

# Risico beoordeling opbloei *Alexandrium ostenfeldii* in het Kustlaboratorium en mitigerende maatregelen

Pauline Kamermans, Ainhoa Blanco en Marnix Poelman  
Rapport C161/13



## IMARES Wageningen UR

(IMARES - Institute for Marine Resources & Ecosystem Studies)

Oprichtgever:

St Zeeuws Landschap  
Postbus 25  
4450 AA Heinkenszand

Publicatiedatum:

21 oktober 2013

**IMARES is:**

- een onafhankelijk, objectief en gezaghebbend instituut dat kennis levert die noodzakelijk is voor integrale duurzame bescherming, exploitatie en ruimtelijk gebruik van de zee en kustzones;
- een instituut dat de benodigde kennis levert voor een geïntegreerde duurzame bescherming, exploitatie en ruimtelijk gebruik van zee en kustzones;
- een belangrijke, proactieve speler in nationale en internationale mariene onderzoeksnetwerken (zoals ICES en EFARO).

P.O. Box 68 1970 AB IJmuiden Phone: +31 (0)317 48 09 00 Fax: +31 (0)317 48 73 26 E-Mail: <a href="mailto:imares@wur.nl">imares@wur.nl</a> <a href="http://www.imares.wur.nl">www.imares.wur.nl</a>	P.O. Box 77 4400 AB Yerseke Phone: +31 (0)317 48 09 00 Fax: +31 (0)317 48 73 59 E-Mail: <a href="mailto:imares@wur.nl">imares@wur.nl</a> <a href="http://www.imares.wur.nl">www.imares.wur.nl</a>	P.O. Box 57 1780 AB Den Helder Phone: +31 (0)317 48 09 00 Fax: +31 (0)223 63 06 87 E-Mail: <a href="mailto:imares@wur.nl">imares@wur.nl</a> <a href="http://www.imares.wur.nl">www.imares.wur.nl</a>	P.O. Box 167 1790 AD Den Burg Texel Phone: +31 (0)317 48 09 00 Fax: +31 (0)317 48 73 62 E-Mail: <a href="mailto:imares@wur.nl">imares@wur.nl</a> <a href="http://www.imares.wur.nl">www.imares.wur.nl</a>
--	--	---	--

© 2013 IMARES Wageningen UR

IMARES, onderdeel van Stichting DLO.  
KvK nr. 09098104,  
IMARES BTW nr. NL 8113.83.696.B16.  
Code BIC/SWIFT address: RABONL2U  
IBAN code: NL 73 RABO 0373599285

De Directie van IMARES is niet aansprakelijk voor gevolgschade, noch voor schade welke voortvloeit uit toepassingen van de resultaten van werkzaamheden of andere gegevens verkregen van IMARES; opdrachtgever vrijwaart IMARES van aanspraken van derden in verband met deze toepassing.

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

A\_4\_3\_1-V13.2

## Inhoudsopgave

Inhoudsopgave.....	3
Samenvatting.....	4
1. Inleiding.....	6
2. Kennisvragen.....	6
3. Methoden.....	8
4. Resultaten.....	9
4.1. Opbloei condities.....	9
4.1.1. Analyse karakteristieken van de alg.....	9
4.1.2. Analyse ervaringen en praktijkomstandigheden voor opbloei.....	12
4.1.3. Potentieel toxische algen in de Zeeuwse binnenwateren.....	12
4.2. Risico analyse Kustlab condities.....	19
4.2.1. Beschrijving van Kustlab condities.....	19
4.2.2. Risicoanalyse.....	20
4.3. Bestrijding en mitigerende maatregelen.....	21
4.3.1. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> behandeling.....	21
4.3.2. Flock&Lock.....	22
4.3.3. Ozon behandeling.....	22
4.3.4. Waterbeweging.....	22
4.3.5. UV behandeling.....	22
4.3.6. Ultrasonificatie.....	22
4.3.7. Verhitten.....	23
4.3.8. Cyst bed bedekking.....	23
4.3.9. Mechanische filtratie.....	23
4.3.10. Filtratie door schelpdieren.....	23
4.3.11. Introductie van predator soorten of ziekteverwekkers.....	24
4.3.12. Conclusies mitigerende maatregelen.....	24
5. Conclusie en aanbevelingen.....	25
6. Dankwoord.....	26
7. Kwaliteitsborging.....	26
8. Referenties.....	27
Verantwoording.....	30
Bijlage A. Literature quick scan.....	31
Bijlage B. Toxische algensoorten in Zeeuwse binnenwateren.....	37

## Samenvatting

Het Kustlaboratorium zal bestaan uit een binnendijks gelegen gebied met bassins voor schelpdieren, vis, algen en zagers, die ververst worden met Oosterscheldewater. Er zal gebruik gemaakt worden van Oosterscheldewater dat via een buisleiding ingelaten wordt en na gebruik ook weer (gezuiverd) terugvloeit naar de Oosterschelde. In het water van het Kustlaboratorium zullen algenpopulaties tot ontwikkeling komen. Dit wordt gestimuleerd door het toevoegen van voedingsstoffen. Deze voedingsstoffen zijn afkomstig uit de teelt van vissen en zagers, of worden als kunstmest toegevoegd. In het zilte gebied bij de bassins kunnen zeegroenten worden geteeld. Rondom deze aquacultuurzone komt een kreekboezem voor het af te voeren water uit de bassins. Om het hele gebied heen komt een kwelslotensysteem dat niet in verbinding staat met de kweekbassins van het Kustlab.

Bepaalde algensoorten kunnen onder bepaalde omstandigheden toxines bevatten. Dit fenomeen kan zowel in zoute wateren als in zoete wateren over de gehele wereld optreden. Wanneer deze algen door schelpdieren worden opgenomen en de schelpdieren vervolgens door mensen worden geconsumeerd kan dit schadelijk zijn voor de gezondheid.

In de zomer van 2012 en 2013 is de potentieel toxische alg *Alexandrium ostenfeldii* in de Ouwerkerkse kreek op Schouwen-Duiveland aangetroffen. Deze kreek loost op de Oosterschelde. De algensoort is ook aangetroffen in de Oosterschelde in de nabijheid van het lozingspunt van de kreek. Zodoende bestaat bij mosselkwekers zorgen over de mogelijke aanwezigheid van de toxische alg in de uitstroom vanuit het Kustlaboratorium naar de Oosterschelde waar zich mosselpercelen bevinden. De huidige deskstudie inventariseert de risico's en doet voorstellen voor mitigerende maatregelen.

Voor het verkrijgen van meer inzicht in de condities waaronder een bloei optreedt is een literatuur quick scan uitgevoerd, gericht op bestaande kennis over condities voor opbloei van *Alexandrium ostenfeldii* en verwante *Alexandrium* soorten. Daarnaast zijn de omstandigheden die in 2012 hebben geleid tot de opbloei van *Alexandrium ostenfeldii* in de Ouwerkerkse kreek geïnventariseerd. Monitoringsgegevens over het voorkomen van potentieel toxische algensoorten in het water van Zeeuwse Tong pilots en de Zeeuwse binnenwateren zijn beschikbaar gesteld door het Zeeuwse Tong project en het Waterschap Zeeuwse Eilanden. Het Kustlaboratorium ontwerp en mogelijke beheersscenarios zijn getoetst op risico's voor opbloei van *Alexandrium ostenfeldii*. Ook zijn bestrijdingsmogelijkheden geïnventariseerd. De concept rapportage is voorgelegd aan interne en externe deskundigen.

*Alexandrium* sp. is een soort die voorkomt in brakke stilstaande Zeeuwse binnenwateren. De soort is niet aangetroffen in de bewegende zoutwatervijvers van Proefproject Zeeuwse Tong of het Zeeuwse Tong pilot project in de Wilhelminapolder. Er is nog veel onduidelijk over de omstandigheden waaronder de soort hoge dichtheden bereikt. De meest waarschijnlijke factoren zijn nutriëntrijk water, waarschijnlijk een overmaat aan organisch gebonden stikstof, want bloeien treden ook op bij lage concentraties anorganische nutriënten en stratificatie, waarschijnlijk veroorzaakt door rustig kalm weer of water input met een lager zoutgehalte.

Het risico op optreden van een *Alexandrium*-bloei in het water van het Kustlab kan verkleind worden door een aantal beheersmaatregelen. Toevoer van organisch gebonden stikstof en het optreden van stratificatie zijn factoren die door beheersmaatregelen binnen het Kustlab beïnvloed kunnen worden. Bepaalde omstandigheden zijn te benoemen die de groei van *Alexandrium* belemmeren. Een korte verblijftijd van het productiewater, zorgdragen voor mechanische beroering en het verhinderen van stratificatie lijken belangrijke parameters te zijn die het ontstaan van een bloei kunnen tegen gaan. Deze factoren kunnen door waterbeheersmaatregelen binnen het Kustlab beïnvloed worden. Een voorbeeld is het aanbrengen van waterbeweging in de kreekboezem, of directe lozing van het water vanuit de bassins

op de Oosterschelde, en dus niet via de kreekboezem. Ook het verhinderen van het instorten van de algencultuur en goed beheer van de voergift aan zagers kan het ontstaan van een overmaat aan organisch stikstof tegengaan. Daarnaast wordt verwacht dat, als Oosterschelde water ingebracht wordt in het Kustlab systeem, bepaalde algensoorten gaan domineren. Hierdoor is het van belang om te sturen op de gewenste algen, om de druk op *Alexandrium*-groei hoog te houden.

Monitoring van de aanwezige algensoorten (controle op de afwezigheid van *Alexandrium*), maar ook van omgevingsfactoren zoals nutriëntengehaltes van het water (inclusief organisch stikstof), temperatuur en waterbeweging wordt aangeraden.

Mocht een *Alexandrium*-bloei desondanks toch optreden, dan is behandeling van het water voorafgaand aan lozing aan te raden. Dit betreft het inrichten van een unit met biologische filtercapaciteit, bij voorkeur in te zetten voor het wegfiltreren van *A. ostenfeldii* indien nodig (watermanagement hierop aanpassen). Als deze maatregelen onvoldoende blijken kan een fysieke methode, zoals desinfectie door middel van H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> behandeling, ingezet worden. En tenslotte kan het lozingsregime worden afgestemd op de getijdebeweging. Lozing uitsluitend bij eb zal het water vanuit het Kustlab snel in de Noordzee brengen en de risico's voor mosselpercelen in de Oosterschelde verkleinen.

## 1. Inleiding

Het Kustlaboratorium wordt ontwikkeld op een stuk grond van ca. 50 ha westelijk van Burghsluis. In een binnendijks gelegen gebied worden bassins gegraven, waar vers zeewater wordt ingelaten. Er zal gebruik gemaakt worden van Oosterscheldewater dat via een buisleiding ingelaten wordt en na gebruik ook weer (gezuiverd) terugvloeit in de Oosterschelde. In de bassins kunnen bijvoorbeeld schelpdieren, vissen, algen en zagers worden geteeld. In het water van het Kustlaboratorium zullen algenpopulaties tot ontwikkeling komen. Dit wordt gestimuleerd door het toevoegen van voedingsstoffen. Deze voedingsstoffen zijn afkomstig uit de teelt van vissen en zagers, of worden als kunstmest toegevoegd. In het zilte gebied bij de bassins kunnen zeegroenten worden geteeld, zoals zeekraal en zeeaster. Deze laatste soort wordt in Zeeland lamsoor genoemd. Rondom deze aquacultuurzone komt een landschappelijk en ecologisch waardevolle zone, de kreekboezem, die tevens dient als buffer voor het af te voeren water uit de bassins. Om het hele gebied heen komt een kwelstelselsysteem, om te voorkomen dat meer landinwaarts gelegen landbouwgrond last krijgt van het zoute water.

Bepaalde algensoorten bevatten van nature toxines of kunnen onder bepaalde omstandigheden toxines synthetiseren. Dit fenomeen kan zowel in zoute wateren als in zoete wateren over de gehele wereld optreden. Wanneer deze algen door schelpdieren worden opgenomen en de schelpdieren vervolgens door mensen worden geconsumeerd kan dit schadelijk zijn. In Nederland komen algensoorten voor die de volgende syndromen kunnen veroorzaken: Paralytic Shellfish Poisoning (PSP), Diarrhetic Shellfish Poisoning (DSP), Amnesic Shellfish Poisoning (ASP) en symptomen door Cyanobacterie toxinen (Tabel 1). Sommige soorten zijn slechts onder bepaalde omstandigheden toxisch en er bestaan ook stammen die nooit toxisch worden (Hallegraeff et al, 2003) ) terwijl veel stammen onder normale groeiomstandigheden altijd toxines produceren (Martins et al, 2004). Als de soorten in hoge aantallen per liter voorkomen spreekt men van een bloei.

In de zomer van 2012 en 2013 is een bloei opgetreden van de potentieel toxische alg *Alexandrium ostenfeldii* in de Ouwkerkse kreek op Schouwen Duiveland. Omdat de kreek op de Oosterschelde loost waar zich mosselpercelen bevinden is extra gecontroleerd op aanwezigheid van de alg in de Oosterschelde. De aangetroffen concentraties in de Oosterschelde hebben in beide jaren de door het Productschap Vis gehanteerde grenswaarde van 1000 cellen per liter overschreden. Zodoende bestaan er zorgen omtrent het optreden van een dergelijke bloei in het Kustlaboratorium en uitstroom van de toxische alg naar de Oosterschelde waar zich mosselpercelen bevinden. De huidige deskstudie inventariseert de risico's en doet voorstellen voor mitigerende maatregelen.

## 2. Kennisvragen

De kennisvragen die worden beantwoord zijn:

Wat is het risico van opbloei van de potentieel toxische alg *Alexandrium ostenfeldii* in het water van het Kustlaboratorium?

Wat zijn mogelijkheden om een bloei van *Alexandrium ostenfeldii* in het water van het Kustlaboratorium te voorkomen, in te perken dan wel de effecten te bestrijden?

Tabel 1. Toxische algen potentieel in Nederland (naar Gerssens, 2010).

Type toxine	Syndroom	Soort	Symptomen
Saxitoxine, Neosaxitoxine en andere derivaten	Paralytic Shellfish Poisoning (PSP) Grenswaarde 1000 algencellen per liter	<i>Alexandrium ostenfeldii</i> <i>Alexandrium tamarense</i> <i>Alexandrium catenella</i> <i>Alexandrium minutum</i> <i>Gymnodinium catenatum</i>	Hoofdpijn, duizeligheid, misselijkheid, tintelingen, verlammingen
Spiroliden	-	<i>Alexandrium ostenfeldii</i> <i>Alexandrium peruvianum</i>	Het werkingsmechanisme is nog niet volledig duidelijk. Muizentesten geven toxiciteit aan.
Okadaïsch zuur, Dinophysis toxine en pectenotoxine	Diarrhetic Shellfish Poisoning (DSP) Grenswaarde 100 algencellen per liter	<i>Dinophysis acuminata</i> <i>Dinophysis acuta</i> <i>Dinophysis caudata</i> <i>Dinophysis mitra</i> <i>Dinophysis norvegica</i> <i>Dinophysis rotundata</i> <i>Dinophysis tripos</i> <i>Dinophysis sacculum</i>  <i>Prorocentrum delicatissima</i> <i>Prorocentrum lima</i> <i>Prorocentrum tepsium</i> sp. <i>Prorocentrum seriata</i>	Diarree, misselijkheid, braken, buikpijn, toxisch voor lever en hart, chronische blootstelling kan darmtumoren veroorzaken
Azaspiracide	AZP (Azaspiracid Poisoning)	<i>Azadinium spinosum</i>	Misselijkheid, braken, ernstige diarree en buikkrampen
Yessotoxine	-	<i>Protoceratium reticulatum</i> <i>Lingulodinium polyedrum</i> <i>Gonyaulax polyhedra</i>	-
Domoïsch zuur	Amnesic Shellfish Poisoning (ASP) Grenswaarde 500000 algencellen per liter	<i>Pseudo-nitzschia australis</i> <i>Pseudo-nitzschia delicatissima</i>  <i>Pseudo-nitzschia multiseriata</i> <i>Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima</i> <i>Pseudo-nitzschia seriata</i>	Misselijkheid, braken, diarree, buikkrampen, duizeligheid, hallucinaties, verwardheid, verlies korte termijn geheugen, hartaanval
Nodularine, Microcystine, Saxitoxine, Neosaxitoxine	Cyanobacterie toxines Grenswaarde 100 miljoen algencellen per liter	<i>Nodularia spumigena</i> <i>Microcystis</i> spp. <i>Anabaena</i> spp <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> <i>Lyngbya</i> Nieuwe soorten	Zwakheid, bleekheid, braken, diarree. Dood veroorzaakt door ophoping van bloed in de lever en stoppen van de ademhaling

### 3. Methoden

De aanpak bestond uit verschillende onderdelen:

#### 1. Analyse karakteristieken van de alg

Voor het verkrijgen van meer inzicht in de condities waaronder een bloei optreedt is een literatuur quick scan uitgevoerd, gericht op bestaande kennis over condities voor opbloei van *Alexandrium ostenfeldii* en verwante *Alexandrium* soorten, zowel wat betreft de abiotische randvoorwaarden (saliniteit, temperatuur, nutriënten, stratificatie) als de aanwezigheid van cysten en de afwezigheid van competerende soorten. Daarnaast is informatie verzameld over de mogelijke effecten op de omgeving van een bloei, de duur van de bloei en de omstandigheden die tot het inzakken van de bloei leiden. De volgende literatuur databases zijn geraadpleegd: Web of Science, Internet, Bibliotheek NIOZ (Yerseke).

#### 2. Analyse ervaringen en praktijkomstandigheden voor opbloei

De omstandigheden die in 2012 hebben geleid tot de opbloei van *Alexandrium ostenfeldii* in de Ouwerkerkse kreek zijn geïnventariseerd. Doordat IMARES betrokken was bij het onderzoek dat is uitgevoerd naar aanleiding van deze bloei was deze kennis aanwezig. Verder is nagegaan wat er bekend is over het voorkomen van potentieel toxische algen in de Zeeuwse binnenwateren. Hiervoor is contact opgenomen met het Zeeuwse Tong project en met het Waterschap Zeeuwse Eilanden. Monitoringsgegevens van beide partijen zijn beschikbaar gesteld. De analyses van de watermonsters zijn uitgevoerd door Grontmij/Aquasense. Potentiele toxiciteit is gecheckt met behulp van literatuur en verschillende websites. De soortenlijst is vergeleken met gegevens uit de Oosterschelde (locatie Hammen oost) van Koeman en Bijkerk.

#### 3. Analyse van de opbloeikansen onder Kustlaboratorium omstandigheden

In overleg met de betrokkenen bij Kustlaboratorium is het Kustlaboratorium-ontwerp getoetst op risico's voor opbloei van de dinoflagellaat *Alexandrium ostenfeldii*. Daarnaast zijn mogelijke effecten besproken in relatie tot mogelijke beheersscenarios.

#### 4. Analyse van bestrijdingsmogelijkheden

In overleg met deskundigen is nagegaan wat mogelijkheden en ervaringen zijn om opbloei van *Alexandrium ostenfeldii* in het water van het Kustlaboratorium te bestrijden of te voorkomen, en welke nieuwe opties voor inrichting van het Kustlaboratorium in de beschouwing moeten worden betrokken.

#### 5. Toetsing uitkomsten in workshop met deskundigen

De concept rapportage is besproken in een workshop met interne en externe deskundigen.

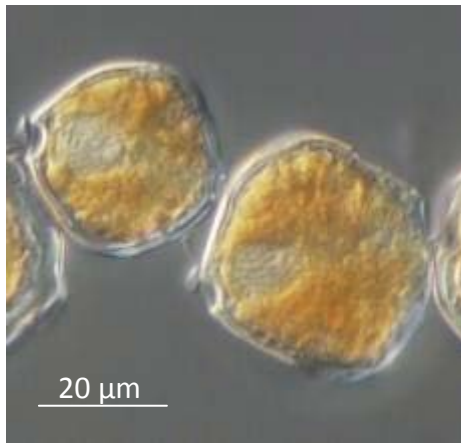


## 4. Resultaten

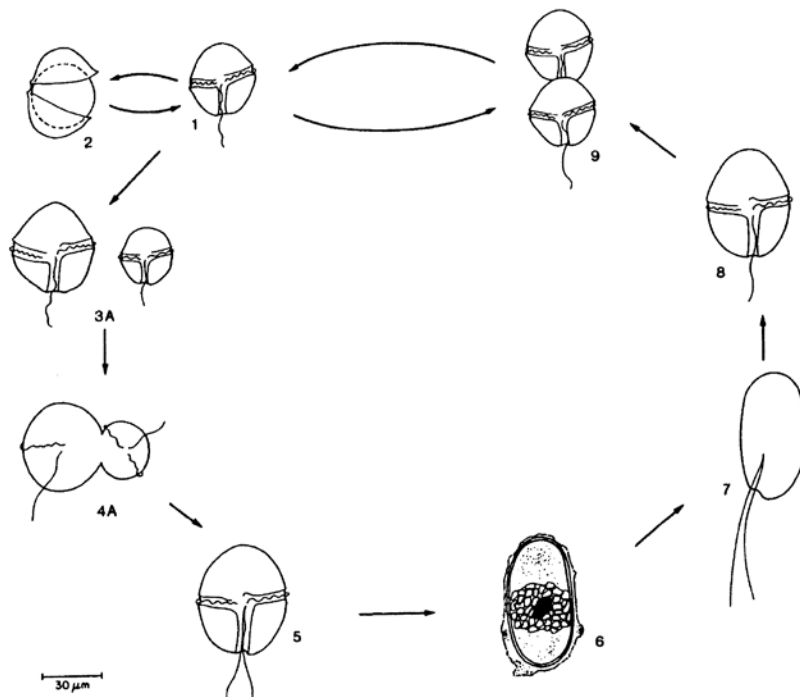
### 4.1. Opbloei condities

#### 4.1.1. Analyse karakteristieken van de alg

*Alexandrium ostenfeldii* is een dinoflagellaat (Fig. 1). Dinoflagellaten kunnen zich voortbewegen met een of twee zweepstaarten (flagellen). De meeste dinoflagellaten vermenigvuldigen zich vegetatief (Fig. 2). Seksuele voortplanting komt echter ook voor, wanneer twee individuen zich samenvoegen om een zygoot te vormen. De zygoot kan blijven rondbewegen, of een onbeweeglijke cyst vormen, die later nieuwe cellen produceert. Als de omstandigheden slecht zijn, bijvoorbeeld als er weinig voedingsstoffen zijn of te weinig licht, verandert de levenscyclus van sommige soorten dinoflagellaten drastisch. Twee vegetatieve cellen kunnen dan fuseren tot een planozygoot. Deze gaat daarna in een soort winterslaap (zogenaamde rustende cyst of hypnozygoot) waarin het organisme zijn voorraden vetten verbruikt. Tegelijkertijd wordt de vorm ronder en het pantser harder, soms ontstaan zelfs stekels. Dit gebeurt vaak aan het einde van een bloei. Als de omstandigheden weer gunstiger zijn, breken deze dinoflagellaten uit hun pantser. Daarna bevinden ze zich in een tijdelijk stadium (planomeiocyot) waarin ze zich snel terug vormen naar vegetatieve dinoflagellaten aan het begin van het proces (Fig. 2).



Figuur 1. *Alexandrium ostenfeldii*. [www.cytobuoy.com](http://www.cytobuoy.com)



Figuur 2. Levenscyclus van *Alexandrium tamarense*. 1 = vegetatieve bewegelijke cel, 2 = tijdelijke cyst, 3 = mannelijke en vrouwelijke gameten, 4 = fuserende gameten, 5 = zwemmende zygoote of planozygoote, 6 = rustende cyst of hypnozygoote, 7 en 8 = bewegelijke gekielde cel of planomeiocyte, 9 = een paar vegetatieve cellen na deling. Uit Anderson (1998).

De rustende cysts zijn bestand tegen extreme omstandigheden. Levende cysten kunnen zelfs gevonden worden in sediment dat is blootgesteld aan de lucht (Hallegraeff et al 2003). Zuurstofloze condities beïnvloeden de kieming van de cysten negatief, maar niet hun levensvatbaarheid (Anderson et al., 1987).

Er is nog relatief weinig bekend over omstandigheden waaronder de bloei van *Alexandrium ostenfeldii* optreedt. Bijlage A geeft een overzicht van wat bekend is in de literatuur. In Tabel 2 zijn de omstandigheden samengevat waaronder een bloei van *Alexandrium ostenfeldii* is opgetreden. Daarnaast is voor soorten van het genus *Alexandrium* aangegeven onder welke omstandigheden de bloei is opgehouden en cysten zijn geproduceerd. In augustus 2013 is een dichtheid van 900 cellen per liter van *A. ostenfeldii* aangetroffen op de Noordzee (data monitoring Productschap Vis, pers. waarneming. A. Blanco). De watertemperatuur was op dat moment 16.7 °C. Dit geeft aan dat de omstandigheden nog niet precies zijn vastgesteld. De belangrijkste omstandigheden lijken te zijn dat het water kalm is en de temperatuur hoog is. Ook treden de bloeien vaak op na het instorten van een diatomeeën-bloei. Over de rol van nutriënten voor de groei van *Alexandrium*-soorten is uit experimenten bekend dat opgelost organisch stikstof afkomstig van afbrekende diatomeeën de groei van *Alexandrium catenella* meer kan stimuleren dan anorganisch stikstof (Loureiro et al., 2009). Organisch fosfaat aanwezig in adenosine trifosfaat of guanosine difosfaat kan de groei van sommige *Alexandrium* soorten significant versnellen (Matsuda et al., 1999). *Alexandrium ostenfeldii* is daarnaast ook in staat om organismen als voedsel op te nemen (Jacobson and Anderson, 1996) en is dus mixotroof.

Tabel 2. Condities waaronder een bloei van *Alexandrium spp.* optreedt. \* betreft *A. ostenfeldii*.

Omgevingscondities bij aanwezigheid <i>Alexandrium spp</i> bloei	Waarde	Locatie	Referentie
Condities in water	Aan oppervlak	Golf van Maine	Gribble et al. (2005)*
	Ondiep water	Oostzee	Kremp <i>et al.</i> (2009)*
	Maximale stabiliteit van de waterkolom en weinig wind	St. Lawrence estuarium	Therriault et al. (1985)
	Na perioden met weinig wind (< 4 m s <sup>-1</sup> )	Thau Lagoon	Laanaia et al., 2013
Zoutgehalte (psu)	29-32	Golf van Maine	Gribble et al. (2005)*
	20	Laboratorium experiment	Jensen and Moestrup (1997)*
	6-7	Oostzee	Kremp <i>et al.</i> (2009)*
	25 to 33	Laboratorium experiment	Maclean et al. (2003)*
	Geen groei bij 7	Laboratorium experiment	Jensen and Moestrup (1997)*
	Geen groei bij 15	Laboratorium experiment	Maclean et al. (2003)*
Water temperatuur (°C)	Hoger dan 24	Oostzee	Kremp et al. (2009)*
	20	Oostzee	Hakanen et al. (2012)*
	20	Laboratorium experiment	Jensen and Moestrup (1997)*
	8-15	St. Lawrence estuarium	Therriault et al. (1985)
	Stabiele temperaturen oppervlakte water (20 ± 2 °C)	Thau Lagoon	Laanaia et al., 2013
Licht niveau (µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	100	Laboratorium experiment	Maclean et al. (2003)*
Nutriënten	Nitratconcentratie 880 µmol L <sup>-1</sup>	Laboratorium experiment	Maclean et al. (2003)*
	Lage concentratie	St. Lawrence estuarium	Therriault et al. (1985)
	Na een nutriëntarme periode	Thau Lagoon	Collos et al., 2009
	Overvloedige zoetwater afvoer	Golf van Maine	Anderson et al., 2010
	Grote hoeveelheden nutriënten na een toename in menselijke activiteiten in de zomer (rioolwater van hotels)	West Baai van Vulcano (Sicily)	Penna et al., 2001; Giacobbe et al., 2007.

Omgevingscondities voor beëindiging van <i>Alexandrium</i> spp bloei en start productie cysten		Locatie	Referentie
Lage concentraties van anorganisch stikstof en fosfaat		Arenys de Mar haven Laboratorium experiment Laboratorium experiment	Garcés et al., (2004) Anderson et al. (1984) Doucette et al. (1989)
Afwijkende windrichting en toegenomen troebelheid		St Lawrence estuarium	Gracia et al., 2013

#### 4.1.2. Analyse ervaringen en praktijkomstandigheden voor opbloei

Omstandigheden die in 2012 hebben geleid tot de opbloei van de alg in de Ouwerkerkse kreek zijn niet systematisch onderzocht.

Onderstaande is gebaseerd op expert judgement:

- Rustig kalm weer
- Overmaat organisch gebonden stikstof
- Water input met een lager zoutgehalte: nutriënt rijk of aanleiding stratificatie?
- Stratificatie
- Watertemperatuur 20 °C of hoger

Het is onbekend hoe lang een periode met stratificatie of warm weer moet duren, voordat een bloei optreedt.

#### 4.1.3. Potentieel toxische algen in de Zeeuwse binnenwateren

In de periode 1997 tot 2011 zijn 24 potentieel toxische algen aangetroffen op 9 locaties in de Zeeuwse binnenwateren in de buurt van het Kustlaboratorium (Fig. 3 en Tabel 3a). Veertien van deze soorten zijn ook aangetroffen in het buitenwater van de Oosterschelde (Hammen oost). De locaties zijn niet alle jaren bemonsterd. In sommige gevallen was de soort niet op naam gebracht en werd alleen het genus genoemd. Dat genus bevat toxische soorten, maar niet alle soorten binnen het genus zijn toxisch. Dit is dus een conservatieve inschatting. *Alexandrium tamarense* is op twee locaties gevonden, maar niet in de Zeeuwse Tong pilots. Daarnaast zijn 9 soorten aangetroffen die bloeien kunnen veroorzaken, maar die niet toxisch zijn (Tabel 3b). Opvallend is dat de meeste soorten in de Zeeuwse Tong pilots (Colijnsplaat en Wilhelminapolder; zie figuur 3) en de Oosterschelde zijn gevonden. Dit kan wat betreft Zeeuwse Tong te maken hebben met de hogere frequentie van de bemonsteringen en daardoor hogere trefkans die in de periode dat de Zeeuwse Tong pilots zijn bemonsterd 2 x per maand bedroeg. De andere binnenwateren werden 1x per maand bemonsterd.

Op twee plaatsen is *Alexandrium tamarense* gevonden (Serooskerkse Weel en Stuw Prunje). Het is mogelijk dat *A. tamarense* in de Waterschapsdata *A. ostenfeldii* was. Dit omdat beide soorten mogelijk in het verleden onvoldoende uit elkaar zijn gehaald (pers. comm. A. Fortuin). Beide soorten lijken sterk op elkaar. Hierom wordt *Alexandrium tamarense* geïnterpreteerd als *Alexandrium* sp. Een overzicht van het voorkomen van *Alexandrium* sp. in Zeeuwse binnenwateren en op dat moment gemeten omgevingsfactoren wordt weergegeven in Tabel 4. De meeste locaties zijn eenmalig op fytoplankton

bemonsterd. In 2000 waren dit Serooskerkse Weel, Stuw Prunje, Gemaal Joh. Glerum Gemaal Veerse Watergang en Gemaal Waarde, in 2003 Gemaal Willem en Waterpartij Goese Meer, en in 2004 Weel Scharendijke. Bij het Gemaal Duiveland in Bruinisse vinden elke 3 jaar fytoplankton bemonsteringen plaats. Daarnaast is de Veerse Vest in Middelburg jaarlijks bemonsterd van 2002 tot en met 2006, maar daarna niet meer. Per locatie was de frequentie van bemonstering 3 tot 8 maal per jaar. Vanaf 2013 is het aantal monsterlocaties tijdelijk uitgebreid in verband met de gebeurtenissen in de Ouwkerkse Kreek. Wat in tabel 4 opvalt is dat *Alexandrium* regelmatig in hoge dichtheden voorkomt. Dit gebeurt voornamelijk in het warmere seizoen van april tot september, maar niet uitsluitend. Ook in februari en november zijn bloeien aangetroffen. De temperatuur is lang niet altijd 20 °C of hoger. De aangetroffen zoutgehaltes variëren tussen 2 en 29. Ook de nutriëntengehaltes, pH en O<sub>2</sub>-concentraties zijn verschillend per bloei of gedurende een bloei en chlorofyl-gehaltes variëren sterk. De gemeten parameters wijzen niet op specifieke omstandigheden waaronder bloeien optreden.



Figuur 3. Monsterlocaties van Zeeuwse Tong pilots en Waterschap Zeeuwse Eilanden.



Tabel 3a. Potentieel toxische algensoorten aangetroffen in verschillende jaren tijdens bemonsteringen van het waterschap en het Zeeuwse Tong project in verschillende binnenwateren nabij de beoogde locatie voor het Kustlaboratorium en in de vijvers van twee Zeeuwse Tong (ZT) pilots (Colijnsplaat en Wilhelminapolder (WP)). De analyses zijn uitgevoerd door Grontmij/Aquasense en Koeman en Bijkerk (Hammen). De toxines, effecten en referenties zijn weergegeven in bijlage B. Zie figuur 3 voor de locaties. Flauwersinlaag (diepte max 1 m, valt 's zomers deels droog), Gemaal Prommelsluis (1,5 - 2 m), Koudekerkse Inlaag (max 1 m, waarschijnlijk minder), Schelphoek (enkele meters), Serooskerkse Weel (geschat 1,5 - 2 m maximale diepte), Stuw Prunje (enkele dm's), Wevers Inlaag (diepte zie Flauwers), ZT Colijnsplaat (1 m), ZT WP (2 m). Lege cellen geven aan dat de soorten niet zijn aangetroffen.

soort	locatie en jaar										
	Flauwersinlaag 2000-2002 en 2009	Gemaal Prommelsluis 1996	Koudekerkse Inlaag 1998 en 2003	Schelphoek 1997	Serooskerkse Weel 2000	Stuw Prunje 2010	Wevers Inlaag 2000-2002 en 2007	ZT pilot Colijnsplaat 2010-2011	ZT pilot Wilhelminapolder 2009-2011	Hammen 2000-2002	
<i>Achnanthes delicatula</i>			x								
<i>Alexandrium tamarense</i>					x	x					
<i>Amphidinium</i>								x	x		
<i>Anabaena</i>						x					
<i>Chrysochromulina</i>							x	x	x	x	
<i>Cochlodinium</i>								x	x	x	
<i>Dinophyceae</i>						x		x		x	
<i>Euglena</i>			x		x	x		x	x	x	
<i>Gymnodiniales</i>								x			
<i>Gymnodinium</i>							x	x	x	x	
<i>Gymnodinium catenatum</i>									x		
<i>Heterocapsa</i>								x	x	x	
<i>Heterocapsa rotundata</i>						x		x	x		
<i>Heterocapsa triquetra</i>					x			x		x	
<i>Lyngbya</i>								x		x	
<i>Microcystis</i>											
<i>Microcystis viridis</i>			x							x	
<i>Nitzschia</i>	x	x	x	x		x	x	x	x		
<i>Oscillatoria sp</i>	x			x				x	x	x	
<i>Phaeocystis</i>								x	x	x	
<i>Planktothrix agardhii</i>			x							x	
<i>Prorocentrum micans</i>								x		x	
<i>Prorocentrum minimum</i>								x	x	x	
<i>Prorocentrum triestinum</i>								x		x	
<i>Prymnesium</i>								x			
<i>Prymnesium parvum</i>	x							x			
<i>Pseudanabaena</i>	x					x		x		x	
<i>Pseudo-nitzschia</i>								x	x	x	
<i>Pseudo-nitzschia delicatissima</i>						x		x	x		
<i>Pseudo-nitzschia seriata</i>								x			

Tabel 3b. Niet toxische bloeivormende algensoorten aangetroffen in verschillende jaren tijdens bemonsteringen van het waterschap en het Zeeuwse Tong project in verschillende binnenwateren nabij de beoogde locatie voor het Kustlaboratorium en in de vijvers van twee Zeeuwse Tong (ZT) pilots. De analyses zijn uitgevoerd door Grontmij/Aquasense en Koeman en Bijkerk (Hammen). De effecten en referenties zijn weergegeven in bijlage B1. Zie figuur 3 voor de locaties. Flauwersinlaag (diepte max 1 m, valt 's zomers deels droog), Gemaal Prommelsluis (1,5 - 2 m), Koudekerkse Inlaag (max 1 m, waarschijnlijk minder), Schelphoek (enkele meters), Serooskerkse Weel (geschat 1,5 - 2 m maximale diepte), Stuw Prunje (enkele dm's), Wevers Inlaag (diepte zie Flauwers), ZT Colijn (1 m), ZT WP (2 m).

soort	locatie en jaar									
	Flauwersinlaag 2000-2002 en 2009	Gemaal Prommelsluis 1996	Koudekerkse Inlaag 1998 en 2003	Schelphoek 1997	Serooskerkse Weel 2000	Stuw Prunje 2010	Wevers Inlaag 2000-2002 en 2007	ZT pilot Colijnsplaat 2010-2011	ZT pilot Wilhelminapolder 2009-2011	Hammen 2000-2002
Achnanthes delicatula			x							
Heterocapsa rotundata						x		x	x	
Heterocapsa triquetra					x			x		x
Phaeocystis								x	x	x
Prorocentrum micans								x	x	x
Prorocentrum triestinum								x		x
Scrippsiella trochoidea								x	x	x
Skeletonema								x	x	x
Thalassiosirales						x		x	x	x



Tabel 4. Aanwezigheid van *A. tamarensis* in Zeeuwse binnenwateren en op dat moment gemeten omgevingsfactoren (meetjaren tussen haakjes). Een 0 geeft aan dat de soort wel aanwezig was, maar dat de dichtheid minder dan 1 per ml was.

locatie	datum	dichtheid (#/ml)	temp (OC)	zoutgehalte (psu)	N (mg/l)	NH3 (mg/l)	NH4 (mg/l)	NO2 (mg/l)	NO3 (mg/l)	P (mg/l)	PO4 (mg/l)	O2 (mg/l)	pH	CHLfa (ug/l)
Serooskerkse Weel (8x in 2000)	4/20/2000	0	12.4	15.01	3.4	0.01	0.2	0.02	<0.02	0.96	<0.1	11.9	8.71	11
Stuw Prunje (8x in 2000)	8/3/2010	356	25.0	28.91	2.6	<0.01	0.33	<0.01	<0.04	2.2	2.2	11	8.4	150
Gemaal Duiveland, Bruinisse (8x in 2006)	4/3/2006	0	9.7	5.26	7.5	0.01	0.67	0.17	4.5	0.32	0.10	10.9	8.20	35
	6/6/2006	9580	17.7	3.64	4.8	<0.01	0.09	0.09	0.25	0.42	<0.01	20	8.70	65
	7/4/2006	0	26.3	13.39	3.7	0.04	0.42	0.02	0.06	1.2	0.87	9.9	8.48	41
	9/7/2006	1898	20.9	12.12	15.4	0.04	0.96	0.28	0.31	4.1	0.90	8.2	8.23	76
Gemaal Joh. Glerum (8x in 2000)	4/5/2000	0	8.9	5.23	17.6000	0.02	1.16	0.2	4.02	0.36	0.24	10.4	8.22	9
	5/4/2000	16695	12.3	7.43	6.6600	0.04	1.06	0.18	0.49	1.37	0.48	12.9	8.39	365
	6/5/2000	0	17.5	3.27	7.1000	0.02	1.35	0.25	4.69	0.76	0.34	8.4	7.76	105
	7/3/2000	1571	22.8	11.41	8.6400	<0.01	<0.1	0.02	0.02	1.57	1.24	19.9	8.37	58
	8/4/2000	2473	20.8	7.27	3.1900	<0.01	<0.1	0.02	<0.04	1.52	1.13	20.0	8.76	40
	9/5/2000	4501	16.4	11.44	2.6981	0.03	1.12	0.14	0.21	3.12	2.24	4.1	8.06	130
Gemaal Veerse Watergang, Middelburg (8x in 2000)	4/13/2000	0	8.8	10.83	4.3300	<0.01	0.10	0.17	0.03	0.23	0.28	13.8	8.30	41
	5/10/2000	3615	19.1	5.90	6.0	0.01	0.15	0.02	0.02	0.63	0.21	15.8	8.43	310
	6/14/2000	2336	20.3	6.82	2.90	0.02	0.28	0.01	0.14	1.49	1.26	13.7	8.31	44
	7/12/2000	2193	14.6	10.82	2.40	<0.01	<0.1	0.03	0.08	2.11	1.68	7.1	8.26	52
	9/11/2000	4518	19.7	11.64	6.54	<0.01	<0.1	0.02	<0.04	2.76	1.72	20	8.51	190
Gemaal Waarde (8x in 2000)	2/2/2000	18	7.4	2.16	10.0800	<0.01	0.55	0.10	7.50	0.30	0.11	10.6	8.12	5
	4/5/2000	0	8.8	4.73	14.5600	0.02	0.69	0.11	3.54	0.21	<0.1	10.8	8.33	<4
	5/4/2000	5660	12.5	5.35	6.9600	0.02	0.40	0.06	0.22	1.01	0.10	14.4	8.51	30
	6/5/2000	1326	16.0	1.51	10.6100	<0.01	0.68	0.24	8.08	0.30	0.16	7.4	7.60	62
	7/3/2000	16200	23.5	8.24	7.8700	<0.01	<0.1	0.02	0.02	1.94	0.82	20.0	8.65	170
	8/4/2000	0	21.0	5.04	5.0700	<0.01	<0.1	0.36	1.12	0.93	0.47	20.0	8.47	130
	9/5/2000	0	15.8	6.00	5.8300	0.02	0.69	0.24	0.84	2.24	1.44	5.2	8.11	375
Gemaal Willem (3x in 2003)	5/21/2003	0	14.3	2.92	3.4200	<0.01	0.02	0.08	0.92	0.49	0.31	12.9	8.61	86
	6/16/2003	517	22.3	4.00	5.1700	0.02	<0.01	0.07	0.19	2.06	1.40	16.2	8.55	42
	7/15/2003	4272	22.7	6.35	3.9500	<0.01	<0.01	0.01	0.19	3.19	2.49	8.3	8.72	9
Veerse Vest, Koepoortbrug, Middelburg (8x in 2002, 2003, 2004, 2005, 2006)	4/9/2002	3184	11.1	8.70	4.5600	<0.01	<0.01	0.02	0.05	0.70	<0.1	20.0	8.57	81
	5/6/2002	135	11.9	13.24	4.1200	<0.01	<0.01	0.04	0.74	1.08	0.61	12.2	8.47	63
	6/11/2002	0	17.0	9.77	2.8500	<0.01	<0.01	0.02	0.06	2.71	2.32	9.9	8.43	63
	7/8/2002	0	19.5	9.70	5.0810	0.02	0.02	0.03	<0.04	3.20	2.75	10.8	8.34	<4
	8/13/2002	0	22.4	7.44	3.7318	<0.01	<0.01	0.02	<0.04	2.44	1.92	18.4	8.47	110
	9/9/2002	921	18.1	7.16	4.3200	0.03	0.03	0.08	0.10	2.22	2.01	7.7	8.36	245
	5/20/2003	0	15.0	10.14	3.7600	0.02	0.02	0.02	0.04	1.93	1.62	14.9	8.52	50
	6/17/2003	413	22.2	7.07	3.1834	<0.01	<0.01	0.02	<0.05	2.07	1.76	10.9	8.53	61
	9/15/2003	1385	17.2	9.96	3.4200	<0.01	<0.01	0.02	<0.05	2.57	2.46	9.4	8.39	<4
	9/21/2004	0	14.3	8.69	5.3872	0.02	0.02	0.02	<0.05	1.62	1.3	13.5	8.34	89
	4/19/2005	0	11.7	10.50	5.2	0.02	0.02	0.05	<0.05	1.12	0.32	19.5	8.78	<8.0
	5/17/2005	0	14.5	7.25	4.0100	0.07	0.07	0.01	<0.05	0.88	1.1	17.8	8.45	140
	6/19/2006	1478	22.1	5.45	3.5	0.02	0.02	0.12	0.07	1.1	0.70	9.8	8.47	94
	8/14/2006	0	18.2	8.15	2.6	0.01	0.01	0.01	<0.05	2.3	2.0	6.0	8.40	58
Waterpartij Goese Meerlaan, Goes (8x in 2003)	4/22/2003	2532	15.2	11.04	3.9758	0.06	0.06	0.02	<0.04	2.29	0.37	18.9	8.80	240
	5/28/2003	0	18.6	7.61	3.5600	<0.01	<0.01	0.02	0.07	1.96	1.36	20.0	8.56	60
	6/24/2003	2555	20.5	11.76	1.5700	0.04	0.04	0.02	<0.04	2.93	2.08	8.4	8.27	38
	7/23/2003	2100	22.5	12.30	3.5700	0.02	0.02	<0.01	0.05	3.28	2.15	4.6	8.25	82
	8/26/2003	1481	20.5	15.91	1.7800	0.01	0.01	0.03	0.12	2.80	2.51	7.7	8.04	40
	9/22/2003	0	16.6	12.67	2.5600	0.01	0.01	0.03	0.14	1.88	1.53	7.6	8.25	56
	11/27/2003	1763	7.4	7.79	4.5300	<0.01	<0.01	0.05	0.05	1.40	0.78	6.2	7.81	46
Weel Scharendijke (4x in 2004)	9/9/2004	0	16.9	5.99	4.4056	0.02	0.02	0.01	<0.05	3.82	1.33	10.5	8.75	335
	11/4/2004	1195	9.5	6.89	4.5645	<0.01	<0.01	0.03	0.05	2.46	2.14	7.3	8.20	78



## 4.2. Risico analyse Kustlab condities

### 4.2.1. Beschrijving van Kustlab condities

Het ontwerp van het Kustlab is nog niet definitief. Globaal zal het bestaan uit algenbassins, schelpdierbassins (tapijtschelpen en oesters), zager- en visbassins, een zilt gebied met zeegroenten (zeekraal en lamsoor), een kreekboezem (tevens buffer voor af te voeren water uit bassins) en een kwelstelsysteem rondom het gebied (Fig. 4). De bassins zijn ongeveer 1 meter diep en hebben een aarden bodem. Water wordt ingenomen vanuit de Oosterschelde. De hoeveelheid water die in het Kustlab aanwezig is zal in de orde liggen van 150,000 m<sup>3</sup>. Voor de verversing met Oosterscheldewater wordt uitgegaan van minimaal ca. 6,000 m<sup>3</sup> per dag. Dit is ook de hoeveelheid water die dagelijks uit het Kustlab afgevoerd gaat worden. Voor de kreekboezem (de ring van water die de aquacultuurzone omsluit) zijn twee opties voor beheer denkbaar:

1. doorspoelen met het effluent uit het Kustlab (6,000 m<sup>3</sup> per dag), geschatte verblijftijd gemiddeld 6-8 dagen.
2. niet doorspoelen, alleen aanvullen om het waterpeil te handhaven: de kreekboezem wordt dan een ring van water met een heel geringe verversing. In dat geval kan het water dat uit de bassins komt via een apart opvangbassin in een keer dagelijks worden geloosd.



Figuur 4. Artist impression van het Kustlaboratorium, [www.Kustlaboratorium.nl](http://www.Kustlaboratorium.nl).

#### 4.2.2. Risicoanalyse

Uit de literatuur quick scan en analyse van omstandigheden die hebben geleid tot de opbloei van *Alexandrium ostenfeldii* in de Ouwkerkse kreek blijkt dat onvoldoende informatie beschikbaar is voor een kwantitatieve onderbouwing van de factoren die een bloei van *Alexandrium* veroorzaken. Wel is duidelijk dat het waarschijnlijk een combinatie van factoren is, maar hoe die combinatie er precies uitziet is niet bekend. In deze paragraaf wordt voor de verschillende compartimenten van het Kustlab gezien wat het risico is dat omstandigheden optreden waaronder een bloei kan ontstaan en wat de mogelijkheden binnen het Kustlab zijn om dit tegen te gaan of te bestrijden.

De compartimenten betreffen de algenbassins, schelpdierbassins, zager- en visbassins en de kreekboezem dat het water uit de kweekbassins ontvangt. In het zilte gebied waar zeegroenten worden geteeld wordt de grond bevloeit met water uit de schelpdier-, zager- en visbassins. Er wordt niet extra bemest en het gebied staat regelmatig droog. De periode dat eencellige algen kunnen groeien is hierdoor waarschijnlijk te kort. De kwelputten staan niet in verbinding met de bassins van het Kustlab. Een eventuele *Alexandrium* bloei heeft hierdoor geen relatie met het Kustlab.

De omstandigheden die mogelijk tot bloei van *Alexandrium ostenfeldii* leiden zijn:

- Nutriënt rijk water, waarschijnlijk een overmaat aan organisch gebonden stikstof, maar bloeien treden ook op bij lage concentraties anorganische nutriënten.
- Stratificatie, waarschijnlijk veroorzaakt door rustig kalm weer of water input met een lager zoutgehalte.
- Hoge watertemperatuur, waarschijnlijk 20 °C of hoger. Hier zijn geen duidelijke aanwijzingen voor. In de Noordzee is een *Alexandrium ostenfeldii* bloei gevonden bij 17 °C. Hoge watertemperaturen kunnen ook een indicatie zijn van stratificatie.
- Laag zoutgehalte. Hier zijn geen duidelijke aanwijzingen voor. *Alexandrium*-bloeien worden zowel onder brakke als onder mariene omstandigheden waargenomen. Laboratorium-experimenten geven aan dat *Alexandrium ostenfeldii* niet beneden de 15 of 7‰ groeit (Tabel 2). De stemt niet overeen met de metingen van het Waterschap, waar bij hoge dichtheden zijn geobserveerd bij 3.64 (Tabel 4).

#### *Overmaat organisch gebonden stikstof*

Deze omstandigheid kan optreden in de bassins waar algen tot ontwikkeling komen. Als de algencultuur niet op tijd wordt voorzien van nieuwe nutriënten kan deze instorten. Dat betekent dat alle algencellen gelijktijdig dood gaan. Dit dode materiaal is een bron van organisch gebonden stikstof. Zolang de cultuur goed wordt beheerd is het risico hierop klein. In de schelpdierbassins worden algen geconsumeerd en worden uitwerpselen van schelpdieren omgezet in nieuwe voedingsstoffen voor de algen. Hier zal dus niet snel een overmaat aan organisch gebonden stikstof aanwezig zijn. In de zager- en visbassins worden voer toegevoegd. Wanneer er teveel wordt gevoerd kan hierdoor een overmaat aan organisch stikstof optreden. Zolang de voergif goed wordt afgestemd op de behoefte is het risico klein. Het risico op een overmaat aan organisch stikstof in het water is hierdoor zeer klein. De kreekboezem ontvangt het water uit de kweekbassins. Als in die bassins teveel organisch stikstof in het water is opgehoopt komt dit ook in de kreekboezem terecht. Dat kan een risico vormen. Directe lozing van het water vanuit de bassins op de Oosterschelde, en dus niet via de kreekboezem, kan dit tegengaan.

#### *Stratificatie*

De algenbassins worden in beweging gehouden om er voor te zorgen dat de algen in het water blijven en niet naar de bodem zakken. Daarnaast krijgen de algen op deze manier voldoende licht. Stratificatie zal dus niet aan de orde zijn in de algenbassins. Ook in de schelpdier-, zager- en visbassins zal het water bewegen om de organismen van voldoende zuurstof te voorzien. Alleen bij diepe bassins kan stratificatie dan alsnog optreden. Bij het ontwerp van de algenbassins kan hier rekening mee worden gehouden. In

het huidige plan wordt het water in de kreekboezem niet in beweging gebracht. Hierdoor bestaat de kans dat stratificatie kan ontstaan. Het aanbrengen van een mechanisme dat het water rond beweegt zal het risico sterk verminderen.

#### *Hoge watertemperatuur*

Een temperatuur boven 20 °C kan in de zomer optreden in de kweekbassins en de kreekboezem van het Kustlab. Deze factor alleen is niet voldoende om een bloei van *Alexandrium* te krijgen. Door de andere omstandigheden (organisch gebonden stikstof en stratificatie) te beheersen kan een bloei worden tegengegaan.

#### *Laag zoutgehalte*

Voor de teelten in het Kustlab wordt gebruik gemaakt van water uit de Oosterschelde met een hoog zoutgehalte, zoals in de Oosterschelde. Indien een lager zoutgehalte een positieve rol speelt bij het ontstaan van *Alexandrium* bloeien is de kans hierop dus klein in de kweekbassins en de kreekboezem van het Kustlab.

Uit bovenstaande blijkt dat het risico op optreden van een *Alexandrium*-bloei in het water van het Kustlab verkleind kan worden door beheersmaatregelen. Toevoer van organisch gebonden stikstof en het optreden van stratificatie zijn factoren die door beheersmaatregelen binnen het Kustlab beïnvloed kunnen worden.

### **4.3. Bestrijding en mitigerende maatregelen**

In warme zomers is de bloei van blauwalgen in recreatieplassen een terugkerend verschijnsel in de Nederlandse binnenwateren. Deze algen kunnen giftig zijn. De oorzaak is vaak een overmaat aan fosfaat in het water (Gulatie & van Donk, 2002). Verschillende bestrijdingsmethoden zijn ontwikkeld en getest. De geschiktheid van deze methoden, en andere opties (uit literatuur), voor het bestrijden van een eventuele *A. ostenfeldii* bloei in het Kustlab wordt hieronder uiteen gezet. De bestrijdings-methoden kunnen worden ingedeeld in drie groepen:

- Chemisch: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> behandeling, Flock&Lock, ozon behandeling
- Fysisch: waterbeweging, UV behandeling, ultrasonificatie, verhitten, cyst-bed bedekking, mechanische filtratie
- Biologisch: filtratie door schelpdieren, introductie van predator soorten of ziekteverwekkers
- 

#### *4.3.1. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> behandeling*

Matthijs et al (2012) hebben een methode ontwikkeld die opbloeiende blauwalgen selectief bestrijdt met behulp van H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Huisman et al (2012) hebben in 2012 een veldproef uitgevoerd in het afvoerkanaal van de Ouwerkerkse Kreek ter bestrijding van *A. ostenfeldii*. Hierbij is 50 mg/l waterstofperoxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) homogeen geïnjecteerd in het kanaal dat loopt van de Ouwerkerkse Kreek naar het Gemaal. De conclusies van deze proef waren:

- 1) De *A. ostenfeldii* populatie is met meer dan 99.9% gereduceerd van 1 miljoen cellen/liter naar 1300 cellen/liter en verschilde niet significant van het normgetal van 1000 cellen/liter.
- 2) De toxines nemen na de behandeling af tot onder de normwaarde van 15 ng/ml; deze saxitoxines zijn na 24 uur niet meer aantoonbaar.
- 3) Behalve een beperkt aantal dode stekelbaarsjes is verder geen vissterfte waargenomen.
- 4) De toegevoegde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is na 2 dagen weer verdwenen (afgebroken tot H<sub>2</sub>O).

De waterstof peroxide behandeling is dus succesvol gebleken, maar kortdurend. Verder blijft veel dood plantaardig materiaal achter. Ook is nog weinig bekend over de mogelijke andere ecologische effecten. Na behandeling is het water nagenoeg geheel vrij van algen. Om de ontwikkeling van een natuurlijke

algenpopulatie te stimuleren wordt aanbevolen een bestaande algenpopulatie van nabijgelegen water in te brengen. De kosten voor een behandeling zijn bij benadering € 1,000 per hectare (van Maanen, 2013).

#### 4.3.2. Flock&Lock

Een vlokmiddel zoals aluminium- of ijzerchloride neemt fosfaat op en slaat algencellen neer. Op de markt is Phoslock verkrijgbaar, een bentonietklei verrijkt met lanthaan. De klei neemt opgeloste fosfaten op en zakt naar de bodem. De klei behandeling met vlokmiddel is veelbelovend voor sommige algensoorten (b.v. *Prymnesium parvum*, Hagstrom unpublished data). Een nadeel is dat na behandeling het water nagenoeg geheel vrij is van algen en dat het sediment moet worden verwijderd omdat hierin cysten kunnen overleven. De kosten bedragen ongeveer € 20,8000 per hectare (van Maanen, 2013).

#### 4.3.3. Ozon behandeling

Bacteriële eliminatie, virale inactivatie en doding van een groot aantal cysten geschiedt bij een ozon concentratie hoger dan 0.3 mg/l gedurende 2 min (Katzenelson 1974). Ozon heeft echter een toxisch effect op schelpdieren, dit is te voorkomen door het ozonhoudend water gedurende 15 minuten te laten verblijven in een niet-circulerend systeem. Hierbij valt het ozon uiteen in zuurstof (Rosenthal, 1981). De operationele kosten van een ozon-installatie zijn bijzonder hoog, wegens een hoog energieverbruik. De ozonproductie van een installatie is tot ieder gewenste hoeveelheid aan te passen door een grotere energietoevoer te implementeren of door meerdere installaties te installeren.

#### 4.3.4. Waterbeweging

Dinoflagellaten (o.a. *A. catanella*) zijn erg gevoelig voor waterbeweging (Therriault et al., 1985). Het turbulent houden van de waterkolom beperkt de ontwikkelingsmogelijkheden van *Alexandrium ostenfeldii* (Smayda, 1997). Garcia Camacho et al. (2007) observeerden schade aan cellen van de toxische dinoflagellaat *Protoceratium reticulatum* bij een schuifspanning van ongeveer 0.16 micro Newton per m<sup>2</sup>. Voorlopige experimenten van Garcia Camacho et al. (2007) gaven ook aan dat *P. reticulatum* veel gevoeliger is voor doorborreling van het water ( $2.67 \cdot 10^{-6}$  m<sup>3</sup> per s) dan de meeste microalgen. De kosten van extra waterbeweging zijn niet bekend.

#### 4.3.5. UV behandeling

UV-straling is een functionele wijze om bacteriën af te doden en virussen te inactiveren. UV-straling is echter niet efficiënt voor het doden/inactiveren van algensoorten en organismen die sporen of cysten vormen (Montani et al., 1995). Tevens is turbiditeit (troebelheid) een factor die negatieve invloed heeft op de effectiviteit van de UV-installatie. Een voorbehandeling van het water is dan ook noodzakelijk om de effectiviteit te garanderen. Een capaciteit van 1-600 m<sup>3</sup> per uur is te bereiken met één UV-installatie, waarbij de dosis 30-35mW/s/cm<sup>2</sup> bedraagt (Spotte & Buck, 1981). Voor effectieve UV-behandeling is een voorbehandeling door filtratie nodig. De kosten zijn hoog.

#### 4.3.6. Ultrasonificatie

Ultrasonificatie is een methode waarbij gebruik gemaakt wordt van ultrasone geluidsgolven. Deze golven resulteren in het ontstaan van microscopisch kleine gasbellen, die expanderen en imploderen. Hierdoor ontstaat polymeerdegradatie, verhoging van chemische reactiviteit en vrije-radicaal productie. Het ultrasonificatieproces doodt alle micro-organismen zonder gevaar van hier uit voortvloeiende mutaties.

Aan het gebruik van een ultrasonificatie systeem zijn echter hoge operationele kosten (energiekosten) verbonden (Poelman, 2001).

#### 4.3.7. Verhitten

Verhitten voor lange duur resulteert in de destructie van bacteriën, fytoplankton en diverse cysten. De verwarming voor effectieve inactivatie van fytoplankton cysten en zoöplankton dient te geschieden gedurende 30-90 seconden uur bij 45°C (Hallegraeff, 1993). De kosten zijn hoog wanneer geen beschikking is over industriële restwarmte.

#### 4.3.8. Cyst bed bedekking

Het jaarlijks onderhouden en bedekken van een cystbed kan zorgen voor reductie van beschikbare cysten. Dit kan resulteren in uitstel of beperken van dinoflagellaat bloeien. Deze techniek is nog niet toegepast. De kosten zijn onbekend.

#### 4.3.9. Mechanische filtratie

*A. ostenfeldii* is ongeveer 30 µm groot. In principe kunnen deeltjes van deze grootte met een filter uit het water worden verwijderd. Sommige algenkwekerijen maken bijvoorbeeld gebruik van een trommelfilter om de algen te oogsten. Het water met de algen wordt hierna nog gecentrifugeerd om het water van de algen te scheiden. Dit betekent echter dat alle in het water aanwezige algen worden geoogst, dus dat er ook geen voedsel meer aanwezig is voor schelpdieren en andere van algen afhankelijke organismen. Een andere optie is om het water voor lozing door een groot (natuurlijk) zandbed te pompen. De kosten zijn hoog.

#### 4.3.10. Filtratie door schelpdieren

In 2012 is door Poelman en Wijsman (2012) een deskstudie uitgevoerd waarbij het gebruik van schelpdieren om het spuiwater van de Ouwkerkse kreek te behandelen werd beoordeeld. Mosselen kunnen *A. ostenfeldii* opnemen en daar op groeien (Nielsen, 2009). De groei neemt af bij hoge aantallen, wat mogelijk duidt op verminderde filtratie. Ook oesters kunnen *A. ostenfeldii* opnemen, maar de cellen worden niet volledig verteerd (Medhibou, 2012). Berekeningen van Poelman en Wijsman (2012) geven aan dat 390,000 kg mosselen nodig is voor zuivering van 253 m<sup>3</sup> per min. Het Kustlab zal minimaal 6.000 m<sup>3</sup> per dag verversen. Dit betekent een lozing van ca. 4 m<sup>3</sup> per min. Met ongeveer 6,000 kg biomassa aan mosselen kan het water worden gezuiverd. Voor schelpdiersoorten met een lagere filtratiesnelheid zal de hoeveelheid benodigde biomassa hoger liggen. Hierbij moet voldoende waterbeweging aanwezig zijn. Dit zorgt er voor dat eventueel aanwezige *A. ostenfeldii* door de gehele waterkolom verspreid wordt zodat al het water in contact komt met schelpdieren. Voor het Kustlab is filtratie met schelpdieren een optie. Dit betekent wel dat al het water van het Kustlab (ook water uit de kreekboezem) als laatste stap voor het verlaten van het gebied langs schelpdieren moet stromen. De maatregel kan zeer effectief zijn, maar er zal altijd een restant algen overblijven. Als de *A. ostenfeldii* concentratie hoog is kan dit betekenen dat de concentratie in het uitstromende water nog steeds boven de norm van 1000 cellen per liter ligt. Ook is verwijdering door schelpdieren geen verwijdering uit het systeem. De algen worden opgenomen en vervolgens, al dat niet verteerd, uitgescheiden als (pseudo-)feces. Deze feces zinken naar de bodem. Het is onbekend of cysten een passage door schelpdieren kunnen overleven. De feces kunnen eventueel worden afgevoerd. De schelpdieren zijn na detoxificatie in een omgeving zonder *A. ostenfeldii* geschikt voor consumptie. Dit duurt ongeveer 8-9 dagen in de zomerperiode (Medhioub, 2012 en Lassus, 2005) en max. 2 maanden in de wintermaanden (ICES, WGHABDREF). De kosten van deze methode zijn onbekend.

#### 4.3.11. Introductie van predator soorten of ziekteverwekkers

Er bestaan gastheer specifieke ziektes (e.g. virussen, algicide bacteriën), parasieten (amoeben) en predatoren (cilliaten, copepoden, heterotrofe dinoflagellaten) voor verschillende toxische algen (o.a. *Alexandrium* spp.). Deze maatregel is echter nog niet getest in het veld (Anderson & Sengco presentation)

([www.tpwd.state.tx.us/landwater/water/environconcerns/hab/ga/workshop/media/anderson.pdf](http://www.tpwd.state.tx.us/landwater/water/environconcerns/hab/ga/workshop/media/anderson.pdf))

De kosten zijn onbekend.

#### 4.3.12. Conclusies mitigerende maatregelen

De bovengenoemde maatregelen helpen tegengaan dat een *Alexandrium* bloei ontstaat of dat algen in de Oosterschelde komen. Deze maatregelen zijn beoordeeld op een aantal criteria (Tabel 5). Hoe effectief is de methode in het bestrijden van een *Alexandrium* bloei? Is de methode al eerder met succes toegepast voor het bestrijden van toxische algen? Wat zijn de kosten van toepassing van de methode? Zijn ecologische neveneffecten opgetreden, zoals grootschalige sterfte van andere organismen? Op basis hiervan is een afgewogen keuze gemaakt voor inpasbaarheid in het Kustlab. Het aanbrengen van waterbeweging in de bassins en kreekboezem, filtratie van het water door schelpdieren en een H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> behandeling van het uitgaande water lijken de meest geschikte maatregelen om het ontstaan van een bloei tegen te gaan of een bloei te bestrijden in het Kustlab.

Tabel 5. Overzicht van bestrijdingsmaatregelen voor de criteria Effectiviteit, Bewezen methode, Kostenaspect, Ecologische (neven) effecten en Inpasbaarheid in het Kustlab. Scores: +=positief, -=negatief en ?=onbekend.

Behandeling	Effectiviteit	Bewezen methode	Lage kosten	Geen neveneffecten	Inpasbaarheid Kustlab
waterbeweging	+	-	?	+	+
filtratie door schelpdieren	+	-	+	+	+
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	+	+	+	-	+
ozon behandeling	+	+	-	+	-
Flock&Lock	+	+	-	-	-
ultrasonificatie	+	+	-	-	-
verhitten	+	+	-	-	-
mechanische filtratie	+	-	-	-	-
cyst bed bedekking	?	-	?	+	-
introductie van predator soorten of ziekteverwekkers	?	-	?	?	?
UV behandeling	-	+	-	-	-



## 5. Conclusie en aanbevelingen

*Alexandrium* spp. zijn soorten die voorkomen in Zeeuwse brakke binnenwateren. Er is nog veel onduidelijk over de omstandigheden waaronder de soorten tot bloei komen. De vraag blijft staan waarom *Alexandrium*-bloeien voorkomen in binnendijkse krekken en waarom dit uitblijft in systemen zoals de Zeeuwse Tong pilots. Ook in de Franse bassins die worden gebruikt voor het opvetten van oesters (Fine de Claire) worden, voor zover bekend, geen *Alexandrium* spp. aangetroffen (pers. comm. J. Prou, IFREMER, Frankrijk). Dit toont aan dat het geen gegeven risico is voor alle binnendijkse productiesystemen.

Bepaalde omstandigheden zijn te benoemen die de groei van *Alexandrium* belemmeren. Een korte verblijftijd van het water en de aanwezigheid van mechanische beroering en het optreden van stratificatie lijken belangrijke parameters te zijn die het optreden van een bloei kunnen tegengaan. Deze factoren kunnen door beheersmaatregelen binnen het Kustlab beïnvloed worden. Daarnaast wordt verwacht dat, als Oosterschelde water ingebracht wordt in het Kustlab systeem, bepaalde algensoorten/-groepen gaan domineren (bij turbulentie, flagellaten; bij turbulentie en voldoende silicaat, diatomeeën). Hierdoor is het van belang om te sturen op de gewenste algen, om de druk op *Alexandrium*-groei hoog te houden. Mocht een *Alexandrium*-bloei desondanks toch optreden, dan is behandeling van het water voorafgaand aan lozing aan te raden.

Er zijn nog veel onzekerheden rond de unieke situatie van het optreden van *A. ostenfeldii* in de Nederlandse kreekgebieden en de risico's op bloei in het Kustlab systeem. Het Kustlab is een nieuw gebied waar ondernemers aan de slag gaan met diverse cultures. De zich ontwikkelende situatie kan hierdoor niet met volle zekerheid ingeschat worden.

Monitoring van de aanwezige algensoorten (controle op de afwezigheid van *Alexandrium*), maar ook van omgevingsfactoren zoals nutriëntengehaltes van het water (inclusief organisch stikstof), temperatuur en waterbeweging wordt aangeraden.

Preventieve maatregelen bevinden zich op twee niveaus gericht op het tegengaan van *A. ostenfeldii*-bloeien:

- A) Systeembeheer, door tegengaan instorten algencultuur, stimuleren "goede" algengroei, goed beheer voergift zagers, optimaliseren waterbeweging, en het verkorten van de verblijftijd van productiewater.
- B) Aanvullende maatregel is het inrichten van een unit met biologische filtercapaciteit, bij voorkeur in te zetten voor het wegfiltreren van *A. ostenfeldii* als nodig (watermanagement hierop aanpassen).
- C) Het lozingsregime kan worden afgestemd op de getijdebeweging. Als standaard procedure lozing bij eb zodat het water snel naar de Noordzee wordt afgevoerd en zich niet verspreid in de Oosterschelde waardoor het risico voor mosselpercelen in de Oosterschelde wordt verkleind.

Als noodmaatregel kan een fysische methode, zoals H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> behandeling, ingezet worden, dit kan gebruikt worden als de maatregelen A en B onvoldoende blijken. Indien dit middel regelmatig ingezet moet worden, dan moet het watercirculatiesysteem in het Kustlab aangepast worden.

## **6. Dankwoord**

Graag bedanken wij Anne Fortuin van het waterschap Zeeuwse Eilanden en Jan Ketelaars van het Zeeuwse Tong project en het Kustlaboratorium voor het aanleveren van gegevens en Henrice Jansen (IMARES) voor hulp bij de risico-inventarisatie. Daarnaast zijn wij dank verschuldigd aan Anne Fortuin, Jan Ketelaars, Jacco Kromkamp (NIOZ-YE), Louis Peperzak (NIOZ-TX) en Aad Smaal (IMARES) voor deelname aan de workshop en Anne Fortuin, Jan Ketelaars, Jacco Kromkamp, Aad Smaal en Jef Huisman (UvA) voor commentaar op een eerdere versie van het rapport.

## **7. Kwaliteitsborging**

IMARES beschikt over een ISO 9001:2008 gecertificeerd kwaliteitsmanagementsysteem (certificaatnummer: 124296-2012-AQ-NLD-RvA). Dit certificaat is geldig tot 15 december 2015. De organisatie is gecertificeerd sinds 27 februari 2001. De certificering is uitgevoerd door DNV Certification B.V. Daarnaast beschikt het chemisch laboratorium van de afdeling Vis over een NEN-EN-ISO/IEC 17025:2005 accreditatie voor testlaboratoria met nummer L097. Deze accreditatie is geldig tot 1 april 2017 en is voor het eerst verleend op 27 maart 1997; deze accreditatie is verleend door de Raad voor Accreditatie.

## 8. Referenties

- Anderson, D.M., Kulis, D.M., Binder, B.J., 1984. Sexuality and cyst formation in the dinoflagellate *Gonyaulax tamarensis*, cyst yield in batch cultures. *Journal of Phycology* 20: 418–425.
- Anderson, D.M., Taylor, C.D., Armbrust, E.V., 1987. The effects of darkness and anaerobiosis on dinoflagellate cyst germination. *Limnology and Oceanography* 32: 340–351
- Anderson, D.M., 1998. Physiology and bloom dynamics of toxic *Alexandrium* species, with emphasis on life cycle transitions. In: Anderson, DM.; Cembella, AD.; Hallegraeff, GM., editors. *The Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. Springer-Verlag; Heidelberg. p. 29-48.
- Anderson, D.M., McGillicuddy, Jr., D.J., Keafer, B.A., He, R., Townsend, D.W., 2010. Population dynamics of *Alexandrium fundyense* in the Gulf of Maine: outlook for improved management and forecasting. ICHA14 Conference Proceedings Crete 2010
- Anderson, D. M., Alpermann, T. J., Cembella, A. D., Collos, Y., Masseret, E., Montresor, M., 2012. The globally distributed genus *Alexandrium*: multifaceted roles in marine ecosystems and impacts on human health. *Harmful algae* 14; 10-35
- Cembella, A.D., Lewis, N.I., Quilliam, M.A., 2000. The marine dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) as the causative organism of spirolide shellfish toxins. *Phycologia* 39: 67–74.
- Cembella, A.; Krock, B., 2007. Cyclic imine toxins: chemistry, biogeography, biosynthesis and pharmacology. In: Botana, LM., editor. *Seafood and Freshwater Toxins: Pharmacology, Physiology, and Detection*. CRC Press; Boca Raton, Florida. p. 561-580.
- Collos, Y., Bec, B., Jauzein, C., Abadie, E., Laugier, T., Lautier, J., Pastoureaud, A., Souchu, P., Vaquer, A., 2009. Oligotrophication and emergence of picocyanobacteria and a toxic dinoflagellate in Thau lagoon, southern France. *Journal of Sea Research* 61: 68–75
- Doucette, G.J., Cembella, A.D., Boyer, G.L., 1989. Cyst formation in the red tide dinoflagellate *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae): effects of iron stress. *Journal of Phycology* 25: 721–731
- Garcés, E., Bravo, I., Vila, M., Figueroa, R. I., Masó, M., Sampedro, N., 2004. Relationship between vegetative cells and cyst production during *Alexandrium minutum* bloom in Arenys de Mar Harbour (NW Mediterranean). *Journal of Plankton Research* 26, 637-645
- García Camacho, F., J.J. Gallardo Rodríguez, A. Sánchez Mirón, M.C. Cerón García, E.H. Belarbi, E. Molina Grima (2007) Determination of shear stress thresholds in toxic dinoflagellates cultured in shaken flasks: Implications in bioprocess engineering. *Process Biochemistry* 42: 1506–1515.
- Genovesi, B., Laabir, M., Masseret, E., Collos, Y., Vaquer, A., Grzebyk, D., 2009. Dormancy and germination features in resting cysts of *Alexandrium tamarense* species complex (Dinophyceae) can facilitate bloom formation in a shallow lagoon (Thau, southern France). *J Plankton Research* 31: 1209–1224
- Genovesi, B., Mouillot, D., Laugier, T., Fiandrino, A., Laabir, M., Vaquer, A., Grzebyk, D., 2013. Influences of sedimentation and hydrodynamics on the spatial distribution of *Alexandrium catenella/tamarense* resting cysts in a shellfish farming lagoon impacted by toxic blooms. *Harmful Algae* 25: 15-25
- Gerssen, A., Pol-Hofstad, I.E., Poelman, M., Mulder, P. P. J., van de Top, H. J., de Boer, J., 2010. Marine toxins: chemistry, toxicity, occurrence and detection, with special reference to the Dutch situation. *Toxins* 2: 878-904
- Giacobbe, M. G., Penna, A., Gangemi, E., Maso, M., Garcés, E., Fraga., S., Bravo, I., Azzaro, F., Penna, N., 2007. Recurrent high-biomass blooms of *Alexandrium taylorii* (Dinophyceae), a HAB species expanding in the Mediterranean. *Hydrobiologia* 580, 125-133

- Gracia, S., Roy, S., Starr, M., 2013. Spatial distribution and viability of *Alexandrium tamarense* resting cysts in surface sediments from the St. Lawrence Estuary, Eastern Canada. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 121-122, 20-32
- Gribble, K.E., Keafer, B.A., Quilliam, M.A., Cembella, A.D., Kulis, D.M., Manahan, A., Anderson, D.M., 2005. Distribution and toxicity of *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) in the Gulf of Maine, USA. *Deep-Sea Res Pt II*. 52:2745–2763
- Gulati, R.D., van Donk, E., 2002. Lakes in the Netherlands, their origin, eutrophication and restoration: state-of-the-art review. *Hydrobiologia* 478: 73–106
- Hakanen, P., Suikkanen, S., Franzén J., Franzén, H., Kankaanpää, H., Kremp, A., 2012. Bloom and toxin dynamics of *Alexandrium ostenfeldii* in a shallow embayment at the SW coast of Finland, northern Baltic Sea. *Harmful Algae* 15, 91-99
- Hallegraeff, G.M., Anderson, D.M., Cembella, A.D., 2003. Manual on harmful marine microalgae. *Monographs on oceanographic methodology* 11, 793 pp.
- Huisman J., Matthijs, H.C.P., Burson, A., Talens, R., de Bruijne, W., Hoogenboom, R., 2012. Rapportage H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> proef in het kanaal.
- Jacobson, D.M., Anderson, D.M., 1996. Widespread phagocytosis of ciliates and other protists by marine mixotrophic and heterotrophic thecate dinoflagellates. *Journal of Phycology* 32: 279–285
- Jensen, M.O., Moestrup, Ø., 1997. Autoecology of the toxic dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii*: life history and growth at different temperatures and salinities. *European Journal of Phycology* 32; 9-18
- Katzenelson, E., et al. 1974. "Inactivation Kinetics of Viruses and Bacteria in Water by Use of Ozone." *J. AWWA*. 66:725-729.
- Kremp, A., Lindholm, T., Dreler, N., Erler, K., Gerdts, G., Eirtovaara, S., Leskinen, E., 2009. Bloom forming *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) in shallow waters of the Finland Archipelago, Northern Baltic Sea. *Harmful Algae* 8: 318–328
- Laanaia, N., Vaquer, A., Fiandrino, A., Genovesi, B., Pastoureaud, A., Cecchi, P., Collos, Y., 2013. Wind and temperature controls on *Alexandrium* blooms (2000-2007) in Thau Lagoon (Western Mediterranean). *Harmful Algae* 28, 31-36
- Levasseur, M., Bérard-Therriault, L., Bonneau, E., Roy, S., 1998. Distribution of the toxic dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii* in the Gulf of St. Lawrence, Canada. In: *Harmful Algae*. Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. Pp. 54-57
- Loureiro, S., Garcés, E., Collos, Y., Vaqué, D., Camp, J., 2009. Effect of marine autotrophic dissolved organic matter (DOM) on *Alexandrium catenella* in semi-continuous cultures. *J Plankton Research* 31: 1363–1372.
- Martins CA, D Kulis, S Franca, DM Anderson, 2004. The loss of PSP toxin production in a formerly toxic *Alexandrium lusitanicum* clone. *Toxicon* 43: 195–205
- Maclean, C., Cembella, A., Quilliam, M.A., 2003. Effects of light, salinity and inorganic nitrogen on cell growth and spiroside production in the marine dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii* (Paulsen) Balech et Tangen. *Botanica Marina* 46, 466-476
- Matthijs, H.C.P., Visser, P.M., Reeze, B., Meeuse, J., Slot, P.C., Wijn, G., Talens, R., Huisman, J., 2012. Selective suppression of harmful cyanobacteria in an entire lake with hydrogen peroxide. *Water Research* 46: 1460-1472

- Matsuda, A., Nishijima, T., Fukami, K., 1999. Effects of nitrogenous and phosphorus nutrients on the growth of toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*. Nippon Suisan Gakkaishi 65: 847–855
- Medhioub, W., Lassus, P., Truquet, P., Bardouil, M., Amzil, Z., Sechet, V., Sibat, M., Soudant, P., 2012. Spirolide uptake and detoxification by *Crassostrea gigas* exposed to the toxic dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii*. Aquaculture 358-359: 108-115
- Montani S, Meksumpun S, Ichimi K (1995) Chemical and physical treatments for destruction of phytoflagellate cysts. J Mar Biotechnol 2:179-
- Nielsen, M.V., Strømgren, T., 2009. Shell growth response of mussels (*Mytilus edulis*) exposed to toxic microalgae. Marine Biology 108: 263-267
- Penna, A., Garcés, E., Vila, M., Giacobbe, M.G., Fraga, S., Lugliè, A., Bravo, I., Bertozzini, E., Vernesi, C., 2005. *Alexandrium catenella* (Dinophyceae), a toxic ribotype expanding in the NW Mediterranean Sea. Marine Biology 148: 13-23
- Poelman, M. 2001. Eisen, richtlijnen en zuiveringsmaatregelen van proceswater en tarra dat in aanraking is geweest met schelpdieren. RIVO Rapport C001.01
- Poelman, M., Wijsman, J.W.M., 2012. Advisering schelpdieren Ouwkerkse Kreek. IMARES Memo: 12.IMA0596
- Rosenthal H., 1981. Ozonation and sterilization. In: Tiews, K., ed. Aquaculture in heated effluents and recirculation systems, Vol. 1. Berlin: Satz und Druck; H. Heenemann GmbH: 219-274
- Spotte, S.; Buck, J. D., 1981. The efficacy of UV irradiation in the microbial disinfection of marine mammal water. Journal of Wildlife Diseases 17: 11-16
- Therriault, J.C., Painchaud, J., Levasseur, M., 1985. Factors controlling the occurrence of *Protogonyaulax tamarensis* and shellfish toxicity in the St. Lawrence Estuary: freshwater runoff and the stability of the water column. In: Anderson, D.M.; White, A.W.; Baden, D.G., editors. Toxic Dinoflagellates. Elsevier Science; New York. p. 141-146.
- Touzet, N., Franco, J.M., Raine, R., 2008. Morphogenetic diversity and biotoxin composition of *Alexandrium* (Dinophyceae) in Irish coastal waters. Harmful Algae 7: 782–797
- Touzet, N., Lacaze, J.P., Maher, M., Turrell, E., Raine, R., 2011. Summer dynamics of *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) and spirolide toxins in Cork Harbour, Ireland. Marine Ecology Progress Series 425; 21-33
- Van Maanen, G., 2013. Een duik in een soepje van algen. Bionieuws 6 juli 2013.
- <http://www.cytobuoy.com>
- <http://www.Kustlaboratorium.nl>
- <http://www.tpwd.state.tx.us/landwater/water/environconcerns/hab/ga/workshop/media/anderson.pdf>

## Verantwoording

Rapportnummer: C161/13

Projectnummer: 4303105701

Dit rapport is met grote zorgvuldigheid tot stand gekomen. De wetenschappelijke kwaliteit is intern getoetst door een collega-onderzoeker en het betreffende afdelingshoofd van IMARES.

Akkoord:                      Robbert Jak  
Senior onderzoeker

Handtekening:

Datum:                        21 oktober 2013

Akkoord:                      Birgit Dauwe  
Afdelingshoofd Delta

Handtekening:

Datum:                        21 oktober 2013

## Bijlage A. Literature quick scan

The genus *Alexandrium* is characterised by containing more toxic species than any other phytoplankton genus. From the 31 morphologically defined species, at least half are known to be toxic or have harmful effects (Anderson *et al.*, 2012). Although *Alexandrium spp.* are known for their capability to produce toxins responsible for paralytic shellfish poisoning (PSP), at least two species, *A. ostenfeldii* and *A. peruvianum* are now known to also produce spirolide toxins (marine fast-acting toxins) (Cembella *et al.*, 2000; Selwood *et al.*, 2007; Cembella and Krock, 2007; Touzet *et al.*, 2008).

*A. ostenfeldii* is widely distributed in temperate waters around the world: it has been recorded in Denmark (Moestrup and Hansen, 1988); Norway (Balech and Tangen, 1985); Scotland (John *et al.*, 1993); Ireland (Touzet *et al.*, 2011); Spain (Fraga and Sanchez, 1985; Balech, 1995); New Zealand (Mackenzie *et al.*, 1996); Atlantic Canada (Levasseur *et al.*, 1998; Cembella *et al.*, 2000).

*A. ostenfeldii* blooms are usually characterised by low cell concentrations (100 to 1.000 cells L<sup>-1</sup>) which occur together with other toxigenic *Alexandrium* species (Balech and Tangen, 1985; Balech, 1995). Gribble *et al.* (2005) assessed the distribution and toxicity of *A. ostenfeldii* in the Gulf of Maine during two field surveys in 2001 and 2003. This species, which co-occurred with *A. fundyense*, generally registered higher concentrations (100-200 cells L<sup>-1</sup>) at surface waters where salinity fluctuated from 29 psu to values greater than 32 psu. The highest measured concentration were < 600 cells L<sup>-1</sup>. Touzet *et al.* (2011) studied the summer dynamics of *A. ostenfeldii* in Cork Harbour (Ireland) during three consecutive summers. The highest measured concentrations reached 211 cells L<sup>-1</sup>. During the same period, concentrations of *A. minutum* and *A. tamarensense* reached approximately 10<sup>4</sup> and 10<sup>3</sup> cells L<sup>-1</sup>, respectively.

*Alexandrium* blooms in coastal and estuarine systems are complex and not well understood, however, coupling between physics and biological "behaviour" of the species (such as swimming, vertical migration or physiological adaptation) can help understanding them (Anderson *et al.*, 2012). There are several areas where, due to their recurrence, *Alexandrium* bloom dynamics have been studied more intensively. Dense bioluminescent blooms have only been observed in some Baltic Sea coastal areas. Kremp *et al.* (2009), studied bloom forming *A. ostenfeldii* in shallow waters of the Northern Baltic sea. The area, characterised by low salinity (6-7 psu), can reach water temperatures above 24 °C during the summer months. Samples from a dense bloom occurred in August 2004, revealed high concentrations of *A. ostenfeldii* (1-2 × 10<sup>6</sup> cells L<sup>-1</sup>). Results from a study carried out six years later in the same area by Hakanen *et al.* (2012) revealed high concentrations (1.7-2.1 × 10<sup>5</sup> cells L<sup>-1</sup>) when water temperatures reached 20°C. In the Baltic Sea Hakanen *et al.* (2012) have data on temperature profiles during 5 months and *A. ostenfeldii* concentrations. The highest concentrations were measured after (approximately) a month of "high" water temperatures. Not really constant, the temperatures were first 25 degrees and dropped then to 20. Shortly after that the highest *Alexandrium* peak was measured. Therriault *et al.* (1985) suggested that blooms of *A. tamarensense* in the St. Lawrence estuary take place with high surface water temperatures (8-15 °C), maximum water column stability, low nutrients and low wind. Similarly, *A. catanella* blooms in Thau Lagoon on the Mediterranean coast of France occur after periods of calm weather and weak winds (< 4 m s<sup>-1</sup>), stable surface water temperatures (20 ± 2°C) (Laanaia *et al.*, 2013) and a period of oligotrophication (Collos *et al.*, 2009).

*A. fundyense* blooms in the Gulf of Maine are thought to be a result of high abundance of resting cysts or transport of toxic cells towards and along the coast by strong northeast winds or abundant fresh water runoff which provides macro- and micro-nutrients, a stratified water column, and an alongshore transport mechanism (Anderson *et al.*, 2010). *A. catanella* does not necessarily bloom following a rain event and can even bloom following three weeks of dry weather (Anderson *et al.*, 2010).

Further, *Alexandrium* species will respond to anthropogenic nutrient inputs. Blooms of *A. taylorii* in the West Bay of Vulcano (Sicily) have been linked to high amounts of nutrients following an increase of anthropogenic activity in the summer (Penna *et al.*, 2001; Giacobbe *et al.*, 2007).

Another important unknown in the coastal blooms concerns the possible stimulation of *Alexandrium* growth by the unique chemistry of freshwater plumes. More *Alexandrium* cells are typically found within rather than outside the low salinity plumes (e.g., Therriault et al., 1985; Franks and Anderson, 1992), but this could be a result of small-scale physics interacting with the cells migration behaviour, or a reflection of higher growth rates within the plume. Freshwater runoff from the heavily forested watershed of the Maine coast contains significant levels of dissolved and particulate organic matter as well as metals and other micronutrients. Some components of this mixture could be critical to the rapid growth of *Alexandrium* cells. Iron is a likely candidate for a stimulatory micronutrient, as Wells et al. (1991) showed that bioavailable iron was elevated in nearshore waters characteristic of the coastal current, and depleted offshore in the Gulf of Maine. The measured iron levels were within the range of those that stimulated or limited *A. tamarense* growth in laboratory cultures. Studies of *A. minutum* in a Mediterranean lagoon by Giacobbe et al. (1996) demonstrated that the spring appearance of the species coincided with enhanced rainfall and freshwater runoff, and with stabilization of the water column.

Fagerberg et al. (2009) reported that *A. minutum* could benefit from riverine high molecular weight (10–100 kDa) DON. Similarly, DON from marine diatom blooms significantly increased (by 34%) the growth rate of *A. catenella* in cultures (Loureiro et al., 2009) relative to growth on nitrate only. Ammonium was not responsible for the increased growth, implying that DON was used directly. Organic P compounds such as adenosine triphosphate or guanosine diphosphate can increase the growth rate of some *Alexandrium* species significantly (Matsuda et al., 1999). *A. ostenfeldii* is also known as a mixotroph with phagotrophic capabilities, based on examination of food vacuoles (Jacobson and Anderson, 1996).

From a long-term perspective, *A. catenella* blooms in Thau lagoon appear to follow a period of oligotrophication, characterized by a steady decline in soluble reactive phosphorus over 30 years (summer values range from about 1 – 10  $\mu\text{M}$  and winter values from 3  $\mu\text{M}$  to undetectable at present; Collos et al., 2009). This is consistent with observations in the Seto Inland Sea of Japan where blooms of *Alexandrium* species increased following reduction in nutrient inputs (e.g., Imai et al., 2006). Given the opportunistic behavior of *Alexandrium* species with respect to limiting nutrient acquisition, their blooms may be independent of eutrophic processes as defined from “classical” dissolved inorganic concentrations only.

Loss factors include grazing. Macrozooplankton grazing is generally thought to be much less important than microzooplankton grazing in regulating populations of *A. minutum* (Calbet et al., 2003). Other loss terms likely included cell lysis, microbial infection by viruses or bacteria, parasite attack, and encystment (Garcés et al., 2005).

It is thought that the germination of resting cysts provides the seeding source of *Alexandrium* blooms. Cysts are usually formed as a reaction to environmental stress conditions, such as turbulence; presence of parasites; or passage through the guts of grazers, but when environmental conditions (temperature; oxygen level; irradiance and hydrodynamics) are similar to those favourable to vegetative growth they can revert to the vegetative motile stage (Kirn et al., 2005; Genovesi et al., 2009,2013; Anderson et al., 2012). Cysts banks have been reported in enclosed areas where dense blooms occurred. High abundance of deposited cysts observed in the fall of 2004 may have contributed to the large-scale bloom of *A. fundyense* in the Gulf of Maine in 2005 (Anderson et al., 2005). Large concentrations of *Alexandrium* cysts are found in the sediments of Funka Bay in Japan, area with recurrent PSP outbreaks (Shimada and Miyazono, 2005; Miyazono et al., 2012). Blooms of *A. ostenfeldii* in the Northern Baltic Sea are likely to be related to high concentrations of resting cysts in the sediment (Hakanen et al., 2012).

However, high concentrations of cysts in the sediment will not necessarily result into a bloom. Researchers had forecasted a major bloom of *A. fundyense* in the western Gulf of Maine for 2010 based on the expected hydrodynamics and meteorological conditions. Despite the presence of a large cyst population, no major regional bloom of *A. fundyense* happened in the western Gulf of Maine in 2010 (McGillicuddy et al., 2011). Examination of dinoflagellate cysts within the seafloor sediments around the New Zealand coast revealed high concentrations of *A. ostenfeldii* cysts (up to  $9.0 \times 10^3$  cysts  $\text{m}^{-1}$ ), however, the motile form was rarely observed within the plankton (Mackenzie et al., 1996).



The duration of *Alexandrium* blooms that have been followed in bays and salt ponds is generally two to three months or less (Anderson et al., 2012). The importance of encystment in relation to grazing and other factors requires more investigation (Anderson et al., 2012). Several studies proposed different causes for encystment. Garcés et al., (2004) linked the appearance of cyst in the sediment with minimum concentrations of inorganic N and P and the exponential growth phase of an *A. minutum* bloom in Arenys de Mar harbour, in accordance to the findings of Anderson et al. (1984) and Doucette et al. (1989) for *A. tamarensis*. Maximum cysts concentrations were found in the east of the St Lawrence estuary after an *A. tamarensis* bloom after encountering adverse winds and increased turbulence (Gracia et al., 2013).

Several studies have aimed to provide information, on the ecology and life story of *A. ostenfeldii* based on culture experiments. Jensen and Moestrup (1997) tested the growth of this species at different temperatures (9.1 to 26.5°C) and salinities (7 to 40 psu). Growth took place at temperatures between 11.3 and 23.7°C reaching the highest cell concentrations at 20°C. Growth occurred at salinities between 10 and 40 psu with highest division rates at 20 psu. However, there was no growth at 7 psu. Maclean et al. (2003), studied the effects of light, salinity and inorganic nitrogen on cell growth and spirulide production of *A. ostenfeldii*. Maximum cell concentrations were measured at the irradiance level of 100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , at the higher tested salinities (25 to 33 psu) and at the highest nitrate added (880  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ). Further, results of this study showed no growth at 15 psu. Watras et al. (1982) conducted laboratory growth studies and used the results to parameterize a simple model, indicating that for Cape Cod salt ponds, the development of *Alexandrium* populations depends solely on salinity-dependent temperature regulation of cell division rates.

## References

- Anderson, D.M., Kulis, D.M., Binder, B.J., 1984. Sexuality and cyst formation in the dinoflagellate *Gonyaulax tamarensis*, cyst yield in batch cultures. *Journal of Phycology* 20: 418–425.
- Anderson, D.M., 1998. Physiology and bloom dynamics of toxic *Alexandrium* species, with emphasis on life cycle transitions. In: Anderson, DM.; Cembella, AD.; Hallegraeff, GM., editors. *The Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. Springer-Verlag; Heidelberg. p. 29-48.
- Anderson DM, Stock CA, Keafer BA, Bronzino Nelson A, Thompson B, McGillicuddy DJ, Keller M, Matrai PA, Martin J. *Alexandrium fundyense* cyst dynamics in the Gulf of Maine. *Deep-Sea Res Pt II*. 2005 52: 2522–2542
- Anderson, D.M., McGillicuddy, Jr., D.J., Keafer, B.A., He, R., Townsend, D.W., 2010. Population dynamics of *Alexandrium fundyense* in the Gulf of Maine: outlook for improved management and forecasting. ICHA14 Conference Proceedings Crete 2010
- Anderson, D. M., Alpermann, T. J., Cembella, A. D., Collos, Y., Masseret, E., Montresor, M., 2012. The globally distributed genus *Alexandrium*: multifaceted roles in marine ecosystems and impacts on human health. *Harmful algae* 14; 10-35
- Balech, E., Tangen, K., 1985. Morphology and taxonomy of toxic species in the *tamarensis* group (Dinophyceae): *Alexandrium excavatum* (Braarud) comb. nov and *Alexandrium ostenfeldii* (Paulsen) comb nov. *Sarsia*. 70: 333–343.
- Balech, E., 1995. The genus *Alexandrium* Halim (Dinoflagellata). Sherkin Island Marine Station, Sherkin Island, Co; Cork, Ireland.
- Calbet, A., Vaqué, D., Felipe, J., Vila, M., Sala, M.M., Alcaraz, M., Estrada, M., 2003. Relative grazing impact of microzooplankton and mesozooplankton on a bloom of the toxic dinoflagellate *Alexandrium minutum*. *Marine Ecology Progress Series* 259: 303–309.
- Cembella, A.D., Lewis, N.I., Quilliam, M.A., 2000. The marine dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) as the causative organism of spirulide shellfish toxins. *Phycologia* 39: 67–74.

- Cembella, A.; Krock, B., 2007. Cyclic imine toxins: chemistry, biogeography, biosynthesis and pharmacology. In: Botana, LM., editor. *Seafood and Freshwater Toxins: Pharmacology, Physiology, and Detection*. CRC Press; Boca Raton, Florida. p. 561-580.
- Collos, Y., Bec, B., Jauzein, C., Abadie, E., Laugier, T., Lautier, J., Pastoureaud, A., Souchu, P., Vaquer, A., 2009. Oligotrophication and emergence of picocyanobacteria and a toxic dinoflagellate in Thau lagoon, southern France. *Journal of Sea Research* 61: 68–75
- Doucette, G.J., Cembella, A.D., Boyer, G.L., 1989. Cyst formation in the red tide dinoflagellate *Alexandrium tamarensis* (Dinophyceae): effects of iron stress. *Journal of Phycology* 25: 721–731
- Fagerberg, T., Carlsson, P., Lundgren, M., 2009. A large molecular size fraction of riverine high molecular weight dissolved organic matter (HMW DOM) stimulates growth of the harmful dinoflagellate *Alexandrium minutum*. *Harmful Algae* 8: 823–831.
- Fraga, S., Sánchez, F., 1985. Toxic and potentially toxic dinoflagellates found in Galacian Rias (NW Spain). In: Anderson, D.M., White, A., Baden, D. (Eds.), *Toxic Dinoflagellates*. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York, pp. 51–54
- Franks, P.J.S., Anderson, D.M., 1992. Alongshore transport of a toxic phytoplankton bloom in a buoyancy current: *Alexandrium tamarensis* in the Gulf of Maine. *Marine Biology* 112: 153–164.
- Garcés, E., Bravo, I., Vila, M., Figueroa, R. I., Masó, M., Sampedro, N., 2004. Relationship between vegetative cells and cyst production during *Alexandrium minutum* bloom in Arenys de Mar Harbour (NW Mediterranean). *Journal of Plankton Research* 26, 637-645
- Garcés, E., Vila, M., Maso, M., Sampedro, R., Giacobbe, M.G., Penna, A., 2005. Taxon-specific analysis of growth and mortality rates of harmful dinoflagellates during bloom conditions. *Marine Ecology Progress Series* 301: 67–79
- Genovesi, B., Laabir, M., Masseret, E., Collos, Y., Vaquer, A., Grzebyk, D., 2009. Dormancy and germination features in resting cysts of *Alexandrium tamarensis* species complex (Dinophyceae) can facilitate bloom formation in a shallow lagoon (Thau, southern France). *J Plankton Research* 31: 1209–1224
- Genovesi, B., Mouillot, D., Laugier, T., Fiandrino, A., Laabir, M., Vaquer, A., Grzebyk, D., 2013. Influences of sedimentation and hydrodynamics on the spatial distribution of *Alexandrium catenella/tamarensis* resting cysts in a shellfish farming lagoon impacted by toxic blooms. *Harmful Algae* 25: 15-25
- Giacobbe, M. G., Penna, A., Gangemi, E., Maso, M., Garcés, E., Fraga, S., Bravo, I., Azzaro, F., Penna, N., 2007. Recurrent high-biomass blooms of *Alexandrium taylorii* (Dinophyceae), a HAB species expanding in the Mediterranean. *Hydrobiologia* 580, 125-133
- Gracia, S., Roy, S., Starr, M., 2013. Spatial distribution and viability of *Alexandrium tamarensis* resting cysts in surface sediments from the St. Lawrence Estuary, Eastern Canada. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 121-122, 20-32
- Gribble KE, Keafer BA, Quilliam MA, Cembella AD, Kulis DM, Manahan A, Anderson DM. Distribution and toxicity of *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) in the Gulf of Maine, USA. *Deep-Sea Res Pt II*. 2005; 52:2745–2763
- Hakanen, P., Suikkanen, S., Franzén J., Franzén, H., Kankaanpää, H., Kremp, A., 2012. Bloom and toxin dynamics of *Alexandrium ostenfeldii* in a shallow embayment at the SW coast of Finland, northern Baltic Sea. *Harmful Algae* 15, 91-99
- Hallegraeff, G.M., Anderson, D.M., Cembella, A.D., 2003. Manual on harmful marine microalgae. *Monographs on oceanographic methodology* 11, 793 pp.
- Imai, I., Yamaguchi, M., Hori, Y., 2006. Eutrophication and occurrences of harmful algal blooms in the Seto Inland Sea, Japan. *Plankton of Benthos Research* 1: 71–84
- Jacobson, D.M., Anderson, D.M., 1996. Widespread phagocytosis of ciliates and other protists by marine mixotrophic and heterotrophic thecate dinoflagellates. *Journal of Phycology* 32: 279–285

Jensen, M.O., Moestrup, Ø., 1997. Autoecology of the toxic dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii*: life history and growth at different temperatures and salinities. *European Journal of Phycology* 32: 9-18

John, U., Fensome, R.A., Medlin, L.K., 2003. The Application of a Molecular Clock Based on Molecular Sequences and the Fossil Record to Explain Biogeographic Distributions Within the *Alexandrium tamarense* "Species Complex" (Dinophyceae). *Molecular Biology and Evolution* 20(7):1015–1027

Kirn S.L., Townsend D.W., Pettigrew N.R., 2005. Suspended *Alexandrium* spp. Hypnozygote cysts in the Gulf of Maine. *Deep-Sea Res II* 52: 2543-2559

Kremp, A., Lindholm, T., Dreler, N., Erler, K., Gerdt, G., Eirtovaara, S., Leskinen, E., 2009. Bloom forming *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) in shallow waters of the Finland Archipelago, Northern Baltic Sea. *Harmful Algae* 8: 318–328

Laanaia, N., Vaquer, A., Fiandrino, A., Genovesi, B., Pastoureaud, A., Cecchi, P., Collos, Y., 2013. Wind and temperature controls on *Alexandrium* blooms (2000-2007) in Thau Lagoon (Western Mediterranean). *Harmful Algae* 28, 31-36

Loureiro, S., Garcés, E., Collos, Y., Vaqué, D., Camp, J., 2009. Effect of marine autotrophic dissolved organicmatter (DOM) on *Alexandrium catenella* in semi-continuous cultures. *J Plankton Research* 31: 1363–1372.

McGillicuddy, D.J. Jr., Townsend, D.W., He, R., Keafer, B.A., Kleindinst, J.L., Li, Y., Manning, J., Mountain, D., Thomas, A., Anderson, D.M., 2011. Suppression of the 2010 *Alexandrium fundyense* bloom by changes in physical, biological, and chemical properties of the Gulf of Maine. *Limnology and Oceanography* 56: 2411-2426

MacKenzie, L., White, D., Oshima, Y., Kapa, J., 1996. The resting cyst and toxicity of *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) in New Zealand. *Phycologia* 35: 148–155

Maclean, C., Cembella, A., Quilliam, M.A., 2003. Effects of light, salinity and inorganic nitrogen on cell growth and spirolide production in the marine dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii* (Paulsen) Balech et Tangen. *Botanica Marina* 46, 466-476

Matsuda, A., Nishijima, T., Fukami, K., 1999. Effects of nitrogenous and phosphorus nutrients on the growth of toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 65: 847–855

Miyazono, A., Nagai, S., Kudo, I., Tanizawa, K., 2012. Viability of *Alexandrium tamarense* cysts in the sediment of Funka Bay, Hokkaido, Japan: Over a hundred year survival time for cysts. *Harmful Algae* 16: 81-88

Moestrup, Ø., Hansen, P.J., 1988. On the occurrence of the potentially toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* (= *Gonyaulax excavata*) and *A. ostenfeldii* in Danish and Faroese waters. *Ophelia* 28, 195-213.

Penna, A., Garcés, E., Vila, M., Giacobbe, M.G., Fraga, S., Lugliè, A., Bravo, I., Bertozzini, E., Vernesi, C., 2005. *Alexandrium catenella* (Dinophyceae), a toxic ribotype expanding in the NW Mediterranean Sea. *Marine Biology* 148: 13-23

systems, Vol. 1. Berlin: Satz und Druck; H. Heenemann GmbH: 219-274

Selwood, A.I., Holland, P.T., Wood, S.A., Smith, K.F. and McNabb, P.S. (2007). Production of anatoxin-a and a novel biosynthetic precursor by the cyanobacterium *Aphanizomenon issatschenkoi*. *Environmental Science Technology* 41: 506–10

Shimada H, Miyazono A (2005) Horizontal distribution of toxic *Alexandrium* spp. (Dinophyceae) resting cysts around Hokkaido, Japan. *Plankton Biol Ecol* 52: 76–84.

Therriault, J.C., Painchaud, J., Levasseur, M., 1985. Factors controlling the occurrence of *Protogonyaulax tamarensis* and shellfish toxicity in the St. Lawrence Estuary: freshwater runoff and the stability of the water column. In: Anderson, D.M.; White, A.W.; Baden, D.G., editors. Toxic Dinoflagellates. Elsevier Science; New York. p. 141-146.

Touzet, N., Franco, J.M., Raine, R., 2008. Morphogenetic diversity and biotoxin composition of *Alexandrium* (Dinophyceae) in Irish coastal waters. Harmful Algae 7: 782–797

Touzet, N., Lacaze, J.P., Maher, M., Turrell, E., Raine, R., 2011. Summer dynamics of *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) and spirolide toxins in Cork Harbour, Ireland. Marine Ecology Progress Series 425: 21-33

Watras, C.J., Chisholm, S.W., Anderson, D.M., 1982. Regulation of growth in an estuarine clone of *Gonyaulax tamarensis*: Salinity-dependent temperature responses. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 62: 25–37

Wells, M.L., Mayer, L.M., Guillard, R.R.L., 1991. Evaluation of iron as a triggering factor for red tide blooms. Marine Ecology Progress Series 69: 93–102

## Bijlage B. Toxische algensoorten in Zeeuwse binnenwateren

*Toxines, effecten en referenties van toxische algensoorten.*

species	Toxins/Effect	Toxic sp.	Reference
<i>Achnanthes delicatula</i>	clogging of feeding appendages		Smayda (1997)
<i>Alexandrium tamarense</i>	PSP toxins		<a href="http://species-identification.org/species.php?species_group=dinoflagellates&amp;menuentry=soorten&amp;id=41&amp;tab=beschrijving">http://species-identification.org/species.php?species_group=dinoflagellates&amp;menuentry=soorten&amp;id=41&amp;tab=beschrijving</a>
<i>Amphidinium</i>	Haemolysins/Fish toxicity	A. carterae/A.gibbosum/A.klebsii	<a href="http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxlist">http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxlist</a>
<i>Anabaena</i>	Neurotoxins		<a href="https://srac.tamu.edu/index.cfm/event/getFactSheet/whichfactsheet/207/">https://srac.tamu.edu/index.cfm/event/getFactSheet/whichfactsheet/207/</a>
<i>Chrysochromulina</i>	Ichthyotoxins (Fish kills)	C. leadbeateri/C. polylepsis	<a href="http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxlist">http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxlist</a>
<i>Cochlodinium</i>	Fish kills	C. polykrioides	<a href="http://species-identification.org/species.php?species_group=dinoflagellates&amp;menuentry=soorten&amp;id=46&amp;tab=beschrijving">http://species-identification.org/species.php?species_group=dinoflagellates&amp;menuentry=soorten&amp;id=46&amp;tab=beschrijving</a>
<i>Dinophyceae</i>	DSP toxins		<a href="http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxlist">http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxlist</a>
<i>Euglena</i>	Ichthyotoxins	E. sanguinea/E. granulata	<a href="http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2761.2003.00512.x/pdf">http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2761.2003.00512.x/pdf</a>
<i>Gymnodiniales</i>	Fish and invertebrates mortalities		<a href="http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxlist">http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxlist</a>
<i>Gymnodinium</i>			<a href="http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxlist">http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxlist</a>
<i>Gymnodinium catenatum</i>	PSP toxins		<a href="http://species-identification.org/species.php?species_group=dinoflagellates&amp;id=62">http://species-identification.org/species.php?species_group=dinoflagellates&amp;id=62</a>
<i>Heterocapsa</i>	Hemolytic toxins (Mass mortality of shellfish) Fish kills by oversaturation of the water	H.circularisquama	<a href="http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxdetails&amp;id=233610">http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxdetails&amp;id=233610</a>
<i>Heterocapsa rotundata</i>	dense blooms/non toxic		<a href="http://dinoflagellate.lifedesks.org/pages/21470">http://dinoflagellate.lifedesks.org/pages/21470</a>
<i>Heterocapsa triquetra</i>	dense blooms/non toxic		<a href="http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxdetails&amp;id=110153">http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxdetails&amp;id=110153</a>
<i>Lyngbya</i>	aplysiatoxins, lyngbyatoxin-a, saxitoxins	L. majuscula/L. wollei	<a href="http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality/toxycyanchap3.pdf">http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality/toxycyanchap3.pdf</a>
<i>Microcystis</i>	neurotoxins/hepatotoxins		<a href="https://srac.tamu.edu/index.cfm/event/getFactSheet/whichfactsheet/207/">https://srac.tamu.edu/index.cfm/event/getFactSheet/whichfactsheet/207/</a>
<i>Microcystis viridis</i>	ASP toxins	N. navis-varingica	<a href="http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxdetails&amp;id=246595">http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxdetails&amp;id=246595</a>
<i>Nitzschia</i>	neurotoxins		<a href="https://srac.tamu.edu/index.cfm/event/getFactSheet/whichfactsheet/207/">https://srac.tamu.edu/index.cfm/event/getFactSheet/whichfactsheet/207/</a>
<i>Oscillatoria sp</i>	neurotoxins/hepatotoxins		<a href="http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality/toxycyanchap3.pdf">http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality/toxycyanchap3.pdf</a>
<i>Phaeocystis</i>	hepatotoxins		<a href="https://srac.tamu.edu/index.cfm/event/getFactSheet/whichfactsheet/207/">https://srac.tamu.edu/index.cfm/event/getFactSheet/whichfactsheet/207/</a>
<i>Planktothrix agardhii</i>	cause extensive blooms/toxicity not confirmed		<a href="http://species-identification.org/species.php?species_group=dinoflagellates&amp;menuentry=soorten&amp;id=92&amp;tab=beschrijving">http://species-identification.org/species.php?species_group=dinoflagellates&amp;menuentry=soorten&amp;id=92&amp;tab=beschrijving</a>
<i>Prorocentrum micans</i>	hepatotoxins		<a href="http://species-identification.org/species.php?species_group=dinoflagellates&amp;menuentry=soorten&amp;id=93&amp;tab=beschrijving">http://species-identification.org/species.php?species_group=dinoflagellates&amp;menuentry=soorten&amp;id=93&amp;tab=beschrijving</a>
<i>Prorocentrum minimum</i>	bloom forming/non toxic		<a href="http://species-identification.org/species.php?species_group=dinoflagellates&amp;menuentry=soorten&amp;id=100&amp;tab=beschrijving">http://species-identification.org/species.php?species_group=dinoflagellates&amp;menuentry=soorten&amp;id=100&amp;tab=beschrijving</a>
<i>Prorocentrum triestinum</i>	non toxic		<a href="http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxdetails&amp;id=110316">http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxdetails&amp;id=110316</a>
<i>Prymnesium</i>	ichthyotoxins, cytotoxins and haemolysin		<a href="http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxdetails&amp;id=160564">http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxdetails&amp;id=160564</a>
<i>Prymnesium parvum</i>	microcystin???		<a href="http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxlist">http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxlist</a>
<i>Pseudanabaena</i>	ASP toxins		<a href="http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxlist">http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxlist</a>
<i>Pseudo-nitzschia</i>	ASP toxins		<a href="http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxdetails&amp;id=149153">http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxdetails&amp;id=149153</a>
<i>Pseudo-nitzschia delicatissima</i>	ASP toxins		<a href="http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxdetails&amp;id=149152">http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxdetails&amp;id=149152</a>
<i>Pseudo-nitzschia seriata</i>	ASP toxins		<a href="http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxlist">http://www.marinespecies.org/hab/aphia.php?p=taxlist</a>