN *APHANOCAPSA* (A; AANGETROFFEN NABIJ DE OEVER IN ONDIEP WATER VAN HET IJZEREN KIND, HINTHAM. DEZE LAAG WAS OP PLAATSEN TOT MEER DAN 10 CM DIK) EN EEN DRIJFLAGAAG VAN *MICROCYSTIS* (B; VIJVER DE PLOEG, HEESCH)





## 2.5 BLAUWALGENGIF: HET NEUROTOXISCHE AMINOZUUR BMAA

Materiaal uit de drijfslagen is met behulp van een triple quadrupole LC-MS massaspectrometer geanalyseerd op aanwezigheid en concentratie van het neurotoxisch aminozuur  $\beta$ -N-methylamino-L-alanine (BMAA).

BMAA was aanwezig in alle monsters en kon onderscheiden worden in een vrij oplosbare en een aan eiwit gebonden fractie (Tabel 2.2). De concentraties vrij BMAA varieerden tussen niet detecteerbaar (0) en  $12 \mu\text{g g}^{-1}$ , terwijl voor de eiwitgebonden BMAA concentraties tussen 4 en  $34 \mu\text{g g}^{-1}$  werden gemeten (Tabel 2.2). In alle monsters bleek gebonden BMAA aanwezig, terwijl het vrije BMAA in 55% van de monsters werd aangetroffen.

TABEL 2.2 CONCENTRATIES (IN  $\mu\text{G G}^{-1}$ ) VAN VRIJ EN EIWITGEBODEN NEUROTOXISCH AMINOZUUR  $\beta$ -N-METHYLAMINO-L-ALANINE (BMAA) IN DRIJFLAAG MATERIAAL UIT VERSCHILLENDE OPPERVLAKTEWATEREN. 0 = NIET DETECTEERBAAR, --- = NIET GEMETEN

Locatie drijfslag	Vrij BMAA ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Gebonden BMAA ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
1. Beek en Donk	1.3/1.4	34.1
2. Bennekom	3.9/4.6	18.4
3. Bergen op Zoom	12.0	5.5
4. Boxtel	3.8	7.3
5. Budel	0	10.2
6. Deurne	0	20.9
7. Ede (3)	---	---
8. Eindhoven	1.3	5.6
9. Etten-Leur	0	5.8
10. Grave	0	17.6
11. Heesch	0	18.1
12. Helmond	11.0	8.1
13. St-Oedenrode (1 <sup>a</sup> )	---	---
14. St-Oedenrode (1 <sup>b</sup> )	1.4	13.8
15. St-Oedenrode (2)	3.4	12.9
16. Nijmegen	6.2	4.0
17. Schijndel	0	16.9
18. Steenbergen	0	9.9
19. St-Michielsgestel	0	18.2
20. Tilburg (4)	---	---
21. Wageningen (1)	0	18.1/18.3
22. Rauwbraken	10.2	12.3
21. Hintham	2.8	10.2

## 2.6 MILIEUVARIABLEN

De in het oppervlaktewater gemeten variabelen en de aan het verzamelde water in het laboratorium uitgevoerde analyses kunnen worden gebruikt om tot een beoordeling van de waterkwaliteit te komen. Voor verschillende waterkwaliteitsvariabelen zijn normen geformuleerd. Bij een overschrijding van het maximaal toelaatbaar risico niveau (MTR) is er sprake van een slechte waterkwaliteit.

De zuurgraad van de onderzochte wateren varieerde van zwak zuur (pH 6.3) tot licht alkalisch (pH 9.2). De watertemperatuur lag tussen 17.3 en 30.4°C, terwijl de zuurstofconcentraties varieerden tussen 0.4 en 24.9 mg l<sup>-1</sup> (Bijlage 4). Het elektrische geleidingsvermogen lag tussen 68 en 751  $\mu\text{S cm}^{-1}$ . In de onderzochte wateren werden fosfaatconcentraties tussen 5.5 en 1313  $\mu\text{g l}^{-1}$  aangetroffen, bleken de ammoniumconcentraties tussen 0.002 en 17.154 mg l<sup>-1</sup> te

liggen en varieerde de nitraatconcentraties tussen 0.002 en 1.141 mg l<sup>-1</sup>. De totaal-stikstof (TN) concentraties varieerden tussen 0.395 en 14.57 mg l<sup>-1</sup>, terwijl totaal-fosfaat (TP) concentraties tussen 0.141 en 1.268 mg l<sup>-1</sup> lagen (*Bijlage 4*).

Bij vergelijking van de verschillende waterkwaliteitsvariabelen met de MTR-waarden volgt dat voor de zuurgraad (pH) 8% van de wateren buiten het norminterval van 6.5 – 9 lag. In 22% van de wateren werd de temperatuur van 25°C overschreden. Voor zuurstof bleek in 29% van de wateren de concentratie beneden 5 mg l<sup>-1</sup> te liggen. Het gehalte chlorofyl-*a* (totaal van cyanobacteriën en eukaryote algen) lag in 60% van de wateren boven de norm van 100 µg l<sup>-1</sup>. De concentraties van totaal-stikstof waren in 54% van de wateren hoger dan de norm van 2.2 mg l<sup>-1</sup>, terwijl maar liefst in 98% van de wateren de norm voor totaal-fosfaat (0.15 mg l<sup>-1</sup>) werd overschreden. Er was slechts één water dat een goede kwaliteit scoorde op alle variabelen: de Grote Wielen te Rosmalen, waar echter wel een waarschuwingsbord voor cyanobacteriën stond.

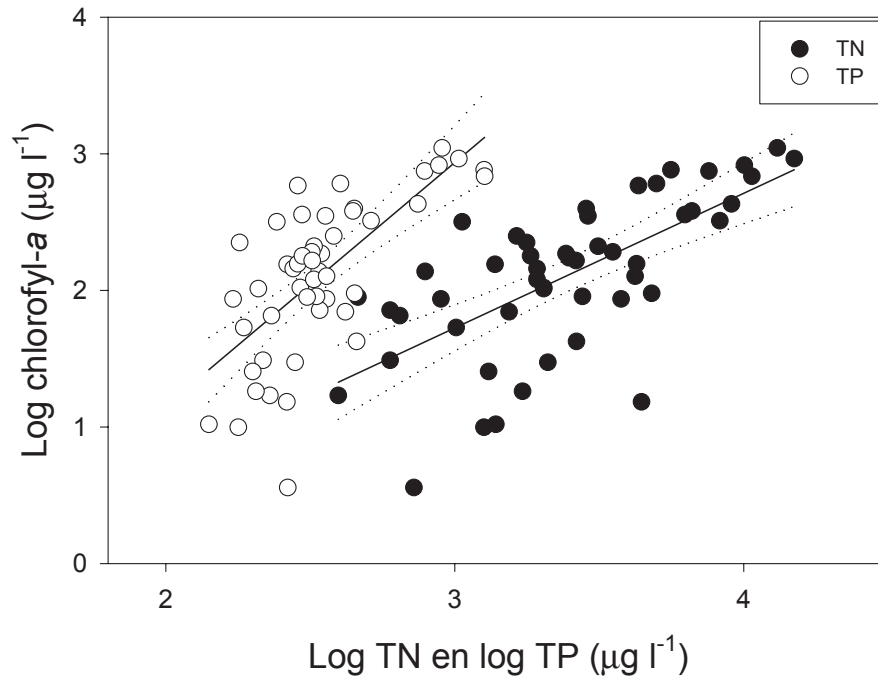
Voor het elektrisch geleidingsvermogen en turbiditeit (troebelheid) zijn er geen normen. De turbiditeit is weliswaar gerelateerd aan het doorzicht, waarvoor normen bestaan, maar omdat deze relatie niet lineair is, wordt hier geen omrekening naar doorzicht gemaakt. De richtlijn voor de maximaal toelaatbare microcystineconcentratie in zwembadwater is 20 µg l<sup>-1</sup> en voor drinkwater is deze 1 µg l<sup>-1</sup>. Uitgaande van de zwembadrichtlijn werd op basis van de concentraties in de waterkolom in 11% van de wateren de richtlijn overschreden, maar wanneer de drijfslagconcentraties worden meegenomen is dit in 42% van de bemonsterde wateren het geval.

De relatie tussen nutriënten en fytoplanktonbiomassa wordt veelal weergegeven als een lineair verband tussen log chlorofyl en log TN en/of log TP (*Figuur 2.8*). Het fytoplankton neemt nutriënten effectief op uit het water waardoor deze dan veelal in particuliere vorm aanwezig zijn, namelijk in de fytoplanktoncellen. De concentratie van chlorofyl is goed gecorreleerd met zowel totaal-fosfaat als totaal-stikstof.<sup>1</sup>

In *Bijlage 5* is de correlatiematrix van milieuvariabelen en de gehalten van chlorofyl-*a* en microcystine weergegeven. Uit de tabel in *Bijlage 5* blijkt dat er een positieve relatie bestaat tussen de gehalten cyanobacteriënchlorofyl-*a* en die van microcystine in het de zwevende algen. De verklaarde variatie is echter laag (12%). De concentratie van microcystine in de drijfslagen blijkt met geen enkele milieuvariabele significant te correleren en is dus onvoorspelbaar.

1 Log TP verklaarde 48% van de variatie in log chlorofyl ( $\text{Log Chl} = -2.412 + 1.783 \times \text{log TP}$ ;  $r^2 = 0.482$ ) en log TN verklaarde 46% van de variatie ( $\text{Log Chl} = -1.229 + 0.985 \times \text{log TP}$ ;  $r^2 = 0.457$ ). Een multipel regressiemodel verbeterde de voorspelling van chlorofyl slechts marginaal ( $\text{Log chl} = -2.471 + 0.526 \times \text{log TN} + 1.103 \times \text{log TP}$ ;  $r^2 = 0.542$ ).

FIGUUR 2.8 DE RELATIES TUSSEN HET CHLOROFYL-A GEHALTE EN DE NUTRIËNTENCONCENTRATIES VOOR 50 STADSWATEREN. GETROKKEN LIJNEN GEVEN LINEAIRE REGRESSIES WEER, GESTIPPELDE LIJNEN DE 95% BETROUWBAARHEIDSINTERVALLEN DAARVAN





# 3

## BLAUWALGEN IN TWEE VIJVERS

### 3.1 DE MOLENWIELVIJVER

De Molenwielvijver ligt in het centrum van Sint-Oedenrode (Figuur 3.1). Eeuwenlang lag er een watermolen in een vertakking van de laaglandbeek De Dommel. Na verval van de watermolen en demping van de vertakking is de vijver ontstaan. Het Molenwiel is tussen 13 januari en 28 december 2006 in totaal 48 maal bemonsterd.

FIGUUR 3.1 DE MOLENWIELVIJVER TE SINT-OEDENRODE

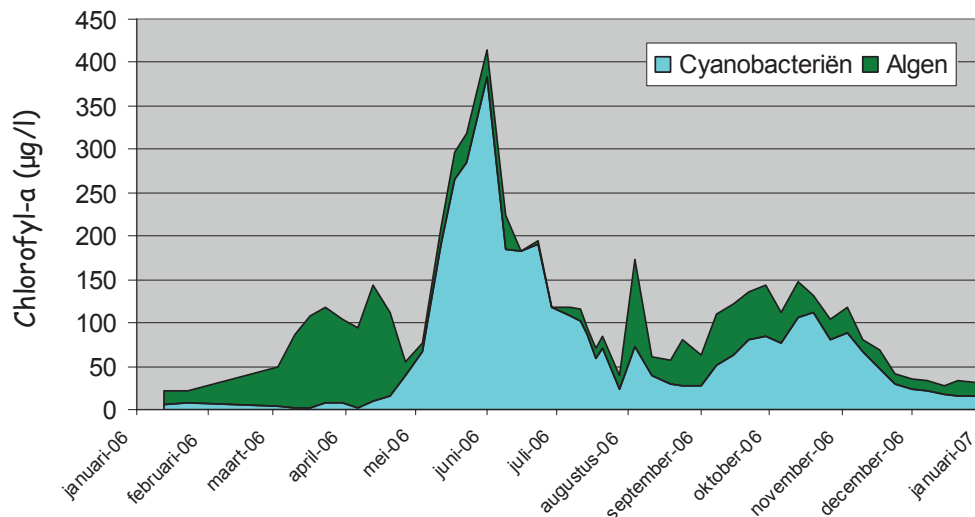


In het Molenwiel hadden in de winter en het begin van het voorjaar de eukaryote algen de overhand: diatomeeën (*Synedra*, *Melosira*), groenalgen (*Micractinium*, *Desmodesmus*, *Pediastrum*) en goudwieren (*Dinobryon*, *Synura*, *Mallomonas*) domineerden het fytoplankton. In maart ontstond er een bloei van deze organismen, waarbij halverwege maart het totale gehalte chlorofyl-*a* al boven de  $100 \mu\text{g l}^{-1}$  uitkwam (Figuur 3.2). Cyanobacteriën (*Planktothrix agardhii* en *Aphanizomenon gracile*) waren in geringe aantallen aanwezig. In de periode januari - eind april was de bijdrage van cyanobacteriën aan het totale chlorofyl gehalte  $11 (\pm 11) \%$ .

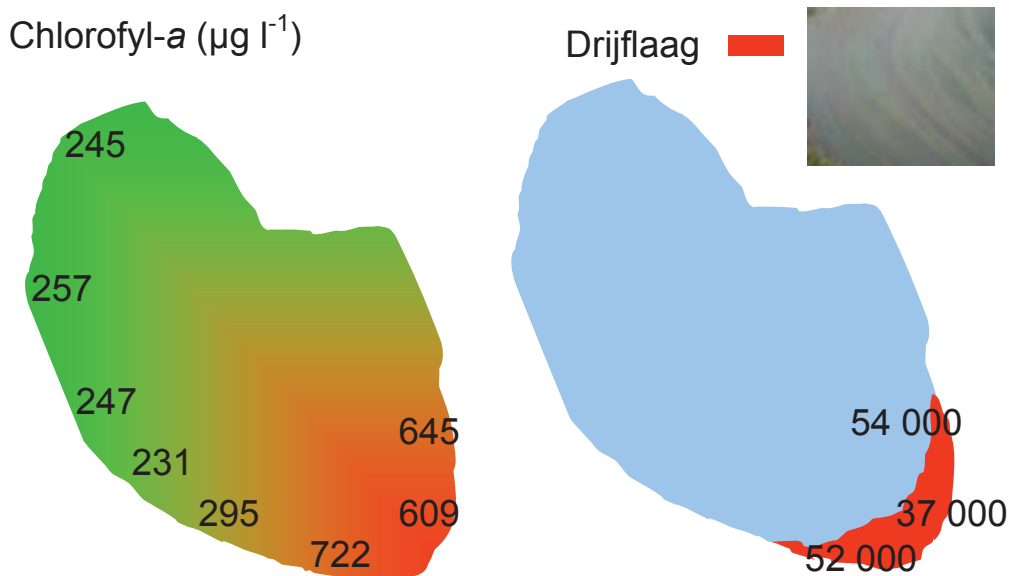
Eind april – begin mei was er een kortstondige bloei van watervlooien (*Daphnia galeata*) met een maximum van 49 individuen per liter. Door hun graasactiviteit werd het totale gehalte chlorofyl-*a* gereduceerd tot  $50 \mu\text{g l}^{-1}$ . Hierna vond gedurende de maand mei een snelle opkomst van cyanobacteriën (voornamelijk *Aphanizomenon gracile*, *Anabaena* sp. en *Woronichinia naegeliana*) plaats. De bijdrage van cyanobacteriën aan het totale gehalte chlorofyl

was in deze periode ongeveer 90%. De maximum concentratie van 415  $\mu\text{g l}^{-1}$  chlorofyl werd bereikt op 1 juni (Figuur 3.2). Op 1 juni had de vijver een verachtige drijflaag van *Anabaena/Aphanizomenon*. Deze drijflaag lag in het zuidelijke deel van de vijver (Figuur 3.3). Eén dag later was deze door de wind verder gecomprimeerd. De concentraties chlorofyl-*a* in de vijver waren nog steeds hoog en lieten een behoorlijke ruimtelijke variatie zien. Water onder de zichtbare drijflaag bleek 600-700  $\mu\text{g l}^{-1}$  chlorofyl-*a* te bevatten, terwijl op plekken waar geen drijflaag was de concentratie chlorofyl-*a* ongeveer 250  $\mu\text{g l}^{-1}$  was (Figuur 3.3). De concentratie chlorofyl-*a* in de drijflaag varieerde tussen 37 en 54  $\text{mg l}^{-1}$ .

FIGUUR 3.2 VERLOOP VAN DE CONCENTRATIES CHLOROFYL-A IN CYANOBACTERIËN (BLAUW, IN  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) EN DE EUKARYOTE ALGEN CHLOROFYL-A CONCENTRATIE (GROEN) IN DE MOLENWIELVIJVER IN 2006



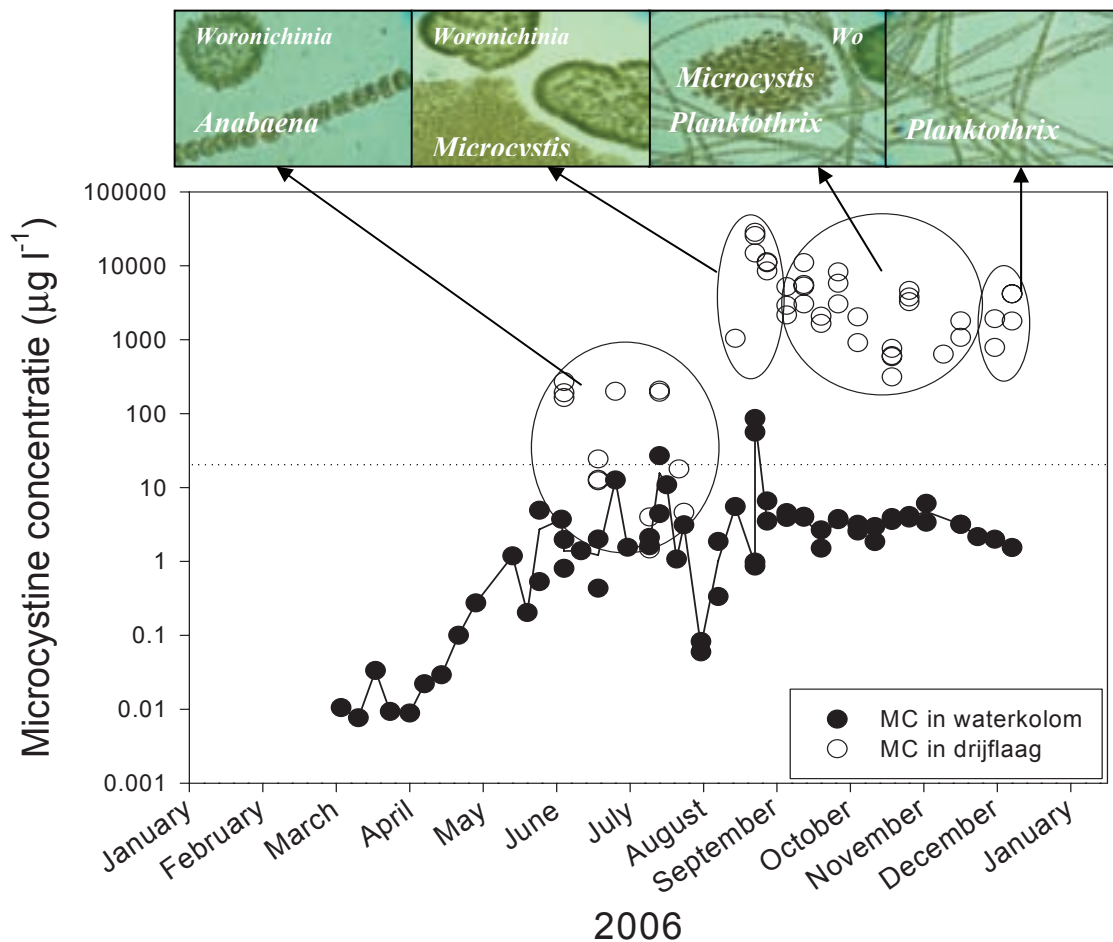
FIGUUR 3.3 DE RUIMTELIJKE VERDELING VAN DE CHLOROFYL-A CONCENTRATIE ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ) IN DE MOLENWIELVIJVER OP 2 JUNI 2006 (LINKS) EN DE MET ROOD AANGEGEVEN DRIJFLAAG (RECHTS)



Na de explosieve toename van de hoeveelheid cyanobacteriën, zakte gedurende de maanden juni en juli de biomassa geleidelijk tot  $23 \mu\text{g l}^{-1}$  cyanobacteriën op een totaal van  $40 \mu\text{g l}^{-1}$  chlorofyl-*a* (Figuur 3.2). *Woronichinia* en *Planktothrix agardhii* werden nu steeds meer naast *Anabaena/Aphanizomenon* aangetroffen. Na hevige regenval eind juli was er begin augustus een korte bloei van voornamelijk diatomeeën (o.a. *Melosira*). Vanaf medio augustus tot eind september lag er continu een drijflaag op een deel van de vijver (bestaande uit *Microcystis aeruginosa*, *Woronichinia naegeliana*, *Planktothrix agardhii*, en *Anabaena* sp.). Van oktober tot en met december werd er tijdens acht van de twaalf bemonsteringen een drijflaag aangetroffen. Op 21 december lag er nog een dunne verfachtige laag van voornamelijk *P. agardhii* in een hoek van deze vijver.

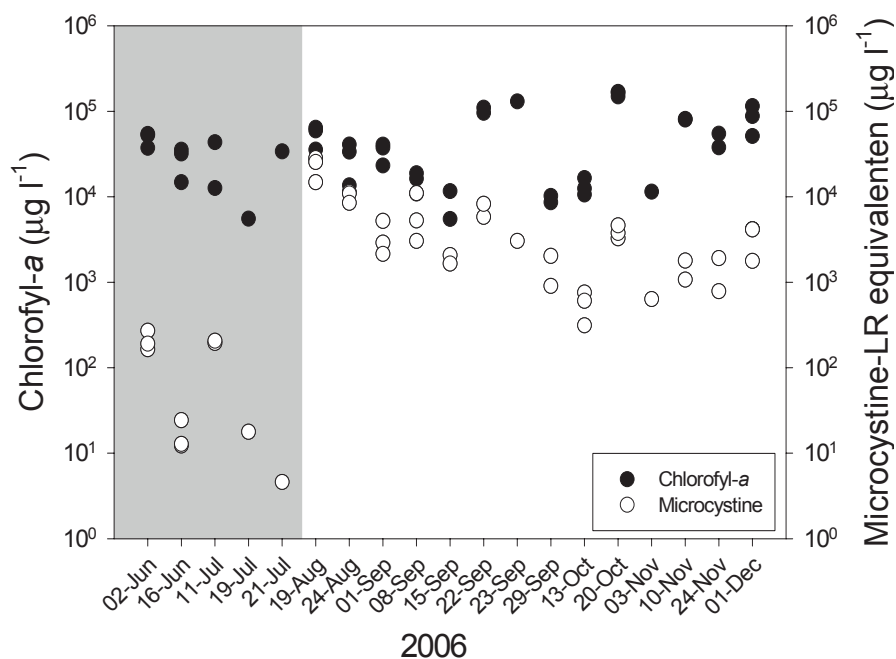
De microcystineconcentratie in de waterkolom steeg parallel aan de toename van de hoeveelheid cyanobacteriën in het voorjaar. (Figuur 3.4). Op 11 juli was de microcystineconcentratie hoger dan  $20 \mu\text{g l}^{-1}$ ; *Planktothrix agardhii* was dominant in de waterkolom. Na de dip in de microcystineconcentratie begin augustus, die overeenkomt met de optredende bloei van o.a. diatomeeën, nam de microcystineconcentratie toe tot een maximum van  $71 (\pm 20) \mu\text{g l}^{-1}$  op 19 augustus. *Microcystis* en *Woronichinia* waren toen dominant. Hierna leek de microcystineconcentratie zich te stabiliseren rond  $3 \mu\text{g l}^{-1}$  (Figuur 3.4).

FIGUUR 3.4 HET VERLOOP VAN DE CONCENTRATIE VAN MICROCYSTINE-LR ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ) IN WATERKOLOM (●) EN DRIJFLAGEN (○) VAN DE MOLENWIELVIJVER. DE STIPPELLIJN GEEFT  $20 \mu\text{g l}^{-1}$  MICROCYSTINE AAN WAARBIJ VOOR EEN ZWEMWATER EEN NEGATIEF ZWEMADVIES VOLGT. FOTO'S VAN DE MEEST DOMINANTE BLOEIVORMERS ZIJN BOVENAAN DE GRAFIEK WEERGEGEVEN (WO = WORONICHINIA)



Vanaf begin juni werden er drijflagen waargenomen. Tot eind juli was de gemiddelde microcystineconcentratie in de drijflagen  $93 \mu\text{g l}^{-1}$  (Figuur 3.4). Echter na de hevige regenval eind juli, werden vanaf medio augustus tot in december drijflagen aangetroffen met een gemiddelde microcystineconcentratie van  $4900 \mu\text{g l}^{-1}$  (range van gemiddeld 560 tot  $23\ 000 \mu\text{g l}^{-1}$ ; Figuur 3.4). De hogere microcystineconcentraties vanaf medio augustus blijken niet te worden veroorzaakt door een hogere biomassa cyanobacteriën in de drijf laag (uitgedrukt in chlorofyl-a). Een vergelijking van de chlorofyl-a- en microcystine concentraties in drijflagen zowel voor als na de regenval, leverde geen significant verschil in de chlorofyl-a concentraties (ANCOVA:  $F_{1,40} = 0.12$ ;  $p = 0.727$ ), maar wel in de microcystine concentraties ( $F_{1,40} = 5.77$ ;  $p = 0.021$ ). De microcystineconcentraties in drijflagen van *Anabaena* sp. en *Aphanizomenon gracile* (grijze gebied in Figuur 3.5) zijn, bij gelijke chlorofyl-a concentraties, beduidend lager dan die in drijflagen van *Microcystis aeruginosa*, *Woronichinia naegeliana*, *Planktothrix agardhii*, en *Anabaena* sp. (witte gebied in Figuur 3.5).

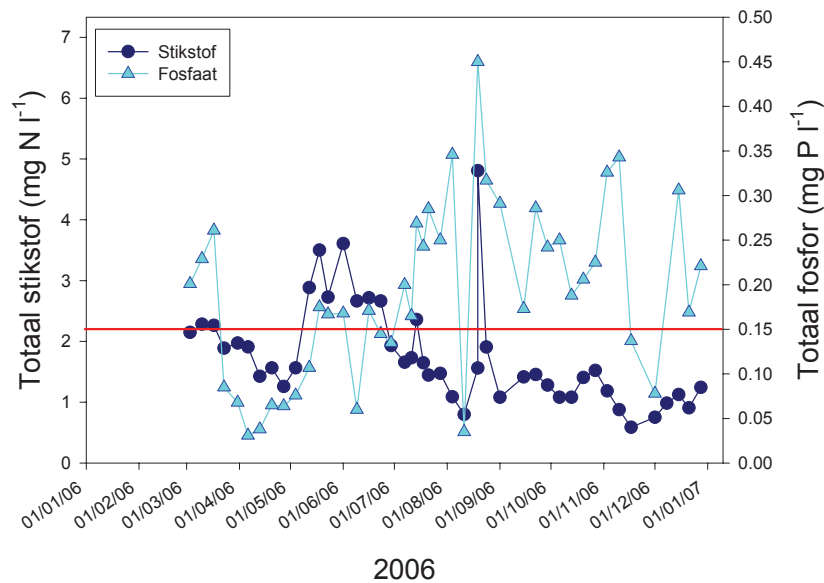
FIGUUR 3.5 DE GEHALTEN VAN CHLOROFYL-A EN MICROCYSTINE IN DRIJFLAGEN, BESTAANDE UIT ANABAENA SP. EN APHANIZOMENON GRACILE, OP DE MOLENWIELVIJVER IN 2006 IN DE PERIODE VOOR HEVIGE REGENVAL (JUNI-JULI; GRIJS VLAK) EN DAARNA (AUGUSTUS-DECEMBER; NIET INGEKLEURD) WAAR DE DRIJFLAGEN BESTONDEN UIT MICROCYSTIS AERUGINOSA, WORONICHINIA NAEGELIANA, PLANKTOTHRIX AGARDHII EN ANABAENA SP



Drijf laagmateriaal vanaf 19 augustus is ook reeds geanalyseerd op de aanwezigheid en concentratie van het neurotoxisch aminozuur  $\beta$ -N-methylamino-l-alanine (BMAA). Evenals voor de verschillende stadswateren (zie § 2.5) was BMAA in elk monster aanwezig. De concentraties vrij BMAA varieerden tussen niet detecteerbaar (0) en  $41 \mu\text{g g}^{-1}$ , terwijl voor de eiwitgebonden BMAA concentraties tussen 3 en  $21 \mu\text{g g}^{-1}$  werden gemeten. De drijf laagmonsters van de periode voor 19 augustus, evenals de watermonsters, zullen medio 2008 op BMAA en andere cyanotoxines, zoals anatoxines, saxitoxines, cylindrospermopsine geanalyseerd worden met behulp van de triple quadrupole LC-MS massaspectrometer.

Het is al evident uit de concentraties chlorofyl-*a* en de overmatige cyanobacteriënbloei dat het Molenwiel gekarakteriseerd kan worden als een zeer eutrofe vijver. Ook de meetwaarden voor totaal-stikstof (TN) en totaal-fosfaat (TP) worden gebruikt om tot een beoordeling van de waterkwaliteit te komen. Bij overschrijding van het maximaal toelaatbaar risiconiveau (MTR) is er sprake van een slechte waterkwaliteit. De MTR-normen voor TN ( $2.2 \text{ mg l}^{-1}$ ) en TP ( $0.15 \text{ mg l}^{-1}$ ) zijn aangeduid met een rode lijn in *Figuur 3.6*. Voor TN wordt deze alleen tijdens de bloei van stikstoffixeerders in mei-juni overschreden met nog een piek in augustus (*Figuur 3.6*). Voor TP geldt dat met uitzondering van maart-april het TP-gehalte nabij of beduidend boven het MTR ligt (*Figuur 3.6*).

FIGUUR 3.6 VERLOOP VAN DE CONCENTRATIES VAN TOTAAL-STIKSTOF EN TOTAAL-FOSFOR IN DE MOLENWIELVIJVER IN 2006. DE RODE LIJN GEEFT VOOR BEIDE MESTSTOFFEN DE MTR-NORM AAN

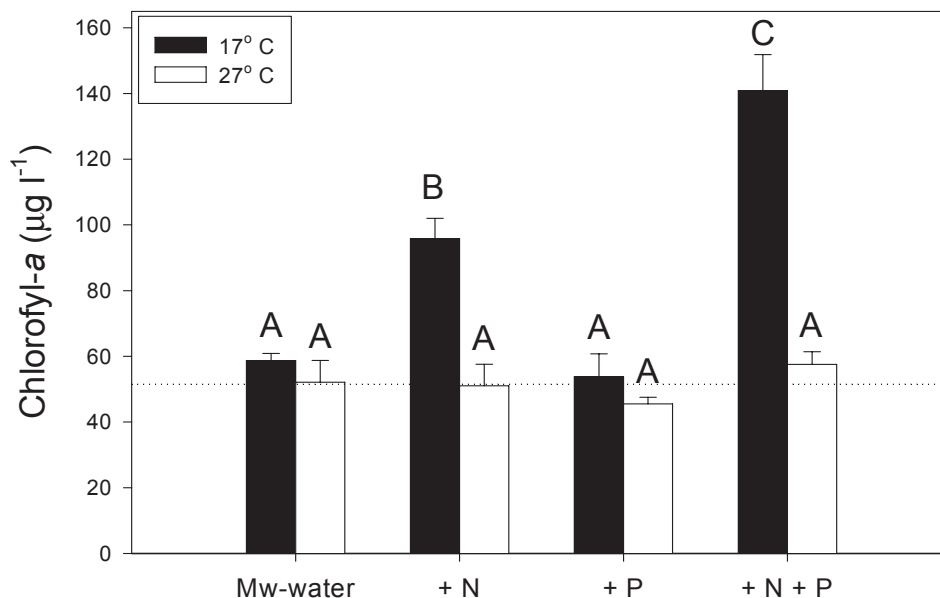


Cyanobacteriën uit een drijfslag op het Molenwiel (24 november 2006) lieten een duidelijk verschil in groei zien wanneer gekweekt bij twee temperaturen in gefiltreerd water uit de Molenwielvijver (Mw-water), in gefiltreerd water met stikstof toegevoegd (+N;  $85 \text{ mg NaNO}_3 \text{ l}^{-1}$ ), in water met fosfaat toegevoegd (+P;  $8,7 \text{ mg K}_2\text{HPO}_4 \text{ l}^{-1}$ ) en in water met zowel stikstof als fosfaat additie (+N + P; *Figuur 3.7*). In de drijfslag was *Planktothrix agardhii* de dominante soort met een redelijke ondergroei van *Woronichinia naegeliana* en *Microcystis aeruginosa*.

Er was een significant temperatuureffect ( $F_{1,24} = 192,8$ ;  $P < 0.001$ ), een significant behandelingseffect (Mw-water, +N, +P, +N+P;  $F_{3,24} = 75,0$ ;  $P < 0.001$ ) en een significante interactie tussen beide ( $F_{3,24} = 49,7$ ;  $P < 0.001$ ). Dit laatste wordt veroorzaakt door een significante groei in behandelingen met stikstofadditie bij  $17^\circ\text{C}$  (aangegeven met de symbolen B en C), maar geen groei bij  $27^\circ\text{C}$  (*Figuur 3.7*). Alle met A aangeduide behandelingen in de *Figuur 3.7* zijn gelijk (Tukey's test;  $P < 0.05$ ).

Dit eenvoudige experimentje laat zien dat de cyanobacteriën *in situ* zeer waarschijnlijk enige stikstoflimitatie ondervonden en dat een hoge temperatuur niet per definitie een hogere groeisnelheid hoeft te betekenen.

FIGUUR 3.7 GEHALTEN VAN CHLOROFYL-A VAN CYANOBACTERIËN UIT HET MOLENWIEL NA 4 DAGEN BIJ 17°C (ZWARTE STAVEN) EN 27°C (WITTE STAVEN) IN GEFILTREERD WATER UIT DE MOLENWIELVIJVER (MW-WATER), MET STIKSTOF TOEGEVOEGD (+ N), OF FOSFAAT (+P), OF BEIDE (+N+P). STIPPELIJN = BEGINCONCENTRATIE. SIGNIFICANTE VERSCHILLEN TUSSEN BEHANDELINGEN ZIJN AANGEGEVEN MET VERSCHILLENDE LETTERS A, B EN C



De hoogste watertemperatuur van 25.1°C werd gemeten op 21 juli. De zuurgraad van het Molenwielwater varieerde tussen 7.3 en 9.2, wat alleen in juni kortstondig een zeer lichte overschrijding van de norm (pH-range: 6.5-9) inhoudt. De zuurstofconcentraties varieerden tussen 0.9 en 16 mg l<sup>-1</sup> en lagen tussen midden juli en midden september onder de norm van 5 mg l<sup>-1</sup> (Bijlage 5).

### 3.2 DE KIENEHOEFVIJVER

Het ongeveer 20 ha grote recreatiepark de Kienehoef ligt in het noordwesten van Sint-Oedenrode (Figuur 3.8). Het park kent twee aangelegde vijvers (700 m en 475 m omtrek), die met elkaar in verbinding staan (275 m omtrek), een grote speeltuin, een kinderboerderij en een omliggend bos met wandelpaden. De voormalige roeivijver (1) bevat drie eilandjes (80, 80 en 100 m), terwijl de zuidelijke visvijver (2) een groter eiland (330 m omtrek) omsluit.

De oevers van de Kienehoefvijver zijn grotendeels beschoeid, maar er zijn ook enkele "natuurvriendelijkere" delen (Figuur 3.9). De Kienehoefvijver wordt op redelijk wat plekken beschaduwed door de aanwezigheid van bomen en struiken langs de waterkant (ook op de eilandjes). Een oevervegetatie ontbreekt langs grote delen van de oevers. Ondergedoken en drijvende waterplanten zijn vrijwel geheel afwezig. Er zijn tientallen eenden en enkele ganzen continu op de vijver aanwezig. Het gras langs de vijver ligt vol met eendenpoep en soms ook hondenpoep. De eenden en ganzen worden veelvuldig gevoerd met soms grote hoeveelheden brood, waarvan een aanzienlijk deel naar de bodem zinkt.



FIGUUR 3.8 PARK DE KIENEHOEF BINNEN DE MET EEN RODE LIJN AANGEGEVEN GRENZEN EN DE UIT TWEE COMPARTIMENTEN BESTAANDE VIJVER MET DAARIN EEN PAAR EILANDJES. 1) DE VOORMALIGE ROEIVIJVER; 2) DE VISVIJVER. DE BEMONSTERINGSLOCATIES ZIJN AANGEDUID MET \*.



De vijver is gedurende de periode van 11 juli tot 1 december 18 maal bemonsterd nabij de steiger in de zogeheten visvijver (locatie 2 in *Figuur 3.8*); ook zijn geregeld aanvullende metingen verricht in de voormalige roeivijver (locatie 1).

De vijver lijkt verzadigd met karpers. De zuidelijke vijver wordt gebruikt als visvijver, maar ook in de noordelijke vijver worden viswedstrijden gehouden. Zo is gezien dat, ondanks de borden verboden te vissen en een zichtbaar aanwezige drijfslag van blauwalgen, er door de aanwezige vissers een grote hoeveelheid lokvoer in het water werd gegooid. Waterschap de Dommel is de waterkwaliteitsbeheerder, terwijl het onderhoud waarschijnlijk volledig bij de gemeente Sint-Oedenrode ligt.

De gemeten chlorofyl-*a* concentraties komen vanaf juli tot medio oktober 2006 boven de maximaal toelaatbare concentratie van  $100 \mu\text{g l}^{-1}$  uit (*Figuur 3.10*). De laagste concentratie van  $31 \mu\text{g l}^{-1}$  werd gemeten op 1 december, waarbij het aandeel blauwalgen 38% was. De hoogste concentratie werd aangetroffen op 19 augustus; van de gemeten  $583 \mu\text{g l}^{-1}$  chlorofyl-*a* kon vrijwel 100% toegeschreven worden aan blauwalgen (*Figuur 3.10*). Na deze piek in de bloei van de cyanobacteriën nam de hoeveelheid fytoplankton geleidelijk af.

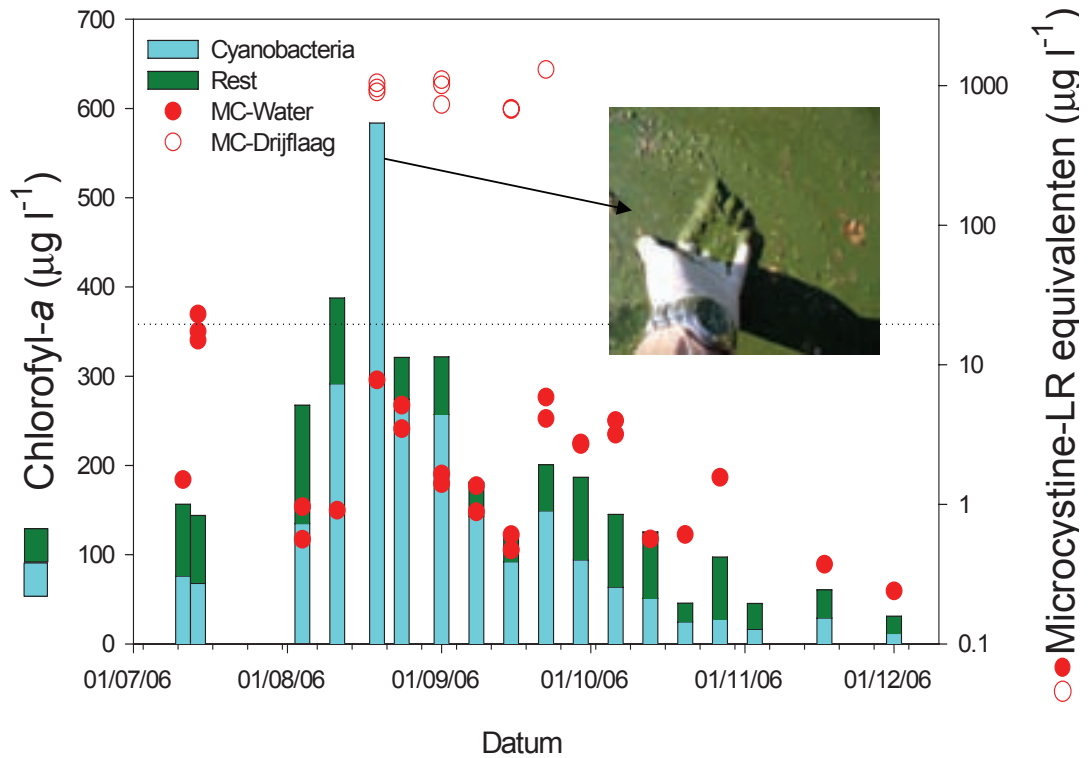
FIGUUR 3.9 VOORBEELDEN VAN DE HOUTEN BESCHOEIING (A, D), AANWEZIGE WATERVOGELS (B) EN HUN ONTLASTING OP DE OEVER (C), EEN STUKJE 'NATUURLIJKE' OEVER (E) EN DE WATERINLAAT (PIJL IN F) VAN DE KIENHOEFVIJVER



Op 14 juli was de concentratie van het blauwalgengif microcystine in de waterkolom  $19 (\pm 4) \mu\text{g l}^{-1}$ ; tijdens alle andere bemonsteringen bleek de microcystineconcentratie minder dan  $10 \mu\text{g l}^{-1}$  (Figuur 3.10). Ook werd vier maal een drijflaag geconstateerd, waarbij de drijflagen op 19 augustus en 1 september met respectievelijk 75 en 79 mg chlorofyl  $\text{l}^{-1}$  beduidend intenser waren dan die op 15 en 22 september (13 en 24 mg chlorofyl  $\text{l}^{-1}$ ). Desondanks waren de microcystineconcentraties in de drijflagen vergelijkbaar en lagen ze rond  $1000 \mu\text{g l}^{-1}$  (Figuur 3.10). De stippellijn in Figuur 3.10 geeft de grens van  $20 \mu\text{g l}^{-1}$  microcystine aan waarboven een zwemwater gesloten kan worden.



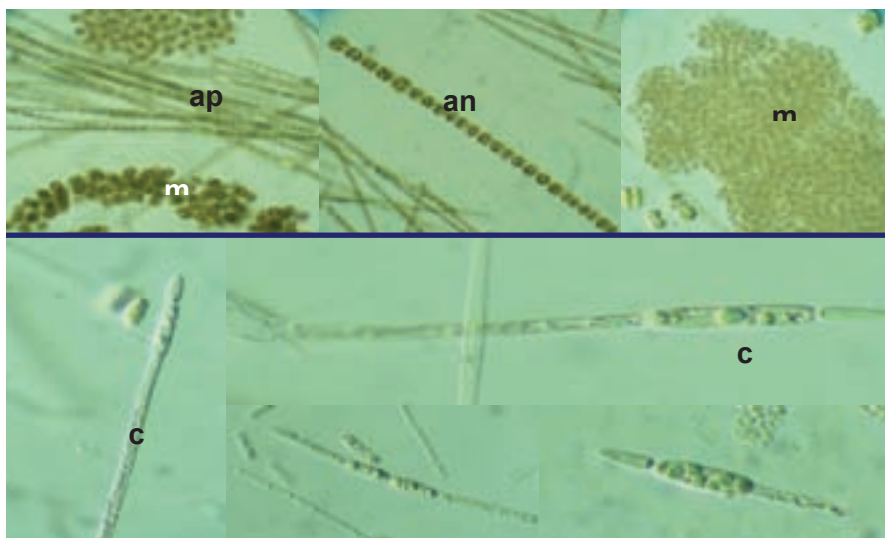
FIGUUR 3.10 HET VERLOOP VAN DE CONCENTRATIES CHLOROFYL-A VAN CYANOBACTERIËN, DE REST VAN HET FYTOPLANKTON, DE MICROCYSTINECONCENTRATIE (MC) IN HET WATER EN DE MICROCYSTINECONCENTRATIE IN DRIJFLAGEN IN VIJVER DE KIENEHOEF OVER DE PERIODE 11 JULI – 1 DECEMBER 2006. DE STIPPELIJN GEEFT 20  $\mu\text{G L}^{-1}$  MICROCYSTINE (= DE VOORGESTELDE MAXIMAAL TOELAATBARE CONCENTRATIE IN EEN ZWEMWATER)



De vrije BMAA concentraties in de drijfslagen waren op 19 augustus, 1 september en 15 september respectievelijk 1.6, 0 en 3.4  $\mu\text{g g}^{-1}$ . De gebonden BMAA concentraties waren 12.9, 8.5 en 5.8  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

De dominante cyanobacteriën in de drijfslagen waren *Aphanizomenon*, *Anabaena* en *Microcystis* (Figuur 3.11). Het water in de Kienehoefvijver werd echter gekenmerkt door een rijke diversiteit aan cyanobacteriën. Zo werd naast de drijfslaagvormers veelvuldig *Planktothrix agardhii* aangetroffen, alsmede *Gomphosphaeria*, *Merismopedia*, *Limnothrix*, *Oscillatoria*, *Aphanotece* en *Chroococcus* soorten. De meest opvallende verschijning betrof echter *Cylindrospermopsis raciborskii*, een invasieve en in potentie giftige blauwalg (Figuur 3.11).

FIGUUR 3.11 CYANOBACTERIËN IN DE DRIJFLAGEN OP DE KIENEHOEFVIJVER: M = MICROCYSTIS, AP = APHANIZOMENON GRACILE, AN = ANABAENA EN C = CYLINDROSPERMOPSIS RACIBORSKII



In de Kienehoefvijver zijn gedurende de zomer en nazomer geregeld dode eenden, zwaluwen en karpers gesignaleerd; waarschijnlijk als gevolg van cyanobacteriënbloei en gelijktijdig optredende uitbraak van botulisme (Figuren 3.12 en 3.13).

FIGUUR 3.12 FOTO'S VAN DODE DIEREN IN DE KIENEHOEFVIJVER EN EEN TEKST MET MELDING VAN BLAUWALG, BOTULISME EN DODE DIEREN UIT EEN WEEKBLAD

**Weekblad Midden-Brabant 19 juli**

### Diversen

#### Uitslag onderzoek waterkwaliteit vijver Park Kienehoef

De resultaten van het onderzoek naar de waterkwaliteit van de vijver in park Kienehoef zijn bekend.

**Blauwalg**  
In de vijver is blauwalg aangetroffen. Waterschap de Dommel adviseert om contact met het water te vermijden. Ook het zwemmen door handen in de vijver wordt afgeraden. Na het vissen of voor het tunigen van etenwaren tijdens het vissen de handen met schoon water spoelen.

**Botulisme C**  
Door de Algemene Inspectie Dienst is in de vijver botulisme C geconstateerd. De geconstateerde vorm is gevaarlijk voor waterdieren, maar niet voor mensen. Botulisme C blijft onder meer in stand door het voeren van brood aan de zanden in de vijver, in combinatie met het warme weer en ondiepe water. Het voeren van de eenden wordt daarom afgeraden. Daarnaast moeten dode dieren zo spoedig mogelijk worden verwijderd.

**Controle dode dieren**  
De gemeente controleert dagelijks op de aanwezigheid van dode dieren. Dode dieren worden direct verwijderd om een verdere verspreiding van Botulisme C te voorkomen. De bestrijding lijkt effectief te zijn. De laatste vijf dagen zijn geen dode dieren meer aangetroffen. Treft u dode eenden of zanden met verlammingverschijnselen aan, meld dit dan bij de gemeente.

**Poel Dijksteeg en Molenwiel**  
Het waterschap heeft intussen ook blauwalg aangetroffen in de poel aan de Dijksteeg. In de Molenwiel was hiervan al eerder sprake. Hiervoor gelden dezelfde adviezen als onder het kopje "blauwalg". Actuele ontwikkelingen kunt u vinden op [www.nut-oesden.nl](http://www.nut-oesden.nl). Het botulisme zal naar verwachting nog enkele weken aanhouden. Wanneer de bacterie uit het water is zal dit worden gepubliceerd.

Afdeling Publicaties,  
☎ (0413)481293

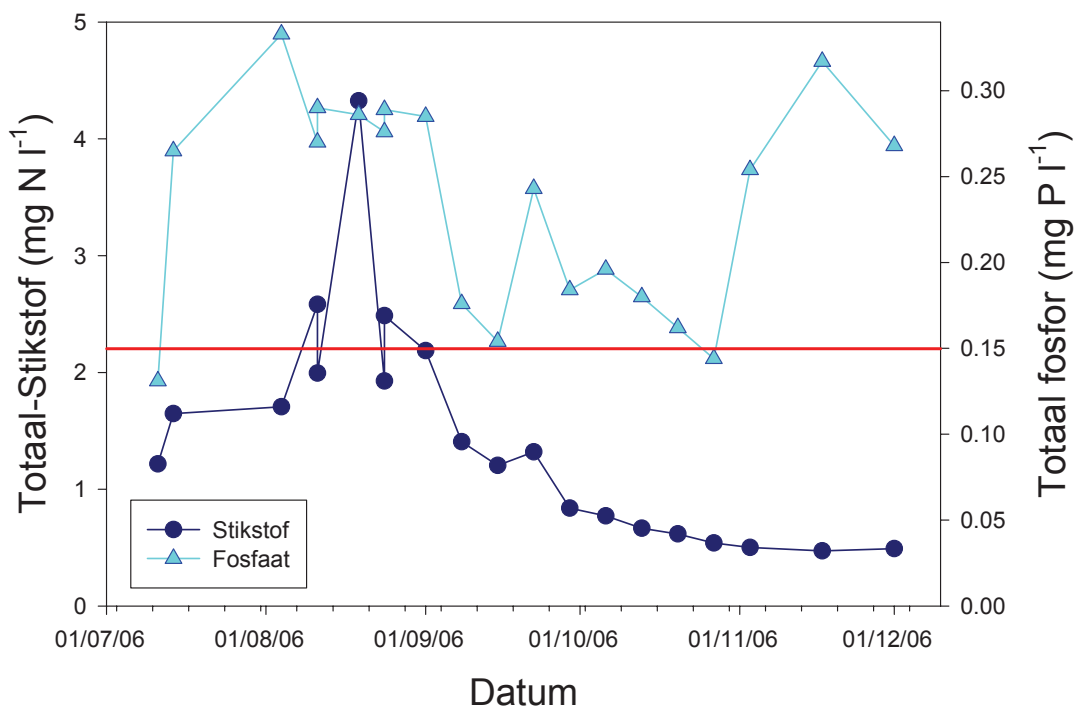
FIGUUR 3.13 WAARSCHUWINGSBORDEN BIJ DE INGANG VAN DE KIENEHOEF, EEN DRIJFLAAG (19 AUGUSTUS 2006) EN EEN DODE ZWALUW (1 SEPTEMBER 2006)



De MTR-normen (aangeduid met een rode lijn in Figuur 3.14) voor totaal-stikstof (TN: 2.2 mg l-1) en totaal-fosfaat (TP: 0,15 mg l-1) worden voor TN alleen tijdens de massale bloei ruim overschreden (Figuur 3.13). Voor TP geldt dat vrijwel de gehele bemonsteringsperiode het TP-gehalte nabij of beduidend boven het MTR ligt.

FIGUUR 3.14

VERLOOP VAN DE CONCENTRATIES VAN TOTAAL-STIKSTOF CONCENTRATIE EN TOTAAL-FOSFOR IN DE KIENEHOEFVIJVER OVER DE PERIODE JULI-DECEMBER 2006. DE RODE LIJN GEEFT VOOR BEIDE MESTSTOFFEN DE MTR-NORM AAN



De hoogste watertemperatuur (24.6 °C) is gemeten op 11 juli. De zuurstofconcentraties bovenin de waterkolom lagen gedurende de zomer ruim boven de norm van 5 mg l<sup>-1</sup>; nabij de bodem is niet gemeten, maar de geconstateerde uitbraak van botulisme doet zuurstofloosheid vermoeden. De zuurgraad van het water varieerde tussen 7.3 in het late najaar en 9.5 gedurende de zomer, wat in de zomer een lichte overschrijding van de norm (pH-interval: 6.5-9) inhoudt.

## 4

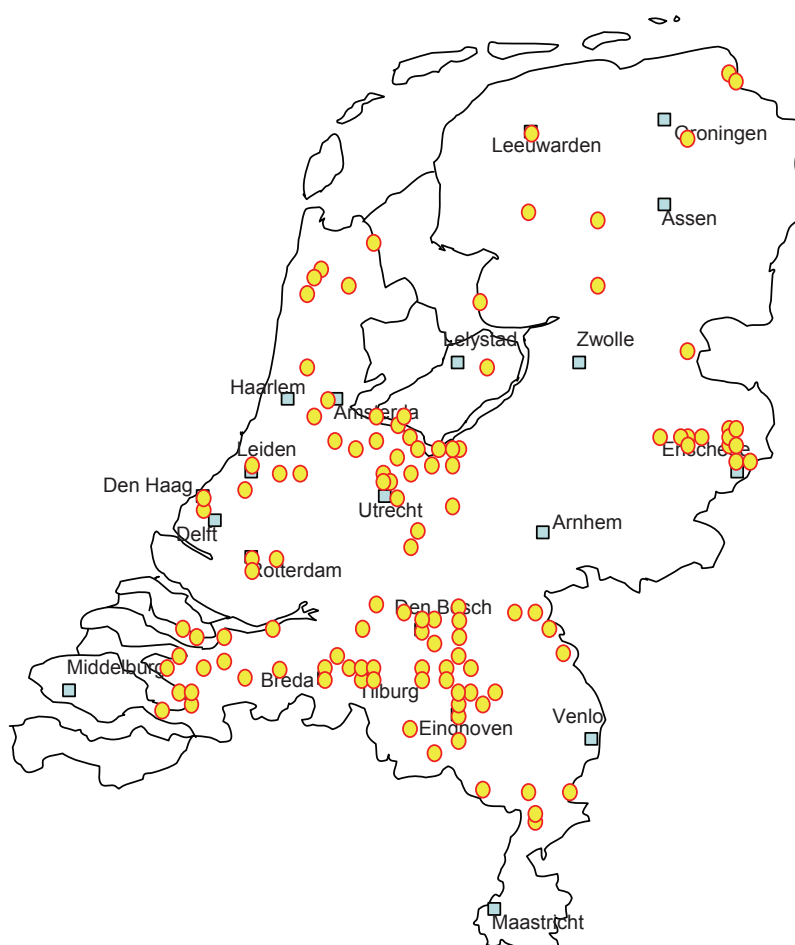
## BLAUWALGEN IN DE MEDIA

In de zomer van 2006 werd in diverse vijvers in Noord-Brabant en Gelderland een stevige bloei van cyanobacteriën waargenomen. In vrijwel alle vijftig geselecteerde wateren werden cyanobacteriën aangetroffen en in twintig wateren werd ook een drijfslag van deze organismen gesignaleerd. De monitoring van de Molenwielvijver te Sint-Oedenrode liet zien dat er al vroeg in het jaar een bloei van cyanobacteriën kan optreden en dat er sowieso drijfslagen van eind mei tot medio december mogelijk zijn.

Er is een zoektocht op het internet uitgevoerd naar meldingen over gesignaleerde blauwalgenbloei in Nederland in 2006. De verkregen gegevens zijn per maand, per provincie en in een topografische kaart weergegeven.

Over 2006 werden in totaal 112 meldingen betreffende een cyanobacteriënbloei gevonden (Figuur 4.1; Bijlage 6). Deze meldingen omvatten de periode 11 mei tot 26 oktober.

FIGUUR 4.1 OVERZICHT VAN IN DE MEDIA AANGETROFFEN MELDINGEN BETREFFENDE CYANOBACTERIËNBLOEI IN 2006

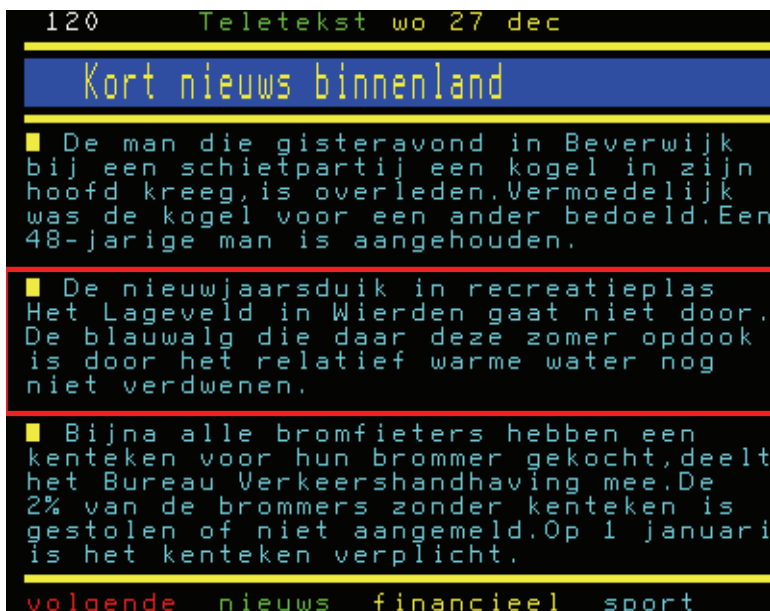


Ongetwijfeld zijn dit niet alle meldingen en is dit slechts een beperkte afspiegeling van de omvang van het probleem in het Nederland. Er zijn duidelijke hotspots te onderscheiden rondom Enschede, in de Gooi- en Vechtstreek en in Noord-Brabant, maar het is hoogst onwaarschijnlijk dat de problemen hier groter zijn dan elders. Veel eerder zegt het waarschijnlijk iets over de activiteit van de waterschappen in het signaleren en publiceren van cyanobacteriën-bloei. Dat er wel degelijk cyanobacteriënbloei voorkomt in de 'blinde vlekken' blijkt uit deze studie. Hierin zijn cyanobacteriënbloei en drijflagen gevonden in Gelderland (Bennekom, Ede, Nijmegen, Wageningen), waarvan geen meldingen in de media zijn aangetroffen en waar ook geen waarschuwingen bij de vijvers zijn waargenomen. Gezien de mogelijke risico's is het wenselijk dat er een systeem komt waarbij er voorzien wordt in adequate informatie over cyanobacteriënbloei naar de burgers.

Op 27 december dook er nog een nieuwsbericht op betreffende een afgelasting van een nieuwjaarsduik vanwege het aanhouden van een cyanobacteriënbloei (Figuur 5.2).

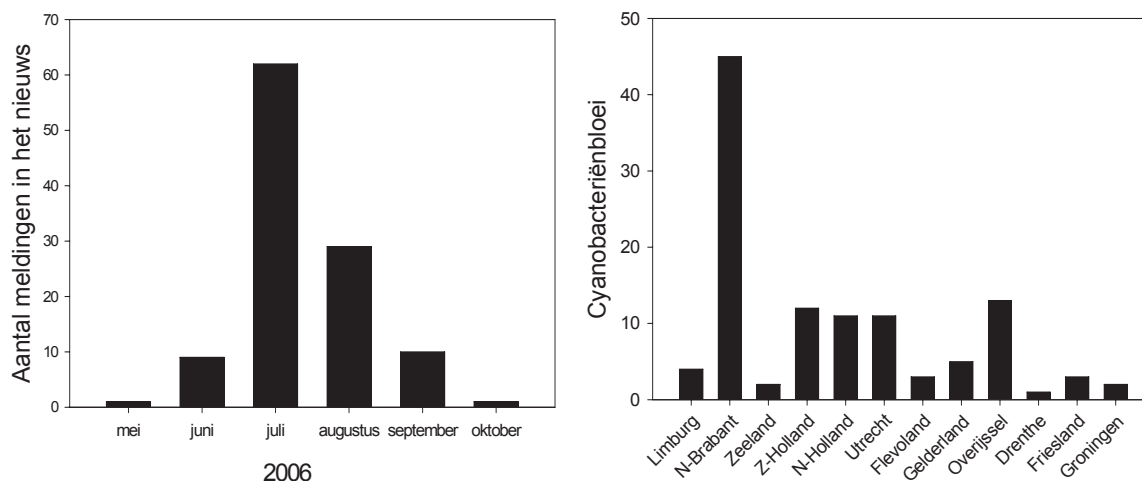
FIGUUR 4.2

TELETEKST PAGINA 120 VAN 27 DECEMBER 2006 MET EEN MELDING BETREFFENDE EEN BLOEI VAN CYANOBACTERIËN





FIGUUR 4.3 AANTAL MELDINGEN BETREFFENDE EEN CYANOBACTERIËNBLOEI PER MAAND IN 2006 (LINKS) EN PER PROVINCIE (RECHTS)



Ruim 55% van alle meldingen vond plaats in de maand juli en ruim 25% in augustus (Figuur 4.3). De provincie Noord-Brabant bleek goed voor 40% van alle meldingen, terwijl de drie noordelijkste provincies samen goed waren voor 5% van de meldingen (Figuur 4.3). Alle meldingen op één na vielen in de periode mei – oktober (het 'zwemseizoen'). Ongetwijfeld is de intensiteit en frequentie van cyanobacteriënbloei in deze periode, en met name in de zomer, groter dan in de winter, doch het ontbreken van meldingen in de winter betekent niet dat er geen cyanobacteriënbloei kan zijn. Omdat er waarschijnlijk vooral gedurende het zwemseizoen gemeten wordt, zal een eventuele bloei in de winter amper opvallen. Dit wordt overigens al onderstreept door tijdens de winter van 2007 aangetroffen cyanobacteriënbloeien (inclusief drijfslagvorming) in Arnhem, Berkel-Enschot en Sint-Oedenrode, waarover geen meldingen in de media zijn verschenen.

De zachte winter speelt hier zeer waarschijnlijk een belangrijke rol, wat kan duiden op een bijkomend effect van de verwachte klimaatsverandering. Door zachtere winters kunnen relatief grote hoeveelheden cyanobacteriën in de waterkolom aanwezig blijven, waardoor er een permanente bloei kan ontstaan van één of meerdere of elkaar afwisselende soorten, zoals in de Molenwielvijver.

Het is aannemelijk dat bloei van cyanobacteriën en vorming van drijfslagen eerder optreedt in stadswateren dan in de vaak relatief grotere wateren buiten de bebouwde kom. Vijvers, singels, poelen en grachten zijn veelal voedselrijke, stilstaande, relatief kleine en ondiepe wateren in de buurt van bebouwing, die gemakkelijk opwarmen. Daarbij is het in stedelijk gebied vanwege de opname van zonnewarmte door stenen, beton en asfalt in combinatie met een afname van afkoeling door verdamping en wind altijd warmer dan op het platteland. Deze combinatie heeft als consequentie dat in stedelijk gebied massale bloei van cyanobacteriën, inclusief de vorming van drijfslagen en stankoverlast, eerder kan optreden en langer kan aanhouden. Het uitblijven van een koude periode maakte het mogelijk dat drijfslagen tot ver in december werden waargenomen en dat er zelfs een Nieuwjaarsduik werd afgelast.<sup>2</sup> Deze observaties suggereren een mogelijk bijkomend aspect van de verwachte klimaatsverandering: zachtere winters kunnen resulteren in het in de waterkolom aanwezig blijven van een relatief grote hoeveelheid cyanobacteriën, waardoor er een permanente bloei kan ontstaan.

<sup>2</sup> Uit doorlopend onderzoek blijkt dat in diverse stadswateren in de winters van 2007 en 2008 drijfslagen van cyanobacteriën voorkwamen.

“In een land als het onze, waar landbouw en veeteelt welig bloeien, ontvangen polderwateren vaak in grote hoeveelheden van de aanliggende landerijen afkomstige meststoffen, die bij regenbuien opgelost en afgespoeld worden. Zo kunnen plaatselijk eutrophe wateren hypertrooph worden, met als gevolg een excessieve ontwikkeling van bepaalde organismen...” (Redeke, 1948).



# 5

## DISCUSSIE

### 5.1 DE CYANOGIFFEN

#### 5.1.1 HEPATOTOXINES (MYCROCYSTINES)

Uit een eerdere studie kwam naar voren dat vooral microcystines in Nederlandse wateren kunnen worden aangetroffen (STOWA, 2000). Omdat ook wereldwijd deze levertoxines het vaakste voorkomen in cyanobacteriënbloei, is in dit onderzoek in eerste instantie gekeken naar microcystines.

In deze verkennende studie is gebruik gemaakt van een ELISA voor de detectie van microcystine. Deze methode is weliswaar snel en gevoelig om monsters te screenen op aanwezigheid van microcystines, maar er kan geen onderscheid gemaakt worden tussen de verschillende varianten.

In zes wateren werd de richtlijn van  $20 \mu\text{g microcystine l}^{-1}$ , waarbij een zwemwater gesloten wordt, overschreden. Alle zes deze wateren hadden tevens een drijfslag en werden gedomineerd door *Microcystis*. De hoogste in de waterkolom gemeten particuliere microcystineconcentraties van  $84$  en  $95 \mu\text{g l}^{-1}$  in respectievelijk Etten-Leur en Grave komen overeen met de concentraties zoals vermeld in de studie van Kardinaal & Visser (2005) en Fastner *et al.* (1999). Hoewel in de dataset van Kardinaal & Visser (2005) twaalf metingen met microcystineconcentraties  $> 100 \mu\text{g l}^{-1}$  (met een maximum van  $326 \mu\text{g l}^{-1}$ ) niet zijn weergegeven, vanwege twijfel omtrent eventuele monsternamen in een drijfslag, is in Duitsland een hoogste microcystineconcentratie van  $366 \mu\text{g l}^{-1}$  gemeten in een waterbloei van *Planktothrix agardhii* (Fastner *et al.*, 1999).

Echter, de extreem hoge concentraties voor particulier microcystine in watermonsters vallen vrijwel in het niet bij concentraties die aangetroffen kunnen worden in drijfslagen. Veruit de hoogste microcystineconcentraties in deze studie, tot ruim  $28\,000 \mu\text{g l}^{-1}$  ( $28 \text{ mg MC l}^{-1}$ ), werden gemeten in drijfslagen. Deze waarden komen goed overeen met in drijfslagen gemeten concentraties van  $20 - 40 \text{ mg MC l}^{-1}$  (Berg *et al.*, 1987),  $25 \text{ mg MC l}^{-1}$  (Fastner *et al.*, 1999),  $10 - 50 \text{ mg MC l}^{-1}$  (Kardinaal & Visser, 2005) tot maximaal  $77 \text{ mg MC l}^{-1}$  (van Gremberghe *et al.*, 2007). Het is evident dat het grootste gevaar voor mens en dier schuilt in deze drijfslagen.

Microcystines hopen zich na consumptie op in de lever alwaar ze levercellen ernstig kunnen beschadigen. Normaliter zou een individu grote hoeveelheden water moeten drinken om een dodelijke hoeveelheid gif binnen te krijgen, maar de gemeten concentraties in drijfslagen, vaak dichtbij de oever, nopen tot voorzichtigheid. Er is weliswaar geen reden tot paniek; zo worden de officiële zwemwateren in Nederland goed in de gaten gehouden, maar er is ook geen reden tot bagatelliseren. Immers bij drijfslagvorming en hogere concentraties cyanogiffen worden zwemwateren gesloten. En terecht, want er kunnen zich ernstige gezondheidsklachten voordoen. Er zijn in het buitenland mensen overleden als gevolg van vergiftiging door cyanobacteriën (Texeira *et al.*, 1993; Jochimsen *et al.*, 1998; Carmichael *et al.*, 2001).

De Wereldgezondheidsorganisatie (WHO) komt in haar rapport uit 1998 tot een aanvaardbaar dagelijkse opname van microcystines van 0.04 µg per kg lichaamsgewicht (Chorus & Bartram, 1999). Dit is vierhonderdste van een miljoenste gram per kg en betekent dat een kind van 30 kg per dag 1.2 µg kan inslikken. Deze hoeveelheid microcystine zit bijvoorbeeld voor de drijf laag van 28 000 µg l<sup>-1</sup> in 43 microliter (0.043 of drieënveertigduizendste milliliter); dat zijn drie druppels. Voor de drijfslagen die zijn weergegeven in *Figuur 3.10* komt dit voor een kind van 30 kg neer op 12 drijfslagen met een maximaal toelaatbare inname van minder dan 2 milliliter, waarvan 8 van minder dan 1 milliliter. Eén slok water varieert van enkele tot enkele tientallen milliliters. Onverhoopte inname van één slok uit de bemonsterde drijfslagen kan dan resulteren in een overschrijding van tientallen tot duizend maal de maximaal toelaatbare concentratie. Hierdoor is er een reëel risico op permanente schade en is er een hoog gezondheidsrisico.

### 5.1.2 NEUROTOXINES (BMAA)

Verder zijn er voorbeelden waarbij blootstelling en vergiftigingsverschijnselen niet stroken met de verwachting op basis van werking van het betreffende cyanogif. Het in de inleiding genoemde voorval van een tiener die twee dagen na inname van anatoxine-*a* overleed (Behm, 2003) is niet in overeenstemming met de veronderstelde werking van het gif. De oorspronkelijke aanduiding van dit gif was 'zeer snelle dood factor' (Devlin *et al.*, 1977). Echter een studie met kikkervisjes liet eveneens een discrepantie zien tussen blootstelling aan anatoxine-*a* en sterfte: De kikkervisjes gingen pas na 6 tot 10 dagen blootstelling dood, en sterfte was ook nog hoog nadat de blootstelling was gestopt (Rogers *et al.*, 2005).

Van minder bekende cyanogiffen, zoals het neurotoxische aminozuur β-N-methylamino-*l*-alanine (BMAA), wijzen recente studies in de richting van mogelijk ernstige gezondheidseffecten op de lange termijn (Cox & Sacks, 2002). De ontdekkingen van BMAA in overleden Canadese Alzheimer patiënten en dat waarschijnlijk alle cyanobacteriën, inclusief de voorheen als onschadelijk geclassificeerde stammen, BMAA produceren, suggereren een mogelijk wijdverbreide blootstelling aan dit "langzame gif" (Cox *et al.*, 2005; Banack *et al.*, 2006).

Dat BMAA waarschijnlijk zeer wijdverbreid voorkomt in oppervlaktewateren ten gevolge van aanwezigheid en bloei van cyanobacteriën, wordt in deze studie bevestigd. In alle drijfslagenmonsters uit Nederlandse oppervlaktewateren, die tot op heden geanalyseerd zijn, is BMAA aangetroffen. BMAA was aanwezig in een vrije, oplosbare vorm en in een aan eiwit gebonden fractie wat overeenkomt met bevindingen aan laboratoriumkweken van cyanobacteriën (Cox *et al.*, 2005).

Het is evident dat gezien de recente medische literatuur aangaande BMAA, de classificatie toxisch/niet-toxische cyanobacterie in een ander daglicht wordt geplaatst. Daar waar men tot op heden slechts enkele genera als toxisch duidt, wordt op basis van de thans verkregen informatie betreffende BMAA ten strengste geadviseerd alle cyanobacteriën als potentieel toxisch te zien.

Resumerend: vanwege de recente bevindingen betreffende BMAA (waaraan nog volop onderzoek wordt verricht), vanwege het ontbreken van langetermijnstudies naar consequenties van geregelde blootstelling aan cyanogiffen en omwille van onduidelijkheid betreffende mogelijke blootstellingroutes, is het aan te bevelen om terughoudendheid te betrachten in blootstelling aan cyanobacteriën. Omdat bijvoorbeeld BMAA ook bij zeer lage concentraties van 10 µM schade aan motorische neuronen door andere agentia bleek te kunnen versterken (Lobner

*et al.*, 2007), en het tegelijkertijd met allerlei andere cyanotoxines voorkomt, kunnen *a priori* mogelijk versterkte effecten niet uitgesloten worden. Contact met drijfvlagen dient daarom vermeden te worden.

## 5.2 DE DETECTIE VAN CYANOBACTERIËN

De cyanobacteriën zijn hier gekwantificeerd en onderscheiden van eukaryote algen met behulp van *in vivo* chlorofyl-*a* fluorescentie. De met behulp van de PHYTO-PAM verkregen chlorofyl-*a* concentraties aan onverdunde monsters uit de diverse stadswateren bleken tot vele honderden microgrammen chlorofyl-*a* per liter in zeer goede overeenstemming te zijn met chlorofyl-*a* concentraties, die gemeten waren volgens de standaard spectrofotometrische bepaling. Ook voor fyto benthos is een goede overeenkomst ( $r^2 = 0.86 - 0.97$ ) tussen spectrofotometrische bepaling van chlorofyl-*a* en de PHYTO-PAM metingen gevonden (Van der Grinten *et al.*, 2004). Hieruit valt af te leiden dat spectrofluorometrie een zeer snelle methode is om cyanobacteriën te kwantificeren en te onderscheiden van eukaryote algen.

Traditioneel wordt de hoeveelheid cyanobacteriën bepaald door middel van microscopische tellingen, maar ook pigmentanalyse met behulp van HPLC of flowcytometrie worden gebruikt. De tijdrovende en kostbare analyses beperken de mogelijkheden voor intensieve monitoring en vertragen eventuele informatievoorziening aan recreanten. De op 24 maart 2006 in werking getreden Zwemwatterrichtlijn (Directive EC 2006/7/EC) vereist echter dat een mogelijke cyanobacteriënbloei vroegtijdig gesignaleerd wordt door middel van een adequate monitoring. Er is daarom voorgesteld om een verkorte planktonanalyse uit te voeren naar de vier soorten (*Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Microcystis*, *Planktothrix*) die de problemen veroorzaken (Ruiter, 2006).

Hierbij dient de kanttekening geplaatst te worden dat de focus op een zeer beperkte groep cyanobacteriën een onderschatting van eventuele problemen oplevert, omdat problemen ook veroorzaakt kunnen worden door andere soorten. Zo werd in een recente studie van 64 verschillende cyanobacteriënbloeien naast de viergenoemde soorten ook *Woronichinia naegeliana* als dominante bloeivormer aangemerkt, waarbij de hoogste microcystine concentratie werd gemeten in een bloei van deze cyanobacterie (Willame *et al.*, 2005). Inmiddels is komen vast te staan dat *W. naegeliana* microcystine kan produceren (Oberholster *et al.*, 2006). Ook in de studie van 2006 komt *Woronichinia* als zeer wijdverbreid in Noord-Brabantse en Gelderse wateren naar voren. Omdat er nog steeds nieuwe cyanogiffen en varianten van bekende toxines gevonden worden, is voorgesteld het monitoren van de hoeveelheid cyanobacteriën te laten prevaleren boven monitoring van een selecte groep toxines, zoals microcystine (Chorus & Bartram, 1999; Chorus *et al.*, 2000). Een belangrijke rol als monitoringsinstrument kan hierin vervuld worden door meervoudige-golflengte-fluorometers, zoals de PHYTO-PAM, die draagbaar is en verplaatst kan worden tot aan de oever of met een accu zelfs in een boot gebruikt kan worden, doch voor *in situ* metingen zijn er diverse geschikte sondes beschikbaar (bijv. OTO-Hydrolab, of een BBE Moldaenke Fluoroprobe).

Informatie over de fytoplanktonbiomassa en de samenstelling van de fytoplanktongemeenschap is belangrijk voor de waterkwaliteitsbeheerder vanwege onder andere de KRW-beoordeling en het vroegtijdig kunnen signaleren van mogelijke probleemsituaties, zoals bloei van cyanobacteriën in recreatiewateren. Op basis van de hoeveelheid cyanobacteriën worden drie risiconiveaus voor het optreden van gezondheidseffecten onderscheiden (Chorus & Bartram, 1999; Chorus *et al.*, 2000):

- I. Laag risico.  
Bij 20 000 cellen per ml ( $\approx 10 \mu\text{g}$  per liter cyanobacteriën-chlorofyl-*a*) is er een geringe kans op milde, korte termijn effecten, zoals irritaties, allergische reacties en maag- en darmklachten. Het risico m.b.t. microcystines wordt verwaarloosbaar geacht.
- II. Matig risico.  
Bij 100 000 cellen per ml ( $\approx 50 \mu\text{g}$  per liter cyanobacteriën-chlorofyl-*a*) is er een matig risico op irritaties, allergische reacties, maag- en darmklachten en mogelijke nadelige gezondheidseffecten door microcystines.
- III. Hoog risico.  
Drijfslagen brengen een hoog gezondheidsrisico met zich mee: irritaties aan ogen en huid, hoofdpijn, maag- en darmklachten, acute vergiftiging en chronische (ernstige) leverschade zijn mogelijk.

Ook hier kan spectrofluorometrie een snelle methode zijn om een indicatie van de mogelijke risico's te geven, waardoor recreanten proactief geïnformeerd kunnen worden. Daarnaast blijft een microscopische planktonanalyse nodig om inzicht te krijgen in de soortensamenstelling en mogelijke verschuivingen daarin. Tot slot, omdat het vooralsnog onduidelijk is welke in Nederland voorkomende cyanobacteriën welke cyanogiffen produceren, hoe productie samenhangt met omgevingsvariabelen, en wat de lange termijn effecten op mens en dier zijn, lijkt het raadzaam alle cyanobacteriën als een potentieel risico te zien, totdat gedegen onderzoek uitsluitend heeft opgeleverd betreffende giftigheid en risico's.

Gebruik van *in situ* /*in vivo* chlorofyl-*a* fluorescentie lijkt een zeer bruikbaar hulpmiddel voor de waterbeheerder om snel en betrouwbaar een indruk te krijgen van de hoeveelheid cyanobacteriën in een water.

### 5.3 DE CYANOBACTERIËN

“Deze soort (*Microcystis aeruginosa*) komt door het gehele land in onze eutrophe zoete en brakke binnenwateren voor en vormt dikwijls waterbloei.” “...*Aphanizomenon flos aquae* is bij ons het meest algemeen waterbloei-vormende Blauwwier.” (Redeke, 1948).

In tegenstelling tot het hierboven gemelde was *Aphanizomenon flos-aquae* in 2006 slechts sporadisch aanwezig (alleen aangetroffen in Grave) en nimmer een dominante bloeivormer. Wel werd in twee wateren te Sint-Oedenrode *Aphanizomenon gracile* als dominante soort gevonden.<sup>3</sup> Deze soort is duidelijk te onderscheiden van *A. flos-aquae*, maar verwarring met *Anabaena* is mogelijk (Hindák, 2000). *Microcystis* bleek de meest wijdverbreide dominante drijfslagvormer te zijn, maar ook *Anabaena* sp., *Planktothrix agardhii*, en *Woronichinia naegeliana* waren vrij abundant. Dit is in overeenstemming met de situatie bij onze zuiderburen waar in inventarisatie van meer dan 100 cyanobacteriënbloeiën in 44% een dominantie van *Microcystis* opleverde, gevolgd door *Planktothrix* 19% en *Anabaena* 12% (van Gremberghe *et al.*, 2007). In een andere studie werd naast de genoemde soorten ook *Woronichinia naegeliana* als dominante bloeivormer aangemerkt (Willame *et al.*, 2005). In de huidige studie bleken ook *Oscillatoria*, *Limnothrix*, *Chroococcus* en *Gomphosphaeria* soorten vrij algemeen voorkomend. De meest opvallende verschijning was de als invasief bekend staande *Cylindrospermopsis raciborskii*.

3 Op 13-03-2007 werd in een pool te Sint-Oedenrode een bloei van *A. gracile* gevonden ( $250 \mu\text{g Chl-a l}^{-1}$ ).

In de zomers van 1999 en 2000 werd *Cylindrospermopsis raciborskii* voor het eerst in Nederland aangetroffen in de Amstelveense Poel (Van den Hove, 2001), maar nu is deze ongewenste gast ook in de Kienehoefvijver te Sint-Oedenrode en in Ede gesignaleerd. Na de eerste beschrijving van deze soort in 1912 is lange tijd gedacht dat het om een (sub)tropisch organisme zou gaan. Er komen echter steeds meer vindplaatsen uit gematigde streken bij, zoals in Duitsland, Canada en Nederland. Het is onduidelijk of dit het gevolg is van een veranderend klimaat, van aanpassing zodat ze ook in koeler klimaat kunnen gedijen, of van het jarenlang over het hoofd zien. Dat laatste is zeker mogelijk omdat de soort onder een aantal synoniemen bekend staat zoals: *Anabaena raciborskii*, *Anabaenopsis raciborskii*, *Anabaenopsis kogonii*, *Anabaenopsis maksimilianii*, *Anabaenopsis seriata*, *Anabaenopsis wustericum*, *Cylindrospermum doryphorum* en *Cylindrospermum kaufmanii* (Hawkins *et al.*, 1985).

*Cylindrospermopsis raciborskii* is een beruchte blauwalg, die verantwoordelijk wordt gehouden voor de ziekte die in november 1979 148 personen (voornamelijk kinderen) op Palm Eiland (Australië) trof (Hawkins *et al.*, 1985). Leverontsteking (hepato-enteritis), overgeven en diarree waren de symptomen na consumptie van verontreinigd water. *Cylindrospermopsis raciborskii* kan verschillende gifstoffen maken; *cylindrospermopsine*, een stof die schade kan toebrengen aan lever en nieren; *anatoxine* en *saxitoxine* die de communicatie tussen zenuwen verstoren. Echter van de tot dusver in Europa aangetroffen stammen lijken de meeste geen *cylindrospermopsine* aan te maken, hoewel dit gif in Duitse wateren is gemeten (Fastner *et al.*, 2003). In de Kienehoefvijver en in Ede komt *Cylindrospermopsis* vooralsnog in relatief lage dichtheden voor, maar het is aan te bevelen de ontwikkelingen te volgen.

De meeste wateren zijn in 2006 slechts eenmaal bemonsterd. Informatie over de dynamiek en opeenvolging van soorten is verkregen uit het vrijwel wekelijks bemonsteren van de Molenwielvijver te Sint-Oedenrode. In deze vijver was een duidelijke groei van cyanobacteriën in het voorjaar waarneembaar. De microcystineconcentratie in de waterkolom verliep parallel met de toename aan cyanobacteriën. Gedurende de zomer en het najaar veranderde de cyanobacteriën soortensamenstelling. In het voorjaar en eerste deel van de zomer waren met name *Aphanizomenon*- en *Anabaena*-soorten dominant, terwijl later met name *Microcystis* en *Woronichinia* dominant werden. Deze soortverschuiving is de belangrijkste verklarende factor voor grote verschillen in de microcystineconcentraties in de drijfslagen op de Molenwiel. Daar waar microcystineconcentraties in *Aphanizomenon*/*Anabaena* drijfslagen varieerden tussen 3 en 209  $\mu\text{g l}^{-1}$ , lag het gemiddelde voor de *Microcystis* en *Woronichinia* drijfslagen tussen 1500 en 23000  $\mu\text{g l}^{-1}$  (zie *Figuur 3.4*).

De voedselrijkdom van de onderzochte wateren is hoog (*Tabel 5.1*). Slechts één water kon op basis van het chlorofyl-*a* gehalte als oligotroof (voedselarm) worden geduid. Op basis van dit criterium waren 4 wateren matig voedselrijk (mesotroof), 8 wateren voedselrijk (eutroof) en 37 wateren zeer voedselrijk (hypertroof). De hoge tot zeer hoge chlorofyl-*a* concentraties die zijn aangetroffen in menig stadswater (zelfs tot 1100  $\mu\text{g l}^{-1}$ ; zie *Figuur 2.4*), zijn overigens niet uitzonderlijk voor stadswateren. Bijvoorbeeld in Baterssea Park in Londen werd 750  $\mu\text{g l}^{-1}$  chlorofyl-*a* gevonden (Birch & McCaskie, 1999), in Lake Suwa (Japan) 827  $\mu\text{g l}^{-1}$  chlorofyl-*a* (Yokohama & Park, 2002), in Mézeshegyi-tó (Hongarije) in een visvijver 1600  $\mu\text{g l}^{-1}$  (Borics *et al.*, 2000), terwijl in de Furuiki vijver (Matsuyama City, Japan) een chlorofyl-*a*-maximum van 3300  $\mu\text{g l}^{-1}$  is gevonden (Hirose *et al.*, 2003).

TABEL 5.1

INDELING VAN OPPERVLAKTEWATEREN NAAR VOEDSELRIJKDOM OP BASIS VAN CHLOROFYL-A (CHL-A) EN TOTAAL-FOSFAAT (TP) CONCENTRATIES, ALSMEDE DE CLASSIFICATIE VAN DE WATEREN UIT DEZE STUDIE OP BASIS VAN DEZE CRITERIA

	Chl-a ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ) <sup>a,b</sup>	aantal locaties	TP ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ) <sup>c</sup>	aantal locaties
Oligotroof	< 3	1	< 10	0
Mesotroof	3-10	4	10-34	0
Eutroof	11-50	8	35 - 100	0
Hypertroof	> 50	37	> 100	50

<sup>a</sup>Wetzel (2001), <sup>b</sup>Huszar *et al.* (2006), <sup>c</sup>OECD (1982).

Op basis van totaal-fosfaat waren alle in 2006 wateren zeer voedselrijk. De voedselrijkdom van een water kan van invloed zijn op de diversiteit van giftige cyanobacteriën. In Finse meren namelijk bleek in tweederde van de oligotrofe wateren (TP < 10  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) slechts één microcystine producent voor te komen (*Anabaena*, *Microcystis* of *Planktothrix*). In de helft van alle mesotrofe wateren (10 ≤ TP ≤ 34  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) werden er twee producenten gevonden, in de helft van alle eutrofe wateren (35 ≤ TP ≤ 100  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) waren er vertegenwoordigers van alle drie de genera, terwijl dit verder opliep tot driekwart in hypertrofe wateren (TP > 100  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) (Rantala *et al.*, 2006).

In deze studie werden in veruit de meeste wateren meerdere cyanobacteriënsoorten aangetroffen, wat past in het beeld uit Finland. Echter enkele noemenswaardige uitzonderingen waren Bergen op Zoom met vrijwel een monocultuur *Planktothrix agardhii* en Deurne met alleen *Microcystis*. Daarentegen had de Kienehoevijver op een gegeven moment een bloei met meer dan tien soorten. Een dergelijk fenomeen is recentelijk ook in Argentinië waargenomen, waar in een hypertroof water een massale cyanobacteriënbloei bestaande uit tientallen soorten bleek te bestaan (Huszar & Kruk, *pers. med.*).

De soortensamenstelling is niet alleen wetenschappelijk interessant, maar ook van belang voor de Kaderrichtlijn Water (KRW), die beoogt onder meer de waterkwaliteit te verbeteren. Er wordt hierin een kader geboden voor het bepalen van de doelen, het vaststellen van de waterkwaliteit en het nemen van maatregelen. De KRW kent verschillende kwaliteitsklassen en oppervlaktewateren dienen in 2015 de “goede ecologische toestand” te bereiken (Anonymus, 2000). In de KRW is een deelmaatlat voor algenbloeien opgenomen wat bijvoorbeeld overmatige belasting met nutriënten reflecteert. Aan een bloei worden op basis van de soortensamenstelling en de dichtheden wegingsfactoren toegekend, die de mate van ernst van de bloei zouden dienen te reflecteren. Deze zogeheten “ecologische kwaliteitsratio” (EKR) varieert tussen 0.1 voor een bloei van *Planktothrix rubescens* tot 0.6 voor een bloei van *Microcystis wesenbergii*, of *Woronichinia naegeliana* (Van der Molen & Pot, 2007).

Vanuit het oogpunt van gezondheidsrisico's valt de differentiatie in wegingsfactoren moeilijk te plaatsen. Een bloei van *W. naegeliana* wordt door de opstellers van deze deelmaatlat beduidend positiever geïndiceerd dan een bloei van *P. agardhii*, terwijl daar alleen al gezien de hoeveelheid microcystines absoluut geen reden voor is. Zo bleek in deze studie dat bloei en drijfslagen met een dominantie van *W. naegeliana* per eenheid chlorofyl-a tussen 5 en 43 keer meer microcystine bevatten dan *Planktothrix agardhii*.

#### 5.4 DE WAARSCHUWINGEN

Gedurende het zwemseizoen van mei tot oktober worden de officiële zwemlocaties tweewekelijks gecontroleerd door de waterkwaliteitsbeheerders op mogelijke aanwezigheid van cyanobacteriën. Afhankelijk van de aanwezigheid van een drijfslag en gemeten toxine-

concentraties wordt er al dan niet een waarschuwing of zwemverbod uitgevaardigd. Ondanks het ontbreken van een wettelijke basis is afgesproken dat bij het aantreffen van een drijfslag, of bij het meten van microcystineconcentraties van meer dan 20 microgram per liter, er door de provincie een zwemverbod wordt afgekondigd. Het publiek wordt middels informatieborden en artikelen in de media gewaarschuwd voor de “kwalijke blauwalg”. Verder kan de burger informatie over de kwaliteit van het zwemwater verkrijgen via onder andere teletekst pagina 725, de zwemwatertelefoon en diverse websites ([www.waterland.net](http://www.waterland.net)). Het in werking treden van de nieuwe Europese Zwemwaterrichtlijn op 24 maart 2006, (Directive 2006/7/EC; EU, 2006) waarin cyanobacteriën specifiek worden genoemd als één van de bedreigingen voor de gezondheid van waterrecreanten, zal voor risicovolle locaties een intensievere monitoring betekenen, waarbij ook de informatieverstrekking naar de recreanten zal verbeteren.

Recreatie beperkt zich echter niet tot zwemmen op de officiële locaties. Wanneer de temperatuur stijgt, zoekt men ook verkoeling op vele niet-officiële zwemlocaties. Recreatie beperkt zich ook niet tot zwemmen alleen. Er zijn allerlei activiteiten, bijvoorbeeld roeien, duiken, surfen, waterskiën, spelen, en vissen, waardoor mensen in contact komen met het oppervlaktewater. Kinderen blijken gevoeliger dan volwassenen wat vooral komt doordat kinderen tijdens zwemmen en spelen relatief tot hun gewicht meer water binnen krijgen. Extra waakzaamheid is dan ook geboden om kinderen te beschermen tegen mogelijke gezondheidsrisico's (Duy *et al.*, 2000).

Daarnaast kunnen ook huisdieren, zoals honden bij het uitlaten een ferme slok cyanosoep tot zich nemen, soms met dodelijke afloop (Gugger *et al.*, 2005). Drinken van water met een bloei van de cyanobacterie *Nodularia spumigena* werd paarden, schapen en varkens binnen enige uren fataal (Francis, 1878). Er zijn inmiddels diverse studies verschenen waarin de letale impact van cyanobacteriën op dieren is beschreven.

De huidige frequentie van bemonstering van officiële zwemlocaties is vaak niet afdoende om recreanten tijdig te waarschuwen, maar met de nieuwe Zwemwaterrichtlijn zal dit beduidend gaan verbeteren. Bij bepaalde grootschalige activiteiten, zoals een vis- of roeiwedstrijd, triatlon, of straatfeest, wordt meestal de waterkwaliteitsbeheerder betrokken. Voor wateren anders dan zwemwater is er veelal helemaal geen systematische inspectie. Dit geldt ook voor de wateren in de nabijheid van bebouwing. En dus kan het vanwege de onbekendheid met de materie, vanwege een afwezige regelgeving, en vanwege het ontbreken van een protocol hoe om te gaan met een bloei van cyanobacteriën, voorkomen dat het bevoegde gezag vaak niet of niet tijdig beslissingen neemt om mogelijke gezondheidsrisico's voor recreanten (en ook voor huisdieren en vee) te voorkomen of te beperken. Zo is het aan te bevelen adequaat te reageren op een melding van een drijfslag. Nu duurde het bijvoorbeeld twee weken alvorens er na melding van de drijfslag een waarschuwbord bij de Molenwielvijver te Sint-Oedenrode werd geplaatst.

Of er sowieso gewaarschuwd wordt voor een aanwezige cyanobacteriënbloei, en zo ja de wijze waarop, varieert per waterschap, gemeente en provincie. De waarschuwingen die zoal aangekomen kunnen worden, laten een behoorlijke diversiteit zien. De in *Figuur 5.1* weergegeven collage aan waarschuwingen komt vrij chaotisch over; in sommige gevallen is amper duidelijk waarvoor gewaarschuwd wordt. Een uniform waarschuwbord zou uitkomst kunnen bieden om tot adequatere informatievoorziening te komen. Een dergelijke waarschuwing kan gebaseerd zijn op algemene waarschuwingen voor atomair, biologisch, en chemisch gevaar. Dit kan dan bijvoorbeeld leiden tot een bord zoals weergegeven in *Figuur 5.2*, waarbij een



eenvoudige aanduiding aan kan geven of er sprake is van cyanobacteriënbloei, botulisme, ziekte van Weil, zwemmersjeuk, enzovoort. Eventueel aangevuld met beknopte informatie over mogelijke gezondheidsrisico's bij consumptie van, of contact met, het betreffende water.

FIGUUR 5.1 VOORBEELDEN VAN TIJDENS DE BEMONSTERINGEN AANGETROFFEN WAARSCHUWINGEN VOOR AANWEZIGE BLOEI VAN CYANOBACTERIËN



FIGUUR 5.2 VOORBEELD VAN EEN MOGELIJK WAARSCHUWINGSBORD



Bij de bemonsteringen in 2006 bleken er twee van de negen wateren met een waarschuwing (in Ravenstein en Rosmalen) geen drijfslag te hebben en zeer lage concentraties cyanobacteriën (resp. 13 en 5  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) en totaal fytoplankton (resp. 30 en 10  $\mu\text{g l}^{-1}$ ). De microcystineconcentraties waren 0.3  $\mu\text{g l}^{-1}$ . Het is dus ook zaak dergelijke locaties geregeld te bezoeken, aan een visuele inspectie te onderwerpen en indien nodig te bemonsteren om te bepalen of de waarschuwingen verwijderd kunnen worden en om de informatievoorziening adequaat te houden.

## 5.5 EN VERDER...

Deze eerste inventarisatie in 2006 van cyanobacteriënbloei in stedelijk water door de leerstoelgroep Aquatische Ecologie en Waterkwaliteitsbeheer van Wageningen University past in het kader van onderzoek naar onderliggende mechanismen en sturende factoren voor de vorming van toxische cyanobacteriënbloei. Ook voor de komende jaren staan intensieve bemonsteringen gepland. In 2007 is een begin gemaakt met de analyse van andere cyanotoxines dan microcystine. De analyse van BMAA is bijvoorbeeld al operationeel, terwijl thans de analyses van anatoxines, saxitoxines, gonyautoxines, en cylindrospermopsine met behulp van triple quadrupole LC-MS/MS worden ontwikkeld. Ook is een begin gemaakt met de isolatie van diverse stammen uit Nederlandse wateren, die vervolgens gescreend zullen worden op productie van diverse toxines. Daarnaast zullen de isolaten gebruikt worden in gecontroleerde experimenten naar onderliggende sturende factoren.

Zoals al opgemerkt horen cyanobacteriën van nature in het water thuis. Alleen de overmatige bloei die ze in sommige wateren laten zien, en de drijfslagen die ze kunnen vormen, maakt dat ze als onwenselijk worden ervaren. Cyanobacteriën kunnen alleen tot massale bloei komen als de omstandigheden zich hiertoe lenen. Dat betekent dat er voldoende voedingsstoffen dienen te zijn om biomassa uit te genereren.

Om het tij te keren zijn maatregelen nodig die de instroom van meststoffen beperken en zorgen voor verwijdering van aanwezige meststoffen, om daarmee jaarlijks terugkerende cyanobacteriënbloei te verhinderen en de ermee gepaard gaande overlast en risico's voor de volksgezondheid uit te bannen. Het betreft hier langetermijnmaatregelen inzake mest- en landbouwbeleid en kostbare ingrepen, zoals aanpak van riooloverstorten en baggeren om het voedselrijke sediment te verwijderen. Echter de omvang van de huidige problematiek en de verwachte toename in de frequentie en intensiteit van cyanobacteriënbloei door klimatologische veranderingen, vragen reeds op korte termijn om maatregelen ter bestrijding en voorkoming van cyanobacteriënbloei. De verwachte klimatologische veranderingen kunnen door een combinatie van factoren ongewenste bloei van cyanobacteriën stimuleren (Rojackers & Lurling, 2007):

1. De fosfaatvrucht kan toenemen door een toename van de neerslag in de winter, een toename van korte periodes met extreem veel neerslag en een hogere interne nalevering.
2. In diepe meren en plassen wordt een afname in de menging van de waterkolom verwacht, waardoor een sterkere stratificatie en zuurstofloosheid in het hypolimnion ontstaat.
3. De verwachte warmere winters, voorjaar en najaar zorgen voor een langer groeiseizoen.
4. En er is een beduidend hogere kans voor invasieve soorten om zich permanent te vestigen, zoals de beruchte blauwalg *Cylindrospermopsis raciborskii*.

Het jaar 2006 gaf wat dat betreft al een duidelijke inkijk in wat we frequenter kunnen gaan verwachten in de nabije toekomst. Bovendien maakte metingen in 2006 in vergelijking tot voorgaande jaren (bijv. Figuur 4 in Hosper *et al.*, 2007) duidelijk dat waarschijnlijk aanvullende maatregelen nodig zullen zijn om de KRW-doelstellingen te halen.

Er worden tegenwoordig talrijke bestrijdingsmethodieken door partijen uit de markt aangeboden, waarvan veelal effectiviteit, werkingsmechanisme en eventuele neveneffecten onduidelijk zijn. In 2007 is de leerstoelgroep Aquatische Ecologie en Waterkwaliteit begonnen met het testen van diverse commercieel verkrijgbare of aangeboden bestrijdingsmethodieken om tegemoet te komen aan de vraag uit het veld voor nadere onderbouwing. In een aantal van deze voorgestelde bestrijdingsmaatregelen, zoals ultrageluid en EM-modderballen, lijkt absoluut geen muziek te zitten. *In situ* defosfatering of P-fixatie lijkt een kansrijkere methode (voor meer informatie zie: [www.blauwalg.wur.nl](http://www.blauwalg.wur.nl)).

# 6

## CONCLUSIES

In de zomer van 2006 werd in diverse stadswateren in Noord-Brabant en Gelderland een stevige bloei van cyanobacteriën waargenomen. In 60% van de geselecteerde wateren waren de chlorofyl-*a* concentraties meer dan 100 µg l<sup>-1</sup> wat de voedselrijkdom van deze wateren reflecteert.

De microcystineconcentraties in het water varieerden van niet detecteerbaar (< 0.1 µg l<sup>-1</sup>) tot 96 g l<sup>-1</sup>. In 20 wateren werd een drijfslag geconstateerd, waarvan de microcystine concentraties varieerden tussen gemiddeld 17 en 23 000 g l<sup>-1</sup>. De hoge microcystine concentraties in de drijfslagen vormen een groot gezondheidsrisico.

In elk onderzocht drijfslagmonster werd het neurotoxische aminozuur BMAA aangetroffen. De sterke aanwijzing dat BMAA door alle cyanobacteriën wordt geproduceerd, noopt tot bijstelling van de nu gangbare classificatie in toxische- en niet-toxische stammen. Er wordt geadviseerd om uit voorzorg alle cyanobacteriën als potentieel toxisch te zien.

*Microcystis*-soorten werden het meest frequent aangetroffen als dominante bloeivormers, gevolgd door *Anabaena*, *Planktothrix* en *Woronichinia*. De beruchte, wereldwijd in opmars zijnde, *Cylindrospermopsis raciborskii* is eveneens gesignaleerd.

Vanuit het oogpunt van gezondheidsrisico's wordt een groot vraagteken geplaatst bij de differentiatie in "ecologische kwaliteitsratio" (EKR), zoals nu is opgenomen in de KRW-deelmaatlat voor algenbloeien.

Spectrofluorometrie lijkt een zeer snelle methode om cyanobacteriën te kwantificeren en te onderscheiden van eukaryote algen. Gebruik van *in situ* /*in vivo* chlorofyl-*a*-fluorescentie kan daardoor een zeer bruikbaar hulpmiddel voor de waterbeheerder zijn om snel en betrouwbaar een indruk te krijgen van de hoeveelheid cyanobacteriën in een water.

De informatievoorziening omtrent optredende bloei van cyanobacteriën is chaotisch te noemen. Een uniform waarschuwbord zou een eerste stap kunnen zijn om tot een adequatere informatievoorziening te komen.

Meldingen in de media over cyanobacteriënoverlast laten hotspots zien rondom Enschede, in de Gooi- en Vechtstreek en in Noord-Brabant. Het is echter hoogst onwaarschijnlijk dat de problemen hier groter zijn dan elders.

Drijfslagen van cyanobacteriën kunnen het gehele jaar voorkomen en in een water kunnen zich, in de tijd, grote verschuivingen in samenstelling van de drijfslag voordoen.

De zomer van 2006 is een natuurlijk klimaatscenario-experiment waaruit blijkt dat aanvullende maatregelen nodig zullen zijn om de KRW-doelstellingen te halen en mensen een veilige leefomgeving te bieden.

## 7

## REFERENTIES

- Anonymus, 2000. Richtlijn 2000/60/EG van het Europees Parlement en de Raad van 23 oktober 2000 tot vaststelling van een kader voor communautaire maatregelen betreffende het waterbeleid. Brussel.
- Banack, S.A., Cox, P.A., & Murch, S.J. 2006. Neurotoxic flying foxes as dietary items for the Chamorro people, Marianas Islands. *J. Ethnopharmacol.* 106:97-104.
- Behm, 2003. Coroner cites algae in teen's death. From the Sept. 6, 2003 editions of the Milwaukee Journal Sentinel.
- Berg, K., Carmichael, W.W., Skulberg, O.M., Benestad, C. & Underdall, B. 1987. Investigation of a toxic water-bloom of *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyceae) in Lake Akersvatn, Norway. *Hydrobiologia* 144: 97-103.
- Beutler, M. Wiltshire, K.H., Meyer, B., Moldaenke, C., Lüring, C., Meyerhöfer, M., Hansen, U.-P. & Dau, H. 2002. A fluorometric method for the differentiation of algal populations *in vivo* and *in situ*. *Photosynthesis Research* 72: 39-53.
- Birch, S. & McCaskie, J. 1999. Shallow urban lakes: a challenge for lake management. *Hydrobiologia* 395/396: 365-377.
- Borics, S., Grigorszky, I., Szabó, S. & Padisák, J. 2000. Phytoplankton associations in a small hypertrophic fishpond in East Hungary during a change from bottom-up to top-down control. *Hydrobiologia* 424: 79-90.
- Carmichael, W.W. & An, J. 1999. Using Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) and a Protein Phosphatase Inhibition Assay (PPIA) for the detection of microcystins and nodularins. *Nat. Toxins* 7: 377-385.
- Carmichael, W.W., Azevedo, S., An, J.S., Molica, R.J.R., Jochimsen, E.M., Lau, S., Rinehart, K.L., Shaw, G.L. & Egelsham, G.K. 2001. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. *Environmental Health Perspectives* 109: 663-668.
- Chorus, I., Falconer, I.R., Salas, H.J. & Bartram, J. 2000. Health risks caused by freshwater cyanobacteria in recreational water. *J. Toxicol. Environ. Health B* 3 : 323-347.
- Chorus, I. & Bartram, J. 1999. Toxic Cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management. E&FN Spon, London, pp. 416.
- Cox, P.A. & Sacks, O.W. 2002. Cycad neurotoxins, consumption of flying foxes, and ALS-PDC disease in Guam. *Neurology* 58: 956-959.
- Cox, P.A., Banack, S.A., Murch, S.J., Rasmussen, U., Tien, G., Bidigare, R.R., Metcalf, J.S., Morrison, L.F., Codd, G.A. & Bergman, B. 2005. Diverse taxa of cyanobacteria produce *N*-methylamino-L-alanine, a neurotoxic amino acid. *PNAS* 102: 5074-5078.
- Devlin, J.P., Edwards, O.E., Gorham, P.R., Hunter, M.R., Pike, R.K., & Stavric, B. 1977. Anatoxin-a, a toxic alkaloid from *Anabaena flos-aquae* NCR-44h. *Can. J. Chem.* 55, 1367 - 1371.

- Duy, T.N., Lam, P.K.S., Shaw, G.R. & Connell, D.W. 2000. Toxicology and risk assessment of freshwater cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 163: 113 – 186.
- EC. 2006. Directive 2006/7/EC of the European parliament and of the Council of 15 February 2006 concerning the management of bathing water quality and repealing Directive 76/160/EEC. *Off. J. EU L64*: 37-51.
- Fastner, J., Neumann, U., Wirsing, B., Weckesser, J., Wiedner, C., Nixdorf, B. & Chorus, I. 1999. Microcystins (hepatotoxic heptapeptides) in German fresh water bodies. *Environ. Toxicol.* 14: 13-22.
- Fastner, J., Heinze, R., Humpage, A.R., Mischke, U., Eaglesham, G.K., & Chorus, I. 2003. *Cylindrospermopsis* occurrence in two German lakes and preliminary assessment of toxicity and toxin production of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) isolates. *Toxicon* 42: 313–321.
- Fitzgeorge R., Clark, S. & Keevil, C. 1994. Routes of intoxication. In: *Codd, G.A., Jefferies, T.M., Keevil, C.W. & Potter, E.* (Eds.): Detection methods for cyanobacterial toxins. Royal Society of Chemistry, pp. 69-74.
- Francis, G. 1878. Poisonous Australian lake. *Nature* 18: 11–12.
- Geel, C. 1997. Photosystem II electron flow as a measure for phytoplankton gross primary production. *Proefschrift Wageningen Universiteit*, 110 pp.
- Gregor, J., Marsalek, B. (2005): A simple *in vivo* fluorescence method for the selective detection and quantification of freshwater cyanobacteria and eukaryotic algae. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica* 33: 142-148.
- Gugger, M., Lenoir, S., Berger, C., Ledreux, A., Druart, J.-C., Humbert, J.-F., Guette, C. & Bernard, C. 2005. First report in a river in France of the benthic cyanobacterium *Phormidium favosum* producing anatoxin-a associated with dog neurotoxicosis. *Toxicon* 45: 919–928.
- Hawkins, P.R., Runnegar, M.T.C., Jackson, A.R.B. & Falconer I.R. 1985. Severe hepatotoxicity caused by the tropical cyanobacterium (blue-green alga) *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenaya and Subba Raju isolated from a domestic water supply reservoir. *Applied and Environmental Microbiology*, 50: 1292-1295.
- Hindák, F. 2000. Morphological variation of four planktonic nostocalean cyanophytes – members of the genus *Aphanizomenon* or *Anabaena*? *Hydrobiologia* 438: 107-116.
- Hirose, M., Nishibe, Y., Ueki, M. & Nakano, S. 2003. Seasonal changes in the abundance of autotrophic picoplankton and some environmental factors in hypereutrophic Furuike Pond. *Aquatic Ecology* 37: 37–43.
- Hosper, H., Portielje, R. & Lammens, E. 2007. Heldere meren in Nederland in 2015: droom of werkelijkheid? *H<sub>2</sub>O* 40(18): 31-33.
- Huszar, V. L., Caraco, N. F., Roland, F. & Cole, J. 2006. Nutrient-chlorophyll relationships in tropical-subtropical lakes: Do temperate models fit?. *Biogeochemistry* 79: 239-250.
- Jakob, T., Schreiber, U., Kirchesch, V., Langner U. & Wilhelm, C. 2005. Estimation of chlorophyll content and daily primary production of the major algal groups by means of multiwavelength-excitation PAM chlorophyll fluorometry: performance and methodological limits. *Photosynthesis Research* 83:343-361.
- Jochimsen, E.M., Carmichael, W.W., An, J.S., Cardo, D.M., Cookson, S.T., Holmes, C.E.M., Antunes, M.D. de C., de Melo Filho, D.A., Lyra, T.M., Barreto, C.S.V., Azevedo, S.M.F.O. & Jarvis, W.R. 1998. Liver failure and death after exposure to microcystins at a haemodialysis center in Brazil. *New Engl. J. Med.* 338: 873–878.

- Kardinaal, E.W.A & Visser, P. M. 2005. Dynamics of cyanobacterial toxins. Sources of variability in microcystin concentrations. In: Huisman, J., Matthijs, H.C.P. & Visser, P.M. (eds.) *Harmful Cyanobacteria*, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp 41-63.
- Kirk, J.T.O. 1994. Light and photosynthesis in aquatic ecosystems. Cambridge University Press, Cambridge. 401 pp.
- Kolbowski, J. & Schreiber, U. 1995. Computer-controlled phytoplankton analyzer based on a 4-wavelength PAM Chl fluorometer. In: Mathis, P. (Ed.), *Photosynthesis: From light to Biosphere*, Vol. V, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London: pp. 825-828.
- Laub, J., Henriksen, P., Brittain, S.M., Wang, J. Carmichael, W.W., Rinehart, K.L. & Moestrup, Ø. 2002. [ADMA<sup>δ</sup>]-microcystins in *Planktothrix agardhii* strain PH-123 (Cyanobacteria) – Importance for monitoring microcystins in the environment. *Environ. Toxicol.* 17: 351-357.
- Lobner, D., Piana, P.M.T., Salous, A.K. & Peoples, R.W. 2007. β-N-methylamino-L-alanine enhances neurotoxicity through multiple mechanisms. *Neurobiology of Disease* 25: 360–366.
- Oberholster, P.J., Botha, A.-M. & Cloete, T. E. 2006. Toxic cyanobacterial blooms in a shallow, artificially mixed urban lake in Colorado, USA. *Lakes & Reservoirs: Research and Management* 11: 111–123.
- OECD, 1982. Eutrophication of waters, monitoring, assessment and control. Organization for Economic Co-operation and Development, Paris, 154 pp.
- Rantala, A., Rajaniemi-Wacklin, P., Lyra, C., Lepisto, L., Rintala, J., Mankiewicz-Boczek, J. & Sivonen, K. 2006. Detection of microcystin-producing cyanobacteria in Finnish lakes with genus-specific microcystin synthetase gene E (*mcyE*) PCR and associations with environmental factors. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 6101-6110.
- Redeke, H.C. 1948. Hydrobiologie van Nederland. De zoete wateren. De Boer/Unieboek B.V., 580 pp.
- Rogers, E.H., Hunter III, E.S., Moser, V.C., Phillips, P.M., Herkovits, J., Muñoz, L., Hall, L.L. & Chernoff, N. 2005. Potential developmental toxicity of anatoxin-a, a cyanobacterial toxin. *J. Appl. Phycol.* 25: 527–534.
- Roijackers, R.M.M. & Lurling, M. (2007). Climate Change and Bathing Water Quality. Rapport, Wageningen UR, 37 pp.
- Ruiter, H. 2006. Vroegtijdig signaleren door het tellen van blauwalgen. *Trends in water.nl* 19:5.
- Schreiber, U. 1998. Chlorophyll fluorescence: New instruments for special applications. In: Garag G. (Ed.), *Photosynthesis: Mechanisms and Effects*, Vol. V, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London, pp. 4253-4258.
- STOWA, 2000. Toxische blauwalgen in recreatiewateren, STOWA rapport 2000–20, Utrecht.
- Teixeira, M. da G.L.C., Costa, M. da C.N., Pires de Carvalho, V.L., Pereira, M. dos S., & Hage, E., 1993. Gastroenteritis epidemic in the area of the Itaparica Dam, Bahia, Brazil. *Bull. Pan Am. Health Organization* 27: 244–253.
- Van den Hove, L. 2001. Tropisch blauwwier in Nederland aangetroffen. *H<sub>2</sub>O* 34(7): 12-13.
- Van der Grinten, E., Janssen, M., Simis, S.G.H., Barranguet, C. & Admiraal, W. 2004. Phosphate regime structures species composition in cultured phototrophic biofilms. *Freshwater Biology* 49: 369–381.
- Van der Molen, D.T. & Pot, R. 2007. Referenties en maatlatten voor natuurlijke watertypen voor de kaderrichtlijn water. STOWA, rapport2007-32. Utrecht.



Van Gremberghe, I., Van Wichelen, J., De Coster, S., De Ruysscher, F., De Keyser, K., Van der Gucht, K., Vanormelingen, P. & Vyverman, W. 2007. Cyanobacteriënbloeiën in België: voorkomen, diversiteit en toxiciteit. *Congres Watersysteemkennis 2006 – 2007, Water 28*: 1-6.

Wetzel, R.G. 2001. *Limnology. Lake and river ecosystems*. 3<sup>rd</sup> edition, Academic Press, San Diego, London, 1006 pp.

WHO, 1999. *Toxic cyanobacteria in water* (Eds. Chorus, I. & Bartram, J.), E& FN Spon, London, NY.

Willame, R., Jurczak, T., Iffly, J.F., Kull, T. Meriluoto, J. & Hoffmann, L. 2005. Distribution of hepatotoxic cyanobacterial blooms in Belgium and Luxembourg. *Hydrobiologia* 551:99–117.

Yokoyama, A. & Park, H.-D. 2002. Mechanism and prediction for contamination of freshwater bivalves (Unionidae) with the cyanobacterial toxin microcystin in hypereutrophic Lake Suwa, Japan. *Environ. Toxicol.* 17: 424-433.

## BIJLAGE 1

## MONSTERLOCATIES 2006

Plaats	Noorderbreedte	Oosterlengte	Naam
Arnhem (1)	51°57'55.74"	5°52'52.11"	Wiel bij Elden
Arnhem (2)	51°57'45.74"	5°53'11.18"	Wiel bij Westervoort
Asten	51°24'18.38"	5°44'53.50"	Vijver in Burg. Ploegmakerspark
Barneveld	52°09'10.49"	5°35'10.62"	Singel Wethouder Rebellaan
Beek & Donk	51°32'03.63"	5°37'41.56"	Vijver aan Otterweg
Bennekom	51°59'43.91"	5°40'11.72"	Vijver aan Kierkamperweg
Bergen-op-Zoom	51°29'51.19"	4°17'40.46"	Vijver Anton van Duinkerkenpark
Boekel	51°35'54.67"	5°41'03.32"	Vijver aan Wielewaallaan
Boxtel	51°36'03.94"	5°18'54.10"	Vijver aan Parkweg
Breda	51°36'00.15"	4°46'56.12"	Vijver in Lienepark
Budel	51°14'02.38"	5°35'56.44"	Ringelsven
Deurne	51°26'55.19"	5°47'14.97"	Vijver aan Burgemeester Roefslaan
Ede (1)	52°01'27.05"	5°38'43.88"	Vijver aan Verenigde Naties
Ede (2)	52°02'03.84"	5°38'56.83"	Vijver aan Jachtlaan
Ede (3)	52°02'20.99"	5°38'43.67"	Vijver bij Valkestein
Eindhoven	51°29'26.70"	5°28'33.72"	Gracht aan Stiffelio
Empel	51°43'34.10"	5°19'33.80"	Sloot aan de Diepteweg
Etten-Leur	51°34'09.41"	4°39'02.74"	Vijver aan Vlaamse Schuur
Geldermalsen	51°52'39.33"	5°17'48.92"	Vijver aan Lange Akker
Gemert	51°32'59.30"	5°41'28.29"	Vijver aan Bisonstraat
Grave	51°45'08.24"	5°44'57.30"	Vijver aan Anna van Burenweg
Heesch	51°44'09.00"	5°32'24.65"	Vijver aan Langven
Helmond	51°29'05.21"	5°38'29.28"	Warandevijver Jan van Brabantlaan
Hintham	51°41'50.33"	5°20'10.23"	Plas aan Jan Heijmanslaan
Kesteren	51°56'08.46"	5°34'23.51"	Vijver aan Dorpsplein
Maarheeze	51°18'22.25"	5°37'04.85"	Vijver aan Poelsnep
Middelrode	51°39'48.83"	5°25'18.90"	Vijver aan 1 <sup>e</sup> Vijverstraat
Nijmegen	51°50'47.82"	5°51'27.96"	Vijver in Kronenburgpark
Oss	51°46'33.63"	5°30'03.76"	Vijver aan Parklaan
Ravenstein	51°47'40.74"	5°39'10.34"	Gracht aan Doolhof
Rosmalen	51°44'11.65"	5°22'13.31"	Singel aan De Groote Rede
Schijndel	51°37'16.37"	5°26'39.87"	Vijver aan Renate Rubensteinstraat
Sint-Michiëlgestel	51°38'45.70"	5°21'46.81"	Vijver aan Goudplevier
Sint-Oedenrode (1)	51°33'58.54"	5°27'44.56"	Molenwielvijver
Sint-Oedenrode (2)	51°34'26.70"	5°28'33.72"	Vijver in Park De Kienehoef
Sint-Oedenrode (3)	51°34'29.37"	5°27'47.32"	Poel aan Dijksteeg
Someren	51°22'54.31"	5°42'21.23"	Vijver aan Wilbertshof
Son	51°30'48.98"	5°29'16.10"	Vijver aan Europalaan
Steenbergen	51°35'12.28"	4°18'47.79"	Haven
Tilburg (1)	51°32'36.19"	5°06'16.13"	Essche Stroomvijver Leijpark
Tilburg (2)	51°34'00.00"	5°04'42.87"	Vijver in Wilhelminapark
Tilburg (3)	51°35'15.72"	5°04'41.98"	Vijver aan Corellistraat
Tilburg (4)	51°34'55.10"	5°06'19.05"	Vijver in Quirijnstokpark
Tilburg (5)	51°34'49.80"	4°59'55.93"	Vijver Klundertplein - Donkpad
Uden	51°39'53.71"	5°37'55.88"	Raamsingel
Veghel (1)	51°37'14.81"	5°32'23.40"	Vijver Zwijssencollege
Veghel (2)	51°37'30.27"	5°33'07.78"	Singel aan Kwarteldonk
Waalwijk	51°40'47.06"	5°05'41.16"	Zuidelijke vijver aan Vijverlaan
Wageningen (1)	51°58'07.98"	5°40'38.33"	Dreijenvijver
Wageningen (2)	51°57'57.39"	5°39'11.97"	Vijver aan Thorbeckestraat



## BIJLAGE 2

# FLUOROMETRISCHE BEPALING VAN CHLOROFYL-A

## B2.1 INLEIDING

Het chlorofyl-*a* gehalte dient als indicator voor een belangrijke vertroebelende component in het oppervlakte water: het fytoplankton. Chlorofyl-*a* is een universeel fotosynthese pigment wat voorkomt in alle fytoplanktonsoorten en wordt daarom gebruikt als schatter voor de fytoplanktonbiomassa. Standaardmethode in deze is een spectrofotometrische bepaling van chlorofyl-*a* (cf. NEN 6520). Deze methode is redelijk eenvoudig, maar heeft als nadeel dat het geen informatie oplevert over de taxonomische samenstelling van het fytoplankton. Informatie omtrent de biomassa en de samenstelling van de fytoplanktongemeenschap is belangrijk voor de waterkwaliteitsbeheerder vanwege onder andere de KRW-beoordeling en het vroegtijdig kunnen signaleren van mogelijke probleemsituaties, zoals bloei van cyanobacteriën.

Traditioneel wordt de hoeveelheid cyanobacteriën bepaald door middel van microscopische tellingen, maar ook pigmentanalyse met behulp van HPLC of flowcytometrie worden gebruikt. De tijdrovende en kostbare analyses beperken de mogelijkheden voor intensieve monitoring en vertragen eventuele informatievoorziening aan recreanten. De op 24 maart 2006 in werking getreden Zwemwaterrichtlijn (Directive EC 2006/7/EC) vereist echter dat een mogelijke cyanobacteriënbloei vroegtijdig gesignaleerd wordt door middel van een adequate monitoring. Een belangrijke rol lijkt hierin weggelegd voor spectrofluorometrie als een zeer snelle methode om cyanobacteriën te kwantificeren en te onderscheiden van eukaryote algen. Er zijn momenteel diverse apparaten beschikbaar voor on line-, *in vivo* en/of *in situ* bepaling van chlorofyl-*a* fluorescentie als maat voor de hoeveelheid chlorofyl-*a*.

Met de ontwikkeling van diodes die gekleurd licht emitteren ontstond ook de mogelijkheid om onderscheid te maken in hoofdgroepen fytoplankton, omdat verschillende fytoplanktongroepen karakteristieke pigmenten in het fotosyntheseapparaat bevatten. Daar waar chlorofyl-*a* een universeel fytoplanktonpigment is, is chlorofyl-*b* karakteristiek voor groenalgen, zijn chlorofyl-*c* en fucoxanthine indicatief voor diatomeeën, is peridinine dat voor dinoflagellaten en zijn phycobilines vooral indicatief voor cyanobacteriën en cryptofyten.

Licht wat geabsorbeerd wordt door de additionele pigmenten wordt in het fotosyntheseapparaat met een hoge efficiëntie aan chlorofyl-*a* overgedragen, waarbij fluorescentie van chlorofyl-*a* ontstaat (Jakob *et al.*, 2005). Dit fluorescentiesignaal blijkt tot zeker 500 µg l<sup>-1</sup> proportioneel met de chlorofyl-*a* concentratie (Geel, 1997; Jakob *et al.*, 2005). Dus door excitatie van de specifieke additionele pigmenten en het meten van de resulterende fluorescentie van chlorofyl-*a* kan een onderscheid worden gemaakt in de bijdrage van spectrale fytoplanktongroepen aan het fluorescentiesignaal. De verschillende apparaten waarmee dit kan maken gebruik van twee tot vijf kleuren excitatielicht. Met twee excitatiegolflengtes kan al een onderscheid tussen cyanobacteriën en eukaryote algen gemaakt worden (Gregor & Mar álek, 2005); drie en vier kleuren maken onderscheid in cyanobacteriën, groenalgen en diatomeeën/

dinoflagellaten mogelijk (Jakob *et al.*, 2005; Parésys *et al.*, 2005), terwijl met vijf kleuren ook cryptofyten goed onderscheiden kunnen worden (Beutler *et al.*, 2002).

In 2006 is de mogelijkheid van de PHYTO-PAM phytoplankton-analyzer (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Duitsland; *Figuur B2.1*) onderzocht om een snelle detectie van de fytoplankton-biomassa te leveren. Tevens wordt de eventuele toepasbaarheid van deze meervoudige-golf-lengte-fluorometer als monitoringsinstrument in het waterbeheer geëvalueerd. Hiertoe zijn chlorofyl-*a* bepalingen, die verricht zijn met behulp van de PHYTO-PAM, vergeleken met de standaard-spectrofotometrische bepaling van de chlorofyl-*a* concentratie volgens NEN 6520.

FIGUUR B2.1 DE PHYTO-PAM PHYTOPLANKTON ANALYZER (LINKS) EN CUVETHOUDER (RECHTS)



## B2.2 CHLOROFYL-A ANALYSES

### B2.2.1 CHLOROFYL-A BEPALING MET BEHULP VAN EXTRACTIE

De spectrofotometrische bepaling van de chlorofyl-*a*-concentratie ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ) is uitgevoerd volgens NEN 6520 (NEN: Nederlands Normalisatie-instituut). Van elk monster wordt een paar honderd ml water gefiltreerd over een glasvezelfilter (Schleicher & Schuell GF52, Dassel, Duitsland). Het filter wordt direct in een kunststof schaalje overgebracht, ingepakt in aluminiumfolie en opgeslagen bij  $-20^\circ\text{C}$ , zodat het chlorofyl-*a* niet kan degraderen. De glasvezelfilters worden vervolgens gedurende 5 minuten geëxtraheerd in warme ( $75^\circ\text{C}$ ) ethanol (80% v/v) waarna de absorptie wordt gemeten bij een golflengte van 750 en 665 nm. Het chlorofyl-*a* gehalte ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ) wordt vervolgens berekend met de formule (NEN 6520):

$$\text{Chlorofyl} - a = 29.6 \left[ (E^0_{665} - E^0_{750}) - (E^a_{665} - E^a_{750}) \right] * \frac{V}{V * l}$$

Waarbij:

- v = volume van het pigment extract (ml)
- l = weglengte van het licht door het cuvet (cm)
- V = volume watermonster (l)
- <sup>0</sup> en <sup>a</sup> = niet aangezuurd en aangezuurd monster

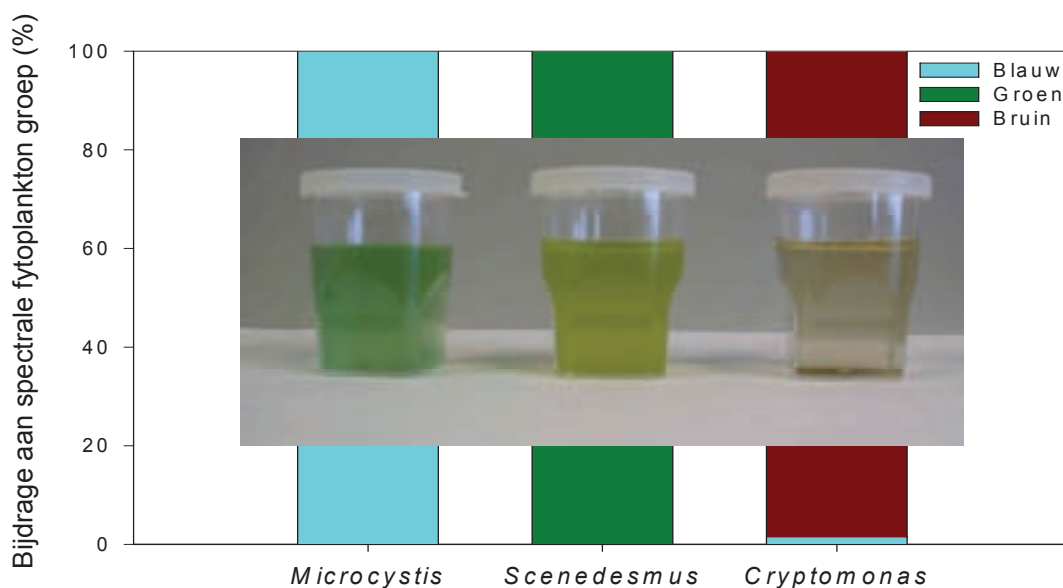
### B2.2.2 CHLOROFYL-A BEPALING MET BEHULP VAN FLUORESCENTIE

Een niet-destructieve en snelle analyse van de hoeveelheid chlorofyl-*a* in een watermonster is uitgevoerd met behulp van een PHYTO-PAM phytoplankton-analyzer (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Duitsland). Het onderliggende principe is dat de minimale fluorescentie van een donkergeadapteerd monster ( $F_0$ ) proportioneel is met de chlorofyl-*a*-concentratie over een traject tot zeker  $500 \mu\text{g l}^{-1}$  (Geel, 1997; Schreiber, 1998). De PHYTO-PAM (Figuur B2.1) werd in januari 2006 gekalibreerd aan de hand van spectrofotometrisch bepaalde chlorofyl-*a* concentraties (cf. NEN-6520) van monoculturen van cyanobacteriën (*Synechococcus* en *Microcystis*), een groenalg (*Scenedesmus*) en een cryptofyt (*Cryptomonas*).

### B2.3 ONDERSCHIED IN DRIE SPECTRALE FYTOPLANKTONGROEPEN

De PHYTO-PAM kan in elk monster de hoeveelheid chlorofyl-*a* bepalen van drie spectrale fytoplanktongroepen, te weten blauwalgen, groenalgen en diatomeeën/cryptofyten/dinoflagellaten. Door gebruik te maken van diodes die vier kleuren licht diodes en daarmee vier verschillende excitatie golflengtes (470, 525, 590 en 650 nm) emitteren, kan met de PHYTO-PAM op basis van fluorescentie van specifieke additionele pigmenten onderscheid gemaakt worden in de genoemde hoofdgroepen fytoplankton (Beutler et al 2002; Kobolski & Schreiber, 1995). Een voorwaarde om onderscheid te kunnen maken in de drie spectrale fytoplanktongroepen is dat de verschillende fluorescentie spectra bekend zijn. In aanvulling op de standaardspectra zijn in de PHYTO-PAM-bibliotheek eveneens referentiespectra opgeslagen voor de blauwalgen *Synechococcus elongatus* en *Microcystis aeruginosa*, voor de groenalg *Scenedesmus obliquus* en de cryptofyt *Cryptomonas* sp. Deze spectra werden bepaald aan monoculturen volgens de eenvoudige standaardprocedure in de PHYTO-PAM. De metingen lieten zien dat monoculturen van blauwalg (*Microcystis aeruginosa*) en groenalg ook volledig als monocultuur werden gedetecteerd, terwijl de monocultuur van *Cryptomonas* als voor 98.5% bestaande uit cryptofyt en 1.5% blauwalg werd gezien (Figuur B2.2).

FIGUUR B.2 WEERGAVE VAN PHYTO-PAM-DETECTIE VAN MONOCULTUREN VAN DE CYANOBACTERIE MICROCYSTIS AERUGINOSA, DE GROENALG SCENEDESMUS OBLIQUUS EN DE CRYPTOFTYPT CRYPTOMONAS SP

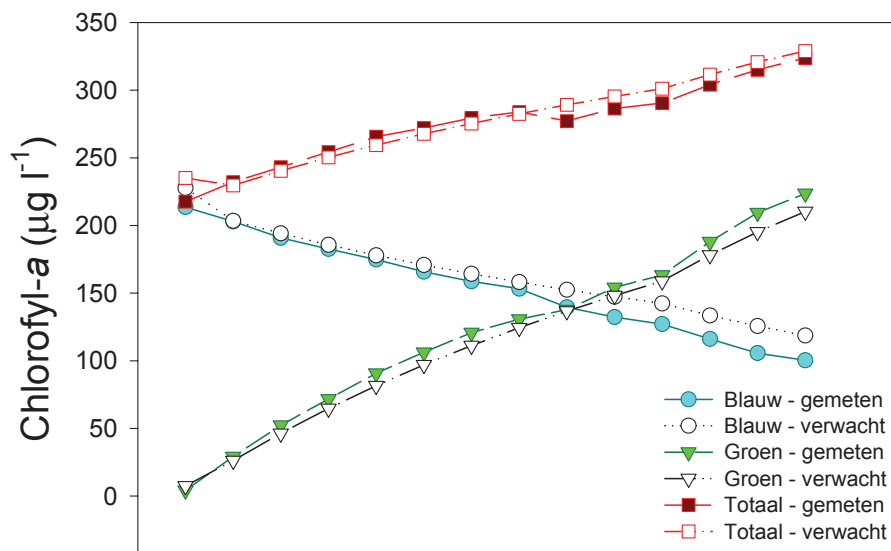


Allereerst is gekeken in hoeverre de PHYTO-PAM-schatting van de chlorofyl-*a*-concentraties van een verdunningreeks (420 tot 20 µg chlorofyl-*a* l<sup>-1</sup>) van *Microcystis aeruginosa* met een bekende chlorofyl-*a*-concentratie overeenkomt met de verwachting. De *M. aeruginosa*-cultuur werd verdund tot 66%, 50%, 40%, 33%, 25%, 12,5%, 8,33% en 6,25% met standaard-groei-medium en direct gemeten op de PHYTO-PAM. Dit leverde een zeer goede relatie op:

$$\text{CHL}_{\text{PHYTO-PAM}} = -7.491 + 1.037 \times \text{CHL}_{\text{VERWACHT}} \quad (r^2_{\text{adj}} = 0.997).$$

In gecontroleerde laboratoriumexperimenten is vervolgens gekeken naar het vermogen van de PHYTO-PAM om de hoeveelheid blauwalgen chlorofyl-*a* te bepalen in gemengde suspensies van bekende samenstelling. Bijvoorbeeld voor mengsels van *Microcystis* en *Scenedesmus* kon met behulp van de PHYTO-PAM niet alleen een goede schatting van de totale hoeveelheid chlorofyl-*a* worden verkregen ( $r = 0.972$ ,  $p < 0.001$ ), maar waren ook de bijdrages van chlorofyl-*a* van zowel blauwalgen ( $r = 0.989$ ,  $p < 0.001$ ) als groenalgen ( $r = 0.999$ ,  $p < 0.001$ ) in overeenstemming met de verwachting (Figuur B2.3). Er werd echter wel bij hogere concentraties groenalg een lichte onderschatting van het verwachte aandeel blauwalg geconstateerd (Figuur B2.3).

FIGUUR B2.3 VERWACHTE (OPEN SYMBOLEN) EN GEMETEN (GEVULDE SYMBOLEN) HOEVEELHEDEN TOTAAL CHLOROFYL-A (µG L<sup>-1</sup>; VIERKANTE SYMBOLEN) EN DE AANDELEN CYANOBACTERIËN (BLAUW) EN GROENALGEN CHLOROFYL-A (GROEN) HIERIN



#### B2.4 RELATIE SPECTROFOTOMETRISCHE- EN PHYTO-PAM-ANALYSE VAN CHLOROFYL-A

Van alle in Hoofdstuk 2 genoemde stadswateren en alle monsters uit de twee in de tijd gevolgde vijvers (Hoofdstuk 3) is zowel het chlorofyl-*a* gehalte volgens de standaard extractie methode als met behulp van de PHYTO-PAM bepaald.

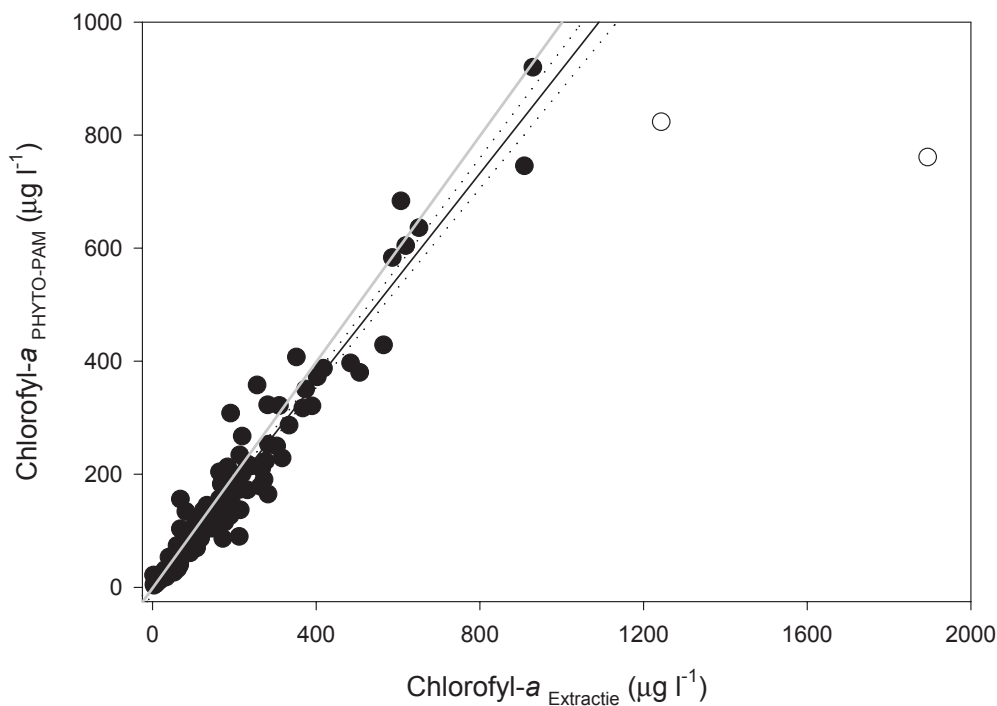
De gemeten chlorofyl-*a* concentraties aan onverdunde monsters uit de diverse stadswateren blijken tot vele honderden microgrammen chlorofyl-*a* per liter goed in overeenstemming met chlorofyl-*a* concentraties, zoals die gemeten zijn volgens de standaard spectrofotometrische bepaling (Figuur B2.4). Tot ruim 900 µg l<sup>-1</sup> chlorofyl-*a* is er een sterke relatie tussen de meetwaardes zoals die verkregen zijn met beide methodes:

$$\text{CHL}_{\text{PHYTO-PAM}} = -2.441 + 0.919 \times \text{CHL}_{\text{EXTRACTIE}} \quad (r^2 = 0.939).$$



Bij hogere concentraties leiden absorptie van het fluorescentiesignaal en zelfbeschaduwing tot een aanzienlijke onderschatting van de daadwerkelijk aanwezige hoeveelheid chlorofyl-*a* (aangegeven met open symbolen in *Figuur B2.4*).

FIGUUR B2.4 RELATIE TUSSEN DE SPECTROFOTOMETRISCHE EN PHYTO-PAM-ANALYSE VAN CHLOROFYL-A. DE GRIJZE LIJN INDICEERT DE 1:1 RATIO; DE ZWARTE LIJN LINEAIRE REGRESSIE EN DE GESTIPPELDE LIJNEN DE BIJBEHORENDE 95% BETROUWBAARHEIDINTERVALLEN; OPEN SYMBOLEN ZIJN UIT DE ANALYSE GELATEN (ZIE TEKST VOOR VERDERE UITLEG)



Ook wanneer een vergelijking wordt gemaakt voor de twee vijvers die gedurende langere periode zijn bemonsterd, blijken met de PHYTO-PAM gemeten chlorofyl-*a* concentraties goed overeen te komen met chlorofyl-*a* concentraties die gemeten zijn volgens de standaard spectrofotometrische bepaling (*Figuur B2.5* en *B2.6*).

Voor de Molenwielvijver is de relatie:

$$\text{CHL}_{\text{PHYTO-PAM}} = -7.310 + 1.010 \times \text{CHL}_{\text{EXTRACTIE}} \quad (r^2 = 0.824; \text{inzet in } \textit{Figuur B2.5}),$$

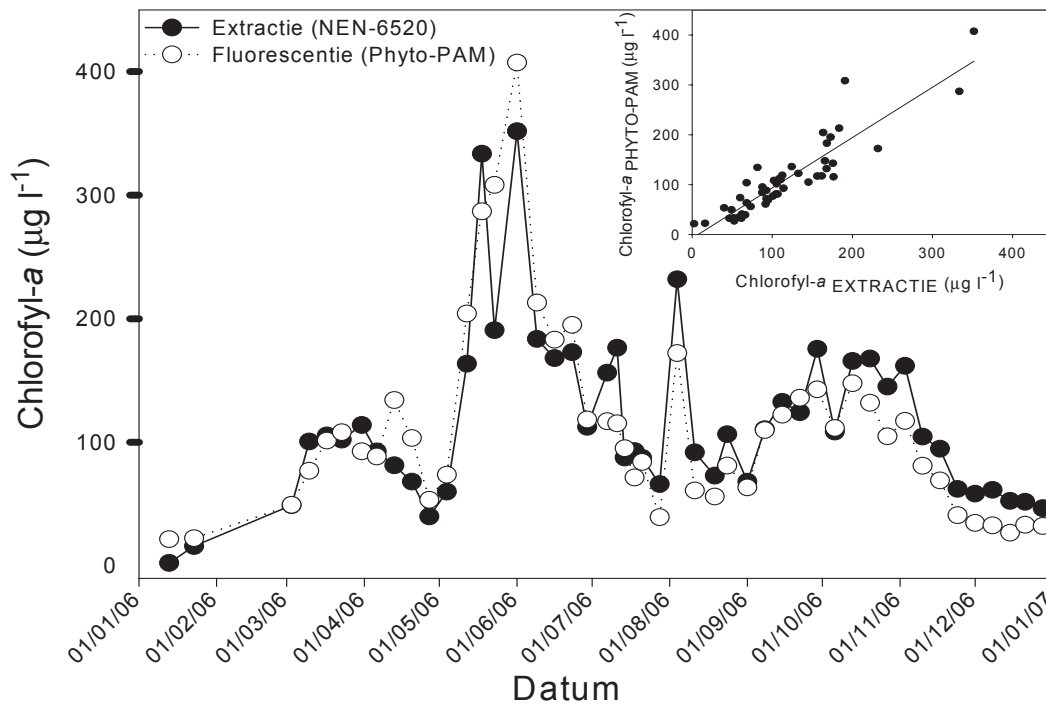
en voor de Kienehoefvijver:

$$\text{CHL}_{\text{PHYTO-PAM}} = 2.933 + 0.957 \times \text{CHL}_{\text{EXTRACTIE}} \quad (r^2 = 0.974; \text{inzet in } \textit{Figuur B2.6}).$$

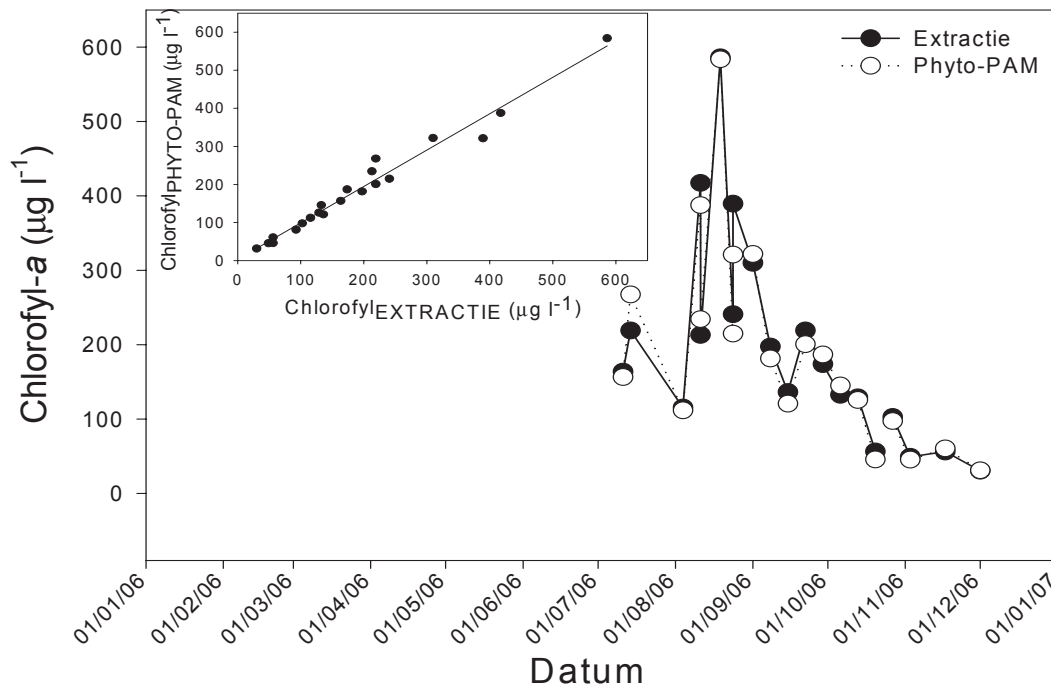
Extreem hoge concentraties chlorofyl-*a*, zoals aangetroffen in drijfslagen komen minder goed overeen:

$$\text{CHL}_{\text{PHYTO-PAM}} = 14161.2 + 0.814 \times \text{CHL}_{\text{EXTRACTIE}} \quad (r^2 = 0.751; N = 27).$$

FIGUUR B2.5 HET VERLOOP VAN HET CHLOROFYL-A GEHALTE ( $\mu\text{g L}^{-3}$ ) BEPAALD MET BEHULP VAN DE PHYTO-PAM EN DE STANDAARDEXTRACTIEMETHODE GEDURENDE 2006 IN DE MOLENWIELVIJVER. DE INZET GEEFT DE CORRELATIE TUSSEN BEIDE METHODES WEER



FIGUUR B2.6 HET VERLOOP VAN HET CHLOROFYL-A GEHALTE ( $\mu\text{g L}^{-3}$ ) BEPAALD MET BEHULP VAN DE PHYTO-PAM EN DE STANDAARD EXTRACTIEMETHODE GEDURENDE DE TWEEDE HELFT VAN 2006 IN DE KIENEHOEFVIJVER. DE INZET GEEFT DE CORRELATIE TUSSEN BEIDE METHODES WEER.



## BIJLAGE 3

## MONSTERNAME EN ANALYSES

**WATERKWALITEITSVARIABLEN:**

<b>pH</b>	De zuurgraad van het water is gemeten met een WTW-pH320 meter.
<b>EGV</b>	Het EGV ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) is bepaald met een WTW-LF191 EGV meter.
<b>Zuurstof</b>	De zuurstofconcentratie ( $\text{mg l}^{-1}$ ) en het verzadigingspercentage (%) zijn bepaald met behulp van een WTW-OXI196 of een Oxyguard zuurstof meter.
<b>Temperatuur</b>	De temperatuur is bepaald met behulp van bovengenoemde meters.
<b>Turbiditeit</b>	De troebelheid van het water (turbiditeit) wordt direct gemeten met een HACH 2100P turbiditeitsmeter. De turbiditeit wordt uitgedrukt in 'Nephelometric Turbidity Units' (NTU). Een klein glazen cuvet wordt gevuld met monsterwater. In de turbiditeitsmeter wordt een lichtstraal door het cuvet gestuurd. Een lichtcel aan de zijkant van het cuvet meet de hoeveelheid licht die door verstrooiing loodrecht afwijkt van de oorspronkelijke richting van de uitgezonden lichtstraal. Hoe groter de verstrooiing, des te hoger de turbiditeit. In de praktijk is gebleken dat de nephelometrische turbiditeit nauw overeenkomt met de verstrooiingscoëfficiënt (Kirk, 1994).
<b>Chlorofyl-a</b>	De spectrofotometrische bepaling van de chlorofyl-a concentratie ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ) is uitgevoerd volgens <i>NEN 6520</i> (NEN: Nederlands Normalisatie-instituut). Van elk monster wordt een paar honderd ml water gefiltreerd over een glasvezelfilter (Schleicher & Schuell GF52, Dassel, Duitsland). Het filter wordt direct in een kunststof schaalpje overgebracht, ingepakt in aluminiumfolie en opgeslagen bij $-20^\circ\text{C}$ , zodat het chlorofyl-a niet kan degraderen. De glasvezelfilters worden vervolgens gedurende 5 minuten geëxtraheerd in warme ( $75^\circ\text{C}$ ) ethanol (80% v/v) waarna de absorptie wordt gemeten bij een golflengte van 750 en 665 nm. Het chlorofyl-a gehalte ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ) wordt vervolgens berekend met de formule ( <i>NEN 6520</i> ):

$$\text{Chlorofyl} - a = 29.6 \left[ \left( E_{665}^0 - E_{750}^0 \right) - \left( E_{665}^a - E_{750}^a \right) \right] * \frac{V}{V * l}$$

waarbij:	v =	volume van het pigment extract (ml)
	l =	weglengte van het licht door het cuvet (cm)
	V =	volume watermonster (l)
	<sup>0</sup> en <sup>a</sup> =	niet aangezuurd en aangezuurd monster

Een niet-destructieve en snelle analyse van de hoeveelheid chlorofyl-a in een watermonster is uitgevoerd met behulp van een PHYTO-PAM phytoplankton-analyzer (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Duitsland). Het onderliggende principe is dat de minimale fluorescentie van een donkergeadapteerd monster ( $F_0$ ) proportioneel is met de chlorofyl-a concentratie over een traject tot zeker  $500 \mu\text{g l}^{-1}$  (Geel, 1997; Schreiber, 1998).

<b>Hoofdgroepen</b>	De PHYTO-PAM is eveneens gebruikt om van elk monster de hoeveelheid chlorofyl-a te bepalen van drie spectrale fytoplanktongroepen, te weten blauwalgen, groenalgen en diatomeeën/cryptofyten/dinoflagellaten. Door gebruik van vier
---------------------	---

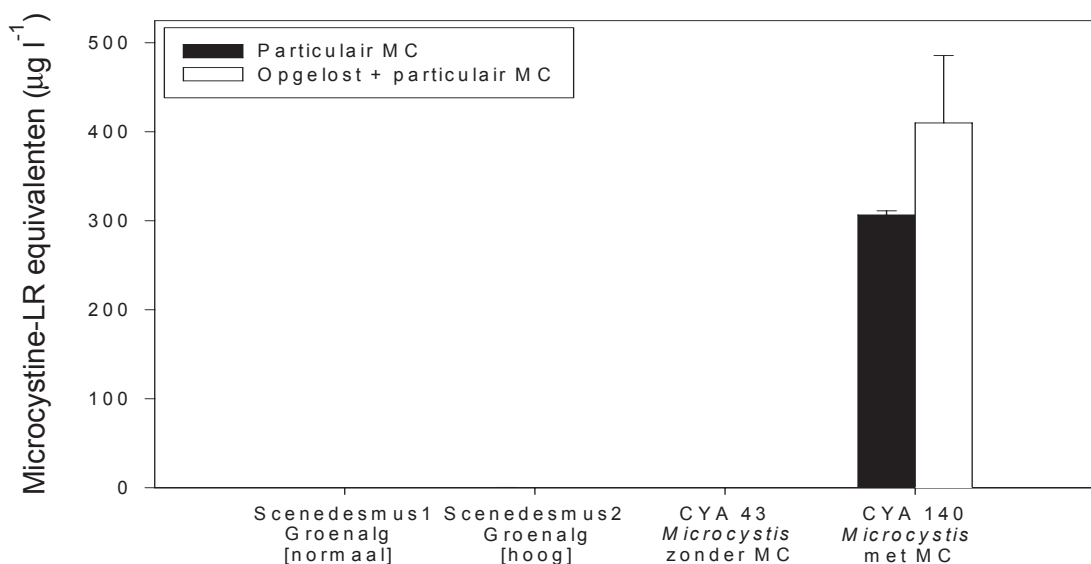
	<p>kleuren licht emitterende diodes en daarmee vier verschillende excitatie golflengtes (470, 525, 590 en 650 nm), kan met de PHYTO-PAM op basis van fluorescentie van specifieke additionele pigmenten onderscheid gemaakt worden in de genoemde hoofdgroepen fytoplankton (Beutler et al 2002; Kobolski &amp; Schreiber, 1995). Daar waar chlorofyl-a een universeel fytoplanktonpigment is, is chlorofyl-b namelijk karakteristiek voor groenalgen, chlorofyl-c en fucoxanthine voor diatomeeën, peridinine voor dinoflagelaten en zijn phycobilines vooral indicatief voor blauwalgen en cryptofyten.</p>
<b>Soorten/groepen</b>	<p>Van elk monster is op de dag van monsternamen een kwalitatieve microscopische analyse gemaakt van aanwezigheid van soorten en de relatieve dominantie. Van elk monster is 75 ml water gefixeerd met 5 ml alkalische jodide (Lugol). Deze monsters zijn bij 4°C in het donker opgeslagen voor verder onderzoek naar de samenstelling van de fytoplanktongemeenschap.</p>
<b>Zwevend stof</b>	<p>De bepaling van het zwevende stof gehalte (mg l<sup>-1</sup>) is uitgevoerd volgens NEN 6484. Van elk monster is een bekende hoeveelheid water gefiltreerd over een glasvezelfilter. De filters zijn van tevoren gewogen en worden na minimaal een uur lang drogen bij een temperatuur van 105°C, na afkoelen, wederom gewogen.</p>
<b>Nutriënten</b>	<p>De chemische analyses voor nutriëntenbepaling in de diverse watermonsters zijn uitgevoerd met een 'segmented flow analyzer' (Skalar autoanalyzer). De concentraties totaal-stikstof en totaal-fosfaat zijn volgens respectievelijk NEN 6642 en NEN 6663 bepaald (Skalar 2000). Concentraties van ammonium-N, nitraat-N en ortho-fosfaat zijn gemeten volgens respectievelijk NEN 6472, NEN 6440 en NEN 6663 (Skalar 5100) na filtratie van het watermonster over een 0,45 µm filter.</p>
<b>Microcystine</b>	<p>De concentratie microcystine (µg l<sup>-1</sup>) in de watermonsters is bepaald door een bekende hoeveelheid water te filtreren over een GF52 glasvezelfilter, waarna het filter is ingevroren. Na vriesdrogen zijn de filters geëxtraheerd met 50% v/v methanol en is de microcystine concentratie bepaald als microcystine-LR (MC-LR) equivalenten met behulp van een Enzyme-Linked-ImmunoSorbant-Assay (ELISA) met gezuiverd MC-LR als standaard (QuantiPlate™ Kit for Microcystins, EnviroLogix, Catalogue Number EP 022). Al naar gelang de concentratie in de monsters is een verdunning van 10 tot 5000 noodzakelijk gebleken om binnen de ELISA range voor betrouwbaarheid te vallen.</p> <p>De variant microcystine-LR (MC-LR) is gebruikt als standaard om de ELISA mee te ijken, zodat alle waarden als MC-LR equivalenten zijn uitgedrukt. Omdat de in de ELISA gebruikte antilichamen ook een hoge affiniteit kunnen hebben voor minder giftige varianten en een lagere affiniteit voor zeer toxische varianten, kunnen de ELISA gegevens niet direct vertaald worden naar giftigheid (Carmichael &amp; An, 1999). Een ELISA kan met name bij bloei van <i>Planktothrix agardhii</i> een onderschatting van de giftigheid opleveren (Laub et al., 2002). De laboratoriumproeven (zie hieronder) lieten geen interferentie van andere algencomponenten op de ELISA zien. De ELISA is ondanks de genoemde beperkingen een goede methode om tot een gevoelige detectie van microcystines te komen (Carmichael &amp; An, 1999).</p>

### LABORATORIUMPROEF ELISA

In het planktonlaboratorium van de leerstoelgroep Aquatische Ecologie & Waterkwaliteitsbeheer is een test uitgevoerd om eventuele interferentie van aanwezigheid van andere algen, of algenbestanddelen, op de ELISA te onderzoeken. Hiervoor zijn zowel een lage en een hoge concentratie van de groenalg *Scenedesmus obliquus*, als ook een microcystine-vrije stam en een microcystine-producerende stam van de cyanobacterie *Microcystis aeruginosa* (respectievelijk NIVA-CYA 43 en 140) gevriesdroogd, geëxtraheerd en geanalyseerd op aanwezigheid van microcystine volgens de standaard ELISA-procedure. Van de groenalg en beide *M. aeruginosa* stammen zijn zowel ongefiltreerde suspensies (opgelost + celgebonden microcystine) als het residu na filtratie (celgebonden microcystine) geanalyseerd.

Er werd geen microcystine gedetecteerd met de ELISA in beide concentraties van de groenalg *Scenedesmus obliquus* (laag en hoog). Ook de als microcystine-vrij bekend staande stam NIVA-CYA 43 bevatte volgens de ELISA geen microcystine. Alleen in ongefiltreerde suspensies en in het residu na filtratie van de als microcystine-producerend bekend zijnde stam NIVA-CYA 140 werd microcystine aangetroffen (Figuur B3.1). Dit betekent dat er bij analyse van mengmonsters uit vijvers en plassen geen interferentie van andere algcomponenten op de ELISA verwacht wordt.

FIGUUR B3.1 MICROCYSTINECONCENTRATIES IN GROENALG EN CYANOBACTERIE POPULATIES GEANALYSEERD MET BEHULP VAN ELISA



### CYANOBACTERIËNGROEITEST

In het laboratorium is gekeken naar de groei van cyanobacteriën in gefiltreerd water uit de Molenwielvijver, in gefiltreerd water met stikstof toegevoegd ( $85 \text{ mg NaNO}_3 \text{ l}^{-1}$ ), in water met fosfaat toegevoegd ( $8,7 \text{ mg K}_2\text{HPO}_4 \text{ l}^{-1}$ ), en in water met zowel stikstof als fosfaat additie. Het cyanobacteriemateriaal was verkregen van een drijfslag, bestaande uit *Planktothrix agardhii* (dominant), *Woronichinia naegeliana* en *Microcystis aeruginosa*, die op 24 november 2006 op de Molenwielvijver te Sint-Oedenrode lag. Het experiment is uitgevoerd in drievoud in 100 ml Erlenmeyer flesjes met 50 ml water, waaraan  $50 \mu\text{g l}^{-1}$  chlorofyl-*a* cyanobacteriën zijn toegevoegd. De Erlenmeyers zijn afgesloten met een cellulose-plug en geplaatst bij  $17^\circ\text{C}$  en  $27^\circ\text{C}$  in geklimatiseerde kamers bij continu licht van  $35 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Na 4 dagen is in elke Erlenmeyer opnieuw de hoeveelheid chlorofyl-*a* bepaald met behulp van de PHYTO-PAM. De gemiddelde chlorofyl-*a* concentraties zijn statistisch getoetst met behulp van een twee-weg ANOVA, waarbij significante verschillen zijn bepaald met een Tukey post-hoc test.

### STATISTIEK

De relaties tussen de spectrofotometrische- en PHYTO-PAM-analyse van chlorofyl-*a*, tussen de verwachte en gemeten hoeveelheden totaal chlorofyl-*a*, en de aandelen cyanobacteriën en groenalgen chlorofyl-*a*, zijn geanalyseerd met behulp van lineaire regressie in de programma's SigmaPlot 2000 en SPSS (versie 12.0). De associaties tussen de gemeten variabelen zijn bepaald aan de hand van Pearson's correlatiecoëfficiënten (SPSS). Een vergelijking van de chlorofyl-*a*- en microcystine concentraties in drijfslagen op de Molenwielvijver gedurende twee periodes is gemaakt met behulp van een ANCOVA (SPSS).

## BIJLAGE 4

## WATERKWALITEITSVARIABELEN

Locatie	Chlorofyl-a ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )			MC ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )		Nutriënten		Algemeen				
	Blauwalg	Rest	Totaal	Seston	Drijfslag	TN ( $\text{mg l}^{-1}$ )	TP ( $\text{mg l}^{-1}$ )	pH	T ( $^{\circ}\text{C}$ )	O2 ( $\text{mg l}^{-1}$ )	EGV ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	NTU
Arhem (1)	3.3	1.7	5	0.1		---	---	8.02	24.1	10.4	472	---
Arhem (2)	1.1	1.1	2.2	0		---	---	8.06	24.5	9.8	582	---
Asten	176.9	73	249.9	0.4		1.638	0.381	7.84	20.9	0.5	505	36.2
Barneveld	58.8	258.3	317.1	1.3		1.06	0.242	8.13	20.1	8.3	390	38.3
Beek en Donk	745.7	0	745.7	3.7	2472	7.581	0.786	8.49	22.8	3.3	422	163
Bennekom 21/7	549.8	54.7	604.4	3.7	33	4.99	0.402	8.4	26.0	18.7	589	95.1
Bennekom 17/8	255.1	142	397	0.8	17	2.851	0.449	7.64	18.7	6.6	421	51.7
Bergen-op-Zoom	920	0	920	2.1	784	14.97	1.033	6.96	24.8	0.7	387	248
Boekel	55.2	130	185.2	0.5		2.428	0.345	6.7	25.7	6.0	416	53.6
Boxtel	337.6	20.2	357.8	4.3	1558	6.262	0.296	6.88	24.7	5.2	161	164
Breda	22	7.7	29.7	0.9		2.1	0.28	8.17	26.1	7.2	156	23.5
Budel	428.9	0	428.9	1.1	734	9.074	0.745	8.45	23.2	3.7	380	96.2
Deurne	58.4	46.3	104.7	13	8176	2.033	0.292	8.34	23.8	0.6	485	49.9
Ede1	34.1	35.5	69.6	0.1		1.541	0.418	7.45	19.3	5.9	369	11
Ede2	2.3	14.7	17	0		0.395	0.229	7.67	20.0	6.0	594	7.1
Ede3	131.3	23.8	155.1	0.3	28	1.378	0.263	8.55	20.0	9.0	500	46.7
Eindhoven	120.9	88.9	209.8	3.1	7317	3.131	0.326	8.42	22.8	5.0	232	84.8
Empel	168.1	593	761.1	0.2		5.597	1.263	7.41	19.0	2.5	577	77.5
Etten-Leur	783.5	40.1	823.6	84	629	10.057	0.881	7.33	25.5	4.2	350	436
Geldermalsen	57.4	79.8	137.2	0		0.79	0.339	7.68	21.2	4.6	641	53
Gemert	5.8	4.1	9.9	1.1		1.262	0.178	7.87	25.8	7.8	480	8.7
Grave	651.6	32	683.6	95.5	5780	10.674	1.268	9.23	25.3	24.9	373	249
Heesch	79.4	7.1	86.4	0.6	1051	3.767	0.36	7.69	26.1	9.8	309	101.5
Helmond	1102	0	1102	0.6	253	13.072	0.905	8.82	25.3	8.2	435	339
Hintham	10.9	7.4	18.2	0.1	374	1.715	0.205	9.04	30.4	18.8	305	17.5
Kesteren	22.5	49.1	71.6	0		0.597	0.341	7.78	20.6	3.4	751	129
Maarheeze	29.3	293.4	322.7	0		8.275	0.513	7.03	19.5	2.7	337	93.5
Middelrode	44.5	75.7	120.2	1.5		1.927	0.325	7.83	20.6	5.2	246	31.6
Nijmegen	129.7	43.6	173.3	1		2.485	0.297	8.85	26.7	22.2	516	41.5
Oss	15.7	49.5	65.2	0.1		0.645	0.232	7.84	18.1	5.8	696	22.6
Ravenstein	12.9	17.8	30.7	0.3		0.597	0.217	7.68	20.5	3.6	518	7.6
Rosmalen	4.9	5.6	10.5	0.3		1.387	0.141	7.78	18.3	5.0	517	19.9
Schijndel	119.8	7	126.7	2.2	68	4.21	0.36	7.27	23.3	0.4	411	89.5
Sint-Michielsgestel	149.8	40.9	190.6	1.5	1287	3.526	0.32	7.96	25.9	14.6	333	110
Sint-Oedenrode (1)	86.6	8.6	95.1	34.6	22865	4.807	0.45	7.04	20.1	3.2	369	118
Sint-Oedenrode (2)	583.6	0	583.6	7.7	969	4.325	0.286	8.95	19.1	7.4	198	120
Sint-Oedenrode (3)	90.6	132.6	223.2	5		1.772	0.18	6.53	24.6	10.2	68.4	67.6
Someren	380.2	0	380.2	8.8	771	6.618	0.444	7.15	20.6	1.2	224	126
Son	42.6	43.8	86.4	0.4		0.896	0.171	8.76	23.5	8.3	332	42.7
Steenbergen	74.5	15.5	90	20.3	210	2.765	0.332	7.7	26.8	5.9	700	47
Tilburg (1)	54.4	48.4	102.9	0.9		2.033	0.209	8.36	24.9	---	---	110
Tilburg (2)	20.9	21.4	42.3	2.2		2.639	0.457	8.01	---	---	---	25
Tilburg (3)	2.4	3.4	5.8	0		---	---	8.06	---	---	---	10
Tilburg (4)	259	91.5	350.5	7.2	12732	2.89	0.357	8.73	19.5	12.4	112	89.4
Tilburg (5)	3	22.4	25.4	0.1		1.31	0.2	6.73	17.3	6.0	213	32.3
Uden	0	3.6	3.6	2.4		0.722	0.264	6.33	23.4	6.1	370	32.5
Veghel1	27.7	25.7	53.4	0.2		1.011	0.186	7.79	22.7	10.4	596	16.6
Veghel2	6.7	8.6	15.2	0		4.431	0.262	7.32	23.3	0.8	364	61
Waalwijk	128.1	28.2	156.3	2		4.258	0.286	6.85	26.1	6.6	123	40.5
Wageningen (1) 4/8	150.4	28.3	178.7	67	242	1.83	0.297	8.6	24.5	13.1	144	103
Wageningen (1) 12/9	103.5	61.5	164.9	40.6	2779	2.63	0.321	8.06	---	---	---	117
Wageningen (2)	38.8	50.4	89.2	0		0.462	0.308	7.89	20.6	6.1	479	38



## BIJLAGE 5

## CORRELATIEMATRIX

Correlaties (Pearson  $\rho$ ) en bijbehorende kansen (**p**) voor cyanobacteriënchlorofyl ( $CHL_{cya}$ ), total-chlorofyl ( $CHL_{tot}$ ), microcystine in de waterkolom ( $MC_{sest.}$ ), microcystine in drijflagen ( $MC_{drijf}$ ), total-stikstof (TN), total-fosfaat (TP), opgelost fosfaat (P), ammonium ( $NH_3$ ), nitraat ( $NO_3$ ), zuurgraad (pH), temperatuur, zuurstofgehalte, elektrische geleidingsvermogen (EGV) en troebelheid (NTU). Significante correlaties ( $p < 0.05$ ) zijn vet weergegeven.

$\rho$ / $p \rightarrow$	$CHL_{cya}$	$CHL_{tot}$	$MC_{sest.}$	$MC_{drijf}$	TN	TP	TN/TP	P	$NH_3$	$NO_3$	pH	Temp.	Zuurst.	EGV	NTU
$CHL_{cya}$		<b>&lt;0.001</b>	<b>0.01</b>	0.27	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.70	0.41	0.51	0.16	0.21	0.67	0.44	<b>&lt;0.001</b>
$CHL_{totaal}$	0.93		<b>0.02</b>	0.30	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	1.00	0.46	0.47	0.32	0.66	0.89	0.56	<b>&lt;0.001</b>
$MC_{seston}$	0.35	0.31		0.46	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.00</b>	0.60	0.66	0.49	0.44	0.27	0.17	<b>0.04</b>	0.30	<b>&lt;0.001</b>
$MC_{drijf}$	-0.24	-0.23	0.16		0.58	0.88	0.49	0.58	0.74	0.83	0.76	0.10	0.73	0.43	0.69
TN	0.86	0.85	0.33	-0.12		<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.02</b>	0.07	0.46	1.00	0.10	0.77	0.30	<b>&lt;0.001</b>
TP	0.71	0.82	0.42	-0.03	0.81		0.16	<b>&lt;0.001</b>	0.53	0.82	0.62	0.68	0.97	0.59	<b>&lt;0.001</b>
TN/TP	0.49	0.42	0.08	-0.15	0.66	0.20		0.20	<b>0.01</b>	0.13	0.42	<b>0.02</b>	0.75	<b>0.00</b>	<b>&lt;0.001</b>
P	-0.06	0.00	-0.06	-0.12	0.35	0.48	0.19		<b>&lt;0.001</b>	<b>0.02</b>	0.80	0.42	0.08	0.37	0.56
$NH_3$	-0.12	-0.11	-0.10	-0.08	0.27	0.09	0.38	0.95		<b>0.01</b>	0.56	0.50	0.06	0.77	0.44
$NO_3$	-0.10	-0.11	-0.12	0.05	0.11	0.03	0.23	0.34	0.40		<b>0.03</b>	0.47	<b>0.04</b>	0.76	0.64
pH	0.20	0.14	0.16	-0.07	0.00	0.07	-0.12	-0.04	-0.09	-0.32		0.23	<b>&lt;0.001</b>	0.73	0.61
Temp.	0.18	0.06	0.20	-0.36	0.24	0.06	0.33	-0.12	-0.10	-0.11	0.17		<b>0.00</b>	0.37	0.09
Zuurstof	0.06	0.02	0.30	-0.08	-0.04	0.01	-0.05	-0.26	-0.29	-0.32	0.54	0.45		0.59	0.89
EGV	-0.11	-0.09	-0.15	-0.18	-0.15	0.08	-0.46	0.14	-0.04	0.05	0.05	-0.13	-0.08		0.37
NTU	0.84	0.80	0.58	-0.09	0.81	0.68	0.48	-0.09	-0.11	-0.08	0.07	0.25	0.02	-0.14	

## BIJLAGE 6

# MEDIAMELDINGEN VAN CYANOBACTERIËNBLOEI IN 2006

Datum	Locatie	Gemeente/plaats	Datum	Locatie	Gemeente/plaats
<i>Provincie Limburg</i>			4-8	Krammer	Oude-Tonge
25-7	De Dilkensplas	Ohé en Laak	4-8	Volkerak	Ooltgensplaat
3-8	Roeivijver Steinerbos	Stein	22-8	Speelvijver Zeegerstrand bij de Zegerplas	Alphen aan den Rijn
12-9	Dagstrand De Weerd	Roermond			
15-9	Zwemwater Thorn	Thorn	<i>Provincie Noord-Holland</i>		
<i>Provincie Noord-Brabant</i>			13-7	De Poel	Amstelveen
14-6	Molenwiel vijver	Sint-Oedenrode	19-7	Kano-en roeivijver	Dirkshorn
16-6	Vijver Europalaan	Son	19-7	Vijver Radboudstraat	Hoogwoud
19-6	Tongelreepvijver	Tilburg	19-7	Strand	Muiderberg
21-6	Oude Gracht en stadswater Stiffelio	Eindhoven	19-7	Strand Zomerkade	Huizen
26-6	Vijver Anton van Duinkerkenpark en Ravelijn	Bergen-op-Zoom	19-7	Speelweidevijver Anna's Hoeve	Hilversum
27-6	Leijnsven / visvijver Essche Heike	Boxtel	20-7	Diverse wateren	Waarland
30-6	Manderssluis	Dintelsas	20-7	Haven	Oude Zeug
29-6	singel Reeshof	Tilburg	21-7	Vijver avonturenpark	Julianadorp
3-7	Kleine Melanen en De Zoom	Bergen-op-Zoom	21-7	Sloterplas (Geuzenveld en Varkensbaai)	Amsterdam
4-7	stadsvijver De Ploeg	Heesch	1-8	Jagersplas	Zaandam
11-7	Volkerak-Zoommeer	Volkerak-Zoommeer	<i>Provincie Utrecht</i>		
13-7	Groenewoud / Stappegoor	Tilburg	30-6	De Laak, Zielhorst, Stradivariusstr., 't Haf	Amersfoort
19-7	Kienuhoevijver en poel Dijksteeg	Sint-Oedenrode	4-7	't Kleine Zeeetje	Bunschoten-Spakenb.
19-7	De Vilt	Boxmeer		Hamershof en Ijsbaan	Leusden
21-7	Vijver Goudplevier	Sint-Michielsgestel	17-7	Zwemlust	Nieuwersluis
21-7	Linievijver	Breda	19-7	Vijvers Vredenhoffstr., Colenso, Clemensstr.	Soest
21-7	Vijver aan Hoge Neerstraat	Etten-Leur	24-7	Beltvijver en vijver Dotterbloemlaan	Baarn
21-7	Steenbergsche Haven	Steenbergen	25-7	Bikkerspolder en Oosterpolder	Bunschoten
24-7	Visvijver Klopbeek	Heeswijk-Dinther	28-7	De Kikker	Groenekan
24-7	Vijver aan de Anna van Burenweg	Grave	1-8	Vijvers Parklaan, Lindelaan, Interface	Scherpenzeel
24-7	Visvijvers	Netersel en Bladel	8-8	Gravenbol	Wijk bij Duurstede
25-7	Wilhelminakanaal	Tilburg	14-8	Rietplas	Houten
26-7	Ringelsven	Budel	<i>Provincie Flevoland</i>		
26-7	Krouwelaarhaven	Breda	27-7	gracht langs de Sportlaan	Zeewolde
28-7	Vijvers Wolfsweide	Rijen	27-7	Singels	Urk
28-7	Vijvers Haageind en Burg. Roefslaan	Deurne	21-8	Havenkom en surfstrand	Almere-Haven
28-7	Vijver Otterweg	Beek en Donk			
31-7	Dieze	's-Hertogenbosch	<i>Provincie Gelderland</i>		
31-7	vijver aan de Visstraat	Oss	11-7	Zandput	Culemborg
31-7	Eindhovenskanaal en Traverse	Helmond	18-7	stadsvijver in Nijkerkerveen-zuid	Nijkerkerveen
31-7	stadsgracht	Ravenstein	21-7	watgang langs het Christinapad/Middelaar	Hoewelaken
2-8	wielen aan de Elshoutse Zeedijk	Heusden	25-7	polder Arnhemheen en Nekkeveld	Nijkerk
2-8	Groote Wielen en Bankade	Rosmalen	4-8	Zandmeren	Kerkdriel
7-8	Vorsenpoel	Boxtel	<i>Provincie Overijssel</i>		
7-8	Vijver gemeentehuis	Nuenen	29-6	Vijver Hulsbeek	Oldenzaal
10-8	de Vest en de Buitengracht	Willemstad	6-7	Vijver 't Dijkhuis	Borne
11-8	Vijver Engelsbergen	Eindhoven	8-7	Vijvers aan de Griekenlandlaan	Oldenzaal
11-8	Lithse Ham	Lith			
12-8	Vijver Effentweg/kruidentlaan	Oosterhout			

Datum	Locatie	Gemeente/plaats	Datum	Locatie	Gemeente/plaats
16-8	Ligne	Bergen-op-Zoom	11-7	Stadswater aan de Thijsniederweg	Oldenzaal
7-9	Zuiderplas	's-Hertogenbosch	12-7	Vijver	Denekamp
15-9	Vijver aan de Dragonder	Valkenswaard	13-7	Vijvers N-Esmarkerrondweg en Knalhutteweg	Enschede
15-9	vijver langs de Beatrixweg	Middelrode	14-7	Het Lageveld	Wierden
20-9	Vijvers in de Heeswijkse Kampen	Cuijk	26-7	Kotermeerstal	Dedemsvaart
27-9	Vijvers Tolberg	Roosendaal	14-8	Twentekanaal	Enschede
26-10	Warandevijver	Helmond	18-8	Vijver Huys	Hengelo
			24-8	Vijver Kooikersweg	Almelo
			24-8	Lateraalkanaal, jachthaven De Grenzen	Almelo
			24-8	Kleigat, Vijverlaan	Borne
<i>Provincie Zeeland</i>					
20-7	Speelmansplaten	Tholen			
28-7	Kreekraksluizen Zoommeer	Reimerswaal			
<i>Provincie Zuid-Holland</i>					
11-5	Singels in Molenvliet	Papendrecht			
20-7	Gaatkensplas	Barendrecht			
25-7	Lammetjeswiel	Alblasserdam			
25-7	Kanovijver Zuiderpark	Rotterdam			
1-8	Nieuwkoopse Plassen	Nieuwkoop			
1-8	Natuurbad te Werve	Rijswijk			
1-8	Madestein	Den Haag			
1-8	Klinkerbergerplas	Warmond			
1-8	Kagerplassen en 't Joppe	Leidse Merenwijk			
			<i>Provincie Drenthe</i>		
			20-9	Engelgaarde	Meppel
			<i>Provincie Friesland</i>		
			18-7	De Groene Ster	Leeuwarden
			21-7	Nijehaske	Heerenveen
			31-7	Spokeplas	Noordwolde
			<i>Provincie Groningen</i>		
			1-9	Proostmeer	Wagenborgen Delfzijl
			15-9	De Eems	Termunten
			?	Vijvers en stilstaand water	Hoogezand-Sappem.