

# Tilpasning av en kvantitativ PCR metode for deteksjon av *Prymnesium parvum* i sjøvann



# RAPPORT

**Hovedkontor**

Økernveien 94  
0579 Oslo  
Telefon (47) 22 18 51 00

**NIVA Region Sør**

Jon Lilletuns vei 3  
4879 Grimstad  
Telefon (47) 22 18 51 00

**NIVA Region Innlandet**

Sandvikaveien 59  
2312 Ottestad  
Telefon (47) 22 18 51 00

**NIVA Region Vest**

Thormøhlensgate 53 D  
5006 Bergen  
Telefon (47) 22 18 51 00

**NIVA Danmark**

Njalsgade 76, 4. sal  
2300 København S, Danmark  
Telefon (45) 39 17 97 33

Internett: [www.niva.no](http://www.niva.no)

Tittel Tilpasning av en kvantitativ PCR metode for deteksjon av <i>Prymnesium parvum</i> i sjøvann	Løpenummer 7757-2022	Dato 22.06.2022
Forfatter(e)  Trine Dale, Marc Anglès d'Auriac og Anders Hobæk	Fagområde Overvåking	Distribusjon Åpen
	Geografisk område Norge	Sider 17

Oppdragsgiver(e)  Grieg Seafood Rogaland	Kontaktperson hos oppdragsgiver Bjarne Aarhus
	Utgitt av NIVA Prosjektnummer 180073

**Sammendrag**

Et fellestrekk ved flere av de algene som skaper problemer i akvakultur er at den konvensjonelle metoden for deteksjon og mengdebestemmelse er mikroskop. Når det gjelder skadelige alger er mange arter små og skjøre og blir lett ødelagt ved konservering. Flere arter er vanskelige å identifisere og identifisering krever kvalifisert personell med mye praktisk erfaring. Real-time og kvantitativ real-time PCR (qPCR) metodene er blant de alternative metodene som har blitt testet i overvåkningsøyemed. Helt fra slutten av 1980 tallet har blomstringer av svepeflagellaten *Prymnesium parvum* vært et problem i Hylsfjorden og tilgrensende fjordsystem, hvor den periodevis har forårsaket betydelig dødelighet hos oppdrettsfisk. Med utgangspunkt i publiserte protokoller har vi tilpasset/utviklet assays for identifisering av *P. parvum* i vannprøver. I 2018 ble protokollen testet ut i overvåkningsprogrammet som Grieg Seafood Rogaland kjører hver sommer i Hylsfjorden. Programmet av ukentlige vannprøver fra to dyp i perioden mai til desember. Det antydes en deteksjonsgrense på 1000 celler/L ved bruk av denne protokollen. Det ble detektert forekomster av *P. parvum* i fire prøver med qPCR metoden. *P. parvum* ble ikke detektert med mikroskopi i noen prøver dette året. Lav deteksjonsgrense er viktig fordi det kan avdekke en blomstring som er under oppbygging og dermed gi oppdrettere bedre tid til å iverksette tiltak.

Fire emneord	Four keywords
1. qPCR	1. qPCR
2. <i>Prymnesium parvum</i>	2. <i>Prymnesium parvum</i>
3. Akvakultur	3. Aquaculture
4. Laks	4. Salmon

Denne rapporten er kvalitetssikret iht. NIVAs kvalitetssystem og godkjent av:

Trine Dale  
Prosjektleder

Åse Åtland  
Forskningsleder

ISBN 978-82-577-7493-6  
NIVA-rapport ISSN 1894-7948

© Norsk institutt for vannforskning. Publikasjonen kan siteres fritt med kildeangivelse.

**Tilpasning av en kvantitativ PCR metode for  
deteksjon av *Prymnesium parvum* i sjøvann**

## **Forord**

Dette prosjektet har vært en del av forskningsaktiviteten knyttet til Grieg Seafood Group Rogaland sin FoU-konsesjon i Hylsfjorden. Vi vil takke staben av dyktige medarbeidere hos Grieg Seafood Group Rogaland som har fulgt opp prøvetakingen på en svært nøyaktig og systematisk måte.

Trine Dale  
Bergen, 22.06.2022

---

# Innholdsfortegnelse

<b>1</b>	<b>Introduksjon.....</b>	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>Metode .....</b>	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>Resultater og diskusjon.....</b>	<b>14</b>
<b>4</b>	<b>Referanser.....</b>	<b>17</b>

## Sammendrag

Et fellestrekk ved flere av de algene som skaper problemer i lakseoppdrett er at den konvensjonelle metoden for deteksjon og mengdebestemmelse er mikroskop. Når det gjelder skadelige alger er mange arter små og skjøre og blir lett ødelagt ved konservering. Flere arter er vanskelige å identifisere og identifisering krever kvalifisert personell med mye praktisk erfaring. Real-time og kvantitativ real-time PCR (qPCR) metoder er blant de alternative metodene som har blitt testet ut i overvåkningsøyemed. Helt fra slutten av 1980 tallet har blomstringer av svepeflagellaten *Prymnesium parvum* vært et problem i Hylsfjorden og tilgrensende fjordsystem, hvor den periodevis har forårsaket betydelig dødelighet hos oppdrettsfisk. Med utgangspunkt i publiserte protokoller har vi tilpasset/utviklet assays for identifisering av *P. parvum* i vannprøver. I 2018 ble protokollen testet ut i overvåkningsprogrammet som Grieg Seafood Rogaland kjører hver sommer i Hylsfjorden. Prøvetakingsprogrammet har omfattet ukentlige vannprøver fra to dyp i perioden mai til desember. Det antydes en deteksjonsgrense på 1000 celler/L ved bruk av denne protokollen. Det ble detektert forekomster av *P. parvum* i fire prøver med qPCR metoden, mens *P. parvum* ikke ble detektert med mikroskopi i noen prøver dette året. Lav deteksjonsgrense er viktig fordi det kan avdekke en blomstring som er under oppbygging og dermed gi oppdrettere bedre tid til å iverksette tiltak.

## Summary

Title: Adaptation of a qPCR protocol for detection of *Prymnesium parvum* in Norwegian Coastal waters.

Year:2022

Author(s): Trine Dale, Marc Anglès d'Auriac and Anders Hobæk

Source: Norwegian Institute for Water Research, ISBN 978-82-577-7493-6

A common feature of several of algal species that cause problems in salmon aquaculture is that the conventional method for detection and quantification is microscopy. Regarding harmful algae, many species are small and fragile and are easily destroyed by preservation. Several species are difficult to identify, and identification requires qualified personnel with a lot of practical experience. Real-time and quantitative real-time PCR (qPCR) methods are among the alternative methods that have been tested for monitoring purposes. Ever since the end of the 1980s, blooms of the haptophyte *Prymnesium parvum* has been a problem in the Hylsfjorden and adjacent fjord system (Rogaland county, Western Norway), where it has periodically caused significant mortality in farmed fish. Based upon published protocols, we have adapted / developed assays for the identification of *P. parvum* in water samples. In 2018, this protocol was tested in the monitoring program that Grieg Seafood Rogaland runs every summer in Hylsfjorden. The program consisted of weekly water samples from two different depths during the period May to December. A detection limit around 1000 cells / L can be achieved using this protocol. *P. parvum* was detected in four samples using the qPCR method, while it was not detected in any samples this year using microscopy. Low detection limits are valuable because an emerging bloom can be detected at an early stage and give farmers time to get mitigation measures in place.

# 1 Introduksjon

Et fellestrekk ved mange av algene som skaper problemer i akvakultur er at den konvensjonelle metoden for deteksjon og mengdebestemmelse er vha mikroskop. En ulempe med metoden er at den er tidkrevende spesielt hvis man har behov for lav deteksjonsgrense. Når det gjelder skadelige alger er mange arter små og skjøre og blir lett ødelagt ved konservering. Videre er mange arter vanskelige å identifisere og sikker identifisering krever høyt kvalifisert personell med mye praktisk erfaring (Galluzzi et al., 2008; Humbert et al., 2010). I løpet av det siste tiåret har det imidlertid vært en rivende utvikling av ulike molekylærbiologiske verktøy (Humbert et al., 2010; Penna and Galluzzi, 2013), og selv om disse hittil har blitt brukt mest i forskningsøyemed viser flere studier at de også etter hvert kan brukes i mer rutinemessig overvåkning (Zamor et al., 2012). Real-time og kvantitativ real-time PCR (qPCR) metoder er blant de metodene som har blitt testet ut i overvåkningsøyemed.

Arter fra divisjon svepeflagellater er de som har forårsaket mest skade på oppdrettsfisk i Norge. Til denne gruppen hører *Chrysochromulina polylepis* (skiftet navn til *Prymnesium polylepis*) som hadde en kraftig blomstring i Sør-Norge på slutten av 80 tallet, og den beslektede *C. leadbeateri* som forårsaket massiv fiskedød i oppdrettsanlegg i Nord-Norge både våren 1991 og våren 2019. Helt fra slutten av 1980 tallet har blomstringer av *Prymnesium parvum* vært et problem i Hylsfjorden og tilgrensende fjordsystem, hvor den periodevis har forårsaket betydelig dødelighet hos oppdrettsfisk (Johnsen et al. 2010). *Prymnesium* spp. hører til svepeflagellatene og er beslektet med *Chrysochromulina* artene. *Prymnesium* spp. forårsaket fiskedød og betydelige økonomiske tap verden over (Guo et al., 1996; Edvardsen and Paasche, 1998; Lindholm et al., 1999; Hambright et al., 2010; Johnsen et al., 2010). Spesielt i USA har denne arten dramatisk ekspandert sin utbredelse (Hambright et al., 2010), noe som har økt behovet for overvåkning og forbedrede overvåkningsmetoder. qPCR assays er allerede utviklet for *Prymnesium parvum*, og disse ser ut til å med stor presisjon identifisere *P. parvum* både fra naturlige prøver, og i prøver fra kultur. Studier fra USA er svært lovende og indikerer at qPCR metoden har lavere deteksjonsgrense for *Prymnesium parvum* enn analyser foretatt i mikroskop (Zamor et al., 2012).

Erfjord Stamfisk AS (nå Grieg Seafood Group Rogaland, GSFR), ble tildelt FoU konsesjon<sup>1</sup> i 2014. Overordnet målsetning for FoU arbeidet var å bidra til å sikre tilgangen på høykvalitets stamfisk og rogn til oppdrettsnæringen. Et delmål var å utvikle metoder som kan forenkle/forbedre overvåkning av vannkvalitet, herunder overvåkning av algeforekomster. I arbeidet som oppsummeres i denne rapporten har vi utviklet/tilpasset assays for identifisering av *Prymnesium parvum* i vannprøver med utgangspunkt i publiserte metoder (e.g. Zamor et al. 2012). Metoden ble testet ut i overvåkningsprogrammet som GSFR gjennomfører hver sommer i Hylsfjorden. Presisjon og deteksjonsgrense med qPCR metoden er sammenliknet med analyser foretatt med konvensjonelle metoder, i dette tilfellet lysmikroskop.

---

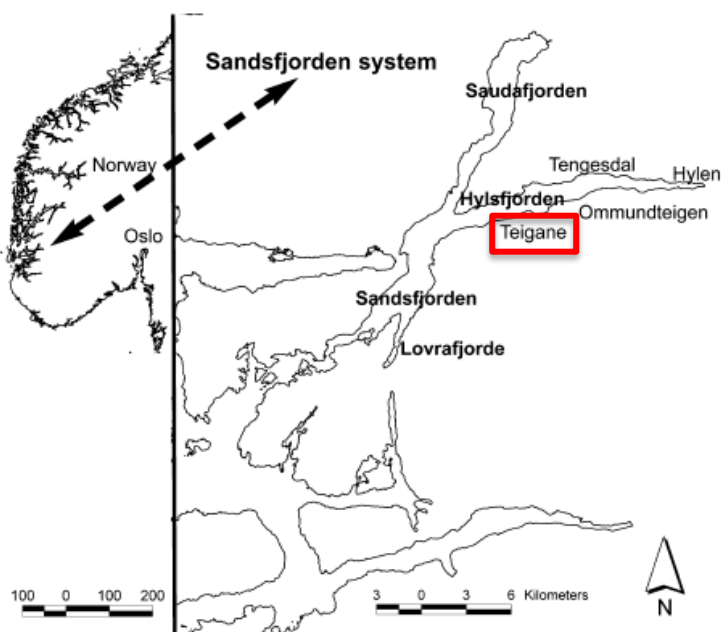
<sup>1</sup>**FoU konsesjon (Forskningstillatelse).** Særtillatelse for akvakultur av matfisk til forskning. Tillatelsen skal bidra til å utvikle kunnskap som kommer akvakulturnæringen til gode, blant annet om driftsformer, teknologi, biologi, ernæring, fiskehelse og fiskevelferd. Søker presenterer et konkret prosjekt med angivelse av omfang og varighet. Dersom søker er en privat institusjon må det inngås en forpliktende avtale med ekstern forskningsinstitusjon på universitets-/høgskolenivå som påtar seg det faglige ansvaret for forskningen i den omsøkte tillatelsen. Forskningstillatelsene er tidsbegrenset og søknadene blir individuelt vurdert ut fra prosjektets faglige innhold, relevans, samlet kompetanse, biomassebehov og risiko. Kilde: Fiskeridirektoratet.



## 2 Metode

### 1.1. Studieområde

Erfjord Stamfisk AS, ble i 2016 en del av Grieg Seafood Rogaland, heretter kalt GSFR, og produserer rogn av laks. GSFR lager avlsmaterialet i samarbeid med AquaGen. GSFR leverer øyerogn fra november til juli/august og disponerer lokaliteter i Rogaland. Dette prosjektet er gjennomført på lokaliteten Teigane som er en av to lokaliteter som GSFR har i Hylsfjorden (Figur 1). Hylsfjorden er en del av Sandsfjordsystemet, og ligger innerst i Ryfylkebassenget i Rogaland. Sandsfjordsystemet er sammensatt av tre fjordgrener, Sandsfjorden, Hylsfjorden og Saudafjorden. Fjordsystemet har en terskel på rundt 110 m rett utenfor Nævøy og den dypeste delen, med ca 500 m dybde, ligger i Hylsfjorden. På grunn av høy ferskvannsinngang og begrenset utveksling med større fjordområder utenfor, er dette fjordsystemet preget av et markert brakvanns overflatelag. Innerst i Hylsfjorden ligger Hylen kraftverk som anvender vann fra Suldalsvatnet. Den sesongmessige variasjonen i ferskvannsavrenningen er påvirket av vannkraftverkene i flere av de viktigste elvene i området, noe som betyr at ferskvannsavrenningen kan avvike fra de naturlige mønstrene som er typiske for denne regionen. Foruten saltholdighet, resulterer variabiliteten i avrenning av ferskvann i et øvre lag med mye høyere variasjon i temperatur, oksygen, turbiditet og konsentrasjoner av næringsstoffer, sammenlignet med de underliggende kystvannet.



Figur 1. Kart over Sandsfjordsystemet og Hylsfjorden. Lokaliteten Teigane er markert med rødt. Kartet hentet fra Johnsen et al. (2010).

## 1.2. Prøvetakning

I perioden mai-desember 2018 ble det tatt ut ukentlige vannprøver for qPCR analyse. Prøvene ble tatt samtidig med uttak av vannprøver for konvensjonell analyse av algeforekomster. Vannprøver for algeanalyse ble fiksert med Lugol's løsning. Vannprøvene for qPCR analyse ble filtrert på anlegget umiddelbart etter prøvetakning. Minst 100 ml prøve, tatt på 0-4m og 6m dybde for hver dato, ble filtrert gjennom GF/F filter. Etter filtrering, ble filteret vasket med 50mL destillert vann, brettet sammen og puttet inn i 15 mL Falcon plastrør rør merket med prøvetakningsdato, prøvedybde (0-4 eller 6m) og lokalitet. Prøvene ble deretter frosset på -20 °C frem til analyse (

Figur 2).

## 1.3. Algeanalyser

Algene ble identifisert i et omvendt lysmikroskop og kvantifisert i henhold til en modifisert Utermöhl's metode (Utermöhl 1958, NS-EN 15972:2011). Algecellene ble så langt som mulig identifisert til art/slekt. Celler som ikke kunne identifiseres ble registrert i ulike samlekategorier (f.eks "flagellat < 5 µm"). Celletallene ble overført til NIVA's marine algedatabase, PhytoMar.

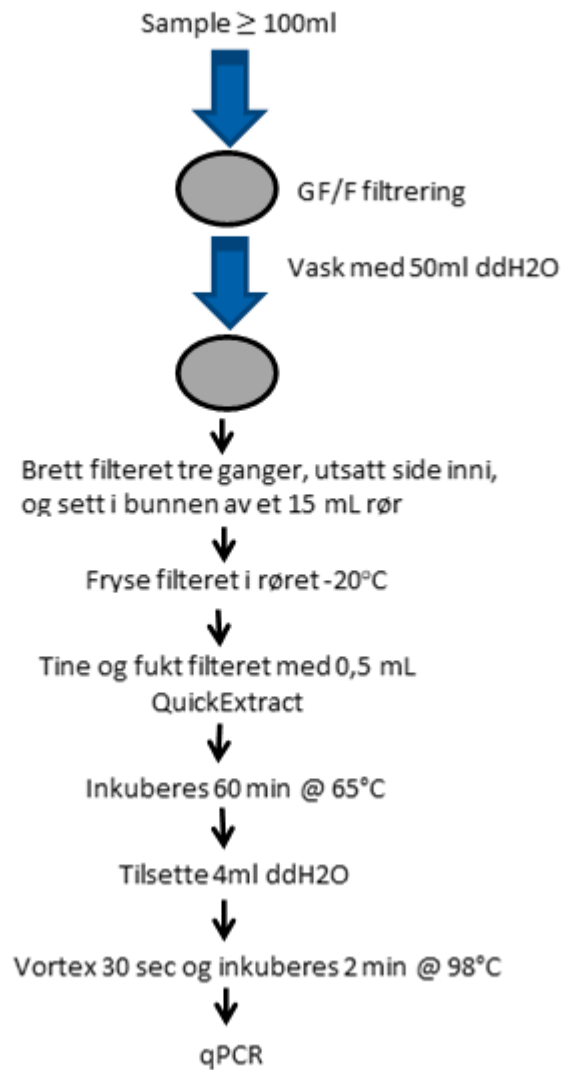
## 1.4. DNA ekstraksjon og qPCR.

En ny og enkel DNA ekstraksjonsprotokoll ble utviklet og testet for dette prosjektet (

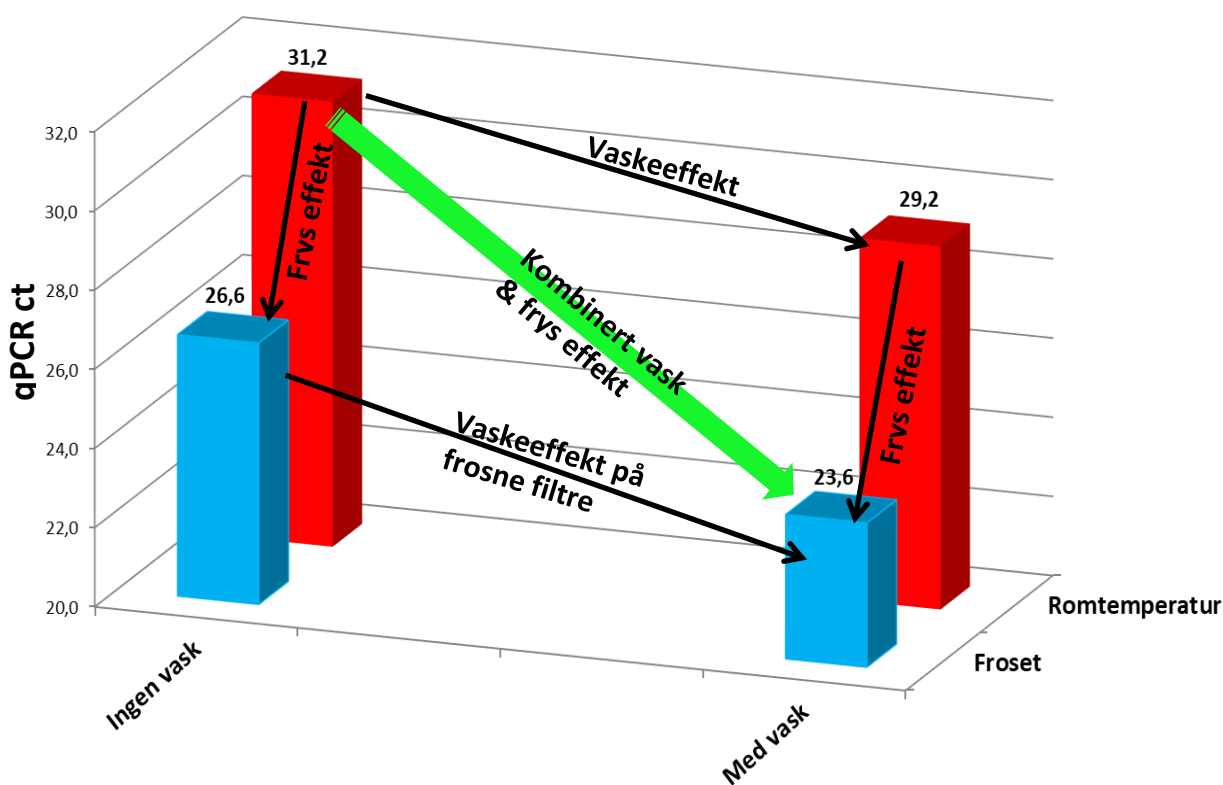
Figur 2). Utgangspunktet var en stamkultur av *Prymnesium parvum* (NIVA 4/08) hentet fra NIVA/UiO sin algekultursamling NORCCA (<https://norcca.scrol.net/genus/597>). Celletall i stamløsningen ble talt opp i mikroskop, og det ble så laget en fortyningsserie som ga fire løsninger med ulik celletetthet. 100 ml av hver løsning ble filtrert på glassfiberfiltre (Whatman GF/F, porestørrelse 0,47). Deretter ble filtrene vasket ved å filtrere 50 ml dd H<sub>2</sub>O. Hvert filter ble så brettet og overført til en 15 ml tube og tilsatt 0,5 ml QuickExtract™ (Lucigen, QE09050), en direkte lysis buffer (

Figur 2). Tuber med filtre ble så frosset ned til -20°C i noen timer (eller over natten) for å sprengne cellene, og deretter inkubert ved 65°C i en time. Det tilsatt ble 4mL dd H<sub>2</sub>O, røret ble ristet på en vortexer i 30s, og videre inkubert på 98°C i 2 min for inaktivering av bufferen. Eluatet (væsken) ble deretter brukt direkte i qPCR amplifisering og analyser (

Figur 2). Filtervask med dd H<sub>2</sub>O og frysing av filter har vist seg å gi stor forbedring av assayets sensitivitet (Figur 3).



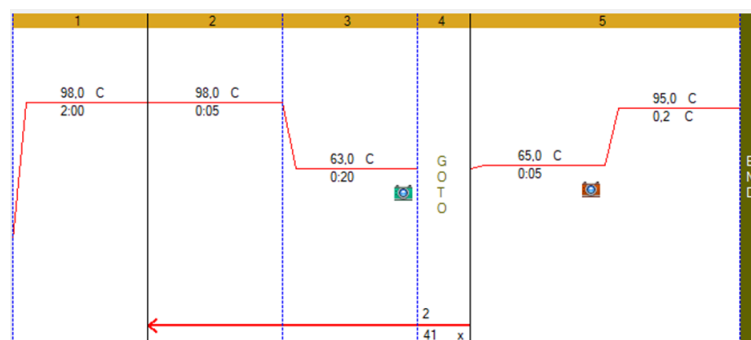
Figur 2. Oversikt over de ulike stegene i metode brukt for DNA ekstraksjon fra sjøvannsprøve.



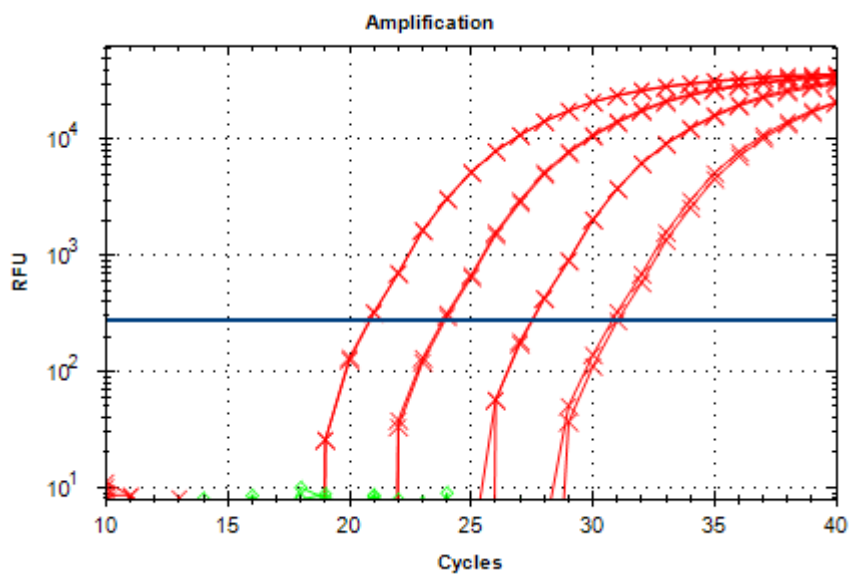
Figur 3. Effekt av filter vask og frys på sensitivitet basert på triplikate qPCR kjøring. Jo lavere antall sykler (qPCRct) jo mer sensitiv er analysen.

En qPCR protokoll basert på Galluzzi et al. (2008) og Zamor et al. (2012) ble modifisert for spesifikk amplifisering av *Prymnesium parvum*. Protokollen benyttet de samme ITS2-primere PrymF: TGTCTGCCGTGGACTTAGTGCT og PrymR-3: ATGGCACAACGACTTGGT, som amplifiserer et 132bp DNA produkt. En to-trinns PCR-reaksjon benyttet SsoFast EvaGreen kit (BioRad) i et totalt volum på 15  $\mu$ l, inklusive 2  $\mu$ l eluat og primerkonsentrasjon på 0,5  $\mu$ M. Protokollen besto av en innledende aktivering ved 98°C i 2 min fulgt av 40 sykler, hver med 5 s ved 98°C og 20 s ved 63°C. Reaksjonen ble kjørt i en BioRad CFX qPCR maskin. Kvantifisering gjennom syklene (Figur 5) var basert

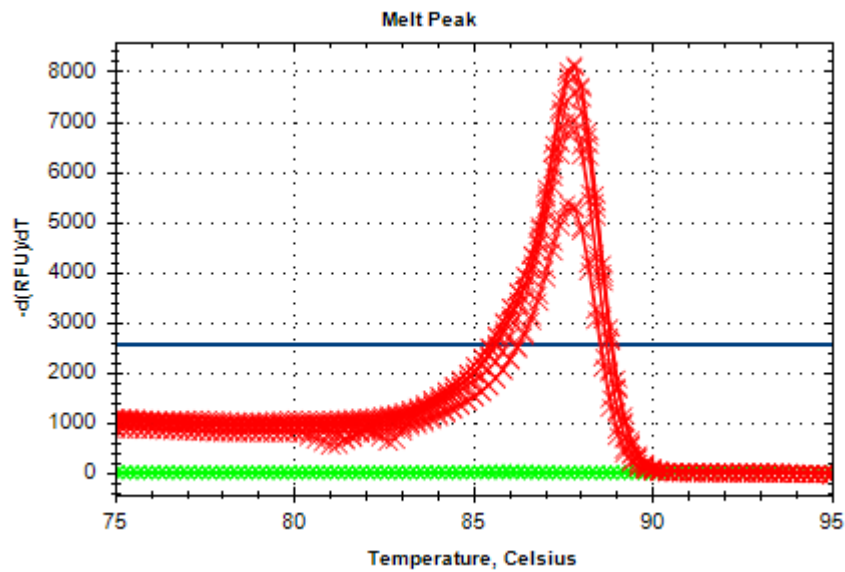
på fluorescens generert av EvaGreen, som inngår i SSOFast kitet. En smeltepunktsanalyse (Figur 6) ble også utført etter amplifisering.



Figur 4. PCR sykler for amplifisering av DNA produkter fra *Prymnesium parvum*

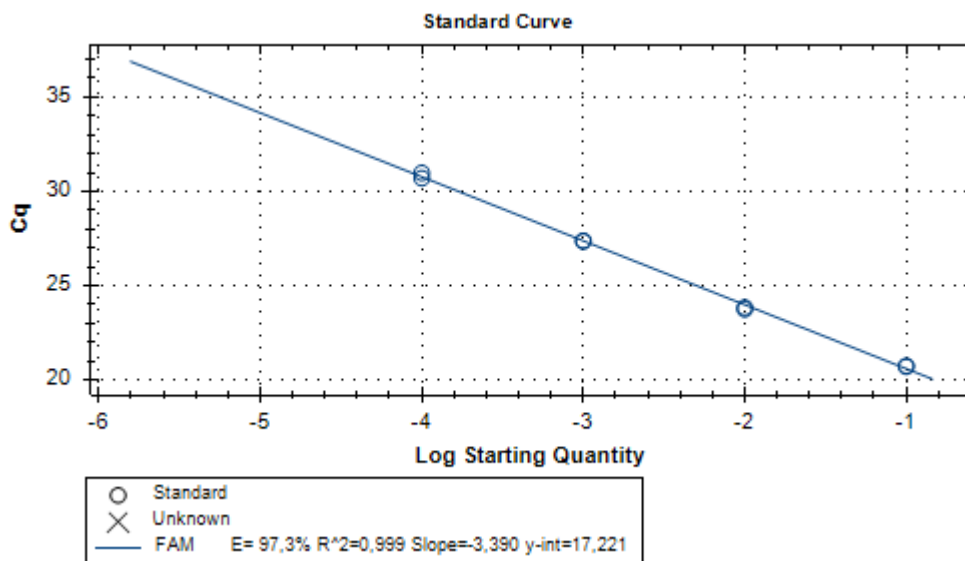


Figur 5. Amplifisering av ITS2-fragment fra *Prymnesium parvum* i fire konsentrasjoner fra en fortyningsserie. To replikater er kjørt for hver konsentrasjon av algeceller. Algene er fra stamkultur NIVA 4/08.



Figur 6. Smeltepunktanalyse av amplifiserte DNA-fragmenter vist i Figur 5. Identisk smeltempunkt indikerer identiske PCR-produkter.

qPCR resultatene ble også benyttet til å lage en kalibreringskurve for deteksjon i forhold til celletetthet (Figur 7). Kurven viser god tilpasning ( $R^2 = 0,999$ ) og en effektivitet på 97 %. Dette gir en deteksjonsgrense på ca. 1000 celler/l i filtrert sjøvann.

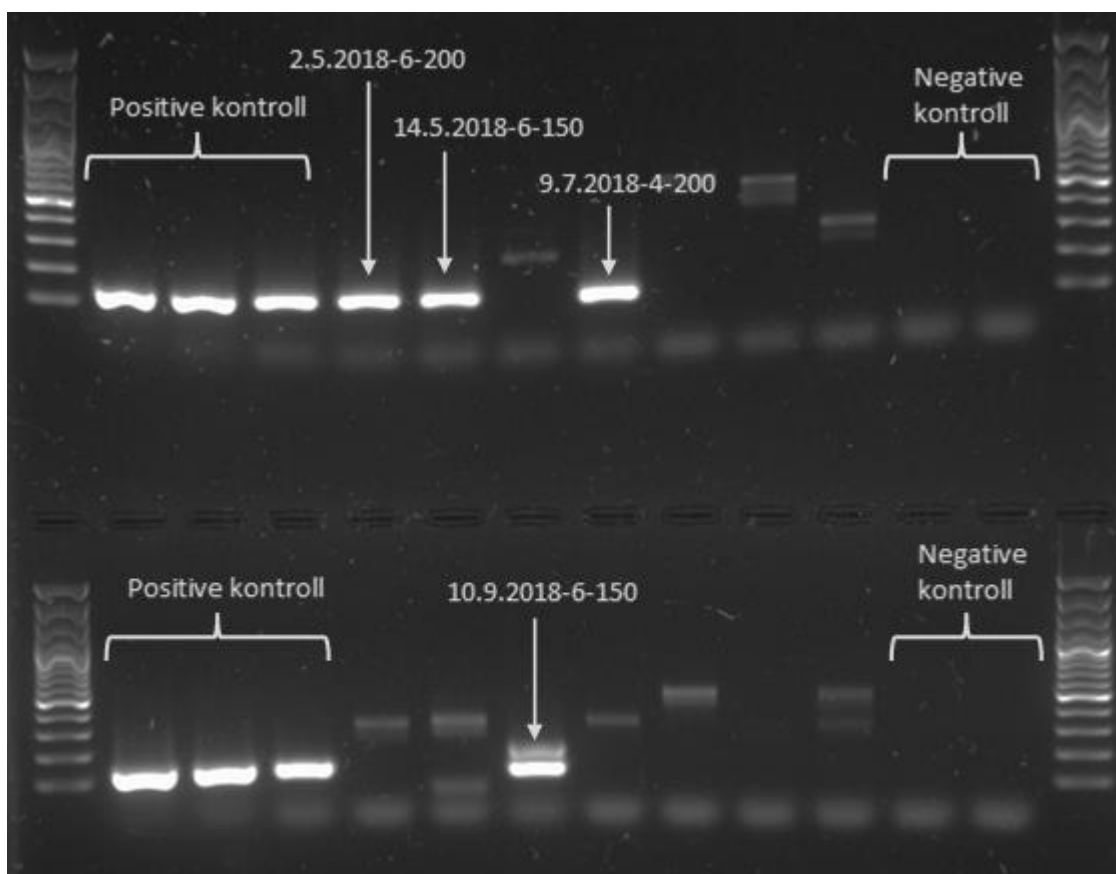


Figur 7. *Prymnesium parvum* kalibreringskurve basert på fortynning av stamkultur NIVA 04/08.

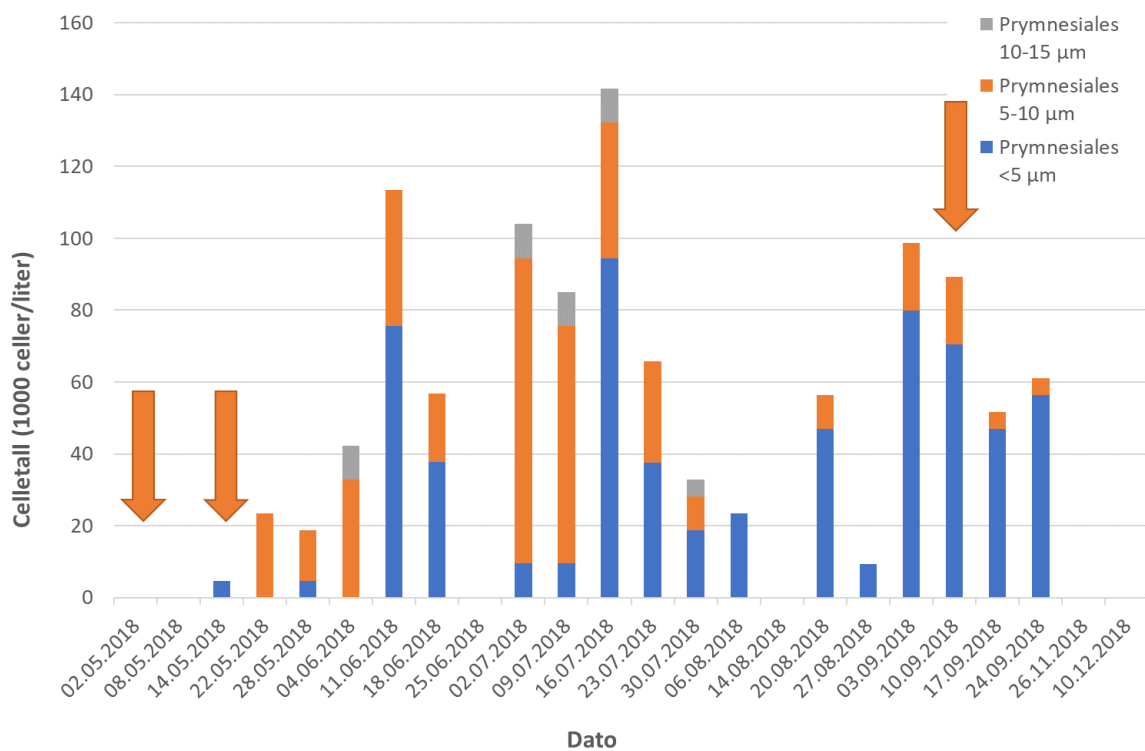
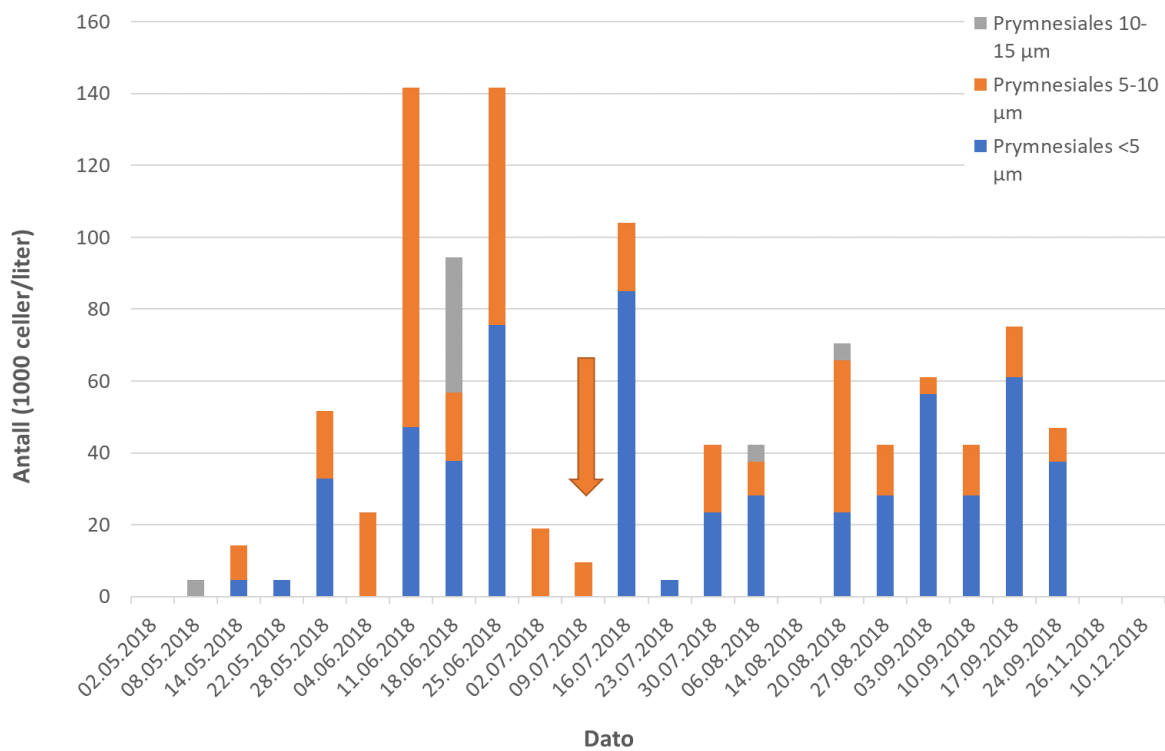
PCR-produkter ble også visualisert ved elektroforese på agarose gel. Dette ble benyttet for analyse av sjøvannsprøver fra Hylsfjorden. Både positive (ekstrakt fra stamkultur) og negative (ddH<sub>2</sub>O) kontroller var inkludert i elektroforesen.

### 3 Resultater og diskusjon

Sjøvannsprøver ble filtrert og analysert vha qPCR ved alle prøvetakinger gjennom perioden 2.05.2018 til 10.12.2018. Av disse prøvene var det bare fire som gav et sterkt positivt utslag for tilstedeværelse av *Prymnesium parvum* (Figur 8). Negative kontrollresultater sammen med sterk amplifisering bekrefter at disse resultatene er reelle, og ikke påvirket av kontaminering.



Figur 8. Gel kjøring av PCR produkter av positive *Prymnesium parvum* prøver.



Figur 9. Forekomst av celler fra orden Prymnestiales i Hylsfjorden i mai-oktober 2018. Øverst prøver fra 0-4 m og nederst prøver fra 6m. Oransje piler peker på datoer hvor qPCR analysene indikerte forekomster av *Prymnesium parvum*.



Det var ingen celler som ble positivt identifisert som *Prymnesium parvum* ved analyse i lysmikroskop i 2018. Det var imidlertid forekomster av celler som ble identifisert til å orden *Prymnesiales* gjennom store deler av undersøkelsesperioden. I denne gruppen og kan det finnes celler av *Prymnesium parvum* som ikke lot seg bestemme verken til slekt eller til art. Mikroskopering kan være utfordrende da flere av artene i denne orden/slekten fremstår som svært like. Videre endrer morfologien seg med fiksering noe som gjør at en del celler ikke engang lar seg identifisere til riktig slekt. Analyse med qPCR klarte å detektere fire prøver som var tydelig positive for *P. parvum* og var dermed mer sensitiv enn mikroskopi som ikke klarte å positivt identifisere organismen i noen av disse fire prøvene.

De fire positive prøvene var spredt ut i tid og ingen datoer hadde samtidig tilstedeværelse av *P. parvum* på begge prøvedyp. Dette kan indikere at *P. parvum* ikke har vært jevnt fordelt i vannsøylen på de aktuelle prøvetakingstidspunktene. Fra prøvene tatt på 6 m ble det sterkt positivt utslag på følgende datoer: 2. mai, 14. mai og 10. september. I prøver fra 0-4 m fant vi sterkt positivt utslag bare 9. juli.

Det foreligger ikke noen «faregrense» for *Prymnesium parvum* og i litteraturen er det betydelig variasjon når det gjelder hvilke konsentrasjoner som forårsaker dødelighet hos fisk. Det har tidligere blitt spekulert i om stammen fra Hylsfjorden er spesielt giftig siden den forårsaket massiv dødelighet ved mye lavere konsentrasjoner enn det man har sett andre steder. Når stammen fra Hylsfjorden har blitt dyrket har den imidlertid ikke vært mer giftig, og man tror at det har vært miljøforholdene under blomstringene som har gjort algen mer «potent» i Hylsfjorden (Johnsen et al. 2010). Dødelige blomstringer i Hylsfjorden har vært på celletall på noe under 1 mill celler/l. Med protokollen presentert her antydes det en deteksjonsgrense på 1000 celler/L. Dette betyr at man vil avdekke forekomster av *P. parvum* på langt lavere konsentrasjoner enn det som har forårsaket skade tidligere, og lavere konsentrasjoner enn det man realistisk klarer å detektere i mikroskop. Sikker identifikasjon og lave deteksjonsgrenser kan være spesielt viktig for å fange opp en blomstring som er under oppbygning.

Protokollen er publisert på protocols.io. ( [dx.doi.org/10.17504/protocols.io.kxygxzw7ov8j/v1](https://doi.org/10.17504/protocols.io.kxygxzw7ov8j/v1) )

## 4 Referanser

- Edvardsen, B. & Paasche, E. (1998). Bloom dynamics and physiology of *Prymnesium* and *Chrysochromulina*. In *Physiological ecology of harmful algal blooms* (Anderson, D. M., Cembella, A. D. & Hallegraeff, G. M., eds.), pp. 1931-1208. Heidelberg, Germany: Springer Verlag.
- Galluzzi, L., Bertozzini, E., Penna, A., Perini, F., Pigalarga, A., Graneli, E. & Magnani, M. (2008). Detection and quantification of *Prymnesium parvum* (Haptophyceae) by real-time PCR. *Lett Appl Microbiol* 46, 261-266.
- Guo, M., Harrison, P. J. & Taylor, F. J. R. (1996). Fish kills related to *Prymnesium parvum* N. Carter (Haptophyta) in the People's Republic of China. *Journal of Applied Phycology* 8, 111-117.
- Hambright, K. D., Zamor, R. M., Easton, J. D., Glenn, K. L., Rimmel, E. J. & Easton, A. C. (2010). Temporal and spatial variability of an invasive toxigenic protist in a North American subtropical reservoir. *Harmful Algae* 9, 568-577.
- Humbert, J. F., Quiblier, C. & Gugger, M. (2010). Molecular approaches for monitoring potentially toxic marine and freshwater phytoplankton species. *Anal Bioanal Chem* 397, 1723-1732.
- Johnsen, T. M., Eikrem, W., Olseng, C. D., Tollefsen, K. E. & Bjerknes, V. (2010). *Prymnesium parvum*: The Norwegian Experience. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association* 46, 6-13.
- NS-EN 15972:2011. Vannundersøkelse - Veiledning for kvantitative og kvalitative undersøkelser av marine planktonalger.
- Utermöhl H. 1958. Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. Mitt. int. Verein. theor. angew. Limnol. 9, 1-38

## NIVA: Norges ledende kompetansesenter på vannmiljø

Norsk institutt for vannforskning (NIVA) er Norges viktigste miljøforskningsinstitutt for vannfaglige spørsmål, og vi arbeider innenfor et bredt spekter av miljø, klima- og ressurs spørsmål. Vår forskerkompetanse kjennetegnes av en solid faglig bredde, og spisskompetanse innen mange viktige områder. Vi kombinerer forskning, overvåkning, utredning, problemløsning og rådgivning, og arbeider på tvers av fagområder.



Norsk institutt for vannforskning

Økernveien 94 • 0579 Oslo  
Telefon: 02348 • Faks: 22 18 52 00  
[www.niva.no](http://www.niva.no) • [post@niva.no](mailto:post@niva.no)