

0-84135

Giftproduserende blågrønnalger i Vestfold

Resultater av undersøkelser i 1984



Microcystis aeruginosa



NIVA - RAPPORT

Norsk institutt for vannforskning  NIVA
Norges Teknisk-Naturvitenskapelige Forskningsråd

Hovedkontor
Postadresse:
Postboks 333
0314 Oslo 3
Brekkeveien 19
Telefon (02)23 52 80

Sørlandsavdelingen
Postadresse:
Grooseveien 36
4890 Grimstad
Telefon (041)43 033

Østlandsavdelingen
Postadresse:
Rute 866, 2312 Ottestad
Postgiro: 4 07 73 68
Telefon (065)76 752

Rapportnummer: 0-84 135
Undernummer:
Løpenummer: 1716
Begrenset distribusjon:

Rapportens tittel: Giftproduserende blågrønnalger i Vestfold Resultater av undersøkelser i 1984	Dato: 18. april 1985
	Prosjektnummer: 0-84 135
Forfatter (e): Olav Skulberg <i>Bjarne Underdal,</i>	Faggruppe:
	Geografisk område: Vestfold
	Antall sider (inkl. bilag): 21

Oppdragsgiver: Fylkesmannen i Vestfold, Miljøvern avdelingen. Vestfold interkommunale vannverk.	Oppdragsg. ref. (evt. NTFN-nr.):
---	----------------------------------

Ekstrakt: Det blir gitt en generell fremstilling av fenomenet giftproduserende blågrønnalger (arter, toksiner, giftvirkninger og forgiftningsfare). En masseforekomst av MICROCYSTIS AERUGINOSA i Akersvatnet - reservevannkilde for Vestfold interkommunale vannverk - var sterkt toksinholdig. Hepatotoksinet microcystin, et syklisk heptapeptid, ble påvist. En liknende masseutvikling av MICROCYSTIS AERUGINOSA i Borrevatnet - også reservevannkilde for Vestfold interkommunale vannverk - var ikke av toksisk type.

4 emneord, norske:
1. Giftproduserende blågrønnalger
2. Microcystis aeruginosa
3. Eutrofe innsjøer
4. Vestfold, Norge

4 emneord, engelske:
1. Toxic blue-green algae
2. Microcystis aeruginosa
3. Eutrophic lakes
4. Vestfold, Norway

Prosjektleder:

Olav Skulberg

Divisjonssjef:

R. W. A.

For administrasjonen:

K. O. O.
Kan O. O.

ISBN 82-577-0904-2

NORSK INSTITUTT FOR VANNFORSKNING
OSLO

0-84135

GIFTPRODUSERENDE BLÅGRØNNALGER I VESTFOLD

Resultater av undersøkelser i 1984

Oslo, 18. april 1985

Olav Skulberg, Norsk institutt for
vannforskning
Bjarne Underdal, Institutt for nærings-
middelhygiene, Norges
veterinærhøgskole

F O R O R D

I samarbeid med Institutt for næringsmiddelhygiene - Norges veterinærhøgskole ble det i 1984 foretatt undersøkelser av blågrønnalgeoppblomstringer i Vestfold. Hensikten med arbeidet var å belyse problemstillinger knyttet til blågrønnalgenes påvirkning av vannkvalitet, spesielt muligheter for ulike typer giftvirkninger.

Oppblomstringen med en toksinproduserende blågrønnalge i Akersvatnet etter sommeren 1984, medførte at dette forhold fikk hovedoppmerksomhet i undersøkelsen.

Oppgaven ble gjennomført i samarbeid med FYLKESMANNEN I VESTFOLD - MILJØVERNADDELINGEN og VESTFOLD INTERKOMMUNALE VANNVERK. Helserådstjenesten i Vestfold har vært til god hjelp.

Oslo, 18. april 1985

*Bjarne Underdal
Norges veterinærhøgskole*

*Olav Skulberg
Norsk institutt for vannforskning*

I N N H O L D S F O R T E G N E L S E

	Side:
FORORD	2
SAMMENFATNING	5
1. GENERELLE OPPLYSNINGER OM GIFTPRODUSERENDE BLÅGRØNNALGER ..	6
1.1 Organismene	6
1.2 Giftstoffer og giftvirkninger	7
1.3 Vurdering av forgiftningsfare	9
2. FOREKOMST AV GIFTPRODUSERENDE BLÅGRØNNALGER I VESTFOLD I 1984	11
2.1 Bakgrunn	11
2.2 Materiale og metoder	11
- Prøvetaking	11
- Laboratoriemetoder	12
* Algeprøve	12
* Vannprøve	12
2.3 Resultater og drøftelser	13
- Blågrønnalger	13
- Hydrokjemiske forhold	15
- Påvisning av toksiner	16
* HPLC	16
* Akutte toksisitetstester	18
3. HENVISNINGER	20

TABELLOVERSIKT

Side:

Tabell 1.	Blågrønnalger som er påvist å kunne ha giftproduserende stammer	6
" 2.	Blågrønnalger med stor forekomst	13
" 3.	Akersvatnet 1984 - noen kjemiske analyseresultater .	16
" 4.	Resultater av toksisitetstesting av blågrønnalger ..	19

FIGUROVERSIKT

Side:

Figur 1.	Noen kjemiske strukturer av toksiner fra blågrønnalger	8
" 2.	<u>Microcystis aeruginosa</u>	15
" 3.	Ekstrakt av frysetørket <u>Microcystis aeruginosa</u> fra Akersvatnet, 22. august 1984, undersøkt med HPLC-analyse	17

SAMMENFATNING

- Som oppdrag for FYLKESMANNEN I VESTFOLD - MILJØVERNAVDELINGEN og VESTFOLD INTERKOMMUNALE VANNVERK (VIV) ble det foretatt undersøkelser av forekomst av giftproduserende blågrønnalger i Akersvatnet og Borrevatnet.
- Det blir gitt en generell fremstilling av problemområdet giftproduserende blågrønnalger. Forskningsfeltet er nytt og under rask utvikling internasjonalt og her i landet.
- Påvisningen av at blågrønnalgen som utviklet masseforekomst i Akersvatnet (reservevannkilde for VIV) var sterkt toksinholdig, medførte at dette forhold fikk størst oppmerksomhet ved gjennomføring av undersøkelsen.
- Både i Akersvatnet og Borrevatnet var blågrønnalgen Microcystis aeruginosa den vannblomstdannende art ettersommeren og høsten 1984.
- Undersøkelser av toksininhold i biologisk materiale og vannprøver ble foretatt med akutte toksisitetstester med mus, og ved hjelp av høytrykksvæskerkromatografi (HPLC). Blågrønnalgetoksinet microcystin - et syklisk heptapeptid - ble påvist i materiale av vannblomst fra Akersvatnet. I vannfasen av prøvene fra Akersvatnet ble det ikke funnet - eller eventuelt bare som spor - innhold av toksin.
- Forekomsten av Microcystis aeruginosa i Borrevatnet var av ikke toksinproduserende type.
- Vannblomsten med Microcystis aeruginosa fra Akersvatnet er den mest giftige som hittil er påvist i Norge (toksininnhold 5 000 - 8 000 ME/g). Dette er - også vurdert på verdensbasis - et særlig høyt giftinnhold i blågrønnalger.
- Giftigheten av blågrønnalgene i Akersvatnet var vedvarende gjennom høstmånedene. Den var fortsatt tilstede da islegging fant sted høsten 1984.

1. GENERELLE OPPLYSNINGER OM GIFTPRODUSERENDE BLÅGRØNNALGER

1.1 Organismene

En stor algebiomasse vil i seg selv gi en betydelig direkte påvirkning av vannmassene. Den livsutfoldelse organismene utøver under en masseoppblomstring, vil dessuten resultere i en rekke med kjemiske innvirkninger på vannkvaliteten. Det dreier seg om stoffer som dannes ved algenes metabolisme. De omfatter både ekstracellulære og intracellulære produkter.

Av de omlag to tusen beskrevne arter av blågrønnalger er det bare et lite antall som er kjent for å kunne danne toksiner. En liste med representative arter med toksinproduserende stammer er stilt sammen i tabell 1. De omfatter to arter av kolonidannende former og sju arter av trådformede typer. Flere av disse artene er vanlige i Norge. De opptrer også med tildels store forekomster i innsjøer i Vestfold.

Fysiologiske undersøkelser av de nevnte arter i kultur viser at de kan opptre i ikke-toksiske og toksiske stammer. Dette forhold bl.a. forklarer sannsynligvis den sporadiske forekomst i tid og sted av forgiftninger som føres tilbake til blågrønnalger.

Tabell 1. Blågrønnalger som er påvist å kunne ha giftproduserende stammer.

CHROOCOCCALES

- Chroococcaceae
 - Microcystis aeruginosa Kütz.
 - Coelosphaerium kützingianum Näg.

HORMOGONALES

- Nostocaceae
 - Anabaena flos-aquae (Lyng.) Bréb.
 - Aphanizomenon flos-aquae Ralfs.
 - Nodularia spumigena Mertens
- Rivulariaceae
 - Gloeotrichia echinulata (J.E. Smith) Richt.
- Oscillatoriaceae
 - Oscillatoria agardhii Gom.
 - Lyngbya gracilis Rabenh.
 - Trichodesmium erythraeum Ehr.

1.2 Giftstoffer og giftvirkninger

Nyere forskningsresultater (Carmichael et al. 1985) har vist at det er mer enn tolv toksiner som dannes av de kjente arter av blågrønnalger med giftproduserende stammer. Av disse er det bare ett stoff som hittil er blitt kjemisk identifisert og toksikologisk undersøkt (Toerien et al. 1976). Det er imidlertid klarlagt at de kjemiske forbindelser det gjelder, hovedsakelig fordeler seg mellom stoffgruppene alkaloider (heterocykliske, nitrogenholdige baser med utpreget fysiologisk virkning på sentralnervesystemet, f.eks. anatoksin-a) og polypeptider (sammenkoblede aminosyrer til lange kjeder, f.eks. dekapolypeptidet microcystin). Noen eksempler på kjemiske strukturer av toksiner fra blågrønnalger er vist i figur 1 (Gorham et al. 1979).

Ut fra forgiftningssymptomer og dødstid er det mulig til en viss grad å bedømme hvilke stoffgrupper som er det virkende toksin i et aktuelt tilfelle. Kort dødstid for forsøksmus (2 - 10 minutter etter mottatt dødelig dose) indikerer at et nevrotoksisk stoff (alkaloid) er tilstede. Tilsvarende lang dødstid (1 - 3 timer etter mottatt dødelig dose) indikerer at et peptid-toksin er tilstede.

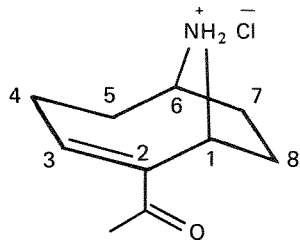
Blågrønnalgens giftvirkninger vil altså være forskjellige fra art til art. Noen sedvanlige forhold som er observert, kan nevnes.

Microcystis aeruginosa. Toksinet betegnes microcystin. Det har effekt på både lever og nervesystem hos pattedyr. Symptomene er at dyrene når de har mottatt toksinet, etter ca. 30 minutter blir bleke (øre og hale). Det utvikles lammelser og kramper, respirasjonsbesvær gjør seg gjeldende. Døden inntreffer etter ca. 1 time.

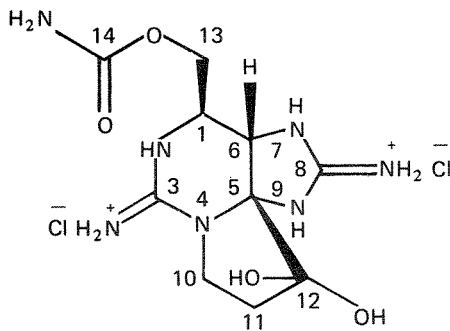
Anabaena flos-aquae. Toksinene betegnes anatoksin-a-c. De virker på nervesystem og lever. Symptomene setter inn etter 5 - 15 minutter, dyrene får kramper og kaster opp. De dør etter 5 - 120 minutter som følge av kvelning.

Fugler får med forgiftningen et karakteristisk bakoverbøyet hode. Fisk får muskelstivhet i løpet av 2 - 4 minutter. De dør i løpet av 15 minutter.

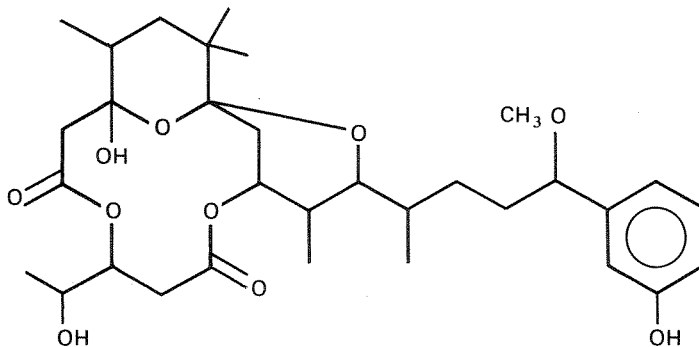
Aphanizomenon flos-aquae. Toksinet er sannsynligvis identisk med saxitoksin. Det er en kraftigvirkende nervegift for pattedyr og fisk. Forgiftningssymptomene er at dyrene får spastiske bevegelser, mister orienteringsevne, pusten blir uregelmessig og dyrene dør av kvelning. Latenstiden overstiger sjelden noen få minutter, og døden inntreffer etter ca. 20 minutter.



Anatoksin-a hydroklorid
Anabaena flos-aquae



Saxitoksindihydroklorid
Aphanizomenon flos-aquae



Dibromoaplysia-toksin
Lyngbya gracilis

Figur 1. Noen kjemiske strukturer av toksiner fra blågrønnalger.

1.3 Vurdering av forgiftningsfare

Det er flere forutsetninger som må være oppfylt for at en vannblomst med blågrønnalger skal medføre forgiftningsfare. Blant de viktigste kan følgende nevnes: Oppblomstringen må være med en toksinproduserende blågrønnalge i dominans. Det må finne sted en konsentrering av de toksiske algene i vannmassene (f.eks. med strøm, vindtransport med overflatevann). Toksinene må konsumeres før fortykning eller nedbryting gjør seg gjeldende.

Det er påvist at levende alger virker giftige. Når algene dør, passerer toksinene over til vannfasen. Mens algemassen dekomponeres, avtar gjerne giftigheten. Men forholdene er fremdeles lite studert.

En rekke økologiske forhold trenger vurdering i forbindelse med opp-treden av giftige blågrønnalger. Mange observasjoner tyder på at de aktuelle stoffer som blågrønnalgene danner, kan ha både auto- og heteroantagonistisk karakter. Det er f.eks. påvist at i innsjøer med vannblomst av bl.a. Microcystis, Oscillatoria, Anabaena og Aphanizomenon er en lang rekke andre alger hemmet i sin vekst. Videre har forsøk vist at Microcystis aeruginosa er giftig i forhold til andre blågrønnalger, og overfor forskjellige arter av zooplankton.

Miljøfaktorene i vannmassene er viktige for toksinstabiliteten. Et forhold ved toksinene til Microcystis, Anabaena og Aphanizomenon er at de muligens er alkalilabile. De brytes da ned i alkalisk oppløsning. Prosessen begunstiges ved at oksygen er til stede, og at temperaturen er over 20 °C. Slike betingelser kan f.eks. opptre under naturlige vannblomstsituasjoner, i den lyse del av døgnet når fotosyntesen medfører forbruk av karbondioksyd og frigjør oksygen.

Det er en rekke rapporter om fiskedød knyttet til vannblomst av blågrønnalger både under naturlige forhold og kulturbetingelser (fiskeoppdrett). Særlig Anabaena og Aphanizomenon har vært årsak til massedød av fisk. Men i flere sammenhenger er det uklarthet om det er direkte eller indirekte virkning av blågrønnalgene som har gitt utslag i fiskedød.

Særlig husdyr synes utsatt for forgiftningsfare ved vannblomst med blågrønnalger. De fleste registrerte tilfeller beskrevet i litteraturen angår sauer, kuer og fjørfe (Carmichael 1981).

Generelt vil algeoppblomstringer i drikkevannsforsyninger kunne karakteriseres som hygieniske ulemper og kunne gi praktiske problemer for den tekniske behandling av vannet. Noen direkte helsemessig risiko skulle sannsynligvis ikke være forbundet med å bruke slikt vann til drikkevann, selv om det kvalitetsmessig (smak, lukt, osv.) kan være uheldig påvirket (Skulberg 1972, SIFF 1980).

Annerledes stiller det seg hvis blågrønnalger med toksiske virkninger opptrer i stor forekomst i drikkevannskilder. Så vel mennesker som dyr kan da bli utsatt for forgifninger. Flere alkaloider, polypeptider og pteridiner er gifter som dannes av blågrønnalger. Nye toksiner er dessuten beskrevet (Gorham et al. 1979). Spørsmålet om den vanlige rensetekniske behandling av drikkevann er tilstrekkelig for å beskytte mot algetoksiner, blir besvart forskjellig. Flere rapporter viser at algetoksiner kan passere vannrensebehandling som omfatter koagulering, filtrering og klorering. Når vi da kjenner til at de aktuelle giftstoffene er farlige for mennesker og husdyr, og det er mange usikkerhetsmomenter med deres opptreden i vannforekomstene, bør dette mane til forsiktighet. Det er nødvendig i hvert enkelt tilfelle med grundige, systematiske undersøkelser av i hvilken utstrekning de forskjellige toksiner fra ulike stammer og populasjoner av blågrønnalger blir fjernet gjennom den rensetekniske behandling i vannverk (Haugan et al. 1982). Resultatene av slike undersøkelser bør danne grunnlag for praktiske og hygieniske vurderinger og tiltak.

2. FOREKOMST AV GIFTPRODUSERENDE BLÅGRØNNALGER I VESTFOLD I 1984

2.1 Bakgrunn

Planen for arbeidet i 1984 ble laget i drøftelse med Miljøvern-avdelingen - Fylkesmannen i Vestfold. Det var enighet om å konsentrere observasjonene om lokalitetene Hillestadvatnet, Borrevatnet og Akersvatnet. I brev fra Miljøvern-avdelingen, datert 20.12.1983, ble NIVA gitt i oppdrag å gjennomføre undersøkelsen.

Ettersommeren 1984 ble det påvist at blågrønnalgen som dannet vannblomst i Akersvatnet, var giftproduserende. I samråd med Vestfold interkommunale vannverk og Miljøvern-avdelingen hos Fylkesmannen ble det foretatt raske undersøkelser for å klarlegge tilstanden i innsjøen. Resultatene viste at blågrønnalgen Microcystis aeruginosa som hadde masseutvikling i Akersvatnet, var sterkt toksinholdig. Den alvorlige situasjon ble umiddelbart (7. september 1984) rapportert til Vestfold interkommunale vannverk og Miljøvern-avdelingen. Dette medførte at det i fellesskap ble gjort forholdsregler for å unngå forgiftningsfare med den aktuelle oppblomstring i Akersvatnet. Det videre utviklingsforløp i Akersvatnet ble fulgt med observasjoner i løpet av høsten 1984.

2.2 Materiale og metoder

Prøvetaking

Prøvetakingen omfattet innsamling av vann til kjemiske analyser og biologisk karakterisering av algesamfunnet i innsjøene. Utviklingen av vannblomst ble fulgt med observasjoner av forekomst av blågrønnalger. Fremtredende arter i planktonet ble identifisert, og enkelte blågrønnalger ble isolert og dyrket under laboratoriebetingelser for detaljerte studier. Til toksisitetstesting ble det innsamlet større porsjoner (5 l) med blågrønnalger direkte fra vannblomst på lokalitetene.

Metodene ved feltarbeidet var de rutinemessige som benyttes for vannundersøkelser ved NIVA. Til konservering av algeprøver ble brukt nøytralisert formalin. Ved innsamling av prøver til kvalitative algeanalyser ble planteplanktonhåv med porevidde 25 µm anvendt.

Laboratoriemetoder

Laboratoriedyrking av blågrønnalger foregikk etter tidligere beskrevet fremgangsmåte (Skulberg 1978).

De kjemiske analyser ble utført ved NIVAs analyselaboratorium i Oslo etter rutinemessige metoder.

Toksisitetstesting av blågrønnalgematerialet ble utført ved Institutt for næringsmiddelhygiene, Norges veterinærhøgskole i Oslo. Metoden er tidligere beskrevet (Skulberg 1979, Østensvik et al. 1981).

Kjemisk påvisning av toksin i blågrønnalger og vann ble utført med høytrykksvæskeskromatografi (HPLC). Fremgangsmåten skal omtales mer detaljert i det følgende.

Algeprøver. Materialet ble ekstrahert med 20 % metanol + 5 % n-butanol i vann. Ekstraktet ble rensert på Bond-Elut C₁₈ reversed phase kolonner, og behandlet i 1 000 x 25 mm kolonne fylt med Sephadex G 25 Superfine. Mobilfase var 5 % metanol (1 ml/min.), og eluatet ble samlet opp med fraksjonssamler. Fraksjonenes UV-absorpsjon ble målt ved 240 nm, og de fraksjonene som dannet den første store absorpsjonstoppen ble deretter slått sammen og kjørt på følgende HPLC-system:

Mobilfase:	26 % acetonitril i 10 mM ammoniumacetat
Kolonne:	4 x 150 mm Supelcosil LC-18
Pumpe:	Perkin Elmer Series 10
Detektor:	Perkin-Elmer Lamda 5 UV-VIS spektrofotometer utstyrt med 8 µl HPLC flowcelle
Bølgelengde:	240 nm
Flow:	1,5 ml/min.
Inj.vol.:	10 µl.

Vannprøver. Etter GF/C filtrering ble prøvene ekstrahert på to måter.

Først ble prøven (1 l) tilsatt 5 % n-butanol og deretter pumpet gjennom Bond-Elut C₁₈ kolonner. Absorbent toksin ble eluert med metanol. Vannprøven, som hadde passert gjennom Bond-Elut C₁₈ kolonner, ble inn-

dampet til tørrhet på Rotavapor. Tørrstoffet ble deretter ekstrahert på samme måte som for frysetørket algemateriale. De to ekstraktene ble opparbeidet som nevnt ovenfor for HPLC-undersøkelse.

2.3 Resultater og drøftelse

Blågrønnalger

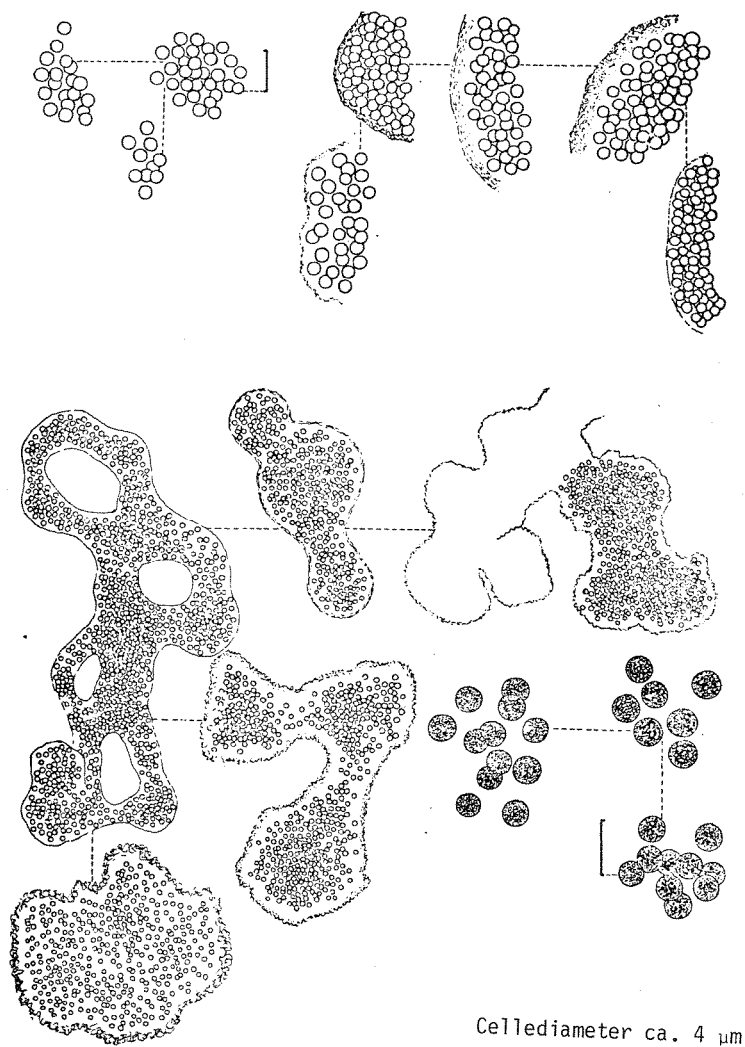
Den systematiske bearbeidelse av blågrønnalger er vanskelig av flere årsaker. Resultatene fra undersøkelsen av materiale innsamlet i 1984 kan bare betraktes som foreløpige. I tabell 2 er det gitt en oversikt over fremtredende arter av blågrønnalger i lokalitetene som behandles.

Tabell 2. Blågrønnalger med stor forekomst.

Organismer	Akers- vatnet	Borre- vatnet	Hillestad- vatnet
HORMOGONALES			
Anabaena circinalis Rabenh.	+	+	
A. flos-aquae (Lyng.) Bréb.	+	+	+
A. planctonica Brunth.			+
A. spiroides Kleb.	+	+	+
Aphanizomenon flos-aquae (L.) Ralfs	+	+	
Oscillatoria agardhii var. isothrix Skuja	+		
O. splendida Grev.		+	
CHROOCOCCALES			
Aphanocapsa delicatissima W. & G.S. West		+	+
Aphanothece clathrata W. & G.S. West		+	
Chroococcus limneticus Lemm.	+	+	+
Gomphospaeria naegeliana (Unger) Lemm.	+	+	+
Microcystis aeruginosa Kütz.	+	+	+
M. wesenbergii Komárek		+	

Ettersommeren og høsten 1984 var karakterisert av vannblomst med blågrønnalger i alle tre innsjøene. Spesielt var Akersvatnet og Borrevatnet i lange perioder preget av at blågrønnalger satte farge, lukt og smak på vannmassene. Det foregikk tildels en anrikning av blågrønnalgene i overflatevannet. Forårsaket av vind og strømbevegelser ble de konsentrert mot strendene i innsjøene. Dette medførte bl.a. en svært ulik fordeling av blågrønnalgene.

Det var særlig blågrønnalger av slekten Microcystis som dominerte i planktonet under periodene med vannblomst. De morfologiske kjennetegn som kan brukes til å bestemme artene, er få og usikre. I første rekke anvendes slimkappens konsistens, og opptreden av gassvakuoler. I annen rekke kommer cellestørrelse og koloniform. Den mikroskopiske analyse viste at det var sammenfallende karakterer mellom materialet av blågrønnalger fra Akersvatnet og Borrevatnet. Gassvakuoler var tilstede. Cellestørrelsen varierte i området 2 - 6 μm . Cellene dannet mer eller mindre løse kolonier. Det ble ikke observert noen tydelig avgrenset slimkappe. Koloniene varierte i form, store kolonier var ofte gjennombrudt og uregelmessige. Ut fra de påviste kjennetegn var de aktuelle organismene i Akersvatnet og Borrevatnet Microcystis aeruginosa Kütz. I figur 2 er det vist tegninger av den blågrønnalgen (etter Komárek 1958).



Figur 2. Microcystis aeruginosa. Tegningen er gjengitt etter Komárek 1958, side 192.

Hydrokjemiske forhold

Det foreligger gode holdepunkter om de limnologiske forhold i Vestfolds eutrofe innsjøer (Skulberg 1957, Økland 1964, NIVA 1968, Berge 1976). Når det gjelder Akersvatnet, er det et fremtredende trekk at det hører til de sterkest eutrofe lokaliteter. Kjemiske analyser for vannprøver som inngikk i denne undersøkelsen, understreker dette (tabell 3). Høyt innhold av elektrolytter og plantenæringsstoffer gjorde seg gjeldende i alle vannprøvene som ble analysert. Basert på de hy-

drokjemiske kriterier hører vanntypen til i overgangsområdet eutrof - hypereutrof (Wetzel 1975). Dette er i overensstemmelse med at Microcystis aeruginosa gjerne har sin karakteristiske forekomst under hyper-eutrofe miljøbetingelser.

Tabell 3. Akersvatnet 1984 - noen kjemiske analyseresultater.

Prøve	Surhetsgrad pH			Konduktivitet mS/m, 25 °C			Fargetall mg Pt/l			COD-Cr mg O/l		
	22. okt	13. nov	17. des	22. okt	13. nov	17. des	22. okt	13. nov	17. des	22. okt	13. nov	17. des
Inntak, 0 m	7,6	7,8	7,4	22,8	23,1	22,3	-	27	29	10,0	13,0	16,0
Inntak, 8 m	7,6	7,7	7,5	22,8	22,7	21,5	-	29	29	40,0	18,0	21,0
Sivkant, 0 m	-		6,8	-		25,5	-		48	5 700		65,0
Råvann		7,6			22,6			26			77,0	
Rentvann		9,2			27,7			8			<10	

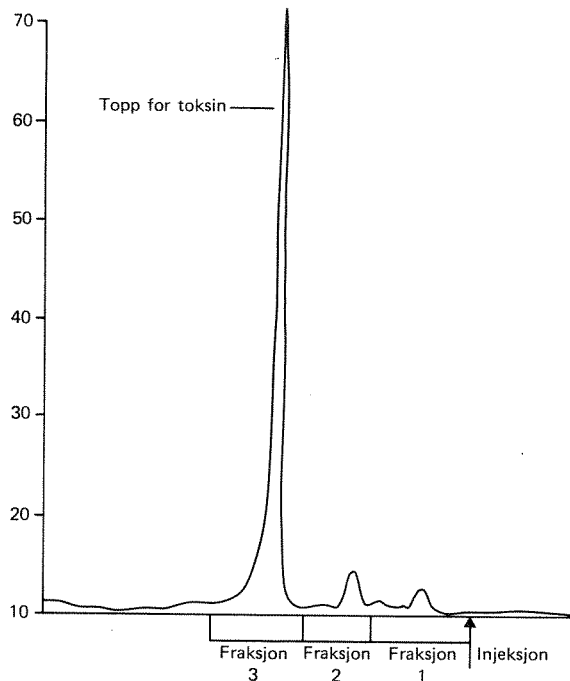
Prøve	TOT-P µg P/l			TOT-N µg N/l			Susp. organisk tørrstoff, mg/l			Susp.uorganisk tørrstoff, mg/l		
	22. okt	13. nov	17. des	22. okt	13. nov	17. des	22. okt	13. nov	17. des	22. okt	13. nov	17. des
Inntak, 0 m	47,0	-	-	1500	-	-	8,0	-	-	4,8	-	-
Inntak, 8 m	47,0	-	-	1500	-	-	10,2	-	-	6,7	-	-
Sivkant, 0 m	-		-	-		-	6080		-	540		-
Råvann		-			-			-			-	
Rentvann		-			-			-			-	

- ikke analysert.

Påvisning av toksiner

HPLC. Det kan være hensiktsmessig å gi noen eksempler på hvordan påvisning av blågrønnalgetoksiner blir utført. I noen detalj skal analysearbeidet med to valgte prøver fra Akersvatnet gjennomgås. Materialet av blågrønnalgen ble innsamlet 22. august 1984. Undersøkelsen ble gjort med utgangspunkt i 2 g frysetørket Microcystis. Vannprøven ble innsamlet 22. oktober 1984. Den inneholdt ca. 6 g/l filtrerbart (GF/C) blågrønnalgemateriale regnet som tørrstoff.

Figur 3 viser kromatogrammet for frysetørket materiale av Microcystis aeruginosa.



Figur 3. Ekstrakt av frysetørket Microcystis aeruginosa fra Akersvatnet, 22. august 1984, undersøkt med HPLC - analyse.

Etter forbehandling av algeprøven (se side 12) ble det injisert 10 ganger på HPLC med ialt 100 μ l som tilsvarende 2 % av hele ekstraktvolumet. Eluatet ble samlet opp i tre fraksjoner (se figur 3) og disse ble inndampet til tørrhet og veiet.

Fraksjonsvektene var:

Fraksjon 1	-	4	mg
"	2	-	< 0,1 mg
"	3	-	1,4 mg (hvitt pulver)

Fraksjonene ble benyttet for akutt toksisitetstesting med mus. Fraksjon 3 - som representerer den største toppen på kromatogrammet - var toksisk. Musene døde med typiske symptomer på blågrønnalgeforgiftning (se side 18).

Ut fra de foreliggende holdepunkter er det beregnet at blågrønnalgematerialet kan ha inneholdt ca. 35 mg toksin/g frysetørket prøve.

Vannprøven (22. oktober 1984) ble opparbeidet og undersøkt på tilsvarende måte. I dette tilfellet var UV-absorpsjonen lav etter kjøring på Sephadex G 25, dessuten var den dominerende absorpsjonstoppen noe forskjøvet i forhold til blågrønnalgeprøven. Vannekstraktet ble inndampet til meget lite volum (100 µl) og kjørt på HPLC ved høyeste følsomhet. Noen toksintopp på kromatogrammene ble imidlertid ikke påvist. Dette betyr at selv om blågrønnalgene i Akersvatnet på denne tid hadde høyt toksininnhold, var det ikke ved denne metoden mulig å gjenfinne toksinet i vannfasen av prøven.

Akutte toksisitetstester. Toksiner produsert av blågrønnalger kan påvises ved akutte toksisitetstester på laboratoriedyr. Testmateriale tilføres forsøksdyrene ved en engangsdosering. Under forsøket registreres symptomer og dødsfall blant forsøksdyrene. Etter en intraperitoneal injeksjon (i.p. - innsprøytning i bukhulen) av en dødelig dose av microcystin (toksinet til Microcystis aeruginosa) på hvite mus, registreres f.eks. følgende virkninger:

- Latensperiode uten symptomer på ca. 30 min.
- De første symptomer på forgiftning består av vekslende uro og slapphet. Dyrene blir bleke, noe som best registreres på ørene og halen.
- Senere oppstår det nervøse symptomer i form av lammelser og kloniske kramper, og dyrene får respirasjonsbesvær.
- Døden inntreffer etter ca. 1 time.

Toksisiteten uttrykkes i muse-enheter (ME) pr. gram frysetørket materiale. 1 ME tilsvarer minimum letal dose for en 20 g's mus, i løpet av 4 timer.

Et utvalg prøver med blågrønnalgemateriale har blitt undersøkt for innhold av toksiner ved Institutt for næringsmiddelhygiene. I tabell 4 er det gitt en oversikt over resultatene som er fremkommet.

Tabell 4. Resultater av toksisitetstesting av blågrønnalger.

Lokalitet	Prøve innsamlet 1984	Organisme	Toksininnhold ME/g	Midlere død tid min.	Levervekt % av kadavervekt
Akersvatnet	22.08.	Microcystis aeruginosa	ca.5 000	64	11,0
"	22.10	"	ca.5 000	60	12,4
"	31.10	"	8 000	75	10,4
"	13.11	"	ca.5 000	78	9,6
Borrevatnet	13.09	Microcystis aeruginosa	Ikke påvist	-	-

Resultatene av de akutte toksisitetstestene som ble utført stemmer godt overens med de som er erfart fra tilsvarende norske undersøkelser av blågrønnalgetoksiner. Registrerte latensperioder, symptomer, død tid og de patologiske-anatomiske forandringer gir sterke holdepunkter for tilstedeværelse av de hepatotoksiske forbindelser som produseres av Microcystis aeruginosa (Skulberg 1979). Men ett faktum er interessant å påpeke. Materialet fra Akersvatnet er det hittil mest giftige som er påvist i Norge, og hører til blant de mest giftige som overhode er kjent (Carmichael et al. 1984).

Samtidig er det viktig å understreke at populasjonen med Microcystis aeruginosa i Borrevatnet i 1984 ikke ble funnet å være av toksinproduserende natur.

I det fortsatte arbeid vil det bl.a. bli lagt vekt på å undersøke giftproduksjonen i Akersvatnet med kvantitative metoder, for å kunne vurdere mulig forgiftningsfare (dose - respons forhold).

3. HENVISNINGER

- Berge, D. (1976): Hillestadvannet og Grennesvannet. Hydrografi, fytoplankton og dammuslingen Anodonta piscinalis (Nilss.). Hovedfagsoppgave, Universitetet i Oslo, 203 pp.
- Carmichael, W.W. (1981): Freshwater blue-green algae (Cyanobacteria) toxins - a review. In: The water environment: Algal toxins and health, ed. W.W. Carmichael, Plenum Press, New York, pp. 1 - 13.
- Carmichael, W.W. & Mahmood, N.A. (1984): Toxins from freshwater cyanobacteria (blue-green algae). In: Seafood Toxins, ed. E.P. Ragelis, American Chemical Society Symposium Series 262, Washington, D.C.
- Carmichael, W.W., Jones, C.L.A., Mahmood, N.A. & Theiss, W.C. (1985): Algal toxins and water-based diseases. CRC Critical Reviews in Environmental Control, 15, 3, pp. 275 - 313.
- Gorham, P.G. & Carmichael, W.W. (1979): Phycotoxins from blue-green algae. Pure & Appl. Chem., 52, pp. 165 - 174.
- Haugan, B.E. Skulberg, O. & Underdal, B. (1982): Giftige alger i drikkevannsforsyninger - noen holdepunkter om praktiske tiltak. Norsk institutt for vannforskning, Rapport 0-81094, 26 pp.
- Komárek, J. (1958): Die taxonomische Revision der planktischen Blaualgen der Tschechoslowakei. In: Algologische Studien, eds. J. Komárek & H. Ettl., Der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Prag, pp. 10 - 206.
- Norsk institutt for vannforskning (1968): Beskrivelser og undersøkelser av vannforekomster. Utredning for Østlandskomiteén 1967, rapport I, del 4, pp. 136 - 173.
- Skulberg, O.M. (1957): Borrevannet, en eutrof innsjø i Vestfold fylke. Hydrografiske og biologiske observasjoner des. 1954 - nov. 1955. Hovedfagsoppgave, Universitetet i Oslo, 154 pp.
- Skulberg, O.M. (1972): Blågrønnalger i norske vannforekomster, mulige konsekvenser av sunnhetsmessig betydning for mennesker og dyr. T. norske Lægeförening, 92, pp. 851 - 854.

- Skulberg, O.M. (1978): Some observations on red-coloured species of *Oscillatoria* (CYANOPHYCEAE) in nutrient - enriched lakes of southern Norway. *Verh. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol.* 20, pp. 776 - 787.
- Skulberg, O.M. (1979): Giftvirkninger av blågrønnalger - første tilfelle av *Microcystis*-forgiftning registrert i Norge. Norsk institutt for vannforskning, Temarapport 4, Oslo, 42 pp.
- Statens institutt for folkehelse (1980): Oppblomstringer av alger og cyanobakterier. Innvirkning på drikkevann, 149 pp.
- Toerien, D.F. & Scott, W.E. (1976): Microcystis toxins: Isolation, identification, implications. *Water SA*, 2, No. 4, pp. 160 - 162.
- Wetzel, R.G. (1975): *Limnology*. W.B. Saunders Company, Toronto, 743 pp.
- Økland, J. (1964): The eutrophic lake Borrevann (Norway) - an ecological study on shore and bottom fauna with special reference to gastropods, including a hydrographic survey. *Folia limnol. scand.* 13 pp. 1 - 337.
- Østensvik, Ø., Skulberg, O.M. & Søli, N.E. (1981): Toxicity studies with blue-green algae from Norwegian inland waters. In: *The water environment: Algal toxins and health*, W.W. Carmichael, Plenum Press, New York, pp. 315 - 324.