



Forord

Dette er en avsluttende oppgave ved masterstudium i naturforvaltning (INA), ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, NMBU. Oppgaven tilsvarer 30 studiepoeng.

Jeg vil først og fremst rette en stor takk til kjempe dyktige veiledere Gunnhild Riise og Thomas Rohrlack ved institutt for miljøvitenskap (IMV). Dere har vært til stor hjelp ved å komme med faglige innspill og gode råd som har ført til et lærerikt utbytte ved gjennomføring av oppgaven. Samtidig lærte dere meg hvordan feltarbeidet skulle utføres. Takk til Gunnhild for rask og god tilbakemelding, og ikke minst godt humør. Tusen takk til Thomas for gode råd og som har gjennomført toksisitetseksperimentet som ble brukt i denne studien.

Jeg vil rette en stor takk til overingeniør Johnny Kristiansen ved IMV, for god veiledning på laboratoriet i løpet av mange uker og under feltarbeid. Jeg stortrivdes på laboratoriet og syntes arbeidet var kjempe gøy, noe som var på grunn av interessant kunnskap fra deg. Jeg setter også veldig pris på at du hjalp til med vannanalysene, og ikke minst gode samtaler!

Videre vil jeg takke biveileder Sondre Meland, fra Statens vegvesen, for godt læreutbytte av statistiske analyser og for å ha vært tilgjengelig i små frustrerte perioder. Tusen takk for god tilbakemelding.

Jeg vil også takke mine venner, deriblant Ida Dihle, og medstudenter for nyttige tips, gode kaffestunder og støtte under masterskrivingen. Takk til Ole-Johan Skrede for nyttig hjelp, korrekturlesning og gode anbefalinger.

Sist, men ikke minst vil jeg takke Statens vegvesen for økonomisk støtte og finansiering av oppgaven!

Sammendrag

Veg- og jordbruksavrenning er to diffuse forurensningskilder som kan ha en betydelig effekt på vannmiljøet. Årungen, i Akershus, er en eutrof innsjø som har de siste tiårene vært karakterisert av årlige algeoppblomstringer, deriblant giftproduserende cyanobakterier. I tillegg har den invaderende undervannsplanten vasspest (*Elodea canadensis*) lenge dominert strandsonen. Nylig har situasjonen i Årungen endret seg med en markert reduksjon i biomasse av cyanobakterier og kraftig tilbakegang i vasspestbestanden. Samtidig har det blitt påvist forhøyede konsentrasjoner av kobber (Cu) i vannfasen og sedimenter i innsjøen. Hovedfokus i denne oppgaven har vært variasjon i Cu-tilførsler, Cu-kilder i nedbørsfeltet og potensielle effekter på primærprodusenter, ettersom de er sensitive til høye Cu-konsentrasjoner. I løpet av perioden februar-juni 2014, ble ukentlige vannprøver tatt fra syv innløpsbekker og utløpselven i Årungen. Løst Cu ($< 0,45 \mu\text{m}$) og andre kjemiske variabler ble identifisert. Variasjon mellom bekkenes vannkvalitet og kilder til Cu ble belyst ved bruk av prinsipal komponentanalyse (PCA). Et toksisitetseksperiment på lokale fytoplanktonstammer ble også utført (eksponering for Cu-verdier fra 1-100 $\mu\text{g/l}$) for å vurdere om de registrerte Cu-verdiene i bekkene var høye nok til å ha en potensielt toksisk effekt. Resultatene viste at Cu-nivåene i bekkene varierte i tid og rom. De største Cu-fluksene ble registrert under snøsmelting- og gjødslingsperioder, i kombinasjon med store mengder nedbør. Høye gjennomsnittskonsentrasjoner av Cu ble påvist i alle bekkene, hvor Avrenning E6 (9,5 $\mu\text{g/l}$), etterfulgt av Brønnerudbekken (5,4 $\mu\text{g/l}$) skilte seg ut med høyest nivåer. De resterende bekkene viste gjennomsnittsnivåer under halvparten av Avrenning E6. PCA viste variasjon mellom bekkenes vannkvalitet og at veg- og jordbruksavrenning var betydelige Cu-kilder som varierte gjennom året. Vegavrenning inneholdt de høyeste Cu-nivåene med den største konsentrasjonstoppen i vintersesong (under snøsmelting). Jordbruksavrenning var en vesentlig kilde til Cu i løpet av periode med vårgjødsling, i tillegg til at det stod for mesteparten av avrenning til Årungen. Toksisitetseksperimentet viste at cyanobakterien *Planktothrix sp* var mer sensitiv til Cu enn grønnalgene *Stichococcus bacillaris* og *Scenedesmus obliquus*. IC_{50} hos *Planktothrix* var 2 $\mu\text{g/l}$. De registrerte Cu-nivåene, samt tidligere registrerte Cu-nivåer fra sedimentanalyser var høye nok til å ha en potensiell akutt toksisk effekt på cyanobakterier og subakutt toksisk effekt på vasspest. Imidlertid er biotilgjengelighet en nøkkelfaktor i en slik vurdering. Cu sammen med andre forurensningselementer, kan ha bidratt til tilbakegangen av primærprodusentene og bør klarlegges nærmere. Konsekvenser for andre akvatiske organismer i vassdraget bør undersøkes hvor biotilgjengelig Cu vil være sentralt.

Abstract

Road and agricultural runoff are two diffuse sources of pollution that may have a significant impact on the aquatic environment. The eutrophic lake Årungen, in Akershus county, has in recent decades been characterized by annual algal blooms, including toxins produced by cyanobacteria. In addition, the invading aquatic plant pondweed (*Elodea canadensis*), has dominated the shoreline for a long time. Recently, the situation in Årungen has changed with a reduction of the biomass of cyanobacteria and a decline of the pondweed population. It has also been demonstrated elevated concentrations of copper (Cu) in the aqueous phase and sediments in the lake. The focus of this thesis has been variation in Cu-fluxes, sources of Cu in the catchment area and potential effects on primary producers, since they are sensitive to high Cu-concentrations. During the period February-June 2014, weekly water samples were taken from seven inlet streams and the outlet stream in Årungen. Dissolved Cu (<0.45 µm) and other chemical variables were identified. Variation in the water quality between the streams and sources of Cu were illuminated using principal component analysis (PCA). A toxicity experiment on local phytoplankton strains were also performed (exposure to Cu-values from 1-100 µg/l) to assess whether the recorded Cu-values in the streams were high enough to have a potentially toxic effect. The results showed that Cu-levels in streams varied through time and space. The largest Cu-fluxes were recorded during snowmelt and fertilizing periods, in combination with large amounts of precipitation. High average concentrations of Cu were detected in all the streams, where Avrenning E6 (9.5 µg/l), followed by Brønnerudbekken (5.4 µg/l) stood out with the highest levels. The remaining streams showed average levels below the half of Avrenning E6. PCA showed variation between the water quality in the streams, and road and agricultural runoff were significant Cu-sources, varying throughout the year. Avrenning E6 contained the highest Cu-levels with the greatest peak in winter season (during snowmelt). Agricultural-runoff was a major source of Cu during fertilizer period in springtime, in addition to that it accounted for most of the runoff to Årungen. The toxicity experiment showed that the cyanobacterium *Planktothrix sp* were more sensitive to Cu than green algae *Stichococcus bacillaris* and *Scenedesmus obliquus*. IC50 at *Planktothrix* was 2 µg Cu/l. The recorded Cu-levels and previously registered Cu-levels of sediment analyzes were high enough to have a potential acute toxic effect on cyanobacteria and subacute toxic effect on pondweed. However, bioavailability is a key factor in such an assessment. Cu along with other pollution elements, may have contributed to the decline of the primary producers and should be further clarified. Consequences for other aquatic organisms in the watercourse should be examined, where bioavailable Cu will be central.

SAMMENDRAG	2
ABSTRACT	3
1 INNLEDNING	6
1.1 FORMÅL MED OPPGAVEN.....	10
2 OMRÅDEBESKRIVELSE	11
2.1 ÅRUNGEN INNSJØ.....	11
2.2 ÅRUNGENS NEDBØRFELT	12
2.3 NEDBØR OG TEMPERATUR	15
3. MATERIALE OG METODE	16
3.1 FELTARBEID.....	16
3.1.1 Vannprøvetaking.....	16
3.1.2 Vannprøvetaking i denne studien.....	17
3.2 LABORATORIEARBEID	17
3.2.2 Vannkjemiske analyser.....	17
3.2.3 Prøvepreparering.....	18
3.2.4 Biologiske analyser - algekultivering.....	20
3.3 DATAMATERIALE.....	21
3.3.1 Veksthastighet	21
3.3.2 Vekstinhibisjon - IC_{50}	21
3.4 STATISTISKE ANALYSER	22
3.4.1 Multivariat statistikk- PCA.....	22
3.4.2 Kruskal-Wallis test.....	23
3.4.3 T-test (Students t-test).....	23
3.4.4 Lineær regresjonsanalyse	23
4. RESULTATER	24
4.1 VARIASJON I CU-KONSENTRASJONER OVER TID.....	24
4.3 VARIASJON I TOT.N-KONSENTRASJONER OVER TID	25
4.2 BEKKENES CU-NIVÅER	26
4.4 PCA - VANNKJEMISKE PARAMETERE	27
4.4.1 SESONGVARIASJON LANGS PC1 OG PC2	31
4.5 ALGEKULTIVERING	33
4.5.1 LINEÆR REGRESJONSANALYSE- VEKSTHASTIGHET	34
.....	35
4.5.2 INHIBITORISK CU-KONSENTRASJON – IC_{50}	35
5. DISKUSJON	36
5.1 VARIASJON AV CU-KONSENTRASJON OVER TID.....	36
5.2 VARIASJON AV CU-KONSENTRASJON I ROM (BEKKENE OG ÅRUNGENS SEDIMENT)	37
5.3 KILDER TIL CU OG VARIASJON I VANNKVALITET	39
5.4 CU-PÅVIRKNING PÅ FYTOPLANKTON	41
5.5. CU-PÅVIRKNING PÅ VASSPEST	43
6. KONKLUSJON	45
7 REFERANSER	46
8 VEDLEGG	52
VEDLEGG 1. DATASETTE MED VANNKJEMISKE ANALYSER - GJENNOMSNIITT (SE SIDE 54).....	52
VEDLEGG 2. DATA FRA TOKSISITETSEKSPERIMENT (SE SIDE 55).....	52
VEDLEGG 3. RESULTATER PCA	55
VEDLEGG 4. RESULTATER KRUSKAL-WALLIS TEST.....	57
VEDLEGG 5. RESULTATER T-TEST	58

1 Innledning

Våre vannforekomster er utsatt for en økende miljøbelastning fra omgivelsene.

Menneskeskapte påvirkninger bidrar til forurensning og sammen med spredning av fremmede arter bidrar dette til redusert kjemisk og økologisk tilstand i norske elver og innsjøer (Miljødirektoratet 2012; Vanndirektivet 2013). Jordbruk- og vegavrenning er to diffuse forurensningskilder som kan føre til høye konsentrasjoner av næringsstoffer, partikler og miljøgifter. I jordbruket tilføres store mengder gjødsel og plantevernmidler hvert år. I 2013 ble det spredt 124 700 tonn nitrogen og 15 200 tonn fosfor på norsk åker og eng (Gundersen 2014). Avrenning av næringsstoffer, jordpartikler, organisk materiale og plantevernmidler til resipient kan føre til eutrofiering, endringer i det akvatiske økosystemet og tap av biomangfold (Cooper 1993; Correll 1998; Schwarzenbach et al. 2006; Tilman 1999). På samme måte kan avrenningsvann fra trafikkerte veier ha en betydelig effekt på vannmiljøet (Beasley & Kneale 2002; Emmanuel et al. 2008; Meland 2010). Trafikkrelatert forurensning inneholder blant annet vegsalt, tungmetaller og PAH (Polyaromatiske hydrokarboner), og er et resultat av veg- og kjøretøyslitasje samt vedlikehold- og driftsarbeid (Bækken & Haugen 2006).

Etter at Norge valgte å slutte seg til EUs vanndirektiv, som legger rammer for en helhetlig og samordnet vannforvaltning, ble vannforskriften integrert i norsk lovverk i 2006. Formålet er å sikre beskyttelse og en bærekraftig bruk av norske vannforekomster, samt iverksette nødvendige miljøtiltak for å oppnå eller opprettholde en god tilstand i ferskvann, grunnvann og kystvann. Forvaltningen skal gå på tvers av både kommune- og landegrensene med et fokus på hvert enkelt vassdrag og deres tilhørende nedbørfelt. Vanndirektivets miljømål er å oppnå god økologisk og kjemisk status i alle europeiske vann innen 2021, og da vil identifisering av alle vesentlige påvirkninger være avgjørende i arbeidet med igangsetting av riktige tiltak (Miljødirektoratet 2010).

I tilknytning til forurensning av vannmiljø fra vegavrenning, er kobber (Cu) et blant flere tungmetaller som har fått økt oppmerksomhet de siste årene (Napier et al. 2008). Kjøretøyenes bremsebelegg er en viktig kilde til Cu i vegavrenning, og i tillegg kan Cu avledes fra flere aktuelle kilder som slitasjeprodukt fra asfalt, bildekk og drivstoff (Roseth & Amundsen 2006; Sternbeck et al. 2002). Landbruksavrenning er også en kilde for Cu ved at Cu er tilstede i gjødsel som mikronæringsstoff og i plantevernmidler (Zhang et al. 2003). I naturen forekommer Cu naturlig som viktige komponenter i bergarter og mineraler. Naturlige Cu-konsentrasjoner i

ferskvann kan variere geografisk fra 0,2 til 30 µg/l (Mahrosh et al. 2014). I forhold til foreslåtte konsentrasjoner til bruk i vannregionspesifikke stoffer i Vannforskriften, er øvre grense for bakgrunnsnivåer (naturtilstand) i Norge satt til 0,03 µg Cu/l (Arp et al. 2014).

For dyr og planter er Cu et essensielt næringsstoff i små mengder og er nødvendig for å opprettholde en normal metabolsk funksjon. I forhøyede nivåer er Cu derimot kjent for å være et toksisk grunnstoff (Fairbrother et al. 2007; Flemming & Trevors 1989). Metaller eksisterer i ulike tilstandsformer og kan endre egenskaper under ulike fysiske-kjemiske forhold. Faktorer som pH, konduktivitet og redokspotensial er med å påvirke dette og Cu vil dermed variere i toksisitetsgrad, alt ettersom hvor biotilgjengelig det er (Calmano et al. 2005; Violante et al. 2010). Samtidig varierer potensialet for biologisk opptak mellom organismer på grunn av ulike morfologiske og fysiologiske egenskaper (Erickson et al. 2008). I jordsmonnet er Cu i stor grad bundet til partikler og organisk materiale, noe som gjør at tilgjengeligheten av Cu er normalt begrenset for planters opptak. Også i vannmiljø vil en betydelig del av partikkelbundet Cu sedimentere og akkumulere på bunnen. En mindre andel Cu vil i midlertid være løst i vannfasen (Fernandes & Henriques 1991; Bækken & Haugen 2006). Om forholdene ligger til rette kan også Cu remobiliseres fra partikkeloverflater til vannfasen. På grunn av vannmiljøets evne til å endre metallens løselighet og mobilitet kan alger, høyerestående vannplanter og andre akvatiske organismer potensielt være eksponert for høye Cu-konsentrasjoner (Fernandes & Henriques 1991; Calmano et al. 2005; Fairbrother et al. 2007).

Spredning av fremmede arter er en annen trussel mot naturlig biodiversitet. Undervannsplanten vasspest (*Elodea canadensis*) ble for første gang registrert i Norge i 1925. Planten er naturlig tilhørende i Nord-Amerika, men ble mest sannsynlig introdusert av mennesker som hage- og akvarieplante til Europa på 1800-tallet. I Norge, kan planten påvirke andre organismers levestandard ved å føre til en total endring i plantesammensetning og næringsinnhold i vannet der den etablerer seg (Miljøstatus 2013). Vasspest kan både akkumulere forurensede stoffer og frigjøre dem til vannfasen (Everard & Denny 1985). Planten har potensialet til å utkonkurrere andre planter. Den kan raskt etablere store og tette populasjoner og kan vokse ned til 6 meters dyp. Når planten først er etablert i et vassdrag, kan den spres vegetativt med løsrevne fragmenter langs vassdraget. Menneskelige aktiviteter som bruk og flytting av båter og andre redskaper kan også være en spredningsfaktor. Planten blir sett på som en problempilant i mange land, og på den norske svartelisten er den kategorisert til å ha en svært høy økologisk risiko (SE) (Skovgaard et al. 2009; Artsdatabanken 2012; Mymæl 2012).

Årungen i Akershus fylke har lenge vært en eutrof innsjø med forringet vannkvalitet. Likevel ble vannkvaliteten i innsjøen beskrevet som god før 1950-tallet, noe som har en sammenheng med at det var mindre påvirkning fra menneskelig aktivitet i nedbørsfeltet (Borch et al. 2007). Etter denne tiden skjedde det en omskiftning i jordbruket som gikk fra husdyrhold med eng til økt andel åkerareal. I tillegg til urensset kloakkutslipp, førte en betydelig høyere erosjon- og gjødslingsintensitet til økt næringstilførsel og dårlige forhold i innsjøen. Store fosfortilførsler, samt utlekking fra innsjøens bunnsedimenter, medførte høy biologisk produksjon og årlige algeoppblomstringer i vannmassene. Perioder med oksygenvinn i vannmassene førte til fiskedød og utlekking av illeluktende H₂S-gass. På slutten av 70-tallet, ble det iverksatt restaurerende tiltak for å redusere næringstilførsel fra jordbruket og avløpssystemer i nedbørsfeltet. Reduksjonen gjorde at total fosfor og biomasse av fytoplankton, deriblant cyanobakterier, gikk ned. En vannkvalitet med økt siktedyp indikerte en positiv retning etter ca. 1985 (Krogstad & Løvstad 1993; Borch et al. 2007; PURA 2013). Dessverre varte det ikke lenge før vannkvaliteten forverret seg igjen og oppblomstring fra giftproduserende cyanobakterier ble for første gang registrert i 1992 (Krogstad & Løvstad 1993; Borch et al. 2007). De siste tiårene har Årungen vært karakterisert av masseutvikling av giftproduserende cyanobakterier (Borch et al. 2007; PURA 2013; Romarheim et al. 2012). En ytterligere konsekvens av dette har vært transport av cyanobakterier via Årungselven og videre til Bunnefjorden (del av Oslofjorden) som blant annet har resultert i badeforbud begge steder (PURA 2012; Romarheim et al. 2012).

I tillegg til vannforvaltningens utfordringer med eutrofiering, ble vasspest for første gang registrert i Årungen i 1991. Året etter ble det observert at vasspest fortrengte de største bestandene av vanlig tjønnaks (*Potamogeton natans*) (Krogstad & Løvstad 1993). I perioden etter var strandsonen ofte dominert av vasspest og planten ble observert hver sommer i varierende populasjoner (Krogstad & Løvstad 1993; Skovgaard et al. 2009; Jacobsen & Magnusson 2012). Planten kan blant annet bidra med interngjødsling og har blitt sett på som et viktig fokusområde i vannforvaltningen (PURA 2013). Det er mange brukerinteresser knyttet opp til Årungen og vassdraget. Innsjøen blir i dag benyttet som internasjonal rostadion, jordbruksvanning, fritidsfiske, forskning/undervisning (NMBU) og rekreasjon (PURA 2011). Vannkvaliteten har ofte vanskeliggjort disse relasjonene, og innsjøen har fått mye offentlig oppmerksomhet med kryssende interesser i forhold til oppretting av god vannkvalitet.

Nylig ser det ut som om situasjonen i Årungen endrer seg. En markert reduksjon i biomasse av giftproduserende cyanobakterier utviklet seg i årene etter 2008, og i 2013 tilsvarte det kun en liten andel av fytoplanktonsamfunnet (Romarheim 2012; Magnusson 2014). Oppblomstringer av giftproduserende cyanobakterier har ikke blitt observert etter 2010, og variasjon i fytoplanktonsamfunnet i vekstsesong viser en svært ustabil tilstand (Romarheim 2012; Romarheim et al. 2012; PURA 2013). Redusert mengde cyanobakterier er en ny trend for denne innsjøen. Til tross for mer enn 40 år med tiltak i jordbruket er det fortsatt høye konsentrasjoner av total og oppløst fosfor og nitrogen (PURA 2013; Romarheim 2012). I tillegg er ikke fosfor en begrensende faktor for vekst av cyanobakterier i Årungen (Romarheim 2012). På lik linje med cyanobakterienes utvikling så har vasspestbestanden avtatt drastisk i perioden etter 2008. Ikke en eneste plante ble registrert i 2012 og i tiden etter dette (Jacobsen & Magnusson 2012; Mymæl 2012; Zuur 2014). Den kraftige tilbakegangen av vasspest kan heller ikke forklares med en reduksjon i næringsinnhold. Planten kan ta opp fosfor fra sediment gjennom røttene, samt lagre det når fosfornivået er lavt. En reduksjon i fosforkonsentrasjon i vannfasen vil derfor ikke ha en stor påvirkning på plantens vekst (Global invasive species database 2010). Dessuten kan det også utelukkes at populasjonen er utkonkurrert, ettersom innsjøbunnen ikke er erstattet av annen vegetasjon (Jacobsen & Magnusson 2012; Zuur 2014). Den nåværende situasjonen i Årungen har utviklet seg slik at de dominerende fototrofiske organismene har enten gått tilbake eller forsvunnet, uten å bli utkonkurrert av andre arter. Tilgang til næringsstoffer slik som fosfor og nitrogen har ikke endret seg mye etter nedgangen på 80-tallet. Selv om det har vært variasjoner i konsentrasjoner fra år til år, er det små forskjeller før og etter 2008 (PURA 2013).

Langs Årungen går Europaveg 6, en firefelts-motorveg med høy daglig trafikkmengde. Årsdøgntrafikk langs denne strekningen er i dag beregnet til 41600, som vil si gjennomsnittlig 41 600 passerende kjøretøy per dag (Statens vegvesen 2013). I følge Statens vegvesen klassifiserer denne trafikkmengden til strategi bar veg (>2000 kjøretøy i døgnet). Dette innebærer at det ikke skal ligge snø eller is på vegen med henhold til et godt veggrep og trafikksikkerhet. For å oppnå is- og snøfrie veger tilføres salt (NaCl), ettersom egenskapene ved salt både senker frysepunktet, smelter og hindrer at snøen fester seg til vegbanen (Vaa & Giæver 2007). På den andre siden løses salt lett i vann og følger vannstrømmene. Salt kan mobilisere Cu og andre tungmetaller, og transportere stoffene til nærmeste resipient. Dette gjør de potensielt mer biotilgjengelig i økosystemet (Amrhein et al. 1993; Bækken 1993; Warren & Zimmerman 1994; Bäckström et al. 2004; Amundsen et al. 2008). I 2014 ble det saltet i overkant av 12 tonn per kilometer i Follo distriktet hvor Årungen er lokalisert (Sivertsen &

Skolmli 2014). Til tross for stor grad av salting av vegbanen, viste en undersøkelse om vannkvalitet i 2011 ingen nevneverdig saltpåvirkning fra E6 i Årungen. Det interessante i denne sammenhengen er at resultatene derimot påviste høye konsentrasjoner av Cu i overflatevannet, målt til 21,5 µg/l (Bækken & Åstebøl 2012). Flere studier fra Årungen har også dokumentert høye Cu-konsentrasjoner i bunnvannet på 15 µg/l og i sediment (2,5-5cm) på opptil 63 mg/kg (tørrvekt) (Alnæs et al. 2010; Zambon 2010; Magnusson 2014; Zuur 2014).

En mulig forklaring til endring i artssammensetning, er at cyanobakterier og vasspest i Årungen er utsatt for miljøgifter. Både vasspest og den tidligere dominante cyanobakterien i Årungen, *Microcystis aeruginosa*, er sensitive for høye konsentrasjoner av Cu. En konsentrasjon > 1-20 µg Cu/l er toksisk for *M. aeruginosa* og en konsentrasjon > 50 µg Cu/l er toksisk for vasspest (Küpper et al. 1996; Zeng et al. 2010). Målsetningen med denne oppgaven er å identifisere nivå av Cu i Årungen tilførselsbekker med opphav i ulike delnedbørsfelt, som skiller seg i arealbruk (veg, jordbruk). Hvor og til hvilket tidspunkt kommer Cu-tilførselene fra? Kan de registrerte Cu-nivåene ha en påvirkning på primærprodusenter i Årungen?

1.1 Formål med oppgaven

- Undersøke variasjon av Cu-konsentrasjon i tid og rom. Nivåer av Cu samt andre kjemiske variabler i tilførselsbekker og utløpselven i Årungen vil bli undersøkt. Dette utføres ved å ta ukentlige vannprøver og vannkjemiske analyser over en lengre tidsperiode. Variasjon mellom bekkene vil bli belyst ved blant annet bruk av prinsippal komponentanalyse (PCA).
- Vurdere kilder til Cu. Ut fra de registrerte Cu-nivåene og PCA-analysen vil jordbruk- og vegavrenning vurderes som kilder, ettersom bekkene har opphav i ulike delnedbørsfelt som skiller seg i arealbruk (jordbruk, veg, skog). De registrerte Cu-nivåene vil også vurderes i forhold til bakgrunnsverdier.
- Vurdere om de registrerte Cu-nivåene kan ha en påvirkning på fyttoplankton og vasspest. Primærprodusentene er følsomme for Cu og det vil vurderes om de eksponeres for verdier som kan være toksiske. Dette vil gjøres på grunnlag av toksisitetseksperimenter på lokale fyttoplanktonstammer fra Årungen. Eksisterende litteratur om Cu-påvirkning på vasspest vil også bli tatt i bruk.

2 Områdebeskrivelse

2.1 Årungen innsjø

Årungen med nedbørfelt er lokalisert i landbrukskommunene Ås, Ski og Frogn i Akershus fylke, omtrent 25 km sør for Oslo (59° 41'N, 10° 44'Ø) (figur 1). Årungen er en næringsrik lavlandsinnsjø som ligger 33 meter over havet med en størrelse på 1.2 km² og en lengde på 3 km. Innsjøen har en midlere bredde på 450 meter og er relativt grunn med et gjennomsnittsdyp på 8 meter. Maksimum dybde er 13.2 m. Innsjøen er temperatursjiktet både sommer og vinter, og med en lengderetning nord-sør er den svært vindeksponert noe som tillater full vår- og høstsirkulasjon nesten hvert år (Borch et al. 2007; Romarheim 2012). Innsjøen er klassifisert som kalkrik og humøs (PURA 2013). Innsjøen har via den 3.6 km lange Årungselva utløp i Bunnefjorden.



Figur 1. Årungen innsjø sett fra sør (Tur 2007).

2.2 Årungens nedbørfelt

Nedbørfeltet til Årungen dekker omtrent 51 km², hvorav det høyeste punktet er 160 meter over havet og det laveste er Årungen (33 moh.). Nedbørfeltet er delt inn i flere delnedbørfelt med tilhørende innløpsbekker og en utløpsbekk som er nummerert i figur 2 (Borch et al. 2007). Innløpsbekkene er: Bølstadbekken (2), Norderåsbekken (3), Vollebekken (4), Brønnerudbekken (5), Smedbølbekken (6), Storgrava (7) og Avrenning E6 (8). Årungselta blir her kalt Årungen utløp (1).

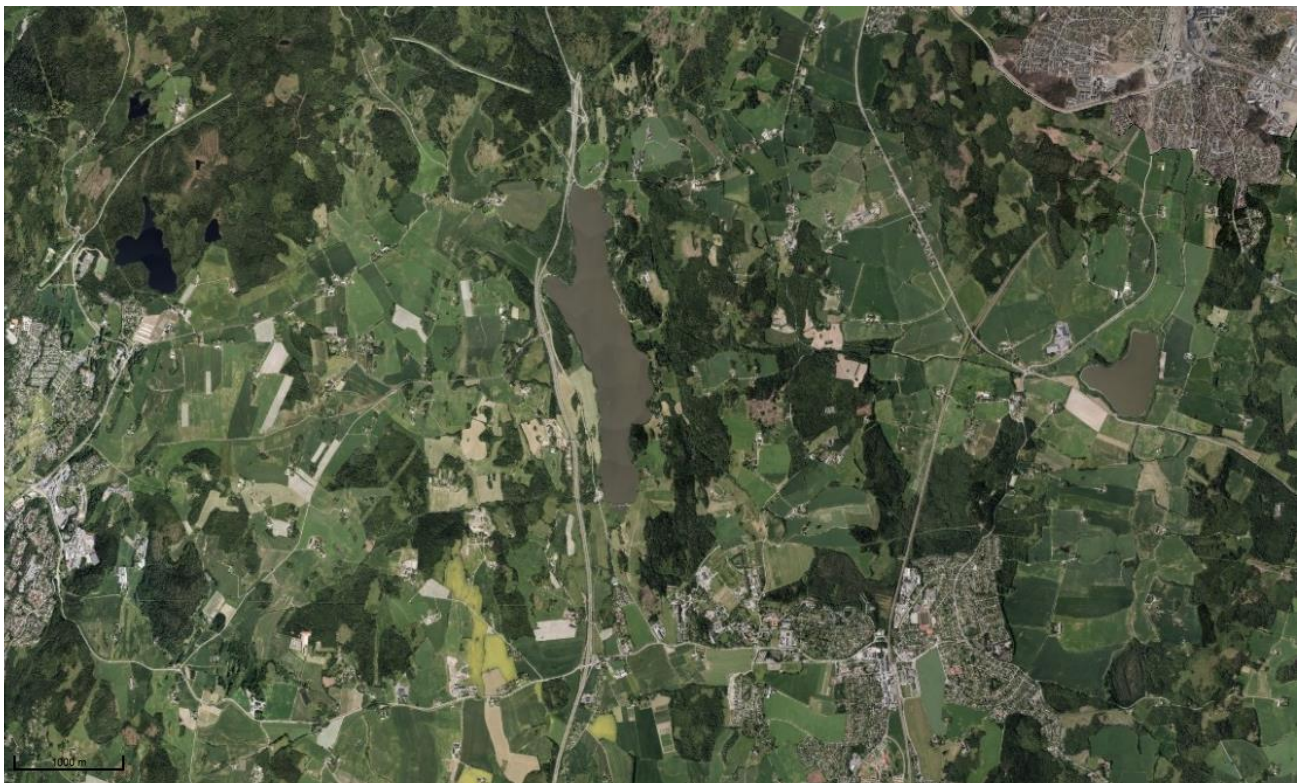


Figur 2. Årungens nedbørfeltet er delt inn i flere delnedbørfelt med tilhørende nummererte tilløpsbekker og en utløpsbekk: 1 Årungen utløp, 2 Bølstadbekken, 3 Norderåsbekken, 4 Vollebekken, 5 Brønnerudbekken, 6 Smedbølbekken, 7 Storgrava og 8 Avrenning fra E6 (Borch et al. 2007).

Berggrunnen i nedbørfeltet er dominert av gneis- og granittiske bergarter, og er dekket av løsmasser som hovedsakelig består av finkornede marine leiravsetninger samt noe strandavsetning og morenemateriale (Borch et al. 2007; NGU 2015). Elvene i området er dermed leirpåvirket (PURA 2013). I følge PURAs rapport fra 2013, er hele Årungen-vassdraget påvirket av eutrofiering. På bakgrunn av fosformålinger og begroingsalger er den økologiske tilstanden i dag klassifisert som moderat i bekkene Bølstadbekken, Norderåsbekken,

Brønnerudbekken, Storgrava og selve innsjøen, målt i Årungen utløp. I Smedbølbekken ble det funnet lammehaler (*Sphaerotilus natans*), noe som indikerer organisk belastning og den er klassifisert til dårlig økologisk tilstand. Basert på kun totalfosfor er den økologiske tilstanden i Vollebekken bestemt til moderat.

Arealbruken i nedbørfeltet domineres av jordbruk (53%), skog og annen utmark (34%) samt urbane områder med bebyggelse og tette flater (10%), (figur 3) (Borch et al. 2007). I hovedsak er det kornproduksjon som utgjør jordbruksarealet (Skog og Landskap 2015). Bebyggelsen er enten spredt i tilknytning til gårdsbruk eller samlet i mindre boligfelt. Områdene med tettest befolkning er sentrert i Ås og Ski sentrum og ved NMBU. Langs østsiden av Årungen går en firefelts-motorveg (E6) med en strekning på 5,4 km innenfor nedbørfeltet. Smiehagetunnelen er lokalisert på nordvestlig side av innsjøen. Det er etablert to rensedamper med våtmarksfilter langs E6-strekningen i tilknytning til vegavrenning og Årungen som resipient (Snilberg et al. 2002; Bækken & Åstebøl 2012; PURA 2013) Formålet med dammene er fordrøyning og rensing av forurenset vegvann, hvor sedimentering av partikler er viktigste renseprosess (Snilsberg et al. 2002).



Figur 3. Flyfoto av Årungen med nedbørfeltet som domineres av jordbruk. E6 går langs vestsiden av innsjøen (Kartverket u.d.)

Delnedbørfeltene Skibekken og Skuterudbekken har utløp til Østensjøvann, som er en del av Årungen største delnedbørsfeltet; Bølstadbekken. I tillegg til store deler jordbruk og skog, så mottar selve Bølstadbekken avrenning fra blant annet tettbebygde arealer i Ski og Ås, E18, industribedrifter i Ski, samt Ås kommunale avfallsdeponi. Tilførselsbekken har en vannføring på 12,6 mill.m³/år som utgjør over halvparten av vannføringen til innsjøen (tabell 1). Sammen med Norderåsbekken har bekkene utløp på østsiden av Årungen. E6 går langs delnedbørsfeltet Brønnerudbekken, som er det minste delnedbørsfeltet i areal (med unntak av Avrenning E6). Selve Brønnerudekken løper ut i Vollebekken før den når Årungen på sørsiden, i motsetning til de andre tilløpsbekkene som har direkte utløp til innsjøen. En av de to etablerte rensedammene (Fagernes) er lokalisert nordvest for sammenkoblingen av disse to bekkene, og løper ut i Vollebekken. Fagernes rensedam (overflateareal <100m²) mottar avrenning fra 37 daa vegflate (Snilsberg et al. 2002). Avrenning E6 har minst vannføring av bekkene. Bekken er lagt i rør og drenerer fra fangdammen på 700m² (Årungsbukta fangdam) som er anlagt sør for Smiehagetunnelen (avrenning fra 56 daa vegflate) (Snilsberg et al. 2002). Årungen utløp er lokalisert på nordsiden av innsjøen. Oversikt over delnedbørsfelt, vannføring og arealbruk er nærmere beskrevet i tabell 1.

Tabell 1. Delnedbørsfelt i areal, årlig avrenning og karakteristisk arealbruk (Snilberg et al. 2002; Borch et al. 2007; Askilsrud 2010).

Delnedbørsfelt/bekk	Delnedbørsfelt areal (km ²)	Avrenning (mill. m ³ /år) *	Avrenning (%)	Karakteristisk arealbruk**
Bølstadbekken	25,5	12,6	50	Store deler jordbruk, skog, Ski tettsted, E18, Østensjøvann og avfallsdeponi
Storgrava	8,4	4,2	17	Hovedsakelig jordbruk. Noe skog, spredt bebyggelse og en mindre del av E6
Smedbølbekken	7,3	3,6	15	Jordbruk, skog. Noe spredt bebyggelse og en mindre del av E6
Norderåsbekken	2,7	1,3	6	Jordbruk og skog
Vollebekken	2,1	1	4	Jordbruk, tette flater og bebyggelse ved NMBU, skog og E6 (Fagernes fangdam).

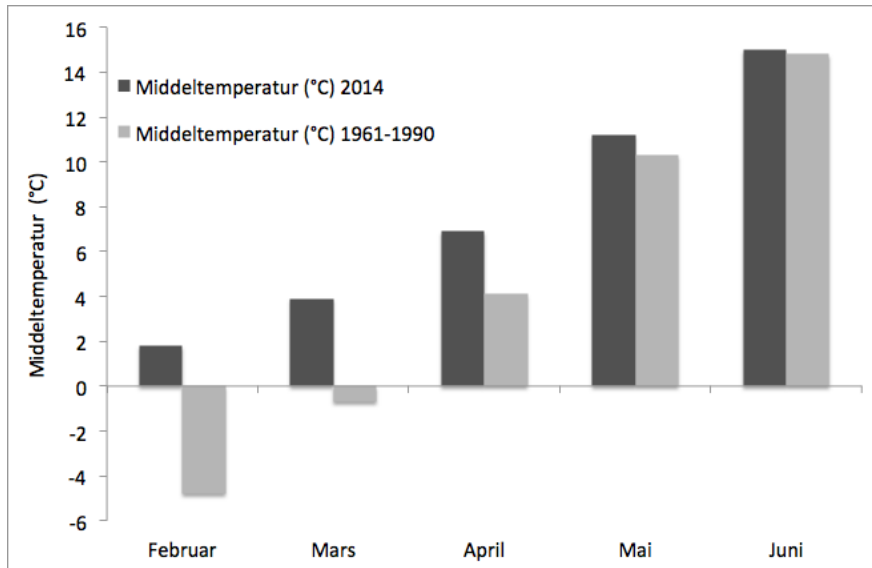
Brønnerudbekken	0,8	0,4	2	E6, jordbruk og noe boligfelt
Avrenning E6 (vegflate som drenerer til fangdam)	0.056 (56 daa)	Ikke beregnet	Ikke beregnet	E6 (Årungsbukta fangdam)
Resterende område (inkludert Årungen og Østensjøvann 1.6 km ²)	4,2	2,1	6	Jordbruk, skog og E6
Sum (totalt nedbørfelt)	51	25,3	100	Jordbruk, skog, urbane områder med tette flater

*Gjennomsnittlig årlig avrenning er beregnet på bakgrunn av meteorologiske data fra tidsperioden 1960-1990, ved differanse mellom nedbør og fordampning. Nedbøren har vært høyere årene etter denne tidsperioden, noe som kan gjenspeile en større vannføring enn angitt i tabellen (Borch et al. 2007).

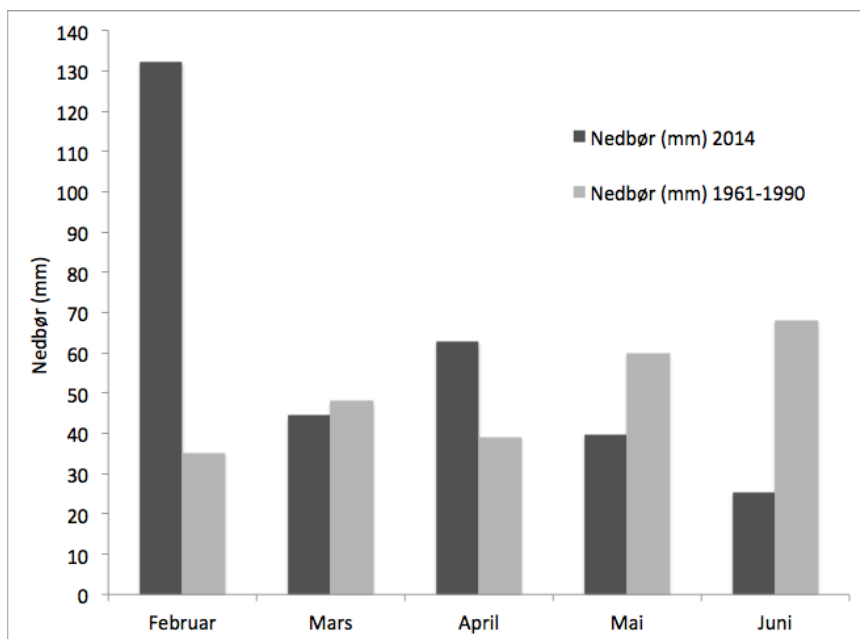
**Arealbruk dominans er vurdert ut ifra flyfoto (Kartverket u.d.).

2.3 Nedbør og temperatur

Årungenes nærmeste meteorologisk stasjon er Ås (NMBU) målestasjon (89 moh.) og ligger omtrent 1,8 km sør for innsjøen (59° 66' N, 10° 78'Ø). Værdata er hentet fra Meteorologisk institutt (Meteorologisk institutt 2014). Månedlig middeltemperatur og nedbør for feltarbeidsperioden (10.02.14 – 25.06.14) er sammenlignet med normalperioden 1961-1990 og kan gi en pekepinn på større vannføring i 2014 (figur 4 og 5). 2014 ble registrert som det varmeste året siden målingene ved målestasjonen startet for 140 år siden (NMBU 2015). 2014 var preget av en varm vinter som fremmer avrenning. Alle månedene var jevnt over varmere enn normalperioden. Februar og mars måned lå henholdsvis 6,5 og 4,5 °C høyere enn normalt. Samtidig var nedbørsmengden i 2014 betydelig høyere i februar og april i forhold til normalperioden. I februar falt det 132 mm nedbør, mot normalt 35 mm. Nedbørsmengden i april målte 62,8 mm mot normalt 39 mm. De høye nedbørsmengdene henger sammen med de unormalt høye temperaturene (NMBU 2015). Mai og juni hadde mindre nedbør i forhold til normalt.



Figur 4. Månedlig middeltemperatur i 2014 og normalperioden 1961-1990 registrert ved Ås (NMBU) målestasjon (Meteorologisk institutt 2014).



Figur 5. Nedbørsmengde i 2014 og normalperioden 1961-1990 registrert ved Ås (NMBU) målestasjon (Meteorologisk institutt 2014).

3. Materiale og metode

3.1 Feltarbeid

3.1.1 Vannprøvetaking

For å ha data og analysere, måtte det innhentes på forhånd. Vannprøver ble tatt fra syv innløpsbekker til Årungen og en utløpsbekk med en frekvens på en gang i uken, i perioden

februar - juni 2014 (uke 7-26). Totalt ble 20 vannprøver tatt fra hver bekk, utenom Avrenning E6, hvor det ble tatt kun 10 prøver på grunn av lav vannføring. Vannprøver fra innløpsbekkene Bølstadbekken, Norderåsbekken, Vollebekken, Brønnerudbekken, Smedbølbekken, Storgrava og Avrenning E6 ble tatt like før utløpet til Årungen, og prøver fra Årungen utløp ble tatt helt i starten av Årungselta (se figur 2 for prøvetakingspunkt). Vannprøvene ble tatt fra overflaten med et beger festet til en teleskopstang (Angular Beaker 5056B) og oppbevart i 0,5 liters prøveflasker. Vannprøvetakeren ble skylt to ganger med vann fra bekken før prøvetaking. Prøveflasken ble kondisjonert med en andel av prøvevannet før den ble fylt opp.

3.1.2 Vannprøvetaking i denne studien

Gjennomsnittlig konsentrasjonsnivå kan påvirkes av ekstrem observasjoner. I motsetning vil medianverdien ikke påvirkes i samme grad og kan vise noe lavere/høyere Cu-nivåer. Likevel er målinger fra denne studien tatt over en lengre periode med høy prøvetakingsfrekvens. Dette avspeiler i større grad transportert mengde stoffer ettersom det ofte er variasjoner i vannføring og kvalitet i mindre elver og bekker. Å utelate hendelser som snøsmelting og vårflokk med mye vannføring kan føre til en underestimert av nivåene. Dette har blant annet vært tilfelle tidligere med Ås kommune som har underestimert fosfortilførsel til Årungen (Askilrud 2010). I denne studien hadde en lengre tidsserie (over et år) samt målinger av vannføring gitt en mer nøyaktig estimering av transporterte stoffer. Studien representerer likevel et godt bilde av bekkenes vannkvalitet og Cu-tilførsel i snøsmelting- og gjødslingsperioden 2014.

3.2 Laboratoriearbeid

3.2.2 Vannkjemiske analyser

Etter at vannprøvene var innsamlet, ble de analysert samme dag som feltarbeidet ble utført. Vannprøvene ble håndtert på laboratorium ved instituttet for miljøvitenskap, IMV (NMBU), ved hjelp av og under tilsyn av overingeniør Johnny Kristiansen og laboratoriepersonell. Det ble tatt analyser av pH, turbiditet, ledningsevne, alkalitet, fargetall ved absorbans 410nm og 254nm (OD 410 og OD 254), total organisk karbon (TOC), oppløst organisk karbon (DOC), total nitrogen (Tot.N), total fosfor (Tot.P), klorid (Cl), nitrat (NO₃-N), sulfat (SO₄²⁻) og fluorid (F). Prøvene for fargetall, DOC, NO₃-N, SO₄²⁻, F og Cl ble filtrert gjennom et membranfilter med porestørrelse 0.45µm før analyse. Prøver for Cu og andre metallbestemmelse ble også filtrert, samt syrekonservert (5% HNO₃) samme dag. Minimum 20ml ble fylt i plastprøverør med kork og oppbevart i fryser til de ble analysert samlet av kvalifisert personale ved IMV laboratoriet. Metallene som ble målt var jern (Fe), kalsium (Ca), natrium (Na), kalium (K),

magnesium (Mg) og aluminium (Al), kobber (Cu), nikkel (Ni), sink (Zn), kadmium (Cd), antimon (Sb), bly (Pb) og krom (Cr). Nærmere metodebeskrivelse av de vannkjemiske analysene (prøvepreparering) blir forklart under.

3.2.3 Prøvepreparering

pH

pH ble målt med pH-meter (PHM210 Standard pH meter) etter Norsk standard (NS 4720, 2.utgave 1979). pH-meteret ble kalibrert mot bufferløsning med pH 4 og 7. Temperatur ble korrigert etter temperatur på prøvevannet, vanligvis romtemperert. Elektroden ble skylt to ganger med ufiltrert prøvevann i beger før pH ble lest av.

Turbiditet

Et turbidimeter (modell 2100AN IS) ble brukt, etter norsk standard (NO-ISO 7027, 1. utgave 1994) for å måle lysreflekterende partikler i vannprøvene. Prøveflasken var romtemperert og ble vendt forsiktig opp-ned for å unngå luftbobler. Glassbeget ble fylt opp med prøvevann før klarheten ble målt og angitt i NTU (Nephelometric Turbidity Units).

Konduktivitet (ledningsevne)

Ionestyrken ble målt med konduktivitetsmåler (CDM 80 konduktivitet meter) etter norsk standard (NS-ISO 7888, 1. utgave 1993). Prøveflasken ble ristet og 25 ml av vannprøven målt i et beger. Temperatur ble registrert og korrigert for. Konduktivitetssensoren ble renset minimum 3 ganger i 2 ulike begre med deionisert vann før måling.

Alkalitet

Bestemmelsen av alkalitet, vannets bufferkapasitet og evne til å nøytralisere syre ved en bestemt pH, ble gjort med instrumentet Dosimat 665 etter norsk standard (NS- EN ISO 9963-1, 1.utgave 1996). Målingen ble tatt på 50 ml ufiltrerte vannprøver med pH-meter (samme instrument som for pH-målingene), magnetisk rørestativ og en magnetstav. Saltsyre, 0.02 molar HCl-løsning ble tilført helt til pH målte 4.5 (deteksjonsgrense: 0.04 meq L⁻¹).

Fargetall (OD 410 og OD 254)

Vannets farge ble målt med et spektrofotometer etter norsk standard (NS 4787, 2. utgave 2002). 5 ml av filtrert prøvevann ble overført med pipette til 50mm kvartskyvetter. Absorbansen ble først målt ved bølgelengde på 410nm og siden på 254nm, men da i 10mm kvartskyvetter. Deionisert vann ble brukt til nullstilling av målecellene.

Total organisk karbon og oppløst organisk karbon

TOC og DOC ble målt i en TOC-analysator (modell ASI-V og TOC-V) etter norsk standard (NS-EN 1484, 1.utgave 1997). Uttak av vannprøvene var 10ml. Prøvene ble håndtert av

kvalifisert personell ved IMVs laboratorium, etter metode basert på instrumentets brukermanual (deteksjonsgrense: 0,2 mg L⁻¹).

Total nitrogen

Tot.N (total mengde) ble analysert ved flytinjeksjon analyse, FIA-instrument (FIAstar 5023 spektrofotometer, 5023 Detector Controller og 5010 analysator fra Tecator) etter norsk standard (NS 4743, 2.utgave 1993). 10ml av vannprøven ble overført med pipette til plastbeger, i tillegg ble tre blankprøvebeger fylt med 10ml deionisert vann og tre med 10 ml kalibreringsløsning på 2mg/l NO₃-N. Pipetterør ble byttet etter hver 10. prøve. Alle begrene ble tilsatt 5ml oksidasjonsløsning (peroksodisulfat) og deretter autoklavert (sterilisert) i 30 minutter på 121 °C. Videre analyser med FIA-instrumentet, hvor Tot.N ble bestemt med absorbans ved 540 nm i et innebygget spektrofotometer, ble utført av laboratoriepersonell (IMV) etter instrumentets brukermanual.

Total fosfor

Tot.P (total mengde) ble analysert med spektrometrisk metode og autoklaveringsinstrument etter norsk standard (NS-EN 1189, 1. utgave 1997). 15ml av vannprøven ble overført med pipette til plastbeger, i tillegg til tre blankprøver med 15ml deionisert vann og tre med kalibreringsløsning på 400 µg/l Tot. P (oksidasjonsløsning). Deretter ble alle begrene tilsatt 3 ml med oksidasjons løsning (peroxodisulfat) og autoklavert i 30 minutter på 121 °C. 5ml av hver oppsluttet prøve ble blandet godt sammen med 0.22ml askorbinsyre og 0,22ml ammoniummolybdat til en blåfarget kompleks ble dannet. Etter minimum 10-15 minutter ble Tot. P bestemt ved fargeanalysering med spektrofotometer på bølgelengde 880nm i 20 mm kyvetter. Blankprøvene ble målt først, deretter vannprøvene og tilslutt kalibreringsløsningene (deteksjonsgrense: 1 µg L⁻¹).

Nitrat (NO₃-N), sulfat (SO₄), fluorid (F) og klorid (Cl)

Konsentrasjon av anioner ble bestemt ved ionekromatografi, en analysemetode som separerer anioner og kationer (ved bruk av IonPac AS22-Fast og XYZ AutoSampler, ASX-500 Series) etter norsk standard (NS-EN ISO 10304-1). Uttak av de filtrerte vannprøvene var minimum 6 ml. Prøvene ble håndtert av Johnny Kristiansen og kvalifisert personell (IMV) i henhold til brukermanualen.

Kobber- og andre metallbestemmelser

Konsentrasjon av de ulike metallene ble bestemt ved bruk av ICP-MS instrument (Agilent 8800). Den kjemiske analysemetoden bestemmer innhold av stoffene ved hjelp av massespektrometer. Vannprøvene for metallbestemmelser ble som tidligere nevnt filtrert

(fjernet metaller bundet til partikulær fraksjon > 0,45µm) og ble videre analysert av kvalifisert personale ved IMV laboratoriet. Det ble brukt kalibreringsstandard. Deteksjonsgrensen for hvert stoff er den laveste målegrensen for når stoffet med en viss sikkerhet kan påvises i analysen. Kvantifiseringsgrense er målegrensen der stoffet kan påvises med høy grad av sikkerhet, ved at det kan påvises forskjell mellom to verdier. Tabell 2 gir oversikt over de analyserte metallene, samt deteksjonsgrensene og kvantifiseringsgrense for de ulike stoffene.

Tabell 2. Oversikt over metaller samt deteksjonsgrense og kvantifiseringsgrense som ble analysert med ICP-MS

Metall	Deteksjonsgrense (LD)	Kvantifiseringsgrense (LQ)
Kobber (Cu)	0,02 (µg/l)	0,06 (µg/l)
Jern (Fe)	0,08 (µg/l)	0,26 (µg/l)
Kalsium (Ca)	0,011 (mg/l)	0,037 (mg/l)
Natrium (Na)	0,007 (mg/l)	0,024 (mg/l)
Kalium (K)	0,004 (mg/l)	0,014 (mg/l)
Magnesium (Mg)	0,0004 (mg/l)	0,0013 (mg/l)
Aluminium (Al)	0,8 (µg/l)	2,5 (µg/l)
Nikkel (Ni)	0,07 (µg/l)	0,24 (µg/l)
Sink (Zn)	0,004 (µg/l)	0,015 (µg/l)
Kadmium (Cd)	0,02 (µg/l)	0,06 (µg/l)
Antimon (Sb)	0,0006 (µg/l)	0,0019 (µg/l)
Bly (Pb)	0,003 (µg/l)	0,009 (µg/l)
Krom (Cr)	0,03 (µg/l)	0,11 (µg/l)

3.2.4 Biologiske analyser - algekultivering

Algene som ble testet i vekstforsøket er tidligere stammer av cyanobakterien *Planktothrix sp* og grønnalgen *Scenedesmus obliquus* og *Stichococcus bacillaris* som ble isolert fra Årungen henholdsvis i 1983, 1964 og 1965. Tre replikater av hver fytoplanktonart ble eksponert for ulike konsentrasjoner av Cu; 1, 5, 10, 20, 50 og 100 µg/l. Det ble også tatt kontrollforsøk uten eksponering. Forsøket ble gjennomført i 2ml mikrotiterplater hvor partikkeltetthet (biomassekonsentrasjon) ble målt som optisk tetthet ved 800nm, dag 0 og dag 4. Celletetthet ble også observert med mikroskop. Ytre betingelser som lysintensitet målt til 3µmol/m²/s og

temperatur på 16.5 °C ble holdt konstant. Kulturmedium var BG11 med pH 7,4 (utført av Thomas Rohrlack).

3.3 Datamateriale

Datamaterialet som ble innhentet fra vannprøvene består av de ulike parameterne pH, turbiditet, alkalitet, konduktivitet, OD 410, OD 254, TOC, DOC, Tot.P, Tot.N, F, Cl, NO₃-N, SO₄²⁻, Na, Mg, Al, K, Ca, Cr, Fe, Ni, Cu, Zn, Sb og Pb. Et fåtall av Cr-verdiene ble målt til under deteksjonsgrensen (<0,03). For og ikke utelate Cr fra de statistiske analysene, ble halvparten av deteksjonsgrensen satt som erstatningsverdi (0,015) Dette er vanlig praksis i behandling av datamateriale i statistikk, men kan ha sine begrensninger (Helsel 2006). De lave Cr-verdiene var tre målinger fra Smedbølbekken (30.04.24, 18.06.14 og 25.06.14) og to målinger fra Vollebekken (11.06.14 og 18.06.14). Parameteren Cd ble derimot ikke brukt i databearbeiding på grunn av verdiene var under enten deteksjons- eller kvantifiserings-grensen. Datamaterialet fra algeforsøket består av parameterne kontroll (ingen tilsetning av Cu) og følgende konsentrasjonsserie av Cu; 1, 5, 10, 20, 50 og 100 µg/l. Middeltemperatur- og nedbørdata fra feltarbeidsperioden ble også innhentet fra klimadatabasen til Meteorologisk institutt (Meteorologisk institutt 2014).

3.3.1 Veksthastighet

Algenes veksthastighet vil si hastighet på celledelingen. Vekstraten α (per døgn) ble regnet ut som

$$\alpha = \frac{1}{4} \frac{\ln(m_2) - \ln(m_1)}{t_2 - t_1}$$

Der m_2 og m_1 er algens biomasse (partikkeltetthet) ved tidspunktene t_2 (dag 4) og t_1 (dag 0) respektivt.

3.3.2 Vekstinhibisjon - IC₅₀

IC₅₀ (halvt maksimal inhibitorisk konsentrasjon) er et mål på hvor effektivt et stoff kan inhibere en biologisk prosess med en halvpart. Spesielt for denne oppgaven vil IC₅₀ indikere konsentrasjonen av Cu som er nødvendig for å hemme algenes veksthastighet med 50 % (in vitro) i forhold til kontrollkulturer. Med utgangspunkt i gjennomsnittlig veksthastighet for kontrollkulturene og for konsentrasjonsserie-kulturene (dag 4), ble algenes vekstinhibisjon ved hver Cu-konsentrasjon regnet ut i prosent (utført av Thomas Rohrlack). Videre ble IC₅₀ ble regnet ut ved

$$IC_{50} = \arg_k I(k) = I_{max} - 0.5 * (I_{max} - I_{min})$$

Altså konsentrasjonen κ , når inhibisjonen I , er halvparten mellom maksimal inhibisjon I_{max} og minimal inhibisjon I_{min} . IC_{50} ble kun regnet ut på cyanobakterien *Planktothrix*. Det var ikke mulig å beregne IC_{50} hos grønnalgene *Scenedesmus* og *Stichococcus*, ettersom at vekstinhibisjon aldri nådde 50 %. I tillegg ble effektverdiene $>20 \mu\text{g Cu/l}$ hos *Planktothrix* ekskludert fra testen med hensyn til artefakt ved forsøket.

3.4 Statistiske analyser

Microsoft Office Excel 2011 (versjon 14.4.1) ble brukt til å organisere alle dataene. Presenterte diagrammer av Cu-variasjoner, Tot.N-variasjoner samt veksthastighet og dose-respons relasjon ble gjort i Excel. Jeg benyttet statistikkprogrammet Minitab (versjon 17) til de statistiske testene PCA, Kruskal-Wallis test, t-test (Students t-test) og lineær regresjonsanalyse. Standard kriterium for statistisk signifikans var alfa nivå = $< 0,05$. For å unngå ekstremverdier ved sammenligning av parameterne ulike måleenheter i de statistiske testene, og dermed minimere store forskjeller i konsentrasjoner, ble variabelverdiene transformert (normalisert) ved funksjonen $\log(x+1)$. Dette gjelder ikke pH-verdiene.

3.4.1 Multivariat statistikk- PCA

Multivariat statistikk brukes på store datasett med flere variabler (multidimensjonalt), og fremstiller en forenkling av datamaterialet ved å redusere antall dimensjoner. PCA (prinsipalkomponent analyse) er en multivariat statistisk metode som fremstiller korrelerte variabler som forklarer det meste av variasjonen i datasettet. I en PCA finner man prinsipalkomponenter, aksene i et ordinasjonsdiagram. Hver akse består av en eller flere kombinerte opprinnelige variabler, og som utgangspunkt har man like mange akser som variabler. Den første aksene vil gå i den retningen der det er mest variasjon i datasettet. Andre aksene vil være den retningen som står vinkelrett på den første aksene (som vil si ukorrelerte komponenter) og står for nest mest variasjon. Tredje akse er vinkelrett på de to første, og står for tredje mest variasjon i datasettet, og slik fortsetter det. Ved å velge prinsipalkomponenter som dimensjoner vil en unngå å miste alt for mye informasjon (Tabachnick & Fidell 2013).

PCA viser i denne oppgaven fordeling av de ulike vannprøvene/bekkene langs ordinasjonsakser (prinsipalkomponenter) der de karakteriseres av miljøvariablenes verdier (parameterne). Prøvene som er likest i kjemisk sammensetning plasseres nært hverandre og de prøvene som er mest ulike plasseres langt fra hverandre. I tillegg vises miljøvariablene som piler i PCA

diagrammet. Piler plassert nært hverandre er positivt korrelert, piler i motsatt retning er negativt korrelert, og piler plassert nærmest vinkelrett på hverandre er ukorrelert. De lengste pilene er viktigst for å forklare variasjonen sammenlignet med de korte. Jeg benyttet PCA til å visualisere forhold som variasjon mellom bekkenes vannkvalitet og hvilke miljøvariabler som hovedsakelig forklarer denne variasjonen. PCA ble også brukt til å visualisere variasjon mellom vannprøver som ble tatt i to ulike sesonger. De ti første vannprøvene fra hver bekk ble inndelt i vintersesong (prøver tatt 10.02.14 til og med 16.04.14). De ti siste prøvene fra hver bekk representerte sommersesong (prøver tatt 23.04.14 til og med 25.06.14). Tilnærmet likt utvalg i hver sesong var begrunnelse for inndelingen. Tidspunkt før og etter eventuell gjødsling og pløying i jordbruket ble også tatt i betraktning.

3.4.2 Kruskal-Wallis test

Kruskal-Wallis test er en ikke-parametrisk metode som sammenligner tre eller flere prøvers medianverdi for å avgjøre om de er statistisk ulike. Testen rangerer dataverdiene (gjøres om til ordinal-skala) og kan for eksempel tas i bruk når residualene i datasettet ikke er normalfordelt. Nullhypotesen er at utvalgene i testen har en identisk fordeling (Minitab Inc 2015b). Jeg benyttet Kruskal-Wallis test på bekkenes prøveskår langs akse 1 og 2 i PCA, til å undersøke om bekkene var signifikant forskjellig plassert langs ordinasjons-aksene. Bakgrunnen er å redusere antall tester (unngå type 1 error) som er mange ved bruk av originale data. Det gir et overordnet bilde på vannkvaliteten og ikke enkelt-parameter. Ved å forkaste nullhypotesen viser Kruskal-Wallis testen at minst to av prøvene er forskjellig, men identifiserer ikke hvilke. Dataene ble ikke videre analysert med post hoc test for å bestemme hvilke bekker som var forskjellig. Dette grunnet at Minitab ikke har post-hoc tester for ikke-parametriske tester.

3.4.3 T-test (Students t-test)

T-test sammenligner to prøvers gjennomsnitt og gir svar på om det er signifikant forskjell mellom dem. En av forutsetningene for t-test er normalfordeling av dataene. Om dataene ikke er normalfordelt er testen likevel robust nok om det er tilstrekkelig antall prøver i datasettet ($N > 20$) (Minitab Inc 2015a). Jeg benyttet en paret t-test til å finne ut om det var signifikant forskjell mellom bekkenes vannprøver fra to sesonger.

3.4.4 Lineær regresjonsanalyse

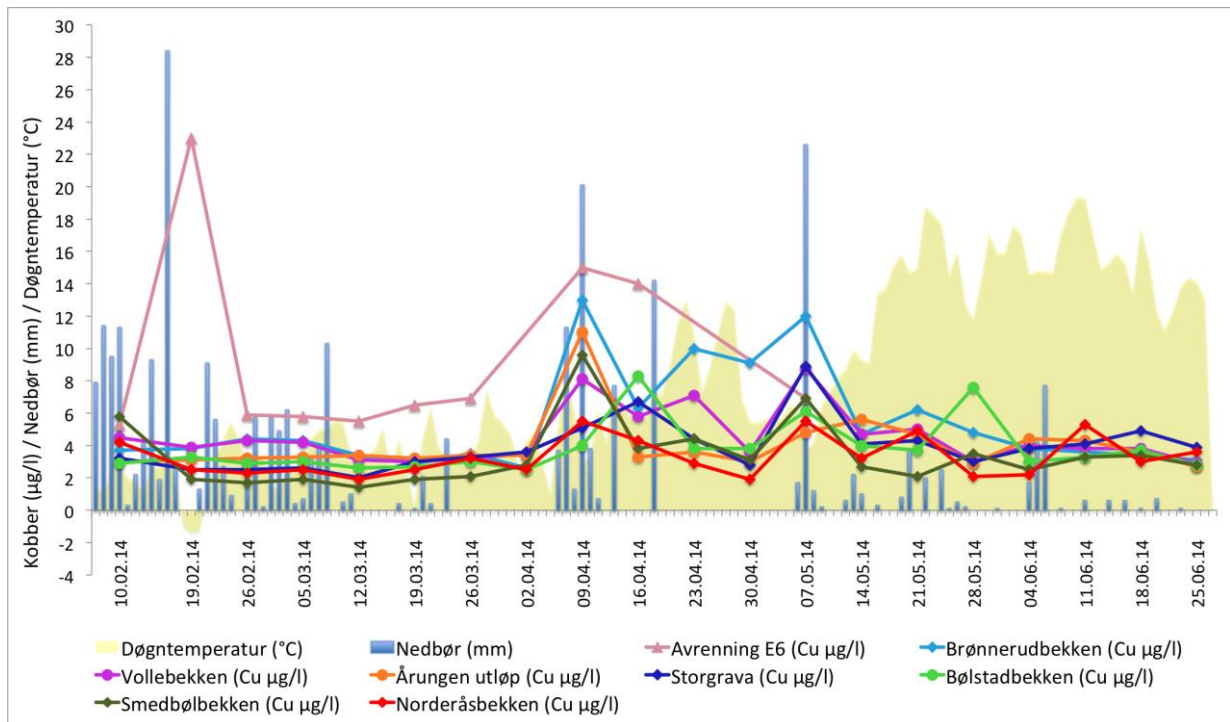
Regresjonsanalyse påviser i hvilken grad en uavhengig og en avhengig variabel samvarierer. Metoden forutsetter er normalfordeling av residualene i datasettet. Lineær regresjon finner den kurven som best passer målepunktene og lager en lineær funksjon som forutsier hendelsen innenfor et visst område. Jeg brukte lineær regresjonsanalyse for å undersøke mulige

sammenhenger mellom algeartenes gjennomsnittsvæksthastighet og Cu-konsentrasjon (utført i Minitab). Effekten av Cu-konsentrasjon ble fremstilt i et dose-respons diagram (logaritmisk regresjon utført i Excel).

4. Resultater

4.1 Variasjon i Cu-konsentrasjoner over tid

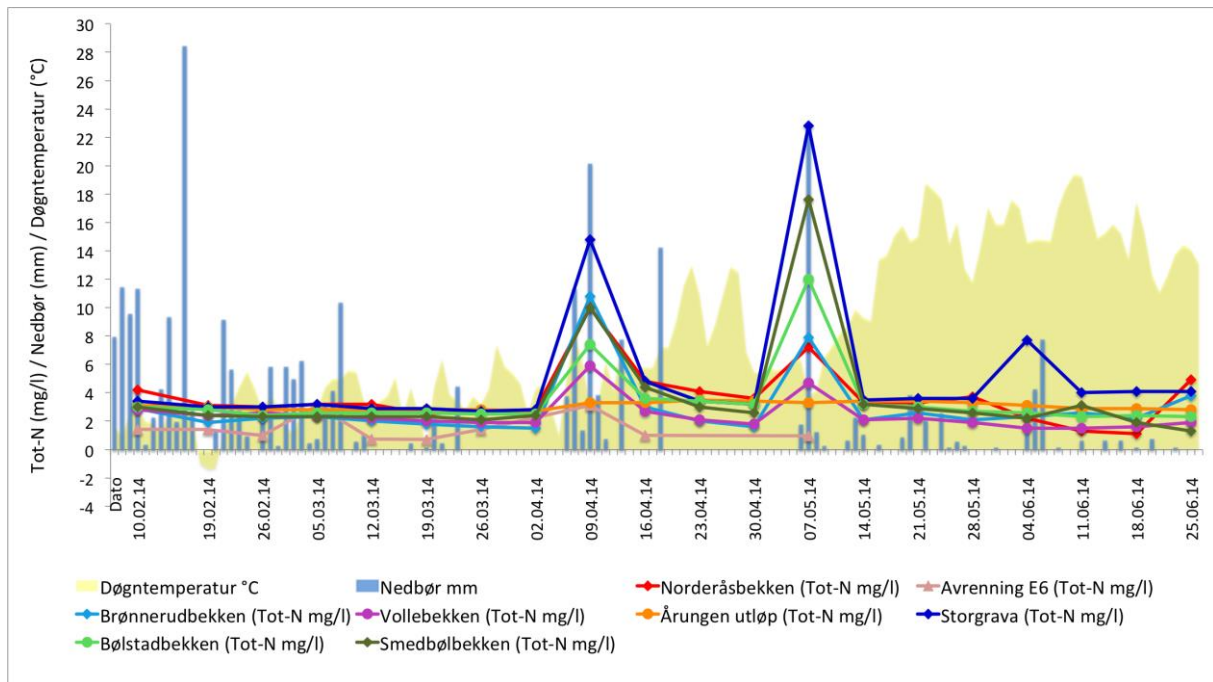
Bekkene viste store variasjoner i Cu-konsentrasjon over tid (figur 6). Variasjon i nedbørsmengde og døgntemperatur for perioden er også presentert. Avrenning E6 viste generelt høyest Cu-verdier og hadde sin første og største topp den 19.02.14 (målt til 23 µg Cu/l). I motsetning til Avrenning E6, viste Cu-verdiene for de andre bekkene, på samme tid, et stabilt og lavere nivå. Tidspunktet for ekstremverdien var tre dager etter den høyeste registrerte nedbørsmengden i løpet av perioden, målt til 28,4mm (16.02.14). Det var ingen nedbør den 19.02.14 og minusgrader (-1,4 °C). Denne dagen var blant de tre kaldeste dagene i løpet av perioden med døgntemperatur under 0 °C. Alle bekkene viste en tydelig økning i Cu-konsentrasjon fra og med den 09.04.14, og Brønnerudbekken (13 µg Cu/l), Smedbølbekken (9,6 µg Cu/l) og Årungen utløp (11 µg Cu/l) hadde sine største registrerte topper denne dagen. I tillegg var det mye nedbør (20,1 mm) og døgntemperatur med plussgrader (2,9 °C) denne datoen. Cu-konsentrasjonen i Bølstadbekken viste først betydelig økning uken etter, med sin største topp (målt til 8,3 µg Cu/l) den 16.04.14. Den siste målingen fra Avrenning E6 ble tatt den 07.05.14. Det var den eneste prøven fra Avrenning E6 som viste lavere Cu-verdi sammenlignet med målinger fra andre bekker tatt samme dag. Brønnerudbekken (12 µg Cu/l), Storgrava (8,9 µg Cu/l), Vollebekken (8,8 µg Cu/l) og Smedbølbekken (6,9 µg Cu/l) viste enten høyere eller like verdier som Avrenning E6 (6,9 µg Cu/l). Denne dagen var det registrert mye nedbør (22,6 mm) og en døgntemperatur på 3,8 °C. Fra og med den 14.05.14 og resten av prøvetakingsperioden viste alle bekkene, utenom Bølstadbekken og Norderåsbekken (samt Avrenning E6 som ikke ble målt), en tendens til reduksjon og stabile Cu-verdier. Temperaturen i denne perioden var betydelig høyere enn tidligere i prøveperioden. Datasett med gjennomsnittlige Cu-konsentrasjoner og andre parametere fra de vannkjemiske analysene finnes i vedlegg 1.



Figur 6. Cu-konsentrasjon i tilførselsbekker og utløpselva til Årungen i perioden 10.02.14-25.06.14. Hvert av bekkenes punkter representerer måling av Cu-konsentrasjon som ble tatt på prøvetakingsdatoen angitt loddrett under på x-aksen.

4.3 Variasjon i Tot.N-konsentrasjoner over tid

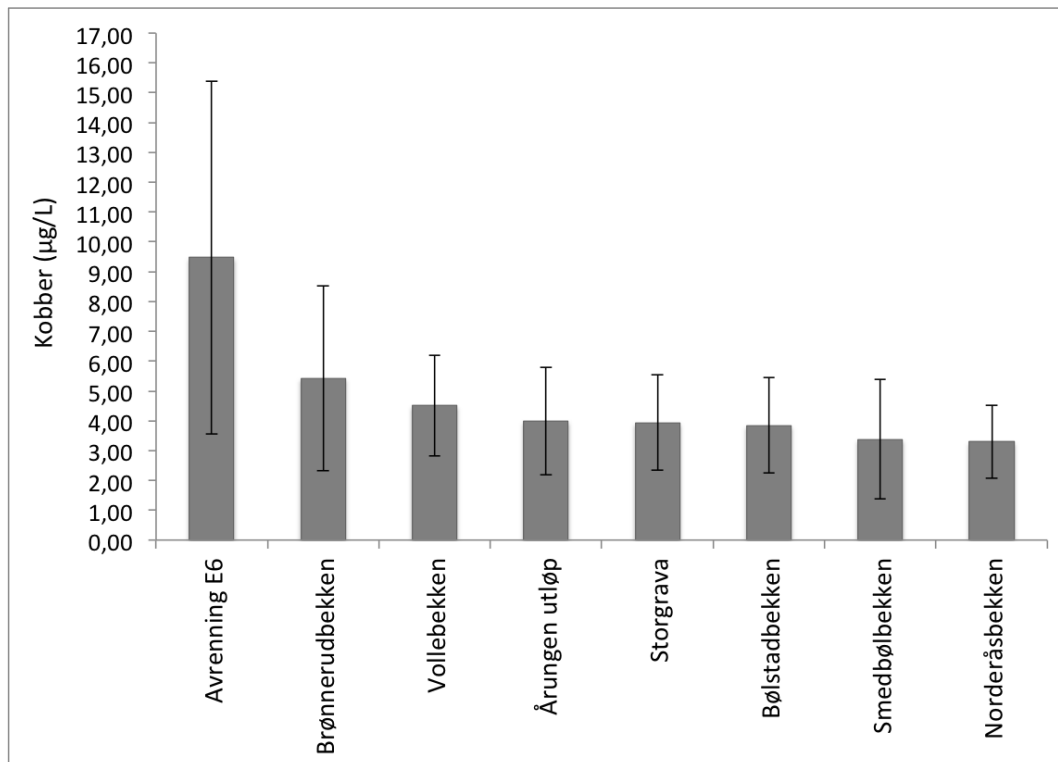
Tot.N (mg/l) varierte i løpet av perioden 10.02.14-25.06.14 (figur 7). I tidsrommet før 09.04.14 lå alle bekkene på et stabilt og lavt konsentrasjonsnivå. Nedbørsmengden varierte og døgntemperaturen viste generelt lave temperaturer rett over 0 °C. Alle bekkene utenom Avrenning E6 og Årungen utløp viste to tydelige konsentrasjonstopper den 09.04.14 og 07.05.14. Disse toppene samsvarte med store nedbørsmengder og plussgrader samme dag. De to konsentrasjonstoppene kom også etter to lange perioder uten nedbør. Storgrava viste generelt de høyeste Tot.N-verdiene (målt 22,8 mg/l den 07.05.14). Det var også registrert en tredje topp den 04.06.14 (7,7 mg/l) i Storgrava, i motsetning til de andre bekkene. Avrenning E6 viste generelt de laveste Tot.N-verdiene, med en maksimalverdi på 3,1 mg/l (05.03.14 og 09.04.14). Avrenning E6 og Årungen utløp lå på et stabilt nivå under hele perioden. Tot.N-verdiene i disse to bekkene viste liten variasjon og respons på store nedbørsmengder. Siste måling fra Avrenning E6 ble tatt 07.05.14 og viste betydelig lavere Tot.N-verdi i forhold til de andre bekkene.



Figur 7. Tot.N- konsentrasjoner i tilførselsbekker og utløpselva i Årungen i perioden 10.02.14-25.06.14. Hvert av bekkenes punkter representerer måling av Tot.N som ble tatt på prøvetakingsdatoen angitt loddrett under på x-aksen.

4.2 Bekkenes Cu-nivåer

Gjennomsnittlig Cu-nivå ($\mu\text{g/l}$) og standardavvik (\pm) varierte mellom bekkene. Avrenning E6 viste høyest gjennomsnittsverdi ($9,5 \pm 5,9$) og Norderåsbekken lavest gjennomsnittsverdi ($3,3 \pm 1,2$) (figur 8). Brønnerudbekken viste nest høyest gjennomsnittlig Cu-nivå ($5,4 \pm 3,1 \mu\text{g/l}$), etterfulgt av bekkene Vollebekken ($4,5 \pm 1,7$), Årungen utløp ($4 \pm 1,8$), Storgrava ($3,9 \pm 1,6$), Bølstadbekken ($3,9 \pm 1,6$) og Smedbølbekken ($3,4 \pm 2$). Med unntak av Avrenning E6 og Brønnerudbekken, viste bekkene nivåer som lå omtrent under halvparten av Avrenning E6. Standardavvik viser spredning av enkeltverdiene og dermed avvik fra gjennomsnittverdien. Avrenning E6 hadde størst spredning i Cu-verdiene, i motsetning til Norderåsbekken med lavest standardavvik og størst likhet mellom hver enkel verdi.



Figur 8. Gjennomsnittlig Cu-konsentrasjon ($\mu\text{g/L}$) og standardavvik i tilførselsbekker og i utløpselva til Årungen (rangert fra høyest til lavest gjennomsnittverdier) i perioden 10.02.14-25.06.14.

4.4 PCA - vannkjemiske parametere

Prinsipalkomponentene (PC), også kalt ordinasjonsaksene, representerer ulike lineære kombinasjoner av de originale variablene. De to første aksene PC1 og PC2 bidro med betydelig informasjon med egenverdier på henholdsvis 10,1 og 5,5 og forklarte tilsammen 59,9 % av den totale variasjonen i datasettet (tabell 3). PC1 forklarte mest av variasjonen (38,8 %), etterfulgt av PC2 (21,1 %). De miljøvariablene med høyest forklaringsverdier på ordinasjonsaksen (prinsipalkomponenten) er de som karakteriserer aksene. En høy forklaringsverdi (positiv eller negativ) viser at en økning langs aksene gir enten økning eller reduksjon i den korrelerte miljøvariablen. Bekkenes plassering langs ordinasjonsaksene vil dermed gjenspeile kvaliteten og hvordan de karakteriseres av de ulike miljøvariablene. Det var flere miljøvariabler som karakteriserte PC1. Al og turbiditet var sterkt positivt korrelert med PC1. Parameterne som var sterkt negativt korrelert var alkalitet, Ca, Mg, SO_4 , konduktivitet, K, Na og Cl. PC2 var hovedsakelig bestemt av de positivt korrelerte miljøvariablene TOC, DOC, Cu, Zn, OD 254, Pb, Sb, OD 410, Cl, Na, Cr, og konduktivitet.

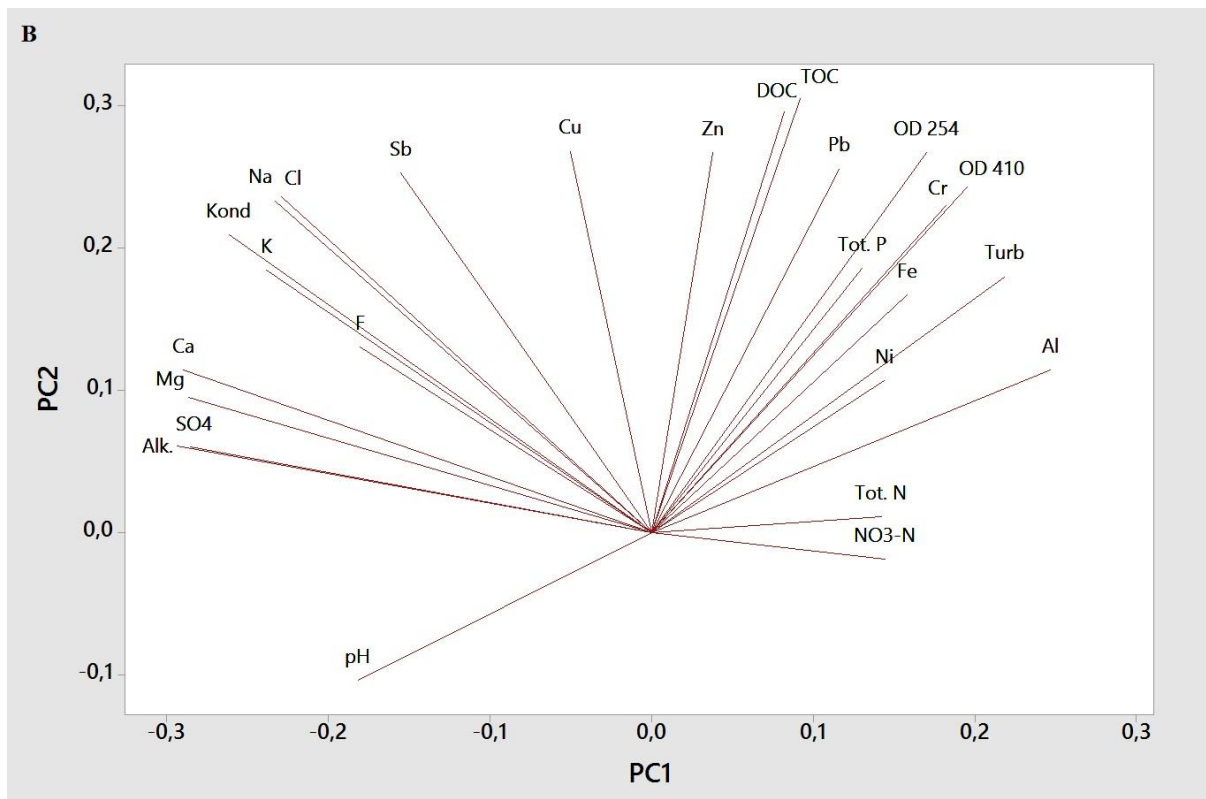
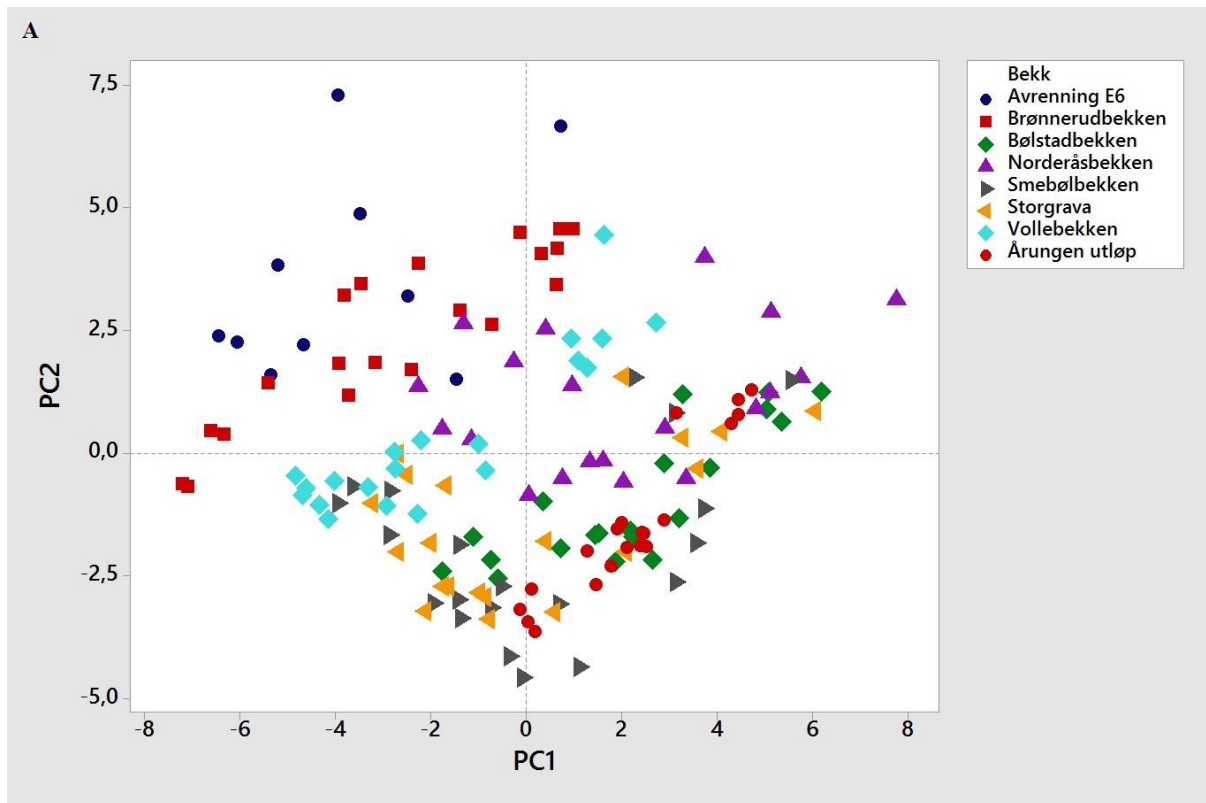
Tabell 3. PCA resultater av bekkenes kjemiske sammensetning. Tabellen viser ordinasjonsaksenes egenverdi og variansprosent samt forklaringsverdier for hver miljøvariabel. PC1 og PC2 (første og andre akse) er uthevet i tabellen.

Eigenvalue	10,098	5,479	2,649	2,246	1,208
Proportion	0,388	0,211	0,102	0,086	0,046
Cumulative	0,388	0,599	0,701	0,787	0,834

Variable	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
Tot. P	0,130	0,186	0,338	0,020	-0,150
Tot. N	0,142	0,011	0,205	-0,499	-0,034
TOC	0,092	0,305	-0,303	-0,185	0,091
pH	-0,181	-0,104	-0,169	-0,159	0,199
Turb	0,218	0,180	0,233	0,071	0,036
Alk.	-0,293	0,061	-0,047	-0,049	-0,207
Kond	-0,261	0,209	0,062	0,079	0,018
F	-0,180	0,131	-0,281	-0,112	-0,181
Cl	-0,229	0,236	0,064	0,186	0,124
NO3-N	0,144	-0,019	0,172	-0,495	-0,032
SO4	-0,285	0,060	-0,011	-0,050	-0,145
DOC	0,082	0,296	-0,336	-0,193	0,084
OD 410	0,196	0,243	-0,250	-0,046	0,175
OD 254	0,170	0,267	-0,297	-0,106	0,136
Na	-0,233	0,233	0,067	0,184	0,119
Mg	-0,286	0,095	-0,020	-0,115	-0,163
Al	0,247	0,114	0,009	0,277	-0,048
K	-0,238	0,185	0,021	-0,124	-0,189
Ca	-0,290	0,114	0,004	-0,077	-0,172
Cr	0,182	0,230	0,017	0,220	-0,096
Fe	0,158	0,167	-0,217	0,267	-0,251
Ni	0,144	0,107	-0,065	-0,089	-0,584
Cu	-0,050	0,268	0,285	-0,204	0,260
Zn	0,038	0,267	0,306	0,055	-0,219
Sb	-0,155	0,253	0,159	0,083	0,349
Pb	0,116	0,256	0,175	-0,088	-0,013

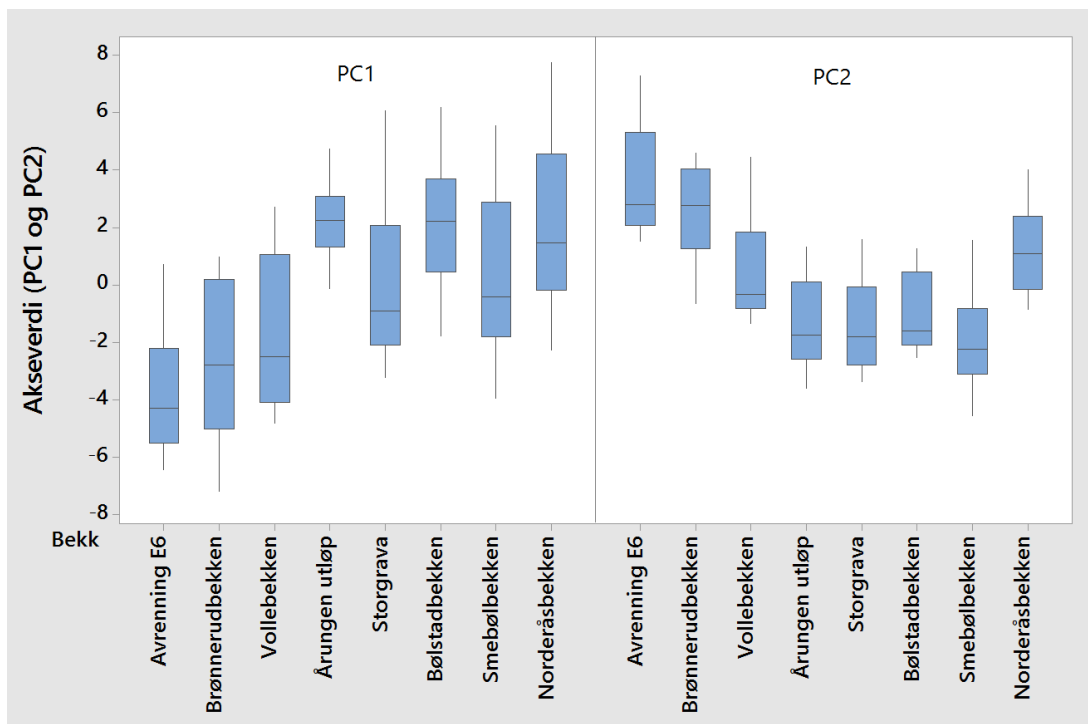
Figur 9 viser at langs PC1 og PC2 var bekkene forbundet med ulike grupper av miljøvariablene. Avrenning E6 og Årungen utløp var plassert langt fra hverandre, noe som indikerte ulikheter i kjemisk sammensetning. Plasseringen av prøveverdiene til Avrenning E6 og Brønnerudbekken var hovedsakelig på den negative skalaen av PC1, og på den positive skalaen av PC2. Negativ skår langs 1.akse betyr økte konsentrasjoner av blant annet Cl og Na, mens lavere konsentrasjoner av Tot.N og turbiditet (variablene var negativt korrelert med pil i hver sin retning). Positiv skår langs 2.akse viste at bekkene var forbundet med økte verdier av Cu, Zn og Sb. Med andre ord var prøveverdiene til Avrenning E6 og Brønnerudbekken mer relatert til vegsalt og vegrelaterte tungmetaller, sammenlignet med de andre bekkene/prøve-verdiene.

I motsetning, var prøveverdiene til Årungen utløp hovedsakelig plassert på positiv skala av PC1 og negativ skala av PC2. Dette gjenspeilte en negativ relasjon til de overnevnte miljøvariablene (vegrelaterte) og en større forbindelse til jordbruksrelaterte (gjødsel og erosjon) parametere som Tot.N, NO₃-N og turbiditet. Verdiene til Årungen utløp og Bølstadbekken var overlappende plassert, noe som indikerte at disse bekkene var like i sammensetning. Også Smedbølbekken og Storgrava var plassert nærme Årungen utløp (mer jordbruksrelatert). De fleste verdiene hos Vollebekken og Norderåsbekken var plassert i mellom Årungen utløp og Avrenning E6 hvor de overlappet til en viss grad. Norderåsbekken virket mer positivt korrelert til PC1 og PC2 i motsetning til Vollebekken. Cu var positivt korrelert med metallene Sb og Zn, samt vegsalt (Na, Cl) og organisk materiale (TOC, DOC) og en økning i en av miljøvariablene tilsvarte en økning i de andre. Blant annet var miljøvariablene NO₃-N, Tot.N, F, Fe og Tot.P mindre viktig for å forklare variasjonen mellom bekkenes vannkvalitet.



Figur 9. Prinsippal komponent analyse (PCA) av bekkenes vannkjemiske sammensetning langs PC1 og PC2. Hver av bekkenes prøveverdier er representert i diagram A. Prøveverdiene er korrelert til enkelte grupper av miljøvariablene som er presentert i diagram B.

Det ble undersøkt om bekkenes plassering langs 1. og 2. akse (PC1 og PC2) var signifikant og ikke var tilfeldig plassert. I den hensikt om det var betydelig forskjell i vannkvalitet mellom de ulike bekkene, hvor 1. akse representerer hovedioner/metaller, mens 2.akse representerer en gradient med vegrelaterte metaller som Cu, Zn, Sb, Pb, samt organisk materiale. Resultatene fra Kruskal-Wallis testen viste at minst to av bekkene var ulike langs begge aksene ($p = < 0,05$). Bekkenes plassering ble fremstilt i boksdiagram (figur 10). Boksene med median strek representerer 50 % av prøveverdiene, og strekene over og under boksen representerer spredningen av de høyeste 25 % og de laveste 25 % av prøveverdiene. Avrenning E6 og Brønnerudbekken skilte seg ut i forhold til de andre bekkene (utenom Vollebekken på PC1). De viste liten likhet med Årungen utløp.

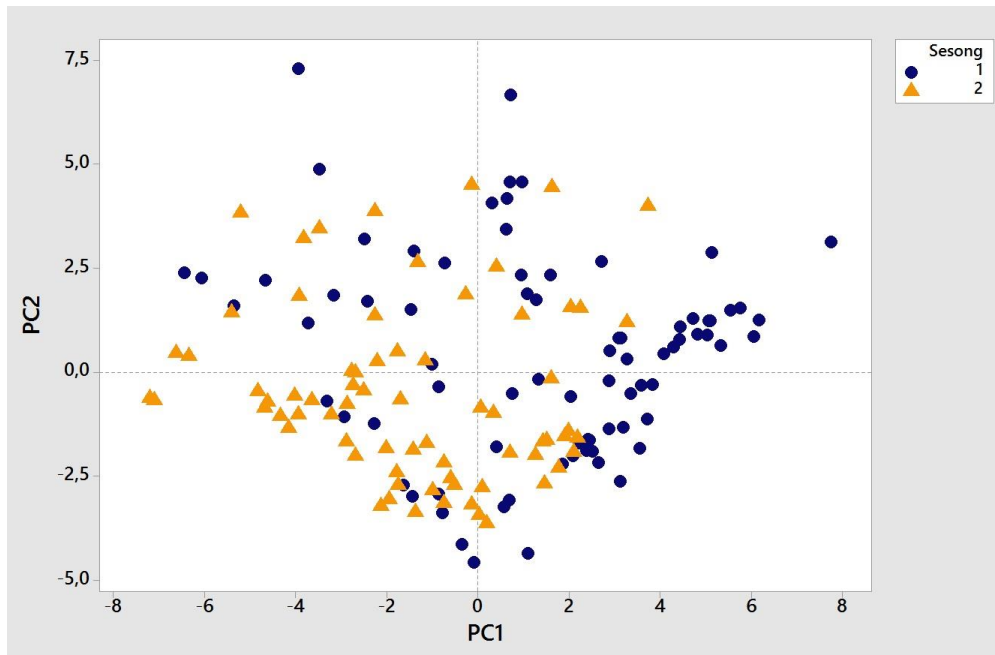


Figur 10. Bekkenes plassering langs første og andre ordinasjonsakse PC1 og PC2.

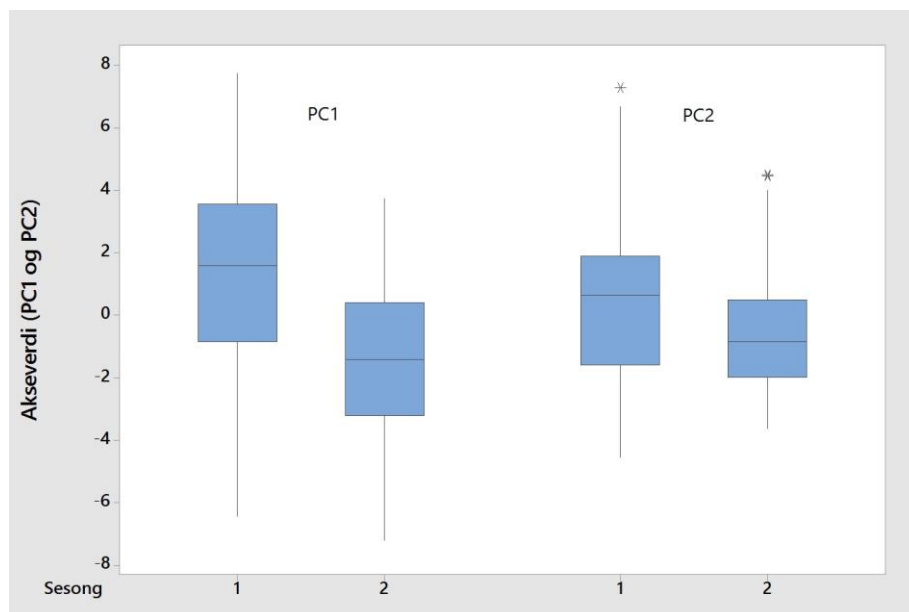
4.4.1 Sesongvariasjon langs PC1 og PC2

Resultatene fra PCA viste en tendens til at vannprøvene i vintersesongen var mer positivt korrelert til PC1 (mer jordbruksrelatert, mindre saltpåvirket) og PC2 (mer forbundet med vegrelaterte metaller) enn vannprøvene i sommersesongen (mer saltpåvirket, mindre metallrelatert), (figur 11). For å finne ut om det var en signifikant forskjell mellom vannprøvene i vintersesongen og sommersesongen ble det utført en parett-test på alle vannprøvenes skår langs PC1 og PC2. Dataene for sommersesongen langs PC2 var ikke normalfordelt (Anderson-Darling normalitetstest, $p\text{-verdi} = < 0,005$). T-testen var likevel egnet ettersom antall

prøveverdier i hver sesong var tilstrekkelig (N=79 i vintersesong og N=71 i sommersesong). T-testen viste en signifikant forskjell hvor vannprøvene i vintersesongen skåret høyest langs begge aksene PC1 og PC2, sammenlignet med prøvene fra sommersesongen (p-verdi= <0,05) (figur 12). Det var størst sesongforskjell langs PC1. Det ble observert tre uteliggere (ekstrem observasjoner) langs PC2. Dette var verdier fra Avrenning E6 i sesong 1 (19.02.14), og Vollebekken (07.05.14) og Brønnerudbekken (07.05.14) i sesong 2.



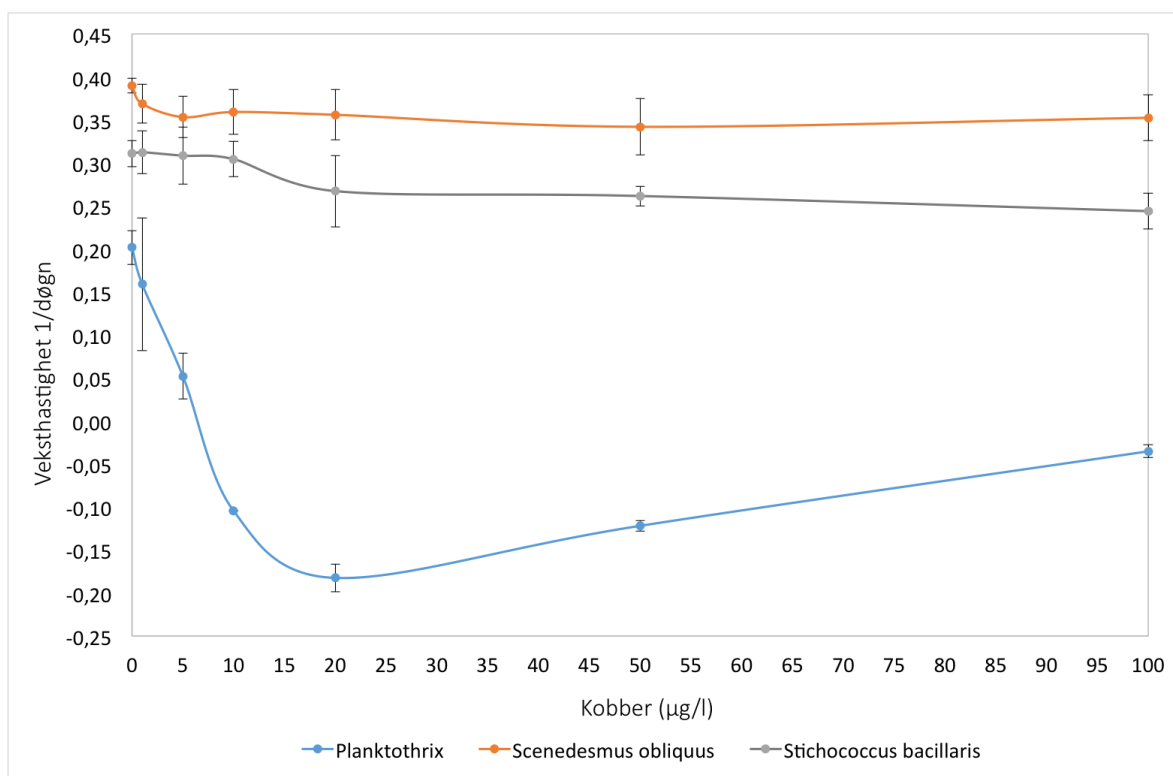
Figur 11. Prinsipal komponent analyse (PCA) av vannprøvene i vintersesong (1) og sommersesong (2) langs de to første ordinasjonsaksene PC1 og PC2.



Figur 12. Boksdiagram av vannprøvene i vintersesong (1) og sommersesong (2) langs PC1 og PC2. Stjernetegn viser tre uteliggerverdier fra Avrenning E6 (vintersesong), Vollebekken og Brønnerudbekken (sommersesong).

4.5 Algekultivering

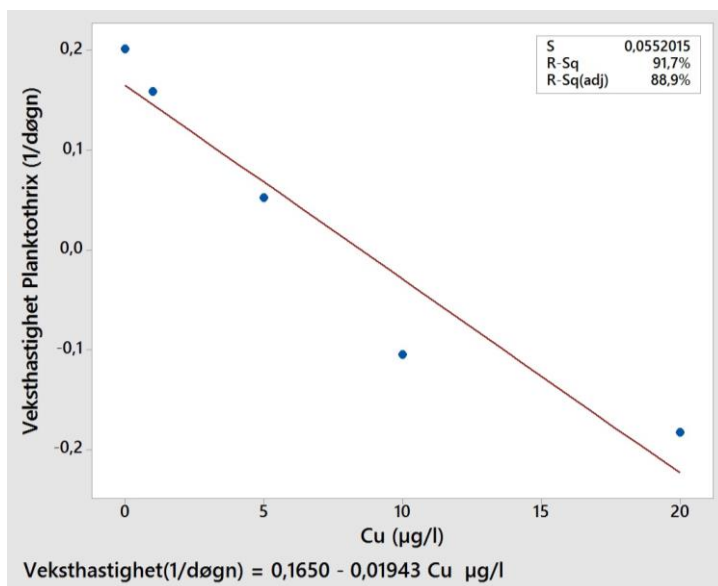
Algeforsøket hvor de tre fytoplanktonartene ble eksponert for ulike konsentrasjoner av Cu (1, 5, 10, 20, 50 og 100 $\mu\text{g/l}$) viste forskjellige responser i gjennomsnittlig veksthastighet (figur 13). Etter kultiveringsperioden på 4 dager, viste cyanobakterien *Planktothrix* raskest og størst nedgang i veksthastighet. I motsetning, responderte grønnalgene i liten grad. Veksthastighet hos grønnalgene viste allikevel en tendens til reduksjon når det gjaldt eksponering for høye Cu-konsentrasjoner. Ved 100 $\mu\text{g Cu/l}$ var veksthastighet per døgn målt til 0,35 hos *Scenedesmus* og 0,24 hos *Stichococcus*. De respektive kontrollkulturene viste 0,39 og 0,31 veksthastighet (per døgn). Ved eksponering for 10 $\mu\text{g Cu/l}$ ble veksthastigheten hos *Planktothrix* redusert til negativ (-0,10 per døgn), noe som tilsier at det ikke var algevekst ved denne konsentrasjonen. Ved 20 $\mu\text{g Cu/l}$ var veksthastigheten lavest (-0,18 per døgn) og på dette stadiet ble det tydelig observert i mikroskopet at cellene gikk i oppløsning (celledød). Resultatene viste videre en økning i veksthastighet hos *Planktothrix* ved 50 og 100 $\mu\text{g Cu/l}$. Dette antas å være en artefakt ved forsøket, ettersom algevekst ble målt som økning i partikkeltetthet med et optisk instrument (absorbans ved 800nm). Teoretisk sett kan bakterievekst ha gitt utslag i etterkant av algenes celledød og dermed ført til økning i partikkeltetthet og økte verdier i veksthastighet. Datasett fra toksisitetseksperimentet finnes i vedlegg 2.



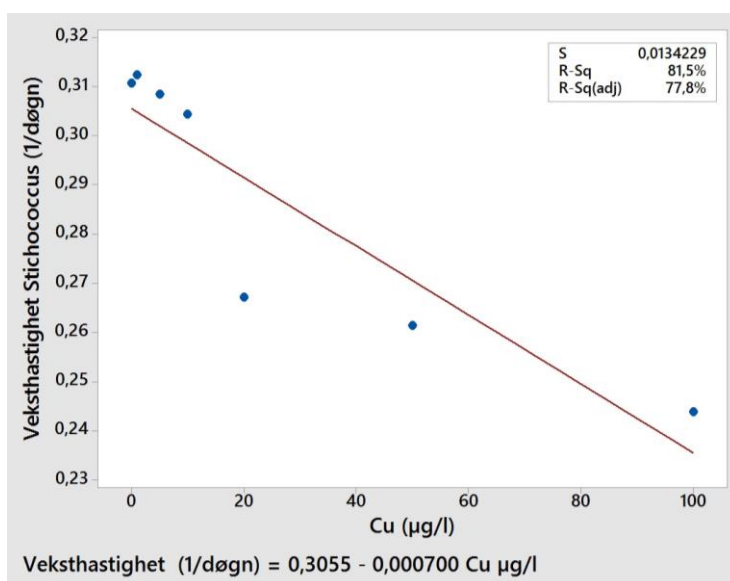
Figur 13 Artenes gjennomsnittlig veksthastighet er representert med punkter i grafen hvor x-aksen tilsvarende Cu-konsentrasjon angitt i $\mu\text{g/l}$ og y-aksen tilsvarende veksthastighet på 1/døgn.

4.5.1 Lineær regresjonsanalyse- veksthastighet

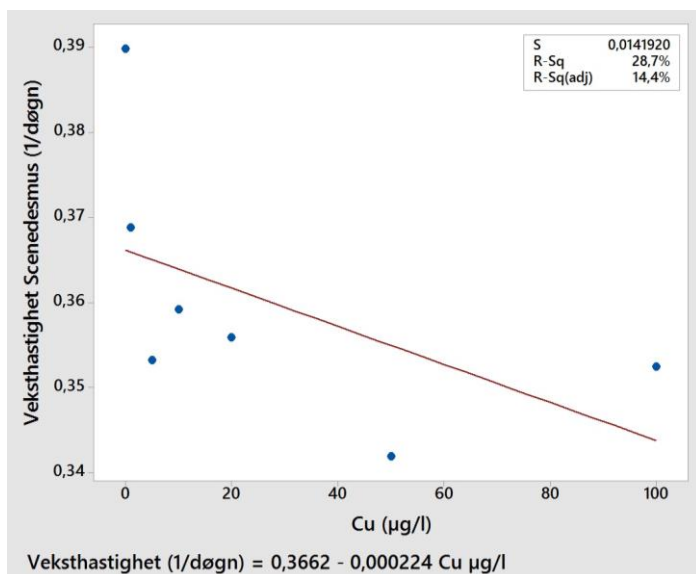
For å undersøke eventuell sammenheng mellom artenes gjennomsnittlige veksthastighet og Cu-konsentrasjon ble det utført en lineær regresjonsanalyse (figur 14, 15 og 16). Hos *Planktothrix* og *Stichococcus* var det en signifikant sammenheng hvor veksthastighet var negativt korrelert til Cu ($p = < 0,05$). Resultatene fra *Planktothrix* viste sterkest sammenheng med høy R-Sq verdi på 91,7 %. *Stichococcus* hadde R-Sq verdi på 81,5 %. Resultatene for *Scenedesmus* var ikke signifikant ($p = > 0,05$), og i tillegg var stigningstallet for linjen lik 0 ($F = < 4$). Resultatene med verdier $> 20 \mu\text{g Cu/l}$ hos *Planktothrix* ble sett på som en artefakt, og ble ekskludert fra testen. Alle resultatene fra grønnalgene ble inkludert.



Figur 14 Sammenheng mellom gjennomsnittlig veksthastighet hos cyanobakterien *Planktothrix* og Cu-konsentrasjon (µg/l). Lineær sammenheng er beskrevet i ligning.



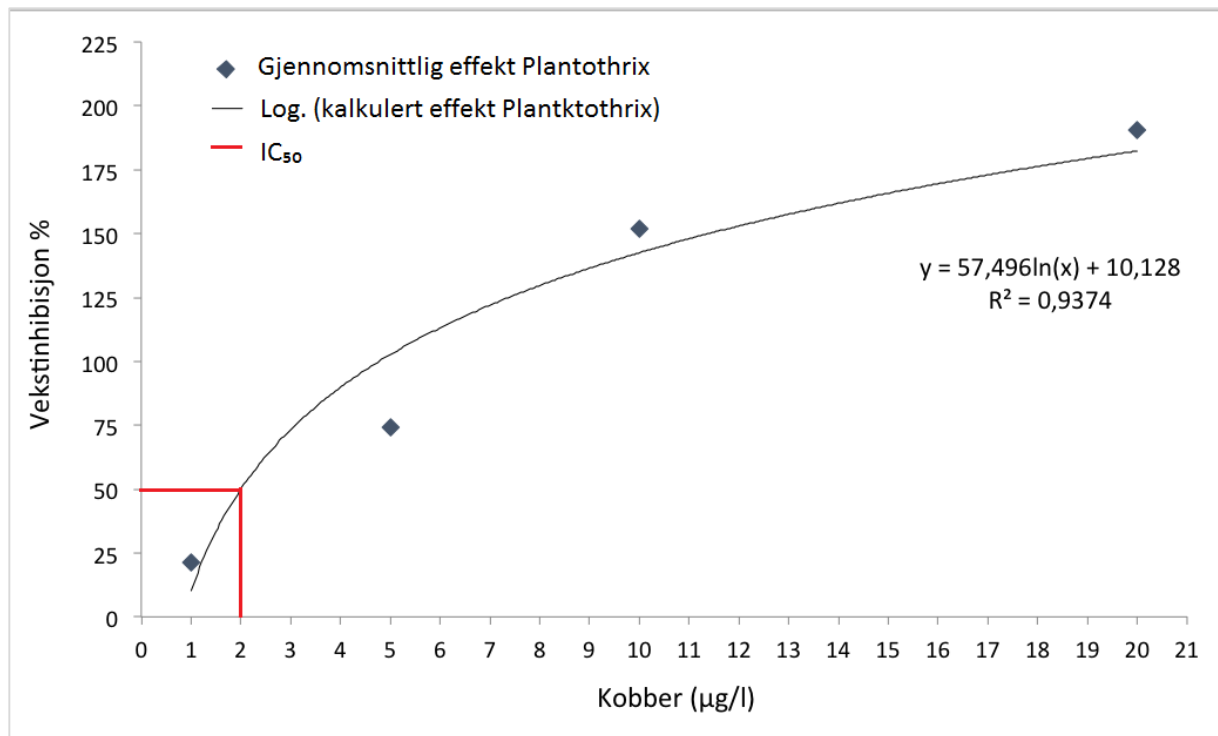
Figur 15. Sammenheng mellom gjennomsnittlig veksthastighet hos grønnalgen *Stichococcus* og Cu-konsentrasjon (µg/l). Lineær sammenheng er beskrevet i ligning.



Figur 16. Sammenheng mellom gjennomsnittlig veksthastighet hos grønnalgen *Scenedesmus* og Cu-konsentrasjon (µg/l). Lineær sammenheng er beskrevet i ligning.

4.5.2 Inhibitorisk Cu-konsentrasjon – IC₅₀

For å kvantifisere dose-respons relasjonen mellom Cu og veksthastighet hos cyanobakterien *Planktothrix* (figur 17), ble først vekstinhibisjon i % beregnet. IC₅₀, som er terskelverdien for når Cu-konsentrasjonen hemmer algevekst med 50 % var ikke mulig å kvantifisere på grønnalgene *Scenedesmus* og *Stichococcus*, ettersom maksimal vekst-inhibisjon aldri nådde 50 % (maksverdier henholdsvis 12,3 % ved 50 µg Cu/l og 21,5 % ved 100 µg Cu/l). IC₅₀ hos *Planktothrix* var 2 µg Cu/l. Verdien for 100 % vekstinhibisjon var 4,8 µg Cu/l, noe som vil si at effekten av Cu-konsentrasjoner over dette nivået gav negativ vekst hos *Planktothrix*. Effektverdiene over 20 µg Cu/l ble ekskludert fra utregningen på grunn av artefakt ved forsøket (antatt årsak nevnt i algekultiveringsavsnittet over).



Figur 17 Dose-respons relasjon mellom Cu-konsentrasjon (µg/l) og vekstinhibisjon (%) hos *Planktothrix*. IC₅₀ viser en Cu-konsentrasjon på 2 µg/l. En logaritmisk trendlinje representerer kalkulert effekt for flere verdier.

5. Diskusjon

5.1 Variasjon av Cu-konsentrasjon over tid

Bekkenes Cu-konsentrasjoner viste store variasjoner over tid. Avrenning E6 viste den høyeste konsentrasjonstoppen i februar (19.02.14), samtidig som de andre bekkene lå på et stabilt og lavere nivå (figur 6). Dette var en dag uten nedbør med døgntemperatur under 0 °C. Den nest høyeste konsentrasjonstoppen i Avrenning E6 ble registrert i april ved mildere temperatur og store mengder nedbør i form av regn. Flere artikler om vegavrenning har vist en betydelig forskjell i Cu-konsentrasjon (både partikulært og oppløst) under snøsmeltingsperioder i forhold til regnperioder (Sansalone & Buchberger 1996; Westerlund et al. 2003; Westerlund & Viklander 2006). Resultatene fra en svensk undersøkelse viste at både Cu-konsentrasjon og mengde partikler var høyere i snøsmeltingsperioder, særlig under hendelser hvor ”regn på snø” inntraff. Ved en trafikkert veg i Luleå med 7400 kjøretøy per dag viste gjennomsnittlig Cu-konsentrasjon (oppløst) i snøsmeltingsperioden 13 µg Cu/l (±1,7) i forhold til regnperioden 5,2 µg Cu/l (±1,2). I følge kartportalen seNorge som viser oppdaterte snøforhold i Norge, var datoen 19.02.14 i en snøsmeltingsperiode (NVE 2014a). Denne dagen var det omtrent bar mark (0,4 mm snø) og ifølge NVEs snørapport hadde store mengder snø smeltet den foregående uken (NVE 2014b). At Avrenning E6 hadde den største konsentrasjonstoppen i snøsmeltings-

perioden i forhold til regnperioden samsvarer godt med resultater fra andre studier på dette temaet. Flere publikasjoner viser at det er høyere forurensning fra veg i kaldt klima sammenlignet med temperert klima, noe som er relatert til faktorer som salting, urban is og snømasser og økt utslipp av forurensede stoffer i minusgrader (Viklander et al. 2003; Engelhard et al. 2007; Westerlund 2007). Dette er antagelig forklaringen på hvorfor Avrenning E6 (som kun består av avrenning fra trafikkert vegflate) skilte seg ut i forhold til de andre bekkene den 19.02.14 og samtidig viste lavere Cu-nivå enn andre bekker en mild og våt dag i mai (07.05.14).

Videre viste bekkene en betydelig økning og variasjon i Cu-konsentrasjon i tidsrommet april-mai. Og de høyeste Cu-verdiene (utenom Avrenning E6) ble målt på milde, nedbørsrike dager. Store nedbørsmengder fører til økt erosjon og utvasking av partikler og miljøstoffer. I tillegg til nedbørsmengde kan fluksen av Cu være relatert til miljøforhold i forkant av regneperioder. Lengde av tørt vær før første ”skyll” (oppsamling av stoffer i tid før utvasking) og nedbørshyppighet vil kunne påvirke omfanget av konsentrasjonen (He et al. 2001; Westerlund & Viklander 2006). Gjødsling kan være en annen viktig påvirkningsfaktor av flukser. Generelt viste bekkene forhøyede Cu-konsentrasjoner den 09.04.14 og den 07.05.14. Dette var to dager med stor nedbørsmengde som kom etter en lengre periode med tørt vær. Samtidig er april-mai en typisk gjødslingsperiode i jordbruket. Makronæringsstoffet nitrogen som planter trenger relativt store mengder av i vekstsesong (viktig for utvikling av bladverk), er et av de viktigste elementene i gjødsel. Nitrogen utvaskes lett fra jordsmonnet og er relatert til tidlige flukser fra jordbruksavrenning (Smil 1999; Vanni et al. 2001). Som en støtte for sannsynlig vårgjødslingsperiode i april-mai, viste Tot.N nivåer i bekkene (med unntak av Avrenning E6) en tydelig samvariasjon med konsentrasjonstoppene av Cu (fig 7). Det kan forventes at de nevnte påvirkningsfaktorene av Cu-flukser avgjorde de forhøyede og varierte konsentrasjonene i bekkene i dette tidsrommet.

5.2 Variasjon av Cu-konsentrasjon i rom (bekkene og Årungens sediment)

Bekkene i denne studien viste variasjon i gjennomsnittlig Cu-nivå hvor Avrenning E6 og Brønnerudbekken skilte seg mest ut (henholdsvis 9,5 og 5,4 µg Cu/l). De resterende bekkene lå på et nivå under omtrent halvparten av Avrenning E6. Gjennomsnittlige Cu-nivå viste i avtagende rekkefølge; Vollebekken (4,5 µg Cu/l), Årungen utløp (4 µg Cu/l), Storgrava (3,9 µg Cu/l), Bølstadbekken (3,9 µg Cu/l), Smedbølbekken (3,4 µg Cu/l) og Norderåsbekken (3,3 µg Cu/l). En studie fra 2013 viste gjennomsnittlig Cu-nivå i Årungens overflatevann (1m) på

3,5 µg Cu/l ($\pm 0,7$) og i Bølstadbekken 3,1 µg Cu/l ($\pm 0,6$) (Magnusson 2014). Dette var ikke filtrerte prøver og Cu-konsentrasjon kan derfor være noe forhøyet (partikkelbundet) når de sammenlignes med filtrerte prøver slik som i denne studien. Etersom mye metaller (inkludert Cu) er assosiert med partikler, forklarer det nok også hvorfor det er liten sammenheng mellom turbiditet og Cu i denne studien (se PCA, figur 9B). Videre viste enkeltmålinger fra 2010, gjort av studenter ved NMBU (Vann211), en konsentrasjon på 4 µg Cu/l i Vollebekken og < 3 µg Cu/l i Bølstadbekken, Storgrava og Årungen utløp (Alnæs et al. 2010). Enkeltmålinger kan i stor grad variere og må tolkes med forsiktighet. Denne studien viser at Cu-konsentrasjonen i de nevnte bekkene varierer og kan vise rask økning i forbindelse med avrenningsepisoder. De registrerte Cu-konsentrasjonene viser også høyere nivå enn tidligere undersøkelser fra Årungen utløp, Bølstadbekken, Vollebekken og Storgrava.

I tillegg viser en undersøkelse fra Statens vegvesen forhøyede Cu-nivå i flere vegnære innsjøer (Bækken & Haugen 2012). Enkeltmålinger viste > 3 µg Cu/l i mange av innsjøene. De høyeste konsentrasjonene ble målt til 6,6 µg Cu/l i overflatevann og 11,3 µg Cu/l i bunnvann. Mange av innsjøene ble klassifisert til en dårligere forurenset tilstand i 2010 enn i 2005. Det ble antydnet at årsaken var økt forurensning av Cu fra vegtrafikk. Også i løpet av denne studien ble det registrert forhøyede enkeltverdier i Årungen, målt 11 µg Cu/l i Årungen utløp. I følge nasjonale undersøkelser av vannkjemi er Cu-konsentrasjoner i norske overflatevann generelt lave. Resultater har vist en medianverdi på 0,3 µg Cu/l og en gjennomsnittsverdi på 0,6 ($\pm 0,9$) Cu µg/l (Lydersen et al. 2002; Skjelkvåle et al. 2008). Klassifisering av tilstand i ferskvann viser at Cu-nivå mellom 3-6 µg/l er sterkt forurenset, og Cu nivå >6 µg/l er meget sterkt forurenset ifølge Statens forurensnings tilsyn (SFT), nå kalt Miljødirektoratet (Andersen et al. 1997). Med et gjennomsnitt på 4 µg Cu/l er Årungen utløp klassifisert til sterkt forurenset av Cu. Den samme tilstandsklassen gjelder de andre bekkene, med unntak av Avrenning E6 som klassifiseres til meget sterkt forurenset av Cu.

Zambon (2010) undersøkte horisontal fordeling av metaller i Årungen sediment i 2009. Økt Cu-innhold i sedimentene viste i stor grad sammenheng med økt leirinnhold i sedimentene. Resultatene viste akkumulering av Cu i de dypeste områdene i innsjøen med en median på 34 mg/kg (tørrvekt). Dette har trolig sammenheng med innsjøens sedimenteringsforløp med akkumulering av finmateriale som binder Cu i dypere deler av innsjøen (Riise et al. 2010). Cu-nivåene i sedimentene var omtrent det samme som for 30 år siden og tilsvarte gjennomsnittet i Norge (median 30mg/kg tørrvekt). Cu-nivåene var likevel over klassegrensen for”

bakgrunnsnivå” i Norge (øvre grense = 20 mg/kg tørrvekt) og var forhøyede sammenlignet med geokjemisk atlas for elvesedimenter i Norge (Arp et al. 2014; Ottesen et al. 2000). I følge Riise et al. (2010) kan årsaken til dette være enten lokale forskjeller, forurensning eller metodeforskjell i bestemmelse av metallet. Resultatene fra Zambons undersøkelse viste generelt lavere Cu-nivå i littoralsonen i forhold til innsjøens dypere områder. Likevel ble de høyeste Cu-nivåene i Årungen målt ved utløpet av Vollebekken og Brønnerudbekken i sør (42-63 mg/kg tørrvekt). I tillegg ble det registrert to områder i littoralsonen langs vestsiden med tilsvarende forhøyet Cu-nivå (i nærheten av Storgrava og Avrenning E6). Zambon (2010) antok at dette kunne ha sammenheng med forurensning fra E6. Noe som også støttes av denne oppgaven.

5.3 Kilder til Cu og variasjon i vannkvalitet

I tillegg til Cu-variasjon mellom bekkene, så viste de også ulikheter i kjemisk sammensetning. Ordinasjonsanalysen (PCA) viste at første og andre aksene (PC1 og PC2) forklarte flere av miljøvariabelene og hadde en betydning på variasjonen i bekkenes kvalitet. I denne studien var Cu høyt korrelert til TOC, DOC, konduktivitet, Na og Cl. Det kan antas at miljøvariabelene var en trigger for Cu-avrenning og kan forklares med at Cu vanligvis er organisk bundet og er lett løselig i vann (mobiliseres) ved høy NaCl konsentrasjon (Norrström & Jacks 1998). Også Sb og Zn var høyt korrelert med Cu, noe som indikerer samme tilfelle for disse metallene.

Plasseringen av Avrenning E6 og Brønnerudbekken langs ordinasjonsaksene viste at de var i større grad karakterisert av forurensningsstoffer som følger trafikken; Sb, Pb, Cu, Zn, Cr, Mg, Na og Cl (figur 9). Også Vollebekken var trukket i denne retningen. Dette indikerer at bekkene var påvirket av vegavrenning. Samtidig viste, som tidligere nevnt, Avrenning E6 og Brønnerudbekken høyest gjennomsnittsnivåer av Cu registrert i denne studien, etterfulgt av Vollebekken. Arealbruken i delnedbørsfeltet Brønnerudbekken preges av E6, og er det minste i areal (utenom Avrenning E6). Det er usikkert i hvor stor grad Cu-nivået i Vollebekken ble påvirket av det høye nivået i Brønnerudbekken. Prøvetaking fra Vollebekken ble som tidligere nevnt tatt ved utløpet, og Brønnerudbekken løper ut i Vollebekken før bekken når Årungen. Vollebekken mottar også avrenning fra Fagernes fangdam lokalisert like ved. Sannsynlig har de forhøyede Cu-konsentrasjonene i de disse bekkene sin opprinnelse fra vegavrenning. Andre nylige studier har også konkludert med forurensning fra E6. Zambon (2010) og Zuur (2014) registrerte forhøyede Cu-verdier i sedimentet ved Vollebekkens utløp samt i Fagernes fangdam. Også vannprøver fra Brønnerudbekken og Vollebekken viste høye verdier. En utvikling med

forurensning langs andre vegnære innsjøer har blitt relatert til vegavrenning (Bækken & Haugen 2006). Noe som kan være tilfellet for Årungen.

Til forskjell viste PCA-analysen at Årungen utløp og Bølstadbekken var mindre relatert til elementene som karakteriserte bekkene nevnt over, særlig tungmetaller og salting. Årungen utløp og Bølstadbekken var i større grad karakterisert av suspenderte partikler (turbiditet), Al, OD410 og Tot.N. Erosjon og næringsstoffer er typiske faktorer som inngår i jordbruksavrenning, noe som indikerer at bekkene var mer jordbrukspåvirket. Bekkene var også relatert til høyere fargetall, noe som antagelig forklares av skogavrenning med humuspåvirkning. Den overlappende kvaliteten i Årungen utløp og Bølstadbekken kan delvis forklares med stor påvirkning fra Bølstadbekken, ettersom den bidrar med 50% av avrenningen til Årungen. Plasseringen av Storgrava, Smedbølbekken og Norderåsbekken ble trukket litt i begge retninger. De var påvirket av både jordbruk- og vegavrenning.

Når det gjelder Cu-tilførsel fra jordbruket, bidrar gjødslingsperioden med forhøyede Cu-nivåer. Dette var synlig i alle bekkene med opphav i delnedbørsfelt med jordbruk som del av arealbruket. Tilsammen utgjør disse bekkene mesteparten av avrenningen til Årungen. Det kan forventes at store mengder Cu kommer fra jordbruksavrenning i denne perioden. På den andre siden viste Norderåsbekken lavest gjennomsnittlig Cu-nivå med minst variasjon i verdiene (lavest standard avvik), samt de laveste konsentrasjonstoppene i løpet av gjødslingsperioden. Dette kan ha en sammenheng med minimal påvirkning fra vegavrenning fordi arealbruken i delnedbørsfeltet hovedsakelig består av jordbruk. Det kan antas at de andre bekkene er noe påvirket av vegavrenning ettersom deler av E6 og E18 er tilstede i disse delnedbørsfeltene. Norderåsbekken viste likevel forhøyede Cu-nivåer i forhold til bakgrunnsnivå. Maksimal grense for bakgrunnsnivå i ferskvann er satt til 0,3 µg Cu/l (lik medianverdi i norske innsjøer) (Arp et al. 2014).

Bekkenes vannkvalitet viste sesongvariasjon ifølge PCA-analysen. Bekkene var mer veg- og landbrukspåvirket i vintersesongen (februar-april) enn i sommersesongen (april-juni). Vintersesongen viste en økt relasjon til tungmetaller (inkludert Cu), salting og turbiditet. Dette kan ha en sammenheng med større nedbørsmengde de første månedene og økt avrenning (se figur 5). I motsetning var mai og juni to måneder med lav nedbørsmengde i forhold til normalperioden, og de viste mindre relasjon til forurensning. I tillegg var 9 av totalt 10 målinger fra Avrenning E6 representert i sesong 1. Dette kan være en feilkilde i metoden og

kan ha påvirket sesongforskjellen (skjevhet med Avrenning E6 mer representert i vintersesongen). Ideelt sett skulle sesongene blitt inndelt før og etter gjødslingsperiode for å få et riktigere bilde på forskjeller i Cu-nivå i sesonger (før og etter potensiell gjødslingsdato 09.04.14).

Det er også andre potensielle kilder til Cu i Årungens nedbørsfelt som ikke bør bli oversett. Urbane områder med overvann fra tette flater, boliger og vannrør av Cu kan inneholde høye konsentrasjoner (Alam & Sadiq 1989; Davis et al. 2001). Davis et al. (2001) kvantifiserte Cu-avrenning i urbane områder og identifiserte tak og bygningsvegger som signifikante kilder til Cu. Følgelig var det avhengig av tetthet og bygningsmateriale brukt i området. I tillegg til tak med Cu, viste murstein og trevegger (sannsynligvis impregneringsmiddel i tre som Cu-kilde) høyere konsentrasjoner enn andre materialer. Cu-avrenning fra kommersielle og institusjonsbygninger viste betydelig høyere nivå enn boliger. Avrenning direkte fra institusjonsbygninger hadde et gjennomsnitt på opp til 5000 µg Cu/l ved ”første skyl” tilfelle (first-flush) i motsetning til boligbygg med 7,5 µg Cu/l. I Vollebekkens nedbørsfelt kan universitetsbygg ved NMBU og tette flater potensielt bidra til Cu-avrenning. Det samme gjelder tettstedet Ski med blant annet industribygg i Bølstadbekkens delnedbørsfelt. Når det gjelder vannrør, kan salt bidra til korrosjon og frigjøre Cu fra ledningsnett (Roseth & Amundsen 2004). Spredt bebyggelse finnes over hele nedbørsfeltet til Årungen. I tillegg til Cu-forurensning fra atmosfærisk nedfall, kan dette ha hatt en innvirkning på Cu-nivåene i bekkene (Sabin et al. 2005; Steinnes et al. 2007).

5.4 Cu-påvirkning på fytoplankton

Resultatene fra vekstforsøket med eksponering for Cu viste at cyanobakterien *Planktothrix* skilte seg ut med rask og størst nedgang i veksthastighet, i motsetning til de to grønnalgene *Scenedesmus* og *Stichococcus* som responderte i liten grad. Det ble også vist at effektkonsentrasjonen IC₅₀ (når vekstrespons blir redusert med 50%) hos *Planktothrix* var 2 µg Cu/l. Zeng et al. (2010) undersøkte biotilgjengelighet og toksisitet av Cu hos cyanobakterien *M. aeruginosa* under ulike vannkjemiske forhold. Studien viste at Cu-toksisiteten varierte med vannkvaliteten. Basert på løst Cu i vannfasen ble økt toksisitet observert ved redusert mengde av løst organisk materiale (DOM) og hardhet på vannet. Toksisiteten økte også ved høy pH (i området 6,7 - 8,5). Studien påviste at cyanobakterier var ekstremt sensitive for Cu i forhold til andre fytoplanktonarter. Toksiske nivåer ble bestemt til > 1-20 µg Cu/l. På den andre siden er det også forskjeller i cyanobakterienes følsomhet til Cu. Chay et al. (2005) undersøkte Cu-

toksisitet hos cyanobakterien *Anabaena torulosa* og påviste IC₅₀ mellom 500-700 µg Cu/l. I tillegg viste en studie utført av Garvey et al. (1991) at konsentrasjoner < 64 µg Cu/l ikke hadde noe effekt på algevekst eller andre vitale metabolske funksjoner hos grønnalgen *Chlamydomonas reinhardtii*. Likevel viste resultatene at algens flagellfunksjon ble påvirket i negativ grad med en nedsatt bevegelighet og reproduksjonsevne. En redusert konkurransevne hos grønnalgen ble antatt å ha en effekt på beitende dyreplankton og andre organismer høyere i næringskjeden. Studien viste at grønnalgen var sårbar for kronisk eksponering av lave Cu-konsentrasjoner, Cu-nivåer som var for lave til å gi akutt toksiske effekter. Le Jeune et al. (2006) viste også at Cu fremkalte endringer i størrelse- og sammensetningsstruktur i fytoplanktonsamfunn.

Resultatene fra denne studien samsvarer med andre studier som konkluderer at cyanobakterier er den mest Cu-sensitive fytoplanktongruppen (Le Jeune et al. 2006; Quigg et al. 2006; Zeng et al. 2010). IC₅₀ hos *Planktothrix* viste et lavt toleransenivå og bekkenes gjennomsnittlige Cu-konsentrasjoner viste verdier over dette. Dette indikerer at de registrerte Cu-nivåene kan ha hatt en skadelig biologisk effekt på cyanobakterier i Årungen. Denne situasjonen kan også ha vært gjeldende for andre fytoplanktonarter i innsjøen ettersom en kronisk eksponering for høye Cu-verdier kan forårsake subakutt toksisk effekt, samt endringer i økosystemets struktur og funksjon (Winner & Owen 1991; Le Jeune et al. 2006). Dette er observert ved ustabilitet i fytoplanktonsamfunnet under vekstsesongen. Likevel kan det ikke konkluderes med sikkerhet at Cu-nivåene i Årungen er toksiske for fytoplankton. Biotilgjengelighet er en nøkkelfaktor i en slik vurdering. Algene i vekstforsøket var eksponert for biotilgjengelig Cu (kobbersulfat) og man så tydelige dose-respons effekter. Målingene fra bekkene var basert på oppløst Cu (<0,45µm). Partikkelbundet Cu (> 0,45µm) er beskrevet som mindre biotilgjengelig enn Cu løst i vannfasen (Meland et al. 2010; Aasum 2013). Imidlertid er det flere forhold som påvirker opptak av Cu, blant annet kompleksbinding til kolloidalt materiale. I tillegg kan høy konsentrasjon av andre metaller påvirke konkurransen om binding til biologiske membraner (Fairbrother et al. 2007). I leirpåvirkede bekker slik som i denne studien kan en betydelig del av Cu være bundet til leirpartikler. I perioder med høy vannføring kan forhøyede Cu-verdier være relatert til høyt innhold av partikkelbundet Cu (uorganisk og organisk). Dette tilsier at Cu-innholdet eksisterer i en tilstandsform som er mindre biotilgjengelig enn oppløste Cu- ioner i vannfasen. Cu kan endre egenskaper (form) under ulike miljøforhold. Vannkjemiske parametere som pH og konduktivitet kan påvirke mobiliteten av Cu fra en fast fase (kolloider, partikler) til en løs fase (Calmano et al. 2005). Ulike organismer har forskjellig potensiale for

biologisk opptak og det er uvisst om hvor stor andel av bekkenes Cu-konsentrasjoner som var biotilgjengelig. Likevel kan de høye konsentrasjonene av oppløst Cu ($< 0,45\mu\text{m}$) ha en potensielt høy øko-toksikologisk effekt på fytoplankton i Årungen.

5.5. Cu-påvirkning på vasspest

Vannlevende makrofytter med røtter kan ta opp forurensning fra sedimentet samtidig som de kan absorbere ioner fra vannfasen via bladene. Ioneopptaket skjer dermed fra en større overflate enn hos landplanter. Vasspest er en godt studert plante. På grunn av stor utbredelse, evne til å akkumulere tungmetaller og følsomhet for Cu blir den sett på som en god indikatorart på forurensning (Mal et al. 2002). Nyquist og Greger (2007) og Malec et al. (2009) viste i sine undersøkelser at vasspest er en stresstolerende plante som kan akkumulere høye nivåer av Cu i skuddene. Samtidig viste resultatene at en høy konsentrasjon i plantevevet ikke var til hinder for videre opptak av Cu helt til toksiske nivåer var nådd. I følge Mal et al. (2002) var plantens potensiale som indikatorart tidsbegrenset ettersom lengre eksponering for høye konsentrasjoner (4 uker) viste skadelige effekter på bladvevet. Malec et al. (2009) viste blant annet redusert klorofyllkonsentrasjon hos vasspest ved eksponering for Cu-konsentrasjoner helt ned til $32 \mu\text{g/l}$. Cu-stress hos vasspest fører til at det essensielle elementet magnesium i klorofyllmolekylet erstattes med et Cu-atom. Dette ionebyttet hindrer fotosynteseaktivitet og har en toksisk effekt på planten (Küpper et al. 1996; Mal et al. 2002). Küpper et al. (1996) viste at konsentrasjoner $>50 \mu\text{g Cu/l}$ hadde en rask og skadelig effekt på fotosynteseprosessen hos vasspest. Dokumenterte effekter på andre metabolske funksjoner, som respirasjon, skjedde ved en høyere konsentrasjon med IC_{50} målt til $150 \mu\text{g Cu/l}$ (Brown & Rattigan 1979).

Den siste kartleggingen av plantens utbredelse før den kraftige tilbakegangen etter 2008 ble gjort av NMBU studenter i 2002. Da ble det påvist tette bestander ved utløpet av alle tilførselsbekker, i tillegg til nordsiden av innsjøen ved Årungen utløp (Arnø & Horn 2002). I en studentoppgave utført av Jacobsen og Magnusson (2012) ble faktorer som regulerer vekst av vasspest og status over bestandsutviklingen i Årungen diskutert. Lystilgang og bunnsstrat ble konkludert til å være to viktige vekstfaktorer for planten. I 2012 ble det forventet at vasspest skulle ha spredd seg over større arealer som følge av bedre vekstforhold ved økt siktedyp og mindre konkurranse med cyanobakterier om lystilgang. Kartleggingen i 2012 fant, som tidligere nevnt, ingen levedyktig bestand. Årsaken til den kraftige nedgangen i

vasspestbestanden var usikker og det ble anbefalt en undersøkelse av Årungens sedimenter. Zuur (2013) forsøkte også å svare på spørsmålet om tilbakegangen av vasspest. Det konkluderende svaret var punkt og diffuse utslipp av forurensning i samspill med plantens evne til å akkumulere tungmetaller til en terskelverdi er nådd. Dette kan også antas i denne studien. Zuur (2014) konkluderte også i en nylig studie at årsaken mest sannsynlig var en kombinasjon av flere forurensningselementer.

En sammenligning av dokumenterte toksiske nivåer hos vasspest og bekkenes Cu-nivå viser at planten ikke er utsatt for akutt toksisk effekt. På grunn av plantens evne til å akkumulere Cu kan det likevel antas at en subakutt toksisk effekt har oppstått ved kronisk eksponering for høye nivåer. Ved å sammenligne med Cu-nivå i Årungens sediment tyder det derimot på at vasspestbestander som var etablert i områder (sør og vest) har vært eksponert for toksiske konsentrasjoner (42-63 mg/kg). På den andre siden ble det påvist levedyktig bestand av vasspest i Skullerud rensedam i Oslo i 2012 (Mymæl 2012). Rensedammen mottar avrenning fra E6 og inneholder høye konsentrasjoner av Cu, Cl og andre tungmetaller vannfasen (Johansen 2013; Statens vegvesen 2005; Thygesen 2013). Analyser fra sedimentet i rensedammen viste derimot ingen forhøyede Cu-nivå og ble klassifisert som ubetydelig forurenset av Cu (Damsgård 2011). Som nevnt over er biotilgjengelighet et viktig aspekt i vurdering av Cu-påvirkning. I tillegg til potensielt høyt opptak fra vannfasen og evne til akkumulering, er en eventuell remobilisering av Cu fra sedimenter en risiko (Aasum 2013). Det at vasspest i Årungen forsvant er et resultat av Cu-toksisitet alene, kan ikke konkluderes med sikkerhet. Likevel kan det antas at de forhøyede Cu-nivåene har bidratt til tilbakegangen av bestanden.

6. Konklusjon

Denne studien viser at Cu-nivåene i tilførselsbekkene og utløpselven i Årungen varierer i tid og rom. Bekkene viste raske endringer og de største konsentrasjonene av Cu ble registrert under snøsmelting- og gjødslingsperioder, og i kombinasjon med store nedbørmengder og tørt vær i forkant av regneepisoder. I tillegg viste gjennomsnittlig Cu-konsentrasjon i flere av bekkene høyere verdier enn det som er registrert ved tidligere undersøkelser. Avrenning E6 og Brønnerudbekken skilte seg ut med de høyeste gjennomsnittskonsentrasjonene av Cu, henholdsvis 9,5 og 5,4 µg/l. De resterende bekkene lå på et Cu-nivå som var under halvparten av Cu-konsentrasjonen i Avrenning E6, i avtagende rekkefølge; Vollebekken, Årungen utløp, Storgrava, Bølstad-bekken, Smedbølbekken og Norderåsbekken (målinger basert på løst Cu <0,45µm).

Videre viser studien at både vegavrenning og jordbruksavrenning er betydelige kilder til Cu, og at det varierer gjennom året. Vegavrenning inneholdt de høyeste Cu-nivåene, og konsentrasjonstoppene var i vintersesongen (under snøsmelting), men også på våren under regneepisoder med mye nedbør. I løpet av gjødslingsperioden (april-mai) var jordbruksavrenning en vesentlig kilde til Cu med høye konsentrasjonstopper. I tillegg utgjorde de landbrukspåvirkede bekkene mesteparten av avrenningen til Årungen, sammenlignet med de tydelig vegpåvirkede bekkene Avrenning E6 og Brønnerudbekken.

I følge toksisitetstests og litteraturstudier er de målte gjennomsnittskonsentrasjonene av Cu i bekkene høye nok til å gi akutt toksisk effekt på cyanobakterier. Sammen med forhøyede Cu-konsentrasjoner i sediment, kan de også være høye nok til å gi en subakutt toksisk effekt på vasspest. Toksitetseksperimentet viste at cyanobakterien *Planktothrix* var mer sensitiv for Cu enn grønnalgene *Stichococcus* og *Scenedesmus*. Det kan også antas at de registrerte Cu-nivåene i denne studien kan ha en potensiell toksisk påvirkning på andre akvatiske organismer, samt føre til endringer i økosystemets struktur og funksjon. Konsekvenser for andre vannlevende organismer i vassdraget bør derfor undersøkes. Sentralt i disse studiene vil være biotilgjengeligheten av Cu. Hovedfokuset i denne studien har vært kilder til Cu og potensielle effekter på primærprodusenter. Nivåene av Cu er av en størrelsesorden som gjør at Cu kan ha bidratt til tilbakegangen av cyanobakterier og vasspest i Årungen. Innsjøer er imidlertid komplekse systemer som blir påvirket av samspillet mellom ulike biologiske, kjemiske og fysiske prosesser. Cu sammen med andre potensielle årsaker bør derfor klarlegges nærmere.

7 Referanser

- Aasum, H. J. (2013). *Effekter av vaskemiddel (TK601) på mobilitet av metaller ved sedimentering av tunnelvaskevann fra Nordbytunnelen (E6), Ås kommune, Akershus - et laboratorieforsøk*. Masteroppgave. Ås: Universitetet for miljø- og biovitenskap (UMB), Institutt for miljøvitenskap.
- Alam, I. A. & Sadiq, M. (1989). Metal contamination of drinking water from corrosion of distribution pipes. *Environmental pollution*, 57 (2): 167-178.
- Alnæs, C. T., Hovlandsda, L., Naustdal, B. H., Nordtiller, L. & Unnhjem, H. O. (2010). *Limnologiske analysar i Årungen og Østmarka*. Studentoppgave i Vann211. Ås: Universitetet for miljø- og biovitenskap (NMBU), Institutt for plante- og miljøvitenskap.
- Amrhein, C., Mosher, P. & Strong, J. (1993). Colloid-assisted transport of trace metals in roadside soils receiving deicing salts. *Soil Science Society of America Journal*, 57 (5): 1212-1217.
- Amundsen, C., French, H., Haaland, S., Pedersen, P., Riise, G. & Roseth, R. (2008). Miljøkonsekvenser ved salting av veger-en litteraturgjennomgang. *Consequences of road salt on the environment—a literature review*, Salt SMART, Statens vegvesen (The Norwegian national public road administration, in Norwegian), Teknologiavdelingen, rapport, 2535: 98.
- Andersen, J., Bratli, J., Fjeld, E., Faafeng, B., Grande, M., Hem, L., Holtan, H., Krogh, T., Lund, V. & Rosland, D. (1997). Klassifisering av miljøkvalitet i ferskvann. *SFT veiledning*, 97 (04.31).
- Arnø, L. & Horn, A. (2002). *Vasspest i Årungen 2002- Kartlegging av vasspest og vurdering av vannkvalitet mot badevannskvalitet.*: Norges landbrukshøgskole, Institutt for jord- og vannfag.
- Arp, P. H., Ruus, A., Macken, A. & Lillicrap, A. (2014). Kvalitetssikring av miljøkvalitetsstandarder. Miljødirektoratet.
- Artsdatabanken. (2012). Fremmede arter i Norge- med norsk svarteliste 2012. Available from: <http://artsdatabanken.no/File/687/Fremmedearter2012>.
- Askilsrud, H. (2010). *Nutrient input to lake Årungen - assessment of data availability to run the MyLake model*. Masteroppgave. Ås: Universitetet for miljø- og biovitenskap (UMB), Institutt for plante- og miljøvitenskap.
- Beasley, G. & Kneale, P. (2002). Reviewing the impact of metals and PAHs on macroinvertebrates in urban watercourses. *Progress in Physical Geography*, 26 (2): 236-270.
- Borch, H., Yri, A., Løvstad, Ø. & Turtumøygard, S. (2007). Tiltaksplan for Årungen. Bioforsk Rapport Vol.2 Nr.52.
- Brown, B. & Rattigan, B. (1979). Toxicity of soluble copper and other metal ions to *Elodea canadensis*. *Environmental Pollution (1970)*, 20 (4): 303-314.
- Bäckström, M., Karlsson, S., Bäckman, L., Folkesson, L. & Lind, B. (2004). Mobilisation of heavy metals by deicing salts in a roadside environment. *Water Research*, 38 (3): 720-732.
- Bækken, T. (1993). *Miljøvirkninger av vegtrafikkens asfalt og dekkslitasje*: Nordisk Ministerråd.
- Bækken, T. & Haugen, T. (2006). Kjemisk tilstand i vegnære innsjøer - Påvirkning fra avrenning av vegsalt, tungmetaller og PAH. I: vegvesen, S. (red.): Utbyggingsavdelingen

- Bækken, T. & Haugen, T. (2012). Vegsalt og tungmetaller i innsjøer langs veier i Sør-Norge 2010. I: Vegdirektoratet (red.). *VD rapport Nr.50*, 8257759554: Trafikksikkerhet, miljø- og teknologiavdelingen.
- Bækken, T. & Åstebøl, S. O. (2012). Overvåking av vannkvalitet og vurdering av tiltak for vann langs E6 i Oslo, Oppegård, Ås og Ski.
- Calmano, W., von der Kammer, F. & Schwartz, R. (2005). Characterization of redox conditions in soils and sediments: Heavy metals. *IWA Publ., London, UK*.
- Chay, T. C., Surif, S. & Heng, L. Y. (2005). A copper toxicity biosensor using immobilized cyanobacteria, *Anabaena torulosa*. *Sensor Letters*, 3 (1-4): 49-54.
- Cooper, C. (1993). Biological effects of agriculturally derived surface water pollutants on aquatic systems—a review. *Journal of Environmental Quality*, 22 (3): 402-408.
- Correll, D. L. (1998). The role of phosphorus in the eutrophication of receiving waters: A review. *Journal of Environmental Quality*, 27 (2): 261-266.
- Damsgård, B. M. (2011). *Akkumulering av tungmetaller i bunnlevende invertebrater og frosk fra rensbasseng langs E6*. Masteroppgave. Ås: Universitetet for miljø- og biovitenskap (UMB), Institutt for plante- og miljøvitenskap.
- Davis, A. P., Shokouhian, M. & Ni, S. (2001). Loading estimates of lead, copper, cadmium, and zinc in urban runoff from specific sources. *Chemosphere*, 44 (5): 997-1009.
- Emmanuel, E., Balthazard-Accou, K. & Joseph, O. (2008). Impact of Urban Wastewater on Biodiversity of Aquatic Ecosystems. *Environmental Management, Sustainable Development and Human Health*: 399.
- Engelhard, C., De Toffol, S., Lek, I., Rauch, W. & Dallinger, R. (2007). Environmental impacts of urban snow management—The alpine case study of Innsbruck. *Science of the total environment*, 382 (2): 286-294.
- Erickson, R. J., Nichols, J. W., Cook, P. M. & Ankley, G. T. (2008). Bioavailability of chemical contaminants in aquatic systems. *The toxicology of fishes*: 9-54.
- Everard, M. & Denny, P. (1985). Flux of lead in submerged plants and its relevance to a freshwater system. *Aquatic Botany*, 21 (2): 181-193.
- Fairbrother, A., Wenstel, R., Sappington, K. & Wood, W. (2007). Framework for metals risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 68 (2): 145-227.
- Fernandes, J. & Henriques, F. (1991). Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plants. *The Botanical Review*, 57 (3): 246-273.
- Flemming, C. & Trevors, J. (1989). Copper toxicity and chemistry in the environment: a review. *Water, Air, and Soil Pollution*, 44 (1-2): 143-158.
- Garvey, J. E., Owen, H. A. & Winner, R. W. (1991). Toxicity of copper to the green alga, *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae), as affected by humic substances of terrestrial and freshwater origin. *Aquatic Toxicology*, 19 (2): 89-96.
- Global invasive species database. (2010). *Elodea canadensis (aquatic plant)*: Invasive Species Specialist Group (ISSG). Tilgjengelig fra: <http://www.issg.org/database/species/ecology.asp?si=290> (lest 13.05.15).
- Gundersen, G. I. (2014). *Gjødselundersøkelsen 2013. Bonden sprer 250 000 tonn nitrogen på åker og eng*: Statistisk sentralbyrå. Tilgjengelig fra: <https://www.ssb.no/jord-skog-jakt-og-fiskeri/artikler-og-publikasjoner/bonden-sprer-125-000-tonn-nitrogen-pa-aker-og-eng> (lest 03.04.15).
- He, W., Wallinder, I. O. & Leygraf, C. (2001). A laboratory study of copper and zinc runoff during first flush and steady-state conditions. *Corrosion science*, 43 (1): 127-146.
- Helsel, D. R. (2006). Fabricating data: how substituting values for nondetects can ruin results, and what can be done about it. *Chemosphere*, 65 (11): 2434-2439.

- Jacobsen, F. & Magnusson, A. (2012). *Faktorer som regulerer vekst av vasspest (Elodea canadensis) - status over bestandsutviklingen i Årungen*. Studentoppgave. Ås: Universitetet for miljø- og biovitenskap (UMB), Institutt for plante- og miljøvitenskap.
- Johansen, L. S. (2013). *Akkumulering av grunnstoffer og nivåer av fire biomarkører i rumpetroll av vanlig frosk (Rana temporaria) i to rensebasseng samt en naturlig forekommende dam*. Masteroppgave. Ås: Universitetet for miljø- og biovitenskap (UMB), Institutt for naturforvaltning
- Kartverket. (u.d.). *Flybilder*. Kartportal. Norgeskart Kartverket Tilgjengelig fra: <http://norgeskart.no/-/5/378604/7226208/-land/+flybilder> (lest 10.03.15).
- Krogstad, T. & Løvstad, Ø. (1993). *Overvåkning av Årungenvassdraget 1992. Årungen prosjektet* Limno consult: Institutt for jordfag, NLH.
- Küpper, H., Küpper, F. & Spiller, M. (1996). Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plants. *Journal of Experimental Botany*, 47 (2): 259-266.
- Le Jeune, A.-H., Charpin, M., Deluchat, V., Briand, J.-F., Lenain, J.-F., Baudu, M. & Amblard, C. (2006). Effect of copper sulphate treatment on natural phytoplanktonic communities. *Aquatic toxicology*, 80 (3): 267-280.
- Lydersen, E., Löfgren, S. & Arnesen, R. T. (2002). Metals in Scandinavian surface waters: effects of acidification, liming, and potential reacidification. *Critical reviews in environmental science and technology*, 32 (2-3): 73-295.
- Magnusson, K. S. A. (2014). *Upstream lakes as sinks or sources of particle and nutrients-impact on phytoplankton growth in downstream recipients - A case study from the Årungen water course*. Masteroppgave. Ås: Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU), Institutt for miljøvitenskap
- Mahrosh, U., Kleiven, M., Meland, S., Rosseland, B. O., Salbu, B. & Teien, H.-C. (2014). Toxicity of road deicing salt (NaCl) and copper (Cu) to fertilization and early developmental stages of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of hazardous materials*, 280: 331-339.
- Mal, T. K., Adorjan, P. & Corbett, A. L. (2002). Effect of copper on growth of an aquatic macrophyte, *Elodea canadensis*. *Environmental Pollution*, 120 (2): 307-311.
- Malec, P., Maleva, M., Prasad, M. & Strzałka, K. (2009). Copper toxicity in leaves of *Elodea canadensis* Michx. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 82 (5): 627-632.
- Meland, S. (2010). *Ecotoxicological effects of highway and tunnel wash water runoff*: Norwegian University of Life Sciences.
- Meland, S., Borgstrøm, R., Heier, L. S., Rosseland, B. O., Lindholm, O. & Salbu, B. (2010). Chemical and ecological effects of contaminated tunnel wash water runoff to a small Norwegian stream. *Science of the Total Environment*, 408 (19): 4107-4117.
- Meteorologisk institutt. (2014). *eKlima*. Tilgjengelig fra: http://sharki.oslo.dnmi.no/portal/page?_pageid=73,39035,73_39049&_dad=portal&_schema=PORTAL (lest 04.04.15).
- Miljødirektoratet. (2010). *EUs vanndirektiv*. Tilgjengelig fra: <http://www.miljodirektoratet.no/no/Tema/Vannforvaltning/Vann-og-vassdrag/EUs-vanndirektiv/> (lest 03.03.15).
- Miljødirektoratet. (2012). *Elver og innsjøer* Miljøstatus i Norge. Tilgjengelig fra: <http://www.miljostatus.no/Tema/Ferskvann/Elver-og-innsjoer/> (lest 10.01.15).
- Miljøstatus. (2013). *Vasspest og smal vasspest*: Miljødirektoratet. Tilgjengelig fra: <http://www.miljostatus.no/Vasspest/> (lest 26.03.15).

- Minitab Inc. (2015a). *What to do with nonnormal data*. Minitab Inc. Tilgjengelig fra: <http://support.minitab.com/en-us/minitab/17/topic-library/basic-statistics-and-graphs/introductory-concepts/normality/what-to-do-with-nonnormal-data/> (lest 25.03.15).
- Minitab Inc. (2015b). *Why should I use a Kruskal-Wallis test?* Minitab Minitab Inc. Tilgjengelig fra: <http://support.minitab.com/en-us/minitab/17/topic-library/basic-statistics-and-graphs/hypothesis-tests/nonparametrics-tests/why-use-kruskal-wallis/> (lest 03.04.15).
- Mymæl, A. (2012). Kartlegging av vasspest i Oslo og Akershus, 2012. I: Miljøvernnavdelingen (red.). *Rapport nr.7/2012*: Fylkesmannen i Oslo og Akershus
- Napier, F., D'Arcy, B. & Jefferies, C. (2008). A review of vehicle related metals and polycyclic aromatic hydrocarbons in the UK environment. *Desalination*, 226 (1): 143-150.
- NGU. (2015). *Kartinnsyn*: Norges geologiske undersøkelse. Tilgjengelig fra: <http://www.ngu.no/kart-og-data/kartinnsyn> (lest 10.01.15).
- NMBU. (2015). *Værstatistikk - kommentarer for 2014*. Ås: Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU). Tilgjengelig fra: <http://www.nmbu.no/om/fakulteter/miljotek/institutter/imt/laboratorier/fagklim/kommentarer> (lest 22.04.15).
- Norrström, A.-C. & Jacks, G. (1998). Concentration and fractionation of heavy metals in roadside soils receiving de-icing salts. *Science of the Total Environment*, 218 (2): 161-174.
- NVE. (2014a). *senorge.no*: Norges vassdrags- og energidirektorat. Tilgjengelig fra: <http://www.senorge.no/index.html?p=senorgeny&st=snow> (lest 25.04.15).
- NVE. (2014b). *Snørapport- Snømengder i Noreg per 19. februar 2014*: Norges vassdrags- og energidirektorat. Tilgjengelig fra: <http://www.nve.no/no/Nyhetsarkiv/Snorapport/Snorapport---Snomengder-i-Noreg-per-19-februar-2014/> (lest 26.04.15).
- Nyquist, J. & Greger, M. (2007). Uptake of Zn, Cu, and Cd in metal loaded *Elodea canadensis*. *Environmental and experimental botany*, 60 (2): 219-226.
- Ottesen, R., Bogen, J., Bølviken, B., Volden, T. & Haugland, T. (2000). Geokjemisk atlas for Norge. *Norges Geologiske Undersøkelser, Norges Vassdrags og Elektrisitetsverk*.
- PURA. (2011). Årsrapport 2008-2010 PURA: Vannområdet Bunnefjorden med Årungen- og Gjersjøvassdraget. PURA vannområde Follo/Oslo.
- PURA. (2012). Årsrapport 2012: Vannområdet Bunnefjorden med Årungen- og Gjersjøvassdraget. PURA vannområde Follo/Oslo.
- PURA. (2013). Årsrapport 2013 PURA: Vannområdet Bunnefjorden med Årungen- og Gjersjøvassdraget. PURA vannområde Follo/Oslo.
- Quigg, A., Reinfelder, J. R. & Fisher, N. S. (2006). Copper uptake kinetics in diverse marine phytoplankton. *Limnology and oceanography*, 51 (2): 893-899.
- Riise, G., Krogstad, T., Blakar, I., Gjengedal, E., Haaland, S., Kristiansen, J., Naas, K., Reierstad, Å. T., Romarheim, A., Rutsinda, J., et al. (2010). Akkumulering av næringsstoffer og spormetaller i Årungen sedimenter- sedimentenes betydning som fosforkilde. *IPM-rapport*. Universitetet for miljø- og plantevitenskap (UMB): Institutt for plante- og miljøvitenskap.
- Romarheim, A. (2012). *Fysiske og kjemiske faktorer som påvirker dynamikken av planteplankton i en svært eutrof og turbid innsjø*. Doktorgrad. Ås: Universitetet for miljø- og biovitenskap (UMB).

- Romarheim, A., Riise, G., Rohrlack, T., Krogstad, T., Kristiansen, J. & Brettum, P. (2012). Faktorer som påvirker oppblomstring av cyanobakterier i Årungen- en risikovurdering. *IPM-rapport Nr 2*. Ås: Institutt for plante-og miljøvitenskap. Universitetet for miljø- og biovitenskap (UMB).
- Roseth, R. & Amundsen, C. E. (2004). Utslippsfaktorer for forurensninger fra veg til vann og jord i Norge. Statens vegvesen.
- Roseth, R. & Amundsen, E. C. (2006). *Vaskevann fra vegtunneler - forurensningsstoffer og behandling* Jordforsk. Tilgjengelig fra: http://jova.bioforsk.no/fagnat/vaskevann_fra_vegtuneller.htm.
- Sabin, L. D., Lim, J. H., Stolzenbach, K. D. & Schiff, K. C. (2005). Contribution of trace metals from atmospheric deposition to stormwater runoff in a small impervious urban catchment. *Water research*, 39 (16): 3929-3937.
- Sansalone, J. J. & Buchberger, S. G. (1996). Characterization of metals and solids in urban highway winter snow and spring rainfall-runoff. *Transportation Research Record: Journal of the Transportation Research Board*, 1523 (1): 147-159.
- Schwarzenbach, R. P., Escher, B. I., Fenner, K., Hofstetter, T. B., Johnson, C. A., Von Gunten, U. & Wehrli, B. (2006). The challenge of micropollutants in aquatic systems. *Science*, 313 (5790): 1072-1077.
- Sivertsen, Å. & Skolmli, I. O. (2014). Mengderapportering vinteren 2013/2014. *Rapport Nr 321*. Statens vegvesen.
- Skjelkvåle, B., Rognerud, S., Christensen, G., Fjeld, E. & Røyset, O. (2008). Nasjonal innsjøundersøkelse 2004-2006, DEL I: Vannkjemi. Status for forsuring, næringssalter og metaller (part I: Water chemistry. Status of acidification, nutrients and metals) NIVA-rapport: LNO-5548/2008, Statlig program for forurensningsovervåking, SPFO rapport.
- Skog og Landskap. (2015). *Jordbruksareal under press i store deler av Follo* Norsk institutt for skog og landskap. Tilgjengelig fra: http://www.skogoglandskap.no/nyheter/2015/jordbruksareal_under_press_i_store_deler_av_follo/newsitem (lest 10.02.15).
- Skovgaard, H., Løvstad, Ø. & Åstebøl, O. S. (2009). Erfaringer med innsjørestaurering og perspektiver for Årungen og Østensjøvann. *Fagartikkel* Oslo: COWI AS, PURA vannområde Follo/Oslo.
- Smil, V. (1999). Nitrogen in crop production: An account of global flows. *Global biogeochemical cycles*, 13 (2): 647-662.
- Snilberg, P., Roseth, R. & Amundsen, C. E. (2002). Naturbaserte behandlingsanlegg for vegavrenning *Undersøkelse av rensegrad og anleggsfunksjon for tre anlegg på ny E6 Korsegården-Vassum i Ås kommune i 2000 og 2001*. Jordforsk Senter for jordfaglig miljøforskning: Jordforsk rapport nr 13/02.
- Statens vegvesen. (2005). Overvåking av rensebasseng for overvann fra E6 Skullerudkrysset i Oslo, 2003 - 2004. Utbyggingsavdelingen, Vegdirektoratet.
- Statens vegvesen. (2013). *Vegkart*. Kartportal: Statens vegvesen. Tilgjengelig fra: [https://http://www.vegvesen.no/vegkart/vegkart/-!/kartlag:geodata/sok:{%22lokasjon%22%3A{%22bbox%22%3A%22-1133977%2C6314662%2C2333977%2C8135338%22}%2C%22objektTyper%22%3A\[\]}}](https://http://www.vegvesen.no/vegkart/vegkart/-!/kartlag:geodata/sok:{%22lokasjon%22%3A{%22bbox%22%3A%22-1133977%2C6314662%2C2333977%2C8135338%22}%2C%22objektTyper%22%3A[]}}) (lest 10.03.15).
- Steinnes, E., Berg, T., Uggerud, H. & Vadset, M. (2007). Atmosfærisk nedfall av tungmetaller i Norge. Landsomfattende undersøkelse i 2005. NTU, Norway: TA-2241.

- Sternbeck, J., Sjödin, Å. & Andréasson, K. (2002). Metal emissions from road traffic and the influence of resuspension—results from two tunnel studies. *Atmospheric Environment*, 36 (30): 4735-4744.
- Tabachnick, G. B. & Fidell, S. L. (2013). *Using Multivariate Statistics*: Pearson.
- Thygesen, H. (2013). *Biodiversitet i rensebasseng som mottar avrenningsvann fra veg*. Masteroppgave. Ås: Universitetet for miljø- og biotvitenskap (UMB), Institutt for plante- og miljøvitenskap
- Tilman, D. (1999). Global environmental impacts of agricultural expansion: the need for sustainable and efficient practices. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96 (11): 5995-6000.
- Tur, L. Årungen (2007). (internettfoto). Tilgjengelig fra: <http://www.panoramio.com/photo/3456754> (lest 15.01.15).
- Vaa, T. & Giæver, T. (2007). Salting av veger En kunnskapsoversikt. *Rapport Nr. 2493*, 1504-5005: Teknologiavdelingen. Statens vegvesen.
- Vanndirektivet. (2013). Oppsummering av karakteriseringen i Norge Status Mai 2013. *Artikkel 5: Vanndirektivet*.
- Vanni, M. J., Renwick, W. H., Headworth, J. L., Auch, J. D. & Schaus, M. H. (2001). Dissolved and particulate nutrient flux from three adjacent agricultural watersheds: A five-year study. *Biogeochemistry*, 54 (1): 85-114.
- Viklander, M., Marsalek, J., Malmquist, P. & Watt, W. (2003). Urban drainage and highway runoff in cold climates: conference overview. *Water Science & Technology*, 48 (9): 1-10.
- Violante, A., Cozzolino, V., Perelomov, L., Caporale, A. & Pigna, M. (2010). Mobility and bioavailability of heavy metals and metalloids in soil environments. *Journal of soil science and plant nutrition*, 10 (3): 268-292.
- Warren, L. A. & Zimmerman, A. P. (1994). The influence of temperature and NaCl on cadmium, copper and zinc partitioning among suspended particulate and dissolved phases in an urban river. *Water Research*, 28 (9): 1921-1931.
- Westerlund, C., Viklander, M. & Bckstrm, M. (2003). Seasonal variations in road runoff quality in Lule, Sweden. *Water Science & Technology*, 48 (9): 93-101.
- Westerlund, C. & Viklander, M. (2006). Particles and associated metals in road runoff during snowmelt and rainfall. *Science of the Total Environment*, 362 (1): 143-156.
- Westerlund, C. (2007). *Road runoff quality in cold climates*: Doctoral thesis 2007.
- Winner, R. W. & Owen, H. A. (1991). Seasonal variability in the sensitivity of freshwater phytoplankton communities to a chronic copper stress. *Aquatic toxicology*, 19 (2): 73-88.
- Zambon, B. (2010). *METALS IN THE SEDIMENTS OF THE EUTROPHIC LAKE ÅRUNGEN, NORWAY Horizontal distribution and association with clay*. Masteroppgave. Ås: Universitetet for miljø- og biovitenskap (UMB), Institutt for plante- og miljøvitenskap.
- Zeng, J., Yang, L. & Wang, W.-X. (2010). High sensitivity of cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to copper and the prediction of copper toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29 (10): 2260-2268.
- Zhang, M., He, Z., Calvert, D. V., Stoffella, P. J. & Yang, X. (2003). Surface runoff losses of copper and zinc in sandy soils. *Journal of environmental quality*, 32 (3): 909-915.
- Zuur, A. (2013). *"Now you see it, now you don't" or The mysterious Appearance and Disappearance of Elodea canadensis in lake Årungen: Invader and Recipient Characteristics from the perspective of invasion biology and theory*.

Studentoppgave i VANN300. Ås: Universitetet for miljø- og biovitenskap (UMB),
Institutt for miljøvitenskap.

Zuur, F. A. (2014). *Beskrivelse av invasjon og tilbakegang for den uønskede arten Elodea canadensis i en eutrof, belastet innsjø ved bruk av paleolimnologiske metoder*. Masteroppgave. Ås: Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU), Institutt for miljøvitenskap

8 Vedlegg

Vedlegg 1. Datasett med vannkjemiske analyser - gjennomsnitt (se side 54)

Vedlegg 2. Data fra toksisiteteksperiment (se side 55)

Parameter	Årungen							Avrenning
	utløp	Bølstadbekken	Norderåsbekken	Vollebekken	Brønnerudbekken	Smedbølbekken	Storgrava	E6
Tot. P (µg/l)	85	89	103	77	68	89	130	204
Tot. N (mg/l)	3,1	3,5	3,7	2,4	3	3,7	5,2	1,5
TOC (mg/l)	6,4	6,7	9,9	6,4	7,7	5,4	5,4	7,4
pH	7,8	7,7	7,8	7,8	8	7,9	7,8	7,9
Turbiditet (NTU)	35	39	47	19	24	36	36	69
Alkalitet (mekv/l)	0,73	0,82	1,43	1,96	2,09	1,46	1,65	2,42
Kond. (µS/cm)	223	229	297	551	904	318	372	1464
F (mg/l)	0,27	0,29	0,34	0,32	0,37	0,27	0,26	0,29
Cl (mg/l)	28,3	26,9	28,2	83,5	183,8	32,1	37,4	373,0
NO3-N (mg/l)	2,4	2,8	3	1,8	2,4	3	4,3	0,6
SO4 (mg/l)	12,8	13,3	17,2	31,1	38,3	20,3	24,9	25,3
DOC (mg/l)	6,2	6,4	9,7	6,2	7,5	5,2	5,1	7
OD410 (mgPt/l)	51	52	81	38	67	31	30	38
OD254 (abs/cm)	0,268	0,276	0,402	0,226	0,324	0,187	0,185	0,224
Na (mg/l)	17	17	17	52	112	19	25	223
Mg mg/L	3,9	4,5	6,3	7,9	9,8	6,6	6,8	10,9
Al (µg/l)	142	150	107	76	95	89	99	57
K (mg/l)	3,2	3,3	4,2	4,4	4,8	3,9	3,9	6,7
Ca (mg/l)	19	20	32	47	56	33	37	65
Cr (µg/l)	0,36	0,36	0,43	0,34	0,36	0,29	0,31	0,48
Fe (µg/l)	132	162	199	137	176	120	102	81
Ni (µg/l)	1,8	1,7	2,2	2,0	1,5	1,7	1,9	1,5
Cu (µg/l)	4	3,9	3,3	4,5	5,4	3,4	3,9	9,5
Zn (µg/l)	3,3	4	3,9	7	5,6	7,1	5,3	15,8
Cd (µg/l)	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Sb (µg/l)	0,15	0,17	0,09	0,24	0,44	0,13	0,14	0,51
Pb (µg/l)	0,216	0,248	0,239	0,218	0,269	0,202	0,210	0,264

Art	Cu-konsentrasjon	Dag 0	Forsøk 1	Forsøk 2	Forsøk 3
		Biomassekonsentrasjon*	Dag 4	Dag 4	Dag 4
<i>Planktothrix</i>	Kontroll	0,038	0,078	0,087	0,091
	1µg/l		0,051	0,078	0,093
	5µg/l		0,042	0,047	0,052
	10µg/l		0,025	0,025	0,025
	20µg/l		0,019	0,017	0,019
	50µg/l		0,023	0,023	0,024
	100µg/l		0,032	0,033	0,034
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Kontroll	0,033	0,161	0,159	0,151
	1µg/l		0,136	0,138	0,160
	5µg/l		0,126	0,131	0,151
	10µg/l		0,128	0,134	0,156
	20µg/l		0,123	0,135	0,155
	50µg/l		0,114	0,129	0,148
	100µg/l		0,121	0,136	0,150
<i>Stichococcus bacillaris</i>	Kontroll	0,044	0,150	0,145	0,163
	1µg/l		0,143	0,147	0,172
	5µg/l		0,141	0,139	0,176
	10µg/l		0,139	0,145	0,163
	20µg/l		0,110	0,125	0,153
	50µg/l		0,121	0,123	0,132
	100µg/l		0,109	0,114	0,128

*Biomassekonsentrasjon (partikkeltetthet) målt som optisk tetthet ved 800 nm.

Vedlegg 3. Resultater PCA

Eigenanalysis of the Correlation Matrix

Eigenvalue	10,098	5,479	2,649	2,246	1,208	0,994	0,805	0,614	0,410	0,369	0,267
Proportion	0,388	0,211	0,102	0,086	0,046	0,038	0,031	0,024	0,016	0,014	0,010
Cumulative	0,388	0,599	0,701	0,787	0,834	0,872	0,903	0,927	0,942	0,957	0,967

Eigenvalue	0,211	0,168	0,146	0,090	0,069	0,054	0,041	0,032	0,015	0,011	0,008
Proportion	0,008	0,006	0,006	0,003	0,003	0,002	0,002	0,001	0,001	0,000	0,000
Cumulative	0,975	0,981	0,987	0,991	0,993	0,995	0,997	0,998	0,999	0,999	0,999

Eigenvalue	0,005	0,005	0,003	0,002
Proportion	0,000	0,000	0,000	0,000
Cumulative	1,000	1,000	1,000	1,000

Variable	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10
Tot. P	0,130	0,186	0,338	0,020	-0,150	0,418	0,232	-0,068	0,211	0,204
Tot. N	0,142	0,011	0,205	-0,499	-0,034	0,106	-0,347	0,097	0,004	-0,001
TOC	0,092	0,305	-0,303	-0,185	0,091	0,087	0,177	0,040	-0,118	0,113
pH	-0,181	-0,104	-0,169	-0,159	0,199	-0,318	0,074	0,592	0,322	0,218
Turb	0,218	0,180	0,233	0,071	0,036	0,314	0,131	0,016	0,136	0,003
Alk.	-0,293	0,061	-0,047	-0,049	-0,207	0,027	0,030	-0,056	0,040	0,177
Kond	-0,261	0,209	0,062	0,079	0,018	0,088	-0,100	0,116	-0,167	0,029
F	-0,180	0,131	-0,281	-0,112	-0,181	-0,011	0,011	-0,329	0,600	-0,413
Cl	-0,229	0,236	0,064	0,186	0,124	0,087	-0,094	0,134	-0,148	-0,089
NO3-N	0,144	-0,019	0,172	-0,495	-0,032	0,075	-0,413	0,078	-0,017	-0,087
SO4	-0,285	0,060	-0,011	-0,050	-0,145	-0,015	-0,282	-0,065	-0,063	-0,038
DOC	0,082	0,296	-0,336	-0,193	0,084	0,061	0,176	0,015	-0,116	0,117
OD 410	0,196	0,243	-0,250	-0,046	0,175	0,055	-0,117	-0,076	-0,113	-0,100
OD 254	0,170	0,267	-0,297	-0,106	0,136	0,070	-0,035	-0,045	-0,113	0,023
Na	-0,233	0,233	0,067	0,184	0,119	0,079	-0,094	0,142	-0,136	-0,077
Mg	-0,286	0,095	-0,020	-0,115	-0,163	0,068	-0,094	0,026	-0,042	0,161
Al	0,247	0,114	0,009	0,277	-0,048	-0,092	-0,264	0,242	0,059	0,061
K	-0,238	0,185	0,021	-0,124	-0,189	0,133	0,122	0,009	0,124	0,250
Ca	-0,290	0,114	0,004	-0,077	-0,172	0,064	-0,098	0,009	-0,110	0,130
Cr	0,182	0,230	0,017	0,220	-0,096	0,079	-0,150	0,339	0,371	0,135
Fe	0,158	0,167	-0,217	0,267	-0,251	-0,184	-0,395	-0,184	-0,020	0,123
Ni	0,144	0,107	-0,065	-0,089	-0,584	-0,093	0,261	0,425	-0,139	-0,450
Cu	-0,050	0,268	0,285	-0,204	0,260	-0,311	0,256	-0,050	-0,053	-0,121
Zn	0,038	0,267	0,306	0,055	-0,219	-0,386	0,083	-0,086	-0,224	-0,079
Sb	-0,155	0,253	0,159	0,083	0,349	0,022	-0,158	0,060	0,232	-0,421
Pb	0,116	0,256	0,175	-0,088	-0,013	-0,487	-0,013	-0,225	0,222	0,324

Variable	PC11	PC12	PC13	PC14	PC15	PC16	PC17	PC18	PC19	PC20
Tot. P	-0,032	-0,396	0,026	0,010	-0,389	-0,276	0,138	0,157	0,058	0,212
Tot. N	0,055	-0,048	-0,107	-0,019	-0,143	0,041	0,032	0,104	0,106	-0,308
TOC	0,218	0,019	0,091	0,223	-0,231	0,143	-0,037	-0,222	0,053	-0,006
pH	0,109	-0,440	0,076	-0,131	0,084	-0,077	0,019	-0,010	0,100	0,034
Turb	-0,032	-0,218	0,259	-0,072	0,514	0,371	-0,304	-0,251	0,080	-0,161
Alk.	-0,110	-0,064	0,200	0,229	0,062	-0,186	-0,094	0,158	-0,326	-0,601
Kond	-0,050	-0,011	-0,043	-0,184	-0,057	0,129	0,021	0,015	0,053	-0,129
F	0,119	-0,009	0,078	-0,339	-0,159	0,139	-0,010	0,008	-0,028	-0,051
Cl	-0,087	0,013	-0,080	-0,271	-0,149	0,070	0,092	-0,149	0,153	-0,096
NO3-N	0,093	0,068	0,019	-0,087	0,025	-0,006	0,015	-0,143	-0,042	0,076
SO4	-0,149	-0,099	0,390	0,156	-0,035	-0,298	-0,199	-0,496	-0,092	0,367
DOC	0,172	0,085	0,076	0,167	-0,149	0,146	0,029	-0,096	0,011	-0,047
OD 410	-0,246	-0,182	-0,057	-0,306	0,298	-0,300	-0,027	0,189	-0,093	0,068
OD 254	-0,165	-0,046	0,053	-0,062	0,150	-0,160	0,232	0,146	-0,206	0,080
Na	-0,078	-0,002	-0,044	-0,205	-0,194	-0,010	0,095	-0,146	0,127	-0,147
Mg	-0,090	0,072	0,161	0,043	0,137	0,457	0,074	0,443	0,114	0,458
Al	0,028	-0,079	-0,063	-0,069	-0,309	0,283	-0,299	0,081	-0,634	0,099
K	0,175	0,143	-0,677	-0,062	0,278	-0,121	-0,138	-0,221	-0,190	0,158
Ca	-0,011	-0,021	0,077	0,013	0,077	0,013	-0,071	0,247	-0,029	-0,092
Cr	0,072	0,604	0,243	0,010	0,099	-0,275	0,085	0,071	0,143	-0,017
Fe	0,191	-0,277	-0,188	0,164	0,020	-0,068	-0,266	0,096	0,477	-0,059
Ni	-0,313	-0,046	-0,120	0,118	0,005	0,006	-0,010	-0,018	0,083	0,001
Cu	-0,015	0,181	0,051	-0,058	-0,122	-0,177	-0,601	0,261	0,108	0,078
Zn	0,543	-0,114	0,193	-0,148	0,183	-0,055	0,346	-0,003	-0,168	0,014
Sb	0,043	-0,125	-0,187	0,611	0,134	0,025	0,172	0,095	-0,083	0,043
Pb	-0,518	0,036	-0,087	0,051	-0,040	0,195	0,237	-0,215	0,034	-0,057

Variable	PC21	PC22	PC23	PC24	PC25	PC26
Tot. P	-0,008	0,016	0,010	0,105	-0,012	-0,052
Tot. N	0,136	-0,149	0,207	-0,546	0,018	0,085
TOC	0,301	0,037	-0,564	-0,107	0,191	0,073
pH	-0,040	0,007	0,002	0,015	0,004	-0,015
Turb	-0,095	0,011	0,022	-0,048	0,002	0,043
Alk.	-0,016	-0,345	-0,123	0,192	-0,005	-0,071
Kond	0,135	0,289	-0,141	-0,097	-0,519	-0,582
F	-0,020	0,039	-0,016	-0,035	-0,012	-0,003
Cl	-0,075	-0,242	0,127	0,084	0,654	-0,285
NO3-N	-0,184	0,051	-0,227	0,606	-0,016	-0,083
SO4	0,049	-0,038	0,144	-0,219	-0,034	-0,025
DOC	-0,066	-0,016	0,673	0,254	-0,186	-0,049
OD 410	0,552	-0,074	0,067	0,150	-0,009	0,081
OD 254	-0,652	0,039	-0,156	-0,307	0,015	-0,080
Na	-0,154	-0,115	-0,096	0,086	-0,342	0,673
Mg	0,051	-0,350	-0,053	0,012	-0,034	0,063
Al	0,011	-0,001	0,037	-0,017	0,026	0,037
K	-0,029	-0,082	0,008	-0,069	-0,008	0,035
Ca	0,005	0,735	0,119	0,039	0,330	0,268
Cr	0,078	0,020	0,005	-0,035	-0,001	-0,020
Fe	-0,152	-0,055	-0,044	0,062	-0,025	-0,046
Ni	-0,018	0,010	-0,008	0,015	-0,006	-0,008
Cu	-0,132	-0,040	-0,032	-0,017	-0,010	-0,030
Zn	0,066	-0,059	0,022	-0,049	0,005	0,019
Sb	0,050	0,053	0,021	0,033	0,004	-0,019
Pb	0,063	0,087	-0,003	0,047	0,016	0,019

Vedlegg 4. Resultater Kruskal-Wallis test

Kruskal-Wallis Test: PC1 prøve skår rangert versus Bekk

Kruskal-Wallis Test on PC1 prøve skår rangert

Bekk	N	Median	Ave Rank	Z
Avrenning E6	10	14,50	25,2	-3,79
Brønnerudbekken	20	32,00	40,6	-3,85
Bølstadbekken	20	111,50	106,2	3,39
Norderåsbekken	20	98,50	100,5	2,76
Smebølbekken	20	67,50	75,8	0,03
Storgrava	20	60,00	72,8	-0,30
Vollebekken	20	35,00	49,5	-2,88
Årungen utløp	20	112,00	108,3	3,63
Overall	150		75,5	

H = 61,55 DF = 7 P = 0,000

Kruskal-Wallis Test: PC2 prøve skår rangert versus Bekk

Kruskal-Wallis Test on PC2 prøve skår rangert

Bekk	N	Median	Ave Rank	Z
Avrenning E6	10	131,00	132,3	4,28
Brønnerudbekken	20	131,00	120,8	5,00
Bølstadbekken	20	46,00	57,5	-1,99
Norderåsbekken	20	102,50	101,3	2,85
Smebølbekken	20	29,00	39,0	-4,04
Storgrava	20	38,50	48,8	-2,96
Vollebekken	20	75,50	85,7	1,13
Årungen utløp	20	39,50	47,2	-3,13
Overall	150		75,5	

H = 80,57 DF = 7 P = 0,000

Vedlegg 5. Resultater t-test

Two-Sample T-Test and CI: Prøve skår PC1; Sesong

Two-sample T for Prøve skår PC1

Sesong	N	Mean	StDev	SE Mean
1	79	1,30	3,11	0,35
2	71	-1,45	2,58	0,31

Difference = μ (1) - μ (2)

Estimate for difference: 2,748

95% CI for difference: (1,820; 3,677)

T-Test of difference = 0 (vs \neq): T-Value = 5,85 P-Value = 0,000 DF = 148

Both use Pooled StDev = 2,8736

Two-Sample T-Test and CI: Prøve skår PC2; Sesong

Two-sample T for Prøve skår PC2

Sesong	N	Mean	StDev	SE Mean
1	79	0,44	2,46	0,28
2	71	-0,49	2,11	0,25

Difference = μ (1) - μ (2)

Estimate for difference: 0,937

95% CI for difference: (0,193; 1,680)

T-Test of difference = 0 (vs \neq): T-Value = 2,49 P-Value = 0,014 DF = 148

Both use Pooled StDev = 2,3010

Vedlegg 6. Resultater lineær regresjonsanalyse

Regression Analysis: Veksthastighet Stichococcus (1/døgn) versus Cu (µg/l)

The regression equation is

$$\text{Veksthastighet (1/døgn)} = 0,3055 - 0,000700 \text{ Cu } \mu\text{g/l}$$

$$S = 0,0134229 \quad R\text{-Sq} = 81,5\% \quad R\text{-Sq(adj)} = 77,8\%$$

Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	0,0039614	0,0039614	21,99	0,005
Error	5	0,0009009	0,0001802		
Total	6	0,0048623			

Regression Analysis: Veksthastighet Plantothrix (1/døgn) versus Cu (µg/l)

The regression equation is

$$\text{Veksthastighet(1/døgn)} = 0,1650 - 0,01943 \text{ Cu } \mu\text{g/l}$$

$$S = 0,0552015 \quad R\text{-Sq} = 91,7\% \quad R\text{-Sq(adj)} = 88,9\%$$

Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	0,100690	0,100690	33,04	0,010
Error	3	0,009142	0,003047		
Total	4	0,109832			

Regression Analysis: Veksthastighet Scenedesmus (1/døgn) versus Cu (µg/l)

The regression equation is

$$\text{Veksthastighet (1/døgn)} = 0,3662 - 0,000224 \text{ Cu } \mu\text{g/l}$$

$$S = 0,0141920 \quad R\text{-Sq} = 28,7\% \quad R\text{-Sq(adj)} = 14,4\%$$

Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	0,0004045	0,0004045	2,01	0,216
Error	5	0,0010071	0,0002014		
Total	6	0,0014115			



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Postboks 5003
NO-1432 Ås
67 23 00 00
www.nmbu.no