

680

OPPDRAKSMELDING

Vekstrespons hos tre aerofyttiske
algar på tilførsel av nitrogen

Inga E. Bruteig
Mette G. Thomsen
Dag Altin



NINA • NIKU

NATURENS 
TÅLEGRENSER

Miljøverndepartementet
Fagrapport 108

NINA Norsk institutt for naturforskning

Vekstrespons hos tre aerofyttiske algar på tilførsel av nitrogen

Inga E. Bruteig
Mette G. Thomsen
Dag Altin



Miljøverndepartementet
Fagrapport 108

Publikasjoner i NINA•NIKU

NINA•NIKU gir ut følgende faste publikasjoner:

NINA Fagrapport

NIKU Fagrapport

Her blir resultat av NINA og NIKU sine egne forskingsarbeid publiserte, problemoversyn, kartlegging av kunnskapsnivået innan eit emne, samt litteraturstudiar. Fagrapportar blir også gitt ut som eit alternativ eller supplement til internasjonal publisering, der tidsaspektet, typen materiale, målgruppe m.m. gjer dette nødvendig. Opplag: normalt 300-500.

NINA Oppdragsmelding

NIKU Oppdragsmelding

Dette er det minimum av rapportering som NINA og NIKU gir til oppdragsgjevar etter fullførte forskings- eller utgreiingsprosjekt. I tillegg til dei emna som blir dekt av fagrapportane, omfattar oppdragsmeldingane også befaringsrapportar, seminar- og konferanseforedrag, årsrapportar frå overvåkingsprogram o. a.

Opplaget er avgrensa (normalt 50-100).

NINA•NIKU Project Report

Serien presenterer resultat frå begge institutta sine prosjekt når resultatane må gjerast tilgjengelege på engelsk. Serien omfattar original eigenforskning, litteraturstudiar, analysar av spesielle problem eller tema m.m.

Opplaget varierer avhengig av behov og målgrupper.

Temahefte

Desse omhandlar spesielle tema og blir utarbeidd etter behov m.a. for å informere om viktige problemstillingar i samfunnet. Hefta kan vere av allmenn interesse eller retta mot særskilde grupper, så som landbruket, miljøvern-avdelingane hos fylkesmennene, turist- og friluftsforskningsorganisasjonar m.m. Dei har difor ei meir populærvitenskapleg form, gjerne med større bruk av illustrasjonar enn publikasjonane nemnt over.

Opplag: Varierende.

Fakta-ark

Målet med desse er å gjere dei viktigaste resultatane av NINA og NIKU sin faglege aktivitet tilgjengeleg for et større publikum (presse, ideelle organisasjonar, naturforvaltninga på ulike nivå, politikarar og interesserte einskildpersonar).

Opplag: 1200-1800

I tillegg publiserer dei tilsette i NINA og NIKU forskingsresultatane sine i internasjonale vitenskaplege journalar, gjennom populærfaglege tidsskrift og aviser.

Bruteig, I.E., Thomsen, M.G. & Altin, D. 2001. Vekstrespons hos tre aerofyttiske algar på tilførsel av nitrogen. – NINA Oppdragsmelding 680:1-19.

Trondheim, februar 2001

ISSN 0802-4103

ISBN 82-426-1204-8

Forvaltningsområde:

Naturens tålegrenser, luftalgar

Critical loads, Aerophytic algae

Opphavsrett ©:

Stiftelsen for naturforskning og kulturminneforskning

NINA•NIKU

Publikasjonen kan siterast fritt med kjeldetilvisning

Redaksjon:

Bjørn Åge Tømmerås

NINA•NIKU, Trondheim

Design og layout:

Synnøve Vanvik

Sats: NINA•NIKU

Kopiering: Norservice

Opplag: 150

Kontaktadresse:

NINA•NIKU

Tungasletta 2

7485 Trondheim

Tel: 73 80 14 00

Faks: 73 80 14 01

Tilgang: Open

Prosjekt nr.: 16854 Algar og nitrogen

Ansvarleg signatur:

Bjørn Åge Tømmerås

Oppdragsgjevar:

Direktoratet for naturforvaltning

Referat

Bruteig, I.E., Thomsen, M.G. & Altin, D. 2001. Vekstrespons hos tre aerofyttiske algar på tilførsel av nitrogen. – NINA Oppdragsmelding 680:1-19.

I denne studien har vi undersøkt effekten av tilført nitrogen i næringsmedium til tre vanleg førekommande artar av luftalgar (aerofyttiske algar) isolert frå bjørkestammar på kysten av nordvestlandet og frå austlandet: grønalgane *Desmococcus olivaceus* og *Chlorococcum* sp. og cyanobakterien *Nostoc* sp. Dei tre artene vart dyrka på agar med fire ulike nivå av nitrogen i mediet.

Grønalgane *Desmococcus olivaceus* og *Chlorococcum* sp. reagerte begge signifikant positivt på auka nitrogenmengde, medan det ikkje var signifikante forskjellar mellom behandlingane for den nitrogenfikserande cyanobakterien *Nostoc* sp. Variasjonen innan art i høve til behandling var størst i gruppa med størst tilførsel av nitrogen. Grønalgen *Chlorococcum* sp. skifta farge frå raudt til grønt i alle prøver med nitrogen i mediet.

Gitt tilstrekkeleg tilgang på øvrige næringsstoff, verkar det som dei to utvalde grønalgane kan ha ein responskurve for nitrogen som gjer artane interessante som indikatororganismar i høve til nitrogendeposisjon i terrestriske miljø. For å finne ei meir fullstendig responskurve er det nødvendig å gjere forsøk med fleire nitrogendosar, spesielt i området mellom 0-nitrogen og den lågaste nitrogendosen som vart gitt i dette innleiande forsøket. Spesiell interesse er knytt til fargeskiftet hos *Chlorococcum* sp., som kan ha potensiale til å fungere som markør for ein spesifikk nitrogenkonsentrasjon.

Emneord: Luftalgar, nitrogen, tålegrenser, vekstrespons, klorofyll

Inga E. Bruteig; Norsk institutt for naturforskning, Tungasletta 2, N-7485 Trondheim
Mette G. Thomsen; Hagen Vestre, N-2610 Mesnali
Dag Altin; SINTEF Kjemi, N-7465 Trondheim

e-post: inga.bruteig@ninatrd.ninaniku.no

Abstract

Bruteig, I.E., Thomsen, M.G. & Altin, D. 2001. Growth response of three aerophytic algae related to nitrogen supply. – NINA Oppdragsmelding 680: 1-19.

In the present study we have examined the effect of nitrogen supplied through nutrient medium on three widespread aerophytic algae isolated from birch trunks in coastal Western and inland Eastern Norway: the green algae species *Desmococcus olivaceus* and *Chlorococcum* sp. and the cyanobacterium *Nostoc* sp. The species were grown on agar plates with four different concentrations of nitrogen in the medium.

The green algae *Desmococcus olivaceus* and *Chlorococcum* sp. both showed a positive response to increased nitrogen concentrations, while there was no significant difference between treatments regarding the cyanobacterium *Nostoc* sp. The variation within species and treatment was highest in the group receiving the highest nitrogen dose. The green algae species *Chlorococcum* sp. changed colour from red to green in all plates with nitrogen present in the medium.

The two selected green algae species may have a nitrogen depended growth curve when supplied with sufficient amounts of other nutrients, which make them suitable as indicator organisms related to nitrogen deposition in terrestrial environments. Experiments with a higher number of nitrogen concentrations are needed to find a more detailed response curve, especially in the lower spectre of concentrations. The change of colour in *Chlorococcum* sp. is of special interest, since this can prove to be a specific indicator of a certain level of nitrogen concentration.

Key words: Aerophytic algae, nitrogen, critical loads, growth response, chlorophyll

Inga E. Bruteig; Norwegian Institute for Nature Research, Tungasletta 2, N-7485 Trondheim
Mette G. Thomsen; Hagen Vestre, N-2610 Mesnali
Dag Altin; SINTEF Applied Chemistry, N-7465 Trondheim

e-mail: inga.bruteig@ninatrd.ninaniku.no

Føreord

Dette prosjektet er støtta av programmet "Naturens tålegrenser" ved Direktoratet for naturforvaltning og Statens Forureiningstilsyn .

Algane som er brukt i forsøket vart samla inn under prosjektet "Effektar av nitrogen på framvekst av frittlevande epifyttiske algar", som vart gjennomført av Allforsk Biologi og NIJOS i 1998-1999 med støtte frå Noregs Forskingsråd.

Vi vil rette ein takk til Randi og Olav Skulberg ved NIVA for hjelp med framstilling av næringsmedium og med identifisering av artar, samt for diskusjon og utveksling av idear når det gjeld aerofyttiske algar generelt.

Trondheim, februar 2001

Inga E. Bruteig
prosjektleiar

Innhald

Referat.....	3
Abstract.....	3
Føreord.....	4
1 Innleiing.....	5
2 Metodar.....	7
Kulturar:.....	7
Næringsmedium:.....	7
Vekstforsøk:.....	7
Løsemiddel:.....	7
Statistiske analysar:.....	9
3 Resultat.....	9
Vekst og ekstraksjon.....	9
Klorofyllinnhald.....	11
4 Diskusjon.....	12
Dyrkinga.....	12
Ekstraksjonen.....	12
Klorofyllanalysane.....	13
Vidare perspektiv.....	13
5 Litteratur.....	14
Vedlegg.....	15

1 Innleiing

Algar finst i alle økosystem, og står for rundt 40% av den globale fotosyntesen (Andersen, 1992). Algar er primærprodusentar i havet, som utgjer 71% av jordas overflate. I terrestriske miljø kan algar også gje eit omfattande bidrag når det gjeld fotosyntese, men desse samanhengane er lite kjende. Dei siste tiåra har vi fått ein stadig auke i tilførselen av nitrogen. Dette medverkar til auka vekst både av planktoniske og epifyttiske algar i akvatiske og terrestriske økosystem (Hessen, 1997).

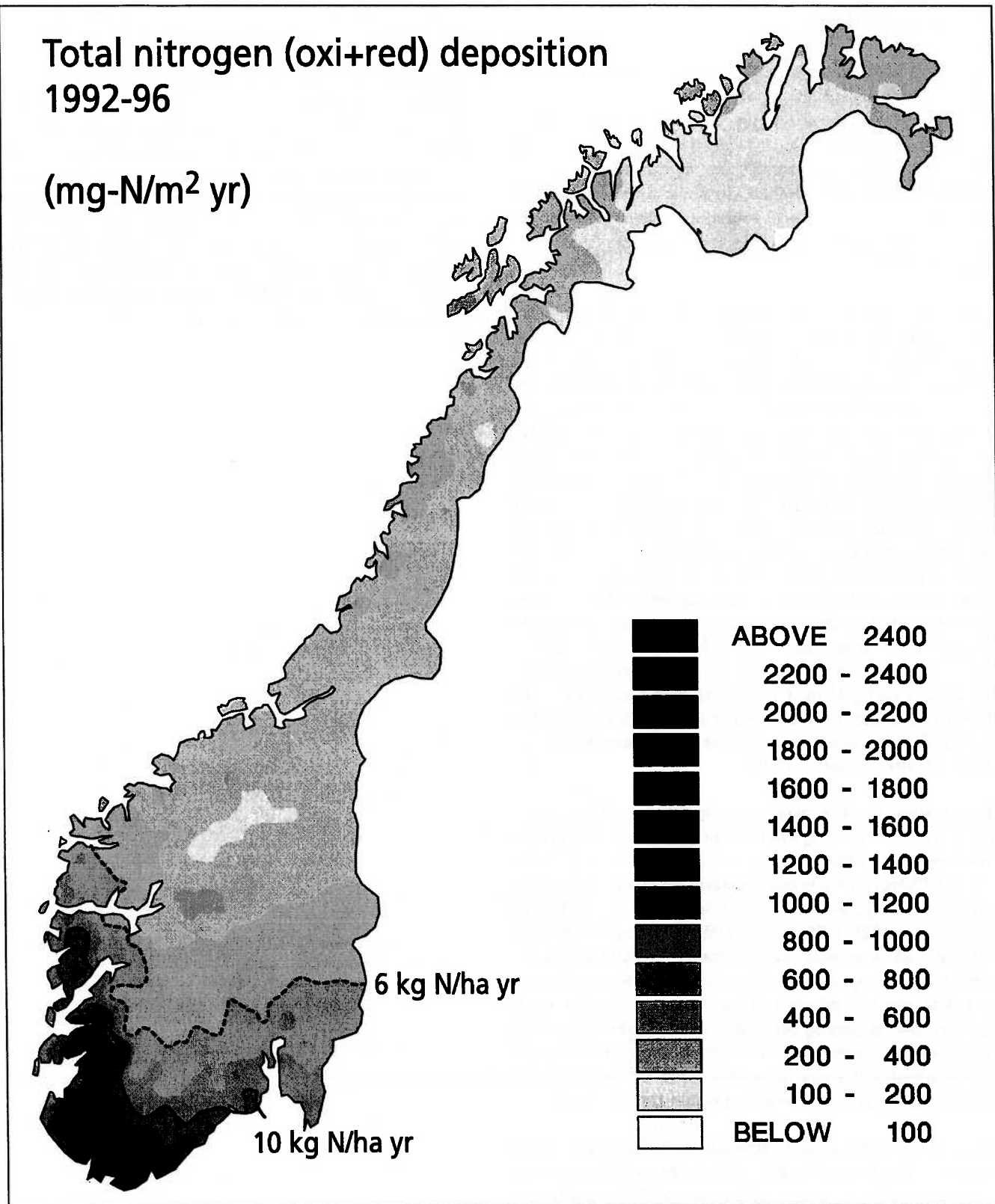
Det er funne ein positiv korrelasjon mellom vekst av luftalgar (aerofyttiske algar) og luftforureining i fleire studiar (Göransson, 1990; Søchting, 1997; Thomsen, 1992; Thomsen, 1996). I tillegg vil høgare middeltemperatur kunne verke positivt inn på algevekst (Poikolainen et al., 1998; Thomsen, 1992). I Sør-Noreg verkar det som om algar og til dels også cyanobakteriar er i framvekst på trestammar og barnåler. Ved den landsomfattande epifyttkartlegginga under Program for terrestrisk naturovervaking (TOV), vart det funne ein auke i mengden av grøne og mørkfarga algar og/eller cyanobakteriar på stammen av vanleg bjørk på 9 av 73 overvakingsflater frå 1992 til 1997 (Bruteig & Tronstad, 2000). Tilsvarende observasjonar i andre Europeiske land har ført til at auka algevekst på tre er brukt som ein av fleire indikasjonar på at tålegrenser i terrestriske økosystem er overskridne (Bobbink, Hornung & Roelofs, 1996). Dette er i første rekkje brukt som tålegrensekriterium for skog i fuktig klima ("Forests in humid climates"), der tolegrensa på denne bakgrunnen er sett til 5-10 kg N ha⁻¹ år⁻¹. I store deler av Sør-Noreg er denne grensa overskriden, jfr. **figur 1** (Tørseth & Semb, 1998).

Kunnskapen om kva algar som opptre aerofyttisk, deira geografiske utbreiing og kva faktorar som influerer på ein arts framvekst eller tilbakegang er mangelfull (Andersen, 1992). Allforsk Biologi og NIJOS gjennomførte ein pilotstudie av algar på grannåler og bjørkestammar på Sørlandet, Austlandet og i Trøndelag i 1998-1999 (Forskningsrådprosjektet "Effektar av nitrogen på framvekst av frittlevande epifyttiske algar"). Under dette prosjektet vart det isolert fram reine kulturar av innsamla materiale på næringsagar. Nokre av desse kulturane er identifisert til slekt og delvis også til art. Studien viste vidare at algeveksten varierer langs ein kyst-innlandsgradient og sør-nordgradient. Det synes t.d. å vere større innslag av *Trentepohlia*-artar og cyanobakteriar ved kysten enn i innlandet.

Tilførsel av antropogent spreidde nitrogen-komponentar saman med auke i årsmiddeltemperatur er mest truleg hovudårsakene til den registrerte auken av epifyttiske algebelegg. Klimatiske faktorar kan vere vesentlege for artsamansetjinga av algebelegget. Såleis vil det optimale vere å manipulere både næringstilgang og klimatiske faktorar som vasstilgang, lyskvalitet/mengde og temperatur for ei rekkje ulike artar. Men førebels er situasjonen at vi manglar basale kunnskapar m.a. om realistiske responskonsentrasjonar for nitrogen og om artsamansetjinga. Difor har vi valt å (1) starte med nokre av dei mest vanlege artane som vi har klart å reindyrke og (2) søkje å finne kva nivå av nitrogen som resulterer i målbare

forskjellar i vekst for desse artane. Eit eventuelt meir omfattande prosjekt kan byggje på resultatata frå dette forsøket.

Vi har her brukt tre av dei reindyrka algartane innsamla i forskningsrådprosjektet nemnt over, grønalga *Desmococcus olivaceus* og *Chlorococcum* sp. og cyanobakterien *Nostoc* sp., i eit eksperimentelt studium av samanhengen mellom nitrogentilførsel og vekst. *Nostoc* sp. er tatt med m.a. fordi den tilhøyrrer gruppa av cyanobakteriar som har evna til å fikserer nitrogen frå luft (*heterosystemiske cyanobakteriar*) og såleis er mindre avhengig av nitrogen i nedbør. Det blir såleis forventa at desse artane kan ha ulik respons på tilført nitrogen i næringsmediet. Spektrofotometriske målingar av klorofyllinnhald er brukt som uttrykk for vekst.



Figur 1. Deposisjon av nitrogen (sum av nitrat og ammonium) i Noreg 1992-96 (Tørseth & Semb, 1998) – Deposition of nitrogen (sum of reduced and oxidised forms) in Norway 1992-96 (Tørseth & Semb, 1998).

2 Metodar

Kulturar

Testkulturane er henta frå tre innsamlingar av epifyttiske algar på bjørkestammar: 1) *Desmococcus olivaceus* innsamla august 1999 frå Tuvik ved Tjeldbergodden, Aure i Møre og Romsdal, 2), *Chlorococcum* sp. innsamla 30.10.1998 frå Nordmoen i Akershus og 3) *Nostoc* sp. (cyanobakterie) 10.06.1998 frå Tuvik. Alle kulturane har sidan innsamling vorte haldne på agar tilsett 20% Z8-næringsmedium i lukka petriskåler. Til artsbestemming og nomenklatur for grønalgane har vi brukt Ettl & Gärtner (1995) og for cyanobakteriar Rippka et al. (1979).

Desmococcus olivaceus

Dette er ein av dei artane som tidlegare har gått under namna *Pleurococcus vulgaris* og *Protococcus viridis*, og som saman med *Apatococcus lobatus* er ein av dei hyppigast førekommande algar på tre (Ettl & Gärtner, 1995). Arten er kjenneteikna ved at det ved vegetativ celledeling blir danna kubiske cellepakker (**figur 2**), og ved at arten i agar-kulturar dannar forgreina cellerekkje (trikale filament) som lett fell frå kvarandre. Kulturar på agar har tendens til å bli dominert anten av det kubiske stadiet eller av filament-stadiet (Broady & Ingerfeld, 1993).

Chlorococcum sp.

Grønalgeslekta *Chlorococcum* (familie *Chlorococcaceae*) består av eincella, ofte kuleforma artar, og 22 av desse er rapportert frå terrestriske miljø (Ettl & Gärtner, 1995). *Chlorococcum* spp. er kosmopolitiske og blant dei dominerande algane funne i luftprøver frå fly (Marshall & Chalmers, 1997). Felles for desse artane er at dei har eit kvilestadium i form av

tjukkevegga hypnoblastar eller hypnosporar, der opplagsnæring og hematokrom blir lagra. På grunn av fargestoffet hematokrom blir cellene raudfarga. I vekststadiet er cellene grøne (**figur 3**). Laboratorieforsøket starta med ein raudfarga kultur av denne arten, med alle algecellene i kvilestadium.

Nostoc sp.

Utgangskulturen av *Nostoc* var svært homogen, og danna tydelege konsentriske ringar på agaren. Fargen var bleikt gråblå. Mikroskopiering viser at arten typisk veks i einrada kjeder (*trichom*) av tønneforma celler, med midt- eller ende-stilte heterocyster (**figur 4**). I naturen er cellekjedene omgitt av ei gelatinøs hinne, og ved vekst blir det danna stadig nye bukta cellekjeder innan éin felles gele. Dette gjer at arten framstår med eit slimaktig thallus som særleg er tydeleg under fuktige forhold.

Næringsmedium

Næringsløysinga er basert på mediet Z8, som er eit vanleg brukt medium for dyrking av ferskvassalgar, og som m.a. NIVA brukar til dyrking av ei rekkje av sine algekulturar (Randi Skulberg, pers medd). Z8 inneheld nitrat i form av salta NaNO_3 og $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ tilsvarande totalt 83,95 mg N/l. I tillegg

inneheld mediet små mengder nitrogen i Na_2EDTA samt i spormetall-løysinga i form av $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ og $\text{NiSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Konsentrasjonane av desse stoffa er likevel så låge at vi har valt å sjå vekk frå deira bidrag til tilgjengeleg nitrogen. Modifisert Z8 utan nitrat blir ofte brukt til dyrking av nitro-genfikserande cyanobakteriar. I dette mediet er nitratsalta bytt ut med kloridsalt, ved at NaNO_3 er erstatta av tilsvarande mengde NaCl og $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ erstatta av $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Næringsagar med fire ulike nitrogendosar vart danna ved at agar vart tilsett 20% Z8 med følgjande saltinnhald:

- 1 0-Nitrogen – med klorid i staden for nitrat; gir 0 mg N/l
- 2 ½-Nitrogen – 50% klorid og 50% nitrat; gir 8,4 mg N/l
- 3 1-Nitrogen – med vanleg nitratmengde; gir 16,8 mg N/l
- 4 2-Nitrogen – med dobbel dose nitrat; gir 33,6 mg N/l

Næringsagaren vart fylt i standard petriskåler for dyrking av kulturane. For kvar art og nitrogenkonsentrasjon vart det sett opp fire parallelle skåler, slik at det totalt var (3 artar x 4 konsentrasjonar x 4 parallellar) = 48 skåler.

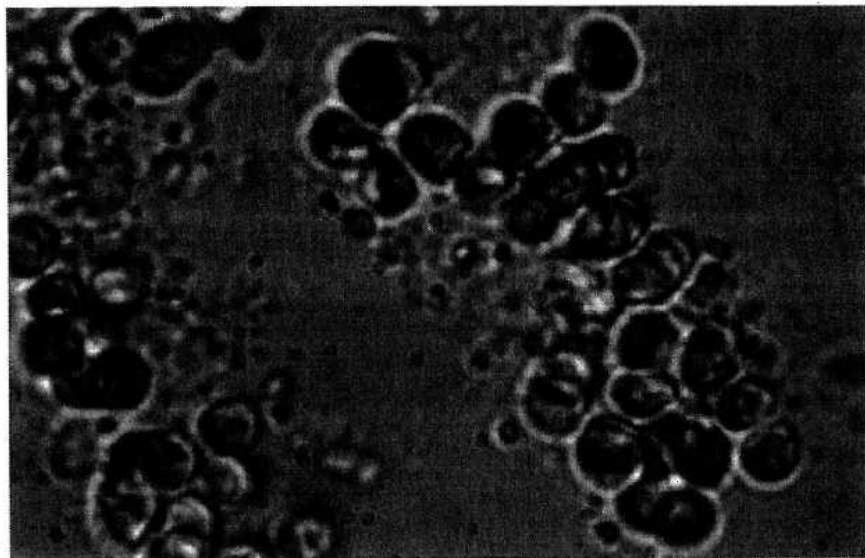
Vekstforsøk

Testkulturane vart vaska og skrapa av agarplatene og løyst i destillert vatn. Før utplating på agarskålene vart kulturane homogenisert ved forsiktig skvalping. 1 ml kultur + 1 ml av den respektive næringsløysinga vart pipettert ut på skålene, og skålene vart forseгла med parafilm. Deretter vart skålene sett i lys-kontrollert rom med ein døgnvariasjon med 8 t mørke og 16 t lys. Temperaturen var 26 °C på dagtid og 18 °C på natt. Lys, temperatur og fuktigheit vart såleis halde likt for alle skålene. Det vart også tatt ut 1 ml av kvar algeløysing som vart fiksert med formalin for celletejing, og 7-8 ml av kvar algeløysing for måling av klorofyllkonsentrasjon ved start.

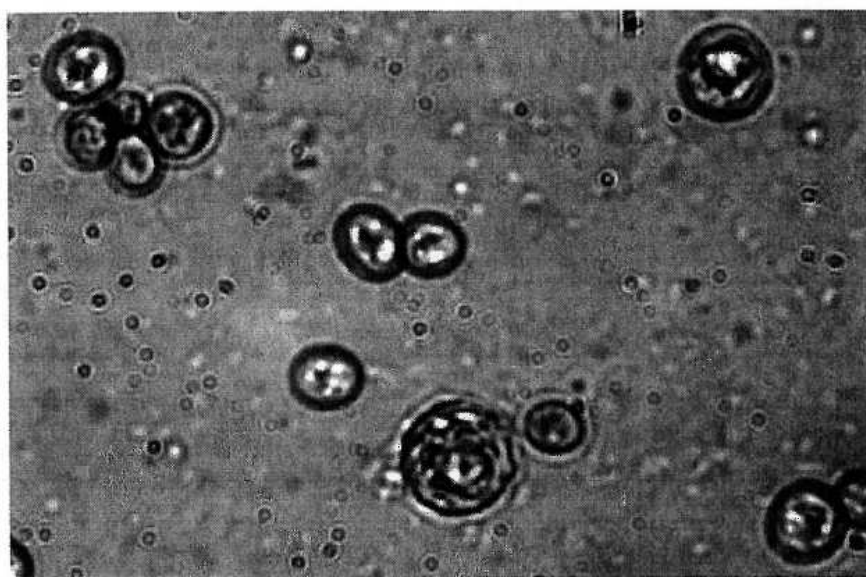
Forsøket vart stoppa etter 1 mnd vekst. Algecellene vart fjerna frå agarplatene ved hjelp av glasvatt. Glasvatt med algeceller vart lagt i reagensrør. Restane av algeceller på agarskålene vart vaska av med to ganger 5ml destillert vatn, og vaskevattet vart tilført reagensrøret. Reagensrøra vart sentrifugert (15 minutt ved 3500 rpm i sentrifuge Jouan MR1812), og supernatanten vart fjerna. Metoden med sentrifugering vart valt då det viste seg å vere vanskeleg å filtrere algeløysinga pga. at algane hadde tendens til effektivt å tette att filteret.

Løysmiddel

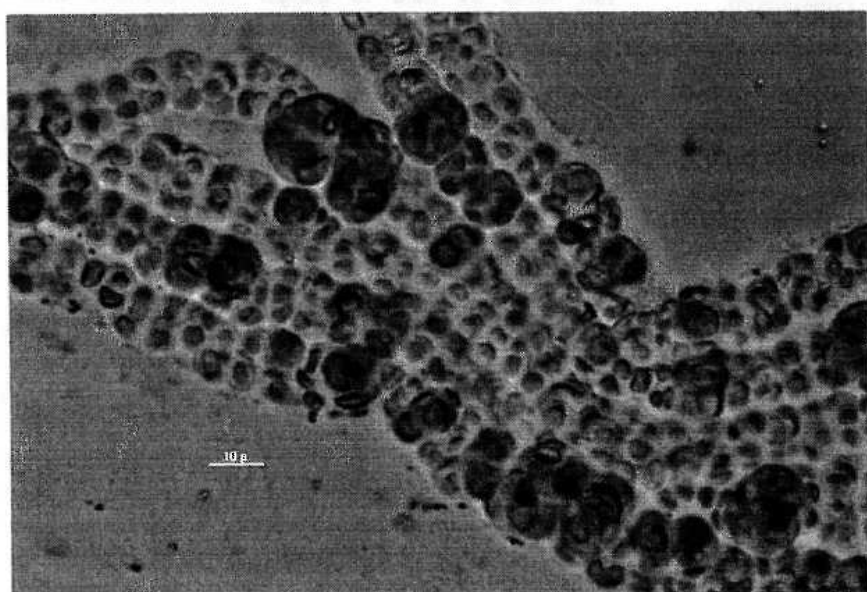
Reagensrøra med algekulturarane vart tilsett 5 ml av løysmiddel N,N-dimetylformamid (DMF), og sett til ekstraksjon mørkt på kjølerom (4 °C) i 48 timar. Deretter vart prøvene sentrifugert, og absorpsjonen ved 647 (klorofyll b) og 664 nm (klorofyll a) målt i 1 cm standard kyvetter på spektrofotometer (Hitachi U-2000). 3 ml N,N-dimetylformamid vart brukt som blank. Prøvene vart fortynt dersom absorpsjonen ved 664 nm var over det lineære området for klorofyll (> 0,8 nm).



Figur 2. Grønalgen *Desmococcus olivaceus* – The green algae species *Desmococcus olivaceus*



Figur 3. Grønalgen *Chlorococcum* sp. med celler i vekstfase samt sentralt i nedste del av bildet éi tjukkvegga celle i kvilestadium - The green algae species *Chlorococcum* sp. showing cells in growth stage plus one cell in resting stage (thick cell wall, located in lower, central part of picture).



Figur 4. Cyanobakterien *Nostoc* sp. – The cyanobacterium *Nostoc* sp.

Totalt klorofyllinnhald (Chl_{tot}) vart rekna ut etter følgjande formel (Moran 1982):

$$Chl_{tot} = (0,00704 \times A_{664} + 0,02027 \times A_{647}) \times vol$$

der A_{664} er målt absorpsjon ved 664 nm, A_{647} er absorpsjon ved 647 nm og vol er volumet av tilsett ekstraksjonsmiddel (DMF). Dette gir eit mål på klorofyllmengde som *mg klorofyll pr skål*, som igjen svarer til 1 ml startkultur av dei respektive algane.

Statistiske analysar

Statistiske analysar av klorofyllinnhald i dei ulike skålene omfattar t-test, ANOVA on Ranks med Dunns tilleggstest og korrelasjonsanalyse med koeffisienten Spearman Rank Order. Programpakka SPSS 10.0 er brukt til dei statistiske analysane (SPSS, 1999), og programmet Sigmaplot er brukt til dei grafiske framstillingane.

3 Resultat

Vekst og ekstraksjon

Desmococcus olivaceus

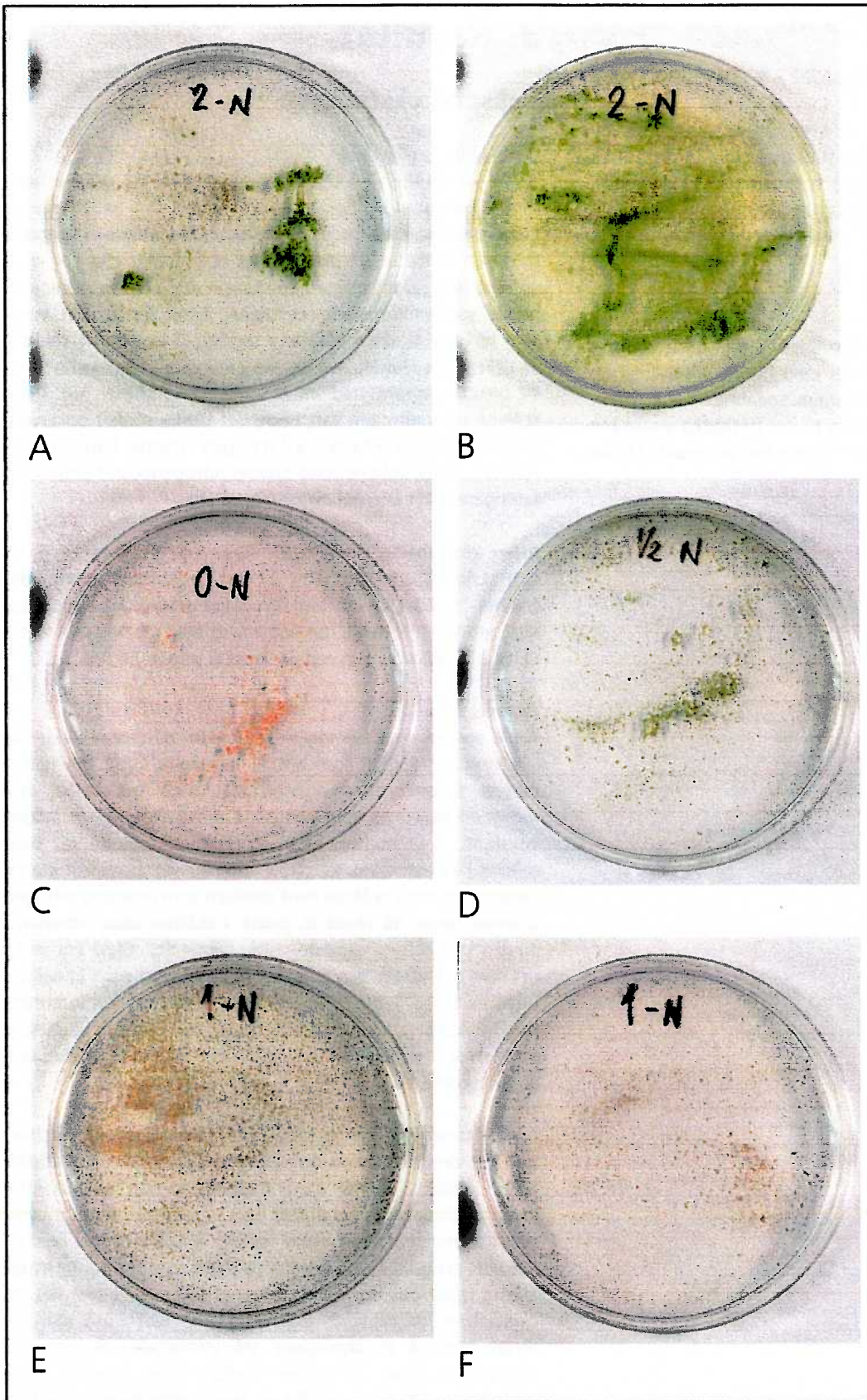
Arten var vanskeleg å homogenisere i vatn, då cellene hang saman i grupper og desse hadde tendens til å sedimentere i kolben. Ein kan derfor ikkje utelukke at mengden algeceller som vart plata ut på skålene var noko ulikt. Det var også synlege forskjellar i veksten på skålene, også innan skåler som hadde same nitrogenkonsentrasjon (**figur 5a-b**). Det verka som to ulike stadium etablerte seg: eit skarpt grønt stadium av celler som klumpa seg saman i koloniar ("dru eklase"), og eit bleikt grågrønt stadium av enkeltceller (**figur 5a**). I alle skålene utan nitrogen vart berre det bleike stadiet observert, medan dei fleste skålene med nitrogen i mediet hadde begge stadium. Éi av skålene med dobbel nitrogendose hadde klart kraftigare vekst enn dei øvrige (**figur 5b**).

Arten ekstraherte greitt med DMF, og tilsetjing av 5 ml ekstraksjonsmiddel gav jamt eit absorpsjonsnivå innafor det lineære området for klorofyll. Unntaket var éi skål med dobbel nitrogendose (jfr over), der fortynning med 15 ml DMF måtte til for å få absorpsjonen ved 664 ned til under 0,8 nm.

Chlorococcum sp.

Arten var lettare å homogenisere i vatn, då cellene ikkje var like klumpvis fordelt som hos *D. olivaceus*. Også her hadde cellene tendens til å sedimentere, men det verka som mengden algeceller som vart plata ut på skålene var relativt konstant. I utgangspunktet var kulturen raudfarga, med cellene i kvilestadium. Få dagar etter at vekstforsøket starta, begynte cellene i skålene med medium som inneheld nitrogen å endre farge frå raudt til grønt. I skålene utan nitrogen i mediet vart cellene verande raude (**figur 5c**). Også her verka det som det var ein viss vekst på skålene, men utan at cellene forandra farge. Etter éin månads vekst var framleis kulturane med nitrogen i mediet grøne (**figur 5d**), medan kulturane som ikkje hadde fått nitrogen framleis var raude som utgangskulturen.

Arten ekstraherte dårleg med DMF. Etter 48 timars ekstraksjon var det eit tydeleg botnfall av algar som var kraftigare grøne (raude for dei med 0-nitrogen) enn ekstraksjonsløysinga. Det vart prøvd å riste opp kulturane etterfølgjande av ny sentrifugering, utan at dette hjelpte. Absorbansen i løysingane vart likevel målt på tilsvarande måte som for dei to øvrige artane, sjølv om det var tydeleg at ikkje alt klorofyllet frå algecellene hadde vorte ekstrahert. Det vart også gjort eit forsøk med å la løysingane stå ytterlegare 24 timar til ekstraksjon. Etter 72 timar hadde arten framleis ikkje ekstrahert godt, og botnfallet av algar hadde tydeleg mørkare farge enn løysinga. Resultata frå andre gongs måling (etter 72 t ekstraksjon) gav jamt noko høgare verdiar for absorpsjon ved 664 nm og noko lågare verdiar ved 647 nm. Dette kan tyde på at innhaldet av klorofyll b hadde begynt å brytast ned. Verdiane for ekstraksjon etter 48 timar vart derfor brukt. Alle prøvene vart løyst i 5 ml DMF.



Figur 5. Agarskåler med algar etter éin månads vekst. A-B: *Desmococcus olivaceus* dobbel nitrogen-dose (2-N), skål a (A) og d (B). C-D: *Chlorococcum* sp. utan nitrogen (0-N)(C) og med halv nitrogendose ($\frac{1}{2}$ -N) (D). E-F: *Nostoc* sp. med standard nitrogendose (1-N), skål a (E) og b (F). – Plates with algae cultures after one month of growth. A-B: *Desmococcus olivaceus* with double nitrogen concentration (2-N), plate a (A) and d (B). C-D: *Chlorococcum* sp. without nitrogen (0-N)(C) and with half nitrogen concentration ($\frac{1}{2}$ -N) (D). E-F: *Nostoc* sp. with standard nitrogen concentration (1-N), plate a (E) and b (F).

Nostoc sp.

Arten vart greitt løyst i vatn, men det var vanskeleg å få noko inntrykk av om mengden algeceller som vart plata ut på skålene var homogen eller ikkje, då kulturen var svak i fargen (bleikt gråblå). I løpet av vekstforsøket voks kulturane i dei ulike skålene noko ujamt, men det verka ikkje vere nokon systematisk forskjell avhengig av nitrogeninnhaldet i mediet (**figur 5e-f**). Makroskopisk likna kulturane i vekstforsøket lite på startkulturen, utan dei typiske konsentriske ringane som kjenneteikna den mogne kulturen.

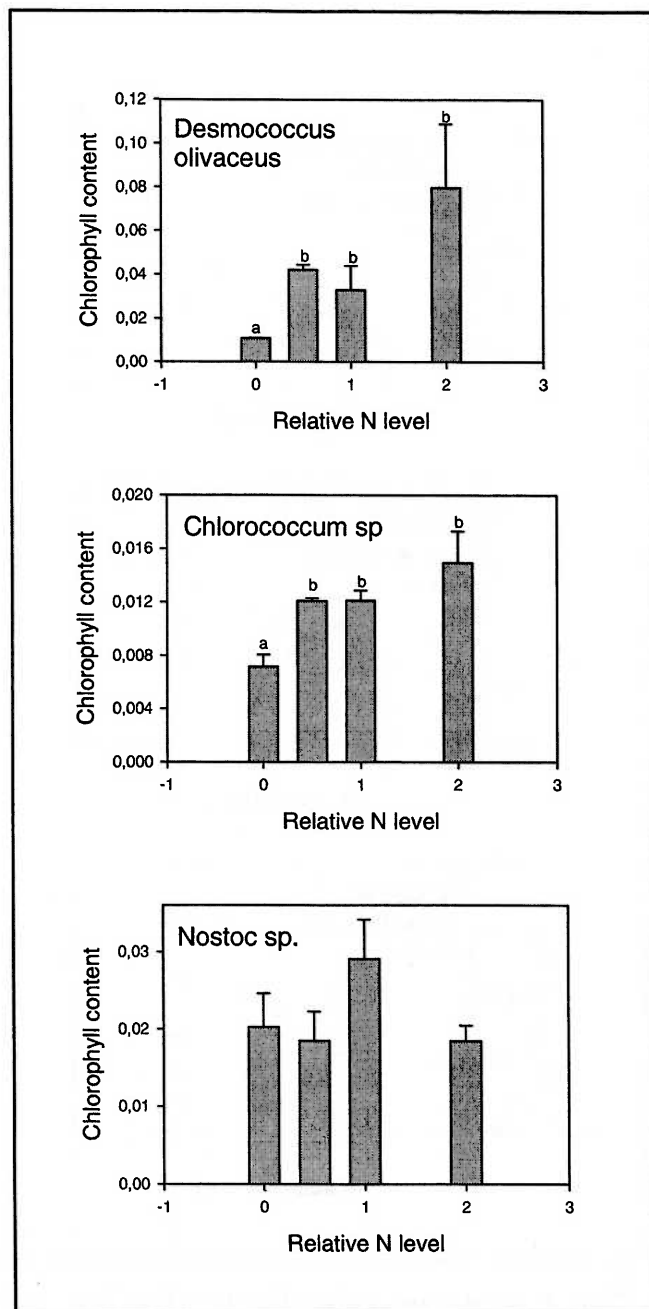
Det verka som arten ekstraherte greitt med DMF, sjølv om løysingane vart noko svake på farge. 5 ml DMF vart brukt for alle prøvene.

Klorofyllinnhald

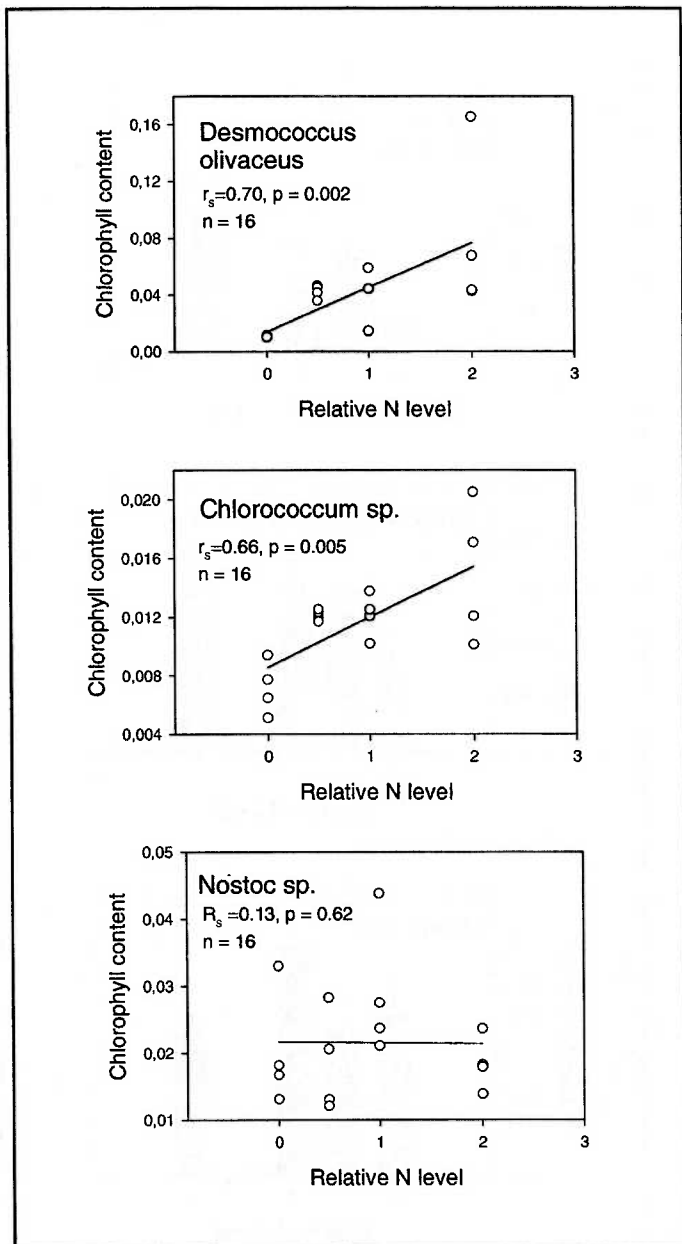
Det var signifikante forskjellar i klorofyllinnhald mellom skålene med og utan nitrogen i mediet for grønalga *Desmococcus olivaceus* og *Chlorococcum* sp. men ikkje for cyanobakterien *Nostoc* sp. (**figur 6**). Todelt T-test av gruppene med/utan nitrogen gav følgjande verdiar: *D. olivaceus*: $t = -3,6$, $p = 0,004$, *Chlorococcum* sp.: $t = 4,7$, $p = 0,001$ og *Nostoc* sp.: $t = -0,3$, $p = 0,742$. Det var ikkje signifikante forskjellar mellom dei tre dosane av nitrogen for nokon av artane (**figur 6**).

Utgangskulturane av dei tre artane hadde svært ulikt klorofyllinnhald, med lågast verdi for *Chlorococcum* sp. (0,0017 mg/ml) og *Nostoc* sp. (0,0025 mg/ml) og høgast for *D. olivaceus* (0,012 mg/ml). Både *Nostoc* sp. og *Chlorococcum* sp. hadde høgare klorofyllinnhald etter 1 månads vekst i 0-N-skålene enn utgangskulturen (**figur 6**).

Korrelasjonen mellom klorofyllinnhald og relativ nitrogendose viste signifikant auke i klorofyll for *D. olivaceus* og *Chlorococcum* sp., medan det var ingen samanheng for *Nostoc* sp. (**figur 7**). Spreiing i klorofyllverdiane innan same behandling var relativt stor for *Nostoc* sp. (**figur 7**). *D. olivaceus* og *Chlorococcum* sp. har størst spreing i behandlinga med høgast nitrogenskonsentrasjon (**figur 7**).



Figur 6. Totalt klorofyllinnhald i *Desmococcus olivaceus*, *Chlorococcum* sp. og *Nostoc* sp. sett i høve til auka mengde tilført nitrogen, gitt som mg klorofyll pr agarskål. Søylene representerer gjennomsnitt av fire skåler, med standardfeil (SE), etter 1 månads vekst. Ulik bokstav indikerer signifikant forskjell mellom gruppene ($p < 0,05$). – Total chlorophyll content in *Desmococcus olivaceus*, *Chlorococcum* sp. and *Nostoc* sp. related to nitrogen supply in medium (mg chlorophyll per plate). Columns represent mean of 4 plates, with standard error (SE) bars, after 1 month's growth. Different letter indicates significant difference between groups ($p < 0,05$).



Figur 7. Korrelasjonen mellom klorofyllinnhald (mg) i skåler med *Desmococcus olivaceus*, *Chlorococcum sp.* og *Nostoc sp.* og tilført nitrogen i vekstmediet. Korrelasjonskoeffisienten Spearman Rank Order er vist. – Correlation between chlorophyll content (mg) in plates of *Desmococcus olivaceus*, *Chlorococcum sp.* and *Nostoc sp.* and nitrogen supply in growth medium. The correlation coefficient Spearman Rank Order is shown.

4 Diskusjon

Dyrkinga

1 månads dyrking på lukka agarskåler med Z8-medium ved godt lys og temperatur rundt 20 °C er tilstrekkeleg for å gje målbare vekstresultat for alle tre artane. Samstundes har ikkje veksten vore så stor at kulturane stagnerer p.g.a. konkurranse om plass. Ulik kombinasjon av nitrat og klorid i næringsmediet verkar vere ei god løysing for å manipulere med nitrogeninnhaldet og samtidig gje tilstrekkeleg av andre næringsstoff. Det er rimeleg å anta at vekstforholda i skålene med klorid berre skil seg frå dei øvrige skålene når det gjeld tilgangen på nitrogen. Dersom redusert klorofyllinnhald i 0-nitrogen skreiv seg frå ein eventuell toksisk effekt av klorid, ville verdiane vore lågare i denne behandlinga for alle artane. Resultatet for cyanobakterien *Nostoc sp.* viste derimot ikkje signifikante forskjellar mellom behandlingane.

Veksten på ulike skåler som fekk same behandling var til dels svært ulik. Dette kan kome av at utgangskulturane var dårleg homogenisert slik at mengda av algar som vart plata ut på kvar skål ved pipettering var ulik. Det trengst vidare eksperimentering for å finne fram til eventuelle betre homogeniseringsmetodar. I tillegg kan det vere forskjellar i dei ulike algecellenes vekstpotensiale som det vanskeleg kan gjerast noko med. Det verkar som startpunktet for celledeling varierte innan skålene, og når vekst på eitt punkt først var kome i gang kunne det raskt etablere seg eit aggregat av celler rundt punktet. Dette var spesielt tydeleg for *Desmococcus olivaceus*, som delvis hadde ei "drueklaseaktig" vekstform. For å ta høgde for slike forskjellar i vekst er det viktig å ha mange parallellar innan kvar behandling, og fire som vi har brukt her er truleg eit minimum.

Ekstraksjonen

Ekstraksjon med DMF fungerte godt for *Desmococcus olivaceus* og *Nostoc sp.*, men dårleg for *Chlorococcum sp.* DMF har vist seg å vere signifikant betre enn t.d. aceton for ekstraksjon av klorofyll frå planktoniske ferskvassalgar og frå vev hos karplanter (Jeffrey, Mantoura & Wright, 1997), og løysemiddelet er også med hell brukt til ekstraksjon av klorofyll frå algekomponenten i lav (Bruteig & Wang, 1995; Hilmo & Larssen, 1994). Årsaken til at *Chlorococcum sp.* ikkje ekstraherte tilfredsstillande ligg truleg i at arten har ein tjukk cellevegg som kan vere tungt nedbrytbar. Før ein gjer vidare klorofyllanalyser med *Chlorococcum sp.* må ein prøve ut om andre løysemiddel så som aceton eller dimetylsulfoksid (DMSO) fungerer betre. Det kan også vere aktuelt med ei forbehandling for å bryte opp celleveggen, anten gjennom maling, frysing eller ved hjelp av ultralyd.

Klorofyllanalysane

I dette forsøket brukte vi standard spektrofotometrisk metode for å fastslå klorofyllinnhald etter ekstraksjon. Det var tydeleg at også andre pigment enn klorofyll a og b vart ekstrahert frå algane, spesielt frå kvilestadiet av *Chlorococcum* sp. der ekstraksjonsvæska var raudleg. Det ville difor vore interessant å gjere andre typar pigmentstudiar av desse artane enn berre å sjå på klorofyll a og b. Til dette kunne en t.d. bruke HPLC-teknikkar som er utvikla for andre algar.

Vi har i denne studien brukt klorofyllinnhald som uttrykk for vekst. Det verkar som denne tilnærminga fungerer, og vi har sett ein auke i klorofyllinnhaldet som korrelerer med tilførsel av nitrogen. Det kan likevel tenkjast at andre mål på vekst ville vore betre eller utfyllande til klorofyllanalysane. Eit forsøk med celleteljing for å ha tal celler som vekstmål, viste seg problematisk. Cellene i alle desse artane er klumpa saman i meir eller mindre gelatinøse koloniar, og har til dels svært ulik storleik. Det kan tenkjast at vekt som biomassemål ville vore muleg.

Vidare perspektiv

Målsetjinga om å finne responskurve for nitrogen for dei undersøkte artane er delvis oppnådd. Dei to grønalgeartane veks begge signifikant betre ved auka nitrogenkonsentrasjon, men det er ikkje signifikante forskjellar mellom dei tre nitrogendosane over 0-N. Det tyder på at lågaste nitrogendose ($\frac{1}{2}$ -N: 8,4 mg N/l) er over knekkpunktet for kvar responskurva flatar ut. Vidare eksperimentering må ta utgangspunkt i desse resultatane, og fyller ut med fleire nitrogenkonsentrasjonar, spesielt i området mellom 0-N og $\frac{1}{2}$ -N i dette forsøket. Konsentrasjonane av nitrogen i forsøket er høge i høve til middelkonsentrasjonane i nedbør (SFT, 2000), då næringsmediet i utgangspunktet er samansett for å gje optimale vekstforhold for algane. Resultat frå laboratorieforsøk kan ikkje direkte overførast til forholda i naturen, men gje indikasjonar på samanhengar som det kan arbeidast vidare med i meir langsiktige forsøk. I Finland har det vore gjort forsøk med vatning med nitrogen på greiner med epifyttiske algar i felt (Merilä, 1992). Forsøket gav ikkje ein tydige resultat, noko som primært vart tillagt ein alt for kort forsøksperiode (Merilä, 1992).

Dette eksperimentet har vist at *Chlorococcum* sp. bryt ut av eit kvilestadium med ein karakteristisk bleikraud farge og går over i eit grønt vekststadium ved tilførsel av nitrogen. Kva konsentrasjon denne forandringa skjer ved er ikkje fastslått. Dersom ein ved vidare eksperiment kan slå fast at overgangen frå kvile- til vekststadium skjer ved ein spesifikk nitrogenkonsentrasjon, har dette eit potensiale til å bli ein anvendeleg markør for dette nitrogennivået t.d. ved fastsetjing av tålegrenser. Det er kjent at artar i slekta *Chlorococcum* kan akkumulere β -karakotenin som sekundære karotenoidar (Zhang et al., 1997), og det vil i denne samanhengen også vere interessant å karakterisere karotenoid-innhaldet i denne arten.

Det viste seg å vere til dels store forskjellar i klorofyllproduksjon innan same behandling for *Desmococcus olivaceus*. Desse forskjellane skuldast til ein viss grad at det vart etablert to ulike stadium, og at desse hadde ulike vekstform og ulikt klorofyllinnhald. Kva som styrer utviklinga av det eine eller det andre er ikkje kjent, og det kan vere muleg at ein ved å starte med ein meir homogen kultur kan få mindre variasjon ved lik behandling. Arten er truleg blant dei mest vanlege som etablerer seg epifyttisk i Noreg, og det vil vere ønskeleg å finne ei meir påliteleg vekstkurve for arten for betre å kunne predikere kvar etablering og vekst av arten vil kunne skje.

Sidan *Nostoc* sp. er ein nitrogenfikserande organisme vart det i utgangspunktet gått ut frå at arten ikkje ville reagere positivt på tilførsel av nitrogen i næringsmediet. Det kunne heller tenkjast at nitrat i høge dosar kunne verke hemmande på fotosynteseaktiviteten hos denne arten. Epifyttisk lav med cyanobakteriar som fotobiont er i sterk tilbakegang i Europa, og luftforureining er gitt som ein av forklaringsgrunnane (Gauslaa, 1995; Hallingbäck & Martinsson, 1987; Löfgren & Moberg, 1984). Denne studien har vist at nitrat i relativt høge konsentrasjonar ikkje fører til nedgang i vekst i form av redusert klorofyllproduksjon hos *Nostoc* sp., sjølv om ein ikkje kan utelate at høgare nitrogendosar eller nitrogen i andre former vil kunne ha toksisk effekt.

I dette forsøket har vi latt kulturane vekse i lukka petriskåler med tilstrekkeleg fuktigheit. Det kan også vere interessant å sjå på forskjellar mellom artar når det gjeld fuktigheitsforholda. Det er vist at lav med blågrøn fotobiont ikkje kan utnytte vatn i dogg eller tåke men er avhengig av vatn i flytande form for å oppnå netto fotosyntese (Lange et al., 1993), og det vil vere rimeleg å anta at det same gjeld for aerofyttiske cyanobakteriar. Nedbørmengde og -frekvens vil såleis truleg ha større innverknad på epifyttiske cyanobakteriar enn for ein del grønalgar (Green et al., 1993).

Det er få studiar av aerofyttiske algar både i Noreg og elles, og for å kunne bruke desse organismane i overvåkings-samheng og som indikatorar på ulike miljøforhold krevst eit omfattande vidare arbeid. Dette gjeld både innan artsidentifikasjon så vel som laboratorie- og feltundersøkingar av dei økologiske krava desse artane har (Broady, 1996). Etter denne studien meiner vi det er grunnlag for å konkludere med at dei artane vi har testa har potensiale til å kunne nyttast som indikatororganismar i forhold til tilførsel av nitrogen i terrestriske miljø.

5 Litteratur

- Andersen, R.A. 1992. Diversity of eukaryotic algae. - *Biodiversity and Conservation* 1: 267-292.
- Bobbink, R., Hornung, M. & Roelofs, J.G.M. 1996. Empirical nitrogen critical loads for natural and semi-natural ecosystems. In *Manual on methodologies and criteria for mapping critical levels/loads and geographical areas where they are exceeded.*, pp. Annex III. UN ECE CLRTAP Task Force on Mapping and the CCE, Umweltbundesamt, Berlin, Germany.
- Broady, P.A. 1996. Distribution and dispersal of antarctic terrestrial algae. - *Biodiversity and conservation* 5: 1307-1335.
- Broady, P.A. & Ingerfeld, M. 1993. Three new species and a new record of chaetophoracean (Chlorophyta) algae from terrestrial habitats in Antarctica. - *European Journal of Phycology* 28: 25-31.
- Bruteig, I.E. & Tronstad, I.K.K. 2000. Terrestrisk naturovervaking. Landsomfattande gjenkartlegging av epifyttvegetasjonen på bjørk 1997. - *Allforsk rapport* 16: 1-54.
- Bruteig, I.E. & Wang, R. 1995. Miljøovervaking Tjeldbergodden. Epifyttvegetasjonen. Resultat frå referansekartlegging 1994. - *Allforsk rapport* 4: 1-33.
- Ettl, H. & Gärtner, G. 1995. Syllabus der Boden-, Luft- und Flechtenalgen. - Gustav Fisher Verlag, Stuttgart.
- Gauslaa, Y. 1995. The Lobarion, an epiphytic community of ancient forests threatened by acid rain. - *The Lichenologist* 27: 59-76.
- Green, T.G.A., Budel, B., Herber, U., Meyer, A., Zellner, H. & Lange, O.L. 1993. Differences in photosynthetic performance between cyanobacterial and green algal components of lichen photosymbiodemes measured in the field. - *New Phytologist* 125: 723-731.
- Göransson, A. 1990. Alger, lavar och barruppsättning hos unggranar langs en kväve-gradient från Sverige til Holland - en pilotstudie. - *Naturvårdsverket rapport* 3741.
- Hallingbäck, T. & Martinsson, P.-O. 1987. The retreat of two lichens *Lobaria pulmonaria* and *Lobaria scrobiculata* in the district of Gäsene (SW Sweden). - *Windahlia* 17.
- Hessen, D.O. 1997. The significance of nitrogen runoff for eutrophication of freshwater and marine recipients. - *Ambio* 26: 312-320.
- Hilmo, O. & Larssen, H.C. 1994. Morfologi hos epifyttisk lav i områder med ulik luftkvalitet. - *Allforsk Rapport* 2: 1-44.
- Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C. & Wright, S.W. 1997. *Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods.* - UNSECO Publishing.
- Lange, O.L., Büdel, B., Meyer, A. & Kilian, E. 1993. Further evidence that activation of net photosynthesis by dry cyanobacterial lichens requires liquid water. - *The Lichenologist* 25: 175-190.
- Löfgren, O. & Moberg, R. 1984. Oceaniska lavar i Sverige och deras tillbakagång. - *Statens Naturvårdsverk SNV PM* 1819, Stockholm.
- Marshall, W.A. & Chalmers, M.O. 1997. Airborne dispersal of antarctic terrestrial algae and cyanobacteria. - *Ecography* 20: 585-594.
- Merilä, P. 1992. Viherleväkasvusto kuusen neulasilla - bioindikaatiomerkitys ja levinneisyys Suomessa 1990 [Green algae on spruce needles - the meaning as bioindicator and distribution in Finland in 1990]. - pp. 1-79. Pro graduate-work, Helsingin yliopisto, Helsinki (in Finnish).
- Poikolainen, J., Lippo, H., Hongisto, M., Kubin, E., Mikkola, K. & Lindgren, M. 1998. On the abundance of epiphytic green algae in relation to the nitrogen concentrations of biomonitors and nitrogen deposition in Finland. - *Environmental Pollution* 102: 85-92.
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J.B., Herdman, M. & Stanier, R.Y. 1979. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. - *Journal of General Microbiology* 111: 1-61.
- SFT. 2000. Overvåking av langtransportert forurenset luft og nedbør. Atmosfærisk tilførsel 1999 - pp. 1-145. Statlig program for forurensningsforskning.
- SPSS. 1999. *SPSS Base 10.0.* SPSS Inc, Chocago.
- Søchting, U. 1997. Epiphyllic cover on spruce needles in Denmark. - *Annales Botanici Fennici* 34: 157-164.
- Thomsen, M.G. 1992. Epifyttisk belegg på barnåler i Norge i relasjon til nitrogendeposisjon og klima. - *Rapp. Skogforsk.* 23/94.
- Thomsen, M.G. 1996. Epiphytic growth on spruce needles. - *Ecosystems Research Report* 21: 261-266.
- Tørseth, K. & Semb, A. 1998. Deposition of nitrogen and other major inorganic compounds in Norway, 1992-1996. - *Environ Pollution* 102: 299-304.
- Zhang, D., Lee, Y., Ng, M. & Phang, S. 1997. Composition and accumulation of secondary carotenoids in *Chlorococcum* sp. - *Journal of Applied Phycology* 9: 147-155.

Naturens Tålegrenser - Oversikt over utgitte rapporter

- 1 Nygaard, P.H., 1989. Forurensningers effekt på naturlig vegetasjonen litteraturstudie. Norsk institutt for skogforskning (NISK), Ås.
- Uten nr. Jaworowski, Z., 1989. Pollution of the Norwegian Arctic: A review. Norsk polarinstitutt (NP), rapportserie nr. 55. Oslo.
- 2 Henriksen, A., Lien, L. & Traaen, T.S. 1990. Tålegrenser for overflatevann. Kjemiske kriterier for tilførsler av sterke syrer. Norsk institutt for vannforskning (NIVA), O-89210.
- 3 Lien, L., Henriksen, A., Raddum, G. & Fjellheim, A. 1989. Tålegrenser for overflatevann. Fisk og evertebrater. Foreløpige vurderinger og videre planer. Norsk institutt for vannforskning (NIVA), O-89185.
- 4 Bølviken, B. & medarbeidere, 1990. Jordforsuringsstatus og forsurningsfølsomhet i naturlig jord i Norge. Norges geologiske undersøkelse (NGU), NGU-rapport 90.156. 2 bind (Bind I: Tekst, Bind II: Vedlegg og bilag).
- 5 Pedersen, H. C. & Nybø, S. 1990. Effekter av langtransporterte forurensninger på terrestriske dyr i Norge. En statusrapport med vekt på SO₂, NO_x og tungmetaller. Norsk institutt for naturforskning (NINA), Utredning 005.
- 6 Frisvoll, A.A., 1990. Moseskader i skog i Sør-Norge. Norsk institutt for naturforskning (NINA), Oppdragsmelding 018.
- 7 Muniz, I.P. & Aagaard, K. 1990. Effekter av langtransportert forurensning på ferskvannsdyr i Norge - virkninger av en del sporelementer og aluminium. Norsk institutt for naturforskning (NINA), Utredning 013.
- 8 Hesthagen, T., Berger, H.M. & Kvenild, L. 1992. Fiskestatus i relasjon til forsuring av innsjøer. Norsk institutt for naturforskning (NINA), Forskningsrapport 032.
- 9 Pedersen, U., Walker, S.E. & Kibsgaard, A. 1990. Kart over atmosfærisk avsetning av svovel- og nitrogenforbindelser i Norge. Norsk institutt for luftforskning (NILU), OR 28/90.
- 10 Pedersen, U. 1990. Ozonkonsentrasjoner i Norge. Norsk institutt for luftforskning (NILU), OR 28/90.
- 11 Wright, R.F., Stuanes, A. Reuss, J.O. & Flaten, M.B. 1990. Critical loads for soils in Norway. Preliminary assessment based on data from 9 calibrated catchments. Norsk institutt for vannforskning (NIVA), O-89153.
- 11b Reuss, J.O., 1990. Critical loads for soils in Norway. Analysis of soils data from eight Norwegian catchments. Norsk institutt for vannforskning (NIVA), O-89153.
- 12 Amundsen, C.E., 1990. Bufferprosent som parameter for kartlegging av forsurningsfølsomhet i naturlig jord. Universitetet i Trondheim, AVH (stensil).
- 13 Flatberg, K.I., Foss, B., Løken, A. & Saastad, S.M. 1990. Moseskader i barskog. Direktoratet for naturforvaltning (DN), notat.
- 14 Frisvoll, A.A., & Flatberg, K.I., 1990. Moseskader i Sør-Varanger. Norsk institutt for naturforskning (NINA), Oppdragsmelding 55.
- 15 Flatberg, K.I., Bakken, S., Frisvoll, A.A., & Odasz, A.M. 1990. Moser og luftforurensninger. Norsk institutt for naturforskning (NINA), Oppdragsmelding 69.
- 16 Mortensen, L.M. 1991. Ozonforurensning og effekter på vegetasjonen i Norge. Norsk landbruksforsk. 5:235-264.
- 17 Wright, R.F., Stuanes, A.O. & Frogner, T. 1991. Critical Loads for Soils in Norway Nordmoen. Norsk institutt for vannforskning (NIVA), O-89153.
- 18 Pedersen, H.C., Nygård, T., Myklebust, I. og Sæther, M. 1991. Metallbelastninger i lirype. Norsk institutt for naturforskning (NINA), Oppdragsmelding 71.
- 19 Lien, L., Raddum, G.G. & Fjellheim, A. 1991. Tålegrenser for overflatevannevertebrater og fisk. Norsk institutt for vannforskning (NIVA), Rapport O-89185,2.
- 20 Amundsen, C.E. 1992. Sammenlingning av parametre for å bestemme forsurningsfølsomhet i jord. NGU-rapport 91.265.
- 21 Bølviken, B., Nilsen, R., Romundstad, J. & Wolden, O. 1992. Surhet, forsurningsfølsomhet og lettløselige basekationer i naturlig jord fra Nord-Trøndelag og sammenligning med tilsvarende data fra Sør Norge. NGU-rapport 91.250.
- 22 Sivertsen, T. & medarbeidere. 1992. Opptak av tungmetaller i dyr i Sør-Varanger. Direktoratet for naturforvaltning, DN-notat 1991-15.
- 23 Lien, L., Raddum, G.G. & Fjellheim, A. 1992. Critical loads of acidity to freshwater. Fish and invertebrates. Norwegian Institute for Water Research (NIVA), Rapport O-89185,3.

- 24 Fremstad, E. 1992. Virkninger av nitrogen på hei-vegetasjon. En litteraturstudie. Norsk institutt for naturforskning (NINA), Oppdragsmelding 124.
- 25 Fremstad, E. 1992. Heivegetasjon i Norge, utbredelseskart. Norsk institutt for naturforskning (NINA), Oppdragsmelding 188.
- 26 Flatberg, K.I. & Frisvoll, A. 1992. Undersøkelser av skader hos to sigdmoser i Agder. Norsk institutt for naturforskning (NINA), Oppdragsmelding 134.
- 27 Lindstrøm, E.A. 1992. Tålegrenser for overflatevann. Fastsittende alger. Norsk institutt for vannforskning (NIVA), O-90137/E-90440, rapport-2.
- 28 Brettum, P. 1992. Tålegrenser for overflatevann. Planteplankton. Norsk institutt for vannforskning (NIVA), O-90137/E-90440, rapport-3.
- 29 Brandrud, T.E., Mjelde, M. 1992. Tålegrenser for overflatevann. Makrovegetasjon. Norsk institutt for vannforskning (NIVA), O-90137/E-90440, rapport-1.
- 30 Mortensen, L.M. & Nilsen, J. 1992. Effects of ozone and temperature on growth of several wild plant species. Norwegian Journal of Agricultural Sciences 6: 195-204.
- 31 Pedersen, H.C., Myklebust, I., Nygård, T. & Sæther, M. 1992. Akkumulering og effekter av kadmium i lirype. Norsk institutt for naturforskning (NINA), Oppdragsmelding 152.
- 32 Amundsen, C.E. 1992. Sammenligning av relativ forsuringsfølsomhet med tålegrenser beregnet med modeller, i jord. Norges geologiske undersøkelse. NGU-rapport 92.294.
- 33 Frogner, T., Wright, R.F., Cosby, B.J., Esser, J.M., Håøya, A.-O. & Rudi, G. 1992. Map of critical loads for coniferous forest soils in Norway. Norsk institutt for vannforskning (NIVA), O-91147.
- 34 Henriksen, A., Lien, L., Traaen, T.S. & Taubøll, S. 1992. Tålegrenser for overflatevann - Kartlegging av tålegrenser og overskridelser av tålegrenser for tilførsler av sterke syrer. Norsk institutt for vannforskning (NIVA), O-89210.
- 35 Lien, L., Henriksen, A. & Traaen, T.S. 1993. Tålegrenser for sterke syrer på overflatevann -Svalbard. Norsk institutt for vannforskning (NIVA), O-90102.
- 36 Henriksen, A., Hesthagen, T., Berger, H.M., Kvenild, L., Taubøll, S. 1993. Tålegrenser for overflatevann - Sammenheng mellom kjemisk kriterier og fiskestatus. Norsk institutt for vannforskning (NIVA), O-92122.
- 37 Odasz, A.M., Øiesvold, S., & Vange, V. 1993. Nitrate nutrition in *Racomitrium lanuginosum* (Hedw.)Brd., a bioindicator of nitrogen deposition in Norway. Direktoratet for naturforvaltning. Utredning for DN 1993-2.
- 38 Espelien, I.S. 1993. Genetiske effekter av tungmetaller på pattedyr. En kunnskapsoversikt. Norsk institutt for naturforskning (NINA), Utredning 051.
- 39 Økland, J. & Økland, K.A. 1993. Database for bio-indikatorer i ferskvann - et forprosjekt. Laboratorium for ferskvannøkologi og innlandsfiske (LFI), Zoologisk Museum, Oslo, Rapport 144, 1993.
- 40 Aamlid, D. & Skogheim, I. 1993. Nikkel, kopper og andre metaller i multer og blåbær fra Sør-Varanger, 1992. Rapport Gkogforsk 14/93. 14/93.
- 41 Kålås, J.A., Ringsby, T.H. & Lierhagen, S. 1993. Metals and radiocesium in wild animals from the Sør-Varanger area, north Norway. Norsk institutt for naturforskning (NINA), Oppdragsmelding 212.
- 42 Fløisand, I. & Løbersli, E. (red.)1993. Tilførsler og virkninger av lufttransporterte forurensninger (TVLF) og Naturens tålegrenser. Sammendrag av foredrag og postere fra møte i Stjørdal, 15.-17.februar 1993. Norsk institutt for luftforskning (NILU), OR 17/93.
- 43 Henriksen, A. & Hesthagen, T. 1993. Critical load exceedance and damage to fish populations. Norsk institutt for vannforskning (NIVA), O-89210.
- 44 Lien, L., Henriksen, A. & Traaen, T.S. 1993. Critical loads of acidity to surface waters, Svalbard. Norsk institutt for vannforskning (NIVA), O-90102.
- 45 Løbersli, E., Johannessen, T. & Olsen, K.V (red.) 1993. Naturens tålegrenser. Referat fra seminar i 1991 og 1992. Direktoratet for naturforvaltning, DN-notat 1993-6.
- 46 Bakken, S. 1993. Nitrogenforurensning og variasjon i nitrogen, protein og klorofyllinnhold hos barskogsmosen blanksigd (*Dicranum majus*). Direktoratet for naturforvaltning (DN). Utredning for DN 1994-1.
- 47 Krøkje, Å. 1993. Genotoksisk belastning i jord . Effekstudier, med mål å komme fram til akseptable grenser for genotoksisk belastning fra langtransportert luftforurensning. Direktoratet for naturforvaltning (DN). Utredning for DN 1994-2.
- 48 Fremstad, E. 1993. Heigråmose (*Racomitrium lanuginosum*) som indikator på nitrogenbelastning. Norsk institutt for naturforskning (NINA) Oppdragsmelding 239.

- 49 Nygaard, P.H. & Ødegaard, T.H. 1993. Effekter av nitrogengjødsling på vegetasjon og jord i skog. Rapport Skogforsk 26/93.
- 50 Fløisand, I. og Johannessen, T. (red.) 1994. Langtransporterte luftforurensninger. Tilførsler, virkninger og tålegrenser. Sammendrag av foredrag og postere fra møte i Grimstad, 7.-9.3.94. Norsk institutt for luftforskning NILU OR: 17/94
- 51 Kleivane, L. Skåre, J.U. & Wiig, Ø. 1994. Klorerte organiske miljøgifter i isbjørn. Forekomst, nivå og mulige effekter. Norsk Polarinstitut Meddelelse nr. 132.
- 52 Lydersen, E., Fjeld, E. & Andersen, T. 1994. Fiskestatus og vannkjemi i norske innsjøer. Norsk institutt for vannforskning (NIVA) O-93172
- 53 Schartau, A.K.L. (red.) 1994. Effekter av lavdose kadmium-belastning på littorale ferskvannspopulasjoner og -samfunn. Norsk institutt for naturforskning (NINA) Forskningsrapport 055.
- 54 Mortensen, L. (1994). Variation in ozone sensitivity of *Betula pubescens* Erh. from different sites in South Norway. Direktoratet for naturforvaltning (DN). Utredning for DN, Nr. 1994-6.
- 55 Mortensen, L. (1994). Ozone sensitivity of *Phleum alpinum* L. from different locations in South Norway. Direktoratet for naturforvaltning (DN). Utredning for DN, Nr. 1994-7.
- 56 Frogner, T., Wright, R.F., Cosby, J.B. and Esser, J.M. (1994). Maps of critical loads and exceedance for sulfur and nitrogen to forest soils in Norway. Norsk institutt for vannforskning (NIVA) O-91147.
- 57 Flatberg, K.I. & Frisvoll, A.A. 1994. Moseskader i Agder 1989-92 (1994). Norsk institutt for naturforskning (NINA), Oppdragsmelding 298.
- 58 Hesthagen, T. & Henriksen, A. (1994). En analyse av sammenhengen mellom overskridelser av tålegrenser for overflatevann og skader på fiskebestander. Norsk institutt for naturforskning (NINA), Oppdragsmelding 288.
- 59 Skåre, J.U., Wiig, Ø. & Bernhoft, A. (1994). Klorerte organiske miljøgifter; nivåer og effekter på isbjørn. Norsk Polarinstitut Rapport nr. 86-1994.
- 60 Tørseth, K. & Pedersen, U. 1994. Deposition of sulphur and nitrogen components in Norway. 1988-1992. Norsk institutt for luftforskning (NILU): OR 16/94.
- 61 Nygaard, P.H. 1994. Virkning av ozon på blåbær (*Vaccinium myrtillus*), etasjehusmose (*Hylocomium splendens*), furumose (*Pleurozium schreberi*) og krussigd (*Dicranum polysetum*). Rapport Skogforsk 9/94.
- 62 Henriksen, A. & Lien, L. 1994. Tålegrenser for overflatevann: Metode og usikkerheter. Norsk institutt for vannforskning (NIVA), O-94122.
- 63 Hilmo, O. & Larssen, H.C. 1994. Morfologi hos epifyttisk lav i områder med ulik luftkvalitet. ALLFORSK Rapport 2.
- 64 Wright, R.F. 1994. Bruk av dynamiske modeller for vurdering av vann- og jordforsuring som følge av redusert tilførsel av sur nedbør. Norsk institutt for vannforskning (NIVA), O-94112.
- 65 Hesthagen, T., Henriksen, A. & Kvenild, L. 1994. Overskridelser av tålegrenser for overflatevann og skader på fiskebestander i norske innsjøer med spesiell vekt på Troms og Finnmark. Norsk institutt for naturforskning (NINA), Oppdragsmelding 298.
- 66 Sagmo Solli, I.M., Flatberg, K.I.F., Söderström, L., Bakken S. & Pedersen, B. 1996. Blanksigd og luftforurensningsstudier. NTNU. Vitenskapsmuseet. Rapport botanisk serie 1996-1.
- 67 Stuanes, A. & Abrahamsen, G. 1996. Tålegrenser for nitrogen i skog - en vurdering av kunnskapsgrunnlaget. Aktuelt fra Skogforsk 7-96.
- 68 Ogner, G. 1995. Tålegrenser for skog i Norge med hensyn til ozon. Aktuelt fra Skogforsk 3-95.
- 69 Thomsen, M., Nellemann, C. Frogner, T., Henriksen A., Tomter, S. & Mulder, J. 1995. Tilvekst og vitalitet for granskog sett i relasjon til tålegrenser og forurensning. Rapport fra Skogforsk 22-95.
- 70 Tomter, S.M. & Esser, J. 1995. Kartlegging av tålegrenser for nitrogen basert på en empirisk metode. Norsk institutt for jord- og skogkartlegging (NIJOS). Rapport nr 10/95.
- 71 Pedersen, H.Chr. (red.). 1995. Kadmium og bly i lirype: akkumulering og cellulære effekter. Stiftelsen for naturforskning og kulturminneforskning (NINA-NIKU) Oppdragsmelding 387
- 72 Bakken, S. & Flatberg, K.I.F. 1995. Effekter av økt nitrogendeposisjon på ombrotrof myrvegetasjon. En litteraturstudie. ALLFORSK Rapport 3.
- 73 Sogn, T.A., Stuanes, A.O. & Abrahamsen, G. 1995. Akkumulering av nitrogen - en kritisk parameter for beregning av tålegrenser for nitrogen i skog. Rapport fra Skogforsk 21/95.
- 74 Nygaard, P.H. & Eldhuset, T. 1996. Forholdet mellom basekationer og aluminium i jordløsning som kriterium for tålegrenser i skogsjord. Norsk institutt for skogforskning (NISK). Rapport fra Skogforsk 1/96

- 75 Mortensen, L. 1993. Effects of ozone on growth of several subalpine plant species. *Norw. J. Agric. Sci.* 7: 129-138.
- 76 Mortensen, L. 1994. Further studies on the effects of ozone concentration on growth of subalpine plant species. *Norw. J. Agric. Sciences* 8:91-97.
- 77 Fløisand, I. & Løbersli, E. (red.) 1996. Lufttransporterte forurensninger - tilførsler, virkninger og tålegrenser. Norsk institutt for luftforskning (NILU) OR 2/96.
- 78 Thomsen, M.G., Esser, J., Venn, K. & Aamlid, D. 1996. Sammenheng mellom træs vitalitet og næringsstatus i nåler og humus på skogovervåkingsflater i Sørøst-Norge (in prep).
- 79 Tørseth, K., Mortensen, L. & Hjellbrekke, A.-G. 1996. Kartlegging av bakkenær ozon etter tålegrenser basert på akkumulert dose over 40 ppb. Norsk institutt for luftforskning (NILU) OR 12/96.
- 80 Esser, J.M. & Tomter, S.M. 1996. Reviderte kart for tålegrenser for nitrogen basert på empiriske verdier for ulike vegetasjonstyper. Norsk institutt for jord- og skogkartlegging (NIJOS).
- 81 Henriksen, A., Hindar, A., Styve, H., Fjeld, E. & Lien, L. 1996. Forsuring av overflatevann, beregningsmetodikk, trender og motiltak. Norsk institutt for vannforskning (NIVA). Rapport LNR 3528-96.
- 82 Henriksen, A., Hesthagen, T. & Fjeld, E. 1996. Overskridelser av tålegrenser for overflatevann og skader på fiskebestander. Norsk institutt for vannforskning (NIVA). Rapport LNR 3565-96.
- 83 Wright, R.F., Raastad, I.A., & Kaste, Ø. 1996. Atmospheric deposition of nitrogen, runoff of organic nitrogen, and critical loads for soils and waters. Norsk institutt for vannforskning (NIVA) Report SNO 3592-97
- 84 Mortensen, L.M. 1995. The influence of ozone pollution on growth of young plants of *Betula pubescens* Ehrh. And *Phleum alpinum* L. Dose-response relations. *Norw. J. Agr. Sci.* 9:249-262
- 85 Mortensen, L.M. 1996. Ozone sensitivity of *Betula pubescens* at different growth stages after budburst in spring. *Norw. J. Agr. Sci.* 10:187-196.
- 86 Tørseth, K., Rosendahl, K.E., Hansen, A.C., Høie, H. & Mortensen, L.M. 1997. Avlingstap som følge av bakkenært ozon. Vurderinger for perioden 1989-1993. SFT-rapport.
- 87 Rognerud, S, Hognve, D. & Fjeld, E. 1997. Naturlige bakgrunnskonsentrasjoner av metaller. Kan atmosfæriske avsetninger påvirke metall-konsentrasjoner slik at det ikke reflekterer berggrunnens geokjemi? Norsk institutt for vannforskning (NIVA) Rapport LNR 3670-97
- 88 Skjelkvåle, B.L., Wright, R.F. & Tjomsland, T. 1997. Vannkjemi, forurensningsstatus og tålegrenser i nasjonalparker; Femundsmarka og Rondane. Norsk institutt for vannforskning (NIVA) Rapport LNR 3646-97
- 89 Nordbakken; J.-F. 1997. Småskalaendringer i ombrotrof myrvegetasjon i SØ-Norge 1990/91-96. Botanisk Hage og Museum, Univ. Oslo Rapp. 1
- 90 Sogn, T.A., Kjønås, J., Stuanes, A.O., & Abrahamsen, G. 1997. Akkumulering av nitrogen - variasjoner avhengig av bestandsutvikling, nitrogentilførsel og simulert snødekke. Norges Landbrukshøgskole, Institutt for jord- og vannfag, Rapport nr. 10/97.
- 91 Nygaard, P.H., Ødegård, T. & Flatberg, K.I.F. Vegetasjonsendringer over 60 år i fattig skog- og myrvegetasjon i Karlshaugen skogreservat. Skogforsk (in prep)
- 92 Knutzen, J., Gabrielsen, G.W., Henriksen, O.E., Hylland, K., Källqvist, T., Nygård, T., Pacyna, J.S. Skjegstad, N. & Steinnes, E. 1997. Assessment of the applicability for pollution authorities of the concept "critical load" of long-range transported micropollutants in relation to aquatic and terrestrial ecosystems. Norsk institutt for vannforskning (NIVA) Report SNO 3751-97.
- 93 Tørseth, K. & Semb, A. 1997. Deposition of major inorganic components in Norway 1992-1996. Norsk institutt for luftforskning (NILU), OR 67/97.
- 94 Henriksen, A. 1998. Application of the first order acidity balance (FAB) model to Norwegian surface waters. Norsk institutt for vannforskning (NIVA) Report SNO 3809-98
- 95 Sogn, T.A. & Wright, R.F. 1998. The model MERLIN applied to Nordmoen, Norway. Norsk institutt for vannforskning (NIVA) Report SNO 3844-98
- 96 Skjelkvåle, B.L. & Henriksen, A. 1998. Vannkjemi, forurensningsstatus og tålegrenser i nasjonalparker; Hardangervidda. Norsk institutt for vannforskning (NIVA). Report SNO 3895-98
- 97 Henriksen, A. 1998. Binding grid cells – Norway. An evaluation. Norsk institutt for vannforskning (NIVA) Report SNO 3942-98
- 98 Lükewille, A. & Semb, A. 1998. Deposition in Norwegian Mountain areas. Norsk institutt for luftforskning (NILU) OR 66/97

- 99 Strand, L.T., Stuanes, A.O. & Abrahamsen, G. 1998. Akkumulering av karbon og nitrogen i unge jordsmonn. Institutt for jord og vannfag, rapport nr 9/98.
- 100 Wright, R.F. & Henriksen, A. 1999. Gap closure; use of MAGIC model to predict time required to achieve steady-state following implementation of the Oslo protocol. Norsk institutt for vannforskning (NIVA) Report SNO 4012-99
- 101 Henriksen, A. 1999. Tålegrenser i fjellområder. Hva vet vi og hva bør vi vite? Rapport fra seminar 16.-17. Februar 1999. Rondablikk Føyfjellshotell. Norsk institutt for vannforskning (NIVA) Rapport LNR 4017-99
- 102 Wright, R.F. 1999. Risk of N leaching from forests to surface waters in Norway. Norsk institutt for vannforskning (NIVA) Report SNO 4038-99
- 103 Wright, R.F., Mulder, J. & Esser, J.M., 1999. Soils in mountain uplands regions of southwestern Norway: nitrogen leaching and critical loads. Norsk institutt for vannforskning (NIV) Report SNO 4130-99
- 104 Lindstrøm, E.A., Kjellberg, G. & Wright, R.F. 1999. Tålegrensen for nitrogen som næringsstoff i norske fjellvann: økt "grønske"? Norsk institutt for vannforskning (NIVA) Rapport LNR 4187-2000
- 105 Thomsen, M.G. & Nellemann, Chr. 2000. Mortalitet og tilvekst i relasjon til forurensningsbelastningen i Sør Norge 1920-2000 (under trykking)
- 106 Henriksen, A & Buan, A.K. 2000. Tålegrenser og over-skrivelse av tålegrenser for overflatevann, skogsjord og vegetasjon i Norge. Norsk institutt for vannforskning (NIVA). Rapport LNR 4179-2000
- 107 Aarrestad, P.A. & Vandvik, V. 2000. Vegetasjonsendringer i vestnorsk kystlynghei - effekter av skjøtelsesformene brann og sauebeite ved rehabilitering av gammel lynghei på Lurekalven i Hordaland. - NINA fagrapport 044.
- 108 Bruteig, I.E., Thomsen, M.G. & Altin, D. 2001. Vekstrespons hos tre aerofyttiske algar på tilførsel av nitrogen. - NINA Oppdragsmelding 680:1-19.

Henvendelser vedrørende rapportene rettes til utførende institusjon

ISSN 0802-4103
ISBN 82-426-1204-8

680

**NINA
OPPDRAGS-
MELDING**

NINA Hovedkontor
Tungasletta 2
7485 TRONDHEIM
Telefon: 73 80 14 00
Telefaks: 73 80 14 01

NINA
Norsk institutt
for naturforskning