



Høgskolen i Telemark

Cyanobakterier. Vannkvalitet, forekomst og toksinproduksjon i Norsjø 2008.



Ingunn Berge

**Masteroppgave, natur, helse og miljøvern tilrettelagt
for lærere,
60 studiepoeng.**



Avdeling for allmennvitenskapelige fag

Hallvard Eikas plass, 3800 Bø

Forord

Masteroppgaven er en del av masterstudiet i Natur-, helse- og miljøvern, ved Høgskolen i Telemark, Bø. Oppgaven tilsvarer 60 studiepoeng, og er utarbeidet i perioden desember 2007,- til mai 2009.

Veileder under oppgaven har vært Synne Kleiven, førsteamanuensis i limnologi, ved Høgskolen i Telemark, Bø. Jeg takker for hennes engasjement, hjelpsomhet og solide faglige bakgrunn, gjennom tiden jeg har holdt på med arbeidet.

Jeg vil også takke andre involverte i arbeidet.

Bjørn Steen, senioringeniør, ved INHM- laboratoriet, som har hjulpet til under analysene, - laboratoriearbeid og utregninger av resultater. Mona Sæbø som har hjulpet med å ekstrahere og påvise DNA fra *Anabaena lemmermannii*. Jeg vil også takke Karin Li som laboratoriepersonal, og imøtekommende og hyggelig bibliotekpersonell som var behjelpelige med å skaffe ønsket faglitteratur. Overingeniør Rune Pettersen ved IT avdelingen, har bidratt med sine tekniske kunnskaper.

Ingunn Berge

Nordagutu, mai 2009

Sammendrag.

På bakgrunn av tidligere oppblomstringer av cyanobakterien *Anabaena lemmermannii* i Norsjø, er målsetningen å undersøke vannkvalitet, eventuelle forekomster av cyanobakterier og hvorvidt de er toksinproduserende.

Norsjø ligger i Telemark fylke, fra Skien i sør, Nome i vest og til Sauherad i nord. Navnet kommer fra gammelt av fra no''r, som betyr trang eller smal. På langs er Norsjø ca. 29 km, den største bredden er 3 km ved Ulefoss. Arealet til Norsjø utgjør 58,4 km², mens dypeste punkt er 170 m. Volumet av innsjøen er 5,1 km³. Norsjø brukes som drikkevannskilde for beboere i kommunene Skien og Nome.

Feltarbeidet tar for seg prøvetaking av fysiske/ kjemiske vannparametre og planteplankton ved 6 stasjoner fra det nordlige området av Norsjø. Prøvetakingsperioden var fra 3.7.08 til og med 22.8.08. Tilstanden på vannkvalitet er bedømt etter SFTs inndeling av tilstandsklasser for næringssalter, organiske og forsurende stoffer. Med hensyn på næringssalter og organiske stoffer klassifiseres Norsjø som klasse II "god". For forsurende stoffer viste imidlertid tilstanden "mindre god".

Sesongmiddelverdiene for klorofyll a på 4,8 µg/L, tyder på at Norsjø har endret seg fra oligotrof til en mer mesotrof tilstand. Et N/P forhold på 55, indikerer at fosfor er en begrensende vekstfaktor for planteplankton. Ved en analyse ble det påvist at *Anabaena lemmermannii* forekom i overflatevannet ved samtlige prøvestasjoner. I felt ble oppblomstring imidlertid kun observert ved Torsnes. Toksinet microcystin ble påvist (4.8) ved Torsnes, Ulefoss, Romnes og Årnes, det ble også påvist ved Patmos og Torsnes 14.8. ELISA- analysen viste konsentrasjoner mellom 0,18-0,25 µg microcystin/L. Ved PCR ble gen for microcystinproduksjon påvist ved Patmos og Ulefoss. I forkant av de største klorofyllkonsentrasjonene ble det målt høyere temperatur i overflatetevannet, og kommet store nedbørsmengder. Oppblomstringer skjer ved økende temperatur og ved tilstrekkelig tilgang på næringsstoffer. En medvirkende årsak kan være at vestsiden ligger skjermet til i, forhold til vind fra sør. Dermed er det lite sirkulasjon i vannmassene. Ved Patmos er det langgrunt, vannet varmes opp, og næringspartikler virvles lett opp. I tillegg kan *Anabaena lemmermannii* ha blitt ført med vannmassene fra sør.

Summary.

Lake Norsjø is located in the southwest of Telemark county and extends southward to Skien, westward to Nome, and northward to Sauherad. It is approximately 29 km long and is 3 km at its widest point by Ulefoss. The total water area constitutes 58.4 km², with the deepest point being 170 m, resulting in a total volume of 5.1 km³. The lake is used as a source of drinking water for residents in the municipalities of Skien and Nome. Because of earlier finds of the cyanobacteria *Anabaena lemmermannii* in Lake Norsjø, it is desirable to monitorer water quality as well as any instances of cyanobacteria to determine exactly which bacteria and/or toxins are produced in order to assess health risks related to exposure. The field data collected here deals with samples and results from six stations along the northern area of Lake Norsjø. The sampling period was from 3 July 2008 up to and including 22 August 2008.

Water quality is judged by measuring quantities of nutrients, organic matter and acidifying substances, which then correspond to a class determined by the Norwegian Pollution Control Authority (SFT). Lake Norsjø was classified as follows: for nutrients and organic matter, Class II "good"; for the values of alkalinity and pH as acidifying substances, Class III "less good". The seasonal measurement of chlorophyll a at 4,8 µg / L suggests that Lake Norsjø has changed from an oligotrophic for more mesotrophic lake. The N:P ratio of 55 indicates that phosphorus is the limiting nutrient for phytoplankton in Lake Norsjø.

Halfway through the quantitative analysis of the phytoplankton, it was discovered that *Anabaena lemmermannii* occurred in surface water at all sample stations. Water bloom only was observed by Torsnes. Hepatotoxic microcystin was proven (4.8) by Torsnes, Ulefoss, Romnes and Årnes, it was also proven 14.8 by Patmos and Torsnes, using ELISA. The analysis showed concentrations between 0,18-0,25 µg / L. Using PCR, microcystingen was also detected at Patmos and Ulefoss. Prior to the major chlorophyll a concentrations in July, when relatively high temperatures in the water stabilized, there was a large amount of rainfall. Growth occurs with increasing temperature and sufficient supplies of nutrients, but another contributing factor may be that the west side of Lake Norsjø is shielded from winds from the south. This results in calm wind conditions and low circulation of water. On the side of Patmos, the water is shallow, which results in warm water in which food particles are easily stirred up. In addition, *Anabaena lemmermannii* was carried up with water from the south.

INNHALDSFORTEGNELSE.

1. INNLEDNING.....	7
2. LITTERATURSTUDIUM.....	9
2.1 HISTORIKK.....	9
2.2 SYSTEMATIKK OG EGENSKAPER.	10
2.3 VANNBLOMST.....	14
2.4 LYSPÅVIRKNING.	16
2.5 CYANOBACTERIENES INNVIRKNING PÅ PLANKTONSAMFUNNET.....	17
2.6 TOKSINER.....	18
2.6.1 <i>Hepatoksiner</i>	20
2.6.2 <i>Nervetoksiner</i>	22
2.6.3 <i>Endotoksiner</i>	23
2.6.4 <i>Uspesifiserte toksiner</i>	24
2.7 FORHOLDENE I NORGE.....	24
2.8 AKKUMULERING AV TOKSINER I NÆRINGSKJEDEN.....	25
2.9 HVORFOR PRODUSERER CYANOBACTERIER TOKSINER OG LUKTSTOFFER?	25
2.10 SYMPTOMER OG EKSPONERINGSVEIER FOR DYR OG MENNESKER.	27
2.11 VANNKVALITET.	29
2.12 CYANOBACTERIER SOM NYTTEVERDI.....	30
2.13 PÅVISNING.....	30
2.14 RENSING AV CYANOBACTERIER I VANN.	32
3. OMRÅDEBESKRIVELSE.	34
3.1 BELIGGENHET.....	34
3.2 KLIMA.	35
3.2.1 <i>Temperatur</i>	35
3.2.2 <i>Vind</i>	36
3.2.3 <i>Nedbør</i>	36
3.2.4 <i>Sol</i>	36
3.3 GEOLOGI.....	36
3.4 VEGETASJON.....	37
3.5 VANNKVALITET.	37
3.6 BRUKERINTERESSER.....	38
3.7 TILFØRSEL AV NÆRINGSSTOFF.	38
4. MATERIALER OG METODER.	39
5.1 FELTARBEID.....	39
4.1.1 <i>Prøvetaking</i>	39

4.2 OPPBEVARING OG LAGRING.....	40
4.3 ANALYSEMETODER.....	41
4.3.1 Fysiske og kjemiske analyser.....	43
4.3.2 Biologiske prøver.....	44
4.3.3 Genetisk analyse av <i>Anabaena lemmermannii</i>	45
4.4 TOKSINANALYSER.....	46
4.5 STATISTIKK.....	46
5. RESULTAT OG DISKUSJON.....	47
5.1 FYSISKE OG KJEMISKE ANALYSER.....	47
5.1.1 Siktedyp.....	47
5.1.2 Temperatur.....	48
5.1.4 Alkalitet.....	52
5.1.5 Ledningsevne.....	53
5.1.6 Fargetall.....	55
5.1.7 Ioner.....	55
5.3 NÆRINGSSTOFFER.....	59
5.3.1 Total fosfor.....	59
5.3.2 Fosfat.....	61
5.3.4 Nitrat.....	64
5.3.5 Ammonium.....	66
5.3.6 N/P forholdet.....	66
5.3.7 Totalorganisk karbon.....	68
5.3.8 Klorofyll a.....	68
5.4 KLASSIFISERING AV VANNKVALITET.....	69
5.5 BIOLOGISKE ANALYSER.....	70
5.5.1 Halvkvantitativ planteplanktonanalyse.....	71
5.6 TOKSINANALYSER VED ELISA.....	72
5.6.1 Microsystin.....	72
5.7 GENETISKE METODER.....	73
5.7.1 PCR.....	73
5.7.2 Genetiske undersøkelser.....	74
6. KONKLUSJON.....	75
7. LITTERATURLISTE.....	77

Vedleggsliste

Vedlegg 1-7

1. Innledning.

Cyanobakterier tilhører en gruppe bakterier som forekommer naturlig i luft, jord og vann. Under gode betingelser kan bakteriene danne oppblomstring på vannoverflata, vannblomst. Fenomenet forekommer ofte i perioden mellom juni-oktober. Stor oppkonsumering gjør bakterien i stand til å farge vannoverflaten, og ved noen tilfeller skum. Artssammensetningen og biomasse varierer, ved sure vann er artsantallet mer begrenset (fhi.no).

Bakteriene kan utgjøre en helserisiko for mange levende organismer. De kan sette lukt og smak på vannet, i tillegg er flere arter toksinerproduserende, som kan gi konsekvenser selv ved små doser (Willén et al. 1995). Hepatoksinet microcystin virker vekststimulerende i tumorforstadiet (fhi.no).

Toksinene deles i grupper etter eksponeringsvirkning. Hepatoksiner ødelegger leveren. Nervetoksiner blokkerer nerveimpulsene, og kan medføre dødsfall ved blokkering av ånderettsmuskulatur. Endotoksiner kan gi feber og diaré (Annadotter 1993). Toksingroupene og de toksinproduserende slektene av cyanobakteriene vises i tabell 1.

Økt forurensing har medført en signifikant oppblomstring av cyanobakterien *Anabaena lemmermannii* de siste tiår. På verdensbasis har 70 % av oppblomstringene vært toksinproduserende. I Norge har 50 % av tilfellene vist seg å være toksiske.

NIVA, NVH og FHI har foretatt undersøkelser, for å vurdere vannkvalitet i forhold til sikkerheten for mennesker og dyr. I perioden 1978 til 1998, samarbeidet de om et prosjekt ved 40 vann i Sør- Norge. Som regelmessige hadde oppblomstringer av toksinproduserende cyanobakterier. Det ble påvist 20 arter, som produserte et eller flere giftstoffer. I 16 av tilfellene var *Anabaena* dominerende. I 11 av tilfellene var *Microcystis* dominerende. 9 vann var dominert av *Oscillatoria/Planktotrix*. Undersøkelsen konkluderte at det er de trådforma artene, *Anabaena* og *Oscillatoria/Planktorix* var dominerende (fhi.no).

Norsjø har tidligere blitt klassifisert som en oligotrof innsjø (Breirem 2005). Men når hav og vassdrag får tilført store forekomster av plantenæring, vil miljøet bli eutrofiert og overgjødset. Dette fører til tilgroing med planter og økt algeproduksjon. Et slikt fenomen er mest utbredt i

eutrofe innsjøer, som har høye nitrogen og fosforforbindelser. I mer sjeldne tilfeller kan fenomenet også forekomme i mer næringsfattige vann (Utkilen og Gjølme, 1994 miljostatus.no).

I tillegg å være drikkevannskilde, er Norsjø et godt besøkt rekreasjonsområde om sommeren. Sommeren 2001 ble tre – fire mennesker ble syke etter eksponering ved bading, det var første gang oppblomstring av cyanobakterier ble påvist. Det viste seg å være arten *Anabaena lemmermannii*, toksiner ble ikke påvist.

I 2002 ble samme arten påvist av studenter fra Høgskolen i Bø, ved fire prøvestasjoner, det ble påvist microcystin, med konsentrasjon 0,22 µg/L (Henriksen et al. 2003).

I 2003 observerte studenter oppblomstring igjen, ved fire stasjoner, 19 ulike cyanobakterier ble påvist. *Anabaena lemmermannii* ble påvist ved 10 av stasjonene.

I tillegg ble det påvist endotoksinkonsentrasjoner mellom 13 – 90 EU/mL. (Breirem 2005).

Verdens helseorganisasjon, WHO har kommet med en foreløpig grenseverdi på 1 µg/L for microcystin -LR, for drikkevann. Når det gjelder badevann er verdien satt til 10 µg/L (fhi.no). For endotoksin finnes det ingen norsk administrativ norm for grenseverdi (arbeidstilsynet.no).

Oppgaven omfatter to deler. Den første delen utgjør et litterært selvstudium om cyanobakterier. Litteratur studiet omfatter faktorer som medvirker til oppblomstringer av cyanobakterier, og produksjon av toksin som kan gi helsemessige konsekvenser. Den andre delen er basert på feltarbeid fra Norsjø. De utvalgte stasjonene var Torsnes, Ulefoss, Romnes, Årnes, Patmos og Norsjø Ferieland. Prøver fra Kjosvik ved Valebø ble tatt med etter observert oppblomstring

Det ble gjennomført en halv kvantitativ analyse av *Anabaena lemmermannii*. I tillegg ble det foretatt analyser av temperatur, pH, total nitrogen, total fosfor og jern, for å se om det er en sammenheng med eventuelle forekomster av cyanobakterier og næringspåvirkning. Prøvene ble analysert med tanke på tilstedeværelse av microcystin ved hjelp av ELISA og genetiske studier ved hjelp av PCR.

2. Litteraturstudium.

2.1 Historikk.

Man går ut i fra at cyanobakterier var den første dominerende livsformen på jorda. Bakteriene skal ha vært her for over 3,5 mrd. år siden. For 2,3-2,4 mrd. år siden utviklet organismene fotosyntese, som de første organismene på jorden (Whitton og Potts 2000, geoportalen.no). Gjennom fotosyntesen fikk de en avgjørende rolle for livet på jorda. Med produksjon av O₂ økte de oksygeninnholdet rundt jordens atmosfære, som var avgjørende for et mer sammensatt liv. Cyanobakteriene sørget for en stor overgang på jorden ved å starte fotosyntese. Man antar at planteplankton utgjør 50 % av biosfærens fotosyntese, og spiller en stor rolle i klimareguleringen med hensyn til karboncyklusen. I havet er de fremdeles blant de viktigste primærproducentene (Willén 2001, esa.int/esa geoportalen.no, niva.no).

Man kan finne spor av cyanobakterier i stromatolitter, som er en av verdens eldste levende organismer (fig. 1). Stromatolitter består av sedimentære avleiringer fra kalkslam fra cyanobakterier, som har reagert med sedimenter i vannet (Willén 2001). Stromatolitter dannes fremdeles i tidevannssonen på grunne havområder, og kan bestå av både levende og døde cyanobakterier. Disse artene er marine, og er levende eksempler på en organismes tilpasning (Munn 2004, folk.ntnu.no). Stromatolitter forekommer oftest i saltsjøer eller marine laguner (Økland 1996, nhm.uio.no). De finnes også i Norge. Porsangerdolomitten, ligger i indre Porsangerfjord, den skal være over 700 mill år. Det er også en forekomst i Alta, som heter Raipasgruppen, som skal være 1800 mill år gammel.



Figur 1. De store klumpene er stromatolitter i Porsangerfjorden (Norsk Naturarv).

Evolusjon.

Man vet ikke hvorvidt cyanobakterier har utviklet seg fra ferskvann eller saltvann. Men man tror at de første levde i havet, og senere tilvante seg ferskvann. Selv om alle hovedgruppene av bakteriene kommer fra havet, finnes det likevel flere arter i ferskvann. Noe av grunnen er at cyanobakteriene, i motsetning til en del høyerestående organismer har lettere for å tilpasse seg nye omgivelser (Økland 1975).

Cyanobakteriene har pigmenter som de bruker ved fotosyntese, noen av pigmentene kan holde seg stabile i opptil hundrevis av år i et sediment. Ved å undersøke sjikt for sjikt kan man se rester av bakteriene, og grovt fastlå artssammensetning. På denne måten kan man si noe om tidligere tiders vannkvalitet (Lindholm 1998). Ved å tolke evolusjonen gjennom cyanobakterienes miljøtilpasning, kan vi bedre forstå jordens utvikling. En teori som kan jevnføres med ny-darwinismen, hvor genene er opphavet for tolking av evolusjonen (Dawkins 2002).

Tilpasning.

En organisme tilpasser seg over tid. Cyanobakteriene har lært å tilpasse seg konkurranseforhold, som når to eller flere arter begrenses av samme faktor som lite oksygen, høy temperatur, næringsrike og næringsfattige miljø (Pleym et al. 1992, Willén 2001). Noen arter svinger syklisk, noen vil forsvinne, og andre arter oppstår. Utviklingen har skapt rom for variasjoner innenfor ulike begrensinger (Hessen 2008).

2.2 Systematikk og egenskaper.

Bakteriecellen.

Tidligere trodde man at cyanobakterier var alger, derav navnet blågrønnalger. De står under divisjonen Cyanophyta, og klassen Cyanophyceae, og hører inn under gruppen eukaryoter (Tikkanen og Willén 1992). Cyanobakteriene er autotrofe og har derfor likhetstrekk med både alger og planter. Bakteriene mangler cellekjerne, mitokondrier, endoplasmatisk retikulum og kloroplaster, som er felles med eukaryoter. Men siden de har klorofyll a, fykocyanin og fykoerytrin, har de også fellestrekk med prokaryoter i fotosyntesen (Andersen et al. 1992, Skulberg et al 1992, Willén 2001). Cyanobakteriene deles inn i: 5 ordner, 25 familier, 150 slekter og 2000 arter. Av disse er 40 av dem er kjent for å kunne produsere toksiner (Andersen et al. 1992).

Fysiologi.

Cyanobakteriene har klorofyll a som er det primære fotosyntesepigmentet i planter, alger og blågrønnbakterier. Klorofyll a absorberer lys sterkt i rødt og blåttintervall, noe mindre i grønt (uio.no). Pigmentet fykoerytrin, er et rødfiolett fotosyntesepigment som absorberer blått lys. Oppblomstringer av arter som har dette pigmentet kan forekomme som røde vannmasser (Blomqvist og Olsen 1981, Willén 2001, uio.no). Blått lys har kort bølgelengde og er svært energirik, og trenger lengst ned i vannet (Bjerketvedt og Pedersen 1996). Fykocyanin er et hjelpepigment som absorberer stråling på 500-650 nm, som er grønt og gult lys. Fykocyanin sammen med klorofyll a danner en blågrønnfarge, derav navnet, blågrønnbakterier. Dette pigmentet kan erstatte syntetiske fargepigmenter brukt i kosmetikk, næringsmiddel og medisin. I tillegg til ulike karotenoider, og fykobiliner som er et vannløselig pigment (biomedcamp.no). Oppblomstringens farge avhenger av pigmentsammensetningen (Blomqvist og Olsen 1981, Utkilen og Gjølme 1994).

På grunn av variert pigmentsammensetning, kan cyanobakterier nyttiggjøre seg lys fra ulike bølgelengder. Bakteriene kan leve under både lyssterke og lysfattige forhold (Willén 2001). Et interessant forsøk ble utført av Wyman and Fay (1991). De testet åtte ulike stammer av cyanobakterier. Forsøket gikk ut på å belyste cyanobakterier med lys av ulike bølgelengder. De testet rødt, grønt, blått og hvitt lys. Det viste seg at blant annet i rødt lys minket klorofyllinnholdet i bakteriene. Likevel viste forsøket at alle stammene som ble utsatt for lys av en farge, vokste fortere enn i hvitt lys (Whitton og Potts 2000).

Cyanobakteriene kan absorbere lys med et vidt spekter av bølgelengder, og slipper å konkurrere direkte med microalgene (Andersen et al. 1992, Whitton og Potts 2000). Cyanobakteriene har arvematerialet i cytoplasmaet, hvor de også har ribosomer, 30 S, som gjør de selvforsynte i forhold til å lage egne proteiner. Cyanobakterier har en gram negativ cellevegg, som inneholder peptidoglykan, og et ytre lag av lipopolysakkarider og proteiner (Whitton og Potts 2000).

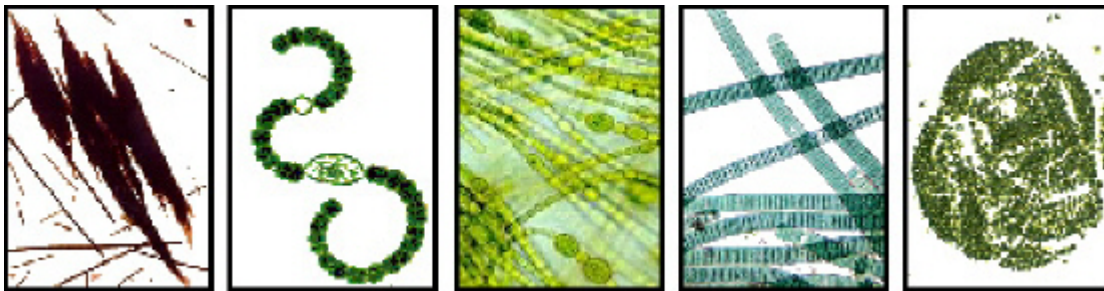
Mange av cyanobakteriene kan gjøre seg nytte av hydrogen sulfid, H_2S i stedet for vann (Utkilen og Gjølme 1994, Graham og Willcox 2000).

Det er arter som veksler mellom H_2S og H_2O som elektrondonor avhengig av tilgang, men i utgangspunktet bruker de H_2O (Lem 1998). Reproduksjonen hos cyanobakteriene er ukjønnnet og foregår vegetativt, en todeling av organismen (Skulberg et al. 1992).

Biotop.

Cyanobakteriene kan leve i vannmasser, som fastsittende, på steiner, fjell og i ørken eller i arktisk klima. Noen kan leve i kilder i opptil 70 °C (Økland 1975, miljolare.no). Vi kan også finne bakteriene i symbioseforhold i lav. Cyanobakteriene svært tilpasningsdyktige og etablerer seg raskt på nye steder (niva.no). Bakteriene kan overleve under mindre gunstige forhold, som f.eks. om vinteren som enkeltceller, eller i kolonier, ofte omgitt av et beskyttende gelelag. Cyanophycestivelse og cyanophysin fungerer som opplagsnæring (Livingstone og Jaworski 1980, Andersen et al. 1992, Willén 2001).

Ved undersøkelser av vann i Sør Norge, har det vist seg at det for det meste er slekter av *Anabaena*, *Microcystis* og *Plankthotrix /Oscillatoria* har dominert (fhi.no). Figur 2 viser de vanligste artene i Norge. De fleste forgiftningstilfellene forårsakes av *Microcystis aeruginosa* og *Anabaena flos-aquae*



Figur 2. De vanligste artene, *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Nostoc*, *Plankthotrix/Oscillatoria* og *Microcystis* (fhi.no).

Anabaena, bakteriecellene ligger som et perlebånd, og er mørke og kornete i mikroskop, fordi lyset blir brutt gjennom små gassfylte blærer. Enslige bakterietråder kan ha en geleaktig hinne, som kan omslutte mengder av bakterier. Bakteriene kan ha hvileceller og heterocyster (Lindholm 1998). Under gode forhold spirer hvilecellene, og blir til nye kjeder.

Microcystis forekommer i alle typer vann. Cellene har gassvakuoler. Slekten danner kolonier som er omgitt av slim, cellene kan være uregelmessige og er svært små, 3-7 µm, *Microcystis* er kjent for å produsere toksinene microcystin og microviridin (fhi.no, miljolare.no).

Oscillatoria/Planktotrix forekommer i alle typer vann, hyppigst i eutrofe vann. Vannet kjennetegnes ved et høyt innhold av fosfor og nitrogenforbindelser (ceroi.net). Hver celle er bredere enn den er lang, og kjennetegnes ved at de opptrer som ugrenede trådforma kolonier, som mangler heterocyster og hvileceller. Celletråden har ikke gelekappe (Planktonweb).

Hvileceller.

Enkelte cyanobakterier kan danne hvileceller også kalt akineter. De er ubevegelige celler som produseres under ugunstige forhold (fig.3). Cellene øker i volum og får tykk cellevegg.

Det gjør at de kan overleve under ugunstige miljøforhold som tørke og ekstreme temperaturer i perioder opptil 50 år, for siden å spire til et nytt individ når forholdene tillater det (Livingstone og Jaworski 1980, Willén 2001). Hvilecellene fungerer i tillegg som spredings og formeringsenhet (snl.no). Hvileceller forekommer kun hos arter som har heterocyster. Man vet at det foregår en positiv korrelasjon mellom nærvær av heterocyster og produksjon av hvileceller (Graham and Willcox 2000).



Figur 3. *Anabaena* kan som vist her ha hvileceller, akineter er markert med enkeltpil, heterocyster markerer dobbelpil (2.dmu.dk).

Heterocyster.

Cellene hvor nitrogenfikseringen foregår heter heterocyster (fig. 3). Det er flere arter av cyanobakteriene som kan fikse nitrogen, som er en energikrevende prosess (Bjerketvedt og Pedersen 1996). Cyanobakteriene gjør nitrogengass om til ammonium, som brukes som næring (Canter-Lund og Lund 1995). Fikseringen forutsetter anaerobeforhold i heterocystene, fordi et enzym som er med i prosessen er ømfintlig for O_2 . Heterocystene oppstår ved at vanlige celler forandrer seg, celleveggen blir tykkere og evnen til fotosyntese opphører (Willén 2001).

Nitrogenfikseringsprosessen hos cyanobakteriene er avhengig av flere miljøfaktorer som temperatur, lys og næringsutslipp. Ved store fosforforekomster i forhold til nitrogen, der nitrogen blir den begrensede vekstfaktor kan de utnytte denne muligheten (uib.no).

Det forekommer 3 ulike metoder for nitrogenfiksering.

Den ene metoden skjer gjennom heterocyster. De separerer nitrogen fikseringen og fotosyntesen i hver sine celletyper, nitrogenoverskuddet blir lagret i heterocystene. Disse bakteriene vokser under oksygenrike forhold. Eksempler er *Anabaena*, *Nostoc*, *Aphanizomen*, *Calotrix*, *Scytonema* og *Nodularia*. De finnes som vannblomst i ferskvann og brakkvann. Den andre typen foregår anaerobt, og skjer ikke gjennom heterocyster. Enkelte bakterier produserer nitrogenase der hvor det er lite, eller ikke oksygen. Eksempler er *Plectonema boryanum*, *Oscillatoria limnetica* og *Synechococcus*. Den siste typen finner sted under oksygenrike forhold. Metoden er foreløpig ikke helt kartlagt. Eksempler på slekter som har denne typen fiksering er *Gloeotheca*, *Oscillatoria*, *Trichodesmium*, *Lyngbya* og *Microcoleus*. Felles for alle organismer som driver nitrogenfiksering er at de har nitrogenaseenzymet (Whitton og Potts 2000).

Flere arter av cyanobakterier har gassvakuoler. De gjør seg nytte av disse blærene når de har behov for å regulere oppdriften i vannmassene (uio.no). Om det er dårlige lysforhold produserer bakteriene flere gassblærer, slik at de kan flytte seg til mer gunstige steder (Whitton og Potts 2000). Gassblærene bidrar til oppblomstringer. Cyanobakterier som kan danne gassvakuoler er sårbare ved lav pH, ved pH under 5,5 forsvinner de. Ved for sterk belysning og intens fotosyntese, kan imidlertid gassblærene sprenges om trykket i cellene blir for stort (Lindholm 1998, Willen 2001). Ferskvannscyanobakteriene kan tåle et trykk på mellom 0,35- 0,95 MPa. artene har noe ulik toleranse (Whitton og Potts 2000).

2.3 Vannblomst.

Vannblomst kan oppstå plutselig og kan vare fra noen dager til flere måneder. Fenomenet skyldes ikke vekst av organismene i overflaten, men akkumulering av celler fra hele vannet, på grunn av spesielle oppdriftmekanismer. Kolonier fra ulike dyp treffer vannoverflaten til ulik tid (Utkilen og Gjølme1994). Vind kan frakte oppblomstringer til bukter, og forårsake ekstreme oppblomstringer, samtidig kan andre områder virke upåvirket.

Noen arter kan trives på dypere vann, og tilpasser seg næringsgrunnlaget de finner der. I vann hvor disse artene forkommer, kan vannets overflate være helt klart, samtidig med at bakteriekonsentrasjonen på større dyp er høy. Ved forhold som gjør at de må flytte på seg, kan de fordele seg i hele vannmassen eller oppkonsentreres i overflaten (niva.no).

Etter 1900 har vassdrag verden over blitt utsatt for en omfattende tilførsel av næringsstoffer, som har ført til økt vekst og oppblomstringer av cyanobakteriene (Annadotter 1993).

Masseoppblomstringer har blitt et vanlig fenomen om sommeren i næringsrike innsjøer. Også store hav kan få oppblomstringer. Oppblomstring av planteplankton er ganske vanlig i tempererte farvann. Det er vanligvis en eller noen få planteplanktonarter som dominerer i en oppblomstring. En oppblomstring kan inneholde individ med og uten toksinproduksjon. Toksitet kan variere mye innenfor en oppblomstringsperiode, og fra en sesong til en annen, selv om artsbestand og miljøforhold er uendret (Tidestrøm og Rennerfelt 1989).

Toksinproduksjon.

For at toksinproduserende oppblomstringer skal utgjøre en helsefare er det flere forhold som må være gunstige. Vindforhold og om bakteriene har gassvakuoler for oppdrift, som gjør at oppblomstringer akkumuleres hvor det er ly. Vanntemperatur mellom 15 – 30 °C virker gunstig, de fleste artene trives best når temperaturen går opp mot 20 °C eller mer. Forsøk har vist at toksiteten øker 5-10 ganger, ved en vanntemperatur på 25⁰ C, sammenlignet med temperaturer på 20 ° C og 30 ° C (niva.no). Ved forsøk ved HIT ble det påvist at toksinproduksjonen hos *Anabaena lemmermannii*, var mest effektiv ved 15-20 °C. Man kunne fastslå en økt toksinproduksjon ved 20 °C og 1800 lux, sammenlignet med 15 °C og 700 lux. Ved 25° C avtok toksinmengden ved økt lysintensitet (Dai 2002). Det har vist seg at lysintensiteten er med å påvirke toksiteten ved høy temperatur (Utkilen og Gjølme 1994).

I vekstfasen er det påvist at toksiteten øker under tilvekst, se figur 12. I stasjonærfase avtar toksiteten hurtig (Tidestrøm og Rennerfelt 1989). Siden det er så mange faktorer som innvirker, er oppblomstringer vanskelig å forutse. Noen arter er mer temperaturavhengig enn andre, og noen kan til og med gi oppblomstringer under isen (niva.no). Cyanobakteriene foretrekker en pH i vannet fra 6- 9 (Annadotter 1993, Utkilen og Gjølme 1994). Cyanobakterier øker påtagelig med tilgangen til nitrat, ammonium og fosfor. Særlig viktig er forholdet mellom vannets totalnitrogen og totalfosfor (Utkilen og Gjølme 1994). Tilgjengelig næringen avgjør oppblomstringens omfang og størrelse. Likevel er artenes behov for næring svært ulik. Derfor er det ikke uvanlig at det forekommer ”undervannsoppblomstringer”, ved lite bevegelse i vannmassene (Annadotter 1993, Utkilen og Gjølme 1994).

Slektene *Microcystis* og *Oscillatoria/Planktotrix* kan ikke fikse nitrogen. De er avhengig av tilstrekkelig mengde med nitrogen for å danne oppblomstring. Den sistnevnte er spesielt kravstor når det gjelder nitrogen, den krever 4-5 ganger mer for å vokse hurtig, enn *Microcystis*.

Microcystis aeruginosa vokser best om den har tilgang til ammonium (niva.no). Slekten *Anabaena* kan forårsake oppblomstringer i oligotrofe vann, fordi den har lave fosforkrav (Tidestrøm og Rennerfelt 1989, Willén et al.1995). Oppblomstring av *Anabaena* sees i figur 4.



Figur 4. Oppblomstring av *Anabaena* (fhi.no).

2.4 Lyspåvirkning.

Fotoautotrofe organismer trenger sollys, lysintensiteten er av overordnet faktor ved fotosyntese. Organismene fanger opp elektromagnetisk stråling fra sola, lysenergien gjør de om til kjemisk energi, som brukes til å oksidere vann.

Planteplankton er avhengig av lys, for å oppnå optimal produksjon, og lever vanligvis i vannets øvre sjikt, hvor det er tilstrekkelig lystilgang. Planktonet har flere måter for å tilpasse seg best mulig lysforhold. Flere arter er encellede, ofte kolonidannede, og omgis av et slimaktig belegg, som gir god flyteevne, noen arter har som tidligere nevnt gassvakuoler (Bjerketvedt og Pedersen 1996, Lindholm 1998, Økland og Økland 1999).

Vannets refleksjon av lys avhenger av bølger og solhøyde. Lysgjennomtrengligheten i vannet avhenger av solhøyden og vannets turbiditet, som bryter og sprer lyset. Lyset blir absorbert av pigmenter, fotosyntetiske organismer og partikler. Langbølget varmestråling blir absorbert av vannets øverste sjikt, og omformet til varme. I rent vann vil rødt lys bli absorbert raskest, blått lys vil trenge lengst ned (uio.no). Noen arter oppnår større tilvekst ved mindre lysintensitet, de

behøver ikke konkurrere mot mer lyselskende arter (Tidestrøm og Rennerfelt 1989). Japanske forskere foretok en undersøkelse i 1985, av cyanobakterienes påvirkning av lys i forhold til toksinproduksjon, forsøket viste at lysintensiteten var av størst betydning (Annadotter 1993). Vannblomst og giftproduksjon er blant annet en funksjon av lysforholdene (Utkilen og Gjørme 1994).

Jo lengre bølgelengder dess raskere blir sollyset absorbert. UV-stråling kan være skadelig ved oppblomstring. En vannblomst kan plutselig løses opp, og gi en blålig farge på vannet. Grunnen er at cellene lyses. Pigmentene fra cellene blir løst ut i vannet sammen med eventuelle toksiner (Canter-Lund og Lund 1995). Noen cyanobakterier har pigmenter som beskytter mot UV – stråling. Et av disse er det gulbrune scytonemin. Pigmentet er blitt påvist i minst 30 arter. De har også andre beskyttelsesmekanismer, blant annet aminosyrer. UVA- stråling er effektiv ved fremskynding av scytoneminsyntese, som absorberer lys. Absorpsjons maksimum er nær UV-stråling (Graham og Willcox 2000). Det er gjort observasjoner som viser at økning av UV-B stråling, som tilsvarer 15 % uttynning av ozonlaget gir en sterk nedgang når det gjelder aktiviteten i nitrogenfikseringsprosessen (uit.no). Cyanobakterier liker seg best når lysintensiteten er lav, fordi pigmentene utnytter lysenergien meget effektivt (Utkilen og Gjørme 1994).

2.5 Cyanobakterienes innvirkning på planktonsamfunnet.

Planteplankton består av flere algearter, bakterier og sopp. Planktonet lever i de frie vannmassene hvor det produserer biomasse ved fotosyntese. Planktonets sammensetning varierer etter årstid, klima og miljø. Næringsinnholdet fra cyanobakterier som har evne til å fikse nitrogen blir frigitt i vannmassene når cyanobakteriene dør, og blir tatt opp av andre mikroorganismer som ikke har evnen, og av andre cyanobakterier (Økland 1975).

Store mengder med utslipp av fosfat, nitrat og ammonium, medfører kunstig økning av næringsmengde. Ved økt fosfat tilgang, vokser planteplanktonmassen. Om de andre forholda er tilstrekkelige kan det gi store oppblomstringer. Stor planktonproduksjon gjør vannmassene grumsete, lysintensiteten lengre ned i vannet avtar, og dermed dårligere oksygenforhold. Problemet er størst når det er lite bevegelse i vannmassene. I stagnasjonsperiodene øker den organiske produksjon som gir grobunn for mer vekst av sopp, bakterier og aerobe organismer, som gir økt mengde av dødt organisk materiale (Økland 1975, Bjerketvedt og Pedersen 1996).

2.6 Toksiner.

Eksotoksin er benevnelsen på toksiner som blir løst ut i vannet, når cellen dør. Den andre gruppen kalles endotoksin, som blir værende inne i cellen inntil eksponeringen har funnet sted. Mange toksiner er kjent for å være forhåndsprogrammerte for igangsetting av celledød, apoptose (Tidestrøm og Rennerfelt 1989).

Toksinene deles i grupper etter virkning ved eksponering, hepatoksiner, nervetoksiner, endotoksiner og protahertetoksiner (tab.1).

Navnet til toksinet henviser til arten som har produsert de, der hvor de først ble påvist (Tidestrøm og Rennerfelt 1989). Av de cyanobakterier som er undersøkt er det bare et lite antall som produserer toksin (Skulberg et al. 1986). Det er flere faktorer som må være tilstede for at toksinproduserende arter utvikles (Skulberg et al. 1992, Utkilen og Gjølme 1994, niva.no).

Tabell 1. Toksiner produsert av cyanobakterier, og de ulike toksinenes giftighet, (LD₅₀).
(Fritt omarbeidet etter Annadotter 1993, Utkilen og Gjølme 1994, Codd et al. 1994, Whitton og Potts 2001 og fhi.no)

Toksingruppe	Toksinproduserende slekter	Toksin	Toksitet LD₅₀ µg/kg kroppsvekt
Hepatoksiner	<i>Microcystis viridis.</i>	Microviridin	
	<i>Microcystis, Anabaena, Oscillatoria, Gomphosphaeria, Plantotrix.</i>	Microcystin (LR)	40-1000
	<i>Nodularia spumigen.a</i>	Nodularin	30-50
	<i>Cylindrospermopsis raciborskii.</i>	Cylindrospermopsin (Ligner toksinet i fluesopp)	
Nervetoksiner	<i>Aphanizomenon flos aquae.</i> <i>Anabaena flos aquae, Lyngbya spp</i>	Saksitoksin	9
	<i>Aphanizomenon flos aquae.</i>	Neosaksitoksin	10
	<i>Aphanizomenon flos a, Anabaena, Anabaena flos aquae, Anabaena circinalis, Anabaena lemmermannii, Oscillatoria formosa</i>	Anatoksin-a	200
	<i>Anabaena, bla Anabaena flos- aquae, circinalis, lemmermannii</i> <i>Oscillatoria formosa</i>	Anatoksin-a(s)	20
	<i>Oscillatoria formosa, Anabaena,</i>	Homoanatoksin-a	250

Tabell 1 forts.

Toksingruppe	Toksinproduserende slekter	Toksin	Toksitet LD ₅₀ µg/kg kroppsvekt
Lipopolysakkarid, Endotoksiner	<i>Anabaena lemmermannii</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i> og <i>Oscillatoria/Plantotrix</i>	LPS	40- 1000
Uspesifiserte toksin, Protaherte		<i>(Mange ulike stoffer har blitt identifisert fra cyanobakterier, men ennå er toksiteten av de fleste stoffene ukjente).</i>	

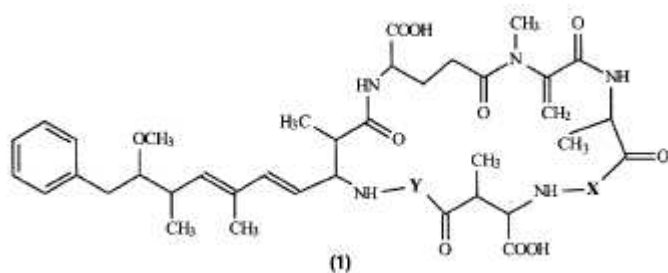
2.6.1 Hepatoksiner.

Hepatoksiner er det toksinet som forekommer oftest, når det gjelder forgiftninger. Toksinene kan forårsake leverskade ved eksponering. Lignende toksin kan man finne i rød fluesopp. Toksinene produseres bla. *Microcystis*, *Oscillatoria* og *Anabaena* (Rosef og Rosef 2000, Whitton og Potts 2000). Se tabell 1. for øvrige produserende slekter og giftighet.

Microcystin produseres i ferskvann. Toksinet har blitt undersøkt i mange land i forbindelse med undersøkelser på drikkevann. Toksinet er gjenganger i vannblomstforekomster. Det mest studerte toksinet man kjenner til, over 60 varianter er kjent, toksitet er sterkt varierende (fhi.no). Det er et faktum at der hvor det forekommer microcystin vil det alltid være LPS til stede, som øker toksiteten av microcystin siden LPS reduserer avtoksinfikseringsmekanismen (Utkilen og Gjølme 1994, fhi.no). Rundt 50 av microcystinene er cykliske peptider. Eksponering for microcystin kan svekke fosforyleringen av aminosyrer, som cellene bruker for vekstregulering. På den måten økes kreftfaren. Microcystin i seg selv gir ikke kreft, men virker vekststimulerende i tumorforstadiet (fhi.no). Microcystin-LR er den vanligste formen av

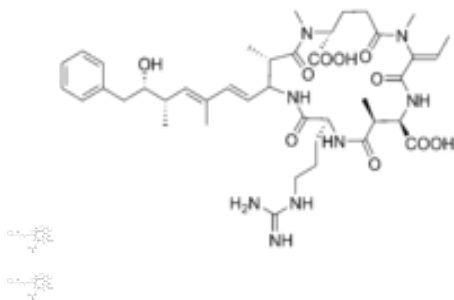
microcystin, og den giftigste av variantene. Toksinet blir frakta til levercellene via et fraktesystem for gallesyrer (Annadotter 1993).

Små doser av microcystin (fig. 5) kan gi skader i levercellene, og føre til små forstyrrelser i leverfunksjonen. Mus dør etter ca. 90 minutter som følge av microcystin forgiftning (Lindholm 1998)



Figur 5. Generell strukturformel for microcystin (2.dmu.dk).

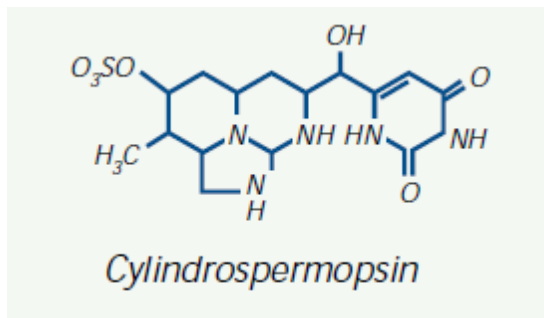
Nodularin er et cyklisk pentapeptid. Det er 5 peptidringer i molekylet (Whitton og Potts 2000). Det har lignende struktur og egenskaper som microcystin. Toksinet produseres av cyanobakterien *Nodularia*, og produseres i ferskvann og brakkvann (Utkilen og Gjølme 1994). (fig.6).



Figur 6. Strukturformel for nodularin (Whitton og Potts 2000).

Microviridin produseres i ferskvann. Ved en undersøkelse av 80 cyanobakterierstammer, forekom microviridin i over 50 % av dem. Tilsetter man toksinet i rent vann vil det brytes ned i løpet av 6 timer av andre mikroorganismer (fhi.no). For produserende arter se tabell 1.

Cylindrospermopsin hemmer proteinsyntesen (fig. 7), og gir skader på organer som lever, nyrer og tarm (fhi.no). For produserende arter se tabell 1.



Figur 7. Strukturformel for cylindrospermopsin (2.dmu.dk).

2.6.2 Nervetoksiner.

Nervetoksiner er såkalte alkaloider, noen av de mest toksiske giftstoffene vi kjenner til, og er hurtigvirkende. Toksinene hemmer nerveimpulser. Det er flere nervetoksiner som er blitt kartlagt og beskrevet. Toksinene produseres av *Anabaena*, *Aphanizomenon* og *Oscillatoria/Plantotrix*, se tabell 1.

Strukturformel til noen typer av nervetoksiner produsert av cyanobakterier vises i figur 8.

Anatoksin har fått sitt navn etter *Anabaena*, der hvor toksinet først ble påvist.

Anatoksin – a blokkerer forbindelser mellom muskler og nerver. Muskler vil overstimuleres. Etter eksponering vil døden inntreffe fra minutter til timer, avhengig av art og dose.

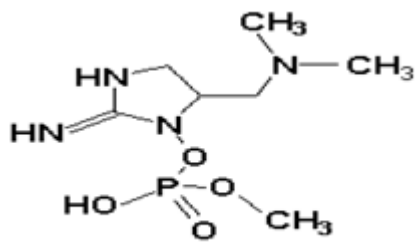
Anatoksin – a (s) er en hemmer av acetylcholinesterase som deltar under avgiftingsprosessen. Toksinet er ustabil ved basiske forhold, men stabilt i sure omgivelser.

Begge disse toksinene gir redusert bevegelse, kramper, pustebesvær og blålighet på grunn av surstoff problemer.

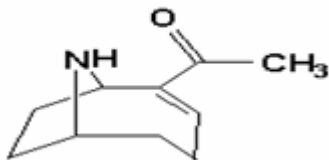
En forgiftning med anatoksin- a (s) kan ha dødelig utgang. Åndedrettsmuskulatur blir lammet (fhi.no). Etter ca. 10 minutter vil mus dø når nervetoksiner er involvert.

Homoanatoksin- a, i likhet med anatoksin- a, er dette et toksin som hemmer forbindelsen mellom muskler og nerver.

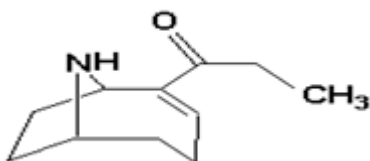
Aphanotoksin – er et nervetoksisk alkaloid, som forstyrrer nerveimpulser (Annadotter 1993, Utkilen og Gjølme 1994, Rosef og Rosef 2000, Whitton og Potts 2000).



Anatoksin – a(s).



Anatoksin – a.



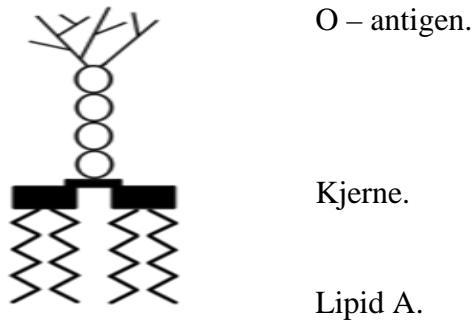
Homoanatoksin – a.

Figur 8. Strukturformler for nervetoksiner (Charpy og Larkum 1999).

2.6.3 Endotoksiner.

Endotoksiner kalles også lipopolysakkarider, LPS fra cyanobakterier er mindre toksiske enn LPS fra *Salmonella*. Får å kunne påvise cyanobakterier i vann kan man studere innholdet av 3-hydroxy- fettsyrer, disse er annerledes i cyanobakterier enn i andre bakterier (Utkilen og Gjørme 1994). LPS toksinene virker feberfremkallende. Toksinene blir produsert som en del av celleveggen og er et fellestrekk hos alle Gram -negative bakterier. *Microcystis* og *Anabaena* er de viktigste produsentene av toksinet (Skulberg et al. 1992, Utkilen og Gjørme 1994, Rosef og Rosef 2000). For andre produserende slekter og giftighet se tabell 1.

Siden cyanobakteriene er Gram-negative bakterier har de endotoksiner, som en del av celleveggen. Endotoksinene er trolig toksinet som har resultert i flest humane sykdomstilfeller (fhi.no) Endotoksiner gir virkning etter 5-6 minutter. De kan forårsake allergiske symptomer og gastrointestinale plager (Utkilen og Gjørme 1994, Lindholm 1998). LPS (fig. 9), er et prototypisk eksempel på et endotoksin og av historiske grunner brukes ofte LPS som et generelt navn på endotoksiner. Lipopolysakkarider skilles ut av levende bakterier. Toksinet assosieres med bakteriens cellevegg, og kommer ut i verten når bakterien dør. Eksponering kan utløse reaksjoner som feber og sjokk (Amé et al. 2001).



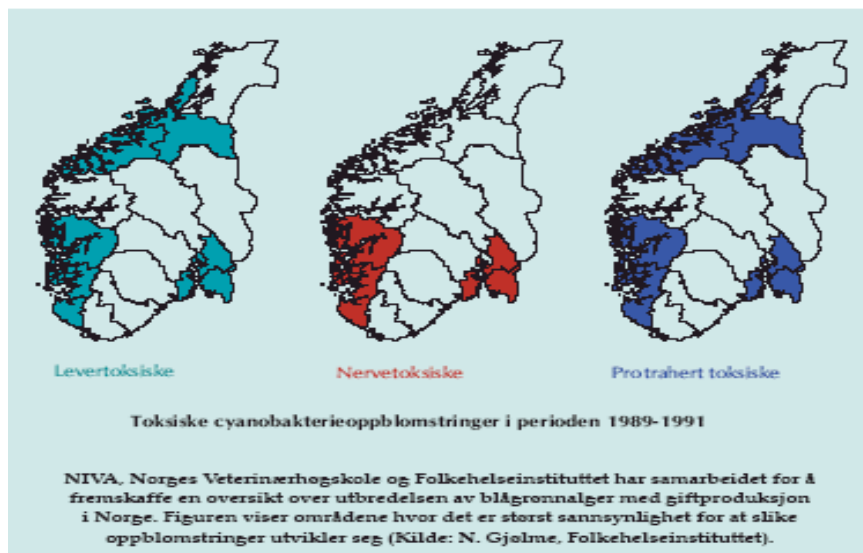
Figur 9. Strukturformel for endotoksin (Amé et al.2001).

2.6.4 Uspesifiserte toksiner.

Et stort antall cyanobakterier produserer ukjente toksin, som foreløpig omtales som "*protraherte*" eller "forsinket virkende toksiner". Ved eksponering kan toksinene medføre skader på lunger og nyrer (Rosef og Rosef 2000). Ved innsprøyting laget av frysetørret bakterier dør mus etter 4-24 timer, uten tegn til skader på organ. Strukturformel er ukjent (fhi.no)

2.7 Forholdene i Norge.

I Sør- Norge har store vann blitt påvirket av avløpsvann, som har medført store endringer i vannforekomster, og skapt økologisk ubalanse. Dette har medført årlige oppblomstringer flere steder. Toksinproduserende oppblomstringer har hatt en eksplosiv økning i de siste åra i en rekke innsjøer i Norge, man regner med at ca. 60 % av artene er toksinproduserende. i tillegg er det utfordringer med nye arter som har kommet (Rosef og Rosef 2000). Utbredelsen av toksiner produsert av cyanobakterier i Norge vises i figur 10.



Figur 10. Utbredelsen av toksiner i Norge (fhi.no).

2.8 Akkumulering av toksiner i næringskjeden.

Man vet at toksinene virker direkte på fisk. Den naturlige eksponeringen er oral, gjellene er ugjennomtrengelige for toksinene. I ferskvannsmuslingen *Anadonta cygnea* har man funnet toksiner fra *Plankthotrix/Oscillatoria*. Muslingen har ikke blitt påvirket av toksinet. Dess høyere trofiske nivåer dess større vil akkumuleringen være. Kontaminert fisk dør hurtig, ved eksponering for hepatoksiner. Derfor er risikoen for at mennesker vil dø ved å spise fisk svært liten (Utkilen og Gjølme 1994).

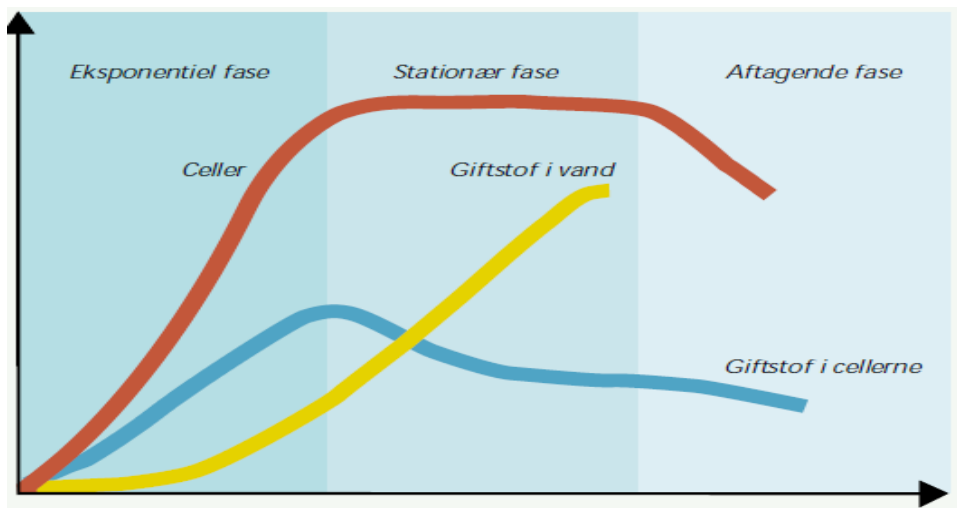
2.9 Hvorfor produserer cyanobakterier toksiner og luktstoffer?

Toksiner, lukt og smaksstoffer anses som biprodukter ved stoffomsetningen til cyanobakteriene, det er ennå ikke kjent hvorfor bakteriene produserer toksiner (Willén et al. 1995). Det er mulig at toksinene utgjør en nitrogenreserve for cyanobakteriene. Det er også forslag om at toksinene beskytter cyanobakteriene mot beiting fra dyreplankton. Det er påvist at microcystin påvirker dyreplankton, og gir de nedsatt reproduksjonsevne (Lindholm 1998).

Selve toksinproduksjonen blir sett i sammenheng med ulike vekststadier (Annadotter 1993). En populasjonsvekst kan deles inn i faser, som vises i figur 11. I den første voksende fasen, får vi en oppblomstring. I den andre fasen får vi et metningspunkt pga. begrensende faktorer. I siste fase dør cellene. Giftstoffene i vannet blir frigjort når celleveggen blir ødelagt og toksinet frigitt (2.dmu.dk)

Flere studier har vist at toksiteten kan reduseres blant annet ved at forholdet mellom nitrogen og fosfor reguleres (Whitton og Potts 2000). Dersom det forekommer mindre av fosfor enn nitrogen, vil det begrense veksten. En annen studie gjort av Anderson i 1990, viste at toksin sammensetningen ble påvirket av ionsammensetningen og mengden næringssalter i vannet (Willén et al. 1995). I 1986 viste Carmichael at dersom man reduserte nitrogeninnholdet i vannet, kunne man oppnå en toksinreduksjon på 90 % (academicjournals.org).

Dersom man ønsker å finne ut om det kan være toksiner til stede, kan man undersøke hvilke arter som er i området. Om en oppblomstring inneholder giftstoffer, kan bestemmes med hjelp av kjemiske eller biologiske analysemetoder. Ved påvisning av toksiner kan man bruke ELISA, som måler lave microcystinkonsentrasjoner. Man kan også påvise toksiner med høytrykksvæskeskromatografi, HPLC (Henriksen et al 2000).



Figur 11. En populasjonsvekst delt i tre faser (2.dmu.dk).

Økonomiske konsekvenser.

Det finnes ingen samlet oversikt over de økonomiske konsekvensene av oppblomstring på verdensbasis. Men de berørte områdene er fiskeindustri, marinemiljøer, og turisme (Willén et al. 1995).

Kontroll.

Problematikken rundt cyanobakterier har økt dramatisk de siste tiårene, i tillegg til at fremmede arter har ankommet. Forekomst og forvaltning av toksinproduserende arter blir en utfordring i fremtiden. Problemet påvirker drikkevann og vann som blir brukt i rekreasjonsøyemed. Dette setter krav til informasjon til kommuner, vannverk og befolkning. Det er ønskelig med mer

omfattende studier av cyanobakterier, og bredere kompetanse når det gjelder bakterienes fysiologi, oppblomstring, toksinproduksjon og akkumulasjon. Gjennom overvåkning kan man registrere hva som skjer, men man kartlegger ikke årsaken til problemet.

Varslingsplikt.

Det foregår få rutineundersøkelser med tanke på eventuell tilstedeværelse av cyanobakterier i drikkevann. Det er ikke varsling eller meldingsplikt til MSIS. Ved en mistanke om at flere har blitt utsatt for en toksineksponering anbefales det at kommunelegen blir varslet, og det lokale Mattilsynet (fhi.no).

2.10 Symptomer og eksponeringsveier for dyr og mennesker.

Virkning av toksinene varierer etter hvilke cyanobakterier som utgjør eksponeringskilden.

Også for mennesker kan vann med høye forekomster av toksiner medføre helseskader. I Giftiga blågrønalger av Tidetröm og Rennerfelt (1989), beskrives 7 ulike forgiftningssymptom som mistenkes forårsaket av cyanobakterier. De sju symptomene er allergier, diaré, gastroenteritt, Haffsyke, hodepine, høysnue og øyekatarr. Eksponering kan forekomme gjennom innånding, svelging og ved direkte kontakt med ører, øyne, munn, svelg og hud. Man vil i løpet av relativ kort tid utvikle symptomer som irritasjoner på hudoverflaten, sår hals, oppkast, diaré, sterke magesmerter, feber, pusteproblemer, svimmelhet og muskelkramper (fhi.no). Det er sannsynligvis endotoksiner, LPS, som forårsaker gastroenteritt. Selv små mengder av cyanobakterietoksiner tror man kan medføre skader på lever og nyre (Tideström og Rennerfelt 1989). Noen forskere mener at Haffsyken forårsakes av thiamin. Noen cyanobakterier har rikelig med dette enzymet som bryter ned vitamin B₁. Thiamin forårsaker B₁ mangel hos fisk. Dette er påvist etter kontaminering i fisk (Lindholm 1989).

Selv om de fleste tilfellene ikke medfører annet enn hudirritasjoner eller diaré, utgjør oppblomstringer en helserisiko. Oppblomstringer kan resultere i akutte forgiftninger, særlig utsatt er små barn, personer med allergier eller de som har nedsatt immunforsvar. Eksponering kan skje ved inntak av vann, eller ved aktiviteter i forbindelse med vann. Man antar at minst 2000 mennesker forgiftes hvert år. Mange av disse har spist skalldyr, eller fisk som har fått i seg toksiner (fhi.no).

Det var noen tilfeller i perioden 1920- 1940, i Sovjet, Preussen og Sverige hvor mennesker fikk Haffa- syken, og døde etter å ha spist fisk. Forgiftningen ble koblet til *Microcystis aeruginosa*, som hadde akkumulert i fisken (Tidestrøm og Rennerfelt 1989). Ved mange tilfelle påvirkes marine dyr i en så liten skala at de blir distribuert og konsumert som menneskeføde, således blir toksiner fra cyanobakterier overført til mennesker (Willén et al. 1995). Det var et tragisk tilfelle i Brasil i 1996, på et sykehus, hvor over 50 mennesker døde etter å ha fått dialyse fra et infisert vann (Codd et al. 1994). En utsettes vanligvis for eksponering av toksinproduserende cyanobakterier i forbindelse med rekreasjon, næringsmiddel, ved dialyse, ved drikking og matlaging.

Anatoksin påvirker nervesystemet. Symptomer på forgiftning inntreffer etter 5-10 minutter, dyr som eksponeres får krampe og kaster opp, og dør sannsynligvis etter 20 minutter av kvelning. Fugler som blir forgiftet får et bakoverbøyd hode. Fisk vil i løpet av to til fire minutter få muskelstivhet og dør etter 15 minutter. Saxitoxiner er et sterkt toksin, virkning kommer i løpet av få minutter. På dyr har man sett at de får gjentatte ufrivillige bevegelser, mister orienteringsevnen, får pustebevegelser, og dør av kvelning (Skulberg et al. 1992). I Vestfold ble massedød av ferskvannsmuslinger, relatert til cyanotoksiner (Skulberg 1979, niva.no,). Allerede i 1971, ble det registrert måkedødsfall i Vestfold, hvor det ble påvist masseforekomst av *Anabaena flos – aquae*. I 1974 ble det rapportert om fiskedød på Jæren. Tilfellet ble ikke undersøkt, men det var samtidig en oppblomstring av *Anabaena flos – aquae* i vannet.

Husdyr som beiter langs vann som er infisert av cyanobakterier kan lett bli eksponert. I 1977 døde storfe i Østfold. Selv om saken ikke ble undersøkt og løst, tror man det skyldes en forekomst av toksiske cyanobakterier i drikkevannet (Skulberg 1979, niva.no). Det var også et tilfelle på Jæren høsten 1982, da ble det meldt om 40 sauer og 2 kyr som døde etter å ha fått i seg giftig vann fra Frøylandsvannet (Bjerketvedt og Pedersen 1996).

Derfor bør ferskvanns områder hvor oppblomstringer forekommer, overvåkes og advarsler settes opp.

2.11 Vannkvalitet.

Siden cyanobakteriene er i stand til å produsere lukt, smakskomponenter og toksiner, kan store oppblomstringer medføre problemer for drikkevann og for vann som blir brukt ved rekreasjon. Stoffene som gir vannet jord eller muggaktig lukt, heter geosmin, og 2-methylisoborneol, MIB. Luktterskelen for geosmin er 0,0038 µg/L, og for 2-methylisoborneol 0,015 µg/L. I tillegg setter stoffene smak på animalske produkter. Når det gjelder luktstoffene er de merkbare ved meget lave konsentrasjoner. Lukten kan minne om hydrogensulfid, H₂S.

I Mjøsa i 1976, var det en oppblomstring av *Oscillatoria/Plantotrix*. Bakterien produserte geosmin, og påvirket drikkevannsforsyningen til 200 000 mennesker (fhi.no). Ved klorering av vannet ble lukten forsterket, det samme skjedde ved oppvarming (labnett.com, fhi.no, vannforsyningens ABC).

I Larvik var det en kraftig oppblomstring av *Anabaena lemmermannii*, i Hallevannet, som forårsaket lukt og smaksproblemer. Dette var på begynnelsen av 90-tallet. Oppblomstringen førte ikke til helseproblemer, men etter episoden ble Farrisvannet tatt i bruk som hoveddrikkevannskilde for Larvik (fhi.no).

FNs tusenårsmål sier noe om rent drikkevann. FN vil "Halvere andelen av verdens befolkning uten tilgang til rent drikkevann innen 2015" (fn.no). Alle mennesker trenger rent vann, vi trenger også vann i industrien og jordbruket. Hvis vi fordeler det vi har av ferskvann er det nok til alle. Problemet er at det er svært ulikt fordelt, og at flere steder så er vannet så forurensat at det utgjør en helserisiko. Økt press på landbruk og mer industrialisering, har ført til økt eutrofiering i norske vannkilder, bakterieoppblomstringer er ikke lengre så sjeldne.

At cyanobakteriene kan være toksinproduserende har men ikke vært klar over før i den senere tid. Dette har medført problemer for flere norske vannkilder (Skulberg 1992, Tidestrøm og Rennerfelt 1989, niva.no). Det er viktig å kjenne til forhold som kan føre til oppblomstring og toksinproduksjon. Når det gjelder valg av kilder, og beskyttelse av kilder blir, og er dette meget viktig. Det er ikke alltid man har beredskap, eller mulighet til å løse problemene i etterkant. Folkehelseinstituttet ga i 2005 ut et informasjonshefte, til apotek, fylkesmenn og kommuner, rundt om i landet. Brosjyren er også tilgjengelig på instituttet sin egen hjemmeside. Brosjyren gir en grei informasjon om hva cyanobakterier er, hvordan de ser ut, og hvilke helseeffekter de kan gi ved eksponering (fhi.no).

2.12 Cyanobakterier som nytteverdi.

Som regel blir cyanobakterier sett på som en plage og et problem man må løse. Likevel blir de utnyttet som en ressurs mange steder. Først og fremst er de først i næringskjeden sammen med de andre planteplanktonartene. De tjener som føde for dyreplankton og krill, som igjen er føde for blant annet fisk og fugl (esa.int). I Øst Asia er cyanobakterier en viktig matkilde og blir omsatt, både som tørrvare og ferskvare. I tillegg brukes bakterier som har heterocyster i risåkrene, fordi disse fikserer nitrogen og er med på å gjødsle risåkrene. Prosessen er også med på å binde jorda og hindre erosjon. Cyanobakterier blir dyrket som kosttilskudd og brukt i legemidler (fhi.no). Kosttilskudd basert på ferskvannsalger, markedsføres som ”100 % naturlig supermat” (reklameinnslag TV2). Ved universitetet i Bergen er det funnet ut at toksiner fra cyanobakterier, kan påvirke leukemiceller, uten at de normale cellene blir påvirket. Dette forsøket blir testa ved Haukeland universitetssykehus, ved å teste på rotter som har leukemi (forskningsradet.no).

2.13 Påvisning.

Musebioassay er en biologisk metodepåvisning. Metoden gir et generelt bilde på den samla toksiteten. Metoden blir ofte brukt når det skal vurderes hvorvidt toksinet er en humanfare. Det positive ved muse, eller dyrebioassay er at symptomene gir utslag på pattedyr, som gir et nærliggende humant sammenligningsgrunnlag. Ut i fra reaksjonsmønsteret på forsøksdyret, vil man se hvilke toksingruppe som aktiveres. Svakheten er at metoden ikke skiller mellom de ulike toksintypene, og om det er flere toksiner i samme prøve. Effekten av et toksin kan dekke over et annet. Enda en svakhet er at det ikke lar seg gjøre å detektere lave konsentrasjoner (Utkilen og Gjølme 1994).

HPLC høytrykksvæskerkromatografi, kjemisk metodepåvisning er en kostbar og følsom metode. Ved å bruke denne metoden må man først vite hvilke toksiner man har i vannprøven, og ha tilgjengelige standarder. Det er ulike HPCL metoder for påvisning av hepatoksiner og nervetoksiner. HPCL blir karakterisert som selektiv og sensitiv. Deteksjonsgrensen er 400 ng pr. liter. Svakheten ved metoden, og de andre kjemiske metodene er at det ikke foreligger en standard for hvert toksin. Man unngår imidlertid ”problemet” ved å bruke tilgjengelige standarder, det brukes ofte standarder for microcystin LR, et mål for den sterkeste toksinvarianten (2.mst.dk).

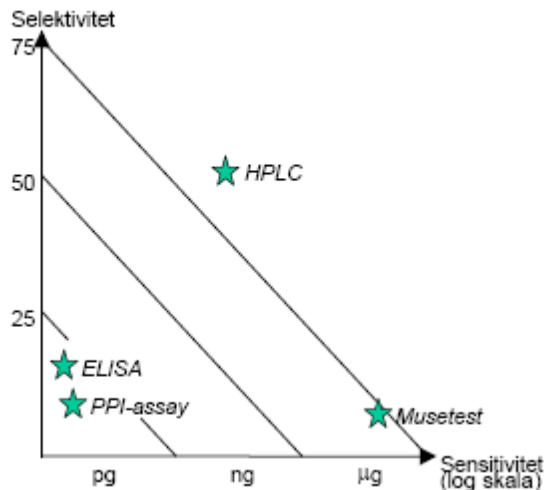
ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), en lettvinnet metode som kan bestemme microcystin, baserer seg på prøvetaking og ekstraksjon (Utkilen og Gjølme 1994). Metoden kan måle microcystinkonsentrasjoner fra 0,16-2,5 ppb (Breirem 2005). Metoden er følsom og krever fagpersonell. Med hensyn til påvisning av toksiner fra cyanobakterier, brukes antistoffer, som reagerer med de vanligste microcystintoksinene, som microcystin LR. Metodens svakhet er at antistoffer reagerer med hepatoksiner i ulik grad. På grunn av en svakhet i bindingen mellom antistoff og de ulike toksiner, kan det forekomme en underestimering, ved toksinkvantifiseringen (miljoestyrelsen.dk).

PCR (Polymerase chain reaction), PCR er en måte å lage mange kopier av et bestemt området av organismens arveanlegg (DNA eller RNA), dersom den aktuelle organismen finnes i prøven. Man trenger kun en liten mengde, metoden kan påvise en enkelt celle. PCR metoden er en veldig følsom metode, svakheten er at den ikke skjelner mellom levende og dødt materiale. I dette tilfellet ble 16s rRNA brukt til å påvise cyanobakterier og spesifikke områder på mikrocytingenet, uten mikrocytingenet kan de ikke produsere microcystin.

PPI, (Proteinfosfate inhiberingsassay). En hurtig og følsom metode Metoden kan benyttes til hepatoksiner, den kan brukes til Microcystin og Nodularin.

Prinsippet utnytter hepatoksinenes hemming av celleregulernde enzymer proteinfosfater, for kvantifisering av toksinene. Metodens svakhet er at den ikke er i stand til å sjeldne mellom de ulike microcystinene, den måler toksingruppens totalemengde (Hawkins et al 2005).

For påvisning av endotoksiner kan man bruke et analysekit, Cambrex Bioproducts Europe (2003). Metoden måler endotoksinkonsentrasjoner fra 0,1 – 1,0 EU/mL. Endotoksin units (EU)= 0,1 ng (Breirem 2005). De ulike metodene henvises til i figur 12.



Figur 12. Sammenligning av metoder for deteksjon av toksiner, selektivt og sensitivt (miljoestyrelsen.dk).

2.14 Rensing av cyanobakterier i vann.

De fleste vannverk, ca 90 %, får sitt vann fra overflatevann. Ca 70 % av vannet kommer fra elver, bekker og tjern, og blir ledet videre til offentlige og private vannverk. Mens noen får sin vannforsyning fra brønner (fhi.no). I Norge er det 1700 registrerte vannverk, i 2002 hadde bare 230 av disse rensemetoder for humus. Dette er ikke tilfredsstillende i forhold til drikkevannsforskriften. Det finnes fortsatt vannverk som ikke desinfiserer drikkevann (fhi.no). Drikkevannsforskriften, har som mål å sikre tilfredsstillende mengde og kvalitet på drikkevannet. Dette omfatter at det skal kunne være trygt og rent å drikke. Fokuset rundt giftige bakterier har ført til at WHO har fastsatt en grense på 1 µg/l for microcystin - LR i drikkevann (Henriksen et al. 2000, fhi.no).

Rensing.

Metodene som er beskrevet nedenfor er av de mest brukte, metodene avhenger av om bakterietoksinene er løst i vann eller om toksinene er intakte i cyanobakterien. Det er utviklet både biologiske, kjemiske og immunologiske teknikker som påviser og kvantifiserer microcystin (Utkilen og Gjølme 1994). Tiltak for å hindre lukt og smak på vannet kan være kostnadskrevenende. På en del vannverk har man skiftet ut antrasitt eller sand i filtrene med granulert aktivert karbon, som må regenereres eller skiftes ut regelmessig (fhi.no).

Intakte toksiner i vann.

Kloring eller koking tar ikke knekken på endotoksiner fra cyanobakterier. Klorering av vann som inneholder toksiner, lyserer cellene, slik at toksin blir frigitt i stedet for å elimineres.

Nervetoksiner, hepatoksiner og endotoksiner er termotabile (Annadotter 1993).

Ved forsøk har det vist seg at kjemisk felling, gir liten reduksjon, det gir en toksin reduksjon på 10 %. Forsøk med klorering har vist seg å lysere bakteriene og dermed frigi endotoksiner, men om man tilsetter aktivt kull vil endotoksinene elimineres (fhi.no). Ved sandfiltrering, med normal spolingsintervall, over et døgn, vil det ikke forekomme utlekking av endotoksiner (Tidestrøm og Rennerfelt 1989). Ved endotoksiner, viser det seg at kjemisk felling og filtrering gjennom sandfilter er å anbefale (Tidestrøm og Rennerfelt 1989).

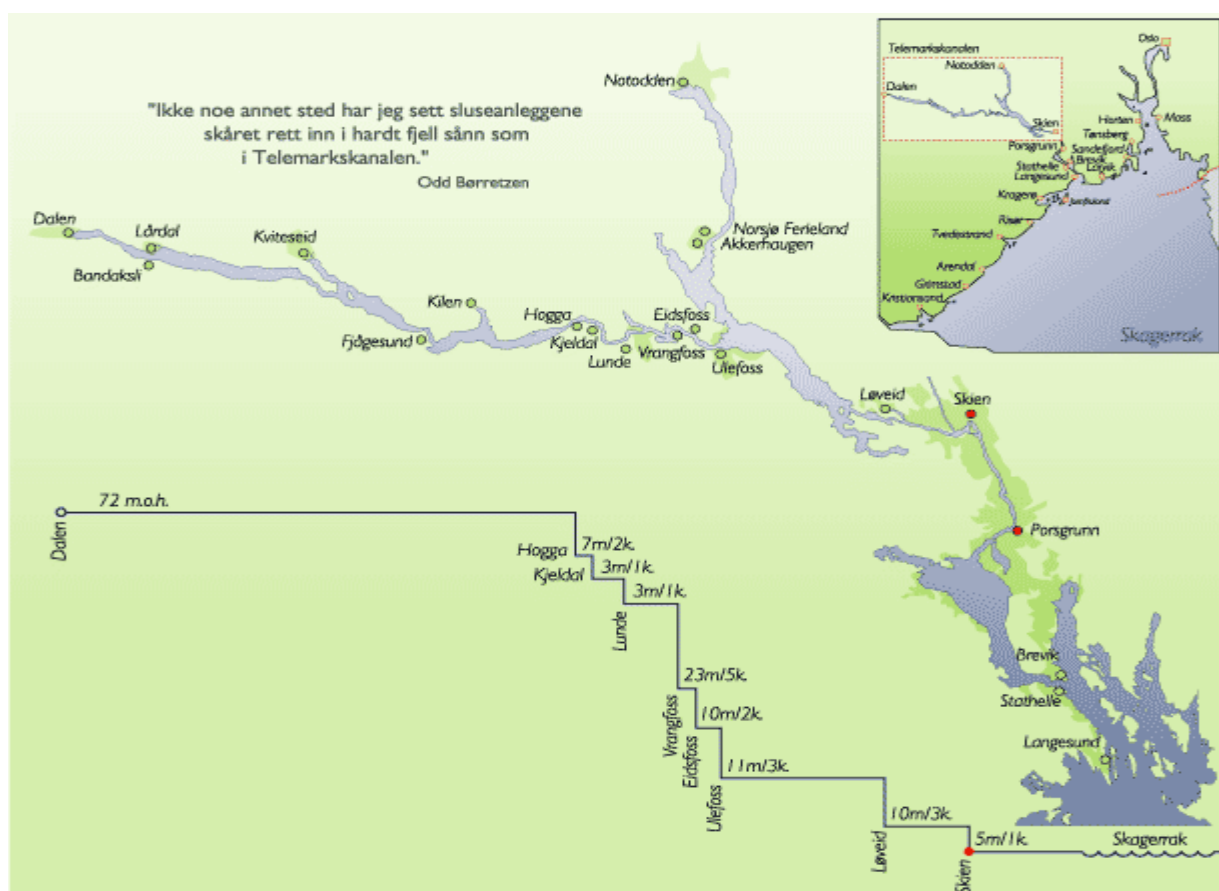
Toksiner løst i vann.

ved bruk av aktivt kull eller filtrering gjennom granulert aktivt kull, kan man få en renseseffekt på inntil 60- 95 % (Tidestrøm og Rennerfelt 1989).

3. Områdebeskrivelse.

3.1 Beliggenhet.

Norsjø tilhører Telemark fylke, og utgjør en del av Telemarkvassdraget. Vassdraget berører kommunene Sauherad, Nome og Skien (fig. 13). Vassdrager ender ut i Skienselva, går videre til Porsgrunn, og ut i Skagerrak. Norsjø utgjør 58,4 km², i areal og er 29 km. lang. På det dypeste er det målt 171 m. Norsjø er regulert til 15,3 m.o.h. ved Skottfoss, i Skien (skiensvassdraget.no, telemarkskanalen.no)



Figur 13. Norsjø, fra Notodden i nord, til Skien i sør.

Norsjø ligger 15 moh, med nedbørsfelt på 10 390 km². Vassdraget utgjør området fra Akkerhaugen til Skottfoss i Skien. Norsjø har 3 tilløp, et fra Bøelva via Seljord, Sauarelva som kommer fra Heddalsvatnet, og et tilløp fra Eidselva, som kommer fra Dalen. Elva renner ned til Bandak, og videre ned til Flåvatn. Flåvatnet har utløp til Eidselva, som har noen tilløp i nærheten av Lunde. Eidselva renner ut ved Ulefoss og derfra ender vannmassene i Norsjø.

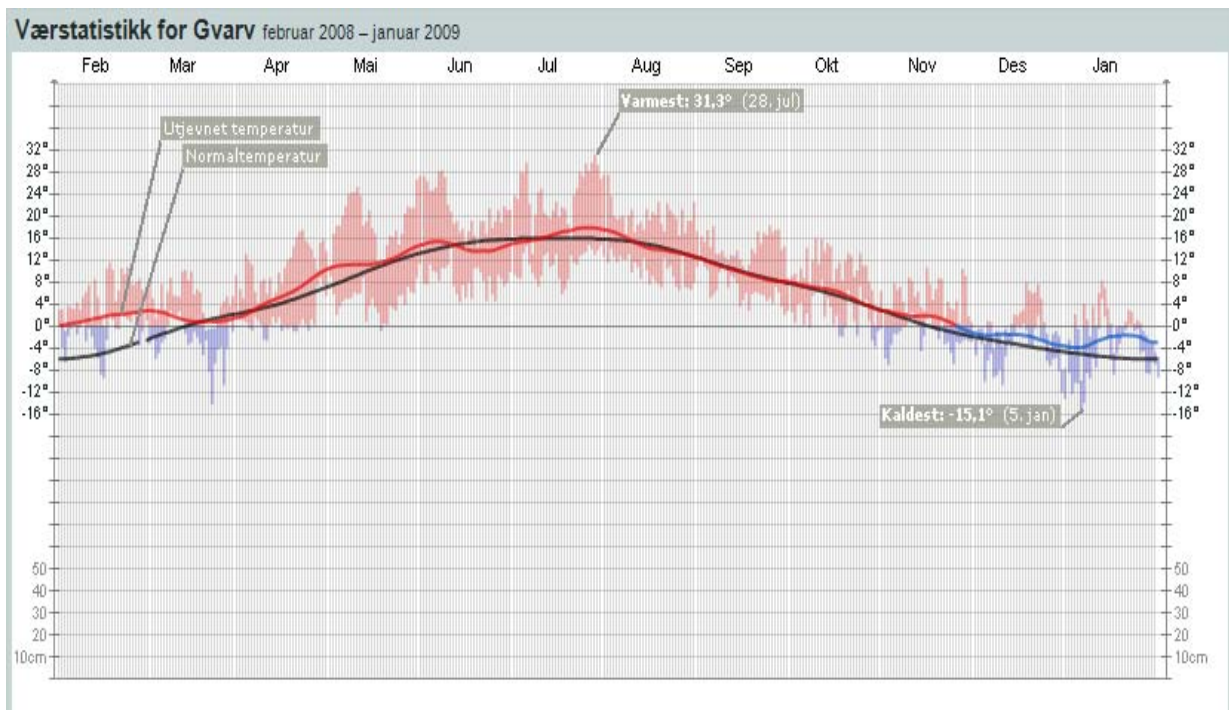
Bøelva har utspring fra Seljordvatnet, og gjennom Bø kommune, videre ned til Gvarv i Sauherad kommune og ut i Norsjø ved Årnesbukta. Sauarelva passerer Bråfjorden, går videre gjennom Hjuksebø til Heddalsvatnet, og har tilløp fra kilder helt oppe på Hardangervidda. I tillegg forekommer flere mindre tilløp (telemarkskanalen.no).

3.2 Klima.

Data er hentet fra eklima, Metrologisk Institutt (met.no).

3.2.1 Temperatur.

Temperaturer for perioden 3.7-22.8.2008 som berører Norsjø er hentet fra Gvarv målestasjon 32060, (93 m.o.h.) (fig.14). Middeltemperaturen for juli er vanligvis 16- 17 °C i lavere strøk. Maksimum temperatur i lavlandet ligger på 33°C. Temperaturen avtar med ca. 0,67°C pr. 100 m. Gjennomsnittstemperatur for disse månedene var 16,43 °C og høyeste registrerte temperatur var 31.3 °C den 28.7 (met.no).



Figur 14. Gjennomsnittstemperaturer for 2008, fra Gvarv målestasjon (met.no).

3.2.2 Vind.

Registrering av vindretningene for 3.7-22.8.2008 er fra målestasjon 32060 på Gvarv. I perioden blåste det gjennomsnittlig 1,55 m/s. Dalfører og fjell gir en skjerming mot vind. Om somrene dominerer vind fra sørvest, om vintrene fra nordøst (met.no, snl.no).

3.2.3 Nedbør.

Nedbørsdataene er fra målestasjon 30320 Skien, Eldstrøm (13 m.o.h.), i perioden 3.7-22.8.2008 ble det totalt registrert 234 mm. med nedbør. Årlig nedbørsmengde i Telemark er mellom 800-1200 mm. Nedbørsmengdene vil variere noe etter topografi (met.no, snl.no).

3.2.4 Sol.

Data på solinnstråling er fra målestasjon 18700 Oslo ved Blindern (94 m.o.h.). Målestasjonen ligger 10,3 mil fra Akkerhaugen. Antall soltimer pr. døgn i snitt perioden 3.7-22.8.2008 var 7, 08 timer pr. dag (met.no).

3.3 Geologi.

Områdene rundt Norsjø har dalprofil, som blir karakterisert med gjennomgående ulike høydevariasjoner. Mellom topografiske høydedrag, danner vassdraget renner i landskapet, som ved Bråfjorden nord for Norsjø, som ligger nærmere Nautesund.

Grunnfjellet i Telemark består av flere bergarter. I fra i området Seljord, Lifjell, Blefjell og omegn er det Telemarkssuiten som dominerer, en type bergart som er en svært hard kvartsitt. De andre områdene rundt Norsjø består av gneis og granitt, som er sure og tungt forvitrende bergarter. Grunnfjell som er dekt av et tynt lag med løsmasse. På Søve, ved Ulefoss har det tidligere blitt drevet gruvedrift. Det har blitt utvunnet søvitt fra Fensfeltet, som består av kalkholdige bergarter og sjeldne mineraler. I tillegg er jorda særlig næringsrik (snl.no, telemarkskanalen.no). Variasjoner i topografi og høgdenivåer kan gi seg i utslag av lokale variasjoner når det gjelder temperatur og nedbørsforhold (skogoglandskap.no).

3.4 Vegetasjon.

I Norsjø's nærliggende områder finner man landskap som domineres av barskog. På de områdene hvor det er mer tynnholdig jordlag, som på åser og steder som er mindre næringsrike forekommer en del furutrær, med en vegetasjonsbunn som gjerne er dekt med blåbærlyng. På steder med mer næring og fukt, som dalsider og steder der hvor jordgrunnet er dypere enn 50 cm. domineres landskapet av granskog. Jordbruksområdene i Telemark er av landets beste. Jordbruksarealene i Telemark utgjør 404 000 dekar. Sauherad hadde pr.31.7.2008 drift på 23 393 dekar (Midt - Telemark Landbrukskontor, Skogoglandskap.no)

3.5 Vannkvalitet.

Tidligere har Norsjø blitt klassifisert som oligotrof (Breirem 2005). Bakgrunnen for å klassifisere en innsjø avgjøres på grunnlag av innsjøens innhold av blant annet næringsalter.

Karakteristisk for en oligotrof innsjø er gjerne sure og harde bergarter som har lang forvitringstid, som avgir lite nitrogen og fosfor. Den totale konsentrasjonen av disse stoffene, små mengder av kalsium, og pH verdier på mellom 6 og 7 er karakteristiske trekk ved oligotrofe innsjøer (Økland 1975, Bjerketvedt og Pedersen 1996). Vannkatalogen – Telemark, viser utviklingen av vannkvaliteten i Norsjø, fra og med 1987 fram til 1996. Undersøkelsene viser at mengdene av fosfor og nitrogen har holdt seg stabile. Fosformengdene klassifiseres til ”god”, og nitrogen gir tilstanden” nokså god” (Fylkesmannen i Telemark 1997). pH varierte fra 6,7-7,7. Gjennomsnittets pH ble beregnet til 7. Det indikerer Norsjø som svakt sur, noe næringsfattig, eller svakt oligotrof. Dette bekrefter tidligere tilstandsklassifiseringer av Norsjø (Breirem 2005).

Når forholdet mellom konsentrasjonene av nitrogen og fosfor er større enn 12, antar man at fosfor begrenser planteplanktonveksten (Økland 1998). Etter undersøkelse i Norsjø viste at dette stemte, planteplanktonmengden steg med fosforkonsentrasjonen. Det har vist seg at fosfor verdier over 0,03 ppm, øker algeveksten (saltvannsakvariet.no).

3.6 Brukerinteresser.

Norsjø brukes som rekreasjonssted, for bading, fiske og som ferdselsåre. I tillegg er vannet et viktig landskapselement, og tjener som næringsgrunnlag for planter og dyr. Norsjø blir også brukt som drikkevannskilde og til husholdningsbruk for beboere fra Skien og Nome.

Skien kommune har sitt vanninntak ved Steinsvika, som forsyner 46 000 abonnenter. Nome kommune forsyner 1290 abonnenter. I tillegg er det et privat vannverk i Helgen som forsyner ca 20 abonnenter (Teknisk etat ved Sauherad, Nome og Skien kommune).

Sørvest er det tilrettelagt for båttrafikk, med sluser og kanaler. M/S Telemarken går rutetrafikk i sommersesongen, mellom Akkerhaugen og Lunde. Telemarkskanalen utgjør to slusekanaler. I sør finner vi Norsjø – Skien kanalen, hvor slusene ender ut i Hjellevannet i Skien. Skien var en viktig forbindelse for etableringen av Norsk Hydro på Notodden i 1905. Vest i vassdraget, har sluseanlegget utløp ved Hogga i Lunde (telemarkskanalen.no). Det er anlagt brygger flere steder, blant annet ved Valebø, Romnes, Sannes og Norsjø Ferieland (skiensvassdraget.no).

3.7 Tilførsel av næringsstoff.

Avløpssvann fra renseanlegg på Akkerhaugen og Ulefoss føres ut i Norsjø.

I områder hvor terrenget skråner vil sigevann fra øvrige landbruksarealer oppkonsentreres i Norsjø. Det ligger noen hus og hytter i nærheten av vannet, som ikke har tilknytting til kommunalt renseanlegg (Teknisk etat, Sauherad kommune).

Fra vest og nord heller terrenget ned mot Norsjø. I disse områdene blir det i hovedsak blir drevet dyrking av korn, frukt og bær. Ellers er det en del jordbruk i Sauherad.

Av dette var 15 117 dekar korn, 1779 dekar olje og engfrø og 2 905 dekar for frukt og bærproduksjon (Midt - Telemark Landbrukskontor).

Om sommeren er det en del aktiviteter som forgår langs kanalen. Ved Norsjø Ferieland og Gåsodden er det campingplasser. I tillegg har Sauherad, Skien og Nome kommune flere tilrettelagte badeplasser. Det er en del båttrafikk langs kanalen oppover mot Notodden. Det er både private og kommunale gjestebrygger

Norsjø Golfpark, som ligger ved Romnes har blandet avløpsslam inn i jorda for å motvirke erosjon, holde lengre på fuktighet og for å redusere vanningsbehov. Likevel vil banen kreve gjødsling og vedlikehold. Det er et jernverk på Ulefoss, Ulefoss Jernverk som har hatt drift siden 1657, som støper kumlokk og ovner (skiensvassdraget.no). På Akkerhaugen er det et gartneri, som dyrker tomater.

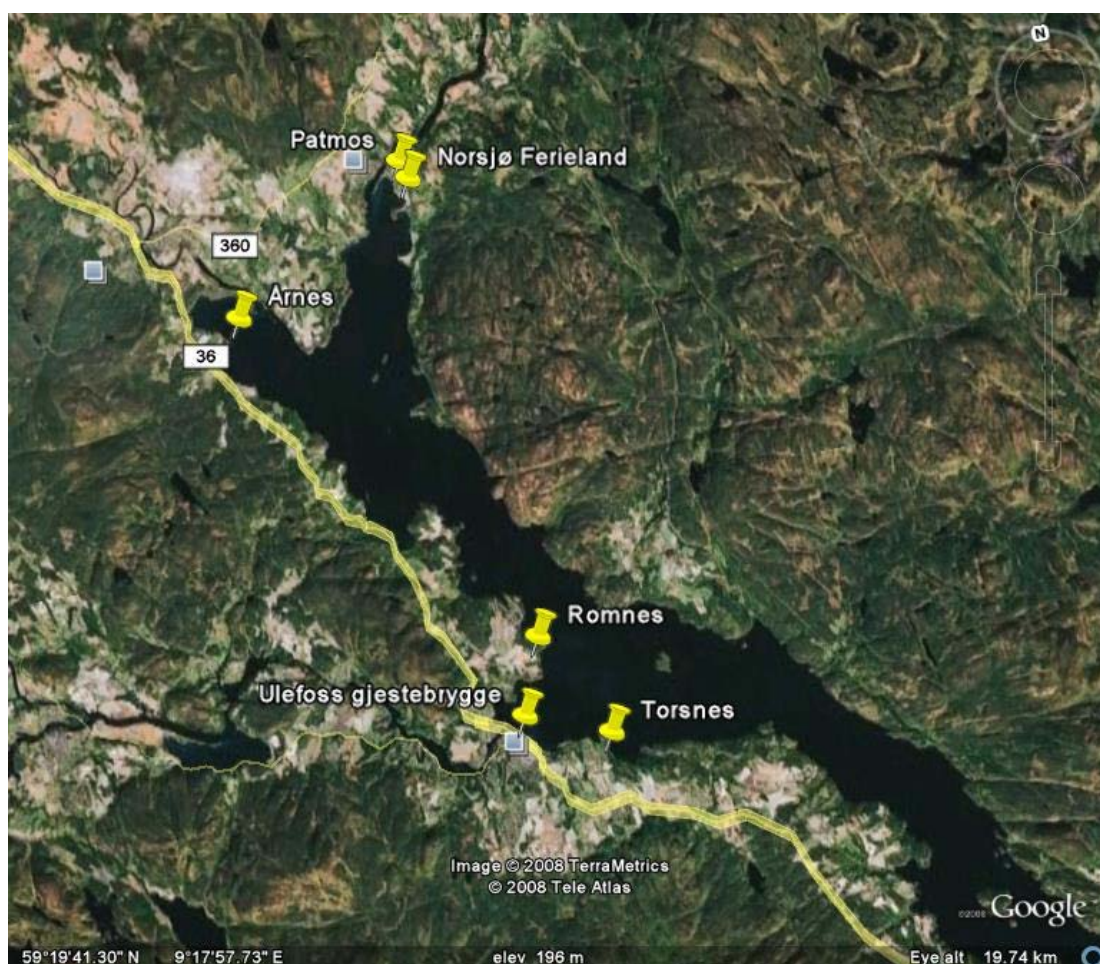
4. Materialer og metoder.

5.1 Feltarbeid.

Temperaturen ble målt om lag 50 cm. under vannflata, med en Ruttner vannhenter med innebygd temperaturmåler. Siktedyp ble målt med en Secchi – skive. Temperaturmålingene er målt på formiddagen mellom kl 9 og 11. Siden prøvene ikke er tatt på nøyaktig likt tidspunkt, blir maksimumstemperatur og minimumstemperatur fra hver av feltdagene benyttet for å redegjøre for temperaturvariasjon. Vannets temperatur varierte fra 15,5 °C målt ved Årnes 17.7. til 24,3 °C målt 29.7 samme sted (fig 15).

4.1.1 Prøvetaking.

Det ble tatt vannprøver for kjemiske, fysiske og biologiske analyser.



Figur 15. Norsjø med de 6 prøvestasjonene, Torsnes, Ulefoss, Romnes, Årnes, Patmos og Ferieland (Foto: Google).

4.2 Oppbevaring og lagring.

Det ble tatt prøver for fysiske og kjemiske vannparametere, bla. klorofyll a, total nitrogen og total fosfor (tab. 2). pH og ledningsevne ble analysert på prøvetakingsdagen.

Det ble i tillegg tatt prøver for kvalitativ planteplanktonanalyse. Planteplankton ble samlet inn ved hjelp av håv med maskevidde 25 µm. Håven ble trukket like under vannoverflaten. Det ble også tatt prøve for halvkvantitativ analyse av *Anabaena lemmermannii*.

Tabell 2. Fysiske og kjemiske parametere for analyse

Parameter	Oppbevaring	Lagring
Planteplankton	100 ml glassflaske.	1 ml Lugols løsning, kjølig
Cyanobakterier	1 liter plastflaske	Uten konservering, kjølig
pH og alkaliet	1 litersplastflasker	Uten konservering
Total fosfat og total nitrogen	100 ml glassflasker.	1 ml 4 M H ₂ SO ₄ , kjølig
Metaller	Filtrert	1 ml 7 M HNO ₃ . kjølig
Fosfat, nitrat og ammonium	Filtrert, fylt på 100 ml glassflasker	1ml, 4 M H ₂ SO ₄ . kjølig
fargetall, klorid og sulfat.	1 liters plastflasker	Uten konservering kjølig(fryst)
Klorofyll a	1 liters plastflasker, filtrert med 47mm Whatman GF/C filter	Filteret ble brettet sammen og lagt i aluminiumsfolie. Oppbevart i fryser.

4.3 Analysemetoder.

Analysene ble foretatt ved vannkjemilaboratoriet på Høgskolen i Telemark, avd. Bø. pH, fargetall, alkaliet og klorid ble analysert på prøvetakingsdagen. Totalfosfor ble analysert i september 2008. De andre ble analysene ble utført i perioden oktober til november 2008. Tabell 3 gir en oversikt over parametere, standarder og instrumenter.

Tabell 3. Oversikt over standarder og analyseinstrument

Parameter	Standard	Instrument
Temperatur		Ruttner vannhenter med innebygd termometer
pH	NS4720	WTW microprocessor, pH meter med kombielektrode.
Ledningsevne	NS4721	Conductivity meter nr. CDM 2e.
Alkalinitet	NS 4754	Titringen ble utført manuelt med 0,0100HC1.
Fargetall	NS 4787	Perkin Elmer Lambda 15 Spectrophotometer, med bølgelengde 410 nm.
Klorid	NS 4756 (1982)	Analysene ble utført på autotitrator Mettler DL 25 Titrator.
Sulfat	FIA applikasjon ASTN 15/84	FIA Tectator 5042 Detector FIA 5012 Analyzer
Kalsium og magnesium	NS 4776	Perkin Elmer, Atomic Absorption Spectrometer AS - 3100

Tabell 3 forts.

Parameter	Standard	Instrument
Natrium og kalium	NS 4775 (1994)	Perkin Elmer, Atomic Absorption Spectrometer AS - 3100
Total fosfor	På 100 ml glassflasker NS 4725 (1984)	15,0 mL prøvevann, tilsatt 0,15g kaliumperoksidisulfat, 0,6 mL ascorbinsyre og 0,6 mL molybdatreagens. Perkin Elmer UV/VIS Spectrometer Lambda 20 med Kyvettelengde 10 mm. Analysert i sept.
Fosfat	NS 4724 (1984)	Perkin Elmer UV/VIS Spectrometer Lambda 20
Total nitrogen	NS 4743 (1993).	Analysert på FIA, Flow Injector Analyser, Tecator 5042 detector og 5012 analyser i henhold til metoden ASN 110-03/92.
Nitrat	Brukermanual "Quickstart Manual for the FIALab-2500 System". Fargereaksjon med sulfanilamide (N-1-naftyletylendiamin dihydroklorid)	FIA lab 2500 og autosampler, AIM 3000
Ammonium	NS 4746 (1975) og Löfgren & Grundström (1986)	Perkin Elmer UV/VIS Spectrometer Lambda 20
Jern og mangan	NS 4770 (1994) og NS4773 (1994)	Med flamme atomabsorpsjon på Perkin Elmer Atomic Spectrometer, AAAS-3100. Deteksjonsgrense 0,05 mg L-1.

Tabell 3 forts.

Parameter	Standard	Instrument
Total organisk karbon	Følger intern metode og brukermanual basert på applikasjon ” O. I. Analytical manual”. Oksidasjon med natriumperoksodisulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$)	Total Organic Carbon Analyzer fra O. I. Analytical
Klorofyll a	NS 4766	Spektrofotometeret var av typen Perkin Elmer UV/VIS Spectrometer Lambda 20. Med kyvette lengde 50mm.
Planteplankton	Kvalitativ analyse	lysmikroskop av type merket Leitz HM Lux, med forstørrelse 100 X og 400 X. For foto: Olympus Z4040.
Cyanobakterier	For artsbestemmelse, Væxtplanktonflora av Tikkanen og Willén (1992).	Lysmikroskop, Leitz HM Lux, med 100 x og 400 x forstørrelse.

4.3.1 Fysiske og kjemiske analyser.

Ved Patmos ble vannprøvene tatt ved grunnen, fordi dette er en populær badeplass, og dermed et sannsynlig sted hvor barn lett kan bli eksponert for tilstedeværelse av bakterier. I de tilfellene det var sprangsjikt, som ved Romnes, Årnes og Norsjø Ferieland ble prøvene tatt på dypere vann.

Metode for klorofyllekstraksjon.

Selve ekstraksjonen foregår ved at en først klipper filteret i småbiter, og putter det i et plaatsentrifugerør, fyller på 90 % aceton til ca halvfullt rør, deretter skal blandingen homogeniseres ved hjelp av homogenisator. Homogenisator føres opp og ned i røret, til alt blir en jevn masse. Deretter fylles røret opp til det er 10 ml. med aceton inkludert materialet fra tideligere, deretter skal det settes på kork. Blandingene ble satt mørkt, i romtemperatur til neste dag. Prøvene sentrifugeres med 4000 omdreininger i 10 minutt.

Om differansen mellom absorbansen mellom de to bølgelengdene er mindre enn 0,05 skal klorofyllkonsentrasjonen rapporteres som mindre enn den konsentrasjonen som forekommer når en setter $A_{665} - A_{750} = 0,05$ i formelen.

Spektrofotometeret ble stilt på metode 120. Det ble brukt 50 m.m. kyvette, med tykke vegger. Det ble fylt på 90 % aceton og kjørt en autozero. Prøva blir overført til kyvette, og deretter målt. Får høgt tall for bakgrunnsverdien på 750,0 nm, kan det tyde på filterrester. Da må prøven sentrifugeres og måles om igjen (NS 4766 1983).

4.3.2 Biologiske prøver.

Halvkvantitativ planteplanktonanalyse.

Det ble tilsatt en dråpe prøvevann på objektglass. Deretter ble det foretatt telling under lysmikroskop. Antall kolonier og tråder ble telt opp, bestemmelseslitteratur som ble brukt var Tikkanen og Willén (1992).

Det ble foretatt følgende kvantitativ rangering:

-- = ingen

X = lite

XX = middels

XXX = mye

En svakhet ved metoden er at bakteriekoloniene kan ligge lagvis, og dermed dekke over hverandre.

4.3.3 Genetisk analyse av *Anabaena lemmermannii*.

To ulike metoder ble brukt med tanke på nedspinning/samling av prøvemateriale for DNA ekstraksjon. Overføring av prøvevann til 15 ml prøverør som ble sentrifugert ved 5000 omdreininger i 15 minutt og filtrering. Nedspinning ga ingen resultat, derfor er alt av DNA ekstraksjon fra prøvemateriale på filtrene. Filtrene med prøvemateriale ble fryst ned før DNA ekstraksjon.

Nedfryste filter ble hentet frem (se foto vedlegg nr. 3), og prøvematerialet ble skrapet av. Der hvor det var for lite mengde av prøvematerial til at man kunne skrape ble filtrene istedenfor klippet opp. DNA ekstraksjonsmetode som ble brukt var Dynabeds DNA direct Universal. Et kit sett som baserer seg på binding av DNA ved hjelp av magnetkuler. Prosedyre spesielt tilrettelagt for cyanobakterier ble brukt. Det innebærer blant annet at prøven skal stå i 5 min ved 65 °C etter at suspensjonen er blitt homogen. Det ble kjørt separate PCR analyser for påvisning av henholdsvis cyanobakterier og genet for microcystin (se vedlegg nr. 4 PCR oppsett, prosedyre og prosess).

PCR reaksjon for påvisning av cyanobakterier og genet for microcystin:

BD Advantage polymerase mix 500 rx nr: 6392-02 fra AD diagnostisks ble brukt etter oppsettet: 1x 2SA PCR buffer, 0,2 mM dNTP, 0,2 pmol/µl av hver primer (se tabell 4), og 1x polymerase mix.

PCR programmet for cyanobakterier: Denaturering 95 °C i 1 min etterfulgt av 35 sykluser med 95 °C i 30 sekunder og 68 °C i 1 minutt, til slutt 68 °C i 1 minutt.

På samtlige prøver sto gel-elektroforesen på 50 min, ved 150 Volt.

PCR program for microcystin-gen: Denaturering 95.° C i 1 min etterfulgt av 35 sykluser med 95 °C i 30 sekunder og 62 °C i 1 min., til slutt 62 °C i 1 minutt.

Visualisering ble gjort på akrylamid geler. På samtlige prøver sto gel-elektroforesen på 50 min, ved 150 Volt.

Det ble kjørt 3 paralleller av alle prøvene samt at en positiv (NIVA stamme 83/1) og negativ kontroll (H₂O) var med i alle kjøringene (tab. 4).

Tabell 4. Primere ved påvisninger av DNA – sekvenser fra cyanobakterier.

Påvisning	Primernavn	Sekvens
Cyanobakterie (Jakobsen et al. 1997).	CYA-CC-F	5'- TGTAACGACGGCCAGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGC- 3'
	CYA-CG-R	5'-CGCGTTAGCTACGGCACGGCTCGG-3'
Microcystin (Halinen et al. 2003).	mcyE-F2	5'-GAAATTTGTGTAGAAGGTGC- 3'
	AnamcyE-12R	5'-CAATCTCGGTATAGCGGC-3'

4.4 Toksinanalyser.

Påvisning av microcystin ved hjelp av ELISA-teknikk.

Alle prøvene som inneholdt cyanobakterier ble også undersøkt for microcystin ved hjelp av ELISA-teknikk. Metoden ble gjennomført i henhold til beskrivelse og prinsipp, i metodebeskrivelse fra Enviroligix inc EP 022 (vedlegg nr. nr. 6, ELISA). Spektrofotometeret var av typen Microwell System Reader 510. Metoden måler microcystinkonsentrasjoner fra 0,16 til 2,5 ppb.

4.5 Statistikk.

Analysene ble foretatt ved hjelp av Microsoft Excel og Minitab

5. Resultat og diskusjon.

5.1 Fysiske og kjemiske analyser.

5.1.1 Siktedyp.

Siktedyp er et mål på vannets lysgjennomtrenglighet, et indirekte mål på mengdesammensetning av partikler og løste komponenter i vannet. Siktedypet tilsvarer der hvor plantenes fotosyntese harmonerer med celleånding, også kalt kompensasjonsnivå. I den trofogene sonen er fotosyntesen større enn plantenes celleånding. I sjiktet nedenfor er situasjonen den motsatte. Dermed angir siktedypet grensen på hvor langt ned de lysavhengige organismene kan vokse. Ved siktedypet vil det være ca. 1 % igjen av overflatelyst (Økland 1992, Bjerketvedt og Pedersen 1996). Siktedypet gir et grovt mål på tykkelsen på den eufotiske sone, i klart vann vil det være 1,5-2 ganger siktedypet. Ved nordiske forhold kan siktedypet i en innsjø være mellom 0,1-10 m. Økt algemengde gir mindre siktedyp (Økland 1992).

Siktedypet ble målt med en hvit rund skive, som ble senket ned i vannet inntil den ikke kunne sees mer. Siktedypet ble målt ved Romnes og Norsjø Ferieland, de andre lokalitetene var for grunne til at det var mulig å måle siktedyp.

Siktedypet varierte fra 4,5 – 6,7 m. Det største siktedypet ved begge stasjonene ble målt 22,8, hvor det ble målt 6,1 m. ved Romnes og 6,7 m. ved Norsjø Ferieland. Det var bedre siktedyp ved Norsjø Ferieland. Planteplankton kan gi en gulgrønn farge, avhengig artsfordeling, mørk farge, sammen med lite siktedyp kan skyldes humus i vannet. Gjennomsnittlig siktedyp gjennom prøveperioden er 5,2 ved Romnes og 6 meter ved Norsjø Ferieland, se tabell 5. Et svakt gulbrunt vann, og sammen med siktedypet, gjør at Norsjø kan betegnes som meso-humøst (Økland 1992, niva.no) Siktedypet inngår som en parameter på å vurdere vannkvalitet, ut fra siktedyp vil Norsjø være i tilstandsklasse ”god”, og ”godt egnet” for fritidsfiske (Andersen et al. 1997). De målte verdiene for siktedyp indikerer en oligotrof innsjøtype (Økland og Økland 1998).

Tabell 5. Siktedypet (m), målt ved Romnes og Norsjø Ferieland sommeren 2008.

Sted/Dato	3.7	17.7	29.7	4.8	14.8	22.8
Romnes	6,5 m	4,5 m	4,9 m	5,2 m	5,6 m	6,1 m
Norsjø Ferieland	6 m	5,5 m	5,7 m	6,1 m	6,3 m	6,7 m

Siktedypet var lavest ved begge stasjonene 17.7, og økte gradvis ved avtagende temperatur mot slutten av august.

5.1.2 Temperatur.

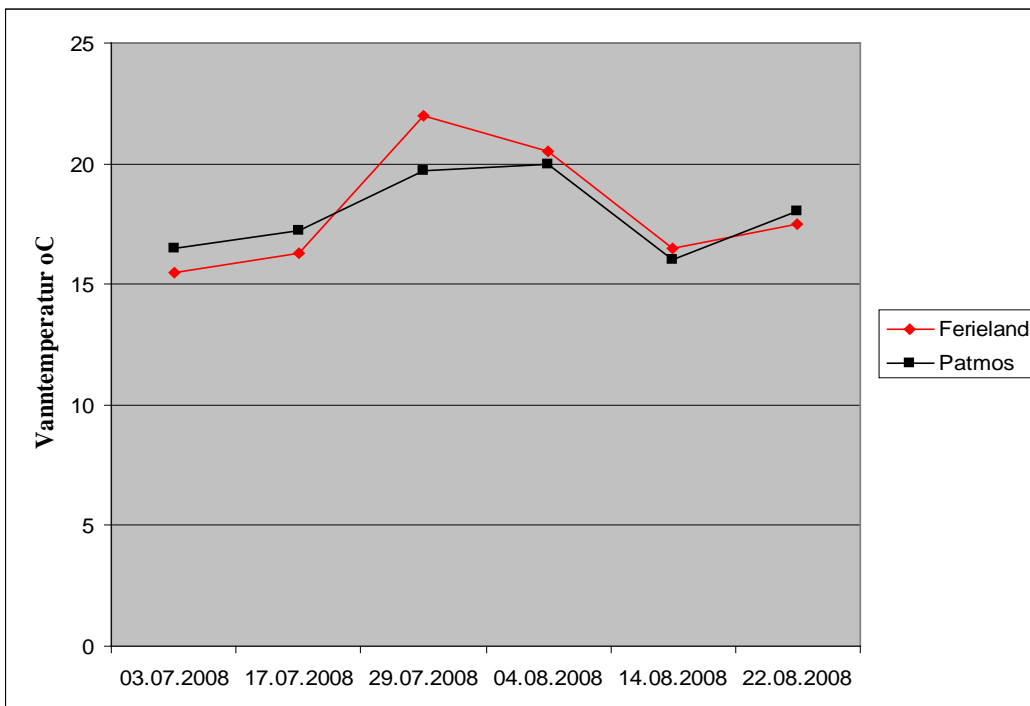
Vannets temperatur er av overordnet faktor for økologiske forhold, og organismene i vannet. Ved økt temperatur stiger biomassen av planteplankton, som er størst på våren og om sommeren. Det er påvist at temperatur påvirker toksinproduksjonen hos cyanobakteriene, det er imidlertid ikke klarlagt hvordan dette skjer (Økland 1983, Annadotter 1993, Utkilen og Gjølme 1994). Norsjø er en såkalt temperert innsjø, som de fleste norske innsjøer. Vannets viktigste varmetilførsel er stråling fra sollyset, en mindre del av varmen tilføres fra luft, sedimenter, overflatevann og grunnvann. Temperaturen påvirker vannets oksygenforhold og tetthet. Vind påvirker sirkulasjonsforholdene i vannet, som er av betydning for bunnforholdenes oksygenforhold, og for å frakte næringsstoffer. Innsjøens form og dybde er også av betydning (Økland 1983, 1992).

Overflatevannet var på det varmeste 29.7 hvor det ble målt 24,3 °C ved Årnes og Romnes. Over en treukers periode fra 29.7 ble det registrert gjennomsnittstemperatur over 20 °C i overflatevannet, som kan ha bidratt til microcystinproduksjon. Den 4.8 ble det påvist microcystin ved Torsnes, Ulefoss, Romnes og Årnes, det ble igjen påvist ved Torsnes 14.8. Disse observasjonene samsvarer med tidligere undersøkelser av *Anabaena lemmermannii* som har vist at toksinproduksjonen har vært størst ved 20 °C (Dai 2002).

Prøvestasjonene på vestsiden hadde høyere snitt på temperatur (18,9 °C, mot 17,9 °C som er snittet ved de nordlige stasjonene) (fig. 16 og 17), det kan skyldes at området er i ly for vind fra sørvest, og dermed mindre sirkulasjon i vannmassene.



Figur 16. Temperaturforholdene (°C) ved de vestlige prøvestasjonene fra 3.7 til 22. august 2008.



Figur 17. Temperaturforholdene (°C) ved de nordlige prøvestasjonene fra 3.7 til 22. august 2008.

5.1.3 pH.

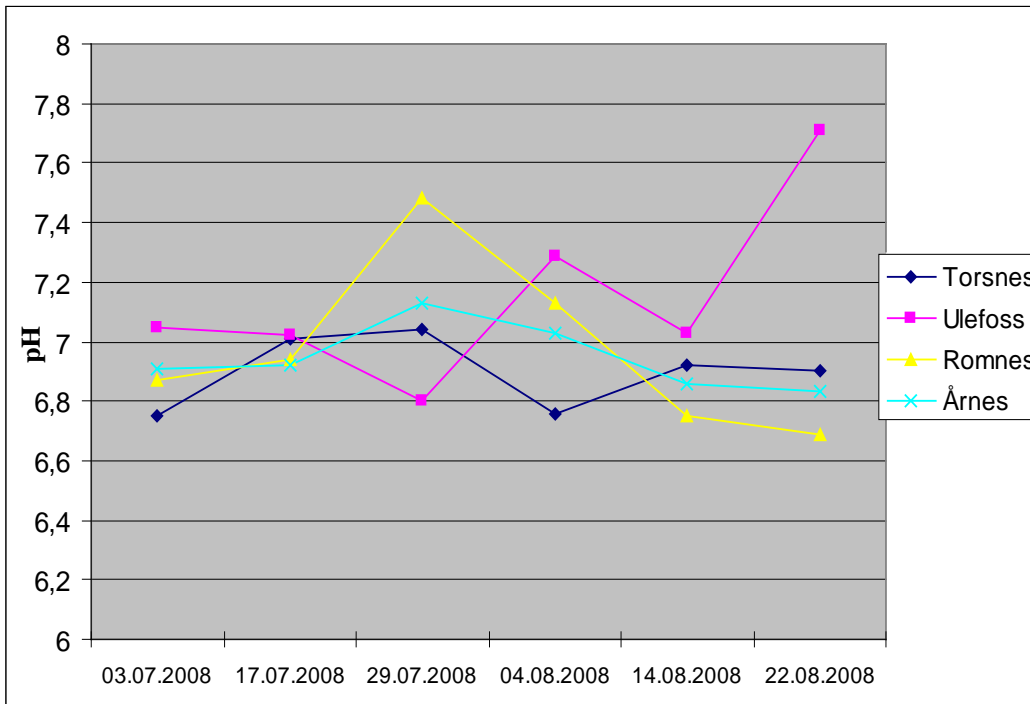
pH angir målet på vannets innhold av forsurende stoffer, og sier noe om mengden av H^+ -ioner. Vannets pH påvirkes av mange kjemiske reaksjonsmekanismer, og er av stor betydning når det gjelder kjemiske og biologiske prosesser. pH-en blir ofte høy i overflata, og lav i bunnmassene, som en konsekvens av høy primærproduksjon og nedbryting.

pH bestemmes ofte av faktorer som nedbør, forurensing, tilsig fra myrvann, geologiske forhold og vannets biologiske omsetning. Kjemiske prosesser som har med produksjon og nedbryting påvirker også pH (Økland 1992, Bjerketvedt og Pedersen 1996). Områdets bufferkapasitet, vannets alkalinitet stabiliserer pH. CO_2 mengden i vannet er avhengig av surhetsgraden, ved lavere pH enn 6,5 dominerer fri CO_2 . Dersom pH ligger mellom 6,6-10 dominerer HCO_3^- . Dersom pH er over 10,5 vil CO_3^{2-} øke (Bjerketvedt og Pedersen 1996). pH verdien i Norsjø var relativt stabil og holdt seg innenfor området 6,7 til 7,7. Den 29. juli var snitt pH-verdi høyere enn gjennomsnittsverdiene for hele prøveperioden. Det kan tyde på økt produksjon av biomasse i vannet, pH avtar så gradvis, dette kan indikere bla. biologisk nedbryting.

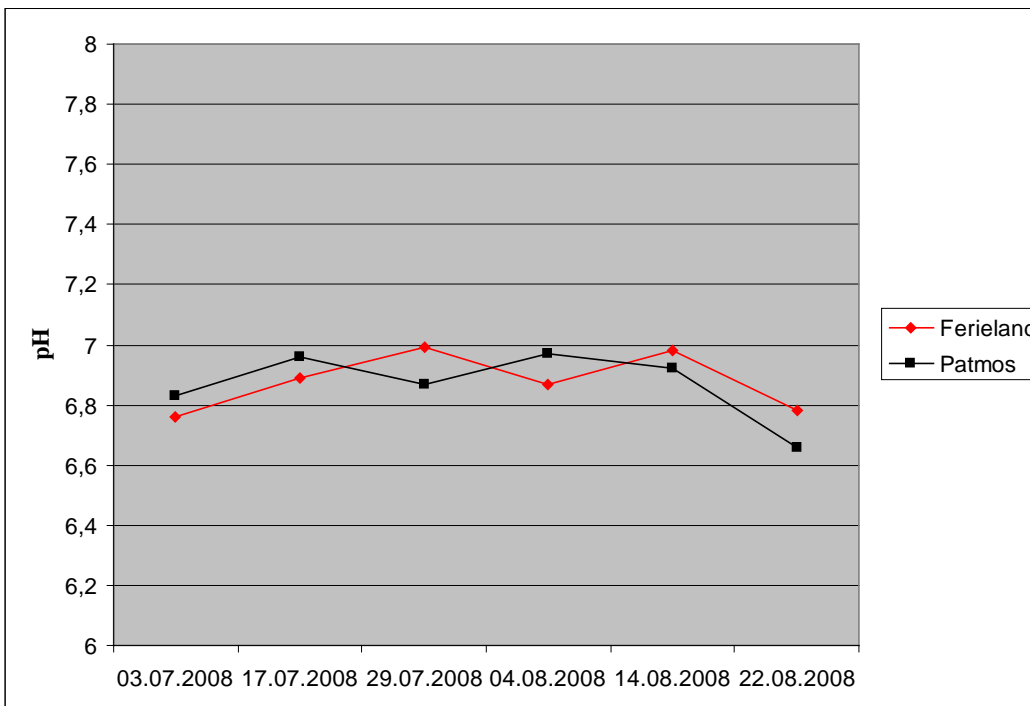
Det var to måleverdier som utmerket seg, ved Romnes ble det målt en pH på 7,5 i slutten av juli. Ulefoss hadde pH på 7,7, 22.8. Ved Ulefoss kan dette komme av at det var en gjestebrygge med toalett ved vannkanten og mye fugler, her kommer også Eidselva ut. Normalt vil pH være lav i begynnelsen av vekstsesongen pga sur nedbør som kommer ut i vannet sammen med smeltevann, i tillegg til at fotosyntesen har vært kraftig redusert. Dette bidrar til lavere pH. På sommeren vil fosfat og nitrat vaskes ut i vannet og føre til økt produksjon, som fører til at pH vil økes under sommersesongen (Økland 1992). Norsjø har en utstrekning på 29 km. det antas derfor at pH-verdier fra nedbør, er tilnærmet lik over hele innsjøen. Ulike pH-verdier kan skyldes områdets bufferkapasitet med mer eller mindre lokal påvirkning.

En klar og næringsfattig innsjø vil ha en pH på rundt 6,0. En pH verdi mellom 6-7 angir en oligotrof innsjø, gjennomsnitt pH i Norsjø ble beregnet til 7 (Økland 1992, 1998).

pH – verdien klassifiserer Norsjø i tilstandsklasse ”meget god” ($>6,5$) (Andersen et al. 1997). (fig 18 og 19).



Figur 18. pH verdier målt på de vestlige stasjonene av Norsjø i perioden 3.7-22.8.2008.

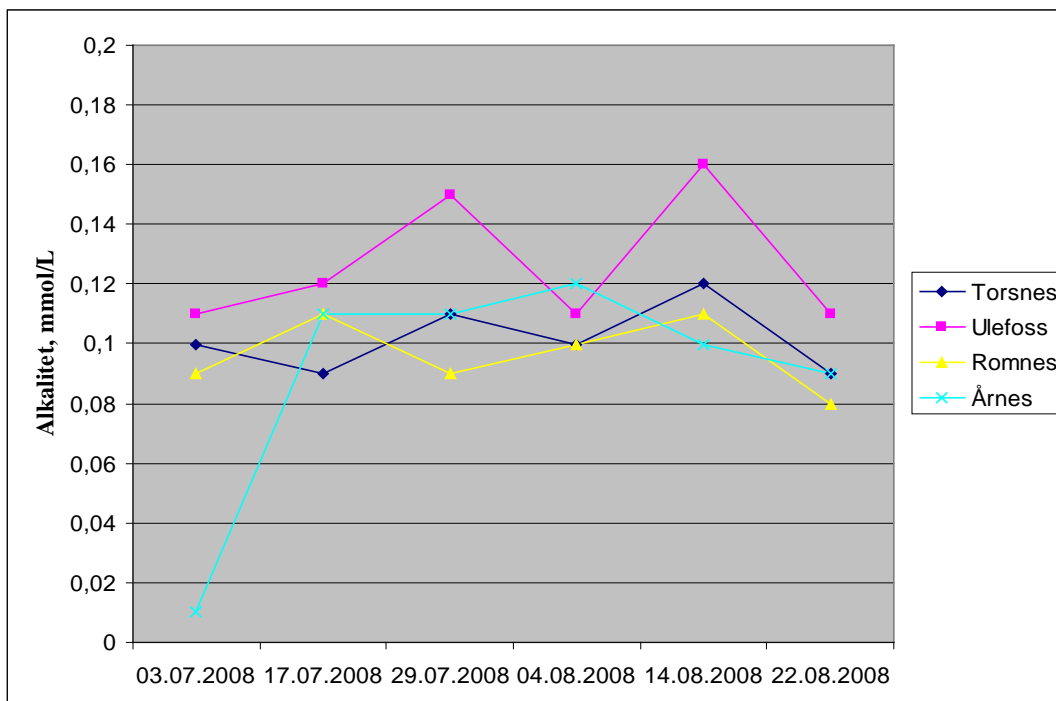


Figur 19. pH verdier målt på stasjonene i nordlige deler av Norsjø i perioden 3.7-22.8.2008.

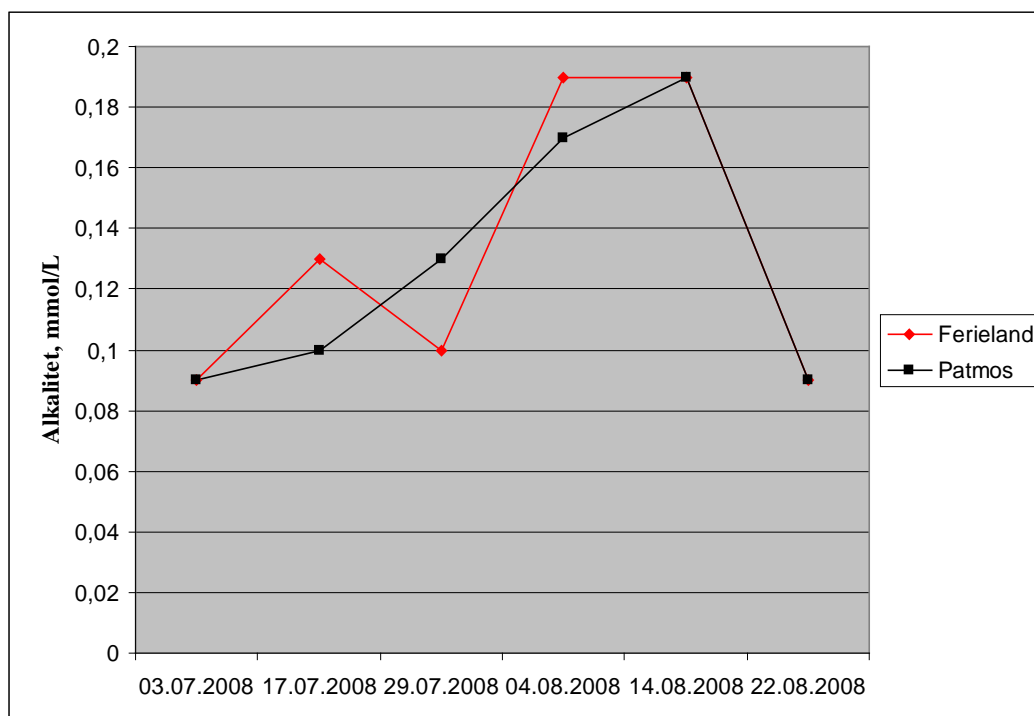
5.1.4 Alkalitet.

Alkalitet angir vannets motstandsevne til å motstå forsuring, og stabiliserer vannets pH. Alkaliteten i ferskvann blir brukt som mål på vannets bufferevne, som er essensiell for opprettholdelsen av alt liv i vann (Økland 2001). Fra vest og nord heller terrenget ned mot Norsjø. Ved Patmos og Norsjø Ferieland økte bufferevnen, og pH var under gjennomsnittet. Områdene rundt Norsjø har dalprofil som gir avrenning, i tillegg er det tykkere løsmasse i den nordre delen av Norsjø. I områdene blir det drevet dyrking av korn, frukt og bær. Ellers er det en del jordbruk i Sauherad. pH verdien ved Patmos og Norsjø Ferieland økte mot 29.7 og 4.8, for så å avta gradvis, samtidig økte klorofyll a mengdene, og pH verdiene sank.

På sørvest siden av Norsjø var bufferevnen noe lavere enn den nordlige delen (fig. 20 og 21), som indikerer lavere HCO_3^- og dermed mindre evne til å nøytralisere sterke syrer. pH- verdiene var høyest i sørvest området, forandringene skyldes trolig de sure bergartene i den sørlige delen av nedbørsfeltet, hvor det er en del gneis og granitt. Alkanitetsverdiene i Norsjø varierte fra 0,077- 0,198 mmol/ HCO_3^- , som klassifiserer Norsjø I tilstandsklasse "god" (0,05-0,2mmol/L) mht. alkalitet (Andersen et al 1997).



Figur 20. Alkalitet (mmol/L HCO_3^-), ved de vestlige stasjonene i perioden 3.7.- 22.8. 2008.



Figur 21. Alkalitet (mmol/L, HCO_3^-), ved de nordlige stasjonene i perioden 3.7.- 22.8. 2008.

5.1.5 Ledningsevne.

Ledningsevnen indikerer vannets evne til å lede strøm, vannets totale mengde av oppløste ioner, saltinnhold. Ledningsevnen bestemmes blant annet av forvitring av berggrunn, jordsmonn, marine avsetninger i nedbørsfeltet, atmosfærisk nedfall og nærheten til havet (Økland 1992, Bjerketvedt og Pedersen 1996). Ledningsevnen i et vassdrag øker fra de øvre delene og nedover, fordi stadig større mengder næringssalter løses fra det geologiske fundamentet. En langsom avrenning kan gi en forholdsvis lang kontakttid mellom vann og berggrunn. Dermed kan løste salter bli tilført til de mer stilleflytende deler av vassdraget. På den måten vil ioner som ikke inngår i de biologiske prosessene oppkonsentreres nedover i vassdraget (Økland 1992).

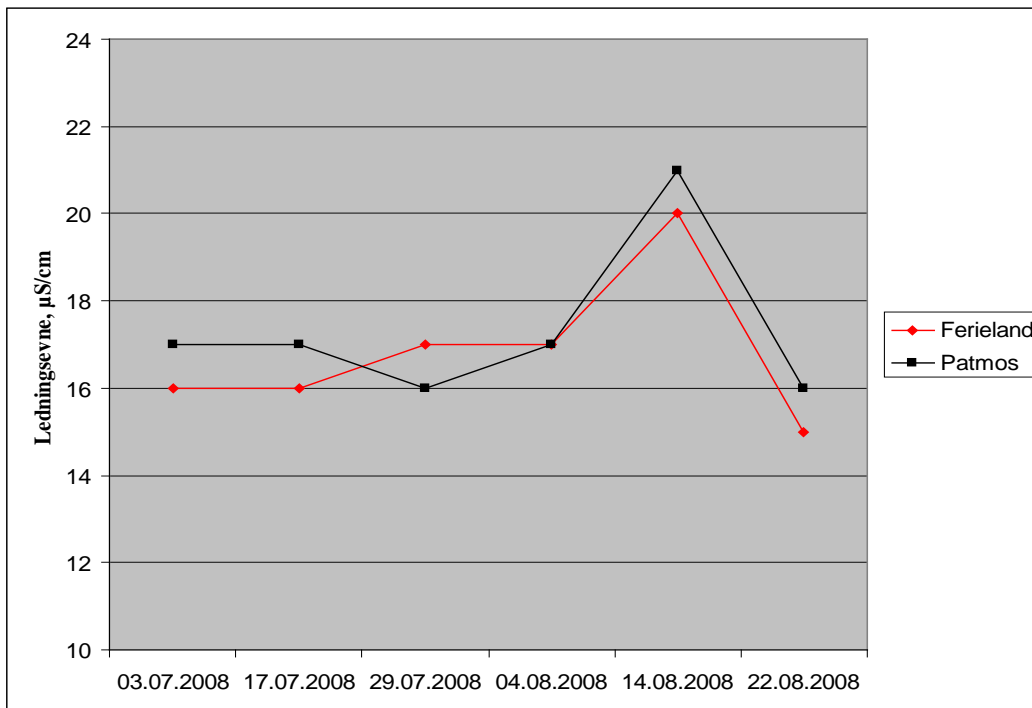
Ledningsevnen varierte fra 15-22 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (fig. 22 og 23), tidsveid middelveid for ledningsevne for Norsjø var 17,5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (tab. 6). Som indikerer normal verdier. I følge Økland er ledningsevnen vanligvis rundt 10 – 50 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Økland 1983). Ledningsevnen er uforandret sammenlignet med prøveresultater fra 1990 (Fylkesmannen i Telemark 1995). Saltinnholdet uttrykkes ofte som summen av kationene kalsium, magnesium, natrium, kalium, og anionene sulfat, klorid. Se tabell 7 for middelveidier.

Tabell 6. Gjennomsnittlig ledningsevne ($\mu\text{S}/\text{cm}$) ved prøvestasjonene ved Norsjø i perioden 3.7 - 22.8.2008.

Dato	3.7	17.7	29.7	4.8	14.8	22.8
Ledningsevne ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	17	17	17	18	19	17



Figur 22. Ledningsevne ved de vestlige prøvestasjonene gjennom prøvetakingsperioden 3.7-22.8.2008



Figur 23. Ledningsevne ved de nordlige prøvestasjonene gjennom prøvetakingsperioden 3.7-22.8. 2008

5.1.6 Fargetall.

Fargetallet er et uttrykk for vannets innhold av løst organisk stoff, og brukes som utgangspunkt for å bestemme vannets humusinnhold (Økland 1992). Fargetallet måles ved platinametoden, og har en spennvidde på 0-250 mg Pt /L (Økland 1995).

Fargetallet i Norsjø varierer fra 10 mg Pt/L, målt ved Ulefoss 17.7.08, til 25 mg Pt/L målt samme sted 22.8. Gjennomsnittsverdi for fargetall var 16 mg Pt/L, humusinnholdet plasserer Norsjø blant de mesohumøse innsjøene (Økland 1983). Etter tilstandsklassifiseringen til SFT er Norsjø i tilstandsklasse II ”god” (15-25 mg Pt/L) (Andersen et al.1997).

5.1.7 Ioner.

Alle innsjøer tilføres salter fra berggrunn og avleiringer i nærheten av vannet. Mineralene løses opp i ioner og er med på å bestemme ioneinnholdet i innsjøen. I ferskvann hvor det ikke er store saltforekomster vil natrium og klorid være kationene som dominerer, og ofte er natriumsforekomstene større enn magnesium (Økland 1998). Gjennomsnittsverdier på magnesium og natrium varierte fra 0,2-0,3 mg/L og 1,1-1,4 mg/L (tabell 7).

Kalsium, (Ca²⁺).

Kalsium kan utløses i vannet fra kalkrike bergarter. Mye kalsium i vannet gir hardt vann (fhi.no). Er det hardere bergarter som har lite kalsium eller som ikke så lett gir fra seg kalsium, blir gjerne vannet surt. Der det er kalkholdig grunn blir pH i innsjøer og elver relativt stabil. Kalsium er et viktig næringsstoff for makrovegetasjon, alger og i varierende grad for dyr. I forhold til bruk av vann i husholdningssammenheng vil man få problemer med hardt vann, dersom vannets kalsiuminnhold overstiger 25 mg Ca/L (Økland og Økland 1998, fhi.no).

Innholdet av kalsium i Norsjø varierte fra 1,3– 3,3 mg/L. Både maks og minimum konsentrasjoner er fra Romnes, henholdsvis 4.8 og 22.8. Den siste målingen utpekte seg ved å være svært høy i forhold til de andre prøvene. Gjennomsnittsverdien på kalsium i Norsjø på 1,9 mg/L, som indikerer kalsiumforhold som samsvarer med undersøkelser på Østlandet fra 1995, hvor medianerverdien var 1,7 i snitt (Økland og Økland 1998).

Magnesium, (Mg²⁺).

Magnesium er et grunnstoff som finnes i ulike mineraler i berggrunnen. Mangesiumsforekomster i vann, vil vanligvis komme fra berggrunnen. Magnesium blir skylt ut fra berggrunnen og jordsmonn av regnvann (fhi.no). Magnesium er et viktig plantenæringsstoff og tar også del i oppbyggingen av klorofyll. (Økland & Økland 1998). I Norsjø varierte magnesiumkonsentrasjonene fra 0,18 mg/ L ved Torsnes 22.8, til 0,33 mg/ L ved Romnes 14.8. Magnesiumkonsentrasjonen vil vanligvis være 1/3 av kalsiumforekomstene i vannet. Snittverdi viste 0,23 mg/ L, og snitt verdiene på kalsium viste 1,9 mg/L. Tabell 7, viser gjennomsnittsverdier på salter.

Tabell 7. Tidsveide middelverdier for Ca²⁺ mg/L, Mg²⁺ mg/L, Na⁺ mg/L og K⁺ mg/L i Norsjø 2008.

Dato	3.7	17.7	29.7	4.8	14.8	22.8
Ca²⁺ mg/L	1,9	1,9	1,8	1,5	2,2	2,3
Mg²⁺ mg/L	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2
Na⁺ mg/L.	1,1	1,1	1,3	1,2	1,2	1,4
K⁺ mg/L	0,2	0,2	0,3	0,5	0,4	0,2

Natrium, (Na⁺).

Forurensing fra kloakk, husdyrgjødsel og nærliggende avfalldeponier, bidrar til økt natriumstilførsel til vann. I overflatevannkilder er natriumforekomstene vanligvis mellom 1-15 mg Na⁺/L (fhi.no). Natriumsforekomstene i Norsjø varierer fra 1-1,7 mg/L. Snittkonsentrasjonene av natrium viste 1,2 mg/L. I ferskvann som er saltfattige er det vanligvis større forekomster av natrium enn av magnesium. I forhold til undersøkelser på Østlandet fra 1990, har natriumsverdiene økt noe i 2008

Kalium, (K⁺).

Høye kaliumforekomster kan skyldes utslipp fra kloakk eller landbruk. Kalium finnes også i store mengder i jord og berggrunn. Kalium er ikke relatert til helsemessige problemer. Det er ikke fastlagt grenseverdier for kalium (fhi.no).

Kaliummengden i Norsjø varierte fra 0,19- 0,72 mg/L, begge konsentrasjonene var ved Ulefoss. Snittkonsentrasjonene på kalium viste 0,3 mg/L.

Jern og mangan, (Fe, Mn²⁺).

Jern og mangan, Fe og Mn, forekommer ofte samtidig i vannmassene. Begge stoffene finnes i jordskorpen, og tilføres vannmassene ved utlekking fra sedimentet. Begge stoffene blir adsorbent til kalkpartikler, som får vannet til å se klart ut på farge (Økland 1983). Jern har lav løselighet og kan være en begrensende faktor for mikroorganismer i ferskvannsystemer. Ved mye fritt tilgjengelig jern i vannet, vil jernet oksideres og farge vannet gulbrunt (Økland 1992). Høyt jerninnhold i vannet gjør vannet uklart, og kan gi uønsket lukt og smak (labnett.com). For cyanobakterier er tilgjengelig jern en nøkkelfunksjon for produksjon av geosmin og toksin (Willén et al. 1995).

Jerninnholdet i Norsjø varierer, jernkonsentrasjoner i 31 av totalt 36 prøver viste konsentrasjoner fra < 20 til 94 µg/L, og innenfor tilstandsklasse ”god”(50-100). Men det er noen unntak hvor det forekommer høyere jernkonsentrasjoner. Ved Torsnes 3.7 ble det målt 139 µg/L, og ved Ulefoss og Patmos 4.8, henholdsvis, 323 og 133 µg/L. Verdier mellom 100-300 µg/L indikerer ”mindre god” tilstand og en verdi på 323 µg/L, angir tilstandsklasse ”dårlig”(Andersen et al. 1997). Ved Årnes 4.8 er jernmengdene svært høye (3130 µg/L), det har mest sannsynlig kommet mineralpartikler i prøven.

Grenseverdien for jern i drikkevann er satt til 0,2 mg/L (200 µg/L) (fhi.no). Derfor er vannet ved Ulefoss og Patmos 4,8 ikke egnet til å drikke. Små mengder av jern er vanlig i næringsfattige og klare innsjøer (Økland 1998). Gjennomsnittsverdien for jern i Norsjø viste 60 µg/L, som angir tilstandsklasse II ”god”(50-100).

Mangan er et grunnstoff og sporstoff. Stoffet aktiverer enzymer og finnes i korn og grønnsaker. Mangankonsentrasjonene i Norsjø varierer fra <5 til 67 µg/L. Maksverdier for mangan viste 67 µg/L, som tilsier tilstandsklasse ”mindre god” (50-100).

Den 4.8 viste begge prøvene fra Torsnes og Romnes 67 µg/L, som er ”mindre god”(50-100), men ellers så var vannets innhold av jern og mangan innenfor ”meget god- god”, men med noen høyere enkeltkonsentrasjoner.

Sulfat, (SO₄²⁻).

Sulfatforbindelser kan komme fra berggrunn, eller via regn. Sulfat stammer i fra nedbryting av matavfall, eller kloakkvann Sulfat i form av sur nedbør reduserer biologisk mangfold, og utgjør en trussel for ulike arter av planter og fisk i vannet. Planter er avhengig av sulfat for å dekke behovet for svovel, i forhold til proteinproduksjonen. I 2006 foretok NIVA, en undersøkelse av langtransportert forurensing. Konklusjonen av undersøkelsen ble at sulfatkonsentrasjonene i Norske elver og innsjøer har holdt seg stabil siden 2001 (Niva 2006). Man antar at forsuring vil være et problem i mange år fremover (sft.no). Store sulfatforekomster gir dårlig smak på drikkevann. Økt sulfatmengde gir lavere pH- verdi (Økland og Økland 1998). Ved anaerobe forhold er det noen cyanobakterier som kan drive fotosyntese ved kjemosyntese. Disse kan nyttiggjøre seg av hydrogensulfid (uio.no). Sulfatforekomstene varierte fra 0,7- 3,2 mg/L. I Norsjø viste gjennomsnittet for sulfat 1,7 mg/L. En sulfatmengde på 1-10 mg/L, anses som vanlig i norske innsjøer (Økland og Økland 1998)

Klorid, (Cl⁻).

Klorid er et av de viktigste anionene i ferskvann. HCO₃⁻ forekommer i størst mengde, deretter SO₄⁻, Cl⁻ og NO₃⁻. I ferskvann som er mer saltrike, eller kystområder vil det være mer Na⁺ og Cl⁻ i vannet. Klorid kan bli skylt ut gjennom marine avsetninger, gjennom nedbør, særlig til vann som ligger kystnært (Økland 1996). Kloridanionene bidrar til å øke vannets elektriske ledningsevne. Klorid har stor betydning for vannets korrosjon, som vil gå hurtigere når ledningsevnen øker. Dersom det er lite natriumhydrogenkarbonat i vannet, (bikarbonat) vil vannet bli ennå mer korrosivt.

I gjennomsnitt viste kloridverdiene i Norsjø 0,7 mg/L. Ved Torsnes forekom det imidlertid kloridverdier over 2 mg/L, ved to anledninger. Høye kloridkonsentrasjoner kan skyldes forvittringsresistente bergarter og mindre løsmasse (Økland og Økland 1998).

5.3 Næringsstoffer.

5.3.1 Total fosfor.

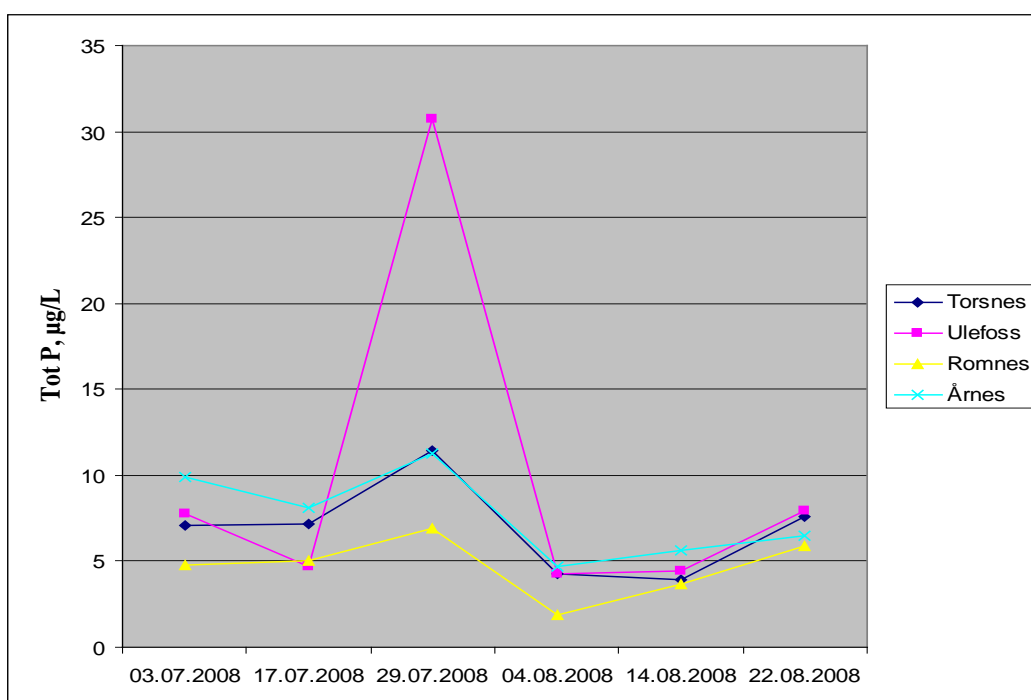
Fosfor kan tilføres via atmosfæren, ved støv, pollen, insekter og løse plantedeler. Men mesteparten av fosforforbindelsene tilføres via avrenning, som fra avrenning fra jordbruksområder og husdyrgjødsel. Husholdningskloakk utgjør også en fosforkilde, sammen med urensset avløpsvann. Totalfosfor omfatter både reaktivt og ikke reaktivt fosfor. Reaktivt fosfor har den kjemiske formelen PO_4^{3-} , ortofosfat, som er fritt tilgjengelig for organismene i vannet. Under normale omstendigheter vil det være rundt 5 % av totalfosfor som er å finne som ortofosfat i vann. Resterende fosformengder er ikke reaktive, de finnes i løste organiske forbindelser, eller som deler av organiske eller uorganiske partikler (Økland og Økland 1998). Man har funnet ut at det er en sammenheng mellom totalfosforkonsentrasjon og store mengder av cyanobakterier. Ved å bruke biomasse av oppblomstringer, og ved å se på kvantiteten av potensielle toksinproduserende arter kan man si noe om mengdeforholdene av næringsstoffer. Ved en biomasse på 5 mg /l, som ofte forekommer ved tot- P 40 – 50 $\mu\text{g}/\text{l}$ vil man merke cyanobakterier i vannet (Willen 2001).

Det ble det foretatt 2 parallellmålinger, siden totalfosforanalysen er følsom for forurensing. Verdiene ble lagt sammen og delt, for å få et jevnere resultat.

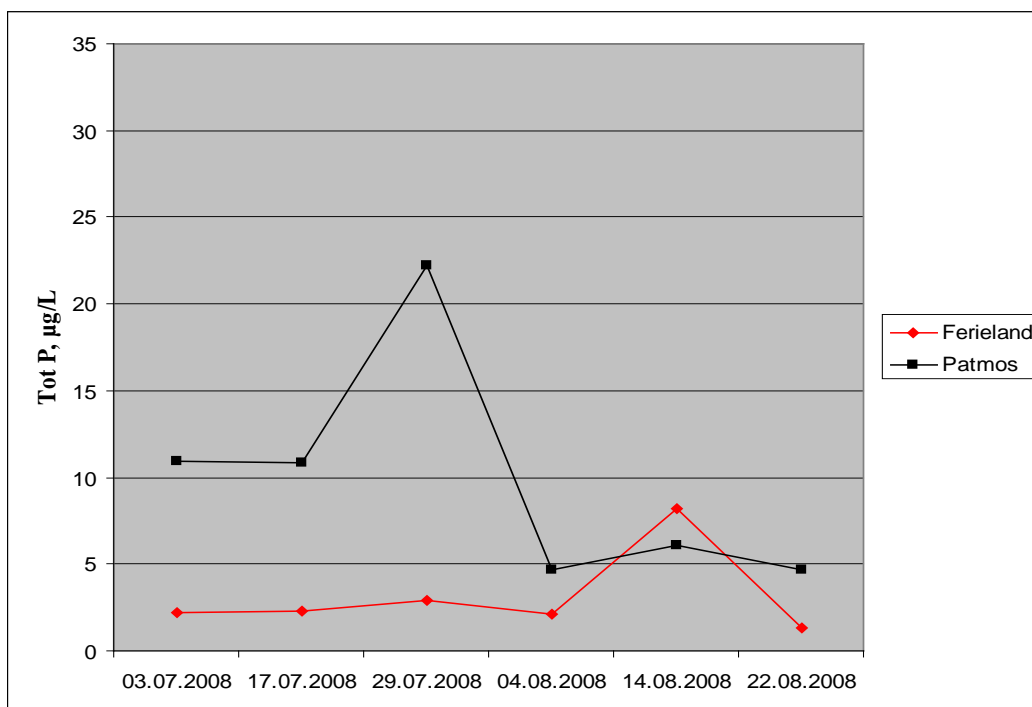
Sesongmiddelverdien for totalfosfor i Norsjø viste $7\mu\text{g}/\text{L}$, som plasserer Norsjø i tilstandsklasse II ”god”, (7-11), og som oligotrof ($<10\mu\text{g}/\text{L}$) i henhold til Andersen et al. (1997). I ferskvann som er næringsfattige, er totalfosformengde under $10\mu\text{g}/\text{L}$ (Økland og Økland 1998).

Sesongmiddelverdien ved Ulefoss viste $10\mu\text{g}/\text{L}$ (fig. 24). Sesongmiddelverdien ved Patmos er også høy $9,9\mu\text{g}/\text{L}$ (fig. 25). Ved Patmos er det 3 høye verdier som drar opp gjennomsnittet (fig 26), ved Patmos er det langgrunt, og mineralpartikler virvles lett opp. Det er sammenfallende høye konsentrasjoner av klorofyll i etterkant av de største totalfosforverdiene ved Patmos 3.7, 17.7 og 29.7.

Økte totalfosformengder medfører økt algemengde. I forhold til en undersøkelse 1995 i fra tusen norske innsjøer, viste det seg at halvparten eller mindre hadde totalfosfat mengder på $3\mu\text{g/L}$. I Sverige og Finland var imidlertid totalfosformengdene en del høyere, i Sverige var fosforkonsentrasjonen $9\mu\text{g/L}$, og i Finland var de $13\mu\text{g/L}$ (Økland og Økland 1998). Høye klorofyllkonsentrasjoner på prøveseriene 4.8, kan sammenlignes med totalfosformengdene i vannet. Samtlige prøvestasjoner viste høyest konsentrasjon av totalfosfor 29.7, bortsett fra Årnes som hadde størst konsentrasjon 14.8. Ut i fra disse observasjonene er det grunn til å anta at fosforet har blitt tatt opp av planteplanktonet, som har økt i biomasse.



Figur 24. Totalfosforkonsentrasjoner ved de vestlige prøvestasjonene i perioden 3.7-22.8.2008



Figur 25. Totalfosforkonsentrasjon ved de nordlige prøvestasjonene i perioden 3.7-22.8.2008

5.3.2 Fosfat.

Fosfat, PO_4^{3-} er et reaktivt ion. Fosfor finnes i mange mineraler, stoffet har lav løselighet. I tillegg til berggrunnen blir fosfor tilført via utslipp fra husholdning, industri, avrenning fra jordbruk og deponisjon fra atmosfæren. Fosfor er det næringsstoffet som oftest begrenser primærproduksjonen i næringsfattige vann. Fosfat er av stor betydning, siden alt liv er avhengig av fosfat i utbredelse og produksjon (Pleym et al. 1992). Cyanobakteriene har evnen til ”luksusopptak” av fosfor, som kan være opptil 10 ganger av det de behøver umiddelbart (Økland 1975). Ved studier av sammenhengen mellom fosforkonsentrasjon og algemengde, har man påvist økende vekst av alger ved økt tilførsel av fosfor. Løst reaktivt fosfor viser som regel lave konsentrasjoner om sommerne, på grunn av økt alge og bakterievekst. (Økland og Økland 1998). Planter og bakterier klarer å ta opp fosfor i form av ortofosfat. Av totalfosfor er det ca 5 % som forekommer som reaktivt fosfat, det er den formen cyanobakteriene kan ta opp via ”luksusopptak” (Økland 1996, Økland og Økland 1998).

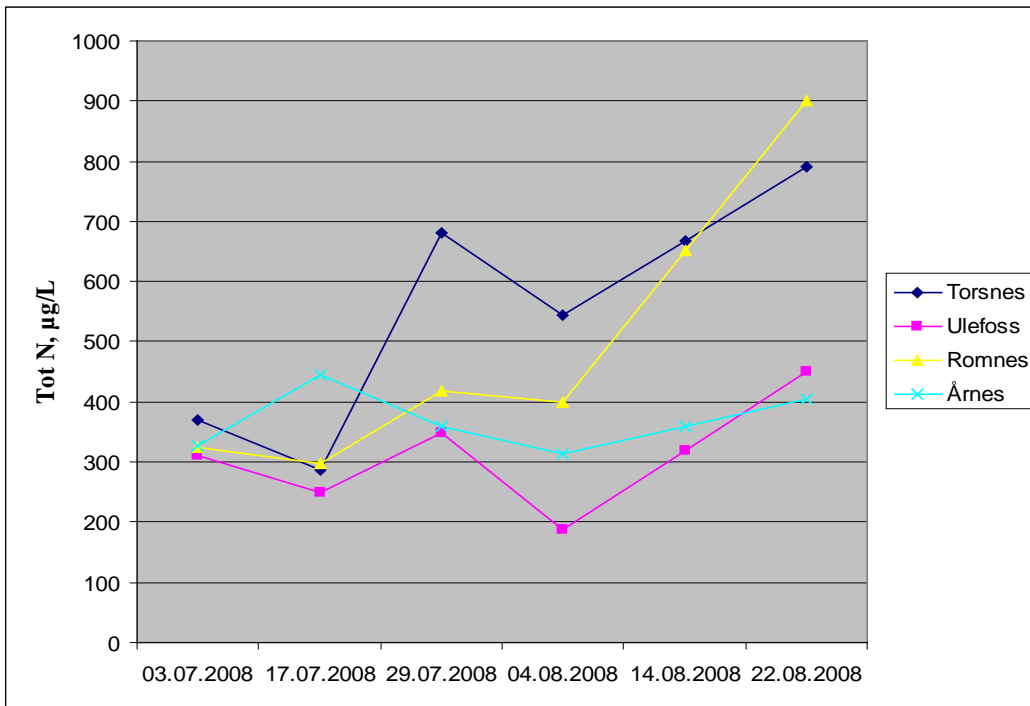
Verdiene på fosfat er svært lave og vanskelige og måle korrekt, derfor ble det tatt parallelle prøver. Sesonggjennomsnitt av fosfat i Norsjø ble beregnet til 1,7 µg/L.

Flaskene som var merket 4.8 ble borte på kjøla, gjennomsnitt av nærmeste verdier ble brukt.

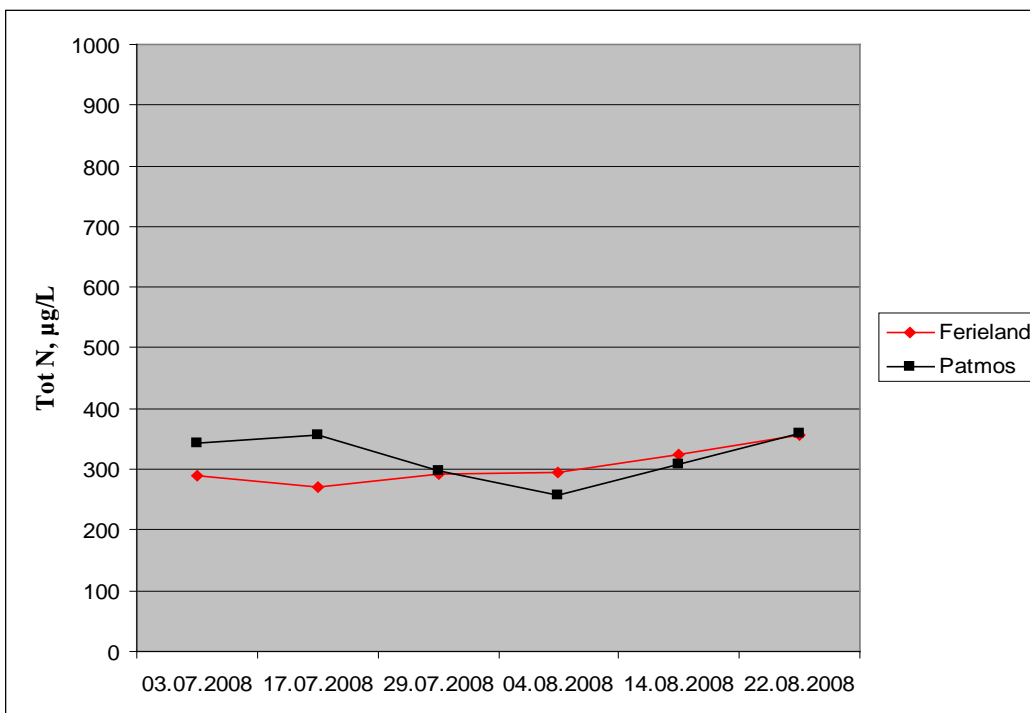
5.3.3 Total nitrogen.

Planter og dyr behøver nitrogen for å bygge proteiner. Av gassene i atmosfæren består 80 % av nitrogen. Bakteriene kan binde nitrogen fra lufta, og omgjøre til ammonium, som plantene tar opp. Dyr får i seg nitrogen fra plantene. Uten bakteriene som bindeledd i nitrogenkretsløpet kunne ingen ting ha levd, siden alt liv må ha nitrogen (Bjerketvedt og Pedersen 1996). Nitrogen tilføres vassdraget via avrenning fra landbruket, industri og kloakk, i tillegg til nitrogenfiksering fra atmosfæren. I eutrofe vann kan det oppstå anaerobe forhold i bunnvannet, nitrattet vil forbrukes, ammonium vil akkumulere. Totalnitrogen består av ammonium, nitritt, nitrat og løste og bundne organiske nitrogenforbindelser. Der hvor det er underskudd av løst uorganisk nitrogen kan noen cyanobakterier fikse nitrogen ved behov. Sesongmiddelverdi for total nitrogen i Norsjø var 386 µg/L og tilsvarer tilstandsklasse i II "god" (300-400 µg/L). Selv om det forekom flere tilfeller hvor vannkvaliteten var "mindre god" (400-600 µg/L) (fig. 26 og 27), med hensyn på nitrogen. Det forekom også tilfeller hvor vannet var i tilstandsklasse IV "dårlig" (600-1200 µg/L). Sesongmiddelverdien med tanke på totalnitrogen (386 µg/L) 2008, er noe høyere enn gjennomsnittet sommeren 2003, hvor middelverdien var 333 µg/L (Breirem 2005). Sesongmiddelverdien samsvarte mer med verdiene fra den landsomfattende trofiundersøkelsen fra 1990, hvor verdien for Norsjø viste 381 µg/L (Faafeng et al. 1990).

Det forekom noen tilfeller av samvariasjoner mellom høy totalfosfor og høye konsentrasjoner av totalnitrogen. Torsnes viste høy totalfosfor mengde 29.7 på 11,4 µg/L, som var langt over snittverdien på 7µg/L. Den samme datoen ble det registrert totalnitrogen på 682 µg/L, som også er langt over snittverdien på 386 µg/L.



Figur 26. Totalnitrogen ved de vestlige stasjonene i perioden 3.7- 22-8-2208



Figur 27. Totalnitrogen ved de nordlige stasjonene i perioden 3.7- 22-8-2208.

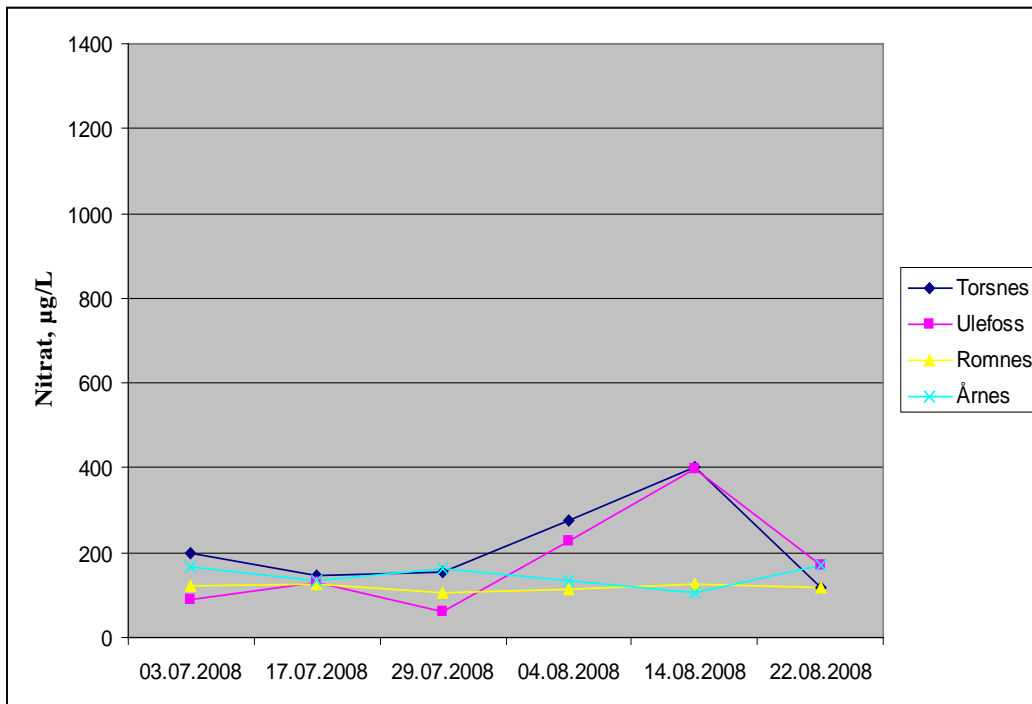
5.3.4 Nitrat.

Sur nedbør inneholder ofte høye nitratkonsentrasjoner. Nitrat kan bli tilført vassdrag fra atmosfæren, i form av nedbør, tørt nedfall, avrenning fra jordbruk, skog, heiområder, utslipp fra bebyggelse og industri (Økland 1983). I eutrofe vann kan det oppstå anaerobe forhold i bunnvannet, under slike forhold vil nitrat brukes opp og ammonium tas opp av planter og bakterier. Nitrogenfiksering hos cyanobakteriene, skjer i heterocystene, ved at molekylært nitrogen, N_2 tas opp, i tillegg til at de assimilerer ammonium og nitrat. Det gir cyanobakteriene og visse andre bakterier et fortrinn ovenfor andre som ikke har muligheten, til å redusere nitrogen til ammonium. I næringsrike vann kan dette utgjøre halvparten av vannets totale nitrogen tilførsel. I vann som er mindre næringsrike betyr cyanobakteriene lite for nitrogen tilførselen. Nitrogen tilførsler kan medføre økt forurensning, og nitrogen i grunnvann er uheldig i forhold til drikkevann (Økland og Økland 1998, biomedcamp.no).

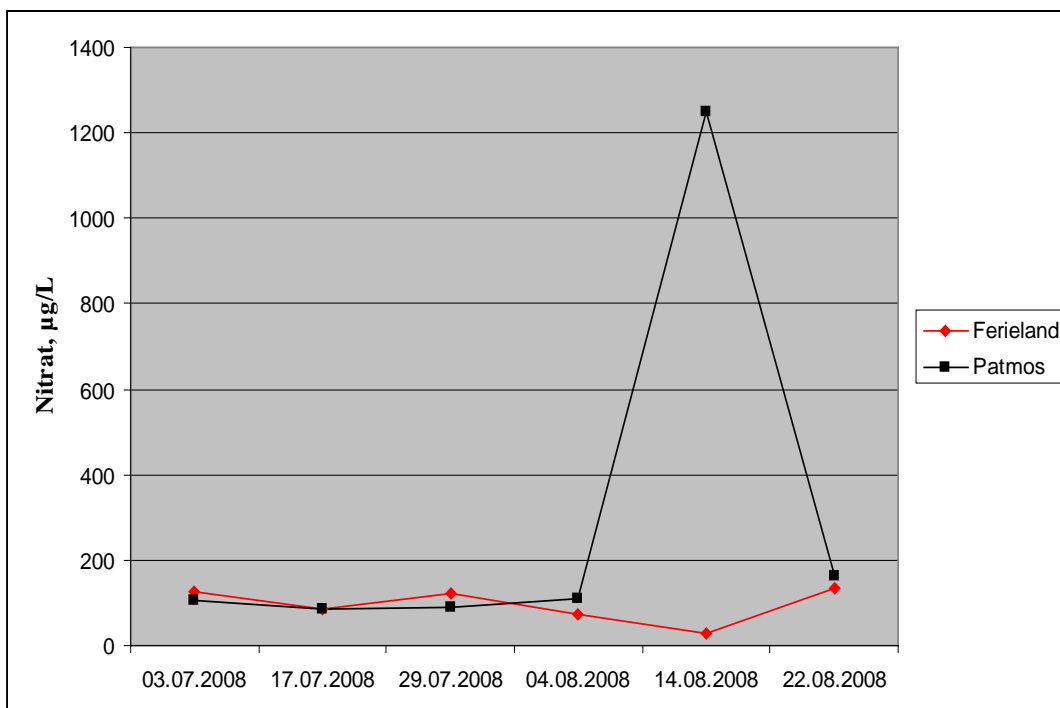
Sesongmiddelverdien for nitrat i Norsjø viste $142 \mu\text{g/L}$, sesongmiddelverdien er en del lavere enn verdiene fra vurderingen av vannkvalitetstilstand fra 1990, hvor snittverdi for nitrat i nordlige deler av Norsjø viste $221,5 \mu\text{g/L}$.

Nitrat forekomstene i Norsjø viser forholdsvis jevne konsentrasjoner (fig. 28 og 29), bortsett fra en verdi på $1250 \mu\text{g/L}$, ved Patmos 14.8 (fig. 30). Dette kan være en tilfeldig lokal forurensning, det er som kjent en badestrand, med høy menneskelig aktivitet.

Prøvene fra 4.8.08 var borte fra kjøla, verdi ble beregnet ved gjennomsnitt fra de to nærliggende verdiene. I tillegg manglet verdien på Romnes den 22.08.08, her ble det beregnet verdi ut i fra de to foregående verdiene.



Figur 28. Sesongmiddelverdier for nitrat ($\mu\text{g/L}$), ved de vestlige prøvestasjonene ved Norsjø sommeren 2008.



Figur 29. Sesongmiddelverdier for nitrat ($\mu\text{g/L}$), ved de nordlige prøvestasjonene ved Norsjø sommeren 2008.

5.3.5 Ammonium.

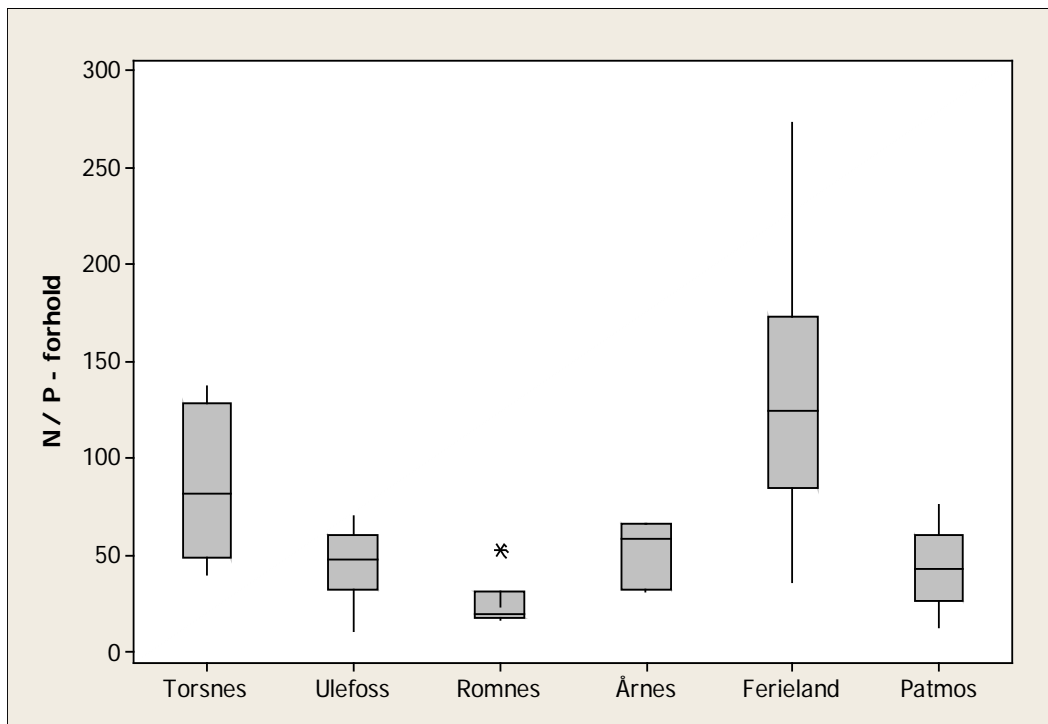
Ammonium kommer fra forråtnelse av døde dyr og planter, et restprodukt fra nedbryting av nitrogenholdig organisk stoff. Ammonium finnes også i gjødsel og kloakk, høye forekomster kan indikere fersk kloakkforurensing. Ammonium er den enkleste tilgjengelige formen av nitrogen for planter, og krever minst energi for assimilasjon, derfor blir nitrogenet hurtig tatt opp i plantematerialet (Økland og Økland 1998). Ofte er ammoniummengdene i vannmassene lave, men kan forekomme i større mengder ved anaerobe forhold. Ammonium er giftig.

Sesongmiddelverdien for ammonium var $58 \mu\text{g/L}$. Ved Patmos var imidlertid sesongmiddelverdien noe høyere. Årsaken er en ammoniumkonsentrasjon fra 17.7 på 237 $\mu\text{g/L}$, som drar opp snittet for stasjonen. Prøvene fra 4.8 mangler. Dette er tatt hensyn til ved utregningene.

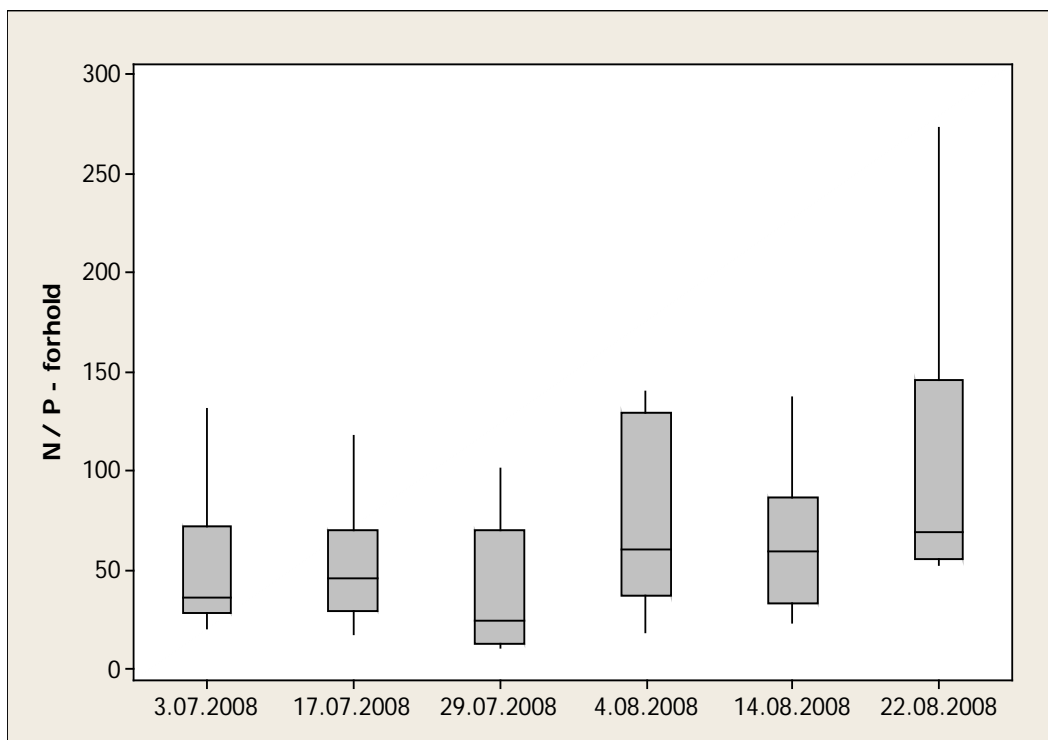
5.3.6 N/P forholdet.

For forholdet mellom nitrogen og fosfor, brukes benevnelsen N/P. I den trofogene sonen har N/P forholdet størst betydning for produksjonsforholdene. Ved forsuring av vannmassene kan økt nitrogentilførsel gi høyere N/P forhold. Det vil være naturlig med en samvariasjon mellom fosfor og nitrogen. Størrelsesforholdet dem i mellom er imidlertid av stor betydning for planteplankton. Det oppgis ulike verdier for hvor lavt N/P forholdet må være for at nitrogen skal bli den begrensede faktor. Den optimale verdien for planteplankton vil være artsavhengig. Siden ulike alger og bakterier, har ulike krav til N/P, kan dominerende art grovt sett være en indikator på om det er fosfor eller nitrogen som begrenser vekst (Faafeng et al. 1990).

I tilfeller hvor nitrogen er vekstbegrensende, vil cyanobakterier utkonkurrere arter uten evne til å lagre eller fikse nitrogen. For planteplankton som vokser uten begrensning i forhold til næringsstoffer, vil et forhold mellom nitrogen og fosfor på 16/1 være ideelt (Økland og Økland 1998). Faafeng et al. (1990) mener et vektforhold på 7/1 er ideelt. Ved lavere forhold mener de at nitrogen blir den begrensede faktor, og motsatt ved høyere forhold, da vil fosfor begrense ytterligere vekst. Forholdet mellom uorganisk N og uorganisk P gir det mest realistiske bilde av N/P forholdet, ved å angi hvor stor del av det totale innholdet av nitrogen og fosfor som er biotilgjengelig (fig. 30 og 31). Prøveserien fra 14.08 på tot N manglet på samtlige stasjoner, det ble derfor regnet ut gjennomsnittet for tot N fra alle de nærliggende verdiene, for å beregne forholdet. Forholdet tot-N ($386 \mu\text{g/L}$) og tot- P ($7 \mu\text{g/L}$) indikerer størrelsesforhold på 55 N/P. Ut i fra Faafeng m fl (1990), vil det være fosfor som begrenser biomassen på planteplankton i Norsjø.



Figur 30. Gjennomsnittlig N / P – forhold med variasjonsbredder på de enkelte prøvestasjonene, i Norsjø 2008.



Figur 31. Gjennomsnittlig N / P – forhold med variasjonsbredde på prøvetakingsdagene i Norsjø 2008.

5.3.7 Totalorganisk karbon.

TOC, angir mengde av organisk stoff i vannet, som kan omfatte partikler fra jordbruk, industri og humusstoffer. Enkelte lokaliteter kan ha høyere verdier enn andre, som kan skyldes lokale utslipp, av for eksempel kloakk. Høyt humusinnhold kan missfarge vannet (fhi.no).

Middelverdier for TOC i Norsjø var 3,1 mg/L. TOC- mengdene i Norsjø indikerer tilstandsklasse II "god"(2,5-3,5), i forhold til tilstandsklassifiseringen av innsjøer (Andersen et al. 1997). Ved Romnes 14.8 forekom det imidlertid en måling som viste 5,2 mgTOC/L.

5.3.8 Klorofyll a.

Klorofyll a er planteplanktons hovedpigment i fotosyntesen. De andre pigmentene absorberer lysenergi, som de overfører til klorofyll. Planteplanktonets vekstforhold blir påvirket av forhold som lys, temperatur, næring og pH. Klorofyllmengdene påvirkes av produksjonsforholda, tilgjengelige næringsalter som karbon, nitrogen og fosfor, som planteplankton bruker til vekst. Oksygenforhold og pH endres etter døgnrytme og fotosyntese (Økland 1992, Bjerketvedt og Pedersen 1996, Økland og Økland 1998). Klorofyll a mengden angir et grovt mål på vannets algeinnhold, massen av planteplankton i vannet, se vedlegg 1 (NS 4766 1983, fhi.no). Konsentrasjonen av klorofyll a i Norsjø 2008 varierte fra 0,8 – 18,5 µg/L, se tabell 8.

Tabell 8. Tidsveide sesongmiddelverdier for klorofyll a (µg/L) i Norsjø 2008.

Prøvestasjoner	Klorofyll a, µg/L
Torsnes	5,6
Ulefoss	6,6
Romnes	5,2
Årnes	4,7
Patmos	3,2
Norsjø Ferieland	3,4

De høyeste gjennomsnittskonsentrasjonene av klorofyll a ble beregnet på Ulefoss (6,6 µg kl a /L), hvor også den høyeste enkeltmålingen ble påvist ved Ulefoss 4.8. (18,5 µg kl a /L). Ut I fra tabellen kan man se at de høyeste klorofyll a konsentrasjonene, er fra vestsiden av Norsjø. Store nedbørmengder i forkant, samt rolige vindforhold og høy overflatetemperatur har antagelig bidratt til oppkonsentrering avplanteplankton.

Gjennomsnittsverdiene for klorofyll a i Norsjø sommeren 2008 viste 4,8 µg/L. Klorofyll a klassifiserer Norsjø som ”mindre god”. Breirem (2005) viste sesongmiddelverdi av klorofyll a på 2,9 µg/L sommeren 2003. Ved den landsomfattende undersøkelsen i 1990 var gjennomsnittet for klorofyll 1,3 µg/L. Det vil si at planteplanktonvolumet har økt betraktelig siden 1990.

I forhold til klassifisering av tilstand, er verdier på 4-8 µg/L, indikasjon på ”mindre god”. Disse verdiene viser også at vannkvaliteten er ”mindre egnet” for bading og rekreasjon (Andersen et al.1997). Klorofyllkonsentrasjon som er i området 2-4 µg/L, indikerer tilstand ”god”, eller ”meget god”. Dette forekommer i 19 av 36 prøver fra Norsjø. På grunn av særdeles høye klorofyllmengder 4.8, ved Ulefoss, Romnes og Årnes, på henholdsvis 19, 12 og 15 µg/L trekkes snittet kraftig opp. De høye konsentrasjonene av klorofyll a, 4.8 sammenfaller med store mengder planteplankton påvist i mikroskop. Man kan gå ut i fra at alger/bakterier har en klorofyllprosent på 0,5-2 %, av biomassens våtvekt (Faafeng et al.1990).

Konsentrasjonen av klorofyll a, sammenfaller med biomassen av planteplankton som øker utover sesongen, og når maksimum 4.8 (tabell 9 og vedlegg 1), for så å avta igjen. Unntak er Torsnes og Patmos, som har maksverdier 14.8.

5.4 Klassifisering av vannkvalitet.

Det finnes mange ulike systemer for å klassifisere innsjøer etter trofegrad. I denne oppgaven klassifiseres Norsjø på bakgrunn av fysiske og kjemiske analyser. Det ene systemet som er lagt til grunn, beror på graden av eutrofiering. Grenseverdiene er hentet fra Faafeng et al. (1990). Det andre systemet plasserer vannkvaliteten i ulike tilstandsklasser avhengig av parameterens verdi (Andersen et al. 1997). Sesongmiddelverdien for klorofyll a viste 4,8 µg/L. Det klassifiserer Norsjø som mesotrof (4-8), og i tilstandsklasse II, ”mindre god” (4-8 µg/L).

Sesongmiddelverdien for totalfosfor er 7 µg/L, som klassifiserer Norsjø som oligotrof (<10 µgP/L), og i tilstandsklasse II ”god”(7-11 µgP/L). Sesongmiddelverdiene for total nitrogen er 386 µg/L, som klassifiserer innsjøen som mesotrof (375-625 µgN/L), og i tilstandsklasse II ”god” (300-400 µg/L). Når det gjelder siktedyp, ble det bare målt ved 2 stasjoner, siden samtlige prøver ble tatt fra vannkanten og det ikke var dypt nok. Men samtlige steder var siktedypet bedre enn >3,5, som kan indikere en oligotrof innsjø.

Cyanobakterier brukes også som indikator, fordi det ved forurensninger ofte fører til oppblomstringer, som tilfellet ved Torsnes figur 32. Siden de ulike algene har ulike krav med hensyn til miljø, vil en oppblomstring avspeile tilstanden (Lindholm 1998). Derfor kan man grovt sett si noe om vannkvaliteten ettersom hvilke cyanobakteriearter som forekommer i miljøet. For eksempel har *Microcystis aeruginosa* flere ganger blitt observert ved oppblomstringer, og er ofte å finne i eutrofe vann (Skulberg et al. 1992). Oligotrofe vann har gode siktførhold og lite humus, i eutrofe miljø er forholdene omvendt.



Foto: Ingunn Berge

Figur 32. I felt ble det observert oppblomstring ved Kjosvik 9.8 og Torsnes 14.8. Ved Torsnes kunne oppblomstringen ses som et grønnfarget speil. Det ble ikke observert lukt.

5.5 Biologiske analyser.

Ved biologiske analyser kan man bruke indikatorarter, cyanobakterier egner seg godt til dette formålet (Skulberg et al. 1992). Siden de foretrekker eutrofe vannkilder, kan forekomsten av bakterien indikere overgjødning eller forurensning.

5.5.1 Halvkvantitativ planteplanktonanalyse.

Ved mikroskopering kunne *Anabaena lemmermannii* sees som et perlekjede, formet som et nøste. *Anabaena lemmermannii*, opptrer i kolonier, og kan ha 3 typer celler (akineter, heterocyster og vegetative celler). De vanlige cellene er mørke og kornete i mikroskopet, fordi cellene inneholder små grupper av gassfylte blærer. Ved flere anledninger lå imidlertid nøstene lagvis, som kunne gi feilaktig mengde bedømmelse. Analyseresultatene viser en økning av mengdeforholdet av *Anabaena lemmermannii*, fra midten av juli til midten av august, se tabell 9.

Tabell 9. *Anabaena lemmermannii* i Norsjø 2008.

Mengdeforholdet er rangert etter: -- = ingen, X = lite, XX = middels og XXX = mye.

Dato	3.7	17.7	29.7	4.8	14.8	22.8
Torsnes	--	XX	XXX	--	--	--
Ulefoss	X	X	XXX	XXX	X	--
Romnes	X	X	XXX	XXX	--	--
Årnes	--	X	X	XXX	X	--
Patmos	--	--	X	X	XXX	--
Ferieland	X	--	X	XX	--	XX

Når våroppblomstringen har avtatt er der vanlig at mengden av cyanobakterier tar seg opp. Økte nitrogentilførsler via nedbør i forkant av de største forekomstene og avrenning fra jordbruk kan ha stimulert til vekst av *Anabaena lemmermannii*. Oppblomstringer er temperaturbettinget i tillegg ligger området på vestsiden beskyttet i forhold til vind. Cyanobakterier er en indikator på næringsrike forhold (Økland og Økland 1998). I forhold til nitrogen og fosfor som virker begrenset for vekst, disse parametrene er høyere ved store mengder av *Anabaena lemmermannii*. I forhold til tot- P verdiene som virker som den begrensede vekstfaktor, var disse verdien høye 29.7 ved Tosnes og Romnes, 11,4 og 30,7 µg/L. Tabell 10 viser resultater fra analyser.

Tabell 10. Resultater fra ekstraksjon og analyser av cyanobakterier og microcystin.
X= påvisning

1. Microcystin påvisning ved ELISA 2. Filterlapper for DNA ekstraksjon. 3. Påvisning vha. primere for *Anabaena* (mcy-E).

Sted/Dato	Microcystin/ELISA	DNA eks. 16SRNA	Microcystingen. mcy-E
Torsnes			
04.08.2008	0,18 µg/l	X	
14.08.2008	0,21 µg/l		
Ulefoss			
04.08.2008	0,25 µg/l	X	X
Romnes			
04.08.2008	0,22 µg/l		
Årnes			
04.08.2008	0,24 µg/l		
Ferieland			
04.08.2008	<0,16 µg/l		
Patmos			
04.08.2008	<0,16 µg/l	X	
14.08.2008	<0,16 µg/l	X	X
Kjosvik			
09.08.08	< 0,16 µg/l		

Påvisning ble gjort ved hjelp av primere spesifikke for *Anabaena* (mcy-E).

5.6 Toksinanalyser ved ELISA.

5.6.1 Microsystin.

Det ble påvist microcystin i 5 av prøvene, ved hjelp av ELISA- teknikk (tabell 11).

Metoden ble gjennomført i henhold til ENVIROLOGIX inc EP 022. Spektrofotometeret som ble brukt var Microwell System Reader 510. Metoden måler micocystinkonsentrasjoner fra 0,16 til 2,5 ppb, (vedlegg nr 6.).

Tabell 11. Microcystinkonsentrasjon ($\mu\text{g/L}$), i utvalgte prøver fra Norsjø 2008.

Dato	4.8	9.8	14.8
Torsnes	0,18		0,21
Ulefoss	0,25		
Romnes	0,22		
Årnes	0,24		
Patmos	<0,16		<0,16
Ferieland	<0,16		
Kjosvik		<0,16	

5.7 Genetiske metoder.

5.7.1 PCR.

DNA Ekstraksjon fra filter (tabell 12).

Registrering av oppblomstring i løpet av prøveperioden, samt prøvematerialets utseende, var med på å avgjøre utvalget av prøver. Vi hadde liten mengde av DNA. (Se vedlagte foto av filter, under vedlegg nr 3). 5 stasjoner ble valgt ut. I tillegg ble Kjosvik (9.8 nord for Valebø) tatt med.

Tabell 12. Filterprøver. Resultat etter filtrering.

Sted/dato	Beskrivelse av filtrene
Patmos 29.7	Brunprikkete filter.
Patmos 29.7	Brunprikkete filter.
Patmos 14.8	Litt mindre partikler
Patmos 4.8	Små brunprikkete
Romnes 4.	Brunfarget
Årnes 4.8	Svakt brunfarget m små prikker
Ulefoss 4.8	Mørkbrunt
Torsnes 4.8	Brunfarget filter m små prikker
Ferieland 4.8	Lysbrunt filter m litt små prikker
Kjosvik 9.8	Grønnfarget, fra nedspunnet vannprøve i 10 mL. Rør.

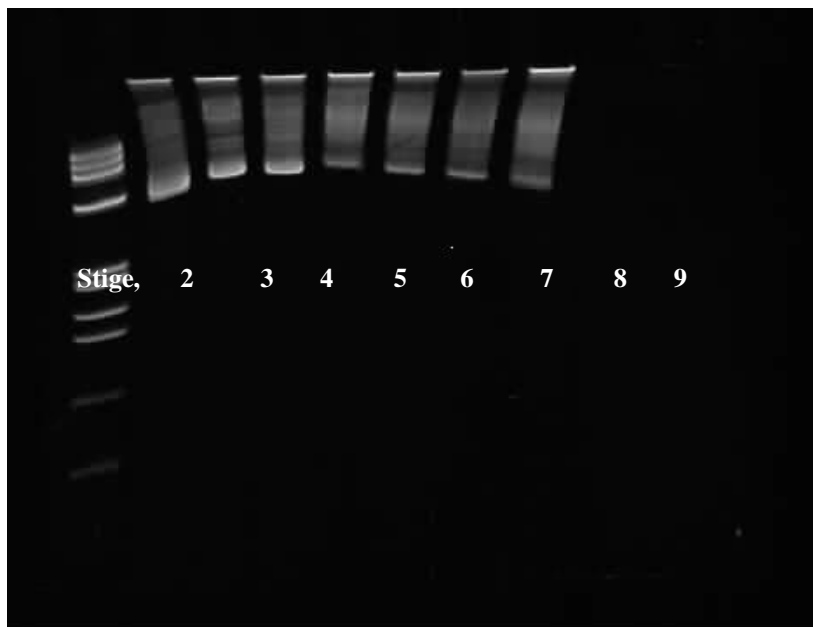
Følgende stasjoner ble valgt ut til forsøket med DNA ekstraksjon:

Patmos 29.7, Patmos 4.8, Patmos 14.8 Romnes 4.8, Ulefoss 4.8, Torsnes 4.8, Ferieland 4.8 og Kjosvik 9.8

5.7.2 Genetiske undersøkelser.

Av de prøvene det ble ekstrahert DNA fra ble det påvist cyanobakterier ved bruk av primere spesifikke for 16S rRNA. Det ble kjørt PCR på prøvene fra Patmos 4.8 og 14.8, i tillegg til Torsnes og Ulefoss 4.8. Det var ikke mulig å få ekstrahert DNA fra de andre prøvene. Dette skyldes muligens forringelse av prøvematerialet. Påvisning av mikrocytingenet ble gjort ved hjelp av primere spesifikke for *Anabaena* (mcy-E). Det ble brukt en positiv kontroll (NIVA stamme 83/1) i alle kjøringene. I prøven fra Patmos 14.8 og Ulefoss 4.8 ble gen for microcystin påvist. Det kom opp et bånd for prøven tatt ved Patmos 4.8 men det båndet ser ut til å være for langt til at det kan være det korrekte. Basert på genetiske undersøkelser ble det vist at det var cyanobakterier med mikrocytingenet i to av prøvene (fig. 33).

På de andre forsøkene ble det ikke påvist gener for toksinproduserende cyanobakterier. Dette kan skyldes at stammene ikke var toksinproduserende, eller at DNA et var forringet, slik at det ikke lot seg påvise.



Figur 33. Påvisning av gen for microcystinproduksjon. Brønn 1 er stige, brønn 2-4 er positiv kontroll, 5 er Patmos 4.8 og 6 er Patmos 14.8, 7 er Ulefoss 4.8, 8 er Torsnes 4.8 og 9 er negativ kontroll.

6. Konklusjon.

Mengdene av næringssalter, organiske og forsurede stoffer er vurdert ut i fra SFTs inndeling av tilstandsklasser. Etter vurdering basert på nøkkelparametere for næringsstoffer og organisk materiale plasseres Norsjø i tilstandsklasse ”god”. Når det gjelder tilstand med hensyn på forsurening ut i fra Andersen et al. (1997) beregningsgrunnlag, settes tilstanden på forsurening i Norsjø til ”mindre god”.

Næringsfattige innsjøer har totalfosforkonsentrasjon mindre enn $10 \mu\text{gP/L}$, Norsjø viste snitt på $7 \mu\text{gP/L}$. Ut i fra parametere som ledningsevne, pH, kalsium, stort siktedyp og forholdsvis lave konsentrasjoner av tot – P, bekrefter tidligere klassifisering av Norsjø som oligotrofinnsjø. Men når det gjelder klorofyll a, ($4,8 \mu\text{g/L}$) og tot – N ($386 \mu\text{g/L}$), viser sesongverdiene mesotrofe nivå ($4\text{-}12 \mu\text{g/L}$ og $375\text{-}625$) i henhold til Faafeng et al. (1990). Verdiene indikerer at Norsjø er mellom oligotrof til mesotrofinnsjøtype.

14.8 ble det observert vannblomst ved Torsnes. Genetiske metoder påviste cyanobakterier til stede ved Torsnes, Ulefoss og Patmos denne datoen. Klorofyllanalysene 4.8 fra Torsnes, Romnes og Årnes og 14.8 fra Torsnes, viste verdier som indikerte tilstandsklasse ”dårlig” ($8,6\text{-}18,5 \mu\text{g/L}$). De høyeste microcystinkonsentrasjonene ble påvist ved Ulefoss ($0,25 \mu\text{g/L}$), Romnes ($0,22 \mu\text{g/L}$) og Årnes ($0,24 \mu\text{g/L}$) 4.8. Ved disse tilfellene hadde totalfosformengden gått noe ned. Ulefoss utmerket seg, ved å bli klassifisert som ”dårlig” med hensyn på næringsstoffer.

I forkant av toksinpåvisningene hadde vannprøvene høyere konsentrasjoner av totalfosfor.

Prøvestasjonene Torsnes, Ulefoss, Romnes og Årnes, ligger lunt og vestlig, hvor det er rolige vindforhold. Området domineres av vind fra sørvest, og dalføret skjermer mot vind fra vest. I forkant av oppblomstringen, kom det store nedbørmengder. Siden terrenget heller mot Norsjø, vil sigevann fra landbruksarealer oppkonsentreres i innsjøen. Nedbøren kan ha dratt med seg næringsrikt tilsig, humus, og gitt cyanobakterier dårligere lysforhold, og dermed behov for oppdrift. I forkant av toksinpåvisningene, ble det målt høy temperatur i overflatevannet. I tillegg ligger det noen hus og hytter som ikke har tilknytting til kommunalt renseanlegg i nærheten av vannet. Campingplasser, kommunale og private gjestebrygger, kan bidra til fekal forurensing.

Norsjø Golfpark krever gjødsling og vedlikehold av grøntarealer, de fleste kunsgjødsler inneholder fosfor og nitrogen. Det ble påvist store mengder av totalnitrogen ved Torsnes og Romnes, som svarte til tilstandsklasse ”mindre god”. Både Torsnes, Ulefoss og Romnes hadde ammoniumkonsentrasjoner over drikkevannsforskriftens krav. Grenseverdi for ammonium i drikkevann er 0,5 mg/L / (fhi.no). Ammonium stammer trolig fra nærliggende landbruksutslipp og kloakk. De største toksinmengdene ble målt ved Ulefoss. Vannet ved Ulefoss hadde såpass store jernmengder (<20 til 323 µg/L) at det ikke var egnet som råvann til drikkevann. Dette jernet kan ha bidratt til toksinproduksjon. Jern bidrar til at cyanobakterier effektivt nitrogenopptak i oligotrofe vann (forskning.no).

Patmos ligger nord, og er utsatt for pålandsvind fra sør. I tillegg er det en langgrunn strand, der cyanobakterier lett kan oppkonsentreres. Det er en hyppig brukt strand med mye mennesker, som kan forurense, og hvor mineralpartikler lett blir virvlet opp. 500 meter nordøst for stranda ligger Sunde grustak, med avfallsdeponi, som kan gi tilsig. Patmos hadde også en gjennomsnittskonsentrasjon av ammonium (1,6 mg/L), som overgår drikkevannsforskriften. Gjennomsnittsverdiene for totalnitrogen var imidlertid ”god” (323 µg/L), ved Patmos viste tilstandsklassen det samme for totalfosfor (10 µg/L).

Gjennom prøveperioden viste sesongmiddelverdi for totalfosfor 7 µg/L. Det er sammenfallende høye mengder av klorofyll a i etterkant av de høyeste totalfosfor mengdene.

Ved påvisning av microcystin 4.8, ble det registrert jernmengder som var over gjennomsnitt (60,6 µg/L) ved samtlige prøvestasjoner hvor det ble påvist microcystin. Rikelig tilgang på jern kan som kjent være gunstig for cyanobakterier og toksin produksjon. Norsjø viser noe høyere fosformengder i 2008, enn i 1990 hvor NIVA foretok en landsomfattende tilstandsundersøkelse (Faafeng et al. 1990). For totalnitrogen har situasjonen bedret seg noe. Men klorofyllkonsentrasjonene er mer enn doblet siden 1990. Breirem klassifiserte klorofyll a mengdene i Norsjø 2003 som ”gode” (2,3 µg/L) (Breirem 2005). Dessverre kan man ikke si det samme om klorofyllmengdene fra 2008, som indikerer tilstand ”mindre god”. Men dette kan være tilfeldig, eller en sammenheng mellom faktorer som temperatur, gunstig pH og vind slik at planteplankton ansamlingene driver mot land.

7. Litteraturliste.

Andersen, R. A. Skulberg, O. M. Underdal, B. og Utkilen, H. 1992. Blågrønnalger med toksinproduksjon. Statens næringsmiddeltilsyn, *NÆRkontakt* 2/92.

Andersen, J. R. Bratli, J. L. Fjeld, E. Faafeng, B. Grande, M. Hem, L. Holtan, H. Krogh, T. Lund, V. Rosland, D. Rosseland, B. O. og Aanes, K. J. 1997. *Klassifisering av miljøkvalitet i ferskvann*. Veiledning nr. 4. SFT.

Annadotter, H. 1993. *Algetoxiner i dricksvatten- en undersøkning vid två svenska vattensverk samt en littraturstudie*. Svenska vatten och avloppsverkföreningen, VAV. Rapport.

Berglund, L. Skulberg, O. og Underdal, B. 1986. *Giftproduserende blågrønnalger i Vestfold*. Resultater av undersøkelser i 1985.0-84135 NIVA - rapport.

Bjerketvedt, D. og Pedersen, A. 1996. *Grunnleggende biologi og miljølære*. Landbruksforlaget, 4 utgave. 428 s.

Blomquist, P. og Olsen, P. 1981. *Vækstplanktonkompendium*. Limnologiska institusjonen. Uppsala Universitet. 186s.

Breirem, T. 2005. *Vannkvalitet, forekomst og toksitet av cyanobakterier i Norsjø sommeren 2003*. Hovedfagsoppgave ved Høgskolen i Telemark.

Canter-Lund, H. og Lund, J. W. G. 1995. *Freshwater Algae. Their microscopic world explored*. Biopress Ltd, Bristol, 360 s.

Charpy, I. og Larkum, A. W. D. 1999. *Marine Cyanobacteria*. Monaco Musee`Ocenographique. 626 s.

Codd, G. A. Jefferies, T. M. Keevil, C. W. og Potter, E. 1994. *Detection methods for cyanobacterial toxins*. The Royal society of chemistry. 191 s.

Dai, L. 2002. *Microcystin-produksjon hos Anabaena lemmermannii*. Hovedfagsoppgave ved Høgskolen i Telemark, Bø.

Dawkins, R. 2002. *Det egoistiske genet*. Humanist forlag. 396 s.

Envirologix Inc. Catalog No. EP 022. Microcystin Plate kit.

Faafeng, B. Brettum, P. og Hessen, D. 1990. *Landsomfattende undersøkelse av trofittilstanden i 355 innsjøer i Norge*. Overvåkingsrapport nr. 389/90, NIVA.

Fylkesmannen i Telemark, 1995. *Vannkatalogen-Telemark, Opplysninger om vannkvalitet*, 1. utgave. Miljøvernavdelingen.

Fylkesmannen i Telemark, 1997

Vannkatalogen-Telemark. Overgjødning i vannmiljøet 1987-96, 2. utgave. miljøvernavdelingen,

Graham, L. E. og Wilcox, L. W. 2000. *Algae*. Prentice – Hall, Inc. 640 s.

Halinen, K. Rantala, A. og Vaitomaa, J. 2003. *Quantitative real time PCR for determination of microcystin synthetase copy numbers for microcystis and Anabaena in lakes*. *Appl. Environ. Microbiol* 69:7289-7297.

Hawkins, R. D. Kandel, E. R. og Baily, C. H. 2006. *Molecular Mechanisms of Memory Storage in Aplysia*. Marine Biological Laboratory s 174-191.

Henriksen P, Utkilen H, og Gjøvlme N. *Intracellulære levertoksiner frigives kun delvis ved nedfrysning af vandprøver*. *Vatten* 2000;56:111-3.

Henriksen, H. I. Jansen. L, og Svedahl, B. M. 2003.

Vannkvalitet, forekomst og toksitet av Anabaena lemmermanni i Norsjø. 2003

Hovedoppgave ved Høgskolen i Telemark.

Hessen, D. O. 2008. *NATUR hva skal vi med den?* Gyldendal Norsk Forlag. 271 s.

Jakobsen, K. S. Larsen, F. Rudi, K. og. Skulberg, O. M. 1997. *Strain characterization and classification of oxyphotobacteria in clone cultures on the basis of 16S rRNA sequences from the variable regions V6, V7, and V8. Applied and Environmental Microbiology* 63:2593-2599.

Lem, J. 1998. *Langs Erkjennelsens Grenseland*. Aquarius Forlag as, Oslo. 384 s.

Lindholm, T. 1998. *Algfenomen och algproblem*. Kirjapanino Grafia Oy, Åbo. 168 s.

Livingstone, D. og Jaworski, G. H. M. 1980. The viability of akinetes of blue-green algae recovered from the sediments of Rostherne Mere, *European Journal of Phycology*, 15:4, s 357-563.

Munn, C. 2004. *Marine microbiology*. Taylor and Francis. 282 s.

NIVA, 2006. *Overvåkning av langtransportert forurenset luft og nedbør*. Årsrapport-effekter, Oslo.

Amé, V. Pfugmacher, S. Steinberg, C. og Wiegand, C. 2001. *Cyanobacterial toxins and endotoxins-their orgin and their ecophysiological effects in aquatic organisms*. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin.

Pleym, H. Alfsen, K. H. Ariansen, P. Bjørklund, R. A. Dragesund, O. Grini, O. M. Hessen, D. Holtan, H. Jentoft, H. Kristensen, P. Liltved, H. Lorentsen, L. Molvær, J. Norseth, T. Næss, Ohren, J. Rodahl, K. Rygg, B. Scholdager, J. T. Strandén, E. Sørensen, K. Wang, Ø. Waskaas, M. og Wethe, I. 1992. "*Miljøstudier*", NKI Forlaget, Oslo. 409 s.

Rosef, O. og Rosef, L. 2000. *Helse- og miljø- MIKROBIOLOGI*. Fenris forlag. 286 s.

Skulberg, O. M. 1979. *Giftvirkninger av blågrønnalger*. Temarapport 4, NIVA.

Skulberg, O. M. Underdal, B. Utkilen, H. og Andersen, R. A. 1992.

Voksende problem i Norge: Blågrønnealger med tosinproduksjon. NÆR kontakt. 2,1-4.

Tidestrøm, H og Rennerfelt, J. 1989. *Giftiga blågrønnealger*. Naturvårdsverket. Rapport 3590.

Tikkanen, T og Willén, T. 1992 Växtplanktonflora. Naturvårdsverket Förlag

Utkilen H og Gjølme N. 1994. *Hepatoksiner. Cyanobakterietoksiner i ferskvann*. Rapport nr. 93, SFT, Oslo.

Whitton, B. A. og Potts, M. 2000. *The Ecology of Cyanobacteria, Their Diversity and Space*. Kluwer Academic Publishers. 669 s.

Willén, E. Willén, T. og Ahlgren, G. 1995. *Skadliga alger i sjøar och hav*. Rapport 4447 Naturvårdsverket. Stockholm.

Willén, E. 2001. *Checklista uver Cyanobakterier i Sverige*. ArtDatabanken, SLU, Uppsala.

Økland, J. 1975. *Ferskvannøkologi*, 1. Universitetsforlaget, Drammen. 288 s.

Økland, J. 1983. *Ferskvannets verden 1. Miljø og prosesser i innsjø og elv*. Universitetsforlaget. 203 s.

Økland, J. 1983. *Ferskvannets verden 2, Planter og dyr, Økologisk oversikt*. Universitetsforlaget. 209 s.

Økland, J. 1983. *Ferskvannets verden 3. Regional økologi og miljøproblemer*, Universitetsforlaget. 189 s.

Økland, J. og Økland, K. A 1996. *Vann og vassdrag 2. Økologi*. Vett & Viten AS Nesbru. 309 s.

Økland, J. og Økland, K. A 1998. *Vann og vassdrag 3. Dyr og planter: innvandring og geografisk fordeling*. Vett & Viten AS Nesbru. 206 s.

Økland, J. og Økland, K. A 1999. *Vann og vassdrag 4. Dyr og Planter*. Vett & Viten AS Nesbru. 200 s.

Norsk Standard (NS) utarbeidet og fastsatt av Standard Norge:

NS 4721 1973. *Måling av konduktivitet.*

NS 4746 1975. *Bestemmelse av ammonium-nitrogen.*

NS 4720 1979. *Måling av pH.*

NS 4754 1981. *Alkalitet. Potensiometrisk titrering.*

NS 4756 1982. *Bestemmelse av klorid.*

NS 4776 1982. *Spesielle retningslinjer for kalsium og magnesium.*

NS 4766 1983. *Bestemmelse av klorofyll a, spektrofotomerisk måling i acetonekstrakt*

NS 4724 1984. *Bestemmelse av fosfat.*

NS 4725 1984. *Bestemmelse av totalfosfor.*

NS 4787 1988. *Bestemmelse av fargetall. Spektrofotomerisk metode.*

NS 4743 1993. *Bestemmelse av nitrogeninnhold etter oksidasjon med peroksidisulfat.*

NS 4746 1975. *Bestemmelse av ammonium-nitrogen.*

NS 4773 1994. *Atomsorpsjonsspektrometri i flamme. Spesielle retningslinjer for aluminium, bly, jern, kadmium, kobber, kobolt, krom, mangan, nikkel og sink.*

NS 4775 1994. *Atomsorpsjonsspektrometri i flamme. Spesielle retningslinjer for natrium og kalium*

NS 4770 1994. *Bestemmelse av metaller ved atomsorpsjonsspektrometri i flamme. Generelle prinsipper og retningslinjer.*

Nettadresser:

Academic Journals

Microcystis aeruginosa: source of toxic microcystis in drinking water

www.academicjournals.org/AJB/PDF/Pdf2004/Mar/Oberholster%20et%20al.pdf

Veiledning om biologiske faktorer.

www.arbeidstilsynet.no/c28864/artikkel/vis.html?tid=28908

BioMedCamp 2002

<http://www.biomedcamp.no/index.php?i=6&j=2002>

Ceroi.net

Giftproduserende blågrønnalger i Hordaland

http://www.ceroi.net/kommuner/bomlo/files/storavatnet_2006.pdf

DMU Temarapport

http://www2.dmu.dk/1_viden/2_Publikationer/3_temarapporter/rapporter/87-7772-476-3.pdf

Envisats *MERIS fanger opp phytoplankton-oppblomstring*

http://www.esa.int/esaCP/ESA9BB7708D_Norway_0.html

FN-sambandet. *Tusenaarsmaalene.* <http://www.fn.no/Temaer/OEkonomisk-og-sosial-utvikling/FNs-tusenaarsmaal/Hva-er->

Folkehelseinstituttet. *Cyanobakterier.*

http://www.fhi.no/eway/default.aspx?pid=233&trg=MainArea_5661&MainArea_5661=5631:0:15,3276:1:0:0:::0:0

Folkehelseinstituttet. *Miljø og helse- en forskningsbasert kunnskapsbase.*

<http://www.fhi.no/dav/f6bcfac619.pdf>

Folkehelseinstituttet. *Vannforsyningens ABC*

<http://www.fhi.no/dav/ab0a22d686.pdf>

folk.ntnu.no. *Utstillingstekst ved Alta Museum: Europas eldste fossiler – i Alta!*

http://folk.ntnu.no/krill/Alta_fossiler.htm

Forskning.no. *Bakterier på tanken*

<http://www.forskning.no/artikler/2008/juli/189264>

Geoportalen. *Livet i urtiden*

http://geoportalen.no/livetsutvikling/utvikling_i_urtiden/

Google, Norsjø. <http://maps.google.no/>

© 2003 LabNett AS. KJEMISKE PARAMETRE PÅ DRIKKEVANN.

http://www.labnett.com/Analyser/kjemiske_parametre.htm

Meteorologisk institutt

<http://met.no>

Miljolare, Naturfagsenteret. *Blågrønnalger/blågrønnbakterier.*

<http://www.miljolare.no/tema/planterogdyr/artikler/planteplankton/blogronnbakterier.php>

Miljøstatus i Norge, *Konsekvenser av overgjødning.*

<http://www.miljostatus.no/Tema/Vannforurensning/Overgjodning/Konsekvenser-av-overgjodning/>

Miljøstyrelsen miljøministeriet. *Håndbog om giftige alger i badevand*

<http://www.miljoestyrelsen.dk/udgiv/publikationer/2002/87-7972-232-6/pdf/87-7972-233-4.pdf>

NIJOS, *Nasjonalt referansesystem for landskap.*

<http://skogoglandskap.no/>

NIVA prosjekt fakta

[http://www.niva.no/SYMFONI/infoportal/PUBLIKASJON.NSF/b3fa54ae867808cbc1256ebc0033d836/cabfea76dec09368c1257069003da79e/\\$FILE/Gift_Cyanobakterier_Aug05.pdf](http://www.niva.no/SYMFONI/infoportal/PUBLIKASJON.NSF/b3fa54ae867808cbc1256ebc0033d836/cabfea76dec09368c1257069003da79e/$FILE/Gift_Cyanobakterier_Aug05.pdf)

Norsk Naturarv. *Livets utvikling*

<http://naturarv.no/livets-utvikling.291492-32421.html>

Planktonweb. www.hib.no/avd_al/naturfag/plankton/plankton/blaagroennbakterier/oscillatoria-planktothrix.html

Saltvannsakvariet.no. *Kjemi*

<http://saltvannsakvariet.no/kjemi.htm>

Skiensvassdraget og Telemarkskanalen - en samling med kunnskap.

<http://skiensvassdraget.no/>

Skog + landskap

http://www.skogoglandskap.no/filearchive/Rapport_10_05.pdf

Statensforurensingstilsyn. *Kort innføring i toksikologi*

<http://www.sft.no/publikasjoner/kjemikalier/1756/ta1756.html>

Store Norske Leksikon. *liv – systematisk inndeling*

http://www.snl.no/liv/systematisk_inndeling

Telemarkskanalen

<http://www.telemarkskanalen.no.>

Universitetet i Bergen. *BLÅGRØNNALGER / BLÅGRØNNBAKTERIER*

<http://www.zoo.uib.no/~brage/plankton/work/blogronnbakterier.html>

Universitetet i Oslo. *Botanisk og plantefysiologisk leksikon*

<http://www.bio.uio.no/plfys/haa/leks/g/gassvesikler.htm>

Universitetet i Oslo. *Mikroalger i vitenskaplig perspektiv.*

<http://folk.uio.no/dagkl/Mikroalger.pdf>

Universitetet i Oslo. *Hva er drivhuseffekten?*

<http://www.cicero.uio.no/fakta/faktaark2.pdf>

Universitetet i Oslo. *Stromatolitter.*

<http://nhm.uio.no>

Universitetet i Oslo

Plantefysiologi- plantenens stoffomsetning -vekst og utvikling

<http://www.bio.uio.no/plfys/haa/plfys/plantefys.pdf>

Universitetet i Oslo. *SPOR ETTER TIDLIG LIV*

[http://www.nhm.uio.no/besokende/faste-](http://www.nhm.uio.no/besokende/faste-utstillinger/bergarter/prosesser/m_spor_etter_tidlig_liv.html)

[utstillinger/bergarter/prosesser/m_spor_etter_tidlig_liv.html](http://www.nhm.uio.no/besokende/faste-utstillinger/bergarter/prosesser/m_spor_etter_tidlig_liv.html)

Universitetet i Tromsø. *Miljøfaktorers innflytelse på arktiske økosystemer.*

<http://uit.no/nyheter/904/1452>

Vannforsyningens ABC

<http://www.labnett.com/Meny/VannforskyningensABC.pdf>

Wikipedia

<http://no.wikipedia.org/wiki/Norsjø>

Vedlegg:

Vedlegg nr. 1 Fysiske og kjemiske prøveresultater fra Norsjø 2008

Vedlegg nr. 2 Planteplanktonbilder

Vedlegg nr. 3 Bilder av filter etter filtrering

Vedlegg nr. 4 PCR oppsett, prosedyre, prosess

Vedlegg nr. 5 Gelelektroforese

Vedlegg nr. 6 ELISA

Vedlegg nr. 7 Klima

Vedlegg nr. 1

Fysiske parametere.

Fysiske parametere

Prøvested	pH	Ledningsevne µs/cm	Fargetall mgPt/L	Alkalitet mmol/L	Cl- Mg/L	Temp. C°	Tot- P µg/L	PO ₄ µg/L
Torsnes								
03.07.2008	6,8	19	16	0,10	1,5	15,6	7	2
17.07.2008	7,0	17	11	0,09	0,5	15,8	7	1
29.07.2008	7,0	17	11	0,11	1,4	23,0	11	1
04.08.2008	6,8	17	13	0,10	1,1	20,5	4	Ikke resultat
14.08.2008	6,9	18	14	0,12	2,1	20,0	4	3
22.08.2008	6,9	15	22	0,09	2,1	19,0	8	2
Ulefoss								
03.07.2008	7,1	16	12	0,11	0,4	15,3	8	0
17.07.2008	7,0	17	10	0,12	0,4	16,3	5	1
29.07.2008	6,8	17	17	0,15	0,3	21,5	31	1
04.08.2008	7,3	19	12	0,11	1,3	21,0	4	Ikke resultat
14.08.2008	7,0	19	13	0,16	1,3	19,0	4	2
22.08.2008	7,7	18	25	0,11	1,3	19,0	8	3
Romnes								
03.07.2008	6,9	19	14	0,09	0,4	15,8	5	1
17.07.2008	6,9	16	12	0,11	0,4	16,3	5	1
29.07.2008	7,5	17	11	0,09	0,3	24,3	7	1
04.08.2008	7,1	16	13	0,10	1,5	20,5	2	Ikke resultat
14.08.2008	6,8	19	21	0,11	0,2	19,5	4	4
22.08.2008	6,7	15	19	0,08	0,2	17,0	6	Ikke resultat
Årnes								
03.07.2008	6,9	17	13	0,01	0,4	17,6	10	1
17.07.2008	6,9	16	14	0,11	0,4	15,2	8	1
29.07.2008	7,1	19	21	0,11	0,4	24,3	11	1
04.08.2008	7,0	19	24	0,12	1,3	21,5	5	Ikke resultat.
14.08.2008	6,9	19	23	0,10	0,3	18,5	6	2
22.08.2008	6,8	22	24	0,09	0,3	18,0	7	2
04.08.2008	6,9	17	17	0,19	1,1	20,5	2	Ikke resultat
14.08.2008	7,0	20	17	0,19	0,3	16,5	8	10
22.08.2008	6,8	15	20	0,09	0,3	17,5	1	2

Fysiske parametere

Ferieland	pH	Ledningsevne µs/cm	Fargetall mgPt/L	Alkalitet mmol/L	Cl- Mg/L	Temp. C°	Tot- P µg/L	PO ₄ µg/L
03.07.2008	6,8	16	14	0,09	0,4	15,5	2	0
17.07.2008	6,9	16	13	0,13	0,4	16,3	2	1
29.07.2008	7,0	17	15	0,10	0,3	22,0	3	1
04.08.2008	6,9	17	17	0,19	1,1	20,5	2	Ikke resultat
14.08.2008	7,0	20	17	0,19	0,3	16,5	8	10
22.08.2008	6,8	15	20	0,09	0,3	17,5	1	2
Patmos								
03.07.2008	6,8	17	13	0,09	0,4	16,5	11	1
17.07.2008	7,0	17	13	0,10	0,5	17,2	11	1
29.07.2008	6,9	16	15	0,13	0,3	19,7	22	1
04.08.2008	7,0	17	18	0,17	1,2	20,0	5	Ikke resultat
14.08.2008	6,9	21	18	0,19	0,2	16,0	6	2
22.08.2008	6,7	16	19	0,09	0,2	18,0	5	2

NO₃⁻ N Prøven fra Romnes 22.8, ble tilsatt jod i stedet for svovelsyre.

Samtlige prøver, fra NH₄⁺ resultater fra 4.8, ble borte fra kjøla.

Serien med Tot N fra 14.8 ble tilsatt gal syre.

Manglende verdier ble erstattet ved å bruke gjennomsnitt fra nærmeste verdier

Kjemiske parametere

	Mg ²⁺ (mg/L)	Mn ²⁺ (µg/L)	Fe (µg/L)	Ca ²⁺ (mg/L)	Na ⁺ (mg/L)	K ⁺ (mg/L)	TOC (mg/L)	NO ₃ -N (µg/L)	Tot N (µg/L)	SO ₄ ²⁻ (mg/L)	NH ₄ ⁺ (µg/L)	Klorofyll (µg/L)
Torsnes												
03.07.2008	0,22	8	139	1.9	1.3	0,25	2.8	200	371	2.1	24	<1,2
17.07.2008	0,21	24	< 20	1.8	0,98	0,20	2.6	145	288	1.7	120	4,1
29.07.2008	0,20	5	< 20	1.8	1.2	0,24	2.6	153	682	0,80	62	8,5
04.08.2008	0,20	67	72	1.4	1.0	0,30	2.2	-	543	1.3	-	2,0
14.08.2008	0,26	< 5	20	2.0	1.0	0,26	2.7	400	-	2.0	79	1,6
22.08.2008	0,18	< 5	57	2.0	1.1	0,28	3.0	119	791	2.5	45	<1,2
Ulefoss												
03.07.2008	0,22	21	< 20	2.4	1.2	0,19	3.2	89	312	2.3	21	3,1
17.07.2008	0,23	7	< 20	1.8	1.1	0,25	2.4	129	251	0,86	136	3,4
29.07.2008	0,20	6	75	1.6	1.1	0,27	3.1	60	348	1.3	54	5,7
04.08.2008	0,29	33	323	1.7	1.2	0,72	2.0	-	187	0,87	-	7,3
14.08.2008	0,24	< 5	79	1.6	1.1	0,24	2.7	398	-	1.9	44	3,4
22.08.2008	0,28	12	79	1.6	1.1	0,23	3.7	172	451	2.1	114	1,3
Romnes												
03.07.2008	0,20	5	< 20	1.9	1.0	0,19	2.6	122	324	2.3	7	2,9
17.07.2008	0,19	< 5	< 20	1.8	1.1	0,21	2.6	124	298	3.2	136	2,9
29.07.2008	0,19	< 5	< 20	1.7	1.2	0,19	2.8	104	419	0,66	26	5,5
04.08.2008	0,19	67	68	1.3	1.1	0,40	2.8	-	400	1.8	-	7,6
14.08.2008	0,33	8	94	4.3	1.7	0,40	5.2	124	-	1.7	<5	1,2
22.08.2008	0,25	< 5	30	3.3	1.6	0,24	3.0	-	902	2.2	-	1,3

Vedlegg nr. 1

kjemiske parametere.

Kjemiske parametere forts

	Mg ²⁺ (mg/L)	Mn ²⁺ (µg/L)	Fe (µg/L)	Ca ²⁺ (mg/L)	Na ⁺ (mg/L)	K ⁺ (mg/L)	TOC (mg/L)	NO3-N (µg/L)	Tot N (µg/L)	SO ₄ ²⁻ (mg/L)	NH ₄ ⁺ (µg/L)	Klorofyll (µg/L)
Årnes												
03.07.2008	0,19	7	< 20	1.9	1.1	0,20	2.6	167	327	1.4	9	1,2
17.07.2008	0,20	6	< 20	1.9	1.1	0,22	3.2	132	444	2.1	91	2,4
29.07.2008	0,27	20	34	1.8	1.5	0,24	3.6	163	359	0,95	63	3,2
04.08.2008	0,25	55	3130	1.5	1.3	0,56	4.1	-	313	2.0	-	7,8
14.08.2008	0,24	< 5	64	1.6	1.3	0,28	4.3	107	-	1.8	<5	2,5
22.08.2008	0,26	< 5	79	2.6	1.6	0,25	3.6	172	406	1.6	<5	1,8
Ferieland												
03.07.2008	0,19	9	< 20	1.6	1.1	0,25	3.0	125	289	2.4	13	2,6
17.07.2008	0,22	22	67	2.1	1.1	0,21	2.6	84	272	1.6	96	1,4
29.07.2008	0,22	9	82	2.0	1.5	0,44	3.1	121	293	1.3	21	2,1
04.08.2008	0,21	33	62	1.5	1.1	0,71	3.2	-	294	2.7	-	4,3
14.08.2008	0,26	9	109	1.6	1.1	0,50	3.9	28	-	1.9	107	1,6
22.08.2008	0,19	< 5	< 20	1.6	1.3	0,18	2.9	133	356	1.4	88	4,9
Patmos												
03.07.2008	0,21	11	< 20	1.9	1.0	0,24	2.5	107	344	2.0	17	1,7
17.07.2008	0,20	9	43	1.9	1.3	0,19	3.0	86	356	1.9	237	1,7
29.07.2008	0,20	6	< 20	1.8	1.1	0,21	3.1	89	297	2.0	27	2,0
04.08.2008	0,21	37	133	1.4	1.3	0,36	4.6	-	258	1.9	-	2,3
14.08.2008	0,26	11	118	1.9	1.0	0,52	3.4	1250	-	1.1	<5	5,7
22.08.2008	0,22	< 5	50	2.5	1.6	0,19	3.0	164	359	0,66	59	<1,2

Forholdet mellom totalnitrogen-totalfosfor.

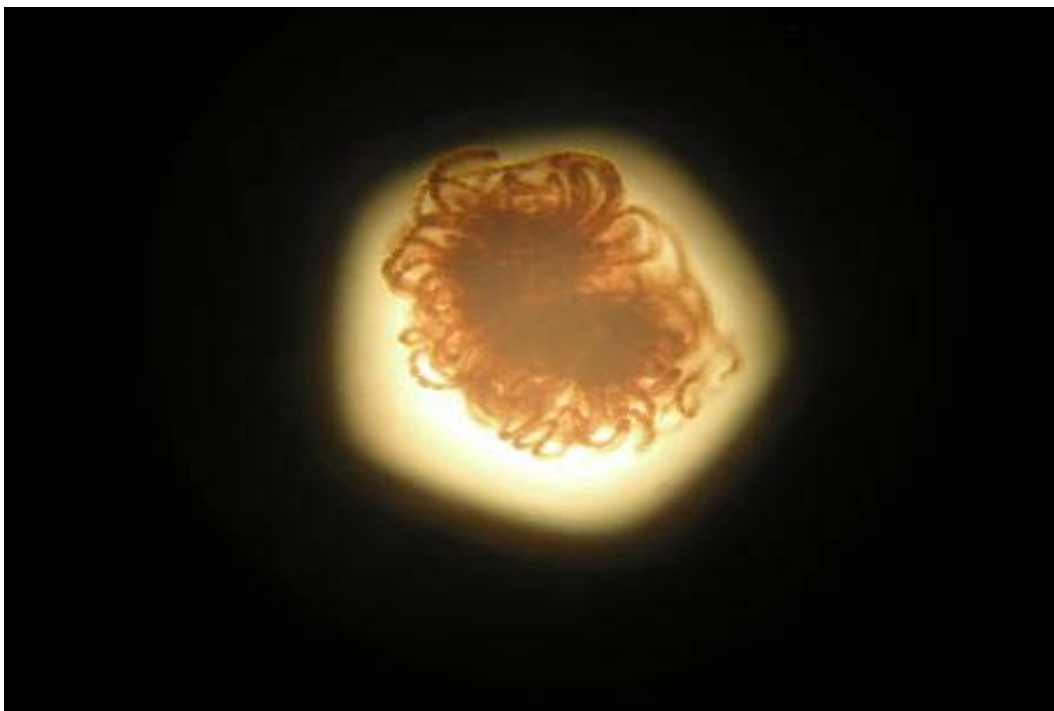
Forhold N/P	Torsnes	Ulefoss	Romnes	Årnes	Ferieland	Patmos
03.07.2008	52	40	21	33	131	32
17.07.2008	40	53	18	55	118	33
29.07.2008	60	11	17	32	101	13
04.08.2008	126	44	20	67	140	55
14.08.2008	137	70	24	66	37	53
22.08.2008	104	57	53	63	274	76

Tabell 15. Siktedypet ved Romnes og Norsjø Ferieland i perioden 3.7-22.8.2008.

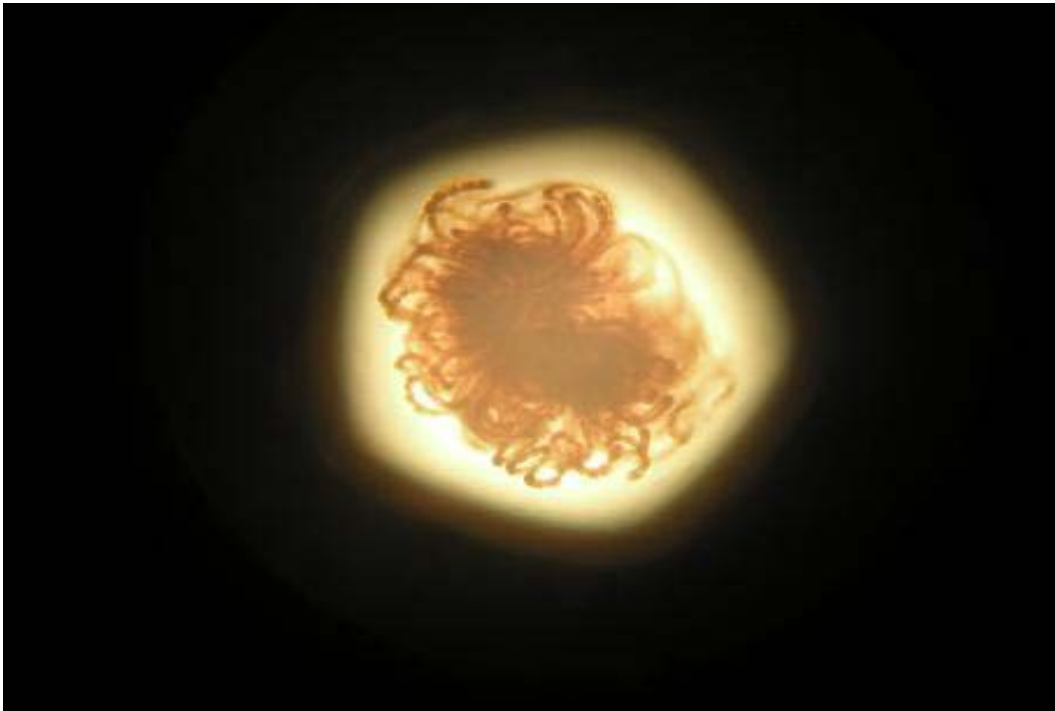
Prøvested	Siktedyp/meter	Prøvested	Siktedyp/meter
Romnes		Norsjø Ferieland	
03.07.2008	5	03.07.2008	6
17.07.2008	4,5	17.07.2008	5,5
29.07.2008	4,9	29.07.2008	5,7
04.08.2008	5,2	04.08.2008	6,1
14.08.2008	5,6	14.08.2008	6,3
22.08.2008	6,1	22.08.2008	6,7



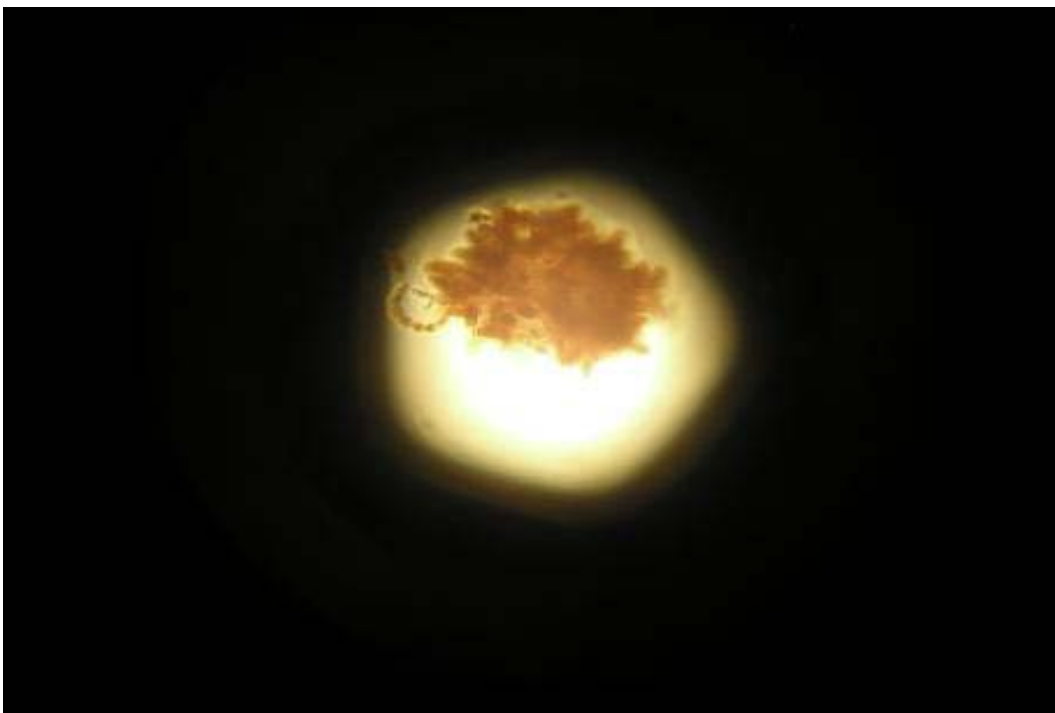
Figur V 2-1.4/8 Ulefoss



Figur V 2-2. 4/8 Ulefoss



Figur V 2-3. 4/8 Romnes



Figur V 2-4. 4/8 Romnes



Nr.1 Patmos 29.7: brunprikkete.



Nr.2 Patmos 29.7.



Nr. 4 Patmos 4.8 små brunprikkete.



Nr.3 Patmos 14.8 litt mindre mengder.



Nr. 6 Årnes 4.8 svakt brun farget.
filter med små prikker.



Nr. 5 Romnes 4.8 brunfarget filter.



Nr. 8 Torsnes 4.8 Lysbrunfarget med små partikler.



Nr. 7 Ulefoss 4.8 Mørkt brunfarget filter.



Nr. 9 Ferieland 4.8 Lysbrunfarget filter med antydning til små partikler.

DNA ekstraksjon, (Dynabeds DNA direct Universal)

1. Tilsett 200 ul dynabeads til 1,5 ml eppendorfrør med biomassen. Vi tilsetter cyanobakteriene, skrapa fra filterpapir (noen lapper er klipt i små biter, en prøve er nedspunnet fra frosset prøvevann).
2. Inkuberes ved 65 °C i 15 min. spinn ned kort
3. Plasser røret i magneten, slik at DNA/Dynal komplekset blir bundet til magneten, pipetter ut supernatanten.
4. Fjern røret fra magneten, tilsett 200 ul washingbuffer.
5. Plasser tuben i magneten, la den stå i 30 sek, pipetter ut supernatanten.
6. Repeter trinn 4 og 5.
7. Fjern røret fra magneten. Tilbakefør DNA/Dynal komplekset i 40 ul Resuspension Buffer. Pippeter komplekset opp og ned 30-40 ganger til supernatanten er homogen. La stå i 5 min i 65 °C.
8. Plasser røret i magneten, la den stå i 30 sek, fjern supernatanten raskt og overfør den til et rent rør.

PCR oppsett

DNA ekstraksjon fra filterlapper.

Reagenser	Konsentrasjon i bruksløsningen	Antall µl pr prøve	8 prøver/total mix	Konsentrasjon i PCR
dH₂O		30,88	247	
10x PCR buffer	10x	5	40	1x
MgCl₂	25 mM	4	32	2mM
dNTP	2 mM	5	40	0,2mM
F primer	10 pmol/µL	2	16	0,4 pmol/µl
R primer	10 pmol/µL	2	16	0,4 pmol/µl
Taq	5 U/µL	0,1	0,8	0,5 U
Totalt medium		49	391,8	
DNA templat	20 - 60	1	8	
	Totalt PCR volum	50	400	

PCR: Primerne sjekker om det er cyanobakterier tilstede.

PCR cyanobakterier

Reagenser	Konsentrasjon i bruksløsningen	Antall μl pr prøve	8 prøver/total mix	Konsentrasjon i PCR
dH ₂ O		9,5	76	
10xPE buffer.	10x	2,0	16	1x
dNTP	2mM	3,0	24	0,3mM
MgCl ₂	25mM	2,4	19,2	3,0mM
F primer, mcy	10 pmol/ μl	1,0	8	2,5pmol/ μl
R primer, mcy	10 pmol/ μl	1,0	8	2,5 pmol/ μl
Taq	5 U/ μl	0,08	0,64	0,25 U
Totalt med mix		19,0	151,8	
DNA templat	prøve	1,0	8,0	
	Totalt PCR volum	20,0	159,8	

Prinsippet for PCR

Den doble DNA-tråden denaturerer og splittes i to enkeltråder ved temperaturer omkring 93-98 °C. Dette gjør det mulig å få tilgang til sekvensen som ellers ligger gjemt inne i dobbeltråden.

Primere, som er designet av brukeren og tilsettes i reaksjonen, kan binde til ønsket sekvens i DNA. Et enzym kopierer sekvensen, normalt ved 72°C. Deretter denatureres DNA igjen, og dette gjentas 15-30 ganger for å få ønsket mengde kopier av DNA-fragmentet. PCR foregår i spesielle maskiner som justerer temperaturen automatisk ut fra et forhåndslaget program.

Kopieringen av DNA ved PCR skjer eksponentielt. Fra hvert templat oppstår det to kopier, som i sin tur et opphav til to nye kopier og så videre

En beskrivelse av metoden, støping av agarosegel og gjennomføring av elektroforese.

Om metoden

Gelelektroforese er en basisteknikk innen genteknologi. Ved gelelektroforese kan store molekyler som DNA-molekyler eller proteiner skilles fra hverandre etter størrelse i en gel. Det er et sentralt verktøy i rettsmedisin, ved gentesting og ved kartlegging av hvor restriksjonsenzymmer kutter gener (dvs. kartlegging av såkalte restriksjonssteder).

Ved gelelektroforese av DNA kan vi bruke en gel som er laget av agarose. I gelen er det porer som DNA vandrer gjennom når det settes strøm på gelen. DNA er negativt ladet så det vil vandre fra negativ til positiv pol i gelen. Porene er en hindring for store DNA-biter slik at DNAet vandrer gjennom gelen med ulik hastighet avhengig av hvor stort det er. Når gelelektroforesen er ferdig, farges gelen med et fargestoff som binder seg til DNA -et slik at DNA blir synlige og danner et mønster. Etter en gelelektroforese kan man finne størrelsen på DNA-bitene ved å lage standardkurve basert på DNA-størrelsesmarkører.

Støping av agarosegel

Sett opp støpekaret, pass på at det er tett.

Bland agarosepulveret med buffer i en flaske som tåler sterk varme (flasker eller erlenmeyerkolber i pyrexglass fungerer fint).

Varm opp i mikrobølgeovn til det koker.

Gjenta dette 2-3 ganger til alt pulveret er løst.

Hell agaroseløsningen i støpekaret.

Sett i kammen(e).

Ta ut kammen(e) når gelen er stivnet.

Selve elektroforesen

Preparer prøvene og tilsett loadingbuffer til både prøvene og DNA-størrelsesmarkøren.

Plasser gelen i elektroforesekaret slik at brønnene er ved negativ pol.

Hell buffer i elektroforesekaret slik at den går ca. 0,5 cm over gelen.

Last prøvene og DNA-størrelsesmarkør i hver sine brønner i gelen.

Kjør gelen ved 100 V i ca. 30 minutter.

Følg med hvordan loadingbufferen vandrer.

Stopp gelen før fargefronten har vandret ut av gelen.

Legg gelen i fargeløsning enten i sterkt konsentrert løsning i noen minutter eller i svak fargeløsning i noen minutter.

Avfarg gelen ved å vaske i fra springen flere ganger dersom dere har farget i sterk fargeløsning.

Analyser resultatet.

Finn størrelsen på DNA-bitene i gelen (se egen prosedyre).

Prinsipp

Kilde: "Microcystin plate kit", EP 022, Envirologix inc.

1. Brønnveggene i mikrotiterplaten er dekket med antistoffer mot microcystin.
2. Når standardløsninger, blindprøve (negativ control) og prøveløsninger tilsettes brønnene, vil microcystiner i disse løsningene binde seg til antistoffene på brønnveggene.
3. "Microcystin-enzym Conjugate" tilsettes alle brønnene. Dette er en forbindelse av microcystin og enzymet horseradish peroxidase. Microcystin-enzym konjugatet bindes til de resterende antistoffene på brønnveggene.
4. Overskuddet av microcystin-enzym konjugatet fjernes ved et vasketrinn.
5. Brønnene tilsettes "substrate". Enzymdelen av konjugatet som sitter på brønnveggene vil omdanne substratmolekylene til en blåfarget forbindelse. Jo mer konjugat som sitter på brønnveggene, jo mer av substratet blir omdannet og jo sterkere farge får løsningen. Microcystinkonsentrasjonen i prøvene er altså omvendt proporsjonal med fargeintensiteten på løsningen.

Mørkere farge = lavere microcystinkonsentrasjon

Lysere farge = høyere microcystinkonsentrasjon

6. En "stop solution" omvandler fra blå til gul farge og hindrer videre omdanning av substratmolekylene etter en viss tid. Absorbansen i de fargede løsningene måles ved 450 nm og microcystinkonsentrasjonen i prøveløsningene kan beregnes ved hjelp av en standardkurve.

Prosedyre

Kilde "Microcystin plate kit", EP 022, Envirologix inc. Versjon 1, Ralph Stålberg fredag, 6. juli 2001

1. Prøvene skal fryses og tines 2 ganger før analyse
2. Kittet skal ha romtemperatur før det tas ut av forpakningen.
3. Kontroller at vaskeløsningen (Wash Solution) er klar (ikke bakterier)
4. Still inn 20 µl (Gilson Pipetman P100)
5. Still inn 125 µl (Finnpipette 1, innstilling "5", sprøyte/spiss 1.25 mL)
6. Still inn 100 µl (Finnpipette 2, innstilling "2", sprøyte/spiss 2.5 mL)
7. Plasser alt innenfor rekkevidde.

Metode

1. Knepp brønnradene fast. Du trenger 1 rad for 2 prøver.
2. Tilsett 125 µl "Microcystin Assay Diluent" til alle brønner (Finnpipette 1) - sakte og forsiktig!
3. Tilsett 20 µl av respektive Blank, Standard 1,2,3 og prøver - så raskt som mulig:
 - a. Blank "NC" (Negative Control) til brønn A1 og eventuelt A2, A3 osv
 - b. Standard 1 (0.16 ppb Calibrator) til brønn B1 og eventuelt B2, B3 osv
 - c. Standard 2 (0.6 ppb Calibrator) til brønn C1 og eventuelt C2, C3 osv
 - d. Standard 3 (2.5 ppb Calibrator) til brønn D1 og eventuelt D2, D3 osv
 - e. Prøve 1 til brønn E1 og F1
 - f. Prøve 2 til brønn G1 og H1
 - g. Eventuelt flere prøver til brønnene E2 og F2, G2 og H2 osv
4. Bland løsningene i 30 sekunder (manuell rotasjon mot bordoverflaten)
5. Dekk til brønnene med teip. Vent nøyaktig 30 minutter.
6. Tilsett 100 µl " Microcystin-enzyme Conjugate" til alle brønner.
7. Bland løsningene i 30 sekunder, dekk til med teip (= steg 4 og 5) Vent nøyaktig 30 minutter.
8. Tøm ut innholdet i brønnene i vasken. Vask brønnene med vaskeløsning 4 ganger (tøm ut i vasken etter hver vask). Slå mikrotiterplaten mot et papirhandkle på bordoverflaten hardt slik at brønnene tømmes for vaskeløsning.
9. Bytt spiss på pipette 2. Tilsett 100 µl "Substrate" til alle brønnene.
10. Bland løsningen i 30 sekunder, dekk til med teip (= steg 4 og 5). Sett på mikrotiterplateleseren "Reader 510" (må stå på minst 10 minutter før avlesing). Vent nøyaktig 30 minutter.
11. Bytt spiss på pipette 2. Tilsett 100 µl "Stop Solution" til alle brønnene. Bland i 30 sekunder. Les av platen innen 30 minutter.

Lesing av platen:

1. Sett på printeren.
2. Legg et A4 papir i printeren.
3. Plasser mikrotiterplaten i leseren.
4. Tast "Start".
5. Tast '1 (Display viser Run Test: 1).
6. Tast "Enter" (Display viser Plate).
7. Tast "Enter" (Lesning starter og resultatet blir skrevet ut).
8. Dekk over "Reader 510" med plasttrekket når du er ferdig.

Temperaturobservasjoner.

Temperatur °C, målestasjon 32060 Gvarv (Meteorologisk institutt).			
Dato	°C Middel	°C Laveste	°C Høyeste
03.07.08	20	8,7	28
04.07.08	21,6	13,4	27,9
05.07.08	20,8	14,6	29,8
06.07.08	13,2	11,3	22,3
07.07.08	11,6	9,7	13,2
08.07.08	14	8,6	20,3
09.07.08	16,4	7,3	24,4
10.07.08	17,4	9,2	25
11.07.08	15,7	12,9	20,7
12.07.08	15,4	13,4	20
13.07.08	14,9	10,8	19,6
14.07.08	16,2	11,2	21,1
15.07.08	17,3	13,2	22,7
16.07.08	14,3	8,7	19,9
17.07.08	15,3	5,9	21,6
18.07.08	14,8	6,8	21,4
19.07.08	13,5	8,6	18,6
20.07.08	14,1	12,9	15,8
21.07.08	16,4	11,6	23,9
22.07.08	18,5	11,2	25,1
23.07.08	20	12,8	28
24.07.08	20,5	13,1	27,3
25.07.08	22	13,5	29,6
26.07.08	22	14,8	28,3
27.07.08	22	14	29,8
28.07.08	22,7	13	31,3
29.07.08	21,5	13,9	29,4
30.07.08	20,3	14,8	26,9
31.07.08	20,2	12,7	27,6
01.08.08	20	11,6	27,5
02.08.08	16,4	14,1	23,7
03.08.08	15,2	12,7	20
04.08.08	14,8	11,7	19,5
05.08.08	15,8	12,8	19,8
06.08.08	15,1	12,2	20
07.08.08	14,6	12,2	16,9
08.08.08	15,6	13,1	20,1
09.08.08	15,1	9,9	21,3
10.08.08	12,6	11,6	17,1

Dato	°C Middel	°C Laveste	°C Høyeste
11.08.08	14,4	10,8	18,5
12.08.08	13,9	8,7	19
13.08.08	13,5	12,4	17,6
14.08.08	14,6	10,2	21,3
15.08.08	13,1	7,6	19,3
16.08.08	14,4	9,1	20,8
17.08.08	13,9	8,3	20,3
18.08.08	14,1	7,7	22,6
19.08.08	13	7	18,7
20.08.08	14,2	12,4	17,3
21.08.08	16,1	10,5	22,3
22.08.08	15	11	21,2

Nedbør, meter pr. sekund.

Nedbør,

30320 Skien

Elstrøm, 13

moh. mm/pr.s

3.7.08
 4.7.08
 5.7.08
 6.7.08
 7.7.08 14,3
 8.7.08
 9.7.08
 10.7.08
 11.7.08 0,1
 12.7.08 3,1
 13.7.08
 14.7.08
 15.7.08
 16.7.08
 17.7.08
 18.7.08
 19.7.08 5
 20.7.08 11,5
 21.7.08 18
 22.7.08
 23.7.08
 24.7.08
 25.7.08
 26.7.08
 27.7.08

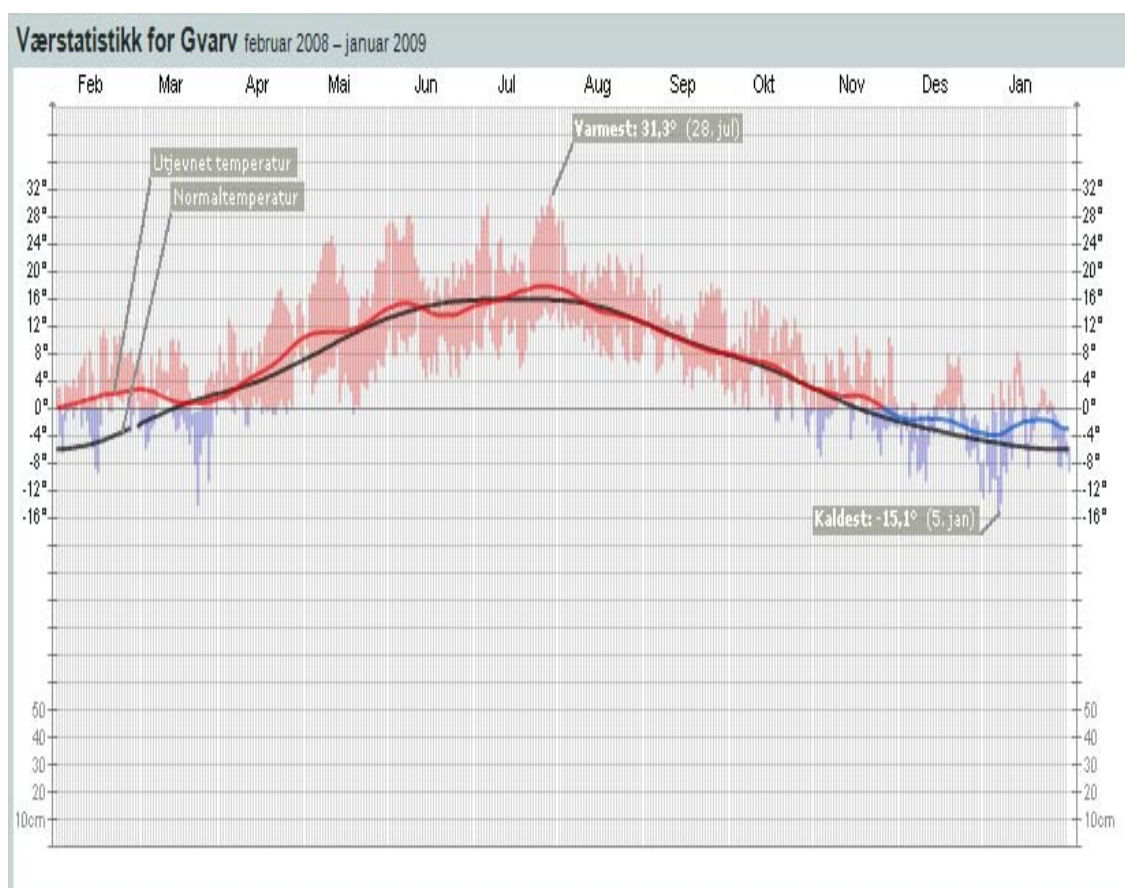
Nedbør,**30320 Skien****Elstrøm, 13****moh. mm/pr.s**

28.7.08
29.7.08
30.7.08
31.7.08
1.8.08
2.8.08 1,5
3.8.08 21,5
4.8.08 3
5.8.08 4
6.8.08 1
7.8.08 5
8.8.08 1
9.8.08
10.8.08 0,9
11.8.08 5
12.8.08 0,2
13.8.08 17,4
14.8.08 67
15.8.08
16.8.08
17.8.08
18.8.08
19.8.08
20.8.08 36
21.8.08 18,5
22.8.08

Basert på observasjoner fra værstasjonene var månedsnedbøren for Norge 80 % av normalen i juli.

Månedstemperaturen var over normalen i store områder av Sør-Norge.

Månedstemperaturen for landet som helhet var som normalen. Deler av Øst- og Sørlandet fikk over 200 % av normalen og enkelte stasjoner registrerte sin høyeste månedssum for august. Enkelte stasjoner satt også ny rekord for døgnet nedbør.



Svart strek, viser normalen (temperatur nedbør og snødybde). **Røde/blå strek**, viser middeltemperatur over døgnet. Streken er rød ved plussgrader, blå ved minusgrader. **Røde/blå felter**, viser temperaturvariasjonene gjennom døgnet, med maks og minimumstemperatur som endepunkter. Feltene er rød ved plussgrader, blå ved minusgrader (lovdata.no).