

Veksteksperiment av makroalger med
kommersiell interesse; med hovedfokus på
Palmaria palmata.

Mithila Balasubramaniam



Masteroppgave ved institutt for biovitenskap
Universitetet I OSLO
15.08.2017

© Mithila Balasubramaniam

2017

Veksteksperiment av makroalger med kommersiell interesse; med hovedfokus på *Palmaria palmata*

Mithila Balasubramaniam

<http://www.duo.uio.no/>

Print: Reprosentralen, Universitetet i Oslo

Illustrasjoner er laget av meg, hvis ikke annet er oppgitt.

Veksteksperiment av makroalger med
kommersiell interesse; med hovedfokus på
Palmaria palmata.

Forord

Denne oppgaven ble gjennomført i perioden 2015-2017 ved institutt for biovitenskap på Universitetet i Oslo under veiledning av Stein Fredriksen.

Et stor takk til professor Stein Fredriksen som har vært min hovedveileder gjennom hele oppgaven. Tusen hjertelig takk for all tålmodighet og hjelp du har gitt meg under denne arbeidsperioden. Takk for all hjelp både på felt, i laboratoriet og oppmuntrende ord underveis.

Denne oppgaven hadde aldri blitt til uten deg!

Jeg vil også takke min medveileder Vivian Husa (Havforskningsinstituttet) som har vært til stor hjelp under feltarbeid og ph.D kandidat Barbro Haugland som har vært med på alle toktene.

En spesiell takk til Sissel Brubak som har hjulpet meg i laboratoriet og lært meg å lage forskjellige medium og Berit Kaasa som har kjørt alle analysene mine. En takk til Dolly som har lært meg statistikk og statistisk analyse.

Jeg vil også takke mine venner i rom 4317, dere har gjort studietiden min utrolig fin. Takk til Carina, Maria, Petter og Tor for masse motivasjon, artige stunder og gode minner under studieperioden - dere er uforglemmelige. Jeg vil også takke professor Karl Inne Ugland, professor i marine sjøpattedyr, for å ha gjort studietiden min til en opplevelse jeg aldri vil glemme. Takk for at du arrangerte fine kveldsforelesninger med aktuelle temaer og hvalekspedisjoner til Tromsø og Lofoten. Du har gitt meg masse inspirasjon og økt min interesse for marin biologi. Din lidenskap for faget er usedvanlig stor og ekstremt motiverende.

Til slutt vil jeg takke mine flotte foreldre, Kavitha og Bala, for all støtte dere har gitt meg under hele studieperioden. Dere har alltid vært der for meg og gitt meg håp og motivasjon og vært de beste støttespillerne. Jeg vil også takke kjæresten min, Marius for veldig god støtte i perioder hvor jeg virkelig har trengt det. Takk for all hjelpen du har gitt meg og for korrekturlesing . En takk til alle vennene mine som har gitt meg motivasjon og heiet på meg under denne perioden.

1 Innledning

1.1 Bakgrunn for oppgaven.

Verden er preget av en stor befolkningsvekst og det blir således et økende behov for nye og bærekraftige mat- og energiresurser. I 2050 vil vi trenge 70% mer mat enn det vi gjør i dag. Av den totale biomasseproduksjonen står havet for omtrent 50%, men dette utgjør kun 2% av energien i maten (SINTEF 2014). Global utnyttelse av makroalger øker for hvert år og av kultivert biomasse er makroalger blant de viktigste marine organismene (Barsanti og Paolo 2014). Makroalger blir brukt i flere land og anvendt som en direkte matkilde, ekstraksjon av phycocolloid og komponenter med antiviral, antibakteriell eller antitumor aktivitet og som biogjødsel (Pereira 2016). Landene med størst makroalgeproduksjon er Kina, Indonesia, Japan, Filippinene og Korea, hvor Kina står for hele 50,1 % av produksjonen (FAO 2013). *Laminaria japonica* Areschoug, *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar, *Phorphyra tenara* Kjellman og *Eucheumatoids* er de artene som blir mest kultivert i disse landene (McHugh, 2003)

Makroalger har blitt brukt som mat allerede 500 år før Kristus i Kina og kom til Europa rundt 1000 år senere (Pereira 2016). Kultivering av makroalger er fortsatt en relativ ny industri i Europa og det er kun små mengder av kommersielle arter som blir kultivert (Guiry og Blunden 1991). Norge har et stort potensiale for produksjon av makroalger langs den lange kystlinjen (> 100 000 km) med 475 makroalgearter.

1.2 Makroalger og IMTA

Ammonium er et ekskresjonsprodukt fra proteinmetabolismen hos fisk og kan være en betydelig nitrogenkilde for makroalger som vokser i nærheten av oppdrettsanlegg, spesielt på den tiden av året hvor nitratkonsentrasjonen i sjøen er lav (Sanderson et al. 2008). Kultivering av makroalger i nærheten av oppdrettsanlegg kan derfor være av interesse da makroalger kan utnytte utslippene

for biomasseproduksjonen – et slikt oppsett hvor alger og fisk vokser sammen blir kalt integrert multitrofisk akvakultur (IMTA) (Chopin et al., 2004). Generelt kan vi beregne at mellom 52-95% av nitrogenet, 85% av fosforet og 80-88% av karbonet som vi legger inn i et marint fiskeoppdrettsanlegg vil gå tapt til miljøet som utnyttet for (lekkasje) eller fra fiskens metabolisme, avføring og respirasjon (Wu 1995). Dette tilsvarer 95-102 kg nitrogen og 9,6 kg fosfor for hvert tonn fisk som blir produsert (Black 2001, Hall et al., 1992, Subandar et al., 1993).

De to viktigste elementene i algens metabolisme, fosfor og nitrogen, er de begrensende faktorene for algenes vekst i naturlige omgivelser. Siden fosfor generelt forekommer i så mye større konsentrasjoner enn nitrogen i marine miljøer, er det nitrogen og lys som blir ansett å være de to viktigste begrensende faktorene for algeproduksjon (Dring 1991, Lobban and Harrison 1996). Det er gjort flere studier om brukbarheten av forskjellige tarearter for IMTA, og spesielt for lakseoppdrett er det rapportert forbedret vekst på tare (Handå et al., 2013, Sanderson et al., 2012, Wang et al., 2014). Det er i imidlertid gjort få undersøkelser om brukbarheten av andre makroalger. Formålet med første del av min undersøkelse er å bidra til en bedre forståelse for hva slags effekt fiskeoppdrett har på andre makroalger.

1.3 Valg av makroalger

Ved valg av makroalger til dette studiet har jeg tatt hensyn til at artene som blir brukt finnes naturlig langs kystlinjen i Norge. Ingen fremmede arter har blitt brukt i dette forsøket da det kan gi konsekvenser for økosystemet. Artene som har blitt valgt har også høy kommersiell interesse da de inneholder gode næringsstoffer (tabell 1), vitaminer (Pereira 2016) og er en innovativ matkilde for både mennesker og dyr. Jeg har valgt å fokusere på *Palmaria palmata* (Linnaeus) Weber et Mohr. Videre skal jeg også undersøke *Ulva lactuca* Linnaeus og *Himanthalia elongata* (Linnaeus) S.F. Gray.

Tabell 1 Sammensetning av næringsstoffer for de utvalgte makroalgene (% tørrvekt) *Palmaria palmata*, *Ulva lactuca* og *Himanthalia elongata* (fra Pereira 2016).

Art	Protein	Aske	Kostfiber	Karbohydrat	Lipid	Referanse
<i>P. palmata</i>	8-35	15-30	28,57	46-56	0,7-3	Indergaard og Minsaas 1991, Fleurence 1999, Morrissey et al., 2001, Saá et al., 2010
<i>U. lactuca</i>	10 - 25	12,9	29-38	36-43	0,6-1,6	Fleurence 1999, Morrissey et al., 2001, Manivannan 2008, Kumar et al., 2011b.
<i>H. elongata</i>	5-15	30-36	33-27	44-61	0,5-1,1	Morrissey et al., 2001, Saá 2002, Burtin 2003, López-López et al., 2009, Gómez-Ordóñez et al., 2010

1.3.1 *Palmaria palmata*

Palmaria palmata er en rødalge i ordenen Palmariales (figur 1). Algen har en flat overflate og læraktig konsistens. Størrelsen varierer mellom 20 -50 cm i lengde, men den kan også bli opp til 1m lang. Algen vokser fra en rund hefteskive og vil gradvis bli delt opp i fliker. Ofte er det et hovedblad som bærer flere mindre blad.

Algen forekommer på begge sider av Nord - Atlanterhavet (Lüning 1990). I Nord Europa har *P. palmata* blitt brukt som mat i over hundrevis av år (Guiry & Blunden, 1992).

Denne arten blir spist i Nova Scotia (Canada), Frankrike, Island, Irland, Portugal, Storbritannia, USA og Indonesia (Hallson 1961, Arasaki and Arasaki 1983, Kuhnlein and Turner 1996, Zemke-White and Ohno 1999, Roo et al. 2007, Pereira 2010b, Harrison 2013, Mouritsen et al. 2013, Irianto and Syamdidi 2015, Pereira 2015a).



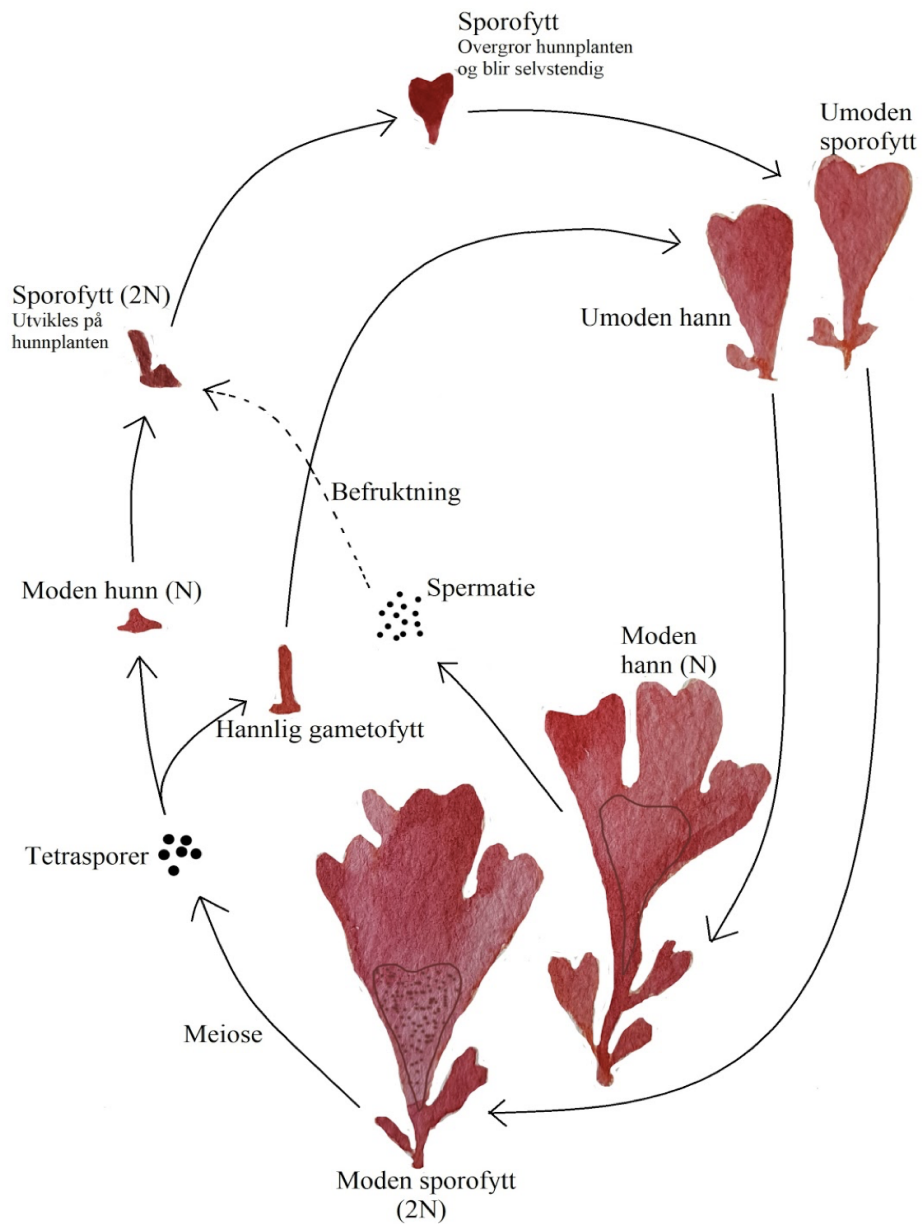
Figur 1: *Palmaria palmata*

1.3.1.1 *Palmaria palmata* livssyklus:

P. palmata – på norsk kalt søl (Rueness 1990), har en uvanlig livssyklus som mangler en karposporofyttgenerasjon. Livssyklusen (Figur 2) til *P. palmata* ble først beskrevet av van der Meer og Todd i 1980. Livssyklusen består av to faser, en seksuell gametofytt fase og en aseksuell tetrasporofytt fase. Den hannlige gametofyttfasen og tetrasporofytt fasen er isomorfe - de har lik morfologi og er umulig og adskille før de blir reproduktive. Den hunnlige gametofyttfasen er mikroskopisk har kun blitt observert i laboratoriet (van der Meer and Todd 1980). Det tar omtrent et år før tetrasporofytten blir reproduktiv. De utvikler tetrasporangiesori på bladene og disse kan observeres som mørke punkter på bladene.

Når tetrasporene blir frigjort, vokser de til hannlige og hunnlige gametofytter i et 1:1 forhold. Denne delen av livssyklusen skiller seg fra andre alger da den hannlige og den hunnlige fasen har ulik morfologi og levetid. Siden det tar omtrent et år før den hannlige gametofytten blir reproduktiv, vil de hunnlige gametofyttene bli befruktet av gameter som ble frigjort av de hannlige gametofyttene året før.

Dersom karpogonet (den hunnlige eggcellen), ikke blir befruktet innen noen få dager, vil den dø. Etter befruktning utvikles det en zygote og en ny tetrasporofytt utvikler seg på toppen av den hunnlige gametofytten.



Figur 2: Livssyklus av *Palmaria palmata* beskrevet av van der Meer og Todd 1980.

1.3.2 *Ulva lactuca*

Ulva lactuca - havsalat på norsk (Rueness 1990) er en grønnalge som tilhører ordenen Chlorophyta. Algens farge kan variere fra lys grønn til dyp, gressliknende farge. Algen har et flat bladliknende tallus som har en avrundet form, kan være vid eller flikete. Den har en myk, glatt overflate og undulerte kanter (Braune og Guiry 2011). Arten har en isomorf diplohaplontisk livssyklus (Hoek et al., 1995). *U. lactuca* er en svært utbredt art og er vanlig langs de fleste kystlinjene rundt om i verden. Arten vokser i marint- og brakkvann.



Figur 3: *Ulva lactuca*

U. lactuca har tidligere blitt som mat i salater og supper i India, Pakistan, Korea og Indonesia (Johnston 1966, Bonotto 1976, Madlener 1977, Tseng 1983, Kaliaperumal et al., 1995, Instini et al., 1998, Rahman 2002, Agngarayngay et al., 2005, Nang 2005, Sidik et al., 2015, Irianto og Syamdidi 2015). Forskjellige *Ulva* arter, som *U. lactuca* blir fortsatt brukt som menneskemat i Øst Asia, Irland, Scotland og langs stillehavskysten i Nord Amerika.

1.3.3 *Himanthalia elongata*

Himanthalia elongata er en vanlig brunalge med to stadie morforlogi som tilhører ordenen Fucales. Det blir først produsert en liten knappliknende thalli. Rundt august begynner den knappliknende thallien å produsere en stroppaktig reprodutiv reseptakel som vokser fort mellom februar og mai (Pereira 2016). Reseptakelen kan nå en lengde på opp til 3m. Omtrent 98% av den totale biomassen til algen er investert i reprodutivt vev istedenfor vegetativt vev (Brenchley et al., 1996) . Dette er spesielt for denne algen. Reseptakelene er også tilnærmet selvdrivende når



Figur 4: *Himanthalia elongata*

det gjelder karbon assimilering og opptak av næringsstoffer. *H. elongata* frigjør gameter helt fra juni til vinteren, før den begynner å forfalle. Thalli lever vanligvis mellom to til tre år og reproduserer en gang før den dør (Pereira 2010b). *H. elongata* er begrenset til de semi-eksponerte kystene i Nord – Øst Atlanteren og Østersjøen.

Algen er også brukt som mat i Europa i flere forskjellige matretter; spesielle pai, pizza, pasta, brød og snacks er noen få eksempler (Pereira 2016). *H. elongata* er kjent for inneholde en god mengde fosfor, et mineral som er kjent for å øke hjernekapasiteten, hukommelse og konsentrasjon (Michanek 1975, Guiry og Hessuin 1998, Pereira 2011).

1.4 Mål med oppgaven

Målet med denne oppgaven er å undersøke vekst av *Palmaria palmata*, samt *Ulva lactuca* og *Himanthalia elongata* under forskjellige temperaturer og tilgang til ammonium (NH_4^+).

Opgaven er delt inn i tre forskjellige undersøkelser:

1. *In situ* eksperiment av *P. palmata*, *U. lactuca* og *H. elongata* utført på Frøya og i Bergen mellom 2015-2016. Fokus var å måle forskjeller i vekst og i C:N forhold mellom individer i nærheten til fiskeoppdrett og individer uten effekt av fiskeoppdrett.
2. Veksteksperiment i laboratoriet med *P. palmata* og *U. Lactuca* med fokus på å måle forskjeller i vekst og i C:N mellom individer dyrket i forskjellige næringsmedier og ved forskjellige temperaturer.
3. Et ekstra kultiveringseksperiment ble utført med *P. palmata* i boblekultur for å undersøke vekst i forskjellige lysintensiteter.

2 Materiale og Metode.

Dette studiet er delt inn i to deler som skal belyse hypotesen:

- 1) Kultiveringeksperiment *in situ* : Det har blitt gjort to kultiveringeksperiment, en på Frøya og en i Bergen.
- 2) Kultiveringeksperiment på laboratoriet: Det har blitt gjort to forskjellige eksperimenter på laboratoriet; kultivering i petriskåler og kultivering i boblekultur.

2.1 *In situ* eksperiment Frøya

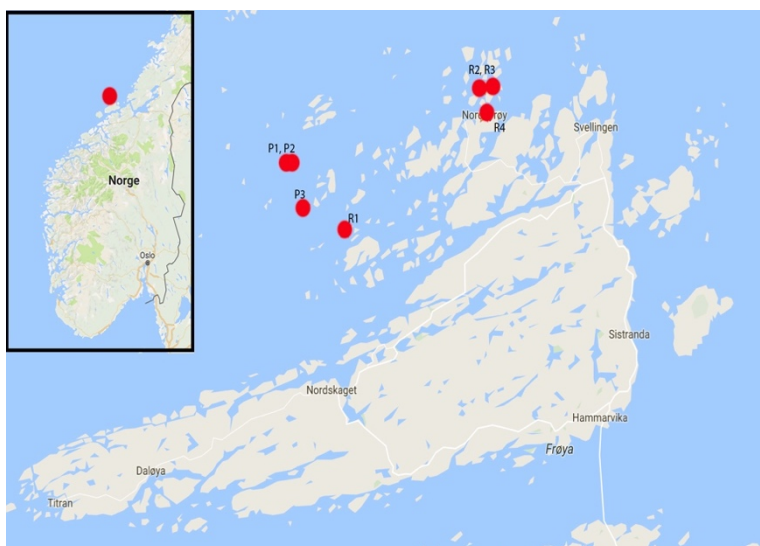
2.1.1 Stedsbeskrivelse

In situ eksperimentet ble utført på område rundt Frøya. Frøya kommune ligger i Sør – Trønderlag, nord for Hitra. Forsøket varte fra månedene mars til august 2015. Tidligere data fra Braaten og Sætre (1973) viser at midlere temperatur i havet ved Kjeungskjær – litt øst for Frøya er $5^{\circ} \pm 0,7$ i mars og opp mot $13^{\circ} \pm 1,5$ i august. Undersøkelsen ble gjort over 30 år (1936-1970). Saltholdighet ble også målt i Kjeungskjær i perioden mellom 1936 – 1979. Saltholdigheten i mars ble målt til $33,89 \% \pm 0,33$ i mars og $31,55\% \pm 1,15$ i august. Områdene påvirket av fiskeoppdrett (P1 – P3 figur 5) ligger veldig eksponert til havet. Et av referansestasjonene (R1 figur 5) ligger også veldig eksponert, de siste tre referansestasjonene (R2-R4 figur 5) ligger i et delvis eksponert område.

Tabell 2 : Tabellen viser koordinatene til forsøksområdene som ble brukt under dette forsøket.

	Rigge	Koordinater (grader, minutter, sekunder)
Påvirket område	P1	63°47'3.66" N 8°30'57" E
	P2	63°47'3.66" N 8°30'57" E
	P3	63° 46'9.43 N 08°31'58 E
Referanse- område	R1	63°45' 40.4"N 8°34' 13.56" E
	R2	63°45' 40.1"N 8°34' 13.4" E
	R3	63°48' 38.4" N 8° 42' 14.0" E
	R4	63°48' 35.76" N 8° 41' 50.58" E

8 individer av *H. elongata*, 20 individer av *U. lactuca* og 40 individer av *P. palmata* ble tilfeldig fordelt på tre områder hvor det er effekt av fiskeoppdrett og fire referanseområder uten påvirkning av fiskeoppdrett. Kartet ovenfor viser påvirket område (P1-P3) og referanseområdene (R1-R4).



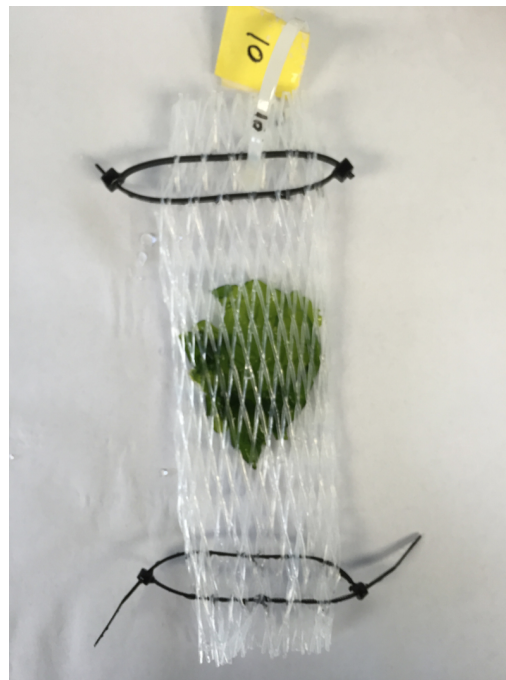
Figur 5: Kartet viser område rundt Frøya, hvor forsøket ble gjort. P1-P3 er områder som er påvirket av fiskeoppdrett. R1-R4

2.1.2 Kultivering

Individer av *P. palmata*, *U. lactuca* og *H. elongata* ble samlet fra områder hvor det ikke har vært noe effekt av fiskeoppdrett ved Seilbadskjæra (63°47'46.0"N 8°40'52.8"E) 03.03.2015. Individer av *U. lactuca* og *H. elongata* ble samlet inn for hånd langs vannkanten og rundt flytebrygger. Individer av *P. palmata* og *U. lactuca* ble veiet. Det ble målt reseptakel lengde på individer av *H. elongata*.

Deretter ble en liten bit av hver alge veiet opp og lagt i et plastnett. Nettet ble lukket igjen ved å bruke elektrikerstrips på hver ende (Figur 6).

En liten bit fra tilfeldige alger ble klippet ut på forhånd og lagt i en pose med silicagel.

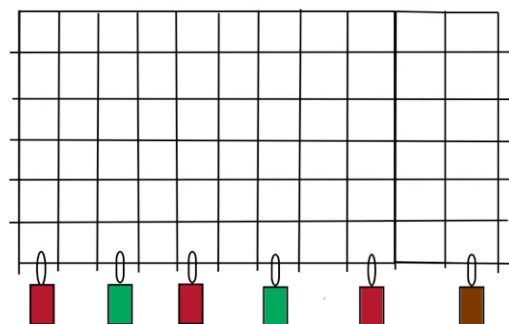


Figur 6: Figuren illustrerer plastnett med *U. lactuca*. Alle algene ble lagt i plastnett som dette og sikret med elektrikerstrips.

Disse ble fraktet tilbake til laboratoriet hvor de ble knust til pulver og sendt til C:N analyse.

Dette vil gi oss et utgangspunkt for C:N ratio før algene ble satt ut i felt. Algene ble markert med nummer slik at de enkelt kan gjenkjennes.

Individene ble fordelt på flere rigger og ble kultivert på steder med og uten påvirkning av fiskeoppdrett (tabell 2) (Figur 8). Algene som ble festet til et kultiveringstau ble festet direkte til en flytebrygge (rig P3 på tabell 2). På slutten av kultiveringsperioden ble algene som var igjen samlet opp og fjernet fra rigger og kultiveringstau.



Figur 8 : Figuren illustrerer oppsettet av kultiverings rigger som ble satt ut i undersøkelses områdene. Fargene viser til de tre ulike forsøksalgene; rød: *P. palmata*, grønn: *U. Lactuca* og brun: *H. elongata*

2.1.3 Laboratoriearbeid

Individer av *P. palmata* og *U. lactuca* ble veid for å måle sluttvekt. Reseptakellengden av *H. elongata* ble målt for å bestemme sluttlengde. En bit av alle individene som ble høstet ble klippet ut og tørket i et tørkeskap over noen uker. Deretter ble brukt morter for å knuse algebiten til pulver. Pulveret fra hvert individ ble lagt i et merket eppendorfrør og det ble gjort en C:N analyse.

2.1.3 Behandling av data

På grunn av tap av materiale og identifiseringsnummer, ble det kun beregnet gjennomsnittsvekt på *P. palmata* og *U. lactuca* individene som ble samlet opp. Samme gjelder *H. elongata*, kun gjennomsnittslengde på reseptakel ble målt. Deretter ble det beregnet total økning av biomasse (%) og spesifikk vekstrate (specific growth rate, SGR) gitt at dette er en eksponentiell vekst:

$$SGR = \frac{\ln(FW_1) - \ln(FW_0)}{T}$$

FW_1 = Sluttvekt

FW_0 = Startvekt

T = antall dager i kultiveringsperioden

Dataene som var mulig å hente var kun fra området som er påvirket av fiskeoppdrett ved Rataren (rig 3 på tabell 2). Derfor ble det umulig å sammenlikne vekst på de forskjellige områdene. Microsoft Excel ble brukt for utregning og utforming av grafer og tabeller.

2.2 In situ eksperiment Bergen

2.2.1 Stedsbeskrivelse:

Forøket ble gjort utenfor Bergen (figur 9) i områdene vist på kartet under. Forsøket varte fra perioden juni til september 2015. Tidligere data fra Braaten og Sætre (1973) viser at midlere temperatur i havet ved Korsfjorden $12^{\circ} \pm 1,5$ i juni og opp mot $14^{\circ} \pm 1,5$ i september.

Undersøkelsen ble gjort over 30 år (1936-1970). Saltholdighet ble målt i Korsfjorden i perioden mellom 1936 – 1979. Saltholdigheten ble målt til $30,63 \% \pm 1,28$ i juni og $29,41\% \pm 1,94$ i september.



Figur 9: Bildet viser de forskjellige stasjonene algene ble kultivert på. Ramsøy og Kelvesteinen er områder med fiskeoppdrettsanlegg og Skorpo, Litla Børøy og Kallsøyna er referansestasjoner.

De utvalgte algene ble fordelt på 5 forskjellige stasjoner, hvor 2 var stasjoner med effekt av fiskeoppdrett og 3 referansestasjoner (tabell 3)

Tabell 3 : Tabellen viser koordinatene til de påvirkede områdene og referansestasjonene hvor algene ble kultivert.

Påvirket område	Ramsøy	60° 26.105 N, 005° 03.745 E
	Kelvesteinen	60° 26.047 N, 005° 03.855 E
Referansestasjoner	Litla Børøy	60° 27.650 N, 005° 03.284 E
	Kallsøyna	60° 27.441 N, 005° 02.411 E
	Skorpo	60° 25.345 N, 005° 07.081 E

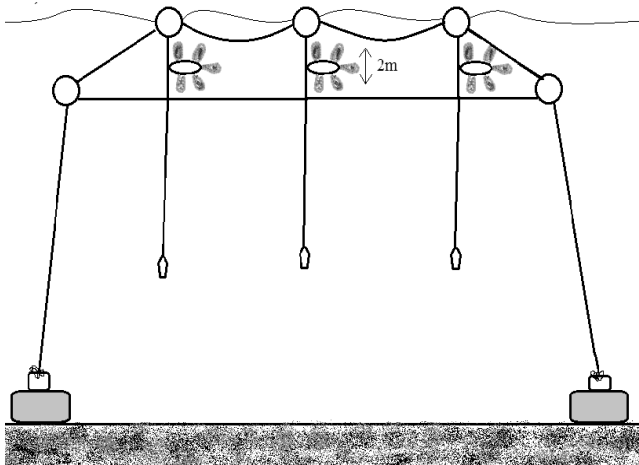
50 individer av *P. palmata* og 20 individer av *U. Lactuca* ble fordelt tilfeldig på disse 5 forskjellige stasjonene. Bildene (figur 9 og figur 10) viser geografisk beliggenhet og hvordan installasjonen ble satt opp.



Figur 10: Skjematisk illustrasjon av hvordan algene ble kultivert på Kelvesteinen stasjon (område med påvirkning av fiskeoppdrett). B-1, B-2 og B-3 representerer bøyene. Hver bøye hadde et loddrett tau hvor algene ble montert fast.

2.2.1 Kultivering

Individer av *P. palmata* og *U. lactuca* ble hentet opp for hånd langs flytebrygger i områder uten påvirkning av fiskeoppdrett rundt Sotra 17. Juni 2015. Håndtering av algene ble gjort på samme måte som på Frøya (figur 6), men designet på forsøket ble endret som resultat av tap av materiale fra tidligere forsøk. Algene ble festet fast til polyester tau med strips og montert fast på vertikale tau som var festet til bøyene. De vertikale tauene hadde lodd på enden, slik som Dawes (1987) foreslo. (Algene ble kultivert på 2 meters dyp (Figur 11).



Figur 11 : Bilde til venstre viser hvordan installasjonen av algene var på de forskjellige kultiveringsstedene med tre vertikale kultiveringslinjer. Bilde til høyre viser hvordan algene i plastnett var montert fast på polyestertauet.

2.2.3 Laboratoriarbeid

På slutten av kultiveringsperioden ble algene som var igjen samlet opp og veid. Alle algene var overgrodd og derfor ble det brukt en tynn skalpell for å fjerne lag med epifytter på algene. En liten bit av hver alge som var igjen ble satt i tørkeskap og gjort om til pulver for å måle C:N ratio (beskrevet i paragraf 2.1.3)

2.2.4 Behandling av data

Total vekst og spesifikk vekst rate (SGR) ble bestemt for individene som ble høstet. Tap av materiale var såpass stort at det ikke ble gjort noen statistisk analyse. Det ble også gjort en sammenlikning av C:N ratio før og etter høsting. Microsoft Excel ble brukt for utregning og utforming av grafer og tabeller.

2.3 Veksteksperiment med *Palmaria palmata* og *Ulva lactuca* i petriskåler.

Det ble gjort to veksteksprimenten i petriskål på laboratoriet med *P. palmata* og to eksperimenter med *U. lactuca* med tre forskjellige dyrkingsmedier; m/NH₄⁺, u/N og IMR/2 (Eppely et al., 1967). Dyrkingsmediene ble laget selv på laboratoriet etter oppskriften til Eppely (1976). Mediene m/NH₄⁺ og u/N inneholder de samme ingrediensene som IMR/2, men uten nitrat for medium u/N og ammonium i stedet for nitrat i medium m/NH₄⁺. Det ble gjort to veksteksprimenten i petriskål på laboratoriet med *P. palmata* i tre forskjellige dyrkingsmedier; IMR/2, u/N og m/NH₄⁺. Individene som ble brukt er hannplanter som har blitt isolert fra tetrasporofytter vegetativt oppformert.

2.3.1 Veksteksperiment med *Palmaria palmata*

P. palmata som brukt i forsøket er samlet opp ved Frøya i august 2015 og tatt med tilbake til Oslo. For å sammenlikne vekst ble det brukt et medium uten tilsatt nitrogen og et kontrollmedium IMR/2 som fungerer som en næringssuppe.

Små nye blader av *P. palmata* ble tatt forsiktig av gamle blader og lagt i en petriskål med IMR/2 medium. En liten bit av hver plante ble klippet av for å måle initial C:N verdi. De små bladene ble deretter veid og lagt inn i petriskåler med de tre forskjellige mediumene, et individ i en petriskål. En dråpe med germaniumoksid ble brukt i hver petriskål for å forhindre vekst av diatomeer.

Algene ble kultivert i to forskjellige temperaturer, 6° og 10°. Lysintensiteten ble satt til 25 $\mu\text{mol m}^{-1}$. Tabell 4 under viser hvordan designet ble utført. Dag:natt lengde var satt til 16:8. Det ble byttet medium på algene hver 3. dag under hele kultiveringsperioden slik at algene ikke skulle gå tom for næring og for å skape bevegelse i vannet. Petriskålene ble også forsiktig ristet for å lage bevegelser i vannet opptil flere ganger under kultiveringsperioden.

Første eksperiment ble gjort i perioden 30.03.2016 – 22.04.2016 med 60 individer av *P. palmata*. Andre forsøk ble utført i perioden 29.09.2016 – 27.09.2016 med 30 individer.

Tabell 4 : Tabellen viser et eksempel på hvordan algene ble fordelt i hvert kjølerom; 6° C og 10° C, med 3 forskjellige medium.

6° C	10° C
Alge (x) 1 – 10 m/ NH_4^+	Alge (x) 31 – 40 m/ NH_4^+
Alge (x) 11-20 uten N	Alge (x) 41-50 uten N
Alge (x) 21-30 IMR/2	Alge (x) 51-60 IMR/2

Etter avsluttet kultiveringsperiode ble alle individene veid og det ble besemt en sluttvekt.

2.3.2 Veksteksperiment med *U. lactuca*.

Samme forsøk ble gjort med *U. lactuca*. Små biter av *U. lactuca* ble stemplet ut av talli før de ble veid. Det ble stemplet ut 60 like store biter. Disse ble veid og satt inn i petriskåler med de forskjellige dyrkningsmediene i temperaturene 10° og 12°. Forsøket ble avsluttet etter en kort periode da alle individene ble misfarget og døde. Enda et forsøk ble gjort med 30 individer av *U. Lactuca* i 15 celsius, men også dette forsøket ble avsluttet da individene døde etter en kort periode.

2.3.3 Behandling av Data

Total vekst og spesifikk vekst rate (SGR) ble bestemt for alle individene. Det ble utført enveis ANOVA mellom de tre gruppene m/ NH_4^+ , u/N og IMR/2, og videre en Tukey HSD – test

dersom forskjellen mellom gruppene var signifikant. Deretter ble det gjort en toveis ANOVA test mellom 6° og 10°. Det ble også beregnet C:N ratio og gjort en sammenlikning mellom de forskjellige gruppene. Programmene IBM SPSS statistics for macintosh, versjon 22.0 og microsoft excel ble brukt for statistisk analyse og fremstilling av grafer og figurer.

2.4 Veksteksperiment av *P. palmata* i boblekultur.

6 blader av *P. palmata* ble veid og det ble målt en startsvikt. Bladene ble delt inn i to grupper; 3 blader ble lagt i hver sin rundkolbe med IMR/2 medium (Eppely 1976) med lysintensitet til $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ og 3 blader ble lagt i hver sin rundkolbe med IMR/2 medium og lysintensitet $5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Hensikten med dette forsøket var å ha lysintensitet som en variabel.



Figur 12: Figuren illustrerer eksperiment i boblekultur. De tre bakerste rundkolbene har lysintensitet $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ og de tre fremste kolbene har lysintensitet $5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

Dag:natt lengde var 16:8. 6 rør med luft ble ført ned i rundkolbene og holdt fast med aluminiumsfolie. Aluminiumsfolien fungerte også som en forsegling av hver rundkolbe. Rørene tilførte kolbene luft slik at det ble produsert bobler i hver rundkolbe. Boblene skapte bevegelse i mediumet slik at algene roterte rundt i kolben. Algene lå i rundkolben i 4 uker før de ble for store og måtte høstes. Det ble målt sluttvekt av algen, før algene ble lagt i tørkeskap. Etter noen uker i tørkeskap, ble hvert individ delt i 3 like store biter før de ble mortet og gjort om til pulver. Det

ble gjort en C:N analyse på algene.

2.4.1 Behandling av data

Det ble beregnet totalt vekst og spesifikk vekst rate (SGR) for hvert individ i de to gruppene. Det ble gjort en enveis ANOVA test mellom gruppene og en Tukey HSD test dersom ANOVA testen viste en signifikant forskjell. Det ble også beregnet slutt C:N ratio for hvert individ i hver gruppe og disse ble sammenliknet med hverandre.

3 Resultater

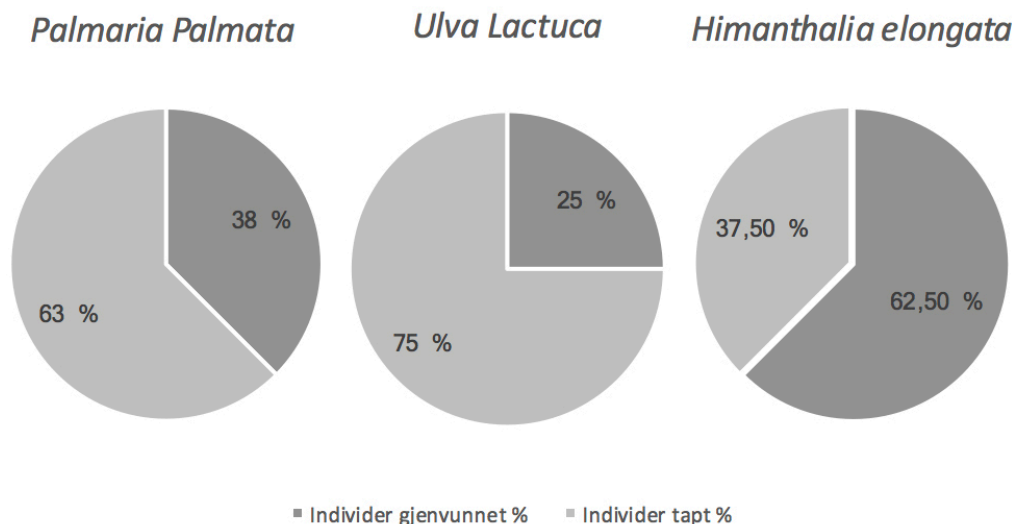
Alle dataene som ble brukt vil være vedlagt i Appendix.

4.1 Resultater fra *In situ* eksperiment Frøya

Resultatene av dette forsøket vil bli presentert i 3 deler. Tap av alger, vekst av alger som ble samlet og til slutt C:N ratio.

4.1.1 Tap av alger

Alle algene fra de 4 referansestasjonene, samt 2 av stasjonene med effekt av fiskeoppdrett (R1-R4 og P1-P2 tabell 2) forsvant under kultiveringsperioden. Tap av algene forekom enten ved at hele riggen forsvant eller ved at jeg fant riggen, men algene var borte. Kun individer som var festet til flytebryggen på et kultiveringstau ble samlet inn igjen etter endt kultiveringsperiode. Figur 13 gir en oversikt over de tre forskjellige algeartene; *P. palmata*, *U. lactuca* og *H. elongata* og hvor mange prosent som gikk tapt etter en 165 dagers kultiveringsperiode.



Figur 13: Figuren illustrerer hvor mange alger i % som ble gjenvunnet og hvor mange som ble tapt under forsøket utført på Frøya 2015; mørk grå er individer gjenvunnet % og lys grå er individer tapt %.

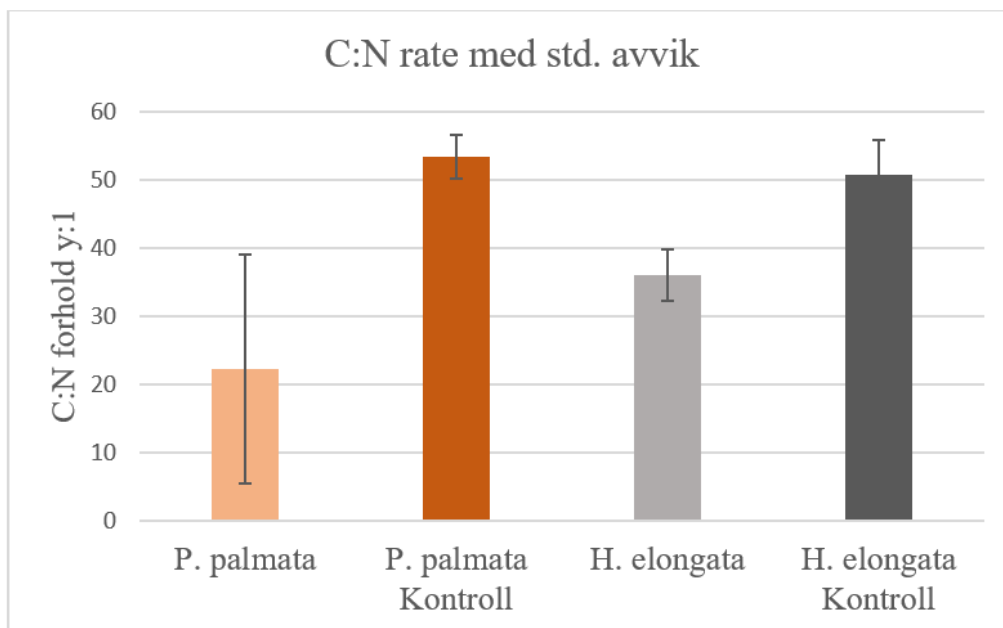
4.1.2 Vekst av alger

Ettersom det kun var alger fra påvirket område som ble høstet, ble det ikke gjort noen sammenlikning mellom referansestasjonene og påvirket område. Det ble derimot målt gjennomsnittlig sluttvekst (g) av *P. palmata* og *U. lactuca* individene og gjennomsnittlig sluttlengde (cm) av *H. elongata*. Det ble kun påvist at at algene vokser i områder påvirket av fiskeoppdrett.

Den spesifikke vekstraten (SGR) ble beregnet med gjennomsnitt sluttvekt for *P. palmata* ble $0,0264 \text{ d}^{-1}$. For *U. lactuca* ble spesifikk vekstrate beregnet til $0,009 \text{ d}^{-1}$ og for *H. elongata* $0,019 \text{ d}^{-1}$ i område påvirket av fiskeoppdrett. Det ble ikke beregnet standard avvik eller gjort statistisk analyse da dataene for å kunne utføre slike beregninger manglet.

4.1.3 Sammenlikning av C:N ratio på alger

Etter endt eksperiment, hadde vi en slutt C:N ratio for *P. palmata*, *U. lactuca* og *H. elongata*. Det ble kun samlet inn individer av *P. palmata* og *H. elongata* til kontroll analyse, da det ikke var mulig å finne individer av *U. lactuca* i område uten påvirkning av fiskeoppdrett august 2015.



Figur 14: Figuren viser C:N forholdet mellom *Palmaria palmata* og *Himanthalia elongata* dyrket ved fiskeoppdrettsanlegg (hel farge) i august 2015 med en sammenlikning av gjennomsnittlig C:N for kontroll individer funnet av hver art i august 2015 (stripet).

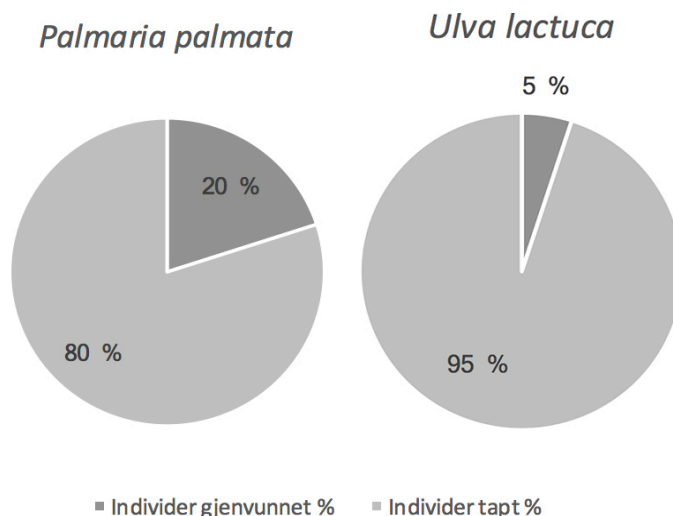
Gjennomsnittlig C:N hos *P. palmata* dyrket på stasjon P3 ble 22, 17±16,8 og gjennomsnittlig C:N ratio på kontroll individer (uten påvirkning) ble 53,35±3,2. Dette indikerer stor forskjell i C:N ratio mellom testet og kontroll individer. Det er derimot viktig å legge merke til at standard avviket er relativt høyt på individer som er påvirket (Figur 14).

H. elongata viser også lavere C:N ratio ved påvirket (36,0±3,78) område sammenliknet med kontrollindividene (50,78±5,1). Lavere C:N ratio på påvirket område viser at det er mer nitrogen i områder påvirket av fiskeoppdrett.

4.2 Resultater fra *in situ* eksperiment i Bergen.

4.2.1 Tap av alger og epifyttisk vekst.

Det var også en stor % tap av alger (Figur 15) i dette eksperimentet. Her ble alle kultiveringsnettene gjenvunnet, men selve algen var borte fra flere plastnett. Mange av plastnettene inneholdt andre arter enn algen som opprinnelig ble plassert i plastnett. En del av algene som ble funnet var også helt helt overgrodd og det var umulig å skille epifytter fra selve algen. Disse algene ble også kastet – da måling av sluttvekt av disse individene ikke ville ha gitt riktig sluttvekt.



Figur 15: Figuren over illustrerer hvor mange individer i % som ble gjenvunnet og hvor mange individer som ble tapt i forsøket utført i Bergen 2015; mørk grå er individer gjenvunnet % og lys grå er individer tapt %

Det ble observert en enorm mengde av *Caprella* sp også kjent som spøkelseskreps på hele kultiveringsanlegget. Dette var gjennomgående for alle studiestasjoner, både påvirket av fiskeoppdrett og referansestasjoner. Også *Electra pilosa* Linnaeus hadde lagt rundt hele nettet

Bildene under (Figur 16 og 17) viser hvordan kultiveringsnettene så ut etter endt kultiveringsperiode i september 2015.



Figur 16: Bilde ovenfor viser hvor overgrodd mange av nettene var etter endt kultiveringsperiode. Omtrent alle nettene hadde var overgrodd av *E.pilosa*, men også mange andre arter ble observert.

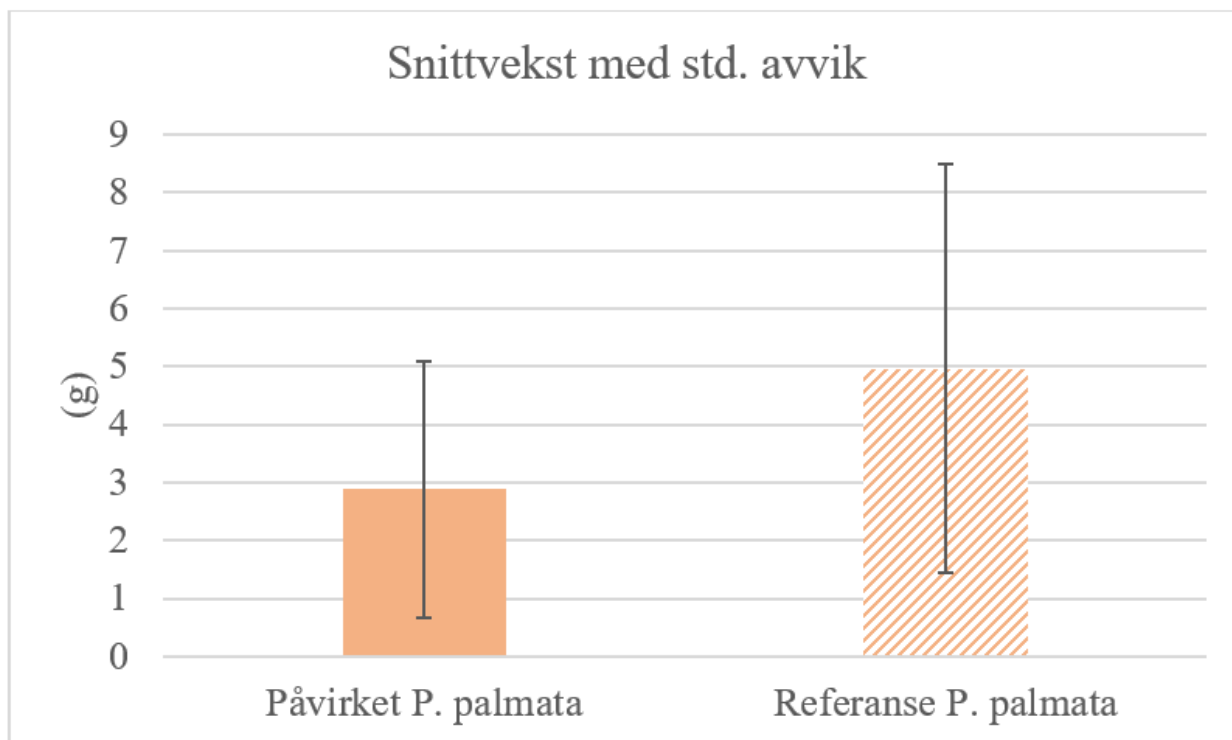


Figur 17: Bildet viser hvordan algene så ut da vi høstet dem i Bergen, september 2015.

Det ble også observert en rekke andre arter i kultiveringsnettene; rødalger, grønnalger, bløtdyr er noen eksempler. Det ble ikke gjort noen videre bestemmelse og analyse av hvilke arter som var tilstede.

4.2.2 Vekst av alger

Det ble målt vekst og spesifikk vekstrate på algene studert med og uten påvirkning av fiskeoppdrett. Det ble kun målt vekst av *P. palmata* da det kun ble gjenvunnet et individ av *U. lactuca*. Det var kun noen få individer som ble gjenvunnet av *P. palmata* fra referansestasjonene og stasjonene med påvirkning av fiskeoppdrett. Individene som ble funnet ble derfor delt inn i to hovedgrupper; påvirket og referanse og deretter ble det beregnet en snittvekst ut ifra disse tallene (Figur 18).



Figur 18: Figuren viser snittvekst med standardavvik av *P. palmata* påvirket av fiskeoppdrett sammenliknet med *P. palmata* fra referansestasjon.

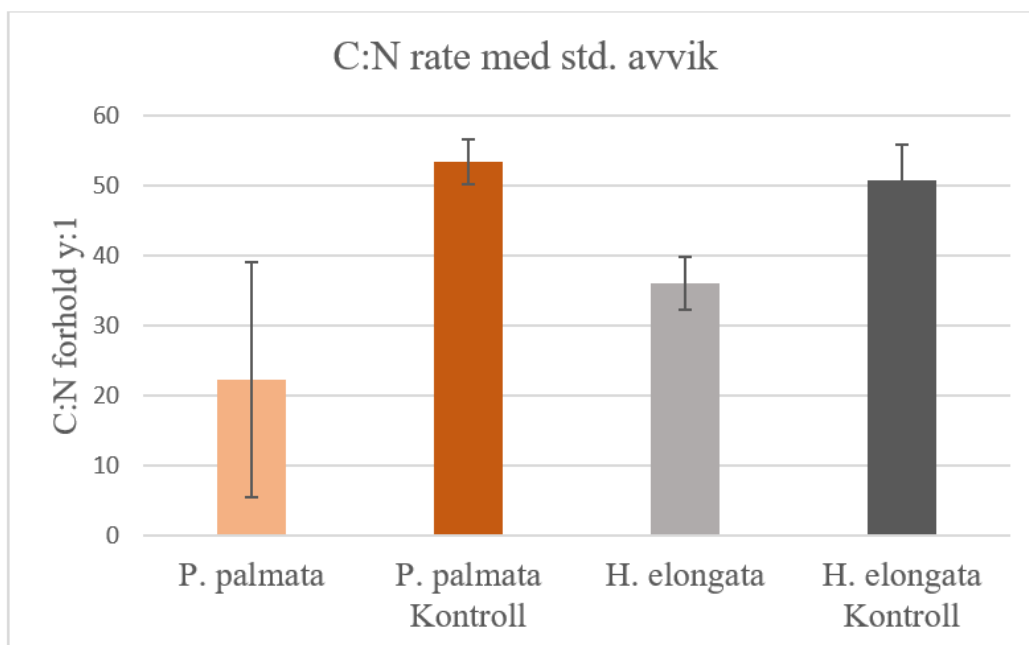
Resultatene ble testet med en en faktor variansanalyse, og det er ingen signifikant forskjell mellom vekst i algene påvirket av fiskeoppdrett og algene fra referansestasjonene ($p > 0,05$). Det er ingen signifikant forskjell i vekst for alger kultivert med påvirkning av fiskeoppdrett og alger kultivert uten påvirkning av fiskeoppdrett.

Gjennomsnittlig spesifikk vekstrate for *P. palmata* kultivert under påvirkning er $0,020 \pm 0,003$ og for *P. palmata* uten påvirkning (referanse) $0,020 \pm 0,004$. De spesifikke vekstratene hadde heller ingen signifikant forskjell ($p > 0,05$).

4.2.3 Sammenlikning av C:N ratio

Etter endt kultiveringsperiode ble slutt C:N ratio målt. Det er signifikant forskjell mellom *P. palmata* kultivert med påvirkning av fiskeoppdrett og *P. palmata* kultivert uten påvirkning av fiskeoppdrett ($p=0,03$). *P. palmata* viser en lavere C:N ratio ved påvirket område.

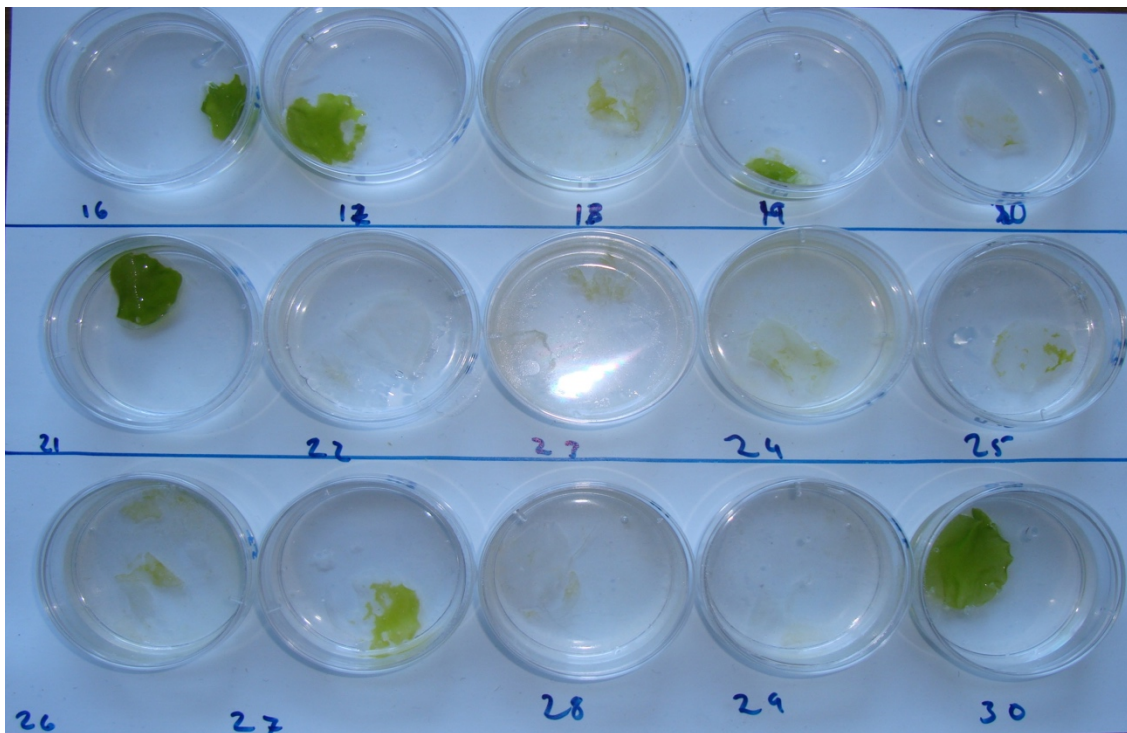
Styrken på signifikansen kan diskuteres da resultatet kun er av noen få individer.



Figur 19 : Stolpediagrammet viser de forskjellige gjennomsnitt C:N ratioene målt etter endt forsøk i september 2015 fra Bergen. Kontroll Palmaria er gjennomsnittet C:N målt av individer funnet i upåvirket område fra september 2015. Palmaria påvirket viser *P. palmata* kultivert i påvirket område og Palmaria upåvirket *P. palmata* kultivert i upåvirket område – det er en signifikant forskjell mellom C:N ratio mellom påvirket og upåvirket ($p=0,03$)

4.3 Resultater fra veksteksperimentet med *Palmaria palmata* og *Ulva lactuca* i petriskåler.

Det ble ikke gjort noen analyser eller beregning av vekst og C:N ratio på *U. lactuca*, da alle individene sporelerte, ble misfarget og døde (Figur 20) etter en veldig kort periode. Begge forsøkene på å dyrke *U. lactuca* avsluttet.

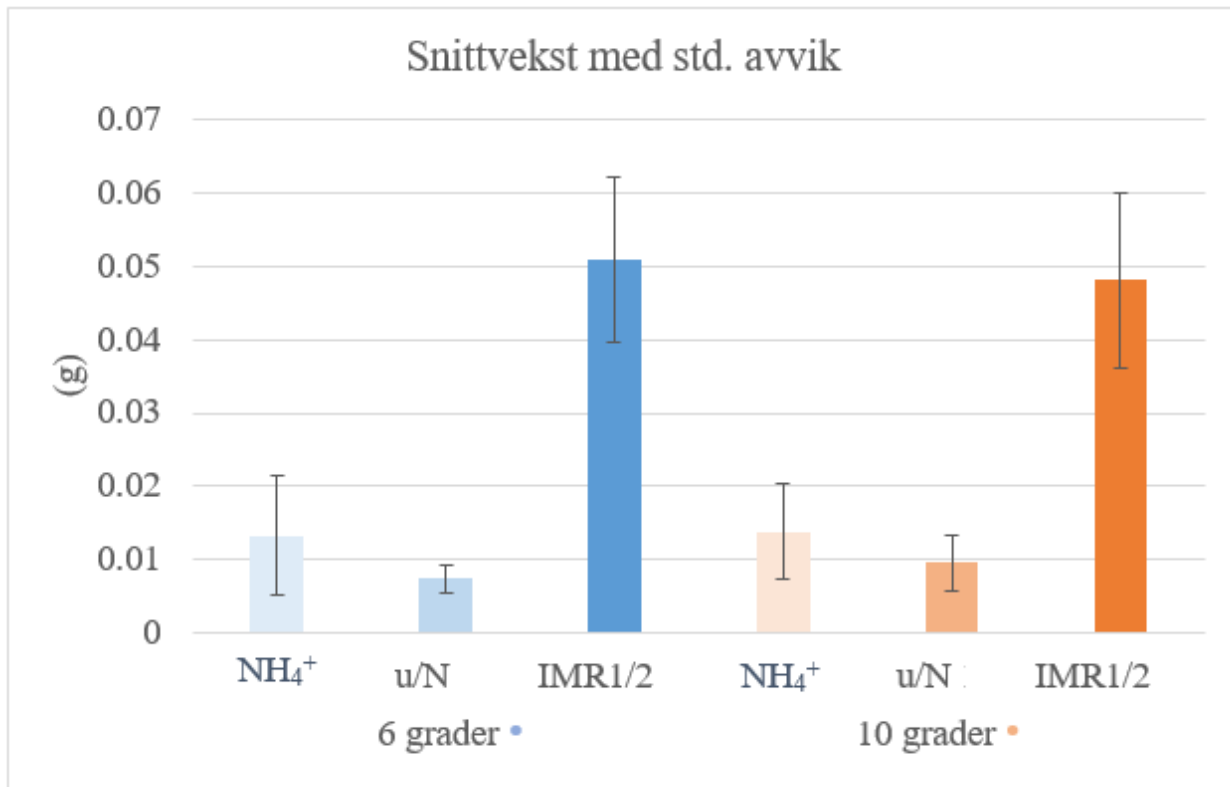


Figur 20: Bilde viser individer av *U.lactuca* kultivert i de tre forskjellige mediumene NH_4^+ (øverste rad), u/N (midterste rad) og IMR/2 (nerdeste lag)

4.3.1 Vekst av *Palmaria palmata*

Resultatene er fra to separate eksperimenter utført med *P. palmata*. Forsøk 1 og Forsøk 2

Forsøk 1



Figur 21: Figuren illustrer snittvekst (g) med standard avvik hos de undersøkte individene i forsøk 1. De blå stolpene er snitt vekst med standardavvik for alger dyrket 6° og de oransje stolpene representerer individene dyrket i 10°

Det første forsøket, Forsøk 1, ble utført med totalt 60 individer; 30 individer dyrket i 6° og 30 individer i 10°. Grupper på 10 individer ble dyrket i samme medium, det var totalt 3 forskjellige dyrkingsmedier. Resultatene som vises er etter en kultiveringsperiode på 23 dager

Variansanalyse viste en signifikant forskjell ($p < 0,05$) mellom gruppene både i 6° og 10°. Tukey testen viste at det kun er IMR/2 som forskjellig i begge kultiveringstemperaturene. Det er ingen signifikant vekstforskjell mellom algene dyrket i NH_4^+ medium og u/N medium i begge temperaturene. Tukey HSD testen ble utført på SPSS statistics.

Tabell 5: Variansanalyse (ANOVA) analyse og Tukey test for Forsøk 1 utført i 6°

6 Celsius

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	105383.590	2	52691.795	40.353	.000
Within Groups	35256.230	27	1305.786		
Total	140639.820	29			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: 6 Celsius

Tukey HSD

(I) Mediums	(J) Mediums	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	24.70000	16.16036	.294	-15.3683	64.7683
	3	-111.54500*	16.16036	.000	-151.6133	-71.4767
2	1	-24.70000	16.16036	.294	-64.7683	15.3683
	3	-136.24500*	16.16036	.000	-176.3133	-96.1767
3	1	111.54500*	16.16036	.000	71.4767	151.6133
	2	136.24500*	16.16036	.000	96.1767	176.3133

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

1 = NH_4 in 6°C; 2=u/N in 6°C; 3=IMR1/2 in 6°C

Tabell 6: Variansanalyse (ANOVA) analyse og Tukey test for Forsøk 1 utført i 10°

10 Celsius

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	246359.981	2	123179.991	27.678	.000
Within Groups	120164.275	27	4450.529		
Total	366524.257	29			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: 10 Celsius

Tukey HSD

(I) Mediums	(J) Mediums	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	26.83300	29.83464	.645	-47.1395	100.8055
	3	-177.40800*	29.83464	.000	-251.3805	-103.4355
2	1	-26.83300	29.83464	.645	-100.8055	47.1395
	3	-204.24100*	29.83464	.000	-278.2135	-130.2685
3	1	177.40800*	29.83464	.000	103.4355	251.3805
	2	204.24100*	29.83464	.000	130.2685	278.2135

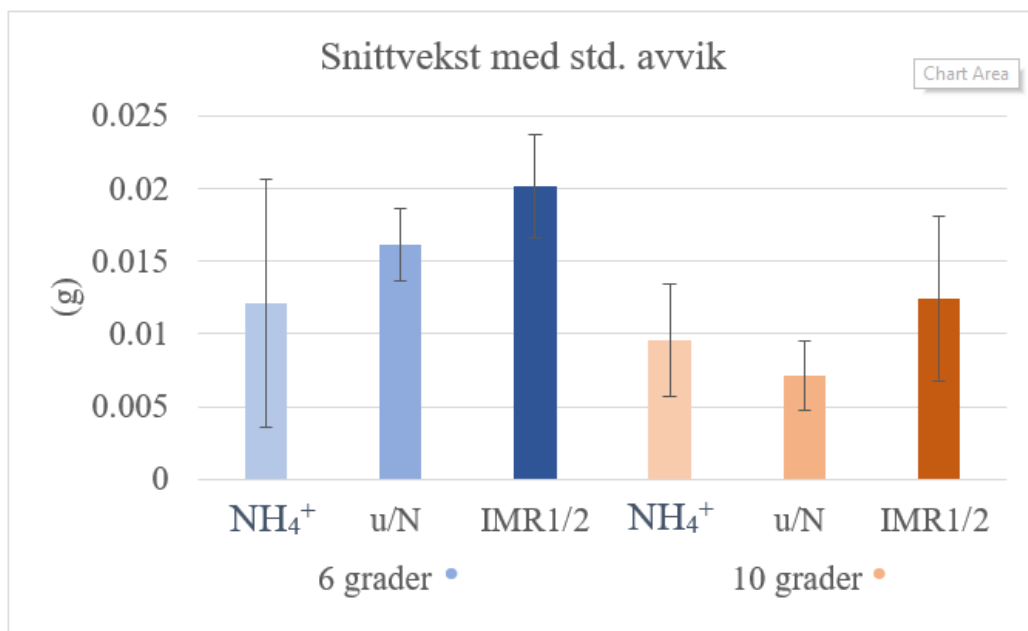
*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

1 = NH4 in 10°C; 2=u/N in 10°C; 3=IMR1/2 in 10°C

Tabell 7: En oversikt over gjennomsnitt spesifikk vekstrate med standardavvik for *P. palmata* fra Forsøk 1

Medium	Snitt SGR (d ⁻¹)	Snitt Std. avvik
NH_4^+ 6°	0,0182	0,0098
<i>u/N</i> 6°	0,0115	0,0031
<i>IMR/2</i> 6°	0,0418	0,0091
NH_4^+ 10°	0,0200	0,0132
<i>u/N</i> 10°	0,0141	0,0141
<i>IMR/2</i> 10°	0,0522	0,0522

Forsøk 2 ble utført på samme metode med 30 individer i stedet for 60. Snittvekst med standard avvik er presentert i Figur 22.



Figur 21: Figuren illustrer snittvekst (g) med standard avvik hos de undersøkte individene i forsøk 2. De blå stolpene er snitt vekst med standardavvik for alget dyrket 6° og de oransje stolpene representerer individene dyrket i 10°

Variansanalyse viser ingen signifikant vekstforskjell ($p > 0,05$) i de forskjellige mediumene i 6° og 10°. Det ble utført en to – faktor variansanalyse mellom 6° og 10° og det ble beregnet en signifikant forskjell ($p < 0,05$) i vekst mellom 6° og 10°.

Tabell 8 : Tabellen viser en to – faktor ANOVA analyse mellom 6° og 10°.

SAMMENDRAG	NH4	U/N	IMR/2	Totalt
<i>6 Celsius</i>				
Antall	5	5	5	15
Sum	0,06	0,08	0,1	0,24
Gjennomsnitt	0,012	0,016	0,02	0,016
Varians	0,00012	0,00003	0	5,42857E-05
<i>10 Celsius</i>				
Antall	5	5	5	15
Sum	0,0477	0,0358	0,0623	0,1458
Gjennomsnitt	0,00954	0,00716	0,01246	0,00972
Varians	0,000014	0,00000569	3	2,01331E-05
<i>Totalt</i>				
Antall	10	10	10	
Sum	0,1077	0,1158	0,1623	
Gjennomsnitt	0,01077	0,01158	0,01623	
Varians	6,15912E-05	3,75707E-05	3,01734E-05	

Variansanalyse						
Variasjonskilde	SK	fg	GK	F	P-verdi	F-krit
Utvalg	0,000295 788	1	0,000295788	8,749010348	0,006857529	4,259677273
Kolonner	0,000173 634	2	8,6817E-05	2,567929839	0,097588998	3,402826105
Interaksjon	5,6834E-05	2	2,8417E-05	0,840536557	0,443789368	3,402826105
Innenfor	0,000811 396	24	3,38082E-05			
Totalt	0,001337 652	29				

Tabell 8: Variansanalyse (ANOVA) analyse Forsøk 2 6°

SAMMENDRAG				
<i>Grupper</i>	<i>Antall</i>	<i>Sum</i>	<i>Gjennomsnitt</i>	<i>Varians</i>
NH4	5	0,06	0,012	0,00012
U/N	5	0,08	0,016	0,00003
IMR/2	5	0,1	0,02	0

Variansanalyse

<i>Variasjonskilde</i>	<i>SK</i>	<i>fg</i>	<i>GK</i>	<i>F</i>	<i>P-verdi</i>	<i>F-krit</i>
Mellom grupper	0,00016	2	0,00008	1,6	0,24211737	3,885293835
Innenfor grupper	0,0006	12	0,00005			
Totalt	0,00076	14				

Tabell 9: Variansanalyse (ANOVA) analyse Forsøk 2 10°

SAMMENDRAG				
<i>Grupper</i>	<i>Antall</i>	<i>Sum</i>	<i>Gjennomsnitt</i>	<i>Varians</i>
NH4	5	0,0477	0,00954	0,000014798
U/N	5	0,0358	0,00716	0,000005693
IMR/2	5	0,0623	0,01246	0,000032358

Variansanalyse

<i>Variasjonskilde</i>	<i>SK</i>	<i>fg</i>	<i>GK</i>	<i>F</i>	<i>P-verdi</i>	<i>F-krit</i>
Mellom grupper	0,000070468	2	0,000035234	2,000075687	0,177968413	3,885293835
Innenfor grupper	0,000211396	12	1,76163E-05			
Totalt	0,000281864	14				

Tabell 10 : En oversikt over gjennomsnitt spesifikk vekstrate med standardavvik for *P. palmata* fra Forsøk 2

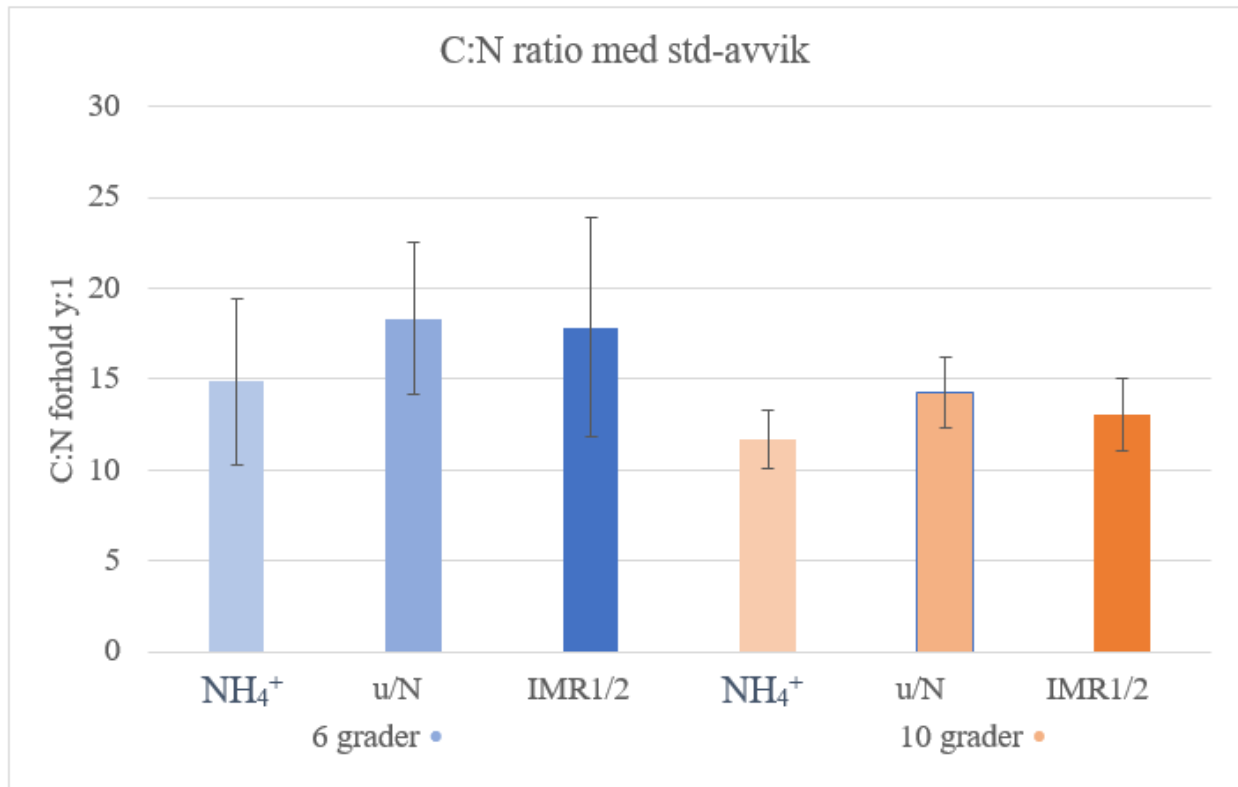
Medium	Snitt SGR (d ⁻¹)	Snitt Std. avvik
NH_4^+ 6°	0,0291	0,0132
u/N 6°	0,0346	0,008
IMR/ 6°	0,0439	0,010
NH_4^+ 10°	0,0287	0,007
u/N 10°	0,0270	0,0125
IMR/2 10°	0,0252	0,010

4.3.2 Sammenlikning av C:N ratio

Etter endt kultiveringsperiode ble det målt C:N ratio på alle individene fra både Forsøk 1 og Forsøk 2.

Forsøk 1

Forsøk 1 viser høyest C:N verdi hos algene kultivert i medium u/N i begge temperaturer. Det ble ikke utført en ANOVA (variensanalyse) på disse resultatene, da de inneholdt hull i data. Lavest gjennomsnitt C:N ratio ble oppnådd av individer k



Figur 22 : Stolpediagrammet viser snitt av målt C:N ratio på algene kultivert i de forskjellige forsøksmediene NH₄⁺, u/N og IMR/2 fra Forsøk 1. De blå stolpene viser alger kultivert i 6° og oransje stolpene viser 10°

Forsøk 2

Forsøk 2 viser også høyest C:N verdi hos alger dyrket i medium u/N. De laveste C:N verdiene ble oppnådd av individer som vokste i NH_4^+ medie.

Figur 23 : Stolpediagrammet viser snitt av målt C:N ratio på algene kultivert i de forskjellige forsøksmediene NH_4^+ , u/N og IMR/2 fra Forsøk 2. De blå stolpene viser alger kultivert i 6° og oransje stolpene viser 10°

4.3.2 Bilder av *P. palmata* fra kultiveringsforsøk i petriskåler:

Under begge forsøkene ble det observert misfarge av individene kultivert i NH_4^+ og u/N, algene som ble kultivert. Det ble også observert hårlignende strukturer på alle individene som ble kultivert



4.Diskusjon:

In situ og laboratoriek eksperimenter

På begge kultiveringsforsøkene *in situ* var resultatene preget av stort tap av undersøkelsesindivider som kan ha gitt utfall på resultatene.

Det ble observert vekst på begge kultiveringsforsøkene. På *P. palmata* ble det observert en vekstrate (SGR) på 26 mg d⁻¹ for individer kultivert i område påvirket av fiskeoppdrett på Frøya. Det ble også observert en vekstrate 16 mg d⁻¹ for på individer av *P. palmata* kultivert på områder med påvirkning i Bergen og en vekstrate på 19 mg d⁻¹ uten påvirkning. Resultatene fra Bergen viser at vekstraten til individer vokst uten påvirkning av fiskeoppdrett er høyere. Årsaken til dette kan være mer epifyttisk vekst på algene kultivert ved fiskeoppdrettsanleggene. Dersom algen er overgrodd kan det hindre lys i å trenge igjennom slik at algen får redusert tilgang til lys. Tidligere studier utført i Nord – Vest Scotland viser blant annet 48% økt vekstrate av *P. palmata* kultivert nærme et lakseoppdrettsanlegg. Studiet viser også at *P. palmata* fjernet opp mot 12 % av avfall nitrogenet fra fiskeoppdrettsanlegget (Sanderson et al. 2012). Et liknende studie gjort av Neori et al. (2000) med *U. lactuca* hvor det ble vist at arten kunne fjerne rundt 80% av ammoniumet som ble skilt ut av kultiveringstanker på land.

De spesifikke vekst ratene observert fra *in situ* studiene på Frøya og i Bergen kan sammenliknes med tidligere studier. I 1999 gjorde Martinez (2006) et liknende eksperiment med kultivering av *P. palmata* i maskeposer i Nord – Vest Spania. Den høyeste spesifikke vekstraten som ble oppnådd var 75 mg FW d⁻¹, denne verdien er høyere enn vekstraten målt i mine undersøkelser. Den spesifikke vekstraten observert i mine studier er derimot relativ like vekstraten Morgan og Simpson (1981b) oppdaget ved kultivering av *P. palmata* i tank kultivering: 0,02 d⁻¹.

Sammenlikning av C:N ratio på områder påvirket av fiskeoppdrett og uten påvirkning av fiskeoppdrett viste en forskjell. I forsøket utført i Bergen var det en signifikant forskjell mellom C:N ratio for *P. palmata* kultivert ved fiskeoppdrettsanlegg (lavere) og *P. palmata* kultivert på referansestasjonene. Det er ønsket så lav C:N ratio som mulig, da økt tilgjengelighet av nitrogen

fører til økt proteinsyntese i algen (Pinchetti et al. 1998). Et høyere proteininnhold i algen kan gi økt kommersiell verdi. Høye C:N forhold kan bli observert i miljø med begrenset nitrogen, da dette fører til økt karbohydrat syntese (Lahaye et al. 1995).

Både på Frøya og i Bergen ble det observert mange epifyttiske organismer på kultiveringsalgene. Epifyttene kan være et problem da de kan redusere algenes kvalitet dersom de skal bli høstet og benyttet kommersielt. Epifyttene kan også være konkurrerende arter for kultiveringsalgen. I dette tilfelle vil de konkurrere om næringsstoffer og lys. Tidligere funn gjort av Morgan et al. (1980b) viser mer epifyttisk vekst ved lav tetthet av alge, lav vannstrøm og høye lysintensiteter. Det ble derfor gjort et kultiveringsforsøk med høy og lav tetthet av *P. palmata*, hvor det ble bevist mer epifyttisk vekst ved lavere tetthet av *P. palmata*. I mitt forsøk var det kun noen få individer ved hvert studie stasjon (<10 individer av hver algart undersøkt), økt tetthet kan muligens redusere problemet med epifytter. Andre studier har også foreslått kultivering av spøkelseskreps sammen med IMTA systemer. Det kan gi en direkte fordel ved at spøkelseskreps kan redusere overvekst av epifytter. Makroalgene kan også fungere som substrat for spøkelseskreps (Woods 2009). Det ble observert store mengder spøkelseskreps under studiet utført i Bergen. Kanskje kontrollert kultivering av spøkelseskreps i IMTA med makroalger kan være en løsning på epifyttproblemet?

Kultiveringsmetode brukt i *in situ* eksperimentene, resulterte i tap av individer (Figur 13 og 15). Liknende studiedesign ble brukt på forsøk gjort av Martinez et al (2006) i Spania, også her ble det observert tap kultiveringsalge. Det er derfor viktig å være kritisk til kultiveringsmetoden som ble benyttet.

Kultiveringseksperimentene i laboratoriet tok for seg to viktige faktorer som påvirker vekst av alger; temperatur og lys i tre forskjellige dyrkningsmedium. Temperaturforskjeller kan påvirke vekst av alger og temperaturen som gir maksimal vekst er ofte lik temperaturen som er observert i algens naturlige habitat (Lobban and Harrison 1997). Optimal veksttemperatur for *P. palmata* er rundt 6° og 15° (Edwards og Dring 2011, Morgan og Simpson 1981, Morgan et al. 1980b, Robbins 1978, Werner og Dring 2011). Det ble derfor brukt henholdsvis 6° og 10° celsius ved dyrking av *P. palmata* for mine forsøk. Forsøk 2 viser en signifikant forskjell mellom algene vokst 6° og 10° celsius. Alger trenger lys for å vokse,

Et interessant funn gjort på algene kultivert i Forsøk 2 er vekst av hårliknende strukturer. I et studie gjort av Rueness et al (1987) ble observert liknende strukturer på *Gracilaria verrucosa* (Huds.) ved lave konsentrasjoner av C:N. Hårliknende strukturer ble observert hos alle individene kultivert i de forskjellige mediene.

På grunn av for få replikater som ble analysert, kan styrken på undersøkelses svekkes. Derfor kan det være en risiko for å gjøre en Type I feil ved å avslå nullhypotesen selv om det er sant eller en Type II feil ved å godta null hypotesen (Neyman og Pearson 1993a, b, Nickerson 2000).

Referanser

Agngarayngay, Z. M., A.F.C. Llaguno, S.G. Aquino, L.B. Taclan and E.S. Galacgac. 2005. Edible seaweed of Ilcos Norte: food preparations other local uses and market potentials. Sulu-Celebes Sea Sustainable Fisheries Management Project, South Triangle, Quezon City, p. 27.

Arasaki, S. and T. Arasaki. 1983. Low Calorie, High Nutrition Vegetables from the Sea. To Help You Look and Feel Better. Japan Publications Inc, Tokyo, p. 196.

Barsanti, L., and P. Gualtieri. 2014. Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology, 2nd Edition. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL.

Bonotto, S. 1976. Cultivation of plants: multicellular plants, pp. 468-529. In: O. Kinne (ed.). Marine Ecology III (I). John Wiley and Sons, London.

Braune, W. and M. Guiry. 2011. Seaweeds—A colour guide to common benthic green. In: A.R.G. Gartner (ed.). Brown and Red Algae of the World's Oceans. K.G. Verlag, Ruggell, p. 601.

Chopin, T., S. Robinson, M. Sawhney, S. Bastarache, E. Belyea, R. Shea, W. Armstrong, I. Stewart and P. Fitzgerald. 2004. The AquaNet Integrated Multi-Tropic Aquaculture Project: Rationale of the project and development of kelp cultivation as the inorganic extractive component of the system. Bull. Aquacul. Assoc. Canada 104-3, pp. 11-18.

FAO. 2013. <http://www.fao.org/fishery/affris/species-profiles/atlantic-salmon/nutritional-requirements/en/>

Guiry, M.D., and G. Blunden. 1991. Seaweed resources in Europe, Use and potential. John Wiley & sons.

Guiry, M.D. and C.C. Hession. **1998.** The seaweed resources of Ireland, pp. 210-216. In: A.T. Critchley and M. Ohno (eds.). *The Seaweed Resources of the World.* Japan International Cooperation Agency, Yokosuka, Japan.

Hallsson, S.V. **1961.** The Uses of Seaweed in Iceland. Fourth International Seaweed Symposium, France.

Handå, A., S. Forbord, X. Wang, O.J. Broch, S.W. Dahle, T.R. Størseth, K.I. Reitan, Y. Olsen, and J. Skjermo. **2013.** Seasonal- and depth-dependent growth of cultivated kelp (*Saccharina latissimi*) in close proximity to salmon (*Salmo salar*) aquaculture in Norway. *Aquaculture* 414-415, pp. 191-201.

Harrison, M. **2013.** *Armageddon Cookbook and Doomsday Kitchen.* Wild Food School—Marcus Harrison, Lostwithel, Cornwall, UK, pp. 127-133.

Hoek, C., D.G. Mann and H.M. Jahns. **1995.** *Algae, An introduction to phycology.* Cambridge University Press, Cambridge.

Irianto, E.H. and Syamdidi. **2015.** Production, handling and processing of seaweed, pp.359-375. In: Se-Kwon Kim (ed.). *Seafood Science: Advances in Chemistry, Technology and Applications.* CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL.

Istini, S., A. Zatinika and W. Sujatmiko. **1998.** The seaweed resources of Indonesia, pp. 92-98. In: A. T. Critchley, M. Ohno, D. B. Largo and R. D. Gillespie (eds.). *Seaweed Resources of the World.* Japan International Cooperation Agency, Yokosuka, Japan.

Johnston, H.W. **1966.** The biological and economic importance of algae, 2. *Tuatara* 14(1), pp. 30-62.

Kaliaperumal, N., S. Kalimuthu and J.R. Ramalingam. **1995.** Economically important seaweeds, pp. 1-35. In: M. Devaraj (ed.). *Special Publication 62.* Central Marine Fisheries Research Institute, Indian Council of Agricultural Research, Cochin, India.

Khunlein, H.V. and N.J. Turner. **1996**. Traditional Plant Foods of Canadian Indigenous Peoples- Nutrition, Botany and Uses. Gordon and Breach Publishers, Amsterdam, The Netherlands, p. 635.

Lobban, C.S., and P.J. Harrison. **1997**. Seaweed Ecology and Physiology. The United States of America. Cambridge University Press.

Lüning, K., and W. Freshwater. **1988**. Temperature tolerance of Northeast Pacific marine-algae. Journal of Phycology 24 (3), pp. 310-315.

Madlener, J.C. **1977**. The Sea Vegetable Book: Foraging and Cooking Seaweed. Clarkson N. Potter, Inc. Publishers, New York, p. 288.

Martinez, B., R.M. Viejo, J.M. Rico, R.H. Rødde, V.A. Faes, J. Oliveros, D. Álvarez. **2006**. Open sea cultivation of *Palmaria palmata* (Rhodophyta) on the northern Spanish coast. Departamento de Biología de Organismos y Sistemas, Universidad de Oviedo. In: Aquaculture 254, pp. 376–387.

McHugh, D.J. **2003**. A guide to the seaweed industry. FAO Fisheries Technical Paper 441:1, pp. 1-105.

Michanek, G. **1975**. Seaweed Resources of the Ocean. FAO, Fisheries Technical Paper nr. 138.

Morgan, K.C., P.F. Shacklock and F.J. Simpson. **1980b**. Some Aspects of the Culture of *Palmaria palmata* in Greenhouse tanks. Botanica Marina, pp. 765-770.

Morgan, K.C. and F.J. Simpson. **1981a**. The cultivation of *Palmaria palmata*—Effect of light-intensity and nitrate supply on growth and chemical-composition. Botanica Marina 24 (5), pp. 273-277.

Mouritsen, O.G., C. Dawczynski, L. Duelund, G. Jahreis, W. Vetter and M. Schröder. **2013**. On the human consumption of the red seaweed dulse (*Palmaria palmata* L.) Weber & Mohr. *Journal of Applied Phycology* 25: pp. 1777-1791.

Nang, H.Q. **2006**. The seaweed resources of Vietnam. In: A.T. Critchley, M. Ohno and D.B. Largo (eds.). *World Seaweed Resources—An Authoritative Reference System*. ETI Information Services Ltd. Hybrid Windows and Mac DVD-ROM; ISBN: 90-75000-80-4.

Neyman, J. and E.S. Pearson. **1933**. On the Problem of the most efficient tests of statistical inference. *Biometrika* 20A, pp.175-294.

Nickerson, R.S. **2000**. Null Hypothesis Significance Testing: A Review of an Old and Continuing Controversy. *Psychological Methods* 5 (2), pp 241-301.

Pereira, L. **2010b**. Littoral of Viana do Castelo—ALGAE (Bilingual). Uses in Agriculture Gastronomy and food Industry (Bilingual). Câmara Municipal de Viana do Castelo, VC, Portugal, p. 68.

Pereira, L. **2011**. Chapter 2—A review of the nutrient composition of selected edible seaweeds, pp. 15-47. In: Vitor H. Pomin (ed.). *Seaweed: Ecology, Nutrient Composition and Medicinal Uses*. Nova Science Publishers Inc., New York.

Pereira, L. **2015a**. Seaweed flora of the European north Atlantic and Mediterranean, pp.65-178. In: Se-Kwon Kim (ed.). *Handbook of Marine Biotechnology, Part A*. Springer, London.

Pereira, L. **2016**. *Edible Seaweeds of the World*. Department of Life Sciences. MARE – Marine and Environmental. University of Coimbra, Portugal. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, pp. 9-20.

Rahman, S. 2002. Molluscan Fauna of Intertidal Rocky Ledges of Karachi—A Comparative Ecological Study. Ph.D. Thesis, Department of Zoology, University of Karachi, Pakistan, p. 636. Available online at: <http://pr.hec.gov.pk/Chapters/10-8.pdf>

Roo, P.V.S., V.A. Mantri, K. Ganesan and K.S. Kumar. 2007. Seaweeds as human diet: an emerging trend in the new millennium. pp. 85-96. In: R. K. Gupta and V. D. Pandey (eds.). *Advances in Applied Phycology*. Daya Publishing House, New Delhi.

Ruess, J., H.A. Mathisen and T. Tanger. 1987. Culture and Field Observations on *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenf. (Rhodophyta) from Norway. University of Oslo, Marine Botany Section, Department of Biology. Norway. *Botanica Marina*, Vol. 30, pp. 267-276.

Sanderson, J.C., C.J. Cromey, M.J. Dring, M.S. Kelly. 2008. Distribution of nutrients for seaweed cultivation around salmon cages at farm sites in north-west Scotland. *Aquaculture* 278, pp. 60–68.

Sanderson, J. C., M.J. Dring, K. Davidson, M.S. Kelly. 2012. Culture, yield and bioremediation potential of *Palmaria palmata* (Linnaeus) Weber & Mohr and *Saccharina latissimi* (Linnaeus) C.E. Lane, C. Mayes, Druehl & G.W. Saunders adjacent to fish cages in northwest Scotland. *Aquaculture* 354, pp. 128-135.

Sidik, B.J., Z.M. Harah and S. Kawaguchi. 2012. Historical review of seaweed research in Malaysia before 2001. *Coastal Marine Science* 35(1), p. 169-177.

Skjermo, J., I.M. Aasen, J. Arff, O.J. Broch, A. Carvajal, H. Christie, S. Forbord, Y. Olsen, K.I. Reitan, T. Rustad, J. Sandquist, R. Solbakken, K.B. Steinhovden, B. Wittgens, R. Wolff, and A. Handå. 2014. A Norwegian bioeconomy based on cultivation and processing of seaweeds: Opportunities and R&D needs. *SINTEF Fisheries and Aquaculture*.

Tseng, C.K. 1983. Common seaweeds of China. Science Press, p. 316.

Van der Meer, J.P. and E.R. Todd. **1980**. The life history of *Palmaria palmata* in culture. A new type for the Rhodophyta. Canadian Journal of Botany 58, pp. 1250-1256.

Wang, X., O.J. Broch, S. Forbord, A. Handå, J. Skjermo, K.I. Reitan, O. Vadstein, Y. Olsen. **2014**. Assimilation of inorganic nutrients from salmon (*Salmo salar*) farming by the macroalgae (*Saccharina latissima*) in an exposed coastal environment: implications for integrated multi-trophic aquaculture. J Appl Phycol DOI 10.1007/s10811-013-0230-1.

Zemke-White, W.L. and M. Ohno. **1999**. World seaweed utilisation: an end-of-century summary. Journal of Applied Phycology 11, pp. 369-376.