



Nieuwsbrief van de werkgroep Cyanobacteriën: nummer 11, mei 2010

De werkgroep Cyanobacteriën

De werkgroep Cyanobacteriën (cyanowerkgroep) streeft er naar om twee maal per jaar een Nieuwsbrief uit te brengen over de stand van zaken van het onderzoek naar cyanobacteriën (blauwalgen) en hun toxines (gifstoffen), de wetgeving, praktische beheersaangelegenheden en eventuele nieuwsfeiten. Het overleg van de werkgroep heeft als doel het uitwisselen van informatie, het afstemmen van onderzoek en het ondersteunen van beleidsvorming op het gebied van cyanobacteriën, met name gericht op monitoring van overlast en risico's. Informatie van en over de werkgroep is te vinden op de website van STOWA (www.stowa.nl) onder het kopje "Thema cyanobacteriën". Als u vragen of opmerkingen heeft over cyanobacteriën dan kunt u de werkgroep via ciano@stowa.nl benaderen.

Deelnemers aan het overleg zijn wetenschappers en waterkwaliteitsbeheerders. Momenteel zijn de leden: Hans Ruiten (RWS-Waterdienst, voorzitter), Miguel Dionisio Pires (Deltares, secretaris), Peter Tydeman (Wetterskip Fryslân), Cees Collé (IPO-WHVBZ, Provincie Gelderland), Jasper Stroom (Waternet), Petra Visser (Universiteit van Amsterdam), Ciska Schets (RIVM), Bas Ibelings (NIOO-CL, KNAW), Miquel Lurling (Wageningen Universiteit en Researchcentrum), Guido Waajen (Brabantse Delta) Henk Tamerus (WS de Dommel), Johan Oosterbaan (HH Rijnland), Bas van der Wal (STOWA), Tineke Burger (RWS IJsselmeergebied) en Ron van der Oost (Waternet, redactie Cyano Nieuws).

De cyano nieuwsbrief wordt digitaal verspreid. Belangstellenden kunnen hun e-mail adres versturen naar Jet Gerssen van STOWA gerssen@stowa.nl, met "CYANO NIEUWS" in onderwerp (subject) regel.

-
- In deze Nieuwsbrief:**
- **Nieuw blauwalgenprotocol 2010**
 - **Blauwalgenmonitoring met fluorescentie**
 - **Oproep voor blauwalgen ringonderzoek**
 - **Fluorescentieanalyse in het veld**
 - **Selectieve blauwalgbestrijding met waterstofperoxide**
 - **Onderzoek naar cyanotoxines in zoet oppervlaktewater**
 - **PCR onderzoek blauwalgen**
 - **Blauwalgen in stadswateren**
 - **Mededelingen**
-

Nieuw blauwalgen protocol 2010

Ron van der Oost & Jasper Stroom, Waternet

Voor het zwemseizoen 2010 is er door het Nationaal Wateroverleg (NWO) een aangepast blauwalgen protocol vastgesteld, waarvoor de werkgroep cyanobacteriën een aanzet heeft gegeven. De aanpassingen zijn doorgevoerd naar aanleiding van een evaluatie door provincies en waterbeheerders. Omdat in meerdere provincies het aantal zwemverboden fors toenam ten opzichte van eerdere jaren werd aangedrongen op verruiming van de normering, tenzij aangetoond kon worden dat er ontoelaatbare toxineconcentraties aan de normen gekoppeld waren. Op dat moment kwamen ook de bevindingen van onderzoek naar de toepassing van fluorescentie bij blauwalgen monitoring beschikbaar. Daaruit bleek dat biovolume en cyano-chlorofyl geschikter zijn voor de inschatting de hoeveelheid blauwalgen dan de in 2009 gebruikte celtellingen.

In het nieuwe protocol is een keuzemogelijkheid ingevoerd om te monitoren met celdichtheid, biovolume of cyano-chlorofyl (fluorescentie). Celdichtheid is nog wel opgenomen als parameter omdat de meeste waterbeheerders hun monitoring programma's voor het seizoen 2010 al vastgesteld hebben.

Er werden 4 risiconiveaus vastgesteld:

- Risiconiveau 1: verhoogde alertheid; dagelijkse visuele inspectie of monitoringsfrequentie verdubbelen.
- Risiconiveau 2: gering gezondheidsrisico; waarschuwing naar zwemmers voor (deel van) de zwemzone.
- Risiconiveau 3: gezondheidsrisico; negatief zwemadvies, ingesteld en opgeheven door de Provincie.
- Risiconiveau 4: groot gezondheidsrisico; zwemverbod, ingesteld en opgeheven door de Provincie.

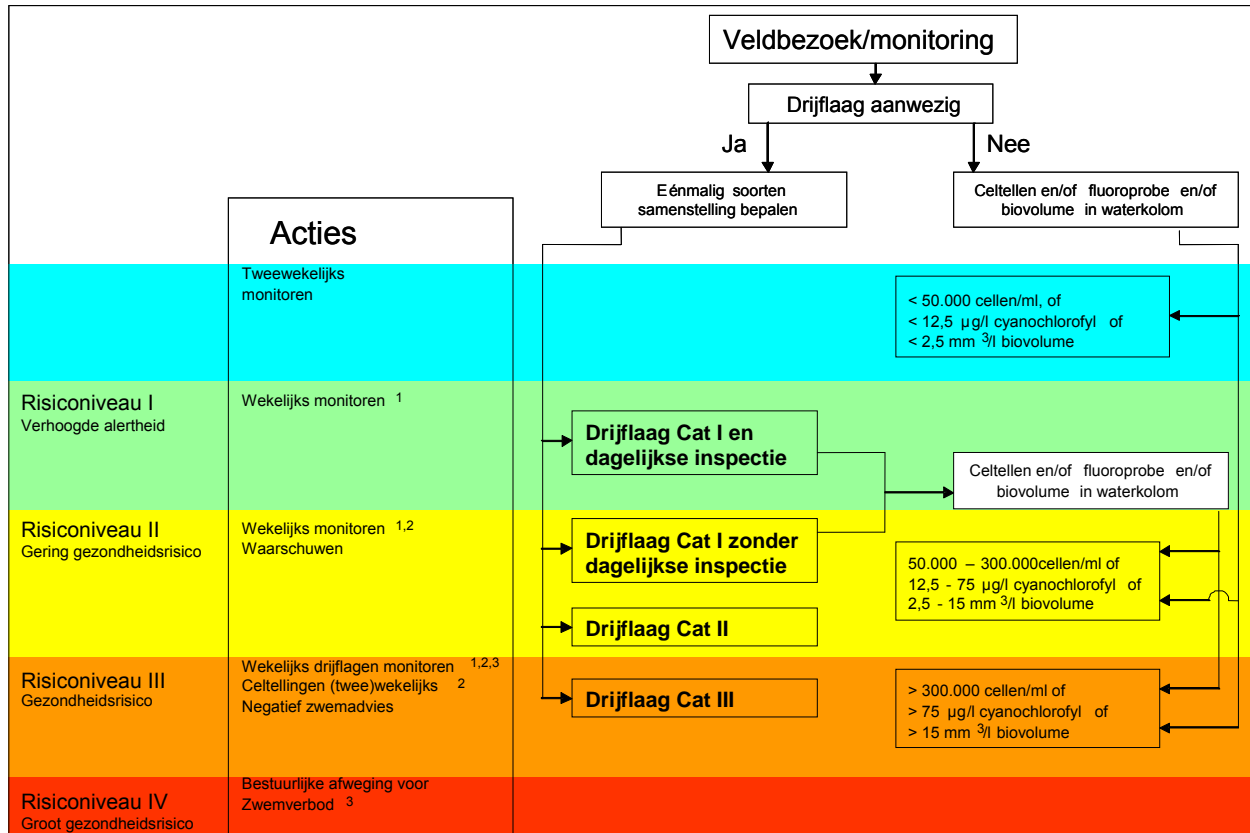
Blauwalgennormen volgens het NWO protocol 2010				
Normen & acties	drijfslaag	celdichtheid cellen/ml	biovolume mm ³ /L	cyano-chlorofyl µg/L
1. Verhoogde alertheid	categorie 1*	-	-	-
2: Waarschuwing	categorie 2	50.000	2.5	12.5
3: Negatief zwemadvies	categorie 3	300.000	15	75
4: Zwemverbod	categorie 3 drijfslaag: extreme gevallen			

*: NB. Als er geen dagelijkse inspectie van de zwemlocatie plaatsvindt, moet er ook bij een categorie 1 drijfslaag een waarschuwing worden afgegeven.

In eerste instantie worden de risico's beoordeeld met een visuele inspectie van de drijfslagen. De drijfslaag categorieën zijn dezelfde als bij het protocol uit 2008. Als er geen drijfslaag of een categorie 1 drijfslaag (cyano dominantie) wordt waargenomen moet het risiconiveau met een laboratoriumonderzoek worden bepaald (celdichtheid, biovolume of cyano-chlorofyl). Dit geldt ook bij dominanties met blauwalgen soorten die geen drijfslagen vormen (zoals *Planktothrix agardhii*). Bij zichtbare drijfslagen is alleen microscopisch onderzoek nodig om te bepalen of de dominante soort(en) tot de vijf meest relevante toxische geslachten in Nederland (*Microcystis*, *Planktothrix*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* en *Woronichinia*) behoren. De normen voor celdichtheid, biovolume en cyano-chlorofyl zijn vastgesteld door het NWO. Deze normen zijn hoger dan de WHO normen voor celdichtheid (100.000 cellen/ml) of cyano-chlorofyl (50 µg/L). Het protocol is schematisch weergegeven in figuur 1.

Er zijn een aantal punten van kritiek op het nieuwe protocol. De ruime verhoging van de WHO norm voor celdichtheid lijkt niet gebaseerd op een wetenschappelijke interpretatie, maar meer op het terugdringen van het aantal zwemverboden. Omdat de WHO norm is gebaseerd op een *worst-case* benadering zal dit

in de meeste gevallen geen problemen geven, maar het aantal keren dat de risico's voor de zwemmers worden onderschat zal hierdoor toenemen. Bij toepassing van de WHO norm voor cyano-chlorofyl van 50 µg/L, of de daarvan afgeleide norm voor biovolume van 10 mm³/L zullen de kansen op over- en onderschatting van de risico's waarschijnlijk lager zijn. In het protocol wordt geen rekening gehouden met de vraag welke dominante blauwalgengenera de hoogste risico's vormen. Een waarschuwing krijgt een brede interpretatie: drijfslag categorie 1 is immers nog geen drijfslag, maar is alleen een indicatie dat er blauwalgen zijn (cyanodominantie). Een drijfslag categorie 2 is daarentegen wel een echte drijfslag en dus een risico.



¹ Dagelijkse visuele inspectie verdient de voorkeur

² Bij drijfslagen van categorie II of III volstaat visuele inspectie als monitoring

³ Wanneer Risiconiveau III of IV voor langere periode gelden en de verwachting (van waterbeheerder en provincie) is dat de situatie niet zal wijzigen, kan overwogen worden de monitoringsfrequentie te verlagen naar tweewekelijks

Het perfecte protocol (geen risico's voor de zwemmers en geen onnodige zwemverboden) is met de huidige stand van kennis nog niet te maken, en het is nu al duidelijk dat dit nieuwe protocol in 2011 weer zal moeten worden aangepast. Aanvullend onderzoek is nodig om een antwoord te vinden op de volgende vragen:

- Hoe vergelijkbaar zijn de resultaten van de analyses van celdichtheid, biovolume en cyano-chlorofyl op de laboratoria van de Nederlandse waterbeheerders?
- Worden er onverantwoord hoge toxinegehalten (microcystine, anatoxine, saxitoxine, etc.) waargenomen op locaties die wel voldoen aan de normen van het nieuwe blauwalgenprotocol (geen negatief zwemadvies)?
- Welke geslachten en soorten vormen relevante drijfslagen in zwemwateren?
- Is er een relatie te leggen tussen de toxinegehalten en de dominante geslachten blauwalgen (op basis van celdichtheid, biovolume of cyano-chlorofyl)?
- Kunnen de risico's voor de zwemmer beter worden beoordeeld met twee effectgerichte toetsen (bioassays)?
- Wat zijn de ervaringen van de waterbeheerders/provincies met het protocol 2010 (enquête)?

Een voorstel voor deze onderzoeken is inmiddels ingediend bij VROM en bij STOWA

Meer informatie: cyano@stowa.nl

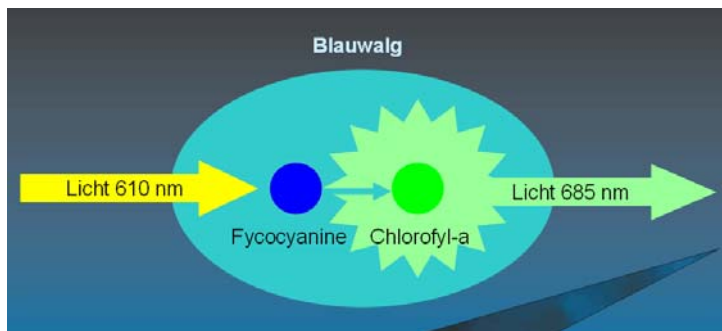
Het blauwalgen protocol is te downloaden via: www.stowa.nl

Blauwalgenmonitoring met fluorescentie

Ron van der Oost, Waternet

In de vorige nieuwsbrief was een stukje geschreven over een STOWA-onderzoek dat in 2008 was uitgevoerd om microscopische analyses (quickscan en telling van de giftige algencellen) te vergelijken met een chlorofylanalyse van blauwalgen met behulp van fluorescentie. Het doel van dit onderzoek was om de toepasbaarheid van fluorescentie bij de risicoanalyse van blauwalgen te onderzoeken. In 2009 zijn de resultaten van dit onderzoek verder uitgewerkt en werden ook data van waterschappen (Rijnland, HHNK en Waternet) geanalyseerd. Het eindrapport "Toepassing van fluorescentie bij de beoordeling van de risico's van giftige blauwalgen" zal binnenkort verschijnen. De conclusies van het conceptrapport waren, samen met de ervaringen van de waterbeheerders met de celtelling, aanleiding om het blauwalgenprotocol uit 2008 aan te passen (zie vorige artikel).

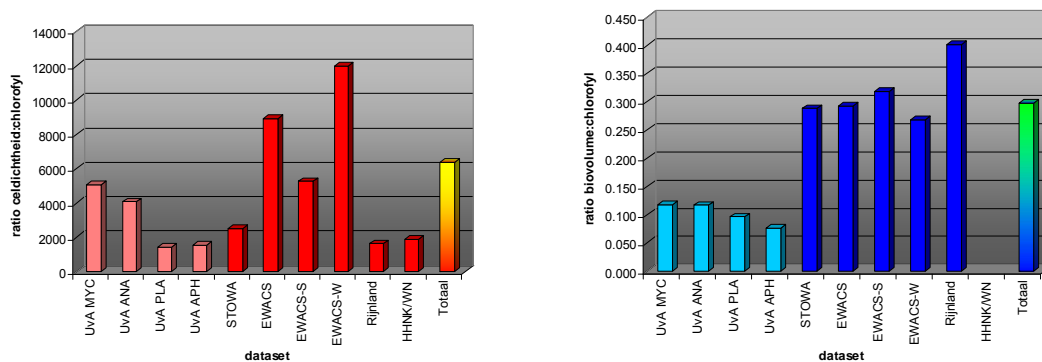
Met fluorescentie kunnen de verschillende soorten blauwalgen niet worden onderscheiden. Het is wel mogelijk om onderscheid te maken tussen verschillende groepen fytoplankton (blauwalgen, groenalgen, diatomeeën, cryptofyten), omdat al deze groepen karakteristieke kleurstoffen bezitten. Ingestraald licht met specifieke golflengtes wordt geabsorbeerd door deze kleurstoffen (bijv. fycocyanine in blauwalgen), waarna de energie via het fotosyntheseapparaat aan chlorofyl-a wordt overgedragen. De energie wordt dan omgezet in een chlorofyl-a fluorescentie, die gevoelig kan worden gedetecteerd (figuur 2). Met de fluorescentiemethode wordt dus het chlorofyl van de blauwalgen (cyano-chlorofyl) geanalyseerd.



De experimenten voor dit onderzoek zijn alle uitgevoerd met de Fluoroprobe van bbe Moldaenke. De robuustheid van de fluorescentieanalyse (lineariteit en herhaalbaarheid) bleek zeer goed te zijn. Er was een significante lineaire relatie met het volgens NEN 6520 bepaalde chlorofyl-a. Deze kan worden gebruikt om de methode te vergelijken met andere apparatuur.

Figuur 2: principe van de fluorescentiemeting

De relatie tussen het met fluorescentie bepaalde cyano-chlorofyl en de microscopisch bepaalde celdichtheid was niet goed genoeg om een betrouwbare voorspelling te doen van het celtaal. De relatie tussen het cyano-chlorofyl en het biovolume (microscopisch bepaalde celtaantallen maal het gemiddelde volume van de cellen) bleek echter wel een goede lineaire relatie te hebben. Het biovolume (of de biomassa) lijkt een meer betrouwbare maat voor de hoeveelheid toxines dan het aantal cellen; een grote cel zal immers meer toxine bevatten dan een kleine cel.



Figuur 3: verhouding celdichtheid:cyano-chlorofyl (links) en biovolume:cyano-chlorofyl (rechts)

De verhoudingen tussen cyano-chlorofyl en celdichtheid variëren sterk tussen de verschillende datasets (figuur 3, links). Dit wordt deels verklaard omdat in de onderzochte datasets verschillende dominante soorten aanwezig zijn. De verhouding tussen cyano-chlorofyl en biovolume in veldmonsters blijkt echter redelijk constant te zijn (figuur 3, rechts). De afwijkende cyano-chlorofyl:biovolume verhoudingen van de gekweekte blauwalgen (lichtblauw) zijn te verklaren met morfologische veranderingen die kunnen ontstaan tijdens het doorkweken. De belangrijkste conclusie van het onderzoek is dat de celtelling geen betrouwbare methode is om de risico's van blauwalgen te monitoren, en dat biovolume en cyano-chlorofyl hiervoor beter zijn.

De werkgroep cyanobacteriën adviseert om na 2010 de risicoanalyse van blauwalgen niet meer op de celtelling te baseren, maar uitsluitend op drijflagen, biovolume en cyano-chlorofyl. Omdat de relaties tussen de aanwezigheid van blauwalgen (bepaald met celtelling, biovolume of chlorofyl) en de concentraties van microcystine zeer slecht waren, wordt daarnaast aanbevolen om onderzoek te doen naar de ontwikkeling van een **effectgericht monitoringsysteem**. Een dergelijk systeem zou kunnen bestaan uit bioassays die de mogelijke effecten van cyanotoxines op lever, zenuwstelsel en cellen analyseren. Hierop zal de toekomstige risicoanalyse van blauwalgen moeten worden gebaseerd.

Inmiddels heeft het Nationaal WaterOverleg (NWO) een blauwalgenprotocol voor 2010 vastgesteld waarin een aantal aanbevelingen uit dit onderzoek is opgenomen (zie vorige artikel). Volgens dit protocol kunnen de risico's voor de zwemmers in 2010 zowel op basis van celdichtheid, biovolume en cyano-chlorofyl worden beoordeeld. De normen voor een negatief zwemadvies (zwemverbod) liggen hoger dan die in het advies van de cyano werkgroep.

Meer informatie: ron.van.der.oost@waternet.nl. Fluoroprobeworkshop: zie 'mededelingen'.

Oproep voor blauwalgen ringonderzoek

Ron van der Oost, Waternet

In het rapport van het onderzoek naar de toepassing van fluorescentie bij de blauwalgenmonitoring (zie vorige artikel) werd een aantal aanbevelingen gedaan. Een van deze aanbevelingen was de uitvoering van een ringonderzoek waarbij de fluorescentiemethoden en de microscopische analyses van de verschillende Nederlandse laboratoria worden vergeleken. Daarnaast werd aanbevolen om in de voor dit ringonderzoek aangeboden monsters een uitgebreide toxineanalyse uit te voeren. Hiermee kan de relevantie van de uitkomsten voor gezondheidsrisico's voor zwemmers worden getoetst. Naar aanleiding van de resultaten van deze studie kunnen de normen voor risico's van blauwalgen van het blauwalgen protocol 2010 worden aangepast. Het plan is om een aantal monsters rond te sturen naar de deelnemende laboratoria om zoveel mogelijk van de volgende parameters te meten:

- Cyano-chlorofyl analyse met fluorescentie
- Totaal chlorofyl-a volgens NEN 6520 (2006)
- Microscopisch onderzoek celdichtheid blauwalgen
- Microscopisch onderzoek biovolume blauwalgen
- ELISA analyse microcystine

Dezelfde monsters zullen naar de Universiteit van Wageningen worden gestuurd voor een analyse van het complete pakket cyanotoxines.



Er is een voorstel voor dit ringonderzoek naar STOWA verstuurd, waarin is gevraagd of er voor de waterschapslaboratoria een bijdrage in de analysekosten (ca. 50%) kan worden gegeven. Als duidelijk is welke laboratoria aan dit ringonderzoek mee willen werken kan een definitieve begroting van de kosten worden gemaakt. Indien STOWA geen financiële middelen heeft voor dit onderzoek zullen alternatieve middelen worden gezocht om deze studie uit te kunnen voeren.

Hierbij worden de geïnteresseerde laboratoria opgeroepen om **voor 1 juni** een e-mail te sturen naar ron.van.der.oost@waternet.nl, met daarin vermeld welke van de bovenstaande parameters geanalyseerd kunnen worden.

Fluorescentieanalyses in het veld

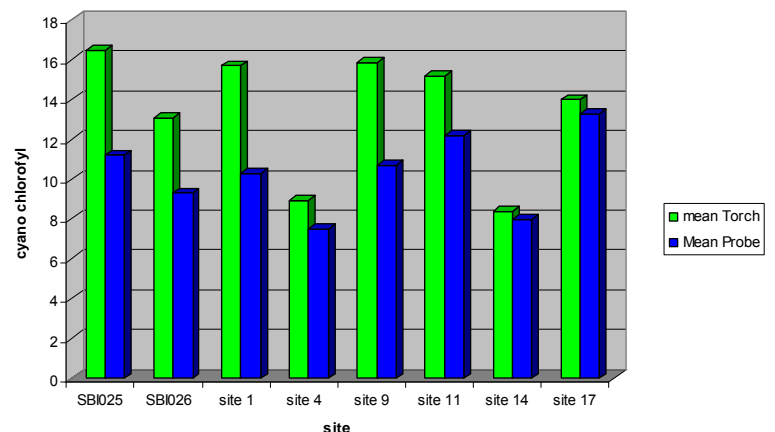
Ron van der Oost, Waternet

Het laboratorium van Waterproef heeft in 2008 een vergelijkend onderzoek uitgevoerd naar de in het veld en de op het laboratorium gemeten cyano-chlorofylgehalten met de fluorescentiemethode. De analyses op het laboratorium werden uitgevoerd met de bbe Moldaenke Fluoroprobe (zie vorige artikel) en de veldanalyses werden uitgevoerd met de Algae Torch van dezelfde firma (figuur 4).



Figuur 4: de Algae Torch voor *in situ* fluorescentieanalyse van blauwalgen

De veldmetingen met de Algae Torch werden rechtstreeks vanaf de boot in het water uitgevoerd. Op de plek van de bemonstering werd een fles gevuld waarvan de fluorescentie op het laboratorium werd bepaald. De resultaten van de beide metingen waren redelijk goed vergelijkbaar, hoewel de veldresultaten gemiddeld 30% hoger waren (figuur 5). Dit kan deels worden veroorzaakt doordat de algen in het water niet homogeen verdeeld zijn. Beide fluorescentie apparaten kunnen echter worden gekalibreerd, zodat de cyano-chlorofyl gehalten overeenkomen met het volgens NEN 6520 bepaalde chlorofyl-a.



Figuur 5: vergelijking Algae Torch *in situ* en Fluoroprobe laboratoriumanalyses

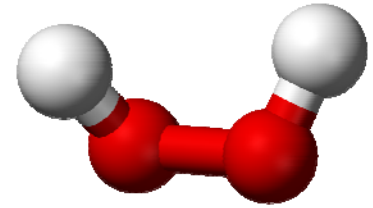
Het bedieningsgemak van de Algae Torch was goed. Er is geen palmtop computer nodig om het apparaat te bedienen, maar met de opgeladen Torch kan direct worden gemeten. De data worden in het apparaat opgeslagen en kunnen later op een computer worden gedownload. Ten tijde van het onderzoek was er nog geen gebruikersvriendelijke software voor deze data overdracht, maar er is inmiddels een pakket ontwikkeld waarop alle bbe Moldaenke apparatuur kan worden aangesloten. Een nadeel van het apparaat was dat er geen melding kwam als de cyano-chlorofyl te hoog waren voor een accurate meting, maar dit zal bij een nieuwe versie worden aangepast. De waarde waarbij dit optrad ($> 400 \mu\text{g/L}$) lag overigens ver boven de norm voor een negatief zwemadvies. Er zijn ook apparaten van andere merken (bijv. Hydrolab MS5) die geschikt zijn voor veldmetingen, maar deze zijn door Waterproef nog niet getest met vergelijkend onderzoek.

Meer informatie: ron.van.der.oost@waternet.nl

Selectieve blauwalgbestrijding met waterstofperoxide

Hans Matthijs en Petra Visser (UvA), Bart Reeze en Renée Talens (ARCADIS)

Onderzoek bij het Instituut voor Biodiversiteit en Ecosysteem Dynamica van de Universiteit van Amsterdam toonde aan dat cyanobacteriën veel gevoeliger zijn voor waterstofperoxide (H_2O_2) dan ander fytoplankton. Kan waterstofperoxide selectief schadelijke blauwalgen in het oppervlaktewater doden, terwijl de voor de biologische voedselketen belangrijke groene algen en diatomeeën en het zooplankton geen schade ondervinden? Deze uitdagende vraag werd in samenwerking met het advies en ingenieursbureau ARCADIS beantwoord. Na succesvolle testen in compartimenten in de Koetshuis recreatieplas bij Veendam werd ontheffing verkregen voor een experiment in de hele plas van 12 ha, dat werd uitgevoerd op 14 juli 2010. De methode berust op het *homogeen* toevoegen van een lage concentratie waterstofperoxide met een speciaal ontwikkeld uitgekiend doseer- en mengsysteem dat op een boot gemonteerd behandeling van een plas van 15 tot 20 ha in één dag mogelijk maakt. Het resultaat was dat de blauwalg *Planktothrix agardhii* in Veendam binnen enkele dagen daalde van bijna 1 miljoen cellen tot 1000 cellen per ml, dat is ruim onder de veilig zwemmen grens. Ook de gifstof microcystine bleek nagenoeg verdwenen te zijn. H_2O_2 zelf is na 1 of 2 dagen niet meer aanwezig, het valt uiteen in water en zuurstof. In Veendam bleef het aantal blauwalgen 8 weken lang onder de veilig zwemmen grens. Groene algen en watervlooien ondervonden er geen hinder van. In de Veerplas bij Haarlem was de bestrijding van *Planktothrix* ook zeer effectief, wel keerden de blauwalgen daar iets sneller terug. *Microcystis* bestrijding is op zich met succes getest in Born (L), al was hier na de behandeling wel hinder van dode *Microcystis* biomassa. De methode lijkt geschikt voor systemen waar blauwalgen grote overlast veroorzaken, zoals in zwemplassen. De ARCADIS-UvA H_2O_2 methode voor blauwalg bestrijding zal in 10 verdere experimenten worden getest waarvoor in 2010 ontheffing is verleend onder de strikte voorwaarde van uitgebreide monitoring.



Figuur 6: doseerinstallatie van H_2O_2 op boot

Meer info over toepassing en advies: renee.talens@arcadis.nl; wetenschap j.c.p.matthijs@uva.nl

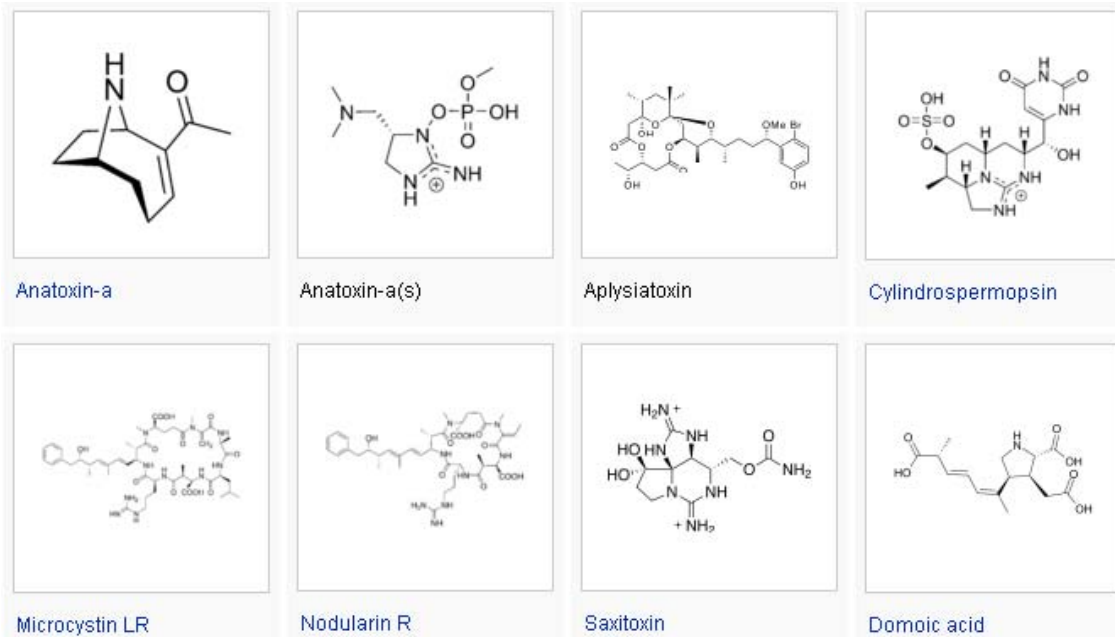
Onderzoek naar cyanotoxines in zoet oppervlaktewater

Miquel Lurling en Els Faassen (Wageningen Universiteit)

Cyanobacteriën kunnen diverse toxines produceren. Tot dusver is in Nederland veel informatie vergaard over de microcystines, maar is er nog geen duidelijkheid over de eventuele aanwezigheid en concentraties van andere cyanotoxines in het oppervlaktewater. Om hier inzicht in te krijgen zijn gedurende de periode mei – oktober 2009, met een tweewekelijks interval, watermonsters verzameld op 88 officiële zwemlocaties in het beheersgebied van Rijkswaterstaat. Wanneer het water meer dan 20 $\mu\text{g/L}$ cyanobacteriën gerelateerd chlorofyl-*a* (cyano-chlorofyl) bevatte, zijn deze geanalyseerd op anatoxine-*a*, cylindrospermopsine, 11 saxitoxine varianten en 8 microcystine varianten met behulp van LC-MSMS. In totaal voldeden 74 monsters (8% van alle monsters) aan het *a priori* gestelde chlorofyl-*a* criterium. In 16 monsters werd anatoxine-*a* aangetroffen in relatief lage concentraties variërend tussen 1 en 109 ng/L. Enkele monsters bevatten saxitoxine, maar in geen van de monsters werd opgelost of particulier (celgebonden) cylindrospermopsine aangetroffen.



Meer informatie: blauwalg@live.nl

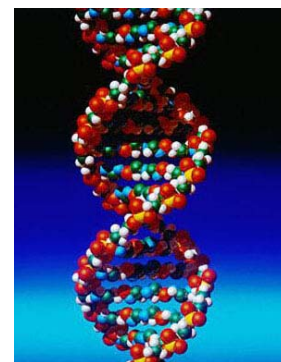
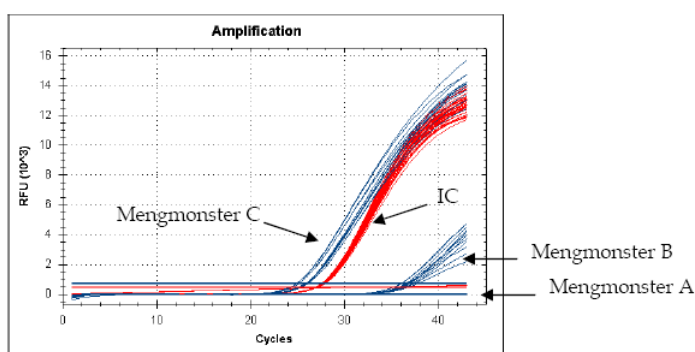


Figuur 7: structuurformules van verschillende soorten cyanotoxines

PCR analyse van blauwalgen

Hans Ruiter (Rijkswaterstaat Waterdienst) en Bart Wullings (KWR)

Beoordeling van de gezondheidsrisico's van cyanobacteriën in zwembadwater werd vroeger gebaseerd op de concentratie van het microcystine toxine. Daarna werden de risico's beoordeeld met celdichtheden van giftige geslachten door microscopische cellellingen. De standaardmethode voor het kwantificeren van cyanobacteriën in water is met behulp van een microscopische telling. Deze methode is echter niet snel en enigszins subjectief. Het is daarom duidelijk dat deze methode vervangen moet worden door een snelle analysemethode die een duidelijk objectief en kwantitatief betrouwbaar resultaat oplevert. In een uitgevoerde haalbaarheidsstudie is geconcludeerd dat kwantitatieve *polymerase chain reaction* (Q-PCR) in potentie binnen een dag, kwantitatief en specifiek toxineproducerende geslachten van cyanobacteriën in water kan detecteren.



In 2009 is door KWR, in opdracht van RWS/WD, een haalbaarheidsstudie uitgevoerd voor de ontwikkeling van Q-PCR methoden om de 5 belangrijkste toxineproducerende blauwalgen genera te kwantificeren. De detectiemethoden richtten zich op genus specifieke methoden. Als eerste stap is een literatuurstudie uitgevoerd naar hiervoor bruikbare PCR-methoden. Hoewel er relatief veel publicaties zijn verschenen (>30) waarin PCR-methoden zijn beschreven en/of toegepast zijn er vrijwel geen methoden die geschikt zijn voor routinematige toepassing. Vele PCR-methoden zijn gericht op de detectie van toxinegenen van cyanobacteriën en zijn daardoor niet genus specifiek. Het bleek dat het fycocyanine gen dat codeert voor een cyanopigment het meest geschikt is voor ontwikkeling van genus specifieke Q-PCR methoden. Van dit cyanospecifieke gen zijn veel DNA-sequentiegegevens beschikbaar en is er voldoende sequentievariatie

tussen de geslachten voor het ontwerpen van specifieke *primers* en *probes*. Het leek dan ook haalbaar om op basis van het fycocyaninegen genus specifieke Q-PCR detectiemethoden te ontwikkelen voor de 5 toxineproducerende geslachten.

Met behulp van referentiestammen zijn de verschillende Q-PCR methoden geanalyseerd op efficiëntie van de DNA-vermenigvuldiging, selectiviteit en de detectiegrens. De resultaten van deze optimalisatie zijn zeer goed en laten zien dat alle 4 de nieuwe Q-PCR methoden efficiënt, selectief en gevoelig zijn. De aanwezigheid van andere cyanobacteriën heeft geen invloed op de specifieke detectie zowel op hoog als op laag DNA niveau (10^4 en 10^1 DNA kopieën/PCR). Ook de gecombineerde detectie van een interne controle resulteerde niet in een afname van de PCR-efficiëntie. De ontwikkelde en geëvalueerde Q-PCR methoden zijn dan ook gereed voor verdere validatie en toepassing in de praktijk. Analyse van praktijkwatermonsters met de 4 nieuw ontwikkelde Q-PCR methoden in combinatie met bestaande detectiemethoden voor cyanobacteriën zal uitwijzen of de nieuwe detectiemethoden zowel selectief als specifiek zijn. In 2010 is het voornemen om in een vervolgoopdracht de verdere ontwikkeling van deze methode af te maken. Hiervoor zal naast validatie van de methode met veldmonsters de methode zodanig worden uitgebreid dat ook het geslacht *Woronichinia* kan worden gemeten. Bovendien staat een vergelijk met de huidige in gebruik zijnde methoden op het wensenlijstje. Om dit laatste tegen redelijke kosten met voldoende monsters van verschillende locaties te kunnen uitvoeren is samenwerking met andere waterbeheerders belangrijk.

Meer informatie: hans.ruiter@rws.nl, Blauwalgen Genomics workshop, zie 'mededelingen'

Blauwalgen in stadswateren

Miquel Lurling (WUR) en Herman van Dam (adviseur Water & Natuur)

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 vermist 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 drijfslagen te vormen, veelal gepaard gaande met stankoverlast, leidt tot onwenselijke situaties met mogelijk schadelijke effecten voor mens en dier.



De universiteit van Wageningen is in 2006 begonnen met een inventarisatie van cyanobacteriënbloei in stedelijk water. De hoeveelheid cyanobacteriën, de soorten-samenstelling, 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, zijn in de zomer van 2006 verschillende stadswateren bemonsterd. De cyanobacteriën werden onderzocht met *in vivo* chlorofyl-a fluorescentie (PHYTO-PAM) en kwalitatief microscopisch onderzoek. De meest waargenomen 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. Op de locatie met *Microcystis* bloei werden soms zeer hoge toxineconcentraties gemeten, tot ruim 28000 µg/L in een drijfslag. Daarnaast werd in alle geanalyseerde drijfslagmonsters het neurotoxische aminozuur BMAA aangetroffen. Het is duidelijk dat het grootste gevaar voor mens en dier schuilt in de drijfslagen, zelfs als er relatief lage concentraties microcystine worden gemeten, omdat er andere cyanotoxines aanwezig kunnen

zijn, waarvan nog weinig bekend is over de langetermijneffecten. De resultaten van het onderzoek onderstrepen de noodzaak voor een uniform waarschuwingssysteem en voor aanvullende (en op korte termijn effectieve) maatregelen om de KRW-doelstellingen te halen en mensen een veilige leefomgeving te bieden.

Meer informatie: blauwalg@live.nl

Mededelingen

Nieuwe thema website blauwalgen

De thema website over blauwalgen van STOWA is geheel vernieuwd.

Neem maar eens een kijkje op:

<http://themas.stowa.nl/Themas/Cyanobacteri%c3%abn.aspx?rID=1143>



Nieuw boekje over blauwalgen

STOWA heeft een boekje over blauwalgen geschreven: Blauwalgen: giftig groen. Dit boekje is te downloaden op de themasite van STOWA:

<http://www.stowa.nl/Service/Publicaties/index.aspx?rId=5348>

Workshop Fluoroprobe analyse

Op **woensdag 19 mei** organiseert microLAN BV in samenwerking met haar leverancier bbe (D) en het Hoogheemraadschap van Rijnland een specifieke training op het gebruik en toepassing van fluorometers voor de bepaling van (blauw)algen in water. Het programma is opgebouwd uit een ochtend gedeelte met een technische training en uitleg op het gebruik van de Fluoroprobe aangevuld met een presentatie van Ron van der Oost over de ervaringen en testen uitgevoerd door Waternet met deze Fluoroprobe voor het blauwalgonderzoek.

Programma:

09:00 – 11:30 training Fluoroprobe Colin Moore bbe:

- Theory of the Fluoroprobe; Cell structure; Excitation; Wavelengths; Depth profiling

11:30 - 12:00 presentatie Ron van der Oost (Waternet): Toepassingen van de Fluoroprobe analyse bij blauwalgen monitoring.

12:15 – 13:00 Lunch

13:15 – 15:00 hands-on testen van Fluoroprobe and AlgaeTorch; C Moore bbe / C Broers microLAN:

- Testen met de apparatuur (testen in het veld met echte monsters kan worden voorzien)
- U kunt ook uw eigen monsters meenemen !!

Locatie: Hoogheemraadschap van Rijnland, Voorschoterweg 16 Leiden, T 071306 3940 Lunch: wordt verzorgd. Er zijn geen kosten aan deze workshop verbonden

Aanmeldingen per email aan: info@microlan.nl. Na aanmelding krijgt u een routebeschrijving toegestuurd.

Workshop Blauwalgen & Genomics

Op korte termijn wordt er namens STOWA en Waternet een workshop georganiseerd waarin de in Nederland uitgevoerde moleculair biologische onderzoeken met blauwalgen worden gepresenteerd en samenwerkingen op dit gebied worden gestimuleerd. Mensen die hiervoor belangstelling hebben kunnen zich melden bij ron.van.der.oost@waternet.nl

Waar worden blauwalgen risicoanalyses uitgevoerd...?

Hieronder een lijstje met ons bekende laboratoria waar bepalingen van microcystines worden gedaan, ook in opdracht van derden. Neem voor informatie contact op via de vermelde telefoonnummers of via e-mail. Omdat de microcystineanalyse wordt vervangen door analyses van celdichtheid, biovolume en/of fluorescentie wordt dit overzicht aangepast. De laboratoria die deze analyses (ook voor derden!) uitvoeren staan in de onderstaande tabel. Als de informatie aangevuld of gewijzigd moet worden kan dit worden doorgemailed naar Ron (ron.van.der.oost@waternet.nl).

Laboratorium	Techniek	Telefoon	e-mail
ELTI Support, Nijmegen	ELISA	024-3778261	e.meulenberg@eltisupport.nl
Waterschap Rivierenland, Tiel	ELISA	0344-649300 0344-649313	j.van.rooy@wsrl.nl b.bongers@wsrl.nl
Wetterskip Fryslân, Leeuwarden	ELISA	058-2339655	mdevries2@wetterskipfryslan.nl
Waterschap Hunze en Aa's, Veendam	ELISA	0598-693650 0598-693662	r.dilling@hunzeenaas.nl j.hatzman@hunzeenaas.nl
Waterproef, Edam	ELISA Quickscan Fluoroprobe	0299-391700	info@waterproef.nl
Omegam, Amsterdam	HPLC-MS Quickscan Biovolume	020-5976680	klantenservice@omegam.nl
Het waterlaboratorium, Haarlem	ELISA HPLC-MS Cyanokit	023-5175900 023-5175948	info@hetwaterlaboratorium.nl
Intertek Polychemlab, Geleen	ELISA Celtelling	06-51918761 06-30014819	theo.duijzings@intertek.com marcel.hulsman@intertek.com
Delta Waterlab, Breda	ELISA	06-57551157	p.lodewijk@deltawaterlab.nl
Hoogheemraadschap van Rijnland	ELISA Quickscan Fluoroprobe	071-3063350	dianne.slot@rijnland.net

Deze Nieuwsbrief is samengesteld door Ron van der Oost, Waternet.
E-mail: ron.van.der.oost@waternet.nl
De nieuwsbrief is als pdf-file te downloaden via www.stowa.nl (thema cyanobacteriën)