

# „Vannløselige“ hydrokarboner fra mineralolje og deres innvirkning på marint planteplankton

Av Liv Skoglund

Liv Skoglund er siv.ing. fra NTH, 1968. Har dr.-ing.-grad, NTH, innen fagområdet mikrobiologi. Er ansatt som forsker ved Selskapet for industriell og teknisk forskning ved NTH (SINTEF).

I dagens situasjon med oljeboringsvirksomhet utenfor norskekysten, øker behovet for kunnskaper om hva denne virksomheten betyr for det marine vekstmiljø. Noen av de spørsmål som kan stilles, er knyttet til hvilken innvirkning tilførsel av olje i sjøen har på marine organismer. En kan i denne forbindelsen tenke seg en rekke ulike situasjoner, for eksempel små, kontinuerlige oljelekkasjoner i

forbindelse med produksjon, eller store katastrofepregede utslipp, som dem en forbinder med såkalte blow-outs. Nå vet vi at også naturlig lekkasje, fra sedimenter, finner sted (tabell 1). Spørsmålet er bare om de mekanismer som bidrar til selvrensing i forbindelse med naturlige oljelekkasjer er tilstrekkelige når tilførselen øker som følge av borevirksomhet.

Tabell 1. Årlig tilførsel av oljehydrokarboner til havet. Overslag for perioden 1969—1971 (i: *Petroleum in the marine env., 1975*).

Kilde	MIT SCEP Report (1970)	NSCG Impact Statement (1973)	NAS Workshop (1973)
	(millioner tonn pr. år)		
Sjøtransport .....	1.13	1.72	2.13
Offshorevirksomhet .....	0.20	0.12	0.08
Raffinering og petr.ind. v/kysten ..	0.30	—	0.2
Industrielt avløpsvann .....	—	1.98	0.3
Kommunalt avløpsvann .....	0.45	—	0.3
Avrenning fra land .....	—	—	0.3
Tilførsel fra elver .....	—	—	1.6
Naturlig lekkasje fra havbunn ....	—	—	0.6
Tilførsel fra atmosfæren .....	9.0	—	0.6
<b>Total tilførsel .....</b>	<b>11.08</b>	<b>—</b>	<b>6.11</b>

Mineralolje og raffinerte oljeforbindinger består av mange forskjellige fraksjoner, som gjerne grupperes i paraffiner, naftener og aromater. Virkningene disse fraksjonene har på organismene i sjøen kan være forskjellige. Stadig større oppmerksomhet er blitt rettet mot gruppen vannløselige aromater. Årsaken er den giftvirkning en del slike forbindelser har vist seg å ha overfor marine organismer (i denne sammenhengen kan det være viktig å merke seg at aromatiske oljehydrokarboner ofte er mere vannløselige enn homologe alifatiske forbindelser). Marint planteplankton utgjør første ledd i havets næringskjede, og er derfor av fundamental betydning for livet i sjøen. I det følgende vil ulike aspekter knyttet til vannløselige, spesielt aromatiske, oljehydrokarboners innvirkning på planteplankton bli diskutert.

*Hva skjer med mineralolje som tilføres det marine miljø.*

Olje og oljefraksjoner som tilføres havet kan utsettes for en rekke naturlige prosesser som medfører at oljeforbindingene omdannes eller delvis forsvinner fra vannmassene. Fotooksydasjon kan for eksempel føre til dannelse av stoffer som bidrar til å dispergere olje i vann. En oppnår derved tilsvarende effekter som ved bruk av detergenter. De naturlige prosessene omfatter fordamping, emulgering, synking, autooksydasjon, mikrobiell nedbryting m.m. Sistnevnte mekanisme kan være meget effektiv. Det er hevdet at mikroorganismer kan bryte ned 36–350 g oljekomponenter pr. m<sup>3</sup> vannmasse og år, ved henholdsvis 15 og 25 °C

(ZoBell, 1964). Omsetningen utføres i første rekke av heterotrofe bakterier og sopp (ZoBell, 1964, Walker et.al. 1975). Generelt: regner en med at mikroorganismer først vil bryte ned n-paraffiner, dernest syklohexaner og til slutt aromatiske hydrokarboner. Omsetningshastigheten for aromater avtar når antall aromatringer øker fra 1 til 5 (Walker et.al. 1975).

Den mikrobielle oksydasjonshastighet er avhengig av en rekke faktorer i vekstmiljøet, for eksempel temperatur- og oksygennivå. Størstedelen av vannmassene i havet samt overflatevannet i tempererte og arktiske strøk, har en temperatur som er mindre enn 5 °C. Ved så lave temperaturer regner en med at den mikrobielle oksydasjon foregår relativt langsomt, men en kjenner lite til i hvilken grad mikroorganismene i kalde farvann er tilpasset lave temperaturer.

Det er viktig å være klar over at selv om oljeforbindinger etter en tid kan forsvinne helt eller delvis fra vannmassene, vil de i den perioden de befinner seg i vekstmiljøet kunne bli tatt opp av marine organismer og eventuelt innvirke på deres livsfunksjoner.

*Vannløselige oljehydrokarboners innvirkning på veksten av planteplankton.*

Virkingen et bestemt stoff har på en organisme kan undersøkes ved hjelp av f.eks. vekst- og opptaksstudier, membran- og vevsundersøkelser, eller ved å undersøke enzymaktivitet, utskilling av ulike produkter, fotosynteseaktivitet, m.m. De fleste undersøkelser som hittil er publisert

om oljehydrokarboners innvirkning på planteplankton, har bestått av rene vekststudier, (f.eks. Nuzzi, 1973). Felles for mange av disse arbeidene er at de førte til liten forståelse for hvilken eller hvilke komponenter i oljen som innvirket på veksten. Det er imidlertid vist at effekten av oljekomponenter er konsentrasjons- og artsavhengig, og et den kan innebære både stimulering (vekst av ferskvannsalger: Dogadina, 1970; Masters og Zajik, 1971, Kauss et.al. 1973; Soto et.al. 1975<sup>a</sup>; Dunstan et.al. 1975), toleranse og inhibering. Avhengig av planktonpopulasjonens sammensetning (som igjen er avhengig av årstidsvariasjoner mhp. lysmengde, temperatur, næringstilførsel m.m.) vil derfor oljehydrokarboner kunne ha varierende effekt på veksten av en aktuell planktonpopulasjon.

I de fleste undersøkelser er det ikke utført omfattende analyser av vekstmediets sammensetning. Ved å sammenligne veksten av ferskvannsalger *Chlamydomonas angulosa* i henholdsvis åpne og lukkede vekstkar, er det imidlertid vist at flyktige komponenter i oljen kan ha en vesentlig inhiberende effekt (Soto et.al. 1975<sup>a</sup>). Denne slutningen kan en også trekke fra undersøkelser hvor innvirkning av lagrede (7 døgn) vannekstrakter av mineralolje er sammenlignet med ferske ekstrakt (Soto et.al. 1975<sup>a</sup>).

Lagring av vannekstrakter i åpne kar (i 10 døgn eller mere) behøver ikke alltid å føre til at deres vekst-inhiberende effekt på marint planteplankton forsvinner (Skoglund, 1975). Pulich et.al. (1974) kunne dessuten vise at vannløselige oljefraksjoner fra fyringsolje nr. 2 med kokepunkt

>270 °C var mere toksiske for *Thalassiosira pseudonana* enn fraksjonene i området 150—270 °C. Laverekokende fraksjoner fra denne oljen ble ikke undersøkt. Det skal imidlertid nevnes at fraksjoner med kokepunkt lavere enn 140 °C av mange anses for å være de mest toksiske (se f.eks. Kauss og Hutchinson, 1975).

Effekten av å tilsette vekstmediet begrenset vannløselige aromat-forbindelser som finnes i olje, er blitt undersøkt i den senere tid. Ved tilsats av varierende mengder av henholdsvis benzen, toluen, o-xylen og naftalen, ble veksten av ferskvannsalgen *Chlorella vulgaris* inhibert i varierende grad. Den inhiberende virkning syntes å øke fra benzen til naftalen, i den ovenfor nevnte rekkefølgen (Kauss et.al. 1973; Kauss og Hutchinson, 1976). Løseligheten av aromatforbindelsene avtar i samme rekkefølge. (Currier (1951) viste at den toksiske virkning på planter av benzen, toluen, xylen og trimetylbenzen, i vandig løsning, også var omvendt korrelert til løseligheten av aromatforbindelsene). Methylering, som reduserer vannløseligheten av benzen-derivater, kan altså medføre at den toksiske virkning overfor enkelte organismer øker. Tilsats av 3.5 mg naftalen pr. 100 ml vekstmedium (løseligheten av naftalen ved 25 °C = 35 mg/l vann), medførte at celledelingen i åpne kulturer av ferskvannsalgen *Chlamydomonas angulosa* ble inhibert og at mer enn 50 % av cellene ble drept i løpet av 1 døgn. I lukkede system ble 85—98 % av cellene drept, avhengig av inkuberings-tid (1—7 døgn) (Soto et.al. 1975<sup>a</sup>). Dunstan et.al. (1975) dyrket ulike

plantep planktonarter (*Amphidinium carterae*, *Dunaliella tertiolecta*, *Skeletonema costatum* og *Cricosphaera carterae* i lukkede kulturer i medier tilsatt varierende mengder (0,001—100 mg/l) av henholdsvis benzen, toluen og o-xylen. Effekten aromatforbindelsene hadde på veksten av algene varierte, avhengig av stoffkonsentrasjon, aromatforbindelse og algart. Ved aromatkonsentrasjoner < 10 mg/l varierte effekten fra stimulering til inhibering. Konsentrasjonen 10 mg/l syntes å være en terskelverdi for inhibering av vekst. Ved høyere aromatkonsentrasjoner (100 mg/l) var bare grønnalgen *D. tertiolecta* i stand til å vokse godt. Konsentrasjoner rundt 100 mg/l er ikke vanlig i sjøen, men ved store oljespill kan vannet mettes med hydrokarboner og muligheten for å nå et slikt konsentrasjonsnivå er da til stede.

#### *Vannløselige oljehydrokarboners innvirkning på fotosyntesen hos plantep plankton.*

Undersøkelser over effekten av olje-hydrokarboner på fotosyntese har i hovedsak omfattet høyerestående planter. I den senere tid er det imidlertid publisert resultater fra arbeider hvor innvirkningen på fotosyntesen hos alger er studert (Dickman, 1971; Strand et.al. 1971; Gordon og Prouse, 1973; Kauss et.al. 1973; Pulich et.al. 1974; Soto et.al. 1975<sup>b</sup>). Gordon og Prouse undersøkte hvilken innvirkning vannekstraktet av tre oljetyper hadde på opptaket av <sup>14</sup>C-merket bikarbonat hos naturlige, marine plantep planktonpopulasjoner. At vannekstrakter re-

duserte opptaket ble tatt som indikasjon på nedsatt fotosynteseaktivitet.

Nærvær av naftalen (initielt 3,5—27 mg/l) i vekstmediet resulterte i en rask reduksjon av <sup>14</sup>C-bikarbonatopptaket hos ferskvannsalgen *Chlamydomonas angulosa*, selv i åpne kultursystem (flasker lukket med bomullspropp (Kauss et.al. 1973; Soto et.al. 1975<sup>a</sup>). Dersom aromatforbindelsene ble hindret i å unnsnippe (ved å bruke flasker med glasspropp), resulterte selv lave naftalenkonsentrasjoner (3 mg/l) i nesten fullstendig blokkering av bikarbonatopptaket i løpet av to timer. Lukkede kulturer som hadde vært eksponert til naftalen i inntil 7 dager, gjenvant imidlertid evnen til å assimilere bikarbonat etter overføring til åpent vekstkar. At enkelte celler overlevde naftalenbehandlingen kan skyldes *Chlamydomonas*-cellenes evne til å gå over i ikkebevegelige resistente celleformer. Tilsetning av henholdsvis mettet naftalen-løsning og mettede vannekstrakter av olje til vekstmediet, hadde forskjellig virkning på bikarbonatopptaket hos *C. angulosa* som ble dyrket i lukkede system (Kauss et.al. 1973; Soto et.al. 1975<sup>b</sup>). I nærvær av naftalen *avtok* bikarbonatopptaket med økende inkuberingstid. Dersom vekstmediet ble tilsatt vannekstrakt, begynte imidlertid opptaket å *øke* etter ca. 6 døgn. Forskjellen kan ha sin årsak i at vannekstraktet inneholdt relativt lite toksisk stoff.

#### *Opptak og utskilling av vannløselige, polyaromatiske forbindelser.*

Det har vært og blir fortsatt diskutert hvorvidt aromatiske hydrokarboner fra mineralolje kan tas opp

av planteplankton og dermed ha mulighet for å akkumulere i næringskjeden. Det er imidlertid utført forsøk i lukkede vekstsystem (flasker med glasspropp) som viser at radioaktivt naftalen blir tatt opp av bakteriefrie kulturer av *C. angulosa* (Soto et.al. 1975<sup>b</sup>). <sup>14</sup>C-naftalen leket ikke ut fra cellene etter at kulturen ble overført til åpne vekstkar (flasker lukket med bomullspropp). Dette til tross for den konsentrasjonsgradient som oppsto fordi naftalen dunstet vekk fra mediet i det åpne kultursystemet. Når cellene etter opptak av <sup>14</sup>C-naftalen ble resuspendert i ny næringsløsning som ikke på forhånd var tilsatt naftalen, avtok det cellulære naftalenninnholdet raskt. Forsøkene viser at under visse forhold kan naftalen tas opp og forbli i cellene i en gitt tidsperiode. Muligheten for akkumulering i næringskjeden er dermed til stede.

Radioaktive, ikke-flyktige forbindelser ble ikke oppdaget i vekstmediet i noen av forsøkene, og det er derfor lite sannsynlig at *C. angulosa* omsatte naftalen.

#### *Planteplanktons omsetting av vannløselige hydrokarboner fra olje.*

Det er ikke funnet publiserte arbeider angående mekanismen for opptak av hydrokarboner hos encellede alger. Våre kunnskaper om marine algers evne til å metabolisere eksogene hydrokarboner synes å være begrenset. Det er imidlertid kjent at en del høyerestående organismer (f.eks. fisk og enkelte hvirvelløse dyr) kan bryte ned ikke ubetydelige mengder hydrokarboner, både paraffiner og aroma-

ter (Stegeman og Teal, 1973; Lee et.al. 1972<sup>a,b</sup>). Lee (pers. med. sitert i: Petroleum in the marine env., 1975) har vist at plante- og zooplanktonarter ikke oksyderte paraffiner og aromater under forsøk som varte 1 måned. Langkjedede paraffiner (f. eks. C<sub>21</sub>) er imidlertid vanlig forekommende i marint planteplankton (Blumer et.al. 1971). Organismene må derfor være i stand til å syntetisere disse biogene paraffinene.

Veksten av bakteriefrie kulturer av henholdsvis *Scenedesmus quadricauda* og to kloner av *Scenedesmus brevicauda* (alle ferskvannsalger) ble stimulert ved tilsats av n-heptadecan (C<sub>17</sub>), men inhibert ved tilsats av alkaner med 14 C-atomer eller mindre (Masters og Zajik, 1971). Ingen av de tre algetyper vokste i mørke ved tilsats av n-heptadecan. Dette er en indikasjon på at algene ikke kunne benytte n-heptadecan som eneste C-kilde. En av de tre algetyper var isolert fra en lagune som ble tilført avløpsvann fra et olje-raffineri. De to andre kom fra lokale elver. Evnen til å metabolisere hydrokarboner syntetiseres derfor ikke utelukkende å være knyttet til alger som lever i vannmasser med høyt hydrokarboninnhold.

De fleste aromatiske hydrokarboner som finnes i olje og olje-forbindelser blir såvidt en vet ikke syntetisert av marine organismer. Det er imidlertid publisert at ferskvannsgroenlger kan syntetisere benzpyrener (Bornett og Fischer, 1962).

I en oversiktsartikkel om innvirkningen av olje på planter (Baker, 1970), er det nevnt at den reduksjon av fotosyntese som finner sted i nær-  
vær av olje, kan tenkes å være for-

årsaket av at endeprodukter i metabolismen akkumulerer. Mommaerts-Billiet (1973) dyrket et marint nanoplankton, *Platymoneras tetrathele*, i nærvær av emulgert og ikke-emulgert olje. Elektronmikroskopering av overlevende celler viste at stivelsesinnholdet i cellene var høyt. Det er kjent at økt produksjon av lagringsstoffer som f.eks. stivelse og  $\beta$ -1,3 glukosan (Myldestad, 1974) i fotosyntetiske organismer kan være forbundet med ugunstige vekstforhold.

Effekten av olje på planters respirasjon varierer, men ofte inntreffer en økning av respirasjonshastigheten. Dette kan tenkes å skyldes at mitokondriemembranen ødelegges (Baker, 1970). Undersøkelser over om tilsvarende forhold gjør seg gjeldende blant planktoniske alger er ikke funnet publisert.

#### *Påvirkning av membransystemer.*

Den initielle virkning høye konsentrasjoner av aromatiske hydrokarboner (som f.eks. benzen og toluen) har på vekst og metabolisme hos planter, antas av flere å være knyttet til permeabilitet og funksjon av plasmamembranen (Boyles, 1967; Currier, 1951; Dallyn og Sweet, 1951; Currier og Peoples 1954). Det er blitt hevdet at polysykliske aromater forårsaker kroniske heller enn akutt skade på planter fordi de «gjennomtrenger plasmamembranen langsommere enn f.eks. benzen, toluen og xylen som alle tre forårsaker akutt skade (van Overbeek og Blondeau, 1954). Van Overbeek og Blondeau foreslo allerede i 1954 at hydrokar-

boner kan oppløses i plasmamembranen og forskyve plasseringen av fettmolekyler slik at semipermeabilitetsegenskapene endres. Tilsvarende vil også andre membransystemer i organismer kunne påvirkes. Redusert fotosynteseaktivitet hos høyere planter i nærvær av olje, kan skyldes at hydrokarboner løses i lipidfasen i kloroplast-grana. Dette vil igjen kunne forårsake at avstanden mellom de enkelte klorofyllmolekyler øker (Baker, 1970).

Lysmikroskopiske undersøkelser vil kunne gi informasjon om cellers morfologi i nærvær av olje og oljekomponenter (Kauss et al. 1973). Ytterligere opplysninger kan innhentes ved bruk av elektronmikroskopi. Elektronmikroskopiske bilder av *P. tetrathele* fra undersøkelsen omtalt foran viste at overlevende celler fra kulturer dyrket i medium tilsatt råolje og/eller emulgator ikke hadde anatomiske abnormiteter i organeller eller membraner (Mommaerts-Billiet, 1973). Det er imidlertid demonstrert at porer kan oppstå i kjernemembranen i forbindelse med forurensning av detergenter (Green, sitert av Mommaerts-Billiet).

*Hva kan skje når vannløselige, aromatiske hydrokarboner tilføres det marine miljø.*

Med bakgrunn i undersøkelser som er utført, vil en vente at spill av mineralolje i eller på sjøen kan føre til umiddelbar reduksjon i fotosyntetisk kapasitet og eventuelt til celledød. Graden av celleødeleggelse vil blant annet være avhengig av mengden og sammensetningen av aromat-

forbindelser i oljen. Virkningene vil kunne bli alvorlige nær overflaten hvor effektiv blanding og ekstraksjon av hydrokarboner inn i vannfasen kan finne sted. En tid etter at tilførselen av slike stoffer er opphørt, vil deres direkte effekter (reduert vekst, fotosyntese, etc.) på planktonpopulasjonen avta. Dette vil skje som en følge av at konsentrasjonene av toksiske forbindelser i vannmassene avtar, bl.a. p.g.a. fortykning og fordamping som kan skje med relativt stor hastighet. Laboratorieundersøkelser som omfatter lufting av vekstmedier ved  $v/10$  °C, har vist at bare 10—20 % av opprinnelig naftalen var tilbake i mediet etter ett døgn i åpne kulturer (flasker lukket med bomullspropp). Etter 10 døgns lufting var naftalenkonsentrasjonen i mediet mindre enn 0,5 % av den opprinnelige verdi (Soto et.al. 1975<sup>b</sup>). Tilsvarende resultater er oppnådd i forbindelse med undersøkelser over fordampingshastigheten av benzen, toluen og xylen fra vekstmedier (Dunstan et.al. 1975). I situasjoner hvor fordampingen er sterkt redusert, øker muligheten for at lavtkokende aromater kan forekomme i konsentrasjoner som er skadelige for levende organismer. Oljeboring under isen i arktiske forvann, vil for eksempel kunne skape en slik situasjon.

Planteplankton kan adsorbere, absorbere og akkumulere toksiske hydrokarboner som derved kan føres videre oppover i næringskjeden. Selv om den direkte virkningen på planktonbestanden vil opphøre etter en tid,

så vil sekundære effekter kunne få uønskede følger. I nærvær av aromatiske hydrokarboner er det for enkelte arter observert en forlenget lagfase for planktonkulturer. Dette kan føre til en temporær eliminering av arter fra økosystemet, eventuelt til langvarig forandring i systemet, for eksempel ved at resistente arter fortrenger mindre hardføre arter.

For å fremskaffe kunnskaper om de ulike forhold som kan inntreffe når hydrokarboner fra mineralolje tilføres det marine miljø, er det nødvendig å utføre undersøkelser både i felten og i laboratoriet. Felt- og laboratorieforsøk utfyller, men kan ikke erstatte hverandre. Så langt det er hensiktsmessig bør imidlertid laboratorieforsøk utføres under betingelser som likner dem en finner ute i felten. I dette ligger det en utfordring til å finne frem til egnede teknikker for dyrking av aktuelle test-organismer. Nettopp med henblikk på å undersøke virkningen vannløselige oljehydrokarboner har på planteplankton, synes dyrking i dialysekulturer å være blant de mest lovende teknikker. (Jensen et.al. 1972, Jensen et.al. 1974, Skoglund, 1975).

Den litteraturundersøkelsen som er foretatt viser med all tydelighet behovet for å øke våre kunnskaper på dette området. En del aktuelle undersøkelser er utført, men konklusjonene som kan trekkes på grunnlag av dem er fremdeles få. Dette understreker nødvendigheten av økt forskningsinnsats i årene som kommer.

## L I T T E R A T U R

- Baker, J. M.* (1970). The effects of oils on plants. *Environ. Pollut.* Vol. 1. s. 27—44.
- Blumer, M., Guillard, R. R. L. og Chase, E.*: (1971), Hydrocarbons of marine phytoplankton. *Marine Biology*, Vol. 8, s. 183—189.
- Borneff, J. and Fischer, R.* (1962). Cancerogene substansen in wasser und boden, Mitt. x: Untersuchunger von phytoplankton eines binnensees auf polycyclische aromatische kohlenwasserstoffe. *Arch. Hyg.* Vol. 146, s. 5.
- Boyles, D. T.* (1967). M.Sc. Tsesis Dept. Botany (Plant Physiology) Imperial College.
- Currier, H. B.* (1951). Herbicidal properties of benzene and certain methyl derivatives. *Hilgardia*, Vol. 20, s. 383—406.
- Currier, H. B. og Peoples, S. A.* (1954). Phytotoxicity of hydrocarbons. *Hilgardia*, Vol. 23, s. 155—173.
- Dallyn, B. L. og Sweet, R. D.* (1951). Theories on the herbicidal action of petroleum hydrocarbons. *Proc. A. Soc. hort. Sci.* Vol. 57, s. 347—354.
- Dickman, M.* (1971). Preliminary notes on changes in algal primary productivity following exposure to crude oil in the Canadian arctic. *Can. Field-Nat.* Vol. 85, s. 249—251.
- Dogadina, T. D.* (1970). On utilization of algae in purification of wastes which contain oil products. *Ukr. bot. Zh.* Vol. 27, s. 310.
- Dunstan, W. M., Atkinson, L. P. og Natoli, J.* (1975). Stimulation and inhibition of phytoplankton growth by low molecular weight hydrocarbons. *Marine Biology*, Vol. 31. s. 305—310.
- Gordon, D. C. Jr. og Prouse, N. P.* (1973). Effect of oil on phytoplankton. *Marine Biology*, Vol. 22, s. 329—333.
- Jensen, A., Rystad, B. og Skoglund, L.* (1972). The use of dialysis culture in phytoplankton studies. *J. exp. mar. Biol. Ecol.* Vol. 8, s. 241—248.
- Jensen, A., Rystad, B. og Melsom, S.* (1974). Heavy metal tolerance of marine phytoplankton. I. The tolerance of three algal species to zinc in coastal sea water. *J. exp. Biol. Ecol.* Vol. 15, s. 145.
- Kauss, P. B. og Hutchinson, T. C.* (1975). The effects of watersoluble petroleum components on the growth of *Chlorella vulgaris* Beijerinck. *Environ. Pollut.* Vol. 9, s. 157—174.
- Kauss, P. B., Hutchinson, T. C., Soto, C., Hellebust, J. og Griffith, M.* (1973). The toxicity of crude oil and its components to freshwater algae. Proceedings, Joint conference on prevention and control of oil spills. American Petroleum Institute, Washington DC, s. 703—714.
- Lee, R. F., Sauerheber, R. og Benson, A. A.* (1972a).: Petroleum hydrocarbons: Uptake and discharge by the marine mussel, *Mytilus edulis*. *Science*, Vol. 177, s. 344—346.
- Lee, R. F., Sauerheber, R. og Dobbs, G. H.* (1972b). Uptake, metabolism and discharge of polycyclic aromatic hydrocarbons by marine fish. *Mar. Biol.* Vol. 17, s. 201—208.
- Masters, M. J. og Zajic, J. E.* (1971). Myxotropic growth of algae on hydrocarbon substrates. *Developments in industrial microbiology.* Vol. 12. Publ. of the Soc. for Ind. Microbiology Am. Inst. Biol. Sci. Washington. DC, s. 77—86.



- Mommaerts-Biliet, F.* (1971). Growth and toxicity test on the marine nanoplanktonic alga *Platymonas tetrathele* G. S. West in the presence of crude oil and emulsifiers. *Environ. Pollut.* Vol. 4, s. 261—282.
- Myklestad, S.* (1974). Production of carbohydrates by marine planktonic diatoms. I. Comparison of nine different species in culture. *J. mar. Biol. Ecol.* Vol. 15, s. 261.
- Nuzzi, R.* (1973). Effects of water soluble extracts of oil on phytoplankton. American Petroleum Institute. Proceedings of a Joint conference on prevention and control of oil spills, Washington D.C., 13.—15. March. Petroleum in the marine environment, National acad. Sci. Washington DC 1975.
- Pulich, W. M., Winters, K. og Van Baalen, C.* (1974). The effects of a no. 2 fuel oil and two crude oils on the growth and photosynthesis of microalgae. *Marine Biology*, Vol. 28, s. 87—94.
- Skoglund, L.* (1975). Utvikling av bioregistrator. Anvendelse på industriutslipp. Rapport for NTNF, Oslo. STF 21 A75140.
- Soto, C., Hellebust, J. A., Hutchinson, T. C. og Sawa, T.* (1975a). Effect of naphthalene and aqueous crude oil extracts on the green flagellate *Chlamydomonas angulosa*. I. Growth, *Can. J. Bot.* Vol. 53, s. 109—117.
- Soto, C., Hellebust, J. A. og Hutchinson, T. C.* (1975b). Effects of naphthalene and aqueous crude oil extracts on the green flagellate *Chlamydomonas angulosa* II. Photosynthesis and the uptake and release of naphthalene. *Can. J. Bot.* Vol. 53, s. 118—126.
- Stegeman, J. J. og Teal, J. M.* (1973). Accumulation, release and retention of petroleum hydrocarbons by the oyster *Crassostrea virginica*. *Mar. Biol.* Vol. 22, s. 37—44.
- Strand, J. A., Templeton, W. L., Lichatowitch, J. A. og Apts, C. W.* (1971). Development of toxicity test procedures for marine phytoplankton i: Proceedings of Joint conference on prevention and control of oil spills, Washington DC, s. 279—286. New York. American Petroleum Institute.
- van Overbeek, J. og Blondeau, R.* (1954). Mode of action of phytotoxic oils. *Weeds* Vol. 3, 55—65.
- Walker, J. D., Colwell, R. R. og Petrakis, L.* (1975). Degradation of petroleum by an algae, *Prototheca zopfii*. *Appl. Mikrobiol.* Vol. 30, s. 79—81.
- ZoBell, C. E.* (1964). The occurrence, effects and fate of oil polluting the sea. *Adv. in Water Pollut. Res.* Vol. 3, s. 85—109.