Arbejdsrapport
fra Miljøstyrelsen

Nr. 42 1996

# Undersøgelse af pesticiders effekter på fytoplanktonsamfund ved hjælp af PICT

Miljø- og Energiministeriet **Miljøstyrelsen**

Arbejdsrapport
fra Miljøstyrelsen

Nr. 42 1996

# Undersøgelse af pesticiders effekter på fytoplanktonsamfund ved hjælp af PICT

**Et nyt økotoksikologisk redskab**

Kim Gustavson
Danmarks Miljøundersøgelser
Afdeling for Miljøkemi

Miljø- og Energiministeriet **Miljøstyrelsen**

Miljøstyrelsen vil, når lejligheden gives, offentliggøre rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, finansieret af Miljøstyrelsens undersøgelsesbevilling.

Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter.

Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

# Indholdsfortegnelse

**Forord** *5*

**Sammendrag** *7*

**Engelsk Summary** *9*

1 **Indledning** *11*

2 **Baggrund** *11*

3 **Tidsforløb i projektet** *13*

4 **Resultater og beskrivelse** *14*

4.1. Samarbejde med Gøteborg Universitet *14*
4.2. Udvikling af målemetoder *14*
4.3. Effektniveauer i akutte test *15*
4.4. Mesocosmoseksperiment 1990 *15*
4.5. Mikrocosmoseksperiment 1991 *19*

5 **Diskussion og konklusion** *21*

6 **Litteraturliste** *25*

# Forord

Denne rapport bringer en række hovedresultater og -konklusioner fra projektet "Undersøgelse af pesticiders effekter på fytoplanktonsamfund ved hjælp af PICT - et nyt økotoksikologisk redskab". Desuden findes der en baggrundsrapport for hele projetet. Baggrunden for projektet er dels, at man i de seneste år er blevet opmærksom på pesticiders tilstedeværelse i akvatiske miljøer (Brink 1988; Waushope 1978) dels, at de i dag tilgængelige testmetoder til miljøeffektvurderinger ikke er tilstrækkelige når effekter i naturlige vandområder skal vurderes. Projektet blev igangsat for at undersøge pesticiders effekter på fytoplanktonsamfund, herunder at afprøve og vidreudvikle en ny økotoksikologiske testmetode PICT (**P**ollution-**I**nduced **C**ommunity **T**olerance) på fytoplanktonsamfund.

Projektet er udført af Danmarks Miljøundersøgelser for Miljøstyrelsen som et led i forskningen inden for bekæmpelsesmidlers effekt på miljøet, projektet blev igangsat medio 1989.

Følgende personer har været tilknyttet projektet:

Planlægning og projektstyring:

Kim Gustavson. Biolog ved Danmarks Miljøundersøgelser.
Sten-Åke Wängberg. Biolog ved Gøteborg Universitet.

Projektet er blevet fulgt af en styringsgruppe bestående af:

Jens Mossin. Miljøstyrelsen.
Hans Friborg. Miljøstyrelsen.

Prøveindsamling, oparbejdning af prøver og databehandling:

Steen Pedersen. Biolog ved Danmarks Miljøundersøgelser.
Søren Pedersen. Stud. scient ved Fersk. biol. laboratorium.
Jesper Andersen. Stud. scient ved Fersk. biol. laboratorium.

Pesticid analyser:

Niels Henrik Splid. Seniorkemiker ved Danmarks Miljøundersøgelser.
Annette Højgård. Kemoteknikker ved Danmarks Miljøundersøgelser.

Oparbejdning og indsamling af prøver:

Susanne Hemmingsen. Laborant ved Danmarks Miljøundersøgelser.
Vivian Plesner. Laborant ved Danmarks Miljøundersøgelser.
Birgit Søborg. Laborant ved Danmarks Miljøundersøgelser.
Hanne Ferdinand. Laborant ved Danmarks Miljøundersøgelser.
Louise Schluter. Stud. scient ved Københavns Universitet.

Opsætning af mesocosmos og fremstilling af diverse udstyr:

Jan Damgård Nielsen. Dykker ved Danmarks Miljøundersøgelser.
Ib Ågård. Dykker ved Marinbiologisk Laboratorium.
Kjeld Moser. Smed ved Danmarks Miljøundersøgelser.

Algebestemmelser:

Marianne Ellegård. Stud scient. Institut for Sporeplanter.
Pia Rafn. Stud. scient. Institut for Sporeplanter.

# Sammendrag

Projektet er udført for at undersøge pesticiders effekter på fytoplanktonalger, samt at udvikle økotoksikologiske testmetoder på samfund af alger.

Forskellige arters følsomhed for toksiske stoffer er ofte meget forskellige, op til tre størrelseordner og i ekstreme tilfælde 6 størrelseordner (Blanck and Bjørnsæter, 1988). Mange forskere har i dag den opfattelse, at tilstedeværelsen eller fraværet af forskellige arter er en følsom parameter for stress forårsaget af toksiske stoffer (Gray 1989). Problemet med sådanne data er imidlertid at danne forbindelseleddet mellem effekten af det toksiske stof og data for artssammensætningen, idet bl.a. tilfældige fluktuationer i omgivelserne kan forårsage ændringer i artsammensætningen.

I den nyere forskning indenfor økotoksikologi er målet at opstille økologisk realistiske testmetoder med stort testpotentiale og stor følsomhed. I 1988 introducerede Blanck, Wängberg, Molander et nyt koncept, PICT (**P**ollution-**I**nduced **C**ommunity **T**olerance). Ved hjælp af PICT konceptet skulle det være muligt, at afgøre om et algesamfund er påvirket af et toksisk stof. Teorien bag PICT konceptet er, at et samfund, der påvirkes af et toksisk stof, i første omgang vil miste de følsomme individer og populationer og/eller adaptere sig, således at samfundet med tiden vil komme til at bestå af individer og populationer med større tolerance for det pågældende toksiske stof. PICT-konceptet betragtes i dag som et "nyt" og lovende økotoksikologisk redskab, der kan bruges prædiktivt og retrospektivt. Med PICT konceptet sammenbindes grundlæggende økologiske principper om selektion, stress, tilpasning, adaptation og tolerance hos fx algesamfund med fysiologiske måleteknikker. En detaljeret beskrivelse af principperne i PICT findes i Blanck et al. 1988.

Indenfor de seneste år har PICT-metoden været afprøvet og udviklet i forbindelse med effektundersøgelser af toksiske stoffers på perifyton - mikroalger knyttet til overflader. Disse undersøgelser har vist, at PICT-metoden er et følsomt og yderst relevant økotoksikologisk værktøj. På grund af fytoplanktons relative hurtige vækst og relative store diversitet, i forhold til perifyton, ønskede vi at undersøge fytoplanktonets anvendelighed og følsomhed i PICT-undersøgelser.

I projektet har vi undersøgt akutte effekter af atrazin, diuron, diklorprop, zink og kobber på fytoplanktonsamfund, samt kroniske effekter af atrazin og kobber. Vi har vidreudviklet PICT konceptet på fytoplanktonsamfund og resultaterne af dette projekt viser, at fytoplanktonsamfund er yderst velegnet at anvende i PICT-undersøgelser. Projektet viser desuden at det er meget afgørende at kende virkemåder og tolerancemekanismer for toksiske stoffer, når effekt parametre skal udvælges, herunder de fysiologiske parametre der anvendes i PICT-målingerne.

Kroniske effekter af atrazin og kobber på fytoplanktonsamfund blev undersøgt i mesocosmossystemer bestående af 6000 liter store gennemsigtige polyethylen poser, der ved eksperimentets start blev fyldt med søvand og fastgjort til en pontonbro i Buresø. Disse mesocosmossystemer viste sig at være yderst anvendelige som eksperimentale komplekse testsystemer. Det viste sig at fysiske, kemiske og biologiske forhold i mesocosmos systemerne, med undtagelse af zooplanktontæthederne, ikke

adskilte sig afgørende fra forholdene i søen. Blandt andet var algeartsantallet i poserne stort og konstant i de 3 uger eksperimenterne stod på. Zooplanktontætheden var i poserne betydeligt større end i søen hvilket tillægges den manglende predation fra fisk og/eller at poserne forhindre den vertikale migration.

Undersøgelsen viste at kobber og atrazin, ved de aktuelt undersøgte koncentrationer, begge påvirkede algesammensætningen, C/N-forholdet og klorofylkoncentrationerne - alle forhold af afgørende betydning for bl.a. omsætningen af næringsstoffer i akvatiske økosystemer. Det skal her bemærkes at klorofylkoncentrationen faldt i de kobbereksponerede poser, og steg i de atrazineksponerede poser. Effekten af kobber adskiller sig fra effekten af atrazin, dels ved at give udslag i PICT-målingerne, og dels ved at have markante kroniske effekter på primærproduktionen. Et interessant resultat er den divergens, der er mellem den høje akutte effekt og den manglende kronisk effekt af atrazin på primærproduktion. Et resultat der viser hvor svært det kan være at forudsige kroniske effekter ud fra akutte effekter. I forhold til akutte effekter kan bl.a., metabolisk regulering og adaptation reducere de kroniske effekter.

For kobber var PICT-målingen den følsomste og mest entydige parameter. Tilsætningen af kobber til poserne resulterede i store variationer i primærproduktion, alge biomasse og C/N-forhold. Ud fra PICT- og primærproduktionsmålinger troede vi i starten, at der ikke var kroniske effekter af atrazin. Nærmere analyser af bl.a C/N-forhold, klorofylindhold og artssammensætningen viste derimod, at der var kroniske effekter af atrazin. At atrazin ikke gav udslag i PICT-målingerne, tillægger vi først og fremmest valget af den fysiologiske parameter i toleranceundersøgelserne, herunder de lysforhold hvor vi undersøgte atrazintolerancen under.

Hvilke fysiologiske processer man vælger at følge er ikke trivielt. Et forkert valg kan føre til både under- og overvurderinger af miljøeffekter. En undervurdering sker, når organismen kan opretholde aktiviteten i den undersøgte delproces men ikke i andre processer, som er af betydning for organismens fremgang. En overvurdering sker, når den undersøgte proces ikke har økologisk betydning for organismen eller, når der er tale om en "chok effekt", der over længere tid ingen økologiske betydning har. I tilfældet med atrazin, hvor algerne ret hurtigt kan kompensere for den akutte effekt på primærproduktionen, ved bl.a. at øge klorofylindholdet. I de aktuelle toleranceundersøgelser undervurdere vi de kompencerende mekanismer for atrazin og istedet for at måle kulstof-14 fikseringen som funktion af atrazin koncentrationen, bør man i toleranceundersøgelser måle på fysiologiske parametre der direkte måler på den kompenserende mekanisme. For atrazin er det relevant i toleranceundersøgelser at måle fx klorofylsyntesen, næringstofoptagelse som funktion af atrazinkoncentrationen.

Før man vælger hvilke fysiologiske parameter man ønsker at følge, i såvel PICT undersøgelser som mere traditionelle undersøgelser, er det meget afgørende at kende virkemåden af de toksiske stoffer og eventuelle kompenserende mekanismer. Responsen på en testparameter er relateret til både virkemekanismen af stoffet og tolerancemekanismen i algerne.

Fremtidige forskningsområder indenfor PICT-metoden er hovedsageligt relaterede til - detektion af induceret tolerance, herunder udvikling af fysiologiske målemetoder og mekanismerne bag co-tolerance.

# Summary

The aim of this project was to investigate the effect of pesticide on phytoplankton community and to develop ecotoxicology teste methods on community of micro algae.

Different species sensitivity to toxic substance is often quite different, up to 3 magnitude and in extreme case 6 magnitudes (Blanck and Bjørnsæter 1988). Many scientist today have the view that presence or absence of specific species is a sensitive parameter for stress induced by toxic substances (Gray 1989). The big problem is to connect data for toxic substances and species compositions because fluctuation e.g. nutrients can results ind changes in species compositions.

I the new ecotoxicology one aim is to develop sensitive and ecological realistic tools. In 1988 Blanck et al introduced a new ecotoxicologi concept Pollution-Induced Community Tolerance (PICT). The theory behind PICT is that a toxic compound that influences algae communities, first will eliminate sensitive individuals and populations. In this way the toxic substance over time will results in communities composed of toxic tolerant individuals and populations. The PICT-concept is a promising new ecotoxicology tool in predictive and retrospective studies. With the PICT-concept basic ecological principles concerning selection, adaptation, stress and tolerance are connected with physiological measuring methods.

In the last years the PICT-method has been used and developed in the investigations of the effect of toxic substances on periphyton, micro algae connected to subsurface. This investigation has show that the PICT method is a sensitive and a very relevant ecotoxicological instrument. Because phytoplankton compared to periphyton has a larger growth rate and larger diversity we wanted to investigate the usability and sensitivities of phytoplankton in a PICT investigation.

In this project we have investigated the acute effect of atrazine, diurone, dichlorprop, zinc and copper on phytoplankton communities and the chronic effect of atrazine and copper. We have further evolved the PICT concept on phytoplankton communities. The result in the project shows that the phytoplankton is very usable in PICT investigations. The project shows that it is very important to know the mode of action and the tolerance mechanism for the substance when effect parameter is selected, among these the physiological short-term parameter in the PICT-measurement.

Chronic effects of atrazine and copper on phytoplankton are investigated in mesocosms systems consisting of 6000 litre large polyethylene bags fixed to a pontoon-bridge in lake Bure. This mesocosms system was very usable as complex test system. The physical, chemical and biological conditions in the bags, with the exception of the zooplankton density, was very similar the condition in the lake. For instance it was possible to establish a high and constant number of species of algae in the bags. The density of the zooplankton was remarkably larger in the bags than in the lake, possibly because of lack of predation from fish and the vertical migration.

The investigations show that both copper and atrazine, at the concrete concentrations, effect the species assembly, C/N ratio and chlorophyll concentration - all conditions of great influence for for instance the fate of the nutrients in aquatic ecosystems. Remarkable was that the chlorophyll concentration decreased in bags exposed to copper and increased in bags exposed to atrazin. Compared to atrazine there was distinct effects of copper on the primary production and PICT was distinct. An interesting result is the divergence between the high acute and the lacking chronic effect of atrazine on the primary production. These results show how difficult it can be to predict chronic effect from acute effect data. Metabolic regulations and adaptation can reduce the chronic effect of atrazine.

For copper the PICT-measurement was the most evident and sensitive parameter. In bags supplied with copper we found big variations in primary production, algae biomass and C/N ratio. From primary production and PICT-measurement we first believed that there was no chronic effect of atrazine. A closer analysis of the C/N-ratio, chlorophyll content and the species compositions showed chronic effect of atrazine. We regard the lacking response to atrazine in the PICT-measurement as a consequence of the choice of short-term parameter and the light condition in the tolerance investigations.

In investigations of effect of toxic substances the choice of the physiological parameter is not trivial. A wrong choice can result in both under and over estimation in risk-assessment. An underestimation occurs when the organism can maintain the activity in the measure process but not in another process that is essential for the organism. An over estimation occurs when the investigated process is of no ecological significance or there is a chock effect with no ecological significance. Relatively quickly the algae can compensate for the effect of atrazine by increasing the chlorophyll content in the algae. In the actual tolerance investigations, where the total carbon-14 fixation was measured, we suggest instead to measure on the compensating process e.q. chlorophyll synthesis.

The project showed that it is very important to know the mode of action and compensating mechanism for the substance when effect parameter is select, among these the physiological short-term parameter in the PICT-measurement. Response to a test parameter is related to mode of action and the compensating mechanism.

Further research conserning the PICT-concept is primarily related to detection of induced tolerance and the development of physiological measure methods and mechanisms behind co-tolerance.

# 1 Indledning

Det overordnede formål med projektet var at undersøge pesticiders effekter på fytoplanktonsamfund, herunder at afprøve og vidreudvikle en ny økotoksikologisk testmetode PICT (**P**ollution-**I**nduced **C**ommunity **T**olerance) på fytoplanktonsamfund. Projektet blev iværksat medio 1989 af Miljøstyrelsen under bekæmpelsesmiddelforskningsprogrammet.

# 2 Baggrund

Baggrunden for projektet er dels, at man i de seneste år er blevet opmærksom på pesticiders tilstedeværelse i vandløb, vandhuller, søer m.m.(Brink 1988; Waushope 1978) dels, at de i dag tilgængelige testmetoder til miljøeffektvurderinger ikke er tilstrækkelige når effekter i naturlige vandområder skal vurderes.

Intensive svenske undersøgelser viser, at pesticider er at finde i åer på bestemte årstider. I tabel 1 er angivet pesticid- niveauer fundet i åvand fra intensivt dyrkede landbrugsområder i Sydsverige (Brink og Krueger 1988). Disse resultater har givet mistanke om, at tilsvarende problemer kan findes i danske vandløb, vandhuller m.m.. Nye danske undersøgelser under bekæmpelsesmiddelforskningsprogrammet har undersøgt transporten af pesticider fra typiske danske landbrugsjorde til overfladevand. Disse undersøgelser viser at pesticider forekom hele året i de to undersøgte vandløb. Den højste koncentration der blev fundet var 5,3 µg/l mechlorprop (Mogensen og Spliid 1991).

Som en vigtig del af en økotoksikologisk miljøeffektvurdering indgår i dag en bestemmelse af, ved hvilke koncentrationer/doser et toksisk stof forårsager skader på økosystemer. I en del år har man til sådanne miljøeffektvurderinger anvendt laboratoriebaserede enkeltartstests. I de seneste år har det dog været stærkt kritiseret at anvende enkeltartstests til miljøeffektvurderinger, idet enkeltartstests bl.a. anses for at være økologisk urealistiske (Landner 1988; Levin et al 1989; Lambert 1989). Blandt de vigtigste biologiske argumenter mod anvendelsen af disse enkeltartstests til miljøeffektvurderinger er, at forskellige arter ofte har meget forskellig følsomhed overfor toksiske stoffer, og at testningen af et begrænset antal laboratorieorganismer kun giver en lille chance for at forudsige økosystemets følsomhed. Laboratorietest udføres ofte under forhold, der afviger afgørende fra forholdene i økosystemerne ved at sikre gode næringsforhold og ringe konkurrence fra andre arter. Der er derfor en meget stor risiko for at algerne ikke er så følsomme som i miljøet. Mange forskere har i dag den opfattelse, at enkeltartstestene udmærket kan bruges til en "scanning" og eventuelt en "ranking" af forskellige stoffers toksicitet, men at resultaterne kun meget vanskeligt kan anvendes i miljøeffektvurderinger.

I den nyere forskning indenfor økotoksikologi er målet at opstille økologisk realistiske testmetoder med stort testpotentiale og stor følsomhed. I 1988 introducerede Blanck H.,Wängberg S.-Å., Molander S. et nyt koncept, PICT (Pollution-Induced Community Tolerance). Ved hjælp af PICT-konceptet skulle det i teorien være muligt, at afgøre om et algesamfund er påvirket af et toksisk stof. Teorien bag PICT konceptet er, at et samfund, der påvirkes af et toksisk stof, i første omgang vil miste de følsomste individer/populationer og/eller adaptere sig, således at samfundet med tiden vil komme til at bestå af individer/populationer med større tolerance for det pågældende toksiske stof. PICT-konceptet betragtes i dag som et "nyt" og lovende økotoksikologisk redskab, der kan bruges prædiktivt og retrospektivt. Med PICT konceptet sammenbindes grundlæggende økologiske principper om selektion, stress, tilpasning, adaptation og tolerance hos fx algesamfund med fysiologiske måleteknikker. En detaljeret beskrivelse af principperne i PICT findes i Blanck et al. 1988.

PICT bygger på den erkendelse, at toksiske stoffer vil udøve et selektions tryk når eksponeringen når et vist niveau i en tilstrækkelig tidsperiode (Luoma 1977, Pitelka 1988, Klerks and Levinton 1989). Selektionen vil resultere i samfund med en øget tolerance for det pågældende stof. Forskellen i tolerancen hos uselekterede og selekterede samfund kan detekteres ved at sammenligne resultaterne fra en korttidstest, hvor fx. hæmningen af den metaboliske aktivitet undersøges som funktion af koncentrationen af det pågældende stof.

Alle undersøgelser hvor PICT-konceptet indgår inkluderer to trin - et selektions trin og et detektions trin. Selektionstrinet kræver en lang tids eksponering med det toksiske stof, under kontrollerede forhold i mikro- eller mesocosmossystemer, eller i en gradient i naturen. Detektionstrinet kræver en korttidstest hvor toleranceniveauet bestemmes. En sammenligning af tolerancen imellem forskellige samfund kan da angive PICT.

I dag er der forskningsgrupper ved Gøteborg Universitet (Sverige) og National Inst. Public Healt and Environmental Protection (Holland) der arbejder med PICT-konceptet, i forbindelse med toksiske stoffers effekter på mikroalger og bakterier.

Hans Blanck, Sten-Åke Wängberg og Sverker Molander fra Gøteborg Universitet har i en årrække arbejdet med PICT og perifyton (mikroalger knyttet til faste overflader). Resultaterne fra dette arbejde er lovende. For en lang række toksiske stoffer har de kunnet påvise, en påvirkning af perifytonsamfundene i en retning, så de "nye" samfund havde en øget tolerance for det pågældende stof. Den øgede tolerance har de kunnet relatere til ændringer i bl.a. artssammensætningen.

De første valideringer af PICT-konceptet er gjort med arsén som teststof på marine perifytonsamfund. Blanck og Wängberg (1988b) har bl.a. fundet, at perifytonsamfund eksponeret for arsénkoncentrationer over 0.1 µM udviklede en øget arséntolerance, og at toleranceøgningen kunne relateres til ændringer i produktionen og artssammensætningen. Desuden er arséns effekt på mikroalger blevet undersøgt v.hj.a. PICT i limniske mesocosmossystemer. Overraskende viste undersøgelserne effekter af arsén allerede ved de lave naturlige baggrundskoncentrationer af arsén. Man fandt, at arsén på bestemte årstider kan være bestemmende for algesuccessionen i fosforbegrænsede søer. I en række modeløkosystemer er PICT konceptet siden blevet undersøgt for en række stoffer. Det

gælder effekter på perifyton af 4,5,6-trichlorguaiacol (Molander et al, 1991) og tributyltin (Dahl, Molander og Blanck, ikke publiceret) og effekter på fytoplankton og perifyton af atrazin og kobber (Gustavson og Wängberg, 1991).

Blanck og Dahl (1991) har undersøgt effekter af tributyltin (TBT) på perifytonsamfund omkring en lystbådehavn ved den svenske vestkyst. Inden for en afstand på 500 m fra havnen fandt de en øgning i perifytonsamfundenes TBT-tolerance. Øgningen i tolerancen skete få dage efter, bådene var sat i vandet i maj måned. Den øgede tolerance faldt med tiden, for i oktober måned at nå det samme niveau som før lystbådene blev sat i vandet. De fandt, at TBT-koncentrationer over 0.3 n molær inducerede en øgning i perifytonsamfundenes TBT-tolerance. Siden det svenske forbud mod anvendelse af organotin i skibsmalinger i slutningen af 1980'erne er organotin koncentrationen omkring lystbådehavnen faldet markant, hvilket stemmer overens med, at man i 1991 ikke fandt en øgning i perifytonets organotintolerance (pers. med. B. Dahl).

I en række nordsvenske søer har Wängberg (1991) undersøgt effekten på fytoplankton af arsén- og kobberluftforureningen fra Rønnskarsverket. Undersøgelserne viser en øget arsén- og kobbertolerance hos fytoplanktonsamfundene i søerne med de høje kobber- og arsénkoncentrationer, som lå nærmest metalindvindingsværket.

Perifyton er kendetegnet ved primært at bestå af langsomt voksende kiselalger, i modsætning hertil er fytoplankton ofte hurtigt voksende og med stor taxonomisk diversitet. På grund af sin relativt hurtige vækst og store diversitet er fytoplankton en meget ideel organismegruppe at anvende i PICT-konceptet. På grund af fytoplanktons store betydning som primærproducent i akvatiske systemer og sine gode egenskaber i forhold til PICT-konceptet, foreslog vi i 1989 at udvikle og afprøve PICT-konceptet på fytoplankton.

# 3 Tidsforløb

Arbejdet under dette projekt har være en kombination af laboratorie- og feltundersøgelser. Oprindeligt var det planen i starten af projektet at anvende PICT-konceptet på fytoplanktonsamfund dyrket i laboratoriekulturer. Imidlertid viste det sig at være yderst vanskeligt at opretholde diverse og ensartede kulturer. Efter rådføring med specialister indenfor algedyrkningsområdet, valgte vi derfor istedet som udgangsmateriale i vores undersøgelser, at anvende fytoplanktonsamfund indsamlet i naturen. Buresø blev valgt som lokalitet.

Buresø er en mesotrof sø, der i sommerperioderne ofte er begrænset af kvælstof. Fytoplanktonet i søen har stor artsdiversitet og er ikke på noget tidspunkt domineret af enkelte algearter. Tilledningerne af pesticider er vurderet til at være yderst begrænset, idet søen er omgivet af skov og økologisk landbrug. På grund af den store artsdiversitet og den formodet meget lille tilførsel af pesticider fandt vi Buresø meget velegnet som udgangspunkt i vores undersøgelser.

I store træk har tidsforløbet i projektet været følgende: 1) en udbygning af samarbejdet mellem Gøteborg Universitet og Danmarks Miljøundersøgelser; 2) en modificering og udvikling af metoder til bestemmelse af totalprimærproduktion i PICT-målinger; 3) en bestemmelse af effektniveauer for atrazin, diuron, diklorprop, kobber og zink på fytoplanktonsamfund fra Buresø; 4) mesocosmosundersøgelse i Buresø sommeren 1990; 5) mikrocosmosundersøgelse i Buresø efteråret 1991.

# 4 Resultater og beskrivelser

## 4.1 **Samarbejde med Gøteborg Universitet**

Danmarks Miljøundersøgelsers samarbejde med forskere ved Gøteborg Universitet er igennem dette projekt kraftigt blevet udvidet, hvilket har været meget givende og inspirerende. Forskningsgruppen ved Gøteborg Universitet har som sit primære forskningsområde valgt at arbejde med metaller og miljøfremmede stoffers effekter på mikroalger. Gruppen er internationalt meget velanset.

## 4.2 **Udvikling af målemetode i korttids tolerancemålinger**

Hovedeideen i PICT-konceptet) er, at toksiske stoffer vil påvirke succesion og selektion i fx et algesamfund, således at algesamfundet bliver mere tolerant for det pågældende toksiske stof. En øgning af tolerancen hos et samfund kan skyldes en fysiologisk adaptation af individer, en selektion af tolerante genotyper og/eller en erstatning af følsomme arter med tolerante arter. En øgning af et samfunds tolerance er en indikation på, at samfundet er blevet påvirket af det toksiske stof. I dette projekt valgte vi at bestemme algesamfundenes pesticid- hhv. metaltolerance ved at måle størrelsen af kuldioxidfikseringen som funktion af pesticid- eller metalkoncentration. Vi bestemte tolerancen ved hjælp af kulstof-14-metoden i en 2 timers test ved lysmætning.

Til beregning af primærproduktiones størrelse har man i mange år anvendt mængden af kulstof-14 fikseret til algerne over et kendt tidsrum. I den hidtidige metode har man beregnet primærproduktionens størrelse ud fra mængden af kulstof-14 opsamlet på et filter. Metoden måler ikke den del af primærproduktionen, som algerne udskiller som exudater. Et mål for størrelse af den totale primærproduktion fås ved at måle mængden af kulstof-14 indbygget i organisk stof såvel opløst som partikelbundet. Da toksiske stoffer ofte øger exudat udskillelsen hos alger var det aktuelt for os at videreudvikle metoden til bestemmelse af den totale primærproduktion under påvirkning af toksiske stoffer. Den del af kulstof-14, som ikke indbygges i organisk stof kan fjernes ved tilsætning af syre, hvorved alt uorganisk kulstof kan afbobles som kuldioxid. Den tilbageværende mængde kulstof-14 er et mål for den totale primærproduktion.

## 4.3 **Effektniveauer i akutte test**

I foråret 1990 undersøgte vi den akutte toksicitet af atrazin, diuron, diklorprop, kobber og zink på fytoplanktonsamfund fra Buresø, dels for at fastlægge hvilke effektniveauer der var relevante i en senere tolerance-undersøgelse, dels for at fastlægge hvor lang inkubations tid der kræves for at opnå fuld akut effekt/hæmning. Inkubationerne blev foretaget in situ i søen i specialudviklede inkubatorer med plads til 40 stk. 20 ml glasvials, med låg af polypropylen. In situ inkubationerne sikrede, at temperatur og lysforhold var i overensstemmelse med de aktuelle forhold i søen, samt en minimering af stresspåvirkningen forårsaget af transport mellem indsamlingsted og laboratorie. Inkubationerne foregik ved lysmætning. For alle stoffer med undtagelse af diklorprop fandt vi, at 1 times preinkubation var tilstrækkelig til at opnå fuld akut hæmning af kulstoffikseringen. Efter den ene times preinkubation blev prøverne inkuberet med kulstof-14 i 2 timer, herefter blev formalin tilsat for at stoppe den biologiske aktivitet. Glasvials indgik senere direkte i scintillationstælleren ved bestemmelsen af mængden af fikseret kulstof-14. Ud fra en koncentrationsserie (geometrisk) bestående af 15 forskellige koncentrationer af det toksiske stof og 5 replikater som kontrol er det muligt at fremstille tolerancekurver også kaldet dosisresponskurve.

## 4.4 **Mesocosmoseksperimentet 1990**

I sommeren 1990 undersøgte vi de kroniske og akutte effekter af atrazin og kobber på fytoplanktonsamfund i mesocosmos systemer i Buresø. Mesocosmossystemerne bestod af 6000 liter store polyethylen poser, med en diameter på 1,5 meter og 3,5 meters dybde. Ved hjælp af dykkere blev poserne ved eksperimentets start, fyldt med søvand, ved at blive åbnet på ca. 4 meters dybde og svømmet op til overfladen. Poserne blev efter fyldning fastgjort til en pontonbro i søen. I figur 1 er angivet pontonbro med de enkelte poser der indgik i undersøgelsen.

Efter tilsætningen af atrazin eller kobber til de pelagiske økosystemer i mesocosmosposerne fulgte vi udviklingen i poserne i 3 uger, blandt andet ved at måle en lang række økologiske og fysiologiske parametre, herunder fytoplanktonets og perifytonets kobber- og atrazintolerance (PICT-målinger). Dagligt blev pH og sigtdybden målt, og hyppigt blev der indsamlet vandprøver til bestemmelse af zooplankton, fytoplankton, næringssalte, partikulært bundet kvælstof og kulstof, klorofyl, kobber og atrazin. Vandprøverne blev indsamlet med et ca. 3,5 meter langt polypropylenrør som vertikalt blev stukket ned i poserne. I tabel 2 er der en oversigt over eksperimentet.

Den 4. august 1990 blev poserne fyldt med søvand. I en akklimationsperiode frem til den 8. august fik poserne tid til af "falde til ro". Efter at have målt en række parametre bl.a. atrazin- og kobbertolerancen den 8. og 9. august blev der langsomt (10 timer) tilsat kobber ($CuCl_2$) til tre af poserne (Cu1, Cu5, Cu15) og atrazin til 6 af poserne (A1a, A1b, A10a, A10b, A20a, A20b). De nominelle koncentrationer af hhv. kobber og atrazin var: Cu1 = 1 ppb; Cu5 = 5 ppb; Cu15 = 15 ppb; A1a og A1b = 1 ppb; A10a og A10b = 10 ppb; A20a og A20b ppb. Tre poser (C1, C2, C3) og søen virkede som kontrol. Den opløste koncentration (< 0,4 µ meter) af hhv. kobber og atrazin blev hyppigt målt i poserne. De målte koncentrationer af kobber og atrazin var relativt konstante. I poserne Cu1, Cu5 og Cu15 var kobberkoncentration hhv. ca. 0.8 ppb, 4 ppb og

10 ppb. De målte koncentrationer af atrazin var tæt på de nominelle koncentrationer.

Atrazin er svært opløseligt i vand, og i mange eksperimenter har man brugt alkohol eller acetone til at opløse atrazin med. Dette kan imidlertid give samspils effekter og vanskeliggøre fortolkningen af forsøgsresultater. Vi undgik brugen af opløsningsmidler ved at opløse atrazin i destilleret vand ved hjælp af ultralyd.

Som det kan læses af tabel 2, blev atrazin- hhv. kobbertolerancen målt fem gange i forsøgsperioden på ca. 3 uger. Vi fandt, at atrazintolerance var ens i alle poser i hele forsøgsperioden. I figur 2 er vist atrazintolenrancen fra den 29 august, som er repræsentativt for forsøget. Vi fandt vi en øget kobbertolerance i poser tilsat kobber. I figur 3 er kobbertolerancen målt 2 dage efter kobbertilsætningen og i figur 4 efter 26 dage. Øgningen i tolerancen efter bare 2 dage tillægges elimineringen af følsomme individer og populationer, mens den øgede tolerance efter 26 dage tillægges udviklingen af tolerante individer og populationer i samfundet.

For at undersøge hvor specifik en eventuel toleranceudvikling var, undersøgte vi, efter 2 uger, algernes tolerance overfor diuron, atrazin, kobber og zink. Med undtagelse af kobber- og zinktolerancen i poserne Cu1, Cu5 og Cu15 var tolerancen for de undersøgte stoffer ens i alle poser. Som det ses af figur 5 er der en sammenhæng mellem algernes kobbertolerance og deres tolerance overfor zink. I poserne Cu1 og Cu15 er der en markant højere kobber- og zinktolerance. Co-tolerancen mellem kobber og zink er ikke overraskende, når man tænker på hvor bred en fysiologisk virkning både kobber og zink har, samt at mekanismerne for detoksifiseringen af kobber og zink kan være ens.

For at sammenligne toleranceudviklingen hos fytoplankton og perifyton nedsænkede vi den 11. august i poserne K2, Cu1, Cu5, Cu15; A1a; A10a, A20a og i søen, polyethylenrammer med glasskiver til etablering af perifyton. Efter ca. 3 uger undersøgte vi kobber og atrazin tolerancen hos perifytonsamfundene på glasskiverne. Hverken atrazin eller kobber inducerede en øget atrazin- hhv. kobbertolerance i perifytonsamfundene. I forhold til fytoplanktonet var perifytonets kobbertolerance op til en faktor 1000 gange større. Dette kan forklares ud fra artsammensætningen i perifytonsamfundene, der ofte er dominerede af pennate mucusproducerende kobbertolerante kiselalger.

De niveauer og variationer, vi fandt i pH, sigtdybde, klorofylindhold, næringssaltkoncentrationer, primærproduktion, var i kontrolposer og søen af samme størrelsesorden. Og vi fandt det vellykket at bruge de 6000 liter store mesocosmossække som komplekse "levende modeller" af sø-økosystemet. Ved at anvende så store systemer "sikrer" man opretholdelse af komplekse og diverse systemer.

Den tidsmæssige udvikling i poserne af primærproduktionen (fotysyntese), klorofylkoncentrationen, pH og C/N-forholdet i det partikulære materiale (>0,4 µm) er angivet i figur 6, 7, 8, og 9. Af hensyn til overskueligheden i figur 9 er data fra poser tilsat kobber ikke medtaget. I alle de poser, hvor der var tilsat kobber, fandt vi en øgning i fytoplanktonets kobbertolerance. Og i forhold til kontrolposerne fandt vi i poserne Cu5 og Cu15, skiftevis en mindskning eller øgning af primærproduktion og klorofylindholdet, samt et fald i C/N-forholdet. Over tiden var der altså

tale om meget varierede tendenser i disse parametre. For kobber fandt vi, at tolerance-målingen (PICT) var den følsomste og mest entydige måleparameter.

I forhold til kobber gav atrazintilsætning ikke så markante effekter på fytoplanktonet i poserne. Fx inducerede atrazin ikke en øgning i fytoplanktonets atrazintolerance. Tilsætningerne af atrazin medførte en øgning af klorofyl-indholdet, samt et fald i C/N-forholdet.

Atrazin er kendt som en hæmmer af energiproduktionen i cellerne ved at hæmme elektrontransporten ved fotosystem II. En sådan hæmning af energiproduktionen i cellerne vil have afgørende betydning for algerne under forhold, hvor energitilførslen er begrænsende for algernes vækst. I oligotrofe og mesotrofe søer vil alger i sommermånederne oftest være næringsstofbegrænset. På andre årstider kan algerne være lysbegrænset.

At atrazin ikke inducerede en øgning i algernes atrazintolerance, kan skyldes, at energiforsyningen i algerne var tilstrækkelig selv i de atrazineksponerede samfund. Effekten af atrazin kan derfor tænkes først at være gældende for alger med energimangel. Egne undersøgelser viser at den akutte effekt af fotosystem II hæmmerne atrazin og diuron er størst ved lysintensiteter under lysmætning, tolerance kurverne forskydes mod lavere koncentrationer. Imidlertid blev atrazintolerance målt ved lysmætning. For alle poser bestemte vi primærproduktionen som funktion af lysintensiteten (PI-kurve). Hverken hældningen eller lysmætnings punktet blev påvirket væsentligt af atrazin hhv. kobber. I alle poser var algernes lysmætningspunktet ca. 250 uE $m^2$ sek.

Artssammensætning i fytoplanktonsamfundene blev bestemt ved tællinger på lugolfikserede prøver i et omvendt mikroskop. En samlet artsliste over de alger og mikroorganismer, fundet i poserne og i Buresø, er givet i tabel 3. Artsammensætningen blev løbende fulgt. I figur 10 er angivet artsantallet vi fandt i starten og slutningen af eksperimentet. Algerne er i figuren delt op i følgende systematiske grupper Cyanophyta, Baccilariophyta, Chlorococcales, Zygnometales, Volvocales+ulotrichales og øvrige (= flagellater som ikke er grønalger, Euglenophyceae, Dinophyceae, Cryptophy-ceae, Chrysophyceae og Prymnesiophyceae). Som det fremgår af figur 10 er artsantallet i alle poser, med undtagelse af pose Cu15, stadig højt 3 uger efter eksperimentets start.

Ved hjælp af Sørensens similaritetsindex (Sørensen, 1948) er det muligt at foretage en parvis sammenligning af artsforekomsten i poserne til de forskellige datoer. I tabel 4 er similaritetsindexet imellem kontrolposer og kobber- hhv. atrazineksponerede poser angivet til de forskellige dage. Af tabel 4. fremgår det, at artsforekomsten i poserne Cu15, A10a, A10b, A20a og A20b fra den 28. august adskiller sig fra artsforekomsten i kontrolposerne - med laveste similaritet imellem kontrolposerne og Cu15 posen. Der er en mindre forskel den 20. august mellem kobberposerne og kontrolposerne. De laveste similaritetsindex, fra 0.36 til 0.41, fås ved en sammenligning mellem Cu15 posen og poserne tilsat atrazin (A10a, A10b, A20a og A20b), disse tal er ikke angivet i tabel.

En multivariabel analyse af artssammensætningen er foretaget ved hjælp af Detrended Correspondance Analysis (DCA) (ter Braak, 1987) med programmet CANOCO (ter Braak, 1988). CANOCO er udviklet til bl.a at analysere effekten af forskellige faktorer på algesamfund. Analysen er dels foretaget med kvalitative data (fundet/ikke fundet) dels med kvanti-

tative data. Ordineringsakserne i den kvalitative analyse har relativ lille forklaringsevne, med eigenvalues på 0.15 (= 20%) og 0.081 (=10.6%), hvilket svarer til, at 20% hhv. 10.6% af den totale variation kan forklares ud fra variationen på komponent 1 hhv. komponent 2. Det var de samme prøver som skilte sig ud i den kvalitative ordinering og parvise sammenligning.

For at mindske betydningen af meget hyppigt forekommende alge- arter i den kvantitative Detrended Correspondance Analysis, er alle hyppighedsværdier transformeret til kvardratrodsværdier. Arter, der i tællingerne kun er noteret som forekommende, er i den kvantitative ordinering tillagt værdien 1 celle/ml. I figur 11 er eigensværdierne for komponenterne 0.825 (49.4%) hhv. 0.170 (10.2%), hvilket indikerer en stor betydning af den første komponent. I plottet med fordelingen af de enkelte prøver er det tydeligt, at det er posen med den højeste kobberkoncentration (Cu15), der skiller sig ud fra de øvrige prøver, med en gradvis fjernelse fra den 10. august til den 28. august. Denne gradvise forandring var ikke til at se i den parvise sammenligning. For pose Cu5 er der i samme periode en mindre afvigelse i forhold til de øvrige poser. Prøverne fra atrazinposerne udskiller sig ved sine højere værdier i anden komponenten. Det skal bemærkes at der for kontrolsækkene er en tidsmæssig drift mod højere værdier i anden komponenten.

I figur 12, 13, 14 og 15 er angivet antal celler pr. ml over tiden, for de fire hyppigste arter (Anabaena cf. scheremetievi, Monoraphium cf. minutum/cirernale, Chrysochromulin parva og Closterium cf. acutum). Af figurene fremgår det, at både atrazin og især kobber påvirker antallet af de enkelte arter. Monoraphium cf. minutum/cirernale forekom kun sporadisk i poserne med undtagelse pose Cu15 med den høje kobber koncentration hvor den totalt dominerede ved forsøgets afslutning. For Closterium cf. acutum var udviklingen i kontrolposerne og den lave kobberkoncentration meget ens. I atrazinposerne og søen var antallet af Closterium cf. acutum ved forsøgets afslutning noget forhøjet, mens antallet var mindsket ved de høje kobberkoncentrationer. Et lignende mønster syntes at gælde for Chrysochromulin parva med den undtagelse, at celleantallet i tre af atrazinposerne var klart højere end i kontrolposerne og søen ved forsøges af slutning. Celleantallet af Anabaena cf. scheremetievi er ved forsøget afslutning kraftigt øget i kontrol- og atrazinposerne, og mindsket i kobberposerne og søen.

Zooplankton blev fra vandprøver, udtaget med polypropylen rør, opsamlet på 140 µm net. Individ antallet og længden af de enkelte zooplanktonarter blev bestemt. I vandprøverne fandt vi Cladocera (Daphnia cucullata, Daphnia longispina, Bosmina coregoni, Diaphanosoma brachyurum, Leptodora hyalina, Ceriodaphnia quadrangula), copepoda (Cyclops strenus, Diaptomus castor) og Rotatoria (Asplanchna priodonta). Daphnia cucullata og Rotatoria var dominerende arter i starten af eksperimentet, mens Diaphanosoma dominerede i slutningen. Mængden af zooplankton (biomasse og antal) var i poserne op til en faktor 10 større end i søen, hvilket kan skyldes den manglende predation fra fisk i poserne og/eller den vertikale migration i søen. Mængden af cladocera var ca. 10 gange større end mængden af copepoder. Gennemsnitslængden for de enkelte arter var over tiden relativ konstant og hverken atrazin eller kobber påvirkede gennemsnitslængden.

I poserne tilsat atrazin fandt vi en markant større mængde cladocera, mens mængden af copepoder var uændret. Den større mængde cladoce-

ra i poserne tilsat atrazin tillægger vi ændringer i kvaliteten og kvantiteten af fødesammensætningen. Vi fandt at atrazin inducerede et øget indhold af kvælstof og klorofyl i algerne (C/N og C/klorofyl forholdene faldt). I posen Cu15 fandt vi et akut fald i mængden af cladocera (primær effekt) og kun en langsom reduktion i mængden af copepoder (sekundær effekt). I poserne Cu1 og Cu5 var der ingen reduktion i mængden af zooplankton.

## 4.5. **Mikrocosmoseksperiment 1991**

Efteråret 1991 undersøgte vi effekten af atrazin i mikrocosmossystemer, en opfølgning på mesocosmosundersøgelserne. Atrazin er kendt for at hæmme energiproduktionen via en blokering af elektrontransporten ved fotosystem II. En sådan hæmning af energiproduktionen i cellerne vil have afgørende betydning for algerne under forhold, hvor energitilførslen er begrænsende for algernes vækst. I oligotrofe og mesotrofe søer vil alger i sommermånederne normalt have rigeligt lys til rådighed og istedet ofte være næringsstofbegrænset. Baggrunden for at vi i efteråret 1991, fra den 20. oktober - 2. november undersøgte effekten af atrazin på fytoplanktonsamfund, var at algerne sent efterår, vinter og tidligt forår ofte er lysbegrænset.

Effekten af atrazin blev i oktober 1991 undersøgt i 130 liters store polypropylen spande (mikrocosmos) placeret i søbreden ved Buresø. Herved blev algerne i spandene udsat for de naturlige svingninger i temperatur- og lysforhold, hvilket kan have afgørende betydning for sammensætningen og diversiteten af algesamfundene. Ved eksperimentets start blev spandene fyldt med Buresøvand. For at opnå lysbegrænsning i spandene tilsatte vi ved forsøgets start næringstoffer, samt tildækkede spandenes sider med sort plastik.

Ialt 12 spande indgik i eksperimentet, 3 kontrolspande og 9 spande fik tilsat atrazin (triplikater) i følgende 3 nominelle koncentrationer: 2 pbb (A1,A2,A3), 7 ppb (A4,A5,A6) og 20 ppb (A7,A8,A9). Løbende målte vi atrazinkoncentrationerne i spandene. Over tiden var de målte atrazinkoncentrationer i vandet relativt konstante. De målte atrazinniveauer var 1,1-2,7 ppb i A1-A3, 2,1-7,4 ppb i A4-A6 og 7,7-25,7 pbb i A7-A9.

I de ca. 2 uger eksperimentet stod på fulgte vi udviklingen i spandene. Fytoplanktonets atrazintolerance (PICT-målinger) blev således målt 3 gange i løbet af eksperimentet. Tolerance undersøgelserne blev foretaget i inkubator ved 150 uE $m^2$ sek, i laboratorie ved søen. Herudover bestemte vi temperatur og lysforhold i spandene og søen, samt koncentrationen af næringssalte, partikulært bundet kvælstof, partikulært bundet kulstof, klorofyl og atrazin.

For alle spande bestemte vi primærproduktionen som funktion af lysintensiteten (PI-kurver). Vi fandt at hældninger på PI-kurverne og lysmætnings punkterne var ens for algerne fra kontrolspande og atrazineksponerede spande. Lysmætningspunktet var ca. 70 $\mu E/m^2/sek$. For at undersøge sammenhængen mellem atrazintolerance og lysintensiteten, undersøgte vi atrazintolerancen ved fire lysintensiteter (66, 105, 150 og 300 $\mu E/m^2/sek$.). Desværre overvurderede vi algernes lysmætningspunkt, hvilket medførte at alle lysintensiteter var over eller meget nær lysmætningspunktet. Tolerancekurverne ved de fire lysintensiteter adskilte sig ikke fra hinanden.

Atrazintolerancen i de atrazineksponerede fytoplanktonsamfund var den samme som i kontrolspandene. Af de øvrige målte parametre fandt vi kun et mindre fald i C/N forholdet i det partikulære materiale (0,4 µm) i de atrazineksponerede spande - samme tendens som vi fandt i mesocosmosforsøget 1990.

Et af målene i mikrocosmoseksperimentet var at undersøge effekten af atrazin på fytoplanktonsamfund under lysbegrænsede forhold. Desvære var der i store dele af perioden næringsstofbegrænsning -lysbegrænsende forhold blev desværre ikke opnået. De effekter og effektniveauer, vi fandt, af atrazin i mikro- og mesocosmoseksperimenter var meget ens.

# 5 Diskussion og konklusion

I vores undersøgelser har vi fundet både akutte og kroniske effekter af kobber og atrazin. En oversigt over de fundne effektniveauer for kobber og atrazin er angivet i tabel 5 og 6. I tabellerne er effektkoncentrationer angivet i µg/liter (ppb) og µmol/liter (µM). Til tabellerne kan det generelt tilføjes, at effekterne af kobber ved de angivne effektniveauer, i forhold til atrazin, generelt var mere markante. Den akutte toksicitet, målt som hæmningen af kulstof-14 fikseringen i en 2 timers test, var for kobber og atrazin af samme størrelsesorden.

Undersøgelsen viste at kobber og atrazin, ved de aktuelt undersøgte koncentrationer, begge påvirkede algesammensætningen, C/N-forholdet og klorofylkoncentrationerne - alle forhold af afgørende betydning for bl.a. omsætningen af næringsstoffer i akvatiske økosystemer. Det skal her bemærkes at klorofylkoncentrationen faldt i de kobbereksponerede poser, og steg i de atrazineksponerede poser. Larsen et al. 1986 og Pratt et al. 1988 har tilsvarende fundet en øgning i algernes klorofylindhold ved lave atrazinkoncentrationer.

Effekten af kobber adskiller sig markant fra effekten af atrazin, dels ved at give udslag i PICT-målingerne, og dels ved at have markante kroniske effekter på primærproduktionen. Et interessant resultat er den divergens, der er mellem den høje akutte effekt og den manglende kroniske effekt af atrazin på primærproduktion. Et resultat der viser at det kan være vanskeligt at forudsige kroniske effekter ud fra akutte effekter. I forhold til akutte effekter kan bl.a., metabolisk regulering og adaptation reducere de kroniske effekter.

For kobber var PICT-målingen den følsomste og mest entydige parameter. Effekten af kobber på størrelsen af primærproduktion, algernes biomasse (POC og PON) og C/N-forhold var over tiden varierende. Efter tilsætningen af kobber til poserne fandt vi meget lave værdier for primærproduktionen, biomasser og C/N-forhold, for senere i samme poser at finde de højste værdier. Disse observationer er i god overensstemmelse med vores opfattelse af at lave koncentrationer af toksiske stoffer, set over en længere tidshorizont, ikke nødvendigvis vil ændre størrelsen af fx primærproduktionen og biomassen. Koncentrationer af toksiske stoffer umiddelbart over "no effect level" vil ændre konkurrence forholdene og resultere i en restrukturering af samfundene. En sådanne restrukturering vil medføre ændringer i bl.a. biomasser og primærproduktion. Når restruktureringen er færdig vil biomasse og produktion falde tilbage til niveauet før eksponeringen (recovery).

Ud fra PICT- og primærproduktionsmålinger troede vi i starten, at der ikke var kroniske effekter af atrazin. Nøjere analyser af bl.a C/N-forhold, klorofylindhold og artssammensætningen viste derimod, at der er kroniske effekter af atrazin. Som før omtalt er atrazins virkemåde, i modsætning til kobber, meget specifik. Atrazin hæmmer elektrontransporten ved fotosystem II (PSII) via en binding til et D1 protein. Undersøgelser har vist, at alger for at kompensere for virkningen af PSII-hæmmere (bl.a. atrazin og diuron) øger den relative mængde af klorofyl - samme mekanisme som ved adaptation til lave lysintensiteter (Koenig 1987, 1990; Hatfiels et al. 1989).

De alger med størst atrazintolerance og bedste evner til at kompensere for virkningen af atrazin vil teoretisk have et fortrin. Ud fra bl.a. analysen af artssammensætningen må vi konkludere, at atrazin i vores eksperimenter har udsat algerne for et selektions pres i de tidsperioder af døgnet hvor algerne er lysbegrænset. I vores tilfælde kan det således tænkes, at atrazin eksponeringen har givet de alger, der "lettest" kan kompensere for virkningen af atrazin et fortrin. Dette fortrin har de fået uden, at disse alger nødvendigvis hermed får en større atrazintolerance, målt ved hjælp af kulstof-14 fikseringen ved lysmætning som funktion af atrazinkoncentrationen, i en senere eksponering. Vores forsøgsresultater klarlægger desværre ikke algernes atrazintolerance ved lysintensiteter under lysmætningspunktet.

Hvilke fysiologiske processer man vælger at følge er ikke trivielt. Et forkert valg kan føre til både under- og overvurderinger af miljøeffekter. En undervurdering sker, når organismen kan opretholde aktiviteten i den undersøgte delproces men ikke i andre processer, som er af betydning for organismens fremgang. En overvurdering sker, når den undersøgte proces ikke har økologisk betydning for organismen eller, når der er tale om en "chok effekt", der over længere tid ingen økologiske betydning har.

De fysiologiske parametre, man vælger at arbejde med, bør være følsomme og fleksible, så det er muligt at arbejde med relativt små biomasser, så metoden kan tilpasses forskellige økosystemer. Desuden bør metoden være generel for alle økologiske og systematiske grupper af alger. Det, man måler i metoden, skal repræsentere processer af signifikant betydning for algernes konkurrenceevne, og den økologiske betydning skal kunne bestemmes.

At atrazin ikke gav udslag i PICT-målingerne, tillægger vi først og fremmest valget af den fysiologiske parameter, vi anvendte i toleranceundersøgelserne. I tilfældet med atrazin, hvor algerne ret hurtigt kan kompensere for den akutte effekt på primærproduktionen, ved bl.a. at øge klorofylindholdet, bør man i fremtidige toleranceundersøgelser medtage fysiologiske parametre der direkte måles på den kompenserende mekanisme, der har betydning for algernes konkurrence evne, fx klorofylsyntesen og næringstofoptagelse.

Selv effektundersøgelser på meget integrative processer kan for visse toksiske stoffer give et helt forkert "No effect levels". For eksempel hæmmer flere af de nye lavdosispesticider først kuldioxidfikseringen ved koncentrationer op til 1000-10000 gange højere end de koncentrationer, som hæmmer algernes vækst i enkeltarts kulturer (Blanck, upubliceret). Før man vælger hvilke fysiologiske parametre man ønsker at følge, i såvel PICT undersøgelser som mere traditionelle undersøgelser, er det meget afgørende at kende virkemåden af de toksiske stoffer og eventuelle kompenserende mekanismer. Responsen på en testparameter er relateret til både virkemekanismen af stoffet og tolerancemekanismen i algerne.

Et andet spændende område i forbindelse med effekter af toksiske stoffer, er organismernes omkostninger i forbindelse med toleranceudvikling og adaptation. De alger, vi eksponerede for kobber og atrazin øgede i forhold til kulstof deres indhold af kvælstof - et fald i C/N-forholdet. Alt andet lige vil en øgning i kvælstofindholdet være forbundet med omkostninger samt kræve en tilgænglighed af kvælstof.
Den ovenfor nævnte problemstilling viser, hvor vigtigt det er, at kende

virkemåden af toksiske stoffer, herunder at have biologisk og økologisk viden til at kunne forudsige akutte og kroniske effekter. For mange stoffer er der nødvendigvis ikke en tæt kobling mellem den akutte og kroniske effekt.

Forskellige arters følsomhed for toksiske stoffer er ofte meget forskellig, op til tre størrelseordner og i ekstreme tilfælde 6 størrelseordner (Blanck and Bjørnsæter, 1988). Mange har i dag den opfattelse, at tilstedeværelsen eller fraværelse af forskellige arter er en følsom parameter for stress forårsaget at toksiske stoffer (Gray 1989). Problemet med sådanne data er imidlertid at danne forbindelsesleddet mellem effekten af det toksiske stof og data for artssammensætningen, idet bl.a. tilfældige fluktuationer i omgivelserne kan forårsage ændringer i artsammensætningen. Hvis imidlertid artsammensætningen kan kobles til en øget tolerance (PICT), vil det påvise, at det toksiske stof påvirker samfundet.

Indenfor de seneste år har PICT-metoden været afprøvet og udviklet i forbindelse med effektundersøgelser af toksiske stoffers effekter på perifyton. Disse undersøgelser har vist, at PICT-metoden er et følsomt og yderst relevant økotoksikologisk værktøj. På grund af bl.a. fytoplanktonets relative hurtige vækst og relative store diversitet, i forhold til perifyton, antog vi, at fytoplankton var en velegnet organismegruppe til PICT-undersøgelser. Resultaterne af dette projekt viser, at fytoplanktonsamfund er yders velegnet at anvende i PICT-undersøgelser. Projektet viser desuden at det er meget afgørende at kende virkemåden og tolerancemekanisme for det pågældende toksiske stof, når de fysiologiske parametre i PICT-målinger skal vælges.

Fremtidige forskningsområder indenfor PICT-metoden er hovedsageligt relaterede til detektion af induceret tolerance, herunder udvikling af fysiologiske målemetoder og mekanismerne bag co-tolerance. Desuden kunne det være yderst spændende at undersøge mulighederne for, at anvende af PICT-konceptet på andre organismegrupper fx bakterier og zooplankton.

# 6 Litteraturliste

**Blanck H. & Bjørnsæter B. (1988):** Inhibition of growth of marine and freshwater microalgae by the sulfonylurea herbicides Glean and Ally. Report to the National Swedish Chemicals Inspectorate, 15 pp.

**Blanck H. & Dahl B. (1991):** Pollution induced community tolerance to organotinn compounds in periphyton in a shallow bay. (manu script in preparation).

**Blanck H. & Wängberg s.-Å. (1988):** Induced community tolerance in marine periphyton established under arsenate stress. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 45:1816-1819.

**Blanck H., Wängberg S.-Å., Molander S. (1988):** Pollution-induced community tolerance (PICT) - a new ecotoxicological tool. In J. P. Pratt and J. Caitns Jr., (eds.) Functional testing for hazard evaluation ASTM STP. p. 219-230.

**Brink N. & Kreuger J. (1988):** Pesticider i svenske åer. Sverigs Landbruksuniversitet.

**Gray JS. (1989):** Effect of environmental stress on species rich assemblages. Biol J Linnean Soc 37:19-32.

**Gustavson K. & Wängberg S:-Å. (1991):** Tolerance induction and succession in phytoplankton communities exposed to copper and atrazin. (manuscript in preparation).

**Hatfield PM., Guikema JA., St John JB., Gendel JM. (1989)**: Characrerization of the adaption response of Anacystis nidulans to growth in the presence of sublethal doses of herbicide. Current Microbiol 18:369-374.

**Klerks PL., Levinton JS. (1989):** Effects of heavy metals in a polluted aquaticc ecosystems. In: Levin SA., Kelly J. R., Kimball K. D. (1989). Ecotoxicology: Problem and approach. Springer Verlag, New York.

**Koenig f. (1987):** Involvement of the QB binding protein in the adaptation of the photosynthetic apparatus to light. In: Biggins (ed) Martinus Nijhoff Publ, vol 4 95-98.

**Koenig f. (1991):** Shade adaptation in Cyanobacteria. Photosynt Res 26:29-37.

**Lampert W., Fleckner W., Pott E., Schober U., Størkel K-U. (1989):** Herbicide effects on planktonic systems of different complexity. Hydrobiologia 188/189:415-424.

**Landner L. (1988):** Hazardous chemicals in the environment - some new approaches to advanced assessment. Ambio 17:360-366.

**Larsen DP., deNoyelles F., Stay F., Shiroyama T. (1986):** Camparisons of single-species, microcosm and experimental pond responses to atrazine exposure. Environ Contam Toxicol 5:179-190.

**Levin S. A., Harwell M. A., Kelly J. R., Kimball K. D. (1989):** Ecotoxicology: Problem and approach. Springer Verlag, New York.

**Luoma S (1977):** Detection of trace contaminant effects in aquatic ecosystems. J Fish Res Bd Can 34:436-439.

**de Madariaga I. & Fernandez E. (1990):** Photosynthetic carbon metabolism of sizefractionated phytoplankton during an experimen tal bloom in marine microcosms. J. mar. biol. Ass. U.K. 70:531-543.

**Mogensen B.B & Spliid N. H. (1991):** Udvaskning af pesticider fra landbrugsjord. 8. Danske Planteværnskonference 245-254.

**Molander S., Blanck H., Söderström M. (1991):** Toxicity assessment by pollution-induced community tolerance (PICT), and identification of metabolites in periphyton communities after exposure to 4,5,6-trichlorguaiacol. Aquat. Toxicol. 18:115-136.

**Molander S., Blanck H.(1991):** Detection of pollution-induced community tolerance (PICT) in marine periphyton communities established under diuron exposure. Aquat. Toxicol. (in press).

**Pitelka LF. (1988):** Evolutionary responses of plants to anthropogenic pollutants. Trends in Ecol Evolut 3: 233-236.

**Pratt JR., Bowers NJ., Cairns J Jr. (1988):** Effects of atrazin on freshwater microbial communities. Arch Environ Contam Toxicol 17:499-457.

**Sørensen (1948):** A method for establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species content and its application to analysis of the vegetation on Danish Commons. Biol. S. K. Danske Videnskablige Selsk, N. S. 5:1-34.

**ter Braak (1987):** Unimodel models to relate species to environment. Landbrugsuniversitetet i Wageningen.

**ter Braak (1988):** Canoco - a fortran program for canonical community ordination by - partial detrennded canonical correspondance analysis, principal components analysis and redundance analysis version 2.1. Agricultural Mathematics group, Wageningen.

**Wängberg S.-Å., Heyman U., Blanck H. (1991):** Long-term and short-term arsenate toxicity to freshwater phytoplankton and periphyton in limnocorrals. Can. J. Fish Aquat. Sci. (in press).

**Wängberg S.-Å. (1991):** Arsenate and copper tolerance in phytoplankton communities from lakes in a heavy metal polluted area in northern Sweden. (manuscript in prerararion).

***Tabel 1.***
Pesticid koncentrationer fundet i svenske åer fra 1985-1987 og antal positive prøver (Brink og Krueger 1988).

*Maximum pesticide concentrations and number of positive samples in Swedish stream waters 1985-1987 (Brink and Krueger 1988).*

| PESTICIDER | Max. konc. (µg/l) | Apr | Maj | Juni | Juli | Aug | Sep | Okt |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| HERBICIDER | | | | | | | | |
| Atrazin | 6,0 | 0 | 5 | 9 | 14 | 15 | 13 | 2 |
| Bentazone | 0,5 | IM | IM | IM | IM | 19 | 18 | IM |
| Cyanazine | 0,7 | 0 | 0 | 10 | 3 | 1 | 1 | 0 |
| 2,4-D | 0,9 | 0 | 1 | 3 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Diklorprop | 16 | 0 | 14 | 44 | 24 | 8 | 5 | 0 |
| Dimethanklor | 0,3 | IM | IM | IM | IM | IM | 3 | IM |
| MCPA | 8,0 | 0 | 12 | 45 | 32 | 7 | 3 | 0 |
| Mecoprop | 6,0 | 0 | 13 | 16 | 19 | 8 | 9 | 0 |
| Metazaklor | 7,0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 3 | 8 | 0 |
| Simazin | 1.1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Terbuthylazine | 0,7 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| FUNGICIDER | | | | | | | | |
| Metalaxyl | 1,3 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| Propiconazole | 1,2 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| INSEKTICIDER | | | | | | | | |
| Endosulfan | 0,1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Fenitrothion | 0,1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Lindan | 0,6 | 0 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 |
| Permethrin | 0,6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Pirimicarb | 3,7 | 1 | 0 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 |
| Antal prøver analyseret | | 4 | 42 | 58 | 56 | 52 | 45 | 2 |
| Max. konc.* (µg/l) | | 4 | 14 | 25 | 5 | 4 | 10 | 6 |

* Maksimal total pesticid koncentration i en enkelt å.

IM = Ikke målt

***Tabel 2.***
Oversigt over mesocosmos eksperiment i Buresø, august 1990.

*Survey of mesocosms experiment lake Bure august 1990.*

| August 1990 | 8 | 10 | 12 | 14 | 16 | 18 | 20 | 22 | 24 | 26 | 28 | 30 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Cu tilsat | ⋆ | | | | | | | | | | | |
| Atrazin tilsat | ⋆ | | | | | | | | | | | |
| Nærringsstof tilsæt | | ⋆ | | | ⋆ | | | ⋆ | | ⋆ | | |
| Perifyton start | | ⋆ | | | | | | | | | | |
| Perifyton tolerance | | | | | | | | | | | | ⋆ |
| Kobber tolerance | ⋆ | ⋆ | | | ⋆ | | | | | | ⋆ | |
| Atrazin tolerance | ⋆ | ⋆ | | | ⋆ | | | | | | | ⋆ |
| Co-tolerance | | | | | | | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | | |
| Lysmætnings kurver | | | | | | ⋆ | | | | | | |
| Zooplankton | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ |
| Fytoplankton | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ |
| pH | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ |
| Sigtdybde | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ |
| Nærringssalte | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ |
| C/N | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ |
| Klorofyl | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ | ⋆ |
| Kobber konc. | ⋆ | ⋆ | | ⋆ | | ⋆ | ⋆ | | | | | |
| Atrazin konc. | | ⋆ | ⋆ | | ⋆ | | | ⋆ | ⋆ | ⋆ | | ⋆ |

***Tabel 3.***
Artsliste for mesocosmos eksperiment i Buresø, august 1990.
*Species found in the mesocosms experiment august 1990.*

**Blågrønalger / Nostocophyceae**
Anabaena cf. scheremetievi
Anabaena spiroides
Aphanizomenon flos-aquae
Aphanothece sp.p
Gomphosphaeria sp.
Lyngbya limnetica
Lyngbya cf. contortia
Merismopedia sp.
Microcystis aeruginosa
Microcystis wesenbergii
Oscillatoria cf. aghardii
Oscillatoria limnetira
Spinelina sp.

**Kiselalger / Diatomophyceae**
Asterionella formosa
Atteya zackarriac
Fragillaria sp.
Melosira sp.
Nitzschia sp.
Pennat kiselage
Rhizosolenia longiseta
Synedra sp.

**Øjealger / Eugleonophyceae**
Colacium sp (på zooplankton)
Euglena oxyuris
Euglena sp.

**Furealger / Dinophyeae**
Ceratium furcoides/hirundinella
Peridinium spp.

**Rekylalger / Cryptophyceae**
Cryptomonas spp.
Katablepharis sp.
Rhodomonas minuta

**Gulalger / Chrysophyceae**
Bitrichia chodattie
Dinobryon divergens
Mallomonas sp.
Synura sp.

**Stilkalger / Prymnesiophyceae**
Chrysochromulina parva
Chrysochromulina sp.

**Grønalger / Chlorophycae**
Ankistrodemus fusiformis
Botryococcus braunii
Carteria sp.
Chlamydomonas spp.
Chlorella spp.
Closterium cf. aciculare
Closterium cf. acutum
Coelastrum spp.
Cosmarium cf. depressum
Cosmarium spp. (+)
Crucigeniella sp.
Dictyosphaerium sp.
Elakatothrix cf. gennevensis
Eutetramorus sp.
Koliella sp. / Monoraphidium sp.
Lagerheimia cilrata/subsalsa
Movgeotia sp.
Monoraphidium
cf. minutum/cirernale
Monoraphidium tatrae
Nepthrocytium sp.
Oocystis sp.
Pediastrum duplex/boryanum
Pediastrum tetras
Scenedesmus cf. guadricauda
Scenedesmus sp.
Staurastrum spp.
Tetraedron minimum

Uidentificeret coccale el. tetrasp.
Grønne kugler < 3,4 µm
+ ikke talte 3,4 - 8,5 µm
> 8,5 µm
Ikke talte total

**Andet**
Flagellat
Colodictyon sp. (heterotrof grønalge)

Diverse < 3,4 µm
3,4 - 8,5 µm
> 8,5 µm

Krebsdyr:
Bladfodskrebs
Cyklops (inkl. nauplier)

Ciliater:
Holotriche
Peritriche

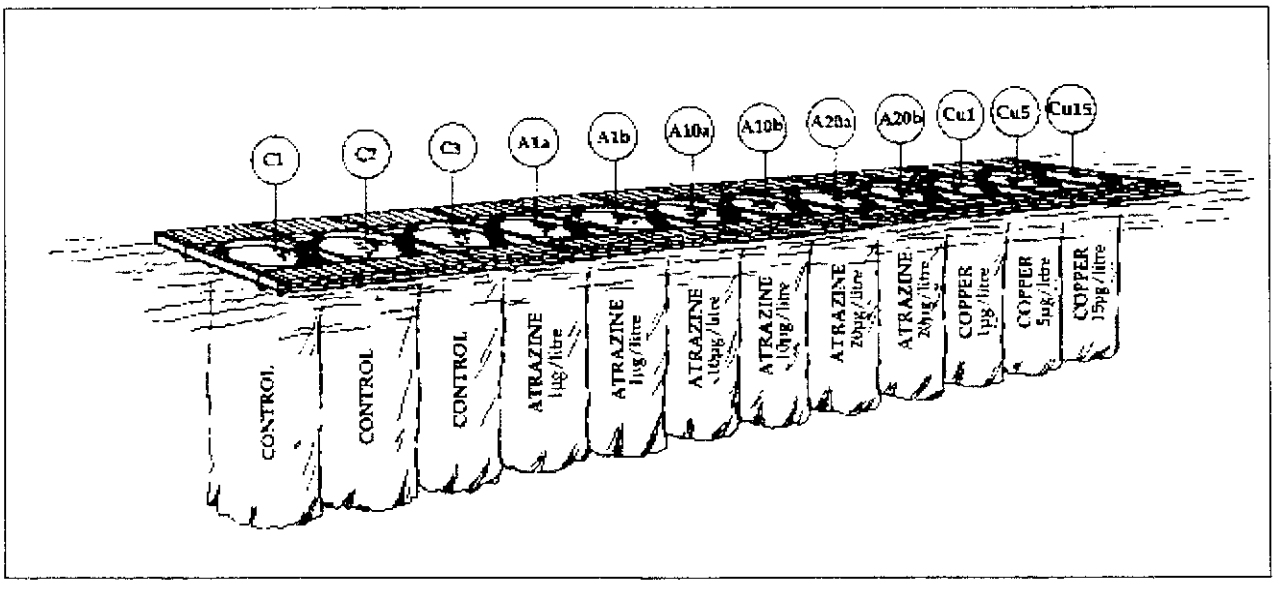
Hjuldyr:
Keratella sp.
Andre

Soldyr/Heliozoider

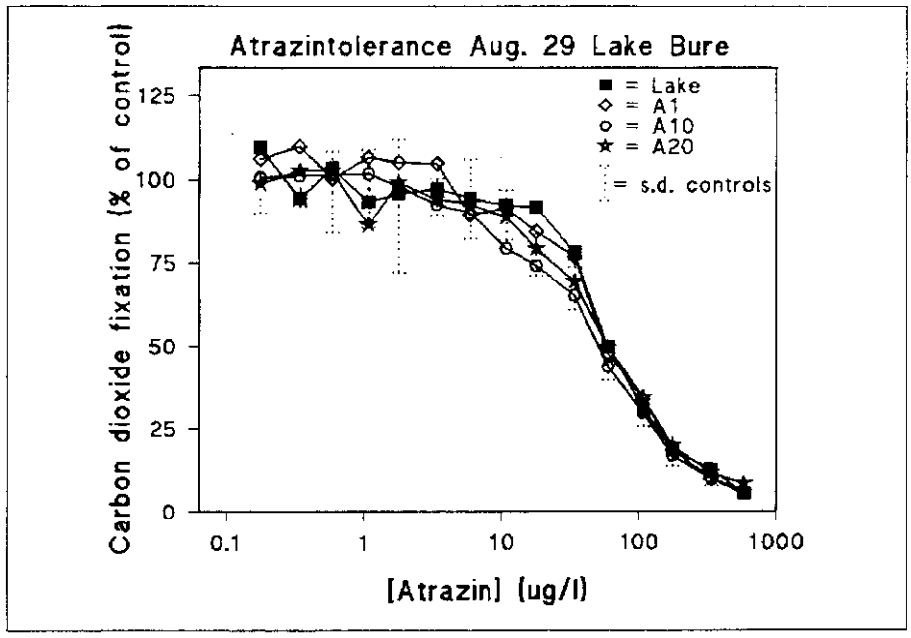
***Tabel 4.***
Sørensens similaritetsindex for en parvis sammenligning af artsforekomsten i poserne til de forskellige dage.
*Sørensens similarity index between the species composition in the bags at different dates.*

| | C1. 8. Aug. | Cu5. 8. Aug. | C1 Same day | C2. Same day |
|---|---|---|---|---|
| 8. Aug. | | | | |
| C1 | 1 | .89 | 1 | - |
| Cu5 | .89 | 1 | .89 | - |
| 10. Aug. | | | | |
| C1 | .75 | .81 | 1 | .83 |
| C2 | .78 | .83 | .83 | 1 |
| Cu1 | .74 | .81 | .79 | .83 |
| Cu5 | .69 | .69 | .77 | .78 |
| Cu25 | .73 | .78 | .85 | .80 |
| 20. Aug. | | | | |
| C1 | .76 | .78 | 1 | .82 |
| C2 | .71 | .76 | .82 | 1 |
| Cu1 | .69 | .71 | .79 | .72 |
| Cu5 | .71 | .75 | .75 | .67 |
| Cu25 | .66 | .66 | .77 | .71 |
| 28. Aug. | | | | |
| Sø | .78 | .82 | .80 | .82 |
| C1 | .74 | .76 | 1 | .84 |
| C2 | .79 | .81 | .84 | 1 |
| Cu1 | .74 | .76 | .83 | .88 |
| Cu5 | .73 | .73 | .75 | .84 |
| Cu25 | .44 | .53 | .44 | .49 |
| A10a | .68 | .67 | .64 | .67 |
| A10b | .67 | .65 | .62 | .68 |
| A20a | .67 | .67 | .68 | .72 |
| A20b | .70 | .68 | .65 | .71 |

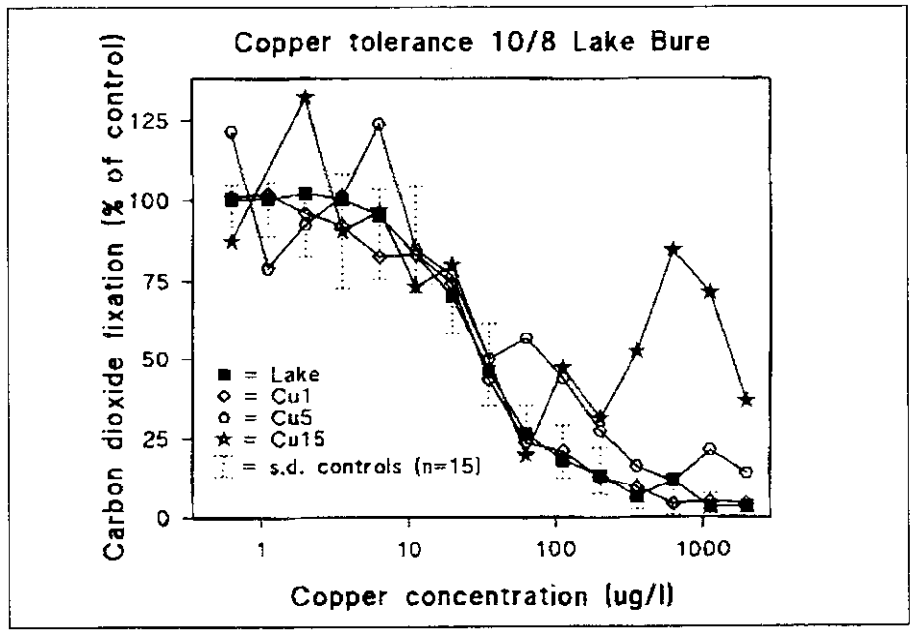
***Figur 1.***
Pontonbro med de enkelte poser der indgik i mesocosmos eksperimentet august 1990.
*Pontoon-bridge and bags in the mesocosms experiment august 1990.*



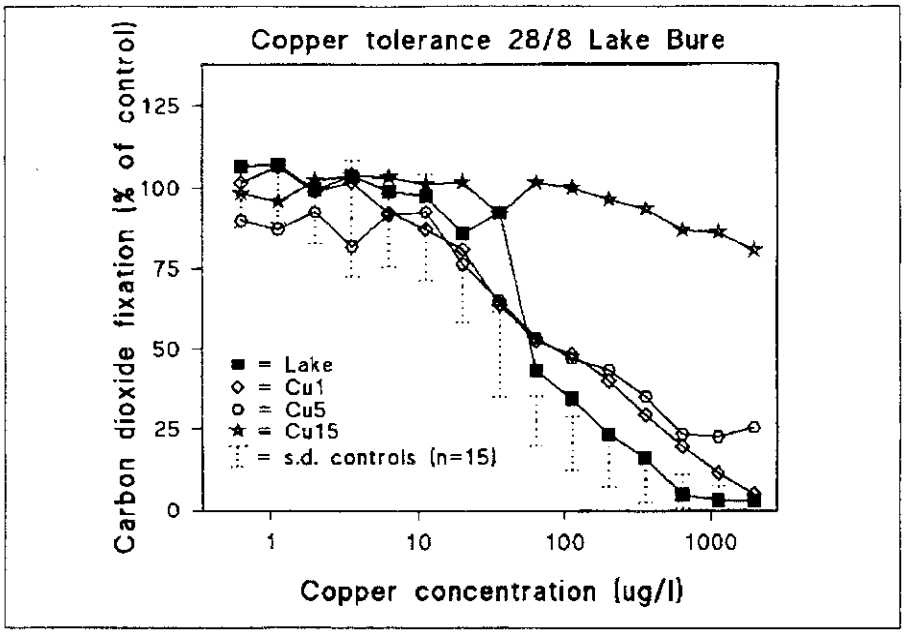
***Figur 2.***
Fytoplanktonets atrazintolerance den 29 august 1990, tyve dage efter atrazintilsætningen. Tolerancen er undersøgt ved atrazins hæmning af kulstof-14 fikseringen i korttids test.
*Atrazine tolerance of the phytoplankton the 29 august twenty days after the atrazine was added to the bags. The tolerance levels were determined by the inhibition by atrazine of the $C_{14}$-fixation in short term test.*



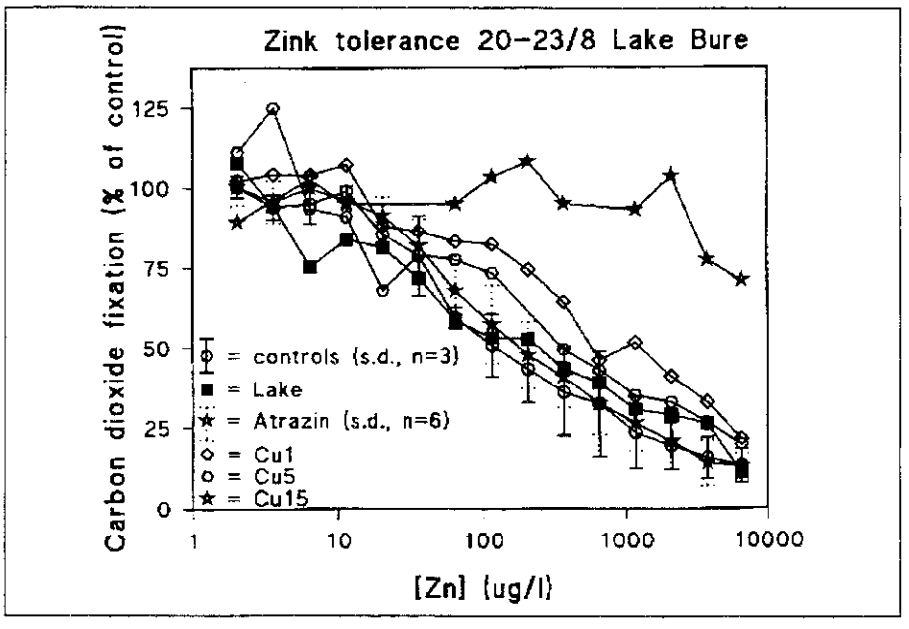

***Figur 3.***
Fytoplanktonets kobbertolerance den 10 august 1990, to dage efter kobbertilsætningen. Tolerancen er undersøgt ved kobbers hæmning af kulstof-14 fikseringen i korttids test.
*Copper tolerance of the phytoplankton 10 august two days after the copper was added to the bags. The tolerance levels were determined by the inhibition by copper of the $C_{14}$-fixation in short term test.*



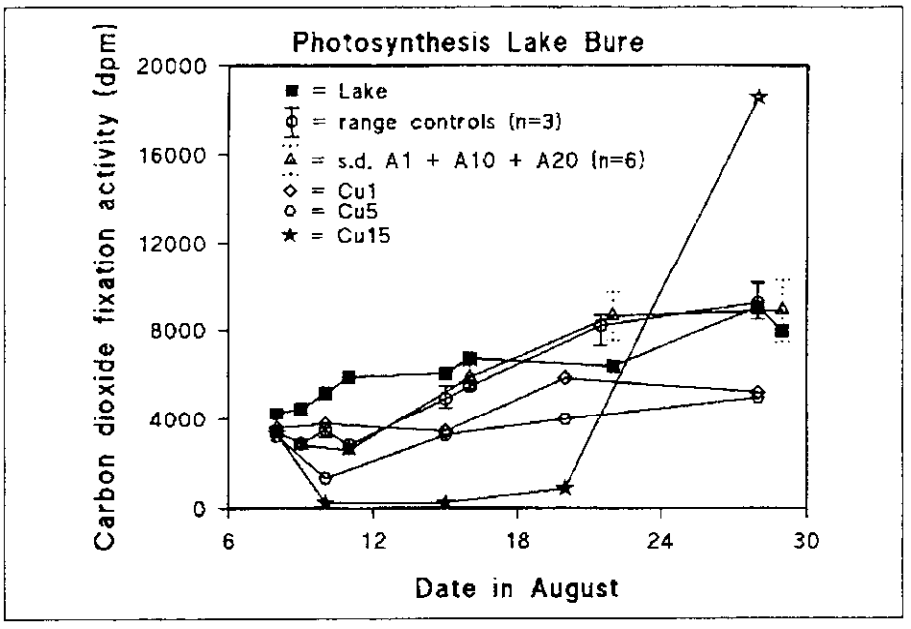
***Figur 4.***
Fytoplanktonets kobbertolerance den 28 august 1990, 20 dage efter kobbertilsætningen. Tolerancen er undersøgt ved kobbers hæmning af kulstof-14 fikseringen i korttids test.
*Copper tolerance of the phytoplankton 28 august twenty 20 days after the copper was added to the bags. The tolerance levels were determined by the inhibition by copper of the $C_{14}$-fixation in short term test.*



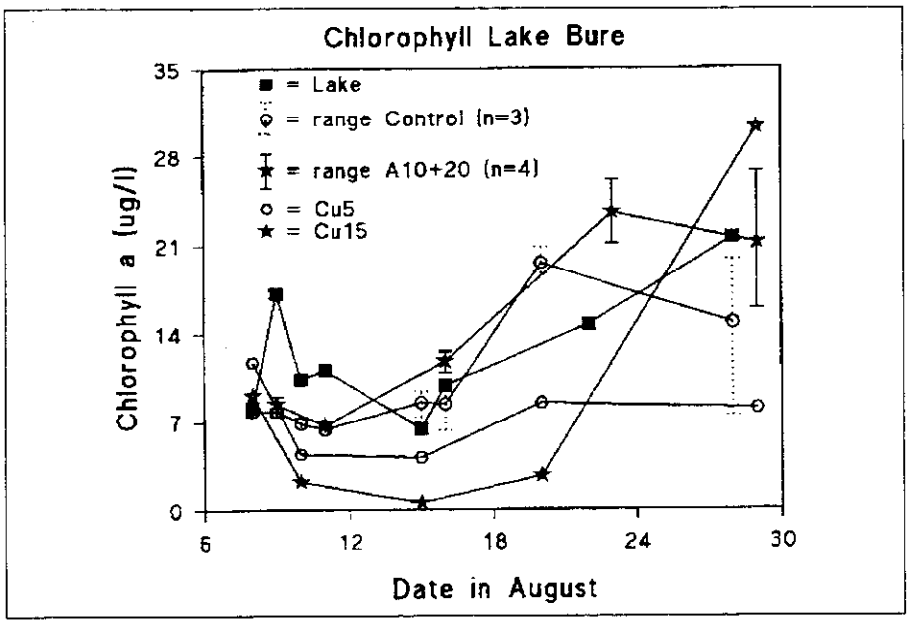

***Figur 5.***
Fytoplanktonets zinktolerance den 20 august 1990. Tolerancen er undersøgt ved zinks hæmning af kulstof-14 fikseringen i korttids test.
*Zinc tolerance of the phytoplankton 20 august. The tolerance levels were determined by the inhibition by zinc of the $C_{14}$-fixation in short term test.*



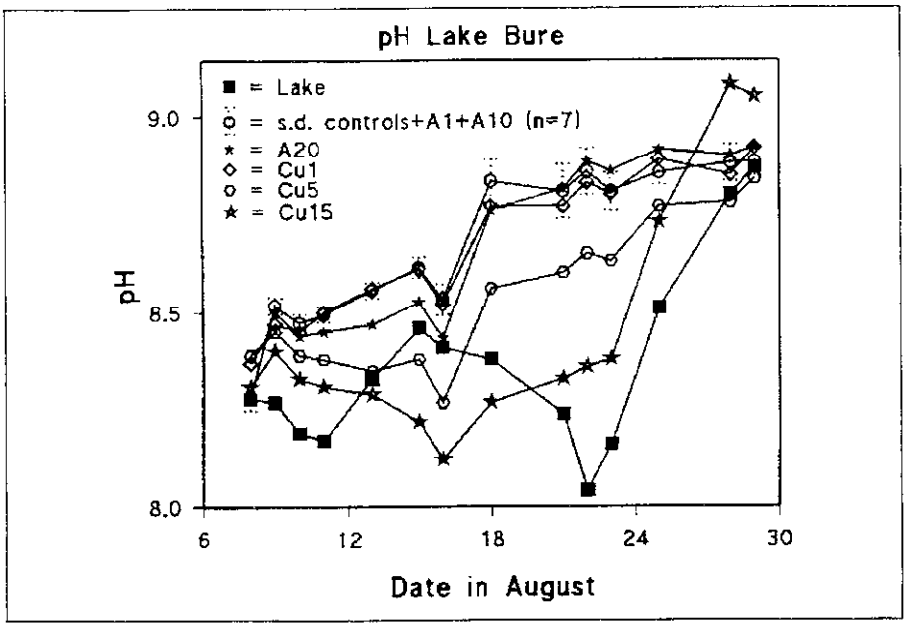
***Figur 6.***
Primærproduktion (fotosyntese) i poser de enkelte dage, mesocosmos eksperimentet august 1990.
*Primary production (photosynthetic activity) of the phytoplankton in the bags at different times, mesocosms experiment august 1990.*



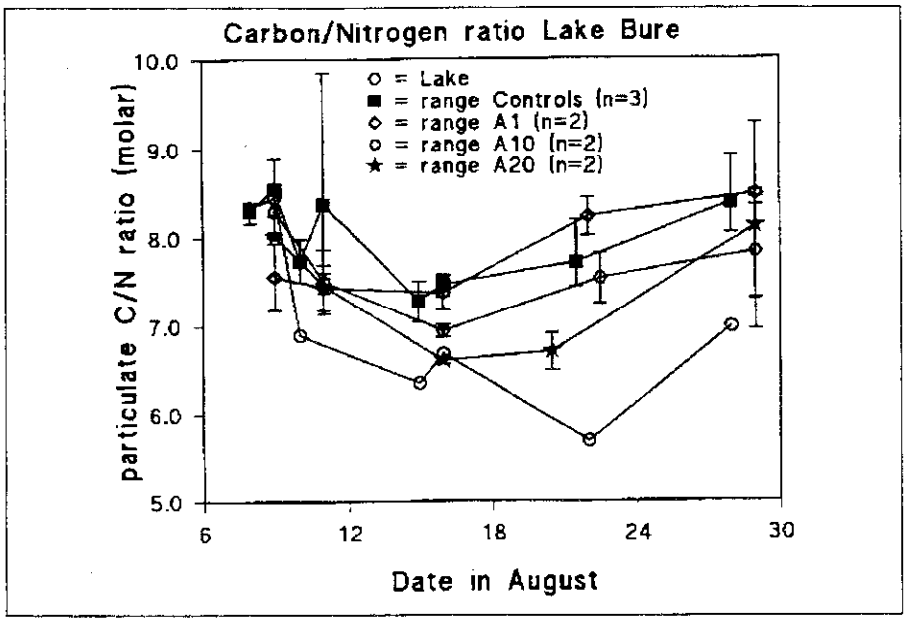

***Figur 7.***
Klorofylkoncentration i poser de enkelte dage, mesocosmos eksperimentet august 1990.
*Chlorofyll concentrations in the bags at different times, mesocosms experiment august 1990.*



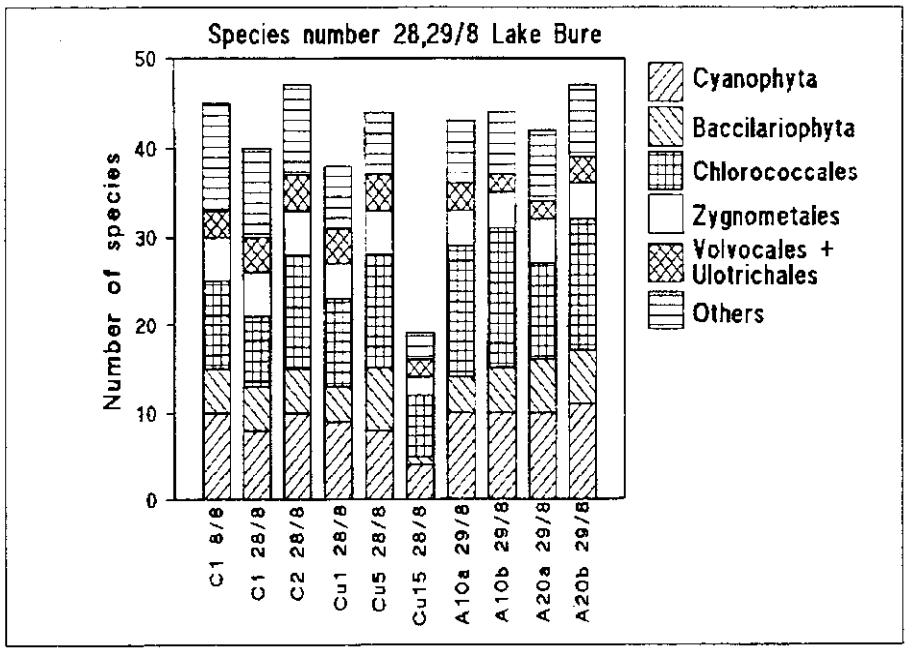
***Figur 8.***
PH-værdier i poser de enkelte dage, mesocosmos eksperimentet august 1990.
*PH-values in the bags at different times, mesocosms experiment august 1990.*



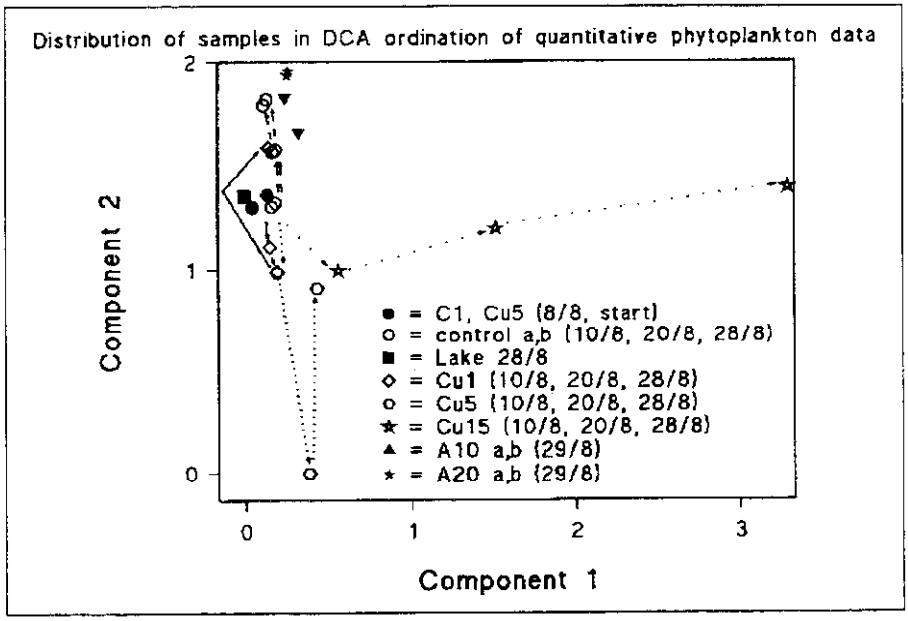

***Figur 9.***
Kulstof/nitrogen forhold i kontrolposer og poser tilsat atrazin de enkelte dage, mesocosmos eksperimentet august 1990.
*Carbon to nitrogen ratios (C/N) in control bags and bags added atrazine, mesocosms experiment august 1990.*



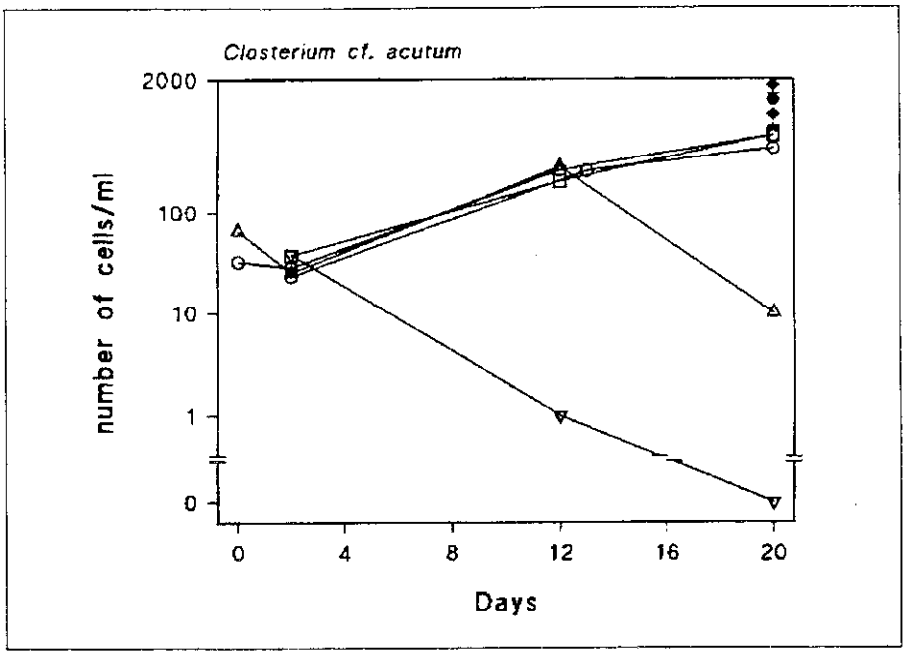
***Figur 10.***
Antal arter vi fandt i de forskellige poser i starten og ved afslutningen af eksperimentet, mesocosmos eksperiment august 1990. Algerne er delt op i følgende systematiske grupper Cyanophyta, Baccilariophyta, Chlorococcales, Zygnometales, Volvocales+ulotrichales og øvrige (= flagellater som ikke er grønalger, Euglenophyceae, Dinophyceae, Cryptophyceae, Chrysophyceae og Prymnesiophyceae).
*Number of species in the bags at the start and the end of the experiment, mesocosms experiment august 1990. The algae are divided into the following groups Cyanophyta, Baccilariophyta, Chlorococcales, Zygnometales, Volvocales+ulotrichales og others (= flagellates that are not green algae, Euglenophyceae, Dinophyceae, Cryptophyceae, Chrysophyceae og Prymnesiophyceae).*



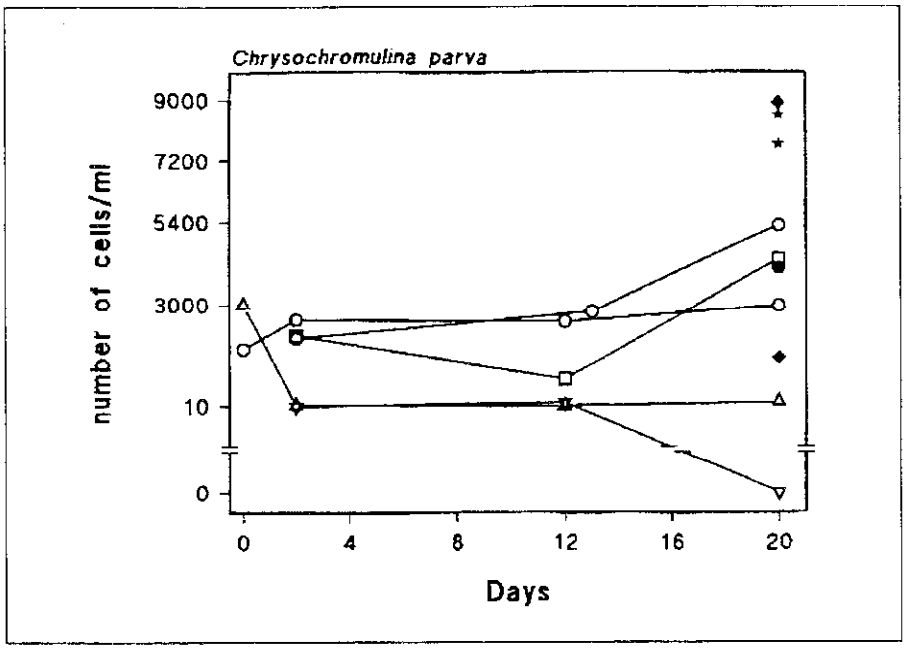

***Figur 11.***
Ordinationen af Detrended Correspondance Analysis (DCA) af kvantitative algedata, mesocosmos eksperiment august 1990.
*The ordination of a Detrended Correspondance Analysis (DCA) of the quantitativ phytoplankton data, mesocosms experiment 1990.*



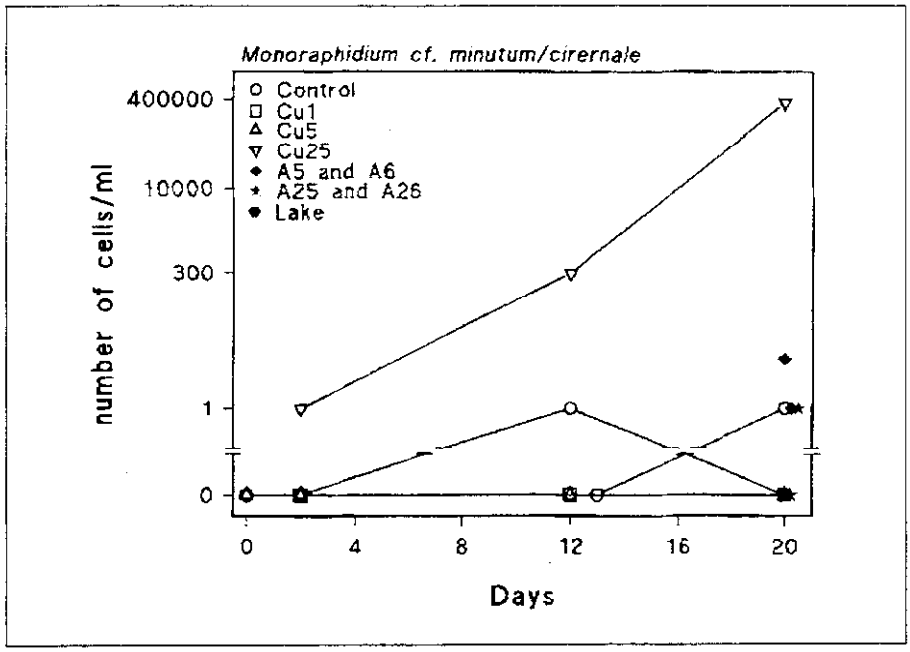
***Figur 12.***
Antal algeceller/ml fundet de enkelte dage, mesocosmos eksperiment august 1990.
*Number of cells/ml at different times, mesocosms experiment august 1990.*



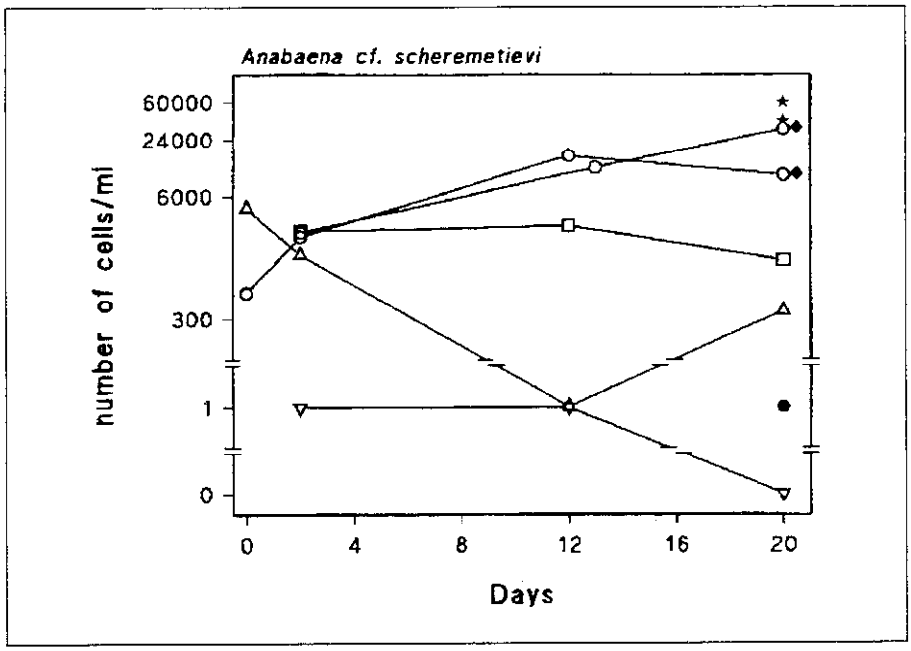

***Figur 13.***
Antal algeceller/ml fundet de enkelte dage, mesocosmos eksperiment august 1990.
*Number of cells/ml at different times, mesocosms experiment august 1990.*



***Figur 14.***
Antal algeceller/ml fundet de enkelte dage, mesocosmos eksperiment august 1990.
*Number of cells/ml at different times, mesocosms experiment august 1990.*




***Figur 15.***
Antal algeceller/ml fundet de enkelte dage, mesocosmos eksperiment august 1990.
*Number of cells/ml at different times, mesocosms experiment august 1990.*



***Tabel 5.***
Effektniveauer for kobber på fytoplanktonsamfund, mesocosmoseksperiment august 1990.
*Effekt levels for copper on phytoplankton communities found in mesocosms experiment august 1990.*

| Parameter | µg/l | µmol/l |
|---|---|---|
| PICT | < 1 | < 0,016 |
| Akut hæmning af primærproduktion | 25-38 | 0,40-0,60 |
| Kronisk hæmning af primærproduktion | < 1 | < 0,016 |
| Fald i klorofylkoncentration | > 1 | > 0,016 |
| Fald i C/N-forholdet | > 1 | > 0,016 |
| Fald i artsantal | 5-10 | 0,08-0,16 |
| Artssimilaritet | 5-10 | 0,08-0,16 |
| Artssammensætningen kvalitativ | 5-10 | 0,08-0,16 |
| Artssammensætningen kvantitativ | 1-5 | 0,016-0,08 |

***Tabel 6.***
Effektniveauer for Atrazin på fytoplanktonsamfund, mesocosmoseksperiment august 1990.
*Effekt levels for atrazine on phytoplankton communities found in mesocosms experiment august 1990.*

| Parameter | µg/l | µmol/l |
|---|---|---|
| PICT | > 20 | > 0,1 |
| Akut hæmning af primærproduktion | 30-50 | 0,16-0,25 |
| Kronisk hæmning af primærproduktion | > 20 | > 0,1 |
| Fald i klorofylkoncentration | > 20 | > 0,1 |
| Fald i C/N-forholdet | > 1 | > 0,005 |
| Fald i artsantal | > 5 | > 0,025 |
| Artssimilaritet | > 1 | > 0,005 |
| Artssammensætningen kvalitativ | > 1 | > 0,005 |
| Artssammensætningen kvantitativ | > 1 | > 0,005 |

ISSN 0908-9195 ISBN 87-7810-610-9
Pris (inkl. 25% moms): kr. 75,-
Kan købes hos: Miljøbutikken
Telefon: 33 37 92 92 Fax: 33 92 76 90

Miljø- og Energiministeriet **Miljøstyrelsen**
Strandgade 29 · 1401 København K · Telefon 32 66 01 00