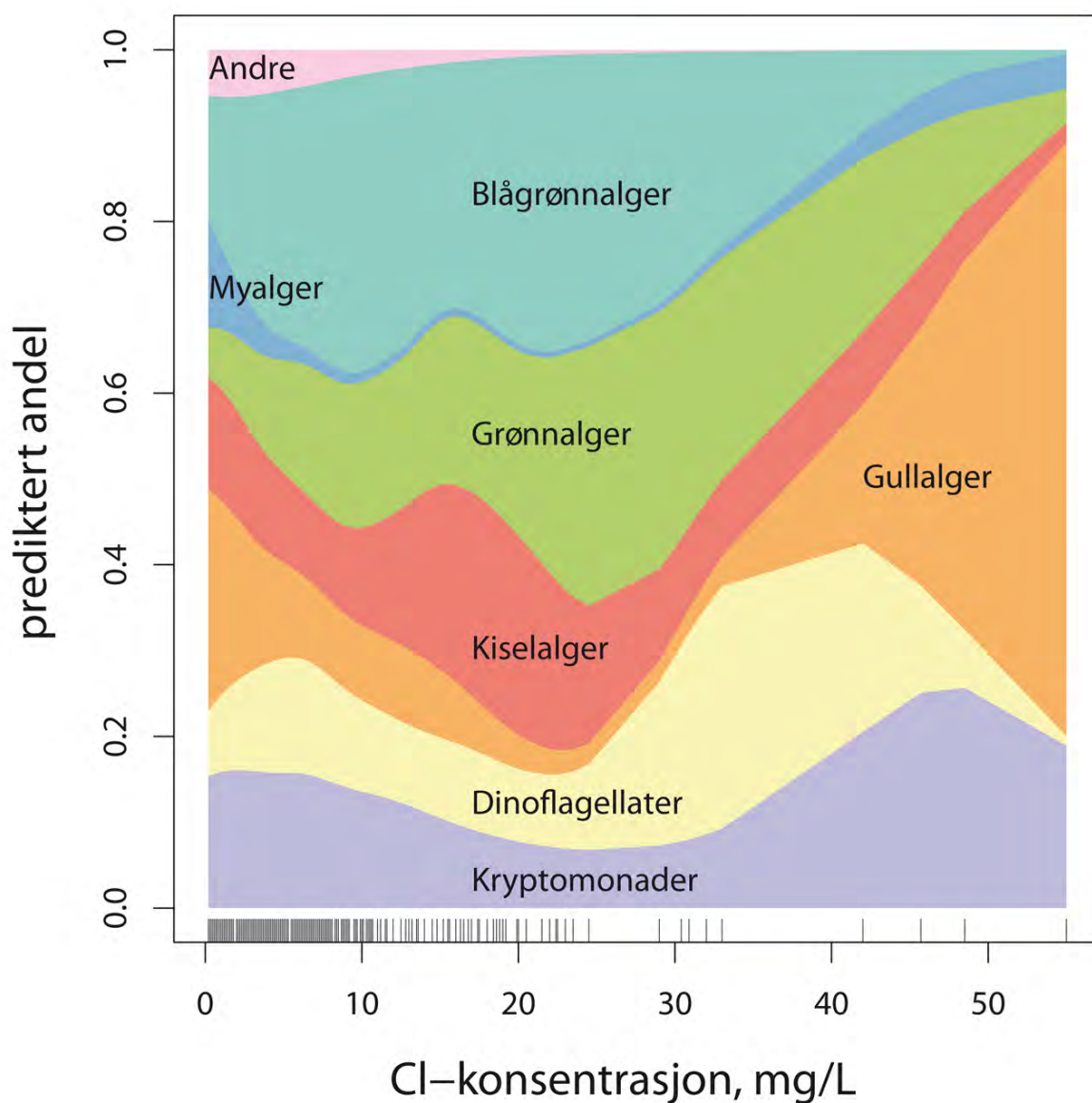




# Tålegrenser for planktonalger i innsjøer

Statistiske analyser og laboratorietester av alger og salt





# VD rapport

## Tittel

Tålegrenser for planktonalger i innsjøer

## Undertittel

Statistiske analyser og laboratorietester av alger og salt

## Forfatter

Thrond O. Haugen, Torleif Bækken, Harald Hasle Heiaas og Birger Skjelbred

## Avdeling

Trafikksikkerhet, miljø- og teknologiavdelingen

## Seksjon

Miljøseksjonen

## Prosjektnummer

602070

## Rapportnummer

8

## Prosjektleder

Kjersti Wike

## Emneord

Vegsalt, alger, innsjøer, laboratorietester

## Sammendrag

Se sammendrag på neste side, og utvidet sammendrag på side 6.

Antall sider 87

Dato 31.01.2011

# VD report

## Title

Salt tolerance in lake phytoplankton

## Subtitle

Statistical analyses and toxicity tests

## Author

Thrond O. Haugen, Torleif Bækken, Harald Hasle Heiaas og Birger Skjelbred

## Department

Traffic Safety, Environment and Technology Department

## Section

Environmental Assessment Section

## Project number

602070

## Report number

8

## Project manager

Kjersti Wike

## Key words

Road salt, algae, lakes, toxic tests

## Summary

Please find summary on page 9.

Pages 87

Date 31.01.2011



## Norsk institutt for vannforskning

## RAPPORT

**Hovedkontor**

Gaustadalléen 21  
0349 Oslo  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 22 18 52 00  
Internett: www.niva.no

**Sørlandsavdelingen**

Televeien 3  
4879 Grimstad  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 37 04 45 13

**Østlandsavdelingen**

Sandvikaveien 59  
2312 Ottestad  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 62 57 66 53

**Vestlandsavdelingen**

Thormøhlensgate 53 D  
5006 Bergen  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 55 31 22 14

**NIVA Midt-Norge**

Pirsenteret, Havnegata 9  
Postboks 1266  
7462 Trondheim  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 73 54 63 87

Tittel Tålegrenser for planktonalger i innsjøer	Løpenr. (for bestilling) 6014	Dato 20. oktober 2010
Statistiske analyser og laboratorietester av planktonalger og salt	Prosjektnr. Undernr. 28406	Sider Pris 85
Forfatter(e) Thron O. Haugen, Torleif Bækken, Harald Hasle Heiaas og Birger Skjelbred	Fagområde Vannressurs forvaltning	Distribusjon
	Geografisk område Norge	Trykket NIVA

Oppdragsgiver(e) Statens vegvesen, Vegdirektorat	Oppdragsreferanse
---	-------------------

**Sammendrag**

Planktonalgenes toleranse i forhold til vegsalt er belyst på to ulike måter: statistisk analyse av foreliggende alge- og kjemidata fra NIVAs databaser og laboratorietester. 357 innsjøer ble analysert ved statistiske analyser. Effekten av kloridkonsentrasjonen på algesammensetningen var betydelig større i kalkfattige innsjøer enn i kalkrike. I kalkfattige innsjøer forventes det ikke å finne arter av dinoflagellater og kiselalger når kloridkonsentrasjonen overstiger 23-30 mg/l. Arter av gullalger og kryptomonader forventes å dominere under de samme forholdene. Bidraget fra klorid er mindre framtreddende ved konsentrasjoner under 23-30 mg/l. Ved lavere konsentrasjoner synes særlig konkurranseforholdet mellom algene å dominere utformingen av algesammensetningen, og da på en slik måte at blågrønnalgene i økende grad dominerer jo høyere algebiomassen er. Det ble ikke dokumentert regionaleffekter for noen av algegruppene. Vekstraten for ti algekulturer ble testet mot en konsentrasjonsgradient av vanlig vegsalt. To av artene hadde forholdsvis lav toleranse for vegsalt. Mest følsom var flagellaten *Rhodomonas lacustris* med EC<sub>50</sub> på 34 mg/l. De andre algene hadde høy toleranse med EC<sub>50</sub> over 1000 mg/l. Selv om det må tas forbehold om usikkerheter i datamaterialet og laboratorietester så peker undersøkelsene i samme retning, nemlig at det skjer noe med algesamfunnet når kloridkonsentrasjonene når 23-30 mg/l. Dette støtter resultater fra andre norske undersøkelser.

Fire norske emneord	Fire engelske emneord
1. Vegsalt	1. Road salt
2. Alger	2. Algae
3. Innsjøer	3. Lakes
4. Laboratorietester	4. Toxic tests

*Torleif Bækken*  
Prosjektleder

*Karl Jan Aanes*  
Forskningsleder

*Rainer G. Lichtenthaler*  
Seniorrådgiver

ISBN 978-82-577-5749-6



# Tålegrenser for planktonalger i innsjøer

STATISTISKE ANALYSER OG  
LABORATORIETESTER AV ALGER OG SALT

---





## Forord

I Vegdirektoratets prosjekt SaltSmart ønsker en å kartlegge eventuelle effekter av vegsalting på nærmiljø og økosystem – samt hvilke tiltak en kan iverksette for å avbøte eventuelle negative effekter. I de foreliggende delprosjektene av SaltSmart har fokus vært på hvordan planktonalger i innsjøer tolererer et økt saltinnhold. Rapporten inneholder to typer av undersøkelser:

- 1) En statistisk bearbeidelse av algesamfunn i 357 innsjøer der det også er målt full ionesammensetning,
- 2) Laboratorietester av algearter på vegsalt.

NIVAs databaser på planktonalger og vannkjemi er anvendt i den statistiske undersøkelsen. I tillegg er det gjort nye undersøkelser for å komplettere datamaterialet for innsjøer med høye konsentrasjoner av salt. Materialet har blitt anvendt i statistiske analyser av algesamfunnene i forhold til fysisk/kjemiske variable målt i de samme innsjøene for å se om eventuelle endringer/forskjeller i algesamfunnet kan tilbakeføres til saltholdigheten, og da spesifikt klorider/natrium.

Alger til testing er hentet fra NIVAs algekultursamling.

Thron O. Haugen har vært ansvarlig for den statistiske bearbeidelsen. Thore Høgåsen har hentet ut dataene fra databasen. Birger Skjelbred har vært ansvarlig for testarbeidet og kompetanseperson på planktonalger. Harald Hasle Heiaas har utført testene og beregnet effekter. Camilla Corneliussen har håndtert algekulturene og forberedt testene. Undertegnede er prosjektleder for SaltSmart på NIVA.

Vi håper rapporten blir nyttig i videre arbeid med vegsaltingsproblematikk.

Oslo, 15. oktober 2010

*Torleif Bækken*

---



## Sammendrag

Planktonalgens toleranse i forhold til salt er i foreliggende arbeider belyst på to ulike måter: statistisk analyse av foreliggende alge og kjemidata fra databaser og laboratorietester.

Med formål om å påvise eventuelle sammenhenger mellom saltkonsentrasjon og algesamfunn ble i alt 357 innsjøer med data på algesammensetning og vannkjemi analysert ved hjelp av statistiske analyser. I all hovedsak ble (vektor)generaliserte additive modeller brukt som analyseverktøy. Analysene som ble gjennomført framskaffet unike effekter av kloridkonsentrasjonen etter å ha justert for generell vannkjemi (typologi) og total algebiomasse (konkurransforhold).

Sammensetningen av algesamfunnet i en innsjø syntes i større grad å være påvirket av den totale algebiomassen i kalkrike innsjøtyper enn i kalkfattige innsjøtyper. Den unike effekten av kloridkonsentrasjonen på algesammensetningen var betydelig større i kalkfattige innsjøer enn i kalkrike. I kalkfattige innsjøer forventes arter av dinoflagellater og kiselalger å være fraværende når kloridkonsentrasjonen overstiger 23–30 mg/l og arter fra algegruppene gullalger og kryptomonader forventes å dominere fullstendig under de samme forholdene. I kalkrike innsjøer forventes ikke like dramatiske utslag og en må opp i kloridkonsentrasjoner på >40 mg/l før gullalger og kryptomonader dominerer - og da i størst grad i humøse kalkrike innsjøer. Algesammensetningen i kalkrike innsjøer synes derfor å være betydelig mer robuste i forhold til vegsalting enn kalkfattige innsjøer.

Undersøkelsen viser også at den unike effekten fra klorid på algesamfunnet er lavere ved konsentrasjoner under 25–30 mg/l enn over. Ved lavere konsentrasjoner (<20 mg/l) synes særlig konkurranseforholdet mellom algene å dominere utformingen av algesammensetningen, og da på en slik måte at blågrønnalgene i økende grad dominerer jo høyere den totale algebiomassen er.

Etter korrigering for vanntype og generell biomasse av alger ble det ikke dokumentert regionaleffekter for andelsforekomster for noen av algegruppene.

Sammenligner man endringene som skjer med algesamfunnene for verdier som overstiger 23–30 mg Cl/l med verdier nylig målt i vegnære innsjøer kan man forvente at algesamfunnene i 18 % (10 av 59) av innsjøene er påvirket av vegsalting.

Ti algekulturer ble dyrket i medium med stigende konsentrasjon (10–3200 mg/l) av vegsalt og celledettheten har blitt observert. Det ble anvendt vanlig brukt vegsalt inklusive antiklumpemiddel. To av de testede algene hadde forholdsvis lav toleranse for vegsalt (*Chysochromulina parva* ( $EC_{50}$  < 320 mg/l) og *Rhodomonas lacustris* ( $EC_{50}$  34 mg/l)). De andre algene hadde høy toleranse. For fem av algene ble vekstraten halvert ( $EC_{50}$ ) ved testkonsentrasjoner mellom 1000 til 3000 mg/l. Disse var flagellatene *Chlamydomonas reinhardtii* ( $EC_{50}$  på 3000 mg/l), og *Sphaerellopsis fluviatilis* ( $EC_{50}$  på 2200 mg/l) sveltflagellatene *Cosmarium* ( $EC_{50}$  på 1800 mg/l) og to stammer av *Cryptomonas* ( $EC_{50}$  på 1800 mg/l og 1000 mg/l). For tre arter av grønnalger ble det ikke påvist en halvering av vekstraten før testkonsentrasjonene var høyere enn 3200 mg/l.

Selv om det må tas forbehold om usikkerheter i datamaterialet og artefakter som naturlig følger med laboratorietester så peker undersøkelsene i samme retning, nemlig at det skjer noe med algesamfunnet når kloridkonsentrasjonene når 20–30 mg/l (>40 mg/l i kalkrike sjøer). Dette støtter resultater fra andre norske undersøkelser.

---

# Innhold

<b>Sammendrag</b>	<b>6</b>
<b>Summary</b>	<b>9</b>
<b>I. Statistiske analyser av algesamfunn og salt i innsjøer</b>	<b>10</b>
<b>1. Introduksjon</b>	<b>10</b>
<b>2. Materiale og metoder</b>	<b>10</b>
2.1 Prøvemateriale og analysetilnærming	10
2.2 Statistikk	11
<b>3. Resultater</b>	<b>13</b>
3.1 Relasjon mellom klorid og planktonalgesammensetning og biovolum	13
3.2 Typologieffekter	15
3.3 Regioneffekter	17
3.4 Tidstrender	17
3.5 Thin-plate spline GAM-modeller (ikke-lineære multiple regresjoner)	18
3.5.1 Algegrupper	18
3.5.2 Enkeltarter	23
<b>4. Diskusjon</b>	<b>24</b>
4.1 Konsekvenser av funnene	24
4.2 Svakheter ved analysene	25
4.3 Videre arbeid	25
<b>II. Laboratorietester av algers toleranse for vegsalt</b>	<b>26</b>
<b>1. Introduksjon</b>	<b>26</b>
<b>2. Materiale og metode</b>	<b>26</b>
2.1 Definisjoner	26
2.2 Materiale	27

---

<b>3. Resultater</b>	<b>29</b>
<b>4. Diskusjon</b>	<b>34</b>
<b>III. Overordnet diskusjon og konklusjon</b>	<b>35</b>
<b>Referanser</b>	<b>36</b>
<b>Vedlegg A. Statistikktabeller</b>	<b>38</b>
<b>Vedlegg B.</b>	<b>42</b>
Biplott av de enkelte algeartenes andel av det totale planktonalgebiovolumet som funksjon av kloridkonsentrasjonen	42
<b>Vedlegg C. Sammensetning av vekstmedium Z8 og ISO 8692</b>	<b>86</b>

---

## Summary

Title: Salt tolerance in lake phytoplankton – statistical analyses and toxicity tests

Year: 2010

Author: Thron O Haugen, Torleif Bækken, Harald Hasle Heiaas, Birger Skjelbred,

Source: Norwegian Institute for Water Research, ISBN No.: 978-82-577-5749-6

### Abstract

The tolerance of planktonic algae to road salt is explored in two ways: Statistical analyses using algae and chemical data from NIVA databases, and laboratory tests. A total of 357 lakes were analysed. The effect of chloride concentrations on the algae community was significantly larger in lakes with low calcium concentration compared to lakes with high concentrations. In calcium-poor lakes, species of dinoflagellates and diatoms were not expected to be found at chloride concentrations exceeding 23-30 mg/l. Species of chrysophyceans and cryptomonads are expected to dominate under similar conditions. In calcium-rich lakes however, chloride concentrations would need to be higher than 40 mg/l in order to observe dominance of the same two algae groups. The unique effect of chloride seems to vanish at concentrations below 23-30 mg/l – regardless of calcium concentration. At low chloride concentrations, the interspecific competition seems to be more important in structuring the algae community in such a way that cyanophyceans increase their dominance as total algal biomass increases. There were no regional effects for any algae groups. The growth rate for ten algae cultures were exposed to a concentration gradient of road salt under controlled laboratory conditions. Two species were shown to display a low tolerance to road salt. The most sensitive species was the flagellate *Rhodomonas lacustris* with an EC<sub>50</sub> value of 34 mg chloride/l. The remaining algae species displayed a high chloride tolerance with EC<sub>50</sub> values higher than 1000 mg/l. Despite possible uncertainties in the lake data, and possible artefacts resulting from laboratory conditions in the tox tests, the results of both studies point in the same direction: lake algae communities become altered at chloride concentrations beyond 23–30 mg/l (>40 mg/l in calcium-rich lakes). This is in accordance with findings in other Norwegian studies.

---

# I. Statistiske analyser av algesamfunn og salt i innsjøer

## 1. Introduksjon

Det brukes årlig store mengder salt på norske veier. Ved avrenning av smeltevann utsettes mange innsjøer for betydelige mengder salt. Dette ble bl.a. påvist gjennom Vegdirektoratets undersøkelse av 59 innsjøer i Sør-Norge (Bækken og Haugen 2006). Utover saltets tendens til å danne mer eller mindre sjiktede innsjøer med forhøyede saltkonsentrasjoner i bunnvannet, vil det også bli en økning av saltkonsentrasjoner i innsjøens algeproduserende sjikt (Kjensmo 1997, Færøvig et al. 2003, 2004, Bækken og Færøvig 2004, Ramakrishna og Viragraghavan 2005, Novotny et al. 2008). Algesamfunn og sammensetningen av algearter kan derfor endres i innsjøer grunnet bruk av vegsalt. Dette ble vist i en undersøkelse i regi av Vegdirektoratet (Færøvig et al. 2006).

Dersom påvirkningen er av vesentlig betydning vil forurensningen komme inn under bestemmelser i Vanndirektivet. I Vanndirektivet er innsjøene inndelt i ulike typer definert i forhold til variasjoner i enkelte naturlige egenskaper som kalsiuminnhold og humus. I den grad det har vært mulig ut fra tilgangen på data har vi tatt hensyn til dette.

Tidligere undersøkelser har vist at algesamfunnet påvirkes av vegsalt i innsjøer, men at det var stor bredde i tålegrensen for ulike arter (Bækken og Færøvig 2004, Færøvig et al. 2006). Uønsket vekst av cyanobakterier har i noen tilfeller blitt forklart med økt saltholdighet (Bartolomé et al. 2008), men denne gruppen responderer også ulikt (Tonk et al. 2006).

NIVA har en stor database på planktonalger. Mange av innsjøene har også målinger av klorid, samt en rekke andre fysiske og kjemiske variable. Vi har anvendt omkring 400 innsjøer med både planktonalger og analyse av full ionesammensetning minst en gang i året. Full ionesammensetning inkluderer bl.a. viktige ioner som klorid ( $\text{Cl}^-$ ), sulfat ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), natrium ( $\text{Na}^+$ ), kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) og magnesium ( $\text{Mg}^{2+}$ ) (og konduktivitet). I tillegg er det målt farge (og til dels totalt organisk materiale, TOC) som sammen med kalsium, størrelse og beliggenhet vil være med å angi vanntypene. Det er også målt trofivariabler som fosfor (P) og nitrogen (N).

Dette materialet er anvendt i en statistisk analyse av algesamfunnene for å se om eventuelle endringer i algesamfunnet kan tilbakeføres til saltholdigheten, og da spesifikt klorider.

## 2. Materiale og metoder

### 2.1 Prøvemateriale og analysetilnærming

Prosjektet har brukt data fra tre prosjekter: EUREG, SipCa99, samt supplerende materiale fra SaltSmart for 2009. I alt bestod materialet av 440 innsamlingsrunder fra totalt 357 innsjøer.

Det er på det rene at sammensetningen av algeplankton-samfunnet i en innsjø påvirkes av andre og mer overordnede miljøvariabler enn først og fremst NaCl. I vår setting, hvor vi først og fremst ønsker å kvantifisere effekten av NaCl, blir disse variablene definert som nuisance-variabler – dvs. variabler vi må ta hensyn til, men som ikke er av spesifikk interesse for selve analysen. Ved å gjennomføre

analysene innenfor innsjøtypologier og regioner vil man ta høyde for noen av disse overordnede forhold, men det vil fremdeles være variasjon mellom innsjøene for nuisance-variablene. Da mange av disse miljøvariablene vil være korrelerte med hverandre vil det være hensiktsmessig å inkludere dem i en prinsipalkomponentanalyse (PCA) i forkant av selve statistikkanalysen. Resultatet av PCAen vil være at en sitter igjen med, som regel, to eller tre variabler (prinsipalkomponenter) som med kjent forklaringsgrad beskriver totalvariasjonen i hele nuisance-variabelutvalget. Disse prinsipalkomponentene vil brukes i hovedanalysene som kovarianter.

Formålet med hovedanalysene var å kvantifisere dose-respons-relasjonen mellom NaCl og planktonalgesamfunnet i innsjøene. Spesielt søkte vi å finne terskelverdier for NaCl hvor det skjer store endringer i planktonalgesamfunnet. Ved å tilpasse Generaliserte Additive Modeller (GAM) kunne vi på en fleksibel og effektiv måte få fram dose-respons-kurvene og hvor det samtidig korrigeres for nuisance-variablene (prinsipalkomponentene). På denne måten legges ikke føringer på hva slags form det er på dose-respons-funksjonen, men vi satte et tak på at funksjonen ikke skulle inneholde mer enn maks 5 parametre. Antall parametre som mest effektivt beskriver dose-respons-relasjonen selektertes ut ved generalisert kryssvalidering. Bruk av GAM er en metode som brukes mye innen arbeidet med å fastsette tilstandsklasser for vann innenfor EUs vanddirektiv der både planktonalger og fisk brukes som kvalitetselementer (Ptnacick et al 2008, (Haugen 2007) og som ble brukt i Bækken og Haugen (2006).

Innsjøtypologi er fastsatt etter kriterier gitt i Lyche Solheim og Schartau (2004). Disse er også gitt på Vannportalen ([www.vannportalen.no](http://www.vannportalen.no)). Typologiene som forekommer i materialet i denne rapporten tilsvarer Nordic GIG-typene (Geographical Intercalibration Groups): Kalkrik, humøs: L-N8; kalkfattig, humøs: L-N3 og L-N6; kalkrik, klar: L-N1; kalkfattig, klar: L-N2 og L-N5.

Regioner er delt inn på samme måte som Bækken og Haugen (2006), men fordi vi også har algedata fra Nord-Norge er regionen "Nord" lagt til. Denne utgjøres av data fra fylkene nord for Nord-Trøndelag.

For noen av sjøene som inngår i algedatabasen er det foretatt flere målinger. Som regel er det målinger fra to forskjellige år, men i 10 innsjøer foreligger målinger fra tre år. Dersom målingene er gjort med mer enn 5 års mellomrom har vi håndtert dataene som uavhengige observasjoner. For 14 innsjøer er målingene foretatt tettere enn dette og disse tilfellene har vi ekskludert ett av årene (tilfeldig valgt) i de statistiske analysene. Totalt sett vi da igjen med 426 uavhengige observasjoner.

## 2.2 Statistikk

Ved å gjennomføre prinsipal komponentanalyse (PCA) av vannkjemiske variabler (uten  $\text{Na}^+$  og  $\text{Cl}^-$  da disse er fokusvariablene våre) og inkludere prinsipalkomponentene som prediktorer i modellene våre sammen med algebiomassen ( $\text{BV}_{\text{tot}}$ ), kunne vi estimere unik effekt av NaCl på algesammensetningen i sjøene som inngår i undersøkelsen:

$$Y = s(\text{NaCl}) + s(\text{PC1}, \text{PC2}) + s(\text{BV}_{\text{tot}})$$

Notasjonen  $s(X1)$ , angir at en tilpasser den mest optimale smooth-funksjonen for prediktorvariabel  $X1$ . Med optimal menes den funksjonen som med færrest mulige frihetsgrader (knots) beskriver mest mulig av variasjonen mellom  $X1$  og responsvariabelen ( $Y$ ). Responsvariabelen kan både være kontinuerlig variabel eller binomisk variabel (f. eks. tilstede eller ikke-tilstede). I sistnevnte tilfelle ble modellen tilpasset med logit-transformasjon for å sikre at utfallsrommet for responsen ligger mellom 0 og 1. Notasjonen  $s(X1, X2)$  angir såkalt thin-plate relasjonen mellom de to prediktorvariablene  $X1$  og  $X2$  i forhold til responsvariabelen. Predikasjonen fra denne funksjonen blir en responsoverflate – og det velges ut den enkleste overflaten (færrest frihetsgrader) som best forklarer variasjonen hos



responsvariabelen. Det lar seg gjøre å tilpasse mange-dimensjonale overflater, slik at flere enn to prediktorvariabler kan inngå i samme overflate. Det ble foretatt en utvelgelse av den mest optimale modelstrukturen ved generalisert kryssvalidering (GCV) og AIC-vurderinger (Gu & Wahba 1991). Analysene ble gjennomført ved bruk av VGCV-biblioteket i R (Wood 2006).

Da konsentrasjonen av klorid og natrium er svært korrelerte ( $r_p=0.97$ ,  $p \ll 0.0001$ ,  $n=439$ ) brukes bare kloridkonsentrasjonen som prediktor i analysene.

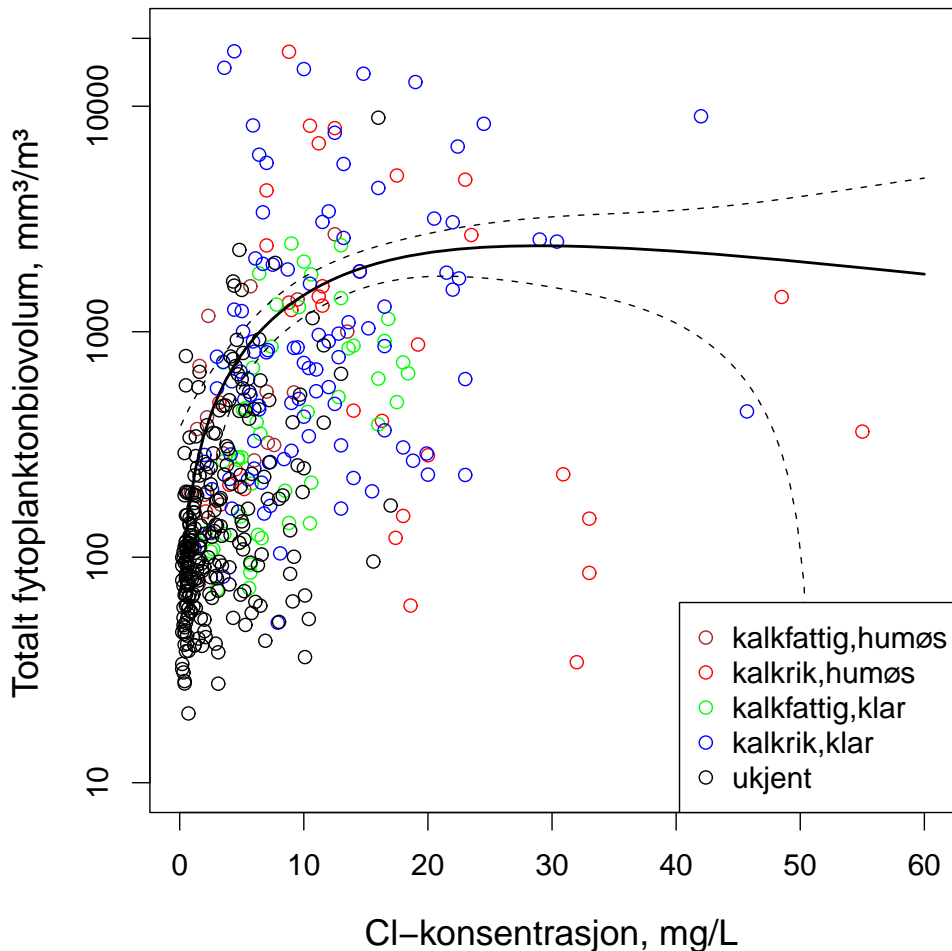
For analyser av ikke-lineær multivariat algesammensetning(dvs for hele algesamfunnet samlet) ble vektorisert-GAM (VGAM) brukt (Yee & Wild 1996). Denne analysetilnærmingen tillater fritt responsforløp (dvs trenger ikke anta parallellitet) for responsvariabelene som inkluderes i modellen. I denne rapporten ble slike analyser anvendt på algesammensetningen som respons til kloridkonsentrasjon. Analysene ble utført ved bruk av VGAM-biblioteket i R (Yee 2010).

### 3. Resultater

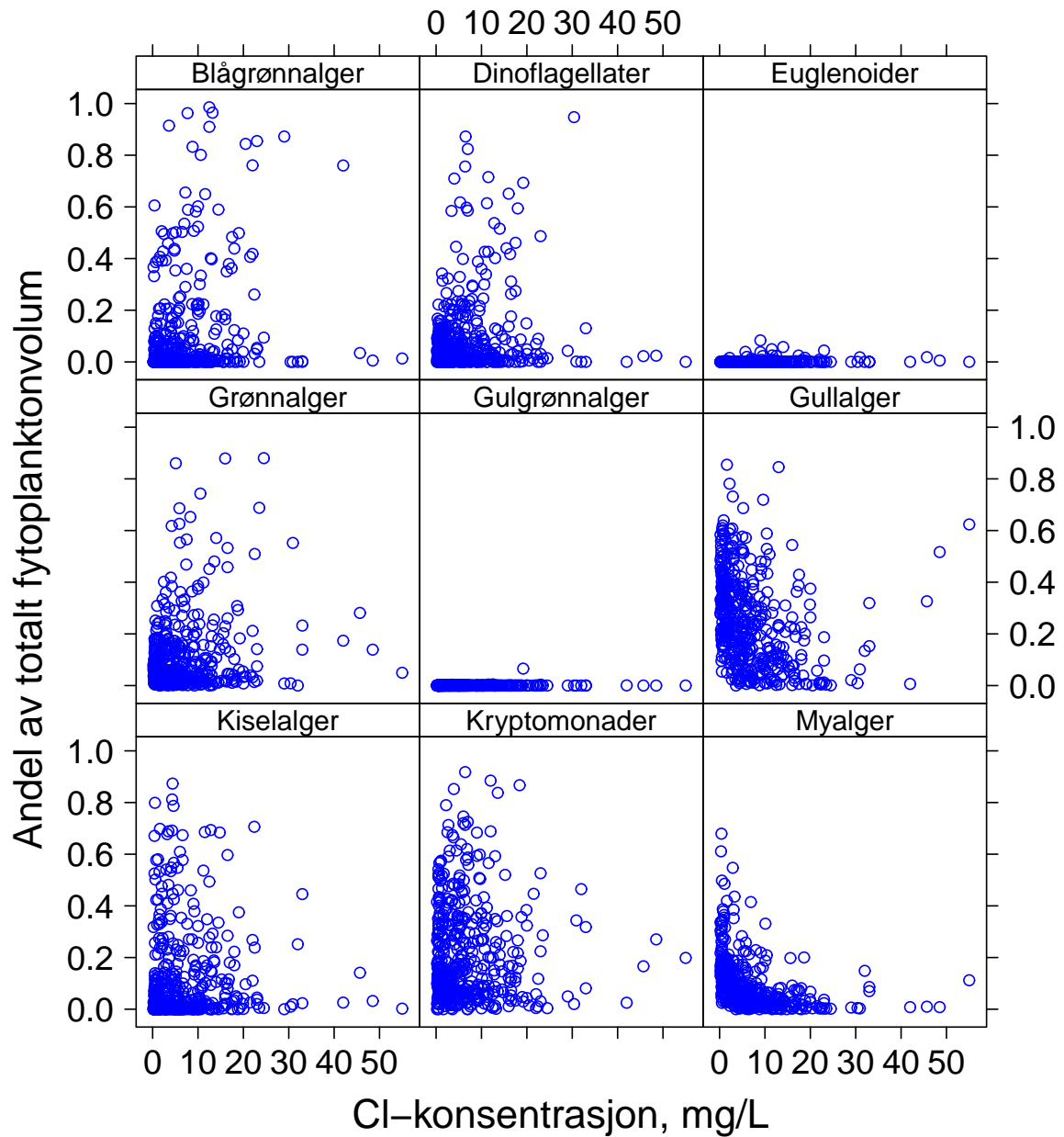
#### 3.1 Relasjon mellom klorid og planktonalgesammensetning og biovolum

Av **Figur 1** ser vi at biovolumet i det store og hele ser ut til å øke med økende kloridkonsentrasjon til 20–22 mg/l og at det deretter flater ut eller avtar. Som det framkommer av samme figur er samtlige sjøer med kloridkonsentrasjon over 30 mg/l fra kalkrike forekomster (>4 mg/l Ca).

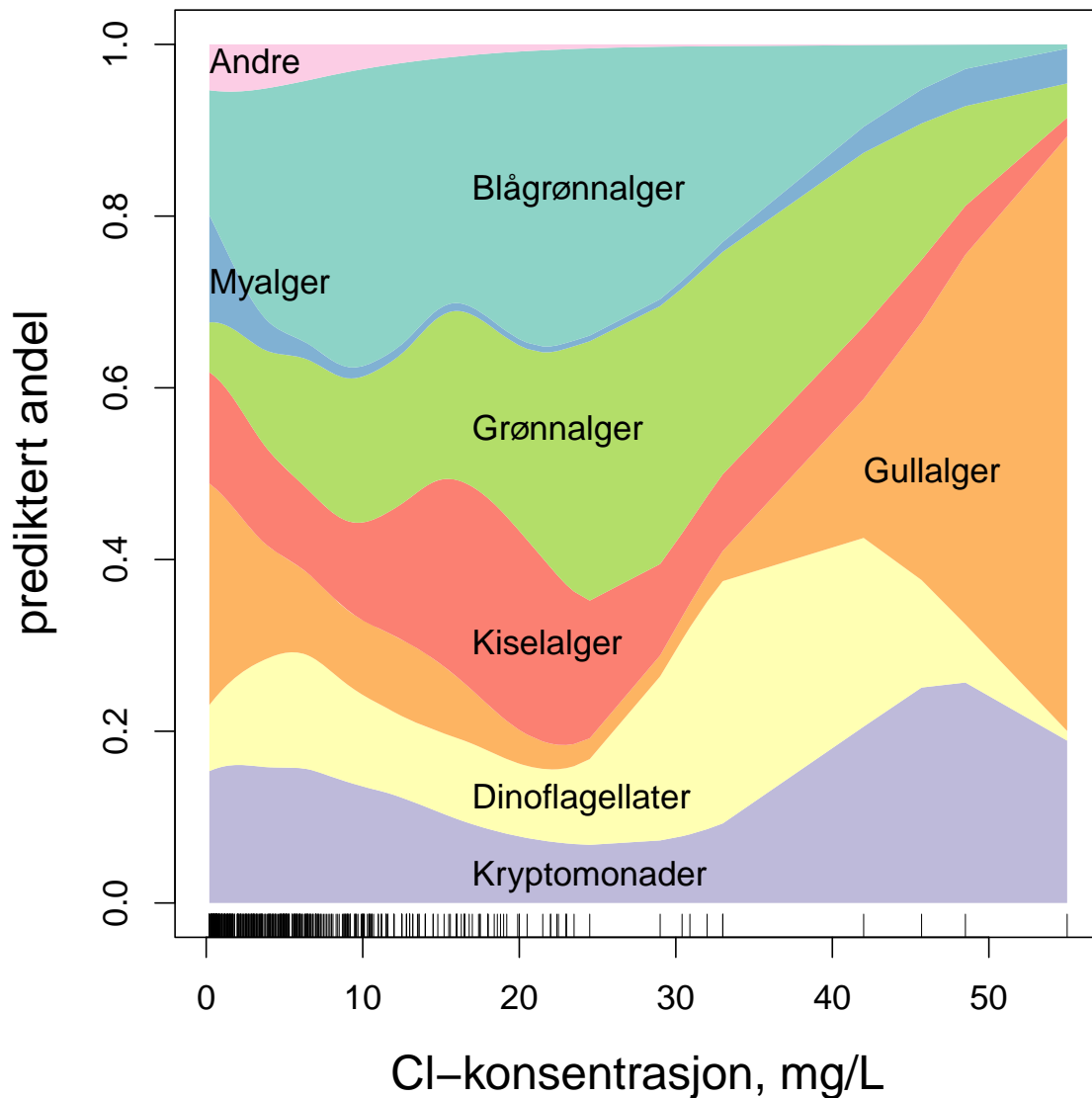
Fra biplottene i **Figur 2** ser en at de fleste av planktonalgegruppene har de fleste av dominanssjøene sine i sjøer med kloridkonsentrasjoner lavere enn 20 mg/l og at de sjelden dominerer i sjøer med konsentrasjoner over 30 mg/l. De som skiller seg ut er særlig gullalgene og kryptomonadene og til en viss grad grønnalgene. Det samme bildet framkommer også av prediksjonene fra VGAM-modellen (**Tabell 4** i vedlegg) slik de er presentert i **Figur 3**.



**Figur 1.** Biplott av relasjonen mellom klorid og total planktonalgebiovolum. Typologi er indikert med egne farger på punktene. Merk at y-aksen er log<sub>10</sub>-transformert. Prediksjonslinja og tilhørende 95 % konfidensintervall er fra GAM-modell med 2.2 estimerte frihetsgrader der 11 % av variasjonen forklares av modellen.



**Figur 2.** Biplott av de ulike planktonalgegruppene andel av totalt biovolum av alger som funksjon av kloridkonsentrasjonen.



**Figur 3.** Estimerte andeler av de ulike planktonalgegruppene som funksjon av kloridkonsentrasjon. Prediksjonene er generert fra VGAM (se **Tabell 4**).

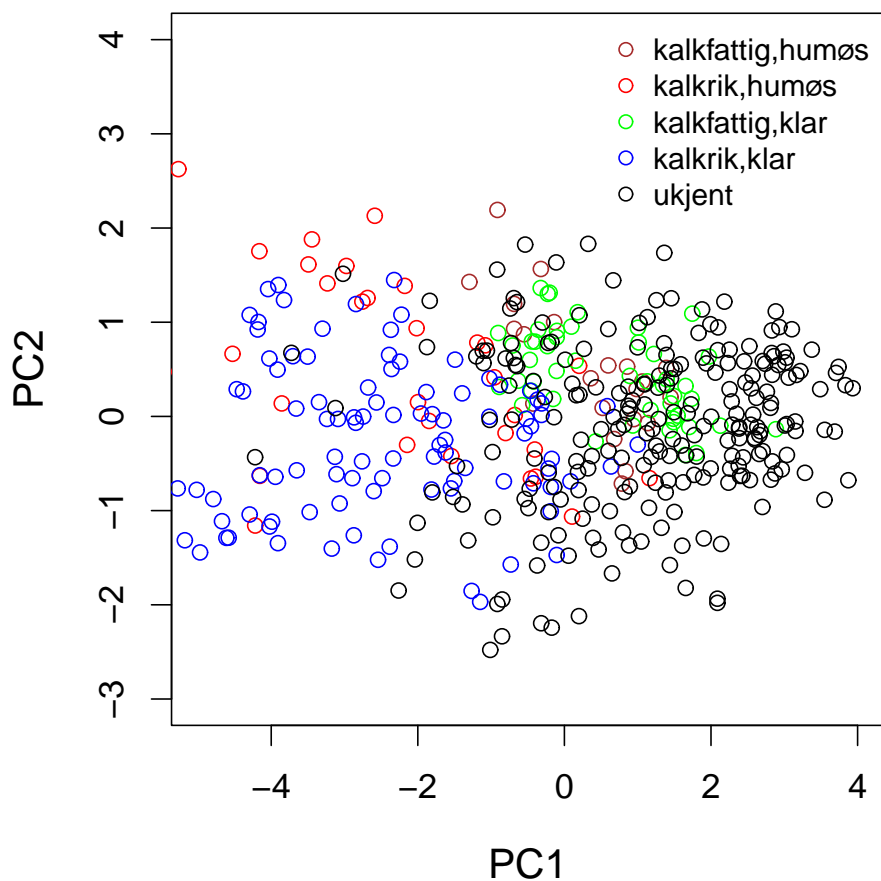
### 3.2 Typologieffekter

De to første prinsipalkomponentene (PC1 og PC2) fanget opp nesten 90 % av variasjonen mellom de 6 forskjellige vannkjemiske variablene som var med i PCAen, der PC1 forklarer mer enn 77 %

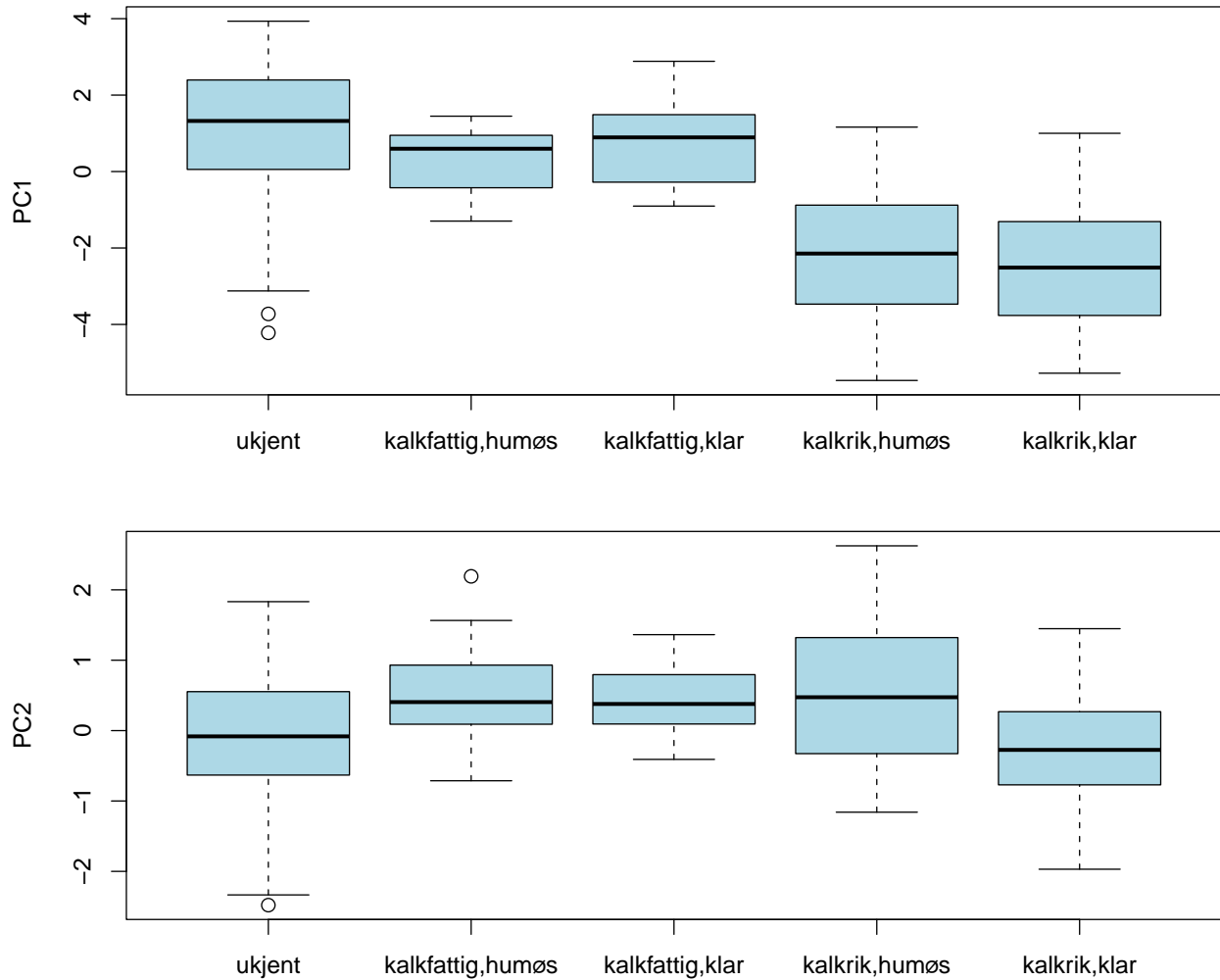
**Tabell 1).** PC1 ser ut til i liten grad å segregere mellom de ulike variablene som inngår i analysen, mens PC2 ser ut til å segregere på produktivitet (eutrofigrad) da tot-P laster svært positivt. På en annen side ser særlig PC1 ut til å være knyttet til kalkrike innsjøer med høye verdier til kalkfattige innsjøer (**Figur 4** og **5**). PC2 ser ut til, i noen grad, å segregere i humøse innsjøer (høye verdier) versus klare innsjøer (lave verdier).

**Tabell 1.** Faktorlasting (nedre del) og variasjonsforhold for prinsipalkomponentanalyse tilpasset vannkjemivariabler som er målt i de 440 observasjonspunktene som inngår i analysene.

	Prinsipalkomponenter					
	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6
Standardavvik	2.154	0.856	0.572	0.428	0.304	0.161
Andel varians	0.773	0.122	0.055	0.031	0.015	0.004
Kumulativ andel	0.773	0.895	0.950	0.980	0.996	1.000
Variabler						
Alkalinitet	-0.411	-0.407	0.493	-0.125	0.113	-0.628
Ca <sup>2+</sup>	-0.427	-0.396	0.159	-0.305	0.068	0.734
K <sup>+</sup>	-0.431	0.239	-0.159	0.465	0.716	0.040
Mg <sup>2+</sup>	-0.438	-0.027	-0.021	0.609	-0.658	0.049
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	-0.409	-0.019	-0.758	-0.427	-0.117	-0.251
Tot-P	-0.321	0.787	0.364	-0.349	-0.150	0.028



**Figur 4.** Biplott av innsjøvise scoringer til de to første prinsipalkomponentene (**Tabell 1**). Typologi er angitt med ulike fargekoder. Typisk laster kalkrike innsjøer med negative verdier for PC1.



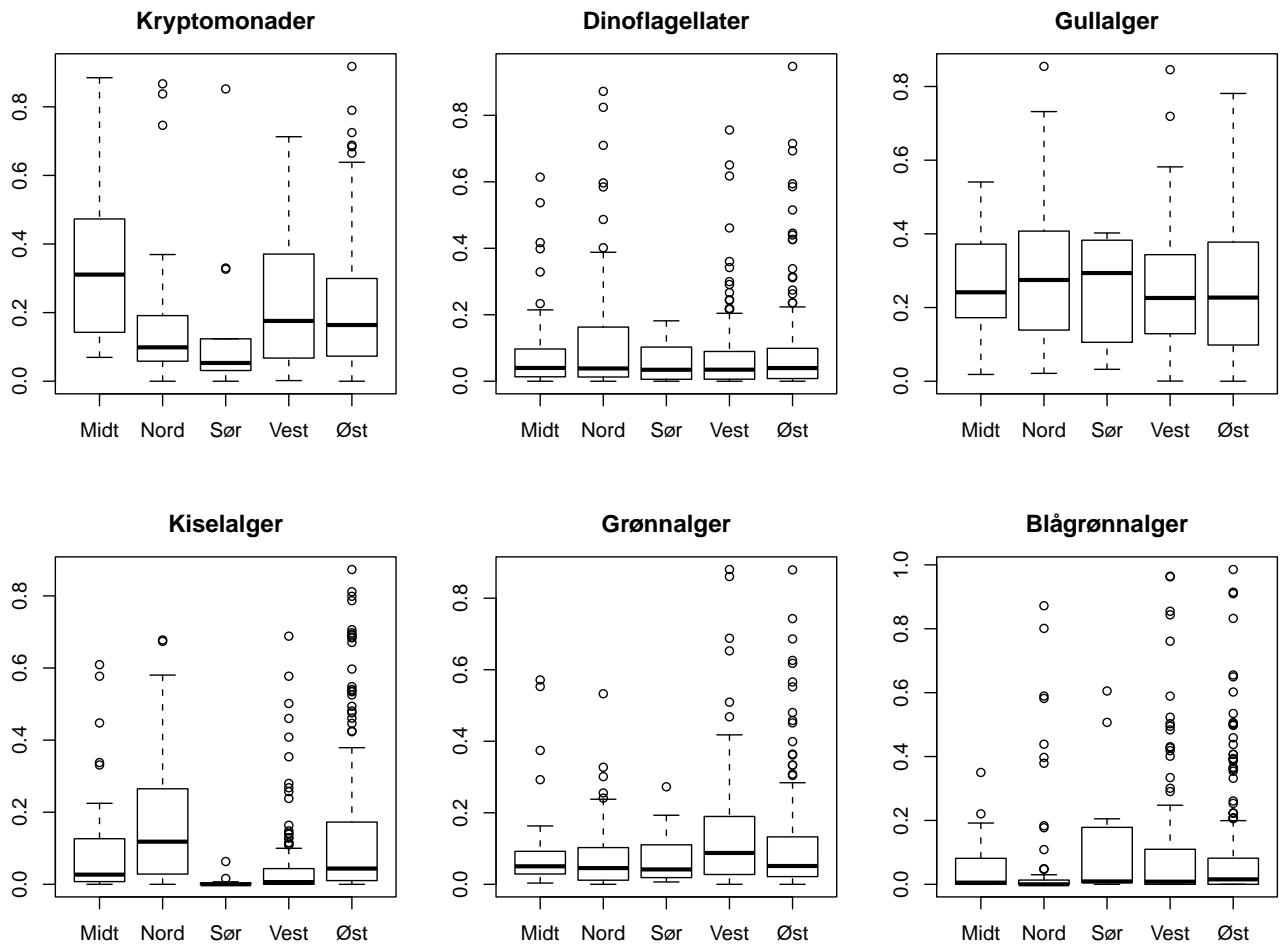
**Figur 5.** Boxplott av prinsippkomponentscoringer for de ulike innsjøtypene som inngår i studiesjøene. 50 % av observasjonene er innenfor de blå boksene, den tjukke horisontale linja representerer medianen mens 10 % og 90 % persentilene er indikert ved de ytre horisontale strekene.

### 3.3 Regioneffekter

Det ble funnet ulike signaler i forhold til regionefferter for de ulike algegruppene. For algegruppene Kryptomonader, Kiselalger og My-alger var det signifikante regionefferter (enveis-ANOVA,  $F_{4,435} > 6.27$ ,  $p < 0.0001$ ). For de andre algegruppene var det ikke signaler om regionefferter. Effekten av region ble allikevel testet ut for de selekterte modellene som framkommer i avsnitt 3.5. Dette fordi relevansen for regiontestene kan diskuteres ut fra at variasjonsomfanget for kloridkonsentrasjonen er forskjellig mellom regionene (enveis-ANOVA,  $F_{4,435} = 6.95$ ,  $p < 0.0001$ ) (**Figur 6**).

### 3.4 Tidstrender

I hele datasettet er det 64 innsjøer hvor det foreligger flere enn ett år med registreringer av alge- og vannkjemidata. For 10 innsjøer har vi data fra tre ulike år med totalt tidsspenn på opptil 21 år (Gjersjøen i Akershus). I samtlige av disse innsjøene med tre samplingrunder har det skjedd en økning i kloridkonsentrasjonen over tid, men ingen av dem hadde økt til konsentrasjoner høyere enn 22 mg/l. Det var ingen klare konsistente endringer i algesamfunnene i disse innsjøene.



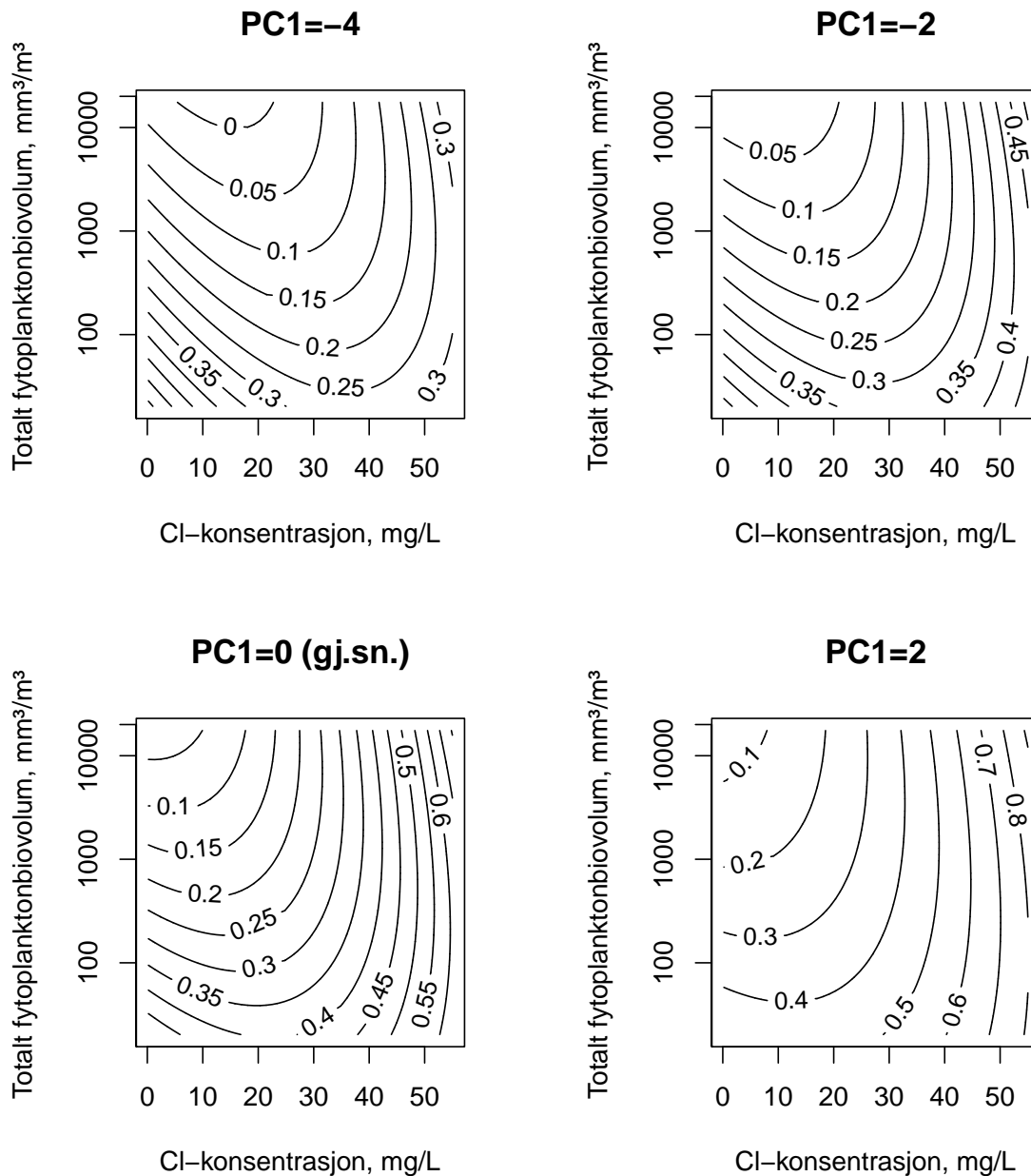
**Figur 6.** Boxplott av de ulike algegruppens andel som funksjon av region. 50 % av observasjonene forekommer innfor boksene og 90 % mellom de ytre horisontale strekene. Den tjukke streken utgjør medianen.

### 3.5 Thin-plate spline GAM-modeller (ikke-lineære multiple regresjoner)

#### 3.5.1 Algegrupper

I resultatene som følger presenteres utelukkende den beste modellen (den med lavest AIC og GCV verdi) for hver algegruppe. Totalt ble det testet 12 modellstrukturer per algegruppe. Så lenge det var en forskjell på mer enn fire AIC-enheter mellom beste og nest beste modell blir bare den beste tatt med i videre diskusjon.

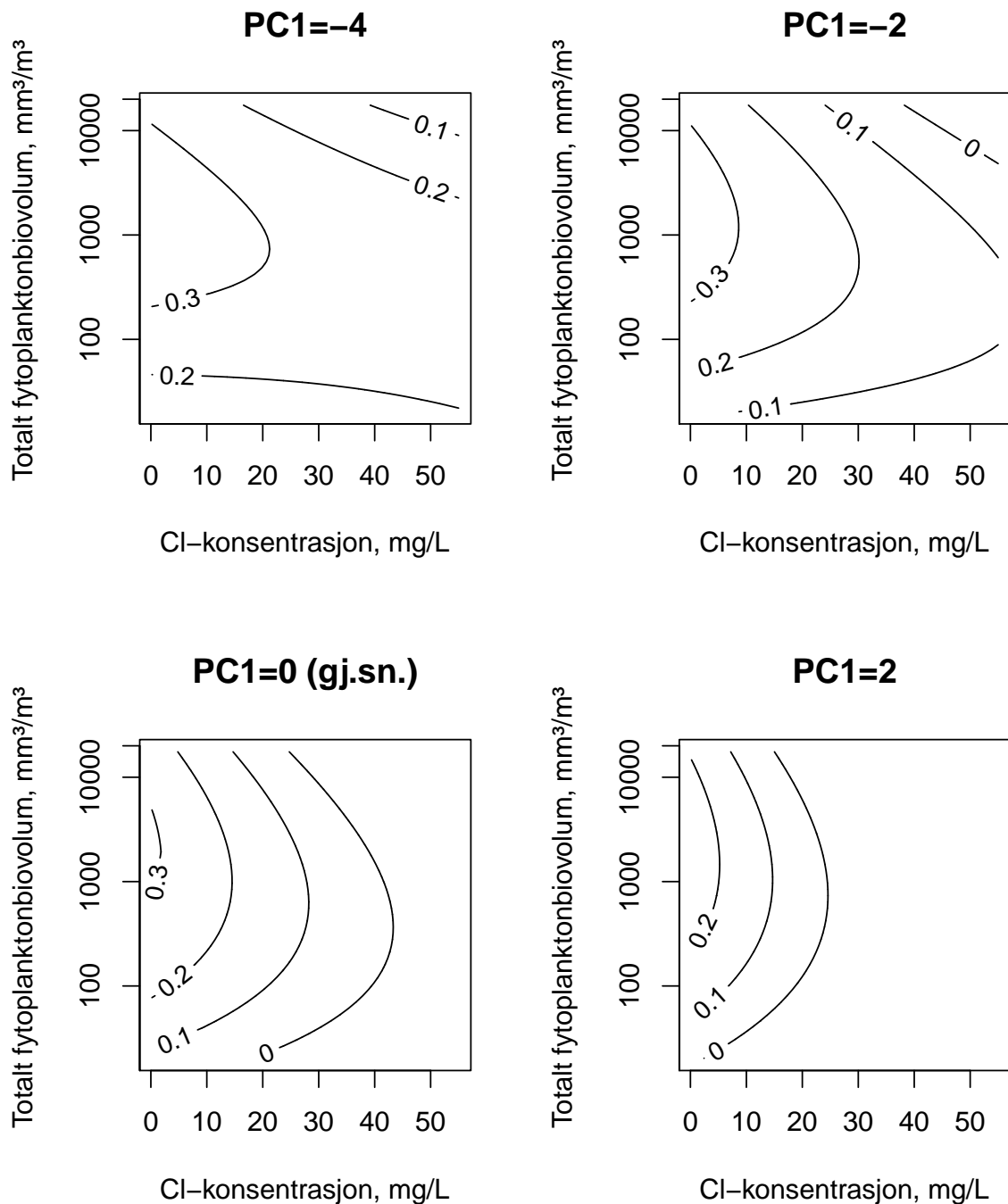
Ut fra **Figur 3** ser vi at gullalgene ser ut til å peke seg ut som en gruppe som dominerer i sjøer med høye kloridkonsentrasjoner. Vi startet derfor med å tilpasse en GAM som analyserer miljøeffekter på denne algegruppa. **Figur 7** viser at gullalgene først og fremst ser ut til å respondere (negativt) på den totale planktonalgebiomassen ved lave konsentrasjoner av klorid, og at kloridkonsentrasjonen har økende (positiv) effekt ved høyere konsentrasjoner. Det er en tydelig terskelrespons i alle innsjøtypesettingene (PC1-kategoriene), og kloridterskelen øker med avtakende totalt biovolum av planktonalger.



**Figur 7.** Predikert andel av **gullalger** (isokliner) som funksjon av kloridkonsentrasjon, totalt biovolum av planktonalger samt prinsippalkomponent 1 (PC1). Lave PC1-verdier angir økende grad av kalkrikhet (PC1=-4: svært kalkrik, PC1=-2: kalkrik, PC1=2: kalkfattig). PC1=0 angir en gjennomsnittlig vannkjemi. Prediksjonene er generert fra GAM i **Tabell 5**, Vedlegg A. Modellen forklarer 45 % av variasjonen.

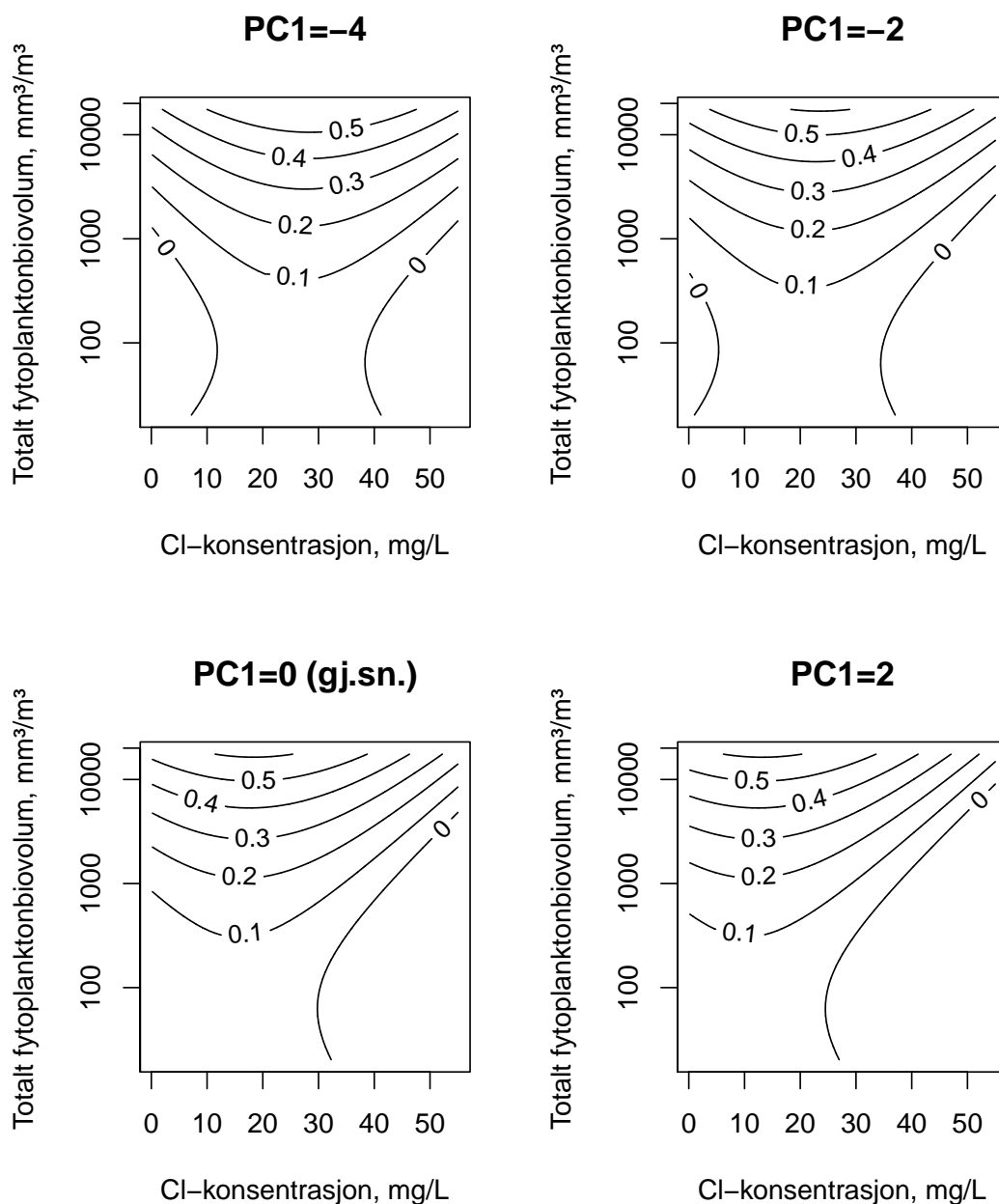
Til tross for at den kombinerte andelen av dinoflagellater og kiselalger alltid er høyest ved lave kloridkonsentrasjoner avhenger disse algegruppene i stor grad av vanntypen (**Figur 8**). Følsomheten overfor klorid ser ut til å øke i kalkfattige vann (PC1>0). I kalkfattige innsjøer skal man ikke forvente å finne arter av disse algegruppene i det hele tatt når kloridkonsentrasjonen overstiger 30 mg/l (23 mg/l ved PC1=2). Disse algegruppene ser ut til å ha maksimalforekomster ved mellomstore algebiomasser og lave kloridkonsentrasjoner og i kalkrike innsjøer (PC1<<0).





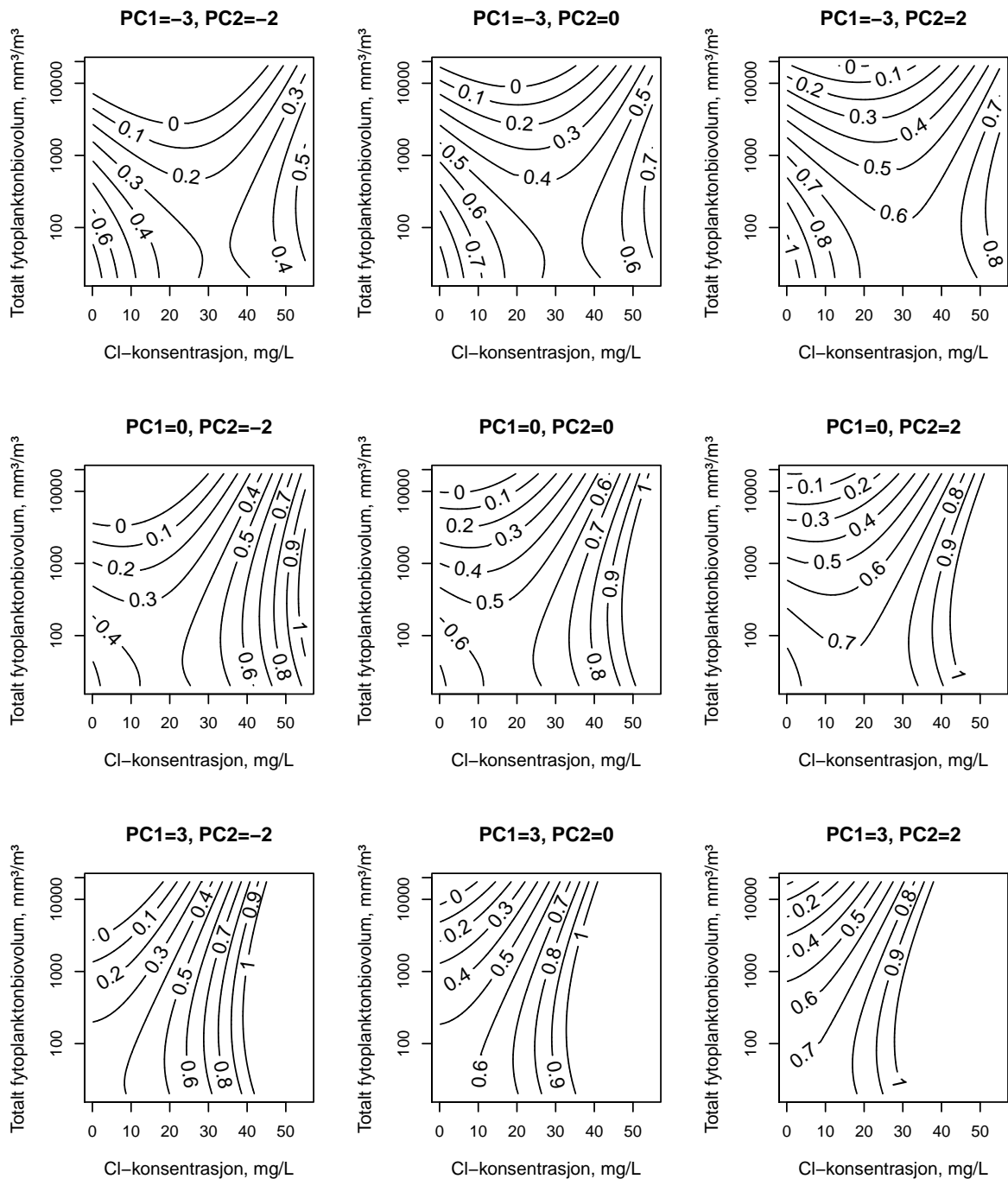
**Figur 8.** Predikert andel av **dinoflagellater og kiselalger** (isokliner) som funksjon av kloridkonsentrasjon, totalt biovolum av planktonalger samt prinsipalkomponent 1 (PC1). Lave PC1-verdier angir økende grad av kalkrikhet (PC1=-4: svært kalkrik, PC1=-2: kalkrik, PC1=2: kalkfattig).. PC1=0 angir en gjennomsnittlig vannkjemi. Prediksjonene er generert fra GAM i **Tabell 6** Vedlegg A. Modellen forklarer 20 % av variasjonen.

Blågrønnalgene responderer i større grad i forhold til totalt algebiovolum (jo større andel jo større total algebiomasse) og i mindre grad i forhold til kloridkonsentrasjon (**Figur 9**). Følsomheten overfor klorid ser ut til å øke jo kalkfattigere vannet er (dvs ved høyere PC1-verdier) og jo lavere det totale algebiovolumet er, men bidraget fra klorid som prediktor for forekomst av blågrønnalger er ikke spesielt stort.



**Figur 9.** Predikert andel av **blågrønnalger** (isokliner) som funksjon av kloridkonsentrasjon, totalt biovolum av planktonalger samt prinsippalkomponent 1 (PC1). Lave PC1-verdier angir økende grad av kalkrikhet (PC1=-4: svært kalkrik, PC1=-2: kalkrik, PC1=2: kalkfattig). PC1=0 angir en gjennomsnittlig vannkjemi. Prediksjonene er generert fra GAM i **Tabell 7**, Vedlegg A. Modellen forklarer 28 % av variasjonen.

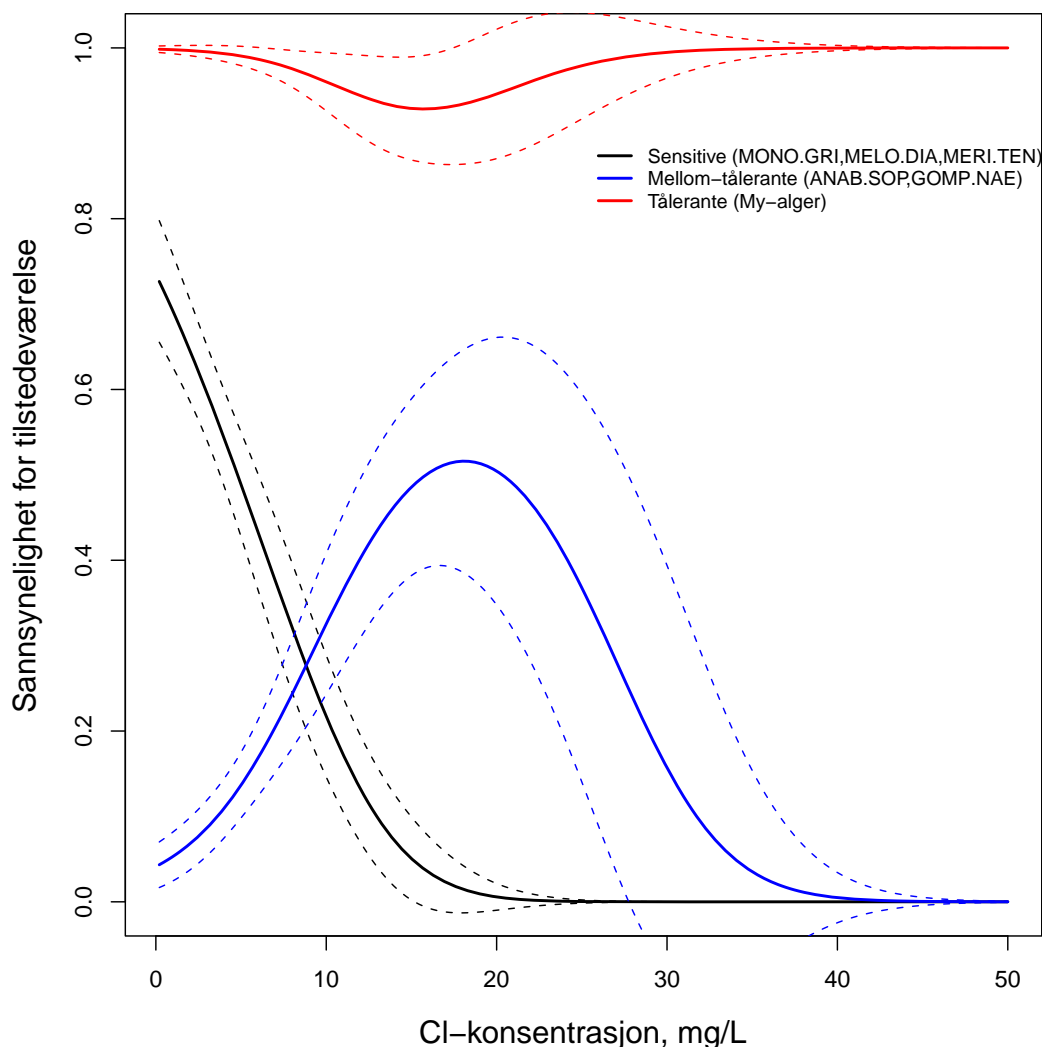
Når man kombinerer gullalgene og kryptomonadene, som har en svært lik klorid- og algebiovolum-respons, i en felles GAM, ser man av **Figur 10** at både PC1 og PC2 sammen med totalt algebiovolum og kloridkonsentrasjon påvirker andelen av disse algene i studieinnsjøene. Modellen estimerer at algebiovolumet i langt større grad påvirker andelen av gullalger og kryptomonader i kalkrike innsjøer (PC1<0) enn i kalkfattige. Vi ser også at andelen av disse algene øker både ved veldig lave og veldig høye kloridkonsentrasjoner i kalkrike innsjøer, mens i kalkfattige innsjøer øker andelen bare med økende kloridkonsentrasjon. I kalkfattige innsjøer estimeres de to algegruppene til å fullstendig dominere algesamfunnet når kloridkonsentrasjonen overstiger 25–30 mg/l. For ingen av algegruppene var det signaler i dataene for regionforskjeller etter at alle andre komponenter var korrigert for (herunder kloridkonsentrasjon).



**Figur 10.** Predikert andel av **gullalger og kryptomonader** (isokliner) som funksjon av kloridkonsentrasjon, totalt biovolum av planktonalger samt prinsippalkomponent 1 og 2 (PC1 og PC2). Lave PC1-verdier angir økende grad av kalkrikhet (PC1=-4: svært kalkrik, PC1=-2: kalkrik, PC1=2: kalkfattig). PC1=0 angir en gjennomsnittlig vannkjemi. PC2-verdiene knyttes til grad av eutrofi og/eller humusinnhold der PC2=0 angir en gjennomsnittlig vannkjemi og høye PC2-verdier er typisk for eutrofe, humøse innsjøer, mens lave PC2-verdier utgjør næringsfattige innsjøer. Prediksjonene er generert fra GAM i Tabell 8, Vedlegg A. Modellen forklarer 46 % av variasjonen.

### 3.5.2 Enkeltarter

Biplott av de enkelte artenes andel av totalvolumet av planktonalger er framstilt i Vedlegg A.  $\mu$ -algene peker seg ut som tolerant i forhold til kloridkonsentrasjon, da de har en høy sannsynlighet for tilstedeværelse over hele kloridkonsentrasjonsspennet som er inkludert i studiematerialet. Disse algene består av mange algegrupper og det er således ikke overraskende at denne gruppa er representert nær sagt ved alle kloridkonsentrasjoner. Ingen enkeltarter av alger peker seg ut som salttolerante da ingen har enten høy sannsynlighet for tilstedeværelse over hele kloridspennet eller øker konsistent i sannsynlighet for tilstedeværelse med økende kloridkonsentrasjon. Det er flere kandidater som peker seg ut som sensitive (lav sannsynlighet for tilstedeværelse annet enn ved lave kloridkonsentrasjoner) og mellom-sensitive (høyest sannsynlighet for tilstedeværelse ved mellomstore kloridkonsentrasjoner). Blant de mellom-sensitive gir særlig den kombinerte sannsynligheten for tilstedeværelse for de to artene *Anabaena solitaria f. planctonica* og *Gomphosphaeria naegeliana* et entydig bilde (**Figur 11**). Blant de sensitive er det særlig de tre artene *Monoraphidium griffithii*, *Melosira distans v. alpigena* og *Merismopedia tenuissima* som gir et entydig responsforløp (**Figur 11**).



**Figur 11.** Estimerte sannsynlighet for tilstedeværelse for tre grupper av indikatorarter som funksjon av kloridkonsentrasjon. Estimatenes er generert fra GAM-prediksjoner (**Tabell 9**, Vedlegg A).

## 4. Diskusjon

Denne undersøkelsen har vist at det er overveiende sannsynlig at planktonalgesammensetningen i en innsjø vil endre seg som følge av en økning av totalchloridkonsentrasjonen i vann. Det foreligger lite data som faktisk viser at slik endring har funnet sted innen samme vann, men sammenligning mellom vann med ulike kloridkonsentrasjoner, slik vi har gjort i denne undersøkelsen, peker i denne retningen. Undersøkelser fra Canada har gitt resultater som indikerer at endringer i planktonalgesamfunnet kan finne sted allerede ved kloridkonsentrasjoner som er ned mot 12 mg/l (CEPA 1999). Ut fra vår undersøkelse synes sammensetningen av planktonalgesamfunnene først å bli påvirket ved konsentrasjoner høyere enn ca 25 mg/l, men det er også verdt å merke seg at algesammensetningen også er påvirket av andre variabler som totalt biovolum av planktonalger (konkurransen) og vannets typologi (vannkjemi). Det er spesielt algegruppene gullalger og kryptomonader som øker i andel når kloridkonsentrasjonene øker. Det er bidrag fra flere arter innen disse gruppene som bidrar til andelsøkningen, og ikke én eller få enkeltarter.

### 4.1 Konsekvenser av funnene

Sammensetningen av algesamfunnet i en innsjø synes i større grad å være påvirket av den totale algebiomassen i kalkrike ( $PC1 < 0$ ) innsjøtyper enn i kalkfattige innsjøtyper ( $PC1 > 0$ ). Den unike effekten av kloridkonsentrasjonen på algesammensetningen (dvs etter korrigering i forhold til generell vannkjemi,  $PC1$  og  $PC2$ , samt total algebiomasse), er betydelig større i kalkfattige innsjøer enn i kalkrike. I kalkfattige innsjøer skal man ikke forvente å finne arter av dinoflagellater og kiselalger i det hele tatt når kloridkonsentrasjonen overstiger 30 mg/l (23 mg/l ved  $PC1 = 2$ ) og arter fra algegruppene gullalger og kryptomonader (svelgflagellater) forventes å dominere fullstendig under de samme forholdene. I kalkrike innsjøer ser man samme tendens som i de kalkfattige, men det skal høyere kloridkonsentrasjoner til for at algesamfunnet skal endre seg og, som nevnt tidligere, for disse systemene vil bidraget fra den totale algebiomassen bidra betydelig. For eksempel estimerer modellene at en må opp i ekstreme kloridverdier ( $> 40$  mg/l) og algebiomasser ( $> 8000$  mm<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>) for at en skal forvente at dinoflagellatene og kiselalgene forsvinner (Figur 8). Tilsvarende, må en i kalkrike innsjøer opp i kloridkonsentrasjoner som er høyere enn 40 mg/l for at en skal forvente dominans (dvs mer enn 50 % av algebiomassen) av gullalger og kryptomonader – og dette gjelder kun for kalkrike innsjøer som er humøse ( $PC2 > 0$ ) (Figur 10).

Det er noe overraskende at gullalger er gruppa som responderer mest positivt på økende kloridkonsentrasjoner, men det er kjent at noen arter opptrer i både brakkvann og marint. En av artene som responderer positivt her, *Uroglana americana*, finnes i både ferskvann og brakkvann (Tikkanen & Willén 1992). Gullalger er viktige økologisk og egnet beitemateriale for mange zooplanktonarter. Mange er miksotrofe, dvs kan veksle mellom autotrof (fotosyntese) og heterotrof ernæring (da stort sett som bakteriespisere). Kryptomonader er en gruppe alger som er vanskelig å identifisere til art og gruppa opptrer i ferskvann, brakkvann og marint. Kryptomonader er derfor en viktig økologisk gruppe. Det er noe overraskende at gruppa grønnalger ikke responderer mer positivt til høye kloridkonsentrasjoner da dette er en stor gruppe som man finner i alle typer av habitater.

Undersøkelsen viser også at det unike bidraget fra klorid er mindre framtrædende ved konsentrasjoner under 25–30 mg/l enn over. Ved lavere konsentrasjoner synes særlig konkurranseforholdet (totalt biovolum av planktonalger) mellom algene å dominere utformingen av algesammensetningen, og da på en slik måte at blågrønnalgene i økende grad dominerer jo høyere algebiomassen er.

Analysene våre peker altså i retning av at algesamfunnene (litt avhengig av vanntype) ser ut til å endre seg når kloridkonsentrasjonen overstiger 25–30 mg/l. Dette er konsistent med tidligere funn hos Færøvig et al (2006). I deres studie hvor algesamfunn ble eksponert for ulike konsentrasjoner av ulike

salter (herunder NaCl), ble det vist at for å unngå skade på minst 90 % av planktonalgeartene må ikke kloridkonsentrasjonen oversige 25 mg/l.

I Bækken og Haugen (2006) sin undersøkelse av 59 vegnære innsjøer hadde 18 % (10) av innsjøene kloridkonsentrasjoner som var høyere enn 25 mg/l og 10 % (6) hadde verdier over 35 mg/l. Dette utvalget av vannforekomster hadde signifikant høyere kloridkonsentrasjoner enn et utvalg av kontrollsjøer. Selv om samtlige av disse innsjøene med kloridkonsentrasjoner > 25 mg/l var kalkrike (dvs kalsiumkonsentrasjon > 4 mg/l), så viser resultatene våre at også i slike innsjøer vil algesamfunnene bli påvirket ved så høye kloridkonsentrasjoner, dog i mindre grad enn i kalkfattige innsjøer. Ut fra resultatene fra foreliggende algeundersøkelse er det derfor sannsynlig at algesammensetningen i flere av disse vegnære innsjøene er påvirket av de høye kloridkonsentrasjonene.

## 4.2 Svakheter ved analysene

I det analyserte datasettet har kun 2,5 % av innsjøene en kloridkonsentrasjon på over 25 mg/l, og 8 av disse 9 innsjøene er kalkrike. Hele 95 % av innsjøene har kloridkonsentrasjoner som er lavere enn 20 mg/l. Med et såpass tynt datagrunnlag for høyere kloridkonsentrasjoner skal en derfor være varsom med å trekke bastante konklusjoner fra de estimerte effektene ved kloridkonsentrasjoner over 25 mg/l.

Algesamfunnenes sammensetning påvirkes av svært mange faktorer (Reynolds 1984, Tikkanen & Willén 1992). Dette gjør at en sjelden opererer med høy forklaringsstyrke når en analyserer slike datasett hvor dataene er samla inn over flere og svært forskjellige år. For eksempel har ikke analysene i denne undersøkelsen tatt høyde for klimaeffekter eller bidrag fra beitende organismer (zooplankton).

## 4.3 Videre arbeid

Det bør gjennomføres kartlegging av algesamfunnet i sjøer som vi vet har fått økt saltholdighet pga vegsalthet og der det foreligger algedata fra før saltholdigheten gikk opp. Det er viktig at en sikrer seg at i hvert fall enkelte av innsjøene som inkluderes i en slik undersøkelse har kommet opp i kloridkonsentrasjoner som overstiger 25–30 mg/l for kalkfattige sjøer og 30–40 mg/l for kalkrike, slik at det som ansees som kritisk grense overstiges. Dersom en slik test viser konsistente endringer i planktonalgesammensetning når en sammenligner sammensetning etter mange år med salting med "før" situasjonen vil man på en mer robust måte kunne konkludere i forhold til denne problemstillinga. I innsjøene hvor vi hadde flere målinger i denne undersøkelsen var sannsynligvis kloridkonsentrasjonene for lave til at betydelige endringer i algesamfunnene har funnet sted.

# II. Laboratorietester av algers toleranse for vegsalt

## 1. Introduksjon

Det brukes årlig store mengder salt på norske veier. Ved avrenning av smeltevann utsettes mange innsjøer for betydelige mengder salt. Dette ble bl.a. påvist gjennom Vegdirektoratets undersøkelse av 59 innsjøer i Sør-Norge (Bækken og Haugen 2006). Utover saltets tendens til å danne mer eller mindre sjiktede innsjøer med forhøyede saltkonsentrasjoner i bunnvannet, vil det også bli en økning av saltkonsentrasjoner i innsjøens algeproduserende sjikt (Kjensmo 1997, Færøvig et al. 2003, 2004, Bækken og Færøvig 2004, Ramakrishna og Viragraghavan 2005, Novotny et al. 2008).

Planktonalgesamfunn og sammensetningen av planktonalger kan derfor endres i innsjøer grunnet bruk av vegsalt. Dette ble påvist i en undersøkelse i regi av Vegdirektoratet (Færøvig et al. 2006). Dersom påvirkningen er av vesentlig betydning vil forurensningen komme inn under bestemmelser i Vanndirektivet.

NIVA har en stor samling av ulike kulturer av planktonalger. Med utgangspunkt i denne samlingen har vi vurdert egnede planktonalger til bruk i testene. I utgangspunktet har vi ønsket å bruke vanlig forekommende arter i norske innsjøer. Ut over det har vi også hatt som intensjon å teste arter som den statistiske undersøkelsen (se over) antyder er følsomme for høye konsentrasjoner av salt. I Vanndirektivet er innsjøene inndelt i ulike typer definert i forhold til variasjoner i enkelte naturlige egenskaper som kalsiuminnhold og humus. I den grad det har vært mulig ut fra tilgangen på testalger har vi tatt hensyn til dette.

Tidligere undersøkelser har vist at planktonalgesamfunnet påvirkes av vegsalt i innsjøer, men at det var stor bredde i tålegrensen for ulike arter (Bækken og Færøvig 2004, Færøvig et al. 2006). Uønsket vekst av cyanobakterier har i noen tilfeller blitt forklart med økt saltholdighet (Bartolomé et al. 2008), men denne gruppen responderer også ulikt (Tonk et al. 2006).

## 2. Materiale og metode

### 2.1 Definisjoner

Veksthastighet      Hastigheten på celledelingen. Ved testen beregnes den gjennomsnittlige spesifikke veksthastigheten fra start til slutt fra formelen:

$$\mu = \frac{\ln(n_s) - \ln(n_0)}{t_s} \times 24 \text{ døgn}^{-1} \text{ hvor:}$$

$n_0$  = celledetthet ved start

$n_s$  = celledetthet ved slutt

$t_s$  = antall timer mellom start og slutt

EC <sub>x</sub>	Den konsentrasjon av teststoffet som gir x % reduksjon av veksthastigheten i forhold til kontrollkulturer.
NOEC	”No Observable Effect Concentration” Den høyeste konsentrasjon som ikke viser signifikant reduksjon av veksthastigheten i forhold til kontrollkulturene

## 2.2 Materiale

Utvalgte planktonalgearter (**Tabell 2 og Figur 12**) ble testet i konsentrasjonsrekker av vegsalt (Sjøsalt fra GC Rieber Salt AS). Dette saltet var av samme type som blir anvendt på vinterveger i østlandsområdet. Det består vesentlig av NaCl, men inneholder også antiklumpemidlet kaliumferrocyanid, K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]·3H<sub>2</sub>O, samt en rekke andre stoffer i lave konsentrasjoner. Testen viser derfor planktonalgens toleranse for totalen av kjemiske komponenter i vegsalt, ikke bare NaCl. Alle testkonsentrasjoner er derfor uttrykt som konsentrasjoner av vegsalt. Dersom en vil ha saltkonsentrasjonen uttrykt som Cl<sup>-</sup>, slik som den er uttrykt i de statistiske testene kan saltkonsentrasjonene multipliseres med 0,6.

For hver av disse vanntypene har vi sjekket i planktonalgedatabasen hvilke som er vanlige. Vanlige planktonalger som finnes i NIVAs kultursamling tas ut for testing mot vegsalt. I tillegg ble det brukt resultater fra den statistiske planktonalgeanalysen (del 1) for om mulig å få med planktonalger som viser seg å være følsomme ovenfor høye kloridkonsentrasjoner i vann.

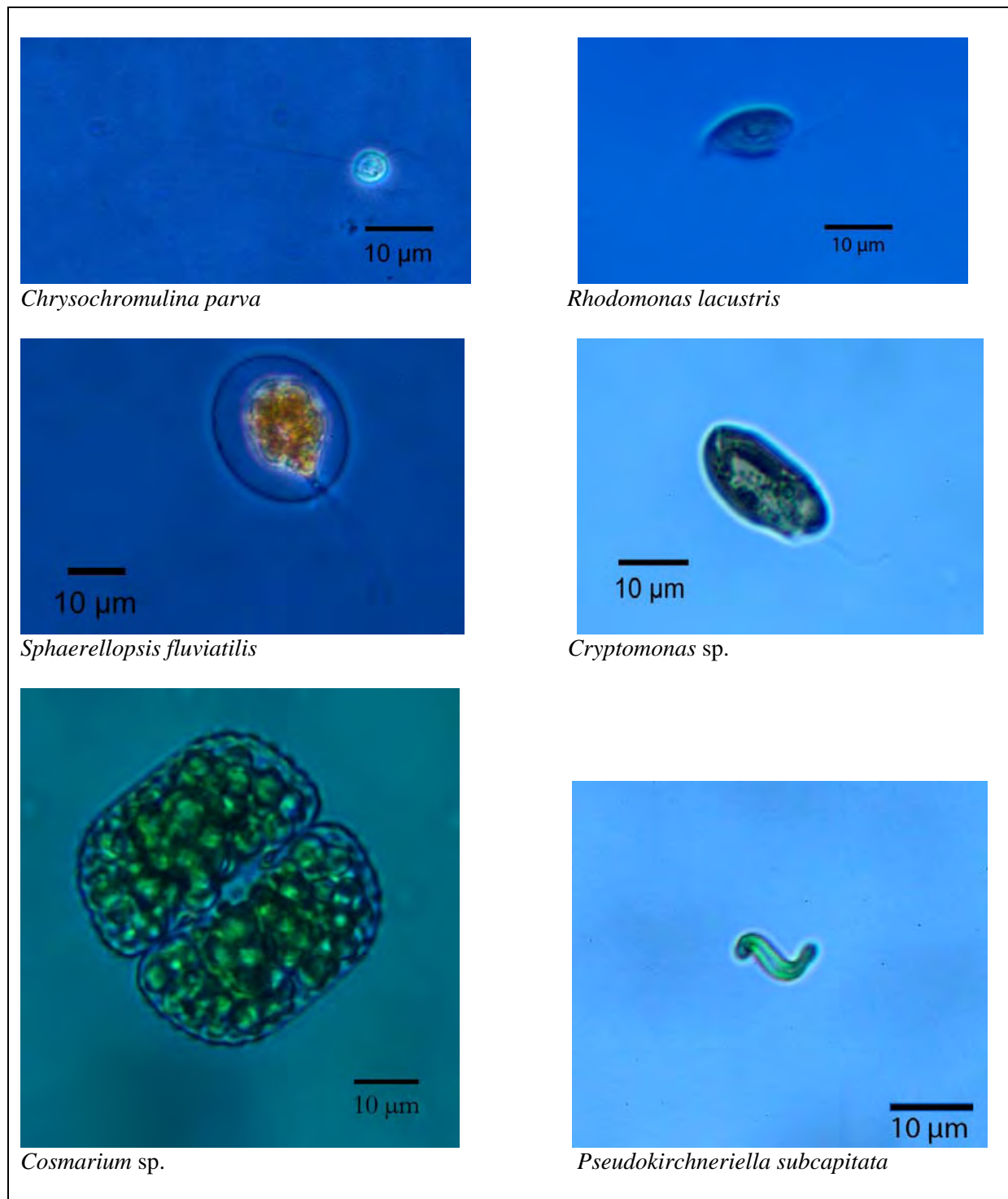
Veksten av planktonalger i en-artskultur ble undersøkt i en geometrisk konsentrasjonsserie av vegsalt i et vekstmedium. Serien som ble brukt var 320; 560; 1000; 1800; 3200 mg/l. I tre tilfeller ble serien utvidet med to konsentrasjoner lavere; 100 og 180 mg/l. I to tilfeller ble høyeste konsentrasjon litt lavere på grunn av fortykning ved tilsetning av algeinokulum. For *Rhodomonas lacustris* var serien 10 ganger lavere (tabell 2). Konsentrasjonsserien ble laget ved å blande algeinokulum, en stamløsning av vegsaltet og vekstmedium. Vegsaltet ble løst i vekstmedium, enten Z8, en fortykning av Z8 eller ISO 8692 avhengig av planktonalgen (**Tabell 2**). Hvis vekstmediet inneholdt vitaminer ble det tilsatt etter vegsalt. Sammensetningen av vekstmediumet Z8 og ISO 8692 er gitt i vedlegg C.

Planktonalgekulturene ble inkubert i tre døgn under standardiserte lys- og temperaturbetingelser og celletettheten målt hvert døgn. Celletettheten ble målt med partikkelteller (Beckman Coulter Multisizer 3), og i visse tilfeller undersøkt med mikroskop. Metoden som har blitt brukt er basert på OECD Guideline for Testing of Chemicals nr. 201; Freshwater alga and cyanobacteria, growth inhibition (2006). Veksthastighet ble regnet ut ved formelen presentert nedenfor. Effekt konsentrasjoner ble bestemt ved bruk av Hills ikke-lineær regresjon i en Excel makro (REGTOX, Vindiman 2000), NOEC ble bestemt ved t-test med alpha 0,05 for å forkaste nullhypotesen: ingen forskjell mellom gjennomsnitt. Ved test av flere grupper mot samme kontroll ble Bonferronis korreksjon brukt (alpha / antall grupper testet). Grupper som ble testet ble valgt ut etter en grafisk vurdering av testen, dvs. den høyeste konsentrasjonen som så ut til å ikke være redusert i forhold til kontroll og den laveste konsentrasjonen som så ut til å være redusert ble testet.

**Tabell 2.** Oversikt over kulturer, vekstforhold og test konsentrasjoner for testalgene.

Planktonalge	Stamme	Medium	Vegsalt kons. (mg/l)	Lys $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	NIVA-CHL 21	20% Z8 + vit.	320 - 3200	66 – 68
<i>Cosmarium sp.</i>	UiO 187	Z8	320 - 3200	66 – 68
<i>Cryptomonas pyrenoidifera</i>	NIVA-2/81	Z8 + vit.	320 - 3000	63 – 67
<i>Cryptomonas sp.1</i>	UiO 166	Z8 + vit.	320 - 2900	63 – 67
<i>Monoraphidium griffithii</i>	NIVA-CHL 8	Z8	100 - 3200	65 – 66
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	UiO 207	Z8	100 - 3200	65 – 66
<i>Sphaerellopsis fluviatilis</i>	UiO 189	Z8 + vit.	100 - 3200	65 – 66
<i>Rhodomonas lacustris</i>	NIVA-8/82	Z8 + vit.	10 - 100	32 – 34
<i>Chrysochromulina parva</i>	UiO 173	Z8	320 - 3200	38 – 40
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	NIVA-CHL 1	ISO 8692	320 - 3200	63 – 66





**Figur 12.** Seks av de testede planktonalgene (foto: Birger Skjelbred).

### 3. Resultater

To av de testede planktonalgene var lite tolerante for vegsalt. Saltkonsentrasjonen som medfører 50 % redusert vekstrate ( $EC_{50}$ ) var på 34 mg/l for *Rhodomonas lacustris* og < 320 mg/l for *Chrysocromulina parva*. Fem av planktonalgene var middels tolerante med  $EC_{50}$  verdier mellom 1000 til 3000 mg/l, mens tre algearter var tolerante og hadde  $EC_{50}$  over 3200 mg/l. Saltkonsentrasjonen der det ble påvist 10 % reduksjon ( $EC_{10}$ ) eller der det ikke kunne påvises vekstreduksjon (NOEC) var rimelig nok lavere. Resultatene er oppsummert i **Tabell 3** og vist i **Figur 13**. De forskjellige algeartene hadde vidt forskjellig veksthastighet og til dels vekstutvikling gjennom forsøket. Nedenfor kommenteres forsøkene med de enkelte planktonalgene. **Figur 14** viser veksten i løpet av enkelt forsøkene.

**Tabell 3.** Oversikt over resultatene av vekstinhibering av diverse planktonalger med vegsalt.

Planktonalge	Gruppe	$EC_{50}$ (mg/l)	$EC_{10}$ (mg/l)	NOEC (mg/l)
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Grønnalge	3000	1600	1000
<i>Cosmarium sp.</i>	Grønnalge	1800	1400	< 320
<i>Monoraphidium griffithii</i>	Grønnalge	> 3200	1200	320
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Grønnalge	> 3200	2100	1800
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	Grønnalge	> 3200	>3200	3200
<i>Sphaerellopsis fluviatilis</i>	Grønnalge	2200	600	560
<i>Cryptomonas pyrenoidifera</i>	Svelgflagellat	1800	1600	1000
<i>Cryptomonas sp.1</i>	Svelgflagellat	1000	800	< 320
<i>Rhodomonas lacustris</i>	Svelgflagellat	34	15	10
<i>Chrysochromulina parva</i>	Svepeflagellat	< 320	-	-

#### *Chlamydomonas reinhardtii*

De 48 første timene av testen var det lav veksthastighet i alle testkonsentrasjoner og i kontroll, men fra 48 til 72 timer var det rask vekst. Ved 72 timer var det kun de to høyeste konsentrasjonene som hadde signifikant redusert vekst (1800 mg/l: t-test  $p < 0,025$ ). Veksten var signifikant høyere i 1000 mg/l i forhold til kontrollen (t-test  $p < 0,025$ ).

#### *Cosmarium sp.*

Det ble observert signifikant reduksjon i veksthastighet i alle testkonsentrasjoner (560 mg/l: t-test  $p < 0,05$ ) i forhold til kontroll. Reduksjonen var imidlertid ikke mer enn 10 % for 560 mg/l, og noe lavere for 320 mg/l. I den høyeste konsentrasjonen ble det ikke observert vekst i det hele tatt. Vekstraten var ganske lav ( $\mu = 0,66$  døgn<sup>-1</sup> for kontroll), men veksten var eksponentiell gjennom testen.

#### *Cryptomonas pyrenoidifera*

Det ble observert signifikant reduksjon av vekstraten i den nest høyeste konsentrasjonen, 1800 mg/l (t-test  $p < 0,025$ ). Det ble ikke observert vekst i det hele tatt i den høyeste konsentrasjonen, 3000 mg/l, og det ble heller ikke funnet levende planktonalger ved mikroskopi. Veksten i 1000 mg/l var ikke signifikant forskjellig fra kontrollen (t-test  $p = 0,54$ ) Veksten var eksponentiell gjennom hele testen.

#### *Cryptomonas sp. 1*

Det ble observert signifikant reduksjon av vekstraten i alle testkonsentrasjonene (320 mg/l: t-test  $p < 0,05$ ). Det var ikke vekst i de to høyeste konsentrasjonene, 1800 og 3000 mg/l, disse ble undersøkt med mikroskop. Veksten var eksponentiell gjennom hele testen.

***Monoraphidium griffithii***

Det ble observert signifikant reduksjon av vekstraten fra 560 mg/l (t-test  $p < 0,025$ ), men reduksjonen ved høyeste konsentrasjon 3200 mg/l var ikke mer enn 32 %. 320 mg/l var høyeste konsentrasjon uten signifikant reduksjon av vekst i forhold til kontrollen (t-test  $p = 0,32$ ). Veksten i kulturene var også ujevn gjennom testen, det var lite vekst fra 24 til 48 timer, og nokså lik vekst fra 0 til 24 timer og fra 48 til 72 timer. Dette gjaldt alle testkonsentrasjonene og kontrollen og påvirker således resultatet lite.

***Scenedesmus dimorphus***

Det ble observert en liten reduksjon av vekstraten i høyeste konsentrasjon, 320 mg/l, i forhold til kontrollen, men den var ikke signifikant (t-test  $p = 0,052$ ). Veksten var eksponentiell de 48 første timene, men sank litt fra 48 til 72 timer, noe som tyder på at veksten i kulturene ble begrenset av tilgang på lys eller næring.

***Sphaerellopsis fluviatilis***

Veksten i de tre høyeste konsentrasjonene, 1000; 1800; 3200 mg/l, var signifikant redusert i forhold til kontrollen (1000 mg/l: t-test  $p < 0,025$ ). Det var også de to laveste konsentrasjonene, 180 og 320 mg/l, men disse sees bort fra ettersom det ikke var signifikant reduksjon i 560 mg/l (t-test  $p = 0,15$ ). Det var synkende veksthastighet for hver dag i kontrollen.

***Pseudokirchneriella subcapitata***

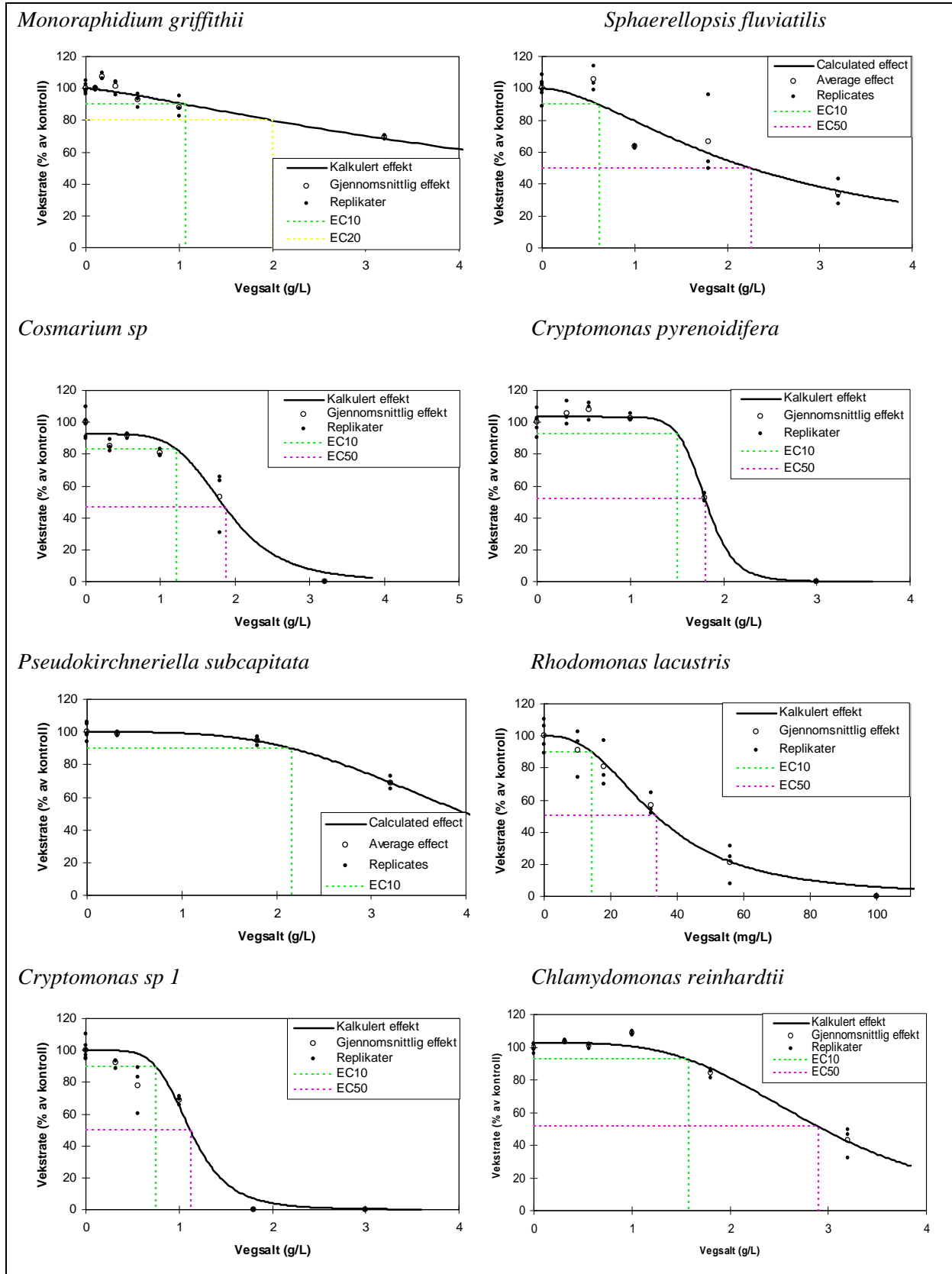
Veksten var signifikant redusert i forhold til kontrollen i 560 mg/l (t-test  $p < 0,0125$ ), men ikke i 1800 mg/l (t-test  $p = 0,051$ ). Derfor ble dataen fra 560 og 1000 mg/l utelatt fra regressjonsanalysen. Veksten i den høyeste konsentrasjonen, 320 mg/l, var svært lav fra 0 til 24 timer, men faktisk litt høyere enn kontrollen i resten av forsøket. Det var lav vekst fra 24 til 48 timer i kontrollen og alle testkonsentrasjoner bortsett fra 3200 mg/l.

***Rhodomonas lacustris***

Veksten var signifikant redusert i forhold til kontrollen fra 18 mg/l (t-test  $p < 0,05$ ). Det var ingen vekst i den høyeste konsentrasjonen, 100 mg/l. Veksten var eksponentiell gjennom hele forsøket.

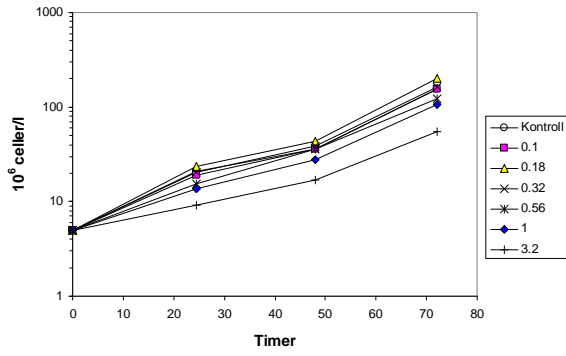
***Chrysochromulina parva***

Det var vekst kun i kontrollen og det ble ikke funnet celler ved mikroskopi i laveste konsentrasjon. Veksten i kontrollen var eksponentiell. Det var ikke mulig å beregne  $EC_{50}$  ut fra testekonsentrasjonene.

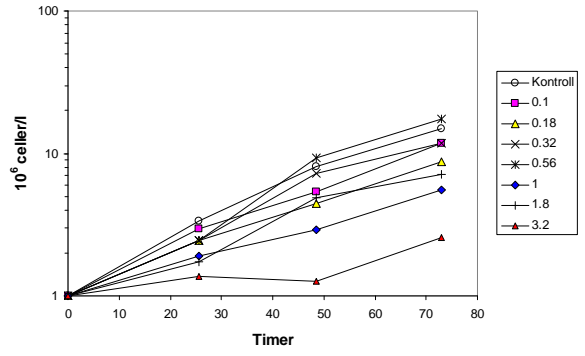


Figur 13. Vekstrate med EC10 og EC50 verdier for ulike testalger i en konsentrasjonsrekke av vegsalt.

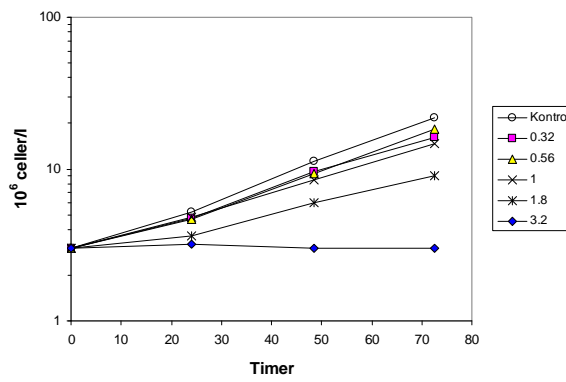
*Monoraphidium griffithii*



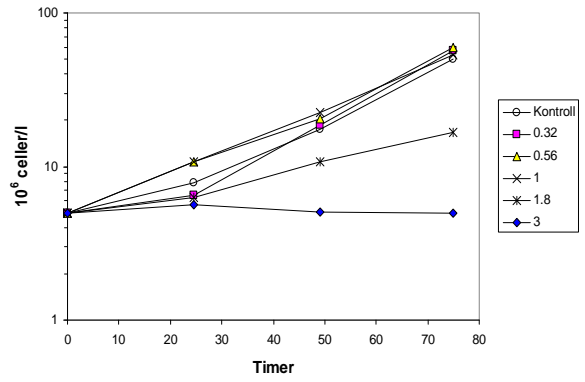
*Sphaerellopsis fluviatilis*



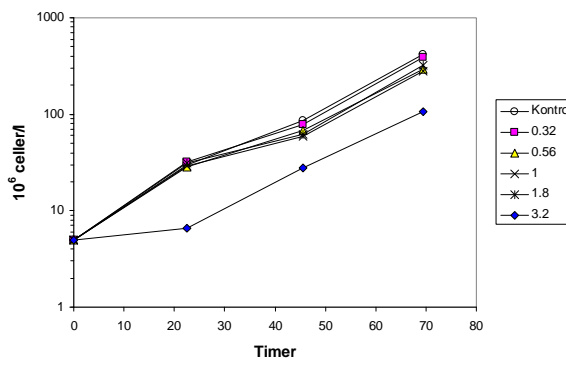
*Cosmarium sp.*



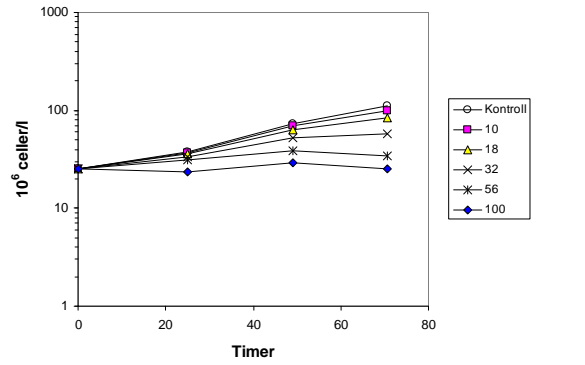
*Cryptomonas pyrenoidifera*

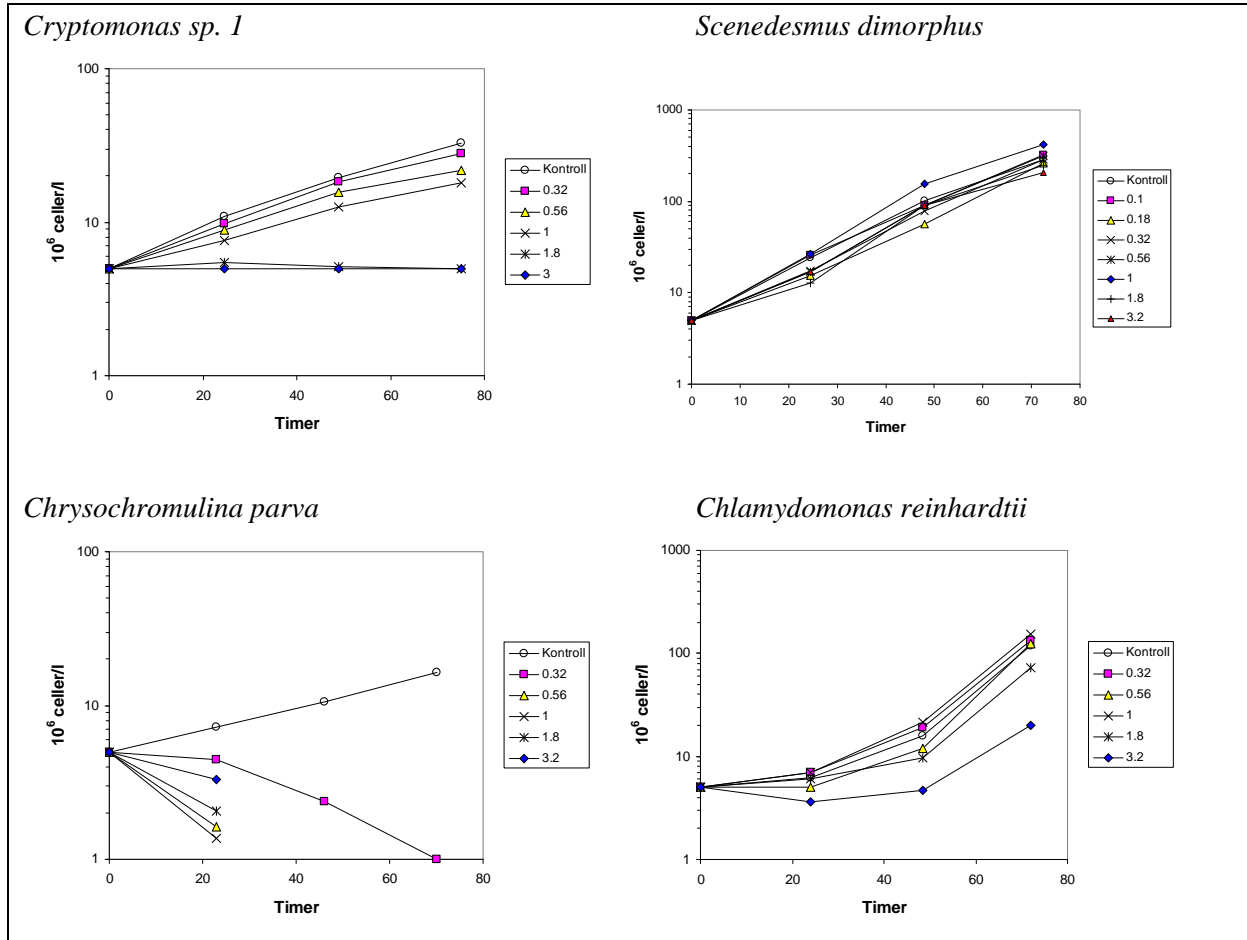


*Pseudokirchneriella subcapitata*



*Rhodomonas lacustris*





Figur 14.. Gjennomsnittlig celledetthet gjennom testene. Legg merke til at y-aksen er logaritmisk.

## 4. Diskusjon

Alle de testede planktonalgene er vanlig i norske innsjøer. De testede planktonalgekulturene er hentet fra forskjellige innsjøer og er dyrket i NIVAs kultursamling. Laboratorietester medfører at de testede organismene settes i en unaturlig situasjon. Det gjør at testresultater ikke kan overføres direkte til naturlige forhold. Det som imidlertid vil registreres, er de direkte veksthemmende effektene et testekjemikalie har på en isolert planktonalgepopulasjon.

To av de testede planktonalgene hadde forholdsvis lav toleranse for salt. Dette var *C. parva* ( $EC_{50} < 320$  mg/l) og *R. lacustris* ( $EC_{50}$  34 mg/l) som begge er kulturer isolert fra kalkrike og humøse innsjøer (henholdsvis Nordby tjernet i Akershus og Ilestadvannet i Vestfold). De andre planktonalgene hadde høy salttoleranse. For fem av planktonalgene ble vekstraten halvert ( $EC_{50}$ ) ved testkonsentrasjoner mellom 1000 til 3000 mg/l. Av disse er *C. reinhardtii* ( $EC_{50}$  på 3000 mg/l) en kosmopolitt som finnes i mange vann typer. *S. fluviatilis* ( $EC_{50}$  på 2200 mg/l) foretrekker små innsjøer / dammer. Begge er flagellater. *Cosmarium* ( $EC_{50}$  på 1800 mg/l) er isolert fra en liten, humøs innsjø i Akershus. To stammer av *Cryptomonas* hadde  $EC_{50}$  på 1800 mg/l og 1000 mg/l. Disse svelgflagellatene finnes i alle typer av innsjøer. For tre planktonalgearter ble det ikke påvist en halvering av vekstraten før testkonsentrasjonene var høyere enn 3200 mg/l. Alle tre er grønnalger og vanlige i innsjøer.

De fleste testalgene var tolerante ovenfor høye saltkonsentrasjoner men det var stor variasjon mellom de testede planktonalgene, noe også forsøk med naturlige kulturer har vist (Færøvig et al. 2006). Forskjellige stammer fra samme art kan også ha forskjellige toleransegrenser, noe som kan indikere hvorfor *M. griffithii* var tolerant i eksponeringsforsøkene og sensitiv i den statistiske analysen. *P. subcapitata* benyttes i standardtester (ISO 8692, Faafeng et al. 1994, Radetski et al. 1995). Forsøkene her viste at den var tolerant for saltpåvirkning.

### III. Overordnet diskusjon og konklusjon

Planktonalgenes toleranse i forhold til salt er i foreliggende arbeider belyst på to helt ulike måter: statistisk analyse og laboratorietester. I tillegg har Vegdirektoratet tidligere fått (Færøvig et al 2006) utført en annen test på planktonalgesamfunn mot ulike salttyper. Testene utført av Færøvig et al hadde en litt annen metodikk enn de som er foretatt i det foreliggende arbeidet. Vi har derfor 3 ulike måter å vurdere planktonalgenes salttoleranse på.

Planktonalgematerialet fra de 357 innsjøene antyder at det skjer endringer i planktonalgesamfunnene i et konsentrasjonsområde for klorid omkring 20-30 mg/l. Dette er først og fremst tydelig for kalkfattige innsjøer (<4 mg/l Ca). Resultatet stemmer godt overens med resultatene fra Færøvig et al. (2006). Konklusjonen fra denne undersøkelsen var at kloridkonsentrasjonene måtte holdes under 25 mg/l for å unngå skade på minst 90 % av planktonalgeartene. Laboratorietestene utført i foreliggende arbeid er utført på et utvalg av planktonalgearter som er vanlig forekommende i norske vannforekomster, samt på arter valgt ut fra resultatene fra den statistiske undersøkelsen. Laboratorietester er i sin natur et kunstig system, der planktonalgene har andre betingelser og kan påvirkes på andre måter enn i en innsjø. Generelt for slike tester er derfor at en må være forsiktig med overføre resultatene direkte til naturlige forhold. Resultatene fra laboratorietestene viste at mange vanlige arter hadde høy toleranse for vegsalt. Andre arter viste imidlertid stor følsomhet ovenfor salt. For de mest følsomme artene i denne testen ble det registrert at veksthastigheten ble halvert ved vegsaltkonsentrasjoner omkring 34 mg/l vegsalt. Omgjort til klorid tilsvarer det 20 mg/l. En 10 % reduksjon ble observert ved ca 15 mg/l salt. Den mest følsomme algen (*Rhodomonas lacustris*) har altså en klar negativ respons på salt i samme konsentrasjonsområde som vi finner både i den statistiske analysen og i tidligere tester. Selv om datamaterialet anvendt i den statistiske analysen har få innsjøer med høyt kloridinnhold, og selv om resultater fra laboratorietester skal tolkes med varsomhet, så peker alle undersøkelsene i samme retning, nemlig at det skjer noe med planktonalgesamfunnet når kloridkonsentrasjonene når 20-30 mg/l.



## Referanser

- Bartolomé, M.C., D'ors, A., Sánchez-Fortún, S. 2009. Toxic effects induced by salt stress on selected freshwater prokaryotic and eukaryotic microalgal species. *Ecotoxicology* 18: 174-179.
- Benbow, M.E., Merritt, R.W. 2004. Road-salt toxicity of select Michigan wetland macroinvertebrates under different testing conditions. *Wetlands* 24(1): 68-76.
- Bækken, T., Færøvig, P.J. 2004. Effekter av vegforurensinger på vannkvalitet og biologi i Padderuvann. Statens vegvesen, Vegdirektoratet publ. nr. 106, Oslo..
- Bækken, T. and T. O. Haugen. 2006. Kjemisk tilstand i vegnære innsjøer: Påvirkning fra avrenning av vegsalt, tungmetaller og PAH. Oslo, Vegdirektoratet, Utbyggingsavdelingen: 91.
- Canadian Environmental Protection Act. 1999 (CEPA 1999). Code of practice for the environmental management of road salts (section 64).
- Direktoratsgruppa Vanndirektivet, 2009. Veileder 01: 2009 Klassifisering av miljøtilstand i vann, [www.vannportalen.no](http://www.vannportalen.no)
- Faafeng, B.A., Donk E., Källqvist, S.T. 1994. In situ measurement of algal growth potential in aquatic ecosystems by immobilized algae. *Journal of Applied Phycology*, 6 (3) 1573-5176.
- Færøvig, P.J., Andersen, T., Skjelbred, B. 2006. Veisalt og planteplankton i innsjøer. Salt og biologiske tålegrenser. Statens Vegvesen. Rapport UTB 2006/04, 45 s.
- Færøvig, P.J., Kaasa, B., Kjensmo, J. 2003. Innvirkningen på Svinesjøens vannmasser og sirkulasjonsforhold etter 3 års stans av vegsalting i innsjøens nedslagsfelt. Rapport nr. III. Universitetet i Oslo. 22 s.
- Færøvig, P.J., Kaasa, B., Kjensmo, J. 2004. Undersøkelse av Svartputt, Svinesjøen, Nordvann, Verkensvann og Ulvenvann i Asker kommune – med spesiell vekt på fosforutviklingen i innsjøene. Universitetet i Oslo. 40 s.
- Gu, C., and G. Wahba. 1991. Minimizing GCV/GML scores with multiple smoothing parameters via the Newton method. *Siam Journal on Scientific and Statistical Computing* 12:383-398.
- Haugen, T. O. (2007). Fish responses to eutrophication. REBECCA - Final Conference, Oslo, NIVA.
- ISO 8692. 2004. Water Quality - Algal growth inhibition test with unicellular green algae.
- Kjensmo, J. 1997. The influence of road salts on the salinity and meromictic stability of Lake Svinsjøen, southeastern Norway. *Hydrobiologia* 347: 151-158.
- Lyche Solheim, A.L. og Schartau A.C. 2004. Revidert typologi for norske elver og innsjøer. Tilleggsrapport for første versjon av typologien for ferskvann. – NIVA Rapport 4888-2004.
- Novotny, E.V., Murphy, D., Stefan, H.G. 2008. Increase of urban lake salinity by road deicing salt. *Science of Total Environment* 406: 131-144.

- OECD, 2006. Guideline for Testing of Chemicals nr. 201; Freshwater alga and cyanobacteria, growth inhibition.
- Ptacnik, R., L. Lepistö, E. Willén, P. Brettum, T. Andersen, S. Rekolainen, A. Lyche Solheim, and L. Carvalho. 2008. Quantitative responses of lake phytoplankton to eutrophication in Northern Europe. *Aquatic Ecology* 42:227.
- Radetski, C.M., Ferard, J-F, Blaise, C. 1995. A semistatic microplate-based phytotoxicity test. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 14 (2): 299-302.
- Ramakrishna, D.M., Viraraghavan, T. 2005. Environmental impact of chemical deicers – A review. *Water, Air and Soil Pollution* 166: 49-63.
- Reynolds, C. S. (1984) *The Ecology of Freshwater Phytoplankton*. Cambridge University Press. 384 sider.
- Tikkanen, T. & Willén, T. (1992) *Växtplanktonflora* Naturvårdsverket. 280 sider.
- Tonk, L., Bosch, K., Visser, P.M., Huisman, J. 2007. Salt tolerance of the harmful cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Aquatic Microbial Ecology* 46: 117-123.
- Wood, S. N. (2006). *Generalized Additive Models: An Introduction with R*, Chapman & Hall. Yee, T. W. 2010. The VGAM package for categorical data analysis. *Journal of Statistical Software* 32:1-34.
- Yee, T. W., and C. J. Wild. 1996. Vector generalized additive models. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B, Methodological* 58:481-493.

## Vedlegg A. Statistikkstabeller

**Tabell 4.** VGAM (multivariat GAM) statistikk og parameterestimerer for modell som estimerer andel av de ulike planktonalgegruppene som funksjon av kloridkonsentrasjon. Modellen er tilpasset som multinominell modell hvor hvert responsnivå (dvs planktonalgegruppe) har fått fritt responsforløp (dvs åpner for ikke-parallelitet). edf = estimert antall frihetsgrader for smoothfunksjonene.

Responskomponent	Intercept			smoothing parameter				
	estimerer	s.e.	p	estimerer	s.e.	edf	$\chi^2$	p
log(Kryptomonader/alle)	0.85907	0.01938	<0.00001	0.12942	0.00211	2.6	3020.5	<0.00001
log(Dinoflagellater/alle)	0.07032	0.01983	0.0052	0.46035	0.00213	2.7	4656.6	<0.00001
log(Gullalger/alle)	0.48600	0.01954	<0.00001	0.13047	0.00213	2.9	12793.5	<0.00001
log(Kiselalger/alle)	0.09210	0.01989	0.0012	-0.39286	0.00211	2.5	8455.4	<0.00001
log(Grønnalger/alle)	0.57834	0.01962	<0.00001	0.01611	0.00210	2.5	3046.1	<0.00001
log(Myalger/alle)	0.07281	0.02373	0.0122	1.33358	0.00252	2.8	5795.4	<0.00001
log(Blågrønnalger/alle)	0.33313	0.01878	<0.00001	0.10749	0.00207	2.6	4563.8	<0.00001

**Tabell 5.** GAM-modell estimerer for modell som predikerer andel **gullalger** som funksjon av klorid, vannkjemi (PC1) og total planktonalgebiomasse.

Family: gaussian  
Link function: identity

Formula:  
Gullalger/tot.phyt.agg ~ s(Cl, pcl, log.tot.phyt, k = 12)

Parametric coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	0.255107	0.006686	38.15	<2e-16 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Approximate significance of smooth terms:

	edf	Ref.df	F	p-value
s(Cl,pcl,log.tot.phyt)	9	9	27.38	<2e-16 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

R-sq.(adj) = 0.457    Deviance explained = 45.1%  
GCV score = 0.019593    Scale est. = 0.019135    n = 428

**Tabell 6.** GAM-modell estimater for modell som predikterer andel **dinoflagellater og kiselalger** som funksjon av klorid, vannkjemi (PC1) og total planktonalgebiomasse.

Family: gaussian  
Link function: identity

Formula:

(Dinoflagellater + Kiselalger)/tot.phyt.agg ~ s(Cl, pc1, log.tot.phyt, k = 12)

Parametric coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	0.203724	0.009566	21.30	<2e-16 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Approximate significance of smooth terms:

	edf	Ref.df	F	p-value
s(Cl,pc1,log.tot.phyt)	9	9	7.515	3.21e-10 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

R-sq.(adj) = 0.191    Deviance explained = 19.9%  
GCV score = 0.040105    Scale est. = 0.039168    n = 428

**Tabell 7.** GAM-modell estimater for modell som predikterer andel **blågrønnalger** som funksjon av klorid, vannkjemi (PC1) og total planktonalgebiomasse

Family: gaussian  
Link function: identity

Formula:

Blågrønnalger/tot.phyt.agg ~ s(Cl, pc1, log.tot.phyt, k = 12)

Parametric coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	0.093918	0.007823	12.01	<2e-16 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Approximate significance of smooth terms:

	edf	Ref.df	F	p-value
s(Cl,pc1,log.tot.phyt)	9	9	15.19	<2e-16 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

R-sq.(adj) = 0.28    Deviance explained = 27.6%  
GCV score = 0.026821    Scale est. = 0.026194    n = 428

**Tabell 8.** GAM-modell estimater for modell som predikterer andel **gullalger og kryptomonader** som funksjon av klorid, vannkjemi (PC1 og PC2) og total planktonalgebiomasse.

Family: gaussian  
 Link function: identity

Formula:  
 (Gullalger + Kryptomonader)/tot.phyt.agg ~ s(Cl, pc1, log.tot.phyt,  
 k = 12) + s(pc2, k = 4)

Parametric coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	0.475202	0.009599	49.5	<2e-16 ***

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Approximate significance of smooth terms:

	edf	Ref.df	F	p-value
s(Cl,pc1,log.tot.phyt)	9.000	9.000	18.004	< 2e-16 ***
s(pc2)	2.854	2.854	7.302	0.000120 ***

---  
 Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

R-sq.(adj) = 0.366    Deviance explained = 36.5%  
 GCV score = 0.040659    Scale est. = 0.039438    n = 428

**Tabell 9.** Modellestimater for enkeltarter der sannsynlighet for forekomst (p) hos a) sensitive arter, b) mellomensitive arter og c) ikke-sensitive arter er modellert som funksjon av kloridkonsentrasjon. Modellene er tilpassa vha GAM-verktøyet og parameterestimaterne er oppgitt på logit-skala ( $\ln(p/1-p)$ )

**a) Sensitive arter (*Monoraphidium griffithii*, *Melosira distans v. alpigena* og *Merismopedia tenuissima*):**

Parametric coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z )
(Intercept)	-0.8563	0.3417	-2.506	0.0122 *

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Approximate significance of smooth terms:

	edf	Ref.df	Chi.sq	p-value
s(Cl)	1.613	1.613	47.70	2.04e-11 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

R-sq.(adj) = 0.229 Deviance explained = 20.3%

UBRE score = 0.10927 Scale est. = 1 n = 440

**b) Mellomsensitive arter (*Anabaena solitaria f. planctonica* og *Gomphosphaeria naegeliana*):**

Parametric coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z )
(Intercept)	-1.8855	0.1667	-11.31	<2e-16 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Approximate significance of smooth terms:

	edf	Ref.df	Chi.sq	p-value
s(Cl)	2.529	2.529	62.82	6.35e-14 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

R-sq.(adj) = 0.147 Deviance explained = 15.7%

UBRE score = -0.19048 Scale est. = 1 n = 440

**c) Ikke-sensitive arter (My-alger):**

Parametric coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z )
(Intercept)	4.7982	0.6459	7.429	1.10e-13 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Approximate significance of smooth terms:

	edf	Ref.df	Chi.sq	p-value
s(Cl)	2.003	2.003	6.819	0.0332 *

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

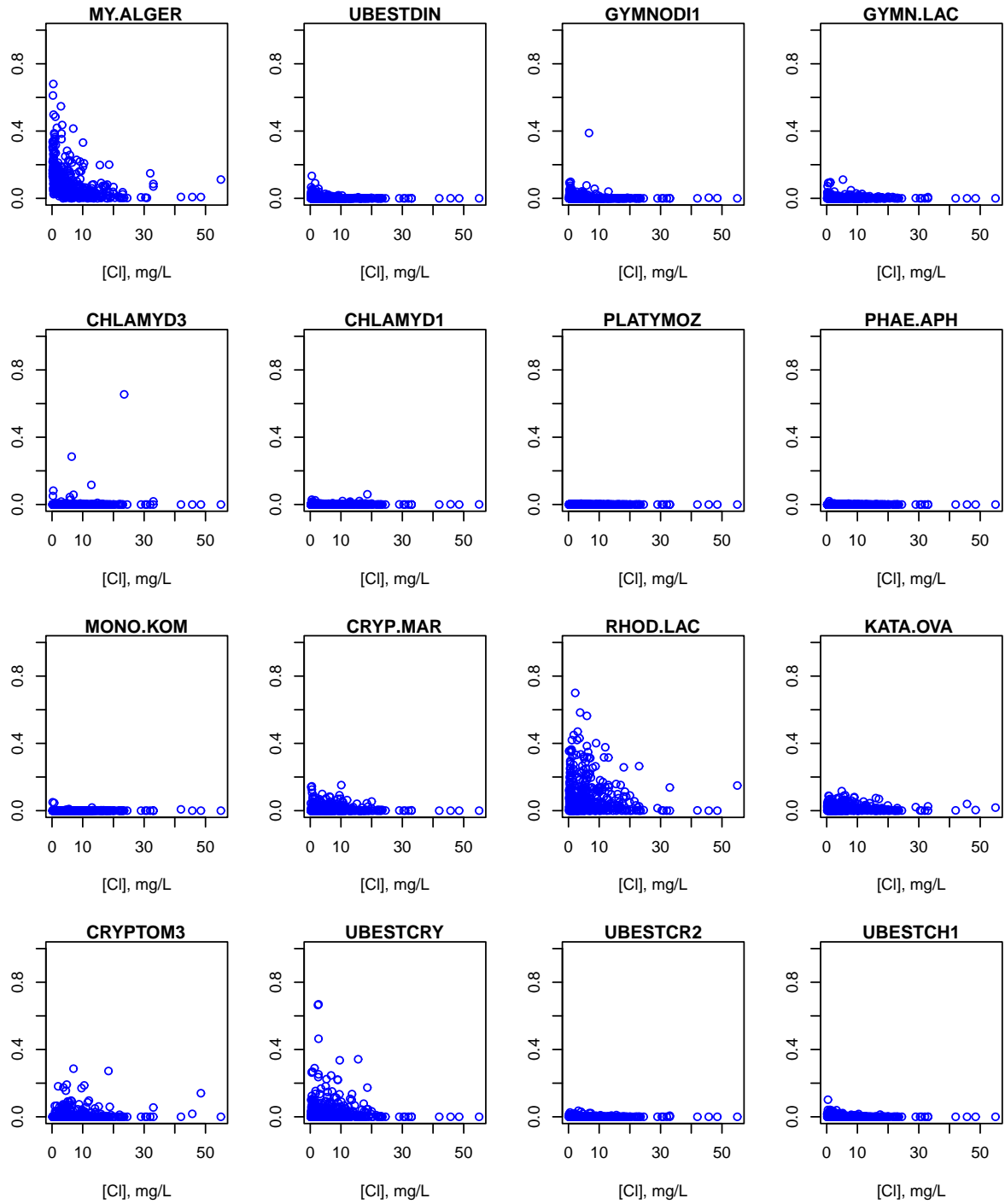
R-sq.(adj) = 0.0278 Deviance explained = 14.1%

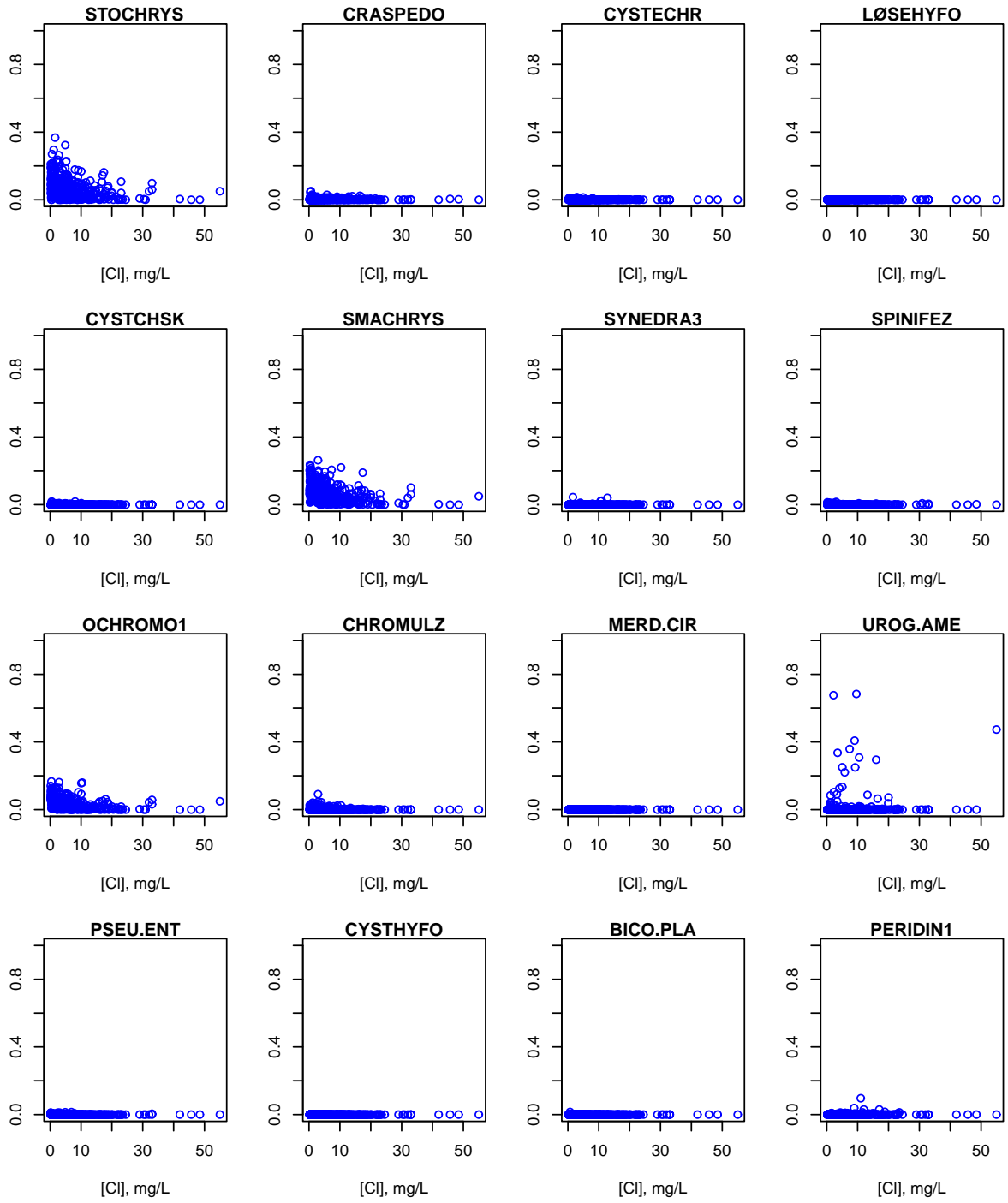
UBRE score = -0.83015 Scale est. = 1 n = 440

## Vedlegg B.

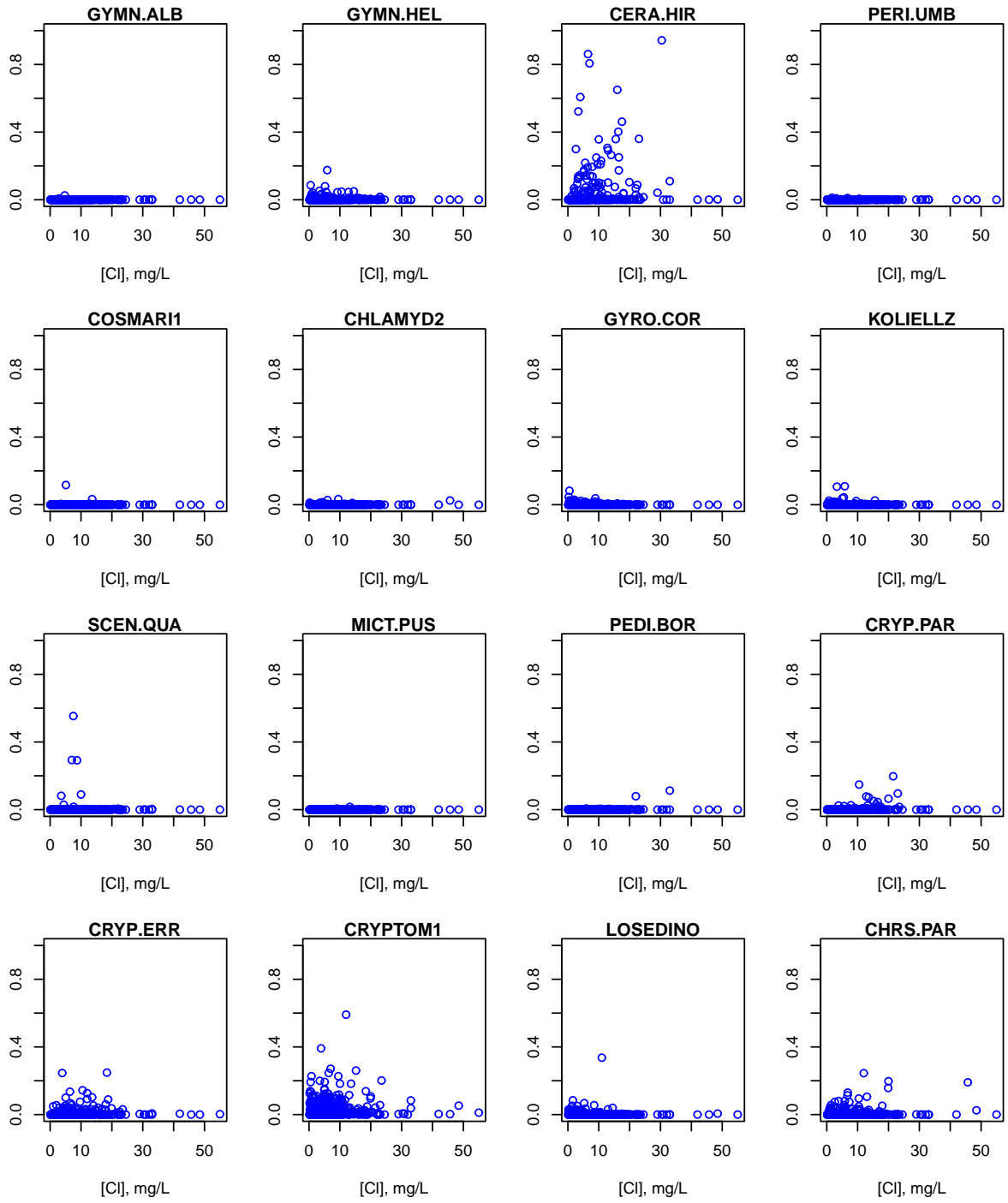
### Biplott av de enkelte algartenes andel av det totale planktonalgebiovolumet som funksjon av kloridkonsentrasjonen

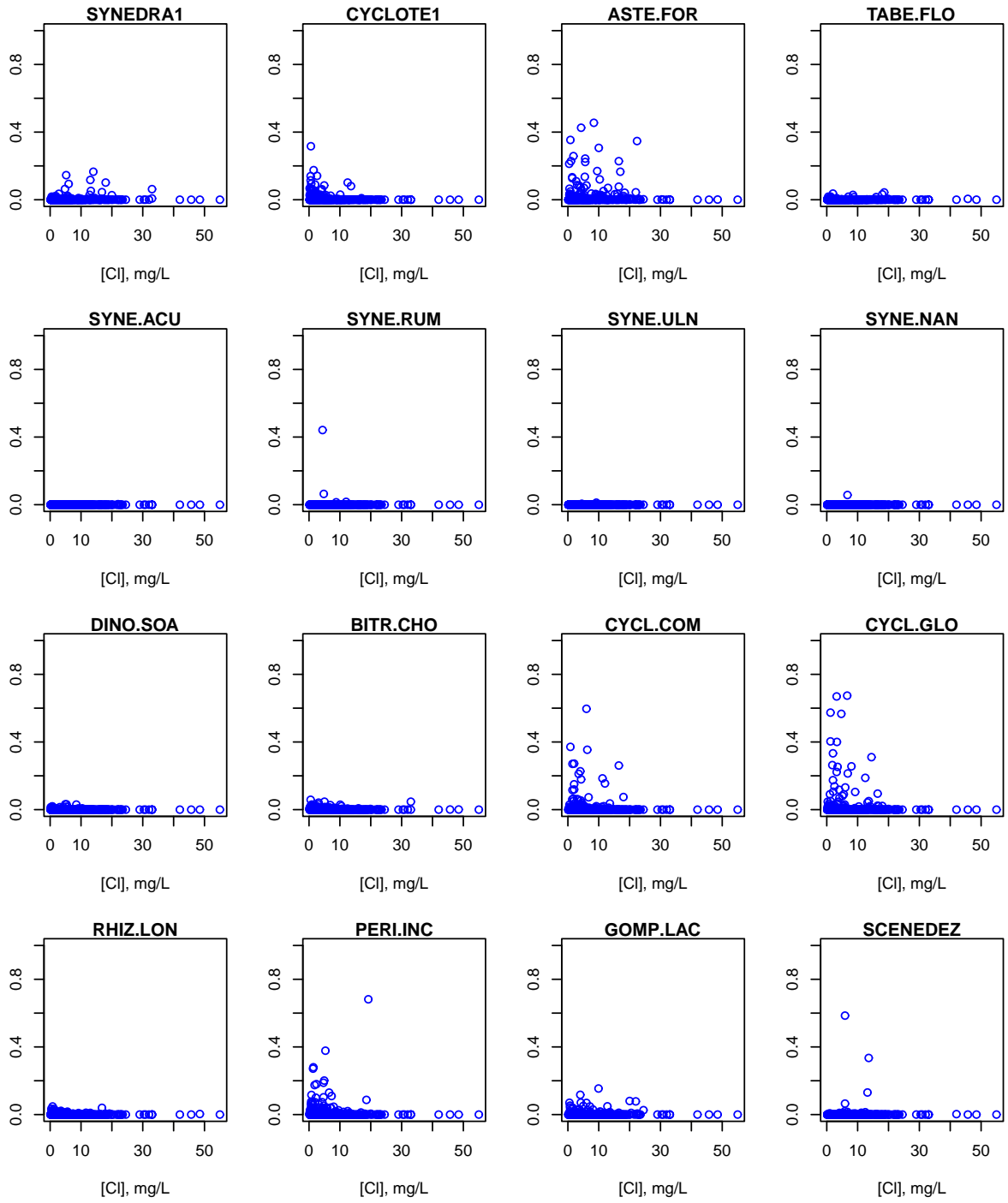
De enkelte artene er oppgitt som Rubinkode.

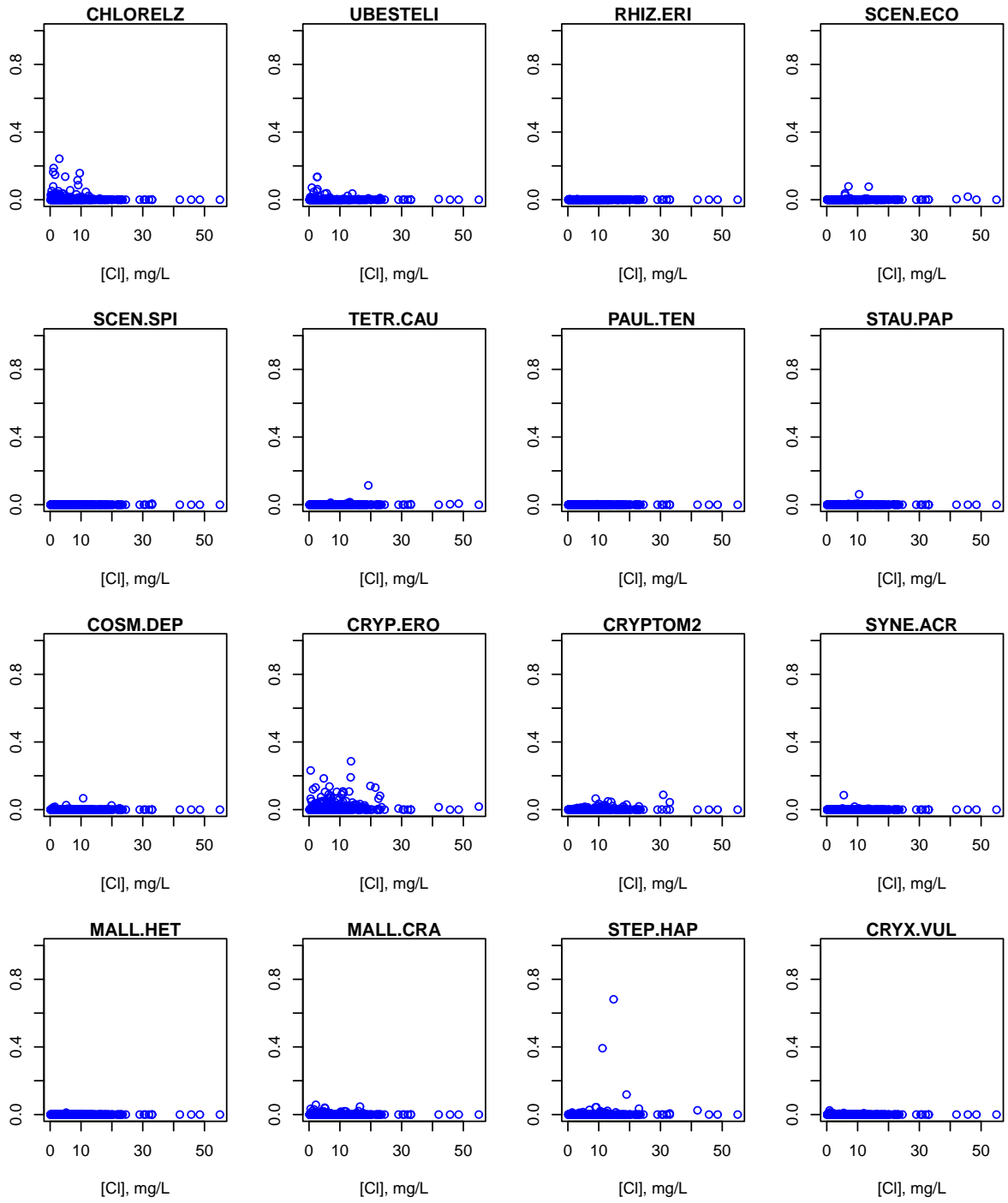


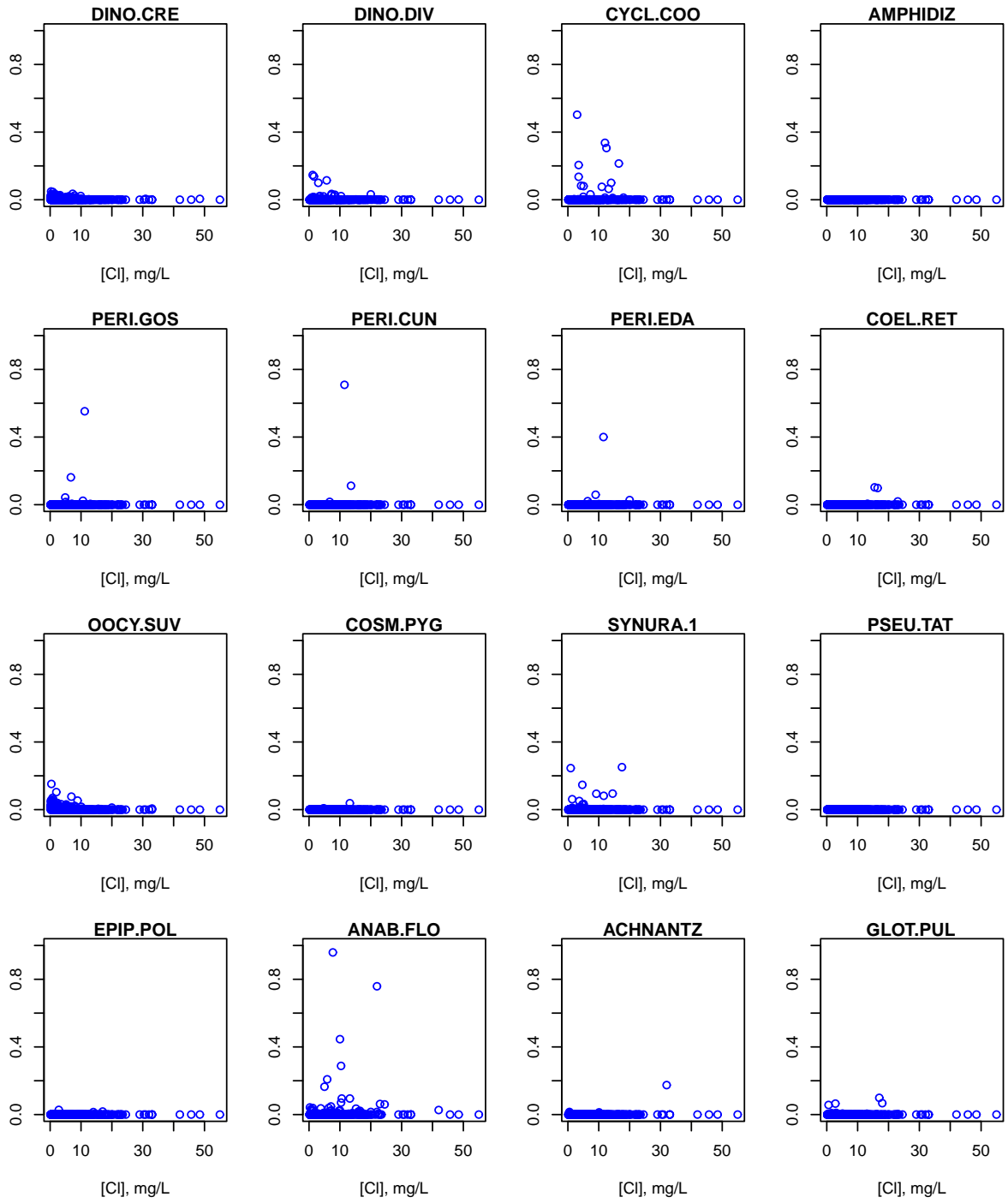


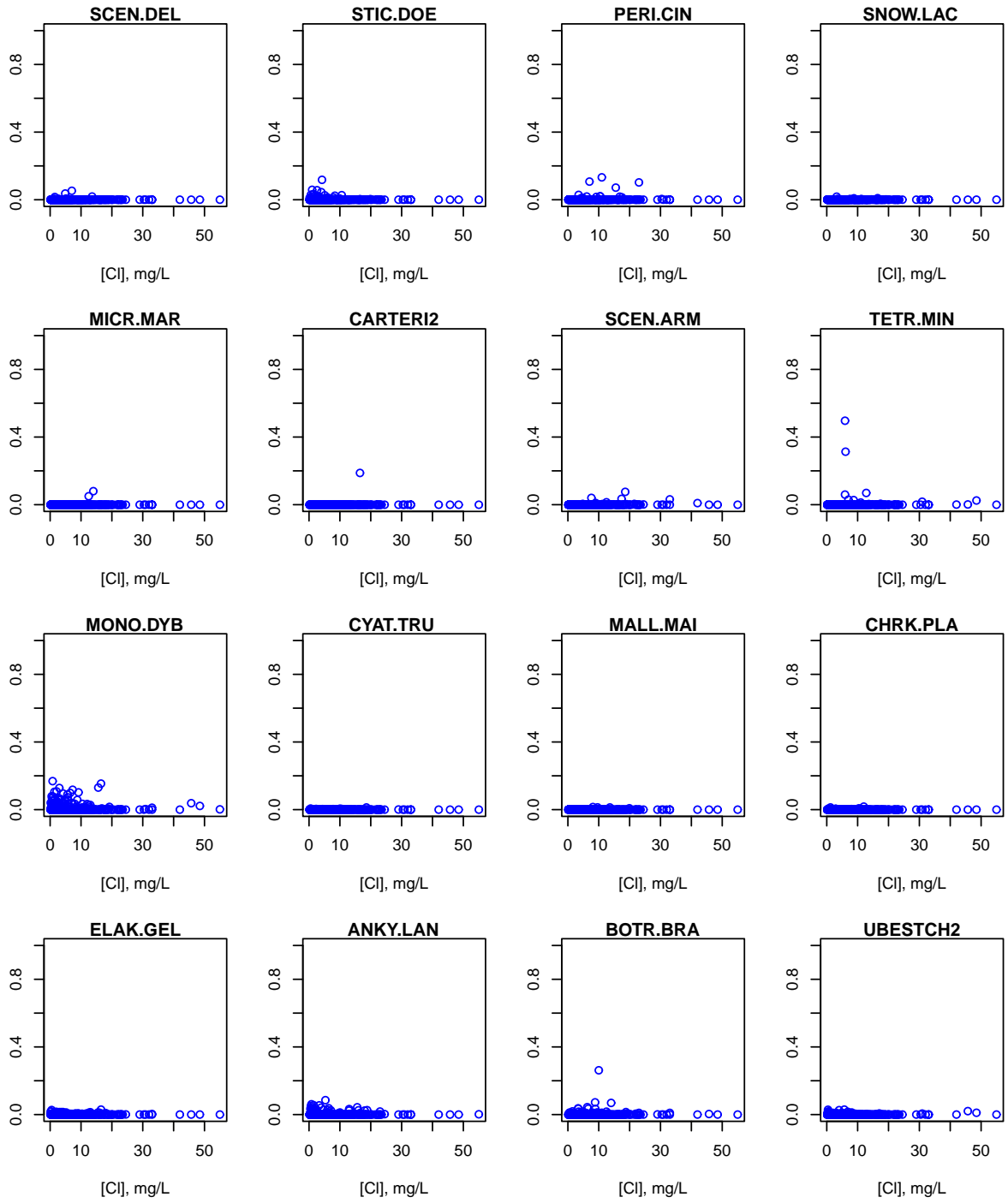


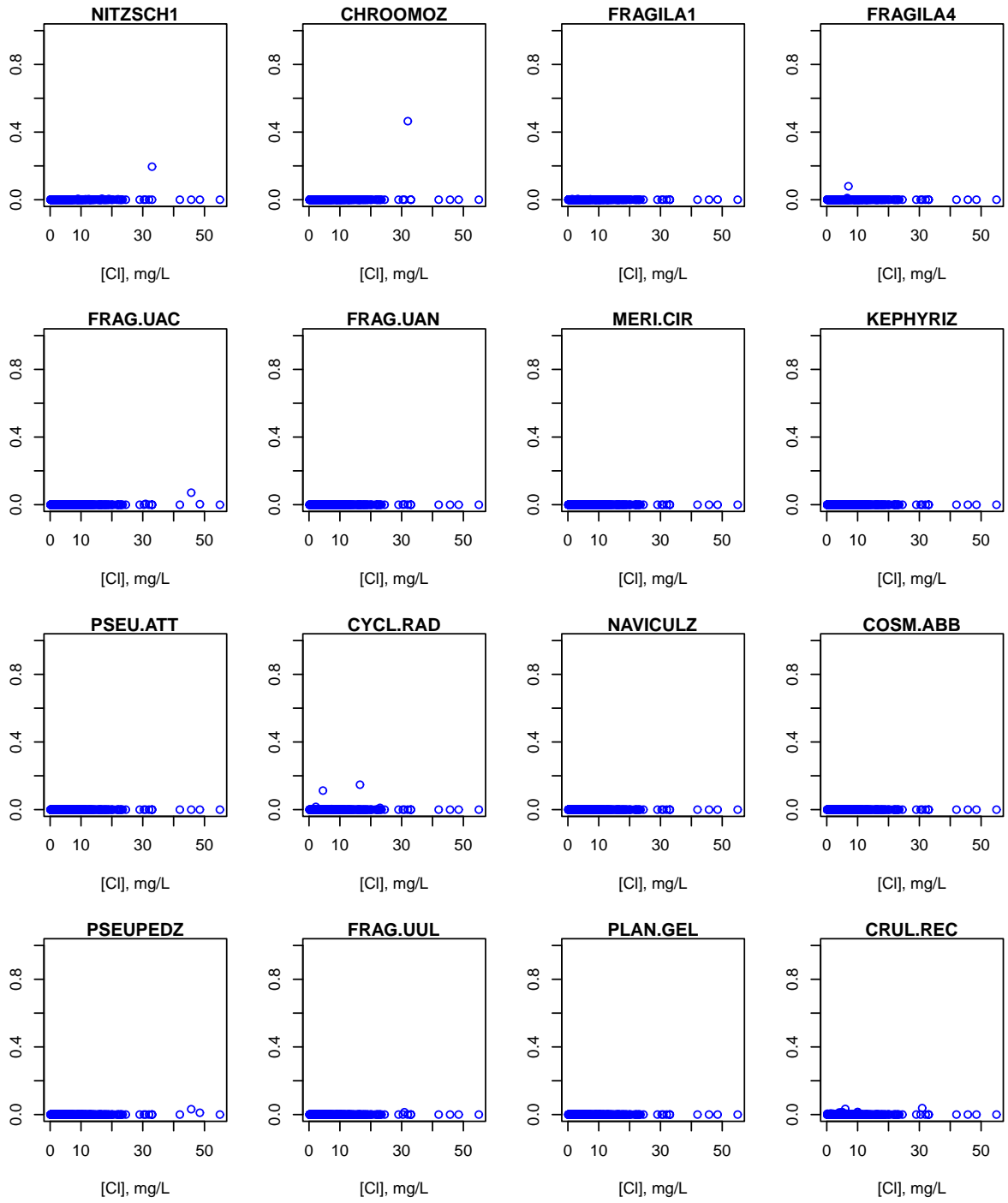


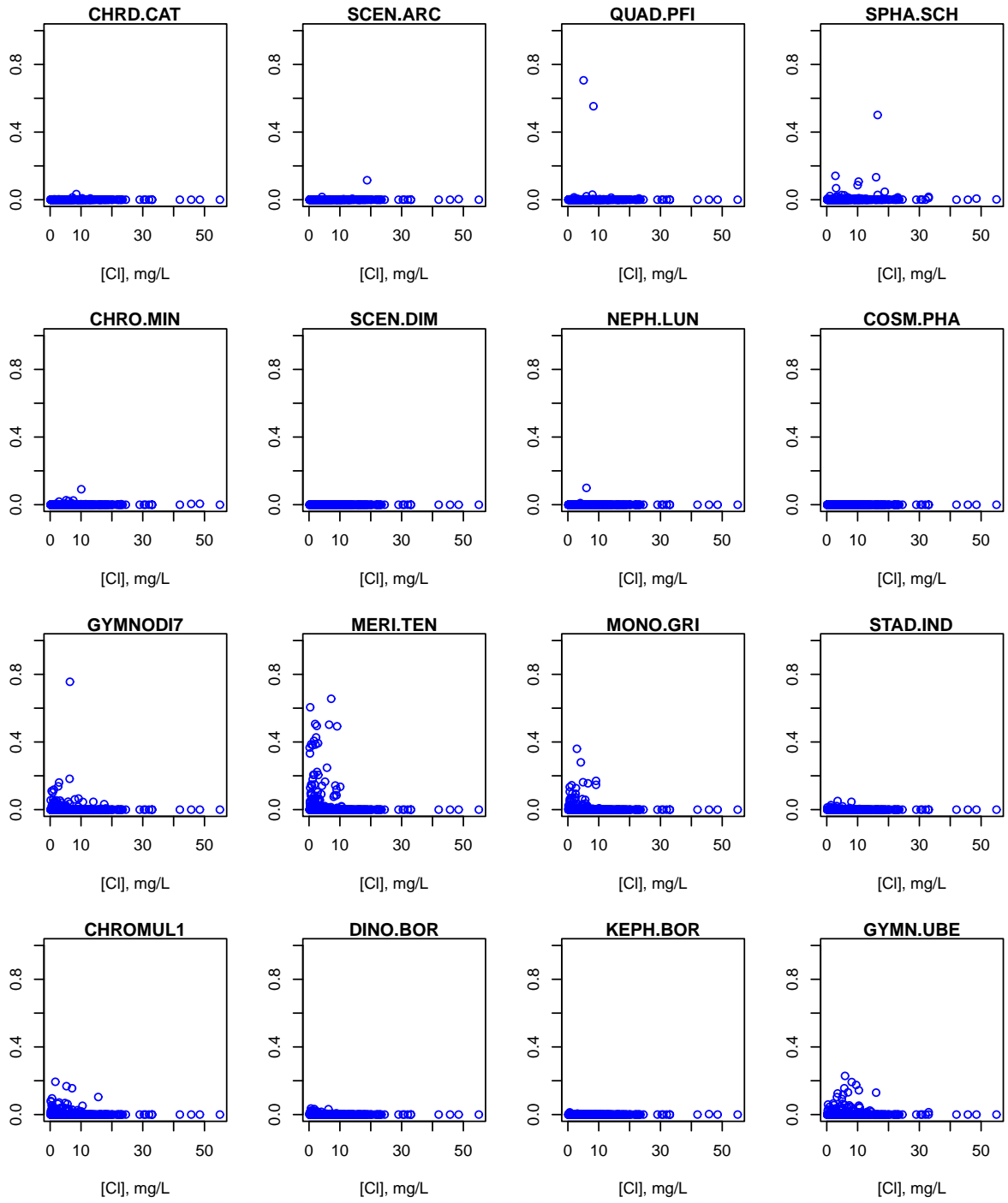


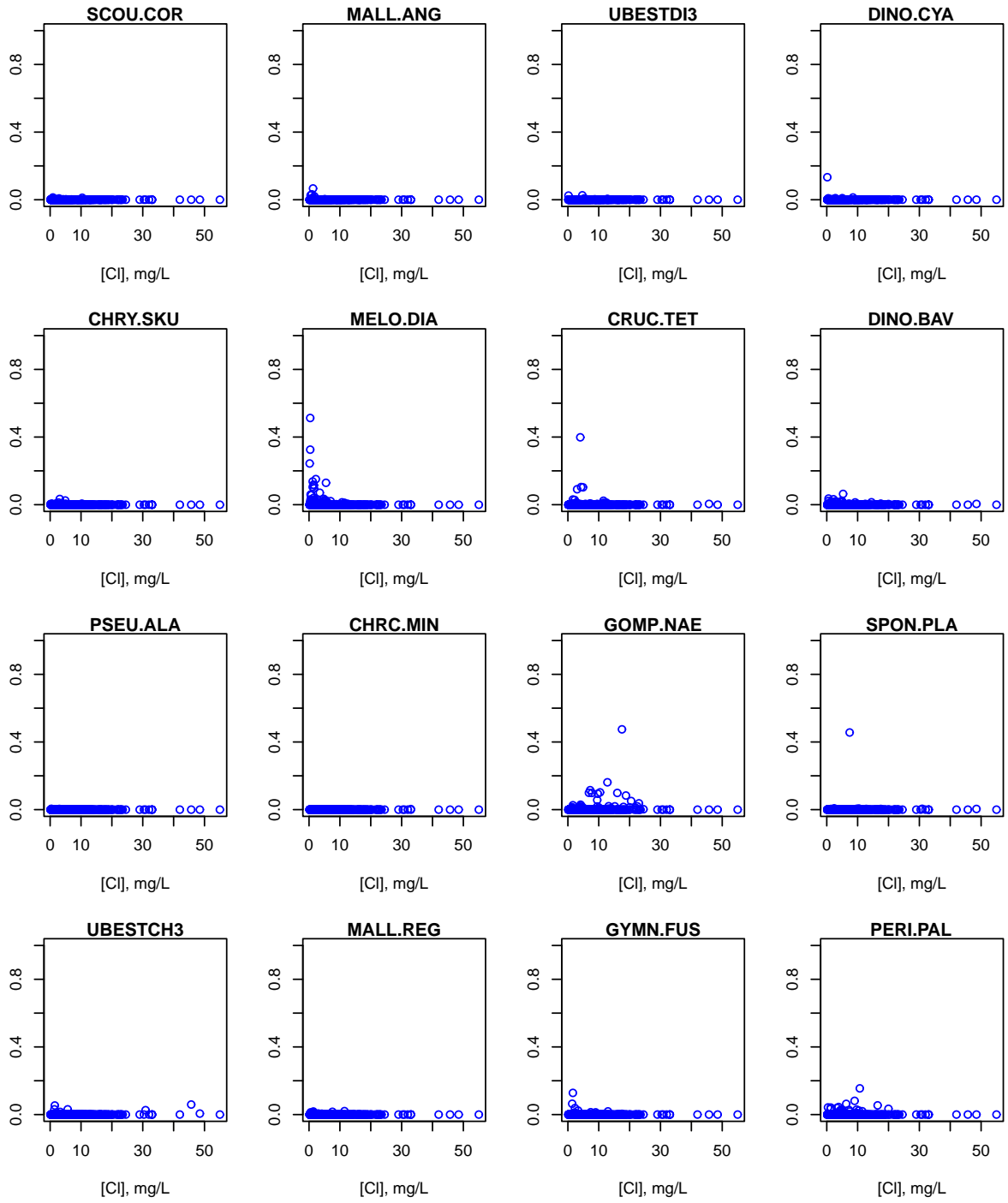




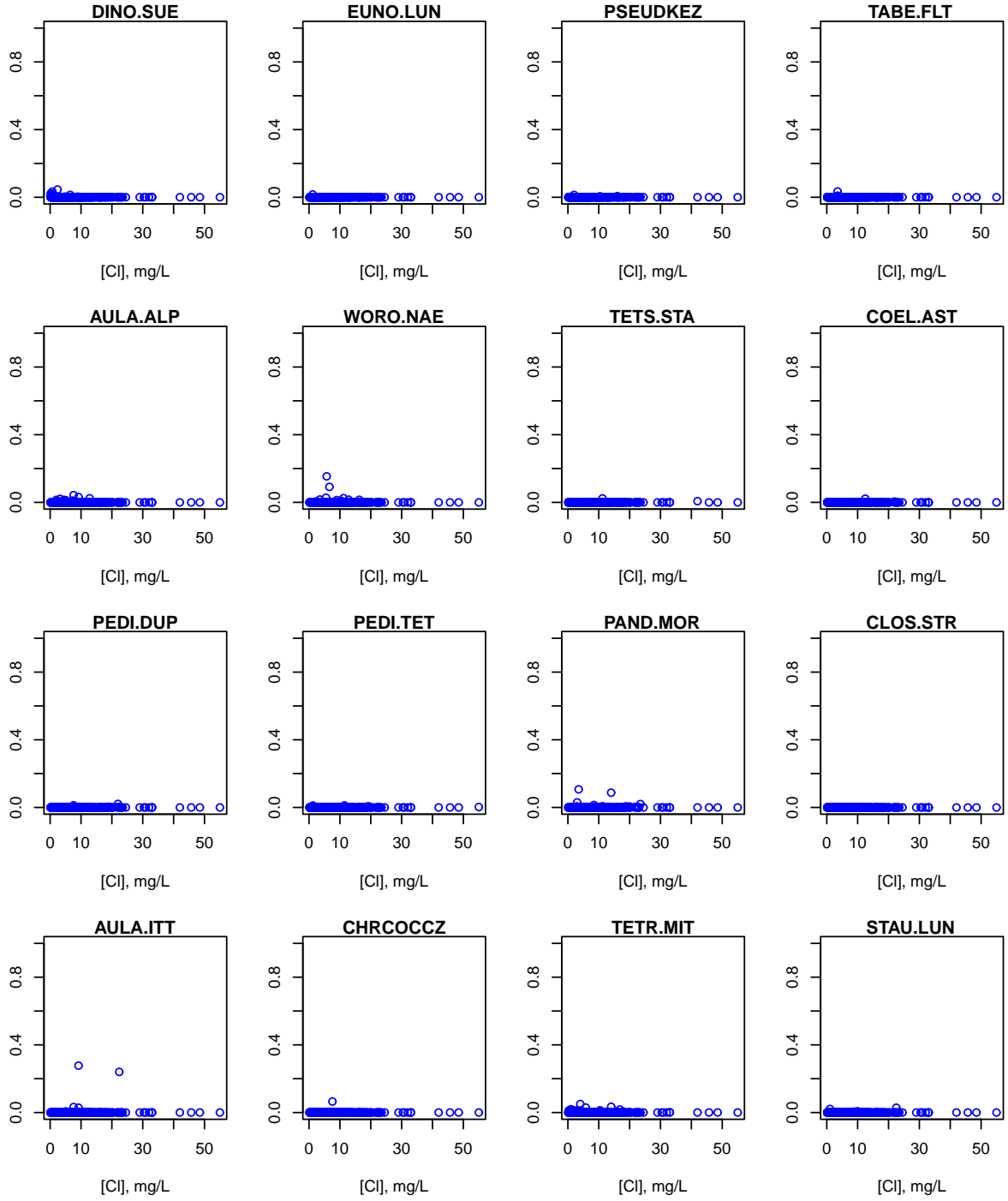


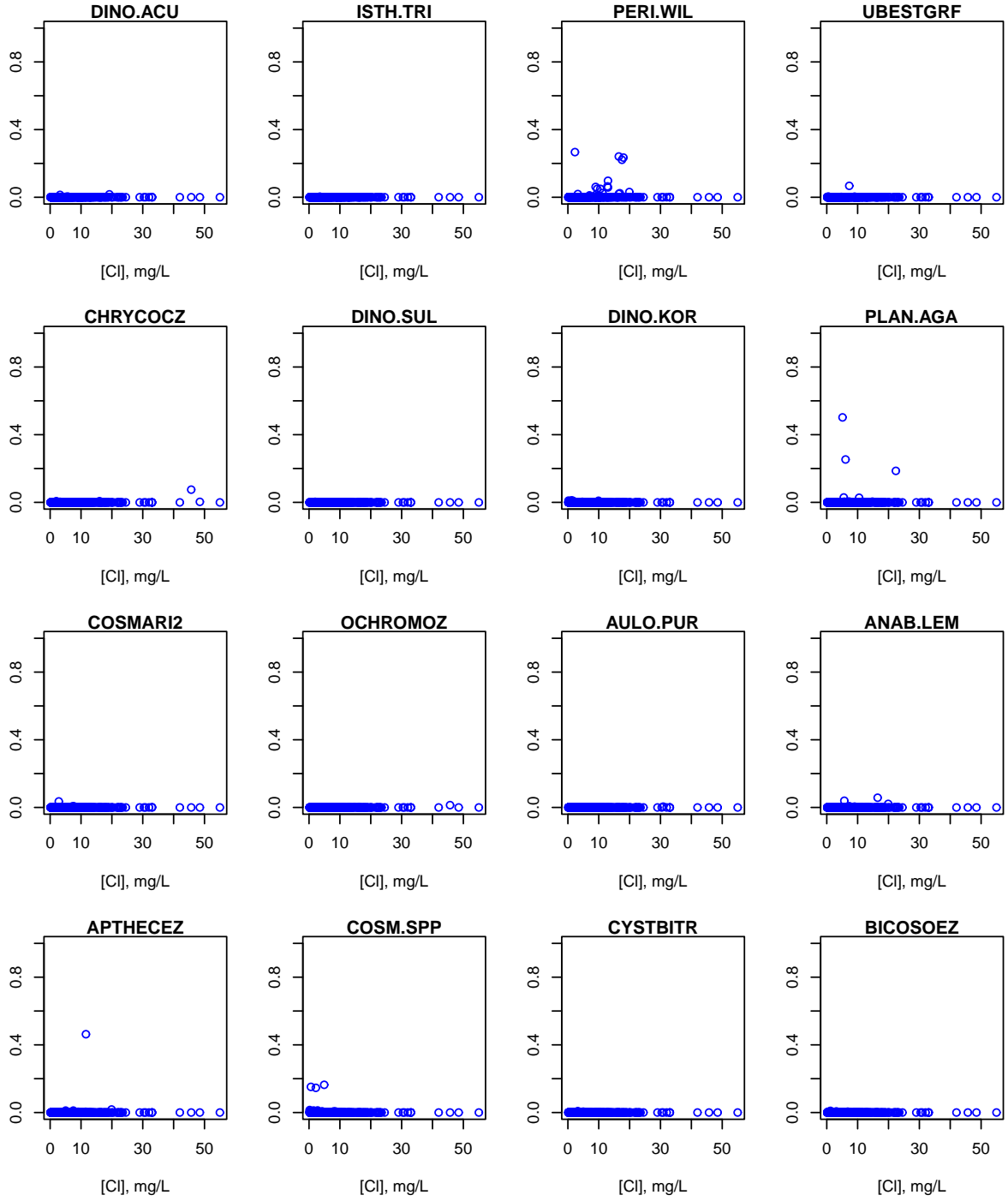


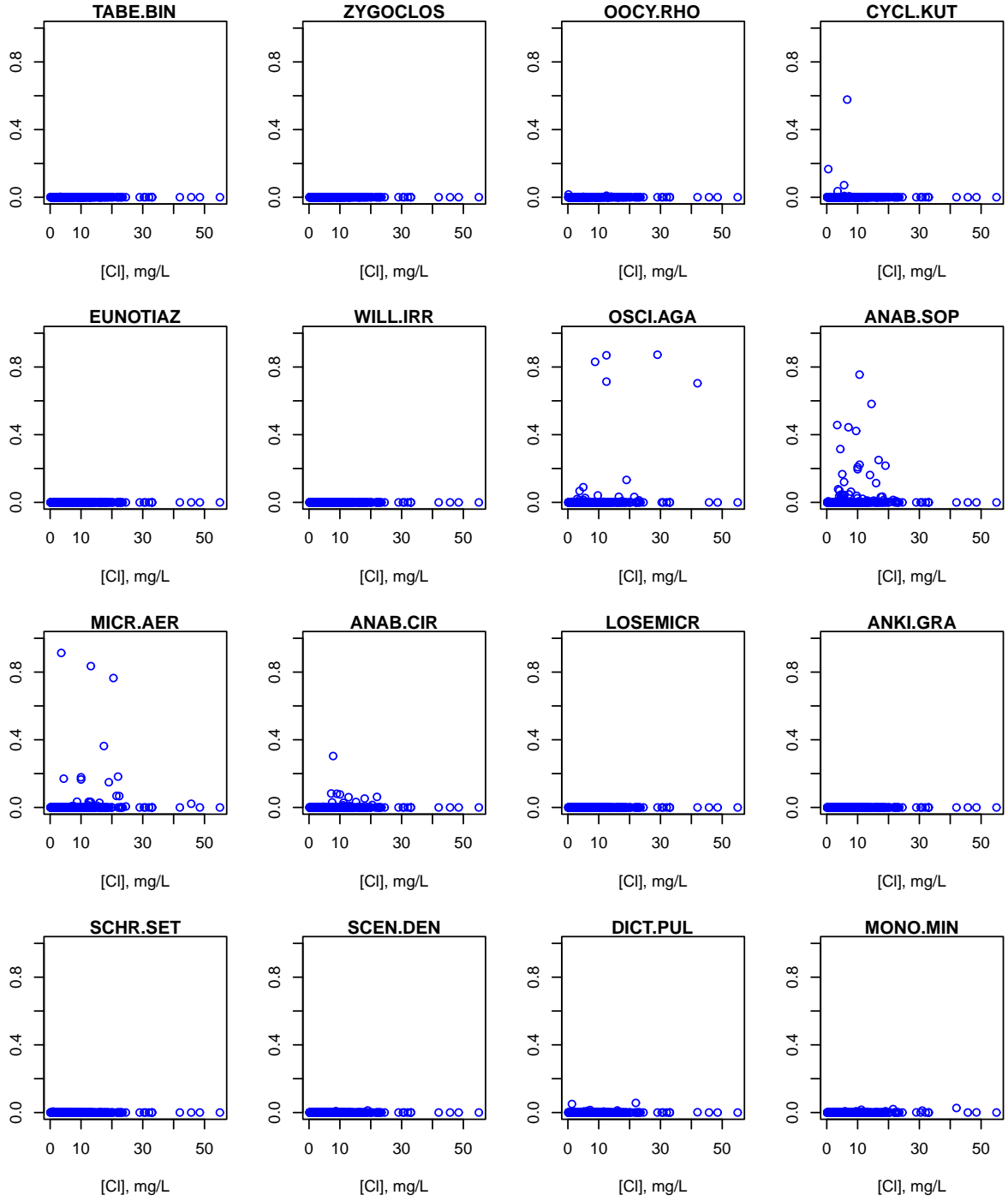


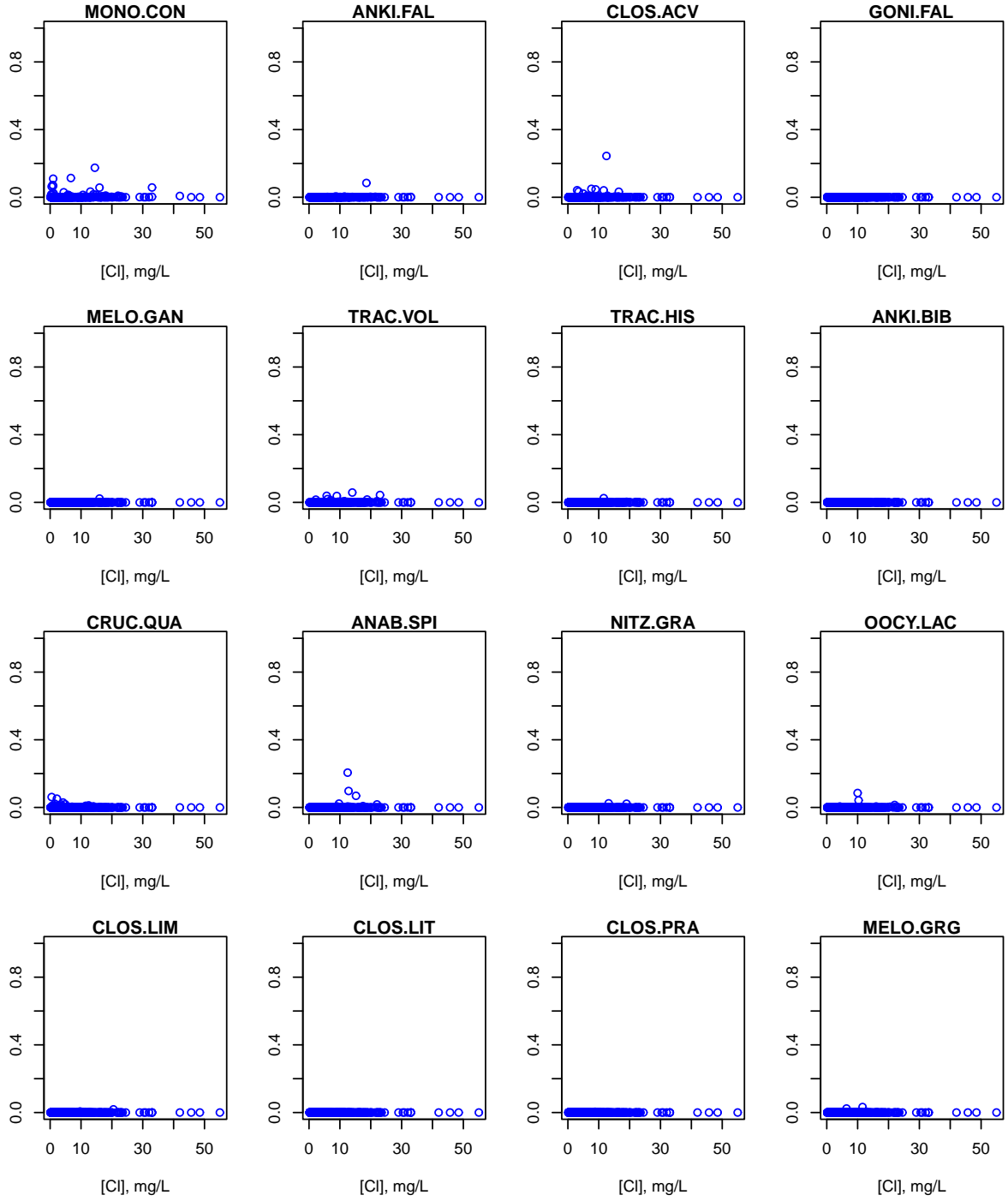


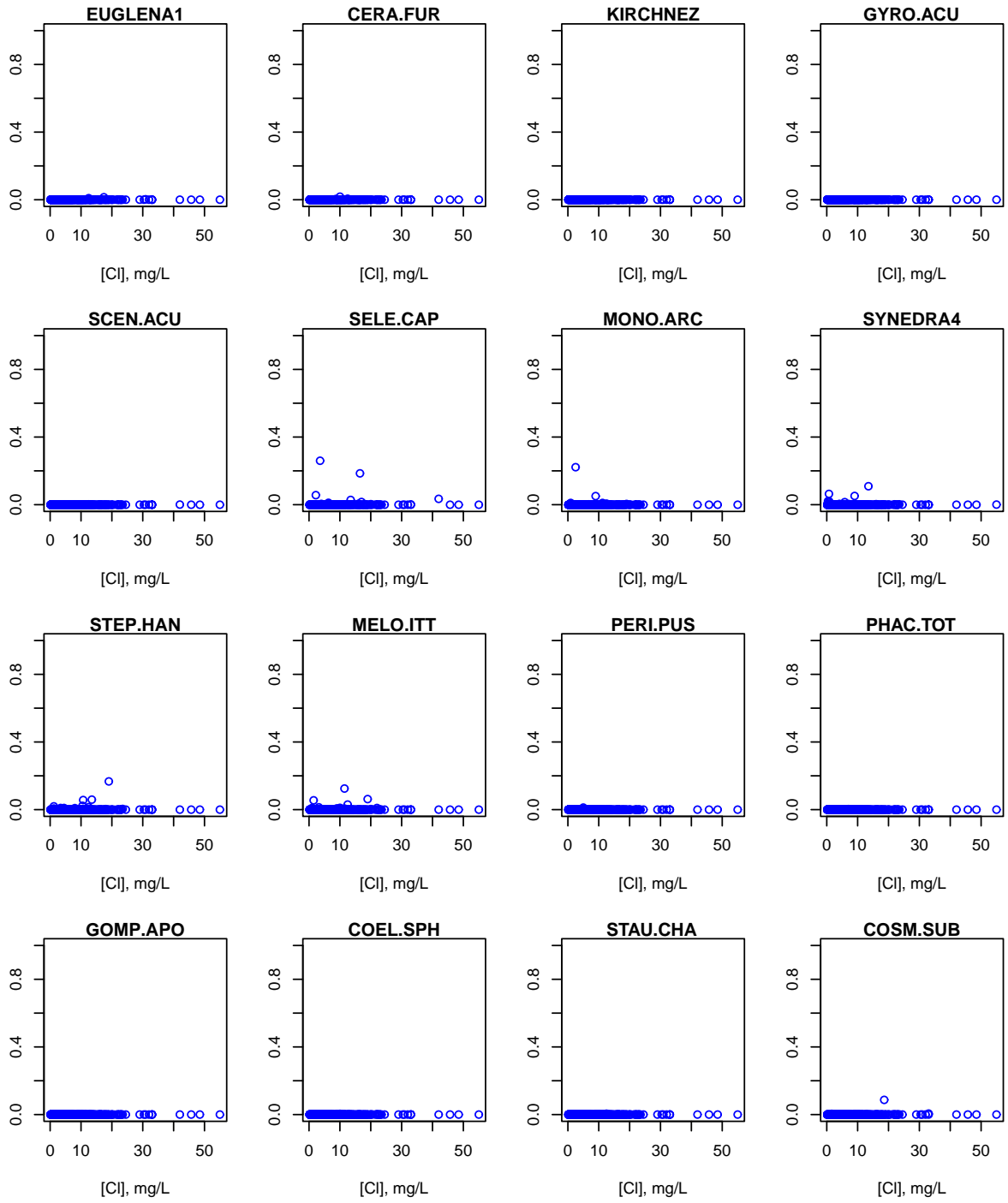


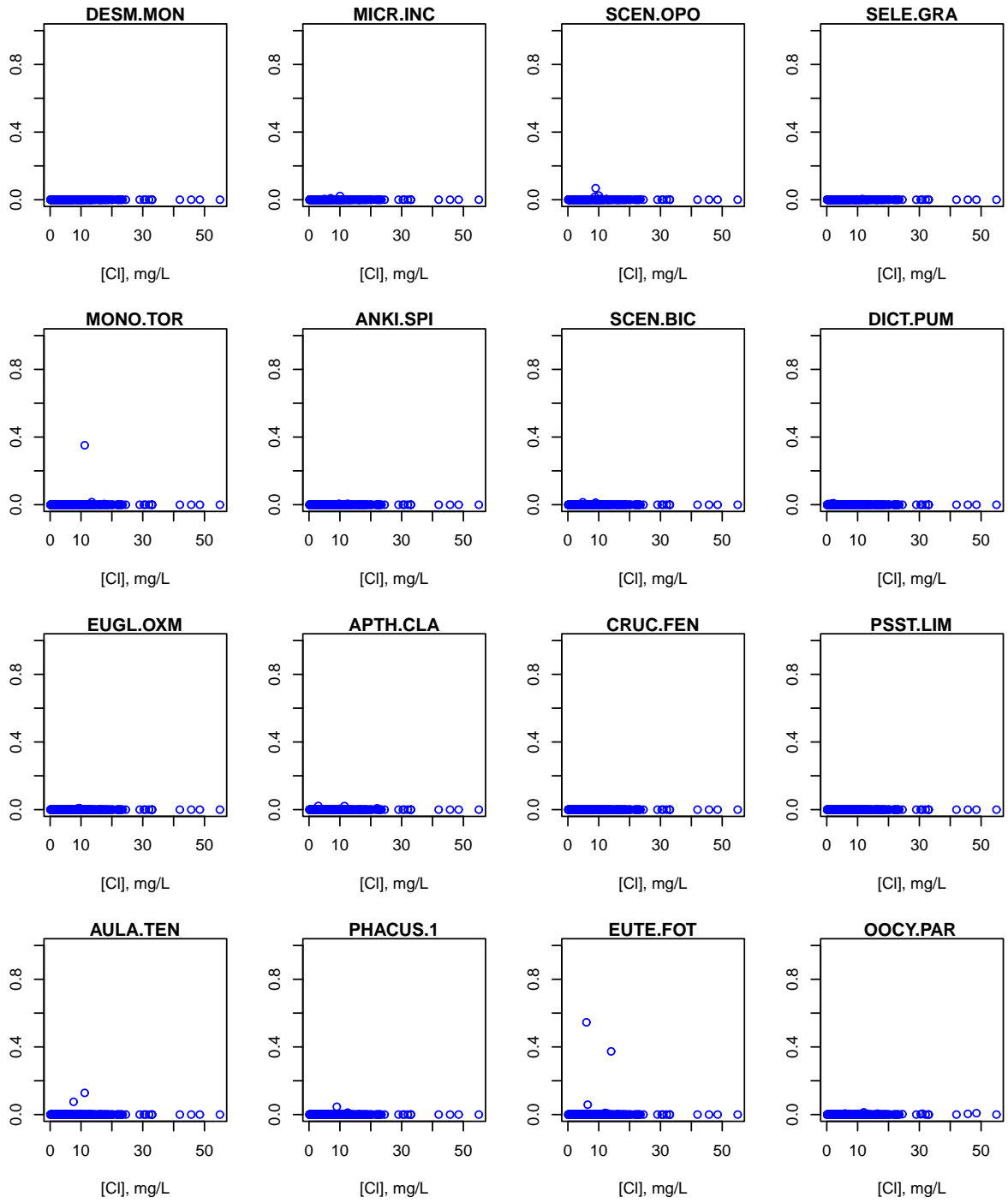


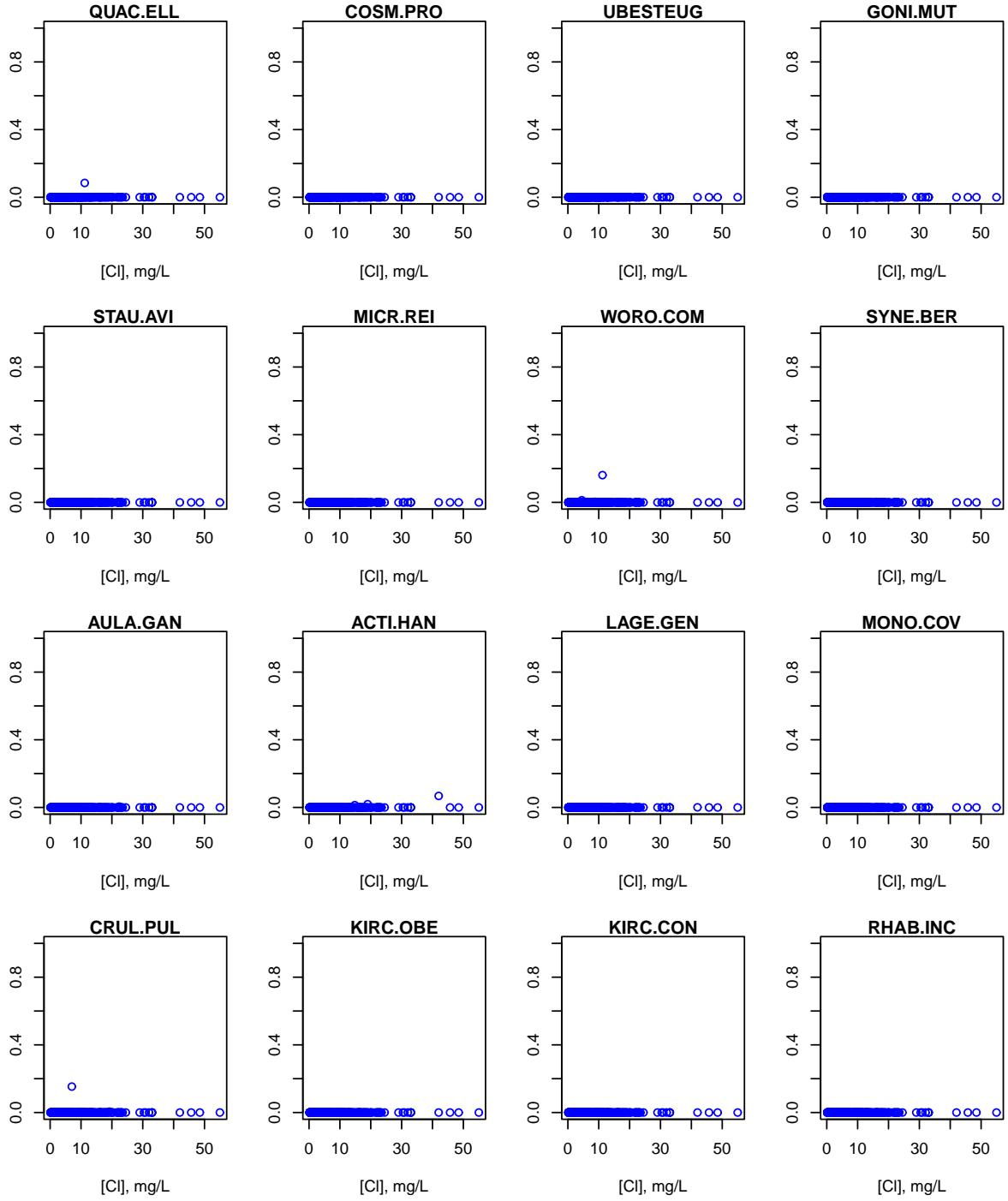


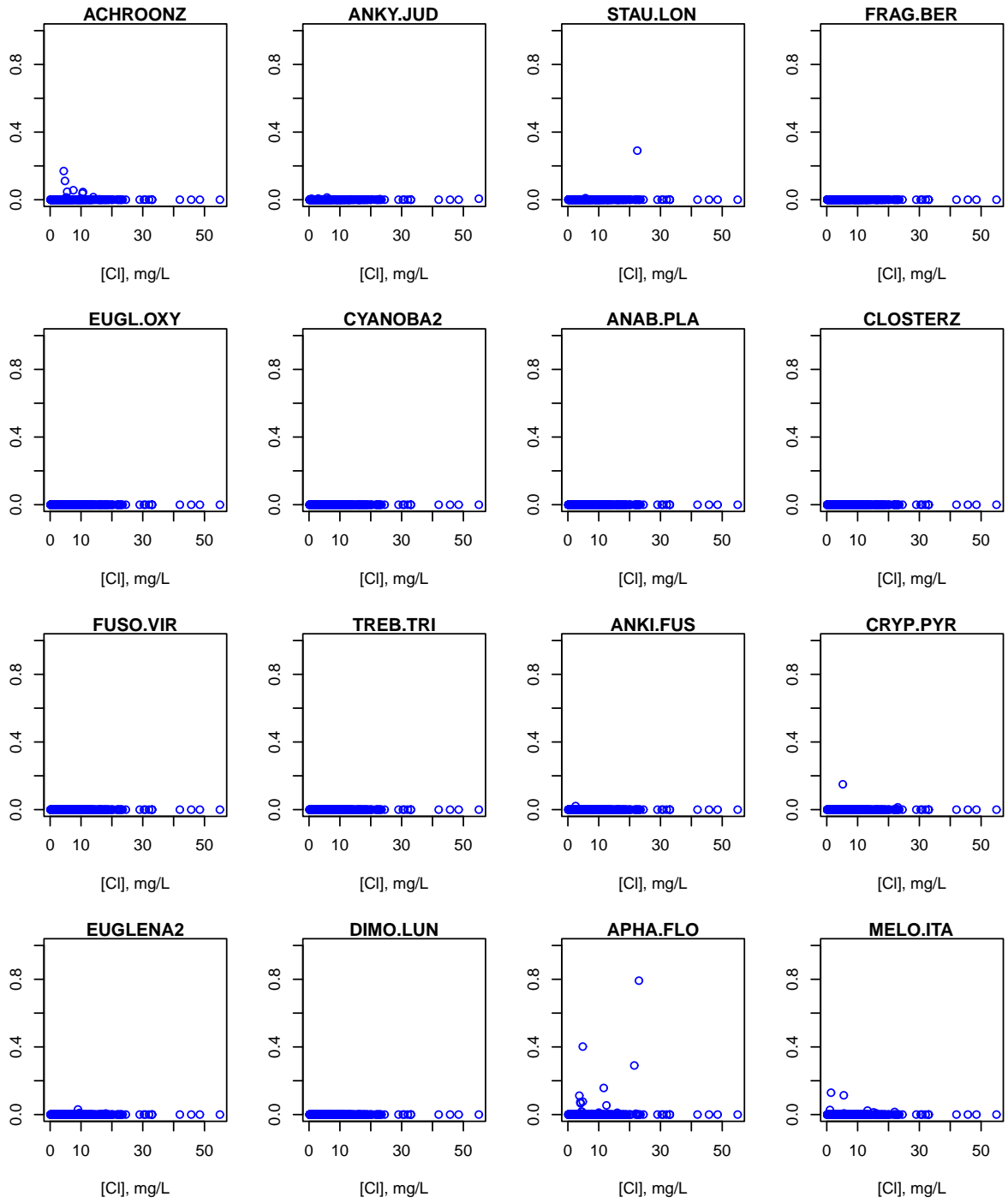




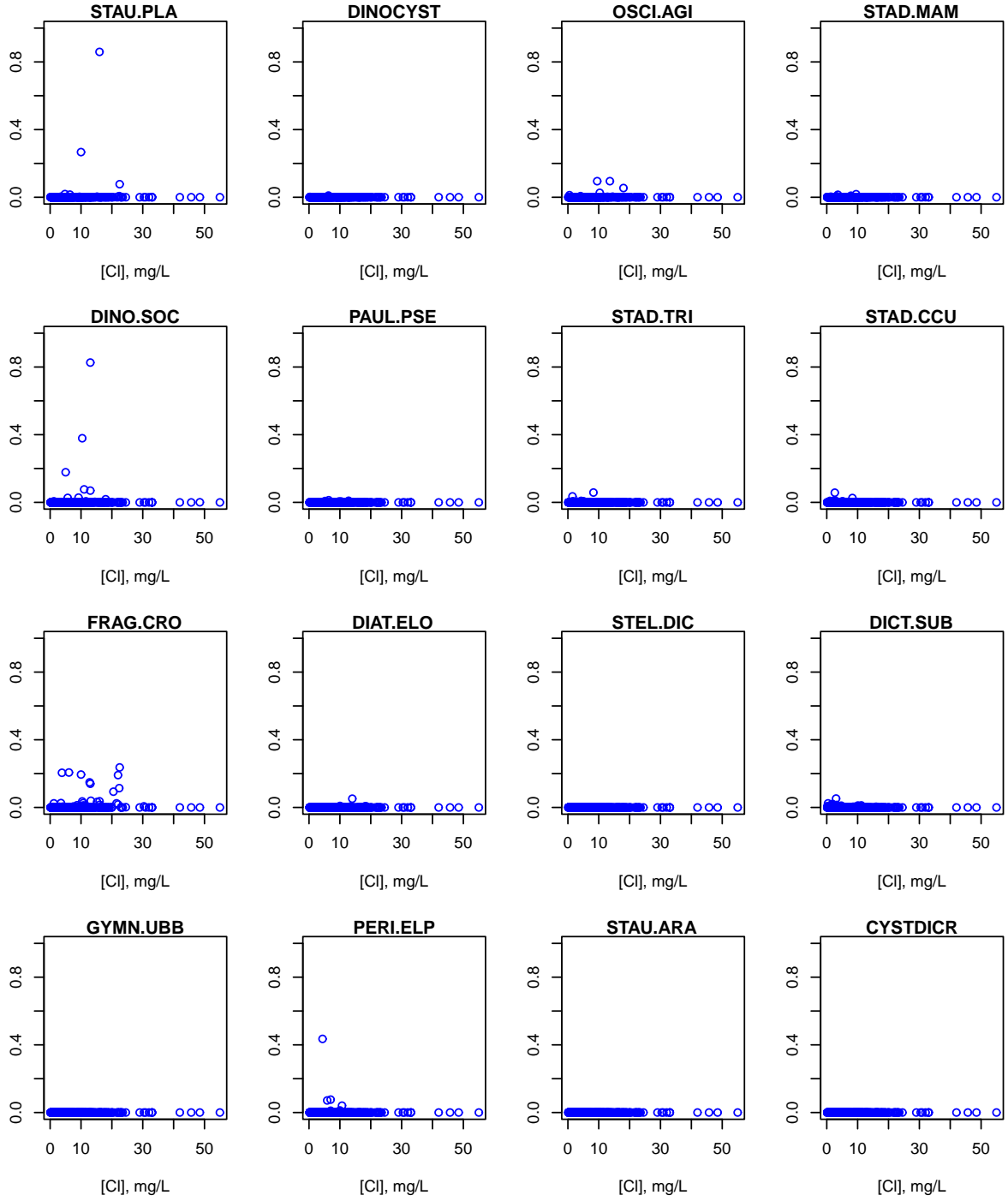


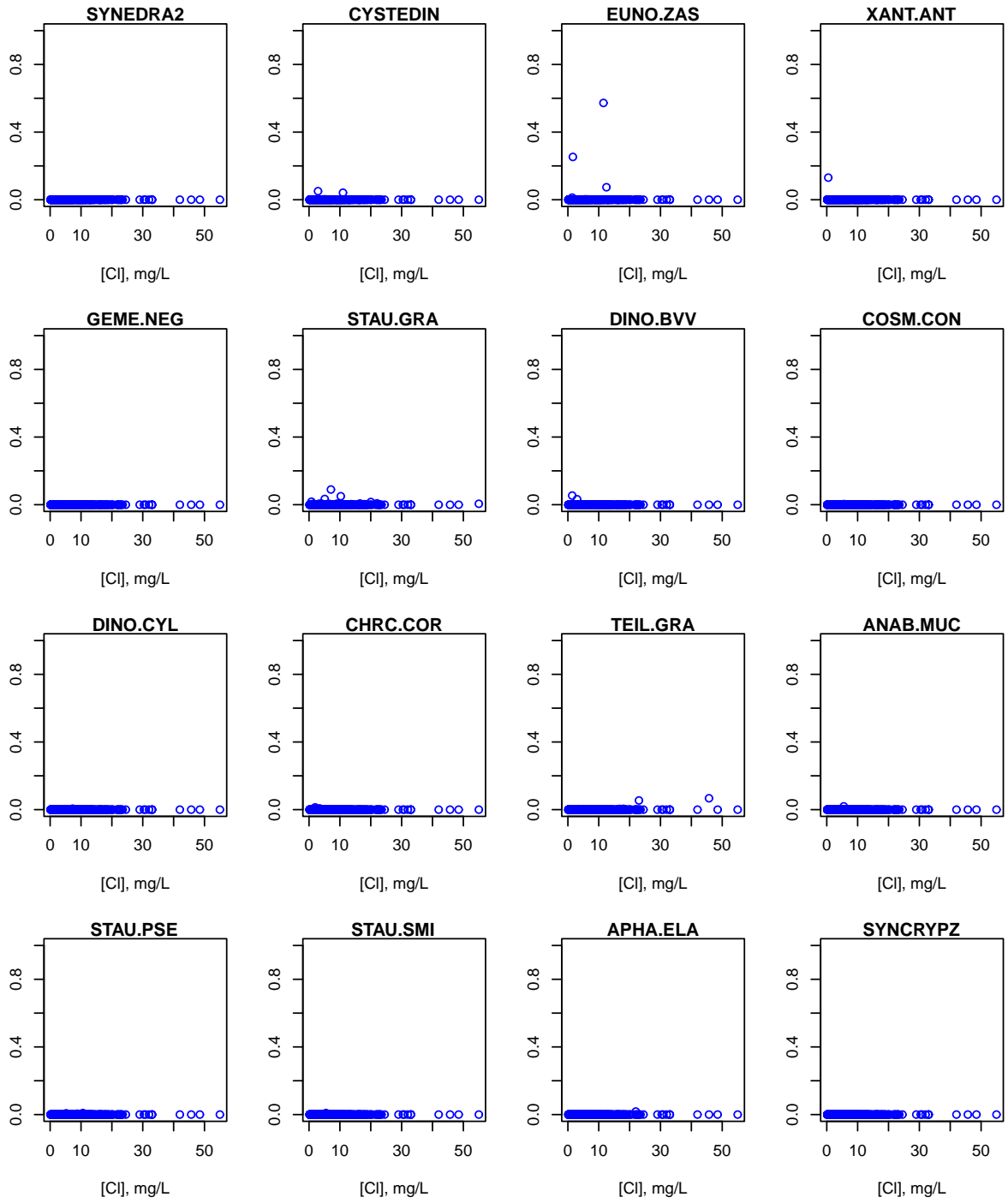


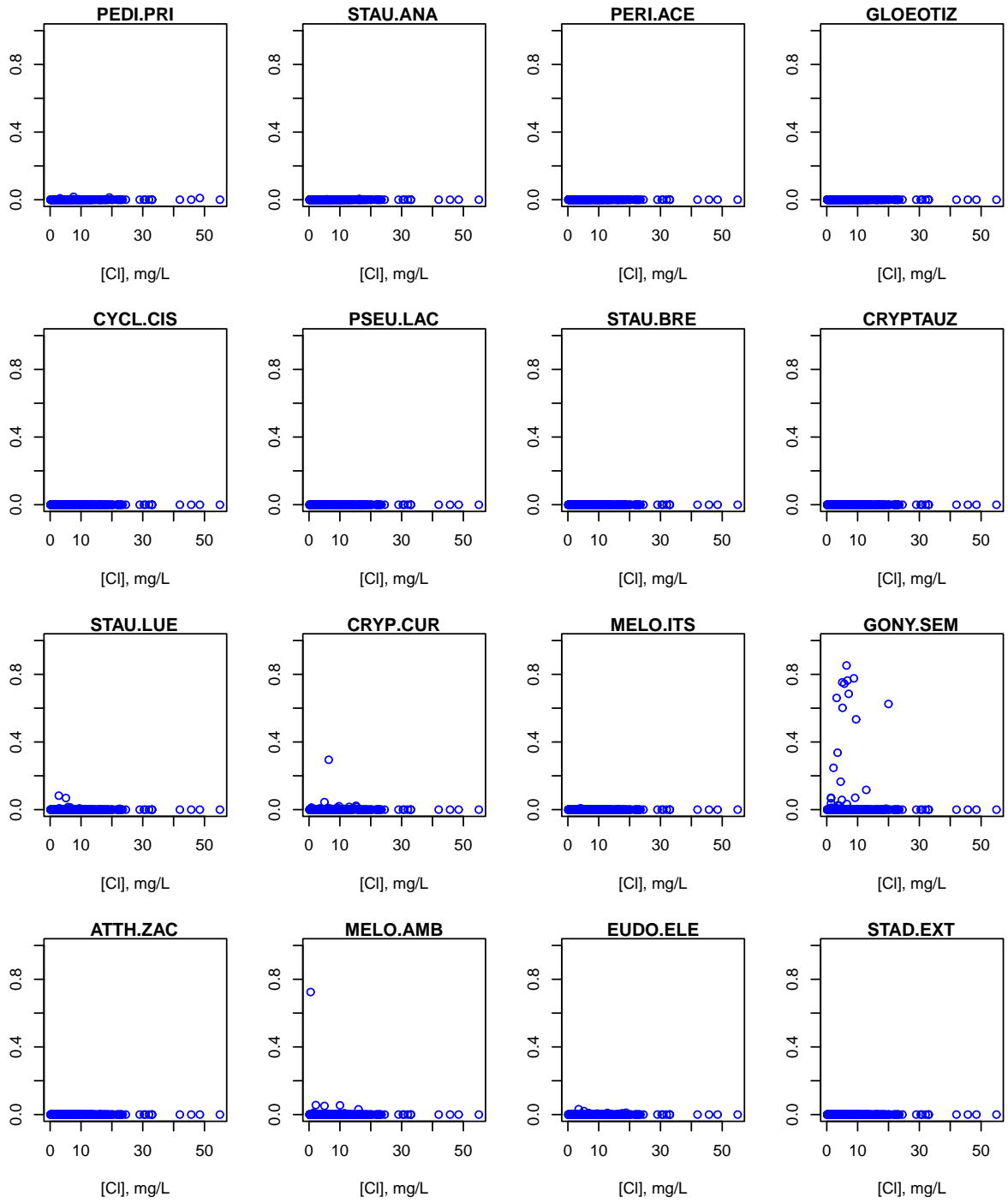


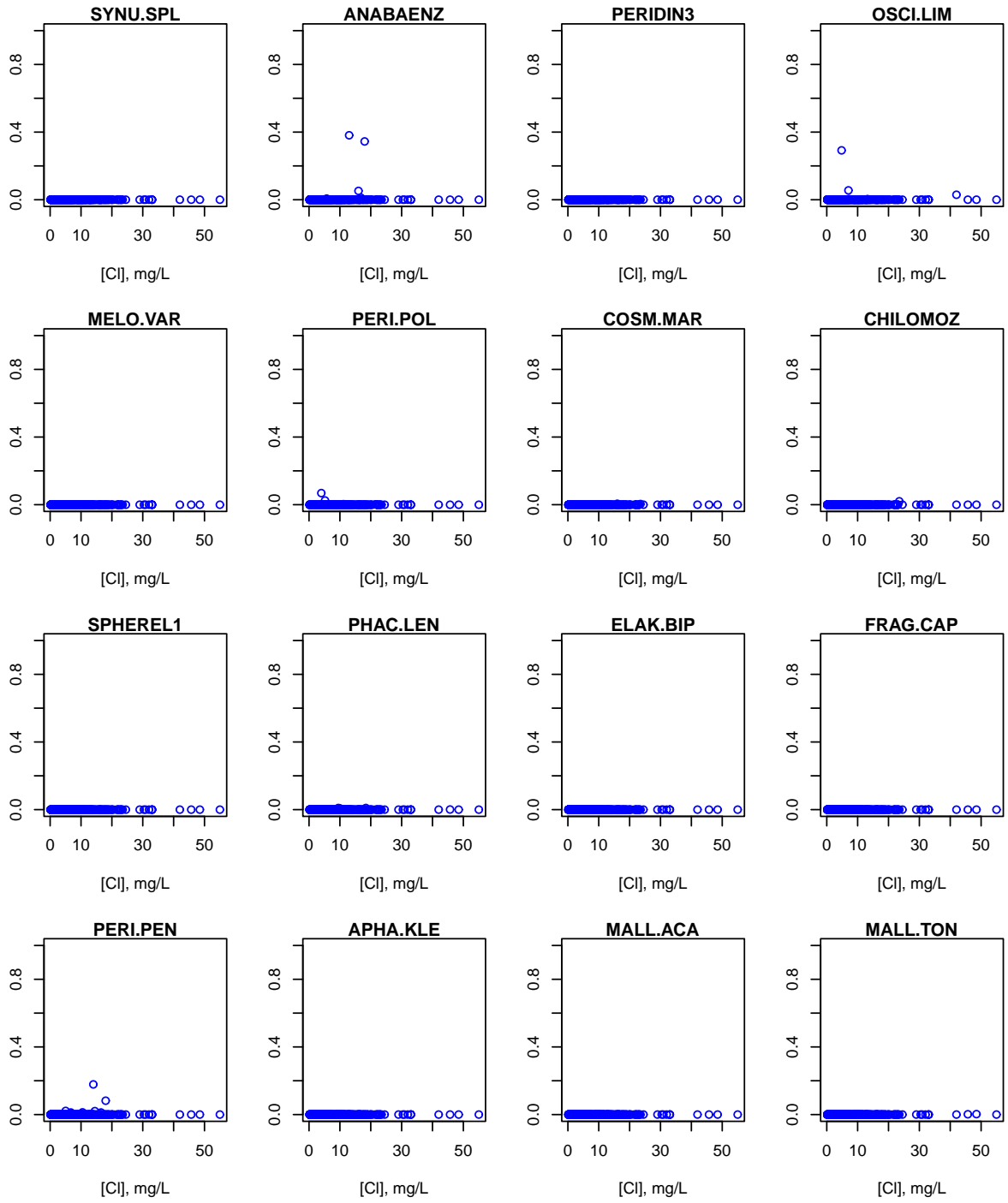


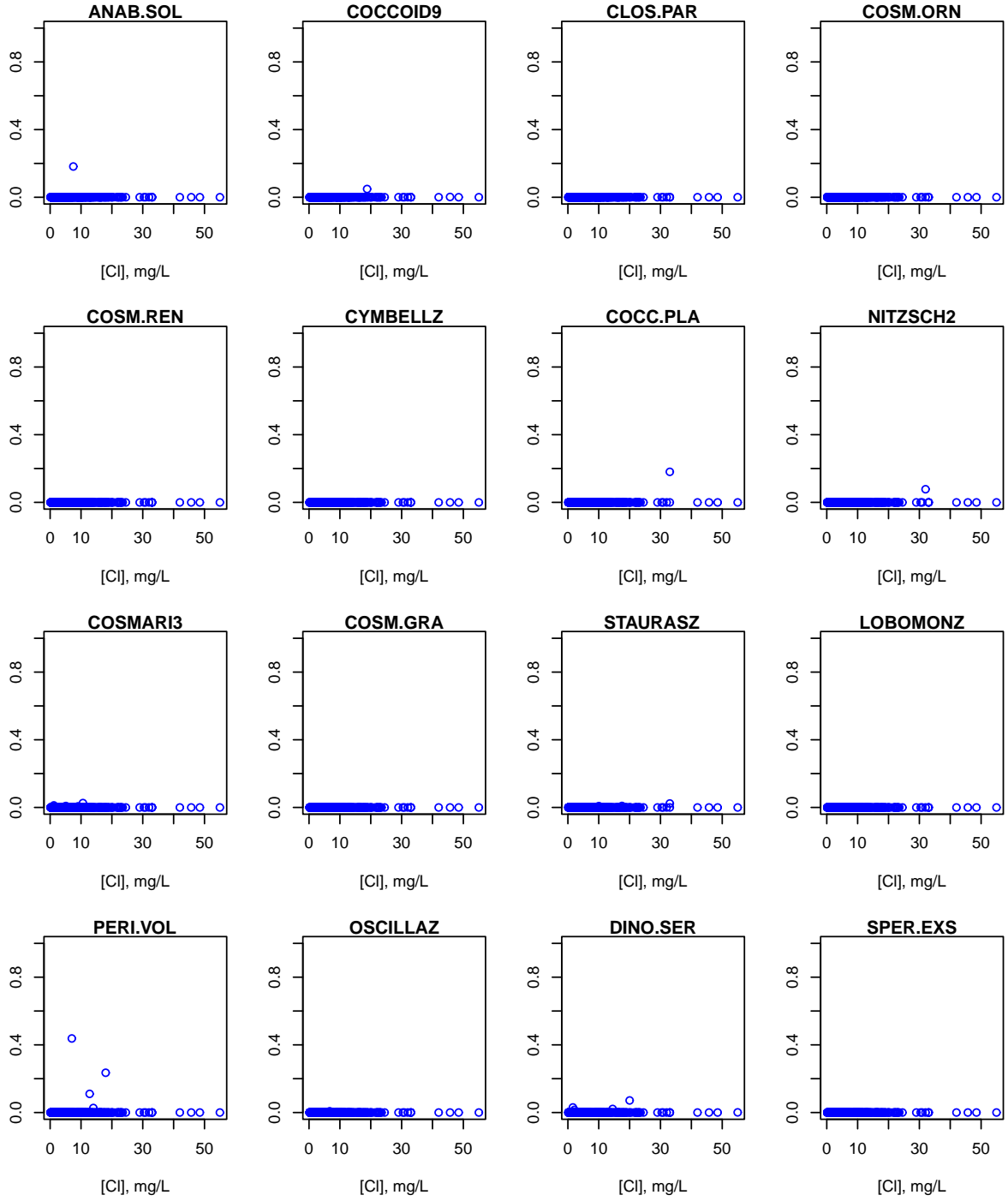


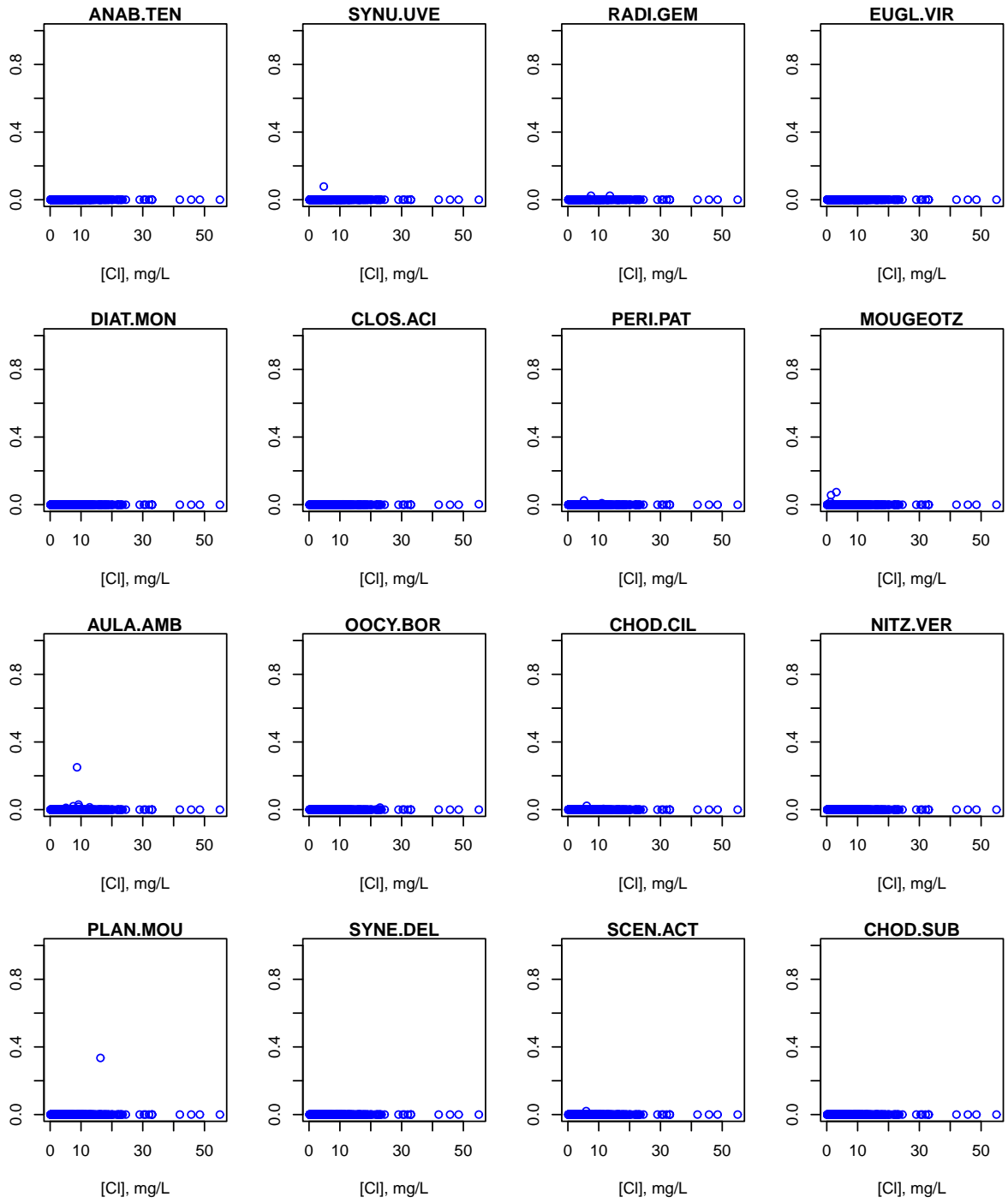


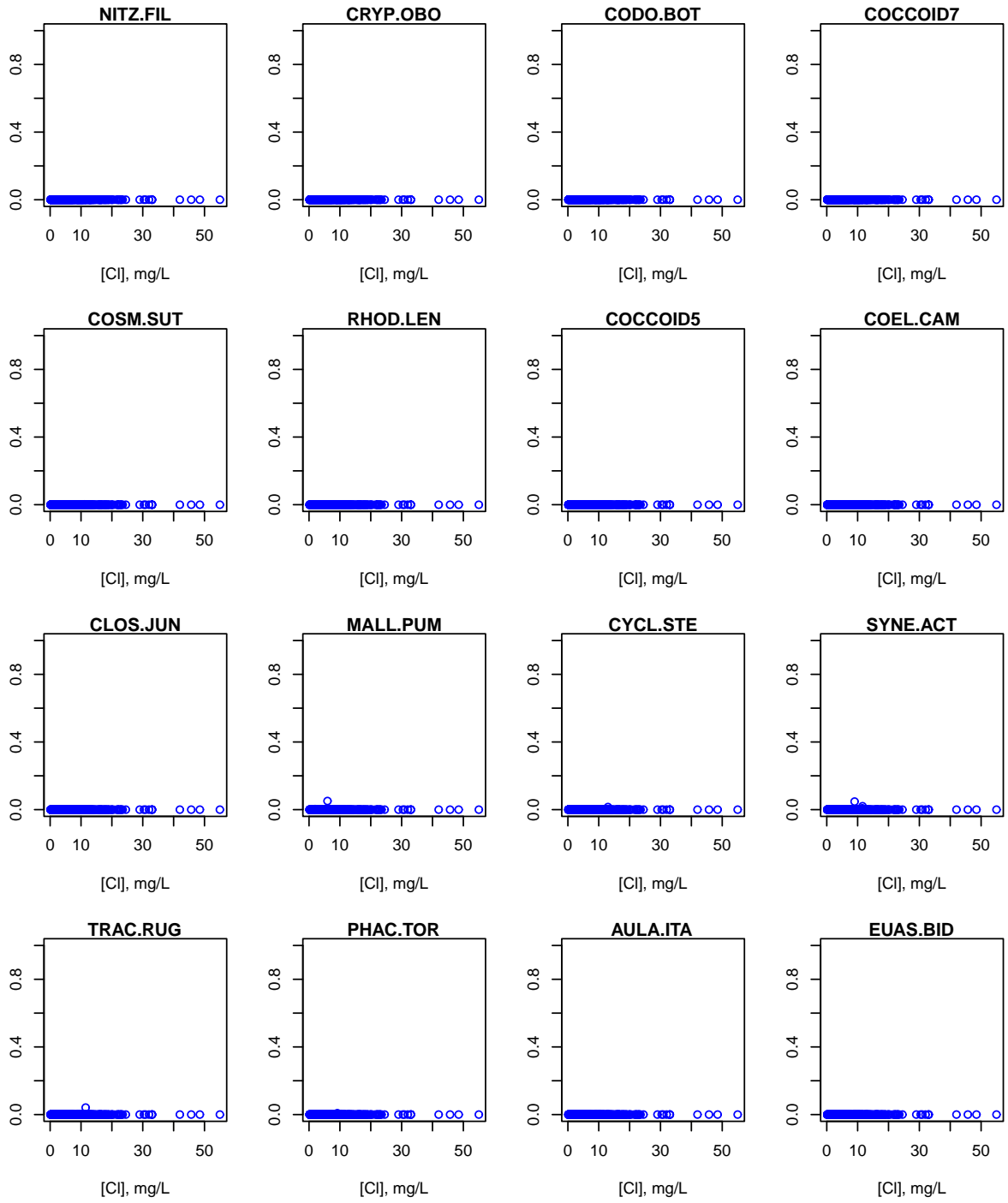


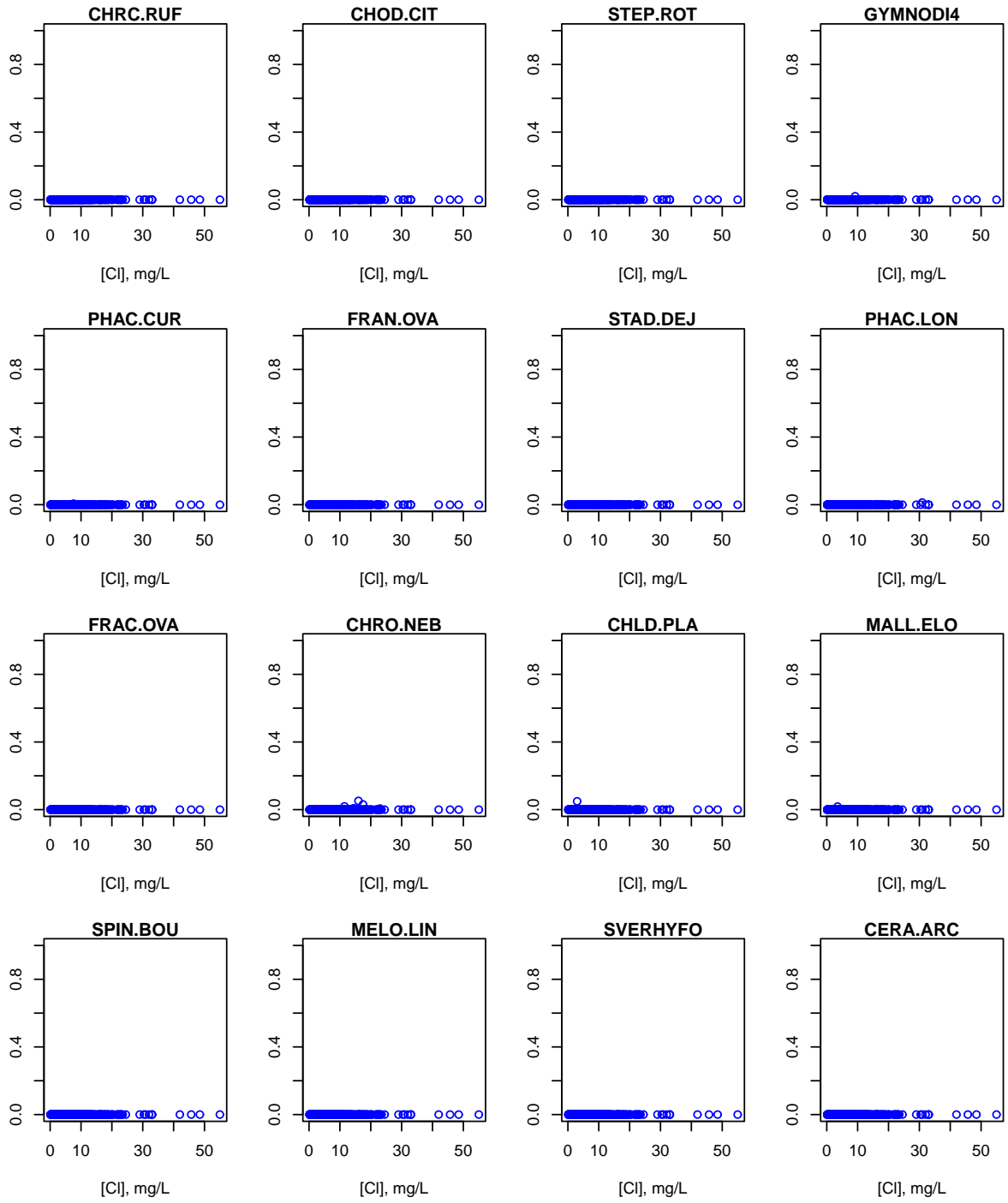




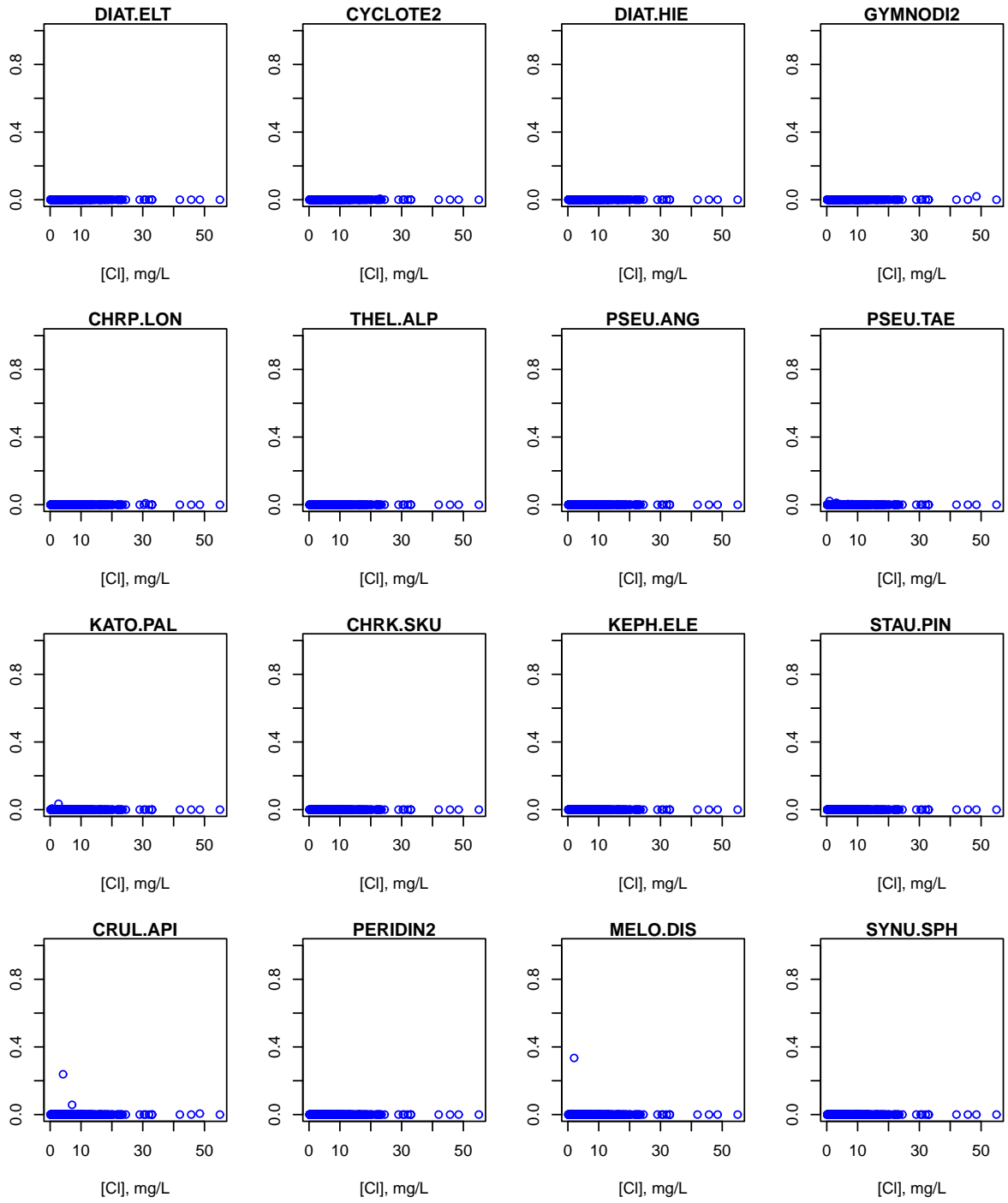


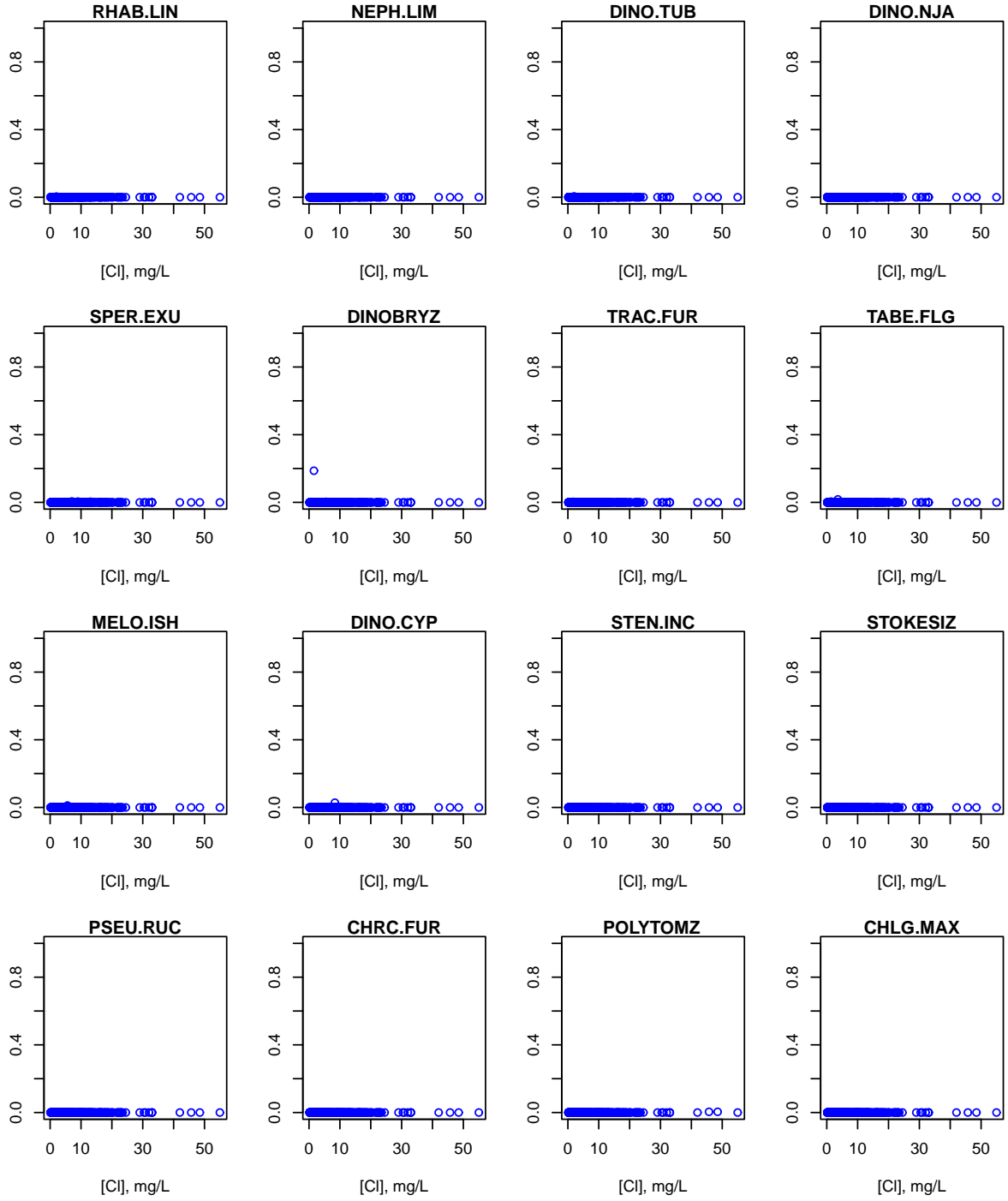


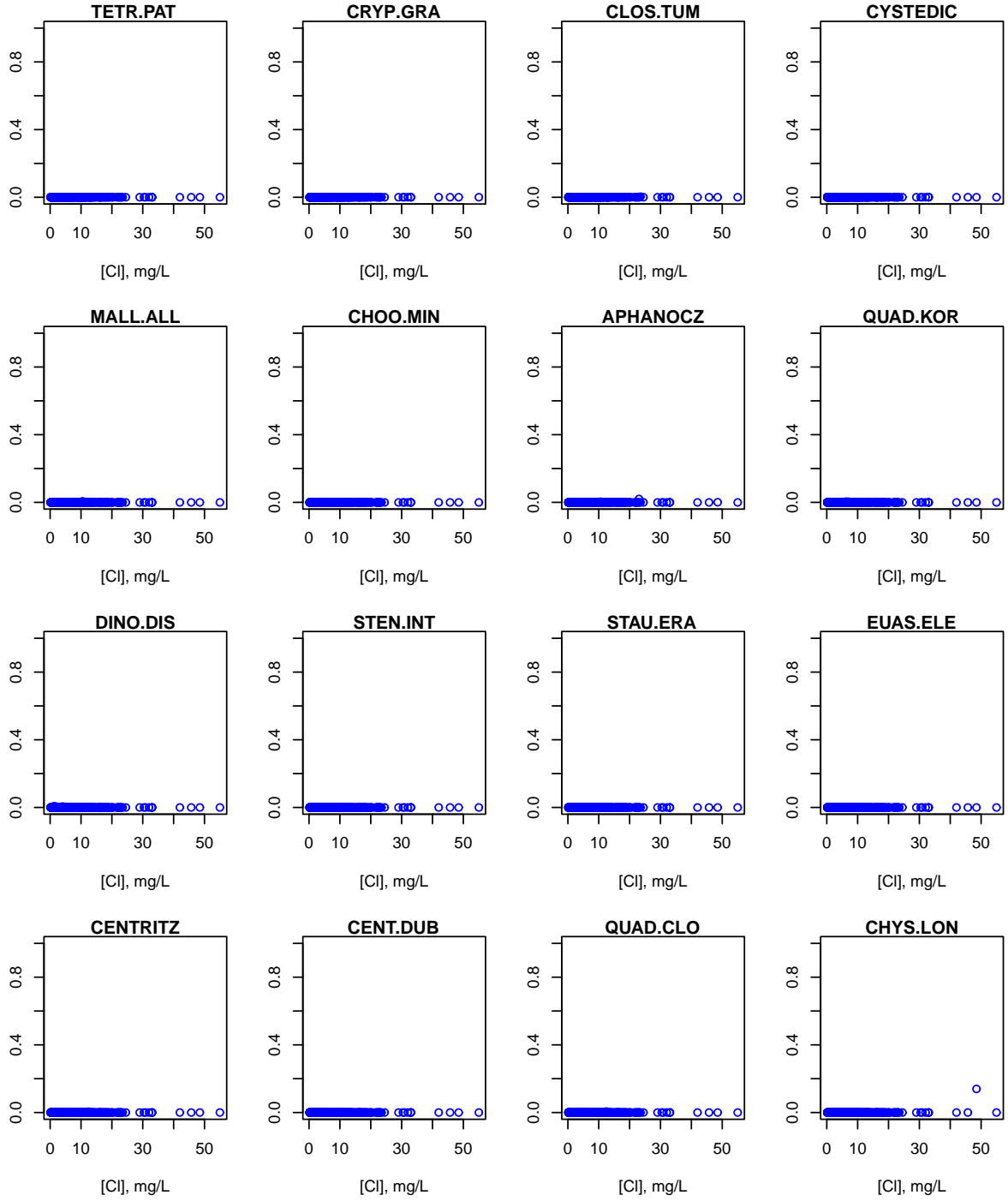


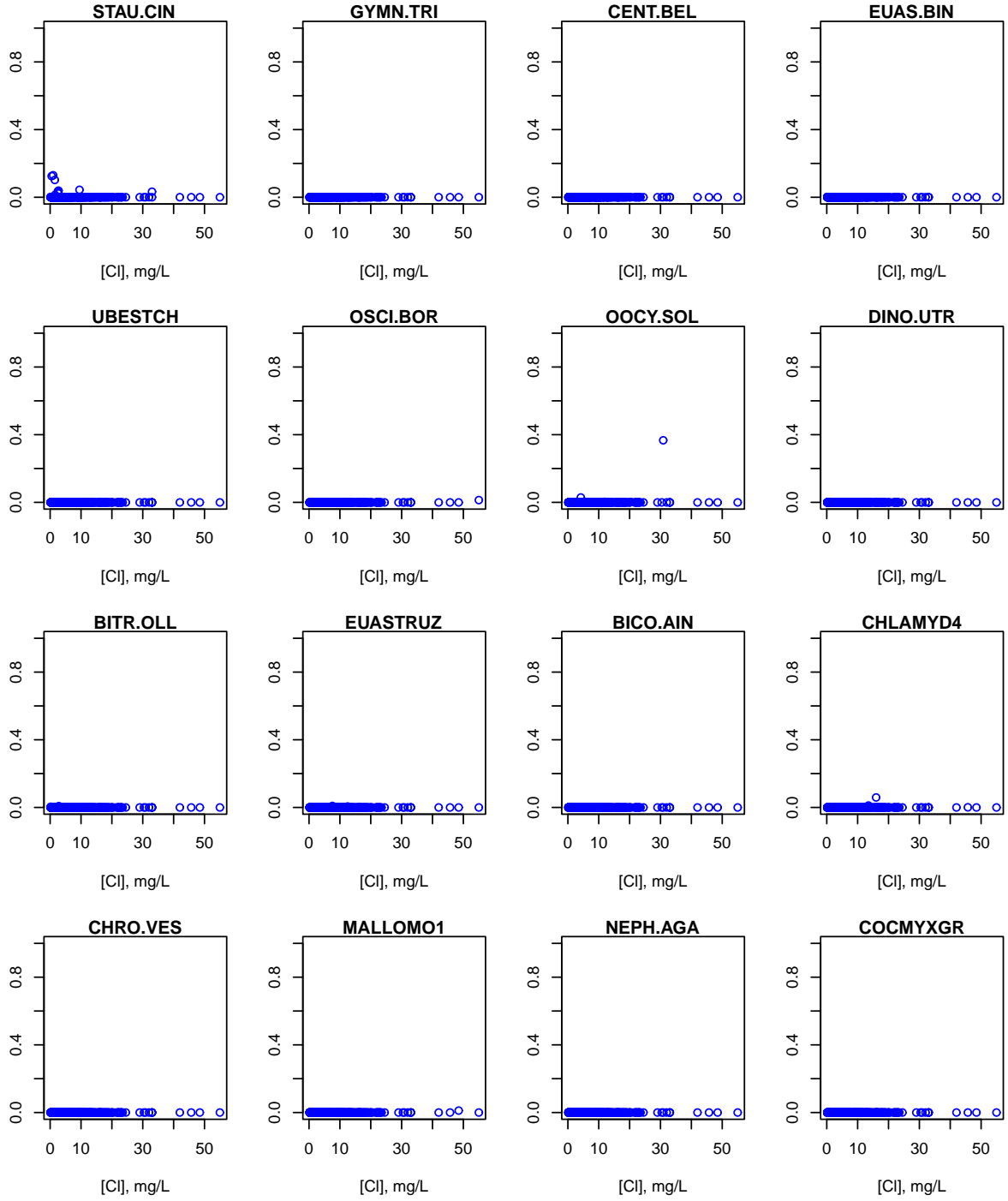


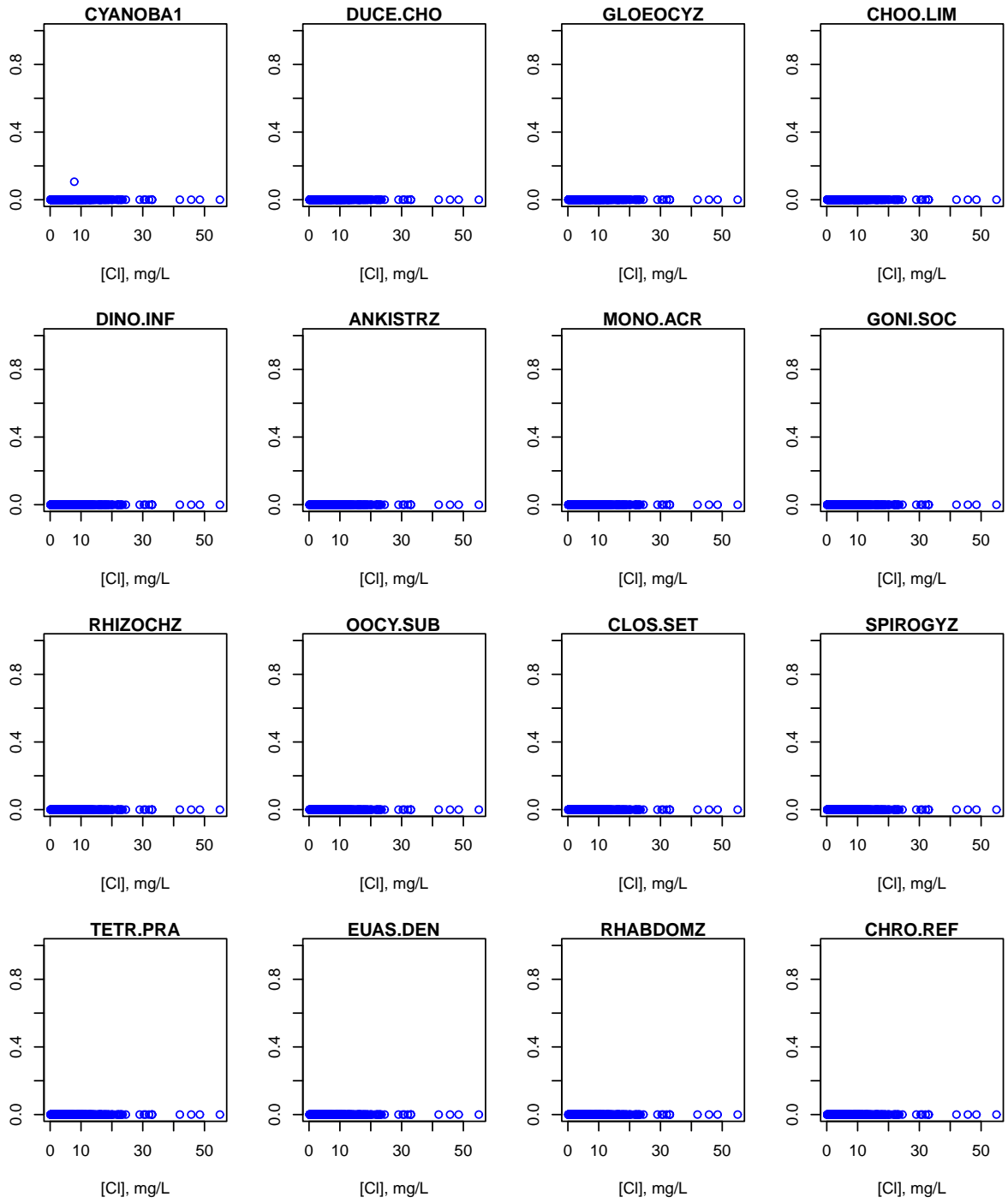


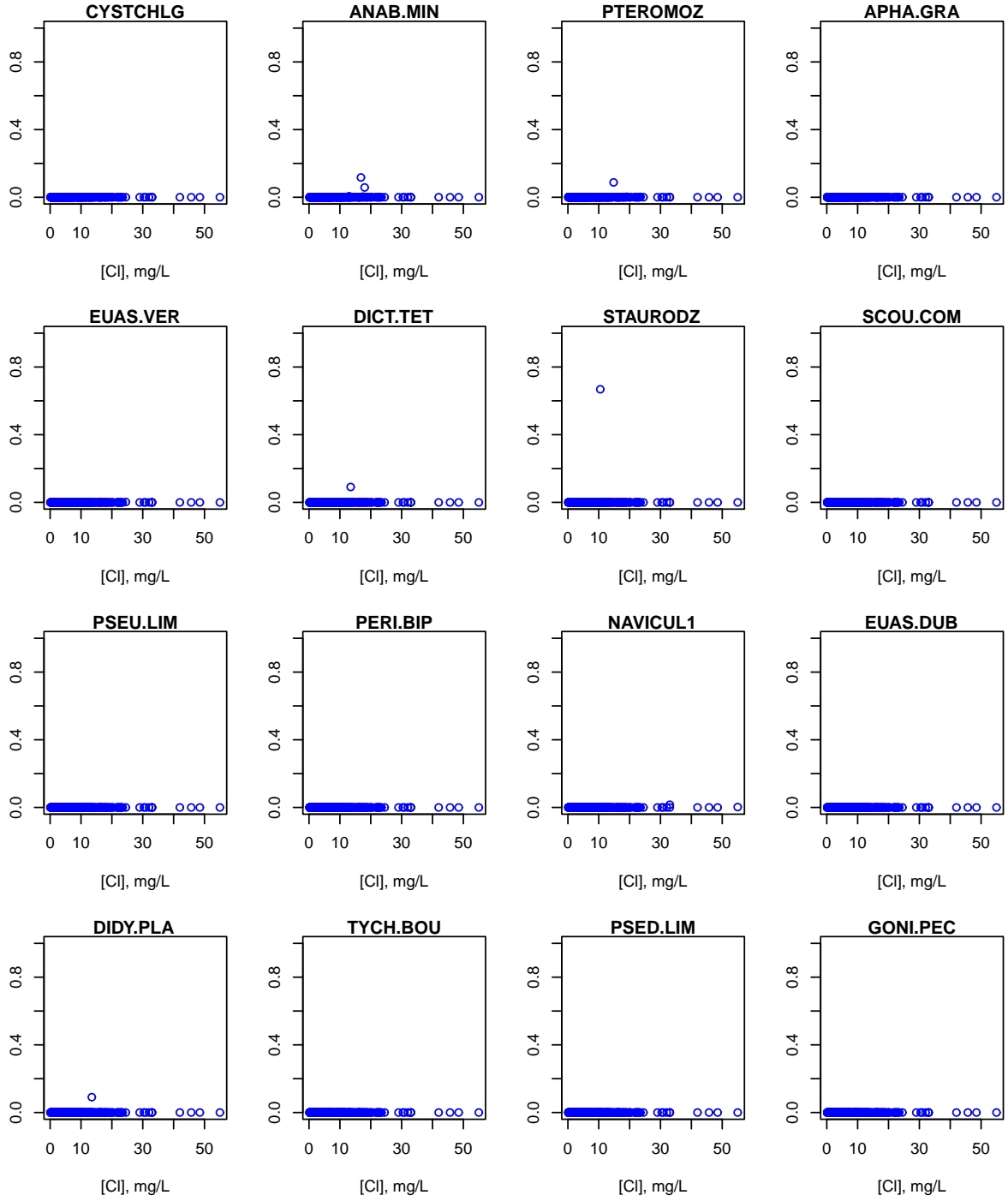


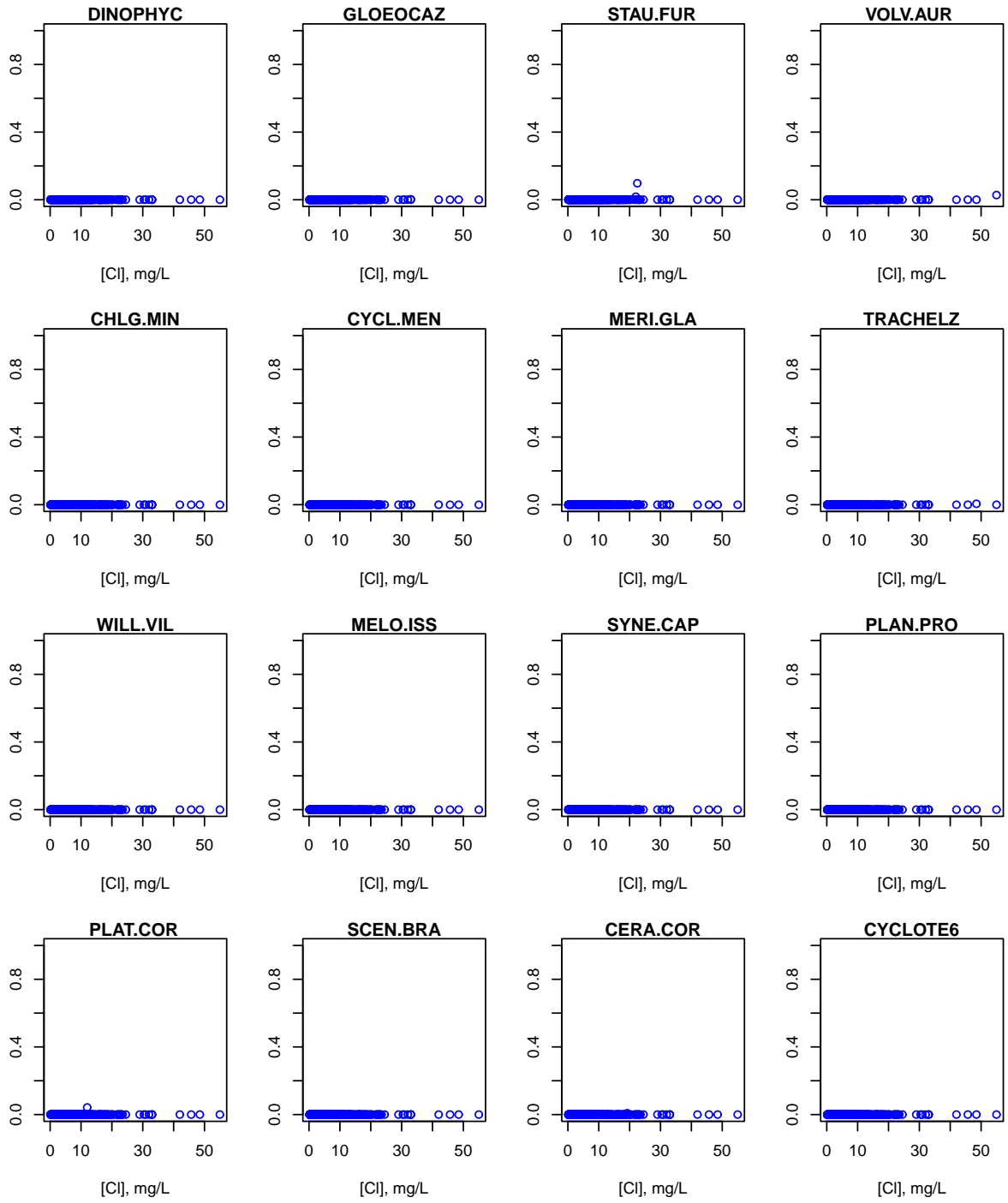


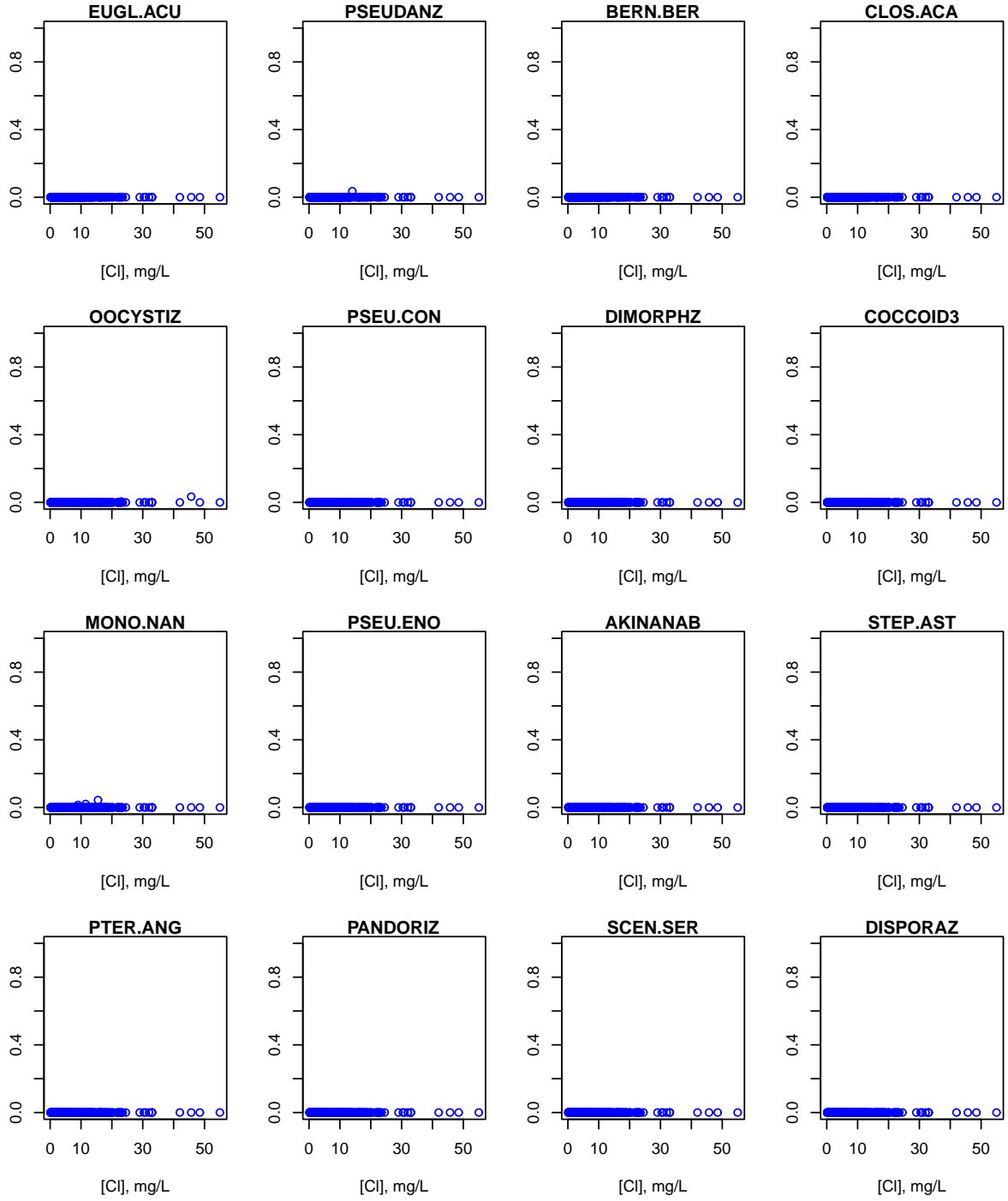




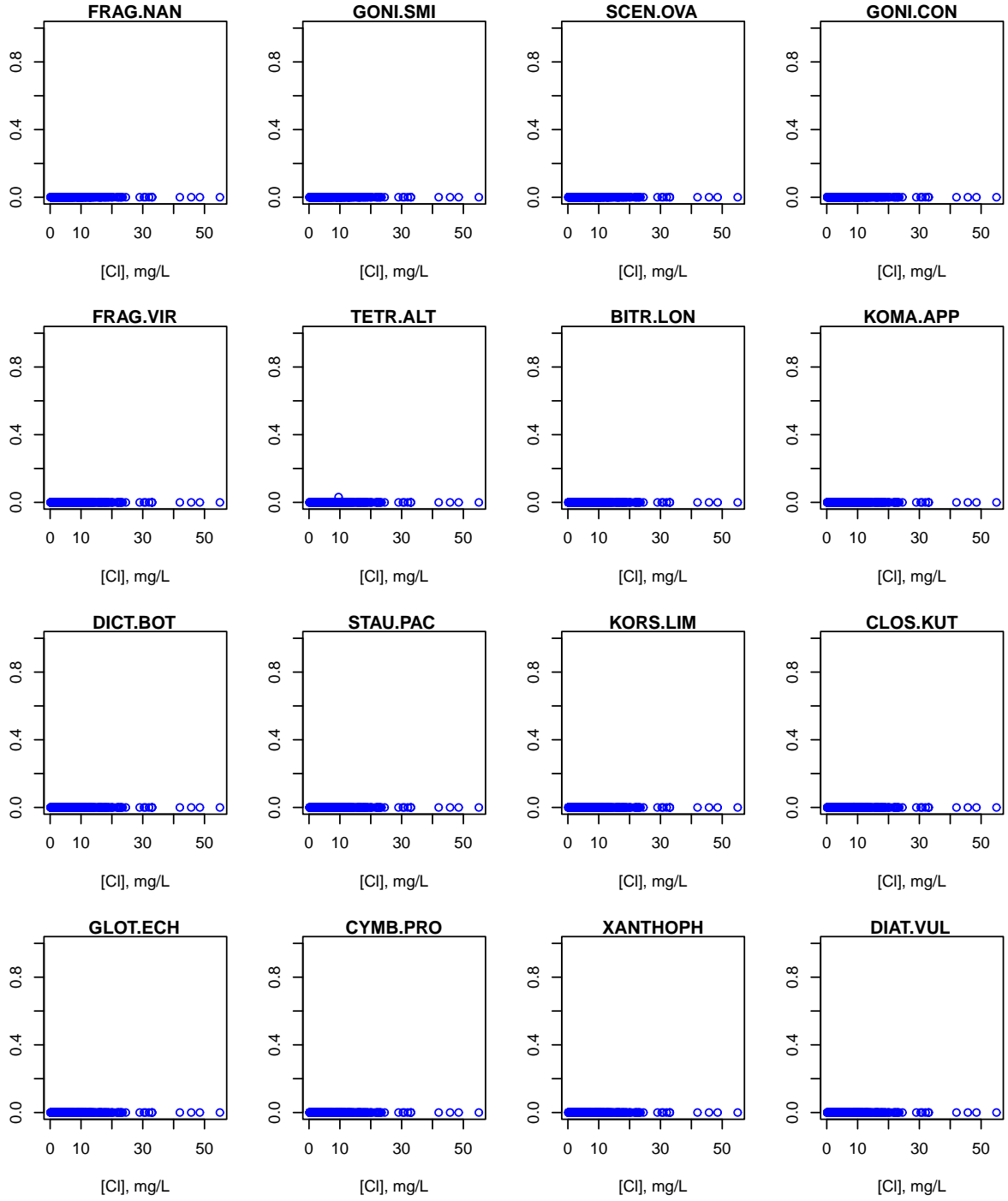


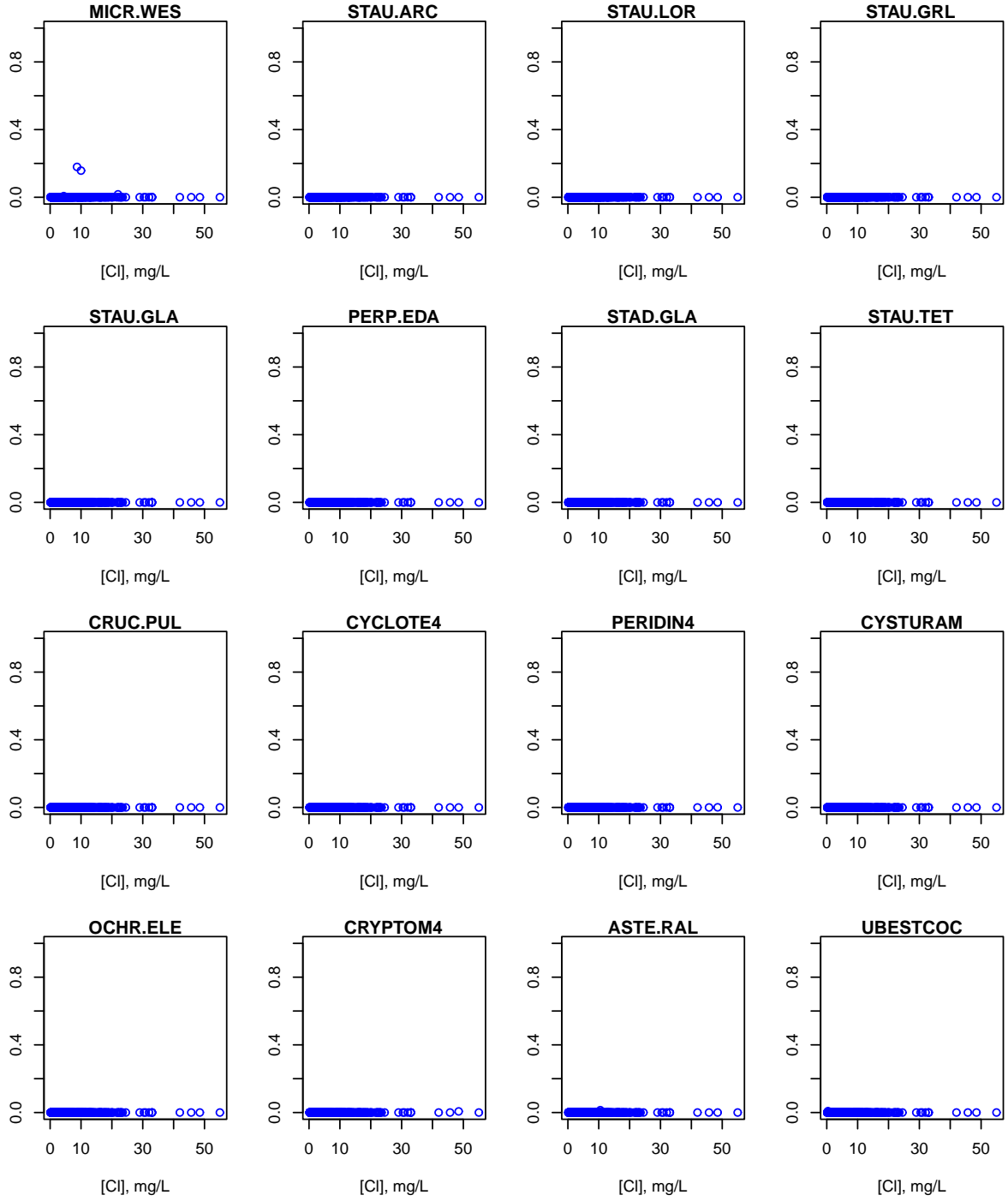


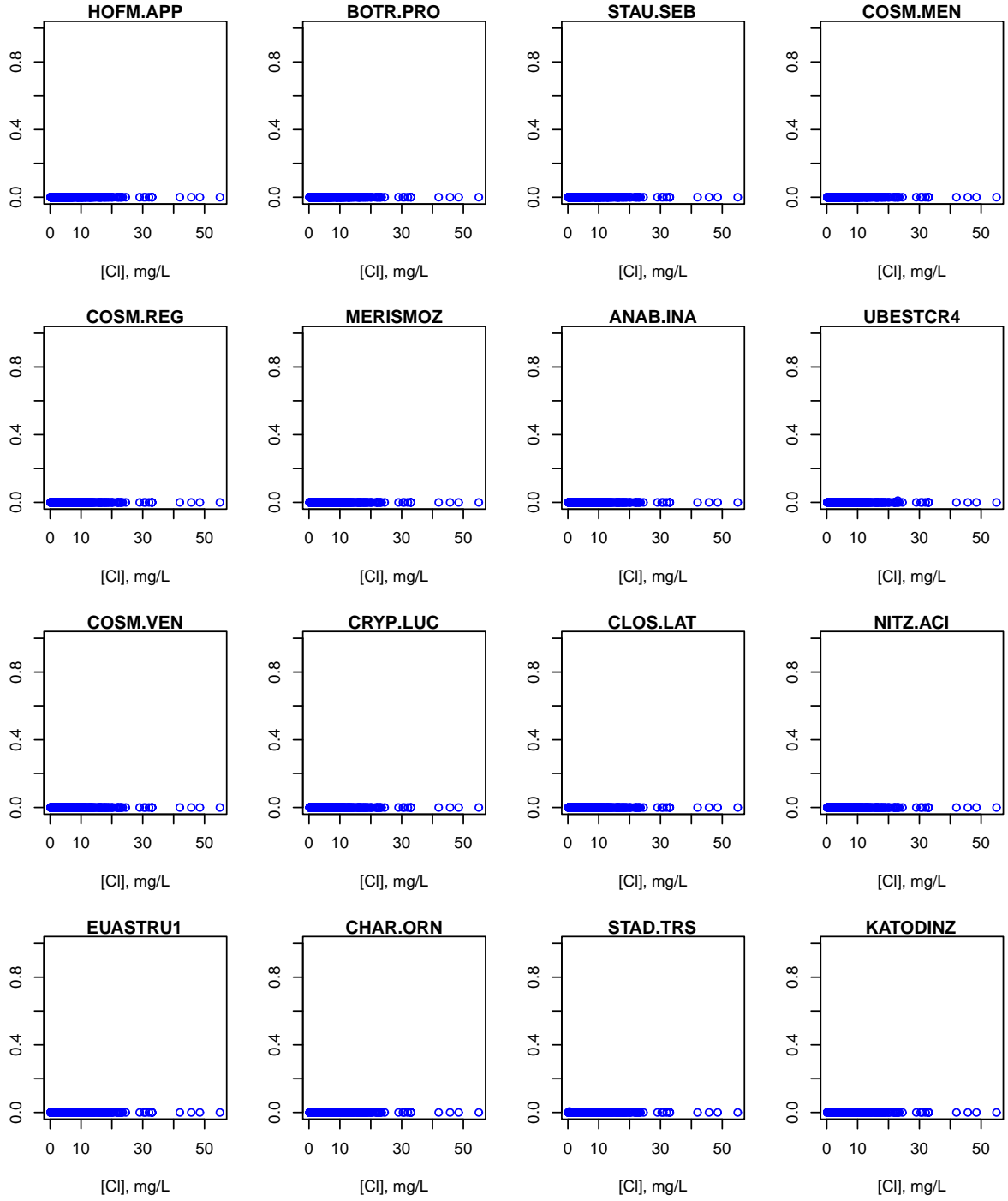


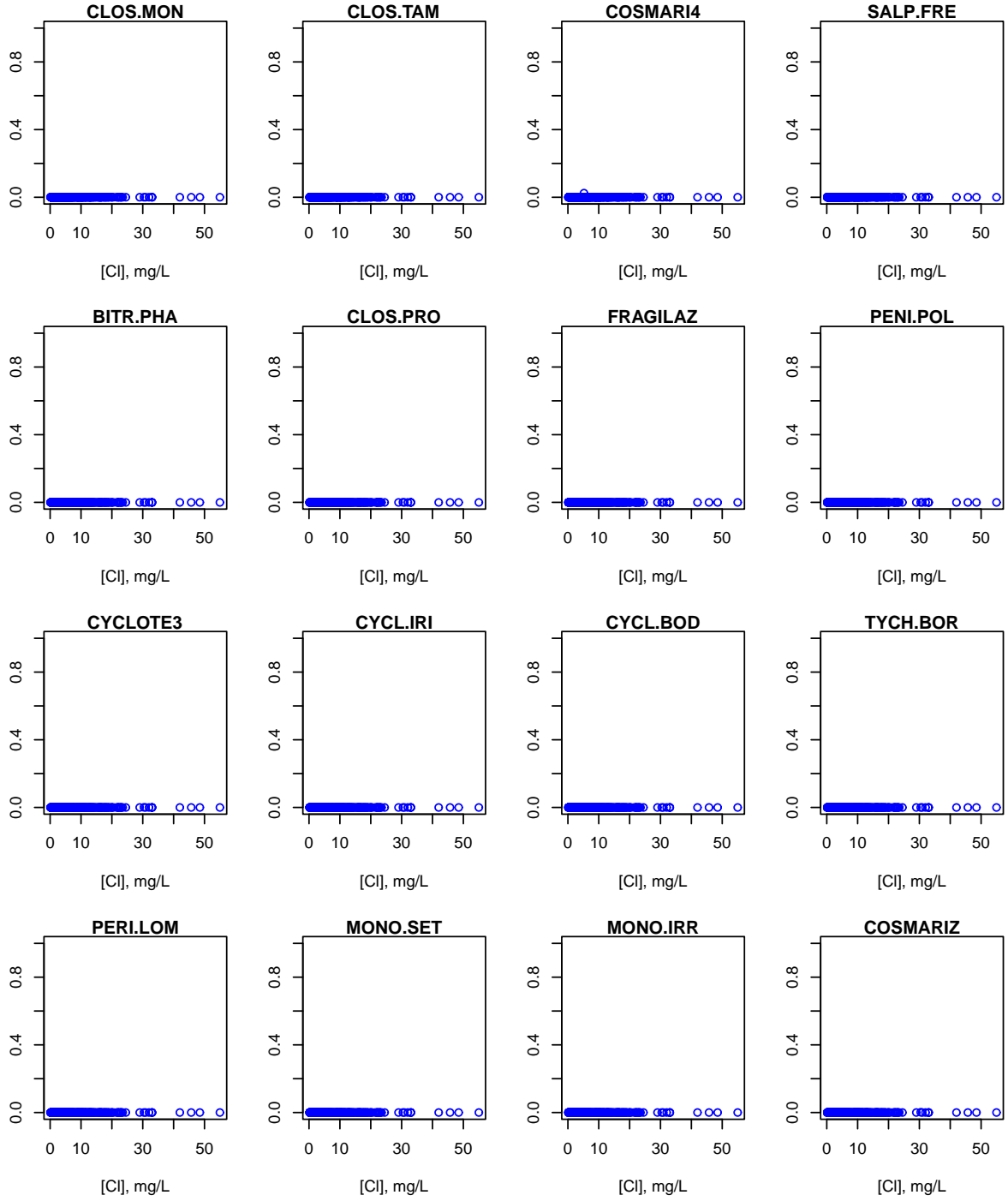


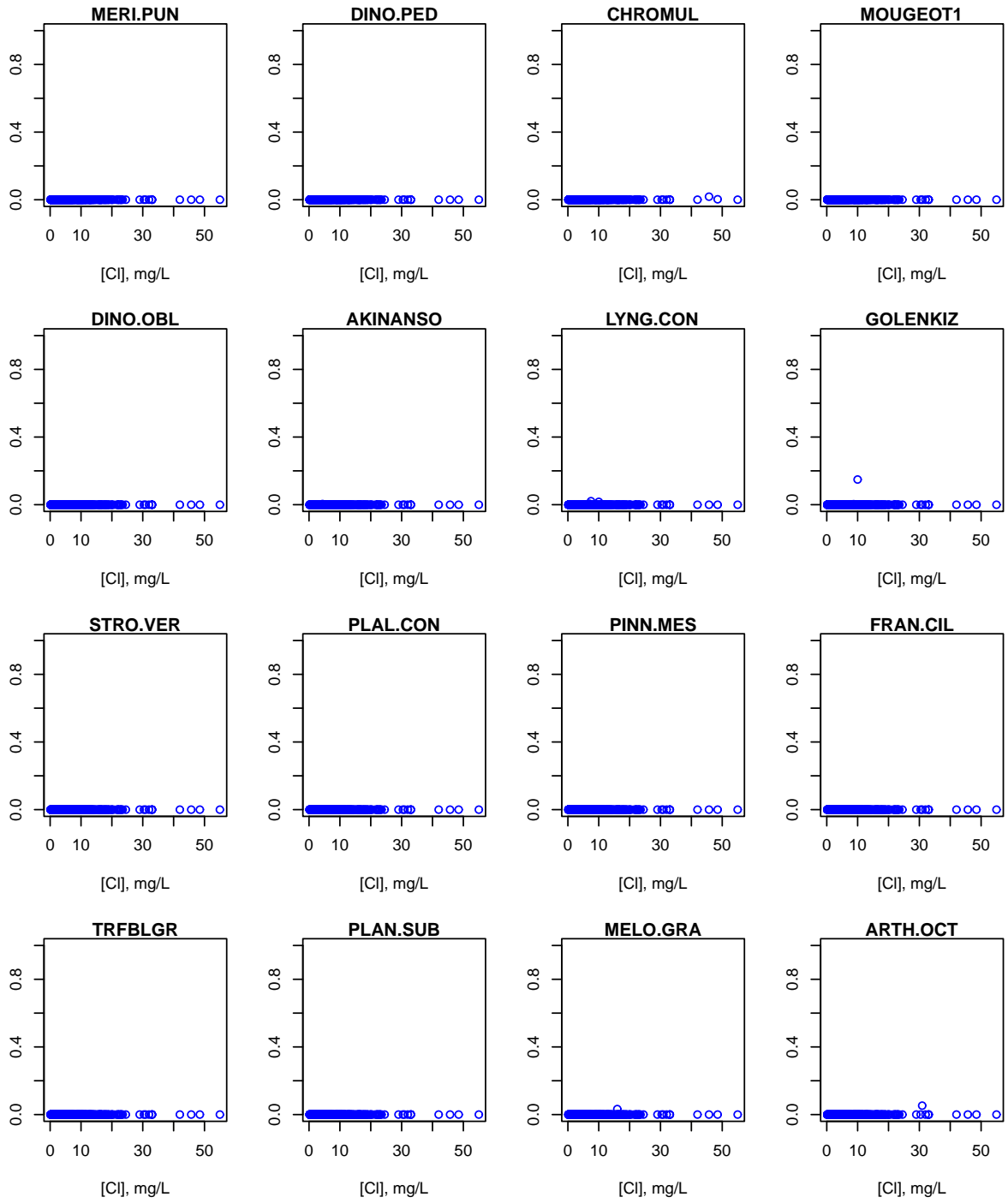


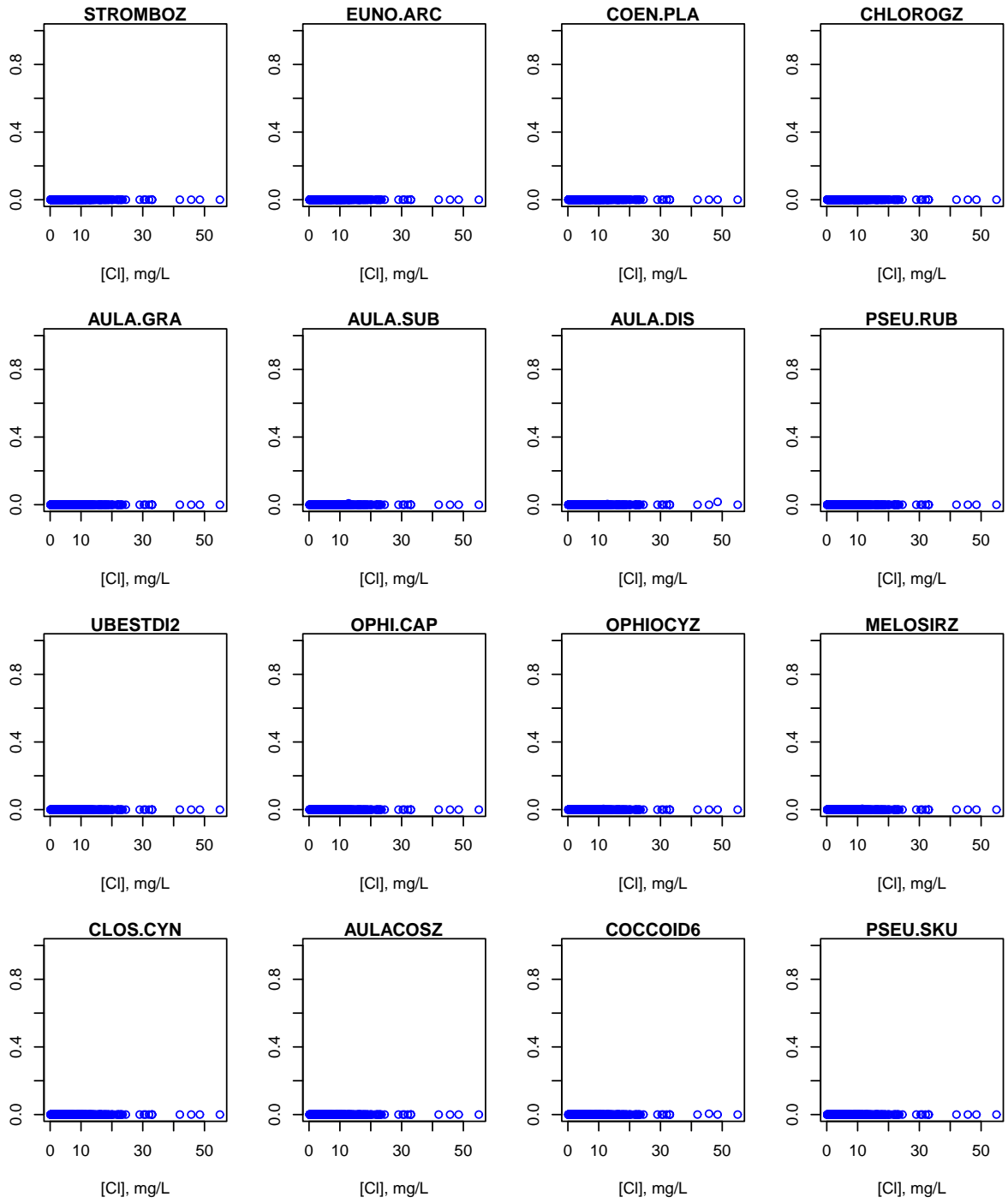


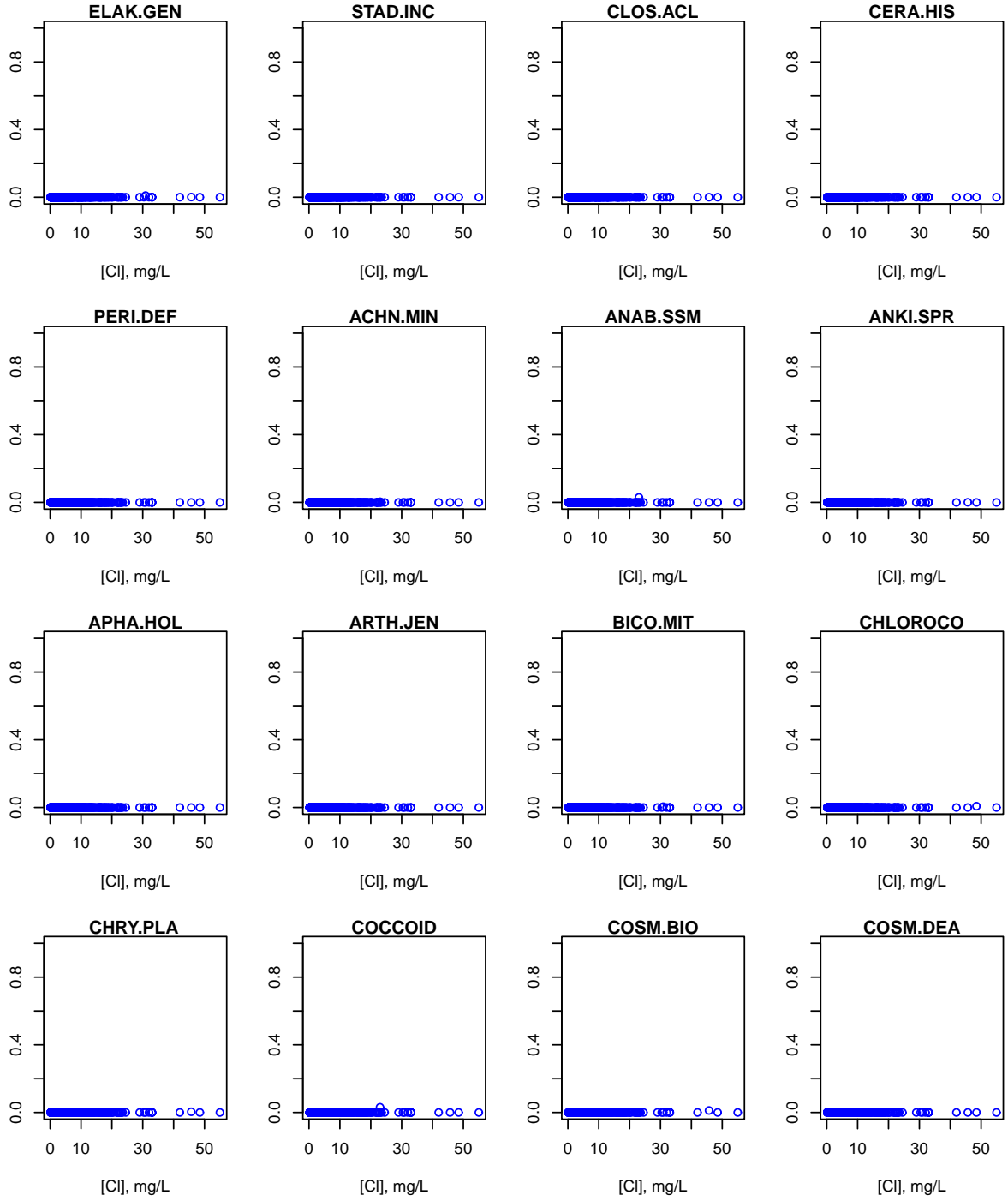


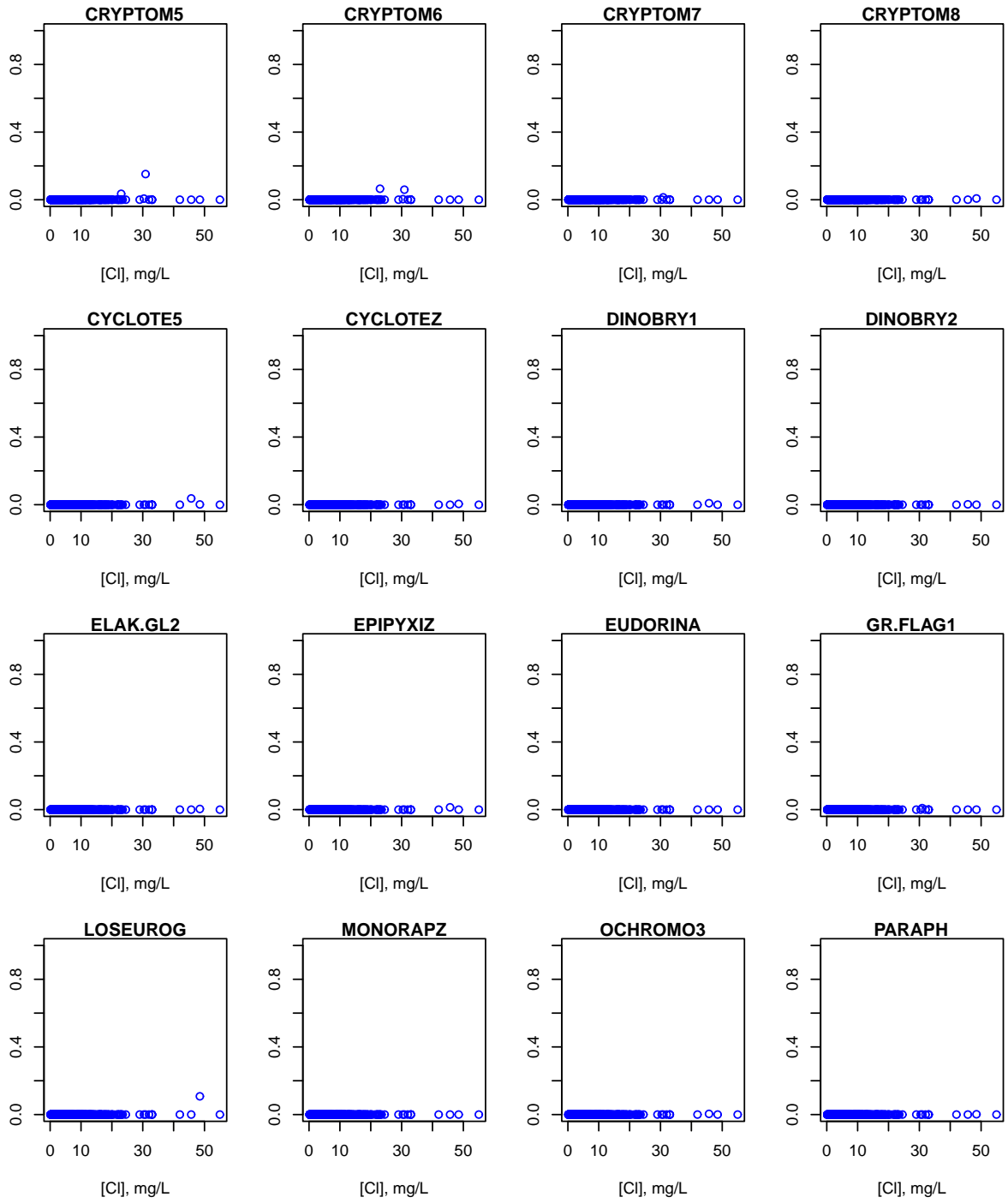




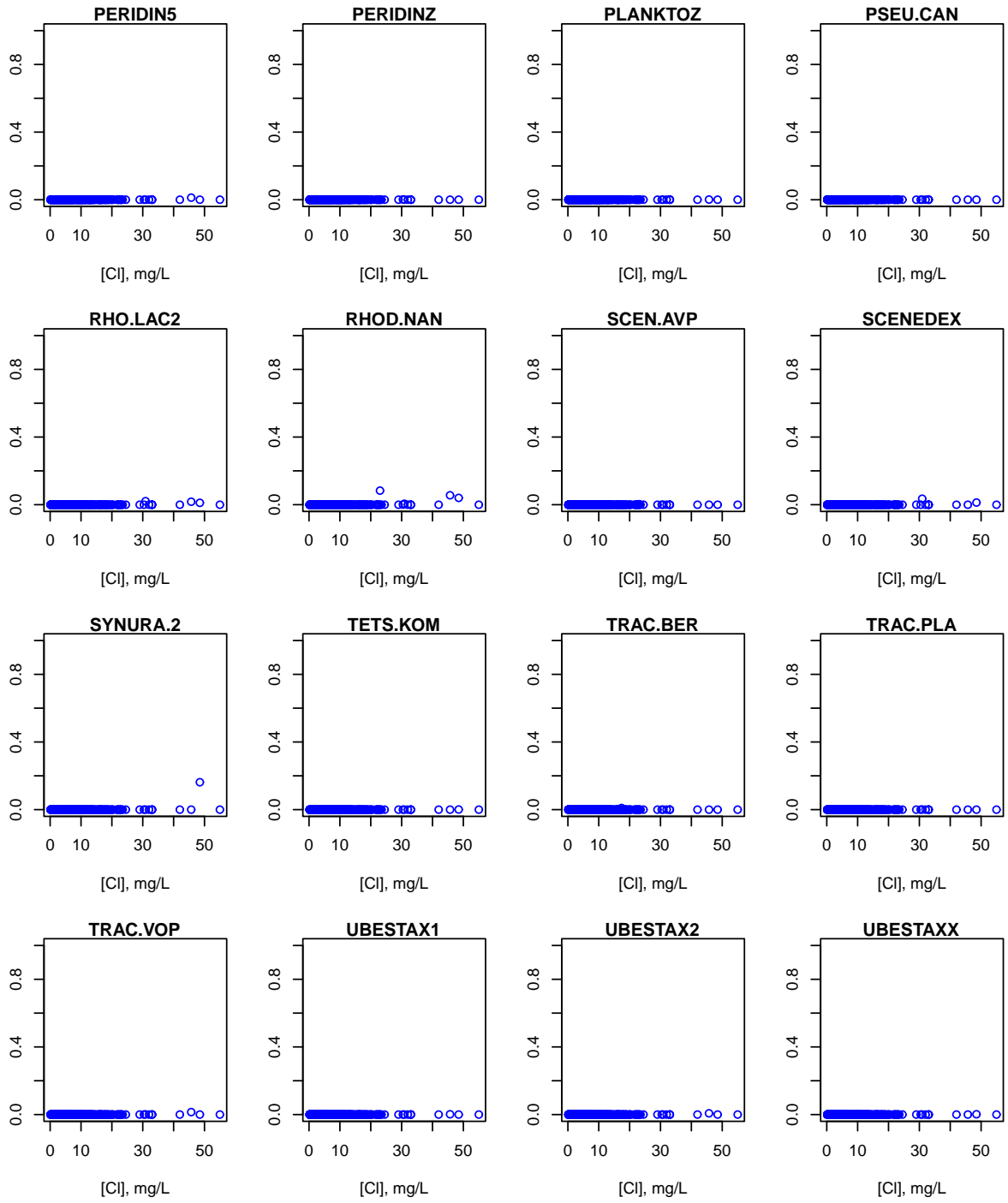


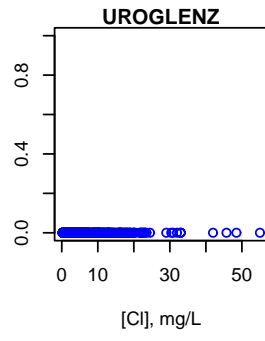
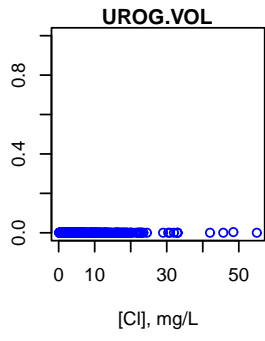












## Vedlegg C. Sammensetning av vekstmedium Z8 og ISO 8692

Z8		ISO 8692	
Kjemikalier	Konsentrasjon	Kjemikalier	Konsentrasjon
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	21 mg/l	NH <sub>4</sub> Cl	15 mg/l
NaNO <sub>3</sub>	467 mg/l	MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	12 mg/l
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	31 mg/l	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	18 mg/l
		MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	15 mg/l
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	59 mg/l	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,6 mg/l
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	25 mg/l		
		FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	64 µg/l
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	2,8 mg/l	Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	100 µg/l
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	223 µg/l		
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	310 µg/l	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	185 µg/l
KBr	12 µg/l	MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	415 µg/l
KJ	8,3 µg/l	ZnCl <sub>2</sub>	3 µg/l
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	28,7 µg/l	CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	1,5 µg/l
Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	15,4 µg/l	CuCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,01 µg/l
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> ·4H <sub>2</sub> O	8,8 µg/l	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	7 µg/l
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	12,5 µg/l		
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	14,6 µg/l	NaHCO <sub>3</sub>	50 mg/l
NiSO <sub>4</sub> (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ·6H <sub>2</sub> O	19,8 µg/l		
Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ·24H <sub>2</sub> O	47,4 µg/l		
Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	3,3 µg/l		
Cr(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ·9H <sub>2</sub> O	4,1 µg/l		
V <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	0,89 µg/l		
EDTA	3,7 mg/l		

### Sammensetning av vitaminløsning

Kjemikalier	Konsentrasjon
Thiamin	100 mg/l
Biotin	1 mg/l
Cyanocobalamin	1 mg/l

Z8 lages ved å blande fire stamløsninger og fortynne med destillert vann. Løsningen autoklaveres. Som vekstmedium brukes rent Z8, eventuelt fortynnet med destillert vann og/ eller tilsatt 1 ml vitaminløsning.

ISO 8692 lages ved å blande fire stamløsninger og fortynne med destillert vann.

Haugen, T. O. (2007). Fish responses to eutrophication. REBECCA - Final Conference, Oslo, NIVA.

Wood, S. N. (2006). Generalized Additive Models: An Introduction with R, Chapman & Hall.





Statens vegvesen

Statens vegvesen Vegdirektoratet  
Publikasjonsekspedisjonen  
Boks 8142 Dep.  
N-0033 Oslo  
Tlf. (+47 915)02030  
E-post: [publvd@vegvesen.no](mailto:publvd@vegvesen.no)

ISSN: 1892-3844