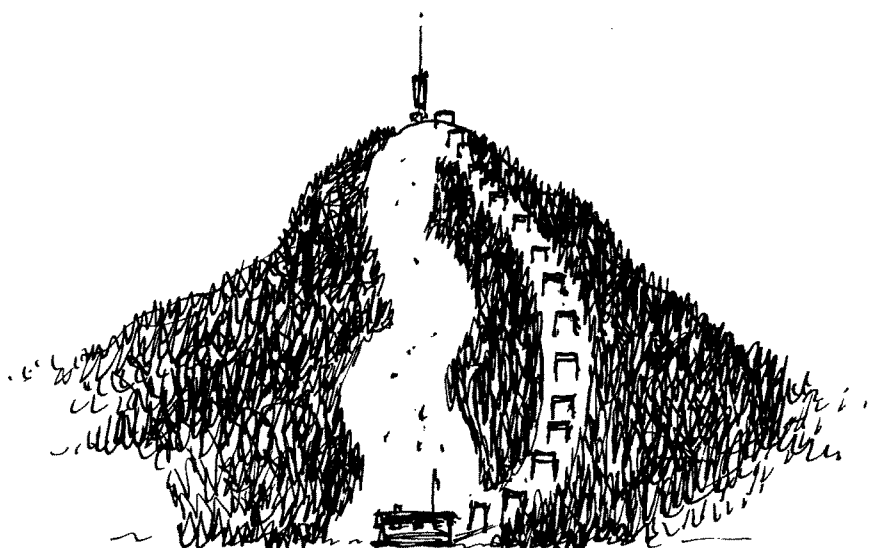


O-91201

Kontroll av Snomax brukt i norske skibakker



NIVA - RAPPORT

Norsk institutt for vannforskning



NIVA

Prosjektnr.:	Undernr.:
O-91201	
Løpenr.:	Begr. distrib.:
3209	

Hovedkontor	Sørlandsavdelingen	Østlandsavdelingen	Vestlandsavdelingen	Akvaplan-NIVA A/S
Postboks 173, Kjelsås	Televeien 1	Rute 866	Thormøhlensgt 55	Søndre Tollbugate 3
0411 Oslo	4890 Grimstad	2312 Ottestad	5008 Bergen	9000 Tromsø
Telefon (47) 22 18 51 00	Telefon (47) 37 04 30 33	Telefon (47) 62 57 64 00	Telefon (47) 55 32 56 40	Telefon (47) 77 68 52 80
Telefax (47) 22 18 52 00	Telefax (47) 37 04 45 13	Telefax (47) 62 57 66 53	Telefax (47) 55 32 88 33	Telefax (47) 77 68 05 09

Rapportens tittel: KONTROLL AV SNOMAX BRUKT I NORSKE SKIBAKKER	Dato: 24.02.95	Trykket: NIVA 1995
	Faggruppe: Analyse-Miljøtoksikologi	
Forfatter(e): Hege E. Hansen	Geografisk område: Oslo	
	Antall sider: 58	Opplag: 30

Oppdragsgiver: Direktoratet for naturforvaltning.	Oppdragsg. ref.: BTEK 1192
---	--------------------------------------

Ekstrakt:

Hensikten med prosjektet har vært å vurdere miljøkonsekvenser ved bruk av SNOMAX i norske skianlegg, samt å kontrollere om vilkårene satt av Statens forurensningstilsyn for bruk av produktet overholdes. Snomax er et bakterieprodukt fra bakterien *Pseudomonas syringae* Is+ (isolat 31). Bakterien produserer et protein, knyttet til celleveggen, som fungerer som krystallisasjonskjerne ved isdannelse. Produktet benyttes til å øke effektiviteten ved produksjon av snø i snøkanoner ved at vann fryser ved høyere temperatur enn normalt. Det har blitt reist spørsmål om en spredning av slike bakterier kan medføre biologiske forandringer på flora og mikroflora. Prosjektet har omfattet feltobservasjoner, laboratorieanalyser av snø og vannprøver, samt en undersøkelse av regulering og bruk av Snomax i andre land. Det er påvist et uventet stort antall pseudomonader i snø og vannprøvene, men levende Snomax bakterier har ikke blitt påvist. Flere av isolatene hadde tydelig tegn på Is+ gen, men det kan ikke bekreftes at genet er overført fra Snomax, da Is+ genet også forekommer blant enkelte naturlig forekommende pseudomonader. Vilkaene for bruk av Snomax ser ut til å overholdes. Parallelt med denne undersøkelsen har Norsk institutt for naturforskning utført vegetasjonsstudier. Feltobservasjonene, laboratorieanalysene og vegetasjonsstudiene har ikke kunnet påvise at Snomax har hatt skadelige effekter på flora/mikroflora. For å kunne fastslå effekter på flora med sikkerhet bør områdene observeres over lengre tid.

4 emneord, norske

1. Snomax
2. Snøkanoner
3. Skibakker
4. Miljøkonsekvenser

4 emneord, engelske

1. Snomax
2. Snowguns
3. Ski resorts
4. Environmental effects

Prosjektleder

Rainer Lichtenthaler

For administrasjonen

Merete Johannessen

ISBN82-577-2705-9

NORSK INSTITUTT FOR VANNFORSKNING

O-91201

KONTROLL AV SNOMAX BRUKT I NORSKE
SKIBAKKER

Oslo 24.02.1995

Hege E. Hansen
Rainer Lichtenthaler

Forord

Norsk institutt for vannforskning, NIVA, har på oppdrag fra Direktoratet for naturforvaltning undersøkt bruk av bakterieproduktet SNOMAX for produksjon av kunstsne i norske skibakker. Undersøkelsen har inkludert feltobservasjoner, laboratorieanalyser, og innhenting av opplysninger om bruk av SNOMAX internasjonalt. Parallelt med NIVAs prosjekt har Per Arild Aarrestad, Botanisk institutt, Universitetet i Bergen, på vegne av Norsk institutt for vannforskning, NIVA, utført vegetasjonsstudier. Formålet med undersøkelsene har vært å avdekke om bruk av produktet gir endringer i biologiske forhold i og rundt skianleggene, og kontrollere om vilkårene gitt av Statens forurensningstilsyn for bruk av produktet blir overholdt. NIVAs vegetasjonsundersøkelser utført i tre av alpinanleggene foreligger som en egen rapport: Aarrestad, Per Arild (1993): "SNOMAX i kunstig snølegging; botanisk-økologiske undersøkelser i alpinanlegg" NINA oppdragsmelding 183: 1-46, men konklusjonene derfra er også inkludert her.

Prosjektansvarlig hos Direktoratet for naturforvaltning har vært Heidi Bente Hoel Draget. Kontaktperson ved Statens forurensningstilsyn har vært Guri Tveito.

Hos NIVA har prosjektet vært utført av følgende:

- Morten Laake (prosjektleder til 1.8.92, ansvarlig for befarings- og prøvetaking).
- Rainer Lichtenthaler (prosjektleder fra 1.8.92).
- Hege E. Hansen (ansvarlig for informasjon om internasjonal bruk av Snomax).
- Kathrine Stene Johansen (laboratorietester og databearbeiding).
- Birger Bjerkeng (statistisk bearbeiding).

Vi ønsker å takke alle som velvillig har stilt opp ved befarings- og prøvetaking i skianleggene, samt produsenter, importører, myndigheter og alle andre som har bidratt med verdifull informasjon om Snomax. Spesiell takk til Veterinærinstituttet for veiledning og lån av gel-scanner.

NIVA takker Direktoratet for naturforvaltning for godt samarbeid i forbindelse med gjennomføringen.

Innhold

Forord	i
Innhold	ii
1a. Sammendrag	3
1b. Summary	4
2. Innledning.....	6
3. Inspeksjonsrapport.....	8
3.1 Produktinformasjon.....	8
3.2 Befaringsrapport.....	9
4. Materialer og metoder.....	32
4.1 Prøvetaking og bearbeiding	32
4.1.1 Prøvetaking	32
4.1.2 Bearbeiding	32
4.2 Immunfluorescens mikroskopi	33
4.3 Elektroforese.....	34
4.3.1 Bakgrunn.....	34
4.3.2 Prøvebehandling	35
5. Resultater	36
5.1 Tradisjonelle mikrobiologiske metoder.....	36
5.2 Elektroforese.....	36
5.3 Immunfluorescens mikroskopi	37
5.4 Kjemiske analyser	39
6. Internasjonal anvendelse og regulering av Snomax	44
6.1 Bakgrunn.....	44
6.2 Produktinformasjon.....	44
6.3 Anvendelse og salg.....	45
6.4 Undersøkelser	46
6.5 Reguleringer	46
6.5.1 Norge	46
6.5.2 Sveits	47
6.5.3 Sverige	47
6.5.4 Frankrike.....	47
6.5.5 Østerrike	47
6.5.6 USA.....	48
6.6 EPAs vurdering av Snomax.....	48
6.7 Kommentarer	50
7. Diskusjon	53
8. Konklusjon	55
9. Litteratur.....	56
BILAG	58

1a. Sammendrag

Målsettingen for dette prosjektet har vært å vurdere miljøkonsekvenser ved bruk av Snomax, et produkt som tilsettes vann ved produksjon av kunstsnø, i norske skianlegg. Snomax er et produkt fra bakterien *Pseudomonas syringae*, som med sitt Is+-gen produserer et protein knyttet til celleveggen. Dette fungerer som krystallisasjonskjerne ved tilfrysing av vann, og medvirker til at vannet fryser ved høyere temperatur enn normalt. Det har blitt reist spørsmål om en spredning av slike bakterier kan medføre biologiske forandringer på flora og mikroflora. I den sammenheng har man fryktet overføring av Is+genet til øvrig flora og mikroflora, frostskafer på planter, samt overføring av patogener. De frostskaferne områdene infiseres lettere av fytopatogene bakterier som kan påføre plantene sykdommer. IS+ bakteriene kan i tillegg leve på det ødelagte vevet og ta opp næring fra dette (Wolber & Warren). Påvirkningen av slike iskjernedannende bakterier er størst i områder med årlig frost. I USA er det rapportert om store frostskafer på økonomisk viktige jordbruksplanter (Aarrestad, P. A., 1993).

Snomax anvendes av følgende tretten land: USA, Canada, Frankrike, Italia, Andorra, Sveits, Sverige, Japan, Sør-Korea, Australia, New Zealand og Argentina, foruten Norge. Antall tonn som selges pr. år på verdensbasis er konfidensielt, men ligger mellom 7 og 11 tonn. I Norge og Sverige selges det henholdsvis ca. 130 kg og 170 kg pr. år (1992).

Selv om forbruket av Snomax har vært relativt beskjedent i Norge, forventes dette å øke. Norge har hatt en restriktiv holdning til utsetting og bruk av bakterieprodukter i miljøet. Statens forurensningstilsyn har opphevet forbudet mot bruk av Snomax mot at visse vilkår skal oppfylles. Deriblant at produktet skal være inaktivert. Det har vært ønskelig å kontrollere om vilkårene satt av Statens forurensningstilsyn for bruk av produktet overholdes. Prosjektet har omfattet feltobservasjoner i perioden november 1991- juli 1992, laboratorieanalyser av snø og vannprøver, samt en undersøkelse av regulering og bruk av Snomax i andre land.

Feltobservasjonene har vist at oppbevaring av Snomax og håndtering av rester fra snøkanonene håndteres noe tilfeldig. Dette kan øke faren for spredning av Is+ bakterier. Videre var det rapportert om dårlig vekst av enkelte typer av gras for tilsåing eller at sauene ikke ville beite på gras.

Laboratorieanalysene har påvist et uventet stort antall pseudomonader i snø- og vannprøvene. Levende Snomax bakterier har ikke blitt påvist hverken i snø- eller vannprøvene. Flere av isolatene har tydelig tegn på Is+-gen. Det kan imidlertid ikke bekreftes at genet er overført fra Snomax, da Is+ genet også forekommer blant enkelte naturlige forekommende pseudomonader.

NINAs botanisk-økologiske undersøkelser, utført parallelt med NIVAs undersøkelser, viser at vegetasjonens sammensetning i løypetrasséene varierer sterkt med tiden som er gått siden planering, jorderosjon, fuktighetsforhold og næringsforhold i jordsmonnet. Disse forholdene påvirker vegetasjonens sammensetning mer enn selve bruken av kunstsnø gjør. Kunstsnø forkorter vekstsesongen, øker fuktigheten i jorden og fører til økt slitasje, noe som påvirker tettheten til plantedekket. Skader og endringer i vegetasjonen fåes ved opparbeiding av løyper, preparering og bruk av alpinanleggene uavhengig av bruk av Snomax. Snomax fører derimot til en større produksjon og bruk av kunstsnø, og øker således effektene av bruk av kunstsnø.

Resultatene tyder på at vilkårene for bruk av Snomax i Norge blir overholdt. Feltobservasjonene samt snø- og vann analysene har ikke kunnet påvise at bruk av Snomax har hatt skadelige effekter på flora/mikroflora. NINAs vegetasjonsundersøkelser har heller ikke kunnet påvise dette. Det må imidlertid legges til at de utførte analysene ikke er tilstrekkelige for å kunne fastslå dette med sikkerhet. For å kunne fastslå virkninger på vegetasjon med sikkerhet bør kontrollerte forsøk pågå i områdene over flere år.

1b. Summary

The aim for this project has been to evaluate possible environmental effects due to the use of Snomax, an agent for the production of artificial snow, at Norwegian ski resorts. Snomax is derived from the bacteria *Pseudomonas syringae* Ice+ and its protein attached to the cell wall of the bacteria. Snomax is capable of initiating the freezing process of water at a higher temperature than normal. There have been doubts if spreading of such bacteria could give biological effects to flora and micro flora. In this connection there has been special attention to transfer of the Ice+ gene to other flora and micro flora, frost damage to plants, and transfer of pathogens. The frost damaged tissue is easily infected by phytopathogenic bacteria giving plant diseases. The Ice+ bacteria may also live on the damaged tissue taking advantage of increased access to nutrients (Wolber & Warren). The influence of such ice nucleating bacteria is mostly pronounced in areas with yearly frost. Significant frost damage on economic important agriculture plants are reported in USA (Aarrestad, P. A., 1993).

Snomax is used by the following thirteen countries: USA, Canada, France, Italy, Andorra, Switzerland, Sweden, Japan, South-Corea, Australia, New Zealand and Argentina, in addition to Norway. Number of tons sold per year on the world market are confidential, but are likely in the range of 7 to 11 tons. In Norway and Sweden respectively about 130 kg and 170 kg are sold per year (1992).

Even if the use of Snomax is relative modest in Norway so far, the use is expected to increase. Norwegian authorities have had an restrictive attitude to release and use of bacteria and their products into the natural environment. The State Pollution Control Authority has repealed the prohibition for use of Snomax by setting some terms that have to be fulfilled. One of the terms is that the product should be inactivated. It has been desirable to check out that the terms for use of the product given by the State Pollution Control Authority are fulfilled. The project included field observations in the period November 1991 - July 1992, laboratory analyses of snow and water samples, and examination of regulation and use of Snomax in other countries.

Field observations proved that keeping of Snomax and handling of remainings from the snowgun is sometimes casual. This may increase the possibility for transfer of Ice+ bacteria. In addition it was reported bad growth for some types of grass, or that the sheeps did not want to graze on the grass.

The laboratory analyses showed an unexpected high number of pseudomonades in the snow and water samples. Living Snomax bacteria have not been found neither in snow- nor water samples. Some of the isolates have clearly signs for Ice+ gene. It can however not be confirmed that this gene has been transferred from Snomax, because Ice+ genes also exist among some naturally occurring pseudomonades.

The botanical-ecological studies by NINA, simultaneously performed to the studies by NIVA, indicates that the composition of the vegetation in the ski areas varies most in relation to the time elapsed since ground levelling took place, erosion, moisture conditions and the nutritional state of the soil. These factors affect the composition of the vegetation more than the actual use of artificial snow. Artificial snow shortens the growing season, thereby affecting the density of the plant cover. Damage and alterations on vegetation arise under pist work up, preparing and use of alpine pists independent of use of Snomax. On the other hand Snomax increase production and use of artificial snow, and so increase the effects of artificial snow.

The results indicate that the terms for using Snomax in Norway are fulfilled. Field observations and snow- and water analyses do not indicate any negative biological effects to flora and micro flora by use of Snomax. The vegetation studies by NINA also support this. It should be pointed out that the

analyses carried out so far are not sufficient to draw this conclusion with a high degree of certainty. To study possible effects to the flora, the areas should be observed over longer periods.

2. Innledning

Snomax er et bakterieprodukt som består av bakterien *Pseudomonas syringae* Is+ (isolat 31). Bakterien produserer et protein som fungerer som krystallasjonskjerne ved isdannelse. Produktet brukes til å øke effektiviteten ved produksjon av snø i snøkanoner.

Statens forurensningstilsyn har opphevet forbudet mot import og bruk av bakterien på spesielle vilkår. Et av vilkårene er at produktet skal være bestrålt og ikke inneholde levende bakterier.

Statens forurensningstilsyn (SFT) og Direktoratet for naturforvaltning (DN) har i samarbeid igangsatt en undersøkelse av produktet Snomax brukt i norske skianlegg. Hensikten med undersøkelsen var å avdekke om bruk av produktet medfører endringer i biologiske forhold i de aktuelle lokalitetene.

Med utgangspunkt i dette har Norsk institutt for vannforskning (NIVA) hatt i oppdrag å kontrollere om vilkårene blir overholdt, samt undersøke om produktet har hatt skadelige effekter på flora/mikroflora. Med utgangspunkt i samme problemstilling skulle Norsk institutt for naturforskning (NINA) foreta vegetasjonsundersøkelser.

NIVAs Prosjektdel har omfattet følgende:

Del I A

- Feltobservasjoner.
- Prøvetaking av snø og vann.
- Analyser med tradisjonelle mikrobiologiske metoder.

Del I B

- Analyser med nyere metoder.
- Internasjonal anvendelse av Snomax.

Det var nødvendig å ta prøver både i skianlegg som bruker Snomax og i kontrollområder som ikke bruker Snomax. Morten Laake, NIVA, ble engasjert for å utføre undersøkelsene, og ble gitt adgang til å ta ut de prøver og gjøre de undersøkelser han fant nødvendig. Rapporten bygger på Morten Laakes "Notat O-91201. Kontroll av Snomax brukt i norske skianlegg. Inspeksjonsrapport. Feltobservasjoner og foreløpig vurdering av prøver fra vinteren 1991-92", samt delrapporten "Internasjonal anvendelse og regulering av Snomax".

Prosjektet ble startet medio desember 1991 med prøvetaking av snø og vann fra skianlegg som benytter Snomax, og fra anlegg som ikke benytter, eller som har benyttet Snomax. I tillegg til prøvetaking ble det ved feltobservasjonene lagt vekt på å beskrive forholdene rundt anleggene, spesielt med tanke på vurdering av eventuelle effekter som kan skyldes bruk av Snomax. Disse feltobservasjonene danner grunnlaget for å velge ut tre anlegg for botanisk-økologiske undersøkelser. Disse undersøkelser ble utført sommeren og høsten 1992 av NINA.

Prøvematerialet av snø og avrenningsvann ble innledningsvis analysert ved hjelp av tradisjonelle, mikrobiologiske metoder for bestemmelse av kolonitall på *Pseudomonas*-agar, telling av antall

fluorescerende kolonier (*Pseudomonas syringae*), og isolering av renkulturer for artsbestemmelse etter klassiske fysiologiske tester.

Resultatene fra disse analysene viste tidlig at prøvene inneholdt store mengder naturlig forekommende pseudomonader. Dette gjorde det vanskelig å identifisere *Pseudomonas syringae* med sikkerhet. Behovet for ytterligere, mere spesifikke karakteriseringer av det eksisterende prøvemateriale av snø og avrenningsvann ble derfor vurdert, og analyseprogrammet ble i samråd med oppdragsgiver utvidet med immunfluorescens mikroskopi testing av antistoff-positive isolater i forhold til totaltall fluorescerende isolater, samt elektroforetisk bestemmelse av proteinmønstre hos isolerte bakterier, med håp om påvisning av Snomax-stammen i forhold til villtyper, og om mulig gjenkjenning av Is+ proteiner.

Elektroforese dataene viste også et stort antall forskjellige proteinmønstre blant de undersøkte isolatene.

Totalt 61 prøver og i alt ca. 160 bakterieisolater har blitt undersøkt.

Jord- og strø-prøver, innsamlet av Norsk institutt for naturforskning sommeren 1992, skulle ved en eventuell videreføring av prosjektet vært analysert med tilsvarende metoder som snø og vannprøvene. Da det viste seg lite hensiktsmessig å gjennomføre analysene med bruk av tradisjonelle mikrobiologiske metoder, ble dette arbeidet i samråd med oppdragsgiver bestemt utelatt. Arbeidsmengden med en nødvendig utvidelse av analyseopplegget ville bli vesentlig større enn opprinnelig antatt. Dette lot seg derfor ikke gjennomføre innenfor de angitte tids, - og økonomiske rammer. Utbyttet av disse analysene ville også være usikre.

3. Inspeksjonsrapport

Feltarbeidet, som utgjorde første fase av prosjektet, ble utført fra medio desember 1991 til medio april 1992. Dette omfattet innsamling av snø,- og vannprøver for laboratorieundersøkelser, samt en generell befaring og beskrivelse av forhold rundt anleggene. Dette skulle danne grunnlag for oppfølgende undersøkelser.

3.1 Produktinformasjon

Produktnavn: SNOMAX Snow Inducer

Produsent: Snomax Technologies, - A Kodak Company (1992: Genencor International)
95 Allens Creek Road
Rochester, NY. 14618, USA

A division of EK Holdings Inc.

Produktinformasjon på emballasjen:

"A freeze dried natural source of *Pseudomonas syringae*. Pouche contains sufficient product to nucleate 100.000 U.S. Gallons (378,541 liters).

STORAGE: Keep product frozen or refrigerated below 50 °F, 10 °C.
Avoid repeated temperature swings greater than 10 °F, 6 °C.

MIX TANK INSTRUCTIONS: Fill tank 1/4 full with cold water. Turn on the circulation system in manual mode. Add the proper amount of Snomax Snow Inducer (for systems with mixing pail, pre-mix 4 gallons of water with up to 5 pouches of Snomax Snow Inducer for 2 minutes, drain into mixing tank, repeat until proper concentration is reached). Add more cold water to the desired tank level. Mix for approximately 10 minutes. Switch circulation system into auto mode, to be on 45 seconds every 60 minutes. Refer to your systems flow rate chart for solution volumes. Use enough solution for use in an 8-12 hour period.

SYSTEM CLEANING PROCEDURE: After use, rinse mix tank out with bleach solution, 1 parts (5% household bleach) to 100 parts water, then rinse well with water, drain. Be sure to observe precautionary labeling on the bleach container.

DISPOSAL: Dispose of product or packaging in accordance with any applicable federal, state or local law.
When using Snomax Snow Inducer, avoid breathing dust or dried material, and use in well ventilated area.

FOR QUESTIONS OR MORE INFORMATION CALL OUR CUSTOMER SERVICE REPRESENTATIVE AT (716)-724-6267".

3.2 Befaringsrapport

Følgende anlegg har vært vurdert:

Anlegg		Bruk av SNOMAX
BYGLANDSFJORD SKIHEISER		
DOMBÅS SKIHEISER A/S		- (men vurderer)
GAUSTADBLIKK SKISENTER	GAU	-
HAFJELL ALPINSENTER	HAF	SNOMAX
HANSKOLLEN SKISENTER A/S	HAN	SNOMAX
HOVDEN SKISENTER A/S	HOV	Tidligere benyttet SNOMAX
INGJERKOLLEN SLALOMSENTER	ING	SNOMAX
KIRKERUDBAKKEN	KIR	SNOMAX
KOLSÅS SKISENTER	KOL	
KONGSBERG SKIHEISER AS	FUN	SNOMAX
NOREFJELL SKI- OG FRILUFTSSENTER AS	NOR	SNOMAX
RAULAND SKIHEISER AS	RAU	SNOMAX til 90/91 sesongen
STØLE (Se Hovden Skisenter A/S)		SNOMAX forsøkt en periode
SVARSTAD ALPINSENTER AS		SNOMAX
TRYSILFJELLET A/S	TRY	SNOMAX/HEDCO
VALDRES ALPINSENTER	VAL	- (men vurderer)
VANGSLIA SKISENTER A/S		SNOMAX
VARINGSKOLLEN SKISENTER		SNOMAX
VASSFJELLET SKIHEISER A/S	VAS	SNOMAX

Følgende tre anlegg ble utvalgt til botanisk-økologiske undersøkelser beskrevet i rapporten:

Aarrestad, Per Arild (1993): "SNOMAX i kunstig snølegging; botanisk-økologiske undersøkelser i alpinanlegg" NINA oppdragsmelding 183: 1-46.:

**HAFJELL ALPINSENTER
HOVDEN OG STØLE SKISENTER
VASSFJELLET SKIHEISER**

I denne rapporten beskrives nærmere miljøvariabler som alle antas å påvirke vegetasjonen i traséene. Disse er helning på bakken, jorderosjon, år siden traséen ble opparbeidet, påvirkning av kunstsno, bruk av Snomax, samt vanninnhold, pH og glødetap av jord. For vegetasjonsanalysene er transekter benyttet. Mengdeforholdet mellom arter er undersøkt. Både moser og karplanter er analysert og navngitt. CCA-analyse ("Canonical Correspondence Analysis") er brukt for å beskrive forhold mellom vegetasjon og miljø, og for å belyse hvilke miljøforhold som påvirker vegetasjonen mest.

BYGLANDSFJORD SKIHEISER	
Adresse:	Byglandsfjord
Leder/eier:	
Telefon:	043-33014
Besøkt, Dato:	Ikke besøkt.
Rapport:	Telefon til anlegget 3. april klarla at anlegget for tiden var stengt på grunn av snømangel.
Prøver:	Prøver er ikke tatt her.

DOMBÅS SKIHEISER A/S	
Adresse:	2660 Dombås
Leder/eier:	
Telefon:	062-41368
Besøkt, dato:	3. Januar 1992, kl. 15.00 - 15.30.
Rapport:	Anlegget har tre lavtrykkskanoner, som er blitt benyttet til snølegging i hele november-91 i søndre hovedtrasé over 1200 meter og i nedre del av nordre trasé. To andre traséer snølegges ikke kunstig. Vann tas direkte fra åpen bekk fra nedslagsfeltet ovenfor anlegget, som i perioden har holdt meget lav temperatur. Snomax benyttes ikke, men dette er under vurdering. Området er tilsådd med fórgras og de siste par år med Vegvesenets frøblanding. Det beites intensivt av sau av Killi, grunneier mot sør, og av Hjerkinns Gård.
Prøver:	Prøver ble ikke tatt her, men området kan egne seg som kontrollfelt.

GAUSTADBLIKK SKISENTER	
Adresse:	Tinn
Leder/eier:	Lars Svartdal, Daglig leder. Gaustadblikk Høyfjellshotell, Eier.
Telefon:	036-91422
Besøkt, Dato:	5. April 1992.
Rapport:	<p>Besøkt som et referanseanlegg. Anlegget bruker ikke Snomax og har heller ikke forsøkt produktet. Bakken har to hovedtraséer, en mot nord, retning Rjukan-dalen og en mot sør. Høytrykksanlegg er installert mot S. og lavtrykksanlegg mot N. Det er blitt benyttet intensivt i sesongen 1991/92 i temperaturområdet -2 til -15 °C fra oktober/november. Vannkilde: Kvitåvatn. Åpnet for publikum 7. november.</p> <p>Ved riktig vanddosering i forhold til temperatur og luftfuktighet har en ikke problemer med isdannelse og vannavrenning. Snomax vurderes som ikke nødvendig og for dyrt, men etterfrysings-effekten i smeltet snø savnes ved nåværende praksis. Dette er eventuelt en viktig positiv driftsfordel ved Snomax.</p>
Prøver:	Prøver ble tatt av snø i den søndre traséen som bakgrunnsprøver for belastede anlegg.

GAU 1.1 Snøprøve	Øverst i høytrykks snøområde.
GAU 1.2 Snøprøve	Midt i "
GAU 1.3 Snøprøve	Nederst i "
GAU 1.4 Snøprøve	Lavtrykks snøfelt "
GAU 1.5 Snøprøve	Nylagt høytrykks snøhaug (snowboard-renne).

HAFJELL ALPINSENTER	
Adresse:	2636 Øyer
Leder:	Geir Ø. Olsen (Driftsleder) Morten Skoglund, (Tekn.anl.), assisterte ved befaringen.
Telefon:	062-77078 (arbeid)
Besøkt, dato:	27. Desember 1991 kl. 14.30-19.00.

<p>Rapport:</p>	<p>Botanisk-økologisk undersøkelse er foretatt (Aarrestad, P. A. 1993). Anlegget fikk installert Snomax utstyr i 1991 og har benyttet preparatet ved snølegging i perioden ca. 20 november til 25 desember. Utblandningstanken var halvfull med utblandet preparat (prøve HAF 1.0). I følge det tekniske personalet har bruk av Snomax hjulpet svært meget. I følge tomemballasjen er produktet identisk med det som ble anvendt i Hurdal, men med sikkerhet innkjøpt høsten 1991 (forpagn. nr. 0297 346BC2).</p> <p>Det opplyses at produsenten av Snomax har endret eierforhold og adresse i forhold til angivelsen innledningsvis til:</p> <p>SNOMAX TECHNOLOGIES A division of Genencor International, 4 Cambridge Place, 1870 S. Winton Road, Rochester, N.Y. 14618</p> <p>Ved inspeksjon var det 3 poser tilbake i kjøleskap. Totalforbruket kunne ikke oppgis på stedet av Skoglund. Man mente å ha tilsatt 0.8 g pr. 1000 liter i endelig fortykning (800 ppm), og kanonene har gått med fra 650 til 5000 l/min. Reguleres via vannføringsgiver Danfoss Magflo Converter direkte i vannstrømmen. Snomax ble benyttet til oppbygging av snøhauger flere steder i anlegget, som så ble planert ut i avkjøringsramper og i bakkene. Man har hittil ikke snølagt trasé 7-8, men ville starte med dette nå og benytte Snomax.</p> <p>Ved befaringen ble det konstatert betydelig avdrift fra snøkanoner ut på dyrket mark nord for prøveprofilen under Råbøhenget og inn i lauvskogsfelter mellom traséene. Det finnes også granfelter tett på traséene i det snøbelagte området, som strekker seg opp til enden av svart del av trasé 4. Åpent vann i grøfter/bekker var synlig i øvre del av området, men ble vurdert lite direkte påvirket av smeltevann fra Snomax-snø. I nedre del av feltet var bekker nå tilfrosset og ingen prøve ble tatt.</p> <p>En tilfrosset overløpsdam på 50 m³ mellom administrasjonsbygget og stolheisen dreneres via ledning til Mosoa/Lågen. Det var ikke vann å se i nedre kant av anlegget. I følge personalet er grunnen skifrig, oppsprukket berg som drenerer vann effektivt til Mosoa/Lågen. Vann tas fra de samme to kilder, med Lågen som hovedinntak og Mosoa ca. 200 m rett nedenfor anlegget som reservekilde.</p> <p>Det er sådd til med gras i traséene, av samme type som Statens Vegvesen benytter, men en mindre del drives som grasslått av gårdsbruket sør for nedre trasé, som ennå driver litt jordbruk, i hovedsak mot sør. Et nabobruk er nedlagt, mens bruket nord for traséene fortsatt drives for fullt. Alle de tre brukene ligger på høyde med nedre kant av Røbøhenget og vil egne seg godt for oppfølgende studier av spredning og effekter på vegetasjon og jordbruk.</p>
<p>Prøver:</p>	<p>Snøprøver med Snomax var tydelig forskjellige fra annen snø ved perleaktige, koppformede krystaller ca. 1 mm i diameter, som ga snøen en meget glatt overflate. Klumper var for harde til å kunne brytes over for hånd eller smuldrer.</p>

HAF 1.0 Produkt ferdigblandet i tanken	Snomax tank halvfull, lukt merkbar ute
HAF 1.1 Snøhaug veisving, under Råbøl N	Opplagt med Snomax til fordeling i anlegg
HAF 1.2 Rørprofil u. stolheisen (60 cm), "	Planert bakke, moderat hardhet
HAF 1.3 Spade/bore-prøve (60 cm), "	Planert, hardkjørt, midt i traséen
HAF 1.4 Spade/bore-prøve (30 cm), "	Planert, hardkjørt, S. kant av traséen
HAF 1.5 Fersk snøhaug, mellom heishus	Opplagt med Snomax til fordeling i anlegg

HANSKOLLEN SKISENTER A/S	
Adresse:	2090 HURDAL
Leder:	Steinar Tømta
Telefon:	06-987270 (arbeid) 06-989105 (privat)
Besøkt, dato:	22. Desember 1991 kl. 16.00-17.30.
Rapport:	<p>Snomax brukes ved temperatur -1 - 6 °C, spesielt i starten av snøleggingen for å få god bunn av grovkornet snø og derved hindre avrenning av smeltevann på overflaten og dannelse av blåis. Snomax er fint å bruke når det er vått underlag. Det legges lagvis med og uten Snomax videre oppover, særlig i lavereliggende del av traséen. Det er ikke nødvendig å bruke Snomax når temperaturen synker under 6 °C, og kapasiteten økes derved fra ca. 550 til 800 l/min.</p> <p>Vann pumpes direkte opp fra elva som renner fra Steinsjøen og videre ned i Hurdalselva. Snomax blandes ut i en egen blandetank, vanligvis 1/2 pose i 50 l vann som etterfylles 3 ganger pr. døgn ved full drift. Doseres proporsjonalt med vannstrømmen. Avlesning ved besøket var 214 ml/min. mot vannstrøm 808 l/min., altså ca. 0.025%. Pulveret oppbevares nedfrosset i emballasjen (sammen med pølsebrød, lomper og Wienerpølser).</p> <p>Nærområdet er preget av småbruk. Det er nærliggende kornarealer, trolig litt poteter og jordbær til eget bruk. Det er gressvoll i selve anlegget.</p>
Prøver:	<p>Det fantes ikke utblandet Snomax i tanken. Prøve ble tatt fra åpnet pose i fryseren (PACKAGE CONTR. NO287AA1 3128). Snøprøver på ca. 2 kg ble oppbevart i plastposer (fiskeyngelposer) i frossen tilstand ved -5-10 °C inntil analyse neste dag.</p> <p>Prøvene ble tatt innen 200 m fra heishuset opp i S (høyre) side av bakken, hvor det nå var bygget opp 20-60 cm snø, med en åpen bekk i området.</p> <p>Følgende prøver ble tatt:</p>

HAN 1.0 Produktprøve	Frysetørket pulver fra pose
HAN 1.1 Nederst til H, 20 m fra skogen	Spadekutt isklumper til 20 cm dyp
HAN 1.2 +30 m opp	Isbor 2 hull
HAN 1.3 +30 m opp	Isbor 2 hull
HAN 1.4 +30 m opp	Isbor 3 hull, litt jord med i prøven
HAN 1.5 260 m mot N, motsatt side av heis	Fersk snø fra kanon uten Snomax

HOVDEN SKISENTER A/S	
Adresse:	7341 Oppdal
Kontakt person:	Olav Brattbakk, formann for alpingruppa Oppdal I.L.
Telefon:	074-21776
Besøkt, dato:	31. Desember 1991 (befaring av anlegget og samtaler). 3. Februar 1992 (prøver).
Rapport:	<p>Botanisk-økologisk undersøkelse er foretatt (Aarrestad, P. A. 1993). Hovden og Støle heiser har høytrykkskanoner, men benytter ikke Snomax. Man benytter kaldt vann fra øvre del av Ådalselva via en høytliggende inntaksdam NV ovenfor Hovden-heisen, hvor en har et kjøletårn og pumper. Automatikk sørger for å starte anlegget ved behov, avhengig av nedbør og temperatur. På Hovden snølegges en trasé (21) helt til toppen og litt av en annen trasé (22) nederst. Traséene på Hovden går direkte over innmark for flere gardsbruk. Dette antas benyttes til forproduksjon. På Støle snølegges to traséer (33, 34).</p> <p>Man forsøkte Snomax en periode høsten 1990, men uten påviselig effekt. Anlegget ble senere overført til Vassfjellet. En antar at Snomax ikke er nødvendig på grunn av anleggets høyde over havet og lokalklimatiske forhold, som gir lavere temperatur og lav luftfuktighet, samt kaldt vann i kilden.</p> <p>I Vangslia, et annet selskap, snølegges en trasé (4, C) med lavtrykkskanoner, som kjennes på store vifter. Vann tas fra et lokalt vannverk, som har inntak direkte fra Ådalselva, mellom Vangslia og Hovden.</p> <p>Hele heis- og løypeområdet på Oppdal benyttes som sauebeite. Traséene er omgitt av, og adskilt av nesten ren bjørkeskog, men med innslag av einer og vierkratt. Velutviklede vegetasjonsbelter mellom traséer både med og uten snølegging bør være optimalt for studier av effekten av snølegging, isolert fra effekten av snølegging med Snomax. Effekter blant annet på vekstsesongens lengde, jorderrosjon, vegetasjon og produksjon av beitegras for sau kan være aktuelt å studere.</p>
Prøver:	Tre snøprøver ble tatt.

HOV 1.1 Snøprøve, i trasékanten mot S.	Myk snø, jevn fasthet, 20 cm, nivå 3.kanon
HOV 1.2 Snøprøve, midt i traséen 30 m N.	Fast snø 10 cm, dyp, ca. 30, samme høyde
HOV 1.3 Snøprøve, 5 m fra kanonen mot N.	Hard snø/is 20 cm, ialt ca. 40 cm, tilsv. nivå

INGJERKOLLEN SLALOMSENTER	
Adresse:	Oslo
Leder/eier:	Ludvig Daae, Daglig leder. Eva Sundt, Eivind Sundt, Eiere.
Telefon:	031-38352 (Daae) 02-801256 (Sundt).
Besøkt, Dato:	20. Januar og 13. April 1992.
Rapport:	<p>Anlegget har benyttet Snomax siden sesongen 1988/89. Totalt for sesongen 1991/92 har det gått med 7.5 - 8 kg tørrstoff pulver. Fast proporsjonal dosering til høytrykks snøanlegg fra 1500 ppm blanding (1 pose á 300 g pr. 200 l vann). Beholderen har innlagt kjøleelement for å øke holdbarheten. Snølegging startet 16. november, 3 ganger ialt frem til 20. januar, i alt 100 timer pr. gang inntil 1400 l/min). Etter avslutning tømmes restmengder i rørgaten direkte til resipient, Gjersjøen. Det føres driftsjournal med nøyaktige data. Vannkilde: Gjersjøen, 1.5 - 2 m dyp like nedenfor anlegget. Den holder vanligvis 3 - 4 °C.</p> <p>Ved første besøk var snøproduksjonen nettopp startet på nytt etter en lengre mildværsperiode. Snødekket var derfor meget tynt og det ble ikke tatt snøprøver. Det er kun en trasé, og anlegget egner seg derfor lite for undersøkelsen. Det var derimot sterk interesse for å teste alternative produkter for snølegging.</p>
Prøver:	Ved besøket 13. april var driften stanset og praktisk talt all snø avsmeltet uken før. Det ble derfor tatt en avrenningsprøve fra bekken som skjærer på skrå gjennom nedre 1/4 av traséen mot SV, ca. 10 m før utløp i Gjersjøen.

ING 1.1 Vannprøve.	Bekk S. for nedre del av hovedtraséen.
---------------------------	---

KIRKERUDBAKKEN	
Adresse:	Rud, Bærum.
Eier:	Bærum Skiklubb.
Telefon:	
Besøkt, Dato:	13. April 1992.
Rapport:	<p>Det var ingen tilstede ved befaringen. Anlegget har to traséer, hvorav en snølegges med høytrykksanlegg. Det benyttes Snomax i S. trasé, neppe i N. trasé. S. trasé var ennå dekket av snøflekker med typisk krystallstruktur, men preget av sterk avsmelting.</p> <p>Bakken ligger på tidligere dyrket mark og er omgitt av boligfelter med litt hagebruk. Der er lite eller ingenting tilbake av tradisjonelt jordbruk. Barskogfelt øverst i traséen. Bakken kan egne seg meget godt til vegetasjonsstudier, fordi begge traséene synes å ha ensartet vegetasjon og ligger klart adskilt av en heistrasé.</p>
Prøver:	Snø- og vannprøver ble tatt.

KIR 1.1 Snøprøve	Snøflekk ca. 10x10 m i nedre del av traséen.
KIR 1.2 Vannprøve	Smeltevann på is, nedkanten av snøflekken.
KIR 1.3 Vannprøve	Avrenningsdam nederst i traséen.

KOLSÅS SKISENTER	
Adresse:	Kolsås, Bærum
Leder/eier:	
Telefon:	
Besøkt, Dato:	13. April 1992.
Rapport:	Ingen tilstede ved befaringen. Sesongen var nylig avsluttet. Snødekket lå i hele hovedtraséen, men var sterkt preget av avsmelting. Under 5 cm skitten snø var det et fast rent snødekke, som hadde typisk krystallstruktur. Bakken er omgitt av tett, produktiv granskog. Ingen jordbruk i nærheten. Anlegget egner seg lite for oppfølgende studier.
Prøver:	Prøver av snø ble tatt fra det rene snødekket med krystallstruktur.

KOL 1.1 Snøprøve	Fast snø under 5 cm, ca. 200 m opp i bakken.
KOL 1.2 Snøprøve	" , ca. 300 m opp i bakken.
KOL 1.3 Vannprøve	Leirholdig smeltevann, lite påvirket fra snø.
KOL 1.4 Vannprøve	Leirholdig smeltevann, sterkt påvirket fra snø.
KOL 1.5 Vannprøve	Smeltevannsbekk nedenfor anleggsområdet.

KONGSBERG SKIHEISER AS	
Adresse:	Funkelia, Kongsberg
Leder/eier:	
Telefon:	03-733015
Besøkt, Dato:	5. April 1992.
Rapport:	<p>Ingen var tilstede ved besøket 5. april 1992. Anlegget hadde vært i drift inntil samme dag, men var preget av sterk avsmelting. Anlegget har høytrykks snøanlegg i N. trasé og benytter Snomax. Snøen var grovkornet, grålig og lå på et underlag av is. Snøen i mellomskiktet var typisk for Snomax med kulerunde krystaller. Over lå det ca. 2 cm nysnø.</p> <p>En bekk renner langs heistraséen og krysser snøfeltet i grøft nede på flaten, renner videre til hovedbekk som er klart adskilt fra nedbørsfeltet i bakken.</p> <p>Vegetasjonen i området er preget av storvokst, tett granskog. Det er mulig traséene kan sammenlignes med hensyn på effekter av Snomax, men bakkeplanering i N. trasé og ikke i S. trasé forstyrrer bildet.</p>
Prøver:	Prøver ble tatt i skiheis-området fra nordlig snølagt trasé, som så ut til å egne seg godt for en avrenningsundersøkelse.

FUN 1.1 Snøprøve	Overgang bakke/flate til H.side nedenfra.
FUN 1.2 Snøprøve	Overgang bakke/flate til V.side nedenfra.
FUN 1.3 Vannprøve	Bekk inn mot snøfeltet fra SV.
FUN 1.4 Vannprøve	Bekk ut fra snøfeltet mot NØ.
FUN 1.5 Vannprøve	Hovedbekk utløp drenerør under adkomstvei.
FUN 1.6 Vannprøve	Hovedbekk etter sammenløp med bekk.

NOREFJELL SKI- OG FRILUFTSSENTER	
Adresse:	P.B. 34 3518 Norefjell
Leder/eier:	
Telefon:	067-46400.
Besøkt, Dato:	April 1992.
Rapport:	<p>Anlegget ble besøkt sent på ettermiddagen og ingen var tilstede. Det var nettopp avstengt for sesongen. Opplysninger ble gitt av en lokalkjent turistsekretær ved Sole Turisthotell. Anlegget har høytrykks snøanlegg og benytter Snomax. Nedre halvdel av anlegget har vært stengt siden medio mars på grunn av snømangel og for høy temperatur for snølegging, men er inntil det blitt snølagt. Trasé B og C er blitt snølagt nedenfor Skistua.</p> <p>Ved befarig av nedre trasé ved starten for stolheisen var det en snødekningsgrad på ca. 70 % fremdeles, mens omkringliggende terreng var snøbart.</p> <p>Skianlegget er stort og omfatter en rekke traséer i øvre del av området, som ikke er blitt vurdert nøyere. Det er vanskelig å vurdere om øvre del kan egne seg uten en nøyere befarig, men nedre del egner seg lite for oppfølgende undersøkelser på grunn av vegetasjonens heterogenitet. Det er tildels tett granskog i nedre del og en gradient opp mot sub-alpine plantesamfunn i øvre del, men trolig med ulik grad av bearbeiding av traséene.</p>
Prøver:	Snø- og vannprøver ble tatt.

NOR 1.1 Snøprøve	Ren, maskintjevnet bunnsnø nederst i anlegg.
NOR 1.2 Vannprøve	Avrenning, dam nedenfor snøfelt.
NOR 1.3 Vannprøve	Bekk som drenerer vann direkte fra traséen.
NOR 1.4 Snøprøve	100 m opp i nedre trasé, overflatelag.
NOR 1.5 Vannprøve	Samlet avrenning fra feltet før drenerør/vei.

RAULAND SKIHEISER AS.	
Adresse:	Rauland
Leder/eier:	Jan Vidar Sandengen, Daglig leder. Halvor Longvik, Hovedaksjonær.
Telefon:	036-73490/73200.
Besøkt, Dato:	4. April 1992.
Rapport:	<p>Anlegget benyttet Snomax fra sesongen 1988/89 til og med 1990/91, hvor forbruket tilsvarte kr. 190.000 pluss utgifter til leasing av doseringsutstyr. Dette var ikke avhentet enda. Ikke benyttet Snomax sesongen 1991/92.</p> <p>Hovedtraséen og nedre del av sidetraséen, barneområdet, snølegges ved hjelp av et høytrykks snøanlegg. For innværende sesong startet snøleggingen 20. november 1991. Området dreneres via drensledninger til et myrområde nedenfor riksveien. Vannkilde: Leirbekk.</p> <p>Vegetasjonen er preget av fjellbjørkeskog med islett av furu langs traséene. Området er tilsådd med alpegras, men beites ikke ned av sau som forventet. Det må derfor slås gras på høsten. Beiterett har Erling Svalastog, sauebonde og formann i Bondelaget.</p> <p>Anlegget er interessant fordi det har en forhistorie med bruk av Snomax, men kontrollfelt i bakken mangler. Nærliggende anlegg, f.eks. Rauland Alpinsenter, kan muligens erstatte dette.</p>
Prøver:	Prøver ble tatt fra øverst til nederst i hovedtraséen som boreprøver ned til ca. 25 cm i snødekket.

RAU 1.1 Snøprøve, midt i traséen.	200 m nedenfor øvre punkt i traséen.
RAU 1.2 Snøprøve, "	400 m "
RAU 1.3 Snøprøve, "	600 m "
RAU 1.4 Snøprøve, "	800 m "
RAU 1.5 Snøprøve, "	1000 m "

SVARSTAD ALPINSENTER AS.	
Adresse:	3275 Svarstad
Leder/eier:	Anders Asser, Daglig leder og styreformann.
Telefon:	035-73490
Besøkt, Dato:	Ikke besøkt.
Rapport:	<p>Anlegget er ikke besøkt på grunn av opplysninger i pressen om konkurs og stengning grunnet snømangel. Opplysninger fra Jan Vidar Sandengen, Rauland: Anlegget ligger syd for Hvitvingfoss i retning Larvik, og strekker seg fra ca. 240 til 500 m.o.h.</p> <p>Snomax ble benyttet fra sesongen 1990/91 inntil stopp i mars 1991/92. Anlegget arbeider med selvtrykk i snøanlegget fra et magasin på toppen, hvor vannet pumpes opp. Humusrikt vann. Returvann spyles direkte til resipient.</p>
Prøver:	Ingen prøver tatt.

TRYSILFJELLET A/S	
Adresse:	2420 TRYSIL
Leder:	Bo Halvardsson, V.D.
Telefon:	064-50911 (arbeid)
Besøkt, dato:	26. Desember 1991 kl. 15.30-18.00.
Rapport:	<p>Stort anlegg med 20 heiser og 50 nedfarter. Har investert, senest i 1989, i et høyt utviklet anlegg for snølegging, som tar vann fra Trysil elva via et pumpehus som fordeler vann til nedre del av anlegget (pister nr. 15, 18, 19, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 35 og 36) opp til ca. 650 m.o.h. I pumpehuset fantes Snomax doseringsanlegg, med proporsjonal dosering, alternativ innstilling på 3000 - 6000 - 9000 - 12000 ppm og fryseboks, samt en pall med 2 spann á ca. 15 kg HEDCO. Trolig er 14 spann blitt benyttet.</p> <p>I følge personalet er Snomax ikke blitt brukt siden 1990, da forbruket var knapt 1 kasse (10 pakker á 300 g). Blanding laget i 1991 ble ikke sendt på nettet, da "den ble mislykket". Kompressorer, som benyttes i heisanlegget (F), trenger kjølevann som ble tatt fra samme vannforsyning som snøanlegget og gikk i 1990 direkte i bekken nedenfor.</p> <p>Personalet påsto at dosering og innblanding foregikk manuelt etter tabeller som tok hensyn til luftfuktighet og temperatur. Resultatet svarte ikke til forventningene, og en har derfor, prisen tatt i betraktning, sluttet med Snomax. En observasjon fra Sverige (Bo Halvarsson) var at en innsjø som mottok vann fra skianlegg, frøs til ved bekketilløpet, raskere enn andre steder i sjøen. Det blir for tiden ikke benyttet samme produkt (enballasje) i Sverige og Norge.</p> <p>Ved befaring av pumpehuset ble det konstatert at et annet produkt, HEDCO SUPERSNOW, er blitt brukt i stedet for Snomax. I følge merkelappen på blå ca. 20 l. plastkanner á ca. 15 kg netto vekt, er produktet et alternativ til Snomax:</p> <p>"1pail to 1.000.000 gallons of water, is equivalent to 10 pk. of <i>Pseudomonas syringae</i>". "Dilute directly 1 pail to 250 gallons". "Will not ferment or degrade" - "Do not freeze".</p> <p>Produsent:</p> <p>HEDCO SUPERSNOW: A division of The Dewey Electronics Corp., 27 Muller Road; Oakland, New Jersey 07436. Phone 201-337-4700, Fax. 201-337-3976.</p> <p>Ingen norsk importør var angitt.</p>

Prøver:	Ingen åpnet emballasje, ingen produktprøve tatt direkte. Trolig sist benyttet i blandeanlegget i løpet av desember, fra hvilket det ble tatt en prøve fra pumpe­slangen hvor det sto en utblandet, anaerob prøve (protein nedbrytning, lukt var tydelig). Vann- og snøprøver:
----------------	--

TRY 1.0 Vann	Bekk nedstrøms nedre heis, adm.bygn. åpen
TRY 1.1 Snø	Øverst i rute 22 til H
TRY 1.2 Snø	200 m ned 22 til V
TRY 1.3 Snø	500 m ned 22 til V
TRY 1.4 Snø	700 m ned 15 til V
TRY 1.5 Snø	Nederst i 15 til V

VALDRES ALPINSENER	
Adresse:	Aurdal
Leder/eier:	Egil Dieserud, Daglig leder. Osmund Ryvik, Teknisk sjef (Tidligere ved Tryvanns-anlegget). Dansk Folkeferie (Danebu), Eier.
Telefon:	063-65502 (arbeid), Dieserud. 063-65110 (privat), Dieserud.
Besøkt, Dato:	April 1992.
Rapport:	<p>Installert snøanlegg i 1991 med tre lavtrykks kanoner. Dette utvides nå. Det er tidligere drevet tre år med et lite anlegg. Vannkilde: Lomtjern, et skogstjern ovenfor anlegget, naturlig trykk fra reservoar over anlegget. Snølagt 10. november 1991. Åpent inntil siste uke i mars 1992. Ikke installert Snomax, men har vurdert dette.</p> <p>Anlegget er omgitt av produktiv skog. Traséene er tilsådd med frøblanding anbefalt av Felleskjøpet og benyttes som sauebeite for en gård i Aurdal. Tillatelser er gitt fra Statens Skoger til vannuttak, vurdering avgitt fra Fylkets Miljøvernetat. Pumpehuset har lett adkomst og plass for mulig installasjon av injeksjonsutstyr til forsøk med kontrollert snølegging med og uten Snomax.</p> <p>Anlegget egner seg ikke for videre studier som kontrollfelt, men kan bli aktuelt dersom det kan gjennomføres kontrollerte forsøk med snølegging og effekter på vegetasjonen. Det finnes to adskilte traséer med ensartet topografi.</p>
Prøver:	Snø- og vannprøver ble tatt med tanke på oppfølging som referanse-anlegg.

VAL 1.1 Vannprøve	Inntaksprøve fra Lomtjern.
VAL 1.1 Ekstra vannprøve	Inntaksprøve, med oljeaktig overflatehinne.
VAL 1.2 Snøprøve	Prøve tatt midt i snølagt trasé (nr. 1).
VAL 1.3 Snøprøve	Prøve tatt i ikke snølagt trasé (nr. 2-5).
VAL 1.4 Vannprøve	Avrenning, bekk 100 m nedenfor heishuset.

VARINGSKOLLEN SKISENTER	
Adresse:	Hakadal
Eier:	Uklare forhold på grunn av refinansiering.
Telefon:	
Besøkt, Dato:	16. April 1992.
Rapport:	Anlegget var stengt og hadde vært ute av drift siden 9. mars 1992 grunnet snømangel. Det ble likevel observert jevnt is- og snødekke i hele traséen, mens omkringliggende terreng var helt bart. Det er installert høytrykks snøanlegg i hovedtraséen og etter tidligere opplysninger fra forhandleren benyttes Snomax. Anlegget egner seg neppe til videre studier.
Prøver:	Det ble ikke tatt prøver fra anlegget, da det var vanskelig tilgjengelig.

	VASSFJELLET SKIHEISER A/S
Adresse:	Postboks 43 7061 Tanem
Leder/eier:	Ingar Hynne (kjøpte anlegget etter konkurs i 1990).
Telefon:	07-831200
Besøkt, dato:	1. Januar 1992, kl. 11.30-15.30.

<p>Rapport:</p>	<p>Botanisk-økologisk undersøkelse er foretatt (Aarrestad, P. A. 1993). Anlegget fører loggbok over snølegging og bruk av Snomax, som ble installert 1.2.91. Snomax ble benyttet i februar 1991 og fra 16.12.91 i 4-5 dager. Dosering er oppgitt til 1 g/l (1000 ppm). Dette antas tvilsomt lavt. Det skal muligens være 10 g/l, 10 000 ppm. Eksakte data forelå ikke tilgjengelig for kontroll, men man utblander 300 g/100 l, som rekker for ca. 12 timers drift i høytrykksanlegget, og som dekker den lyslagte vestre traséen i ca. 1.6 km lengde til toppen av nedre heis. Vann tas direkte fra bekk nær anlegget via en inntaksdam. Dette er relativt kaldt, 2-3°C. Vannmengden på stedet ble oppgitt som begrensende for omfanget av snølegging.</p> <p>Snomax-anlegget ble <u>bortleid</u> til snølegging av Granåsen hoppbakke i Bymarka i Trondheim 19 november 1991. Forbruket var ca. 400 g Snomax i følge Hynne.</p> <p>Skiområdet leies av private skogeiere. Hele området benyttes til sauedrift. Sauceieren klaget til Landbruksnemda i 1991 over at "beitet ikke er blitt så bra som lovet ved starten". Før nåværende eiers tid er anlegget tilsådd med "alpegress" trolig fra firmaet Alpsport, Sverige, som nå antas nedlagt. Sauene liker ikke dette graset. Siste år er de nedre, planerte deler tilsådd med Vegvesenets blanding, med god gjenvekst. Andre grassorter markedsføres også i Norge i følge presentasjoner på Norske Skiheisers Forenings messe på Bolkesjø i mai 1991.</p> <p>Eieren har, dels i samarbeid med Institutt for Vassbygging, NTH, sett nærmere på forutsetningene for bruk av Snomax og økonomien i dette. Med Snomax kan vannvolumet dobles uten at det dannes sørpe ved marginale temperaturer for snølegging. Vannet er fattig på partikler (krever mere Snomax) og har relativt høyt humus innhold, som også virker ugunstig (jfr. rapport fra NTH v/Atle Harby- over endel norske skianlegg).</p> <p>NTH har utviklet en snøhydrologisk prognosemodell, HBV-modellen, som vil bli testet mot reelle klima- og snø observasjoner i nedslagsfeltet for Jonsvannet, Trondheims drikkevannskilde og i Vassfjell-anlegget, hvor en termohydrograf nå installeres for dette. Diplomoppgaver er også planlagt knyttet til videre studier (jfr. brev fra NTH).</p> <p>Snomax fra anlegget sies å ha blitt undersøkt ved elektronmikroskopi av 1. amanuensis Tor Beisvåg og professor Tor-Henning Iversen ved Universitetet i Trondheim. Rapport foreligger ikke.</p> <p>Eieren har beregnet at 50% økning i snømengden, som kan oppnås med Snomax under ellers like forhold, tilsvarer en besparelse av strøm til kompressorer ved ordinær drift uten Snomax på 33 %. Forbruket pr. sesong er ca. 2 kartonger á kr. 18.000 (pris pr. kg er kr. 6.000 inkl. m.v.a., skianlegg gis ikke fradrag for m.v.a.). Leasing av anlegget koster ca. kr. 25.000 pr. år, mot kjøp vel kr. 100.000. I alt koster bruken av Snomax 60.000-70.000 kr./år. Det benyttes tilfeldig elektrisk kraft til 48 øre/kWh, men strømregningen løper opp i vel kr. 350.000 pr. år. Innsparing oppveier utgiftene, foruten at sesongen forlenges i for- og etterkant og inntektene økes derved vesentlig. En god weekend kan utgjøre ca. 30.000 kr. i kortinntekter.</p>
<p>Prøver:</p>	<p>Produktprøve, snøprøver og vannprøver er tatt.</p>

VAS 1.0 Produktprøve fra rester på tank.	Blandet 22.eller 23.12, råttent lukt (48 t. frist).
VAS 1.1 Snøprøve, høyt belastet H. kant.	300 m opp i lystrasé, tett på kanon, 30 cm.
VAS 1.2 Snøprøve, midt i traséen.	" " , ca. 50 m fra kanon, 50.
VAS 1.3 Snøprøve, ikke snøbelagt kantfelt.	" " , 100 m fra kanon, 30 ".
VAS 1.4 Snøprøve, haug i barnebakken.	Nylagt med Snomax ca. 22.12.
VAS 1.5 Snøprøve, trasé ikke belagt.	Kontrolltrasé, ikke snøkanoner, 20 cm dyp.
VAS 1.6 Vannprøve, grøft ut fra belagt trasé.	Grøften dreneres tvers over profil 1.1 - 3.
VAS 1.7 Vannprøve, bekk ut fra kontroll.	Drenerer traséen som ikke snølegges.
VAS 1.8 Vannprøve, bekk nedstrøms parkering.	Drenerer begge bekker og anleggsbygg.

4. Materialer og metoder

4.1 Prøvetaking og bearbeiding

Snø- og vannprøvene ble opparbeidet dels i felten, dels i NIVAs laboratorium. Det ble tatt prøver for tradisjonelle mikrobiologiske undersøkelser som utsåing på agarplater og anrikning av bakterier i flytende medier, prøver for mulig elektroforese og immunfluorescenstestinger samt kjemiske analyser.

4.1.1 Prøvetaking

Vannprøver (2 liter) ble tatt direkte på

- (a) sterile 1 liters Sovirel-flasker.
- (b) 1 liters plastflasker.

Prøvene ble oppbevart kaldt.

Prøve (a) ble analysert innen tre døgn, mens prøve (b) ble frosset for mulig kjemisk analyse.

Snøprøver ble tatt med aluminiumsspade eller isbor ned til 30-40 cm dyp i snødekket og overført til nye polyetylenplastsekker (yngelsekker), merket og forseglet til analyse. Snøprøvene ble smeltet i lunkent vann og fordelt til 1 liters sterile Sovirel-flasker for mikrobiologiske analyser og 1 liters renvanns-plastflasker for eventuelle kjemiske analyser. Snøprøvene ble videre behandlet som vannprøvene.

4.1.2 Bearbeiding

Fra sterile flasker ble det tatt ut følgende prøver til videre analyse:

A.	100 ml til Sovirel-flaske, konserverert med formaldehyd til 2%, for telling av bakterier. <ul style="list-style-type: none">• Epifluorescens totalantall ved filtrering av 2-10 ml prøve på 0.2 µm filter og farging med DAPI.• Immunspezifiske <i>Ps. syringae</i> etter filtrering av 2-10 ml, reaksjon med polyklonalt kanin-antistoff mot Snomax-bakterien og konjugering med anti-kanin-FITC.
B.	50 ml overført til 100 ml Sovirel-flaske, tilsatt 50 ml citrat-mineral-medium for maksimal anrikning av fluorescerende pseudomonader.
C.	10 ml til fortynningsrekke i citrat-mineral-medium for bestemmelse av maksimaltall levende <i>Pseudomonas</i> -bakterier.

D.	<p>1 ml til fortynning og spredning på 2 + 2 parallelle Fp-agar plater for bestemmelse av:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1). Kolonitall på <i>Pseudomonas</i>-agar. 2). Antall fluorescerende kolonier <i>Ps. fluorescens/syringae</i>. 3). Isolering av renkulturer, for artsbestemmelse etter klassiske, fysiologiske tester. <p>I tillegg til følgende utvidelser i forhold til opprinnelig analyseprogram:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Teste antistoff-positive isolater i forhold til totaltall fluorescerende. • Elektroforetisk identifikasjon av Snomax-stammen i forhold til villtyper ved hjelp av proteinmønstre og om mulig gjenkjenning av Is⁺-proteinet. <p>Fp-agar: Pseudomonas F agar, GIBCO BRL, Cat.nr. 152-03992M. Siste Batch: 10E7310B.</p>
E.	1000 ml frosset for mulig analyse av totalmengde Snomax-protein. Analysen er ikke utført.

Jord- og strøprøver fra tokt i juni-juli 1992 ble lagret på kjølelager. Disse har ikke blitt videre opparbeidet, da en eventuell videreføring av prosjektet med analyse av disse har i samråd med oppdragsgiver blitt utelatt. De tradisjonelle mikrobiologiske metodene viste seg uegnet for snø- og vannprøvene på grunn av store mengder naturlig forekommende pseudomonader. Nye og mer krevende moderne teknikker ville derfor være det mest fornuftige å utføre på jord- og strø prøvene. Dette synes for tid- og kostnadskrevenende, og en videreføring av prosjektet med analyse av jord- og strø prøvene har derfor blitt skrinlagt.

4.2 Immunfluorescens mikroskopi

Det ble benyttet en immunfluorescens mikroskopi metode der man både kan telle totalt antall bakterier og bakterier som reagerer mot et spesifikt antistoff (modifisert metode beskrevet av Hoff (1988)). Snø- og vann prøvene ble filtrert på et filter, som senere ble tilsatt kanin antistoff spesifikt rettet mot *Pseudomonas syringae*. Et fluorescein-konjugat fargestoff ble så festet til antistoffet, for å synliggjøre funn. I tillegg ble filterne farget med DAPI-løsning. Denne bindes til DNA, og kan benyttes til telling av totalt antall bakterier. Ved å skifte mellom to ulike optiske filtere på mikroskopet kan man gjøre både total og spesifikk telling av bakterier i en prøve. Falske positive funn, og artifakter som oppstår ved antistoff farging ble lett avkrefet når individuelle fluorescerende partikler ble sjekket for DAPI fluorescens.

Polykarbonatfiltere (Uni-pore polycarbonate membranes, Biorad Laboratories) ble benyttet til filtrering av snø- og vannprøver. Filterne ble farget i Irgalan Black i ca. 5 timer ved resting, og uten lystilgang. Deretter ble de skylt i destillert vann og lagret i destillert vann tilsatt 1 % formalin.

Da polykarbonatfilterne er meget skjøre ble støttefilter (Glass mikrofibre filter GF/F 2.5 cm, Whatman) benyttet under polykarbonatfilterne. 10 ml prøve ble filtrert. Ved større mengder partikler kunne prøvene fortynnes med sterilfiltrert fosfatbufret saltvann (PBS), pH 7.2, til et totalvolum på 10 ml, for å få jevn fordeling av bakterier på filteret. Prøvene ble filtrert gjennom filterne ved hjelp av sug, men med trykk under 0.2 atm. (5 mmHg), for å unngå at filterne ble ødelagt. Filterne ble vasket med 3 ml sterilfiltrert PBS tre ganger.

Kaninantistoff spesifikk for *Pseudomonas syringae* (fremskaffet på dyreavdelingen, Haukeland sykehus, Bergen, ved gjentatt immunisering av kanin med *Pseudomonas syringae*) ble tilsatt hvert filter i fortynning 1 : 200 med sterilfiltrert PBS. Filterne ble helt dekket av antistoff (ca. 0.7 ml/filter). Dette fikk reagere i minimum 20 minutter før antistoffrestene ble filtrert gjennom filterne ved hjelp av sug, og

filterne vasket med 3 ml sterilfiltrert PBS tre ganger.

Fluorescein-konjugat (Fluorescein-conjugated swine immunoglobulins to rabbit immunoglobulins, F205, Dakopats A/S, Danmark) ble deretter tilsatt i fortyning 1 : 40 med sterilfiltrert PBS, slik at det dekket filterne (ca. 0.7 ml/filter). Dette fikk reagere i minimum 20 minutter før Fluorescein-konjugat restene ble filtrert gjennom filterne ved hjelp av sug, og filterne vasket med 3 ml sterilfiltrert PBS tre ganger.

DAPI-løsning (10 mg 4',6-diamino-2-phenylindole løst i 1 ml, og fortynnet videre til 1 : 1000, og til bruksløsning 1 : 10 000 eller 1 : 100 000) ble tilsatt slik at filterne ble dekket. Dette fikk reagere i minimum ett minutt før overskuddet ble filtrert gjennom og filterne på nytt ble vasket med 3 ml sterilfiltrert PBS tre ganger.

Filterne ble deretter overført til objektglass, med filterets toppside stadig vendende opp, tilsatt en dråpe sterilfiltrert paraffin, før dekkglass ble lagt på. Filterne ble mikroskopert umiddelbart eller frosset for lagring.

For å unngå unødige partikler på filterne ved telling ble samtlige reagenser sterilfiltrert gjennom 0.2 µm Nucleopore filter.

Filterne ble mikroskopert i Leitz mikroskop. 100x forstørrelse ble benyttet til telling av antistoffpositive og DAPI fargede bakterier. Begge tallene telles i samme synsfelt, men med to forskjellige fargefiltre. Antall bakterier /ml beregnes etter følgende formel:

$$\text{Antall bakterier/ml} = \frac{X * F}{V * S} = \frac{X_{\text{snitt}} * F}{V}$$

X= Totalt antall bakterier i samtlige 10 synsfelt.

Xsnitt = Gjennomsnittlig antall bakterier i 10 synsfelt.

F = Faktor (17 333 for 100x i 25 ruter).

S = Antall synsfelt.

V = Volum i ml.

4.3 Elektroforese

4.3.1 Bakgrunn

Ved "Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis" (SDS-PAGE) separeres proteinene ved at proteinene vandrer avhengig av molekylstørrelse. I en tynn gel av polyacrylamid fylles prøvene i hver sine små brønner. Et elektrisk felt blir påsatt, og de ladede molekyler penetrerer og beveger seg gjennom gelen. En gel er et komplekst nettverk av molekyler, og vandrende makromolekyler må trenge gjennom trange, krokete hullrom. Dette resulterer i at små molekyler passerer lettere gjennom og vandrer lengst. SDS bindes til polypeptidkjeder på en måte som medfører et bestemt ladning til masse forhold. I tillegg brytes alle ikke-kovalente bindinger, slik at molekylene oppnår en "random coil" konformasjon. Mange proteiner består av flere identiske polypeptidkjeder, kalt "subunits", bundet sammen med ikke-kovalente bindinger. Da SDS bryter ikke-kovalente bindinger skilles disse protein-aggregatene. Metoden kan benyttes til mestemmelse av proteiners molekylvekt utifra molekylvekten til hver "subunit". En standard med kjente molekylvekter påsettes gelen for sammenligning.

4.3.2 Prøvebehandling

Samtlige bakterieisolater fra vann- og snø prøver er vokst opp i riste-kulturer. Kolonier fra de enkelte renkulturene er vokst opp i 50 ml succinat-medium tilsatt FeSO_4 og CaCl_2 . Kulturene ble satt til risting i klimarom ved 20°C , tildekket for å unngå sterkt lys. Etter 7-9 dager ble bakterieisolatene høstet ved 10 000 rpm i 15 minutter (Sorvall SS-34 rotor, RC5C, sentrifuge, Du Pont). Supernatanten ble fjernet og pelleten homogenisert i fosfatbufret saltvann (PBS) eller i overflødig medium som vanskelig lot seg fjerne. Den homogeniserte pelleten ble delt i to fraksjoner.

200 μl homogenisert pellet ble tilsatt 0.5 ml elektroforese prøvebuffer i Eppendorf-rør. Suspensjonen ble blandet godt før koking i 95°C i 4 minutter. Rørene ble avkjølt og sentrifugert ved 13 000 rpm i 5 minutter (Microcentrifuge 157. MP, Ole Dich, Instrumentmakers APS). Dersom supernatanten vanskelig lot seg fraskille på grunn av slimete pellet, ble sentrifugering gjentatt en gang ved 15 000 rpm i 10 minutter. Supernatanten ble frosset, klar til elektroforese.

Den resterende homogeniserte pellet ble frosset umiddelbart etter homogenisering for å unngå videre vekst av bakterier, og ble senere benyttet til proteinmåling.

Før gelelektroforesen ble totalprotein målt i tinte prøver. Dette ble gjort for for å få tilnærmet like mengder protein applisert på gelene, slik at bånd på samme gel får tilnærmet samme intensitet. Dette var viktig for å få frem svake bånd fra enkelte bakterieisolater, og dempe sterke bånd som ellers ville kunne forstyrre øvrige bånd. Bestemmelse av totalprotein ble utført etter Bradfordmetoden, med bovint serumalbumin (BSA) som standardkurve i området 5 - 50 gram protein. Absorbansen ble målt ved 595 nm. Prøvene ble fortynnet til de inneholdt 50 μg protein. Dette ga klare bånd ved elektroforesekjøringen. Til eventuell fortynning ble prøvebuffer benyttet. Ved applisering av svakere eller sterkere konsentrasjoner av protein må Molekylvekt-standard og Snomax-standard tilpasses tilsvarende.

Vi benyttet en molekylvekt standard for SDS-PAGE i området 200 kD- 45 kD (Biorad), samt SNOMAX standard.

Gelene ble farget i "Coomassie blue" eller "Silver stain plus" fra Biorad.

5. Resultater

5.1 Tradisjonelle mikrobiologiske metoder

Snø- og vannprøvene inneholdt et stort antall naturlig forekommende pseudomonader. Ved utsåing av prøvene på Fp-agar var det ikke mulig å identifisere *Pseudomonas syringae* (isolat 31) med sikkerhet. Analyse med mer moderne teknikker ble derfor utført. Isolatene var tydelig fluorescerende og enkelte av isolatene (30-40%) hadde evnen til å katalysere dannelsen av iskrystaller i underkjølt vann. Dette viste seg ved dannelse av tydelige "iskrystaller" i agaren. Dette betyr at isolatene kan inneholde Is+ gener for *Pseudomonas syringae*- proteinet eller en beslektet type. Det er kjent at det finnes slike bakterier i fem ulike slekter, og som uttrykker Is+ genet mer eller mindre effektivt. Da Is+ genet kan finnes hos naturlig forekommende pseudomonader, kan det ikke av dette slutes at genet er overført fra Snomax.

Når det gjelder spredning og effekter av Snomax viser resultatene at bestrålingen av Snomax-produktet er mer enn 99.99% effektiv. Det har ikke blitt påvist oppvekst av bakterien ved direkte fortykning og spredning på vekstmedium.

Snøprøvene fra kunstsno inneholdt meget høye kintall (10^3 - 10^6 kim/l smeltet snø) i forhold til forventet. Tallene varierer med årstidene, da det spesielt under snøsmelting skjer en kraftig oppblomstring. Videre varierer tallene i vinterperioden trolig med vannkilden som er benyttet, og gjenspeiler det samfunn av bakterier denne vannkilden inneholder. Fluorescerende pseudomonader er en viktig gruppe og utgjør 1-10% av totalt kintall.

5.2 Elektroforese

For påvisning av proteinmønster ble 97 bakterieisolater undersøkt ved hjelp av elektroforese. Ved visuell bedømming av elektroforesegelene fremsto proteinmønsterne for de 97 isolatene som ulike, selv om de hadde mange likhetstrekk. Det var imidlertid umulig å kunne fastslå objektivt om noen av de 97 allikevel var like. Digitalisering av gelene og senere forsøk med statistisk behandling av de digitaliserte dataene, kunne heller ikke avgjøre om noen, og eventuelt hvilke av de 97 isolatene som var like. Resultatene fra elektroforesen bekrefter derfor bare resultatene fra de tradisjonelle mikrobiologiske metoder, som utsåing og telling på agar, at snø- og vannprøvene inneholdt et stort antall pseudomonader.

Ingen av de 97 isolatene var lik eller liknet proteinmønsteret til Snomax-bakterien. Det er dermed ikke påvist levende Snomax i snø- eller vannprøvene.

For om mulig å kunne påvise om noen av isolatene hadde Is+ genet ble det lett etter et proteinbånd i området rundt 200 kD. På grunn av dårlig proteinseparasjon i dette området kunne ikke det aktuelle proteinbåndet klart og med sikkerhet påvises. Mange av isolatene hadde sterke bånd i dette området. Dette var forventede funn og bekrefter de "iskrystallene" isolatene forårsaket på agar. Man kan ikke utifra disse funn slutte at Is+ gen har blitt overført fra Snomax, da enkelte naturlig forekommende pseudomonader også har Is+ gen.

5.3 Immunfluorescens mikroskopi

I snø produsert med Snomax ble det funnet et høyt totalantall bakterier (døde og levende). En vesentlig andel av disse (10-70%) viste seg å utgjøre celler som reagerte positivt på antiserum mot Snomax bakterien.

Resultater fra immunfluorescens mikroskopi:

Prøve	Volum ml	Antistoff positive Gj. snitt	DAPI fargede Gj.snitt	% Antistoff positive	Ant.bakt/ml
TRY 1.1	10 ml	0	14.5		25133
TRY 1.2	10 ml	0	4.2		7280
TRY 1.3	10 ml	0	8.6		14906
TRY 1.4	10 ml	0	7.7		13289
TRY 1.5	10 ml	0	14.7		25480
HOV 1.1	5 ml	0	51		176797
HOV 1.2	5 ml	0	46.9		162584
HOV 1.3	5 ml	0	22.4		77652
GAU 1.1	10 ml	0	1.3		2311
GAU 1.2	10 ml	0	1.5		2600
GAU 1.3	10 ml	0	7.6		13096
GAU 1.4	10 ml	0	0.7		1213
GAU 1.5	10 ml	0	5.3		9186
ING 1.1	2 ml	9	42	21.3	363560
KIR 1.1	2 ml	0.8	14.7	5.4	127398
KIR 1.2	2 ml	4.8	103.3	4.6	895538
KIR 1.3	2 ml	0.5	98.7	0.5	855384
KOL 1.1	2 ml	0	26.8		232551
KOL 1.2	2 ml	0	13.7		118442
KOL 1.3	2 ml	0	13.2		114109
KOL 1.4	2 ml	0	6.3		108950
KOL 1.5	2 ml	0.1	28.2	0.4	48879
RAU 1.1	2 ml	0	18		155997
RAU 1.2	2 ml	0	10.4		90132
RAU 1.3	2 ml	0	23		199330
RAU 1.4	2 ml	0	20		173330
RAU 1.5	2 ml	0	11.9		103131
FUN 1.1	2 ml	0	11.8		102265
FUN 1.2	2 ml	0	7.7		66732
FUN 1.3	2 ml	0	25.5		220996

FUN 1.4	2 ml	0	29.8		258262
FUN 1.5	2 ml	0	27		2339956
FUN 1.6	2 ml	0	19.4		168130
NOR 1.1	2 ml	0	14		121331
NOR 1.2	2 ml	17.2	511.6	3.4	4433781
NOR 1.3	2 ml	1.4	50.2	2.8	435058
NOR 1.4	2 ml	0	3.6		31199
NOR 1.5	2 ml	0	22.8		197596
Nevlingen	2 ml	0	25.5		220996
OPP/HOV	2 ml	0	80.8		700253
VAL 1.1d	2 ml	0	28.8		249595
VAL 1.1M	2 ml	0	21.6		187196
VAL 1.2	2 ml	0	8.6		74532
VAL 1.3	2 ml	0	4.7		40733
VAL 1.4	2 ml	0	10.4		90132
HAF 1.1	10 ml	0.4	14.7	2.7	25480
HAF 1.2	10 ml	1.7	8.2	20.7	14213
HAF 1.3	10 ml	2.3	26.5	8.7	45932
HAF 1.4	10 ml	12	85	14	147359
HAF 1.5	10 ml	9	43.2	20.9	74795
HAF 2.1	10 ml	0	37.6		65172
VAS 1.1	5 ml	36	99.7	36.1	345533
VAS 1.2	5 ml	1.8	8	22.5	27733
VAS 1.3	5 ml	0.9	18.3	4.9	63265
VAS 1.4	5 ml	0.6	16.8	3.6	58239
VAS 1.5	5 ml	0	11.5	0	39866
VAS 1.6	5 ml	0.6	57.2	1	198290
VAS 1.7	5 ml	0	40.9	0	141784
VAS 1.8	5 ml	0	52	0	180263
HAN 1.1	5 ml	15.6	19.8	78.9	68522
HAN 1.2	5 ml	7.3	15.4	47.4	53386
HAN 1.3	5 ml	8.9	11.2	79.2	38941
HAN 1.4	5 ml	7.4	23.5	31.6	81465
HAN 1.5	5 ml	2.1	13.6	15.4	47146
Kontroll sjekket:		Ingen er antistoff positive			
	VAS 1.5				
	VAS 1.7				
	FUN 1.1				
	KOL 1.1				
	NOR 1.1				
	NOR 1.4				

5.4 Kjemiske analyser

For å få et mål på nivå av næringssalter i snø- og vannprøvene ble noen utvalgte prøver analysert for total mengde fosfor og nitrogen. Fosfor, nitrogen og pH nivå kan begrense eller forsterke bakterievekst.

For de kjemiske analysene av fosfor , nitrogen og pH ble det ble valgt prøver fra

- anlegg som benytter Snomax (FUN og VAS),
- anlegg som tidligere har benyttet Snomax (TRY) og et
- anlegg som ikke har benyttet Snomax (VAL).

Analysene er utført på ukonserverte prøver. Prøvenummer 1.0 til 1.8 utgjør forskjellige prøvepunkter (snø/vann-prøver tatt forskjellige steder i skianleggene). Se oversikt i tabell 5.4.1.

De kjemiske analysene er utført etter følgende metoder:

Total mengde fosfor,	Tot-P: Norsk Standard metode NS4725
Total mengde nitrogen,	Tot-N: Norsk Standard metode NS4743
	pH: Norsk Standard metode NS4720

Da det ikke finnes målinger av næringssalter i anleggene før snomax ble tatt i bruk, kan verdiene nedenfor ikke si om nivået av næringssalter har blitt endret ved bruk av Snomax. Verdiene viser bare hva snøen vil bidra med av næringssalter til avrenningsvannet, og slik påvirke vannkvaliteten. Nivå av næringssaltene vil neppe utgjøre noen næringsbegrensning for bakterievekst.

Tabell 5.4.1 Beskrivelse av de utvalgte prøvepunkter for kjemisk analyse.

FUN 1.1 Snøprøve	Overgang bakke/flate til H.side nedenfra.
FUN 1.2 Snøprøve	Overgang bakke/flate til V.side nedenfra.
FUN 1.3 Vannprøve	Bekk inn mot snøfeltet fra SV.
FUN 1.4 Vannprøve	Bekk ut fra snøfeltet mot NØ.
FUN 1.5 Vannprøve	Hovedbekk utløp drenerør under adkomstvei.
FUN 1.6 Vannprøve	Hovedbekk etter sammenløp med bekk.
VAS 1.0 Produktprøve fra rester på tank.	Blandet 22.eller 23.12, råttent lukt (48 t. frist).
VAS 1.1 Snøprøve, høyt belastet H. kant.	300 m opp i lystrasé, tett på kanon, 30 cm.
VAS 1.2 Snøprøve, midt i traséen.	" " , ca. 50 m fra kanon, 50.
VAS 1.3 Snøprøve, ikke snøbelagt kantfelt.	" " , 100 m fra kanon, 30 ".
VAS 1.4 Snøprøve, haug i barnebakken.	Nylagt med Snomax ca. 22.12.
VAS 1.5 Snøprøve, trasé ikke belagt.	Kontrolltrasé, ikke snøkanoner, 20 cm dyp.
VAS 1.6 Vannprøve, grøft ut fra belagt trasé.	Grøften dreneres tvers over profil 1.1 - 3.
VAS 1.7 Vannprøve, bekk ut fra kontroll.	Drenerer traséen som ikke snølegges.
VAS 1.8 Vannprøve, bekk nedstrøms parkering.	Drenerer begge bekker og anleggsbygg.
TRY 1.0 Vann	Bekk nedstrøms nedre heis, adm.bygn. åpen
TRY 1.1 Snø	Øverst i rute 22 til H
TRY 1.2 Snø	200 m ned 22 til V
TRY 1.3 Snø	500 m ned 22 til V
TRY 1.4 Snø	700 m ned 15 til V
TRY 1.5 Snø	Nederst i 15 til V
VAL 1.1 Vannprøve	Inntaksprøve fra Lomtjern.
VAL 1.1 Ekstra vannprøve	Inntaksprøve, med oljeaktig overflatehinne.
VAL 1.2 Snøprøve	Prøve tatt midt i snølagt trasé (nr. 1).
VAL 1.3 Snøprøve	Prøve tatt i ikke snølagt trasé (nr. 2-5).
VAL 1.4 Vannprøve	Avrenning, bekk 100 m nedenfor heishuset.

Tabell 5.4.2 Fosfor, nitrogen og pH nivå for fire skianlegg.

L-H: Laveste og høyeste verdi.

Dato: Prøvetakingsdato.

PRØVE	Tot-P/l (µg/l)	Tot-N/l (µg/l)	pH
FUN 1.1	13	210	5.83
FUN 1.2	44	250	5.51
FUN 1.3	3	200	6.77
FUN 1.4	2	230	6.82
FUN 1.5	3	220	7.03
FUN 1.6	2	235	6.91
FUN 5/4-92 L-H	2-44	200-250	5.51 - 7.03
VAS 1.1	18	11	6.77
VAS 1.2	4	36	6.00
VAS 1.3	5	69	5.92
VAS 1.4	4	39	5.74
VAS 1.5	3	36	5.54
VAS 1.6	59	185	6.89
VAS 1.7	12	400	8.30
VAS 1.8	8	270	7.34
VAS 1/1-92 L-H	3-59	11-400	5.54 - 8.30
TRY 1.0	2	180	6.94
TRY 1.1	12	104	6.47
TRY 1.2	4	240	6.77
TRY 1.3	12	69	6.99
TRY 1.4	10	56	6.47
TRY 1.5	6	96	6.94
TRY 26/12-91 L-H	2-12	56-240	6.47 - 6.99
VAL 1.1 21/4-92	7	125	7.29
VAL 1.2	31	240	6.14
VAL 1.3	10	146	6.00
VAL 1.4	10	536	7.12
VAL 21/4-92 L-H	7-31	125-536	6.00 - 7.29

Kjemiske analyseresultater for FUN

Anlegget benytter Snomax.

De to snøprøvene fra FUN (1.1 og 1.2) inneholdt mer fosfor enn vannprøvene fra FUN (1.3 - 1.6). Det var derimot liten forskjell i nitrogennivå mellom snøprøvene og vannprøvene. Tilsvarende sammenheng mellom snø og vannprøver finnes derimot ikke for de tre øvrige anleggene VAS, TRY eller VAL.

Høyest innhold av både fosfor og nitrogen samt lavest pH hadde snøprøven 1.2, tatt fra overgangen mellom bakke/flate til venstre side nedenfra.

Lavest innhold av fosfor hadde vannprøven tatt fra bekk ut fra snøfeltet mot nordøst og vannprøven tatt fra hovedbekk etter sammenløp med bekk.

Lavest innhold av nitrogen hadde vannprøven fra bekk inn mot snøfeltet fra sørvest.

Høyest pH hadde vannprøven fra hovedbekk utløp drenerør under adkomstvei.

Kjemiske analyseresultater for VAS

Anlegget benytter Snomax.

Høyest innhold av fosfor hadde vannprøven fra grøften som drenerer fra den snølagte traséen. Lavest innhold av fosfor og lavest pH hadde snøprøven fra kontrolltraséen (ikke belagt med snø fra snøkanon).

Høyest innhold av nitrogen og høyest pH hadde vannprøven fra bekk fra traséen som ikke snølegges. Lavest innhold av nitrogen hadde snøprøven fra høyt belastet snøområde, tett på snøkanonen.

Kjemiske analyseresultater for TRY

Anlegget har tidligere benyttet Snomax.

Det var relativt små forskjeller i mengde fosfor ved de forskjellige målepunkter.

Høyest innhold av fosfor hadde snøprøven tatt øverst i rute 22 til høyre og snøprøve tatt 500 m ned i rute 22 til venstre. Lavest innhold av fosfor hadde vannprøven fra bekk nedstrøms nedre heis.

Høyest innhold av nitrogen hadde snøprøve tatt 200 m ned i rute 22 til venstre. Lavest innhold av nitrogen hadde snøprøve tatt 700 m ned i rute 15 til venstre.

Det var liten forskjell i pH mellom de ulike målepunktene. Lavest pH hadde snøprøve øverst i rute 22 til høyre (også høyest fosfor nivå) og snøprøve 700 m ned i rute 15 til venstre (også lavest nitrogen nivå). Høyest pH hadde snøprøve 500 m ned i rute 22 til venstre (også høyest fosfor nivå).

Kjemiske analyseresultater for VAL

Anlegget benytter ikke Snomax og er her benyttet som kontroll.

Lavest fosfor- lavest nitrogen- og høyest pH nivå hadde inntaksprøven fra Lomtjern.

Høyest fosfor nivå hadde snøprøven tatt midt i snølagt trasé nr.1.

Snøprøven fra ikke snølagt trasé (nr.2-5), hadde lavest pH og samme mengde fosfor som vannprøven fra avrenningsbekk 100 m nedenfor heishuset.

Vannprøven fra avrenningsbekken inneholdt mest nitrogen.

Samlet vurdering av de kjemiske analyseresultater

Fosfornivå var tilnærmet likt i prøver og kontroll med variasjon på henholdsvis 2-59 µg/l Tot-P for prøvene og 7-31 µg/l Tot-P for kontroll.

Nitrogennivå var derimot noe lavere i prøvene enn i kontrollen, med variasjon 11-400 µg/l Tot-N for prøvene og 125-536 µg/l Tot-N for kontroll. Forskjellen kan imidlertid regnes som ubetydelig.

pH varierte i område 5.51 - 8.30 for prøvene og 6.00 - 7.29 for kontrollen.

Med bakgrunn i disse analysene ser det ikke ut til at snølegging, hverken med eller uten bruk av Snomax, påvirker nivå av fosfor, nitrogen eller pH.

Det ser ut til at nivå av fosfor, nitrogen og pH er tilnærmet likt for de snølagte områdene øverst i traséene og for avrenningene på sidene/bunnen av traséene.

Det kan ikke påvises noen signifikant forskjell i nivå av næringssalter for prøvene tatt i desember/januar i forhold til prøvene tatt i april. Et forventet lavere nivå av næringsstoffer i vårprøvene på grunn av bakterieoppblomstring påvises ikke.

Da analysene er utført på relativt få målepunkter og få anlegg må det tas forbehold om generalisering av konklusjonen.

6. Internasjonal anvendelse og regulering av Snomax

6.1 Bakgrunn

I forbindelse med prosjektet "Kontroll av Snomax brukt i norske skianlegg" var det ønskelig å utrede internasjonal anvendelse og regulering av produktet Snomax. Det var ønskelig å finne ut om det var foretatt uavhengige undersøkelser i andre land tilsvarende det de norske myndighetene hadde satt i gang. I tillegg var det ønskelig å undersøke forskjellige lands kjennskap til produktet Snomax, samt myndighetenes holdninger og reguleringer for bruk av produktet. Opplysninger kunne tyde på at Snomax skulle være forbudt benyttet eller vurdert forbudt, i henholdsvis Østerrike og Frankrike. Det var ønskelig å få bekreftet eller avkreftet dette, og om mulig å få opplysninger om deres bakgrunn for et eventuelt forbud.

Følgende ble kontaktet: Den norske importøren, to svenske importører, produsenten Snomax Technologies i USA, samt aktuelle myndigheter i Sverige, Sveits, Frankrike, Østerrike og USA. Dette var henholdsvis "Statens Naturvårdverk" og "Kemikalieinspektionen" i Sverige, "Federal Office of Environment, Forest and Landscape" i Sveits, "Ministère de L'Agriculture et de la Forêt" i Frankrike, "Umweltbundesamt" i Østerrike og "Environmental Protection Agency" i USA. Adresser er gitt i bilag. Samtlige ble kontaktet skriftlig i januar 1993. Det ble i henvendelsen kort opplyst om bakgrunnen for forespørselen og videre spurt om reguleringer for bruk av Snomax, eventuelt generelle regler for tilsvarende produkter, eller for utsetting av genetisk modifiserte organismer. Et spørreskjema vedrørende Snomax var vedlagt som hjelp. Et eksempel på spørreskjema er gitt i bilag.

Produsenten i USA kjenner til importører i eget/andre land, men opplysninger om disse er konfidensielle av hensyn til eventuelle konkurrenter. Vi hadde derfor ingen mulighet for å komme i kontakt med andre lands myndigheter via importørene. Vi kontaktet derfor direkte de myndigheter vi allerede hadde opplysninger om.

Den tidligere norske importøren av Snomax, Bertel O. Steen A/S har overlatt salget til den svenske importøren Snowtech. Salget til Norge vil fra 1993 foregå via Snowtechs norskregistrerte firma. Vår forespørsel til Snowtech ble allikevel besvart av den tidligere norske importøren, sammen med produsenten.

6.2 Produktinformasjon

Fra produsentens informasjonsmateriale går det frem at Snomax er et aktivt protein (Snomax Snow Induser protein) som øker omdannelsen av vanndråper til snø. Kilden til dette proteinet er bakterien *Pseudomonas syringae*, en naturlig forekommende bakterie i naturen. De isdannende egenskapene til denne "ufarlige" bakterien ble oppdaget i 1975 av Steven Lindow, en plantepatolog ved Universitetet i Wisconsin, som studerte frostskafer på planter. Lindow fant at et protein på celleveggen til denne bakterien stimulerte isdannelse. I henhold til informasjonen fra "Environmental Protection Agency" i USA, som har vurdert Snomax, er *Pseudomonas syringae* en specie som inneholder mange plantepatogener. Produktet Snomax kan foreligge både med og uten levende bakterier. Det er uvisst om Snomax består av genetisk modifiserte bakterier.

Produksjon

Snomax Technologies dyrker *Pseudomonas syringae* under kontrollerte betingelser i steriliserte fermentorer. Prosessen fram til ferdig produkt involverer frysing av mikroorganismene, tilsvarende den prosessen som benyttes for frysetørring av mat, for å gi et protein som endeprodukt. De dannede pellets steriliseres deretter med samme type utstyr som benyttes for sterilisering av kirurgiske instrumenter. Bi-produktet av denne prosessen er Snomax, et veldig aktivt iskjeerne-protein.

Funksjon

Vann fryser når tilstrekkelig energi fjernes slik at molekylene bremses ned og intermolekylære nettverk kan dannes. Snomax og andre iskrystallisatorer virker ved at de binder vannmolekylene og bremser de ned. Snomax blandes ut i vannet i snøkanonene og spres ut ved forstøving. Hver vanndråpe som faller fra snøkanonen inneholder derfor en kjerne av Snomax krystallisator. Dette er viktig fordi nøkkelen til effektiv produksjon av kunstsno er å fryse så mange dråper som mulig før de når bakken. I tillegg starter Snomax fryseprosessen ved høyere temperatur. Vann tilsatt Snomax vil derfor fryse raskere, mer effektivt og under flere forhold. Snøkrystallene blir grovere med Snomax, hvilket anses som en fordel da smeltevann og regnvann lettere drenerer ned gjennom snøen. Snøen blir i tillegg våtere og tyngre slik at avdrift under sprøyting blir mindre. Det er derimot en ulempe at snøen blir så porøs at den ikke danner noen god såle på bakken.

6.3 Anvendelse og salg

Snomax anvendes av følgende tretten land: USA, Canada, Frankrike, Italia, Andorra, Sveits, Sverige, Japan, Sør-Korea, Australia, New Zealand og Argentina, foruten Norge. Antall tonn som selges pr. år på verdensbasis er konfidensielt, men ligger mellom 7 og 11 tonn. I Norge og Sverige selges det henholdsvis ca. 130 kg og 170 kg pr.år.

Når det gjelder konkurrerende produkter opplyses det at Snomax har verdenspatent på "Ice biologicals". Det finnes imidlertid et annet snøfremkallende produkt, SUPERSNOW. Dette består av silica gel, isopropylalkohol og vann. Dette produktet er solgt i liten grad, og kun til USA og Sverige. Det har kun to brukersteder i USA og to til tre i Sverige.

I USA har Snomax et direkte salgsapparat som selger til skianleggene. I andre land går salget via importører som selger til skianleggene. For å kunne bli importør ser man på kriterier som sterk tilknytning til skiindustrien og finansiell styrke. Snomax Technologies sørger for opplæringen. De enkelte forhandlerne konkurrerer for såvidt ikke med hverandre, men de enkelte skianleggene har mulighet til å kjøpe fra andre lands importører. Dette er imidlertid upraktisk.

På forespørsel om kjennskap til forbud mot bruk av Snomax i enkelte land angis det fra produsenten at Snomax har blitt godkjent i land hvor det er søkt om dette. Det kjennes ikke til forbud mot bruk i utvalgte områder, eller andre lands undersøkelser. Det kjennes ikke til restriksjoner for bruk av Snomax. Snomax Technologies har gjort omfattende undersøkelser og testing vedrørende produktet. Alle tester har ført til samme konklusjon: "Snomax er overhode ikke faretruende hverken for helse eller miljø". Produktet ble først testet i 1983, og har nå vært på markedet i 10 år. Snomax ble først brukt i USA, i 1983. "Det er ikke skjedd noen som helst endringer i vegetasjonen, inkludert jordsmonn, planter og vann".

Det eneste som er skjedd med produktet over tid er i følge produsenten at den snøfremkallende kvaliteten er blitt forbedret.

I tillegg til kunstsno-produksjon i skianlegg, sprøytes Snomax fra fly for å løse opp hagl, skyer og tåke. Det lages da snø eller regn. Videre benyttes Snomax for å bygge opp lagre av is for annen industri og virksomhet som er avhengig av kjøling. Energibesparelsen ved å bruke is kontra freon-basert kompressorsystem er ca. 90% og dessuten vesentlig mer miljøvennlig. Snomax kan også benyttes til vannrensing. I arktiske regioner kan Snomax benyttes på islagte øyer for å lage isplattformer og veier for oljeleting. Chemical Technology Europe skriver at Snomax-produisert is kan bli det nye miljøvennlige alternativ til fjerning av maling og avfetting av fly og bygningskonstruksjoner. Dette skyldes at renseddelet smelter eller fordamper og derved reduserer avfallsproblemet. Det arbeides med utvikling av nye anvendelses områder for bruk av Snomax og produkter basert på biologisk isdannelse. Tendensen for å anvende Snomax er i følge produsenten økende.

6.4 Undersøkelser

Av informasjonsmaterialet fra produsenten går det fram at en undersøkelse utført av canadiske myndigheter konkluderte med at dersom Snomax ble benyttet på alle landets 70 skianlegg med kunstsno, ville det totale utslippet av bakterier ikke tilsvare mer enn den mengden bakterier som kunne gjenvinnes fra 100 blader i et gartneri. Den arten av bakterien som benyttes i Snomax har blitt utprøvd og vist seg å være en sikker ikke-patogen organisme. Sentrale myndigheter som har kontrollert utviklingen av Snomax er "U.S. Environmental Protection Agency", "U.S. Department of Agriculture", "U.S. Forest Service" og "Environment Canada". Myndighetene i Canada, Norge, Japan, Sverige, Finland, Italia, Frankrike, Sveits og Australia, -kjent som miljøbevisste land, har også studert Snomax og godkjent det for kommersiell bruk. Mer enn 35 uavhengige vitenskapelige studier (mange krevd av myndighetene) over en seks års periode i USA og flere andre land har alle kommet til den samme konklusjon: "Snomax utgjør ingen helse,- eller miljøfare".

6.5 Reguleringer

6.5.1 Norge

Snomax reguleres i Norge gjennom produktkontrollloven (§ 3) og forurensningsloven (§ 7). Snomax ble i en undersøkelsesfase forbudt importert til Norge (02.04.87). Dette forbudet ble senere opphevet på følgende vilkår (21.04.89): "Det kreves at produktet som importeres til Norge er fullstendig inaktivert og ikke inneholder levende/levedyktige celler eller sporer. SFT skal motta årlig oppgave over importvolum og brukere, samt analysebevis som viser produktets levedyktighet fra internasjonalt godkjent GLP ("Good Laboratory Practice")-laboratorium eller annet norsk laboratorium som SFT godkjenner. Oppgaven skal sendes SFT innen 1. juni hvert år. SFT kan når som helst foreta stikkprøvekontroller av produktets levedyktighet på importørens bekostning. SFT godkjenner ikke produktet, og importøren er til enhver tid ansvarlig for eventuelle skader produktet forårsaker, jfr. Produktkontrolllovens § 3". Kravet om at produktet som importeres til Norge skal være fullstendig inaktivert og ikke inneholde levende/levedyktige celler eller sporer er senere nyansert til følgende krav: "Produktet skal ikke inneholde levende/levedyktige celler eller sporer av *Pseudomonas syringae* eller noen form for patogene mikroorganismer. Med patogene menes her organismer som er sykdomsfremkallende for planter, dyr eller mennesker. Produktet skal heller ikke inneholde levende/levedyktige mikroorganismer som i kraft av art og/eller antall kan gi uheldige økologiske effekter, eller som kan medføre helseskade for dem som håndterer produktet". Forøvrig gjelder betingelsene fra 21.04.89. Forbudet ble opphevet særlig på bakgrunn av vurderinger fra Statens Plantevern (Arild Sletten), Folkehelse (Jan Eng) og SFT's faggruppe for allergifremkallende stoffer og produkter.

6.5.2 Sveits

"Federal Office of Environment, Forests and Landscape" i Sveits oppgir at det kun finnes ett produkt kalt Snomax på det sveitsiske marked. Dette inneholder inaktiverede naturlige bakterier. De kjenner ikke til produkter basert på genetisk modifiserte *Pseudomonas* eller levende bakterier på det sveitsiske marked.

I Sveits er produkter som Snomax ikke underlagt spesielle miljøreguleringer. Produsenten eller importøren er imidlertid ansvarlig for vurdering av produktets miljøvirkninger og om nødvendig å ha tilstrekkelige kontrollrutiner (følger selv-kontroll prinsippet).

Selv om produkter som Snomax kan benyttes uten å være underlagt spesielle restriksjoner, benyttes de i praksis ikke i skianleggene for kunstsnøproduksjon. Dette hovedsakelig av hensyn til folkeopinionen. Skianleggene har allerede store "image" problemer med kunstsnø installasjoner generelt, og ønsker ikke flere problemer med miljøvernorganisasjoner ved å benytte "kjemikalier" i tillegg.

Sveits har foreløpig ingen spesielle regler vedrørende genetisk modifiserte organismer. Det pågår imidlertid et prosjekt for å endre miljøvernreglene, og som vil tilpasse EF- direktivene til å gjelde også i Sveits.

6.5.3 Sverige

Statens Naturvårdsverk meddeler at den svenske agenten for produktet Snomax er firmaet Snowtech. Det finnes surrogatprodukter som kan benyttes i stedet, og at dette benyttes i flere tilfeller. Bruken av Snomax har ikke vært spesielt utbredt. De har enda ikke fått de siste opplysninger om at anvendelsen har økt i Sverige. Kemikalieinspeksjonen meddeler at de ikke enda vet om Snomax inneholder døde bakterier, en blanding av levende og døde, eller om bakterien er genmanipulert. Når det gjelder restriksjoner, kan i dag døde bakterier regnes som et kjemisk produkt. Det faller da inn under loven om kjemiske produkter. Denne loven er underlagt Kemikalieinspeksjonen. Produktet er imidlertid ikke registrert i Produktregisteret. Den kommende bioteknologi-lovgivningen kommer antagelig også til å dekke dette området, men den er foreløpig under utarbeidelse. Miljøvernloven gjelder for miljøfarlig virksomhet, og skispor eller slalombakker kan omfattes av denne. For å importere *Pseudomonas syringae* kreves innførselstillatelse fra Jordbruksverket.

6.5.4 Frankrike

Myndighetene i Frankrike ("Ministère de L'Agriculture et de la Forêt") har dessverre ikke svart på vår forespørsel, til tross for gjentatt henvendelse. Utifra det vi kjenner til ble det diskutert om Snomax skulle forbys benyttet under de Olympiske Leker i Frankrike vinteren 1992. Så vidt vi kjenner til ble produktet ikke forbudt benyttet. Det har ikke vært mulig å få bekreftet dette fra Frankrike, eller få opplysninger om deres bakgrunn for et eventuelt forbud. Utifra opplysninger fra produsenten anvendes Snomax i Frankrike.

6.5.5 Østerrike

"Umweltbundesamt, Dept. of Ecology", kjenner ikke til at produktet Snomax hittil er blitt benyttet i Østerrike. Det finnes heller ingen reguleringer for bruk av Snomax i Østerrike. Reguleringer for utsetting av genmanipulerte organismer i naturen er under utarbeidelse. Det siste utkastet har nylig vært på høring fra "Federal Ministry of Health". Det er ventet at det Østerrikske parlamentet skal behandle denne saken i løpet av 1993.

6.5.6 USA

Produksjonen av Snomax foregår i USA, og amerikanske myndigheter som "Environmental Protection Agency" (EPA), "U.S. Department of Agriculture" og "U.S. Forest Service" har vært nært knyttet til uttesting og godkjenning av Snomax. Utfra produsentens og EPAs opplysninger er Snomax ikke forbudt benyttet i USA. I juni 1986 kunngjorde EPA sin politikk for regulering av levende mikroorganismer i tilknytning til "Toxic Substances Control Act" (TSCA) (51 FR 23302, Jun 26, 1986). I "1986 Policy Statement" ble det foreslått at patogener, eller nært relatert til patogener, levende og naturlig forekommende mikroorganismer som skulle utsettes i miljøet for et vesentlig nytt formål skulle underlegges meldeplikt og vurdering i henhold til "Significant New Use Rule" (SNUR). Aktuelle firma ble anmodet om å bidra med en frivillig registrering. EPA konkluderte med at Snomax ikke var registreringspliktig ihht. SNUR og "U.S. Department of Agriculture" konkluderte med at mikroorganismen ikke kom inn under "the Plant Pest Act".

6.6 EPAs vurdering av Snomax

Mikroorganismen som lager Snomax, *Pseudomonas syringae*, er i henhold til opplysninger fra EPA en specie som inneholder mange plantepatogener. Sommeren 1986 ønsket Advanced Genetic Sciences (AGS), som hadde utviklet produktet Snomax, en vurdering av Snomax i tilknytning til SNUR ("Significant New Use Rule"). Snomax ble da benyttet til snøproduksjon i skianlegg. EPA vurderte i den forbindelse følgende informasjon fra firmaet:

- Beretning over kommersiell bruk av Snomax i USA
- Produktidentifisering og renhetsgrad
- Produktets patogenitet overfor planter
- Biologiske effekter og miljøkonsekvenser av produktet
- Manglende anvendelse av "Plant Pest Act" på Snomax
- Effekter av produktet i toksisitetstester på rotte og irritasjonsstudier på kanin.

EPA konkluderte med at Snomax ikke kom inn under den frivillige SNUR rapporteringen da den kommersielle aktiviteten var startet før utgivelsen av "1986 Policy Statement" og at det ikke kunne betraktes som vesentlig ny bruk. Firmaet trengte heller ikke bidra med ytterligere informasjon av følgende fire grunner:

1. Mikroorganismene forekommer naturlig i skianlegg.
2. "Department of Agriculture" konkluderte med at mikroorganismen ikke kom inn under "the Plant Pest Act".
3. Tilleggseksposeringen for den levende mikroorganismen ble antatt å være liten i skianlegg siden produktet inneholdt få prosent levende mikroorganismer med begrenset levedyktighet.
4. Gitt de forventede lave eksponeringer overfor mennesker for levedyktige organismer ved bruk av produktet, viste evalueringen av data for patogenitet, toksisitet og irritasjon ingen grunn til bekymring og krav om videre testing.

Selv om EPAs vurdering av Snomax ikke var like omfangsrik hverken i bredde eller dybde som for stoffer som er registreringspliktige ihht. TSCA, anså EPA spesialister i mikrobiologi, molekylærbiologi, toksikologi og plantepatologi det som unødvendig med videre testing.

På forespørsel fra Eastman Kodak Company, som hadde produksjonsavtale med AGS, konkluderte EPA i 1988 med at "ny" bruk av Snomax til kunstisbaner, kommersiell luft-kondisjonering, og sprøyte-

is konstruksjoner, kunne anses på lik linje med snøproduksjon, og at rapportering til EPA ikke var nødvendig. For at EPA kunne vurdere bruk av Snomax på skyer trengtes mer informasjon.

I mai 1988 informerte Kodak EPA om sine planer for uttesting av Snomax på skyer. Produktet Snomax kan foreligge både med og uten levende bakterier. Denne testen skulle utføres med Snomax bestående av døde, naturlig forekommende *Pseudomonas syringae*. "TSCA Inventory Reporting Rule (42 FR 64572, December 23, 1977) fra 1977 sier at alle naturlig forekommende kjemiske stoffer ved definisjon er inkludert i "TSCA Inventory". EPA konkluderte med at Kodaks "ikke -levedyktige" Snomax produkt måtte anses som et eksisterende kjemisk stoff og at det dermed ikke var nødvendig med meldeplikt i hht. "TSCA Section 5". Det ble fra EPA anmodet om at det ble benyttet Snomax med en overlevelse på 0.0 for uttesting på skyer og at ny forespørsel måtte sendes EPA dersom de planla spredning av levedyktige *Pseudomonas syringae* (overlevelse > 0.0) på skyer.

I forbindelse med at Snomax skulle benyttes under OL i Calgary, 1988 hadde EPA kontakt med canadiske myndigheter, som vurderte Snomax før import til Canada, og stater i USA der Snomax ble benyttet. De canadiske myndigheter ønsket ikke å forby Snomax, men fordi de hadde noen reservasjoner for bruk av produktet bestemte de at det kun skulle tillates import av Snomax uten påvisbare levedyktige celler. De canadiske myndigheter krevde i tillegg ytterligere testing av Snomax. Dette skulle inkludere langtidstest for kronisk toksisitet og miljøstudier. EPA hadde vurdert det som unødvendig med langtidstesting for kronisk toksisitet utifra at det ikke var påvist noen fare. EPA forventet imidlertid at de canadiske myndighetenes miljøstudier ville gi nyttig informasjon om mikroorganismer i naturen. Det går ikke fram av informasjonen fra EPA konkret hvilke tester de canadiske myndighetene har utført, eller konklusjonen av dem.

EPA mener skiløpere ikke trenger være bekymret for eksponering fra snø laget av Snomax. Dette begrunnes med at man allerede er eksponert for organismene i naturen og at tilleggseksponeringen fra skiarenaer er for liten til å volde bekymring. EPA har imidlertid ingen undersøkelser knyttet til helsefare og eksponering som underbygger deres konklusjon. Konklusjonen er basert på kvalitative analyser for antall levende organismer i produktet, grad av fortykning og overlevelse ved snøproduksjonen, forventet nedbrytning i naturen, antatte bakgrunnsverdier for naturlig forekommende organismer, samt en faglig vurdering.

I Canada var man bekymret over en test som viste hårtap hos hunnagere eksponert for Snomax. Toksikologer hos EPA var derimot ikke bekymret. De mente at hårtap er vanlig i toksisitetstester av årsaker som ikke skyldes kjemikaliet som blir uttestet (f.eks. gnidning mot buret eller midd infeksjon). Dessuten var det ikke registrert hårtap i en tilsvarende test utført av firmaet.

Av andre amerikanske myndigheter som har vurdert Snomax er "USDA Animal and Plant Health Inspection Service" (APHIS) (Att: Terry Medley). De vurderte Snomax informasjon og konkluderte med at produktet ikke kom inn under "the Plant Pest Act".

En del av informasjonen fra EPA baserer seg på spørsmål og svar beregnet på pressen. Disse ble utarbeidet på grunn av publikumsinteressen for bruk av Snomax under OL.

EPA har tilgjengelig utdrag av ikke-konfidensiell informasjon vedrørende Snomax. En saksoversikt over denne informasjonen følger i bilag. Her finnes f.eks. informasjon om vurdering av Snomax til forskjellig regelverk, tester som er gjort med produktet, feltundersøkelser etc. Ytterligere informasjon kan fås ved henvendelse til "United States Environmental Protection Agency, Office of Pesticides and Toxic Substances (adresse er gitt i bilag). Vi har vurdert det som ikke nødvendig, på det nåværende tidspunkt.

6.7 Kommentarer

Utifra produktinformasjonen fra produsenten går det ikke klart frem om det ferdige produktet består av "rent" protein eller om de frysetørrede bakteriene med sitt genmateriale fortsatt er tilstede. For ubehandlede bakterier er imidlertid proteinet i hovedsak knyttet til bakteriens cellevegg, slik at det er naturlig å tro at hele eller deler av bakterien er tilstede i produktet. I informasjonen fra EPA (datert juli 1989, se bilag) går det imidlertid fram at Snomax som selges til skiarenaer i USA inneholder mindre enn 10^7 levedyktige organismer per gram Snomax. Snomax benyttet til snøproduksjon i Canada, Japan, Australia og Norge skal være fullstendig inaktivert,-med en overlevelse på 0.0. Snomax kan utifra dette foreligge både med og uten levende bakterier.

Det oppgis fra produsent/importør at det eneste som er skjedd med produktet over tid er at den snøfremkallende kvaliteten er blitt forbedret. Det angis imidlertid ingenting om hvordan dette er oppnådd. Det finnes imidlertid minst tre tenkelige muligheter for hvordan man kan oppnå en slik forbedring. En mulighet er selektiv utvelgelse av de "beste" bakteriestammene, en annen er tilsetning av kjemikalier i tillegg til produktet, og en tredje er genetisk manipulering ved for eksempel å sette inn flere kopier av det aktuelle genet og/eller forbedre/bytte ut promoteren for genet ("start-stopp knappen" for genet). Hverken informasjon fra produsenten eller andre lands myndigheter har gitt svar på om Snomax består av genmodifiserte bakterier. Det vi foreløpig vet er at de aktuelle "Is+"genene med promoter i *Pseudomonas syringae* er isolert og satt inn i andre bakterier (*E.Coli*) i laboratoriestudier (Lindow S.E. et.al. 1989) og at produsenten Snomax Technologies som et stort bioteknologikonsern høyst sannsynlig besitter denne type kunnskap for genmanipulering. I informasjonen fra EPA (bilag) henvises det til "Report, Planned Release of Genetically Engineered Organisms II: Unintentional Cross-Species Informational Transfer, The case of the Release of Snomax". Det er uvisst om dette indikerer at Snomax er genmanipulert. Myndighetene i Norge og antagelig også Sveits har antatt at produktet ikke er genmodifisert, men forbedret ved seleksjon. Undersøkelsen hittil kan hverken bekrefte eller avkrefte denne antagelsen.

Det norske kravet til produktet Snomax om at det ikke skal inneholde levende/levedyktige "celler", "sporer" eller "mikroorganismer" tar ikke hensyn til en eventuell mulighet for at "dødt" genmateriale kan overføres til andre organismer (Brock,T.,1979, Wellington,E.M.H.1992 og Lehninger,A.,1982). Denne overføringen kan i så fall skje både for naturlig og genmanipulert genmateriale. For genmanipulerte mikroorganismer vil muligens sannsynligheten for overføring kunne øke ved at øket antall kopier av genet kan gi flere muligheter for overføring, eller de kan forårsake en forsterket effekt dersom promotoren/genet er forbedret. Overlevelsesmulighetene for en genmanipulert organisme i det aktuelle miljø vil kunne forsterke/reducere sannsynligheten for overføring. Om dette utgjør et problem i praksis er uvisst. Steriliseringsbetingelsene for produktet kan ha betydning for denatureringen (oppsplittingen) av genmaterialet. Kravet om at produktet ikke skal inneholde levende/levedyktige celler eller sporer vil medvirke til å redusere mulighetene for spredning av selve bakterien og derved overføring av genmateriale. Undersøkelsen gir ingen holdepunkter for at dette kravet nå bør oppheves.

De enkelte skianleggene har mulighet til å kjøpe fra andre lands importører. Hvert anlegg blir da å regne som importør og må følge forurensningsloven og produktkontrollloven, men myndighetene kan få begrenset mulighet til å kreve opplysninger om produktinnhold, anvendelses områder, importerte mengder etc.. Dersom en eventuell meldeplikt begrenses av antall kg importert pr. år, f.eks. 100 kg som for helseskadelige stoffer og produkter, vil antakelig hvert av anleggene komme under denne grensen. Utbredelsen av Snomax og antall kg totalt som anvendes i Norge pr. år kan da bli vanskelig å fastslå. Dersom anvendelsesområdet for Snomax økes vil dette kunne forsterke slike problemer.

I informasjonen fra produsenten/importøren svarer de at de ikke kjenner til andre lands undersøkelser. Informasjonen fra EPA (bilag) angir at det er foretatt undersøkelser av canadiske myndigheter,

Universitetet i Missouri-Columbia og Colorado State University på blant annet overlevelse, patogenitet og økologisk karakterisering av *Pseudomonas syringae*. To feltundersøkelser er angitt (Nakiska, Alberta og Mt. St. Louis, Ontario), samt en studie for undersøkelse av potensielt bidrag av organisk stoff (BOD-Biological Oxygen Demand), Protein og nitrogen fra New York State Ski Areas som benyttet Snomax i skisesongen 88-89. Produsenten/importøren opplyser at alle tester utført av Snomax Technologies har ført til samme konklusjon: "Snomax er overhode ikke faretruende hverken for helse eller miljø". "Det er ikke skjedd noen som helst endringer i vegetasjonen, inkludert jordsmonn, planter og vann". I informasjonen fra EPA (bilag) går det fram at *Pseudomonas syringae*, *Ps 31* har vist seg å være patogen overfor visse hvetearter. De canadiske myndigheter krevde i 1989 at det skulle gjøres miljøstudier etter skisesongen 88-89 for å oppdage midlertidige effekter som bruk av Snomax kunne ha. Det er uvisst om disse studier er utført, og om produsentens konklusjoner eventuelt også innbefatter disse undersøkelsene.

Motstanden mot bruk av kunstsno i Sentraleuropa ser ut til å være mer basert på forhold som støy og endringer som skyldes fysiske forhold, enn på innhold av bakterieprodukter som Snomax. For eksempel måtte Hahnenkamm rennene 1993 i Østerrike flyttes fra Kitzbühel til St. Anton på grunn av snømangel, og fordi det var forbudt å bruke snøkanoner i Kitzbühel. Kitzbühel har alltid holdt på "den grønne linje", selv om dette i sesongen 92/93 har kostet dem tap av millioner av kroner (Aftenposten 16.1.93). I Norge har miljøvernorganisasjoner og andre foreløpig ikke vært opptatt av slike forhold. I forslaget til åpningsseremoni under OL 94, var snøkanoner tiltenkt en sentral plass ved at Olympiaparken skulle omkranses av flombelyste sprutende snøkanoner, som en kjempemessig lyssatt fontene. Det har ikke kommet noen reaksjoner fra hverken utenlandske eller nasjonale miljøvernere om at dette ikke var i tråd med lanseringen av OL 94 som et miljøvennlig arrangement.

Det svenske tidsskriftet Hälsa 11/92 (med Reuter som kilde) skriver at bruk av kunstsno i skibakkene på sikt kan gi naturen alvorlig skade. Blant annet risikerer ulike vekster å dø ut og markens humusdannelse endres. Advarselen kommer fra naturvenner som har undersøkt tilstanden i de italienske, sveitsiske og østerrikske alpene. En effekt ved bruk av kunstsno er at den kjøler ned bakken mer enn vanlig sno. Dette medfører at snøsmeltingen om våren forsinkes. Videre inneholder kunstsno visse kjemiske stoffer som kan være skadelige for naturen. Vannet som benyttes kan for eksempel inneholde næringsalter og metaller som kan skade naturens balanse. I tillegg går det med store mengder vann for produksjonen av kunstsno. Følgen av dette blir at vannbalansen forstyrres dersom kunstsno år etter år sprutes ut over samme område. En uønsket effekt av de store vannmengdene som bindes i kunstsnoen er at snøsmeltingen om våren blir kraftigere enn normalt, hvilket øker erosjonen.

Aarrestad, P. A. (1993) oppgir flere referanser for utenlandske undersøkelser som viser at kunstsno øker fuktigheten i jorden, gir mekaniske skader på vegetasjon, at plantedekket forstyrres av jorderosjon, komprimering av sno, slitasje fra skikanter, økt frostaktivitet og avtakende temperatur i jord og en kortere vekstsesong.

Ut i fra svarene fra produsent/importør og de forespurte landene er produktet ikke forbudt brukt i noen av de forespurte landene. Undersøkelsen avkrefter dermed at Snomax skulle være forbudt benyttet i Østerrike. Riktignok benyttes ikke Snomax i Østerrike, men dette skyldes altså ikke forbud. Nye opplysninger om at Snomax skulle være forbudt benyttet i Liechtenstein har det ikke vært anledning til å oppklare nærmere.

I denne studiens tidsrammer har det ikke vært mulig med forsøk på å oppspore konkrete referanser til den canadiske undersøkelsen (utført av "Environment Canada") eller noen av de 35 uavhengige vitenskapelige studiene produsenten refererer til. Det er uvisst hvor "uavhengige" disse undersøkelsene er og om de er tilgjengelige for andre enn produsenten, men en nærmere undersøkelse av disse kildene ville muligens være interessant. Ingen av de forespurte europeiske landenes myndigheter har svart på om de kjenner til undersøkelser på effekter av Snomax.

Utifra informasjonen vi har mottatt kan det se ut som det kun er myndigheter i Canada og Norge som har krevd undersøkelser av Snomax. Det er imidlertid noe uvisst om de canadiske myndigheter har utført uavhengige undersøkelser eller om produsenten har utført undersøkelser krevd av de canadiske myndigheter. Den mest tungtveiende og kanskje betryggende vurderingen per idag er den fra EPA, som regnes for å være grundig i sin fremgangsmåte (de har også konfidensiell informasjon). Selv om vi ved denne utredningen ikke har fått svar på alle spørsmål som er reist, bør EPA's konklusjon allikevel tillegges betydelig vekt.

7. Diskusjon

Snomax er nå overtatt av et stort genteknologisk utviklingselskap, Genencor International, med forgreninger i flere land. Dette bør tilsi krav om fornyet dokumentasjon av produktet med hensyn på bioteknologisk basis da en ikke kan utelukke endringer i forhold til tidligere spesifikasjoner. Spesielt gjelder dette muligheten for å manipulere DNA til større ekspresjon av proteinet ved å bygge inn flere kopier av Is⁺-genet, eller ved å endre eller bytte promoterområdet av DNA.

Produktet HEDCO SUPERSNOW, et alternativt produkt for Snomax, benyttet bl.a. ved Trysilfjellet A/S er oss bekjent ikke anmeldt for godkjenning i Norge og kan være tatt inn direkte over grensen fra Sverige. Dette skulle være et silikon-basert produkt, men inneholder et ukjent protein eller lignende utfra sin karakteristiske lukt ved forråtnelse. Det bør derfor undersøkes nærmere hva dette produktet består av, selv om det neppe vil bli tatt i bruk av andre anlegg.

Snomax vurderes som ikke nødvendig og for dyrt av flere anlegg, men etterfrysings-effekten i smeltet snø savnes ved nåværende praksis. Dette er en viktig positiv driftsfordel ved Snomax, som vil kunne bidra til et økt forbruk av Snomax dersom kostnadene reduseres.

Den norske importørens selger av Snomax har overfor heispersonalet i Hafjell Alpintenter og Trysilfjellet A/S avvist mulige effekter av Snomax med at produktet kan spises uten fare for noens helse. Det bør påpekes at advarselen på pakken mot inhalasjon av støv bør tas meget alvorlig på grunn av fare for allergene reaksjoner fra fremmed-proteiner.

Befaringen i anleggene påviste en noe ukritisk holdning til oppbevaring og håndtering av Snomax. I tanker som blir stående med fortynt Snomax skjer det en kraftig oppblomstring av blant annet *Pseudomonas*-bakterier og andre G-bakterier. Det må anses som meget sannsynlig at gjenværende DNA kan transformere villtyper som vokser opp her, slik at disse blir bærere av Is⁺ genet. Disse vil bli spredt ved neste gangs bruk av utstyret.

Ved flere anlegg blir rester av Snomax fra snøkanonene tømt direkte til resipient. Dette skjer f.eks. til Gjersjøen. Det er usikkert hvilke negative konsekvenser dette kan ha og man bør være oppmerksom på endringer. Fra Sverige er det rapportert om endringer i tilfrysing av en sjø som mottok avrenningsvann fra et skianlegg.

Videre er det nå velkjent at bakterier kan overleve i miljøet i flere decennier, uten å vokse (Hoff 1989). Noen publiserte resultater er gitt av Morita (1985). Bollen (1977) har isolert bakterier (hovedsakelig *Bacillus* species) fra 54 år gamle jordprøver. Geftic et.al. (1979) isolerte *Pseudomonas cepacia* fra en uorganisk saltløsning konserveret med benzalkoniumklorid, etter lagring i 14 år. En bakterie som overlever lenge i miljøet kan øke muligheten for overføring av genmateriale. Flere forsøk viser at proteinprofilen til celler kan endre seg etter perioder med næringsbegrensning. Endringen viser seg både ved at proteinbånd blir borte, og ved at nye proteinbånd opptrer, på geler kjørt på todimensjonal elektroforese av lyserte celler (Amy og Morita, 1983, Reeve et.al. 1984a, Reeve et.al. 1984b, Sterkenburg et.al. 1984, Groat et.al. 1986, Jouper-Jaan et.al. 1986, Nyström et.al. 1988). Det er velkjent at gener som koder for antibiotika resistens hos bakterier overføres mellom bakterier innenfor store områder og til nye miljøer. Dette tilsier at også Is⁺ genet kan overføres eller uttrykkes hos bakterier, dersom miljøbetingelsene gjør dette gunstig.

Snøprøvene fra kunstsno inneholdt meget høye kimtall (10^3 - 10^6 kim/l smeltet snø) i forhold til forventet. Tallene varierer med årstidene, da det spesielt under snøsmelting skjer en kraftig oppblomstring. Videre varierer tallene i vinterperioden trolig med vannkilden som er benyttet, og gjenspeiler det samfunn av bakterier denne vannkilden inneholder. Fluorescerende pseudomonader er en

viktig gruppe og utgjør 1-10% av totalt kimtall.

De klassiske, mikrobiologiske teknikker som utsåing på agarplater og anrikning av bakterier i flytende medier viste seg lite egnet til å kunne identifisere *Pseudomonas syringae* (isolat 31) med sikkerhet, på grunn av store mengder naturlig forekommende pseudomonader i snøprøvene. Det opprinnelige analyseprogrammet ble derfor utvidet til mere moderne metoder for snø- og vannprøvene, mens jord- og strøprøvene av samme grunn har blitt utelatt fra en eventuell fortsettelse av prosjektet.

Proteinmønstrene til de 97 forskjellige isolatene som fremkom ved elektroforesekjøringen bekreftet inntrykket av et stort antall forskjellige pseudomonader. Proteinmønstrene fremsto visuelt såpass forskjellige for alle de 97 isolatene at en visuell bedømming for å sammenligne om noen var like og eventuelt hvem som var like var umulig. Vi henvendte oss derfor til aktuelle miljøer som Folkehelse,- Statens Institutt for Folkehelse, Telelab, Rikshospitalet,- Rettsmedisinsk institutt, Norges Veterinærhøgskole og Veterinærinstituttet,-Vaksine avdelingen, for om mulig å få digitalisert og databehandlet proteinmønstrene. Ingen av de institusjoner vi henvendte oss til hadde sammenlignet så mange som 97 prøver innbyrdes. Det vanligste er å sammenligne en, eller få, prøver mot en annen prøve. Dataprogrammene som er tilgjengelige stiller store krav til gelenes likhet, selv om de har visse muligheter for å "strekke og dra" gelene på dataskjermen. Å utføre en slik sammenligning for alle våre prøver var for ressurskrevende. Det ble derfor forsøkt med en statistisk bearbeiding av de digitaliserte geldataene, men uten å gi signifikante resultater. Elektroforese dataene viser at de 97 isolatene visuelt ser ulike ut, men vi har ikke statistisk fått avklart om de virkelig er ulike. Ingen av de 97 isolatene er lik eller likner proteinmønsteret for Snomax-bakterien. Det kan derfor konkluderes med at det ikke er funnet levende Snomax i snø- eller vannprøvene med de metodene som er benyttet.

Når det gjelder spredning og effekter av Snomax viser resultatene at bestrålingen av Snomax-produktet er mer enn 99.99% effektiv. Det har ikke blitt påvist oppvekst av bakterien ved direkte fortykning og spredning på vekstmedium.

Ved befaring av skianleggene ble det opplyst at det for enkelte grassorter som benyttes til tilsåing hadde vært problemer med veksten og at sauene ikke ville beite på enkelte grassorter. Dette gjaldt spesielt for Alpegras. Det kan derfor være grunn til å studere valg av grassort nærmere. For å kunne fastslå effekter på flora med sikkerhet bør områdene observeres over noe lengre tid.

For å sammenligne med anlegg som benytter ikke-bestrålte Snomax-bakterier, kan en undersøkelse av minst ett, helst 2-3 anlegg i Sverige være aktuelt. Det bør i en slik studie legges vekt på å studere snølegging alene, valg av grassort ved tilsåing etter planering og lokalklimatiske effekter på vegetasjonen i nærområdene. Videre bør det fokuseres på direkte effekter av Is+-proteinet på flerårig vegetasjon, da det ved bruk av snøkanoner mange steder er en betydelig avdrift og avsetning i nærliggende skog.

Hovden Skisenter A/S kan egne seg for studier av effekter blant annet på vekstsesongens lengde, jorderrosjon, vegetasjon og produksjon av beitegras for sau.

Kirkerudbakken kan egne seg meget godt til vegetasjonsstudier, fordi begge traséene der synes å ha ensartet vegetasjon og ligger klart adskilt av en heistrasé.

Valdres Alpinsenter kan egne seg for kontrollerte forsøk med snølegging og effekter på vegetasjonen. Det finnes to adskilte traséer med ensartet topografi.

Ingjerkollen slalomsenter kan egne seg for en eventuell uttesting av alternative produkter for snølegging, da det her var sterk interesse for dette.

8. Konklusjon

Prosjektet skulle kontrollere om vilkårene for bruk av Snomax blir overholdt, samt undersøke om produktet har hatt skadelige effekter på flora/mikroflora. Utifra de feltobservasjoner og laboratorieundersøkelser som er foretatt ser det ut til at vilkårene for bruk av Snomax overholdes. Hverken NIVAs eller NINAs undersøkelser har kunnet påvise skadelige effekter på flora/mikroflora som kan knyttes til bruk av Snomax. Det har i laboratorieundersøkelsene ikke blitt påvist levende "Snomax-bakterier", hvilket tyder på at produktet er inaktivert slik vilkårene tilsier. Det er imidlertid kjent at Snomax selges og benyttes som ikke inaktivert produkt i USA. Våre konklusjoner gjelder for den varianten av Snomax som var importert og benyttet i Norge i det aktuelle tidsrom undersøkelsene pågikk. Laboratorieundersøkelsene påviste et uventet høyt innhold av pseudomonader og flere av isolatene hadde tydelig tegn på Is+ gen. Det kan allikevel ikke slutes at dette genet er overført fra Snomax, da Is+ genet også kan forekomme hos naturlig forekommende pseudomonader. Når det gjelder effekter på flora/mikroflora har ikke dette blitt undersøkt med mikrobiologiske laboratorietester, da tradisjonelle mikrobiologiske metoder viste seg uegnet. Da det ikke ble funnet levende "Snomax-bakterier" i snø og vannprøvene er det lite trolig at de ville blitt påvist på flora. Vi kan dermed anta at levende "Snomax-bakterier" ikke kan ha hatt anledning til å påvirke flora.

Det er imidlertid kjent at anlegging av kunstsno i skianlegg medfører senere snøsmelting om våren, høyere vanntilgang ved snøsmelting, endret drenering, økt jorderosjon og tap av humusdekke, endringer i jordtemperatur, økt næringstilgang ved mineraler som tilføres i sprøytevannet og fra sterkere mineralisering i jordsmonnet, komprimering av jord, etc. Plantedekket blir først og fremst forstyrret av mekanisk påvirkning som influerer både på artssammensetning og produktivitet (biomasse). Økt tilgang på smeltevann gir fuktigere forhold sommerstid og således økt innslag av fuktighetskrevende planter. I tillegg øker produktiviteten i områder som fra før er relativt tørre. Økt mineralisering i jordsmonnet og tilførsel av næringsstoffer gjennom kunstsnoen medfører økning i antall næringskrevende arter. Sen utsmelting gir dårlig tilvekst av planter om våren, men dette kompenseres gjennom året ved økt vann og næringstilgang. Et jevnt snødekke vinterstid er gunstig for de fleste vegetasjonstyper, men frostherdige vegetasjonstyper i fjellet kan få endret artsinnhold ved at mer frostømfintlige arter kommer inn (Aarrestad, P. A. 1993). Slike skader og endringer i vegetasjonen skjer uavhengig av bruk av Snomax, men Snomax kan øke effektene av bruk av kunstsno.

For å kunne fastslå virkninger på vegetasjon med sikkerhet bør kontrollerte forsøk pågå i områdene over flere år.

Feltobservasjonene har vist at oppbevaring av Snomax og håndtering av rester fra snøkanonene håndteres noe tilfeldig. Dette kan øke faren for spredning av Is+ bakterier. Videre var det rapportert om dårlig vekst av enkelte typer av gras for tilsåing eller at sauene ikke ville beite på graset.

Ved undersøkelse av bruk av Snomax i andre land har det ikke fremkommet opplysninger fra produsent/importør eller de forespurte landenes myndigheter om at produktet skulle være forbudt å bruke i noen av de forespurte landene. Riktignok benyttes ikke Snomax i Østerrike, men dette skyldes ikke forbud mot bruk fra myndighetenes side. Nye opplysninger om at Snomax skulle være forbudt benyttet i Liechtenstein har det ikke vært anledning til å oppklare nærmere. Canadiske myndigheter har vært svært skeptiske til bruk av Snomax, men har etter vurdering av tester og dokumentasjon godkjent bruk av Snomax på visse vilkår. Det er fra bransjen forventet et økt forbruk av Snomax de nærmeste årene både til bruk i skianlegg og til nye bruksområder.

9. Litteratur

Amy, P. S. og Morita, R.Y. (1983): "Protein patterns of growing and starved cells of a marine *Vibrio* sp". Appl. Environ. Microbiol. **45**:1748-1752.

Bollen, W.B. (1977): "Sulfuroxidation and respiration in 54-year-old soil samples". Soil.Biol.Biochem. **9**:405-410.

Brock T.D. (1979): "Biology of microorganisms". Third edition. Prentice/Hall International, Inc. 802 s.

Buttner, Mark P., Amy, Penny S. (1989): "Survival of Ice Nucleation-Active and Genetically Engineered Non-Ice-Nucleating *Pseudomonas syringae* strains after Freezing". Applied and Environmental Microbiology, July 1989, p. 1690-1694.

Chemical Technology Europe (January/February 1995): " Supersonic Ice Particles Chip Away At Paint And Grease". Circle 27. p. 13.

Direktoratet for naturforvaltning (1991): "Økologisk risiko ved utsetting av genmodifiserte organismer i naturen". DN-rapport 1991-7.

Geftic, S.G. et.al. (1979): " Fourteen-year survival of *pseudomonas cepacia* in a salts solution preserved with benzalkonium chloride". Appl. Environ.Microbiol. **37**:505-510.

Goksøyr, Jostein, Torsvik, Vigdis (1992): " Genetisk spredning av mikroorganismer". Inst. for mikrobiologi og plantefysiologi, Universitetet i Bergen. Direktoratet for naturforvaltning Kontrakt nr. Btek 8 1991.

Groat et.al. (1986): "Starvation proteins in *Escherichia coli*: Kinetics of synthesis and role in starvation survival". J. Bacteriol. **168**:486-493.

Hansen H. E. (April 1993): "O-91201 Internasjonal anvendelse og regulering av Snomax". Delrapport til "Kontroll av Snomax brukt i norske skianlegg". NIVA notat sendt Direktoratet for naturforvaltning.

Harby, Atle, Midtømme, Kirsti (udatert): "Tilgang på vann til snøproduksjon ved noen norske skianlegg". Stensil. Institutt for Vassbygging, NTH. PP.3.

Harby, Atle, Midtømme, Kirsti (udatert): "Vannkvalitetens innvirkning på kunstsneproduksjon". Stensil. Institutt for Vassbygging, NTH. PP.5.

Harby, Atle, Killingtveit, Ånund (udatert): "HBV-modellen brukt for planlegging og drift av skisportanlegg". Stensil. Institutt for Vassbygging, NTH. PP.8.

Hoff, Kjell Arne (1988): "Rapid and Simple Method for Double Staining of Bacteria with 4',6-Diamino-2-Phenylindole and Fluorescein Isothiocyanate Labeled Antibodies". Appl. Environ. Microbiol. Vol. **54**, No 12: 2949-2952.

Hoff, Kjell Arne (1989): "Immunofluorescence as a tool for the study of natural marine bacterial populations". Inst. for mikrobiologi og plantefysiologi, Universitetet i Bergen.

Jouper-Jaan et.al. (1986): "Changes in protein composition of three bacterial isolates from marine waters during short periods of energy and nutrient deprivation". *Appl. Environ. Microbiol.* **52**: 1419-1421.

Lehninger A. L. (1982): "Principles of Biochemistry". Worth Publishers, Inc. Fourth Printing 1986. 1011 s.

Lindow S.E. et. al.(1989): "Localization of Ice nucleation Activity and the IceC gene Product in *Pseudomonas syringae* and *Escherichia coli*". *Molecular Plant-Microbe interactions*. Vol.2, No. 5, 262-272, 1989.

Laake, M. (25.juli 1992): "Notat O-91201. Kontroll av Snomax brukt i norske skianlegg. Inspeksjonsrapport. Feltobservasjoner og foreløpig vurdering av prøver fra vinteren 1991-92". NIVA notat sendt Direktoratet for naturforvaltning.

Morita, R.Y. (1985): "Starvation and miniaturisation of heterotrophs, with special emphases on maintenance of the starved viable state", p.111-130. *In* M.M. Fletcher og G.D. Floodgate (ed.), *Bacteria in their natural environment*. Academic Press, London.

Nybroe, O., Johansen, A., Laake, M. (1990): "Enzyme-linked immunosorbent assays for detection of *Pseudomonas fluorescens* in sediment samples". *Letters in Applied Microbiology* 1990, **11**, 293-296.

Nyström et.al. (1988): " Synthesis of membrane and periplasmic proteins during starvation of a marine *Vibrio* sp". *J. Gen. Microbiol.* **134**: 1645-1651.

Reeve et.al. (1984a): "Role of protein synthesis in the survival of carbon-starved *Escherichia coli* K-12". *J. Bacteriol.* **160**: 1041-1046.

Reeve et.al. (1984b): "Role of protein degradation in the survival of carbon-starved *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*". *J. Bacteriol.* **157**: 758-763.

SINTEF NHL (1990): "Prosesser i snø". *Temablad* Nov. 1990. Pp. 2.

Sosialdepartementet: "Høring - Forskrifter til genteknologiloven". 08.09.1993.

Sterkenburg et.al. (1984): "Influence of nutrient limitation and growth rate on the outer membrane proteins of *Klebsiella aerogenes* NCTC 418". *J. Gen. Microbiol.* **130**: 2347-2355.

Veterinærmedisinsk senter i Tromsø v/Hans Kolbein Dahle (1992): " Økologisk risiko ved utsetting/utslipp av genmodifiserte virus i naturen". *VETMEST-SKRIFTER* Nr. 1 1992.

Wellington, Elizabeth M.H., Elsas, Jan D. van. (1992): "Genetic interactions among microorganisms in the natural environment". Pergamon 1992. 303 s.

Wolber, Paul K., Warren, Gareth J.: " Evolutionary Perspective on the Ice Nucleation Gene-Encoded Membrane Protein". *Chapt.* 16 p. 315-327.

Aarrestad, Per Arild (1993): "SNOMAX i kunstig snølegging; botanisk-økologiske undersøkelser i alpinanlegg". *NINA oppdragsmelding* 183: 1-46.

BILAG

Bilag 1:	Adresseliste
Bilag 2:	Spørsmål vedrørende Snomax
Bilag 3:	US EPA opplysninger
Bilag 4:	Succinat medium

ADRESSE LISTE

Produsent:

SNOMAX TECHNOLOGIES
a division of Genencor International,
4 Cambridge place,
1870 S. Winton Road, Rochester, N.Y. 14618
USA

Att: Jim Horton
Telefax 095-17-162449901

HEDCO SUPERSNOW
a division of the Dewery Electronics Comp.
27 Muller Road,
Oakland, New Jersey 07436
USA

Telefon: 095 1 201 3374700
Telefax: 095 1 201 3373976
(Surrogatprodukt, silikonbasert)

Importører:

BERTEL O. STEEN A/S
Telefon 67926270
Telefax 67925319
Mobiltlf. 030-20635 (selger Erik Jakobsen)

uaktuell pr. Jan 93.

Att: Knut I. Røsland
Att: Turid Brandsrud

SNOWTECH
Box 81
S-68600 Sunne
Sverige

Overtar salget i Norge pr. Jan 93.

Att: Jan Mangborg

Telefon: 095 46 56514140
Telefax: 095 46 56514151

AB KARLSHAMN OLIEFABRIKER
S-79200 Karlshamn
Sverige

Brevet kom i retur.

Att: Lars Erik Ågren

Telefon: 095 46 45482000
Telefax: 095 46 45418453

Sverige

Statens Naturvårdsverk
Miljötillsynsavdelningen,
Enheten för miljöövervakning
S- 17185 Solna
SVERIGE

Telefon: 095 46 8 7991000
Telefax: 095 46 8 292382

Att: Britta Hedlund

Kemikalieinspektionen
P.O.Box 1384
S-17127 Solna
SVERIGE

Telefon: 095 46 8 7305700
Telefax: 095 46 8 7357698

Att: Kersti Gustafsson

Sveits

Federal Office of Environment,
Forests and Landscape
Hallwylstrasse 4
CH-3003 Bern
Switzerland

Telefon: 095 41 31 619395
Telefax: 095 41 31 619981

Att: Francois Pythoud

Frankrike

Ministère De L'agriculture et de La Forêt
Direction Générale de L'alimentation
35. Rue St Dominique
F-75007 Paris
France

Telefon: 095 33 1 49555881
Telefax: 095 33 1 49555948

Att: Philippe Guignard

Østerrike

Umweltbundesamt
Federal Environmental Agency, Austria
Spittelauer Lände 5
A-1090 Wien
Austria

Telefon: 095 43 222 31304/566
Telefax: 095 43 222 31304/400

Att: Dr. Helmut Gaugitsch

Österreichische akademie der wissenschaften
Forschungsstelle für technikkbewertung
Postgasse 7/4/3
A-1010 Wien
Austria

Telefon: 095 43 222 51581/588
Telefax: 095 43 222 5131145

Att: Dr. Helge Torgersen (snakker norsk flytende)

USA Vår henvendelse ble sendt til:

Environmental Protection Agency
Office of Toxic Substances TS-788
401 M.St., SW Washington, DC 20460
USA

Telefon: 095 1 202 2606900
Telefax: ikke oppført hos 0181

Att: Lawrence Zeph

Ytterligere informasjon kan fås fra:

United States Environmental Protection Agency
Office of Pesticides and Toxic Substances
New Chemicals Branch
401 M.St., SW Washington, DC 20460
USA

Telefon: 095 1 202 2606900
Telefax: ikke oppført hos 0181

Att: David Giamporcaro
Att: Ellie Clark

Telefon: 095 1 202 260 6362
Telefon: 095 1 202 260 3402

Vår henvendelse var besvart av: Paul J. Campanella, Branch Chief.

SPØRSMÅL VEDRØRENDE SNOMAX:

1. Antall forskjellige land som bruker Snomax?
2. Hvilke land bruker Snomax?
3. Hvor mange kg/tonn antas solgt pr. år totalt i verden?
4. Hvor mange kg/tonn antas solgt pr. år i deres land?
5. Finnes det surrogatprodukter/konkurrerende produkter?
6. Har produsenten sine egne forhandlere?
7. Hvordan blir man forhandler?
8. Konkurrerer forhandlerne med hverandre?
9. Kjenner dere til forbud mot bruk i enkelte land? Hvilke land?
10. Kjenner dere til forbud mot bruk i utvalgte områder?
11. Hvorfor har det eventuelt blitt forbudt?
12. Har landet gjort egne undersøkelser?
13. Har produsenten gjort undersøkelser?
14. Hva er konklusjonene av vurderingene/undersøkelsene?
15. Kjenner dere til andre lands restriksjoner for bruk?
16. Vet dere om produsenten kjenner til andre lands restriksjoner for bruk?
17. Hva er eventuelt bakgrunnen for restriksjonene?
18. Hvilke land har brukt produktet lengst?
19. Har det skjedd endringer i vegetasjonen der?
20. Har produktet endret seg i tidens løp?
21. Brukes produktet til annet enn slalombakker? I så fall til hva?
22. Antar dere økende, stabilt eller avtagende potensiale for bruk av Snomax fremover?
23. Kjenner dere til importører i eget,-eller andre land? Oppgi om mulig firmanavn, adresse, telefon, telefax og kontaktperson.
24. Kjenner dere til aktuelle myndigheter i eget,-eller andre land? Oppgi om mulig navn, adresse, telefon, telefax og kontaktperson.
25. Vil salget til Norge foregå via norsk forhandler eller direkte fra Sverige til kundene?
26. Annen informasjon.



UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY
WASHINGTON, D.C. 20460

OFFICE OF
PESTICIDES AND TOXIC SUBSTANCES

Dr. Hege E. Hansen
NIVA
P.O. Box 69 Korsvoll
N-0808 Oslo, Norway

FEB 19 1993

Your reference: HEG
J.nr. 242/93
S.nr.O-91201

Dear Dr. Hansen:

Your letter to Lawrence Zeph regarding restrictions on the use of Snomax in the U.S. was referred to my office for response. Because we are not in a position to answer many of the specific questions enclosed with your letter, we will provide a general discussion of the U.S. Environmental Protection Agency's determinations regarding uses of Snomax. It appears that many of your questions would be best directed to Eastman Kodak, the producer of Snomax.

In June 1986, EPA published its policy for regulating living microorganisms subject to the Toxic Substances Control Act (TSCA) (51 FR 23302, June 26, 1986). That policy included a discussion of EPA's intention to propose that live naturally occurring microorganisms that are pathogenic or are closely related to pathogens and that are released to the environment for significant new uses be subject to notification and review under a Significant New Use Rule (SNUR). In the 1986 Policy Statement, EPA promised to promulgate a SNUR and asked for voluntary compliance from companies in the interim.

The microorganism that forms Snomax, Pseudomonas syringae, is a species that contains many plant pathogens. In the summer of 1986, Advanced Genetic Sciences (AGS), the developer of Snomax, requested a determination from EPA concerning applicability of the voluntary SNUR reporting request to Snomax, which was being used for snowmaking at ski resorts. In response to this request, EPA reviewed information submitted by the company on commercial use in the U.S., product identification, and data on plant pathogenicity, toxicity, and environmental fate.

Based on its review, EPA concluded that Snomax was not subject to the voluntary SNUR reporting request, because the commercial activity was underway before the publication of the 1986 Policy Statement and could not be considered a significant new use. EPA also determined that the company did not need to submit additional information for the following reasons: (1) the microorganism exists naturally in ski areas, (2) the U.S. Department of Agriculture concluded that the microorganism was not subject to the Plant Pest Act, and (3) additional exposures to the living microorganism were expected to be low in ski areas since the product contained a low percentage of the living microorganisms with limited viability.

In 1988, Eastman Kodak Company, which had a production agreement with AGS, requested a determination from EPA on the status of additional uses of Snomax. EPA replied that use of Snomax for ice-making at ice skating rinks, commercial air-conditioning, and spray-ice construction applications did not pose significantly different exposures compared with snowmaking and therefore would not require reporting to EPA. However, at that time, EPA indicated that additional information would be needed before a determination could be made regarding use of Snomax for cloud seeding.

In May, 1988, Kodak submitted information regarding its plans to conduct atmospheric cloud seeding studies using Snomax lots that contained dead, naturally occurring Pseudomonas syringae. In 1977, EPA had published a TSCA Inventory Reporting Rule (42 FR 64572; December 23, 1977) which stated that all naturally occurring chemical substances are by definition included on the TSCA Inventory. Therefore, EPA concluded that Kodak's non-viable Snomax product would be considered to be an existing chemical substance and not subject to reporting under TSCA section 5. EPA requested that Kodak select only Snomax lots with a viability of zero for the cloud seeding tests and indicated that if Kodak planned to release viable P. syringae microorganisms for cloud seeding tests, it would be necessary for Kodak to request a separate determination for those tests.

Because Snomax was going to be used for snowmaking in the 1988 Calgary Winter Olympics, EPA had communication with agencies of the Canadian government that reviewed Snomax before it was imported into Canada. Due to public interest about use of Snomax at the Olympics, EPA prepared the attached question and answer document about Snomax. EPA also communicated with states in the United States where Snomax was used.

Although EPA never received a formal TSCA section 5 submission for Snomax, EPA did review health and environmental effects data before making its determinations that review of

certain uses of Snomax would not be necessary. EPA has a public docket containing all non-confidential information relating to Snomax. A table of contents for this docket is attached.

If you have additional questions or would like to receive additional information, please contact David Giamporcaro (202) 260-6362 or Ellie Clark (202) 260-3402 of my staff.

Sincerely,



Paul J. Campanella
Branch Chief
New Chemicals Branch

Attachments

FEB 8 1988

QUESTIONS AND ANSWERS FOR PRESS INQUIRIES
CONCERNING THE USE OF SNOMAX AT THE CALGARY WINTER OLYMPICS

Q. Snomax will be used at the Calgary Winter Olympics to enhance snowmaking. I understand that the Canadian government, while it will not ban Snomax, does have some reservations about the product that have led them to the following:

- ° to permit importation of Snomax formulations that contain no detectable viable cells
- ° to require additional long-term chronic toxicity studies and to require environmental monitoring studies.

I also understand that Snomax has been used for several ski seasons in the United States.

Has the U.S. EPA reviewed and approved this product for snowmaking in the U.S.?

A. In June 1986, the Agency published its policy for regulating microorganisms subject to the Toxic Substances Control Act (TSCA). That policy included a proposal that naturally occurring microorganisms that are pathogenic or are closely related to pathogens and that are released to the environment for significant new uses be subject to notification and review under a Significant New Use Rule (SNUR). (Pseudomonas syringae, the organism that forms Snomax, is a species of microorganisms that contains many plant pathogens.) The Agency, in the June 1986 statement, promised to promulgate a SNUR and asked for voluntary compliance from companies in the interim.

In the summer of 1986, Advanced Genetic Sciences (AGS), the developer of Snomax, requested a determination from the Agency concerning applicability of the proposed SNUR to Snomax.

In response to this request, the Agency reviewed information submitted by the company on the following:

- ° History of commercial use in the United States
- ° Product identification and purity
- ° Pathogenicity of product to plants
- ° Biological effects and environmental fate of the product
- ° Lack of applicability of Plant Pest Act to Snomax
- ° Effect of product in rat toxicity and rabbit irritation studies

Based on its review, the Agency came to two conclusions:

1. Snomax was not subject to voluntary compliance under the proposed SNUR because the commercial activity was underway before the June 1986 statement of policy. Therefore, the use could not be considered a significant new use.
2. There was not sufficient cause for concern to request additional data from the company. This conclusion was based on the following reasoning:
 - ° the organism already exists naturally in ski areas.
 - ° the USDA conclusion that the organism was not subject to the Plant Pest Act
 - ° additional exposures to the living microorganism were expected to be low in ski areas given the low percentage of living organisms in the product and given the subsequent loss in viability of the microorganism,
 - ° given the expected low exposures of humans to viable organisms through use of the product, the evaluation of the pathogenicity, toxicity, and irritability data showed no hazard concerns that would lead to requests for further testing.

Q. Is EPA satisfied with its review?

A. Yes. EPA specialists in microbiology, molecular biology, toxicology, and plant pathology evaluated the data.

We should note, however, that the review of the Snomax product was not equivalent in breadth and depth to that we give to substances subject to TSCA notification and review requirements [e.g., premanufacture notification (PMN) review]. This product was not subject to notification requirements. Nonetheless, in the more abbreviated review of the available data on potential hazards and exposures, no issues of concern were raised that warranted negotiating with the company to conduct additional testing.

Q. Why didn't the EPA review raise the same issues and lead to the same testing requirements as the Canadian government has requested? In other words, why is the Canadian government requiring testing that EPA did not require?

A. In terms of the request for chronic toxicity testing, EPA recognized that the toxicity profile was not complete. Were similar toxicity data submitted under the circumstances of a PMN review, the Agency would ask for longer-term chronic toxicity testing only if a potential hazard were identified

or potential exposures were sufficient to raise concerns.

The Canadian government monitoring study will provide data that will be useful in expanding a base of information about microorganisms in the environment.

- Q. Should skiers be concerned about exposure to snow manufactured using Snomax?
- A. No. EPA sees no hazard to skiers exposed to snow made with Snomax. The organism already exists naturally throughout the country; consequently people are already exposed to the organisms throughout their lives. The organisms are diluted extensively with water during the snowmaking process and hence are well dispersed in the snow; consequently, the amount of additional exposure at ski slopes is sufficiently low to warrant no concern.
- Q. Does EPA have reports available to the public that show the calculations that led to these conclusions concerning exposure?
- A. No. In circumstances where the Agency believes that the hazard and exposure are low, qualitative analyses and expert judgment form the basis of the decision. Consequently, formal hazard and exposure assessments were not prepared. Agency staff based their exposure conclusions on a qualitative analysis of data on numbers of viable organisms in the product, degree of dilution and survival during snowmaking, estimates of degradation in the environment, and estimates of background numbers of organisms occurring naturally.
- Q. I understand that the Canadians were concerned about one test that showed hair loss in female rodents exposed to Snomax. Why wasn't EPA concerned about the hair loss?
- A. EPA toxicologists who routinely evaluate toxicity tests submitted for PMN reviews know that hair loss is a common occurrence in toxicity tests for reasons that have nothing to do with the chemical being tested (e.g., rubbing against a

cage. mite infestation). The hair-loss effect noted in some of the rodents in the test was not thought to be attributed to Snomax. Subsequently, the Company conducted another similar test and no hair loss was noted.

- Q. Does the Company plan any other uses of Snomax and if so, will these uses be subject to EPA review?
- A. Eastman Kodak has recently purchased the rights to market Snomax from AGS. Eastman Kodak plans to develop the product for such uses as ice-making for skating rinks, coolant for commercial air conditioning, Arctic constructions, and cloud seeding. The Company has asked EPA to determine whether any of their proposed uses are subject to voluntary notification under the proposed SNUR for pathogens. EPA has replied that the uses, except for cloud-seeding, are not significantly different in exposure compared with snow-making and hence do not require notification as significant new uses. EPA has requested that the company submit additional data for a determination of applicability of the SNUR if it wishes to proceed with cloud seeding uses.
- Q. Has any other U.S. agency reviewed this product? If so, what did they conclude?
- A. The USDA Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS) reviewed information on the product and concluded it was not subject to the Plant Pest Act. (Contact Terry Medley, USDA APHIS for more information.)

JUL 18 1989

SNOMAX FILE: INDEX AND CHRONOLOGY
ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY
OFFICE OF TOXIC SUBSTANCES

"Snomax" is an ice-nucleating protein derived from a naturally occurring strain of Pseudomonas syringae with claims of a 30% to 100% gain in snowmaking efficiency. It is particularly valued for its use in marginal weather conditions (28° to 38° F).

The product is currently used commercially for snowmaking at ski resorts and does not require EPA review. Snomax, as sold to ski areas in the U.S., has less than 10⁷ viable organisms/gram of Snomax. In Canada, Japan, Australia and Norway, Snomax for snowmaking must be totally inactivated: viability of 0.0.

For use in cloudseeding and spray-ice applications to protect constructions in arctic oil explorations, Snomax with a viability of zero does not require review under current TSCA regulations. However, use of viable Snomax for these uses may require regulatory review.

- 9/10/85 AGS contacts EPA by phone (phone log not available)
- 5/30/86 Packet, Cull (AGS) to Farris (EPA):
- cover letter: AGS plans to add milk or milk components to Snomax as processing aid; letter requests statement from EPA that such addition would not change non-regulatory status of Snomax;
 - 10/1/85 and 10/2/85 AGS ltrs. Cull & Suslow to Wood (APHIS/USDA: Is Snomax subject to Plant Pest Act?
 - 10/3/85 data AGS to APHIS/USDA:
 - product i.d. and plant host response data (including plant pathogenicity tables 1-42)
 - reprints of journal articles
 - information file 5/84-11/85 including USDA/ARS involvement
 - appendix
- 7/1/86 Memo, Frederick (EPA) to Hollander (EPA): report on follow-up to 5/30/86 packet from AGS to EPA
- 8/11/86 Letter, Sarojak (AGS) to Hollander (EPA):
- o informing of plans to sell Snomax to approx. 60 ski resorts during 1986-87 season; and requesting EPA regulatory position on Snomax for snowmaking in light of 6/26/86 Policy Statement on Regulation of Biotechnology
- 8/14/86 Letter, Dull (EPA) to Misumi (AGS):
- in response to AGS cover letter to Farris 5/30/86 re regulatory status of Snomax containing milk products under TSCA: EPA needs further data (detailed in letter) to make that determination
- 9/19/86 Packet, Shanks (attorney for AGS) to Hollander (EPA):
- cover letter Shanks to Hollander
 - 10/85 AGS data submission to USDA (see 5/30/86 data)
 - 12/20/85 letter from USDA to AGS confirming that Snomax is not subject to Plant Pest Act
 - **Data: Food & Drug Research Lab. studies of Snomax strain in mammals:**
 - acute inhalation toxicity
 - acute oral toxicity
 - primary dermal irritation
 - primary eye irritation

9/19/86

AGS packet to Hollander (EPA):

- 9/19/86 AGS letter to Wood (APHIS/USDA) requesting that APHIS send following information to Dr. Larsson in Sweden pertaining to APHIS' "determination of non-pathogenicity of P. syringae strain Ps31 used to produce Snomax)":
 - 5/20/85 letter Torrance (USDA Forest Service, Rocky Mtn. Region) to Sarojak (AGS): have checked with EPA HQ re regulation of Snomax; the Forest Service has "concluded that such naturally occurring organisms as syringae are not subject to the new chemical premanufacture notification (PMN) provisions of the Toxic Substances Control Act (TSCA). Based on EPA's position, we (Forest Service has) no objection to the use of Snowmax on National Forest System lands as a commercial venture in snowmaking, provided the industry and AGS continues to monitor the application and results."
 - 10/1/86 AGS letter to Wood (USDA) (see 5/30/86 above)
 - 10/2/86 AGS letter to Wood (see 5/30/86 above)
 - 10/3/86 AGS data to APHIS/USDA (see 5/30/86 above)

9/24/86

Packet, AGS fax to Hollander (EPA):

- cover letter
- Letter, Suslow (AGS) to Wood (APHIS/USDA)
- Data: Tables 43-66 re plant pathogenicity data (see 5/30/86 above)

9/25/86

Letter, Suslow (AGS) to Hollander (EPA):

- cover letter states that data shows Pseudomonas syringae strain Ps31 to be nonpathogenic to the wide diversity of plants tested thus far
- 10/3/85 AGS data (see 5/30/86 above)

10/10/86

Memo, Hollander (EPA) to Segal (EPA): requesting HERD review of AGS data on Snomax

10/14/86

Memo, Hollander (EPA) to (OTS) Workgroup re availability of Snomax data

- 10/22/86 Letter, Shanks (attorney for AGS) to Hollander (EPA):
Based on discussions with Agency, it is Shanks' understanding that Snomax is not a "new chemical substance" to be reviewed as a premanufacture notice (PMN) under the Toxic Substances Control Act (TSCA) because it is a naturally occurring organism which appears automatically on the Chemical Substances Inventory; thus, no PMN is required for continued production
- 11/18/86 EPA letter, Elkins to Shanks confirming Shanks' understanding of regulatory status of Snomax and adding: Snomax is not new microbial product & thus does not require a PMN; and a voluntary Significant New Use Notice (SNUN) is not necessary for the present use as it had been initiated prior to the publication of the 6/26/86 Policy Statement on Regulation of Biotechnology
- 11/25/86 Packet, Segal (EPA) to Hollander (EPA) in response to 10/10/86 memo:
- memo Segal to Hollander
- note, Miller (EPA) to Segal
- note, S. Irene (EPA) to Segal
Findings: data supplied "do not indicate much acute toxicity to humans; no allergenicity data were provided: no conclusion can be drawn; data supplied seem to indicate some degree of pathogenicity to certain wheat cultivars by P. syringae, product strain Ps 31. Though some effects were noted, it was not determined that this strain was pathogenic to other species tested."
- 5/26/87 Press release: Kodak and AGS announce agreement to market Snomax and other snow and ice inducers
- 9/87 EPA Issue Paper, Melone to Elkins: Applicability of June 1986 biotech policy to Snomax applications (snowmaking and other proposed uses, see 2/12/88 ltr to Goodnow)
- 12/1/87 Kodak packet, Goodnow to Rissler (EPA), with the following enclosures (1-16) re Snomax:
1. C.V. Robert A. Goodnow, Ph.D. (Kodak)
2. 9/17/87 National Research Council Canada letter, Seligy to Goodnow re biological viability assessment

3. 9/16/87 NYC Dept. of Environmental Protection, Drinking Water Division letter, Iwan to Jensen (NYS Dept. of Environmental Conservation (NYS DEC)): comments on AGS data on Snomax; & enclosed:
 - 10/23/87 letter, Stasiuk (NYS Dept. of Health) to Jensen (NYS DEC): Dept. of Health has reviewed data sent by AGS on Snomax and conducted literature search; 4-page letter describes result of review
4. 12/1/87 Kodak letter, Goodnow to Jensen (NYS DEC): 5-page letter answering technical questions posed by NYS DEC concerning use of P. syringae for snowmaking
5. 7/9/87 letter, Leeson to Day (both of Parks, Canada) re use of Snomax at ski resort, Skiing Louise; & enclosed note, Beswick to Leeson (both of Parks, Canada) re same issue
6. 10/26/87 letter, Leeson (Environment Canada, Parks) to Sarojak (AGS): re use of Snomax at Lake Louise Ski Area in Banff National Park, Canada
7. 9/3/87 Snomax, Erling Agder memo re prohibition of use of Snomax in Norway and enclosed memo:
 - 5/21/87, Erling Agder re environmental impact of Snomax
8. Snomax Regulatory Compliance package including the following documents (a-i):
 - a. 10/22/86 AGS letter, Shanks to Hollander (EPA): based on our reading of June 1986 Biotech Policy, Snomax would not require PMN: it is naturally occurring microbe already in commerce
 - b. 11/18/86 EPA letter, Elkins to Shanks: confirms Snomax for snow-making not subject to PMN or SNUR reporting; may be subject to 8(a) reporting at later date
 - c. 12/20/85 APHIS/USDA letter, Singh to Sarojak (AGS): have reviewed permit request to move Snomax state to state; If product contains nonliving cells (1 CFU per 10,000 cells), as claimed, of naturally occurring, nonpathogenic strain PS-31 of P. syringae, then not under regulatory purview of Plant Pest Act; but AGS should keep monitoring
 - d. 6/30/87 Environment Canada letter to Goodnow re Snomax regulatory status for importation to Canada
 - e. 11/18/86 Importation license from Sweden re Snomax importation prior to 1/1/88
 - f. 10/6/87 Letter, Swedish University of Agricultural Science to Lars-Eric Agren: ice-nucleating bacteria occur naturally and are prevalent on many plant species in all countries in N.W. part of Europe

- g. 2/25/87 State of New Hampshire letter, Lucey to Badger (AGS) and attached assessment by Health Risk Assessment Unit of NH Public Health Services Division: approved AGS request to use Snomax on a NH Ski area based on health assessment
 - h. 5/14/86 Letter, Dobbins (APHIS) to Cull (AGS): no permit is needed for intrastate movement of Snomax
 - i. 7/14/87 Letter, Aspen Environmental Health Department (AEHD) to Aspen Skiing Co. re use of Snomax at their ski area: AEHD contacted Colorado Dept. of Health (CDH); letter from CHD enclosed; AEHD suggests the use of Snomax proceed at ski area, concurrent with monitoring of P. syringae in water samples, esp. for first snowmaking season with Snomax;
 7/7/87 letter enclosed from CDH: concerns have been addressed well enough for Snomax project to proceed
 - 9. Kodak Data Package on Snomax (sanitized version)
 - 10. 10/1/87 University of Missouri-Columbia Data: Standard Operating Procedure for viability count of P. syringae; (sanitized version)
 - 11. Data on Environmental Risk: Pathogenicity studies
 - 12. 1985-86 Data: Snomax Slope Monitoring Program: Dillion, Colorado: to determine rate of disappearance of Snomax at sites of use
 - 13. Data: Survival of Snomax on Regrowth/Revegetation of Plant Parts
 - 14. 11/16/87 Univ. of Missouri-Columbia Data: from experiments with chlorine and freezing-thawing
 - 15. 4/22/87 Data from Food & Drug Research Labs, Inc. for AGS: Dermal Sensitization Study of Snomax in Albino Guinea Pigs
-
- 12/11/87 Data (published 3/18/87): Acute Inhalation Toxicity Study of Snomax on Rats;
 - 12/24/87 Note, Melone (EPA) to Elkins (EPA): Status of Canadian Concerns about use of Snomax for Calgary Winter Olympics
 - 1/11/88 Letter, Haney (RN from PA) to EPA: inquiring re Snomax use, microorganism description and regulatory status
 - 2/8/88 EPA Memo: Responses to Potential Press Inquiries Concerning Snomax (Qs & As); non-viable Snomax to be used in Calgary Olympics sparked press interest

- 2/12/88 Letter, Elkins (EPA) to Goodnow (Kodak): EPA has determined that in addition to snow-making use, Snomax for ice-skating rinks, commercial air conditioning and spray-ice applications to protect constructions in arctic oil explorations are not subject to Agency review prior to use; however, cloudseeding may be a significant new use and review of a Significant New Use Notice (SNUN) may be necessary; letter also requests receipt of data which Kodak is developing for Canadian government on P. syringae
- 2/18/88 Letter, Evans (EPA) to Haney (see 1/11/88 above): Description of Snomax, its use, and its regulatory status at EPA
- 4/12/88 Packet, Goodnow (Kodak) to Elkins (EPA):
- cover letter
 - data on fate of P. syringae viability and ice nucleating activity (INA) in snow; these data were collected at request of Canadian government and sent to EPA at Elkins' request (see 2/12/88 letter);
 - data from Univ. of Missouri study on fate of P. syringae and an indicator E. coli to chlorination in snow; letter states that study demonstrates that chlorine concentrations which will inactivate indicator E. coli will also readily inactivate Snomax;
 - 4/11/88 memo, Sweeting and LaDuca (Kodak) to Goodnow (Kodak) re Univ. of Missouri study (described above in this paragraph)
- 4/26/88 Letter, Goodnow (Kodak) to Evans (EPA): requesting approval for use of a P. syringae strain which is phage resistant to be used as an alternate to the current strain, P. syringae 31A
- 5/2/88 Packet, Goodnow (Kodak) to Evans (EPA):
- Cover letter informing EPA of Kodak's plans to conduct cloudseeding studies using Snomax; studies would be conducted near the California/Nevada border
 - description of the cloudseeding test protocol
 - Data: Ice Nucleation Studies of Snomax Aerosols conducted at Colorado State University
 - other references and data concerning cloudseeding
- 6/28/88 Letter, Medley (USDA/APHIS) to Goodnow (Kodak): Snomax not a plant pest; strain of P. syringae used to make Snomax not known to cause a disease of any plant

- 7/7/88 - Letter, Elkins (EPA) to Goodnow (Kodak):
 - in response to Kodak's 5/2/88 and 5/13/88 letters describing Kodak's plans to conduct cloudseeding studies:
- the use of non-viable P. syringae for R&D purposes is not subject to reporting under TSCA Section 5. EPA requests that Kodak utilize only the microorganisms with viability of 0.0 for these cloudseeding studies; however, if Kodak plans to use the microorganisms with greater than 0.0 viability for cloudseeding purposes, they should request a separate determination at that time concerning the regulatory status of such use;
 - in response to Kodak's 5/26/88 letter requesting approval of a phage resistant strain of P. syringae:
 - Elkins states that it is not subject to EPA review or approval because this strain was selected from a naturally occurring cell population without chemical or irradiation treatment
- 11/8/88 EPA Memo, CCD to ECAD re Kodak's cloudseeding plans
- 11/9/88 Phone log: Schoenbach (EPA) to Payne (APHIS/USDA):
 - re Kodak's interest in cloudseeding with viable Snomax; referenced APHIS letter to Kodak 6/28/88
- 12/88 FOIA request to EPA for information on Snomax from:
 Dr. Wm. Olson, Center for Regulatory Services
 items cleared with Goodnow (for non-CBI status) and sent:
- 8/11/86 letter, AGS to Hollander (EPA) (see above)
 - 9/25/86 letter & data, AGS to Hollander (see above)
 - 10/22/86 letter, Shanks (for AGS) to Hollander (see above)
 - 2/12/88 EPA letter, Elkins to Goodnow (see above)
 - 6/28/88 APHIS/USDA letter to Kodak (see above)
 - 7/7/88 EPA letter, Elkins to Goodnow (see above)
- NOTE: For similar information requests see 6/89 below

- 12/27/88 Packet, Goodnow (Kodak) to Evans (EPA):
- cover letter
 - 12/23/88 Alaska Dept. of Environmental Conservation (ADEC) letter, Cutler to Goodnow:
ADEC has no objection to use of Snomax to assist in building ice island and ice road in Beaufort Sea, Alaska based on information provided by Kodak; however, prior to ADEC acceptance of Snomax for general use, ADEC recommends certain bioassays and needs further information (outlined in letter); letter also states that no formal EPA Risk Assessments have been conducted under TSCA for this product;
 - 12/8/88 letter, Gilman (Health and Welfare Canada) to Goodnow re their review of toxicology studies on Snomax
- 1/6/89 Packet, Cutler (ADEC) to Evans (EPA)
- cover letter re use of Snomax to assist in building ice island and ice road in the Beaufort Sea, Alaska; letter requests EPA formal response re Snomax and its use in marine environment;
 - 12/23/88 letter, Cutler to Goodnow (see above)
- 1/18/89 Memo, Evans (EPA) to Stern (EPA): request for Agency formal response re use of Snomax in marine environment with relevant documents attached
- 1/19/89 Packet, Evans (EPA/HQ) to Jan Hastings (EPA Region X):
- cover letter
 - 2/12/88 Elkins (EPA) letter to Goodnow (Kodak)
 - 7/7/88 Elkins letter to Goodnow re non-viable Snomax for cloudseeding
- 1/23/89 Packet, Carla Fisher (EPA, Region 10) to Evans (EPA)
- 9/21/88 Data: Health and Welfare Canada contractor's report on possibility of mutants being present in surviving bacteria in final Snomax product; also suggestions for reducing recovery of survivors and possible mutants;
 - cover letter with data, Smith to Goodnow
- 2/2/89 Packet, Goodnow (Kodak) to Evans (EPA):
- cover letter
 - proposed press release re Kodak's plans for fog bank disruption experiment with Snomax

- 2/27/89 Letter, Zuk (Environment Canada) to Goodnow (Kodak):
 Envir. Canada has no objection to use of non-viable
 Snomax for snow-making in Canada, but requests
 environmental monitoring after end of '88-'89 ski
 season to detect transient effect product may have;
 sent to Evans by Goodnow
- 3/6/89 Memo, Gilford (EPA) to Evans (EPA): Use of Snomax in
 marine environment (3-wk. review of available data)
- 3/15/89 Memo, Evans (EPA) to Cutler (ADEC) enclosing 3/6/89 memo
- 3/21/89 Note, Brown (Kodak) to Goodnow (Kodak):
 Complaint Report re Snomax; sent to Evans by Goodnow
- 5/3/89 Letter, Goodnow (Kodak) to Geren (EPA, Region X):
 Request for formal review of enclosed info. re
 Snomax:
 Plan for marine toxicity testing of Snomax;
 explanation of what parts Chevron, Kodak and
 Geotec would play in ice island plan;
 sent by Goodnow to Evans
- 5/25/89 FOIA request sent with memo from E. Gross (FOIA office);
 3/15/89 letter from Nestle Foods Corp. requests
 information on Snomax; FOIA information package (see
 12/88 above) sent to Nestle Foods, 6/1/89
- 6/22/89 Information request, Hollander (Conservation Foundation)
 to Evans (EPA) by phone requesting Snomax health and
 environmental fate data;
 6/23/89 Schoenbach to Hollander:
 - cover letter stating that more information will
 be forthcoming
 - FOIA information package (see 12/88 above)
 - 2/12/88 "Responses to Potential Press Inquiries
 Concerning Snomax" (see above)
 - 3/6/89 EPA Memo (see above)
- 7/7/89 Documents delivered to EPA by Goodnow to be added to the
 public docket on Snomax:
1. Magazine Article from La Pige (French, with translation)
 2. Two Field Monitoring Reports
 - a) Nakiska, Alberta
 - b) Mt. St. Louis, Ontario
 3. Manuscript Draft, Fate of an Ice Nucleation-Active
Pseudomonas syringae in Alpine Soils, Water and
 Artificially Prepared Snow, Submitted to FEMS
 Microbiology Ecology (5-8-89)

4. Report, Survival of Snomax (P. Syringae) in Sea Water
5. Correspondence from Federal Government - Canada
6. Correspondence from Providence of Ontario, Canada
7. COD and BOD Evaluation
8. Report, Snomax as a Potential Fertilizer, September 1988
9. Report, Determination of Endotoxin Concentration of Snomax by LAL Assay
10. Ward, P. and Demott, 1989 Preliminary Experimental Evaluation of Snomax Snow Inducer, P. Syringae, as an Artificial Ice Nucleus for Weather Modification, WMA, Journal of Weather Modification Vol 21, #4 April p. 9-13
11. Evaluation of the Pathogenic and Ecological Characteristics of Pseudomonas syringae 31a by M.D. Harrison, Colorado State University 1988
12. Report, SNOMAX as a Potential Inhalant, August 1988
13. Potential BOD, Protein, and Total Nitrogen Addition from New York State Ski Areas Using SNOMAX During the 1988-89 Ski Season
14. SNOMAX Viability in Chlorinated Drinking Water, September 1988
15. Material Safety Data Sheet; Snomax
16. Report, Planned Release of Genetically Engineered Organisms II: Unintentional Cross-Species Informational Transfer, The case of the Release of SNOMAX
17. Report, Natural Exposure of Humans to Atmospheric Ice Nucleation Bacteria
18. Chemical Characterization of Snomax
19. Snomax Dust Size Analysis, 9/88

- 6/7/89 Packet, Goodnow (Kodak) to Evans (EPA):
1. 6/7/89 Note Goodnow to Evans: re info on appeal in Santa Fe against use of Snomax by USDA Forest Service, Santa Fe, New Mexico
 2. 4/13/89 Letter Goodnow to Wong (Forest Service): requesting intervenor status
 3. 4/24/89 Letter Rost (Forest Service) granting intervenor status to Goodnow
 4. 5/2/89 Appeal against use of Snomax in Santa Fe National Forest: Statement of Reasons;
S. Hitt for Committee for Integrated Pest Management and Sierra Club, Santa Fe Group
 5. 5/10/89 Goodnow to Wong (Forest Service):
 - Written comments from Dr. Goodnow (Kodak) concerning the appeal
 - Written comments from Dr. Katz (Kodak) concerning appeal

Succinat medium til *Pseudomonas*

Anrikningskultur 8.5.49-"Succinat Salt Medium".

Manual of Methods for general Bacteriology. Gerhardt, P. et. al. 1981.

Natrium-Succinat Salt Medium:

	1 liter
Na-Succinat	4 g
KNO ₃	0.5 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g
MgCl ₂ * 6 H ₂ O	0.2 g
CaCl ₂ * 2 H ₂ O	0.1 g
FeSO ₄ * 7 H ₂ O	0.2 g
FeCl ₂ * 4 H ₂ O	0.007 g

FeSO₄ og MgCl₂ tilsettes mediet etter autoklivering for å unngå utfelling. Disse løsningene lages i 100 x løsning slik at man tilsetter 10 ml/liter medium.

pH 7.0.

Autoklivering: 120°C i 15 minutter.

CaCl₂ * 2 H₂O: 1 g til 100 ml = 10 ml/liter, 10 g/l.

FeSO₄ * 7 H₂O: 2 g til 100 ml = 10 ml/liter, 0.7 g/l.

Fosfatbufret saltvann (PBS), pH 7.2

	1 liter
NaCl	8.50 g
Na ₂ HPO ₄ * 2 H ₂ O	1.44 g
KH ₂ PO ₄	0.24 g

Saltene løses i destillert vann og fortynnes til 1000 ml.

NIVA



Norsk institutt for vannforskning

Postboks 173 Kjelsås, 0411 Oslo

Telefon: 22 18 51 00 Fax: 22 18 52 00

ISBN 82-577-2705-9