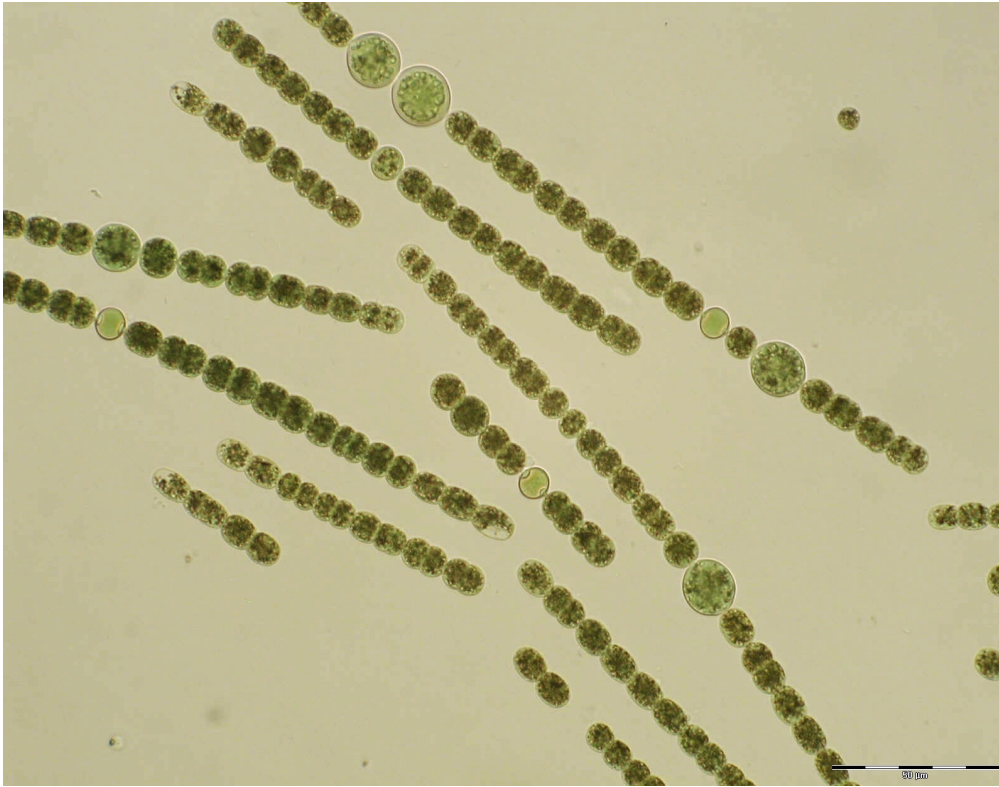


Analyse potentieel hinderlijke algen



Specificatie

Analyse potentieel hinderlijke algen

Specificatie

Auteurs C.A. Bultstra
R. Bijkerk
M.J. van Herk

Versienr 4

Datum 16 januari 2008

koeman en bijkerk bv
ecologisch onderzoek en advies

bezoekadres kerklaan 30 Haren
postadres postbus14 9750 AA Haren
telefoon 050 363 2265
telefax 050 363 5205
email koeman.en.bijkerk@biol.rug.nl
website <http://www.koemanenbijkerk.nl>

1 Inleiding

Deze specificatie betreft watermonsters uit oppervlaktewateren, waarvan (snel) een analyse nodig is van de aanwezige potentieel hinderlijke algen. Potentieel hinderlijke algen worden vooral aangetroffen in de filamenteuze blauwalggeslachten *Anabaena*, *Aphanizomenon* en *Planktothrix* en in het chroococcale blauwalggeslacht *Microcystis*. In het huidige zwemwaterprotocol is de analyse dan ook vooral op deze geslachten gericht. Tot de groep van potentieel hinderlijke algen behoren echter ook tal van andere blauwalgen, zoals *Anabaenopsis*, *Cylindrospermopsis* en *Woronichinia*, terwijl in sommige watertypen ook de raphidophyt *Gonyostomum* voor overlast kan zorgen. Onze analyse is daarom ook gericht op een doelmatige kwantificering van deze andere algen. Een lijst van tot nu toe bekende potentieel hinderlijke blauwalgen is te vinden in de map K:\Cyanotoxins. Hierin bevindt zich ook andere nuttige documentatie.

2 Doel

De analyse is gericht op een bepaling van de soortensamenstelling en de abundantie van potentieel hinderlijke algen in oppervlaktewater. De gevonden dichtheden worden vergeleken met de dichtheden die genoemd worden in de risiconiveaus die door de WHO en Gezondheidsraad onderscheiden worden (Chorus & Bartram 1999).

3 Omschrijving monsters

De monsters bestaan uit ongeconcentreerd oppervlaktewater uit zoete wateren. Het materiaal wordt levend aangeleverd of geconserveerd met acetaatgebufferde lugol. Levende monsters dienen tijdens het transport gekoeld te worden (bijvoorbeeld in een koelbox met koelelementen). Bij voorkeur wordt naast het levende monster ook een monster meegestuurd dat geconserveerd is met acetaatgebufferde lugol. De monsters zitten in glazen of kunststof flessen. NB. Voor de analyse volstaat een volume van 50 ml. De flessen zijn voorzien van een etiket waarop de locatie en de datum van bemonstering zijn vermeld. De levende monsters worden na aankomst op ons lab donker en koel (4 °C) bewaard tot het moment van analyse. Dit geldt ook voor gefixeerde monsters die niet direct geanalyseerd hoeven te worden.

4 Algemene methodiek

De fytoplanktonanalyse wordt uitgevoerd aan bezinkingsplankton met behulp van een omkeermicroscop (Utermöhl-methode). Op basis van levende monsters wordt zo snel mogelijk een soortensamenstelling bepaald. Wanneer geen gefixeerd monster wordt meegeleverd moet (een deel van) het monster gefixeerd worden met, bij voorkeur, acetaatgebufferde lugol. Door het toevoegen van lugol bezinken de blauwwieren beter. Onderstaande beschrijving is van toepassing op kwantitatief onderzoek aan gefixeerde monsters uit de waterkolom. Gekoelde monsters moeten voor de analyse in het donker

bij kamertemperatuur geplaatst worden om op kamertemperatuur te komen. Het doel hiervan is een onregelmatige bezinking van organismen door convectiestromingen en de vorming van gasbellen in de sedimentatiecuvetten te voorkomen.

Voor de analyse worden deelmonsters onderzocht van 0.1 tot 1.0 ml (concentreren is dus niet nodig). Na menging van het monster wordt een deelmonster onttrokken met behulp van een gecalibreerde Finn-pipet en overgebracht in een rond sedimentatiecuvet met een bodemoppervlak van 1.25 cm² en een bodemdikte van 0.15-0.17 mm. Voorafgaand wordt het cuvetje gevuld met 0.5 tot 1.0 ml leidingwater met lugol om een gelijkmatige spreiding van de deeltjes over de cuvetbodem te verkrijgen. Wanneer het monster een hoge dichtheid aan deeltjes bevat wordt het deelmonster vóór de analyse verdund met leidingwater met lugol. Tussen pipettering en onderzoek wordt een tijdsperiode van minstens twee uur ingelast voor sedimentatie van organismen (sedimentatietijd twee uur per 0.5 cm.). In erg verse monsters willen blauwalgen, ondanks fixatie met lugol, nog wel eens blijven drijven. In dat geval moet ook een schatting gemaakt worden van het aantal cellen in de bovenstaande vloeistof in het cuvet.

De monsters worden onderzocht met een omkeermicroscoop (Olympus IMT-2, of IX-70) met een LWCD-condensor, numerieke apertuur 0.55, 10× WHK-ocularen, waarvan één is voorzien van een oculair micrometer en met de volgende Olympus-objectieven : UPlanFI 10×/0.30, SPlanApo 20×/0.70 en PlanApo 60×/1.40. De analyses worden verricht in helderveld.

Van de levende monsters wordt, na een nacht in de koelcel gestaan te hebben, vastgesteld of er een drijfslag ontstaan is.

4 Bepaling van soortensamenstelling en abundantie

Bij de analyse worden één of meer deelmonsters onderzocht voor een bepaling van de soortensamenstelling en abundantie. Voor relatief schaarse soorten wordt een groter percentage van het cuvet gescand dan voor relatief talrijke soorten. De telling wordt uitgevoerd bij een vergroting van 200× (voor de soortenbepaling kan ook 600× gebruikt worden). Voor de telling worden minimaal vijf beeldvelden onderzocht en maximaal een heel cuvet. Bij de keuze van de beeldvelden wordt rekening gehouden met een eventueel randeffect (non random verspreiding van deeltjes in het cuvet).

Voor de telling gaan we uit van een detectielimiet van 20.000 cellen/ml of minder, indien de dichtheid van potentieel hinderlijke algen lager is. Maximaal wordt 1 ml monster geheel onderzocht. Voor een betrouwbare abundantiebepaling per geslacht zijn minimaal tien waarnemingen van *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Planktothrix* e.a. noodzakelijk.

Voor de draadvormende blauwwieren spreken we van een bloei bij de volgende aantallen (ontleend aan de KRW-maatlat fytoplanktonbloeien):

- *Anabaena* 800 draden per ml
- *Aphanizomenon* 1000 tot 2000 draden per ml
- *Planktothrix* 10.000 draden per ml

Deze bloeien vallen binnen niveau 2 van de risiconiveaus van de WHO (Chorus & Bartram 1999). Omdat van *Planktothrix agardhii* het aantal cellen per draad slecht te tellen is, wordt bij hoge abundanties van deze soort (ca. > 1 000 draden per ml) de gemiddelde lengte per draad bepaald door een lengtemeting aan minimaal 20 volgens het toeval bepaalde draden. Deze lengte wordt vervolgens omgerekend in aantal cellen op basis van een vaste cellengte van 3 µm.

Normaal gesproken tellen kolonies of draden mee wanneer het grootste deel ervan zich in het beeldveld bevindt. Bij hoge aantallen kan ervoor gekozen worden om alles wat uit de ene helft van het beeldveld loopt mee te tellen en wat uit de andere helft valt niet.

5 Determinatie

Er wordt gestreefd naar determinatie tot op soortsniveau, onder het voorbehoud dat geen aanvullende speciale onderzoeksmethoden en/of uitgebreide literatuurrecherches zullen worden uitgevoerd, tenzij het gaat om een alg die domineert, of belangrijk is vanuit de vraagstelling van het onderzoek en aanvullend onderzoek perspectieven biedt. Wanneer een betrouwbare determinatie niet mogelijk is, wordt het organisme gedetermineerd tot op geslachtsniveau of hoger. De naamgeving sluit aan bij de actuele taxonomische literatuur.

6 Verzamelde gegevens en gegevensverwerking

Bij de analyse worden de volgende basisgegevens verzameld :

- Monsterdatum
- Monsterlocatie (eventueel een locatiecode)
- Naam van de aangetroffen alg
- Het aantal waargenomen eenheden (losse cel, kolonie, draad) per taxon
- Het aantal getelde cellen per onderscheiden taxon
- Het volume van het deelmonster dat voor de telling onderzocht is

Uit de bovenstaande gegevens wordt de volgende grootheid berekend :

- De dichtheid per onderscheiden taxon in cellen per ml

Eventueel kan met behulp van een lijst, waarin het begrip individu is gedefinieerd per soort of geslacht, nog de volgende grootheid worden berekend :

- De dichtheid per onderscheiden taxon in individuen per ml
Deze grootheden en de verzamelde basisgegevens worden verwerkt tot regelsgewijze databasebestanden. Op basis daarvan wordt een rapportageblad ingevuld.

7 Rapportage

De resultaten worden gerapporteerd in de vorm van een rapportage zoals in bijlage I (PDFbestand) en indien gewenst als Excel-bestand.

8 Literatuur

- Chorus I & Bartram J (1999) Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management. Published on behalf of World Health Organization. E & FN Spon, Londen, New York. 416 pp.
- Joosten AMT (1999) Blauwwieren uit Nederlandse eutrofe binnenwateren. Tweede, herziene druk. Stichting Alg, Haren.
- Joosten AMT (in prep.) Algenflora van Nederland. I. Cyanobacteria. Stichting Alg.
- Joosten Anton M.T. (2006) Flora of the blue-green algae of the Netherlands. I The non-filamentous species of inland waters. KNNV, Utrecht.
- Komárek J & Anagnostidis K (1999) Cyanoprokaryota. 1. Teil : Chroococcales. *Süßwasserflora von Mitteleuropa* 19(1) : 1-548. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- Komárek J & Anagnostidis K (2005) Cyanoprokaryota. 2. Teil : Oscillatoriales. *Süßwasserflora von Mitteleuropa* 19(2) : 1-759. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- Ruiter H (2006) Vroegtijdige signaleren door het tellen van blauwalgen. *Trends in Water* 19: 5).

Bijlage I Titel van de bijlage

monsternr	M0704149		
locatiecode	21003403	monsterdatum	9 mei 2007
locatieomschrijving	Plas		
analyse-doel	Determinatie en abundantiebepaling potentieel hinderlijke algen		

analysedatum	9 mei 2007	rapportagedatum	9 mei 2007
analyse-methode	Lichtmicroscopie	analist	R. Bijkerk
onderzocht volume	Maximaal 0.024 ml voor telling		

opdrachtgever	Waterschap Hunze en Aa's
---------------	--------------------------

Toxisch	Soort	Groep	Individue/ml	Cellen/ml
Ja	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i> v. <i>klebahnii</i>	Blauwalgen	42	1 082
Ja	<i>Aphanizomenon gracile</i>	Blauwalgen	1 248	23 045
?	<i>Limnothrix planctonica</i>	Blauwalgen	1 515	18 182
?	<i>Limnothrix redekei</i>	Blauwalgen	68 182	804 545
?	<i>Limnothrix rosea</i>	Blauwalgen	42	541
Ja	<i>Planktothrix agardhii</i>	Blauwalgen	12 812	606 061

Toelichting	
-------------	--

Het monster wordt sterk gedomineerd door draadvormige blauwalgen. Van de aanwezige soorten is alleen *Aphanizomenon flos-aquae* een potentiële drijfvaagvormer, maar deze is in het monster slechts in zeer lage dichtheid aanwezig. Drie van de zes aangetroffen soorten zijn potentieel toxisch: *Aphanizomenon flos-aquae* (saxitoxine), *A. gracile* (microcystine en saxitoxine) en *Planktothrix agardhii* (microcystine). Van *Limnothrix* soorten zijn geen toxische effecten bekend.

De totale dichtheid van potentieel toxische soorten komt boven het risiconiveau van 100 000 cellen per ml uit; hierboven is het zinvol om microcystine te meten in het kader van de zwemwatercontrole (zie H. Ruiter (2006) Vroegtijdige signaleren door het tellen van blauwalgen. *Trends in Water* 19: 5)