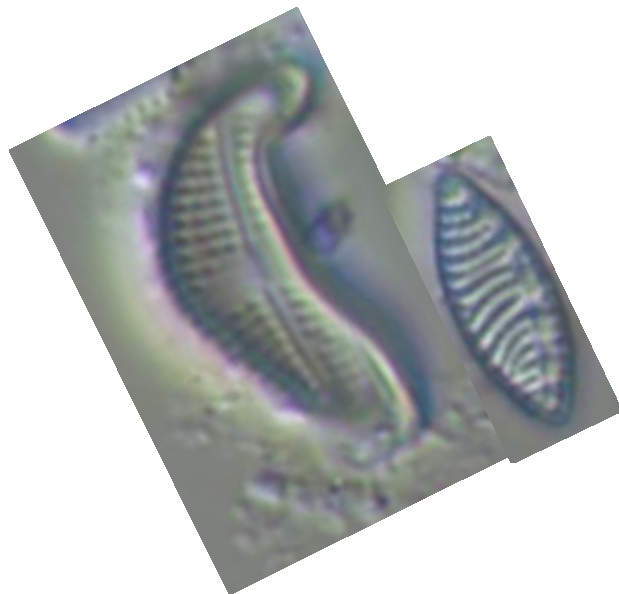


Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för Naturresurser och Lantbruksvetenskap
Institutionen för Miljö och Vatten
Självständigt arbete • 15 hp • Grundnivå C
Naturresursprogrammet
Uppsala 2009

Kiselalgernas missbildningar under toxiska förhållanden

Diatoms malformations in toxic conditions
Författare Lina Jan-Ers



Kiselalgernas missbildningar under toxiska förhållanden

Diatoms malformations in toxic conditions

Lina Jan-Ers

Handledare: Maria Kahlert, Sveriges Lantbruksuniversitet,
Institutionen för Vatten och Miljö

Btr handledare: Steffi Gottschalk, Sveriges Lantbruksuniversitet,
Institutionen för Vatten och Miljö

Examinator: Ulf Grandin, Sveriges Lantbruksuniversitet,
Institutionen för Vatten och Miljö

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grund C

Kurstitel: Självständigt arbete i biologi

Kurskod: EX0418

Program/utbildning: Naturresursprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2009

Omslagsbild: Lina Jan-Ers

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: diatom, heavy metal polluted, toxide, teratologiska missbildningar, kiselalger

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakultet Naturresurser och Lantbruksvetenskap

Institution Vatten och Miljö

ABSTRACT

A research of 14 toxic affected study sites in Sweden showed a significant increased proportion of deformed diatoms.

The six metal polluted study sites in the region of Dalarna showed a 4, 2% average of deformed *Fragilaria* (deformed diatoms reference sites, 0, 1%).

The results also indicate a significant increased proportions of deformed diatoms in the eight pesticide polluted sites in the south and middle of Sweden, compared to the reference sites, howsoever the toxic content was low.

The results indicate that there are no larger differences in neither teratological forms nor variations that segregate metal polluted and pesticide polluted shells. One of the reasons may be that both heavy metals and pesticides can affect the development of the diatom shell. A more detailed analysis of the deformations is suggested to investigate if any differences can be proved.

INNEHÅLL

INLEDNING	1
METOD	2
1.1 Lokalbeskrivningar och bakgrundsdata	3
1.2 Provtagning och analys av kiselalger	3
1.3 Räkning och fotografering	5
1.4 Statistisk analys	5
RESULTAT	6
2.1 Andel missbildningar under metall- och pesticidpåverkan	6
2.2 Släktet <i>Fragilaria</i> som indikator på signifikant metallpåverkan	6
2.3 Skillnad i teratogena former under metall- resp. pesticidpåverkan	8
DISKUSSION	10
3.1 Andel missbildningar under metall- och pesticidpåverkan	10
3.2 Släktet <i>Fragilaria</i> som indikator på signifikant metallpåverkan	10
3.3 Skillnad i teratogena former under metall- resp. pesticidpåverkan	11
ERKÄNNANDE	12
TACK	12
REFERENSER	13
APPENDIX 1	14

INLEDNING

Kiselalgerna är som primärproducenter en viktig del av det akvatiska ekosystemet och används därför bland annat som biomonitörer för att bestämma den ekologiska statusen av vattendrag och sjöar. Användandet som biomonitörer grundar sig på att alla kiselalgstaxa har ett optimum för till exempel pH och ett toleransspektrum de klarar av att leva i. Detta ger god information om de miljöförhållanden de lever i (Naturvårdsverket 2009). Genom analys av kiselalgssamhället kan man få en bild av de kemiska och biologiska förhållandena i ett vattendrag under en längre tidsperiod, men algerna reagerar också så snabbt att ett punktutsläpp kan spåras efter någon dag (Naturvårdsverket 2009). Den Svenska Standardbedömningen av vattenkvalité med kiselalger som kvalitetsfaktor grundar sig på de två indexen IPS (Indice de Polluo-sensibilité Spécifique, Cemagref 1982) och ACID (Acidity Index for Diatoms, Andrén & Jarlman 2007). För en säkrare klassificering skall också stödparametrarna TDI (Trophic Diatom Index, Kelly 1998) och % PT (Pollution Tolerant valves, Kelly 1998) användas (Naturvårdsverket 2007). IPS visar påverkan av näringsämnen och lätt nedbrytbar organisk förorening, ACID visar på surheten, % PT indikerar organisk förorening och TDI indikerar eutrofiering som klassificeras utifrån tolerans mot näringsrikedom (påväxt i rinnande vatten- kiselalgsanalys, Naturvårdsverket 2009). Bedömningarna med IPS (vattenkvalitéklass) och ACID (surhet för vattendraget) fungerar i hela Sverige och dess referensvärden eller klassgränser är samma i hela landet. IPS är utvecklad för indikation av övergödning och organiska föroreningar, och visar i nuläget troligen inte metallpåverkan eller annan toxisk påverkan som till exempel pesticider (Kahlert et al. 2008).

Kiselalgen är en encellig alg omsluten av två skal bestående av kisel. Flertalet studier (Hellawell 1978; Falasco et al. 2009) påvisar tungmetallers (Koppar (Cu), Zink (Zn), Kadmium (Cd), Bly (Pb) och Kvicksilver (Hg)) biologiska påverkan hos kiselalger. Påverkan kan generellt observeras i fyra steg: förändringar i samhällskomposition (känslig taxa försvinner), reduktion av biomassa, effekter på samhällsstrukturen och förekomst av teratologiska (missbildade) former (Falasco et al. 2009). Det senaste gäller också för pesticider (Falasco et al., 2009; Debenest et al., 2006). Efter granskning av 222 artiklar publicerade från 1890 till 2008 fastställer Falasco et al., (2009) att teratologiska förändringar hos *Achnanthes minutissimum*, *Diatoma vulgare*, *Fragilaria gracilis*, *F. rumpensis*, *F. crotonensis* och *F. tenera* är goda indikatorer på tungmetallpåverkan, samt att *A. pyrenacium* påvisar förekomst av pesticider. Både tungmetaller, pesticider och farliga ämnen så som rengöringsmedlet Nonylfenol påverkar skalbildningen. I följande text förenklas Nonylfenol till ordet 'pesticider'. Pesticider definieras egentligen strikt som "Kemiska bekämpningsmedel, vanligen avses växtskyddsmedel såsom herbicider, fungicider och insekticider" (NE, 2009). Pesticider kan påverka uppbyggnaden av aminosyror, vilket i sin tur kan bidra till en anormal skalutveckling hos kiselalger i förorenat vatten (Falasco et al., 2009).

De teratologiska förändringarna kan till exempel ses i skalets yttre form eller i antal, form och mönster hos strier, raphe och aerolae samt förändring i storlek (Falasco et al. 2009). Ibland finns svårigheter i att bedöma huruvida den morfologiska variationen (utseende och struktur) av en viss taxa är teratologisk på grund av stress eller om det är en genetisk variation (Håkansson & Chepurnov, 1999). Så länge en abnormal form inte fortsätter inom nästa generation klassas den som teratologisk (Falasco et al. 2009). Förekomsten av morfologiskt förvrängda skal i Storbritanniens och Sveriges referensvatten överstiger sällan 1 % (Kelly, 2007). I Storbritanniens vatten föreslås en lägsta gräns på 10 % morfologisk förvrängning av skal hos *Fragilaria spp.* som en indikation på signifikant metallpåverkan i en biosfär (Kelly, 2007). På grund av dessa förekomster av teratologiska former skulle kiselalger kunna användas som indikatorer för metall- eller annan toxisk påverkan på ett vattendrag. Till exempel Cattaneo et al. (2007) visar hur samhällskompositionen förändras under metallpåverkan och återhämtning i tungt belastade ekosystem. Både Cattaneo et al. (2007), Falasco et al. (2009) och Kelly (2007) visar att

Achnanthebidium minutissimum är en taxa som utvecklat metalltolerans och därför är vanligt förekommande i metallrika vatten samtidigt som den för IPS indikerar opåverkade, näringsfattiga vatten (Kahlert & Gottschalk 2008). Falasco et. al (2009) sammanställer över 100 taxa som visar på teratologiska former orsakade av tungmetaller eller pesticider. Det finns alltså redan mycket forskning i ämnet ute i Europa men hittills finns inget index som bygger på denna kunskap (M. Kahlert, muntlig kommentar).

Vid studier av kiselalgsprover från Dalarna år 2005 (Forsån W1, Garpenbergsån W2, Rullshyttbäcken W3) och år 2007 (Lilla Dicka 314, Persbobäcken 316, Nygårdsbäcken 318) från vatten med förhöjda halter av tungmetaller fann Kahlert & Gottschalk (2008) tre faktorer typiska för metallpåverkan; låg diversitet, få speciella kiselalgstaxor och teratogena former. Trots detta klassade IPS vattendragen som ”god” eller ”hög” (Kahlert & Gottschalk 2008). Även om en samhällskomposition med de metalltoleranta *A. minutissimum* också ha förekomst av teratologiska former indikerar fortfarande IPS alltså att vattnet är opåverkat. I Sverige har förekomsten av teratologiska former hittills inte tagits i beaktande när den ekologiska statusen av ett vattendrag klassas med hjälp av kiselalger.

Dalarnaprojektet visar tydligt att ett verktyg utöver det nuvarande bedömningsgrundskiselalgsindexet behövs som indikerar hög metallbelastning. Samma problem borde även uppstå vid en hög belastning med pesticider i vattendrag. I det här arbetet ställdes tre hypoteser för att börja sökandet efter ett nytt redskap för att indikera metall- eller pesticidpåverkade vattendrag. Finns det överhuvudtaget en förhöjd andel missbildningar i svenska metall-/pesticidpåverkade vatten jämfört med de svenska referensvattnen? Kan i sådant fall en relativ andel av 10 % missbildningar hos släktet *Fragilaria* vara en indikation på signifikant metallpåverkan också i Sverige? Finns det en skillnad mellan teratogena former för metall- respektive pesticidpåverkan och skulle denna skillnad i så fall kunna utnyttjas för att skilja mellan metall- och pesticidpåverkan?

METOD

För att studera om det finns en förhöjd andel missbildningar i svenska metall- och/eller pesticidpåverkade vatten jämfördes sex metallpåverkade prover från studier av Kahlert & Gottschalk (2008) och åtta pesticidpåverkade prover som ingår i studier av Goedkoop et al (2008) med de 49 referensvärden som utgör svenska trendvattendrag (2008). De åtta proverna ur Goedkoop et. al (2008) ingår i Naturvårdsverkets miljöövervakningsprogram för jordbruksmark (så kallade typområden jordbruksmark, intensivområden), och övervakas med hänseende på närsaltsförluster och bekämpningsmedel.

1.1 Lokalbесkrivningar och bakgrundsdata

Lokalerna i studien av Goedkoop et al. (2008) ligger i södra och mellersta Sverige. Proverna i studien av (Kahlert & Gottschalk 2008) kommer från lokaler i sydöstra Dalarna. **Tabell 1.** visar avrinningsområdenas storlek.

Tabell 1. Lokalernas avrinningsområden (km²). Metallpåverkade lokalerna (Kahlert & Gottschalk, 2008), Pesticidpåverkade lokalerna (Goedkoop et al, 2008).

Metallpåverkan	ARO (km ²)	Pesticidpåverkan	ARO (km ²)
314 Lilla Dicka	125.9	E21 Östergötland	17.4
316 Persbobäcken	50.5	I28 Gotland	5.4
318 Nygårdsbäcken	5.4	C6 Uppsala	32.4
W1 Forsån Dicka kvarn	125.9	O18 Västergötland	8.2
W2 Garpenbergsån	54.5	M42 Skåne	10.6
W3 Rullshyttebäcken	5.3	F26 Jönköping	135
		M36 Skåne	9.0

De metallpåverkade proverna (Kahlert & Gottschalk 2008) användes också i undersökningen om huruvida Kellys (2007) rekommendationer för 10 % missbildningar hos släktet *Fragilaria* i Storbritannien också kan vara en indikation på signifikant metallpåverkan i svenska vatten.

För att jämföra teratogena former orsakade av metallpåverkan och de orsakade av pesticidpåverkan studerades tre metallpåverkade prover från år 2007 (314, 316, 318) (Kahlert & Gottschalk 2008) och tre pesticidpåverkade prover (E21, I28, C6) (Goedkoop et al 2008). För att kunna klassificera specifika missbildningar valdes åtta kategorier med stöd från de punkter Falasco et al. (2009) påvisar som teratologiska former: Problem vid delning (Figur 4, 1), Vridna eller helt böjda former (Figur 4, 2a), Helt fel form (Figur 4, 2b), Indrag (Figur 4, 2c), Utbuktning (Figur 4, 2d), Asymmetri (Figur 4, 2e), Strior (Figur 4, 3) samt Mönster insida (Figur 4, 4). Varje skal klassades en gång enligt den värsta deformationen utifrån ett reproduktionsperspektiv.

1.2 Provtagning och analys av kiselalger

Provtagningarna för samtliga kiselalgsprover utfördes av utbildad personal enligt standardmetoden ”Påväxt i rinnande vatten – kiselalgsanalys” (Naturvårdsverket 2009) i vattendrag med sten som substrat.

Proverna tas med fördel under sensommaren/hösten då påväxtsamhället är maximalt utvecklat innan nedbrytning av vegetationen börjar. Provtagningsstrecken är ca 10 meter lång och representativ för lokalen beträffande bottensubstrat, vegetation, vattendjup och vattenhastighet. Stenarna för provtagning skall ha befunnit sig under vatten under minst fyra veckor innan provtagningen. Stenar i storleken 5-10cm i diameter som inte varit täckta av andra stenar används för provtagning. Löst sedimenterat material sköljs försiktigt av från stenarna och den övre ytan borstas sedan av med tandborste och materialet sköljs ned i plastvanna för att sedan tillsammans med å/bäckvatten förvaras i burk. (Naturvårdsverket 2009)

Alla de sex metallpåverkade vattendragen har höga kvävehalter från gruvnäringen i Garpenberg (Boliden AB) där zink (Zn), silver (Ag), bly (Pb), koppar (Cu) och guld (Au) bryts och utvinns (Kahlert & Gottschalk 2008) Uppmätta värden kan ses i Tabell 2. Analyser (rengöring av kiselalgskalen och preparering av objektglas) och klassning (taxa) av kiselalgerna har utförts av personer godkända i den Nordiska Kiselalgsinterkalibreringen 2007 (Kahlert et al. 2008). Som ett komplement till den taxonomiska analysen av de pesticidpåverkade proverna räknades också andelen kiselalgskal med teratologiska förändringar (Goedkoop et al. 2008).

Tabell 2. Data över vattenkemi i prover från Dalarna. Årsmedel för 12 månader innan provtagning eller enstaka mätningar. (Kahert et al. 2008) Siffrorna inom parentes motsvarar metallklass som överstiger klass 1-2 (enligt bedömningsgrunderna 1999). VISS VattenInformationsSystem Sverige. (<http://www.viss.lst.se>)

	Cu (µg/l)	Zn (µg/l)	Cd (µg/l)	Pb (µg/l)	
314 Lilla Dicka	1.9	39.6 (3)	0.02	0.33	
316 Persbobäcken	13 (4)	373 (5)	0.32 (4)	0.21	
318 Nygårdsbäcken	5.2 (3)	91.9 (4)	0.29 (3)	16 (5)	
W1 Forsån Lilla Dicka	6.0 (3)	141 (4)	0.16 (3)	0.94	Höga halter Hg
W2 Garpenbergsån	Extremt höga halter enl. VISS				
W3 Rullshyttbäcken	5.9 (3)	610 (5)	1.5 (5)	24 (5)	Höga halter Hg

Tabell 3. visar påfunna pesticider i proverna. Två av ämnena, Metazaklor och Isoproturon är herbicider som finns med på kemikalieinspektionens lista "Riktvärden för ytvatten" (Kemikalieinspektionen 2009). Metazaklor är en vanliga aktiv ingrediens i många växtskyddsmedel för ogräskontroll (FAO 1999). Isoproturon är ett lättflyktigt ämne som brukas för samma ändamål som ovan. Preparat innehållande esfenvalerat används för bekämpning av skadeinsekter. Ämnet beskrivs i Kemikalieinspektionens miljöaspekter som mycket giftigt för fisk och andra vattenlevande organismer (Kemikalieinspektionen 2009). Riktvärdet anger den högsta halt där ingen negativ effekt av ett givet ämne förväntas (Kemikalieinspektionen 2009). Nonylfenol har bland annat använts i rengöringsmedel, vid metallbearbetning och tillverkning av pappersmassa (Naturvårdsverket 2009) och är en nedbrytningsprodukt som för vattenlevande organismer är mycket giftig och kan orsaka skadliga långtidseffekter i vattenmiljön (Kemikalieinspektionen 2009). På grund av dess höga toxicitet har den klassats som prioriterat ämne enligt EU:s ramdirektiv för vatten (Naturvårdsverket 2008).

Tabell 3. Toxiska ämnen funna i de pesticidpåverkade vattendragen. Mängden (µg/l) visar högsta respektive lägsta registrerade värden under en mätperiod med flera provtagningar (Adielsson et. al, 2007). Uppgifter om Nonylfenol är hämtade ur VISS. VattenInformationsSystem Sverige (www.viss.lst.se). Samtliga riktvärden är hämtade från Kemikalieinspektionen (2009).

	Ämne	(µg/l)	Riktvärde	
E21 Östergötland	Metazaklor	Spår - 10 µg/l	0.2 µg/l	
I28 Gotland	Nonylfenol	> gränsväde	Prioriterat ämne enligt EU:s ramdirektiv för vattenpolitik	
C6 Uppsala	Inga mätningar registrerade på SLU:s hemsida för miljöövervakning. Enligt VISS har inga halter av prioriterade ämnen påträffats, men vattenförekomsten ligger inom riskområdet för föroreningar från miljöfarliga verksamheter.			
O18 Västergötland	Metazaklor	Spår	0.2 µg/l	
	Isoproturon	Spår-0.4	0.3 µg/l	
M42 Skåne	Esfenvalerat	Spår	0.0001µg/l	
F26 Jönköping			Data saknas	
M36 Skåne			Data saknas	

1.3 Räkning och fotografering

I varje prov med metallpåverkan räknades totalt 400 skal. Varje kiselalg räknades som två skal (en cell = 2 skal). Metoden är baserad på rekommenderade standardmetoder ur ”Påväxt i rinnande vatten – kiselalgsanalys” (Naturvårdsverket 2007). Den taxonomiska analysen av påverkade kiselalger delades in i tre klasser: *Fragilaria spp.*, *Achnanthes spp.* och *övriga*. Andelen kiselalgsskal med teratologiska förändringar som noterades under utförandet räknades, fotograferades och taxa bestämdes. Därefter överblickades hela proverna från år 2007 och alla deformerade skal fotograferades och taxabestämde. De pesticidpåkade proverna E21, I28 och C6 (Goedkoop et. al 2008) överblickades och alla deformerade skal fotograferades och taxabestämde. Räkningen, fotograferingen och den taxonomiska analysen utfördes av Lina Jan-Ers.

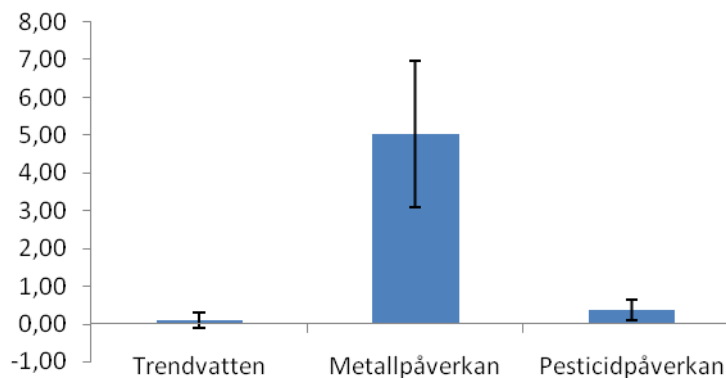
1.4 Statistisk analys

Statistiska skillnader för andelen missbildningar och indikation på signifikant metallpåverkan har beräknats med t-test i Microsoft Excel ® 2007. Även lådogram och histogram har gjorts med Microsoft Excel ® 2007.

RESULTAT

2.1 Andel missbildningar under metall- och pesticidpåverkan

Medelvärdet för den procentuella andelen missbildade kiselalger var i metallpåverkade vatten 5,02 %, pesticidpåverkade vatten 0,36 % och referensvattnet 0,1 %. Ett tvåsidigt t-testet visar att det finns en signifikant större andel missbildade kiselalger i både metall och pesticidpåverkade vatten ($p < 0,002$) resp. ($p = 0,03$) jämfört med de svenska trendvattendragen, vilket verifierar den första hypotesen om att det finns en förhöjd andel missbildningar i toxiskt påverkade vatten även i Sverige (Figur 1, Appendix 1).



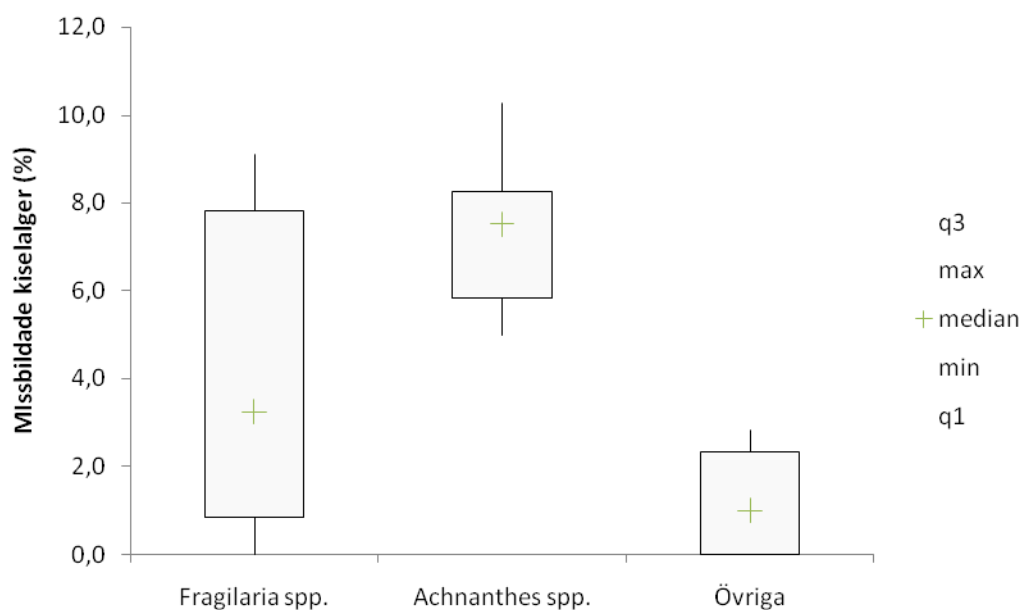
Figur 1. Procent missbildningar av kiselalger i metall-, pesticid- och referensvattendrag. Medelvärde \pm 1 standardavvikelse. Antal prover (n), Trendvatten (49), metallpåverkan (6), pesticidpåverkan (8).

2.2 Släktet *Fragilaria* som indikator på signifikant metallpåverkan

Det visade sig att det fanns skillnad i metallpåverkan hos släktena *Achnanthes spp.*, *Fragilaria spp.* och *övriga* (Figur 2). Andelen missbildade *Fragilaria* var dock inte signifikant högre än någon av de två andra grupperna ($p > 0,05$). Hypotesen förkastas då andel missbildningar också alltid var under de 10 % som hittades i metallpåverkade vattendrag i Storbritannien (Tabell 4.). Det är inte möjligt att helt enkelt använda sig av ett tröskelvärde av 10 % missbildade skal av släktet *Fragilaria* för att indikera en metallpåverkan i Svenska vattendrag.

Tabell 4. Andelen räknade skal för respektive släkte av det totala antalet räknade skal (%) och totala andelen missbildningar i respektive släkte (%) för metallpåverkade prover i Dalarna år 2005 (300-serien) och 2007 (W-serien) indelat i de tre släktena *Fragilaria spp.*, *Achnanthes spp.* och Övriga. Översta raden för varje prov visar % - andelen räknade kiselalger för varje släkte. Nedre raden visar procent missbildade skal beräknat på det totala (%) antalet missbildningar för varje prov. Medelvärde för missbildningar inom respektive släkte.

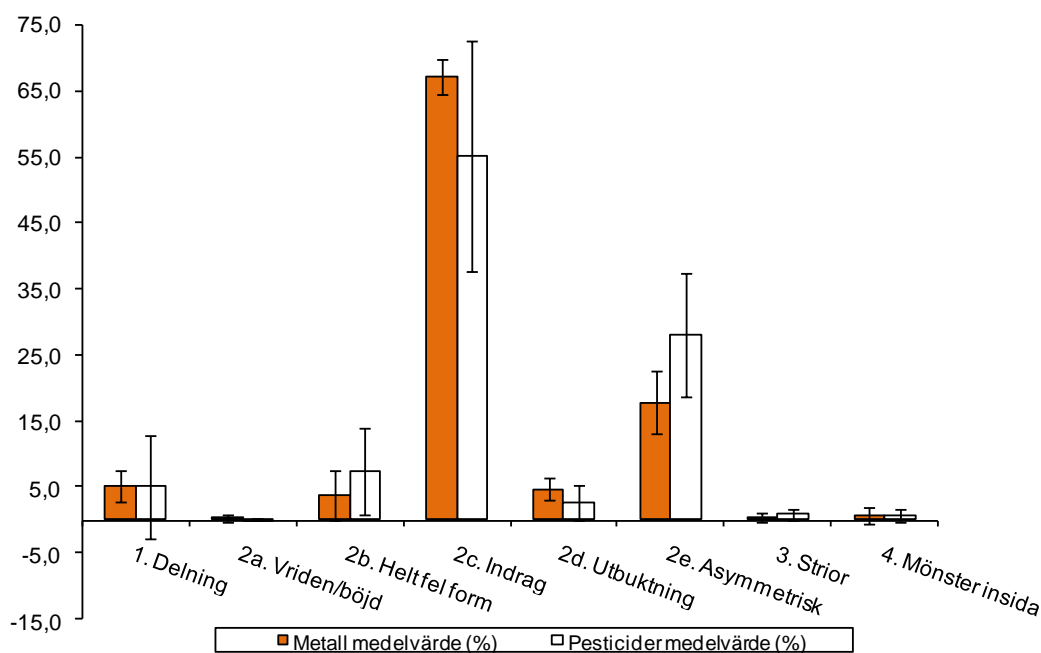
	% tot. missb.		Släkte		
			% <i>Fragilaria spp.</i>	% <i>Achnanthes spp.</i>	% Övriga
314 Lilla Dicka	4.5	Andel av totala:	4.5	66	29
		Missb/taxa:	9.1	5.0	2.8
316 Persbobäcken	4.3		9.6	71	20
			0.0	5.4	2.4
318 Nygårdsbäcken	4.0		37	50	15
			1.4	87	0.0
W1 Forsån Lilla Dicka	8.3		10	68	22
			8.7	10	2.0
W2 Garpenbergsån	6.2		19	65	17
			5.1	8.0	0.0
W3 Rullshyttebäcken	2.8		71	28	0.5
			0.7	8.3	0.0
Medelvärde (%)			4.2	7.3	1.2



Figur 2. Lådagram över procent missbildade kiselalger hos släktena *Fragilaria spp.*, *Achnanthes spp.* och Övriga. q3 = övre kvartil (75 %) och q1 = undre kvartil (25 %).

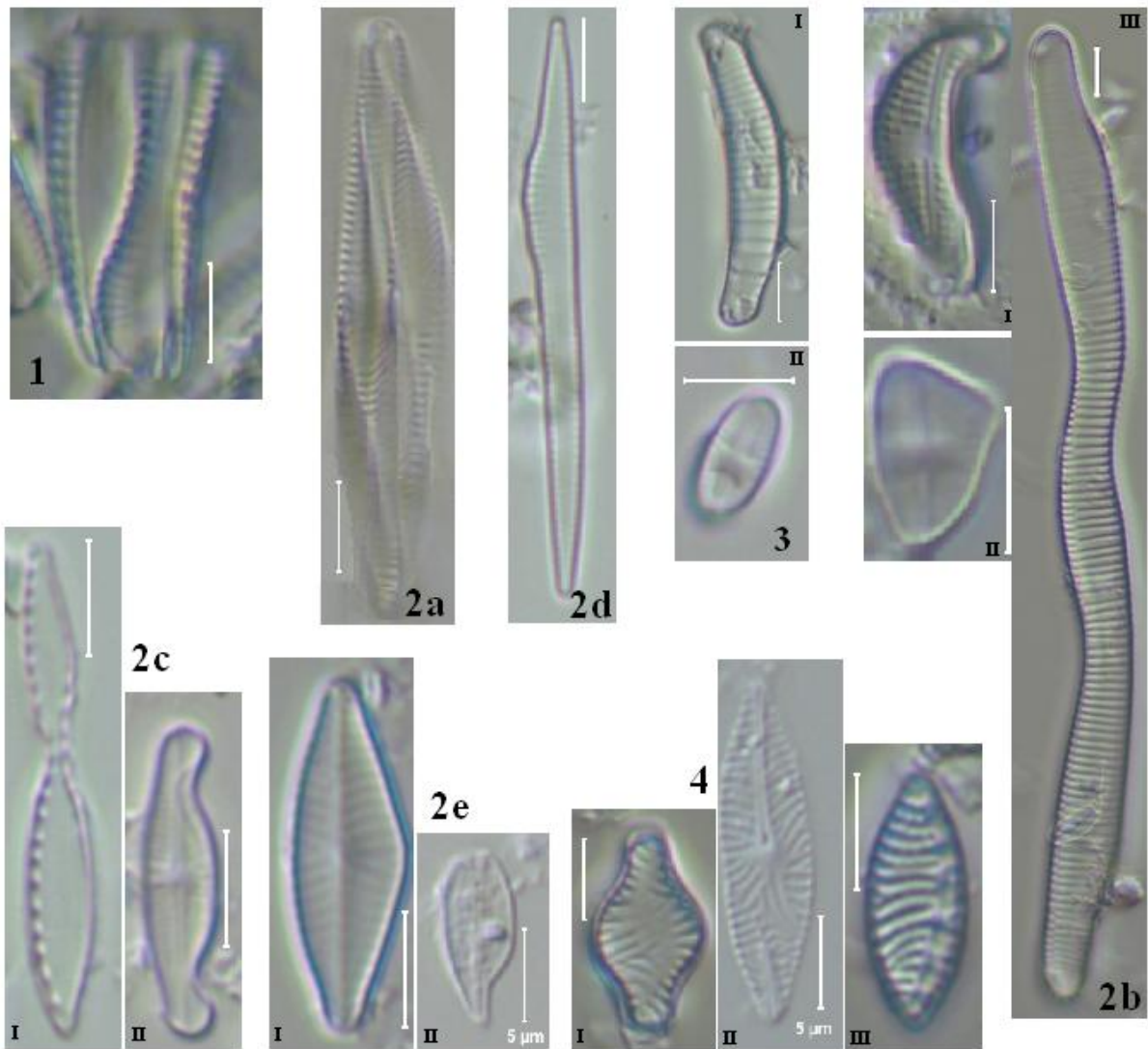
2.3 Skillnad i teratogena former under metall- resp. pesticidpåverkan

Kategoriseringen av kiselalgeras teratologiska former visar att över hälften av missbildningarna är 'indrag'. Detta gäller för både metall- och pesticidpåverkan där 67 respektive 61 % klassades i kategorin 'indrag' (APPENDIX 1). Näst största kategorin för båda grupperna var asymmetriska former och lägst antal återfanns i gruppen vriden/böjd. Resultaten tyder på att det troligen inte finns en skillnad mellan teratogena former för metall- eller pesticidpåverkan, vilket då inte verifierar hypotesen. Medelvärde och standardavvikelse för den relativa andelen skal som var teratogen hos de metall- respektive pesticidpåverkade proverna inom varje kategori visar att det inte finns någon statistisk skillnad i morfologiska missbildningarna mellan metallpåverkade och pesticidpåverkade vatten (Figur 3.).



Figur 3. Procent av missbildningar hos kiselalger i de åtta kategorierna som med stöd av Falasco et al. (2009) använts för att påvisa teratologiska former i metall- (300-serien) och pesticidpåverkade (E21, I28, C6) vattendrag (medelvärde \pm 1 standardavvikelse).

Så gott som alla skal som borde ha det hade en rak och fin raphe (rak öppning i kiselalgsskal som möjliggör kiselalgens rörlighet). Ett enstaka par kiselalgsskal påträffades med missbildat raphesystem och klassades då i kategorin "Form inuti". Det kiselalgsskal där centrala området var felplacerat klassades till gruppen "Strior". Inom varje klass finns stor variation av given missbildning därför bör klasserna ses som övergående. Ingen dokumentering har gjorts över om det varit vanligare med ett eller flera indrag på samma skal. Figur 4 visar exempel ur varje kategori.



Figur 4. 1. Delning (*Rhoicosphenia*, C6). 2a. Vriden/böjd (*Navicula*, E21.) 2b. Helt fel form (I. *Amphora*, I28, II. *Achnanthes minutissima*, E21. III. *Eunotia*, 314). 2c. Indrag (I. *Nitzschia*, 316. II. *Achnanthes*, 314). 2d. Bula (*Fragilaria*, 318). 2e. Asymmetrisk (I. *Navicula*, E21. II. *Achnanthes*, E21). 3. Strior (I. *Eunotia*, 316. II. *Navicula*, C6). 4. Mönster insida (I. *Fragilaria*, 318. II. *Navicula*, E21. III. *Nitzschia*, C6). Foto: Lina Jan-Ers.

DISKUSSION

3.1 Andel missbildningar under metall- och pesticidpåverkan

Denna studie visade en signifikant förhöjd andel missbildningar av kiselalgsskal i svenska vattendrag påverkade av metall- och pesticidföreningar jämfört med opåverkade vattendrag, vilket verifierar den första hypotesen. Det var dock tydligt att andelen missbildade kiselalgsskal var lägre i de pesticidpåverkade vattendragen än i de metallpåverkade vattendragen. Medelvärdet för den procentuella andelen missbildade kiselalger i metallpåverkade vatten 5,02 % är mer än 13 gånger högre än andelen missbildningar som påträffades i de pesticidpåverkade vatten (0,36 %) och hela 50 gånger högre än jämfört med referensvattnet (0,1 %). En anledning till detta kan vara att metallhalter och pesticider klassas på två olika sätt i vattendraget, vilket gör det svårt att jämföra de två med varandra. Metallhalterna i dessa vattenprover har klassats enligt de gamla bedömningsgrunderna i klasserna 1-5 (Bedömningsgrunderna 1999) medan bekämpningsmedel/prioriterade ämnen klassats som 'överskrider gränsvärdet'. Kiselalger i vattendrag med metallklass 3-5 lever med andra ord i väldigt påverkade och förorenade vatten medan pesticidpåverkade provet C6 inte ens överskrider gränsvärdet för Nonylfenol. Resultatet betyder därför inte att pesticider har mindre påverkan på kiselalger än tungmetaller. I denna studie har påverkan av pesticider troligen varit i regel lägre än påverkan av metaller och därför haft en mindre skadlig koncentration än halten tungmetaller. Det är alltså fullt möjligt att andelen missbildningar i pesticidpåverkade vatten skulle öka med ökad halt av pesticider.

Beräkningarna av missbildade skal hos trendvattendragen utfördes inte av samma person som beräknade de metall- och pesticidpåverkade vattendragen vilket gör att det kan finnas ett visst 'background noise' även om beräkningarna är utförda enligt standardmetoder ur "påväxt i rinnande vatten –kiselalgsanalys" (Naturvårdsverket 2007).

3.2 Släktet *Fragilaria* som indikator på signifikant metallpåverkan

I de sex undersökta svenska vattendragen med förhöjd metallhalt hade släktet *Fragilaria* en missbildningsandel av i genomsnitt 4,2 %, vilket förkastar vår hypotes om att man kan använda en gräns av 10 % för signifikant metallpåverkan i Sverige.

Frågan är varför andelen missbildade skal av *Fragilaria* är till synes lägre i Svenska vattendrag än i Storbritanniens vattendrag. En förklaring kunde vara att Storbritanniens vattendrag generellt har en högre andel missbildade kiselalger, t.ex. pga. högre bakgrundshalter av metaller. Detta kan dock troligtvis uteslutas, eftersom både de brittiska och de svenska referensvattnen sällan ha mer än 1 % missbildade skal i det totala kiselalgssamhället (Kelly 2007; Kahlert unpublished data). En annan förklaring skulle kunna vara att de undersökta vatten hade en högre metallhalt i Storbritannien än i Sverige. Även detta kan dock troligtvis uteslutas, eftersom trots att två vattendrag i Storbritanniens undersökning hade mer än 1000 µg/l Zn, så låg dock övriga vattendrag i samma spektrum från ca 30 till ca 1000 µg/l Zn både i Storbritannien och i Sverige (Tabell 1). Här faller även en tredje förklaring, nämligen att de undersökta svenska vattendrag bara var i mindre omfattning metallpåverkade. Naturvårdsverket (2007:4) uppskattar att bakgrundshalten för metaller i större vattendrag i Sverige ligger runt 1 µg/l för Cu, 3 µg/l för Zn, 0,003 µg/l för Cd och 0,05 µg/l för Pb. Alla dessa värden är mycket högre i de metallpåverkade vattendragen (Tabell 1).

Möjligtvis kan en förklaring för de relativt låga missbildningskvoter vara att Kelly (2007) har baserat sina rekommendationer för 10 % missbildningar på andra arter av *Fragilaria* än de som

hittades i Dalarna-proverna. I denna undersökning har jag titta på släktet *Fragilaria* som helhet. Därför kanske en 10 % nivå av missbildade skal hos en art av *fragilaria* inte kan ge rättvis jämförelse med andelen missbildade skal hos hela släktet. Proverna i Storbritannien bestod av arterna *Fragilaria capucina* var. *capucina* och *F. cap. var. rumpens*, medan proverna från Dalarna innehöll mest *Fragilaria capucina* var. *gracilis*. Möjligtvis är andelen missbildningar under metallpåverkan högre i de två första arterna än i den tredje arten, vilket kunde förklara de relativt låga andelarna missbildningar i Dalarna. i den här studien ser det ut som om procentandelen missbildningar kan vara lägre vid högre Zn halter (Tabell 2, Tabell 4). Kanske kan det vara så att det också inom *fragilaria* finns metalltoleranta arter som tar över vid ökad metallhalt och därför ser det ut som om andelen missbildningar kan vara lägre med ökad koncentration Zn tills de når en nivå där missbildningarna åter stiger. I nästa steg borde arterna i Dalarnas vatten närmare undersökas för att kontrollera om det finns skillnader med stigande metallhalt.

De arter *Fragilaria* som Kelly (2007) studerat är också indikatorer för höga fosforhalter, dessa vatten är eutrofa. Vattendragen för våra prover är oligotrofa vilket gör att det finns en annan artsammansättning av *Fragilaria* som kanske inte passar in i mönstret lika bra och därför visar lägre andel missbildningar än de som Kelly (2007) visar. Kelly kan inte se någon anledning till varför gränsen för missbildade *Fragilaria* skulle vara annorlunda för Sverige jämfört med Storbritannien men det bör belysas att också omgivningen kan ha en stor inverkan på andelen missbildningar (Personlig kommentar).

Trots att medelvärdet för % -andelen missbildade *Fragilaria* är under 10 % är de dock högre än i referensvattendrag och även högre än för andra släkten än *Achnanthes*, vilket tyder på att även i Sverige kan *Fragilaria* användas som indikator för metallpåverkan, fast inte med en tröskel av 10 %. Det bör hållas i åtanke att denna undersökning är baserad på sex prover, vara ett av proverna saknar en procentuell andel missbildningar helt, medan den brittiska undersökningen baseras på 10 vattendrag. Det skulle vara viktigt att provta fler metallpåverkade vattendrag i Sverige för att undersöka hur hög andelen missbildade kiselalger är i andra vatten.

3.3 Skillnad i teratogena former under metall- resp. pesticidpåverkan

Resultaten tyder på att det inte finns någon större skillnad varken i teratologisk form eller variation inom respektive klass som åtskiljer metallpåverkade och pesticidpåverkade skal, vilket förkastar vår tredje hypotes. En anledning till detta kan vara att både tungmetaller och pesticider påverkar skalbildningen. Pesticider kan påverka uppbyggnaden av aminosyror, vilket i sin tur kan bidra till en abnormal skalutveckling hos kiselalger i förorenat vatten (Falasco et. al. 2009), eftersom uppbyggnaden av kiselskal styrs av proteiner vars byggstenar är aminosyror. Vad gäller metaller så har en låg koncentration av tungmetallerna koppar och zink en viktig roll hos kiselalgerna. De utnyttjas då av kiselalgerna för uppbyggnad av membran och cellväggar, skaltillväxt samt fotosyntes och respiration. Cd, Pb och Hg däremot kan vid redan låga koncentrationer skada den metaboliska processen (Falasco et. al. 2009). Forskning visar att Cd kan ersätta behovet av Zn hos kiselalger (Price & Morel 1990) vilket kan påverka skalbildningen. Kanske skulle ytterligare studier av dessa missbildningar leda till att missbildningar av dessa slag kan användas som indikering på att det finns någon form av toxisk påverkan i vattnet. Möjligtvis hade en mera detaljerat analys av missbildningar visat på någon skillnad. Missbildningarna var inte enkla att klassa. Eftersom varje skal räknats en gång har de klassificerats utifrån ett ”worst case scenario” sett utifrån dess vegetativa reproduktionskapacitet, vilket har rangordnats i tabell 4. Om ett skal både haft stora håligheter i sidorna (indrag) och oregelbundna strior har skalet klassats som ”Indrag”. Skulle däremot håligheten varit knappt märkbar eller mycket liten har skalet istället klassats som ”strior”.

ERKÄNNANDE

Provtagningarna för kiselalgsprover från Dalarna år 2005 (Forsån W1, Garpenbergsån W2, Rullshyttebäcken W3) utfördes av Ewa Willén, Isabel Quintana, Eva Herlitz och Ann-Marie Widerholm, Institutionen för Vatten & Miljö, SLU mellan 13-15 september. År 2007 (Lilla Dicka 314, Persbobäcken 316, Nygårdsbäcken 318) utfördes provtagningen av Hans Olofsson och Ann-Louise Haglund, länsstyrelsen (lst) i Dalarna mellan 21 september och 1 oktober. Samtliga provtagningar utfördes enligt rekommendationer ur ”påväxt i rinnande vatten – kiselalgsanalys (Naturvårdsverket 2009). Analyser (rengöring av kiselalgsskalen, preparering av objektglas) och klassning (taxa) av kiselalgerna har utförts av Steffi Gottschalk och Maria Kahlert (Vatten & Miljö, SLU).

Provtagningarna av de åtta kiselalgsproverna från jordbrukspåverkade vattendrag utfördes av Willem Goedkoop, Institutionen för Vatten & Miljö, SLU, under oktober 2007 enligt samma metod som ovan. Analys och klassning av kiselalgerna har utförts av Maria Kahlert. Som ett komplement till den taxonomiska analysen räknades också andelen kiselalgsskal med teratologiska förändringar (Goedkoop et al. 2008).

TACK

Jag vill ge mitt varmaste tack till min huvudhandledare Maria Kahlert och biträdande handledare Steffi Gottschalk, Institutionen för Vatten och Miljö, SLU, för ert otroliga stöd, alla goda råd jag fått och också för all kritik och idéer som ni bollat med mig under uppsatsens gång. Det här arbetet hade aldrig blivit till utan er! Jag vill också tacka Eva Herlitz, Isabel Quintana, Ann-Marie Wiederholm, Institutionen för Vatten och Miljö, SLU, för hjälpen jag fått under min tid vid mikroskopet då Maria och Steffi inte varit närvarande.

REFERENSER

- Adielsson, S., Törnquist, M. & Kreuger, J. (2007). Bekämpningsmedel (växtskyddsmedel) i vatten och sediment från typområden och åar i nederbörd under 2006. SLU, *Avdelningen för vattenvårdslära*. ISSN 0347-9307
- Andrén, C. & Jarlman, A. (2007). Benthic diatoms as indicators of acidity in streams. (submitted)
- Cattaneo, A., Couillard, Y. & Wunsam, S. (2008). Sedimentary diatoms along a temporal and spatial gradient of metal contamination. *Journal of Paleolimnology*, 40, 115-127.
- Cemagref (1982). Etudes des methods biologiques d'appréciation quantitative de la qualité des eaux., Rapport Q.E Lyon-A.F.Bassion Rhone-Méditerranée-Corse: 218 p.
- Debenest, T., Silvestre, M., Coste, B., Delmas, F. & Pinelli, E. (2008). Herbicide effects on freshwater benthic diatoms: Induction of nucleus alterations and silica cell wall abnormalities.
- Falasco, E., Bona, F., Badion, G., Hoffmann, L. & Ector, L. (2009). Diatom teratological forms and environmental alterations: a review. *Hydrobiologia*, 623, 1-35.
- FAO (1999). FAO Specifications and evaluations for plant protection products, Metazachlor. 411/TC 1999.
- Goedkoop, W. & Kahlert, M. (2008). Biologisk karaktärisering av bäckar i typområden jordbruksmark. Institutionen för miljöanalys, SLU.
- Kahlert, M. & Gottschalk, S.(2008). Kiselalger I vattendrag I Dalarnas län. *Institutionen för Vatten och Miljö, SLU*.
- Kelly, M.(2007). Diatoms of Britain and Ireland: Identifications notes. *Bowburn Consultancy*.
- Naturvårdsverket (2007). Kiselalger i vattendrag. In: Status, potential och kvalitetskrav för sjöar, vattendrag, kustvatten och vatten övergångszon. En handbok om hur kvalitetskrav i ytvattenförekomster kan bestämmas och följas upp. Naturvårdsverket, Handbok 2007:4, 1st Edition. Bilaga A: 45-50, ISSN 1650-2361.
- Naturvårdsverket (2008).Övervakning av miljöfarliga ämnen listade i Ramdirektivet för vatten. Rapport 5801.
- Naturvårdsverket (2009). Påväxt i rinnande vatten –kiselalgsanalys. Version 3:1, 2009-03-13.
- Kelly, M.G. (1998). Use of the trophic diatom index to monitor Eutrophication in rivers. *Water Research* 32: 236-242.
- Price, N. M. & Morel, F. M. M. 1990. Cadmium and cobalt substitution for zinc in a marine diatom. *Nature*, 344, 658-660.
- VISS, VattenInformationssystem Sverige, (2009-05-08).Vattenförekomst [REDACTED]
- VISS, VattenInformationssystem Sverige, (2009-05-08).Vattenförekomst [REDACTED]
- Kemikalieinspektionen (1997). Esfenvalerat.
<http://apps.kemi.se/bkmregoff/Bkmblad/Esfenval.pdf> 2009-06-01
- Kemikalieinspektionen (2009-04-29). Riktvärden för ytvatten.
<http://www.kemi.se/templates/Page.aspx?id=3294> 2009-05-20
- Kemikalieinspektionen (2009-05-24). Nonylfenol.
<http://www.kemi.se/templates/Page.aspx?id=5005> 2009-05-26
- Naturvårdsverket (2007-10-08). Miljöfarliga ämnen kartlagda. (Nonylfenol).
<http://www.naturvardsverket.se/sv/Tillstandet-i-miljon/Miljogifter/Organiska-miljogifter/Sa-sprids-miljogifter-i-miljon/Miljofarliga-amnen-kartlagda/> 2009-05-23
- NE, Nationalencyklopedin (2009) sökning: pesticider
<http://www.ne.se/sok/pesticider?type=NE> 2009-06-02
- SLU. (data saknas). Stationer för vattenkemi inom projekt.
[http://info1.ma.slu.se/ma/www_ma.acgi\\$Project?ID=Intro](http://info1.ma.slu.se/ma/www_ma.acgi$Project?ID=Intro) 2009-05-03
- VISS VattenInformationssystem Sverige. (2009). Garpenbergsån, Dalaälven.
<http://www.viss.lst.se/PublicWaterPage.aspx?waterEUID=SE668217-152297> 2009-05-26
-

APPENDIX 1

Sammanställning av procentuella andelen missbildningar per kategori för de metallpåverkade proverna (2007) respektive pesticidpåverkade proverna E21, I28 och C6. *Totalt* anger procentandelen missbildningar för varje kategori.

	Metallpåverkan				Pesticidpåverkan			
	314	316	318	<i>Totalt</i>	E21	I28	C6	<i>Totalt</i>
1. Delning	7.9	3.5	4.3	<i>6</i>	1.2	0.0	14	<i>3</i>
2a. Vriden/böjd	1.0	0.0	0.0	<i>0</i>	0.4	0.0	0.0	<i>0</i>
2b. Helt fel form	7.9	1.2	2.2	<i>4</i>	3.7	15	3.5	<i>6</i>
2c. Indrag	65	68	70	<i>67</i>	66	64	35	<i>61</i>
2d. Utbuktning	4.0	3.5	6.5	<i>4</i>	2.9	0.0	5.3	<i>2</i>
2e. Assymetrisk	15	23	15	<i>18</i>	25	21	39	<i>26</i>
3. Strior	0.0	1.2	0.0	<i>0</i>	0.8	0.0	1.8	<i>1</i>
4.Mönster insida	0.0	0.0	2.2	<i>0</i>	0.4	0.0	1.8	<i>0</i>
Totalt	100	100	100	<i>100</i>	100	100	100	<i>100</i>