

STENREV SOM MULIGT KVÆLSTOFVIRKEMIDDEL

Vækstbetingelser for bentiske alger og deres betydning for ilt- og næringsstofdynamikken i Limfjorden

Videnskabelig rapport fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi

nr. 394

2020



[Tom side]

STENREV SOM MULIGT KVÆLSTOFVIRKEMIDDEL

Vækstbetingelser for bentiske alger og deres betydning for ilt- og næringsstofdynamikken i Limfjorden

Videnskabelig rapport fra DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi

nr. 394

2020

Peter Anton Stæhr¹ Stiig Markager¹ Signe Høgslund¹ Jens Würgler Hansen¹ Denise Tonetta¹ Sanjina Upadhyay¹ Mette M. Nielsen²

¹ Aarhus Universitet, Institut for Bioscience ² DTU Aqua, Dansk Skaldyrscenter



Datablad

Serietitel og nummer:	Videnskabelig rapport fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi nr. 394
Kategori:	Rådgivningsrapporter
Titel: Undertitel:	Stenrev som muligt kvælstofvirkemiddel. Vækstbetingelser for bentiske alger og deres betydning for ilt- og næringsstofdynamikken i Limfjorden
Forfattere: Institutioner:	Peter Anton Stæhr ¹ , Stiig Markager ¹ , Signe Høgslund ¹ , Jens Würgler Hansen ¹ , Denise Tonetta ¹ , Sanjina Upadhyay ¹ & Mette M. Nielsen ² ¹ Aarhus Universitet, Bioscience & ² DTU Aqua, Dansk Skaldyrscenter
Udgiver: URL:	Aarhus Universitet, DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi © http://dce.au.dk
Udgivelsesår: Redaktion afsluttet:	November 2020 Oktober 2020
Faglig kommentering: Kvalitetssikring, DCE: Sproglig kvalitetssikring:	Bo Riemann Anja Skjoldborg Hansen Bo Riemann
Ekstern kommentering:	Kommentarerne findes her: http://dce2.au.dk/pub/komm/SR394_komm.pdf
Finansiel støtte:	Miljø- og Fødevareministeriet
Bedes citeret:	Stæhr, P.A., Markager, S., Høgslund, S., Hansen, J.W., Tonetta, D., Upadhyay, S. & Nielsen, M.M. 2020. Stenrev som muligt kvælstofvirkemiddel. Vækstbetingelser for bentiske alger og deres betydning for ilt- og næringsstofdynamikken i Limfjorden. Aarhus Universitet, DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi, 108 s Videnskabelig rapport nr. 394. <u>http://dce2.au.dk/pub/SR394.pdf</u>
	Gengivelse tilladt med tydelig kildeangivelse
Sammenfatning:	Denne rapport præsenterer data, der danner fagligt grundlag for at vurdere, om genetablering af stenrev i Limfjorden kan udgøre et virkemiddel, der på sigt kan bidrage til at reducere den interne næringsstofbelastning og samtidig forbedre den økologiske tilstand i Limfjorden. Dette bliver i rapporten belyst gennem en omfattende række eksperimentelle og feltbaserede studier af lyskrav og fysiologisk stress hos makroalger, lysforhold på bunden, vandkvalitet og processer af betydning for ilt- og kvælstof dynamik i Limfjorden. Resultaterne viste, at stenrev i Limfjorden, ikke havde positive effekter på iltforhold og på tilbageholdelse og fjernelse af kvælstof eller fosfor. En væsentlig årsag til de udeblevne effekter af makroalger, var dels de meget lave dækningsgrader (biomasser) af store flerårige makroalger, men også at revene er forholdsvis små og domineres af kolonidannende dyr. Der kræves en reduktion i lyssvækkelsen på op mod 42%, før makroalger kan forventes at bidrage positivt til iltproduktionen på større dybder i Løgstør Bredning og dermed øge tilbageholdelsen af kvælstof og fosfor i fjordbunden.
Emneord:	Stenrev, Limfjorden, Ilt, Kvælstof, Fosfor, Lysforhold, Makroalger, Virkemiddel
Layout: Foto forside:	Grafisk Værksted, AU Silkeborg Stenrev i Bjørnsholm Bugt domineret af fauna. Foto af Peter A. Stæhr
ISBN: ISSN (elektronisk):	978-87-7156-518-8 2244-9981
Sideantal:	108
Internetversion:	Rapporten er tilgængelig i elektronisk format (pdf) som <u>http://dce2.au.dk/pub/SR394.pdf</u>

Indhold

Foi	rklarin	g af forkortelser og symboler anvendt i rapporten	5
1	Foro	rd	6
2	Sam	menfatning	7
3	Sum	mary	9
4	Bag	grund og formål med rapporten	10
	4.1	Beskrivelse af undersøgelsesområde og måleprogrammet	11
5	Mak høje	roalgers fysiologi: Lyskrav og følsomhed for iltsvind og temperaturer	12
	5.1	Makroalgers lyskrav for isolerede thallusstykker	13
	5.2	Makroalgers lyskrav for hele algesamfund	17
	5.3	Sammenligning af lyskrav for thallusstykker og hele	25
	E /ı	algesamtuna	25
	0.4 5.5	Makroalgers respons palitsvilla og høje temperaturer Delkonklusion – makroalgers fysiologi	20 22
	0.0	Deixonkusion - maxioaigeis tysiologi	00
6	Resp	pirationsrater for dominerende dyrearter i Bjørnsholm Bugt	35
	6.1	Metoder	35
	6.2	Resultater og diskussion	36
	6.3	Delkonklusion – respirationsrater hos dyr	37
7	Lysfe	orhold ved bunden	38
	7.1	Metoder	38
	7.2	Resultater og diskussion	39
	7.3	Delkonklusion - lysforhold ved bunden og betydning af	
		lysabsorberende komponenter	46
8	Und	ersøgelser af iltdynamikken på og uden for eksisterende	
	sten	rev	48
	8.1	Metodebeskrivelser	48
	8.2	Resultater og diskussion	54
	8.3	Delkonklusion – Iltdynamik på og uden for eksisterende	
		stenrev	/1
9	Und	ersøgelser af næringsstofdynamikker og sedimentforhold a uden for eksisterende stenrov	7/-
		Metadabaskrivalser	74
	7.1 0つ	Resultater og diskussion	74
	9.3	Delkonklusion – Næringsstofdyngmik på- og uden for	70
	, 10	eksisterende stenrev	83

Samle	et konklusion og anbefalinger	84
10.1	Makroalgers lyskrav og følsomhed over for ilt- og	
	temperaturstress	84
10.2	Betydning af lysforhold ved bunden for iltbalancen	
	omkring stenrev	84
10.3	Betydning af stenrev for iltdynamikken i fjorden	85
10.4	Betydningen af stenrev for fjordens næringsstofdynamik	86
10.5	Anbefalinger	86
Refer	encer	88
Bilag		93
Bilag	1. Dataindsamling	93
Bilag	2. Placering af målestationer	96
Bilag	3. Stationer ved Livø revet	97
Bilag	4. Sammenligning af bentiske rater	98
Bilag	5. Sedimentforhold	99
Bilag	6. Artsopgørelse	100
Bilag	7. Bentiske mikroalger	101
Bilag	8. Autotrof og heterotrof biomasse	102
Bilag	9. Iltnedtrængningsdybden	103
Bilag	10. Dybdeprofiler i Bjørnsholm Bugt	104
Bilag	11. Dybdeprofiler ved Livø	105
Bilag	12. Diffusivt iltoptag	106
Bilag	13. Ammoniumudveksling	107
	Samle 10.1 10.2 10.3 10.4 10.5 Refer Bilag Bilag Bilag Bilag Bilag Bilag Bilag Bilag Bilag Bilag Bilag Bilag Bilag	 Samlet konklusion og anbefalinger 10.1 Makroalgers lyskrav og følsomhed over for ilt- og temperaturstress 10.2 Betydning af lysforhold ved bunden for iltbalancen omkring stenrev 10.3 Betydning af stenrev for iltdynamikken i fjorden 10.4 Betydningen af stenrev for fjordens næringsstofdynamik 10.5 Anbefalinger Referencer Bilag Bilag 1. Dataindsamling Bilag 2. Placering af målestationer Bilag 3. Stationer ved Livø revet Bilag 4. Sammenligning af bentiske rater Bilag 5. Sedimentforhold Bilag 6. Artsopgørelse Bilag 7. Bentiske mikroalger Bilag 8. Autotrof og heterotrof biomasse Bilag 9. Iltnedtrængningsdybden Bilag 10. Dybdeprofiler ved Livø Bilag 11. Dybdeprofiler ved Livø Bilag 12. Diffusivt iltoptag Bilag 13. Ammoniumudveksling

Forklaring af forkortelser og symboler anvendt i rapporten

Forkortelse / symbol	Forklaring
BPP	Brutto primærproduktion
CDOM	Farvet opløst organisk stof
CTD	Ledningsevne, temperatur og dybde
Dn	Omsætning af nitrat til frit kvælstof ved koblet nitrifikation-denitrifikation
DW	Tørvægt
Dw	Omsætning af nitrat til frit kvælstof fra bundvandet
ER	Økosystem metabolisme
ETR	Elektronoverførselshastighed
ETRmax	Den lysmættede ETR
Flux	Udvekslingsrate
Fm	maksimale fluorescensudbytte
FV	variable fluorescensudbytte = FV - F0
FO	Minimal fluorescens
Ι	Lysniveau
Ic	Minimums lyskrav ~ kompensationspunktet
Ik	Lysmætningspunktet ~ lysniveau hvor fotosyntesen er lysmættet
In situ	På stedet (i miljøet)
Kd	Lyssvækkelseskoefficient
LOI	Loss on ignition (organisk indhold)
N, TN, N ₂ , NO ₃ ⁻ , NH ₄ +	Kvælstof, Total kvælstof, Frit kvælstof, Nitrat, Ammonium
NEM	Netto økosystem metabolisme (= BPP – ER)
nm	nanometer
O ₂	Opløst ilt
Р	Fotosyntese
р	signifikansniveau
P, TP, Fe-P	Fosfor, Total forfor, Jernbunden fosfor
PAR	Fotosyntetisk tilgængelig lys
P-I kurve	Fotosyntese som funktion af lys kurve
Pmax	Lysmættet fotosyntese
Pn	Netto fotosynteserate
PSII	Fotosystem 2
R	Respiration
r	korrelationskoefficient
Resp_frak	Respiration som fraktion af Pmax
TS	Tørstof
α , alpha	Initiel hældning på P-I kurven ~ lysudnyttelseseffektivitet

1 Forord

Resultater af tidligere modelberegninger viste, at etablering af større arealer med stenrev i Limfjorden kunne være et virksomt og effektivt virkemiddel med henblik på at forbedre miljøtilstanden i Limfjorden (Møhlenberg et al. 2008). Rapporten fra 2008 byggede på en række antagelser, som krævede yderligere undersøgelser, før en endelig konklusion kunne drages.

Et større udredningsstudium finansieret af Miljø- og Fødevareministeriet (Jørgensen et al. 2013) blev derfor iværksat fra 2016 til 2020. Projektet blev gennemført med Limfjordsrådet som projektleder, og det faglige arbejde blev udført af Århus Universitet, DHI, Dansk Skaldyrcenter ved DTU Aqua og GEUS.

Projektet har haft en styregruppe bestående af Miljøstyrelsen og Limfjordsrådet, og der har været nedsat en følgegruppe med deltagelse af Limfjordens Fritidsfiskere, Danmarks Naturfredningsforening, LandboThy, AgriNord, Central-foreningen af Limfjordsfiskere, Limfjordssammenslutningen, Vesthimmerlands og Jammerbugt Kommune, Friluftsrådet og Foreningen Muslingeerhvervet.

Programmet omfattede fire større målekampagner for en række centrale processer på stenede områder. Resultaterne blev sammenlignet med mere sandede lokaliteter i Bjørnsholm Bugt for at en vurdere effekten af sten. Der blev også udlagt stenrevs-strukturer på et område ud for Livø, hvor detaljerede studier af biodiversitet på den omkringliggende havbund og de nye revstrukturer blev gennemført. Endelig blev de mange resultater fra målekampagnerne brugt som grundlag for en opdateret modellering af stenrevs mulige effekt som virkemiddel til forbedring af Limfjordens vandkvalitet.

Resultaterne er beskrevet i fire rapporter med fokus på

- lys, bentiske alger og deres betydning for ilt- og næringsstofdynamikken (denne rapport)
- modellering af effekter af N og P ved forskellige revløsninger (under udarbejdning)
- effekter af nye revstrukturer på biodiversitet (Dahl et al. 2020)
- samlet syntese (under udarbejdning)

Desuden er der udarbejdet en række faglige tekniske notater og mindre rapporter.

Denne rapport omhandler en omfattende serie af eksperimentelle studier og feltbaserede undersøgelser af vandkvalitet og processer af betydning for iltog næringsstof-dynamik i Limfjorden. Resultaterne af disse undersøgelser bidrager selvstændigt til vurderingen af stenrevs potentielle anvendelse som middel til at begrænse de negative effekter af høje niveau af næringsstoffer i systemer som minder om Limfjorden. Endvidere bidrager undersøgelserne med data til kalibrering og validering af en dynamisk økosystemmodel, som belyser betydningen af stenrev som muligt supplerende virkemiddel i vandområdeplanerne 2021-2027.

2 Sammenfatning

Stenrevene er generelt meget produktive habitater, som under gunstige miljøforhold kan etablere et højt dække af fastsiddende makroalger (tang) helt inde fra kysten og ud til større dybder. Denne rapport præsenterer data, der danner fagligt grundlag for at vurdere, om genetablering af stenrev i Limfjorden kan udgøre et virkemiddel, der på sigt kan bidrage til at reducere den interne næringsstofpåvirkning og samtidig forbedre den miljømæssige og økologiske tilstand i Limfjorden. Dette bliver i rapporten belyst gennem en række eksperimentelle og feltbaserede studier af lyskrav og fysiologisk stress hos makroalger, lysforhold på bunden, vandkvalitet og processer af betydning for ilt- og næringsstofdynamik i Limfjorden.

Vores undersøgelser viste, at stenrev i Limfjorden, under de nuværende dårlige lysforhold, ikke havde nogen positive effekter på iltforholdende eller på tilbageholdelse og fjernelse af kvælstof eller fosfor. Snarere tværtimod. Stigende dominans af iltforbrugende organismer på de større sten medvirker til et øget bentisk iltforbrug med dybden. Under den nuværende situationen med uklart vand det meste af sommeren, udgør stenrev på dybere vand derfor en trussel for iltforholdene. I særdeleshed hvis revene etableres under dybden for en potentiel lagdeling. Den negative effekt af stenrev på iltforholdene var tydeligt i 2018, hvor kombinationen af høje temperaturer og et stort iltforbrug af heterotrofe organismer, medførte iltsvind helt inde på lavt vand omkring revene. Eftersom nye stenrev skal placeres på konsolideret bund med en stor bæreevne, forventes nye stenrev endvidere at erstatte en blandet hård bund med en kraftig film af bentiske mikroalger, som er effektive til at producere ilt og binde kvælstof og fosfor om end kortvarigt.

En væsentlig årsag til de udeblevne effekter af makroalger var de meget lave dækningsgrader af store flerårige makroalger, men også at revene var forholdsvis små og domineret af kolonidannende iltforbrugende dyr. En serie laboratorieforsøg viste, at lyskravet hos hele individer af makroalgerne under var op til seks gange højere end hidtil antaget ud fra målinger på thallusstykker. Hertil kommer, at tilbagevendende perioder med iltsvind og høje vandtemperaturer viste sig at have markante negative effekter på makroalgernes vækst og overlevelse. Det er derfor ikke sandsynligt, at makroalger kan etablere levedygtige bestande på stenrev på dybder, hvor lave iltkoncentrationer forekommer i sensommeren i kombination med høje temperaturer.

Ved at kombinere resultater for makroalgernes lyskrav, med data for lystilgængelighed hen over året, fandt vi, at der kræves en markant forbedring af lysforholdene med op til 42% klarere vand, før makroalger kan forventes at bidrage positivt til iltproduktionen på større dybder i Løgstør Bredning. Dette forudsætter en markant reduktion i de eksterne tilførsler af kvælstof og fosfor, som primært vil nedbringe lyssvækkelsen fra fytoplankton. Det vil i først omgang reducere koncentrationen af fytoplankton, og dermed den lyssvækkelse som skyldes pigmenter, men da pigmenter står for 18 % af den samlede lyssvækkelse, vil det ikke umiddelbart give mere klart vand. En markant forbedring af den samlede lyssvækkelse (op mod 42%) vil forventeligt tage mange år, da det forudsætter en reduktion i koncentrationen af organisk stof, som er den væsentligste årsag til den nuværende høje lyssvækkelse. En sådan reduktion kræver, at næringsstoftilførslerne holdes på et lavt niveau, fx det halve af det nuværende, i årtier. Under nuværende dårlige lysforhold bør stenrev derfor ikke etableres på større dybder da de her vil blive domineret af iltforbrugende dyr. Eftersom en positiv effekt af stenrev for den bundnære iltproduktion, forudsætter en markant reduktion i tilførslen af næringsstoffer, kan stenrev ikke anbefales som en effektivt N-virkemiddel.

3 Summary

Stone reefs are very productive habitats which under favorable environmental conditions can establish a high coverage of macroalgae, extending from shallow to deep waters. This report provides a scientific basis for assessing whether the reestablishment of a stone reef in The Limfjord may, in a long term, contribute to reducing internal nutrients loads, and at the same time improve both the ecological and the conservation state of The Limfjord. The investigation included a comprehensive series of experimental and fieldbased studies of light requirements, physiological stress in macroalgae, light conditions at the bottom waters, water quality and different processes for oxygen and nutrients dynamics in The Limfjord.

Our results demonstrated that the stone reef in The Limfjord under the current poor light conditions, had no positive effect on either oxygen or retention and removal of nitrogen or phosphorus. Rather, we found that dominance of oxygen-consuming organisms on the larger stones contributed to an elevated benthic oxygen consumption which increased with depth. Under current conditions, stone reefs pose a threat to oxygen conditions, especially if established below the pycnocline. This was particularly evident in 2018, where extreme high temperatures combined with an elevated oxygen demand by heterotrophic organisms caused oxygen depletion even in shallow waters. Furthermore, as new stone reefs are to be placed on a consolidated base with a high carrying capacity, new stone reefs are also expected to replace a mixed hard bottom with a powerful film of benthic microalgae that is effective in producing oxygen and binding nitrogen and phosphorus, at least temporarily.

An important reason for the non-effects of macroalgae was the low coverage of large perennial macroalgae, and the relatively small area of the stone reef. Also the reefs were dominated by oxygen demanding sessile animals. Results from a series of laboratory experiments showed that, under realistic conditions, the minimum light requirements of macroalgae was up to 6 times higher than previously assumed. In addition, recurrent periods of oxygen depletion and high water temperatures were found to have a markedly negative effect on the macroalgal performance. Therefore, there is a low probability that macroalgae will establish viable populations in the stone reef at depths where low oxygen concentrations occurs in late summer.

By combining results from macroalgal light requirements, with data of light availability, a reduction in light attenuation up to 42% was needed for macroalgae to contribute positively to oxygen production at greater depths in the central parts of The Limfjord such as Løgstør Bredning. Such a reduction, requires a significant reduction in the external nitrogen and phosphorus supplies, which will primarily reduce the light attenuation from phytoplankton. A significant improvement in the overall light attenuation is expected to take many years, because it requires a reduction in the organic matter concentration, which currently dominates the light attenuation. Under current turbid conditions, it is not recommended to establish stone reefs in deeper parts of the fjord as they will become dominated by oxygen consuming fauna. Given that a positive effect of stone reefs on benthic oxygen conditions requires large nutrient reductions, establishment of reefs cannot be recommended as an Nmitigation tool.

4 Baggrund og formål med rapporten

Miljøtilstanden i Limfjorden har i årtier været præget af høje næringsstoftilførsler, meget uklart vand, årlige iltsvindshændelser og stadig mere begrænset udbredelse af ålegræs og makroalger (tang). Samtidigt er sten fjernet fra havbunden i et delvist ukendt omfang til brug ved havnebyggeri eller som 'bifangst' ved erhvervsfiskeri med bundtrawl (Helmig et al. 2020).

Generelt er stenrev meget produktive habitater med et højt dække af fastsiddende makroalger. Dækningsgraden varierer, primært pga. forskelle i lysmængden, som aftager med dybden. På lav dybde (< 6 m) er tangskoven normalt helt dominerende. Her vokser algerne typisk i flere lag (Dahl et al. 2003). Med aftagende lys tynder det ud i tangskoven, og vegetationen bliver oftest ét-laget, og på dybere vand vil den fastsiddende fauna gradvist dominere (Dahl et al. 2003, Dahl et al. 2005). Revene er ikke bare biologiske "hot-spots" for makroalger og bunddyr (Stenberg og Kristensen 2015), idet også en række fiskearter er tæt knyttet til dette habitat. Læbefisk lever hele deres livscyklus på rev, og arter som torsk og sej forekommer også ved stenrev. Tangskove på stenrev er også et vigtigt habitat for mange ungfisk, da deres overlevelse er markant større i disse habitater. Store torsk bruger også rev som spisekammer. Generelt er der således et rigt fiskeliv omkring og i stenrev.

Miljøstyrelsen besluttede at tilvejebringe et fagligt grundlag for at vurdere, om genetablering af stenrev i Limfjorden ville kunne udgøre et supplerende virkemiddel til indsatsen mod næringsstoffer på land. På sigt kunne etablering af stenrev reducere den interne næringsstofcirkulering og samtidig forbedre den økologiske tilstand og biodiversiteten, jf. vandrammedirektivet og habitatdirektivet.

En vigtig forudsætning for, at nye revstrukturer vil kunne fungere som et virkemiddel, er, at iltproduktionen hos de organismer, der koloniserer revet, er større end algernes og dyrenes eget iltforbrug. Desuden er det en forudsætning, at revets netto-iltproduktion er større, end den iltproduktion der var på den eksisterende bund, før revet blev etableret.

I løbet af projektet blev der også etableret nye revstrukturer nordvest for Livø i marts 2017 og lavet en række undersøgelser om indvandring og begroning af organismer på revene som er beskrevet i Dahl et al. (2020). Desuden gennemførtes i 2018 en række målinger af ilt, lys og temperatur forhold omkring Livø revene med det formål at supplere resultaterne fra måleprogrammet i Bjørnsholm Bugt for at understøtte en modellering af effekter af nye stenrev.

Formålet med denne rapport er at levere videnskabelig dokumentation for, hvorvidt stenrev reelt bidrager positivt til miljøtilstanden i Limfjorden. Dette bliver i rapporten belyst gennem en række eksperimentelle og feltbaserede studier. Arbejdet er et delelement i en større analyse iværksat for at belyse, om stenrev er et anvendeligt virkemiddel i Limfjorden til forbedring af miljøtilstanden.

4.1 Beskrivelse af undersøgelsesområde og måleprogrammet

Undersøgelserne fokuserede på Løgstør Bredning i Limfjorden, hvor især to lokaliteter i Bjørnsholm Bugt var udgangspunkt for en serie feltstudier af iltog næringsstofdynamik. Hertil kom undersøgelser omkring det nyetablerede stenrev ud for Livø og målinger af vandkvalitet og optiske forhold i vandsøjlen på to stationer (Figur 4.1).



Figur 4.1. Kort over den centrale del af Limfjorden med angivelse af undersøgelsesområderne (Barbund = bart; Stenrev = sten, Livørev), samt Miljøstyrelsens (MST) overvågningsstationer i Bjørnsholm Bugt og ved Livørevet.

Måleprogrammet omfattede to års studier af følgende fem hovedelementer:

- Makroalgers fysiologi, lyskrav og følsomhed over for iltsvind og høj temperatur (Kapitel 5)
- Respirationsrater for forskellige dyrearter (Kapitel 6)
- Lysforhold ved bunden (Kapitel 7)
- Undersøgelser af iltdynamikken på og uden for eksisterende stenrev (Kapitel 8)
- Undersøgelser af næringsstofdynamikker på og uden for eksisterende stenrev (Kapitel 9).

Bilag 1 giver et overblik over måleprogrammets elementer, indsamlingsfrekvens og anvendelse af data.

De anvendte metoder, herunder prøvetagning og analyser, beskrives i de anførte kapitler.

5 Makroalgers fysiologi: Lyskrav og følsomhed for iltsvind og høje temperaturer

Formålet med at udlægge sten og etablere nye stenrev i Limfjorden er, at de skal blive bevokset med makroalger (tang), og at disse alger skal have en iltproduktion, som er større end det samme bundareal vil have uden sten. Det rejser en række specifikke spørgsmål omkring iltproduktion, overlevelse og lyskrav hos makroalger, som søges besvaret i dette kapitel.

Makroalger er fotosyntetiserende makroskopiske alger, hvis vækst forudsætter at lysmængden på deres voksesteder er tilstrækkelig til, at de over året kan binde mere kulstof end de forbrænder. De kan i perioder klare sig med meget lidt lys, under deres lyskompensationspunkt, men set over året skal væksten være positiv. Lyset på bunden reguleres af to forhold; overfladeindstrålingen og lyssvækkelsen i vandsøjlen. Overfladeindstrålingen varierer som bekendt over året. Omkring vintersolhverv er den daglige indstråling ca. 2 mol fotoner m⁻² dag⁻¹, mens den i juni er omkring 38 mol fotoner m⁻² dag⁻¹; altså en variation på omkring 19 gange. Den lave lysindstråling om vinteren betyder, at algernes vækst altid er lysbegrænset om vinteren. De kan overleve, og også vokse langsomt, i hvert fald tæt på overfladen, men væksten starter typisk først i den sene vinter, når overfladeindsträlingen stiger. På det tidspunkt er der godt med næring i vandet og vandet er ofte klart. Mange makroalger har derfor deres højeste vækstrater om foråret. Senere på året bliver næringsstofferne i vandet - fosfor og kvælstof brugt op og vandet bliver mere uklart. Begge dele hæmmer makroalgernes vækst om sommeren, selvom overfladeindstrålingen er højest på den tid af året.

Makroalgernes fotosyntese (P) som funktion af lys (I) kan modelleres ved anvendelse af P-I kurver som beskrives ved tre parametre; den maksimale fotosyntese rate ved lysmætning (P_m), lysudnyttelseseffektiviteten (α) og algens respiration i mørke (R). Målinger af disse værdier bruges endvidere som input parametre i modellering af de økologiske effekter af stenrev. Disse P-I parametre måles traditionelt på enkelte stykker af det fotosyntetisk aktive thallus placeret i et lag vinkelret på lyskilden (se fx. Markager & Sand-Jensen 1994). På den måde ved man præcist, hvor meget lys thallus er udsat for, og de fysiologiske værdier for parametrene i P-I kurven kan beregnes.

Ude i fjorden står algerne på bunden og strækker sig op i vandsøjlen. Disse opretstående komplekse strukturer består af en kombination af støttevæv og fotosyntetisk væv. Tidligere undersøgelser har derfor vist at P-I kurve parametrene for hele planter og for plantesamfund, afviger fra parametre målt på enkelte thallusstykker (Binzer & Middelboe 2005). Den lavere andel af fotosyntetisk aktivt væv samt selvskygning hos algerne, vil derfor forventeligt resultere i en lavere iltproduktion af hele algesamfundet pr. vægtenhed sammenlignet med målinger udført på enkelte thallusstykker. Derfor er der også lavet målinger i en større opstilling som tillader målinger på hele algesamfund. Disse målinger er lavet med fire af de mest udbredte arter i Limfjorden ved tre eller fire tætheder af alger. Samlet set er formålet med undersøgelserne at dokumentere P-I kurve parametrene under miljøforhold som kendetegner den naturlige variation i et system som Limfjorden for udvalgte dominerende makroalgearter. De indsamlede resultater bidrager til at optimere DHI's model for bentisk iltproduktion fra makroalger.

5.1 Makroalgers lyskrav for isolerede thallusstykker

I det følgende præsenteres eksperimentelle undersøgelser af den fotosyntetiske aktivitet på enkelte thallus stykker af dominerende makroalger i Limfjorden.

5.1.1 Metode

Individer af ni arter af makroalger blev indsamlet i månederne august til november 2017. De otte arter blev indsamlet i Limfjorden i Bjørnsholm Bugt og Livø i forbindelse med det øvrige feltarbejde, enten på lavt vand ved stranden eller af dykkere på vanddybder op til 4 m vand. Arter og dybder fremgår af tabel 5.1. En niende art, *Fucus vesiculosus*, blev indsamlet ved Tangkrogen i Aarhus Bugten i november 2017. Generelt var der meget få makroalger i Limfjorden på indsamlingstidspunktet. Miljøtilstanden i området, specielt lysforholdene, var så dårlige, at det var svært at finde egnet materiale, så udvalget af arter og antal individer af hver art blev mindre end planlagt.

Det indsamlede materiale blev undersøgt i laboratoriet inden for nogle timer efter indsamlingen. Indtil målingerne blev materialet opbevaret ved *in situ* temperatur i mørke i filtreret vand fra de anvendte lokaliteter.

Alle indsamlinger og målinger blev udført som en del af kandidatspecialet for Sine Hjuler Krægpøth (Krægpøth 2018).

Fotosynteserater blev målt som ændringer i iltkoncentrationen i 1,2 liter gastætte kamre (se Figur. 1.2.1). Kamrene var lavet af sort plexiglas og beklædt med glas for at hindre diffusion af ilt over kammervæggen. I hvert kammer var der en magnetisk omrører under et gitter at rustfrit ståltråd. En optisk sensor (FirestringO2) med separat temperatur sensor var monteret i hver kammer. Alle kamre var nedsænket i et temperatur-kontrollerede vandbade og holdt ved konstant temperatur. Kamrenes forside var af glas og belyst med LED lamper. Lysintensiteten var kontrolleret af plastikstykker tonet i en fotokopimaskine og kombineret til at give ni forskellige lysintensiteter. I kamrene blev iltkoncentrationen fulgt af en optisk sensor, hvis signal blev temperaturkompenseret ud fra signalet af en temperatursensor i samme kammer. Kompenseringen af sensor signalet med individuelle temperatursensorer muliggjorde en høj præcision på målingerne.

Hvert forsøg bestod i at fire stykker thallus fri for epifyter og med intakt væv blev udvalgt og monteret på rustfri net (Figur 5.1) og fastholdt af en fiskeline. Monteringen skete nænsomt og så vidt muligt under vand, så thallus ikke tog skade. Herefter blev nettet med thallus monteret i kammeret i en slids, som fastholdt thallus vinkelret på det indkommende lys. Kammeret blev herefter fyldt med vand fra lokaliteterne, hvor de var indsamlet fra, og lukket uden luftbobler med et glaslåg. Montering vinkelret på lyset og de i øvrigt sorte sider betød at thallus modtog præcist den målte lysintensitet.

Optodesignalet blev kalibreret i vandmættet luft før hver måling, og nulpunktsignalet efter fjernelse af ilt med dithionit. Udvekslingen af ilt over kammervæggen (genluftningskonstanten) blev bestemt individuelt for hvert kammer en gang under forsøgene, ved at gennemboble hvert kammer med N₂-gas og følge den eksponentielt stigende iltkoncentration.

Inden hvert forsøg blev den aktuelle lysintensitet målt med in Li-Cor 192 UW quantum sensor.

Figur 5.1. Opstilling for måling af fotosyntese respons hos makroalgers thallusstykker.



Hvert forsøg startede med en måling af respirationen i mørke. Herefter blev lysintensiteten øget i ni trin til en fuld lysintensitet på 428 µmol fotoner m⁻² s⁻¹. Til slut blev respirationsraten målt igen.

For hvert eksperiment blev der beregnet en lys-fotosyntese-kurve med følgende parametre (Pm, alpha og respiration) ud fra ligning 1 (Webb et al. 1974);

$$Pn=Pmax*(1-exp((-\alpha I)/Pmax))-R$$
 lign.1.

Ud fra disse parametre estimeres algernes minimums lyskrav (I_c) som R/ α og lysmætningspunktet (I_k) som Pm/ α .

5.1.2 Resultater og diskussion

Der blev i alt målt 49 lys-fotosyntesekurver. Målingerne blev foretaget ved temperaturer mellem 10 og 20 grader i månederne fra august til november. Algerne blev indsamlet på dybder mellem strandkanten og 4 meter og repræsenterer 9 forskellige arter (se tabel 5.1) fordelt på de tre hovedgrupper af makroalger (grønne, brune og røde) og vækstformer (læderagtige, tynde pladeformede og trådformede). Der er således en lang række faktorer som kan påvirke de målte rater. De tre rater (Pm, α og R) er opgivet pr. tørvægt. Thalli som kun består af fotosyntetisk væv vil typisk have høje rater, mens thalli med støttevæv, eller på anden måde inaktivt væv, vil have lavere rater. Samlet repræsenterer værdierne således kun en overordnet karakteristik af makroalgers fotosyntesekapacitet om efteråret og variationen skyldes en kombination at måleusikkerhed og variation mellem arter og tidspunkter. De to parametre (I_c, og I_k) er ikke påvirket af skaleringen til vægt.

Middelværdier og usikkerhed givet for de tre primære parametre samt tre afledte; lyskompensations punkt (Ic), lysmætningspunkt (Ik) og respiration som fraktion af Pm, fremgår af tabel 5.1 til 5.6.

Tabel 5.1. Maksimum fotosyntese rate (Pm, μ mol O₂ g¹ tørvægt time⁻¹) for hver art. Statistiske parametre er antal forsøg (n), middel, minimum og maksimum værdier, variation, standard afvigelse og nedre og øvre 95% konfidensgrænser.

Species	n	middel	minimum	maksimum	CV	Std. err	. nedre	øvre	Måned	Tempe-	Dybde
Ceramium rubrum	3	48,7	34,3	65,0	31,7	8,9	10,4	87,0	aug.	20	4
Chaetomorpha sp.	3	123,0	92,3	157,6	26,7	18,9	41,5	204,5	okt.	15	0,5
Enteromorpha sp.	3	252,6	210,5	308,5	20,0	29,1	127,3	377,9	aug.	20	0,5
Fucus serratus	3	468,1	339,1	651,8	34,9	94,3	62,4	873,9	okt.	15	0,5
Fucus spiralis	9	239,6	98,5	349,7	29,2	23,3	185,8	293,3	okt.	15	0,5
Fucus vesiculosus	7	301,8	223,5	457,2	28,1	32,1	223,3	380,2	nov.	10	0,5
Halidrys siliquosa	6	64,0	48,6	73,1	15,9	4,2	53,4	74,7	aug., okt.	20, 15	0,5 -4
Sargassum muticum	12	138,6	74,5	197,2	24,1	9,6	117,4	159,8	aug., sep.	20	2-4
Ulva lactuca	3	557,0	506,5	630,6	11,7	37,6	395,1	718,9	okt.	15	0,5

Tabel 5.2. Lysudnyttelseskoefficient (α , (µmol O2 g⁻¹ tørvægt time⁻¹)/(µmol m⁻² s⁻¹)) for hver art. Statistiske parametre er som i tabel 5.1.

Species	n	middel	minimum	maksimum	CV	Std. err.	nedre	øvre
Ceramium rubrum	3	1,25	0,88	1,45	25,82	0,19	0,45	2,05
Chaetomorpha sp.	3	1,45	1,18	1,84	23,78	0,20	0,60	2,31
Enteromorpha sp.	3	4,26	3,90	4,58	8,00	0,20	3,42	5,11
Fucus serratus	3	7,05	5,51	8,87	24,15	0,98	2,82	11,28
Fucus spiralis	9	3,40	1,88	4,64	30,76	0,35	2,60	4,21
Fucus vesiculosus	7	3,80	2,01	6,36	35,90	0,52	2,54	5,06
Halidrys siliquosa	6	1,68	0,93	2,46	32,98	0,23	1,10	2,26
Sargassum muticum	12	1,70	0,78	3,24	48,96	0,24	1,17	2,23
Ulva lactuca	3	3,93	2,99	5,14	27,96	0,63	1,20	6,66

Tabel 5.3. Respiration (R, (µmol O2 g⁻¹ tørvægt time⁻¹)) for hver art. Statistiske parametre er som i tabel 5.1.

Species	n	middel	minimum	maksimum	CV	Std. err.	nedre	øvre
Ceramium rubrum	3	6,06	0,94	11,67	88,80	3,11	-7,31	19,42
Chaetomorpha sp.	3	71,71	65,10	79,64	10,27	4,25	53,42	89,99
Enteromorpha sp.	3	114,68	89,20	142,76	23,43	15,51	47,93	181,44
Fucus serratus	3	65,65	46,82	79,06	25,57	9,69	23,94	107,37
Fucus spiralis	9	48,19	23,95	120,89	65,71	10,55	23,85	72,52
Fucus vesiculosus	7	61,26	39,47	117,78	43,60	10,09	36,56	85,96
Halidrys siliquosa	6	38,84	16,00	57,27	40,53	6,43	22,32	55,36
Sargassum muticum	12	58,81	23,56	110,36	48,53	8,24	40,68	76,95
Ulva lactuca	3	24,13	9,96	33,67	51,87	7,23	-6,96	55,23

Tabel 5.4. Lyskompensationspunkt (Ic, (µmol m⁻² s⁻¹)) for hver art. Statistiske parametre er som i tabel 5.1.

Species	n	middel	minimum	maksimum	CV	Std. err.	nedre	øvre
Ceramium rubrum	3	7,02	6,36	8,03	12,73	0,52	4,80	9,23
Chaetomorpha sp.	3	50,91	38,19	59,30	22,00	6,47	23,09	78,74
Enteromorpha sp.	3	26,82	22,86	33,11	20,53	3,18	13,14	40,49
Fucus serratus	3	9,96	5,28	12,91	41,18	2,37	-0,23	20,14
Fucus spiralis	9	13,85	5,66	26,08	41,65	1,92	9,42	18,29
Fucus vesiculosus	7	17,41	10,41	34,45	49,12	3,23	9,50	25,32
Halidrys siliquosa	6	23,58	15,88	41,28	38,86	3,74	13,96	33,20
Sargassum muticum	12	35,74	20,05	57,89	30,08	3,10	28,91	42,57
Ulva lactuca	3	6,91	1,94	9,62	62,42	2,49	-3,81	17,63

Tabel 5.5. Lysmætningspunkt (lk, (µmol m⁻² s⁻¹)) for hver art. Statistiske parametre er som i tabel 5.1.

Species	n	middel	minimum	maksimum	CV	Std. err.	nedre	øvre
Ceramium rubrum	3	46	40	53	14	4	30	62
Chaetomorpha sp.	3	140	88	177	33	27	26	255
Enteromorpha sp.	3	86	77	105	19	9	46	126
Fucus serratus	3	78	52	108	36	16	8	148
Fucus spiralis	9	86	59	129	24	7	71	102
Fucus vesiculosus	7	102	59	142	31	12	73	132
Halidrys siliquosa	6	65	48	96	27	7	46	83
Sargassum muticum	12	130	75	236	35	13	101	158
Ulva lactuca	3	155	106	181	28	25	49	262

Tabel 5.6. Relativ respiration beregnet sor	m R/Pm (Resp_frac) for hver art	. Statistiske parametre er som i tabel 5.1.
---	---------------------------------	---

Species	n	middel	minimum	maksimum	CV	Std. err.	nedre	øvre
Ceramium rubrum	3	0,18	0,16	0,20	10,75	0,01	0,13	0,23
Chaetomorpha sp.	3	0,60	0,51	0,76	22,77	0,08	0,26	0,95
Enteromorpha sp.	3	0,45	0,42	0,47	5,47	0,01	0,39	0,51
Fucus serratus	3	0,15	0,11	0,21	36,12	0,03	0,02	0,28
Fucus spiralis	9	0,20	0,11	0,46	54,83	0,04	0,12	0,29
Fucus vesiculosus	7	0,20	0,13	0,32	30,05	0,02	0,15	0,26
Halidrys siliquosa	6	0,59	0,33	0,78	32,70	0,08	0,39	0,80
Sargassum muticum	12	0,42	0,21	0,74	40,90	0,05	0,31	0,53
Ulva lactuca	3	0,04	0,02	0,06	49,15	0,01	-0,01	0,10

Den overordnede middelværdi og statistik for P-I parametrene for all 49 målte lys-fotosyntesekurver fremgår af tabel 5.7.

Tabel 5.7. Parametre som karakteriserer lys-fotosyntese responsen hos makroalger i Limfjorden og Kattegat i efterårsmånederne for alle 49 målte lys-fotosyntesekurver. For enheder; se tabel 5.1.

	Pm	α	R	lc	lk	Resp_frak				
Middelværdi	218	2,89	54,2	22,9	101,2	0,33				
CV	69	61	59	63	42	64				
Øvre 95%	174	2,39	45,1	18,7	88,8	0,27				
Nedre 95%	261	3,39	63,3	27,1	113,5	0,39				

Det bemærkes, at respirationen, som fraktion af P_m, i gennemsnit var 0,33, dvs. at den maksimale fotosynteserate kun er 3 gange højere end respirationen i mørke. Denne ratio er meget høj, sammenlignet med andre studier og tyder på, at algernes tilstand ikke var optimal da den målte fotosyntesekapacitet var reduceret. Normalt vil man forvente en ratio på omkring 0,1 for respiration: P_m. Dette afspejler sig også i værdierne for lyskompensation og lysmætning, som var relativt høje. Dette har en betydning for den økologiske effekt af stenrev, idet et makroalgesamfund på stenene skal have relativt meget lys, mere end ca. 23 µmol fotoner m⁻² s⁻¹ for at vokse. Til sammenligning blev lyskompensationspunktet målt til mellem 0,33 og 2,47 µmol fotoner m⁻² s⁻¹ i langtids vækstforsøg ved 7 °C (Markager og Sand-Jensen 1992), dvs. omkring 10 gange lavere end for malingerne i Limfjorden. Temperaturen spiller her en rolle, idet respirationen, og dermed lyskompensationspunktet stiger med temperaturen. Det kan dog ikke forklare hele forskellen, og konklusionen er, at makroalger i naturen i gennemsnit har en fotosyntetisk kapacitet, som ligger betydeligt under det man kan måle i kontrollerede laboratorieforsøg, hvor algerne har optimale forhold og tid til at akklimatisere sig optimalt til de givne lysforhold. Det skal bemærkes, selv om algematerialets tilstand ikke var optimal, så var der ingen tydelige skadede eller begroede eksemplarer. Raterne er således udtryk for kapaciteten hos relativt sunde eksemplarer på indsamlingstidspunktet.

5.2 Makroalgers lyskrav for hele algesamfund

5.2.1 Metode

I forbindelse med forundersøgelserne for etablering af det nye stenrev ved Livø blev der foretaget undersøgelser, der skulle beskrive makroalgesamfundet på forskellige lokaliteter i Løgstør Bredning, herunder området i umiddelbar nærhed til det nye rev. Fra disse områder, samt tidligere undersøgelser i bredningen, kan man beskrive makroalgesamfundet i bredningen som værende primært domineret af få flerårige arter som sargassotang og *Fucus*-arter, samt filamentøse rød- og brunalger og enkelte grønalger som søsalat.

For et udvalg af disse dominerende arter i Løgstør Bredning blev der gennemført fysiologiske studier i laboratoriet for at beskrive deres iltproduktion som funktion af lystilgængelighed, temperatur og biomassedensitet. Data blev efterfølgende overdraget til modelanalyserne i projektet.

Undersøgelserne er baseret på PI-kurver, hvor sammenhængen mellem iltproduktion (P) og lysintensitet (I) klarlægges. Herfra blev der beregnet respiration og kompensationspunkt. Undersøgelserne blev foretaget på hele planter i semi-stor skala for at få så virkelighedstro iltrater som muligt. Derudover blev der lavet forsøg ved forskellige temperaturer og ved forskellige biomassetætheder (densiteter). Densiteterne, der blev anvendt er artsspecifikke og afspejler tætheder, der kan findes af de enkelte arter i Løgstør Bredning. De valgte temperaturer afspejler temperaturer, der kan findes i sommermåneder i Løgstør Bredning (se afsnit 8.2.1.1).

Algebiomasse - indsamling og klargøring

Undersøgelserne strakte sig over to somre (juni-august), henholdsvis 2017 og 2018 og blev foretaget på i alt 4 arter, der repræsenterede de dominerende grupper af makroalger i Løgstør Bredning:

- Savtang (Fucus vesiculosus)
- Butblæret Sargassotang (Sargassum muticum)

- Søsalat (Ulva lactuca)
- Filamentøse rødalger.

For den sidste gruppe, filamentøse rødalger, var der tale om et mix af arter, primært bestående af japansk dusklyng (*Dasysiphonia japonica*), men også mindre mængder af klotang (*Ceramium* sp.) og ledtang (*Polysiphonia* sp.). Alle alger blev indsamlet i Løgstør bredning. Specifikt blev savtang samlet ved Feggesund, Butblæret Sargassotang og Søsalat i Klosterbugten, Nykøbing Mors, mens de filamentøse rødalger blev indsamlet ved dykning på forskellige revforekomster i bredningen.

Forud for algernes brug i forsøg blev de opbevaret i 600 liters tanke med vandomrøring, beluftning og gradvis temperaturakklimatisering (2-5 dage) til de respektive forsøgstemperaturer (16, 20, 24 °C).

Opsætning og kørsel

Alle undersøgelser blev foretaget i lukkede akvarier med optiske iltelektroder (Loligo® autoresp. system), der igennem akvariets væg kan måle vandets iltkoncentration over tid. Akvariet var et cylinderformet 7 mm plexiglas-akvarie, opdelt i 4 individuelle kamre på hver ca. 25 liter (Figur 5.2). For hver kørsel blev der kørt med alge-biomasse i tre af de fire kamre, mens det sidste kammer fungerede som kontrol, og til at måle evt. baggrundsrespiration/iltproduktion i vandet. I dette kammer blev der desuden målt lys (Odyssey PAR logger). Alle kamre var forsynet med en cirkulationspumpe for at sikre homogen fordeling af ilten i hele kammeret. Forud for hver kørsel blev kamrene rengjort med ethanol og påfyldt 1 µm filtreret og UV-behandlet fjordvand.

Figur 5.2. Forsøgsopsætning for PI-forløb på hele planter. Opsætningen består af et 4-delt 7 mm plexiglas akvarie med et volumen på ca. 25 liter i hvert kammer. Alle kamre var forsynet med en cirkulationspumpe, og det ene desuden med en lyslogger. Akvariet var nedsunket i et vandbad med temperaturstyring for at sikre konstant temperatur gennem forsøgene. Over akvariet hang en regulerbar LED lampe med 6 faste lysindstillinger.



For hver art blev der kørt PI-forløb ved tre forskellige temperaturer og 2-4 forskellige biomasse-densiteter (Tabel 5.8). Densiteterne var artspecifikke og baseret på baggrund af observationer i felten over året (Butblæret Sargassotang) eller på indsamlingstidspunktet (Savtang, Søsalat, filamentøse rødalger).

Temperaturen blev styret (± 0,2 °C) ved hjælp af et vandbad med automatisk temperaturstyring (Loligo® temperature regulator) og ilten blev logget hvert 15. sekund individuelt i hver af de 4 kamre ved hjælp af optiske iltelektroder (Loligo®). Et fuldt PI-forløb bestod af 1-2 timers kørsel på hver af 6 lysintensiteter, hvoraf den sidste kørsel var ved mørke. Lysintensiteterne målt ca. 10 cm over bunden i kontrolkammeret var: 30, 75, 150, 200, 250 og 0 µmol fotoner s⁻¹ m⁻² (Photosynthetically Active Radiation, PAR konstant) over alle forløb (± 5 µmol fotoner s⁻¹ m⁻², PAR).

Forud for hver kørsel blev alle alger vejet for at kunne sikre nogenlunde lige mængder biomasse i hvert kammer og efter hver kørsel blev algerne ovntørret (100 °C), for at bestemme tørstoffet (TS) i algebiomassen.

Efter endt kørsel, blev iltproduktionen/iltforbruget for hver af de 6 lysintensiteter beregnet ved regression over minimum 30 min. for hvert af de fire kamre og brugt til at frembringe PI-kurver for alle kørsler. Ved de fleste kørsler var der et mindre iltforbrug i kontrol-kammeret. Dette blev fratrukket de endelige iltrater i de resterende tre kamre (med alger) for at tage højde for baggrundsforbruget. Fra P-I kurverne, blev der estimeret henholdsvis respiration, kompensationspunkt og maksimal opnået iltproduktion for hver kombination af art, temperatur og biomassedensitet. Det lykkedes ikke at opnå mættede PI-kurver, så den fysiologiske maksimale iltproduktion blev ikke bestemt. Alle data er præsenteret som middel \pm std. err. af tre replikater, svarende til tre kamre i én kørsel.

5.2.2 Resultater og diskussion

Hvor et PI-forløb for thallusstykker af makroalger normalt vil opnå en fotosyntetisk mætning ved høje lysindstrålinger, så er det sjældent tilfældet med hele makroalger eller samfund (Sand-Jensen et al. 2007). Dette gjorde sig også gældende i disse undersøgelser, hvor der aldrig blev observeret en fotosyntetisk mætning af makroalgerne og hvor der endda kun i nogle af tilfældene blev opnået en afbøjning af iltproduktionsraten mod de højeste lysintensiteter. Vores resultater understøtter herved tidligere undersøgelser som viser at lysafhængigheden er systematisk anderledes for hele planter end for enkelte thallus stykker. I forhold til de anvendte lysintensiteter, som maksimalt var 250 µmol fotoner s⁻¹ m⁻² PAR, blev det vurderet, at disse var tilstrækkelige i forhold til de niveauer, der kan findes på dybere vand i Løgstør bredning, hvilket bekræftes af figur 7.3.

Savtang: Iltproduktionsraterne målt for savtang nåede ingen mætning inden for de anvendte lysintensiteter, om end der med øget biomasse-densitet var en tendens mod øget afbøjning af ilt-produktionen med øget lysintensitet (figur 5.3). Det generelle mønster var, at det var biomasse-densiteten, der foranledigede de fleste forskelle (Tabel 5.9), således at øget densitet af biomasse resulterede i reduceret iltproduktion pr. g tørstof (TS). Dette kan ses som et udtryk for, at større stående biomasse reducerer effektiviteten af fotosyntesen i vævet pga. selvskygning. Konkret faldt den maksimale iltproduktion (ved 250 µmol fotoner s⁻¹ m⁻² PAR) med 41-73% i takt med, at den stående biomasse blev øget med 290% fra 450 g TS m⁻² til 1300 g TS m⁻². Dette fald var temperaturafhængigt og mindst ved 16 °C. Temperatur havde i det hele taget en signifikant betydning på fotosyntesen i savtang (Tabel 5.9) og var primært drevet af en bedre performance (højere maksimal fotosyntese og lavere kompensationspunkt) hos arten på 16 °C i sammenligning med 20 og 24 °C ved den høje biomasse-densitet (Figur 5.3).





Tabel 5.8. Oversigt over forsøgskombinationer (art, temperatur og biomassedensitet) samt resultater for lyskompensationspu	unkt
og respiration.	

	Temperatur	Densitet Kompensationspunkt		Respiration	
		(g TS m ⁻²)	(Ic) (µmol fotoner m ⁻² s ⁻¹)	(µmol O₂ g TS⁻¹ t⁻¹)	
Savtang	16	450±100	58,2±1,4	17,68±2,43	
Savtang	16	950±150	46,9±1,9	11,80±0,72	
Savtang	16	1300±200	49,0±4,5	10,31±0,72	
Savtang	20	450±100	73,4±1,5	19,04±1,86	
Savtang	20	950±150	63,0±6,7	14,27±0,84	
Savtang	20	1300±200	112,7±20,1	13,29±1,00	
Savtang	24	450±100	58,9±1,1	18,69±1,15	
Savtang	24	950±150	64,3±2,7	12,83±1,69	
Savtang	24	1300±200	91,7±13,7	9,79±0,81	
Butblæret Sargassotang	16	200±75	46,9±8,6	18,62±3,36	
Butblæret Sargassotang	16	450±100	66,0±3,0	15,74±2,56	
Butblæret Sargassotang	16	650±150	80,0±9,3	15,69±2,27	
Butblæret Sargassotang	20	200±75	87,3±11,0	30,48±7,22	
Butblæret Sargassotang	20	450±100	99,3±9,0	27,04±2,17	
Butblæret Sargassotang	20	650±150	131,3±33,3	20,85±3,50	
Butblæret Sargassotang	24	200±75	93,1±6,1	33,29±3,98	
Butblæret Sargassotang	24	450±100	139,0±17,7	38,74±0,55	
Butblæret Sargassotang	24	650±150	162,0±7,1	33,50±2,76	
Filamentøs rødalge	16	60±10	60,8±16,9	64,94±23,93	
Filamentøs rødalge	16	140±30	46,2±8,7	6,26±3,74	
Filamentøs rødalge	20	60±10	50,6±8,5	94,27±27,69	
Filamentøs rødalge	20	140±30	50,2±11,2	18,83±2,96	
Filamentøs rødalge	24	60±10	63,6±19,5	44,48±18,61	
Filamentøs rødalge	24	140±30	37,1±5,2	23,82±5,28	
Søsalat	16	75±15	40,5±7,2	44,35±3,61	
Søsalat	16	150±30	25,2±5,2	6,99±9,49	
Søsalat	16	225±25	23,2±2,2	9,56±2,01	
Søsalat	16	515±45	22,8±7,3	7,27±2,64	
Søsalat	20	75±15	81,5±3,1	50,86±0,35	
Søsalat	20	150±30	34,4±0,5	20,57±2,73	
Søsalat	20	225±25	56,7±5,6	22,87±2,40	
Søsalat	20	515±45	39,2±3,9	8,75±1,27	
Søsalat	24	75±15	52,8±2,8	55,76±4,07	
Søsalat	24	150±30	43,8±1,6	40,47±10,22	
Søsalat	24	225±25	41,0±2,0	23,39±3,20	
Søsalat	24	515±45	48,1±3,7	15,37±3,58	

Variabel		Faktor	F-værdi p-værdi		
	R	densitet	23,112	<0,0001	
		temperatur	2,248	0,1344	
		densitet*temperatur 0,349		0,8410	
p	lc	densitet	7,770	0,0037	
Savta		temperatur	10,293	0,0010	
		densitet*temperatur	0,047	0,0469	
	Pmax	densitet	28,020		
		temperatur	5,445	0,0141	
		ensitet*temperatur 1,291		0,3106	
	R	densitet	1,233	0,3149	
bu		temperatur	19,852	<0,0001	
sota		densitet*temperatur	0,789	0,5477	
gast	lc	densitet	8,517	0,0025	
Sar		temperatur	16,501	<0,0001	
eret		densitet*temperatur	0,589	0,6751	
utbla	Pmax	densitet	19,695	<0,0001	
В		temperatur	0,019	0,9809	
		densitet*temperatur	0,513	0,7271	
	R	densitet	13,785	0,0030	
		temperatur	1,087	0,3682	
alge		densitet*temperatur	1,358	0,2940	
røda	lc	densitet	2,796	0,1203	
Itøs		temperatur	0,072	0,9313	
mer		densitet*temperatur	0,671	0,5294	
Fila	Pmax	densitet	36,775	<0,0001	
		temperatur	2,422	0,1307	
		densitet*temperatur	5,865	0,0167	
	R	densitet	42,858	<0,0001	
		temperatur	25,596	<0,0001	
		densitet*temperatur 3,118		0,0419	
lat	lc	densitet	5,921	0,0029	
øsal		temperatur	11,501	0,0021	
S		densitet*temperatur	0,2365	0,8702	
	Pmax	densitet 13,313 <0		<0,0001	
		temperatur	1,053	0,3137	
		densitet*temperatur	0,163	0,9203	

Tabel 5.9. Statistisk analyse af afhængigheden af densitet og temperatur på respiration (R), kompensationspunkt (Ic) og maksimalt målt fotosyntese (Pmax ved 250 µmol fotoner s⁻¹ m⁻² PAR) hos hver af de fire arter i undersøgelsen

Butblæret Sargassotang: Som for savtang, var det densiteten, der resulterede i de mest markante forskelle i fotosyntesen hos sargassotang (Figur 5.4, Tabel 5.9). Således faldt den maksimale iltproduktion (ved 250 µmol fotoner s⁻¹ m⁻² PAR) med 64% med en forøgelse i den stående biomasse på 325% (fra 200 til 650 g TS m⁻²), men modsat savtangen var faldet uafhængigt af temperaturen. Det var i det hele taget den generelle tendens, at sargassotang var mindre påvirket af temperatur end savtangen, om end kompensationspunktet var signifikant afhængigt af temperatur (Tabel 5.9) og lavest ved lavere temperaturer (Tabel 5.8).

Figur 5.4. P-I kurver for Butblæret Sargassotang ved forskellige temperaturer og biomassedensitet. Densiteterne lav, mellem og høj svarer til henholdsvis 200±75, 450±100 og 650±150 g TS m⁻².



Savtang vs. Butblæret Sargassotang: Forskellen mellem sargassotang og savtang er lettest at visualisere ved en direkte sammenligning som vist i figur 5.5, hvor den samme biomasse-densitet (450 ± 100 g TS m⁻²) blev brugt for de to arter. Her ses det, at de to arter performede stort set ens ved henholdsvis 16 og 20 °C, om end der er en tendens til et stejlere PI-forløb for sargassotang end savtang, som potentielt ville kunne have resulteret i sporbare signifikante forskelle mellem de to arter, hvis højere lysintensiteter var blevet testet. Ved 24 °C derimod, var der signifikante forskelle at spore mellem de to arter, hvor sargassotang ved de høje lysindstrålinger performede bedst og således ved højeste målte lysindstråling (250 µmol fotoner s⁻¹ m⁻² PAR) producerede dobbelt så meget ilt som savtang.

I et økologisk perspektiv betyder dette, at man i perioder med temperaturer over 20 °C vil kunne forvente en konkurrencefordel til den invasive Butblæret Sargassotang i forhold til den hjemmehørende savtang, men samtidig også en højere iltproduktion, da sargassotang under disse forhold producerer markant mere ilt end savtang under samme forhold (Figur 5.5). Fra undersøgelserne af temperaturdynamikken ved det nye rev ved Livø i 2018 (afsnit 7), så man temperaturer i sommermånederne, der i lange perioder var over 20 °C, hvilket giver god grund til at tro at sargassotang fremadrettet – især i et længerevarende perspektiv med øgede temperaturer - vil kunne forventes at spille en større rolle på revet end savtang, der i højere grad ser ud til at være negativt påvirket af temperaturer over 20 °C.

Filamentøse rødalger: De filamentøse rødalger viste ingen temperaturafhængighed, hvorimod der som for de øvrige arter var en stærk effekt af biomasse-densiteten (Figur 5.6, Tabel 5.9). Ved forøgelse af biomasse-tætheden fra 60 ± 10 til 140±30 g TS m⁻² var der således et gennemsnitligt fald i den maksimale fotosyntese-rate (ved 250 µmol fotoner s⁻¹ m⁻² PAR) på 70%.

Figur 5.5. P-I kurver for Butblæret Sargassotang og savtang ved forskellige temperaturer. For begge arter blev der anvendt samme biomassedensitet (450±100 g TS m⁻²).



Figur 5.6. P-l kurver for filamentøs rødalge ved forskellige temperaturer og biomassedensitet. Densiteterne lav og høj svarer til henholdsvis 60±10 og 140±30 g TS m⁻².



Søsalat: Som for de øvrige arter, var den maksimale fotosyntese (ved 250 µmol fotoner s⁻¹ m⁻² PAR) signifikant negativ afhængig af den stående biomassedensitet (Tabel 5.9). Hermed faldt den maksimale fotosyntese-rate (ved 250 µmol fotoner s⁻¹ m⁻² PAR) gennemsnitligt 62% fra den laveste biomasse-densitet (75±15 g TS m⁻²) til den højeste (515±45 g TS m⁻²) (Figur 5.7). Derudover var der signifikante temperaturafhængigheder, således kompensationspunktet generelt var lavest ved 16 °C ift. 20 og 24 °C.

Figur 5.7. P-I kurver for søsalat ved forskellige temperaturer og biomassedensitet. Densiteterne lav, mellem, mellem/høj og høj svarer til henholdsvis 75±15, 150±30, 225±25 og 515±45 g TS m².



Generelt var de vægtspecifikke ilt-produktionsrater højere hos både de filamentøse rødalger (Figur 5.6) og Søsalat (Figur 5.7) end hos både Savtang (Figur 5.4) og Butblæret Sargassotang (Figur 5.5). Dette bør primært ses som et resultat af den forskellige thallusstruktur hos de pågældende arter, som hos de filamentøse rødalger og Søsalaten er tynd, mens der hos savtang og Butblæret Sargassotang er tale om et tykkere thallus med flere celletyper og funktioner. Således var der en større andel aktivt fotosyntetisk væv i de røde filamentøse alger og Søsalaten end det var tilfældet for både Savtang og Butblæret Sargassotang.

Derudover var der en økologisk forskel mellem de to grupper, hvor de filamentøse rødalger og Søsalat er opportunistiske etårige arter, der opnår den største stående biomasse i løbet af sommeren for så i løbet af efteråret/vinteren at gå til, så er både Savtang og Butblæret Sargassotang flerårige arter, hvor dele af vævet overvintrer fastsiddende og aktivt på substratet. Foruden iltproduktionskapaciteten, er det således ikke helt uvæsentligt, hvilke typer af alge-arter, der kommer til at dominere i de udlagte rev, da det betyder noget for den temporale fastholdelse af næringsstoffer og derved omsætningstiden heraf.

5.3 Sammenligning af lyskrav for thallusstykker og hele algesamfund

Sammenhængen mellem lys og fotosyntese for makroalger er, som omtalt i indledningen, en vigtig parameter i vurderingen af stenrevs økologisk betydning, og specifikt for vurderingen af, om et veludviklet makroalgesamfund under pyknoklinen vil kunne producere ilt af betydning, eller tværtimod have en negativ effekt ved at være netto iltforbrugende. I den forbindelse er det relevant at analysere de to metoders resultater omkring lyskompensationspunktet – den lysmængde som lige netop kan kompensere for makroalgernes eget iltforbrug.

Tabel 5.10 viser lyskompensationspunktet for henholdsvis thallus-stykker og et makroalgesamfund. Analysen viser, at hele planter i gennemsnit skal bruge 66 µmol m⁻² s⁻¹ fotoner, mens thallus stykker kan klare sig med omkring 6 gange mindre lys; 15 µmol m⁻² s⁻¹.

		lc			R	
	(µmol m⁻² s⁻¹)			(µmol O₂ g⁻¹ tørvægt time⁻¹)		
	Hele planter	Thallus	Ratio	Hele planter	Thallus	Ratio
Savtang	68.7	10.0	6.9	14.2	65.7	0.2
Butblæret Sargassotang	100.5	35.8	2.8	26.0	58.8	0.4
Filamentøs rødalge	51.4	7.0	7.3	42.1	6.1	6.9
Søsalat	42.4	6.9	6.1	25.5	24.1	1.1
Middelværdi	65.8	14.9	5.8	27.0	38.7	2.2

 Tabel 5.10.
 Sammenligning af resultater for lyskompensationspunkt (Ic) og respiration (R) udført på hele planter og thallus stykker.

Det højere lyskrav hos hele planter/samfund er forventeligt i og med planterne skygger for hinanden, og de nederste planter derfor i praksis kun får en brøkdel af det lys, som rammer toppen af planterne. Desuden udgør overfladen på hele planter et substrat for dyr og bakterier, som er iltforbrugende, og hele planter indeholder i gennemsnit også mere 'ikke-fotosyntetisk væv' end thallusskudspidser. Det vigtige her er, at denne sammenhæng kan kvantificeres til at være ca. en faktor 6. Det betyder, at hvis man vil beskrive makroalgers evne til at producere ilt ud fra laboratorie data, som typisk er lavet på skudspidser eller isolerede thallus stykker, som er udvalgt fra de sundeste dele af planten, så skal man indregne en selvskygning som giver en forøgelse af minimumslyskravet på omkring en faktor 6.

Respirationen blev også sammenlignet. Her var forventningen, at de hele planter ville have en højere respiration end thallus stykker pga. en højere grad af heterotrof belægning. Resultatet viste det modsatte; at thallus stykker har en ca. dobbelt så høj respirationsrate pr. tørvægt end hele planter. Det skyldes muligvis, at thallus stykker i gennemsnit indeholder mere metabolisk aktivt væv, som har en højere respiration end hele planter. Der er dog stor variation mellem arterne, og forholdet mellem de to rater kan også skyldes forskelle i indsamlingstidspunkt eller tilfældig usikkerhed på resultaterne.

Den vigtigste konklusion er, at makroalgers lyskompensationspunkt i Limfjorden må forventes at ligge omkring 66 µmol m⁻² s⁻¹ afhængigt af hvilke arter, der etablerer sig på revet, og at dette økologisk relevante estimat er omkring 6 gange højere end det man vil måle i laboratorieforsøg med sunde thallusstykker.

5.4 Makroalgers respons på iltsvind og høje temperaturer

Makroalgers vækst og overlevelse kan ud over lys også påvirkes af forhold som temperatur og iltkoncentrationen. Kombinationen af lav ilt og høje temperaturer forekommer ofte i organisk berigede kystnære systemer, og tidligere studier har vist, at disse forhold kan have en negativ effekt på den fysiologiske ydeevne hos ålegræs (Pulido & Borum 2010). Makroalger er vidt udbredte i kystnære tempererede systemer, og der er en lang række studier som har påvist negative effekter af forhøjede temperaturer for makroalgers vækst, overlevelse og ydeevne. På trods af, at høje temperaturer hyppigt forekommer samtidigt med lave iltkoncentrationer, er det ikke tidligere blevet undersøgt, hvordan iltfrie forhold, og den kombinerede effekt af temperatur og iltfrie forhold påvirker fotosyntesekapaciteten hos makroalger. Formålet med dette studie var derfor at undersøge responsen af kombinationen af lav ilt og forskellige temperaturer hos almindeligt forekommende makroalger. Bekymringen for en mulig negativ effekt på makrolager af iltsvind, skal ses i sammenhæng med det sæsonmønster for lyssvækkelse, som er beskrevet i denne rapport (afsnit 7.2). Et muligt scenarie er således, at der opbygges en stor biomasse af makroalger på stenrev om foråret, hvor vandet er klart og vækstforholdene er gunstige. Når vandet så bliver mere uklart hen over sommeren, kan makroalger på stenrev mangle tilstrækkeligt med lys til at producere ilt, og dermed potentielt forringe iltforholdene ved deres respiration. Hvis iltforholdene bliver så kritiske, at makroalgerne dør, kan der opstå en situation, hvor store biomasser af alger går i forrådnelse, med et stort iltforbrug til følge. Problemet forstærkes af, at vandet er varmest sidst på sommeren. Makroalgernes respiration stiger med temperaturen og muligvis også deres følsomhed over for iltfrie forhold.

Det overordnede mål med undersøgelserne var at vurdere den potentielle rolle ved kortvarig eksponering med anoxiske forhold (iltkoncentration < 2 mg O_2 / L) og forhøjet temperatur i forhold til optimum, på makroalgernes fotosyntetiske ydeevne. Hypotesen var, at virkningen af iltfrie forhold og temperaturen vil afhænge af en kombination af iltniveauer, varighed af eksponering og temperaturbetingelserne. Studier for ålegræs indikerer, at effekten af den anoxiske tilstand forventes at være mere skadelig under forhøjede temperaturer. Dette forventes at medføre en lavere ydeevne og til sidst død af makroalgen sammenlignet med kombination af lav temperatur og anoxiske forhold.

Formålet med dette afsnit var at undersøge betydningen af iltfrie forhold for makroalgers fysiologi under forskellige temperaturforhold.

Art	Lokalitet	Måned	Temperatur	litforhold	Øvrig
				(mætningsprocent)	manipulation
Ulva lactuca	Roskilde Fjord	Juli	16	0	
(Søsalat)	"	Juli	21	0	+ lys, + råd.
	Limfjorden	August	16	50	
		Juli #	17, 22	0	
		September	15	0	
		Oktober			
Fucus serratus	Oresound	Maj	16	0	
(Savtang)	"	August	16	50	
	"	September	16	10	
	"	Oktober	16	0	
	"	Oktober	21	0	
	Limfjorden	Oktober	15	0	
Fucus spiralis	Limfjorden	Oktober	15	0	
(Lav klørtang)					
Fucus vesiculosus	Aarhus Bugt	November	20	0	
(Blæretang)					
Sargassum muticum	Limfjorden	Juli #	17, 22	0	
(Butblæret Sar.tang)	1	September	15	0	
Saccharina latissima	Hundested	November	16	0	+ råd.
(Sukkertang)	Aarhus Bugt	December	16	10	+ råd.
			5	0	+råd.
			10	0	+råd.
			21	0	
			21	10	

Tabel 5.11. Oversigt over forsøg med angivelse af art, indsamlingssted og måned for indsamling og forsøg. # undersøgelser, hvor respons er målt med fluorescens.

Undersøgelserne omfattede de mest almindelig arter af makroalger i Limfjorden. Arterne blev udvalgt, så de omfattede forskellige vækstformer fra arter med tyndt pladeformet thallus (*Ulva lactuca*) til *Fucus* arter, som er vidt udbredt, og *Saccharina latissima*, som har et tykt thallus, og desuden *Sargassum muticum*, som er en invasiv og vidt udbredt art i Limfjorden. Algematerialet som blev anvendt il forsøgene blev indsamlet om sensommeren og kan derfor forventes at være næringsstof begrænsede. Herved afspejler materialet de forhold hvorunder en effekten af ilt og temperatur stress forventes at forekommer. Sensommeren er samtidigt den periode hvor stenrev domineret af makroalger forventes at kunne gøre en positiv forskel ved at forbedre de bundnære iltforhold.

Makroalgernes respons til varierende ilt- og temperaturforhold blev undersøgt i inkubationsforsøg i op til 72 timer, hvor alger blev inkuberet i mørke under iltfrie forhold parallelt med et kontrolforsøg med iltet vand. I nogle tilfælde blev der tillige udført inkubationer med 10 og 50 procents iltmætning, og med tilsætning af rådnende alger og kombinationen af iltfrie forhold og lys. Undersøgelserne blev gennemført ved anvendelse af to forskellige metoder, hhv. måling af ilt og ved måling af fluorescens. I alt er der udført 34 forsøg med forskellige kombinationer af arter, temperatur, iltmætning, tilsætning af rådnende materiale og lys (Tabel 5.11).

Da undersøgelsesdesign og metode adskiller sig, gennemgås metodebeskrivelsen og resultaterne separat. Til sidst i kapitlet sammenstilles resultaterne i en konceptuel model for makroalgers respons til variable ilt- og temperaturforhold.

5.4.1 Temperatur- og iltpåvirkning af makroalgernes fotosyntese målt ved iltmetoden

Metode

Disse forsøg blev udført i flere omgange med alger fra forskellige områder (Tabel 5.11). Det blev vurderet, at forsøgene beskriver en generel fysiologisk respons hos algerne, således at sted for indsamlingen ikke har betydning for resultatet. Derimod forventes der forskelle mellem arterne.

Alle forsøg blev kørt sammen med et kontrolforsøg med 100% ilt (konstant gennembobling med luft). Desuden blev der foretaget yderligere manipulationer:

- + lys: der blev gennemført en ekstra inkubation under iltfrie forhold, hvor algerne blev belyst (ca. 25 μ mol m⁻² s⁻¹) under inkubationen.
- + råd: der blev lavet en ekstra inkubation under iltfrie forhold, hvor der blev tilsat rådnende alger til inkubationsflasken for at simulere en situation, hvor iltfrie forhold forekommer sammen med et lag af rådnende alger på bunden og tilhørende frigivelse af sulfid eller andre stoffer med en potentiel negativ effekt.

Undersøgelser af algernes fotosyntese respons (P-I kurver) blev på nær målingerne i juli gennemført ved måling af ændringer i iltkoncentrationen i 50 eller 125 ml glasflasker med slib. P-I kurverne blev lavet i iltet vand umiddelbart efter at algerne blev udtaget fra inkubationen og viser således algernes fotosyntesekapacitet i en situation, hvor de igen befinder sig i iltet vand efter en periode under iltfrie forhold.

I denne rapport er det store datamateriale kondenseret til en præsentation af de overordnede resultater, som har direkte relevans for spørgsmålet omkring anvendeligheden af stenrev som et virkemiddel til at begrænse frigørelsen af næringsstoffer fra bunden.

Data blev analyseret ved at udviklingen i hver parameter over tid blev beregnet ved lineær regression for hvert forsøg og behandling, fx udviklingen i Pm over tid for forsøg x for behandling (iltfrie forhold) og kontrol (iltet vand). Dernæst blev udviklingen normaliseret til den initiale værdi (tid=0) for hvert forsøg, og den gennemsnitlige respons over alle forsøg blev beregnet for tidsintervaller af 5 timer (Figur 5.8). Responsen for de afledte fotosynteseparametre (I_c, og I_k) blev beregnet på samme måde, men uden en normalisering til værdien ved tiden nul, i det disse værdier er beregnet som en ratio.

Resultater og diskussion

Den maksimale fotosynteserate (Pm) hos makroalger faldt over tid under iltfrie forhold (Figur 5.8). Det gennemsnitlig fald var på 0,6% pr time (0,60 \pm 0,21 (std.err.), p=0,017) og efter 72 timer var fotosynteseraten reduceret til 43% af den oprindelige værdi. Algerne ved 100% ilt udviste ikke nogen signifikant ændring over tid, men den sidste værdi ved 72 timer var dog lavere end de øvrige og på niveau med værdien under iltfrie forhold. Dette skyldes, at der i nogle af forsøgene også var en negativ respons over tid i kontrolinkubationen. Samlet er der dog en klar og signifikant negativ effekt af iltfrie forhold på Pm.



Figur 5.8. Ændring i de primære fotosynteseparametre over tid under inkubation under iltfrie forhold for fem arter af makroalger. Respons for alger udsat for iltfrie forhold (•) sammenlignes med respons for kontrol alger i gennemboblet vand (o). Lysudnyttelseseffektiviteten (alpha) udviste lige som Pm et fald med stigende eksponeringstid. Det gennemsnitlige fald var på 0,98% pr time (0,98 \pm 0,20, p<0,001). Reduktionen var på 70% over 72 timer, dvs. noget højere end for Pm. Alpha i kontrolforsøgene var overordnet uforandret, dog med et fald mod slutningen af forsøget.

I modsætning til Pm og alpha, så steg respirationen over tid under iltfrie forhold. Stigningen var på 1,9% pr time (1,9 \pm 0,40, p<0,001), hvilket medførte at respirationen efter 72 timer var mere end fordoblet eller 137% højere end ved forsøgets start.

Lyskompensationspunktet, Ic, steg i løbet af inkubationsperioden fra omkring 11 i begyndelsen til ca. 40 i efter 72 timer (Figur 5.9). Dette viser at makroalgers lysbehov for overlevelse er ca. 4 gange større efter 72 timer i iltfrit vand. Effekten skyldes kombinationen af højere respiration og lavere alpha, hvilket indikerer at dårlige iltforhold både øger det basale stofskifte og påvirker fotosynteseapparatet. En visuel analyse af tidsforløbet indikerer at stigningen startede efter omkring 30 timer i iltfrit vand. Lysmætningspunktet, Ik, udviste en mindre stigning over tid, $1,2 \pm 0,6$, (p=0,09) µmol m² s⁻¹, men stigningen var ikke signifikant. Da Ik er forholdet mellem (respiration + Pm) og alpha, og både Pm og alpha faldt, var det forventeligt at Ik ændredes i mindre grad, og at stigningen mest var relateret til en stigende respiration. For både Ic og Ik gælder, at værdierne var uændrede i kontrolforsøgene, dog med en svagt faldende tendens for Ic, hvilket var forventelig efter 72 timer i mørke, hvor planternes iltforbrug gradvist nærmer sig den basale vedligeholdelsesrespiration.



Figur 5.9. Ændring i A) lyskompensationspunktet (Ic) og B) lysmætningspunktet (Ik) i løbet af 72 timers inkubation under iltfrie forhold for fem arter af makroalger. Respons for alger udsat for iltfrie forhold (•) sammenlignes med respons for kontrol alger i gennemboblet vand (o). Resultaterne (Figur 5.8 og 5.9) viser den overordnede respons hos seks undersøgte makroalgearter. Der var kun få replikater for hver art, og det var derfor ikke muligt at udføre en statistisk vurdering af forskelle i arternes følsomhed over for iltfrie forhold. Der var dog en tendens til, at *Ulva lactuca* var mindre følsom end de øvrige arter, mens *Saccharina latissima* var den mest følsomme art, især ved høje temperaturer.

Effekten af faktorer som temperatur, lys under inkubationen uden ilt og effekten af rådnende materiale blev undersøgt for arterne *Ulva lactuca* og *Saccharina latissima*. Kun for *Saccharina latissima* ved 21 °C blev der fundet en negativ effekt af rådnende materiale.

Temperatur som faktor blev kun testet systematisk for *Saccharina latissima*. Her viste resultaterne, at iltfrie forhold ikke havde nogen effekt ved 5, 10 og 16 °C. Ved 21 grader var effekten som beskrevet ovenfor markant større ved, og flere af individerne begyndte at dø efter ca. 48 timers inkubation.

5.4.2 Temperatur- og iltpåvirkning af makroalgernes fotosyntese målt ved fluorescensmetoden

Metode

To makroalgearter, *Sargassum muticum* og *Ulva lactuca*, blev indsamlet i Limfjorden på lav dybde i juli 2018. Algerne blev over 24 timer akklimatiseret til 17 og 22 °C under svagt lys ved en 16: 8 timers lys: mørke cyklus. Sunde thallus-stykker fra hver art blev udvalgt og introduceret til både iltfrie forhold og høj temperaturer i 72 timer med målinger udført hver 12 time. I et kontroleksperiment blev algerne målt ved både lav og høj temperatur. Eksperimenterne blev udført ved 17 og 22 °C, hvor den såkaldt lave temperatur (17 °C), svarer til en normalt forekommende sommertemperatur, mens 22°C undtagelsesvis forekommer i danske farvande om sommeren. Den usædvanligt varme sommer i 2018 betød dog, at 22 °C var den registrerede temperatur på undersøgelsesstedet. Efter inkubationen i iltfrit vand blev de to arters evne til at komme sig undersøgt ved at inkubere dem i iltmættet vand i 12 timer ved hhv. 17 og 22 °C.

Niveauet for stressrespons i makroalgerne blev vurderet ud fra fluorescensmålinger for begge arter under anvendelse af en Walz Dual-PAM (Walz, Effentrich, Tyskland) med pulserende lysinducerende fluorescens (Schreiber et al. 1986). Instrumentet leverede målinger af elektronoverførselshastighed (ETR) samt ændringer i det maksimale kvanteudbytte (Fv / Fm = (Fm-Fo / fm) af PSII (Maxwell og Johnson, 2000)), hvor Fm var det maksimale fluorescensudbytte, og Fv, det variable fluorescensudbytte (Krause og Weis, 1991). Gentagne målinger af ETR ved stigende lysniveau tilvejebragte fotosyntese versus lys kurve (P vs. I kurver) (Sakshaug et al. 1997). Efterhånden som lysmængden stiger, vil fotosyntesen stige lineært op til et lysniveau kendt som lysmætningsniveauet (Ik; µmol fotoner m⁻² s⁻¹). Herefter vil fotosyntesen være konstant (Pm). Da vores målinger af fotosyntetiske kapacitet blev foretaget ved hjælp af ETR, er det lysmættede niveau ETRmax. Den initial hældning af PI-kurven (α) omtales som lysudnyttelseskoefficienten (Sakshaug et al. 1997).

Den fotosyntetiske respons blev modelleret ved anvendelse af ligning 1 (se afsnit 5.1). Modelparametrene blev opnået ved non-lineær regressionsmodellering under anvendelse af SAS / STAT-softwarepakken (SAS Institute Inc. 1994). De fotosyntetiske parametre (ETRmax, α , Ek og Fv / Fm) blev målt på tre replikater fra hver kombination af makroalgeart og hver behandling, der omfattede en kombination af iltfrit vand og lav / høj temperatur.

Resultater og diskussion

De to arter viste variabel respons på den kombinerede virkning af eksponeringstid, temperatur og iltforhold. Den fotosyntetiske kapacitet, udtrykt ved F_v/F_m faldt med både øget eksponeringstid og temperatur for begge arter. Til at begynde med var F_v/F_m høj for begge arter (Figur 5.13); 0,76-0,78 ved 17 °C for Sargassum muticum og 0,64-0,78 Ulva lactuca. De tilsvarende ved 22°C var 0,70-0,73 (Sargassum muticum) og 0,75-0,79 (Ulva lactuca). En negativ effekt af iltfrie forhold på Fv/Fm begyndte efter 36 timer ved 17 °C for Sargassum muti*cum*, men var betydeligt hurtigere ved 22 °C, hvor F_v/F_m begyndte at falde allerede efter 12 timers eksponering. For Ulva lactuca var der ikke nogen signifikant effekt ved 17 °C, mens et signifikant fald blev observeret efter 36 timers i iltfrit vand. Dette indikerer, at Ulva lactuca kan klare det iltfrie vand under lav temperatur (mindst op til 17 ° C) bedre end Sargassum muticum. Dette resultat understøttes af Vermaat and Sand-Jensen (1987), som observerede, at Ulva lactuca kunne overleve anoxia i længere tid, når temperaturen er lav. I deres undersøgelse blev en respons først observeret efter to måneders eksponering for den anoxiske behandling ved 4 °C i mørke.

Begge arter viste en forbedring i F_v/F_m efter, at de blev overført til iltmættet vand i 12 timer (figur 5.10). For *Ulva lactuca* var der en fuldstændig reetablering til der initiale niveau, mens der stadig var en mindre, men tydeligt signifikant effekt for *Sargassum muticum* ved 22 °C.



Figur 5.10. F_v/F_m for *Ulva lactuca* (A) og *Sargassum muticum* (B) ved to temperaturer og med og uden ilt. Tiden 1-7 refererer til hver 12 time, hvor der blev foretaget målinger. Initiale kontrolmålinger blev lavet ved lav temperatur (17 °C, LT) tilsvarende ved 22 °C (HT). LT+O₂; 17 °C og iltmættet vand. LT-O₂; 17 °C og iltfrit vand. HT er de tilsvarende målinger ved 22 °C.

Den mest interessante observation i denne undersøgelse var det gendannelsespotentiale, der blev observeret hos begge makroalgearter, efter at de blev genindført i det iltmættede vand i 12 timer efter eksponering af 72 timer til iltfrit vand. Den fysiologiske gendannelse viste sig for Fv / Fm (Figur 5.10) men også α og Ek (ikke vist) og for begge arter. Dette viser, at begge arter har potentiale til at komme sig efter at have været udsat for kortvarig anoxia, både ved lav og høj temperatur.

5.4.3 Sammenligning af følsomhed for iltsvind og høje temperaturer

De to forskellige metoder viste begge, at makroalgers fotosyntesekapacitet påvirkes negativt af længerevarende eksponering til iltfrit vand. Vurderet ud fra resultaterne med iltudvikling var nedgangen omkring 0,5-1% pr time.

I lighed med undersøgelser for ålegræs (Pulido og Borum 2010) forstærkedes den negative effekt af iltfrie forhold for makroalger under stigende temperaturer. I forsøget med Saccharina latissima var der ingen effekt af iltfrie forhold på den fotosyntetiske ydeevne ved 5°C, en mindre effekt ved 10°C, en tydelig effekt ved 16°C og ved 21°C hvor planterne efter 48 til 72 timers eksponering ingen fotosyntetisk aktivitet havde. Samme mønster blev fundet med fluorescens målingerne, hvor den negative effekt var større ved 22°C end ved 17°C. I fjorden vil iltsvind oftest forekomme i sensommeren, hvor vandet er varmest. I forsøgene med Saccharina latissima var der indikationer på, at høje temperaturer var en stress faktor i sig selv. Dette er også fundet i andre undersøgelser for arter med tyk thallus (Nepper-Davidsen et al. 2019), mens observationer i denne rapport ikke tyder på at tyndløvede arter har problemer. Konklusion er derfor, at anoxia (iltfrie forhold) og hypoxia (lave iltkoncentrationer) er en faktor som påvirker makroalgers mulighed for at kolonisere stenrev på dybder, hvor lave iltkoncentrationer forekommer i sensommeren i kombination med høje temperaturer. Endvidere kan det forklare tilbagegangen af den tykløvede Saccharina latissima i Limfjorden over de seneste dekader, hvor vandtemperaturen er steget. I den sammenhæng er det interessant, at arten Butblæret Sargassotang, Sargassum muticum har spredt sig. Denne art har også et relativt tykt thallus, men samtidig et vækstmønster, hvor det oprette thallus naturligt løsner sig og degenererer i sensommeren mens hæfteskiven lever videre, dvs. arten måske undgår de negative effekter af høje temperaturer og periodisk lave iltforhold i sensommeren.

Forsøgene, hvor responsen blev undersøgt med fluorescens, viste, at algerne kunne komme sig efter ophold i iltfrit vand. I hovedparten af forsøgene med iltmålinger, var algerne stadig i stand til at lave fotosyntese, om end med reduceret effektivitet. Kun i et enkelt tilfælde, og systematisk med *Saccharina latissima* ved 21 °C, var algerne døde. Vi antager derfor, at iltfrie forhold i en periode på omkring 24-72 timer kun har en forbigående negativ effekt hvis temperaturen er under 21 °C.

5.5 Delkonklusion – makroalgers fysiologi

Ud fra observationerne i disse forsøg og fra resultater i litteraturen har vi opstillet en konceptuel fysiologisk model for effekten af iltsvind og temperatur på makroalger. Antagelsen er, at alger både har et normalt oxidativt stofskifte (1), og evnen til at dække cellernes energibehov ved fermentering (2) [numre henviser til Figur 5.11].

Thallustykkelse (3) bestemmer, sammen med den eksterne iltkoncentration (4), den mængde ilt der kan transporteres ind (5) for at dække respirationen i mørke. Respirationen antages at være temperaturafhængig (6), så hvis kombinationen af thallustykkelse, temperatur og ekstern iltkoncentration betyder, at transporten af ilt (5) til de inderste celler i thallus ikke kan dække behovet, så vil algen skifte til fermentering (2). Ved fermenteringsprocesserne dannes fermenteringsprodukter, fx mælkesyre og ethanol (Banti et al. 2013), som ophobes i thallus til en koncentration (8), hvor diffusion ud af thallus (7) er i

ligevægt med produktionen. Vores afgørende antagelse er, at stresset på planten, som forårsager nedgang i den fotosyntetiske kapacitet, og evt. bliver fatalt, er ophobningen af fermenteringsprodukter i cellen (8).



Figur 5.11. Konceptuel fysiologisk model for samspillet mellem thallus tykkelse, temperatur og iltkoncentration for det fysiologisk stress som makroalger oplever.

Modellen kan forklare at effekten af iltfrie forhold stiger med temperatur og thallus tykkelse og endvidere at selv arter med tykt thallus, som fx *Saccharina latissima*, kan tolerere iltfrie forhold ved lave temperaturer, idet produktionen af fermenteringsprodukter kan balanceres af en diffusion ud at thallus. Det har ikke været muligt at eftervise modellen ud fra de observationer som er lavet i dette projekt, fx med målinger af interne koncentrationer af fermenteringsprodukter, men modellen kan forklare de data vi har og stemmer overens med resultater i litteraturen omkring makroalgers fysiologi.
6 Respirationsrater for dominerende dyrearter i Bjørnsholm Bugt

Faunaen som lever i og på bunden bidrager sammen med bakterier og alger til fjordbundens samlede iltbalance. Som supplement til litteraturværdier for forskellige faunagruppers iltforbrugsrate, blev der udført en serie respirationsmålinger på de dominerende dyrearter i Bjørnsholm Bugt. Resultaterne fra disse undersøgelser bidrog med vigtig information til kalibrering af en dynamisk økosystem model (DHI's økologiske Limfjordsmodel).

6.1 Metoder

Der blev målt respiration på fem forskellige dominerende faunagrupper i foråret (april 2018) og sommeren (august 2018) i Bjørnsholm Bugt. Organismerne blev inkuberet ved 7°C i foråret og ved 20° om sommeren. Respirationen blev målt i kamre med organismerne (Figur 6.1). Efter målingerne blev biomassen i kammeret bestemt ved først at tørre organismerne ved 105°C i 24 timer og herefter brænde organismerne ved 450°C i 2 timer.



Figur 6.1. Forsøgsopstilling til måling af dyrearters respiration. På billedet ses inkubation af strandkrabber i foråret (april) 2018, hvor temperaturen var 7°C.

Der blev målt respiration på nedenstående organismer:

- Carcinus maenas (krabbe)
- Asterias rubens (søstjerne)
- Haliclona oculata (havsvamp)
- Styela clava (tunikat)
- Psammechinus miliaris (søpindsvin).

Respiration blev beregnet ved lineære regression af ændringen i iltkoncentration i løbet af 30-60 minutter. Kammervolumenet og kulstofindholdet i organismerne (betragtet som 50% af det organiske stof - askefri tørvægt) blev brugt til at beregne iltforbruget per gram kulstof per time.

6.2 Resultater og diskussion

Respirationsraterne steg lineært med biomassen på tværs af alle dyregrupperne, dog med en højere hældning ved sommerundersøgelserne (Figur 6.2).



Figur 6.2. Sammenhæng mellem respirationsrate og biomasse opgjort som g kulstof fra askefri tørvægt. Data repræsenterer alle 5 undersøgte dyrearter som blev indsamlet i Bjørnsholm Bugt i foråret (april 2018; 7°C) og sommeren (august 2018; 20°C). De stiplede linjer er regressionslinjer bestemt vha. en powerfunktion.

Normaliseret til kulstofenheder, var der mere end dobbelt så høje respirationsrater om sommeren, dog med undtagelse af søstjernen *Asterias rubens* (Figur 6.3).



Sammenlignet med litteraturværdier faldt vores målingerne inden for tidligere målte intervaller (Tabel 6.1).

Figur 6.3. Respirationsrater (μ mol O₂ g C⁻¹ h⁻¹) for 5 dominerende bunddyr i Bjørnsholm Bugt i foråret (april 2018; 7°C) og sommeren (august 2018; 20°C). Raterne er middelværdier ± std.err.

Tabel 6.1. Sammenligning af målte respirationsrater (middelværdier) med litteraturværdier. Raterne er vist som µmol O₂ g C⁻¹ h⁻¹.

Målt	april	august	Litteratur	Reference
M. edulis	-	-	7,05 -27,41	Stickle og Sabourin 1979; Clausen og Riisgaard 1996 Landes et al. 2015
C. maenas	39.73	113,94	2,14 - 132,45	Taylor 1977
rubens	36.20	88,53		Ikke fundet
H. oculata	44.96	210,63	95,54	Koopmans et al. 2010
S. clava	32.95	111,08	1,41 - 34,70	Ai-li Jiang et al. 2008
P. miliaris	28.80	98,97	18,4	Otero-Villanueva et al. 2004

6.3 Delkonklusion - respirationsrater hos dyr

For 5 dominerende dyrearter i Bjørnsholm Bugt, steg respirationsraterne med biomassen opløftet til en potens på mellem 0.8 til 0.9, hvilket er tæt på den forventede 0,75 ifølge Kleiber (1932). Forskellen mellem modeller i april og august var, at respirationskoefficienten var ca. 3 gange højere for sommermålingerne. Respirationsraten var således meget følsom over for undersøgelsestidspunktet og dermed den anvendte temperatur. De fundne rater var generelt i overensstemmelse med tidligere fundne værdier.

7 Lysforhold ved bunden

Lyssvækkelsen skyldes to forhold. Det ene er lysabsorptionen, og det andet er spredning af lyset. Spredning af lyset betyder, at lyset ændrer retning og ikke går direkte nedad. Mere af lyset går opad, og vandet får et gråligt og uklart udseende og kun en mindre del af lyset når bunden. Lysspredning skyldes partikler, både organiske og uorganiske og hænger tæt sammen med vindens ophvirvling af materiale fra fjordbunden. Lysabsorptionen skyldes primær vandet selv, opløste humusstoffer, de organiske partikler og i mindre grad, pigmenter og cellevæv fra fytoplankton. De opløste humusstoffer kommer primært fra fytoplankton, hvor de døde alger omdannes til opløste organiske forbindelser. En mindre del tilføres som humusstoffer fra oplandet via vandløb.

Formålet med dette kapitel er dels at beskrive sæsonvariationen i lyssvækkelsen og dermed lysforholdene ved bunden, gennem en analyse af lysmålinger udført af Miljøstyrelsen og gennem analyse af højfrekvente lysmålinger udført forskellige steder i fjorden. Hertil kommer en analyse af bidraget fra de forskellige lysabsorberende komponenter til den samlede lyssvækkelse. Dette bidrager sammen med resultater af makroalgernes lyskrav, til en vurdering af den nødvendige forbedring af lysforholdene i fjorden for etablering af makroalger på forskellige dybder.

7.1 Metoder

7.1.1 Overvågningsdata og højfrekvente målinger

Lyssvækkelsen beskrives ved den diffuse lyssvækkelseskoefficient (K_d , meter¹) for fotosyntetisk aktivt lys (PAR). I vores analyser har vi dels anvendt lysmålinger udført af MST som en del af det nationale overvågningsprogram på centrale områder i Limfjorden. Disse data suppleres med analyser af data fra højfrekvente lysmålinger på flere dybder udført i Bjørnsholm Bugt og ved revet ud for Livø (Figur 4.1).

Lysmålinger gennemført af MST over perioden 2009 til 2018 blev anvendt til at analysere variationen i lyssvækkelsen over året i forskellige områder af Limfjorden. Data fra før 2009 er ikke anvendt, da sæsonvariationen i lyssvækkelsen delvist er koblet til niveauet af næringsstoffer, som har ændret sig over årene, og her er der anvendt data, som repræsenterer den nuværende situation. Endvidere blev der udeladt stationer, som ikke har målinger for hele året. K_d bestemmes i overvågningsprogrammet ud fra profilen af lys ned gennem vandsøjlen relativt til en sensor, som måler den indkommende lysintensitet (Markager & Fossing 2015). Antallet af målinger varierer fra omkring 20 til 50 pr. år. For hver station blev gennemsnit for en dag i året beregnet. Herefter blev data interpoleret og efterfølgende beregnet et glidende gennemsnit over 15 dage. Ud fra data for overfladeindstråling fra 1974 til 2018 og K_d blev der efterfølgende beregnet den gennemsnitlige daglige lysintensitet for hver meter i Løgstør Bredning. I denne beregning er overfladerefleksion sat til 6% (Kirk 1994).

De højfrekvente (hvert 15. minut) lysmålinger blev gennemført ved anvendelse af en serie lysloggere placeret på 4 dybder på stationer i Bjørnsholm Bugt i 2017 og 2018, samt ud for Livø revet i 2018. Sensorerne blev tilset og renset ca. hver 4. uge. Drift i sensorsignalet blev korrigeret ved at antage en lineær nedgang i følsomhed mellem rensning af sensorerne. På hver station beregnedes for hvert tidsinterval lyssvækkelseskoefficienten (K_d), som den lineære hældning mellem dybde og lysintensitet. Daglige middelværdier blev beregnet for perioden kl. 10 til 14.

7.1.2 Opdeling af lyssvækkelse på delkomponenter

Lyssvækkelsen i vandsøjlen defineres som summen af den samlede lysabsorption og lysspredning. Lysabsorption kan opdeles på fire komponenter; vandet selv, opløst organisk stof, detrituspartikler, inklusivt den del af fytoplanktons absorption som ikke skyldes pigmenter, og endelig pigmenter, som især er klorofyl. I forbindelse med prøvetagningen blev der målt lysabsorption af opløst organisk stof (CDOM) og partikler.

I samarbejde med MST blev der indsamlet vandprøver i 2 dybder. 1 m fra overfladen og tæt på bunden fra maj 2017 til april 2018, i alt 17 gange. Prøverne blev målt i Aarhus Universitets laboratorium i Silkeborg. Prøver for CDOM blev filtreret gennem et GF/F filter og opbevaret i køleskab. Prøver for partikulær absorption blev filtreret gennem et GF/F filter og filteret blev opbevaret i flydende kvælstof. Alle prøver blev målt inden for nogle uger efter prøvetagning.

CDOM (coloured dissolved organic matter) absorptionen blev mål fra 300 til 750 nm i en 10 cm kvarts cuvetter. Målinger og databehandling blev lavet efter Stedmon et al. (2000). Målinger af partikulær absorption blev lavet fra 350 til 750 nm i en integrerende sfære. Målinger og databehandling blevet lavet som angivet i Stæhr & Markager (2004). Absorptionskoefficienten for vand blev taget fra Pope og Fry (1997).

7.2 Resultater og diskussion

7.2.1 Lyssvækkelse over året

Baseret på MST data for perioden 2009 til 2018 var der en stor sæsonvariation i K_d for de forskellige områder (Figur 7.1).

De fem stationer på Figur 7.1 viste forskellige mønstre, men der var også nogle hovedtræk. Stationerne i Nissum og Løgstør Bredning, som er åbne og vindeksponerede, har en høj lyssvækkelse om vinteren pga. resuspension. I slutningen af februar til midt i marts stiger K_d, antageligt primært pga. forårsopblomstringen af fytoplankton, men tilførsel af humusstoffer fra land kan også spille en rolle. I april og maj er vandet relativt klart, men hen over sommeren stiger K_d og når sit maksimum i august. Denne stigning hen over sommeren er mest udtalt i de mest eutrofe dele af fjorden, Skive Fjord og Thisted Bredning, men ses også i andre områder. **Figur 7.1.** Variation i lyssvækkelsen (K_d) over året for fem stationer i Limfjorden baseret på data fra den nationale overvågning. Løgstør Bredning (station 3708) er fremhævet med rødt, da de undersøgte stenrev ligger i denne del af fjorden.



Lyssvækkelsen blev også målt i løbet af 2017 og 2018 på to ekstra MST stationer placeret ved Livø revet og i Bjørnsholm Bugt (Figur 4.1). I nedenstående Figur 7.2 sammenlignes resultaterne herfra med K_d -værdier baseret på kontinuerte (hver 15 minut) lysmålinger inde over revene.



Figur 7.2. Daglige værdier for lyssvækkelseskoefficienten (K_d) i vandsøjlen fra april til oktober i A) Bjørnsholm Bugt (Barbund og Stenrev områder) samt B) Stenrev ved Bjørnsholm Bugt og Livø i 2018. Figuren viser K_d baseret på målinger fra to MST stationer, samt K_d baseret på højfrekvente lysmålinger udført inde over undersøgelsesområderne i Bjørnsholm Bugt.

De højfrekvente lysmålinger viste, med større detaljeringsgrad end MST data, den store tidslige variation i lyssvækkelsen hen over vækstsæsonen. Sæson-variationen i K_d var ifølge de højfrekvente lysmålinger på samme niveau i barbunds- (0,77 ± 0,08 m⁻¹) og stenrevsområdet (0,82 ± 0,11) i 2017 med en tendens til stigende K_d hen over sommeren og et fald i løbet af efteråret. Dog var K_d niveauet højere end målinger på den nærtliggende MST station (Tabel

7.1). I 2018 var der god overensstemmelse i sæsonvariationen mellem MST og de højfrekvente K_d værdier, dog med lidt højere K_d niveau ud fra de højfrekvente målinger ved Livø revet. Lyssvækkelsen bestemt ved højfrekvente lysmålinger inde over stenrevene var generelt lidt højere end K_d værdier målt af MST på stationer der lå lidt længere væk fra revene.

Tabel 7.1. Middelværdier \pm SD for K_d (m⁻¹) for de tre NOVANA stationer (MST) i 2017 og 2018 i perioden april til september, hvor der blev målt på alle tre stationer, samt højfrekvente lysmålinger (HF) fra Bjørnsholm Bugt (BB) og Livø revet. Bjørnsholm Bugt (BB) målinger i 2017 repræsenterer både sten og barbund områderne.

	Løgstør MST	BB MST	Livø MST	BB HF	Livø HF
2017	$0,56 \pm 0,08$	$0,69 \pm 0,08$	$0,60 \pm 0,06$	$0,78 \pm 0,10$	-
2018	0,66 ± 0,17	$0,62 \pm 0,15$	$0,72 \pm 0,16$	0,61 ± 0,11	0,80 ± 0,11

7.2.2 Lysets fordeling over året på forskellige dybder

Ud fra data for overfladeindstråling fra 1974 til 2018 og K_d blev den gennemsnitlige daglige lysintensitet beregnet for hver meter i Løgstør Bredning (figur 7.3). Data for overfladelys stammer fra forskellige kilder og lokaliteter. I datasættet indgår data fra Sprogø, Højbakkegaard ved Tästrup og Østerbro. Alle data er kvalitetssikret. Kurven i 1 meter's dybde følger overfladeindstrålingen, og med dybden ser man en tydelig lyssvækkelse. På figuren er indsat to linjer; en rød for lyskompensationspunktet (I_C) beregnet på hele makroalgesamfund og en grøn når I_c beregnes for isolerede thallusstykker (Tabel 5.10). Figuren viser, at der kun er lys nok til netop at give hele algesamfund en positiv balance mellem respiration og fotosyntese i omkring 3 meters dybde fra 1. maj til hen i juli.



Ud fra figur 7.3 kan man beregne antal dage, hvor et makroalgesamfund har en positiv vækstrate og dermed en netto iltproduktion. Det er vist på figur 7.4 på for fem stationer i Limfjorden.

Figur 7.3. Lysforhold for hver meter i Løgstør Bredning baseret på en gennemsnitlig lysindstråling over 45 år og K_d-værdier observeret mellem 2009 og 2018. En Ic-værdi på 66 (makroalgesamfund, rød linje) og 15 µmol fotoner m⁻² s⁻¹ (thallusstykker, grøn linje) er angivet. **Figur 7.4.** Antal dage med positiv vækst for makroalgesamfund under antagelse af et lyskompensationspunkt på 66 µmol fotoner m⁻² s⁻¹ for fem bassiner i Limfjorden. A: med de nuværende værdier for lyssvækkelse (K_d) og B: med 50% mindre lyssvækkelse.



Figur 7.4 viser, at antallet af dage med mulighed for vækst aftager kraftigt mellem 2 og 3 meter, og kun i Nissum Bredning var vækst muligt i 4 meters dybde. Hvis man antager, at der kræves 100 dage med positive vækstrater (på figuren er dage talt med selvom væksten kun netop var over nul), så svarer det til en dybdegrænse for egentlige makroalgesamfund på 2 til 3 meter i Løgstør Bredning, og lidt mere i Nissum Bredning. Til sammenligning viser makroalge moniterings data fra NOVANA programmet at der siden 2003, ikke har været makroalger på dybder større end 4 meter i Bjørnsholm Bugt. På figur 7.4 er de tilsvarende kurver beregnet for en 50% mindre lyssvækkelse. Så her vil dybdegrænsen bevæge sig ned til mellem 4 meter (Skive Fjord) og 7 meter (Løgstør Bredning).

Nærværende beregninger blev udført for at vurdere om der potentielt kan etableres makroalgesamfund med en netto iltproduktion under pyknoklinen. Ovenstående beregninger viste, at det ikke var muligt med den aktuelle økologiske tilstand og den lyssvækkelse som fjorden har i dag. Der blev efterfølgende beregnet, hvad der skal til før et stenrev potentielt kan få en positive effekt på iltforholdene i bundvandet. Her blev det antaget, at pyknoklinen lå omkring fem meter, og at et makroalgesamfund skulle være over sit lyskompensationspunkt i minimum 100 data om året (Figur 7.5).

Figur 7.5. Beregning af den nødvendige reduktion i lyssvækkelse for at makroalgesamfund kan etablere sig i fem bassiner i Limfjorden.



Beregningerne viste, at K_d skulle reduceres med mellem 30% (fraktion af nuværende $K_d = 0,7$) i Nissum Bredning og 55% i Skive Fjord. For Løgstør Bredning, som er fokus for denne rapport, var kravet en forbedring på 42%.

7.2.3 Forskellige komponenters betydning for lyssvækkelsen

Det relative bidrag fra de forskellige lysabsorberende komponenter til den samlede lyssvækkelse varierer med bølgelængden inden for det visuelle (400 til 700 nm) PAR spektrum (Figur 7.6).

Af figur 7.6 ses, at den relative absorption gennem spekteret er væsentlig forskellig for en situation med en høj klorofyl koncentration om sommeren (A) og en om vinteren med meget lidt fytoplankton i vandet (B). Vandet dominerede absorptionen i det røde område (bølgelængder over 600 nm). De to organiske stof-fraktioner, CDOM og detritus, dominerede i resten af spekteret, idet deres absorption steg eksponentielt med faldende bølgelængde. I sommersituationen var pigmenternes absorption betydelig fra ca. 420 nm til 570 nm. Ved 675 nm ser man klorofyls røde absorptionsmaksimum. Beregningerne er ikke korrigeret for variationen i overfladelysets spektrale sammensætning. Den er ret jævn fra 450 nm og opefter, men aftager i det blå område under 450 nm. Medtager man denne korrektion bliver vandets andel af lysabsorptionen noget større og de to organiske stoffraktioner noget mindre.

Baseret på tilsvarende kurver blev betydningen af de forskellige lysabsorberende komponenter analyseret til den samlede PAR lysabsorption gennem året (Figur 7.7). Figur 7.6. Figuren viser fordelingen af absorption gennem lysspekteret for to prøver. A) fra den 8 august 2017, hvor absorption af pigmenter (fytoplankton) var maksimal og B) fra den 7 februar, hvor absorptionen fra fytoplankton var mindst. Blå: vandets egen absorption. Brun: absorption af CDOM. Olivengrøn: absorption af detritus og grøn: absorption af pigmenter. Y-aksen er andelen af lyset ved en given bølgelængde som absorberes af hver komponent, under antagelse af, at alt er absorberet inden det når bunden.



De absolutte absorptionskoefficienter varierede gennem året. Pigmenternes absorption var tæt koblet til klorofylkoncentrationen. Dog ses en vis afkobling i perioden fra september til december, hvor klorofyl-koncentrationen var høj, op til 12 µg l⁻¹, mens absorptionskoefficienten for pigmenter var faldende. Det skyldes, at den specifikke absorptionskoefficient for pigmenter (absorption pr. klorofyl-enhed) påvirkes af pigmentindholdet i cellerne, og aftager pga. selvskygning når cellerne er tæt pakkede med pigmenter. Det er netop det som sker ud over efteråret, når fytoplankton tilpasser sig til et faldende lysniveau. Lysabsorptionen af detritus var højest i vækstsæsonen og reflekterer produktionen af organisk stof. CDOMs absorptionskoefficient varierede lidt over en faktor to fra 0,15 til 0,34 m⁻¹. Kilderne til CDOM er akkumuleret organisk stof fra produktionen i fjorden og CDOM som kommer med vandløbene til fjorden. De højeste værdier faldt sammen med en høj ferskvandsafstrømning efterår og vinter, samt slutningen af vækstsæsonen. CDOM nedbrydes især fotokemisk, hvilket kan forklare de lave værdier i juni og juli.





Når man skal vurdere den relative betydning af de 4 lysabsorberende komponenter, er det bedst at se på den gennemsnitlige lysabsorption i det fotosyntetisk aktive spektrum (400 til 700 nm) og beregne hver komponents bidrag til den totale absorption. Det er gjort i figur 7.7B. Figuren viser at lysabsorptionen domineres af vandets egen absorption og CDOM. Deres andel af lysabsorptionen ligger begge omkring 0,36 (Tabel 7.2).

Tabel 7.2. Andel af den samlede lysabsorption beregnet pr. dag for de 17 prøvetagninger over intervallet 400 til 70 nm for de fire fraktioner som absorberer lys.

	Middel	Minimum	Maximum	
Vand	0,35	0,28	0,44	
CDOM	0,37	0,23	0,59	
Detritus	0,11	0,05	0,17	
Pigmenter	0,18	0,05	0,33	

Variationen over året følger absorptionskoefficienten (gælder kun CDOM, vands absorptionskoefficient er en fysisk konstant) og så de øvrige komponenter, således at når deres absorption er høj, bliver de andres tilsvarende lavere og *vice versa*. Andelen som absorberes af detritus varierede fra 0,05 til 0,17 med et gennemsnit på 0,11. Dvs. tilsammen står de to organiske komponenter for 48% af lysabsorptionen. Pigmenterne i fytoplankton havde den højeste absorption om sommeren på omkring 0,23 og i maj 2018 (0,33). I gennemsnit blev 18% af det indkomne lys optaget af fytoplankton.

7.3 Delkonklusion – lysforhold ved bunden og betydning af lysabsorberende komponenter

Lysforholdene i Limfjorden er generelt dårlige og meget variable. Dette fremgår tydeligt i analyserne af både overvågningsdata fra flere områder af Limfjorden samt ud fra de højfrekvente lysmålinger udført forskellige steder i Løgstør Bredning.

Overvågningsdata har dokumenteret, at områder som er åbne og vindeksponerede og dermed udsat for resuspension, har en højere lyssvækkelse. Dette er særligt udtalt om vinteren. Generelt stiger lyssvækkelsen i forårsmånederne i forbindelse med forårsopblomstringen af fytoplankton. Tilførsel af opløst og partikulært stof fra land bidrager formentlig også til denne udvikling. I den periode, hvor makroalgerne typisk har deres største vækst (april og maj) er vandet relativt klart, men i takt med algeopblomstringer hen over sommeren stiger lyssvækkelsen. Dette sæsonmønster betyder, at makroalger har et vindue i foråret, hvor de kan vokse relativt dybt, men også, at de dybest voksende bestande vil gå fra at være netto iltproducenter til at være netto iltforbrugende i løbet af sommeren.

Baseret på højfrekvente lysmålinger i denne rapport blev det dokumenteret at lyssvækkelsen varierede meget over året. Sammenholdt med de mindre hyppige overvågningsdata, som måles i de centrale dybere dele af fjorden, var lyssvækkelsen målt nær kysten vha. sensorer, generelt højere og mere varierende. Dette indikerer, at kystnær resuspension af partikulært materiale nedsætter lystilgængeligheden for makroalgerne som vokser på de lavere liggende rev tæt ved kysten.

Når man sammenholder minimumslyskravet for makroalger med de beregnede værdier for lystilgængeligheden på forskellige dybder, fremgår det tydeligt, at der kun var lys nok til netop at give hele algesamfundet en positiv balance mellem respiration og fotosyntese i omkring 3 meters dybde fra 1 maj til hen i juli. Denne observation passer med, at der næsten ikke blev observeret makroalger under feltarbejdet i Bjørnsholm Bugt på dybder over 3 meter. Makroalgerne kan vokse ned til omkring 5 meter om sommeren, men der vil ikke være energioverskud til at kompensere for græsning eller andre tabsfaktorer, og selvskygning vil forhindre, at der kan opbygges en større biomasse. Det er vigtigt at understrege, at makroalger fysiologisk kan klare sig med langt mindre lys, hvis algerne har stabile lysforhold, så de kan tilpasse sig optimalt. I koldere vand kan de klare sig med 1-2 µmol fotoner m⁻² s⁻¹ (Markager 1993, Markager og Sand-Jensen 1992, 1994) eller ca. 15 gange mindre end angivet, og meget tynde, f.eks. skorpeformede alger kan klare sig med endnu mindre lys. Men, hvis makroalger har meget lav biomasse og er begroet med iltforbrugende dyr og bakterier, har de ingen betydning som netto iltproducenter. Det har derfor været vigtig for vurderingen af stenrevs eventuelle betydning at kende de rater og lyskrav som reelt gælder i Limfjorden.

Ved at kombinere vores resultater for minimumslyskrav (Ic) for makroalgesamfund med lystilgængeligheden på forskellige dybder, viste det sig, at antallet af dage med mulighed for vækst aftog kraftigt mellem 2 og 3 meter, og kun i Nissum Bredning var positiv vækst mulig i 4 meters dybde. Hvis man antager, at der kræves 100 dage med positive vækstrater for at opretholde en bestand, så svarer det til en dybdegrænse for egentlige makroalgesamfund på 2 til 3 meter i Løgstør Bredning, hvilket svarer fint til de målte observationer. Beregninger viste endvidere, at der ved en 50% forbedring af lyssvækkelsen, kan forventes en dybdegrænse ned til mellem 4 meter (Skive Fjord) og 7 meter (Løgstør Bredning). Disse resultater indikerer, at der skal ske en markant forbedring af den nuværende høje lyssvækkelse før etablering af stenrev med begroning af makroalger kan etableres på større dybder. Beregninger viste, at K_d skal reduceres med mellem 30% (fraktion af nuværende K_d = 0,7) i Nissum Bredning og 55% i Skive Fjord. For Løgstør Bredning, som er fokus for denne rapport, var kravet en forbedring på 42%.

Den samlede lyssvækkelse i vandsøjlen er summen af lysabsorption og lysspredning. Når man tager højde for vandets egen lysabsorption, viste resultaterne, at det især er fjordens høje indhold af organisk stof, målt som CDOM plus det detritus, der dominerer den resterende lysabsorption i vandsøjlen, med sæson middelværdi på hele 73%. Resten (27%) skyldes absorption fra fytoplanktonets pigmenter. Betydningen af lysspredning til den samlede lyssvækkelse er ikke medtaget direkte i undersøgelserne. Den meget høje baggrundslyssvækkelse fra opløst organisk stof og partikler, er et resultat af mange års høje tilførsler af næringsstoffer og opløst stof fra et intensivt dyrket opland (Markager et al. 2011; Pedersen et. al. 2014; Murray et al. 2015).

En reduktion af tilførsler af næringsstoffer vil hurtigt give en reduktion i mængden af fytoplankton, dog med en forsinkelse på nogle år pga. de ophobede mængder af næringsstoffer i sedimentet. Men da det kun udgør omkring en fjerdedel af lysabsorptionen, vil det kun give en mindre forbedring. Den vigtigste faktor for at få makroalger til at vokse på et stenrev, er at få reduceret mængden af opløst organisk stof samt det partikulære organiske stof som ophvirvles i vandsøjlen. En klarere vandsøjle vil bedre muligheden for etablering af mikroalgebelægninger, der kitter sedimentet sammen, samt øge chancerne for etablering af ålegræsbestande. Begge forhold vil stabilisere den organisk rige mudderbund og yderligere forbedre lysforholdende i vandsøjlen. Den afgørende faktor for at disse forbedringer kan ske er, at tilførslerne af kvælstof og fosfor reduceres markant. Men selv når dette sker må det forventes at tage årtier før de store puljer af organisk stof i fjordens dybde dele er nedbrudt, og dermed til man vender tilbage til en situation, hvor makroalger kan vokse ud på større dybde.

8 Undersøgelser af iltdynamikken på og uden for eksisterende stenrev

I dette kapitel præsenteres resultaterne af to års undersøgelser af vandkvalitet, iltdynamik, næringsstofudveksling fra havbunden, sedimentforhold og biomassefordeling på forskellige lokaliteter i Limfjorden.

Det overordnede formål med disse undersøgelser var at undersøge, om stenrev i Limfjorden kan føre til forbedrede iltforhold ved og i bunden, således at næringsstoffrigivelsen til bundvandet begrænses i et omfang, der resulterer i en målbar reduktion af den interne belastning i sommerhalvåret.

Iltudvekslingen mellem bunden og vandsøjlen er en dynamisk proces, som både viser en betydelig årstidsvariation og år til år variation grundet naturlige biologiske, kemiske og fysiske fluktuationer i vandmiljøet og i havbunden. Begroning af ny-udlagte sten er en langvarig proces (Karsten Dahl personlig kommunikation), derfor blev det ved projektets start vurderet, at nogle få års begroning på det nye rev ved Livø ikke ville være tilstrækkeligt til at påvise, om udlagte sten ville få en signifikant positiv effekt på iltdynamik og udveksling af næringsstoffer. Det blev derfor besluttet at gennemføre undersøgelser på et allerede eksisterende område med lyseksponerede sten i Limfjorden (herefter kaldet stenrev) og sammenligne resultaterne herfra med målinger på et nærtliggende sammenligneligt område uden større sten (herefter kaldet barbund).

I dette afsnit præsenterer vi målinger fra de to områder hhv. med og uden større sten i Bjørnsholm Bugt. Resultaterne herfra sammenlignes for nogle parametres vedkommende med målinger af iltdynamikken i 2018 omkring det nye rev ud for Livø (etableret foråret 2017) for at vurdere, hvorvidt iltdynamikken adskiller sig i dette område. Placeringen af undersøgelsesområderne fremgår af figur 4.1.

Det overordnede formål med dette kapitel er at vurdere, om iltforholdene er bedre omkring et område med større sten (stenrev) sammenlignet med et nærliggende område uden større sten. Undersøgelserne anvendes til at vurdere:

- Forhold af betydning for sæson- og årsvariationen i vandkvaliteten i hhv. Bjørnsholm Bugt og ved Livørevet.
- Iltbalancen omkring et stenrev, særligt i den kritiske periode om sensommeren, hvor der typisk opstår iltsvind i Limfjorden.
- Betydningen af bevoksninger af bentiske alger og bentisk fauna for iltdynamikken omkring og i havbunden.

Foruden at vurdere disse forhold, bidrager resultaterne til kalibrering og validering af DHI's økologiske Limfjordsmodel (MIKE) 3 FM.

8.1 Metodebeskrivelser

Fjordsystemets flora, fauna og bakterier bruger ilt til deres respiration. Dette iltforbrug i vandsøjlen kompenseres af planternes fotosyntese og af iltudveksling med atmosfæren (Odum 1956, Staehr et al. 2010). I åbne dybere vandsystemer vil de biologiske iltprocesser domineres af planktoniske organismer, men i kystnære lavvandede fjordsystemer som Limfjorden vil iltdynamikken forventeligt være kraftigt påvirket af processer i og på fjordbunden (Testa et al. 2013). For at vurdere betydningen af stenrev for iltforholdene ved bunden blev der gennem to vækstsæsoner i 2017 og 2018 gennemført døgnmålinger på udvalgte tidspunkter af iltkoncentrationen i vandsøjlen med henblik på at bestemme systemets integrerede iltproduktion og iltforbrug. Vandsøjlens iltproduktion og – forbrug blev endvidere målt ved en række flaskeinkubationer. Disse målinger blev suppleret med målinger af fluxe (udveksling) af ilt og næringsstoffer mellem sedimentet og vandfasen på tre dybder på hver af de to lokaliteter ved fire intensive målekampagner, to gange i 2017 (august, oktober) og to gange i 2018 (april, august). Flux-målingerne blev foretaget på sedimentkerner i laboratoriet og direkte i felten, dvs. *in situ*. I felten blev flora og fauna kvantificeret på det areal, hvor *in situ* kammermålingerne blev foretaget. I hver kampagne blev der endvidere indsamlet sedimentprøver til bestemmelse af næringsstofpuljer, kvælstoffjernelse ved denitrifikation, iltnedtrængningsdybde og bestemmelse af indhold af organisk stof, som vises i afsnit 9.

Fordelingen mellem 'bundplanter og bunddyr' på den hårde bund er af væsentlig betydning for det samlede iltbudget, og under hver af kampagnerne kortlagde dykkere biodiversiteten ved at registrere antal organismer og dækningsgrader af koloniserende organismer på havbunden både i stenrevsområdet og i barbundsområdet i Bjørnsholm Bugt. Koncentrationen af bentiske mikroalger blev bestemt på tre undersøgte dybder i Bjørnsholm Bugt. Miljøstyrelsen bidrog med målinger i vandsøjlen i både Bjørnsholm Bugt og på en station nær revet ved Livø. Hovedelementerne i det samlede måleprogram er skematisk fremstillet i figur 8.1 og uddybes efterfølgende. Endvidere henvises til bilag 1 for en skematisk oversigt.



Figur 8.1. Konceptuel figur af de forskellige typer af målinger samt en visualisering af de biologiske og fysiske komponenter, som bidrager til ændringer i iltkoncentrationen i et lavvandet fjordsystem. Daglige ændringer er et resultat af planternes (blomsterplanter, makroalger og mikroalger på bunden samt fytoplankton i vandsøjlen) bruttoprimærproduktion (BPP) i dagslys. Hertil kommer systemets iltforbrug (R) fra både planter, dyr og bakterier i og på fjordbunden samt i vandsøjlen. Desuden sker der en udveksling af ilt med atmosfæren, som styres af koncentrationsgradienter og opblandingsforhold nær overfladen, som primært reguleres af vindhastigheden. I projektet blev åbenvandsmåling af processerne suppleret med bentiske *in situ* kammermålinger, laboratoriein-kubationer af indsamlede sedimentkerner samt *in situ* flaskeinkubationer af vandprøver. *In situ* forsøgene blev udført af dykkere, som også kortlagde fjordbundens fauna og flora samt sedimentforhold. På større dybder indsamlede MST vandprøver til bestemmelse af næringsstofferne kvælstof (N) og fosfor (P) og klorofyl, samt målte profiler af lys, temperatur, salinitet og ilt.

8.1.1 Målinger af temperatur, salinitet, lys, ilt og næringsstoffer i vandsøjlen i Bjørnsholm Bugt og ved Livø

I perioden 2017-2018 udvidede Miljøstyrelsen (MST) det nationale overvågningsprogram (NOVANA) til at omfatte vandprøver og CTD-profiler på en station hhv. i Bjørnsholm Bugt og ved Livørevet (se figur 4.1). Vandprøverne blev indsamlet hver 2.-3. uge i perioden maj 2017 til december 2018 (Fossing et al. 2019). CTD-data omfattede dybdeprofiler af temperatur og salinitet (Vang 2013) suppleret med målinger af ilt (Vang & Hansen 2014) og lysnedtrængning (Markager & Fossing 2015), mens vandprøver fra to dybder (overfladevand og bundvand) blev brugt til at bestemme koncentrationen af klorofyl, totalkvælstof, totalfosfor, nitrat, nitrit, ammonium og ilt. Prøverne blev analyseret og data behandlet efter retningslinjerne i de tekniske anvisninger for overvågning af de vandkemiske parametre og klorofyl a (Markager & Fossing 2014; 2015; Fossing & Hansen 2018).

8.1.2 Iltmålinger i vandsøjlen og beregning af iltforbrug og -produktion

Målingerne af ilt i vandsøjlen (sondemålinger) blev anvendt til at dokumentere døgn- og sæsonvariationer af iltindholdet samt til validering af den dynamiske model for Limfjorden (MIKE 3 FM). Koblet med data for vindhastighed, lysindstråling, vandtemperatur og salinitet, kan man anvende kontinuerte iltmålinger til at beregne bruttoproduktionen (BPP) og systemets samlede respiration (økosystem-respiration ER) samt netto-økosystem-metabolismen (NEM) på en given lokalitet (NEM = BPP – ER). Beregninger af BPP, ER og NEM blev i dette studie baseret på anvendelse af en invers modelleringsmetode, som beregner døgnvariationer i koncentrationen af ilt som en funktion af variationer i lys og vandtemperatur og vindhastighed (Hanson et al. 2008; Brighenti et al. 2015).

De højfrekvente sondemålinger blev foretaget i både 2017 og 2018 på forskellige lokaliteter med stigende afstand fra kysten (koordinater findes i bilag 2). På hver lokalitet blev der udsat sonder 1 m under overfladen og 0,5 m over bunden på lavt (ca. 3.5 m) og dybt vand (ca. 6 m). I 2017 blev der placeret i alt 8 sondestationer, 4 på barbundslokaliteten og 4 stationer på stenrevslokaliteten (Figur 8.2 A, B). I 2018 bibeholdtes to stationer i Bjørnsholm Bugt på stenrevslokaliteten, og der blev oprettet seks nye stationer nær det nyetablerede rev ved Livø (Bilag 2).

Sonderne målte kontinuerligt (hver 15. min.) ilt, temperatur, salinitet og lys i vækstsæsonen (april til oktober). Sensorerne blev tilset og renset ca. hver 4. uge. Drift i sensorenes signal blev korrigeret ved at antage en lineær nedgang i følsomhed mellem rensning af sensorerne. For salinitet blev de kontinuerte data endvidere kalibreret ved en sammenligning med MST-målinger, som blev foretaget ca. hver 14. dag.

På hver lokalitet blev lysmålinger anvendt til at beregne daglige værdier for lyssvækkelse, som den lineære hældning mellem dybde og lysintensitet. Døgnværdier for BPP, ER og NEM blev beregnet som de gennemsnitlige timeværdier summeret for et døgn. Volumetriske daglige værdier blev derefter konverteret til arealværdier ved multiplikation med dybden af vandsøjlen på målestedet (Staehr et al. 2018).

Flaskeinkubationer af vand indsamlet ud for undersøgelsesområdet i Bjørnsholm Bugt blev anvendt til at bestemme vandsøjlens primærproduktion og respiration (pelagisk metabolisme). Inkubationerne blev foretaget i 1 L gastætte glasflasker over perioder af ca. 24 timer. Flaskerne, som hang i ca. 1 meters dybde, var udstyret med dataloggere til registrering af iltkoncentration, temperatur og lys hver 15. minut (Figur 8.3 A). Inkubationerne blev gennemført hver 4. uge fra april 2017 til september 2018. Baseret på *in situ* målinger af lysniveau og vandtemperatur tre dage før og efter flaskeinkubationerne, var det muligt at estimere værdier for vandsøjlens iltproduktion og forbrug hver måned. Differencen mellem raterne bestemt for hele systemet (vandsøjle og sediment) og raterne for vandsøjlen (flaskeinkubationer) er udtryk for raterne i sedimentet (bentiske metabolisme) (Staehr et al. 2018), som også blev målt vha. *in situ* kamre og i sedimentkerner i laboratoriet.



Figur 8.2. Konceptuel figur som indikerer placering af målestationer i Bjørnsholm Bugt under de fire målekampagner i 2017 og 2018. A: Datalogger med sensorer, der hvert 15 minut målte temperatur, ilt, salinitet og lys, hang i vandsøjlen på forskellige dybder langs i alt fire transekter: to på barbundsområde og to i stenrevsområdet. B: Områderne set oppe fra. Placering af sensorstationerne samt angivelse af hvor sedimentkerner og *in situ* kamre blev placeret. Koordinaterne for placering af sensorer i vandsøjlen i 2017 og 2018 er i bilag 2.

8.1.3 In situ bestemmelse af bentiske iltfluxe i inkubationskamre

På hver lokalitet i Bjørnsholm Bugt (barbund og stenbund) blev der foretaget *in situ* bestemmelse af ilt- og næringsstoffluxe på tre stationer på hver af dybderne 2, 4 og 6 m (Figur 8.2B). Undersøgelserne blev foretaget som en del af kampagneundersøgelserne. De fire kampagner af ca. en uges varighed blev afholdt i august 2017, oktober 2017, april 2018 og august 2018.

Bentiske kamre blev anvendt til *in situ* målinger af fjordbundens iltproduktion og -forbrug (Figur 8.3B). Hvert kammer var udstyret med en ilt- og temperaturlogger samt en lyslogger, som loggede data hvert 15. minut. Kamrene (tre på hver station) blev nænsomt placeret af en dykker, og efter ca. et døgns inkubation blev indholdet i kamrene høstet og bragt tilbage til laboratoriet til bestemmelse af biomassen og artssammensætning af flora og fauna (Figur 8.3C). Kamrene bestod af gasimpermeable transparente plastikposer (50 × 80 cm; diameter × højde) fæstnet til en hård metalkrave, som blev fastgjort i sedimentet med metalpløkker.

Iltmålingerne i *in situ* kamrene blev analyseret på samme måde som beskrevet for de pelagiske flaskeinkubationer. Den beregnede iltforbrugsrate indbefatter iltforbruget af de epibentiske organismer samt fjordbundens iltforbrug, hvor en varierende men betydelig andel af ilten forbruges til oxidation af reducerede forbindelser, der er produceret ved bakteriel nedbrydning af organisk materiale i fjordbunden uden forbrug af ilt. Iltforbruget til oxidation af de reducerede forbindelser er således et resultat af en iltfri respiration, der ligger tilbage i tid (en iltgæld). Endelig bidrager organismer i vandsøjlen også til de registrerede ændringer i kamrenes iltkoncentration. Af det samlede iltforbrug (respiration) målt i kamrene, udgjorde forbruget i det overliggende vandvolumen i gennemsnit 9% af de målte respirationsrater. Iltdynamikken i kamrene var således klart domineret af processer i og på sedimentet, hvilket viser, at den anvendte metodik er anvendelig til at vurdere bidraget fra det bentiske habitat til systemets samlede iltdynamik.



Figur 8.3. A: Metoden til iltinkubation i vandsøjlen. B: Kammer placeret på fjordbunden til *in situ* bestemmelser af ilt- og næringsstofudveksling, temperatur og lys. C: Indsamlet sten fra *in situ* kammer til bestemmelse af biomasse af bundlevende organisme. D: Indsamling af sedimentkerner til laboratorieforsøg.

8.1.4 Laboratoriebestemmelse af fjordbundens iltfluxe

I laboratoriet blev iltfluxene bestemt ved at måle den tidsafhængige koncentrationsændring af ilt i et lukket vandvolumen over sedimentkerner indsamlet på stationerne i Bjørnsholm Bugt (Figur 8.2 B.). En detaljeret beskrivelse af metoden findes i Fossing et al. (1998).

Målinger af iltfluxe blev foretaget både i lys (ca. 15 μ mol/m²/s) og mørke. Målingerne i mørke blev brugt til at beregne respirationen i systemet, mens målingerne i lys blev brugt til at beregne en evt. iltproduktion fra belægninger af bentiske mikroalger på sedimentoverfladen. Alle målinger blev foretaget på fem sedimentkerner for hver station. Fluxene blev bestemt efter sedimentkernerne var "preinkuberet" ved *in situ* temperatur natten over i kar med iltet bundvand fra lokaliteten.

I tre sedimentkerner fra hver station blev dybden i sedimentet, hvor iltkoncentrationen når nul, målt i mørke med mikroelektroder (se fx Jørgensen & Revsbech 1983). Samtidig blev sedimentets diffusive iltoptag beregnet ud fra formen på dybdeprofilet af iltkoncentrationen i sedimentoverfladen. Det diffusive iltoptag angiver den mængde ilt, sedimentet optager pr. tid ved diffusion alene. Bioturbation og bioirrigation bidrager også til transport og forbrug af ilt i sedimentet, og i målinger af sedimentets samlede iltoptag (som beskrevet ovenfor) og inkluderes således i alle iltforbrugsprocesserne.

8.1.5 Opgørelse af biomasser og arter i bentiske *in situ* flux-kamre og kortlægning vha. dykkere

Efter inkubation indsamledes alt sediment (barbund, ca. øverste 2 cm) og alle større sten (stenrev) inden for kammerets ramme, og prøverne blev oparbejdet i laboratoriet (Figur 8.3 D. Faunaen blev udsorteret, og antallet af individer talt. Dækningsgraden i procent af stenoverfladen blev estimeret, og biomassen af fauna og makroalger blev bestemt som askefri tørvægt. For at beregne askefri tørvægt af hver udsorteret art, eller evt. højere taksonomisk gruppe, blev prøven først tørret i en ovn ved 105 °C i 24 timer, hvorefter den blev vejet. Herefter blev prøven brændt ved 505 °C i 2 timer og så vejet igen for bestemmelse af askevægt. Den askefri tørvægt blev beregnet ved at trække askevægt fra tørvægt, og 50%

af den askefri tørvægt blev beregnet som kulstof. Identificerede arter blev kategoriseret som autotrofe eller heterotrofe. Biomasserne blev til slut omregnet til g C m², hvor alle autotrofe og heterotrofe biomasser blev lagt sammen, og en gennemsnitlig værdi beregnet ud fra de tre replikater (kamre) på hver station. En ratio mellem autotrof og heterotrof biomasse blev også beregnet.

Barbunds- og stenbundsområdets flora og fauna blev kortlagt ved dykkerundersøgelser. Biomasserne inden for kortlægningsområderne blev beregnet baseret på biomasseopgørelser af sten og sediment fra *in situ* kammerinkubationerne, kombineret med dykkerobservationer af individtal (fauna) og dækningsgrad (makroalger og svampe) i kortlægningsområdet. I denne rapport præsenteres kun biomasser i g C m⁻² fordelt mellem autotrofe og heterotrofe organismer samt fordelt på artsgrupper.

Bentiske mikroalger blev målt som klorofylkoncentrationen i overfladesedimentet. Prøverne blev indsamlet på tre dybder i Bjørnsholm Bugt (2, 4 og 6 m – juni 2019) ved at skrabe et fast areal af sedimentoverfladen. I laboratoriet blev klorofylkoncentrationen målt spektrofotometrisk efter ekstraktion i ethanol, og klorofylkoncentrationen blev endeligt omregnet til koncentration per m².

8.1.6 Beregning af bidraget fra den pelagiske og bentiske primærproduktion og respiration til helsystem-metabolismen

Månedlige estimater af den totale metabolisme i området (åbenvandsmålinger baseret på sondedata) i 2017 og 2018 blev sammenlignet med månedlige estimater af metabolismen baseret på pelagiske (flaskeinkubationer) og bentiske (in situ kammerinkubationer) målinger. Det bentiske bidrag til den samlede produktion og respiration blev i de måneder, hvor der ikke blev målt bentiske rater, beregnet som forskellen mellem raterne estimeret for hele systemet (åbenvandsmålinger) og de pelagiske rater (flaskeinkubationer). De måneder, hvor det bentiske bidrag blev målt vha. kammerinkubationerne, blev resultaterne fra kammerinkubationerne sammenlignet med det bentiske bidrag, beregnet som forskellen mellem total (åbenvandsmålinger) og pelagisk metabolisme (flaskeinkubationer). Sæsonmidler pr. areal blev beregnet for hhv. total, bentisk og pelagisk BPP, ER og NEM for hver lokalitet i de forskellige dybder (2, 4 og 6 m). Herved var det i 2017 muligt at få et overblik over det bentiske og pelagiske bidrag til den samlede iltdynamik på et stenrev og en nærtliggende barbund. For vækstsæsonen 2018 blev resultaterne fra Bjørnsholm Bugt (repræsenterer både stenrev og barbund på hhv. 2, 4 og 6 meters dybde) sammenlignet med resultaterne fra revet ud for Livø.

Helsystemraterne BPP, ER og NEM blev i 2017 beregnet ud fra åbenvandsmålinger af ilt på to dybder i to forskellige afstande (ca. 500 og 1000 m) fra kysten i Bjørnsholm Bugt (Figur 8.2A og 8.2B). Der var generelt meget små forskelle i iltkoncentrationerne i overfladevandet og bundvandet på de enkelte lokaliteter, da vandsøjlen var godt opblandet i området. Derfor blev raterne i overflade og bund midlet og brugt i de videre beregninger til at repræsentere hele vandsøjlen på de forskellige lokaliteter. Raterne pr. volumen blev omregnet til rater pr. areal ved at gange med dybderne på sten- og barbund (2, 4 eller 6 m).

I 2018 blev der i Bjørnsholm Bugt kun placeret ilt-, temperatur- og lysloggere i stenrevsområdet på ca. 6 meters dybde. Her blev sensorerne ligeledes placeret nær overfladen og tæt ved bunden. For at beregne rater for hele systemets metabolisme i Bjørnsholm Bugt i 2018 blev det antaget, at iltdynamikken i vandsøjlen, ligesom i 2017, var den samme uanset vanddybden (2, 4 og 6 m). I 2018 var der nogle forårsmåneder, hvor den pelagiske bruttoproduktion (BPP) opgjort pr. areal, beregnet ud fra flaskeinkubationer, var markant højere, end økosystem BPP-raterne pr. areal beregnet ud fra åbenvandsmålingerne af ilt. De målte klorofylkoncentrationer på indsamlingslokaliteten var i denne periode ca. dobbelt så høje i overfladevandet som i bundvandet, idet vandsøjlen var lagdelt. De høje pelagiske rater i forår, sommer og efterår 2018 i overfladevandet i forbindelse med lagdeling blev derfor nedjusteret ved at gange med forholdet mellem klorofylkoncentrationen i overflade- og bundvand. Herefter blev der beregnet en middelværdi af den korrigerede rate i overfladevandet og den målte rate i bundvandet. I 2018 blev der lavet sondemålinger i overflade- og bundvandet på seks lokaliteter ud for det nye stenrev ved Livø. Disse data blev behandlet som data indsamlet ved Bjørnsholm Bugt.

Sammenligningen mellem økosystemets, det pelagiske og det bentiske bidrag til BPP, ER og NEM blev opgjort på månedsbasis for hvert område og for hvert af de tre dybdeintervaller både i Bjørnsholm Bugt og ved Livø. De mange målinger gjorde det muligt at beregne simple månedsmidler både for det samlede system og for den bentiske og pelagiske komponent. Pelagisk månedsværdier for BPP, ER og NEM blev beregnet ved at modellere rater som en funktion af syv døgns kontinuerte lys og temperaturmålinger midt i måneden (Staehr et al. 2018). Der blev på tilsvarende vis anvendt beregnede ugemidler for de bentiske målinger. Men da der kun var bentiske målinger repræsenterende to måneder hvert år, blev raterne for de øvrige måneder beregnet som forskellen mellem raterne for hele økosystemet og raterne for vandsøjlen. For at validere denne metode blev de målte og beregnede bentiske rater sammenlignet for de fire måneder med in situ bentiske kammermålinger. Både for GPP, ER og NEM viste sammenligningen en rimelig god overensstemmelse med rater på samme niveau (korrelationsværdier på mellem 0,47 og 0,67, bilag 4). Korrektioner for forskelle i de autotrofe og heterotrofe biomasser i kamrene ift. dykkerkortlægningen af biomasserne i barbunds- og stenrevsområdet forbedrede ikke sammenstillingen. BPP, ER og NEM blev derfor estimeret som den simple forskel mellem hele systemets og de pelagiske rater, som beskrevet ovenfor. For at kunne sammenligne raterne fra Bjørnsholm Bugt og Livørevet i 2018, blev der anvendt beregnede estimater af de bentiske rater for Livørevet, hvor der ikke blev lavet bentiske målinger.

8.2 Resultater og diskussion

I det følgende gennemgås og diskuteres resultaterne fra undersøgelser foretaget i Bjørnsholm Bugt og ved Livø i perioden 2017 og 2018.

8.2.1 Iltforhold omkring stenrev: Variationer og regulerende faktorer

Baseret på målinger foretaget på to ekstra nationale overvågningsstationer (NOVANA) (Figur 4.1) beskrives i det følgende, hvorledes vandkvalitet og iltforhold varierede omkring de intensivt undersøgte lokaliteter fra maj 2017 til december 2018.

Regulering af sæson- og årsvariationen i vandkvalitet og iltforhold

Både i Bjørnholms Bugt og ved Livø var der en tydelig sæsonvariation i fjordens vandtemperatur (Figur 8.4). Bundvandet på de to dybe NOVANA-stationer var generelt mere salt end overfladevandet, og i korte sommerperioder var overfladevandet lidt varmere end bundvandet. Dette var ikke tilfældet for målinger på de mere lavvandede kystnære lokaliteter (Figur 8.4). Ændringer i massefylden (beregnet på baggrund af temperatur og salinitet) gennem vandsøjlen blev brugt til at bestemme lagdelingsdybden og lagdelingsstyrken (Figur 8.4). Disse beregninger indikerede, at vandsøjlen på begge lokaliteter var lagdelt i flere korte perioder, og at lagdelingsstyrken var svag og mest bestemt af salinitetsforskelle mellem overflade- og bundvand. Saliniteten viste overordnet et fald fra vinter til forår i 2018, hvilket kan tilskrives en lang våd vinter med tilhørende stor afstrømning af ferskvand fra land.

Den høje vinterafstrømning fra land var sandsynligvis årsag til stigningen i koncentrationen i totalkvælstof (TN) i denne periode, hvilket resulterede i en betydelig højere koncentration af TN i 2018 sammenlignet med 2017 (Figur 8.4). I begge ar var der en forventelig sæsonvariation i koncentrationen af uorganisk kvælstof (ammoniak+ammonium-N samt nitrit+nitrat-N) som faldt fra høje vinterværdier til meget lave sommerværdier. Til sammenligning var fosfor niveauerne på samme niveau i 2017 og 2018 (TP og orthofosfat-P), med høje vinter værdier, et markant fald om foråret og høje sommerværdier (særligt i 2018). Målingerne af næringssalte indikerer sammenfattende, at den pelagiske primærproduktion var begrænset af N om sommeren og P om foråret (figur 8.5). Den meget varme sommer i 2018 var på mange måder anderledes end sommeren i 2017. Efter det forventede fald i koncentrationen af uorganisk N (ammoniak+ammonium) og P i forårsmånederne i 2018, medførte de høje temperaturer kombineret med en kortvarig lagdeling i maj-juni et markant fald i iltkoncentrationen i bundvandet i juli (Figur 8.4). I forbindelse med den nationale iltsvindsovervågning blev der også registreret kortvarigt men kraftigt iltsvind i området allerede i juni (Hansen & Rytter 2018), hvilket ikke fremgår af de månedlige værdier i figur 8.4. Samtidigt observeredes forhøjede bundvandskoncentrationer af uorganisk N (ammoniak+ammonium) og kort efter af uorganisk P (Figur 8.5). Den store forårsafstrømning af N fra land og frigivelsen af næringsstoffer fra fjordbunden i forbindelse med iltsvind stimulerede den planktoniske primærproduktionen i vandsøjlen, hvilket ses af de markante opblomstringer af fytoplankton (målt som klorofyl) forår, sommer, sensommer og i det begyndende efterår (Figur 8.4). Disse observationer understøttes af den målte meget høje pelagisk primærproduktion (se figur 8.12). Forskellene mellem 2017 og 2018 var mindre hen på efteråret.

Dybdeprofiler af temperatur, iltkoncentration og salinitet i august 2018 viste, at temperaturen var væsentlig højere, og iltsvindet meget mere markant, end i august 2017 (Figur 8.6), hvilket også blev dokumenteret i de nationale iltsvindsrapporter (Hansen & Rytter 2018, Hansen et al. 2017). Iltprofilerne viste et fald i iltkoncentrationen i omkring 8 meters dybde i 2017, men iltindholdet faldt ikke til under grænsen for iltsvind. I 2018 var der kraftigt (< 2 mg/L) iltsvind, som startede allerede omkring 6 meters dybde. I løbet af få dage bredte der sig i slutningen af juli 2018 et tæt lyst lag af bakterien *Beggiatoa* sp. på sedimentoverfladen, det såkaldte liglagen. Etablering af liglagen sker, når alt ilt er opbrugt, og den giftige gas svovlbrinte er tæt på at frigives fra sedimentet. Dykkere observerede, at alle mobile dyr helt ind til 4 meters dybde søgte op af fjordbunden og kravlede op på toppen af stenene i forsøg på at finde ilt og undslippe svovlbrinten.

De meteorologiske forhold i sommeren 2018 var ganske ekstreme og omfattede høje temperaturer i bundvandet og svage vinde fra april til midt i august 2018. Disse forhold kombineret med et højt iltforbrug til nedbrydning af den store organiske produktion fra opblomstringerne af fytoplankton, var baggrunden for den observerede udvikling af iltsvind og frigivelse af næringssalte fra fjordbunden i perioden juni-september 2018 (Figur 8.4 og 8.5, Hansen

& Rytter 2018). Iltsvindet udvikledes således markant i 2018, selv om vandsøjlestabiliteten var lav, og lagdelingen af vandsøjlen kortvarig. Observationerne viste, at selv lavtliggende områder med stenet bund kan blive kraftigt påvirket af iltsvind i Limfjorden.



Figur 8.4. Månedlige værdier af temperatur, salinitet, vandsøjlestabilitet, lagdelingsdybde samt koncentrationen af klorofyl, næringsstoffer og ilt i overfladevandet og bundvandet i Bjørnsholm Bugt og Livø i perioden maj 2017 til december 2018. Ved en fuldt opblandet vandsøjle angives lagdelingsdybden som 8 m.



Figur 8.5. Koncentrationer af uorganiske N- og P-forbindelser i overflade- og bundvandet i Bjørnsholm Bugt og ved Livø i perioden maj 2017 til december 2018.



Figur 8.6. Profiler af ilt, temperatur og salinitet i Bjørnsholm Bugt og ved Livø sommeren 2017 og 2018.

Forholdene i vandsøjlen omkring Livø og i Bjørnsholm Bugt var ens, hvad angår vandsøjlens stabilitet, temperatur, klorofylindhold og næringsstofkoncentrationer i de øverste vandmasser. Der var en tendens til højere bundvandskoncentrationer af næringsstofferne ammonium og fosfat i august/september 2018 ved Livø end i Bjørnsholm Bugt som følge af iltsvindet. Sedimentet ved Livø indeholder generelt en smule mere jernbundet fosfor end sedimentet i Bjørnsholm Bugt (ses i kapitlet 9), og under dårlige iltforhold kan dette bevirke en større fosfatfrigivelse fra fjordbunden til bundvandet.

Da de hydrologiske forhold var relativ ens på de to lokaliteter, og vandsøjlen oftest opblandet, vil eventuelle forskelle i sæsonvariationen i iltkoncentrationen overvejende være styret af biologisk produktion og omsætning af organisk stof i vandsøjlen, på sten og i sedimentet. Eventuelle forskelle i regulerende faktorer for iltkoncentrationen mellem lokaliteterne skal derfor findes i de forskellige økosystemkomponenters bidrag til den biologiske kulstofomsætning.

Undersøgelse af muligt iltoverskud omkring et stenrev

De kontinuerte ilt- og temperaturmålinger viste en tydelig sæsonvariation i både 2017 og 2018 (Figur 8.7). Der var kun en lille forskel i koncentrationen af ilt og minimale forskelle i vandtemperaturen (p<0,05) mellem overflade- og bundvand i 2017, hvilket indikerer en overvejende opblandet vandsøjle. Forskellene mellem stenrevsområdet og barbundsområdet var ganske små for både ilt og temperatur.



Figur 8.7. Kontinuerte (hver 15. min.) målinger af ilt og temperatur fra april 2017 til september 2017 i Bjørnsholm Bugt (stenrev og barbund), og fra april 2018 til september 2018 i Bjørnsholm Bugt (stenrev) og ved Livø. De to stiplede linjer angiver iltsvindsgrænserne 2 og 4 mg/L.

I 2018 var både overflade- og bundvandet betydeligt varmere end i 2017, og der var i løbet af vækstsæsonen en lille (0,3–0,7°C) men signifikant forskel i temperaturen mellem overflade- og bundvandet (p<0,001) både i Bjørnsholm Bugt og ved Livø. Det indikerer, at vandsøjlen var langt mere lagdelt i 2018 end i 2017.Iltkoncentrationen i overfladevandet var generelt lidt højere end i bundvandet i begge områder (p<0,001) i både 2017 og 2018, hvilket tyder på et højere iltforbrug nær bunden (målinger ved Livø er ikke vist for 2017). Dette understøttes af biomasseopgørelserne fra de to områder, som viste, at fjordbunden i begge områder var domineret af heterotrofe organismer (Figur 8.8). I begge områder var der i 2017 fem dage med lave iltkoncentrationer (<4 mg/L) fra juni til august. Til sammenligning var der for samme periode 14 og 10 dage med lave iltkoncentrationer (<4 mg/L) i 2018 for hhv. Bjørnsholm Bugt og Livø.

Samlet viser iltmälingerne, at der ikke var markante forskelle i niveauet og sæsonvariationen af iltkoncentrationen mellem barbund og stenrev i 2017, heller ikke i den kritiske sensommer, hvor iltsvind kan forekomme. Iltmälingerne indikerede heller ikke, at der var mere ilt i vandsøjlen ved Livø-revet eller den stenede bundtype i Bjørnsholm Bugt ift. den bare bund i Bjørnsholm Bugt i 2018. Iltmälingerne viste dog et generelt lavere sommerniveau i 2018 end i 2017 både i Bjørnsholm Bugt og ved Livø.

Bentiske og planktoniske organismers bidrag til iltdynamikken

Bentiske organismers fordeling i undersøgelsesområderne

Et vigtigt element i undersøgelserne af kulstofomsætningen på de forskellige lokaliteter var kortlægning af autotrofe og heterotrofe biomasser, som via deres iltproduktion og –forbrug bidrager til iltdynamikken i områderne.

I Bjørnsholm Bugt blev stenrevs- og barbundsområderne i alt kortlagt fire gange i løbet af vækstsæsonen i 2017 og i 2018. Kortlægningen foregik dels ved dykkerobservationer, hvor 5 m cirkelslag blev visuel beskrevet for sedimentkarakteristika, dækningsgrad af fastsiddende fauna og flora og individtæthed af mobil fauna. Endvidere blev flora og fauna opgjort på prøver indsamlet ifm. *in situ* kammermålingerne for samme perioder. Dykkerkortlægningen viste, at over 30% af bunden på stenrevet havde sten større end 5 cm, særligt i 2 til 4 m dybdeintervallet; mens 90% af barbundsområdet bestod af mudder, skaller og sand med tiltagende dominans af mudder med dybden (Bilag 5).

Både dykker- og kammeropgørelserne viste større autotrof og heterotrof biomasse på stenrev end på barbunden (p<0,05, Figur 8.8). I begge områder var der et generelt fald i både auto- og heterotrof biomasse med dybden, og forholdet mellem auto og heterotrof biomasse var på alle dybder mindre end 1 i begge områder (Figur 8.9). Vi observerede ingen tydelig sæsonvariation (p>0,05), selvom der var en tendens til højere biomasser i de varmere måneder (Figur 8.10). Artsopgørelsen baseret på kammerinkubationerne og dykkerobservationer på stenrevet viste, at de autotrofe organismer var domineret af Butblæret Sargassotang (Sargassum muticum) og skulpetang (Halidrys siliquosa), og at faunaen var domineret af havsvampe og søpunge, særligt de store Haliclona occulata (gevirsvampe) var meget dominerende (Bilag 6). Bentiske mikroalger havde størst udbredelse på lav dybde (Bilag 7 A), mens at bentiske mikroalger målt som klorofyl viste en tendens til højere koncentrationer på større dybder (Bilag 7 B). Det sidste indikerer at der var tilstrækkeligt med lys til vækst af bentiske mikroalger, men det kan også skyldes en ophobning af nyligt sedimenterede planktoniske alger på større dybde. Endelig kan de bentiske mikroalger på større dybde have et højere klorofyl indhold per celle som tilpasning til lavere lystilgængelighed.



Figur 8.8. Fordeling af auto- og heterotrof biomasse på barbund og stenrev i Bjørnsholm Bugt baseret på henholdsvis opgørelse af indholdet i *in situ* kamrene (venstre kolonne) og kortlægningen med dykker (højre kolonne). Bemærk at skalaen på yaksen er fem gange større i figurerne i venstre kolonne sammenlignet med figurerne i højre kolonne. Linjer angiver median, kasser angiver den første og tredje kvartil, og cirkler angiver outliers.

Den bentiske fauna på stenrevet bestod overvejende af filtrerende organismer med havsvampene som den dominerende gruppe (Bilag 6). Kammerobservationerne fra stenrevet viste ca. fem gange højere flora- og faunabiomasser end dykkerobservationerne, mens de to typer opgørelse viste ens niveau i barbundsområdet (Figur 8.8 og 8.9). Denne forskel i opgørelserne på stenrevet skyldes, at kammerinkubationerne på stenrev fokuserede på større sten, som typisk havde en væsentlig større begroning end den omkringliggende fjordbund. De dykkerobserverede biomasser anses derfor at være mere repræsentative for det generelle niveau i områderne. Biodiversitetskortlægningen ved Livørevet i 2019 viser fordelingen af den auto- og heterotrofe biomasse på forskellige dybder ved det nye rev (Bilag 8). Generelt var der højere biomasser med en klar dominans af heterotrofe organismer på Livørevet end på stenrevet i Bjørnsholm Bugt. En detaljeret beskrivelse af biodiversitet ved Livørevet fra juni 2019 ses i Dahl et al. (2020).



Figur 8.9. Fordeling af auto- og heterotrof biomasse i de forskellige dybder baseret på henholdsvis opgørelse af indholdet i *in situ* kamrene (venstre kolonne) og kortlægningen med dykker (højre kolonne). Bemærk at skalaen på y-aksen er fem gange større i figurerne i venstre kolonne sammenlignet med figurerne i højre kolonne. Linjer angiver median, kasser angiver den første og tredje kvartil, og cirkler angiver outliers.



Figur 8.10. Autotrof plus heterotrof biomasse i de fire sedimentundersøgelser i Bjørnsholm Bugt i 2017 og 2018 baseret på henholdsvis opgørelse af indholdet i *in situ* kamrene (venstre kolonne) og kortlægningen med dykker (højre kolonne). Linjer angiver median, kasser angiver den første og tredje kvartil, og cirkler angiver outliers.

Kontinuerte økosystemmålinger med sonder

Åbenvandsmålingerne af ilt (Figur 8.7) blev anvendt til at beregne totalmetabolisme i økosystemet, dvs. den samlede metabolisme for vandfase, sediment og bentiske organismer. Åbenvandsmålingerne viste både i Bjørnsholm Bugt og ved Livørevet en tæt kobling mellem bruttoprimærproduktionen (BPP) og respirationen (ER) med sammenlignelige niveauer og sæsonvariationer (Figur 8.11). Nettobalancen (NEM) mellem BPP og ER svingede derfor overordnet set omkring nul for økosystemerne.

I Bjørnsholm Bugt var metabolismeraterne samlet for 2017 ikke signifikant forskellige for stenrevet og barbunden (p>0,05). Når man sammenligner de to ars målinger, var niveauerne for både BPP og ER overordnet sammenlignelige. I 2018 var BPP dog markant højere i juni måned. Dette var i samme periode, hvor der blev registreret iltsvind i området. Dette skyldes formentligt frigivelse af næringsstoffer fra sedimentet i forsommeren, som har stimuleret produktionen i vandsøjlen (vises senere), men samtidigt medførte en stor tilførsel af organisk let omsætteligt stof til fjordbunden (Peter Stæhr, personlig observation). Sammenlignet med sensommeren 2017, var sensommeren 2018 således karakteriseret ved en lavere BPP men højere ER, hvorved nettobalancen (NEM =BPP - ER) var på et lavere niveau i sensommeren 2018 sammenlignet med den samme periode 2017. Saledes ændredes sæson-nettobalancen fra at være positiv i 2017 til negativ i 2018 på stenrevet i Bjørnsholm Bugt. Malinger på Livørevet viste tilsvarende negativ NEM i 2018. Variationer i vandtemperatur kunne i alle områderne forklare en stor del af variationerne i metabolismeraterne i det samlede datasæt (BPP r=0.88, p<0.001; ER r=0.82, p<0,001), mens lysindstrålingen havde en mindre effekt (BPP r=0,47; p<0,05). Den markant højere næringsstoftilførsel i vinteren 2018 ift. 2017, og de tilhørende højere koncentrationer af især kvælstof i vandsøjlen, var dog uden tvivl en medvirkende årsag til den kraftigere sommeropblomstring i 2018, og det tilhørende kraftige iltforbrug og iltsvind i juni og i sensommeren 2018.



Figur 8.11. Totale rater af økosystemets bruttoprimærproduktion (BPP), respiration (ER) og nettometabolismen (NEM) i Bjørnsholm Bugt og ved Livørevet i 2017 og 2018. Figurerne viser raterne opgjort per areal på 6 meters dybde. I 2018 blev kun stenrev i Bjørnsholm Bugt undersøgt.

Pelagiske flaskeinkubationer

Måling af de pelagiske metabolismerater vha. flaskeinkubationer (Figur 8.12) viste, at raterne udregnet per areal for en 6 meters vandsøjle var på niveau med raterne for hele økosystemet målt med sonder (Figur 8.11). Der var en tydelig sæsonvariation i den pelagiske BPP, ER og NEM med generelt højere rater i sommermånederne og højere rater i 2018 end 2017 (p<0,05, Figur 8.12) bortset fra september. Bortset fra april og september 2018 var BPP > ER, dvs. at NEM overvejende var positiv i vandsøjlen.

Figur 8.12. Pelagiske rater målt hver måned i Bjørnsholm Bugt fra og med april 2017 og til og med oktober 2018. Negative tal i NEM angiver højere ER end BPP, mens positive tal angiver højere BPP end ER. Raterne er beregnet som gennemsnit over 7 dage og med 95% konfidensgrænser baseret på tre replikate målinger.



Bentiske målinger af iltdynamik - in situ og laboratorieforsøg.

Det bentiske bidrag til iltdynamikken blev studeret i hver af de fire bentiske kampagner, hvor døgnrater af iltproduktion og iltforbrug blev bestemt ved brug af *in situ* kamre, som inkluderede makrovegetation og større fauna, samt vha. laboratorieinkubationer af sedimentkerner uden større sten. Sediment uden større sten inkluderer ikke makroalger og større fastsiddende fauna. Iltoptaget på denne del af fjordbunden er knyttet til et direkte forbrug af ilt ved respirationen i den bentiske belægning på sedimentoverfladen, blødbundsfaunaens respiration, og de aerobe bakterier i sedimentet. Derudover er der et indirekte iltforbrug knyttet til den del af den bakterielle mineralisering, der forløber iltfrit. Den iltfrie nedbrydning udgør ofte over halvdelen af den samlede nedbrydning i havbunden, og de reducerede forbindelser, der produceres i processerne, forbruger ilt, når de senere gen-iltes enten kemisk eller biologisk. Fjordbundens samlede iltforbrug er således ikke kun et udtryk for organismernes respiration på bunden, men også et udtryk for bakteriernes iltfrie omsætningen nede i sedimentet.

In situ kamre

In situ kammermålinger viste en signifikant sæsonvariation (p<0,001) og en tendens til lavere rater af BPP og ER på større dybder i 2017 (p<0,001) (Figur 8.13). BPP var generelt lidt højere i barbundsområder end i stenrevet (p<0,001), mens ER overvejende var højere på stenrevet (p<0,001) hvilket kunne skyldes en høj heterotrof biomasse. Da respirationsværdierne generelt var 24% højere i kamre placeret i stenrevsområdet, som også havde en forholdsmæssig højere heterotrof biomasse end i barbundsområdet (Figur 8.8), var den bentiske NEM lavere i stenrevsområdet (Figur 8.13).





Figur 8.13. Gennemsnitlig bentisk BPP, ER og NEM for de to undersøgte områder i Bjørnsholm Bugt (barbund og stenrev) på tre forskellige dybder (2, 4 og 6 m) målt ved *in situ* kammerinkubationer. Negative tal i NEM angiver højere ER end BPP, mens positive tal angiver højere BPP end ER. Raterne blev beregnet som gennemsnit over 7 dage og med 95% konfidensgrænser baseret på målinger i tre replikater.

Laboratoriemalinger

På lavt vand, hvor der er tilstrækkeligt lys ved bunden, kan iltdynamikken i fjordbunden påvirkes af bentiske mikroalger, der kan danne tætte belægninger på sedimentoverfladen. Fjordbundens iltdynamik blev derfor undersøgt ved laboratorieinkubation af sedimentkerner ved *in situ* temperatur både i lys og i mørke (Figur 8.14). Mikroalgernes fotosynteseaktivitet resulterede i et mindre nettooptag af ilt, og i nogle tilfælde var fotosynteseaktiviteten så høj, at fjordbunden afgav ilt.

Iltoptaget i mørke er et udtryk for bundens samlede iltforbrug (ER). Målingerne viste, at iltoptaget overordnet var på samme niveau i de to områder, dog med en tendens til højere rater i barbundsområdet. Iltforbruget varierede mellem prøvetagningskampagnerne, bl.a. var der markant højere iltforbrug i mørke i august 2018 end i august 2017 (p<0,001) (Figur 8.14). De højere iltoptag i august 2018 var en konsekvens af, at der i forår og sommerperioden 2018 havde været en forhøjet omsætning af organisk stof på bunden. Derfor blev der opbygget en iltgæld i form af reducerede kemiske forbindelser i fjordbunden (omtales også i kapitlet 9). Det høje iltoptag i august 2018 skyldes således delvist et kraftigt iltforbrug til iltning af svovlbrinte og andre reducerede forbindelser. Belægninger af hvide svovlbrinteoxiderende bakterier – liglagen (*Beggiatoa sp.*) – var tydeligt på flere stationer. Liglagnet er den sidste barriere mod svovlbrinteudslip fra fjordbunden, og omsætningen af svovlbrinte foregår meget effektivt i den hvide bakteriemåtte (Figur 8.15).



Figur 8.14. Udveksling af ilt mellem fjordbund og bundvand i to undersøgte områder i Bjørnsholm Bugt (barbund og stenrev) på tre forskellige dybder (2, 4 og 6 m) målt ved laboratorieinkubationer af sedimentkerner i lys og mørke. Negative tal angiver optag af ilt i fjordbunden, positive tal angiver frigivelse af ilt fra fjordbunden. Konfidensgrænser viser standardafvigelsen baseret på fem replikater.



Figur 8.15. Sedimentkerner indsamlet i august 2018. Der var stor forskel i det mikrobielle samfund på de forskellige dybder. A: Overfladen af en sedimentkerne hentet fra 6 m på barbund viser, at en måtte af svovlbrintebakterien Beggiatoa sp. som er trængt op i sedimentets øverste millimeter. B: Her ses et svagt lyserødt lag af "purpur svovlbakterier" umiddelbart under belægning af kiselalger på en sedimentkerne fra 2 m på barbund. Dette lyserøde lag indikerer, at der også her er frit svovlbrinte tilgængeligt i overfladesedimentet, som purpur svovlbakterier ilter i deres specielle fotosyntese.

Betydningen af de mikrobielle belægninger for iltoptag og iltnedtrængningsdybden i fjordbunden fremgik tydeligt af iltprofilerne i sedimentet målt med mikroelektroder. På stationer med belægning af svovlbakterier på sedimentoverfladen forsvandt ilten i bakteriemåtten og nåede således ikke ned i sedimentet, der var helt iltfrit. På samtlige undersøgelsestidspunkter og på begge bundtyper trængte ilten kun få millimeter ned i fjordbunden. Median-iltnedtrængningsdybden var 1,3 mm, og den maksimalt målte nedtrængningsdybde var 2,7 mm (Bilag 9).

Bidraget fra de bentiske mikroalger på fjordbundens overflade til iltproduktionen er vist i figur 8.16. Algernes aktivitet, deres bruttofotosynteserate, blev her beregnet som forskellen i iltoptag mellem lys og mørke, og døgnraterne blev beregnet ved at tage højde for dagslængden på prøvetagningstidspunktet (Dalsgaard 2008). Overordnet viste laboratoriemålingerne samme variation med dybden og mellem kampagner, som målingerne foretaget *in situ* (Figur 8.13, BPP på barbund), og raterne nåede periodevist næsten samme niveau som raterne målt *in situ*, der generelt lå højere end laboratoriemålingerne. Målingerne viste, at de bentiske mikroalger spiller en væsentlig rolle for den samlede bentiske iltproduktion i undersøgelsesområdet.

Laboratoriemålingerne af iltoptag og –produktion i lys og mørke illustrerer den kraftige døgnvariation, mikroalgerne introducerer i fjordbunden. Belægninger af mikroalgerne kan over et døgn få fjordbunden til at skifte fra at være veliltet om dagen til at være helt iltfri om natten, hvilket igen har betydning for dynamikkerne af kvælstof og fosfor i fjordbunden. Algernes aktivitet havde således betydning for næringsstofudvekslingen og for kvælstoffjernelse ved denitrifikation (omtales nærmere i kapitlet 9).



Figur 8.16. Bruttofotosynteseaktiviteten (BPP) af fjordbundens bentiske mikroalger på de undersøgte stationer målt ved laboratorieinkubationer af sedimentkerner i lys og mørke. Konfidensgrænserne angiver standardafvigelsen baseret på tre til fem replikater.

> Der var ingen signifikant forskel i mikroalgernes aktivitet mellem de to bundtyper (p>0,05), men som forventet faldt aktiviteten med øget vanddybde og dermed reduceret lysmængde (p<0,001).

> Når iltforbruget målt i laboratoriet sammenholdes med iltforbruget målt i bentiske *in situ* kamre kunne effekten ses af de organismer, der er knyttet til større sten. Iltforbruget i *in situ* kamrene, der modsat laboratorieinkubationerne indeholdt større begroede sten, var lidt højre end laboratoriemålingerne (Figur 8.17) hvilket indikerer at faunabegroning på sten bidrog markant til et forøget iltforbrug. Når der tilføres et hårdt substrat (fx kunstigt stenrev), som koloniseres med makrofauna, sker der således en målbar øgning i systemets iltforbrug under de beskrevne forhold i Limfjorden.

Figur 8.17. Sammenstilling af bentisk ER målt i felten (*in situ*) og i laboratoriet på stenrevslokaliteten i Bjørnsholm Bugt. *In situ* kamrene indeholdt modsat laboratorie prøverne store begroede sten. Data findes også i figur 8.13 og 8.14. Konfidensgrænserne angiver standardafvigelsen baseret på tre til fem replikater.



Sammenligning af økosystem, pelagiske og bentiske rater

I det følgende præsenteres data, som sammenstiller målinger fra de detaljerede sondemålinger af økosystemmetabolismen (Figur 8.11) med månedlige data fra de pelagiske flaskeinkubationer (vandsøjlen) (Figur 8.12), og de bentiske *in situ* kammermålingerne (fjordbunden) foretaget i løbet af de fire kampagner i 2017 og 2018 (Figur 8.13).

Det er her vigtigt at bemærke, at kammermålingerne på stenrev ikke er repræsentative for bunden i stenrevsområdet, da de er fokuseret på den del af bunden med større sten, som kun udgør godt 30% (s. 58). Laboratorieinkubationerne af sedimentkerner hentet fra stenbunden bestod af grus og kun små sten. Baseret på måling af respiration i mørke opnås en døgn respirationsrate på ca. 50 mmol/m². Dette svarer ca. til niveauet for ER i kammerinkubationerne, bortset fra august 2017. Døgnraterne for BPP er også på omtrent samme niveau i de to typer inkubationer. Samlet set understøtter dette, at raterne fra *in situ* kammerinkubationerne med rimelighed kan betragtes som repræsentative for både stenrevs- og barbundsområdet.

Sammenligningen af stenrevs- og barbundsområdet i Bjørnsholm Bugt i 2017 viste, at de pelagiske rater i begge områder, udgjorde størstedelen af den samlede primærproduktion (71-99%). På lavvandede lokaliteter udgjorde den bentiske respiration ca. halvdelen (40-64%) af det samlede iltforbrug i systemet, og på større vanddybder faldt den bentiske andel af iltforbruget i takt med, at mere organisk stof omsættes i vandsøjlen (Figur 8.18). Bortset fra enkelte perioder på lavt vand havde fjordbunden en netto negativt iltproduktion (bentisk NEM < 0). Den pelagiske balance var derimod altid positiv (pelagisk NEM > 0), hvilket medførte, at økosystemet som helhed i næsten alle månederne havde en positiv iltbalance (total NEM > 0) også efter korrektion for iltudvekslingen med luften. Dette indikerer, at der i begge områder på alle dybder som oftest var en nettofrigivelse af ilt fra vand til luft pga. et overskud af ilt i vandsøjlen.

En sammenstilling af økosystem, pelagiske og bentiske rater i 2018 og 2017 viste, at BPP var domineret af bidraget fra det pelagiske habitat begge år, mens det bentiske iltforbrug var markant højere (Figur 8.19). NEM var styret

af pelagisk BPP og bentisk samt pelagisk ER. Da den pelagiske respiration samlet set (middel for alle dybder) udgjorde 60% af den pelagiske BPP, sedimenterede de resterende 40% af primærproduktionen ud på fjordbunden, og omsætningen af denne stoftilførsel drev det bentiske iltforbrug. I figur 8.19, er der ikke 100% overensstemmelse mellem raterne. Således var der i nogle tilfælde højere pelagisk BPP (tydeligst i 2018) end total BPP. Dette skyldes at der er tale om uafhængige målinger. Samlet set var der dog god overensstemmelse i iltbudgettet.

Selvom der var en generel positiv iltbalance for de pelagiske målinger, var økosystemets iltbalance overvejende negativ (NEM total < 0) i 2018. Forskellen var drevet af en højere ER i 2018 både for den pelagiske og bentiske komponent (p<0,001 og p<0,05) Disse resultater indikerer, at den højere temperatur i 2018, kombineret med en høj lysindstråling, stor vinterafstrømning og dermed tilførsel af næringssalte, stimulerede den pelagiske BPP, men i endnu højere grad stimulerede både pelagisk og bentisk ER. Højere temperaturer stimulerede nedbrydningen af organisk materiale, både den mikrobielle løkke i vandsøjlen og nedbrydningen i fjordbunden, hvilket resulterede i en negativ nettosystembalancen (NEM) i 2018.

Sammenfattende viser resultaterne, at fjordsystemets iltproduktionen generelt var reguleret af den pelagiske primærproduktion, mens iltforbruget også havde et væsentligt bentisk bidrag. Betydningen af bentiske makroalger for systemets samlede iltbudget var således lille og på niveau med målinger af BPP på sedimentkerner, hvor kun de bentiske mikroalger bidrog til BPP. De bentiske målinger af iltforbrug viste desuden, at den bentiske makrofauna på stenrev bidrog målbart til stenrevets iltforbrug (Sloth et al. 1995).



Figur 8.18. Sæsonvariationen i økosystemets (total) metabolisme og bidraget fra de pelagiske og bentiske habitater på hhv. stenrev og barbund i Bjørnsholm Bugt i 2017 på tre forskellige dybder (2, 4 og 6 m). Metabolismeraterne er opdelt på bruttoprimærproduktionen (BPP), økosystemrespirationen (ER) og nettoøkosystemmetabolismen (NEM). Raterne repræsenterer månedsværdier, hvor usikkerhederne er vist som 95% konfidensintervaller. Stjerner angiver måneder, hvor det bentiske stofskifte blev målt vha. *in situ* kamre. For de resterende måneder estimeredes det bentiske bidrag som forskellen mellem total og pelagisk.


Figur 8.19. Sæsonvariationen i helsystem (total) metabolisme og bidraget fra pelagiske og bentiske habitater i hhv. Bjørnsholm Bugt (middelværdier for stenrev og barbund) og ved det nye Livørev i 2018 på tre forskellige dybder (2, 4 og 6 m). Metabolismeraterne er bruttoprimærproduktionen (BPP), økosystemrespirationen (ER) og nettoøkosystemmetabolismen (NEM). Raterne repræsenterer månedsværdier, hvor usikkerhederne er vist som 95% konfidensintervaller baseret på tre replikater. Stjerner angiver måneder, hvor det bentiske stofskifte blev målt vha. *in situ* kamre. For de resterende måneder estimeredes det bentiske bidrag som forskellen mellem total og pelagisk.

8.3 Delkonklusion – Iltdynamik på og uden for eksisterende stenrev

De kontinuerte iltmålinger viste ingen signifikant forskel i koncentration og sæsonvariation af ilt mellem stenrev og det nærtliggende barbundsområde. Tilsvarende var der også kun en lille forskel mellem iltkoncentration og temperatur i overflade- og bundvand, dog med lidt større forskelle mellem overflade- og bundvand i den varme sommer i 2018. I 2018 resulterede en tidlig sommeropblomstring af fytoplankton efterfølgende i et stort iltforbrug i vandsøjlen og på bunden. Dette iltforbrug affødte et kraftigt iltsvind i august, som kunne ses helt inde på 4 meters dybde i Bjørnsholm Bugt. Beregning af økosystemets metabolisme viste næsten identiske sæsonmønstre i stenrevsog barbundsområdet i 2017, selv om de bentiske målinger indikerede let forhøjede respirationsrater (bentisk ER) på stenrevet, som følge af de højere heterotrofe biomasser knyttet til de større sten.

I begge år og på alle lokaliteter var det bentiske bidrag til økosystem BPPraterne relativt størst på lavt vand, og den var hovedsageligt knyttet til de bentiske mikroalgebelægninger, der havde stor visuel udbredelse på lave vanddybder. Figur 8.20 opsummerer metabolismeraterne i form af sommergennemsnit for 2017 og 2018. Den pelagiske primærproduktion dominerede på alle dybder og på alle lokaliteter, mens systemets iltforbrug generelt var ligeligt fordelt mellem vandsøjlen og fjordbund.



Figur 8.20. Metabolismerater (BPP, ER og NEM) for økosystem (total), pelagiske og bentiske habitater i 2017 og 2018 (middelværdi for tre dybder 2, 4 og 6 m). Data fra 2017 viser målinger fra stenrev og barbundsområderne i Bjørnsholm Bugt. For 2018 repræsenterer målingerne Bjørnsholm Bugt (middelværdi for både stenrev og barbund) og det nye rev ved Livø. Raterne repræsenterer middel sommersæsonværdier (april til oktober), og usikkerhederne er vist som 95% konfidensintervaller baseret på 6 månedsværdier.

Generelt steg pelagisk BPP og ER med dybden i takt med, at den pelagiske habitat blev mere dominerende. I 2017 steg den totale BPP mere end ER med dybden, hvorved den samlede balance (NEM) blev tiltagende mere positiv med dybden. Dette på trods af, at de bentiske rater viste, at NEM ved bunden blev tiltagende mere negativ med dybden.

Den mest markante forskel mellem 2017 og 2018 var, at økosystemets samlede iltbalance blev negativ, særligt i Bjørnsholm Bugt, i den varme sommer i 2018. Fjordbunden var på begge bundtyper domineret af heterotrofe organismer, og karakteriseret ved en kraftig negativ bentisk iltbalance (bentisk NEM<0). Det forhøjede iltforbrug på og i fjordbunden i 2018 var et resultat af en temperatureffekt på den bentiske respiration, og en stor tilførsel af organisk materiale fra en kraftig forøget pelagisk produktion tidligere på sommeren. Resultaterne fra 2017 og 2018 er sammenfattet i nedenstående figur (Figur 8.21).



Figur 8.21. Iltbudget for vækstsæsonen (april til oktober) baseret på målte processer i dette studie. Raterne er opgjort for stenrev og barbund i Bjørnsholm Bugt på 6 meters dybde. Der er i beregningerne korrigeret for iltudveksling med luften drevet af vind. Undersøgelserne i 2017 viste marginale forskelle mellem stenrevsområdet og barbundsområdet. Begge områder havde netto et iltoverskud (NEM>0), som skyldtes, at den pelagiske BPP > ER (pelagisk+bentisk). Pelagiske målinger fra MST stationen i Bjørnsholm Bugt blev anvendt til at repræsentere både stenrevs- og barbundsområdet i 2017. I 2018 blev resultaterne fra undersøgelserne af områderne derfor slået sammen. En forhøjet pelagisk og bentisk respiration medførte, at systemet netto havde et samlet iltunderskud (NEM<0). Sommeren 2018 var således kendetegnet ved et markant mere omfattende iltsvind end i 2017. Tallene repræsenterer rater baseret på forskellige typer af uafhængige målinger. Dette gør, at det samlede budget ikke stemmer fuldstændigt.

Både målinger i *in situ* kamre og i laboratoriet viste, at bidraget fra raterne i det bentiske habitat var størst på 2 m dybde vand. På de lave vand viste inkubationer i laboratorie og i *in situ* kamre således samme sæsonvariation og næsten samme døgnværdier for BPP og ER. Dette indikerer, at fjordbundens belægninger med mikroalger udgjorde et væsentligt bidrag til den samlede bentiske primærproduktion både i stenrevs- og barbundsområdet på lavt vand. Selv om det bentiske bidrag til areal BPP og ER var højest på lavt vand, var det processer i vandsøjlen, som dominerede på alle dybder.

9 Undersøgelser af næringsstofdynamikker og sedimentforhold på og uden for eksisterende stenrev

Fjordbundens fysiske struktur og biogeokemi er en vigtig komponent af det marine økosystem. Nedbrydningen af organisk stof i fjordbunden, omsætningen af næringsstoffer og udvekslingen af stoffer mellem fjordbund og vandsøjle har betydning for den bentiske- og pelagiske primærproduktion og kan i perioder være bestemmende for mængde og produktion af planktoniske mikroalger i fjorden. Desuden påvirkes bundvandets iltforhold og svovlbrintekoncentrationer af stofomsætningen i fjordbunden.

I dette kapitel præsenteres resultaterne af to års omfattende undersøgelser af sedimentforhold og næringsstofudveksling fra havbunden på en stenrevs – og barbundslokalitet i Bjørnsholm Bugt (Figur 9.1). Målet var at undersøge, om den bentiske iltproduktion på et stenrev gav anledning til en målbar reduktion i frigivelsen af næringsstoffer i sommerhalvåret.

Undersøgelserne havde mere specifikt til formål at undersøge:

- Betydningen af iltforhold ved havbunden for fluxen af uorganisk kvælstof og fosfor ud af sedimentet.
- Effekten af den bentiske iltproduktion for kvælstoffjernelse via denitrifikation.

Foruden at undersøge disse forhold, bidrog dette måleprogram med data til kalibrering og validering af DHI's Limfjordsmodel (MIKE 3 FM).

9.1 Metodebeskrivelser

I løbet af fire målekampagner i 2017 og 2018 gennemførtes en række felt- og laboratorieundersøgelser af næringsstofpuljer og –fluxe i stenrevs- og barbundsområdet. Målingerne repræsenterede forholdene på tre dybder (2, 4 og 6 m) i hvert område (Figur 9.1 A).



Figur 9.1. A: Placering af prøvetagningslokaliteter til felt- og laboratorieundersøgelser af næringsstofpuljer og –fluxe i stenrevsog barbundsområdet i Bjørnsholm Bugt. B: Indsamling af sedimentkerner til laboratoriemålinger af næringsstofpuljer- og fluxe. C: *In situ* kamre med markering (rød cirkel) af ventil til udtagning af vandprøver til måling af næringsstoffluxe.

9.1.1 Bestemmelse af organisk stofindhold og næringsstofpuljer i sedimentet

På hver station (Figur 9.1A) blev der under hver af de fire kampagner målt totalkvælstof, totalfosfor, jernbundet fosfor, tørstof, vægtfylde og glødetab (organisk stof) i et dybdeprofil for de øverste 10 centimeter af sedimentet. Bestemmelse af sedimentkarakteristika og næringsstofpuljer blev foretaget iht. den tekniske anvisning "Næringsstoffer i sediment" (Fossing 2018). Bestemmelserne i hver dybdeprofil blev foretaget på en puljet prøve, hvor sediment fra tre sedimentkerner blev blandet. Dog blev der for dybden 1-2 centimeter foretaget bestemmelser på tre individuelle kerner for at kunne angive et mål for variationen i sedimentparametrene inden for stationen.

9.1.2 Laboratoriebestemmelse af fjordbundens næringsstoffluxe

Sedimentkerner indsamlet af dykkere i Bjørnsholm Bugt (Figur 9.1B) blev bragt til laboratoriet og opbevaret i mørke under *in situ* temperatur. Fluxene blev bestemt, efter at sedimentkernerne var "præinkuberet" natten over i kar med iltet bundvand fra lokaliteten. Fluxe af ilt (beskrevet i afsnit 8) og næringsstoffer blev bestemt både i lys og mørke (Figur 9.2). Da fjordbunden på alle stationer var påvirket af dagslys, var der grundlag for bentiske algebelægninger og dermed iltproduktion på sedimentoverfladen i lys. Alle målinger blev foretaget på fem sedimentkerner fra hver station.

Fluxe af kvælstof, fosfor (og ilt, se kapitel 8) blev bestemt ved at måle den tidsafhængige koncentrationsændring i et lukket vandvolumen over sedimentkernerne. Metoden er detaljeret beskrevet i Fossing et al. (1998).



Figur 9.2. Eksempel på målinger af næringsstoffluxe i lys (A) og mørke (B) i laboratoriet.

9.1.3 In situ bestemmelse af fjordbundens næringsstoffluxe

Kamrene (Figur 9.1C) der blev anvendt til måling af bentiske *in situ* iltdynamikker (beskrevet i figur 8.3B) blev også anvendt til at bestemme *in situ* fluxe af næringsstoffer (uorganisk kvælstof og fosfor) ved at udtage vandprøver (60 ml) kort efter kamrenes placering og umiddelbart før optagning af kamrene (efter ca. et døgn). Inden prøvetagningen blev poserne masseret i ca. et minut for at sikre en velopblandet vandprøve fra kamrene. Målinger af opløst uorganisk kvælstof og fosfor fulgte retningslinjerne i den tekniske anvisning for vandkemi (Fossing & Hansen 2018). Efter udtagning af vandprøver til analyse for kvælstof og fosfor blev en farvevæske med en kendt koncentration i poserne indsprøjtet. Poserne blev igen grundigt masseret, og koncentrationen af farvestoffet i den efterfølgende udtagne vandprøve blev anvendt til at bestemme posevolumenet.

9.1.4 Laboratoriebestemmelse af fjordbundens denitrifikation

Kvælstof fjernes fra det biologiske kredsløb via denitrifikation, hvor slutproduktet er gas i form af frit kvælstof (N_2). Processen foretages af denitrificerende bakterier under iltfrie forhold.

På hver station blev produktionen af N_2 bestemt vha. isotopparringsteknikken, hvor den stabile ¹⁵N isotop bruges til at måle denitrifikationsraten (Nielsen 1992). Metoden gør det muligt at bestemme, hvor stor en andel af det producerede N_2 der stammer fra nitrat optaget fra bundvandet, og hvor stor en andel, der stammer fra ammonium, der via nitrifikationen er omdannet til nitrat.

Der blev både bestemt en rate i lys og en rate i mørke på hver station under hver af de fire kampagner. Hver rater var baseret på måling af den tidslige udvikling af N_2 i fem sedimentkerner.

9.2 Resultater og diskussion

Effekter af varierende ilt- og bundforhold blev undersøgt for kvælstoffjernelse og næringsstofudveksling mellem fjordbund og bundvand.

Frigivelsen af næringsstoffer fra fjordbunden er et resultat af omsætningen af det organiske stof, der tilføres fjordbunden fra vandsøjlen. Der er derfor en tæt sammenhæng mellem den organiske stoftilførsel til fjordbunden og frigivelsen af næringsstoffer fra fjordbunden til bundvandet. Denne recirkulering af vandsøjlens næringsstoffer benævnes ofte "intern belastning".

Sedimentet returnerer dog ikke umiddelbart de næringsstoffer, der bliver tilført. Noget lagres over varierende tidsskalaer, og noget kvælstof fjernes fra systemet via denitrifikation. Der er en betydelig sæson- og år-til-år variation i frigivelserne fra fjordbunden, en dynamik der bl.a. bestemmes af iltforholdene i fjordbunden.

Fjordbundens næringsstofpuljer og stofudvekslingen mellem fjordbund og bundvand blev undersøgt i Bjørnsholm Bugt på både en barbunds- og en stenbundslokalitet (Figur 9.1 A). Prøvetagningsprogrammet blev gennemført fire gange i løbet af 2017 og 2018, og de forskellige bundforhold på de to lokaliteter på de tre undersøgte vanddybder (2, 4 og 6 m) er vist i Figur 9.3. **Figur 9.3.** De to lokaliteter var karakteriseret ved forskellige bundforhold. Her ses indhold af sten og skaller > 2 mm på de to lokaliteter. På hver lokalitet blev der undersøgt tre stationer på hhv. 2, 4 og 6 meters dybde.



9.2.1 Sedimentkarakteristika og næringsstofpuljer på prøvetagningsstationerne

Fjordbundens indhold af organisk stof (LOI), totalkvælstof (TN), totalfosfor (TP) og jernbundet fosfor (Fe-P) blev målt i dybdeprofiler for sedimentets øverste 10 cm i august 2017, oktober 2017, april 2018 og august 2018 (Figur 9.3, Bilag 10).

Der var generelt et lavt indhold af organisk stof og dermed også TN og TP på de besøgte lokaliteter. På barbundslokaliteten var indholdet af organisk stof, TN, TP og Fe-P noget højere end på stenrevslokaliteten bort set fra på den mest lavvandede station (2 m), og på begge lokaliteter var der en tendens til højere indhold af organisk stof, TN, TP og Fe-P med stigende vanddybe (Figur 9.4A) (Bilag 10).

Størrelsen af den organiske stofpulje i fjordbunden regulerer ikke i sig selv stofomsætningen på lokaliteten. Stofomsætningen i en sandet "transportbund", hvor der er lille organisk stofindhold, kan være næsten lige så stor som i en blød organisk rig "akkumulationsbund" (jf. tidl. undersøgelser i Limfjorden, Jørgensen 1977). Men puljernes størrelse karakteriserer bundforholdene og dokumenterer en evt. akkumulering af N og P i fjordbunden.

Den jernbundne fosforpulje i fjordbunden er afhængig af sedimentets oxidationsstatus og varierer derfor afhængigt af stofomsætningen i havbunden og bundvandets iltforhold. Der var et fald i indholdet af Fe-P i sedimentets øverste ca. 2 cm fra april 2018 til august 2018, hvor der var dårlige iltforhold i fjorden (Figur 9.4B).



Figur 9.4. A: Indholdet af organisk stof målt som glødetab (LOI), totalkvælstof (TN) og totalfosfor (TP) på de seks undersøgte stationer i august 2018 (BB = barbund, SR = stenrev). B: Indholdet af jernbundet fosfor (Fe-P) i april 2018 samt august 2018 på de seks stationer (bemærk de forskellige akser i april og august). Alle dybder blev målt på prøver puljet fra tre sedimentkerner undtagen dybden 1-2 cm, hvor der blev målt på tre individuelle kerne for anskueliggøre variationen mellem kernerne.

9.2.2 Udveksling af kvælstof og fosfor: Effekter af ilt

Næringsstofudvekslingen i de bentiske økosystemer blev målt i laboratorieinkubationer af sedimentkerner indsamlet på de seks stationer beskrevet ovenfor. Samtidig blev næringsstofudvekslingen målt in situ vha. bentiske kamre placeret på de seks stationer, hvor ændringer i næringsstofkoncentrationer blev registreret over 24 timer.

120

Frigivelsen af ammonium fra fjordbunden er et resultat af nedbrydningen af det organiske stof, der tilføres fjordbunden fra vandsøjlen, og ammonium var den kvantitativt vigtigste uorganiske N-kilde fra bunden (Figur 9.5 og 9.6). Laboratorieinkubationerne viste en signifikant (p < 0,001) forskel i ammoniumfrigivelse og - optag mellem den bare og den stenede bund, og med enkelte undtagelser var frigivelsen af ammonium højere på den bare bund. Iltoptaget på "barbunds-stationerne" (Figur 8.14B) indikerede en større omsætning af organisk stof på barbunden end på stenbunden, og den øgede ammoniumfrigivelsen på barbunden er således et resultat af en større nedbrydning på lokaliteten.

De darlige iltforhold i august 2018 betød en markant øget ammoniumfrigivelse især på de dybere barbundsstationer, men frigivelsen var også øget på den stenede bund omend i mindre grad (Figur 9.5). Under iltsvindet var iltnedtrængningen på den bare bund < 0,5 mm, og mange steder nåede ilten slet ikke ned i fjordbunden. Det mindre iltforbrug i den stenede bund tillod en dybere iltnedtrængning (0-1,4 mm, Bilag 9), selvom iltforholdene i bundvandet på de to lokaliteter var ens. Hermed var der bedre forhold for nitrifikanterne i den stenede bund under iltsvindet. Forskellen i nitrifikationsaktiviteten mellem lokaliteterne bidrog med ca. 10–20% til forskellen i ammoniumfrigivelsen mellem barbund og stenet bund under iltsvindet (baseret på målinger i forbindelse med bestemmelse af denitrifikationsaktiviteten, se afsnit 9.2.3).



Figur 9.5. Udvekslingen af ammonium og nitrat mellem fjordbund og bundvand på de seks stationer målt i laboratorieinkubationer foretaget i lys og i mørke. Negative tal angiver optag i fjordbunden, positive tal angiver frigivelse fra fjordbunden. Konfidensgrænserne viser standardafvigelsen baseret på fem replikater. Der blev ikke foretaget målinger på 4 m dybde i august 2017.

Laboratoriemålinger af næringsstoffluxe blev foretaget i lys og mørke for at dokumentere mulige effekter af bentiske mikroalger på stofudvekslingen. I lys, når mikroalgerne er aktive, var der en generel tendens til reduceret ammoniumfrigivelse, der i nogle tilfælde blev vendt til et ammoniumoptag (Figur 9.5). Det var især gældende på de mest lavvandede stationer, hvor der var mere veludviklede mikroalgebelægninger og dermed højere mikrobentisk aktivitet (Figur 8.16). Den generelt reducerede ammoniumfrigivelse i lys var således sandsynligvis et resultat af mikroalgernes assimilering af ammonium.

Døgnmålingerne af kvælstofudvekslingen i *in situ* kamrene på stenbunden inkluderer modsat laboratoriemålingerne større sten, epifauna og makroalger. Til trods for disse forskelle viser laboratoriemålinger og *in situ* bestemmelserne samme niveau for ammoniumudvekslingen på døgnbasis i 2017 (estimerede døgnrater for laboratoriemålinger findes i bilag 13). I 2018 var der en større frigivelse af ammonium i laboratoriemålingerne end under *in situ* forhold. Forskellen kan ikke forklares med baggrund i flora- og faunasammensætningen i *in situ* kamrene.





Figur 9.6. Døgnrater for udvekslingen af de uorganiske nærringsstoffer ammonium, nitrat og fosfat målt *in situ* i bentiske kamre på stenrev og barbund. Negative tal angiver optag, positive tal angiver frigivelse. Konfidensgrænserne viser standardafvigelsen baseret på tre replikater.

I april 2018 var der for in situ målingerne en tydelig forskel i næringsstofdynamikken mellem barbunden og stenrevet (Figur 9.6). På den bare bund var der et optag af uorganisk kvælstof, mens der i kamrene med sten, makroalger og fauna var en markant frigivelse af uorganisk kvælstof. Denne frigivelse af uorganisk kvælstof måltes ikke i laboratorieinkubationerne, der ikke inkluderede større sten med epifauna. Nitratproduktionen på stenrevslokaliteten kan være knyttet til den markante forekomst af den marine svamp Haliclona oculata i april (Figur 9.7). Marine svampe kan huse tætte populationer af nitrificerende bakterier (Diaz og Ward 1997), og der er en spirende erkendelse af, at marine svampe via nitratfrigivelse, kan bidrage signifikant til kvælstofomsætningen i marine miljøer. I Mystery Basin, Florida Bay, USA blev det fornylig vist, at de marine svampe er den vigtigste kilde til uorganisk kvælstof (Hoer et al. 2020). Der er desuden målt en betydelig nitratproduktion fra svampe på stenrev ved den australske vestkyst, hvor svampene i områder bidrager med 10-18% af kvælstof-recirkulering (Keesing et al. 2013). Nitratproduktion knyttet til marine svampe er dog på nuværende tidspunkt ikke beskrevet hos svampe i mere nordlige og næringsrige systemer som Limfjorden.

Den målte nitratproduktion i Limfjorden, der kan være knyttet til *Haliclona oculata*, var i størrelsesordenen 0,22 mmol NO₃⁻ g DW⁻¹ d⁻¹, hvilket er en faktor ti højere end biomassespecifikke rater rapporteret fra næringsfattige systemer (Keesing et al. 2013).



Figur 9.7. Svampen *Haliclona oculata* udgjorde en betydelig del af faunaen på stenrevet i april 2018 i Bjørnsholm Bugt. Konfidensgrænserne viser standardafvigelsen baseret på tre replikater fra forskellige dybder.

På den bare bund er optag og afgivelse af nitrat fra fjordbunden generelt tæt koblet til bundvandets nitratkoncentration, således at fjordbunden optager nitrat i perioder med høje nitratkoncentrationer. I foråret (april 2018), hvor nitratkoncentrationen i bundvandet var høj (op til 36 µmol L-1), var der et optag af nitrat på den bare fjordbund (lab og *in situ*) og på den stenede bund (lab) (Figur 9.5 og 9.6). I sensommeren og efteråret viste laboratorieinkubationerne en tendens til frigivelse af nitrat og ammonium på de dybere stenede stationer.

Udvekslingen af fosfat mellem fjordbund og bundvand er bestemt af en kæde af biogeokemiske reaktioner i fjordbunden. Fosfatudvekslingen styres bl.a. af fosforbindingen til den oxiderede pulje af jern i fjordbunden, som er meget variabel. Denne dynamik var tydelig i *in situ* målinger af fosfatudvekslingen (Figur 9.6). Under iltsvindet i august 2018 var fjordbunden reduceret, og dermed blev den jernbundne fosfat frigivet til bundvandet. Frigivelsen var størst på barbund, hvor der var mest jernbundet fosfat (Figur 9.4B), hvor iltforbruget i fjordbunden var størst (Figur 8.14B) og iltnedtrængningsdybden derfor meget lille (Bilag 9) og forholdene derfor meget reducerede.

9.2.3 Kvælstoffjernelse af denitrifikation: Effekter af ilt- og kvælstofbegrænsning

Omsætning af kvælstofholdige næringsstoffer til gas i form af frit kvælstof (N₂) gør kvælstoffet utilgængeligt som næringsstof. Processen foretages af denitrificerende bakterier og er især bestemt af nitrattilgængeligheden i fjordbundens iltfrie zone, hvor processen foregår. Nitraten, der omdannes til N₂, optages fra sedimentets porevand eller bundvandet. Nitraten dannes ved iltning af ammonium (nitrifikation). Når der er en stabil tyk zone med ilt i fjordbunden og god forsyning med ammonium til denne zone, er der gode betingelser for iltning af ammonium til nitrat og en videre kobling til N₂-produktion gennem denitrifikationen, hvorved ammonium fjernes fra systemet.

Den samlede kvælstoffjernelse via denitrifikation var mellem 0,001 mmol m⁻² h⁻¹ og 0,054 mmol m⁻² h⁻¹ med en median på 0,012 mmol m⁻² h⁻¹ (Figur 9.8), hvilket er sammenligneligt med andre målinger af denitrifikation i Limfjorden (fx Dalsgaard 2003). Der var ingen signifikant forskel i kvælstoffjernelse mellem den bare og den stenede bund, men der var en tydelig og signifikant tendens til reduceret denitrifikation i lys, når belægningerne af mikroalger var aktive (p < 0,05).



Figur 9.8. Kvælstoffjernelse via denitrifikation på de seks stationer i lys og mørke. Dw angiver omsætningen af nitrat fra bundvandet til N_2 , Dn angiver omsætningen af ammonium til nitrat og videre til N_2 i den koblede nitrifikation denitrifikation. Konfidensgrænserne viser standardfejlen på raterne baseret på fem replikater. Der er ikke måleresultater for august 2017 på 4 m dybde, april 2018 på 2 m dybde (lys) og august 2018 på 2 m dybde.

Omsætningen af kvælstofholdige næringsstoffer til N₂ var baseret på forskellige N-kilder i lys og mørke (Figur 9.8). I mørke var nitrat fra bundvandet en vigtig N-kilde til denitrifikationen på alle prøvetagningstidspunkter, undtagen i august 2018, hvor nitratkoncentrationen i bundvandet på prøvetagningstidspunktet var lav < 3 μ M. Den del af denitrifikationen, der var baseret på nitrat fra bundvandet (Dw) blev reduceret markant i lys (p < 0.05). Det indikerer, at mikroalgernes nitratassimilering, begrænsede denitrifikanternes tilgang til nitrat. Mikroalgernes betydelige nitratassimilering fremgår også af andelen af fjordbundens samlede nitratoptag i lys, der gik til denitrifikation. Forbruget af nitrat fra bundvandet til denitrifikation udgjorde maksimalt 26% af det nitrat, der blev optaget i fjordbunden i lys.

Omsætningen af ammonium til N_2 gennem den koblede nitrifikation denitrifikation (Dn) var i mindre grad end Dw påvirket af lys. Betydningen af Dn for den samlede N_2 -produktion var særligt udtalt i lys, hvor N_2 -produktionen baseret på nitrat fra bundvandet var reduceret. Her udgjorde den koblede nitrifikation-denitrifikation mellem 31% og 99% af den samlede denitrifikation med en median på 73%.

På de dybe stationer var der tendens til højere Dn-aktivitet. Mikrobentiske alger kan assimilere ammonium både i lys og mørke (Dalsgaard 2003, Petterson og Sahlsten 1990), og det er muligt, at konkurrence om ammonium mellem mikroalger og nitrificerende bakterier begrænsede nitrifikationen på de lavere stationer, hvor mikroalgerne var mest aktive.

Mikroalgebelægninger på fjordbunden kan via deres fotosyntese og respiration skabe store døgnsvingninger i iltindholdet i de øverste sedimentlag. I nogle tilfælde kan mikroalgerne stimulere nitrifikationen og dermed N-fjernelsen i sedimentet gennem denitrifikation, idet deres iltproduktion øger tykkelsen af den zone, hvor nitrifikanterne er aktive (Risgaard-Petersen et al. 1994). Dette var ikke tilfældet på de undersøgte stationer, hvor den koblede nitrifikation-denitrifikation enten var uændret eller reduceret i lys.

De vekslende N-kilder til denitrifikation i lys og mørke og den øgede Dn på de dybe stationer indikerer, at konkurrencen om nitrat og ammonium mellem mikrobentiske alger og nitrificerende/denitrificerende bakterier var en markant regulerende faktor for kvælstoffjernelsen på tværs af stationer og prøve-tagningstidspunkter. Dette understøttes også af en tendens til negativ sammenhæng mellem mikroalgernes bruttofotosynteserater og den koblede nitrifikation-denitrifikation (Dn) i lys (r = -0,49; p = 0,06).

Konkurrencen om kvælstof mellem bakterier og bentiske mikroalger afkoblede således den teoretiske sammenhæng mellem øget iltnedtrængningsdybde og øget Dn, og data viste ingen sammenhæng mellem de to processer.

De bentiske mikroalgers hæmning af ammoniumfjernelse via koblet nitrifikation-denitrifikation kendes fra en række andre europæiske estuarine systemer og laboratorieeksperimenter (sammenfattet i Risgaard-Petersen 2003). Kvælstofoptaget hos de mikrobentiske alger fremmer recirkulering og midlertidig lagring af kvælstof i havbunden. Mikroalger kan oplagre nitrat i meget høje koncentrationer (flere hundrede mM) og kan under mørke og anoxiske betingelser omdanne nitrat til ammonium (Kamp et al. 2015), der frigives til fjordbunden og bundvandet. Den økologiske betydningen af denne N-omsætning er imidlertid ikke kendt.

9.3 Delkonklusion – Næringsstofdynamik på- og uden for eksisterende stenrev

Iltproduktionen fra makroalger var uden betydning for iltforholdende i bundvandet i de undersøgte områder (jf. afsnit 8), og denne parameter gav derfor ikke anledning til forskel mellem stenrev og barbund i udvekslingen af kvælstof og fosfor mellem fjordbund og bundvand. Derimod havde aktiviteten hos den bentiske belægning af mikroalger på fjordbunden betydning både for kvælstoffjernelsen via denitrifikation og for ammoniumfrigivelsen fra fjordbunden.

Resultaterne indikerede, at konkurrencen om ammonium og nitrat mellem de bentiske mikroalger og nitrifikanterne/denitrifikanterne nedsatte den samlede denitrifikation og var en betydelig regulerende faktor for kvælstoffjernelsen via denitrifikationen både på barbund og den mere stenede bund. De bentiske mikroalger optog ammonium fra fjordbunden, men den videre omsætning af det kvælstof, der optages af de bentiske mikroalger, er utilstrækkeligt undersøgt. Det gælder både det ammonium, der indbygges i biomassen, og den nitrat, der lagres i cellerne.

Målinger *in situ*, der inkluderede store sten med epifauna, pegede på epifaunaens vigtige rolle i omsætningen af næringsstoffer. Således viste inkubationer med epifauna, der især var domineret af svampe, en signifikant frigivelse af nitrat og ammonium i april 2018, hvor den bare bund på samme tidspunkt optog ammonium og nitrat.

10 Samlet konklusion og anbefalinger

Formålet med denne rapport er at levere videnskabelig dokumentation for, hvorvidt stenrev reelt bidrager positivt til forbedring af miljøtilstanden i næringsrige lavvandene fjordområder. Dette bliver i rapporten belyst gennem en omfattende serie af eksperimentelle studier og feltbaserede undersøgelser af lyskrav og fysiologisk stress hos makroalger, lysforhold på bunden, vandkvalitet og processer af betydning for ilt- og kvælstofdynamik i Limfjorden. I det følgende sammenfattes konklusioner og anbefalinger omkring anvendeligheden af stenrev som et virkemiddel til forbedring af miljøtilstanden i systemer der minder om Limfjorden.

10.1 Makroalgers lyskrav og følsomhed over for ilt- og temperaturstress

Minimumslyskravet hos hele planter/samfund var ca. seks gange højere end for enkelte thallusstykker. Resultaterne viser, at lyskravet for makroalger i Limfjorden ligger omkring 66 µmol m⁻² s⁻¹ afhængigt af, hvilke arter, der etablerer sig på revet. Dette økologisk relevante estimat af lyskravet er omkring seks gange højere end tidligere niveauer (baseret på thallusstykker) anvendt til modellering af makroalgers potentielle vækst i Limfjorden (Møhlenberg et al. 2008). Forskellen skyldes, at den oprindelige rapport (Møhlenberg et al. 2008) ikke tog højde for temperaturen i de forsøg den baserede sine konklusioner på (7°C versus omkring 20°C i Limfjorden i august) og forskellen mellem lyskrav for hele planter og for isolerede thallusstykker i fysiologiske forsøg.

Ligesom tidligere studier for ålegræs, viser resultaterne i denne rapport en negativ effekt af iltfrie forhold på makroalgernes fotosyntese, samt at effekten forstærkes ved de temperaturer, som forekommer i Limfjorden om sommeren. Det er derfor usandsynligt, at makroalger kan etablere levedygtige bestande på stenrev på dybder, hvor lave iltkoncentrationer forekommer i sensommeren i kombination med høje temperaturer. Resultaterne viser samtidigt, at makroalgerne har en stor evne til at kunne komme sig over kortvarige iltfrie forhold, formentligt begrundet i, at iltfrie forhold i en periode på omkring 24-72 timer kun har en forbigående negativ effekt på allerede etablerede bestande af makroalger.

10.2 Betydning af lysforhold ved bunden for iltbalancen omkring stenrev

Lysforholdene i Limfjorden er generelt dårlige og meget variable med særligt nedsat klarhed i kystnære områder pga. forhøjet resuspension. Dette fremgår af analyserne i denne rapport af både overvågningsdata fra flere områder af Limfjorden samt ud fra vores højfrekvente lysmålinger forskellige steder i Løgstør Bredning omkring stenrev. Målingerne viser også, at vandet er relativt klarere i den periode, hvor makroalgerne typisk har deres største vækst (april og maj), men at vandet senere bliver mere uklart i løbet af sommeren. Som konsekvens har makroalger i Limfjorden, kun et lille vindue i foråret, hvor de kan vokse på relativ stor dybde. Senere på sæsonen vil reducerede lysforhold forventeligt få de dybest etablerede bestande til at gå fra at være nettoiltproducerende om foråret til at være nettoiltforbrugende i løbet af sensommeren. Dette understøttes af de gennemførte *in situ* målinger af stenrevets iltbalance. Sammenstilling af lyskrav for makroalger med beregnede værdier for lystilgængeligheden på forskellige dybder viser, at antallet af dage med mulighed for vækst aftog kraftigt mellem 2 og 3 meters dybde. Dette passer fint med at makroalger ikke blev observeret på større dybde end 4 m under feltarbejdet i Bjørnsholm Bugt. Der kræves en markant forbedring af vandets klarhed, før stenrev med begroning af makroalger er mulig på større dybder i Limfjorden. Beregningerne viste, at lyssvækkelsen skal reduceres med 42%, før makroalger kan forventes at etablere levedygtige bestande på 5 meters dybde i Løgstør Bredning.

Det er især fjordens høje indhold af organisk stof (opløst og partikulært), der dominerer lyssvækkelsen i vandsøjlen (73% middelværdi af lysabsorptionen). Resten skyldes lysabsorption fra fytoplanktonets pigmenter. Den vigtigste faktor for at få makroalger til at vokse på et stenrev, er derfor at få reduceret denne baggrundslyssvækkelse relateret til et højt niveau af organisk stof i fjorden. Noget af dette materiale er givet vis tilført fra land, men tidligere undersøgelser (Markager et al. 2011, Asmala et al. 2018) viser at størstedelen af det organiske stof i vores fjordsystemer oprinder fra planteplanktonet og er gennem mange ars eutrofiering ophobet i fjorden. Sedimentanalyserne og visuelle observationer viser at det organiske indhold er ophobet på dybder større end ca. 5 meter. Selv ved en markant reduktion i tilførsler af kvælstof og fosfor, og tilhørende fald i lyssvækkelsen fra pigmenter knyttet til fytoplankton, forventes det at tage artier, før de nuværende store puljer af dødt organisk stof i fjorden er nedbrudt. Der er således lange udsigter til, at vandets bliver tilstrækkelig klart til, at makroalger kan vokse ud på dybder, hvor iltproduktionen herfra for alvor bidrager til en bedre miljøtilstand i Limfjorden.

10.3 Betydning af stenrev for iltdynamikken i fjorden

Målinger af iltdynamikken på og uden for eksisterende stenrev viste overordnet, at den bentiske iltproduktion (BPP) knyttet til stenrev ingen betydning havde for iltkoncentrationen i bundvandet i de undersøgte områder. Dette skyldes en lav dækning af makroalger på revet og en stor bevoksning med iltforbrugende dyr, særligt på større dybder. Den beskedne forekomst af makroalger betød, at de bentiske mikroalger stod for størstedelen af den relativt lave bentiske iltproduktion i de undersøgte lavvandede områder. Dette indikerer, at etablering af stenrev på dybder større end ca. 4-6 meter, under de nuværende dårlige lysforhold, forventeligt vil have en negativ effekt på iltdynamikken i den kritiske periode om sensommeren. Dette skyldes dels et øget iltforbrug fra koloniserende dyr og at dækningen og iltproduktionen fra de flerårige makroalger er meget lav.

Iltproduktionen var på alle dybder domineret af pelagiske processer, som samlet set stod for 81% til 100% (hhv. 2 og 6 meters dybde) af den samlede bruttoiltproduktion (BPP) omkring stenrevet i Bjørnsholm Bugt. Iltforbruget (ER) ved omsætningen af organiske stof var ligeligt fordelt mellem vandsøjlen (43 – 69%) og bunden (37 - 68%) i dybdeintervallet 2 - 6 meters dybde. Den kraftige heterotrofe begroning på stenrevet medførte, at områderne havde et sammenligneligt bentisk iltforbrug. På trods af en negativ iltbalance omkring bunden (NEM_{bund} < 0) havde stenrevet, som system betragtet, en positiv iltbalance (NEM_{system} > 0) i 2017, hvilket udelukkende skyldes, at den pelagiske iltproduktion var større end det samlede pelagiske og bentiske iltforbrug.

Til sammenligning var stenrevets samlede iltbalance negativ (NEM_{system} < 0) i 2018, hvilket primært skyldes et forhøjet iltforbrug på og i fjordbunden foranlediget af en stor tilførsel af næringsstoffer og dermed produktion af organisk materiale og høj temperatur hen over sommeren. Laboratoriemålinger af dominerende dyregruppers respiration, viste endvidere en kraftig temperatureffekt på deres respirationsrate. Da revet var domineret af heterotrofe organismer på alle dybder, medførte de meget høje sommertemperaturer (>25°C i flere dage) derfor et kraftigt forøget iltforbrug. Desuden var det tydeligt at se, at fjordbunden i undersøgelsesområderne i Bjørnsholm Bugt var beriget med partikulært organisk materiale. Materialet kom fra en kraftig forøget pelagisk produktion tidligere på sommeren stimuleret af store tilførsler af næringsstoffer i den foregående vinter. Som konsekvens af det forhøjede bentiske iltforbrug til nedbrydning af det organiske materiale observeredes en længerevarende negativ iltbalance omkring stenrevet i Bjørnsholm Bugt i sensommeren 2018. Det bevirkede udvikling af et kraftigt iltsvind helt inde over revet og det omkringliggende område (4 – 6 m dybde) i august 2018. Eftersom der ikke blev registreret lagdeling omkring revet, viser dette, at stenrev i Limfjorden, domineret af iltforbrugende dyr, således kan bidrage til iltsvind, selv i lavvandede områder, hvis vandtemperaturen er tilstrækkelig høj.

10.4 Betydningen af stenrev for fjordens næringsstofdynamik

Iltproduktionen fra makroalger var uden betydning for iltforholdene i bundvandet i de undersøgte områder (jf. kapitel 8), og denne parameter gav derfor ikke anledning til forskel mellem stenrev og barbund i udvekslingen af kvælstof og fosfor mellem fjordbund og bundvand.

Målinger i felten, der inkluderede store sten med havsvampe, viste, at svampene, der er en dominerende organisme på stenrevet, har en potentiel vigtig men hidtil overset rolle i omsætningen af næringsstoffer på stenrevet. Således viste inkubationer, der især var domineret af svampe, en signifikant frigivelse af nitrat og ammonium i april 2018, hvor den bare bund på samme tidspunkt optog ammonium og nitrat. Svampenes betydning for kvælstof dynamikken i fjorden, bør derfor undersøges nærmere.

Bentiske mikroalger havde stor betydning for ammoniumfrigivelsen og kvælstoffjernelsen fra fjordbunden både på stenrevet og på den bare bund. Konkurrencen om ammonium og nitrat mellem de bentiske mikroalger og nitrifikanterne/denitrifikanterne reducerede den samlede denitrifikation og var en betydelig regulerende faktor for kvælstoffjernelsen via denitrifikationen både på barbunden og stenbunden. De bentiske mikroalger optog ammonium fra fjordbunden, men den videre omsætning af det optagne kvælstof er utilstrækkeligt undersøgt.

Undersøgelserne gav således ingen belæg for, at stenrev øger kvælstoffjernelsen eller mindsker fosforfrigivelsen i området.

10.5 Anbefalinger

De præsenterede undersøgelser af stenrev, som et virkemiddel til forbedring af miljøforholdende i Limfjorden, viser sammenfattende at:

- 1. Stenrev kan under forhold som svarer til de nuværende dårlige lysforhold i Limfjorden, ikke anbefales som et virkemiddel til at forbedre miljøtilstanden, da revene ingen positive effekt har på hverken iltforholdende eller tilbageholdelse og fjernelse af kvælstof eller fosfor.
- 2. Der kræves en reduktion i lyssvækkelsen på op mod 42%, før makroalger kan forventes at bidrage positivt til iltproduktionen på dybder over fem meter, i Løgstør Bredning. Dette forudsætter en markant reduktion i de eksterne tilførsler af kvælstof og fosfor. Det vil i først omgang reducere koncentrationen af fytoplankton, og dermed den lyssvækkelse som skyldes pigmenter, men da pigmenter kun står for 18 % af den samlede lyssvækkelse, vil det ikke umiddelbart give væsentligt klarere vand. En markant forbedring af den samlede lyssvækkelse vil forventeligt tage mange år, da det forudsætter en reduktion i koncentrationen af organisk stof, som er den væsentligste årsag til den nuværende høje lyssvækkelse. Forhold som gør det muligt for makroalger at vokse ud til ca. 5 meters dybde kræver, at de årlige næringsstoftilførsler skal reduceres til omkring 50% af de nuværende tilførsler.
- 3. Stenrevs potentielle positive effekter på ilt- og næringsstofdynamik i fjorden forudsætter et stabilt lysklima over året og generelt klart vand. Når det ikke er tilstede – som situationen er i dag – udgør stenrev en trussel for iltforholdene, hvis de etableres under dybden for en potentiel lagdeling. Det kan derfor under de nuværende forhold kun anbefales at etablere stenrev på lavt vand for at mindske risikoen for, at stenrev bidrager til iltsvind.
- 4. Selv ved gode iltforhold vil der skulle etableres betydeligt større arealer end de rev som blev etableret i stenrevsprojektet for at opnå en målbar systemeffekt på omsætningen af næringsstoffer.
- 5. Fokus for etablering af stenrev i Limfjorden under de nuværende forhold skal være på de positive effekter for biodiversitet (beskrevet i Dahl et al. 2020).

11 Referencer

Ai-li J., Jin-li G., Wen-gui C. & Chang-hai W. (2008). Oxygen consumption of the ascidian *Styela clava* in relation to body mass, temperature and salinity. Aquaculture Research, 39: 1562-1568

Asmala E., L. Haraguchi, Markager S., Massicotte P., Riemann B., Staehr P., & Carstensen J. (2018) Eutrophication Leads to Accumulation of Refractory Autochthonous Organic Matter in Coastal Environment. Global Biogeochemical Cycles, 32, doi.org/10.1029/2017GB005848

Banti V., Giuntoli B., Gonzali S., Loreti E., Magneschi L., Novi G., Paparelli E., Parlanti S., Pucciariello C., Santaniello A. & Perata P. (2013). Low Oxygen Response Mechanisms in Green Organisms. International Journal of Molecular Sciences, 14: 4734-4761

Binzer T. & Middelboe A.L. (2005). From thallus to communities: scale effects an photosynthetic performance in macroalgae communities. Marine Ecology Progress Series, 287: 65-75

Brighenti L.S., Staehr P.A., Gagliardi L.M., Brandão L.P.M., Elias E.C, Mello N.A.S.T., Barbosa F.A.R & Bezerra-Neto J.F. (2015). Seasonal changes in metabolic rates of two tropical lakes in the Atlantic forest of Brazil. Ecosystems, 18: 589-604

Clausen I. & Riisgaard H.U. (1996). Growth, filtration and respiration in the mussel *Mytilus edulis*: no evidence for physiological regulation of the filterpump to nutritional needs. Marine Ecology Progress Series, 141: 37-45

Dalsgaard T. (2003). Benthic primary production and nutrient cycling in sediments with benthic microalgae and transient accumulation of macroalgae. Limnology and Oceanography, 48: 2138-2150

Dahl K., Lundsteen S. & Helmig S. (2003). Stenrev, Havbundens oaser. Miljø-Biblioteket, Vol. 2. Gad, 104 s. <u>https://www2.dmu.dk/1_viden/2_Publikati-oner/3_miljobib/rapporter/MB02.pdf</u>

Dahl K., Lundsteen S. & Tendal O.S. (2005). Mejlgrund og Lillegrund. En undersøgelse af biologisk diversitet på et lavvandet område med stenrev i Samsø Bælt. Danmarks Miljø-undersøgelser & Århus Amt, Natur & Miljø. Faglig rapport fra DMU nr. 529, 87 s. <u>http://faglige-rapporter.dmu.dk</u>

Dahl K., Pedersen H.B., Andersen O.N., Göke C. & Tonetta D. (2020). Indvandring og biodiversitet på det nye stenrev ved Livø. Videnskabelig rapport fra DCE. Under publisering.

Diaz MC. & Ward BB. (1997). Sponge-mediated nitrification in tropical benthic communities. Marine Ecology Progress series, 156: 97-107

Fossing H. (2018). Næringsstoffer i sediment TA nr. M23 v2. Teknisk Anvisning fra DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi, Institut for Bioscience. Aarhus Universitet, 14 s Fossing H., Hansen J.W., Jakobsen H., Markager S. & Møller E.F. (2019). Indsamling af vand- og planktonprøver i felten. Teknisk anvisning fra Det Marine Fagdatacenter, DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi, Aarhus Universitet, 17 s

Hansen J.W., Rytter D. & Balsby T.J.S. (2017). Iltsvind i de danske farvande juli-august 2017. Notat fra DCE - Dansk Center for Miljø og Energi. Aarhus Universitet, 18 s. <u>https://mst.dk/media/137418/iltsvindsrapport-juli-august-2017.pdf</u>

Hansen J.W. & Rytter D. (2018). Iltsvind i de danske farvande juli-august 2018. Notat fra DCE - Dansk Center for Miljø og Energi. Aarhus Universitet, 21 s. <u>https://pure.au.dk/portal/files/132144926/Iltsvindsrapport_juli_au-gust_2018.pdf</u>

Hanson P.C., Carpenter S.R., Kimura N., Wu C., Cornelius S.P. & Kratz T.K. (2008). Evaluation of metabolism models for freewater dissolved oxygen methods in lakes. Limnology and Oceanography Methods, 6: 454-465

Helmig S. A., Nielsen M. M., & Petersen J. K. (2020). Andre presfaktorer end næringsstoffer og klimaforandringer – vurdering af omfanget af stenfiskeri i kystnære marine områder. DTU Aqua. DTU Aqua rapport, Nr. 360-2020

Hoer DR., Sharp W., Delgado G., Lindquist NL. & Martens C.S. (2020). Sponges represent a major source of inorganic nitrogen in Florida Bay (U.S.A.). Limnology and oceanography. 65: 1235-1250.

Jørgensen B.B. (1977). The sulfur cycle of a coastal marine sediment (Limfjorden, Denmark). Limnology and Oceanography, 22: 814-832

Jørgensen B.B. & Revsbech N.P. (1983). Colorless sulfur bacteria, *Beggiatoa* spp and *Thiovulum* spp in O_2 and H_2S microgradients. Applied and Environmental Microbiology, 45: 1261-1270

Jørgensen, T.B., Andersen J.H. (red), Dahl, K., Fossing, H., Hansen, J.W., Markager, S., Stæhr, P.A., Møhlenberg, F., Støttrup, J., Andersen, P., Nicolaisen, J., Nejrup, L., Andersen, T., Wiborg, I.A., Petersen, J.K. & Jensen, J.B. (2013): Tilvejebringelse af et fagligt grundlag for genetablering af spredte stenrev i de centrale dele af Limfjorden. Limfjordsrådet. 36 sider.

Kamp A., Høgslund S., Risgaard-Petersen N. & Stief P. (2015). Nitrate Storage and Dissimilatory Nitrate Reduction by Eukaryotic Microbes. Frontiers in Microbiology, 6: doi: 10.3389/fmicb.2015.01492

Keesing J.K., Strzelecki J., Fromont J. & Thomson D. (2013). Sponges as important sources of nitrate on an oligotrophic continental shelf. Limnology and Oceanography, 58: 1947-1958

Kirk J.T.O. (1994). Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems, Cambridge University Press.

Kleiber M. (1932). Body size and metabolism. Hilgardia 6: 315-332.

Koopmans M., Martens D. & Wijffel R.H. (2010). Growth Efficiency and Carbon Balance for the Sponge *Haliclona oculata*. Marine Biotechnology, 12: 340-349

Krause G. & Weis E. (1991). Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. Annual Review of Plant Biology, 42: 313-349

Krægpøth S.H. (2018). Effect of anoxic conditions on net photosynthetic performance and survival of macroalgae. Specialerapport, Aarhus Universitet.

Landes A., Dolmer P., Poulsen L.K., Petersen J.K. & Vismann B. (2015). Growth and respiration in blue mussels (*Mytilus* spp.) from different salinity regimes. Journal of Shellfish Research, 34: 373-382

Markager S. & Sand-Jensen K. (1992). Light requirements and depth zonation of marine macroalgae. Marine Ecology Progress Series, 88: 83-92

Markager S. (1993). Light absorption and quantum yield for growth in five species of marine macroalgae. Journal of Phycology, 29: 54-63

Markager S. & Sand-Jensen K. (1994). The physiology and ecology of lightgrowth relationship in macroalgae. In: Progress in Phycological Research, 10. Round F.E. & Chapman D.J. (Eds.), 209-298

Markager S., Stedmon C.A. & Søndergaard M. (2011). Seasonal dynamics and conservative mixing of dissolved organic matter (DOM) in the temperate eutrophic estuary Horsens Fjord. Estuarine and Coastal Shelf Science, 92: 376-388.

Markager S. & Fossing H. (2014). Klorofyl a koncentration. Teknisk anvisning fra Det Marine Fagdatacenter, DCE, nr. M07, ver. 2, Aarhus Universitet, DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi.

Markager S. & Fossing H. (2015). Lyssvækkelse. Teknisk anvisning fra Det Marine Fagdatacenter, DCE, nr. M06, ver. 3, Aarhus Universitet, DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi.

Murray C., Markager S., Stedmon C.A., Juul-Pedersen T., Sejr M. & Bruhn A. (2015). The influence of glacial meltwater on bio-optical properties in two contrasting Greenland fjords. Estuarine and Coastal Shelf Science, 163: 72-83.

Møhlenberg F., Andersen J-H., Murray C., Christensen P.B., Dalsgaard T., Fossing H. & Krause-Jensen D. (2008). Stenrev i Limfjorden: Fra naturgenopretning til supplerende virkemiddel. By- og Landskabsstyrelsen Skov- og Naturstyrelsen Faglig rapport 16. https://www.stenrev.dk/media/44061/faglig-rapport-stenrev-i-limfjorden.pdf

Nepper-Davidsen J., Andersen D.T. & Pedersen M.F. (2019). Exposure to simulated heatwave scenarios causes long-term reductions in performance in *Saccharina latissima*. Marine Ecology Progress Series, 630: 25-39

Nielsen LP. (1992). Denitrification in sediment determined from nitrogen isotope pairing. FEMS Microbiology Letters, 86: 357-362

Odum H.T. (1956). Primary production in flowing waters. Limnology and Oceanography, 1: 102-117

Otero-Villanueva M.M., Kelly M.S. & Burnell G. (2004). How diet influences energy partitioning in the regular echinoid *Psammechinus miliaris*; constructing an energy budget. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 304: 159-181

Pedersen T.M., Sand-Jensen K., Markager S. & Nielsen S.L. (2014). Optical changes in a eutrophic estuary during reduced nutrient loadings. Estuaries and Coasts, 37: 880-892

Petterson K. & Sahlsten E. (1990). Diel patterns of combined nitrogen uptake and intracellular storage of nitrate by phytoplankton in the open Skagerak. Journal of Experimental Marine biology and Ecology, 138: 307-317

Pope R.M. & Fry E.S. (1997). Absorption spectrum ~380–700 nm of pure water. II. Integrating cavity measurements. Applied Optics, 36: 8710-8723

Pulido C. & Borum J. (2010). Eelgrass (*Zostera marina*) tolerance to anoxia. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 385: 8-13

Risgaard-Petersen N., Nielsen L.P. & Revsbech N.P. (1994). Diurnal variation of denitrification and nitrification in sediments colonized by benthic micro-phytes. Limnology and Oceanography, 39: 247-256

Risgaard-Petersen N. (2003). Coupled nitrification-denitrification in autotrophic and heterotrophic estuarine sediments: On the influence of benthic microalgae. Limnology and oceanography, 48: 93-105

Sakshaug E., Bricaud A., Dandonneau Y., Falkowski P.G., Kiefer D.A., Legendre L., Morel A., Parslow J. & Takahashi M. (1997). Parameters of photosynthesis: definitions, theory and interpretation of results. Journal of Plankton Research, 19: 1637-1670

Sand-Jensen K., Binzer T. & Middelboe A.L. (2007). Scaling of photosynthesic production of aquatic macrophytes – a review. Oikos, 16: 280-294

Schreiber U., Schliwa U. & Bilger W. (1986). Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. Photosynthesis Research, 10: 51-62

Sloth N. P., Riemann B., Nielsen L. P., & Blackburn T. (1996). Resilience of pelagic and benthic microbial communities to sediment resuspension in a coastal ecosystem, Knebel Vig, Denmark. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 42: 405-415

Staehr P.A. & Markager S. (2004). Parameterization of the chlorophyll *a*-specific *in vivo* light absorption coefficient covering estuarine, coastal and oceanic waters. Journal of Remote Sensing, 25: 5117-5130

Staehr P.A., Bade D., van de Bogert M., Koch G., Williamson C., Hanson P., Cole J.J. & Kratz T. (2010). Lake metabolism and the diel oxygen technique: State of the science. Limnology and Oceanography Methods, 8: 628-644

Staehr P.A., Asmala E., Carstensen J., Krause-Jensen D. & Reader FH. (2018). Ecosystem metabolism of benthic and pelagic zones of a shallow productive estuary: spatio-temporal variability. Marine Ecology Progress Series, 601: 15-32 Stedmon C.A., Markager S. & Kaas H. (2000). Optical properties and signatures of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in Danish coastal waters. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 51: 267-278

Stenberg C. & Kristensen L.D. (2015). Stenrev som gyde- og opvækstområde for fisk. DTU Aqua-rapport nr. 294-2015. Institut for Akvatiske Ressourcer, Danmarks Tekniske Universitet. 290 s

Stickle W.B. & Sabourin T.D. (1979). Effects of salinity on the respiration and heart rate of the common mussel, *Mytilus edulis* and the black chiton, *Katherina tunicata* (Wood). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 41: 257-268

Taylor A.C. (1977). The respiratory responses of *Carcinus maenas* (l.) To changes in environmental salinity. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 29: 197-210

Testa J.M., Kemp W.M., Hopkinson C.S. & Smith S.V. (2013). Ecosystem metabolism. In Estuarine Ecology 2, Day Jr. J.W., Crump B.C., Kemp W.M & Yanez-Arancibia A. (Eds.), 381-416

Vang T. (2013). CTD målinger. Teknisk anvisning fra Det Marine Fagdatacenter, DCE; Nr. M03 ver. 1. Aarhus Universitet, DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi, 14 s

Vang T. & Hansen J.W. (2014). Ilt i vandsøjlen. Teknisk anvisning fra Det Marine Fagdatacenter, DCE; Nr. M04 ver.2. Aarhus Universitet, DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi, 12 s

Vermaat J.E. & Sand-Jensen K. (1987). Survival, metabolism and growth of *Ulva lactuca* under winter conditions: a laboratory study of bottlenecks in the life cycle. Marine Biology, 95: 55-61

Webb W.L., Newton M. & Starr D. (1974). Carbon dioxide exchange of *Alnus rubra*. Oecologia, 17: 281-291

12 Bilag

Bilag 1. 'Dataindsamling

Oversigt over data indsamlet i løbet af projektet i Bjørnsholm Bugt og ved Livø i 2017 og 2018.

Type målinger	Parametre	Type data og fre- kvens af dataindsam- ling	Lokalitet	Antal stationer	Timing	Anvendelse
Vandkvalitet	Vandsøjle fysik, kemi og biologi	MST's CDT- målinger: salt, temperatur, ilt, flu- orescens og lys, Vandprøver: NH ₄ +, NO ₂ ⁻ +NO ₃ ⁻ , PO ₄ ³⁻), TN, TP, klorofyl (hver 14. dag)	Bjørnsholm Bugt og Livø	2 stationer (flere dybder)	Maj 2017 – December 2018	Til model Vises i afsnit 8
Rater – åbenvand O2 (BPP, ER og NEM)	Vandsøjlen O ₂ , lys, salinitet, temperatur	Kontinuerte målinger (hver 1030. min) i sta- tionære loggere	Barbund, Stenrev og Livø	8 stationer i 2017 + 8 stationer i 2018 (forskellige dybder)	Marts-sep- tember 2017 (Barbund og Stenrev) Marts-sep- tember 2018 (Bjørnsholm og Livø)	Til model Vises i afsnit 8
Vandkvalitet - lys	Lyssvækkelse i vandsøjlen	Kontinuerte lys målin- ger (hver 1030. min) i stationære loggere	Bjørnsholm Bugt og Livø	8 stationer i 2017 + 8 stationer i 2018 (i forskellige dybder)	Marts-sep- tember 2017 (Barbund og Stenrev) Marts-sep- tember 2018 (Bjørnsholm og Livø)	Til model Vises i afsnit 7
Rater – pelagisk O ₂ (BPP, ER og NEM)	O2, lys, salinitet, temperatur	Kontinuerte målinger i flasker (en gang om måned)	Bjørnsholm Bugt	1 station, 3 replikater	Marts-okto- ber 2017 Marts-okto- ber 2018	Vises i afsnit 8
Rater – bentisk O ₂ (BPP, ER og NEM)	O ₂ , lys, salinitet, temperatur	Kontinuerte målinger i <i>in situ</i> kamre (4 gange)	Barbund og Stenrev Bjørnsholm Bugt	6 stationer, 3 dybder, 3 re- plikater	August + Oktober 2017 April + Au- gust 2018	Vises i afsnit 8
Biomasser	Fauna og flora biomasse i om- råderne (fra kamrene)	Fordeling af auto og heterotrof biomasse på dybderne (4 gange)	Barbund og Stenrev Bjørnsholm Bugt	6 stationer, 3 dybder, 3 re- plikater	August + Oktober 2017 April + Au- gust 2018	Til model Vises i afsnit 8

Biomasser og di- versitet	Fauna og flora biomasse i om- råderne (dykkerbestemt)	Fordeling af dyr og planter på dybderne (4 gange)	Barbund og Stenrev Bjørnsholm Bugt	6 stationer, 3 dybder, 3 re- plikater (5 m cirkelslag)	August + Oktober 2017 April + Au- gust 2018	Til model Vises i afsnit 8
Biomasser - sedi- mentet	Bentiske mikro- alger	Sediment overflade koncentration af kloro- fyl a	Bjørnsholm Bugt	2, 4, 6 meters dybde	Juni 2019	Til model Vises i afsnit 8
Sediments karakte- ristikker	Sediment sam- mensætning og puljer.	Glødetap, TN, TP, Fe- P, densitet, tørstof (4 gange)	Barbund og Stenrev Bjørnsholm bugt	6 stationer, 3 dybder, 3 re- plikater	August + Oktober 2017 April + Au- gust 2018	Til model, samt støttepa- rametre til for- tolkning af næringsstof- dynamikker. Vises i afsnit 9
Sediment karakte- ristikker	Sediment sam- mensætning og puljer.	Glødetap, TN, TP, Fe- P, densitet, tørstof	Ved Livø rev	6 stationer, 3 replikater	Maj 2019	Til model Vises i afsnit 9
Rater – ilt og næ- ringssalt fluxe ml vand og sediment	Fluxe af O ₂ , NO ₃ ⁻ , NH ₄ + & PO4 ³⁻	O ₂ , NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺ & PO ₄ ³⁻ Flux måling på kerner i laboratoriet (4 gange)	Barbund og Stenrev Bjørnsholm Bugt	6 stationer, 3 dybder, 2 be- handlinger, 5 replikater	August + Oktober 2017 April + Au- gust 2018	Til model Vises i afsnit 8,9
Rater – N ₂	Denitrifikation rater	¹⁵ N tracer forsøg på kerner i laboratoriet (4 gange)	Barbund og Stenrev Bjørnsholm Bugt	6 stationer, 3 dybder, 2 be- handlinger, 5 replikater	August + Oktober 2017 April + Au- gust 2018	Til model Vises i afsnit 9
Rater – Bentisk O ₂	Mikrofytobentos primærproduk- tion	O₂ produktion og for- brug på kerner i labora- toriet (4 gange)	Barbund og Stenrev Bjørnsholm Bugt	6 stationer, 3 dybder, 5 re- plikater	August + Oktober 2017 April + Au- gust 2018	Til model Vises i afsnit 8
Iltforhold - sedi- mentet	Mikroelektrode- målinger	Diffusivt iltoptag, iltned- trængnings-dybde	Barbund og Stenrev Bjørnsholm Bugt	2 til 6 statio- ner 3 til 12 repli- kater	August + Oktober 2017 April + Au- gust 2018	Til model, samt støttepa- rametre til for- tolkning af næringsstof- dynamikker. Vises i afsnit 8,9
Rater – N og P	Fluxe af næ- ringsstoffer mel- lem sediment og vand	N & P Fluxe <i>in situ</i> kamre	Barbund og Stenrev	6 stationer, 3 dybder, 3 re- plikater	August + Oktober 2017 April + Au- gust 2018	Til model Vises i afsnit 9

Iltforhold - sedi- ment	sediment-buf- ferkapacitet		Barbund og Stenrev	6 stationer, 3 dybder	August + Oktober 2017	Til model
Rater - O ₂ dyr	Ilt respiration af udvalgte dyr	Ilt forbrug af arterne i laboratorie inkubationer	Bjørnsholm Bugt		April + Au- gust 2018	Til model Vises i afsnit 6
Makroalge fysiologi	Makroalger, sammenhænge mellem lys og produktion	Biomasse-specifik lys- svækkelse PI-kurver P-I, densitets- og arts- afhængighed, tempera- turafhængighed, 3 ar- ter, 3 tætheder, 3 tem- peraturer.	Lab-forsøg på makroalge- stykke og hele planter		2017 + 2018	Til model Vises i afsnit 5
Makroalge fysiologi	Effekt af tempe- ratur og iltsvin i makroalger	Fotosyntese ydeevne målt vha PAM	Lab-forsøg på 2 makroalgear- ter		August 2018	Vises i afsnit 5
Optiske forhold		Spektral lysabsorbans (400-700 nm) af CDOM, partikler og pigmenter	MST station ved Bjørns- holm Bugt	1	Ca. hver 14 dag 2017 - 2018	Vises i afsnit 7

Bilag 2. Placering af målestationer

Placering 2017	Dybde	Nord	Øst	Placering 2018	Dybde	Nord	Øst
Stenrev	3.5 m	56N 50,519	9E 11,907	Bjørnsholm Bugt	3.3 m	56N 50,519	9E 11,907
Stenrev	6 m	56N 50,610	9E 11,478	Bjørnsholm Bugt	6.7 m	56N 50,610	9E 11,478
Stenrev	3.5 m	56N 50,628	9E 11,995	Livø	4.0 m	56N 53,820	9E 3,342
Stenrev	6 m	56N 50,731	9E 11,497	Livø	4.6 m	56N 54,036	9E 3,342
Barbund	3.5 m	56N 51,288	9E 12,121	Livø	5.6 m	56N 54,120	9E 3,342
Barbund	6 m	56N 51,308	9E 11,433	Livø	5.5 m	56N 54,096	9E 3,456
Barbund	3.5 m	56N 51,348	9E 12,130	Livø	6.2 m	56N 54,162	9E 3,444
Barbund	6 m	56N 51,406	9E 11,491	Livø	6.7 m	56N 54,150	9E 3,330

Bilag 3. Stationer ved Livø revet

Placering af seks stationer ved Livø revet



Station	х	Y
1	503506.37	6306526.896
2	503696.87	6306548.063
3	503304.016	6306424.449
4	503425.09	6306393.123
5	503617.283	6306327.083
6	503305.709	6306185.689

Bilag 4. Sammenligning af bentiske rater

Sammenligningen mellem målte og beregnede bentiske værdier af BPP, ER og NEM



Bilag 5. Sedimentforhold

Dækningsprocent af sediment i Barbund og Stenrev på 2, 4 og 6 meters dybde i 2017 og 2018



Bilag 6. Artsopgørelse

Artsopgørelsen i Stenrevsområdet gennemført i flere dybder og kampagner i Bjørnsholm Bugt



Bilag 7. Bentiske mikroalger



Bilag 8. Autotrof og heterotrof biomasse

Autotrof og heterotrof biomasse på forskellige dybder ved Livørevet i 2019



Bilag 9. Iltnedtrængningsdybden

lltnedtrængningsdybden i sedimentet



103

Bilag 10. Dybdeprofiler i Bjørnsholm Bugt

Dybdeprofiler på sediment



Bilag 11. Dybdeprofiler ved Livø

Dybdeprofiler på sediment fra Livø



Bilag 12. Diffusivt iltoptag

Sedimentets diffusive iltoptag


Bilag 13. Ammoniumudveksling

Laboratoriemålinger af ammoniumudveksling mellem fjordbund og bundvand



STENREV SOM MULIGT KVÆLSTOFVIRKEMIDDE

Vækstbetingelser for bentiske alger og deres betydning for ilt- og næringsstofdynamikken i Limfjorden

Denne rapport præsenterer data, der danner fagligt grundlag for at vurdere, om genetablering af stenrev i Limfjorden kan udgøre et virkemiddel, der på sigt kan bidrage til at reducere den interne næringsstofbelastning og samtidig forbedre den økologiske tilstand i Limfjorden. Dette bliver i rapporten belyst gennem en omfattende række eksperimentelle og feltbaserede studier af lyskrav og fysiologisk stress hos makroalger, lysforhold på bunden, vandkvalitet og processer af betydning for ilt- og kvælstof dynamik i Limfjorden. Resultaterne viste, at stenrev i Limfjorden, ikke havde positive effekter på iltforhold og på tilbageholdelse og fjernelse af kvælstof eller fosfor. En væsentlig årsag til de udeblevne effekter af makroalger, var de meget lave dækningsgrader af store flerårige makroalger, men også at revene er forholdsvis små og domineres af kolonidannende dyr. Der kræves en reduktion i lyssvækkelsen på op mod 42%, før makroalger kan forventes at bidrage positivt til iltproduktionen på større dybder i Løgstør Bredning og dermed øge tilbageholdelsen af kvælstof og fosfor i fjordbunden.

ISBN: 978-87-7156-518-8 ISSN: 2244-9981