Stabile svovlisotoper i havgræsser

Igennem de senere år har brugen af stabile C og N isotoper gået sin sejrsgang indenfor biologien, ikke mindst i fødekædestudier, hvor der er gjort nye opdagelser f.eks. af fødevalg hos havdyr. Forbedrede analysemetoder gør, at der stadig kommer nye isotoper til, og vi har arbejdet med den stabile svovlisotop (^{34}S) som har vist sig at være en god indikator for indtrængen af sulfid i havgræsser.

Marianne Holmer
Morten Søby Frederiksen

Hvorfor nu arbejde med svovlisotoper og sulfidindtrængen i havgræsser? Jo, det er der mindst to gode grunde til. For det første er havgræsser i tilbagegang verden over og udover forringede lysforhold, som antages at være den vigtigste faktor for tilbagegangen, så kan indtrængen af giftig sulfid i planterne som følge af forøget sulfidproduktion i havbunden være en vigtig årsag til forringede livsvilkår for havgræsserne /1/. For det andet har stabile isotoper potentiale som indikator for tidlige stresssymptomer i havgræsser, og det bliver måske muligt at forbedre miljøforholdene før det er for sent. Det har vist sig at være yderst vanskeligt at finde gode indikatorer for havgræssers tilbagegang.

Havgræsser er en vigtig brik for produktiviteten og stabiliteten i kystøkosystemer og har stor betydning for kystzoners modstandsdygtighed overfor ydre påvirkninger, som f.eks. næringssaltbelastning.

Hvor kommer sulfiden fra?

Den bakterielle sulfatreduktion spiller en vigtig rolle for omsætningen af organisk stof i havbunden. Det betyder, at havbunden ofte er stærkt reduceret som følge af forekomsten af sulfid. Havgræsser, herunder ålegræs (Foto 1), er tilpasset til havmiljøet ved at have et veludviklet luftkanalsystem igennem hele planten og ud i rødderne. Rødderne holdes oxiske ved diffusion af ilt via bladene /2/. Om dagen produceres ilt ved fotosyntesen og om natten kommer ilten fra vandfasen. Under normale forhold vil en del af ilten diffundere ud i havbunden og opretholde en oxisk zone omkring rodspidserne, hvilket er en meget vigtig mekanisme for at undgå indtrængen af sulfid (Foto 2). Sulfid er en plantegift, som bl.a. hæmmer enzymer og dermed aktive processer. Hvis havgræsserne ikke er i stand til at opretholde oxiske forhold i rødderne, f.eks. ved hæmning af fotosyntesen pga. lysmangel eller hvis der opstår iltfrie forhold i vandfasen, kan sulfid trænge ind i planten og beskadige denne. Det kan f.eks ske i varme stille somre, hvor der er iltsvind i havgræsbedene om natten, og der er observeret stor dødelighed hos ålegræs. Eksperimenter har vist at ålegræs dør efter få dages eksponering til iltfrie eller sulfidholdige forhold i vandfasen /3/.

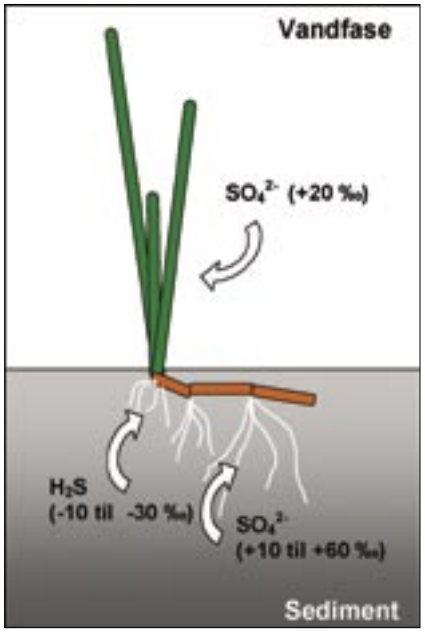
Stabile svovlisotoper

Stabile svovlisotoper kan anvendes som indikator for sulfidindtrængen, da de sulfatreducerende bakterier diskriminerer for den stabile svovlisotop ^{34}S under reduktionen af sulfat til sulfid. Det betyder at sulfidpuljerne i sedimentet vil have et andet isotopsignal end sulfaten i havvandet (Fig 1). Under normale forhold optager havgræsserne sulfat via bladene, og isotopsammensætningen for en sund havgræs er den samme som havvandets sulfat-signal dvs. omkring +20‰. Sker der derimod en indtrængen af sulfid via rodsystemet, forventes isotop-sammensætningen at forskubbe sig mod sulfidsignalet (-10‰ til -30‰), og det er denne hypotese vi har undersøgt i havgræsenge i Danmark og Middelhavet.

Sulfidindtrængen i ålegræs

Vi undersøgte årstidsvariation i den stabile $\delta^{34}S$ isotop i ålegræs (Foto 1) på forskellige lokaliteter i Roskilde Fjord og Øresund, og fandt at $\delta^{34}S$ var lavere end sulfat-signalet i såvel blade, rhizomer og rødder, hvilket tyder på at en del af det indbyggede S i ålegræs stammer fra sulfid, og altså ikke kun fra sulfat som hidtil antaget. Vi fandt, at andelen af sulfid altid var højest i rødderne, hvor vi forventer at sulfiden trænger ind, men den var

Foto 1. *Ålegræs-enge findes langs alle danske kyster undtagen ved Vesterhavet, hvor der er for stor bølgepåvirking til at planterne kan sidde fasthæftet i havbunden.*



Figur 1. *Svovl-isotopværdier ($\delta^{34}S$) for de forskellige svovlkilder, som havgræsserne har adgang til. Sulfat (SO_4^{2-}) har positive værdier i både vandfasen og havbunden, mens sulfiden (H_2S) er negativ. Hvis planten har værdier lavere en sulfat-signalet tyder det på, at den har optaget sulfid, og det er denne ændring vi benytter til at beregne sulfidindtrængen i planterne.*

Box 1: Hvad dækker betegnelsen $\delta^{34}S$ over?
I daglig tale siger vi "delta-34-S", hvilket refererer til forholdet mellem den sjældne ^{34}S isotop og den hyppigt forekommende ^{32}S isotop. Isotopsignalet angives i promille (‰) og beregnes således:

$$\delta^{34}S = ((R_{prøve} / R_{standard})-1) \times 1000$$

hvor $R_{prøve}$ = ^{34}S / ^{32}S i prøven og $R_{standard}$ er isotopsammensætningen af troilit fra Canyon Diablo meteoritten fundet i Arizona. Dette er internationalt anerkendt standard, som alle svovlisotopmålinger kalibreres med.

også forbavsende høj i rhizomerne og i bladene hvor mellem 31% og 51% af plantens S stammer fra sulfid (Fig. 2). Der var en positiv sammenhæng mellem indholdet af sulfid i havbunden og andelen af sulfid i planterne, som indikerer at sedimentforholdene spiller en rolle for planternes S sammensætning. Der var også klare sammenhænge mellem $\delta^{34}S$ og indholdet af S i planterne, og $\delta^{34}S$ signalet var tydeligt lavere ved højere indhold af S i planten. Samtidig fandt vi en akkumulering af elementært svovl inde i planterne, hvilket vi formoder skyldes en oxidation af indtrængende sulfid, hvorved der sker en afgiftning af sulfiden. Når sulfid kommer i kontakt med ilt inde i planten kan sulfid oxideres, og elementært svovl er formentlig blot et af forskellige oxidationsprodukter (Ligning 1). $\delta^{34}S$ signalet i det elementære svovl havde samme signal som sedimentets sulfid, og der er derfor ingen tvivl om at sulfiden er trængt ind i planterne.

Der var dog ingen massedødshændelser på de undersøgte lokaliteter i undersøgelsesperioden og resultaterne tyder derfor på, at ålegræs er i stand til at tolerere en indtrængen af sulfid i hele planten.

Ligning (1) $H_2S + O_2 \rightarrow S^0$

Havbrug i Middelhavet

I Middelhavet har vi undersøgt den langtsomt voksende havgræs *Posidonia oceanica*, som er den mest udbredte havgræs i Middelhavet (Foto 3). Tilsvarende vores hjemlige ålegræs er havgræs generelt i tilbagegang og vi har undersøgt om havbrugsdrift bidrager til tilbagegangen. I Middelhavet er havbrugsindustrien i hastig vækst. Man bruger de samme principper som er kendt herhjemme for ørredopdræt i havet med fodring af fisk i netbure. Ved denne form for opdræt udledes opløste næringssalte og fine partikler synker ned på havbunden. Det betyder bla. at sulfatreduktionsraterne i havbunden og dermed sulfidproduktionen er væsentligt forøgede nær netburene, og der er dermed potentiale for øget sulfidindtrængen i havgræsserne. Vi har fundet, at havgræsserne er meget følsomme overfor havbrugsdrift, da de dør tæt ved netburene. $\delta^{34}S$ signalet viser, at der er en større indtrængen af sulfid tæt ved netburene og det kan være en medvirkende faktor til havgræssernes tilbagegang (Fig. 3). I modsætning til ålegræs var der ingen akkumulering af sulfid i bladene, men kun i rødder og rhizomer.

Perspektiver

Både i Danmark og Middelhavet viser isotopanalyserne i planterne en respons til havbundens indhold af sulfid. Resultaterne er på flere måder overraskende, idet havgræsserne på alle lokaliteter viser tegn på sulfidindtrængen i rødder og rhizomer, og sulfidindtrængen må derfor antages at være et naturligt fænomen, som finder sted i planter som ikke er belastet af ydre faktorer. En sådan naturlig indtrængen af sulfid kan være en fordel for havgræsserne, idet energiforbruget til indbygning af sulfid i levende celler er mindre sammen-

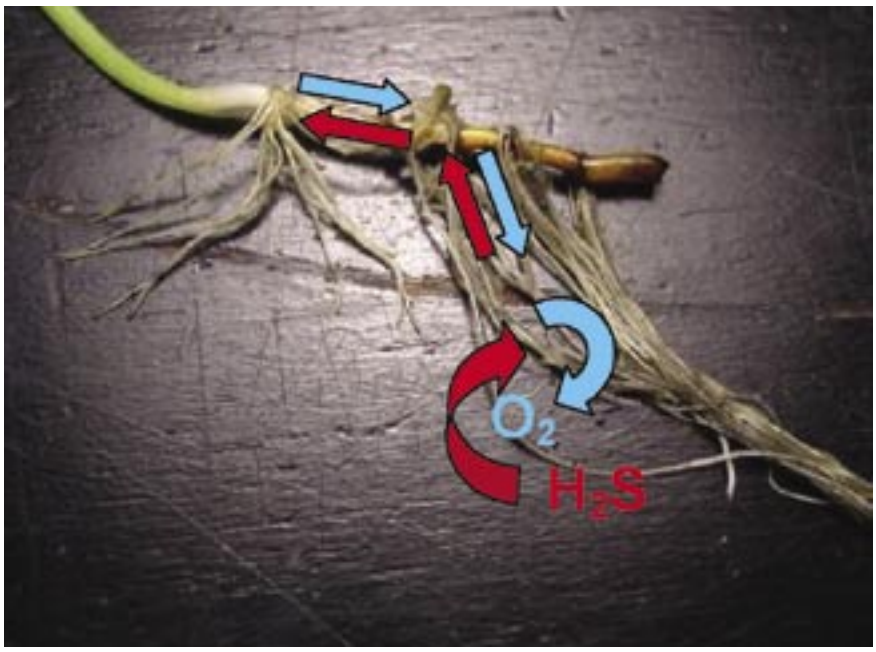
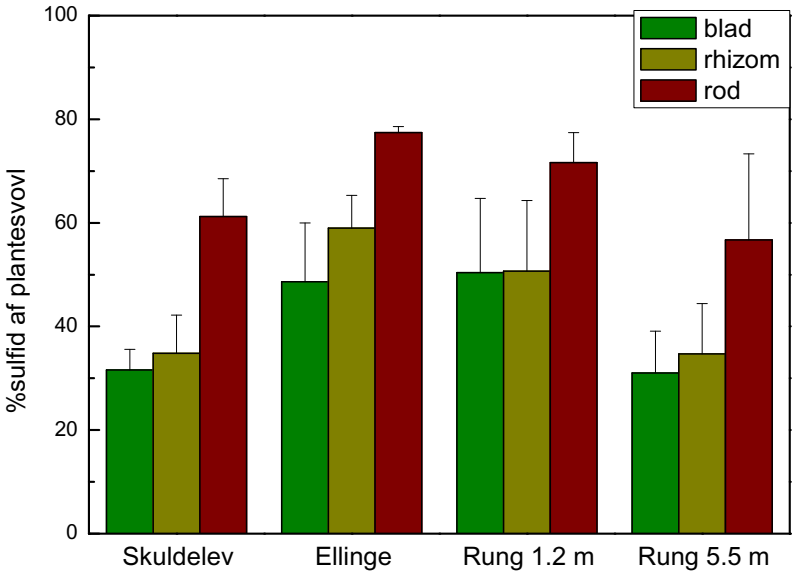


Foto 2. *Ilt (O2) og sulfid (H2S) transport i ålegræs rødder og underjordisk stængel. Ilt transporteres igennem bladene til rodspidserne og ud i havbunden. Under ekstreme forhold, f.eks. om natten ved iltsvind, kan sulfiden trænge ind i planten via rodspidserne og transporteres op i bladene.*



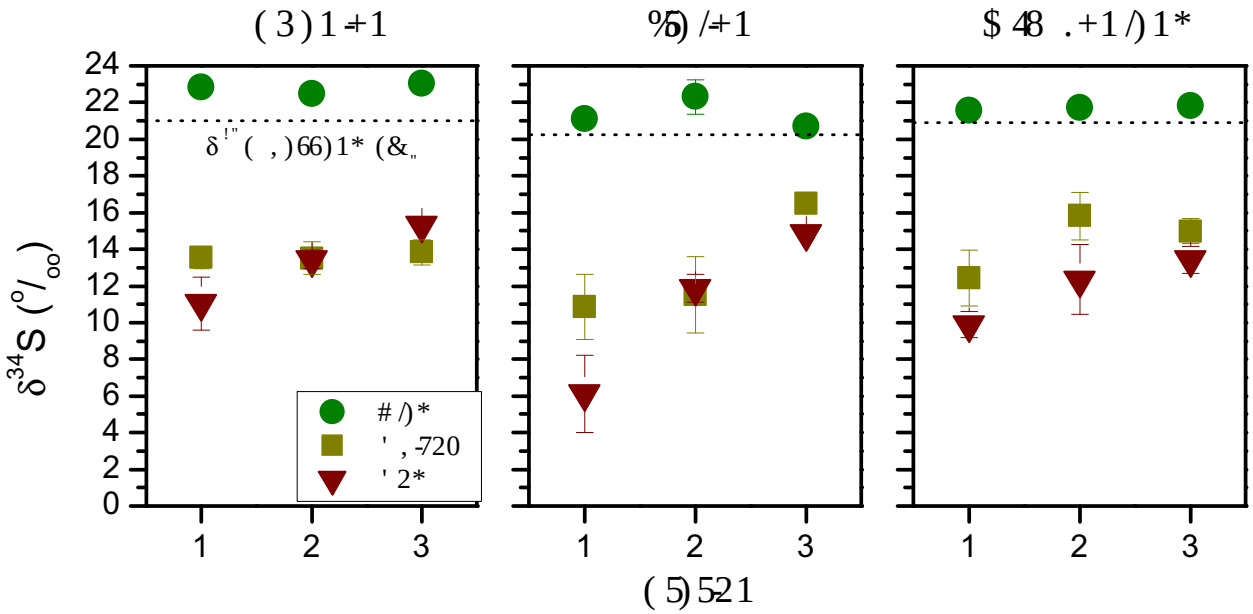
Figur 2. *Andelen af svovl i ålegræs som stammer fra sulfid i havbunden på 4 stationer i Danmark. To af stationerne er beliggende i Roskilde fjord og 2 i Øresund, hvor den ene er på lavt vand (1.2 m) og den anden nær dybdegrænsen for ålegræs (5.5 m). Der var ingen signifikante forskelle mellem stationer, men en høj sulfidindtrængen i alle planter, højest i rødderne.*

lignet med sulfat. Omvendt må det betyde, at havgræsserne er i stand til at tolerere sulfid internt i planten, og netop luftkanalsystemet kan være en vigtig faktor til oxidering af "overskydende" sulfid.

Er sulfid så overhovedet giftigt for havgræsserne? Vores hypotese er, at sulfiden for alvor kan skade havgræsserne når det kommer op i bladene, idet sulfiden på vejen til bladene passerer havgræssernes vækstpunkt, meristemet. Her foregår en lang række essentielle processer blandt andet hyppig celledeling, hvortil en lang række enzymaktive processer er tilknyttet. Her kan sulfiden lave ubodelig skade ved at hæmme enzymer, og dermed nedsætte væksten, reducere skuddannelse og i ekstreme tilfælde føre til plantedød. Ålegræs ser ud til at kunne tolerere at sulfid akkumulerer i bladene, mens *Posidonia oceanica* udviser stor dødelighed allerede ved indtrængen af sulfid i rødder og rhizomer. Der er altså tale om store forskelle i sulfidtolerance mellem arter, og endnu har vi for lidt kendskab til de komplekse samspil mellem sulfidindtrængen og planternes fysiologi.

Kan der gøres noget nu og her for at afhjælpe havgræssernes tilbagegang? Selvom lysforholdene er forbedret i en række fjorde i Danmark og der dermed er potentiale for at genetablere tabte bestande, går det meget langsomt /4/. Det kan skyldes at havbundsforholdene er forandrede f.eks. at der er højere sulfidindhold som overstiger ålegræssets tolerance overfor sulfid. I Middelhavet er det specielt de langsomt voksende havgræsser som er i hastig tilbagegang uden at man er klar over de bagvedliggende mekanismer /1/. Disse studier viser, at de stabile isotoper kan bidrage til en større forståelse af havbundsforholdenes betydning for havgræssernes udbredelse.

Foto 3. *Posidonia oceanica er udbredt langs Middelhavets kyster og vokser fra få meters dybde og op til 30-40 meter ved gode lysforhold. Havgræssen vokser meget langsomt, producerer sjældent frø og spreder sig kun få cm pr. år sammenlignet med ålegræs, som har en stor frøproduktion og spreder sig op til 20 cm pr. år.*



Figur 3. *Svovlisotop-signalet for havgræssen Posidonia oceanica i forskellig afstand fra havbrug i Middelhavet, hvor Sta. 1 ca. 10 m og Sta. 2 ca. 30 m fra netburene, mens Sta. 3 er en kontrolstation 1 km væk. Signalet i bladene svarer til sulfat-signalet i havvand og viser at bladene har optaget svovl fra havvand, mens signalet i rødder og rhizomer er lavere. Disse har optaget sulfid fra havbunden, og da signalet er lavest tæt ved netburene er optaget størst her. Det falder sammen med at også havgræssernes dødelighed er størst tæt ved netburene.*

ANBEFALET LÆSNING:

/1/ Duarte CM (2002). The future of seagrass meadows. Environmental Conservation 29(2): 192-206

/2/ Pedersen O, Binzer T, Borum J (2004). Sulfide intrusion in eelgrass (Zostera marina L.) Plant, Cell and Environment 27: 595-602

/3/ Holmer M, Bondgaard EJ (2001). Photosynthetic and growth response of eelgrass to low oxygen and high sulfide concentrations during hypoxic events. Aquat. Bot. 70:29-38

/4/ Frederiksen M, Krause-Jensen D, Holmer M, Laursen JS (2004) Long-term changes in area distribution of eelgrass (Zostera marina) in Danish coastal waters. Aquat. Bot. 78:167-181

MARIANNE HOLMER er lektor på Biologisk Institut, Syddansk Universitet, Campusvej 55, 5230 Odense M. Email: holmer@biology.sdu.dk

Naturklagenævnet orienterer

Naturklagenævnet behandler mange ankesager. Blandt de mere tankevækkende afgørelser er 2 sager fra 2005 om VVM screening af husdyrbrug, belastning med næringsstoffer og relationen til Habitatdirektivet. Begge sager har paralleller, men der er truffet forskellig afgørelser af Naturklagenævnet.

I den ene sag havde Ribe Amt besluttet at en udvidelse af et husdyrbrug med 36 DE i oplandet til Vadehavet ikke er VVM pligtig. Ganske vist mener Ribe Amt, at Vadehavet ikke opfylder målsætningen for den gunstige bevaringsstatus af habitatetområdets udpegningsgrundlag, men dog samtidig at udvidelsen ikke vil få væsentlige negative konsekvenser. Amtet konkluderede derfor, at udvidelsen ikke er VVM pligtig. Denne opfattelse er Naturklagenævnet enig i og stadfæstede amtets afgørelse. Altså ikke VVM pligt.

I en tilsvarende sag havde Fyns Amt besluttet, at en udvidelse af et husdyrbrug med 18 DE i oplandet til Odense Fjord ikke er VVM pligtig. Amtet mener, at Odense Fjord ikke opfylder målsætningen for den gunstige bevaringsstatus for habitatområdet, og at enhver merbelastning er en risiko for at påvirke udpegningsgrundlaget, men dog samtidig at belastningen ikke var så stor at der kræves en VVM. Naturklagenævnet er uenig og kræver en VVM gennemført.

Forskellen i de 2 sager synes at ligge i formuleringerne i amternes afgørelser. Hvis amterne vurderer at der er en 'risiko' for udpegningsgrundlaget så er det VVM men hvis det er en 'uvæsentlig' påvirkning så er det ikke VVM (læs mere på NKN hjemmeside afgørelse 360, September 2005)

SDA

NORDROCS 20.-21. september 2006 i Malmø, Sverige

Mødet er annonceret som '1st Joint Nordic Meeting on Remediation of Contaminated Sites'

NORDROCS fokuserer på det seneste nye indenfor undersøgelser og rensningsteknikker for forurenede grunde for både jord og grundvand. Hovedemnerne på mødet vil være:

- STATE-OF-THE-ART PROJECTS FROM THE NORDIC COUNTRIES
- NEW CONTAMINENTS
- RISK ASSESSMENT
- CONTAMINATED WATERS AND SEDIMENTS
- LANDFILL DIRECTIVE AND LEACHING TESTS
- REMEDIATION TECHNOLOGIES.

Se nærmere på info@renaremark.se
Du kan også kontakte Lars Elkjær, lel@watertech.dk