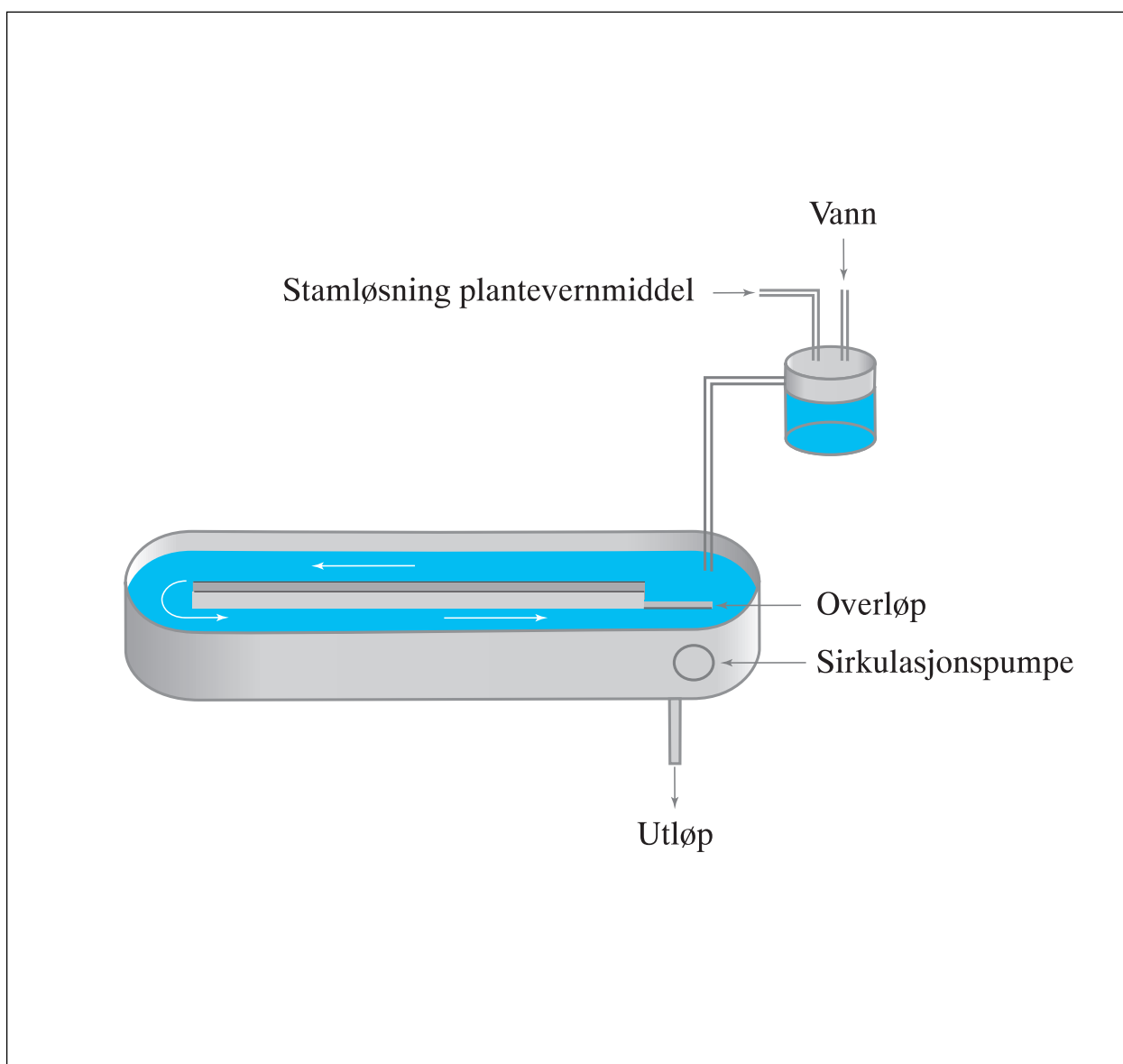


Effekter av plantevernmidler på perifyton i renner



Hovedkontor

Postboks 173, Kjelsås
0411 Oslo
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 22 18 52 00
Internet:

www.niva.no

Sørlandsavdelingen

Televeien 3
4879 Grimstad
Telefon (47) 37 29 50 55
Telefax (47) 37 04 45 13

Østlandsavdelingen

Sandvikaveien 41
2312 Ottestad
Telefon (47) 62 57 64 00
Telefax (47) 62 57 66 53

Vestlandsavdelingen

Nordnesboder 5
5005 Bergen
Telefon (47) 55 30 22 50
Telefax (47) 55 30 22 51

Akvaplan-niva

9296 Tromsø
Telefon (47) 77 75 03 00
Telefax (47) 77 75 03 01

Tittel Effekter av plantevernmidler på perifyton i renner	Løpenr. (for bestilling) 4559-2002	Dato 25.07.2002
	Prosjektnr. Undernr. 20129	Sider Pris 35
Forfatter(e) Torsten Källqvist Randi Romstad	Fagområde Økotoksikologi	Distribusjon
	Geografisk område	Trykket NIVA

Oppdragsgiver(e) Norges Forskningsråd	Oppdragsreferanse
--	-------------------

Sammendrag

Effekten av plantevernmidler på fastsittende alger (perifyton) i rennende vann er undersøkt ved mesocosm-forsøk i renner. Forsøkene omfattet ugrassmidlene linuron, metribuzin og tribenuron-metyl. Utviklingen av perifytonsamfunn ble sammenliknet i seks parallelle renner, hvor én fungerte som kontroll (uten plantevernmidler) og de fem andre ble eksponert til ulike konsentrasjoner av plantevernmidler som ble dosert kontinuerlig i 2-4 uker. Resultatene viste at linuron opp til 10 µg/l, metribuzin opp til 6.6 µg/l og tribenuron-metyl opp til 100 µg/l ikke ga noen klar hemming av den kvantitative eller kvalitative utviklingen av perifytonsamfunnene. For metribuzin var det imidlertid indikasjoner på at den høyeste konsentrasjonen (25 µg/l) reduserte utviklingen av perifytonsamfunnet noe. Dette tyder på at perifytonsamfunn dominert av kiselalger er forholdsvis robuste når det gjelder eksponering til plantevernmidler.

<p>Fire norske emneord</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Plantevernmidler 2. Toksisitet 3. Alger 4. Mesocosm 	<p>Fire engelske emneord</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Pesticides 2. Toxicity 3. Algae 4. Mesocosm
--	--


Torsten Källqvist
Prosjektleder


Knut Erik Tollefsen
Forskningsleder
ISBN 82-577-4214-7


Jens Skei
Forskningsjef

Plantevernmidler i norsk jordbrukslandskap:
Kilder, Oppholdstid, Nedbrytning, Transport og
Miljøeffekter i vann (KONTAM)

Effekter av plantevernmidler på perifyton i renner

Forord

Norges Forskningsråd innvilget i 2000 et forprosjekt om plantevernmidler med tittel "Plantevernmidler i norsk jordbrukslandskap: Kilder, Oppholdstid, Nedbrytning, Transport og Miljøeffekter i vann" (akronym KONTAM). Prosjektet hadde tilknytning til JOVÅ: programmet for Jordsmonnsovervåking som er et nasjonalt overvåkingsprogram. Hensikten var å utnytte dataene fra programmet i et forskningsmessig samarbeid. Målsetningen med KONTAM var å utdype de kunnskapshull som JOVÅ-programmet har avdekket og som ikke er dekket gjennom andre forskningsprosjekter. Forprosjektet ble gjennomført som et samarbeid mellom Jordforsk, Planteforsk og NIVA. Ved NIVA ble det utført eksperimentelle mesocosm-studier av effekter av plantevernmidler på perifytonsamfunn i rennende vann. Forsøkene ble gjennomført i juni-september 2000. Leder for prosjektet var Torsten Källqvist. Randi Romstad analyserte prøvene av perifyton.

Oslo, 25 juli 2002

Torsten Källqvist

Innhold

Sammendrag	5
Summary	6
1. Innledning	7
2. Materiale og metoder	8
3. Resultater	12
3.1 Kontrollforsøk	12
3.2 Linuron	14
3.3 Metribuzin	17
3.4 Tribenuron-metyl	20
4. Diskusjon	24
5. Referanser	27
Appendix I	29
Appendix II	33

Sammendrag

Toksiske effekter av tre ugrassmidler (linuron, metribuzin og tribenuron-metyl) på perifyton (fastsittende alger) i rennende vann er undersøkt ved mesocosmforsøk i renner. Det ble benyttet 6 parallelle renner som ble tilført innsjøvann fra Maridalsvatn. En av rennene ble brukt som kontroll, mens det ble dosert plantevernmidler i 5 ulike konsentrasjoner till de andre rennene. Perifytonsamfunnene ble etablert på keramiske fliser i rennene og prøver tatt fra flisene hver uke. Tettheten av alger ble registrert ved måling av tørrvekt og telling av antall celler av ulike arter.

Et kontrollforsøk uten dosering av plantevernmiddel ble gjort for å undersøke den naturlige variasjonen i utviklingen av perifytonsamfunn i rennene. Forsøkene med plantevernmidler ble gjort med konsentrasjoner som ofte blir observert i landbruksbekker og opp til rapporterte EC₅₀-nivåer for alger i laboratorieforsøk. Det var ventet at dette konsentrasjonsområdet ville gi klare utslag i form av doserelaterte effekter på perifytonsamfunnet.

Resultatene viste at linuron opp til 10 µg/l, metribuzin opp til 6.6 µg/l og tribenuron-metyl opp til 100 µg/l ikke ga noen klar hemming av den mengdemessige eller kvalitative utviklingen av perifytonsamfunnene. Variasjonene mellom renner med ulik dosering av plantevernmidler var ikke større enn hva som ble funnet i kontrollforsøket. Det ble heller ikke avdekket noen klare doserelaterte effekter (økende effekt med økende konsentrasjon). For metribuzin var det imidlertid indikasjoner på at den høyeste konsentrasjonen (25 µg/l) reduserte utviklingen av perifytonsamfunnet noe.

Resultatene tyder på at samfunn av perifyton, dominert av kiselager er forholdsvis robuste når det gjelder eksponering for ugrassmidler. Den sikkerhetsmargin som er benyttet ved risikovurdering av plantevernmidler (0.1 x EC₅₀-verdien fra laboratorietester med alger) ser derfor ut til å gi en tilstrekkelig beskyttelse av denne typen av perifytonsamfunn.

Summary

Title: Effects of pesticides on periphyton in experimental channels

Year: 2002

Author: Torsten Källqvist & Randi Romstad

Source: Norwegian Institute for Water Research, ISBN No.: ISBN 82-577-4214-7

Toxic effects of three herbicides (linuron, metribuzin and tribenuron-methyl) on periphyton in running water has been investigated in a flow through mesocosm experiment. Six channels fed by lake water from Lake Maridalsvatn in Oslo were used for the studies. One of the channels served as a control, while different doses of pesticides were added continuously to the remaining five channels. Periphyton was established on ceramic tiles, placed on the bottom of the channels. Four tiles were sampled each week from all channels. The density of periphyton on the tiles was analysed gravimetrically and the algae were identified and counted.

A control experiment without dosing of pesticides was performed in order to analyse the natural variation in the development of periphyton between six parallel channels. The concentrations of pesticides used in the studies were chosen to cover the range from concentrations found in creeks in agricultural areas up to the EC₅₀ concentrations reported from laboratory tests with algae. It was expected that this concentration range would give significant dose-related effects on the periphyton communities.

The results showed that linuron up to 10 µg/l, metribuzine up to 6.6 µg/l and tribenuron-methyl up to 100 µg/l did not cause significant inhibition of the quantitative or qualitative development of the periphyton communities. The variations between channels with different levels of pesticides did not exceed the natural variation found in the control experiment. No significant dose-related effects (increasing effect with increasing concentration) were observed with any of the pesticides. In the experiment with metribuzine, however, there was an indication that the highest concentration (25 µg/l) reduced the development of the periphyton slightly.

The results indicate that periphyton communities, dominated by diatoms are relatively insensitive to exposure to herbicides. Thus, the uncertainty factor used in risk assessment of pesticides (0.1 x EC₅₀ for algae in laboratory tests) seems to give a sufficient protection of this type of periphyton communities.

1. Innledning

I Norsk landbruk benyttes totalt ca. 680 tonn plantevernmidler per år, regnet som aktivt stoff. Av dette er 63 % ugrassmidler, 24 % soppmidler og ca. 3 % skadedyrmidler (Landbrukstilsynet 2002). Bruk av plantevernmidler i landbrukslandskapet medfører alltid en risiko for spredning utenfor de behandlede arealene og uønskede effekter på andre organismer enn dem man ønsker å bekjempe. I godkjenningprosedyren for plantevernmidler i Norge vurderes bl.a. risikoen for spredning til grunnvann og overflatevann og effekter på akvatiske organismer. For mange plantevernmidler gjelder restriksjoner for bruk i nærheten av åpent vann for å redusere risikoen for skadelige konsentrasjoner i vannmiljøet.

Overvåkingsprogrammet for plantevernmidler i norske vassdrag (JOVÅ) har vist en hyppig forekomst av plantevernmidler i mindre, jordbrukspåvirkede vassdrag (Ludvigsen & Lode 2001). For å vurdere konsekvensene av funnene av plantevernmidler i overflatevann i JOVÅ-programmet, er det så langt benyttet en indeks for miljøfarlighet (MFI) for de forskjellige plantevernmidler. MFI blir beregnet for hvert enkelt plantevernmiddel, basert på gifteffekter som er funnet ved laboratorietester med ulike organismegrupper (som regel alger, krepsdyr og fisk). Ved vurdering av plantevernmiddelfunnene i overvåkingsprogrammet er miljøfarlighetsgrensen antatt å være en faktor 100 lavere enn den konsentrasjon som gir 50% dødelighet av krepsdyr og fisk, eller 50% reduksjon av algenes vekst.

I perioden 1985-1999 ble MFI overskredet for 13 plantevernmidler (Ludvigsen & Lode, 2001). I det mest belastede vassdraget (Heiabekken) var antallet funn over MFI hvert år ca 20. Det ble som oftest påvist flere plantevernmidler samtidig. I de aller fleste tilfelle hvor MFI er overskredet er det algene som er utslagsgivende. Det indikerer at algene er den mest utsatte organismegruppen når det gjelder effekter av plantevernmidler i vassdrag.

I JOVÅ-programmet er det i tre år også foretatt en overvåking av mikroflora i bekkene for å prøve å påvise eventuelle effekter av plantevernmidler på perifyton (fastsittende alger) (Ludvigsen et al. 2002). Resultatene viser at perifytonsamfunnet er dominert av forholdsvis robuste, antatt forurensningstolerante arter. Undersøkelsene har vist store svingninger i bestanden av fastsittende alger i løpet av sesongen, og store forskjeller mellom sesongene. Disse variasjonene ser ut til å være styrt av naturlige forhold eller andre påvirkninger og kan ikke knyttes til funn av plantevernmidler i bekkene. De store variasjonene i faktorer som påvirker vekstbetingelsene for perifyton som vannføring, partikkeltransport, lysforhold, næringsalter og beiting, gjør det vanskelig å påvise toksiske effekter av plantevernmidler - i de nivåer de forekommer i de undersøkte bekkene - ved biologisk overvåking *in situ*.

Mesteparten av informasjonen om plantevernmidlernes effekt på alger stammer fra undersøkelser med enkeltarter i laboratoriekulturer. De alger som blir benyttet i slike toksisitetstester er hovedsakelig planktoniske arter av grønnalger og blågrønnalger (cyanobakterier), mens fastsittende kiselalger, som dominerer perifytonsamfunnet i landbruksbekker undersøkt i JOVÅ-programmet (Ludvigsen et al. 2002) er lite undersøkt. De få studier som omhandler virkningen av plantevernmidler på fastsittende alger, er oftest basert på laboratorieforsk og det benyttes som regel alger fra algekultursamlinger (Heckman 1994, Hoagland et al. 1996). Publiserte studier av fastsittende alger i naturlige økosystemer er få.

Et annet problem er at mesteparten av den tilgjengelige litteraturen gjelder andre plantevernmidler enn de som man nå finner i bekker i Norge. Mest undersøkt er atrazin, som ikke lengre brukes i Norge.

Med atrazin er det gjort mange eksperimenter både med laboratoriekulturer og i naturlige algesamfunn. Resultatene tyder på at kiselager er generelt mer tolerante enn andre alger for atrazin og andre triaziner (Hoagland et al. 1996, Guasch et al. 1998). Dette behøver imidlertid ikke å være tilfelle for andre plantevernmidler. Fra undersøkelser i Norge er det vist at variasjonen i følsomhet mellom ulike arter kan være meget stor for enkelte plantevernmidler. En kiselalge (*Cyclotella sp.*) ingikk i en undersøkelse av effekten av syv plantevernmidler på seks ulike alger. Resultatene viste at denne kiselalgen var generelt like følsom som andre alger, men den var blandt de mest følsomme for ugrassmidler av kategorien fenoksisyrer (Källqvist & Romstad 1994).

På grunn av at variasjonen i følsomhet mellom ulike arter ofte er stor, kan man forvente at en belastning av plantevernmidler i en bekk vil kunne påvirke arts sammensetningen selv om den totale produksjonen og algebiomassen blir opprettholdt. For triaziner er slike effekter påvist på fastsittende alger i kontrollerte eksperimenter (Herman et al. 1986, Gurney & Robinson 1989). I en bekk hvor mange andre miljøfaktorer hele tiden endres vil det imidlertid være vanskelig å påvise at endringer i arts sammensetningen skyldes selektiv giftvirkning av plantevernmidler. En undersøkelse av fastsittende alger i bekker i Follo (Akershus) viste at artsdiversiteten i jordbruksbekker var lav, men at det ikke var mulig å påvise forandringer i algesamfunnene som følge av gifteffekter av plantevernmidler (Meinert Rød & Espeset 1998).

For å undersøke effekter av plantevernmidler under mer kontrollerte betingelser enn i naturlige bekker, ble det i 2000 gjort mesocosm-forsøk i renner, hvor plantevernmidler ble dosert kontinuerlig i ulike konsentrasjoner, mens andre forhold kunne holdes konstant. Forsøkene omfattet tre ulike ugrassmidler; linuron, metribuzin og tribenuron-metyl. De to førstnevnte er de ugrassmidlene som hyppigst har overskredet grenseverdiene for miljøeffekter i jordbruksbekker i JOVÅ-programmet. Tribenuron-metyl tilhører gruppen "lavdosemidler" som brukes i svært lave konsentrasjoner, mindre enn 1 gram per dekar. Dette stoffet er svært potent og virksomt i lave konsentrasjoner. Stoffet er ikke påvist gjennom kjemiske analyser, men foreløpig er bare få prøver analysert og analysegrensene er ikke lave nok til å dekke de forventede lave konsentrasjoner i bekkevann. Det er derfor svært viktig å forsøke å avdekke om denne gruppen stoff kan ha biologiske effekter på organismer i vann.

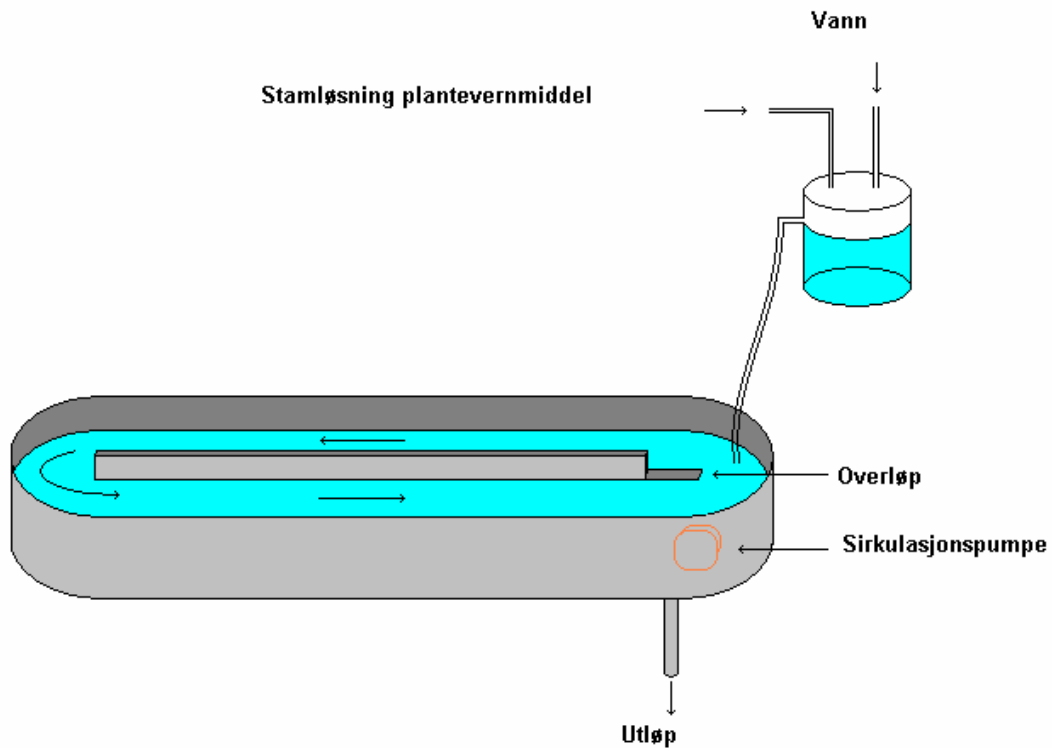
2. Materiale og metoder

Renneforsøkene ble utført i et klimastyrt rom NIVAs laboratorium. Naturlig overflatevann ble tilført fra ca. 3 m dyp i Maridalsvann. Vannet passerte en 1.8 m³ oppholdstank som var plassert i et rom med konstant temperatur på 15 °C. Til denne tanken ble det dosert 0.25 ml/min av en fosfatløsning som inneholdt 10 mg P/l. Med en gjennomstrømning av 2230 l/døgn ble tilskuddet av fosfor 1.6 µg/l. Fosfattilsetningen ble gjort for å øke grunnlaget for utvikling av alger i det næringsfattige vannet.

Fra tanken ble vannet kontinuerlig sirkulert gjennom en overløpsrenne i rommet hvor rennene var plassert. Seks kapillær-rør var montert i bunnen av overløpsrennen. Vannet rant fritt fra rørene ned i blandekar av ca. 3 liters volum og videre derfra til rennene. Vannføringen var 260 ml/min til hver av rennene. Plantevernmidlene ble tilsatt til blandekarene med hjelp av slangepumper. Vannføringen og doseringen av stamløsning ble kontrollert minst to ganger hver uke.

Vannet i rennene ble sirkulert med hjelp av en impellerpumpe, som ga en hastighet på ca. 10 cm/s. Utløpet fra rennene var plassert slik at vannhøyden var 10.7 cm. Totalvolumet av vann i rennene var ca. 37 l, som ga en oppholdstid på 2.4 timer. Utformingen av rennene fremgår av Figur 1. Hver renne ble belyst med tre 60W lysstoffrør som var montert ca. 50 cm over rennene. Lysmengden var ca. 150 µE m⁻² s⁻¹ ved vannoverflaten. Daglengden var 16 timer/døgn.

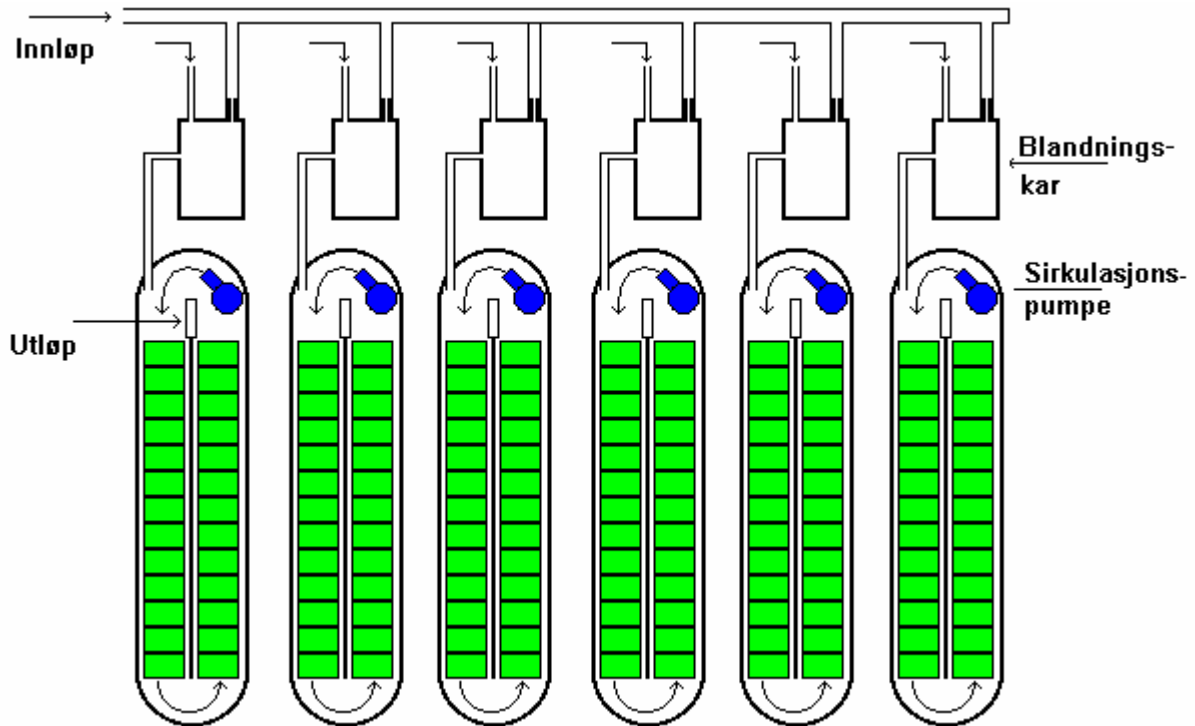
Forsøksopplegget omfattet 6 identiske renner som vist i Figur 2.



Figur 1. Renne for forsøk med perifyton.

Et samfunn av perifyton ble etablert i rennene ved å pøse med alger hentet fra utløpet av Maridalsvannet. Perifyton ble børstet fra steiner og prøven homogenisert med en hurtigmikser. Like mengder av den homogeniserte prøven ble helt i hver av rennene. Når synlig begroing var etablert i rennene (etter 1-3 uker) ble doseringen av plantevernmidler startet.

24 uglaserte keramiske fliser (5x10 cm) var plassert i bunnen av hver renne som substrat for algene. Prøvetaking av begroing ble gjort ved å skarpe av algene fra flisene. Ved hver prøvetaking ble det tatt opp 4 fliser fra ulike seksjoner i hver renne. Materialet fra disse ble samlet til én prøve. De rensede flisene ble lagt tilbake i rennene. Prøver ble tatt hver uke. Fra og med den andre prøvetakingen ble det tatt prøver både av fliser som var eksponert fra begynnelsen og fra fliser som var rensset foregående uke. På denne måten kunne ny-etablering av alger på flisene registreres.



Figur 2 . Skisse av forsøksanlegg med renner. Keramiske fliser i bunnen av rennene er markert med grønn farge.

Begroingsprøvene ble fortynnet med vann til et bestemt volum og homogenisert før delprøver ble tatt ut for analyse. Tørrvekt ble bestemt ved å filtrere et bestemt volum av prøven gjennom et veid Whatman GF/C glassfiberfilter, som deretter ble tørket ved 104 °C. i ca. én time. Etter veiing ble filtrene glødet ved 450 °C i én time og veid igjen for bestemmning av gløderest. Delprøver for bestemmning av alger ble konserverte ved tilsetning av formalin. Prøvene ble senere undersøkt ved mikroskopering ved 200 og 400 x forstørrelse. 0.02 ml av den homogeniserte prøven ble pipettert til et objektglass og dekket av et 22x22 mm dekkglass. Alger ble bestemt og telt i et antall tverrsnitt av arealet under dekkglasset.

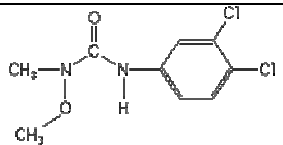
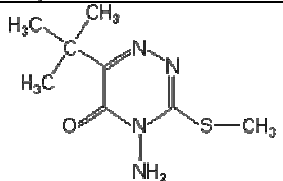
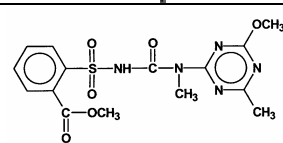
Spesifikk veksthastighet (μ) for ulike alger ble beregnet fra økningen i tetthet over to eller tre uker etter formelen :

$$\mu = \frac{\ln(n_t) - \ln(n_0)}{t} \text{ døg}^{-1}$$

hvor: n_0 og n_t er celletetthet hhv. ved start og ved tiden t (døgn). Fordi beregningen av veksthastighet krever nøyaktig bestemmning av celletettheten ved start ble den bare gjort for alger som hadde en forekomst over ca. 10 celler/mm² ved start.

I alt ble det gjennomført 4 forsøk fra mai-oktober 2000. Plantevernmidlene som ble undersøkt var tre ugrassmidler (Se Tabell 1).

Tabell 1. Plantevernmidler brukt i mesocosmforsøk

Middel	Preparat	Kategori	Mekanisme	Strukturformel
Linuron	Afalon	Fenylurea	Fotosyntesehemmer (PSII)	
Metribuzin	Sencor	Triazin	Fotosyntesehemmer (PSII)	
Tribenuronmetyl	Express	Sulfonylurea	ALS-hemmer (hemmer syntese av aminosyrer)	

Et fjerde forsøk uten dosering av plantevernmidler ble gjort for å undersøke variasjonene i seks kontrollrenner.

Konsentrasjonene av plantevernmidler ble valgt slik at konsentrasjonsområdet fra miljøfarlighetsgrensen til EC_{50} -verdien for alger rapportert fra laboratorieforsøk ble dekket. Oversikt over forsøkene er gitt i Tabell 2. Eksponeringskonsentrasjonene er beregnet fra de nominelle konsentrasjonene i stamløsningene og de målte verdiene for dosering av stamløsninger og vanntilførsel i rennene (Se appendix 1). Kontrollanalyser av plantevernmidler ble foretatt i prøver fra to av rennene i forsøkene med linuron og metribuzin. Analysene ble utført av Pesticidlaboratoriet, Ås.

Tabell 2. Oversikt over renneforsøk med plantevernmidler utført i 2000.

Periode	Plantevernmiddel	$\mu\text{g/l}$	$\mu\text{g/l}$	$\mu\text{g/l}$	$\mu\text{g/l}$	$\mu\text{g/l}$	$\mu\text{g/l}$
15.05 - 13.07	Linuron	0	0.04	0.16	0.64	2.7	10
05.07 - 12.08	Metribuzin	0	0.1	0.4	1.6	6.6	25
17.08 - 11.09	Tribenuronmetyl	0	0.1	0.6	3.2	19	100
21.09 - 13.10	-	0	0	0	0	0	0

Første prøvetaking i rennene og start av dosering ble gjort når det var etablert synlig begroing på flisene. Begroingsmengden var da mellom 0.07 og 0.3 mg/cm^2 i de ulike forsøkene. Utviklingen av begroing var langsommere i de to første forsøkene enn i de senere, trolig som følge av naturlige variasjoner i vannkvaliteten. På grunn av forskjeller i hastighet i begroingens utvikling ble de to siste forsøkene avsluttet 2 uker etter første prøvetaking, mens de første forsøkene ble fulgt i 4 uker.

3. Resultater

3.1 Kontrollforsøk

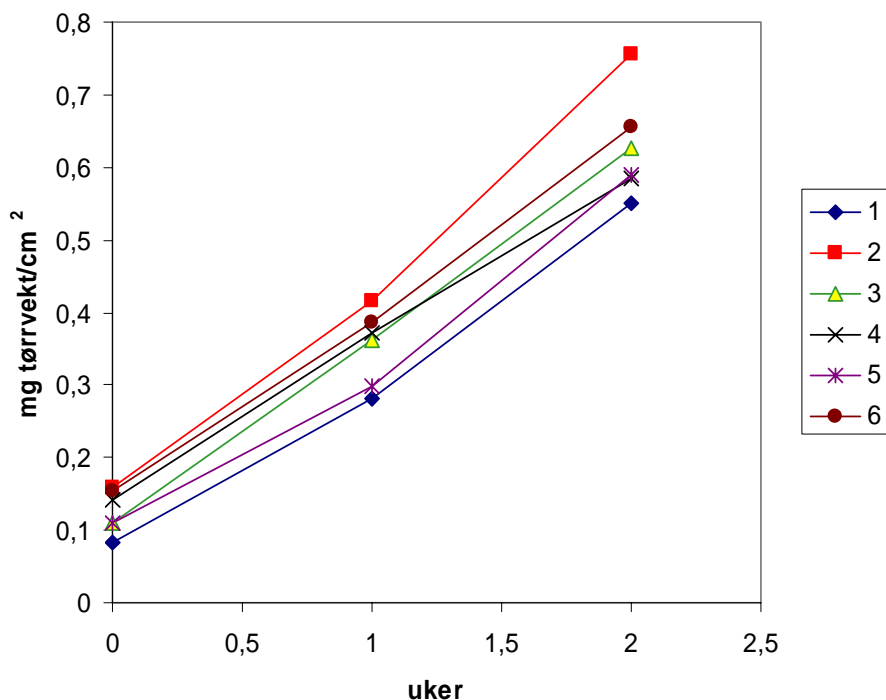
I kontrollforsøket økte algemengden (målt som tørrvekt) eksponensielt med en veksthastighet på 0.10-0.13 d^{-1} i de enkelte rennene. (Se Figur 3) Middelerdien var 0.12 d^{-1} og variasjonskoeffisienten 12 %. Etter to uker var biomassen fra 0.57 til 0.79 mg/cm^2 (variasjonskoeffisient 11 %) (Se Figur 4).

Åtte arter (slekter) av alger ble observert i rennene (Se appendix II). Tettheten av de dominerende algene etter to uker er vist i Figur 5. Figuren viser at den relative forekomsten av de ulike algene var ganske lik i alle rennene.

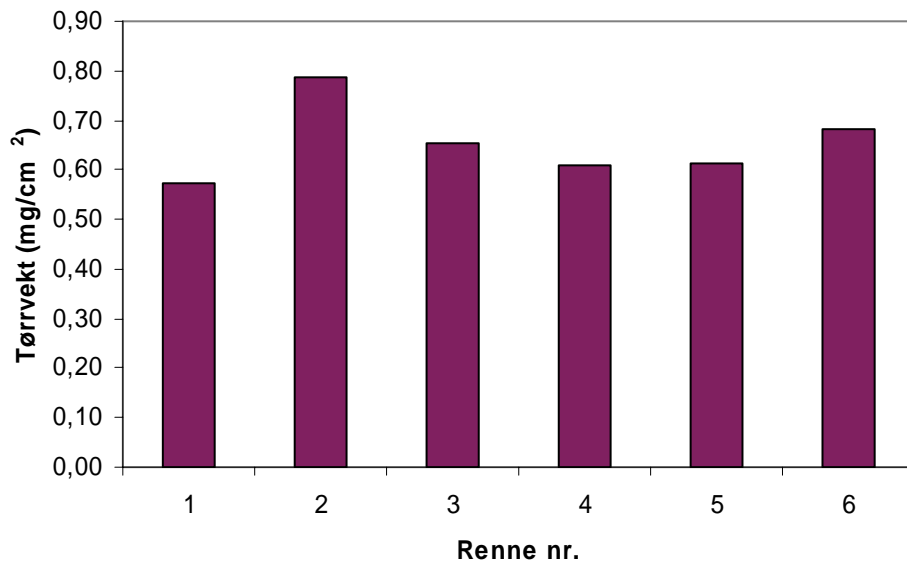
Veksthastigheter for de dominerende algene ble beregnet fra økningen i celledetthet i løpet av to uker. Resultatet for de fire vanligste algene er fremstilt i Tabell 3. *Tabellaria flocculosa* oppviste de høyeste veksthastighetene (middelerdi 0.19 d^{-1} , variasjonskoeffisient 14 %). Variasjonen i veksthastigheter for de enkelte arter var noe høyere enn variasjonen i vekst av biomasse målt som tørrvekt.

Tabell 3. Spesifikk veksthastighet (d^{-1}) for alger i forsøk med 6 kontrollrenner.

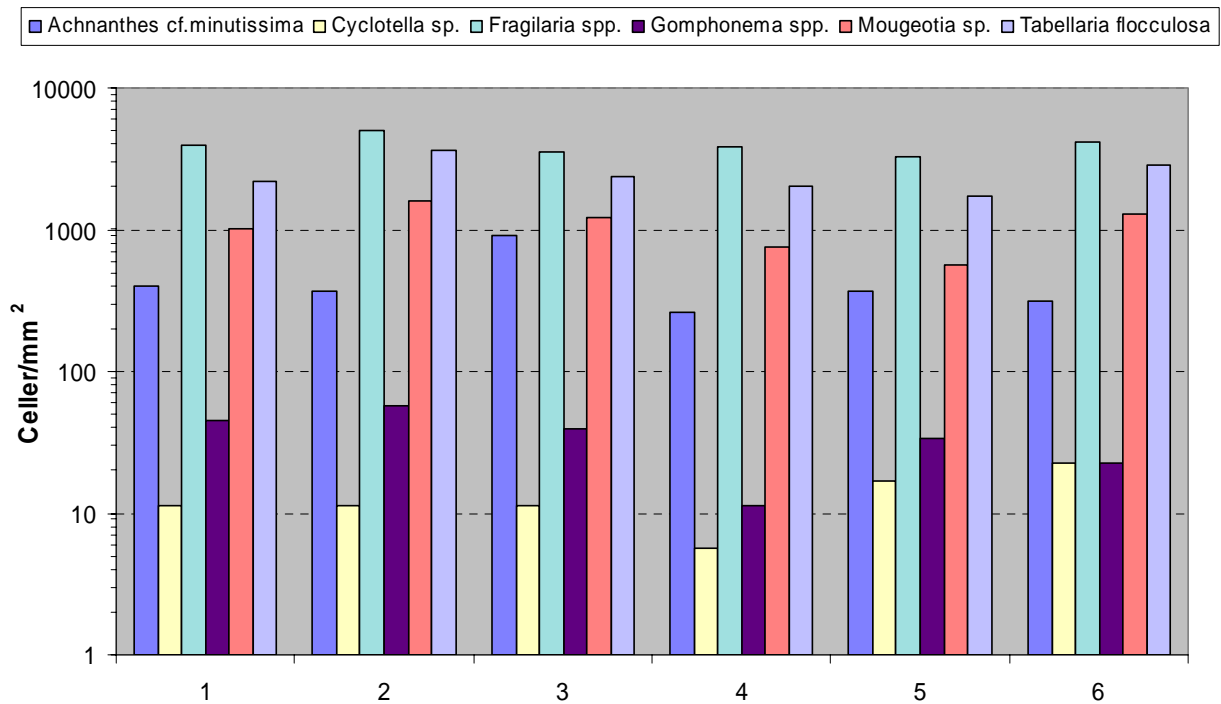
	1	2	3	4	5	6	Mv.	St.d.	cv.%
<i>Achnanthes cf. minutissima</i>	0,110	0,134	0,149	0,096	0,105	0,122	0,119	0,02	16,4
<i>Fragilaria spp.</i>	0,112	0,101	0,097	0,072	0,101	0,104	0,098	0,01	13,8
<i>Mougeotia sp.</i>	0,200	0,173	0,148	0,123	0,140	0,153	0,156	0,03	17,1
<i>Tabellaria flocculosa</i>	0,183	0,170	0,202	0,153	0,215	0,225	0,191	0,03	14,3



Figur 3. Utvikling i perifyton målt som tørrvekt per flis i forsøk med 6 kontrollrenner



Figur 4. Tørrvekt av perifyton etter 2 uker i forsøk med 6 kontrollrenner.

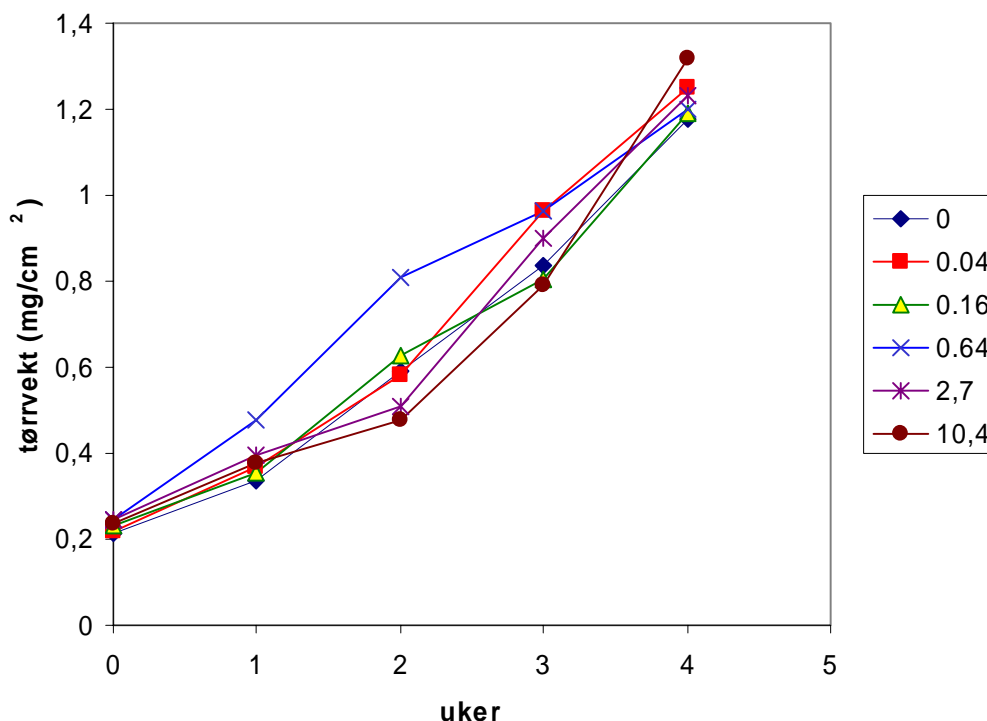


Figur 5. Mengdemessig forekomst av ulike alger etter 2 uker i forsøk med 6 kontrollrenner.

3.2 Linuron

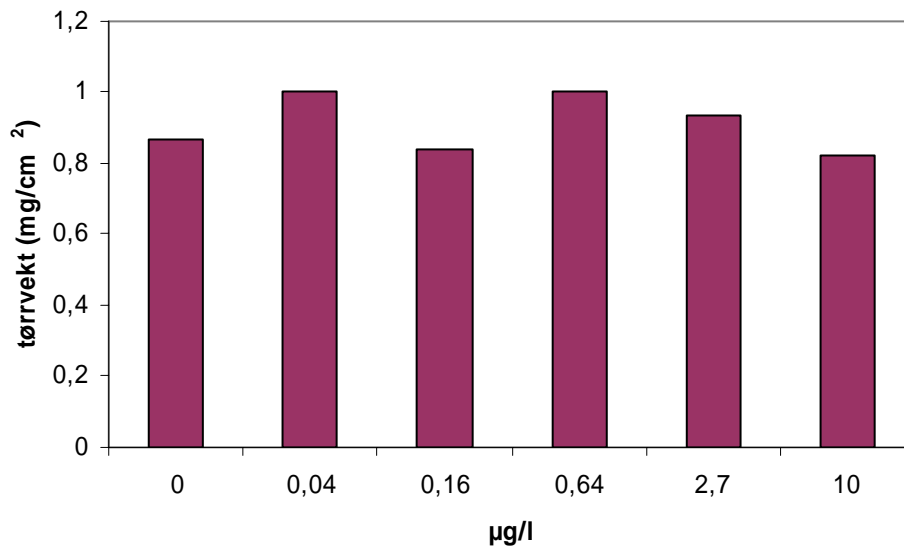
Forsøket ble startet 15 mai med dosering av linuron fra 5 juni. Temperaturen i rennene varierte fra ca. 14 °C i starten til 16 °C i slutten av forsøket. Det var en svak økende temperaturgradient på ca 1 °C fra renne 1 (Kontroll) til renne 6. Kontrollanalyser av linuron ble foretatt i renne 3 og 6 den 20 juni. Resultatene viste hhv. 0.28 og 14 µg/l, d.v.s. 75 resp. 35 % høyere enn de beregnede nominelle konsentrasjonene. Det var ingen svikt i vannføring eller dosering av stamløsning som kan forklare de avvikende i konsentrasjonene (se appendix 1). Høyere faktiske konsentrasjoner av linuron enn de beregnede i stamløsningene, som ble laget av handelspreparatet Afalon F kan være en forklaring til avviket. I det følgende er imidlertid resultatene rapportert på basis av de nominelle konsentrasjonene.

I forsøket med Linuron var det en jevn økning i begroingsmengden i alle rennene over observasjonsperioden på 4 uker etter start av dosering. Forløpet tyder på tilnærmet eksponensiell vekst (Se Figur 6). Renne 4 (0.64 µg linuron/l) viser et litt avvikende mønster med høyere begroingstetthet enn de andre rennene etter én og to uker.



Figur 6. Utvikling i perifyton målt som tørrvekt per flis i forsøk med linuron

Sluttbiomassen etter 3 ukers eksponering er vist i Figur 7. Variasjonen i tetthet var fra 0,82 mg/cm² til 1,01 mg/l. Selv om den laveste tettheten ble registrert i rennen med høyest konsentrasjon av linuron (10 µg/l) viser ikke resultatene noen klar hemmende effekt på utviklingen av begroingsmengde. Variasjonskoeffisienten for sluttbiomasse i de seks rennene var 8.9 %, som er lavere enn i kontrollforsøket.

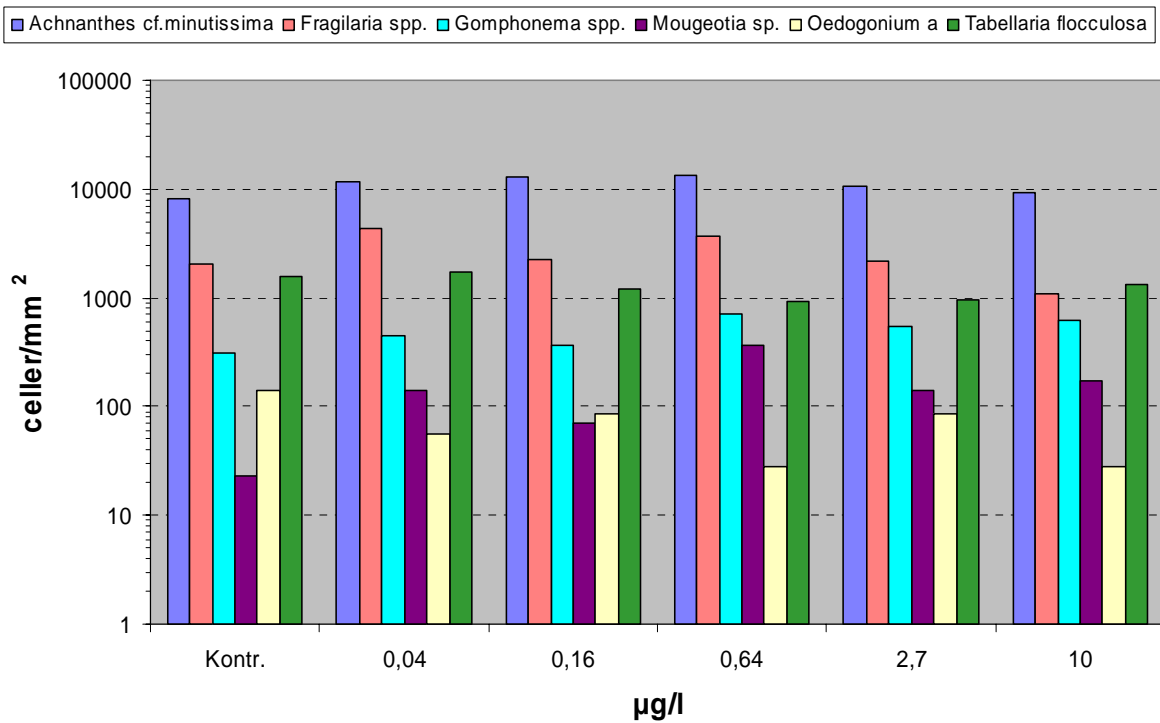


Figur 7. Begroingsmengde etter 3 ukers eksponering til linuron.

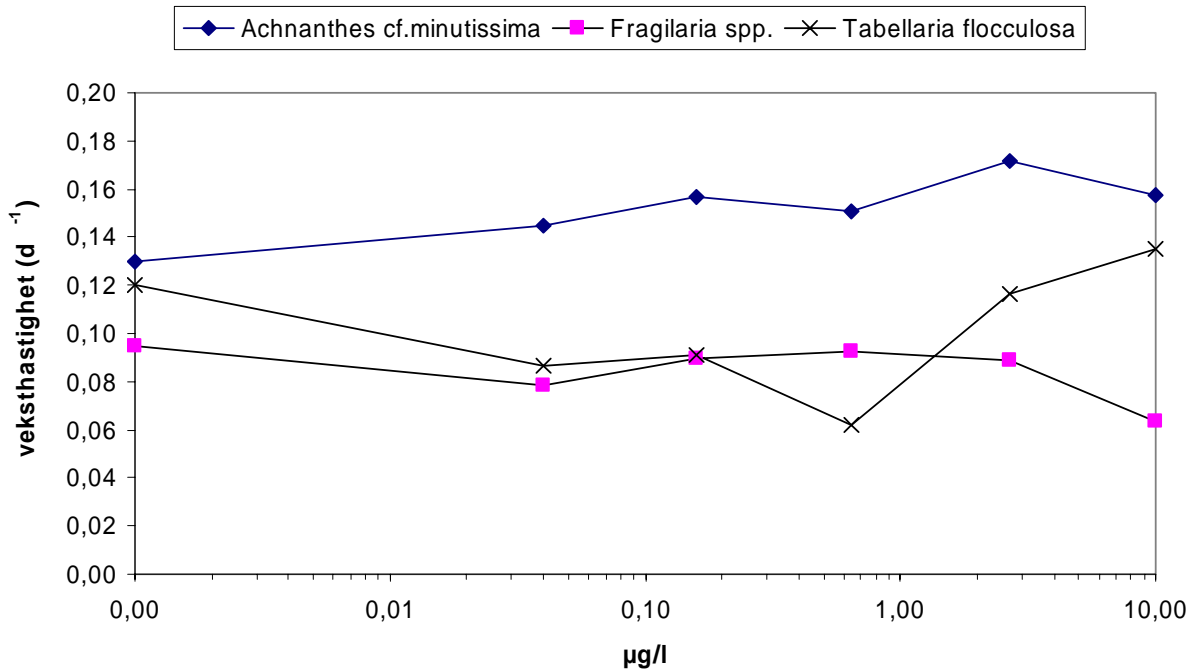
17 arter (slekter) av alger ble registrert i forsøket med linuron (Se appendix II). De vanligste artene var *Achnantes cf. minutissima*, *Fragilaria spp.*, *Gomphonema spp.* og *Tabellaria flocculosa*. Forekomsten av de vanligste artene etter 3 uker er vist i Figur 8. Forekomsten i de ulike rennene tyder ikke på noen hemmende effekt av linuron på noen av disse artene. Av de øvrige algene som er observert mer sporadisk er det ingen som er funnet i kontrollrennen som savnes i rennen med høyest konsentrasjon av linuron. Det er derfor ikke trolig at linurondoseringen har hatt noen innvirkning på forekomsten av disse algene.

Veksthastigheten kunne beregnes for 3 alger i forsøket (se Figur 9). Plotting av resultatene i et konsentrasjon/respons-diagram viser ingen tegn til effekter på veksthastigheten opp til 2,7 µg/l, men med en mulig tendens til svekking av veksthastigheten hos *Fragilaria spp.* ved 10 µg/l. For *T. flocculosa* viser resultatet en klar økning i veksthastigheten ved de to høyeste konsentrasjonene av linuron. Dette skyldes at tettheten ved start av dosering varierte mye mellom rennene. Etter tre ukers eksponering var derimot tettheten av *T. flocculosa* ganske lik i alle rennene, som fremgår av Figur 9. Det er derfor trolig at forskjellene i de beregnede veksthastighetene til stor del skyldes usikkerheten i tellingen av denne algen ved start, når tettheten var lav. På grunn av at *T. flocculosa* opptre i kolonier (kjeder) blir unøyaktigheten i telling større. Variasjonskoeffisienten for algenes veksthastighet i de ulike rennene var 26% for *T. flocculosa*. For de øvrige algene var variasjonen mellom rennene omtrent som i kontrollforsøket (9-17 %).

Sammenfatningsvis viser resultatene ikke noen hemmende effekt av linuron på vekst av perifyton i konsentrasjoner opp til 10 µg/l, som var den høyeste nominelle eksponeringskonsentrasjonen. Dersom de analyserte konsentrasjonene legges til grunn var høyeste konsentrasjon 14 µg/l.



Figur 8. Mengdemessig forekomst av ulike alger etter 3 uker i forsøk med linuron.

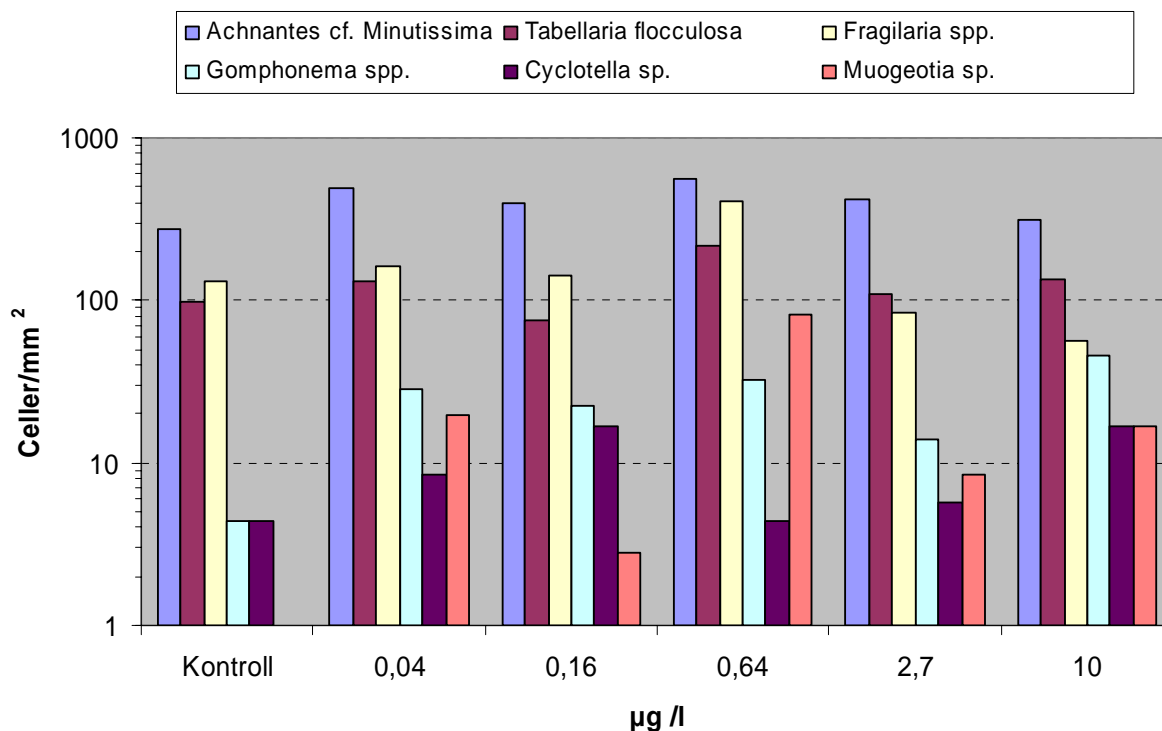


Figur 9. Veksthastigheter for dominerende alger i forsøk med linuron.

Nytablert begroing

Nytablering av perifyton i løpet av én uke ble undersøkt den tredje uken med eksponering til linuron. Tettheten av alger på flisene er vist i og Figur 10. Resultaten viser høyest tetthet for flere alger i rennen med 0,64 µg/l av linuron. Ved den høyeste konsentrasjonen (10 µg/l) var tettheten av alle de

registrerte algene unntatt *Fragilaria* sp. høyere enn i kontrollen. For *Fragilaria* sp. er det en tendens til minkende tetthet ved konsentrasjoner over 0.64 µg/l som kan tyde på at eksponeringen til linuron har hemmet nyetableringen i noen grad. For øvrige alger ser det ikke ut til at konsentrasjoner opp til 10 µg/l har hatt noen hemmende effekt.

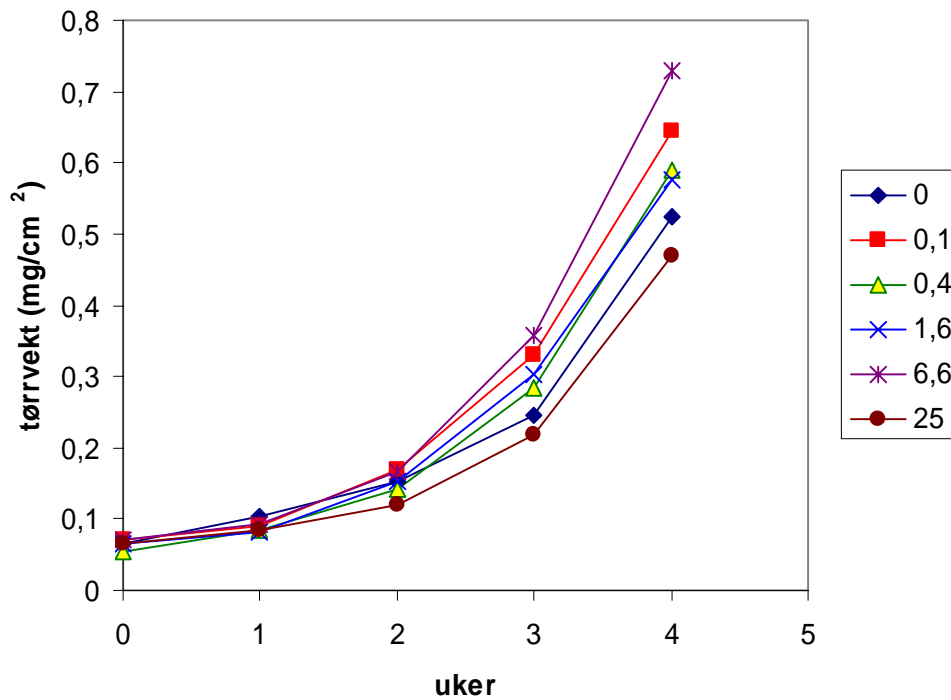


Figur 10. Mengdemessig forekomst av ulike alger i nyetablert begroing etter 3 uker i forsøk med linuron

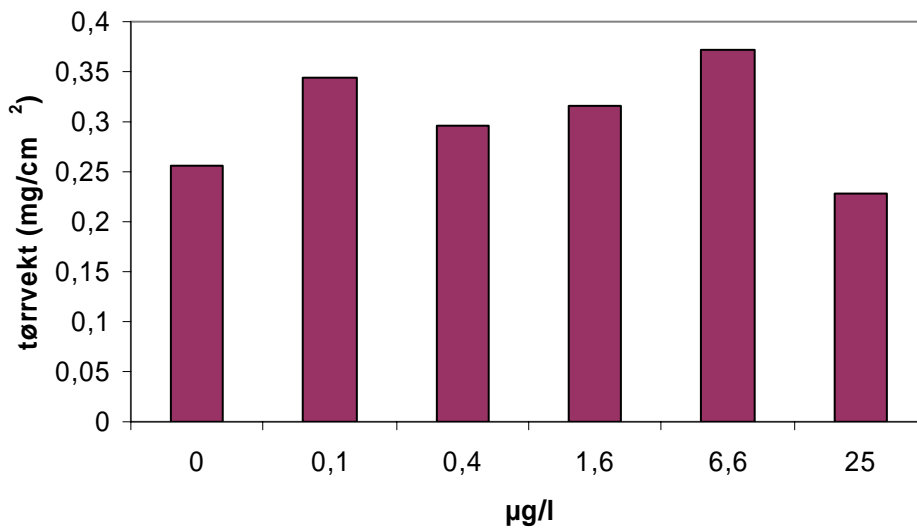
3.3 Metribuzin

Forsøket ble startet 5 juli, med dosering av metribuzin fra 17 juli. Temperaturen var ca. 16 °C gjennom hele forsøket, med en svak økende gradient på ca. 1 °C fra renne 1 til 6. Kontrollanalyser av metribuzin i rennene 3 og 5 viste 0.39 resp. 5.8 µg/l. Dette er hhv. 98 og 88 % av de beregnede konsentrasjonene. Målingene av vannføring og dosering av stamløsning viste ingen avvik gjennom hele forsøket (Se appendix 1). I det følgende er resultatene basert på beregnede nominelle konsentrasjoner.

I forsøket med metribuzin ble det observert en eksponensiell økning i begroingstettheten i fire uker etter start av dosering (se Figur 11). Økningen var noe langsommere i renne 1 og 6 (kontrollrenne og høyeste konsentrasjon av metribuzin, 25 µg/l). Dette vises også av begroingstettheten etter 3 uker (Figur 12.). Variasjon i begroingstetthet i rennene etter 3 uker var større enn i kontrollforsøket (18 %), men mangel på dose/respons-sammenheng gjør at det ikke sikkert kan fastslås at på at variasjonen i algetetthet skyldes tilsetning av metribuzin.



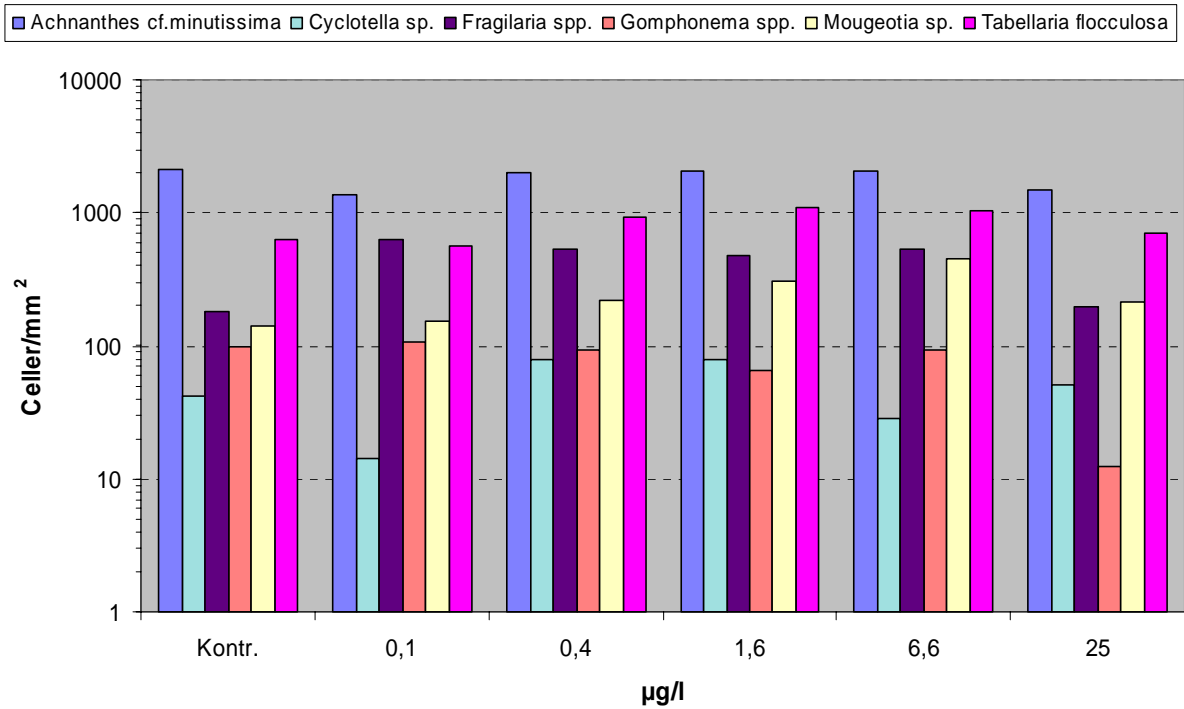
Figur 11. Utvikling i perifyton målt som tørrvekt per flis i forsøk med metribuzin



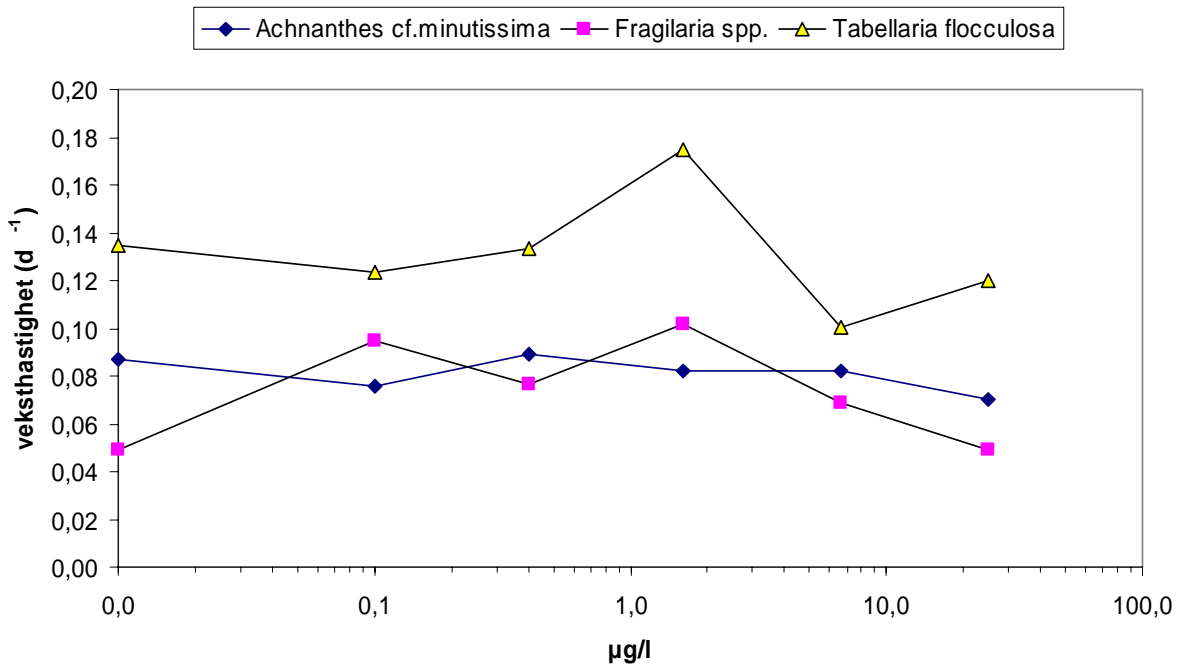
Figur 12 Begroingsmengde etter 3 ukers eksponering til metribuzin

Dominerende arter i forsøket var *A. cf. minutissima*, *Fragilaria spp.*, *Gomphonema spp.*, *Mougeotia sp.* og *T. flocculosa* (se appendix II). Forekomsten i de ulike rennene tyder ikke på noen klar sammenheng med konsentrasjonen av metribuzin, muligvis med unntak for *Gomphonema spp.*, som hadde lavest tetthet ved den høyeste konsentrasjonen av metribuzin (25 µg/l).

Veksthastigheten er beregnet for 3 arter ved dette forsøket. For to av algene (*T. flocculosa* og *Fragilaria spp.*) er det en tendens til høyest veksthastigheter i de midtre konsentrasjonene, som også viste seg i begroingstettheten. For *A. cf. minutissima* var det liten variasjon i veksthastighet mellom rennene.

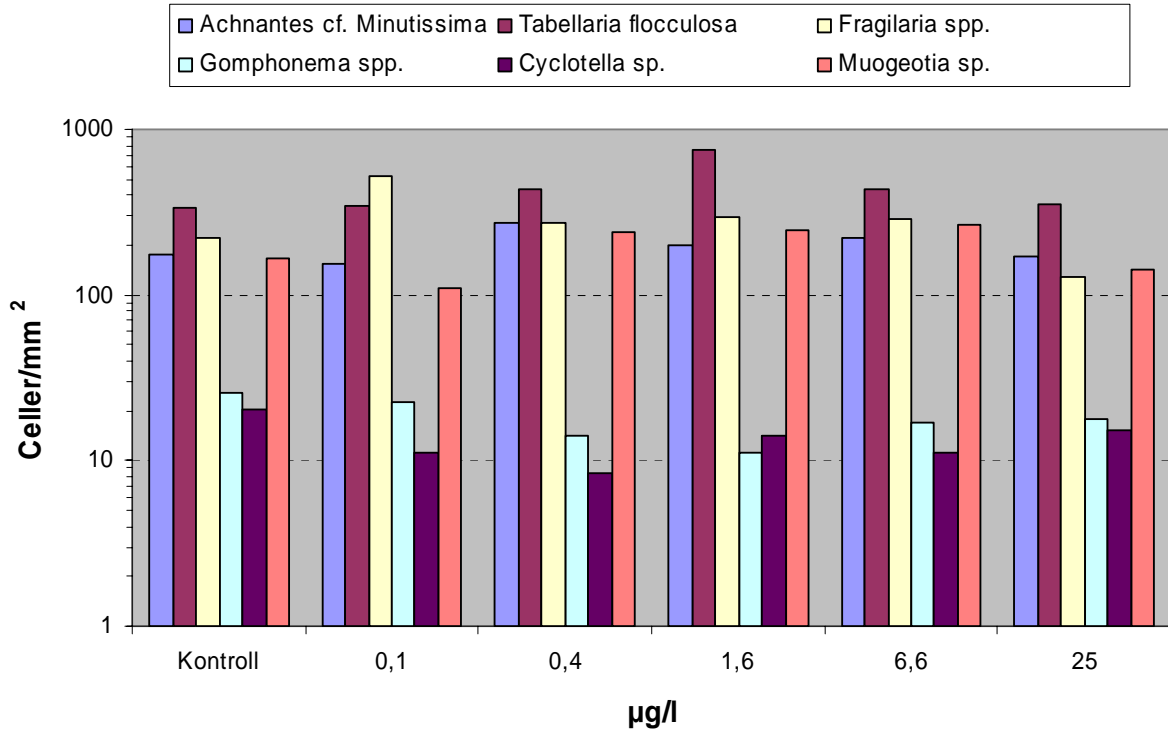


Figur 13. Mengdemessig forekomst av ulike alger etter 3 uker i forsøk med metribuzin.



Figur 14. Veksthastigheter for dominerende alger i forsøk med metribuzin.

Nytablert begroing i løpet av én uke ble undersøkt etter 2 ukers eksponering til metribuzin. Tettheten av registrerte alger er vist i Figur 15. Det var tildels betydelig variasjon i forekomsten av ulike alger mellom rennene, men lite indiksjoner om sammenhenger med konsentrasjoner av metribuzin. For *Fragilaria* sp. var tettheten lavest i rennen med høyest belastning (25 µg/l).



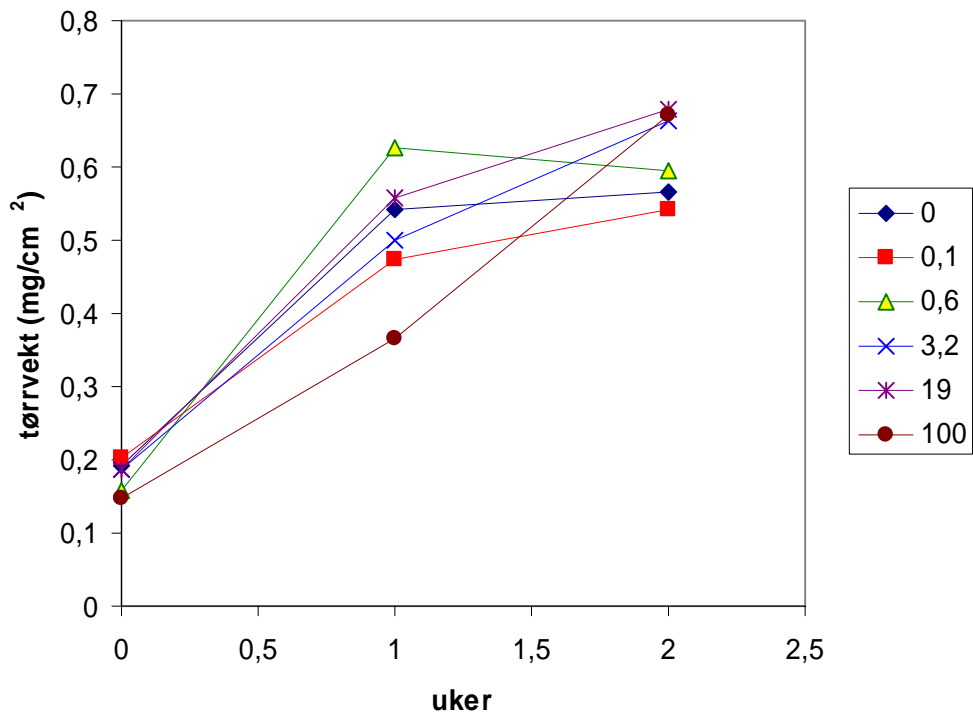
Figur 15. Mengdemessig forekomst av ulike alger i nytablert begroing etter 3 uker i forsøk med metribuzin

Sammenfatningsvis tyder resultatene på at metribuzin ikke påvirket den mengdemessige utviklingen av perifyton opp til 6.6 µg/l. Den reduserte begroingstettheten i renne 6 etter tre uker indikerer imidlertid at den høyeste testkonsentrasjonen, 25 µg/l har redusert utviklingen av perifytonsamfunnet noe. Også forekomsten av *Gomphonema* spp. og ny-etableringen av *Fragilaria* spp. kan tyde på en viss påvirkning ved 25 µg/l.

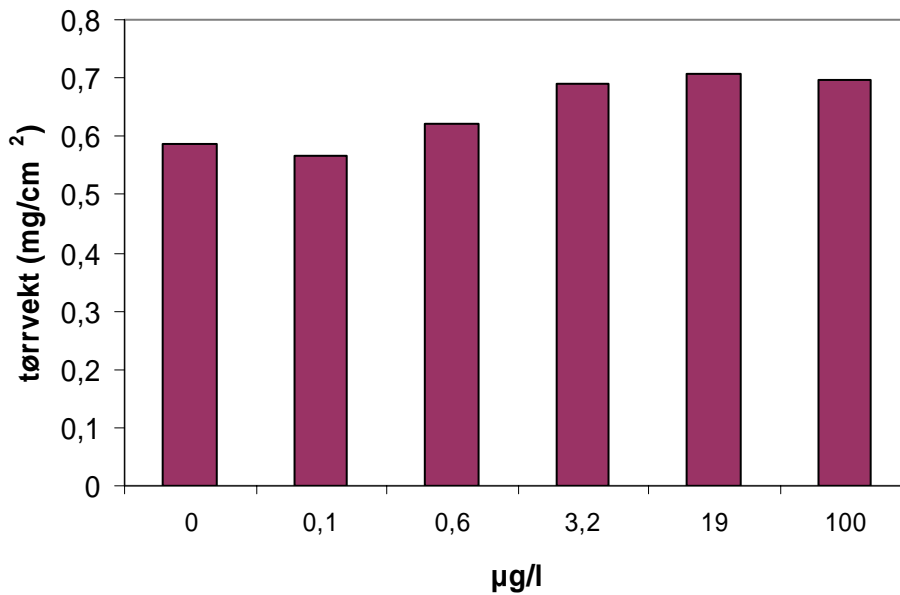
3.4 Tribenuron-metyl

Forsøket ble startet 17 august, med dosering av tribenuron-metyl fra 28 august. Temperaturen var ca. 15 °C, med mindre enn 0.5 °C avvik mellom rennene. Det ble ikke foretatt kontrollanalyser av tribenuron-metyl i rennene. Vannføringen og doseringen av stamløsninger var stabil gjennom hele forsøket (se appendix 1) og resultatene er basert på beregnede nominelle konsentrasjoner.

I forsøket med tribenuron-metyl økte begroingstettheten raskt den første uken med dosering. Deretter stagnerte veksten helt eller delvis i fem av rennene (Se Figur 16). I renne 6 med høyest dosering av tribenuronmetyl (100 µg/l) kan utviklingen tyde på en hemming av veksten fra starten. Etter to ukers eksponering hadde begroingen i denne renne nådd opp til samme nivå som i de andre rennene (Se Figur 17). Undersøkelsen av nyetableringshastigheten den andre og tredje uken med eksponering viste imidlertid ikke noen klar reduksjon ved 100 µg/l. Variasjonene i biomassetetthet i rennene etter to uker var 9.6 % som er omtrent samme som i kontrollforsøket.



Figur 16. Utvikling i perifyton målt som tørrvekt per flis i forsøk med tribenuron-metyl.

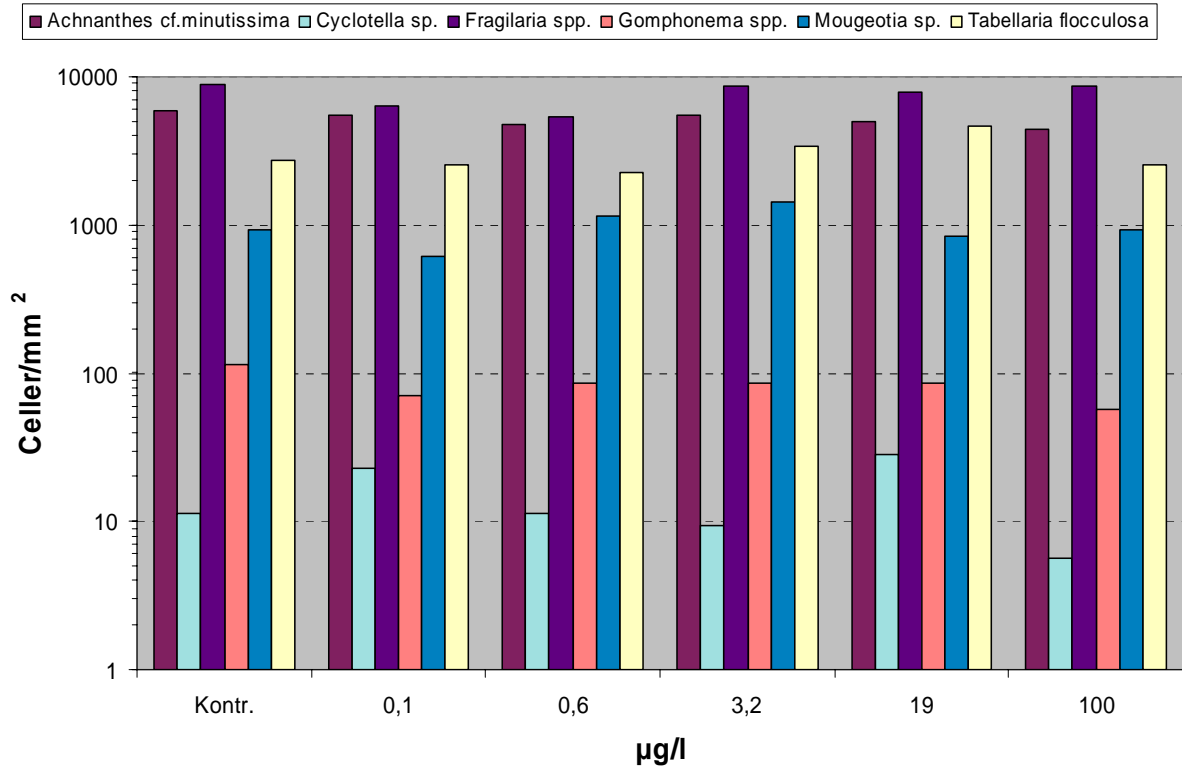


Figur 17. Begroingsmengde etter 2 ukers eksponering til tribenuron-metyl

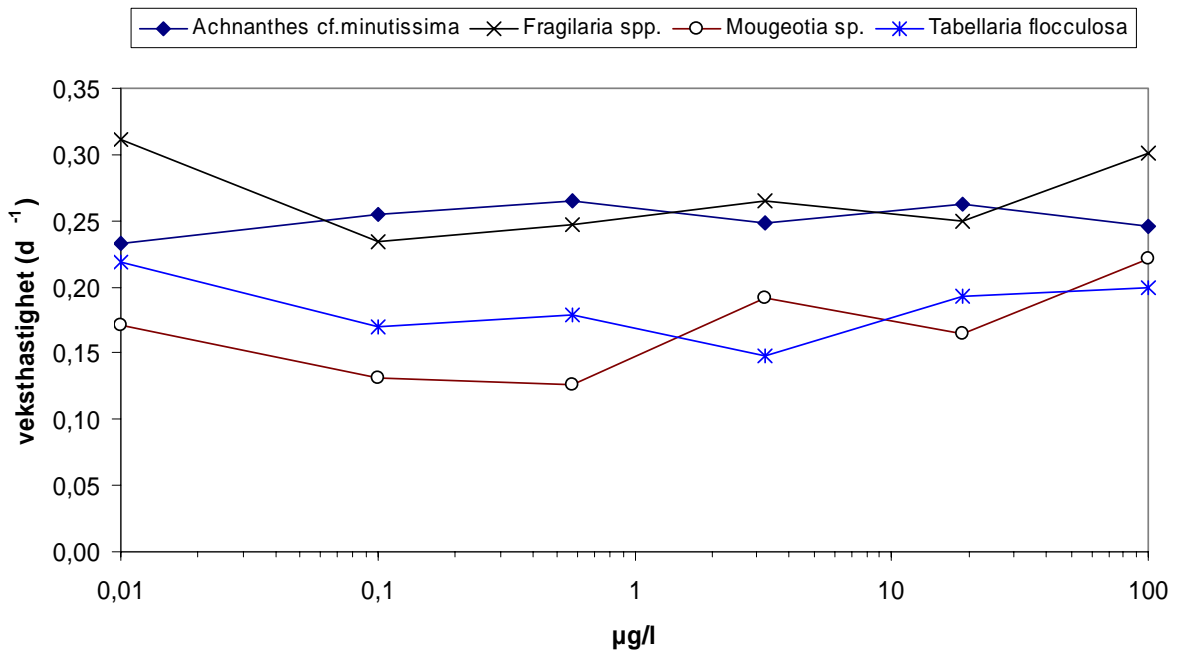
Det ble registrert 8 arter av perifyton i forsøket. *Achnantes cf. minutissima*, *Fragilaria spp.*, *Mougeotia sp.* og *Tabellaria flocculosa* var dominerende (se appendix II).

Forekomsten av alger i de ulike rennene etter to ukers dosering viser ingen sammenheng med doseringen av tribenuron-metyl (se Figur 18).

Veksthastigheter kunne beregnes for fire arter. Selv om utviklingen av begroingstettheten tydet på at veksten stagnerte etter én uke viste beregningen høyere veksthastigheter for *T. flocculosa*, *A. cf. minutissima* og *Fragilaria spp.* enn ved de tidligere forsøkene. Resultatene tyder ikke på at noen av artene var hemmet av tribenuron-metyl (se Figur 19).



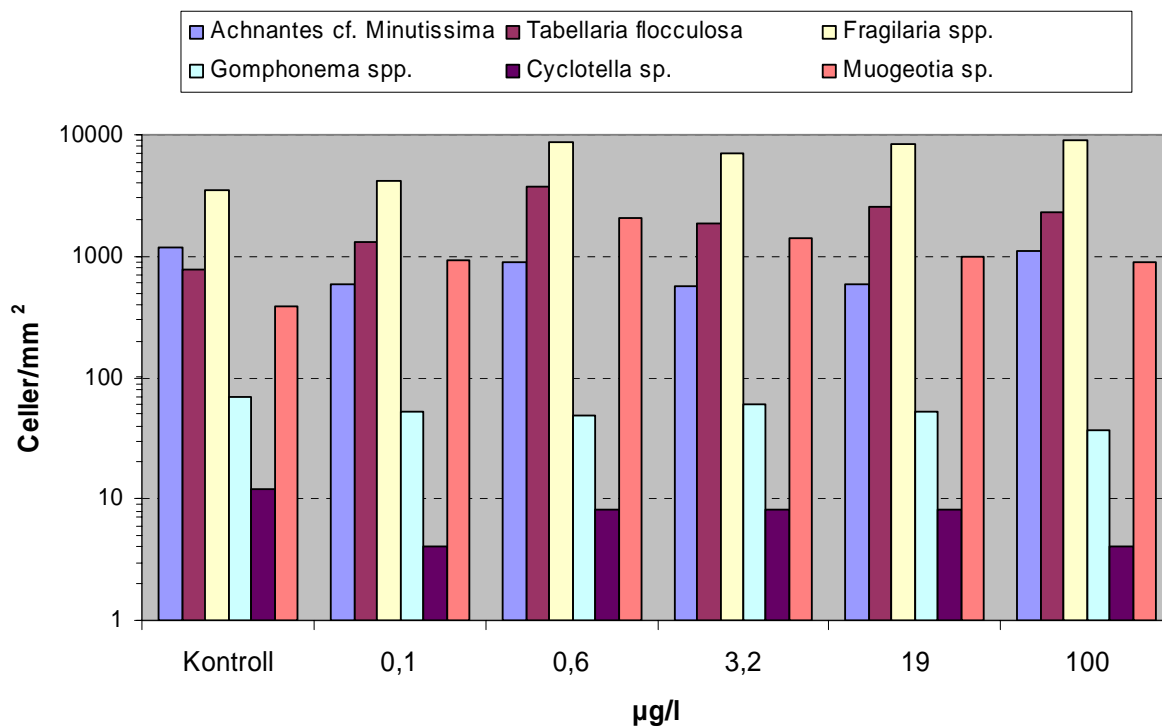
Figur 18. Mengdemessig forekomst av ulike alger etter 2 uker i forsøk med tribenuron-metyl.



Figur 19. Veksthastigheter beregnet i forsøk med tribenuron-metyl.

Sammenfatningsvis viste forsøket med tribenuron-metyl ingen klar effekt på mengdemessig utvikling eller på artsammensetning av perifytonsamfunnet opp til konsentrasjonen 100 µg/l.

Nyetablering av begroing i løpet av én uke ble undersøkt etter to ukers eksponering til tribenuron-metyl. Algeteheten i rennene er vist i Figur 20. Resultatene tyder ikke på noen effekt av tribenuron-metyl på nyetablering av de registrerte artene i det undersøkte konsentrasjonsområdet.



Figur 20. Mengdemessig forekomst av ulike alger i nyetablert begroing etter 2 uker i forsøk med tribenuron-metyl.

4. Diskusjon

De tre undersøkte plantevernmidlene er alle ugrassmidler, som er den dominerende gruppen av de som overskrider den beregnede miljøfarlighetsgrensen (MFI) ifølge resultater fra overvåking av bekker og elver i Norge (Ludvigsen & Lode 2001). For disse midlene er det naturlig at algene er de mest følsomme organismene av de som normalt undersøkes i forbindelse med godkjenning av plantevernmidler. Toksisiteten overfor alger blir undersøkt ved laboratorieforsøk med kulturer av grønnalger i en konsentrasjonsserie av plantevernmidlet. Effekten på algenes vekst over 3-4 døgn blir registrert og den konsentrasjon som gir 50% reduksjon av algenes vekst i forhold til kontrollkulturen blir beregnet (EC_{50} -verdien). EC_{50} -verdien beregnes enten på grunnlag av biomasseøkningen i løpet av testen og blir da betegnet E_bC_{50} eller på grunnlag av veksthastighet. I dette tilfelle betegnes den E_rC_{50} . Egentlig er veksthastigheten den mest relevante effektparameteren når man skal sammenligne effekten på ulike alger eller vurdere effekter i miljøet, men fordi biomasse-beregningen gir en lavere EC_{50} -verdi er det i praksis ofte E_bC_{50} som blir brukt som grunnlag for miljøfarlighetsvurderinger.

Ofte foreligger det flere resultater av algetester enten med samme art eller med ulike arter. Forskjellene i EC_{50} -verdiene kan være forholdsvis store selv mellom tester med samme art. Som et føre var-prinsipp velger man den laveste rapporterte, kvalitetssikrede EC_{50} -verdien som grunnlag for risikovurderinger. I Tabell 4 er laveste E_rC_{50} -verdier for de plantevernmidler som er undersøkt i renneforsøkene gjengitt. For linuron er E_rC_{50} -verdien 16 µg/l fra en test med *Scenedesmus subspicatus*. Det er også rapportert en lavere EC_{50} -verdi fra en test med *Chlorella vulgaris*, ($E_bC_{50} = 7$ µg/l), men her er effekten beregnet på basis av biomasse etter 4 døgn eksponering. Van den Brink et al. (1996) refererer en EC_{50} -verdi = 6 µg/l for veksthemning av *Scenedesmus acutus*. Andre tester med grønnalger viser EC_{50} -verdier fra 50-650 µg/l. E_rC_{50} -verdien for metribuzin er fra en test med

grønnalger, hvor effekten på veksthastighet er undersøkt. Andre testresultater med metribuzin er ikke kjent. For tribenuronmetyl er det rapportert en EC_{50} -verdi for effekt på veksthastigheten av *Selenastrum capricornutum* ($E_rC_{50} = 112 \mu\text{g/l}$). Andre tester med samme alge har vist E_rC_{50} -verdier på hhv. 4.5 og 8 mg/l.

Tabell 4. EC_{50} -verdier fra laboratorieforsøk med grønnalger, beregnet miljøfarlighetsindeks og konsentrasjonsområder i renneforsøk for de tre undersøkte plantevernmidlene.

	E_rC_{50} alger ($\mu\text{g/l}$)	Miljøfarlighetsindeks ($\mu\text{g/l}$)	Konsentrasjonsområde i renneforsøk ($\mu\text{g/l}$)
Linuron	16	0.16	0.04 - 10
Metribuzin	22	0.22	0.1 - 25
Tribenuronmetyl	112	1.1	0.1 - 100

Miljøfarlighetsindeks må nødvendigvis være lavere enn EC_{50} -verdien, dels fordi man må komme ned fra 50 % effektkonsentrasjon til en "nulleffekt"-konsentrasjon og dels for å ta høyde for at andre arter kan være følsommere enn de få som er testet i laboratorieforsøk. I JOVÅ-programmet har man benyttet en faktor 0.01 for å beregne miljøfarlighetsindeks (Ludvigsen og Lode 2001). I EUs risikovurderingsprogram for plantevernmidler brukes isteden faktoren 0.1 for alger (Directive 91/414/EEC, Annex VI). Med kjennskap til den store forskjellen i følsomhet mellom alger når det gjelder effekter av plantevernmidler (se f.eks. Blanck et al. 1984, Källqvist & Romstad 1994), virker dette som en meget lav sikkerhetsmargin.

I overvåkingen av landbruksbekker i Norge er det i perioden 1995-99 gjort 43 funn av linuron over MFI (5% av antall analyserte prøver). For metribuzin er det registrert 38 overskridelser av MFI (4.4 %). Dersom MFI settes med en lavere sikkerhetsmargin vil selvsagt antall overskridelser minke, men selv med 10 ganger høyere MFI er det registrert overskridelser av både linuron og metribuzin. Tribenuron-metyl, som er et lavdosemiddel er bare analysert for i 9 prøver og er foreløpig ikke påvist.

Renneforsøkene ble gjort med kontinuerlig dosering av plantevernmidler i et konsentrasjonsområde fra under MFI og opp til nær EC_{50} -verdien i laboratorietester. Dette opplegg ble valgt for å beskrive dose/respons-sammenhengen for effekter av plantevernmidlene på perifytonsamfunnet. Ulempen med en forsøksdesign uten replikater er at den ikke gir anledning til å bruke statistiske metoder for å sammenligne utviklingen i de ulike rennene. Alternativet - å benytte tre renner som kontroll og tre med et konsentrasjonsnivå av plantevernmiddel - ville fra et statistisk synspunkt vært mer gunstig, men hadde på den annen side ikke gitt informasjon om effekter som funksjon av konsentrasjon av plantevernmiddel.

Selv om det var tilstrebet å skape identiske forhold i de seks forsøksrennene er det ikke mulig å oppnå en helt identisk utvikling av et kompleks biologisk samfunn i seks paralleller. Kontrollforsøket uten dosering av plantevernmiddel ble gjort for å få et inntrykk av hvor stor variasjon man kan vente mellom parallellene. Resultatet viste variasjonskoeffisienter på 11-12 % for begroings tetthet. Variasjonen i den mengdemessige forekomsten av de enkelte alger er avhengig dels av den virkelige variasjonen i rennene og dels av usikkerheten ved telling. Den siste faktoren er bl.a. avhengig av hvor mange alger som blir talt og hvor jevnt fordelt algecellene er i preparatet. Noen av artene danner kolonier eller kjeder slik at det oftest telles flere celler dersom de først påtreffes. For de mer hyppig forekommende algene (over 10 celler/ mm^2 etter to uker) var variasjonskoeffisienten for tetthet i de ulike rennene i kontrollforsøket opp til ca. 50 %. Variasjonen i veksthastighet for ulike arter mellom rennene var imidlertid lavere (14-17 %).

På grunn av den naturlige variasjonen i utviklingen av algesamfunnene i forsøksrennene kan små avvik fra kontrollen i forsøkene med plantevernmidler ikke tolkes som effekter av plantevernmidlene

dersom de ikke følger et forventet dose/responsforløp, d.v.s. at effekten øker med konsentrasjonen. I forsøkene ble det benyttet store sprang i konsentrasjoner fra en renne til neste. Dersom man observerer en begynnende effekt i én renne bør man derfor kunne vente en drastisk effekt i neste renne. Til tross for at forsøkene omfattet konsentrasjoner opp mot EC_{50} -verdiene i laboratorietester ble det ikke registrert noen klare doserelaterte effekter for noen av plantevernmidlene. Avvikene i forhold til kontrollrennen i total begroingsmengde, samt forekomst og veksthastighet av enkeltarter var ikke større i forsøkene med plantevernmidler enn i kontrollforsøket. I forsøket med metribuzin kan en redusert utvikling ved den høyeste testkonsentrasjonen tyde på begynnende veksthemming ved konsentrasjonen 25 $\mu\text{g/l}$, som er nær den rapporterte EC_{50} -verdien for grønnalger.

Resultatene viser at naturlige samfunn av perifyton dominert av kiselalger er forholdsvis motstandsdyktige mot toksisk påvirkning av de undersøkte ugrassmidlene. Siden disse dessuten representerer tre ulike kategorier av ugrassmidler med forskjellige virkningsmekanismer kan det tyde på at slike perifytonsamfunn generelt er lite følsomme for plantevernmidler. En slik hypotese støttes av resultater fra en japansk undersøkelse som viste at kiselalger var tolerante mot ugrassmidlene simetryn og pretilachlor, mens grønnalger som ikke var adaptert til plantevernmidler var mer følsomme (Kasai 1999). Det samme synes å være tilfelle for atrazin (Hoagland et al. 1996, Guasch et al. 1998). For øvrig er det gjort få undersøkelser av effekter på perifytonsamfunn dominert av kiselalger. Det er også funnet lite resultater av effektstudier med de ugrassmidler som er benyttet i denne studien. Effekten av Linuron er imidlertid studert i microcosm-forsøk i Nederland (Van den Brink et al. 1996). Forsøkene ble gjort i glassakvarier uten gjennomstrømning. Akvariene inneholdt sediment og vann og var beplantet med makrofyter. I perifytonsamfunnet ble det observert en reduksjon i forekomst av kiselalgen *Cocconeis* sp. etter to ukers eksponering til 5 $\mu\text{g/l}$ linuron/l. For grønnalgen *Chlamydomonas* sp. ble det registrert økt forekomst ved linuroneksponering opp til 150 $\mu\text{g/l}$. Utviklingen av andre arter er ikke nevnt, hvilket tyder på at de ikke ble signifikant påvirket av linuroneksponeringen. På grunn av effekten på *Cocconeis* sp. og på vekten av vasspest (*Elodea canadensis*) ved 5 $\mu\text{g/l}$ ble NOEC i forsøket satt til 0.5 $\mu\text{g/l}$, som var den nærmest lavere konsentrasjonen. I vår studie ble *Cocconeis* sp. ikke observert i perifytonsamfunnet, og resultatene er derfor ikke i konflikt med den nederlandske undersøkelsen.

Med tanke på den store forskjellen i følsomhet mellom algearter som er demonstrert i tidligere undersøkelser er det overraskende at alle de arter som ble registrert i renneforsøkene var mindre følsomme enn de grønnalger som er benyttet i laboratorietester for bestemmelse av EC_{50} -verdier. En faktor som kan bidra til å redusere følsomheten hos fastsittende alger i forhold til planktonalger er at perifytonsamfunnet kan karakteriseres som en biofilm. I en biofilm kan det oppstå sterke gradienter i konsentrasjon av næringsstoffer og toksiske stoffer. Derfor kan i biofilmer være vesentlig mer robuste mot antimikrobielle agens enn suspensjonskulturer (Brown & Gilbert 1993, Costerton 1995). Dersom begroingsfilmen fører til en konsentrasjonsgradient av plantevernmidler, slik at de algene som ligger innerst får en lavere eksponering enn de som er ytterst i filmen, kan man tenke seg at algene vokser innenfra selv om algene lengre ut er hemmet. Dette vil redusere skadevirkningene av plantevernmidler på et etablert perifytonsamfunn. Renneforsøkene tydet imidlertid ikke på at nyetableringen av alger ble mer påvirket av plantevernmiddeleksponering enn veksten av de etablerte samfunnene. I etableringsfasen vil biofilmeffekten være betydelig mindre enn i tette etablerte perifytonsamfunn.

På bakgrunn av disse resultatene kan det virke som MFI-verdiene, som de er beregnet i JOVÅ-programmet er overdrevet konservative, dersom de skal indikere faren for effekter på perifytonsamfunn i bekker. Det er trolig at planktonalgesamfunn er mer følsomme for plantevernmidler, men eksponeringen av miljøer hvor disse forekommer vil være betydelig lavere enn i små jordbruksbekker som drenerer arealer som sprøytes med plantevernmidler.

På grunnlag av resultatene fra renneforsøkene med kontinuerlig dosering av plantevernmidler i flere uker er det klart at de langt lavere nivåer som er registrert i landbruksbekker ikke vil føre til påvisbare endringer i perifytonsamfunnene i disse bekkene. Dette støtter konklusjonene fra undersøkelsene av

perifyton i overvåkingsprogrammet, at de store svingninger i forekomst av alger som er observert skyldes andre faktorer enn eksponering til plantevernmidler.

5. Referanser

- Blanck, H., Wallin, G. & Wängberg, S.-Å. 1984: Species dependent variation in algal sensitivity to chemical compounds. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 8: 339-351.
- Brown, M.R.W & Gilbert, P. 1993: Sensitivity of biofilms to antimicrobial agents. *Society of Applied Bacteriology, Symposium Series* 22: 87-97.
- Costerton, J.W. 1995: Overview of microbial biofilms. *Journal of Industrial Microbiology* 15: 137-140.
- Guasch, H., Ivorra, N., Volker, L., Paulsson, M., Montserrat, R., Sabater, S. 1998. Community composition and sensitivity of periphyton to atrazine in flowing waters: the role of environmental factors. *Journal of Applied Phycology* 10: 203-213.
- Gurney, S.E. & Robinson G.G.C. 1989: The influence of two triazine herbicides on the productivity and community composition of freshwater marsh periphyton. *Aquatic Botany* 36: 1-22.
- Heckman, C.W., 1994. Pesticide Chemistry and Toxicity to Algae, 203-234. I: Rai, L.C. & Gaur, J.P. 1994. *Algae and Water Pollution*. Arch. Hydrobiol. Beiheft 42.
- Herman, D. Kaushik, N. K., & Solomon, K.R. 1986: Impact of atrazine on periphyton in freshwater enclosures and some ecological consequences. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 43: 1917-1925.
- Hoagland, K., Carder, J.P., Spawn, R.L. 1996. Effets of Organis Toxic Substances, 469-496. I: Stevenson, R.J., Bothwell, M.L. & Lowe; R.L. (eds.) *Algal Ecology. Freshwater Benthic Ecosystems*. Acadmic Press, San Diego, California, USA.
- Kasai, F. 1999: Shifts in herbicide tolerance in paddy field periphyton following herbicide application. *Chemosphere* 38: 919-931.
- Källqvist, T. & Romstad, R. 1994: Effects of agricultural pesticides on planktonic algae and cyanobacteria – examples of inerspecies sensitivity variations. *Norw. J. Agricult. Sci. Suppl.* 13: 117-131.
- Landbrukstilsynet, 2002: Omsetningsstatistikk for plantevernmidler 1997-2001. <http://www.landbrukstilsynet.no>.
- Ludvigsen, G.H. & Lode, O. 2001. Jordsmonnovervåking i Norge. Pesticider 1999. Jordforsk rapport nr. 22/01, 47 s.
- Ludvigsen, G.H., Källqvist, T. Løvstad, Ø. 2002: Jordsmonnovervåking i Norge. Overvåking av fastsittende alger i bekker 1999-2000. Sammenheng mellom alger og pesticider. Jordforsk rapport nr. 16/02, 51 s.

Meinert Rød, L. & Espeset, K. 1998: Avrenning av plantevernmidler i Folloområdet. Effekter av plantevernmidler og vannkjemiske faktorer på bentiske algesamfunn i jordbruksbekker. Cand. scient-oppgave ved Institutt for Jord- og Vannfag. Norges Landbrukshøgskole Ås, 75 sider.

APPENDIX I

Registrering av vannføring og temperatur

Vannføring målt i renner ved forsøk med linuron

Dato	Renne 1	Renne 2	Renne 3	Renne 4	Renne 5	Renne 6	Mv	St.d
16.05.2000	251	259	255	261	257	253	256	3,8
27.05.2000	257	269	263	263	255	257	261	5,4
01.06.2000	259	267	266	264	256	252	261	5,9
05.06.2000	258	265	267	267	251	253	260	7,0
11.06.2000	252	263	267	265	247	247	257	9,2
14.06.2000	250	258	265	265	248	249	256	7,9
20.06.2000	253	265	252	264	242	246	254	9,5
23.06.2000	255	268	262	258	257	257	260	4,7
27.06.2000	263	269	259	266	255	257	262	5,4
30.06.2000	262	268	258	265	257	259	262	4,3
03.07.2000	268	275	270	269	259	264	267	5,4
Mv	256	265	263	264	255	254		
St.d	5,7	4,8	5,4	2,9	5,3	5,5		

Dosering av stamløsninger ved forsøk med linuron

Dato	Renne 2	Renne 3	Renne 4	Renne 5	Renne 6
05.06.2000	0,72	0,69	0,70	0,67	0,69
06.06.2000	0,75	0,72	0,73	0,62	0,53
06.06.2000	0,73	0,69	0,69	0,73	0,70
07.06.2000	0,71	0,69	0,69	0,71	0,70
11.06.2000	0,73	0,70	0,70	0,72	0,70
14.06.2000	0,71	0,69	0,69	0,72	0,71
20.06.2000	0,71	0,69	0,69	0,72	0,69
23.06.2000	0,71	0,69	0,69	0,72	0,69
27.06.2000	0,68	0,69	0,69	0,72	0,69
30.06.2000	0,67	0,69	0,68	0,72	0,69
03.07.2000	0,62	0,69	0,69	0,72	0,69
Mv	0,704	0,693	0,694	0,705	0,681
St.d	0,023	0,009	0,012	0,035	0,053
Linuron	(beregnet)	0,039	0,157	0,63	2,67
					10,4 µg/l

Temperatur målt i renner ved forsøk med linuron

Dato	Renne 1	Renne 2	Renne 3	Renne 4	Renne 5	Renne 6	Mv	St.d
16.05.2000	13,5	13,8	14,1	14,2	14,5	14,5	14,1	0,39
27.05.2000	14,1	14,4	14,8	14,4	15,3	15,3	14,7	0,50
01.06.2000	13,3	13,6	13,4	14,1	14,4	14,4	13,9	0,50
05.06.2000	13,6	14	14,4	14,6	14,9	14,9	14,4	0,52
11.06.2000	13,7	14,1	14,3	14,4	14,7	14,7	14,3	0,38
14.06.2000	13,8	14,1	14,5	14,6	14,9	14,8	14,5	0,42
20.06.2000	14,4	14,7	15,1	15,2	15,5	15,5	15,1	0,44
23.06.2000	14,6	14,9	15,3	15,5	15,7	15,7	15,3	0,45
30.06.2000	15	15,3	15,7	15,9	16,2	16,2	15,7	0,49
04.07.2000	15,2	15,6	15,9	16,1	16,5	16,5	16,0	0,51
Mv	13,63	14,0	14,2	14,3	14,8	14,8		
	0,7	0,7	0,8	0,7	0,7	0,7		

Vannføring målt i renner ved forsøk med metribuzin

Dato	Renne 1	Renne 2	Renne 3	Renne 4	Renne 5	Renne 6	Mv	St.d
07.07.2000	268	271	270	268	257	260	266	6,0
18.07.2000	262	268	264	269	252	261	262	6,0
24.07.2000	257	266	262	262	256	254	260	4,6
28.07.2000	254	262	254	260	257	257	257	3,2
31.07.2000	252	261	251	261	255	256	256	4,3
03.08.2000	262	261	248	260	255	256	257	5,1
06.08.2000	245	253	244	256	251	256	251	5,3
09.08.2000	254	258	256	263	258	258	258	3,0
12.08.2000	248	258	257	257	250	253	254	4,1
Mv	260	267	262	265	255	258		
St.d	7,3	5,6	8,1	4,4	2,8	2,4		

Dosering av stamløsninger ved forsøk med metribuzin

Dato	Renne 2	Renne 3	Renne 4	Renne 5	Renne 6		
18.07.2000	0,66	0,67	0,67	0,70	0,67		
18.07.2000	0,71	0,72	0,72	0,70	0,67		
24.07.2000	0,68	0,70	0,69	0,70	0,68		
28.07.2000	0,68	0,70	0,73	0,71	0,69		
31.07.2000	0,70	0,71	0,71	0,72	0,69		
03.08.2000	0,71	0,71	0,71	0,69	0,66		
06.08.2000	0,70	0,71	0,70	0,71	0,67		
09.08.2000	0,72	0,69	0,68	0,71	0,68		
12.08.2000	0,70	0,71	0,70	0,70	0,66		
Mv	0,695	0,702	0,702	0,704	0,674		
St.d	0,019	0,015	0,019	0,008	0,013		
Metribuzin (beregnet)	0,097	0,398	1,58	6,56	25,2 µg/l		

Temperatur målt i renner ved forsøk med metribuzin

Dato	Renne 1	Renne 2	Renne 3	Renne 4	Renne 5	Renne 6	Mv	St.d
07.07.2000	15,4	15,8	16,2	16,4	16,7	16,7	16,2	0,52
18.07.2000	15,7	16,1	16,5	16,7	17,0	17,0	16,5	0,52
24.07.2000	14,8	15,2	15,5	15,8	15,9	16,0	15,5	0,46
28.07.2000	14,4	14,8	15,1	15,3	15,6	15,6	15,1	0,47
31.07.2000	14,6	14,9	15,3	15,5	15,7	15,7	15,3	0,45
03.08.2000	15,7	16,4	16,4	16,6	16,8	16,8	16,5	0,41
06.08.2000	15,0	15,2	15,6	15,8	16,0	16,0	15,6	0,42
09.08.2000	14,6	15,0	15,4	15,6	15,9	15,9	15,4	0,52
12.08.2000	14,6	14,9	15,4	15,5	15,8	15,8	15,3	0,49
Mv	15,1	15,5	15,8	16,1	16,3	16,3		
	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5		

Vannføring i renner målt ved forsøk med tribenurolmetyl

Dato	Renne 1	Renne 2	Renne 3	Renne 4	Renne 5	Renne 6	Mv	St.d
25.08.2000	254	262	256	255	256	263	258	3,9
28.08.2000	255	266	262	263	263	266	263	4,3
31.08.2000	256	262	262	263	260	264	261	2,8
04.09.2000	254	266	259	263	261	263	261	4,3
08.09.2000	252	261	256	262	259	264	259	4,3
11.09.2000	251	261	256	260	260	263	259	4,1
Mv	255	264	260	261	260	264		
St.d	1,7	2,5	2,8	3,0	2,1	1,3		

Dosering av stamløsninger ved forsøk av tribenuronmetyl

Dato	Renne 1	Renne 2	Renne 3	Renne 4	Renne 5	Renne 6		
28.08.2000		0,69	0,74	0,73	0,72	0,70		
31.08.2000		0,71	0,74	0,73	0,74	0,71		
04.09.2000		0,68	0,71	0,71	0,74	0,71		
08.09.2000		0,67	0,71	0,72	0,75	0,71		
11.09.2000		0,66	0,72	0,72	0,75	0,69		
Mv		0,68	0,72	0,72	0,74	0,70		
St.d		0,018	0,014	0,010	0,010	0,007		
tribenuron- metyl	(beregnet)	0,096	0,58	3,24	18,8	98,9 µg/l		

Temperaturer målt i forsøk med tribenuronmetyl

Dato	Renne 1	Renne 2	Renne 3	Renne 4	Renne 5	Renne 6	Mv	St.d
25.08.2000	14,7	15	15	14,9	15,1	15,1	15,0	0,15
28.08.2000	14,6	14,9	14,9	14,7	15	15	14,9	0,16
31.08.2000	14,6	14,9	15	14,7	15	15	14,9	0,18
04.09.2000	14,2	14,6	14,7	14,4	14,8	14,8	14,6	0,24
07.09.2000	14,6	14,9	15	14,8	15	15	14,9	0,16
11.09.2000	14,3	14,6	14,7	14,5	14,9	14,5	14,6	0,20
Mv	14,5	14,9	14,9	14,7	15,0	15,0		
	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2		

APPENDIX II

Kvantitative analyser av alger høstet fra fliser

Algeobservasjoner i renne R1-R6 i kontrollforsøk (antall celler mm²).

	R1		R2		R3		R4		R5		R6	
	start	2 uker	start	2 uker	start	2 uker	start	2 uker	start	2 uker	start	2 uker
<i>Achnanthes cf. minutissima</i>	85	395	56	367	113	904	68	260	85	367	56	311
<i>Cosmarium sp.</i>	0	11	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cyclotella sp.</i>	0	11	0	11	0	11	0	6	6	17	11	23
<i>Fragilaria spp.</i>	819	3953	1214	4998	904	3530	1384	3812	791	3247	960	4123
<i>Gomphonema spp.</i>	0	45	34	56	6	40	6	11	11	34	0	23
<i>Mougeotia sp.</i>	62	1017	141	1581	152	1214	136	762	79	565	152	1299
<i>Oedogonium sp.</i>	0	0	0	6	0	11	0	0	0	0	0	0
<i>Tabellaria flocculosa</i>	169	2202	339	3643	141	2400	237	2033	85	1722	124	2880

Algeobservasjoner i renne R1-R6 i forsøk med linuron (antall celler mm²).

	Kontroll		0,04 µg/l		0,16 µg/l		0,64 µg/l		2,7 µg/l		10 µg/l	
	start	3 uker	start	3 uker	start	3 uker	start	3 uker	start	3 uker	start	3 uker
<i>Achnanthes cf. minutissima</i>	19	291	20	418	17	458	20	475	10	370	12	330
<i>Binuclearia tectorum</i>						8						
<i>Ceratium hirundinella</i>								0,2		0,2		
<i>Ceratoneis arcus</i>			0,8	2	0,2			0,2				
<i>Closterium sp.</i>				0,8						0,2	0,2	
<i>Cosmarium spp.</i>		0,2			0,4		0,2		0,8		0,2	0,2
<i>Cyclotella sp.</i>		0,2		3		2		0,6		2		0,2
<i>Eunotia sp.</i>			0,2				0,4	0,2		0,2		
<i>Fragilaria ulna</i>				0,4								
<i>Fragilaria spp.</i>	10	73	30	156	12	79	19	132	12	78	10	38
<i>Frustulia</i>				0,2		0,4		0,2				0,2
<i>Gomphonema spp.</i>	1,3	11	2	16	2,8	13	4	25	4	19	6	22
<i>Mougeotia sp.</i>		0,8		5		2,5		13		5		6
<i>Nitzschia spp.</i>	0,3					0,2		1		1		1
<i>Oedogonium a</i>		5		2		3		1		3		1
<i>Staurastrum spp.</i>				0,8		0,2						0,2
<i>Tabellaria flocculosa</i>	4,5	56	10	62	6,2	42	9	33	2,9	34	2,8	47

Algesammensetning i nyetablert begroing etter 3 ukers eksponering i forsøk med linuron (antall celler/mm²).

	Kontroll	0.04 µg/l	0.16 µg/l	0.64 µg/l	2.7 µg/l	10 µg/l
<i>Achnantes spp.</i>	276	482	392	558	414	308
<i>Cyclotella sp.</i>	4	8	17	4	6	17
<i>Fragilaria sp.</i>	131	162	140	409	84	56
<i>Gomphonema spp.</i>	4	28	22	32	14	45
<i>Mougeotia sp.</i>	1	20	3	82	8	17
<i>Tabellaria flocculosa</i>	97	132	76	218	109	134

Algeobservasjoner i renne R1-R6 i forsøk med metribuzin (antall celler mm²).

	Kontroll		0,1 µg/l		0,4 µg/l		1,6 µg/l		6,6 µg/l		25 µg/l	
	start	3uker	start	3uker	start	3uker	start	3uker	start	3uker	start	3uker
<i>Achnanthes cf. minutissima</i>	339	2118	282	1384	311	2005	367	2061	367	2061	339	1468
<i>Ceratium hirundinella</i>	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0
<i>Cosmarium sp.</i>	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cyclotella sp.</i>	14	42	6	14	28	79	0	79	37	28	42	51
<i>Fragilaria spp.</i>	65	184	85	621	107	537	56	480	127	537	71	198
<i>Gomphonema spp.</i>	8	99	37	107	23	93	23	65	42	93	8	12
<i>Mougeotia sp.</i>	14	141	0	155	8	220	0	311	14	452	0	212
<i>Nitzschia spp.</i>	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0
<i>Oedogonium a</i>	0	17	0	0	0	0	0	23	0	0	0	0
<i>Tabellaria flocculosa</i>	37	621	42	565	56	932	28	1101	127	1045	56	706

Algesammensetning i nyetablert begroing etter 3 ukers eksponering i forsøk med metribuzin (antall celler mm²).

	Contr.	0.1 µg/l	0.4 µg/l	1.6 µg/l	6.6 µg/l	25 µg/l
<i>Achnantes spp.</i>	173	154	269	199	218	168
<i>Cyclotella sp.</i>	20	11	8	14	11	15
<i>Fragilaria sp.</i>	221	518	272	291	288	127
<i>Gomphonema spp.</i>	25	22	14	11	17	18
<i>Mougeotia sp.</i>	165	109	238	244	263	143
<i>Tabellaria flocculosa</i>	331	344	428	745	428	351

Algeobservasjoner i renne R1-R6 i forsøk med tribenuron-metyl (antall celler mm²).

	Kontroll		0,1 µg/l		0,6 µg/l		3,2 µg/l		19 µg/l		100 µg/l	
	start	2uker	start	2uker	start	2uker	start	2uker	start	2uker	start	2uker
<i>Achnanthes cf. minutissima</i>	226	5930	155	5506	117	4772	169	5478	127	5026	141	4377
<i>Cosmarium sp.</i>	6	0	11	0	0	0	0	0	0	0	6	0
<i>Cyclotella sp.</i>	6	11	6	23	4	11	3	9	6	28	3	6
<i>Fragilaria spp.</i>	113	8782	240	6325	169	5365	212	8697	240	7878	127	8612
<i>Gomphonema spp.</i>	11	113	6	71	3	85	21	85	3	85	0	56
<i>Mougeotia sp.</i>	85	932	99	621	198	1158	99	1440	85	847	42	932
<i>Oedogonium a</i>	0	0	0	0	0	0	49	0	0	11	0	0
<i>Tabellaria flocculosa</i>	127	2739	240	2570	184	2259	424	3388	311	4659	155	2541

Algesammensetning i nyetablert begroing etter 2 ukers eksponering i forsøk med tribenuron-metyl (antall celler mm²).

	Contr.	0.1 µg/l	0.6 µg/l	3.2 µg/l	19 µg/l	100 µg/l
<i>Achnantes spp.</i>	1188	580	896	560	580	1080
<i>Cyclotella sp.</i>	12	4	8	8	8	4
<i>Fragilaria spp</i>	3428	4096	8652	6936	8408	8836
<i>Gomphonema spp</i>	68	52	48	60	52	36
<i>Mougotia sp.</i>	388	916	2056	1396	988	900
<i>Tabellaria flocculosa</i>	780	1308	3768	1816	2548	2248