

1897

NINA Rapport

Bruk av miljø-DNA til å identifisere forurensningskilder

Tiltaksanalyse for elvemusling i Ereviksbekken

Jon H. Magerøy, Trond Leirflåt, Jarle Lunde, Markus A. M. Majaneva og Frode Fossøy



NINAs publikasjoner

NINA Rapport

Dette er NINAs ordinære rapportering til oppdragsgiver etter gjennomført forsknings-, overvåkings- eller utredningsarbeid. I tillegg vil serien favne mye av instituttets øvrige rapportering, for eksempel fra seminarer og konferanser, resultater av eget forsknings- og utredningsarbeid og litteraturstudier. NINA Rapport kan også utgis på engelsk, som NINA Report.

NINA Temahefte

Heftene utarbeides etter behov og serien favner svært vidt; fra systematiske bestemmelsesnøkler til informasjon om viktige problemstillinger i samfunnet. Heftene har vanligvis en populærvitenskapelig form med vekt på illustrasjoner. NINA Temahefte kan også utgis på engelsk, som NINA Special Report.

NINA Fakta

Faktaarkene har som mål å gjøre NINAs forskningsresultater raskt og enkelt tilgjengelig for et større publikum. Faktaarkene gir en kort framstilling av noen av våre viktigste forskningstema.

Annen publisering

I tillegg til rapporteringen i NINAs egne serier publiserer instituttets ansatte en stor del av sine forskningsresultater i internasjonale vitenskapelige journaler og i populærfaglige bøker og tidsskrifter.

Bruk av miljø-DNA til å identifisere forurensningskilder

Tiltaksanalyse for elvemusling i Ereviksbekken

Jon H. Magerøy,
Trond Leirflåt
Jarle Lunde
Markus A. M. Majaneva
Frode Fossøy

Magerøy, J.H., Leirflåt, T., Lunde, J., Majaneva, M.A.M. & Fossøy, F. 2021. Bruk av miljø-DNA til å identifisere forurensningskilder. Tiltaksanalyse for elvemusling i Ereviksbekken. NINA Rapport 1897. Norsk institutt for naturforskning.

Oslo, februar 2021

ISSN: 1504-3312

ISBN: 978-82-426-4671-2

RETTIGHETSHAVER

© Norsk institutt for naturforskning

Publikasjonen kan siteres fritt med kildeangivelse

TILGJENGELIGHET

Åpen

PUBLISERINGSTYPE

Digitalt dokument (pdf)

KVALITETSSIKRET AV

Bjørn Mejdell Larsen

ANSVARLIG SIGNATUR

Assisterende forskningssjef Tor Atle Mo (sign.)

OPPDRAKSGIVER(E)/BIDRAGSYTER(E)

Fylkesmannen i Rogaland (nå Statsforvalteren i Rogaland)

KONTAKTPERSON(ER) HOS OPPDRAGSGIVER/BIDRAGSYTER

Annette Fosså og Vegard Næss

FORSIDEBILDE

Ereviksbekken © Bjørn Mejdell Larsen

NØKKELOORD

Miljø-DNA – identifisering av forurensningskilder – tiltaksanalyse – elvemusling (*Margaritifera margaritifera*) – tilførsel av næringsstoffer (eutrofiering), partikler og tarmbakterier (husdyr, avføring, gjødsel, kloakk) – vannkjemi/vannkvalitet – Ereviksbekken – Strand kommune (tidligere i Forsand kommune) – Rogaland

KEY WORDS

Environmental DNA (eDNA) – identification of pollution sources – conservation action plan – the freshwater pearl mussel – nutrient (eutrophication), particle and fecal/intestinal bacteria input/supply (animal waste, manure, fertilizer, human waste, sewage) – water chemistry/water quality – Ereviksbekken Stream – Strand Municipality (previously in Forsand Municipality) – Rogaland County – Norway

KONTAKTOPPLYSNINGER

NINA hovedkontor
Postboks 5685 Torgarden
7485 Trondheim
Tlf: 73 80 14 00

NINA Oslo
Sognsveien 68
0855 Oslo
Tlf: 73 80 14 00

NINA Tromsø
Postboks 6606 Langnes
9296 Tromsø
Tlf: 77 75 04 00

NINA Lillehammer
Vormstuguvegen 40
2624 Lillehammer
Tlf: 73 80 14 00

NINA Bergen
Thormøhlens gate 55
5006 Bergen
Tlf: 73 80 14 00

www.nina.no

Sammendrag

Magerøy, J.H., Leirflåt, T., Lunde, J., Majaneva, M.A.M. & Fossøy, F. 2021. Bruk av miljø-DNA til å identifisere forurensningskilder. Tiltaksanalyse for elvemusling i Ereviksbekken. NINA Rap-port 1897. Norsk institutt for naturforskning.

Elvemuslingbestanden i Ereviksbekken i Strand kommune i Rogaland har hatt en negativ utvikling, med nedgang i antall muslinger og rekruttering i senere år. Denne utviklingen gjør det svært viktig å identifisere truslene mot muslingen og foreslå tiltak som kan bedre forholdene i bekken. En tiltaksanalyse i 2017 identifiserte lav vannføring og forhøyet næringstilførsel som de viktigste truslene. For å identifisere hvor næringsstoffer og partikler tilføres vassdraget og kildene til denne tilførselen, ble vannkvalitet og miljø-DNA analysert i henholdsvis 2019 og 2020.

Vannkvalitetsanalysene viser at Ereviksbekken har for høy tilførsel av næringsstoffer, partikler og tarmbakterier. Det viktigste tilførselsområdet i vassdraget er Ereviksvatnet, fulgt av hovedstrengen rett nedenfor vannet, Nylandsbekken og hovedstrengen nederst mot sjøen. Hovedstrengen mellom Nordrvatnet og Ereviksvatnet er et mindre viktig tilførselsområde. Dataene tyder på at næringsstoffer og tarmbakterier i hovedsak tilføres vassdraget om sommeren, mens tilførselen av partikler er størst i forbindelse med høy vannføring om høsten og vinteren.

Miljø-DNA-analysene tyder på at landbruksforurensning er hovedkilden til forurensningen i Ereviksbekken, mens det ikke ble funnet tegn på kloakkforurensning. Landbruksforurensningen skyldes sannsynligvis i hovedsak storfebeite langs Nylandsbekken og gjødsling med storfe-gjødsel av dyrket mark ved vannene i nedbørfeltet. Det er sannsynlig at landbruksforurensningen undervurderes, da det er vanskelig å fange opp forurensning som tilføres direkte til Ereviksvatnet via miljø-DNA-analyser og forurensning knyttet til gjødsling om våren ikke ville bli fanget opp på de datoene prøvene ble samlet inn. Dette gjelder nok spesielt forurensning knyttet til sauehold.

For å redusere avrenningen fra landbruksområdene til Ereviksbekken burde man gjenopprette buffersoner med naturlig vegetasjon langs vassdraget. I beiteområder vil det være nødvendig å gjerde beitedyrene ute fra disse buffersonene. Et annet alternativ er å opprette gjødsselfrie buffersoner med dyrket mark, men dette vil ikke ha like stor effekt på avrenningen. I tillegg er det viktig å opprettholde vegetasjonen som finnes langs vassdraget, for at avrenning fra de nærliggende områdene ikke skal øke. Det vil være nødvendig at disse tiltakene gjennomføres i samarbeid med grunneierne, og incentivordninger kan brukes for å få til et godt samarbeid.

Vannkvalitets- og miljø-DNA-analysene gav noe motstridende indikasjoner når det gjelder kloakkforurensning i Ereviksbekken nedenfor Ereviksvatnet. For å være føre var, bør man kontrollere kloakksystemene langs denne delen av bekken og nødvendige utbedringer må gjøres.

Tiltakene nedenfor Ereviksvatnet bør gis førsteprioritet i Ereviksbekken. Det er her elvemuslingen finnes, og tiltakene i denne delen av vassdraget vil kreve minst ressurser. Det betyr ikke at tiltakene i landbruksarealene lenger oppe i vassdraget ikke er viktige, men tiltakene vil dekke store arealer og kreve mer ressurser.

Dette studiet, sammen med et studie i Nordre Follo kommune, har vist at det er mulig å identifisere hovedkildene til forurensning i vassdrag ved hjelp av miljø-DNA. Studiene illustrerer metodikkens store potensiale, men at det fremdeles er mange utfordringer knyttet til bruken av den.

Jon H. Magerøy (jon.mageroy@nina.no), NINA, Sognsveien 68, 0855 Oslo. Trond Leirflåt (trond.leirflaat@strand.kommune.no), Strand kommune, Rådhusgaten 2, 4100 Jørpeland. Jarle Lunde (jarle.lunde@suldal.kommune.no), Ryfylke vassområde, Eidsvegen 7, 4230 Sand. Markus A. M. Majaneva (markus.majaneva@nina.no) og Frode Fossøy (frode.fossoy@nina.no), NINA, Postboks 5685 Torgarden, 7485 Trondheim.

Abstract

Magerøy, J.H., Leirflåt, T., Lunde, J., Majaneva, M.A.M. & Fossøy, F. 2021. Using environmental DNA (eDNA) to identify pollution sources. Action plan for the freshwater pearl mussel in Ereviks-bekken Stream. NINA Report 1897. Norwegian Institute for Nature Research.

The freshwater pearl mussel population in the Ereviksbekken Stream has experienced declines in numbers and recruitment during the latter years. This development makes it very important to identify threats against the mussel and actions that can be taken to improve the conditions in the stream. In 2017, a conservation plan identified low waterflow and increased nutrient input as the most important threats. To identify where nutrients and particles are supplied to the stream and sources of this supply, water quality and eDNA was analyzed in 2019 and 2020, respectively.

The water quality analyzes show that Ereviksbekken has too high an input of nutrients, particles and intestinal bacteria. The most important area of supply is Lake Ereviksvatnet, followed by the mainstem right below the lake, Nylandsbekken Stream and the mainstem closest to the sea. The mainstem between Lakes Nordrvatnet and Ereviksvatnet is of less importance. The data suggest that nutrients and intestinal bacteria mostly are supplied to the watercourse during summer, while the supply of particles is highest during high flows in the fall and winter.

The eDNA analyzes indicate that farming is the main source of pollution in Ereviksbekken, while there were no signs of pollution from sewage systems. The pollution from farming is likely to mainly be a result of grazing of cattle and the use of cattle manure on cultivated areas along the lakes in the watershed. It is likely that the pollution from farming is underestimated, since it is difficult to identify pollution that is supplied directly to Ereviksvatnet and the spread of manure during spring would not have been detected due to the timing of our sampling effort. This is likely to be especially important with regards to pollution tied to sheep farming.

To reduce the runoff from the farmland to Ereviksbekken, one should ideally reestablish buffer zones with natural vegetation along the watercourse. In pastures, it will require fencing the grazing animals off from the zones. An alternative is to make buffer zones of fertilizer free farmland, but this will not reduce the runoff as much. In addition, it is important to maintain the current vegetation along the watercourse, to prevent an increase in runoff from the farmland. It will be necessary to undertake these measures in collaboration with local farmers and financial incentives can be used to encourage this collaboration.

The water quality and eDNA analyzes gave somewhat contradictory indications when it applies to sewage pollution in Ereviksbekken below Ereviksvatnet. As a precaution, one should inspect the sewage systems along this part of the stream and inadequate systems should be improved.

Conservation measures below Ereviksvatnet should be given the highest priority in Ereviks-bekken. It is in this area that the freshwater pearl mussel is found and the measures in this part of the watershed require the least resources. This does not mean that the measures on the farmland further up the watershed are not important, but they will cover large areas and require more resources.

This study, along with another study from Nordre Follo Municipality, has shown that it is possible to identify the main sources of pollution in a watercourse using eDNA. The studies illustrate the methodology's great potential, but there are still many challenges associated with its application.

Jon H. Magerøy (jon.mageroy@nina.no), NINA, Sognsveien 68, 0855 Oslo, Norway. Trond Leirflåt (trond.leirflaat@strand.kommune.no), Strand Municipality, Rådhusgaten 2, 4100 Jørpeland, Norway. Jarle Lunde (jarle.lunde@suldal.kommune.no), Ryfylke Water Management Area, Eidsvegen 7, 4230 Sand, Norway. Markus A. M. Majaneva (markus.majaneva@nina.no) og Frode Fossøy (frode.fossoy@nina.no), NINA, P.O. Box 5685 Torgarden, 7485 Trondheim, Norway.

Innhold

Sammendrag	3
Abstract	4
Innhold	5
Forord	6
1 Innledning	7
2 Områdebeskrivelse	9
3 Prøvetaking og analyse	12
3.1 Vannkvalitet.....	12
3.2 Miljø-DNA.....	13
4 Forurensningsbildet	15
4.1 Økologisk tilstand.....	15
4.2 Tilførsel av næringsstoffer, partikler og tarmbakterier.....	15
4.3 Identifikasjon av forurensningskilder.....	18
5 Oppdatert tiltaksanalyse	24
6 Bruk av miljø-DNA til å identifisere forurensningskilder	34
7 Referanser	38

Forord

Elvemuslingbestanden i Ereviksbekken har gått fra å være noenlunde livskraftig til å stå i fare for å dø ut, i tidsperioden mellom 2003 og 2010. På grunn av denne utviklingen, ble bestanden tatt inn i kultiveringsprogrammet for elvemusling for å bevare bestanden genetisk og for å produsere ungmuslinger for tilbakeføring til bekken. Dessverre tyder observasjoner, under innsamling av stammuslinger i 2016, på at bestanden har gått enda mer tilbake sammenlignet med 2010. Dette tyder på at miljøtilstanden er dårlig i bekken.

På dette grunnlaget gjennomførte Norsk institutt for naturforskning (NINA) en tiltaksanalyse med henblikk på elvemusling i Ereviksbekken i 2017, etter ønske fra Fylkesmannen i Rogaland (nå Statsforvalteren i Rogaland). Målet var å gjøre det mulig å identifisere tiltak for å forbedre miljøforholdene i bekken, slik at de gjenværende muslingene og ungmuslinger fra kultiveringsprogrammet skulle få en bedre sjanse til å overleve. I 2019 ble det gjennomført en omfattende prøvetaking og analyse med henblikk på vannkvaliteten i vassdraget. Tiltaksanalysen ble oppdatert basert på resultatene av disse analysene.

Den oppdaterte tiltaksanalysen peker på tilførsel av næringsstoffer, partikler og tarmbakterier som trusler mot elvemusling i Ereviksbekken. Vannkvalitetsanalysene viser at tilførselen av næringsstoffer var størst via Ereviksvatnet, hovedstrengen i vassdraget rett nedenfor vannet og sidebekken Nylandsbekken. Tilførselen av partikler var størst via Ereviksvatnet, men Nylandsbekken var også en viktig kilde. Tilførselen av tarmbakterier var størst i hovedstrengen mellom Ereviksvatnet og sjøen, men igjen var også Nylandsbekken et viktig tilførselsområde. I tiltaksanalysene foreslås det at avrenning fra landbruksområdene i nedbørfeltet er den største kilden til tilførselen av næringsstoffer, partikler og tarmbakterier, men det påpekes også at kloakkutslipp kan bidra til denne tilførselen.

Undersøkelsene som er gjennomført i Ereviksbekken, kan ikke med sikkerhet si om tilførselen av næringsstoffer, partikler og tarmbakterier i hovedsak stammer fra avrenning fra landbruksområdene eller kloakkutslipp. En ny metode for å indentifisere forurensningskilder er bruk av miljø-DNA. Ved å indentifisere de organismene som bidrar med størst andel miljø-DNA ved en lokalitet, kan man få god informasjon om forurensningskilder ved den lokaliteten. Hvis man f.eks. finner store mengder miljø-DNA fra sau, så er det sannsynlig at det er avrenning av avføring fra sau som forårsaker de høye verdiene av næringsstoffer man har målt ved lokaliteten. Denne metodikken har blitt tatt i bruk til å indentifisere forurensningskilder i flere studier i utlandet. I Norge har NINA brukt metodikken til å indentifisere forurensningskilder som forklarer tilførselsmønstre i nedbørfeltet til Gjersjøen, som er drikkevannskilde for Nordre Follo og Ås kommuner i Viken fylke.

Med bakgrunn i dette søkte NINA om tiltaksmidler for truede arter fra Miljødirektoratet i 2020, via Fylkesmannen i Rogaland. Hovedmålet med prosjektet var å indentifisere forurensningskildene som forklarer tilførselen av næringsstoffer, partikler og tarmbakterier til Ereviksbekken, men et viktig delmål var å videre teste ut bruken av miljø-DNA for å indentifisere forurensningskilder som forklarer tilførselen til vann og vassdrag. I denne rapporten beskrives resultatene av miljø-DNA-undersøkelsene i Ereviksbekken, og tiltaksanalysen i vassdraget oppdateres med bakgrunn i disse. I tillegg diskuteres erfaringene med bruk av miljø-DNA til å indentifisere forurensningskilder.

Vi ønsker å takke Annette Fosså og Vegard Næss (begge hos Fylkesmannen i Rogaland) for henholdsvis godt samarbeid gjennom utformingen og oppfølgingen av dette prosjektet. Hos NINA ønsker vi å takke Hege Brandsegg og Ida Pernille Øystese Andersskog for laboratoriearbeidet i forbindelse med miljø-DNA-analysene. Vi ønsker også å takke Egil Byberg, som er grunneier og forpakter i nedbørfeltet til Ereviksbekken, for hans kommentarer til rapporten.

24.02.2021, Jon H. Magerøy

1 Innledning

Miljø-DNA-analyser er en ny metode for overvåking av arter og økosystemer, der innsamling av prøver ikke er avhengig av langvarig innsats eller taksonomisk ekspertise i felt (f.eks. Thomsen & Willerslev 2015, Valentini et al. 2016). Denne metoden har vist seg å være svært effektiv med tanke på overvåking av truede arter, samtidig som den muliggjør innsamling av prøver ved hjelp av medlemmer av den generelle befolkningen (f.eks. Biggs et al. 2015, Thomsen et al. 2012). I Norge har metoden blant annet blitt brukt til påvisning av amfibier (Mjelde et al. 2019, Taugbøl et al. 2018), edelkreps (Fossøy et al. 2020a, Johnsen et al. 2017), fremmede ferskvannsfisk (f.eks. Engesmo et al. 2019, Fossøy et al. 2017a; 2018, Gargan et al. 2019), fremmed patogen sopp (Taugbøl et al. 2017; 2019), fremmede plantearter (Anglés d'Auriac et al. 2019, Demars et al. 2018), zooplankton (Ekrem & Majaneva 2019) og elvemusling (f.eks. Fossøy et al. 2019; 2020b, Magerøy et al. und. arb., Thaulow & d'Auriac 2018, Thaulow & Strand 2016, Wacker et al. 2019).

Miljø-DNA kan også brukes til å identifisere et vidt spektrum av organismer i en vannprøve gjennom metastrekkoding (oppsummert i f.eks. Coble et al. 2019, Garlapati et al. 2019, Rees et al. 2014, se Ekrem and Majaneva 2019, Mo and Fossøy 2019 eller Aamodt 2020 for eksempler fra Norge). Blant annet kan miljø-DNA-analyser, inkludert metastrekkoding, brukes til å overvåke utslipp av organisk materiale til vann og vassdrag (identifikasjon av kilder til tarmbakterier (f.eks. Caldwell et al. 2011, González-Saldía et al. 2019, Staley et al. 2018, Stoeckel & Harwood 2007, Toranzos 1991) og bruk i forbindelse med skogsdrift (Coble et al. 2019)). I Norge er metastrekkoding brukt for å identifisere kildene som forklarer tilførselsmønstre av forurensning i nedbørfeltet til Gjersjøen, som er drikkevannskilde for Nordre Follo og Ås kommuner i Viken fylke. Disse undersøkelsene inkluderte også referanseprøver fra drikkevannet i Bærum (Aamodt 2020, Frode Fossøy upubl. mat.).

I Rogaland er elvemuslingen forsvunnet fra ca. én tredel av de kjente historiske lokalitetene. I tillegg er det bare funnet rekruttering av elvemusling ved ca. én tredel av de nåværende lokalitetene i fylket (Larsen & Magerøy 2019). Det betyr at muslingen står i fare for å forsvinne fra ca. to tredeler av de nåværende lokalitetene i fylket, hvis ikke noe gjøres for å bedre miljøforholdene. Dermed er det svært viktig å evaluere statusen til og truslene mot de nåværende bestandene av elvemusling i Rogaland. Dette vil legge grunnlaget for å evaluere hvilke tiltak som er nødvendige for å ta vare på de gjenværende bestandene.

I Ereviksbekken i Strand kommune (tidligere i Forsand kommune) ble elvemuslingen registrert for første gang i 1995 (Ledje 1996a; 1996b). Bestanden ble anslått til å bestå av et par hundre individer, og undersøkelsene viste at 14 % av muslingene var mindre enn 50 mm. I 2003 ble bestanden tatt inn i det nasjonale overvåkingsprogrammet for elvemusling (Larsen & Berger 2005), og vassdraget ble undersøkt på nytt i 2010 (Larsen 2011). Undersøkelsene i 2003, som var grundigere enn undersøkelsene i 1995, anslø bestanden til ca. 4.100 individer, men bare 4 % av muslingene var mindre enn 50 mm. I 2010 ble bestanden anslått til ca. 825 individer og det ble ikke funnet noen muslinger mindre enn 50 mm (Larsen 2011). Undersøkelser i 2016, i forbindelse med kultiveringsprogrammet for elvemusling (Magerøy et al. 2019), tyder på at bestanden har gått enda mer tilbake siden 2010 (Jon H. Magerøy pers. obs.). Dermed har bestanden gått fra å være noenlunde levedyktig, med rekruttering, til at den nå står i fare for å bli utryddet.

Larsen (2011) påpeker at dødeligheten av elvemusling synes å være resultatet av en akutt hendelse i Ereviksbekken og foreslår sterk tørke i 2008 som den mest sannsynlige årsaken til dette. Han påpeker også at sannsynlige årsaker til den manglende rekrutteringen i bekken er for høy tilførsel av partikler og næringsstoffer. Vannkvalitetsundersøkelser mellom 2003 og 2012 støtter en slik tolkning, da det har vært en økning i verdiene for næringsstoffer og turbiditet gjennom perioden (Larsen 2011; 2017, Larsen & Berger 2005). Etter 2006 har nitratverdiene vært høyere enn verdiene man normalt sett finner i elvemuslingvassdrag med rekruttering (Larsen 2017, Lois Lugilde 2015, Moorkens et al. 2007). Dette er tilfellet selv om beitetrykket og gjødslingen i

nedbørfeltet har blitt redusert fram mot år 2000 (Norge i bilder 2020, Egil Byberg pers. med.), og det ble gjennomført tiltak for å redusere avrenningen av gjødsel til vassdraget på begynnelsen av 1980-tallet (Egil Byberg pers. med.). Samtidig har det vært en økning i arealet av dyrket mark i nedbørfeltet mellom 1973 og 2003 (Norge i bilder 2020), og det har blitt bygget mange nye hytter i nedre del av nedbørfeltet etter ca. år 2000 (Larsen 2011, Magerøy 2018, Norge i bilder 2020, Jon H. Magerøy pers. obs.).

Med bakgrunn i den negative utviklingen for elvemuslingbestanden i Ereviksbekken ble det i 2017 gjennomført en tiltaksanalyse for hele vassdraget og en kartlegging av musling i øvre del av bekken, som ikke hadde blitt undersøkt før (Magerøy 2018). Målet med undersøkelsene var å identifisere trusler mot muslingen, vurdere tiltak som kunne forbedre forholdene for muslingen i vassdraget, identifisere om det finnes muslinger i øvre del av vassdraget og evaluere om øvre del av vassdraget er egnet for mellomlagring av muslinger mens tiltak gjennomføres i nedre del av vassdraget. Tiltaksanalysen støtter forslagene til Larsen (2011) og viser at det er to hovedtrusler mot muslingen i vassdraget: 1. Lav vannføring. 2. Forhøyet næringstilførsel. Basert på at forhøyet næringstilførsel er én av de to største truslene i vassdraget, tilsier tiltaksanalysen at det er svært viktig å identifisere kildene til denne næringstilførselen. Det ble ikke funnet musling i øvre del av vassdraget, og denne delen av vassdraget ble ikke ansett å være egnet for mellomlagring av musling (Magerøy 2018).

For å kunne identifisere kildene til næringstilførselen i og oppdatere tiltaksanalysen for Ereviksbekken, ble det i 2019 gjennomført omfattende prøvetaking og analyse med henblikk på vannkvaliteten i vassdraget (Magerøy 2020). Undersøkelsene viser at vassdraget har for høy tilførsel av næringsstoffer, partikler og tarmbakterier. Næringsstoffer og partikler tilføres først og fremst via Ereviksvatnet, mens tarmbakterier tilføres først og fremst nedenfor vannet. Funnene tyder på at landbruksforurensning er den største kilden til forurensningen ovenfor og rundt Ereviksvatnet, mens kloakkutslipp er den største kilden nedenfor vannet. Likevel er det en del usikkerhet knyttet til identifiseringen av kildene, spesielt forurensningen som tilføres selve Ereviksvatnet. Årsaken til denne usikkerheten er at vannkvalitetsundersøkelser bare kan gi en indikasjon på hva kildene er, ved å se på sammenhengen mellom tilførsel av næringsstoffer, partikler og tarmbakterier.

I 2020 ble det gjennomført omfattende prøvetaking og analyse av miljø-DNA i Ereviksbekken. Slike analyser kan brukes til å skille mellom de forskjellige forurensningskildene (f.eks. Caldwell et al. 2011, Coble et al. 2019, González-Saldía et al. 2019, Staley et al. 2018, Stoeckel & Harwood 2007, Toranzos 1991). Metodikken fulgte i stor grad Aamodt (2020), ved å bruke metastrekkoding av virveldyr (vertebrater) for å identifisere kildene. I det studiet ble det lagt vekt på virveldyr som kunne knyttes til landbruksforurensning (f.eks. landbruksdyr) eller kloakkforurensning (f.eks. matprodukter), selv om DNA fra enkelte arter (f.eks. sau, storfe, gris, osv.) både kan komme fra landbruk eller kloakk. Hovedmålet med undersøkelsene var å identifisere kildene til forurensningen i vassdraget med større sikkerhet, for å kunne oppdatere tiltaksanalysen for elvemusling. Et viktig delmål var å videre teste ut bruken av miljø-DNA for å identifisere forurensningskilder som forklarer tilførselen til vann og vassdrag. I denne rapporten sammenstilles funnene fra miljø-DNA-analysene i 2020 med vannkvalitetsdataene fra 2019, for å få en best mulig forståelse av forurensningskildene som forklarer tilførselen av næringsstoffer, partikler og tarmbakterier til vassdraget. På dette grunnlaget oppdateres tiltaksanalysen for vassdraget. I tillegg diskuteres erfaringer med bruken av miljø-DNA for å identifisere forurensningskilder tilknyttet vann og vassdrag.

2 Områdebeskrivelse



Figur 2.1. Ereviksbekken med vann og omliggende områder. Kartet er hentet fra figur 2.1 i Magerøy (2020).

Ereviksbekken (også kjent som Skeiviksbekken, vassdragsnr. kystfelt 032.1) utgjør et eget vassdrag som renner ut i Skeivik i Strand kommune (tidligere i Forsand kommune) i Ryfylke i Rogaland (**figur 2.1**). Hovedstrengen i vassdraget er ca. 1,1 km lang, innsjøer ekskludert. Den starter ovenfor Nordravatnet (Nordre Ereviksvatnet) (34,6 moh.) og passerer gjennom Ereviksvatnet (32,4 moh.), før bekken munner ut i sjøen i Indra (Indre Skeivik). I tillegg kommer det flere mindre bekker inn i begge vannene. Vassdraget drenerer de umiddelbare nærområdene til vannene. Nedbørfeltet er på 2,7 km², avrenningen er på 34,0 l/s/km² og allminnelig lavvannføring er på 1,2 l/s/km². De to vannene utgjør 14,6 % av nedbørfeltet, mens resten av nedbørfeltet består av skog (46,4 %), dyrket mark (6,3 %), snaufjell (2,4 %) og uklassifiserbart areal (30,6 %). Høyeste punkt er 409 moh., men mesteparten av nedbørfeltet ligger under 100 moh. (NEVINA 2020). Berggrunnen i nærområdet består av næringsfattig porfyrgranitt (Berggrunn 2020).

Flyfoto viser at det har vært en økning i arealet av dyrket mark i nedbørfeltet mellom 1973 og 2003, men at beitetrykket har blitt redusert og at skogsdekke har økt (Norge i bilder 2020). Blant annet skal andelen storfe på beite ha gått kraftig ned. Rundt 1980 ble det slutt med at gjødsel ble kjørt ut på vinteren, for å redusere avrenningen til vassdraget. Fra 1980 til 2008 skal det ha

vært griseproduksjon ved flere av gårdene i nedbørfeltet, og hoveddelen av avføringen fra denne produksjonen ble brukt som gjødsel i nedbørfeltet (Egil Byberg pers. med.). Flyfotoene viser også at Ereviksvatnet har blitt senket (Norge i bilder 2020). I følge grunneierene skal senkningen ha skjedd rundt 1980 (Oletta Erevik og Egil Byberg pers. med). Etter ca. år 2000 har det blitt bygget mange nye hytter nedenfor Ereviksvatnet (Larsen 2011, Magerøy 2018, Norge i bilder 2020, Jon H. Magerøy pers. obs.).

I perioden mellom 2003 og 2012 ble det gjennomført undersøkelser av vannkvaliteten i nedre deler av Ereviksbekken, i forbindelse med overvåkingen av elvemusling (Larsen 2011; 2017, Larsen & Berger 2005). I tillegg har Forsand kommune foretatt vannkvalitetsovervåking ved den offentlige badeplassen i Ereviksvatnet (Eurofins 2017; 2019).

Med et gjennomsnittlig fargetall på 18 mgPt/l og et kalkinnhold på 3,5 mg/l klassifiseres Ereviksbekken som «kalkfattig» og «klar» i henhold til vannforskriftens klassifiseringsveileder for miljøtilstand i vann, og hører etter dette inn under elvetype R105 (Direktoratsgruppen vanndirektivet 2018).

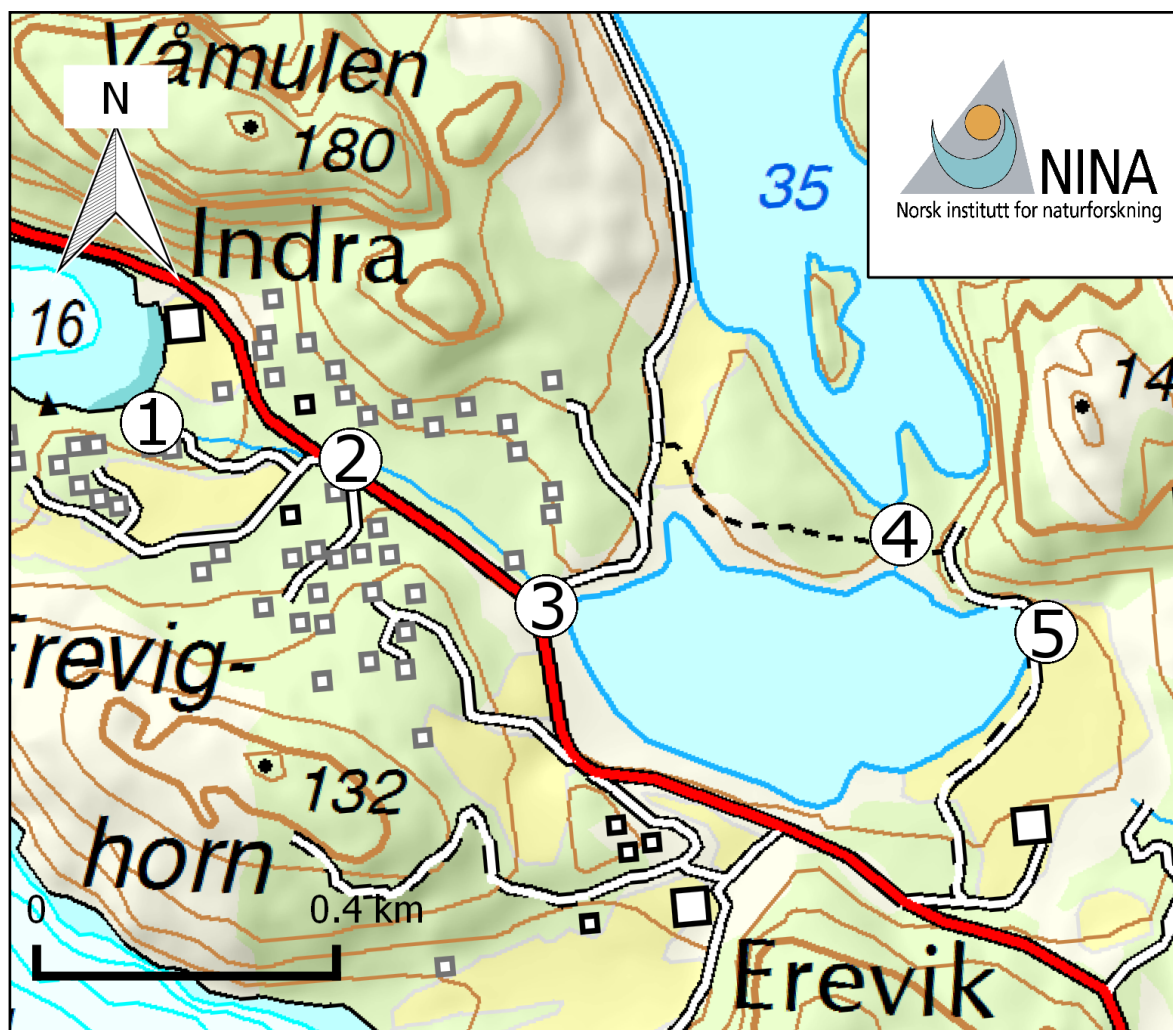
Basert på denne klassifiseringen hadde nedre del av Ereviksbekken «svært god» tilstand mht. pH og verdiene av labilt og potensielt giftig aluminium. Denne klassifiseringen ble gjennomført basert på verdier fra vassdrag uten anadrom fisk, siden klassemål for disse to parameterne bare er kjent for slike vassdrag. Siden Ereviksbekken er et anadromt vassdrag opp til Ereviksvatnet (Espedal 2020) og kanskje til og med opp forbi Nordrvatnet (Jon H. Magerøy pers. obs.), er det derfor noe usikkerhet rundt klassifiseringen.

Verdiene av totalt fosfor i Ereviksbekken tilsvarer «svært god» tilstand, med unntak av perioder med høy vannføring, da tilstanden ble redusert til «svært dårlig» under en flom i 2010. Nitratverdiene tilsa «svært god» tilstand i gjennomsnitt, men fra 2006 og utover tilsa de «god» tilstand. I tillegg var tilstanden «dårlig» under flommen i 2010 (Legg merke til at vannforskriften baserer sin klassifisering på totalt nitrogen. Siden nitrat bare utgjør en del av det totale nitrogenet, kan klassifisering basert på nitratverdiene gi bedre tilstand enn den relle tilstanden.). Selv om nitratverdiene stort sett gav «god» eller bedre tilstand, var enkelte av verdiene fra 2003-2005 i grenseland og de fleste av verdiene fra 2006 og framover var høyere enn verdiene man normalt sett finner i elvemuslingvassdrag med rekruttering (Larsen 2017, Lois Lugilde 2015, Moorkens et al. 2007). I tillegg var turbiditeten i bekken høyere i perioder i 2010, spesielt i forbindelse med flom, enn det som er ønskelig for å opprettholde rekruttering i elvemuslingbestander (Degerman et al. 2009, Killeen 2012, Österling et al. 2010). Redoksmålinger (en metode for å evaluere habitatkvalitet for juvenile muslinger (Geist & Auerswald 2007, Killeen 2006, Larsen 2012)) i 2011 viser at oksygentilgjengeligheten i substratet i deler av bekken var lav. Dette er et tegn på at nærings- og/eller partikkeltilførsel fører til nedslamming av substratet i bekken (Larsen 2012). Dermed ser det ut til at for høy nærings- og partikkeltilførsel er et problem i nedre del av bekken og at gjennomsnittsverdiene av nitrat har økt gjennom undersøkelsesperioden, selv om det ikke er tatt mange prøver pr. år.

Hvis man antar at Ereviksvatnet også er «kalkfattig» og «klart» og at det er relativt grunt, tilsa badevannsovervåkingen i 2017 «god» tilstand basert på totalt fosfor og «moderat» tilstand basert på totalt nitrogen i henhold til klassifiseringsveilederen for miljøtilstand i vann (Direktoratsgruppen vanndirektivet 2018). Basert på Statens Forurensningstilsyns (SFT; nå Miljødirektoratet) klassifiseringssystem for miljøkvalitet (Andersen et al. 1997) tilsa innholdet av termotolerante koliforme bakterier «god» tilstand gjennom hele sommeren. Unntaket var en prøve i slutten av mai som tilsa «dårlig» tilstand. I 2019 tilsa innholdet av termotolerante koliforme bakterier «god» tilstand eller bedre ved de fleste av målingene, men målinger i både juni og august tilsa «mindre god» tilstand. Høye verdier om våren kan tyde på at det tilføres store mengder husdyrgjødsel til vannet, i forbindelse med gjødsling og/eller snøsmelting og høy avrenning fra landbruksarealene, på denne tiden av året.

Fiskesamfunnet i Ereviksbekken består av ørret, ål og skrubbe, men det er også funnet ungfisk av laks i bekken fra tid til annen (Larsen 2011; 2017, Larsen & Berger 2005, Larsen & Søyland 2010, Jon H. Magerøy pers. obs.). Som nevnt, strekker anadrom sone seg minst opp til Ereviksvatnet (Espedal 2020, Jon H. Magerøy pers. obs.).

3 Prøvetaking og analyse



Figur 3.1. Prøvestasjoner i Ereviksbekken. Stasjon 1-4 ligger i hovedstrengen i vassdraget, mens stasjon 5 ligger i en sidebekk (Nylandsbekken). For nøyaktig lokalisering av stasjonene, se tabell 3.1. Kartet er modifisert fra figur 3 i Magerøy (2018).

3.1 Vannkvalitet

Det ble samlet inn vannkvalitetsprøver fra fem stasjoner i Ereviksbekken i 2019, inkludert tre i hovedstrengen nedenfor Ereviksvatnet, én i hovedstrengen mellom Ereviksvatnet og Nordravatnet, og én i sidebekken Nylandsbekken (**figur 3.1, tabell 3.1**). Det ble samlet inn prøver 12.02., 15.04., 14.05., 19.06., 14.08., 24.09. og 16.10.2019. Prøvene ble sendt til Eurofins Test-

Tabell 3.1. Prøvetakingsstasjoner i Ereviksbekken. Stasjon 1-4 ligger i hovedstrengen i vassdraget, mens stasjon 5 ligger i en sidebekk (Nylandsbekken). Lokaliseringen av stasjonene er også gitt i **figur 3.1**.

Stasjon	UTM
1	32 V 0330227 6535937
2	32 V 0330465 6535822
3	32 V 0330735 6535655
4	32 V 0331210 6535755
5	32 V 0331383 6535648

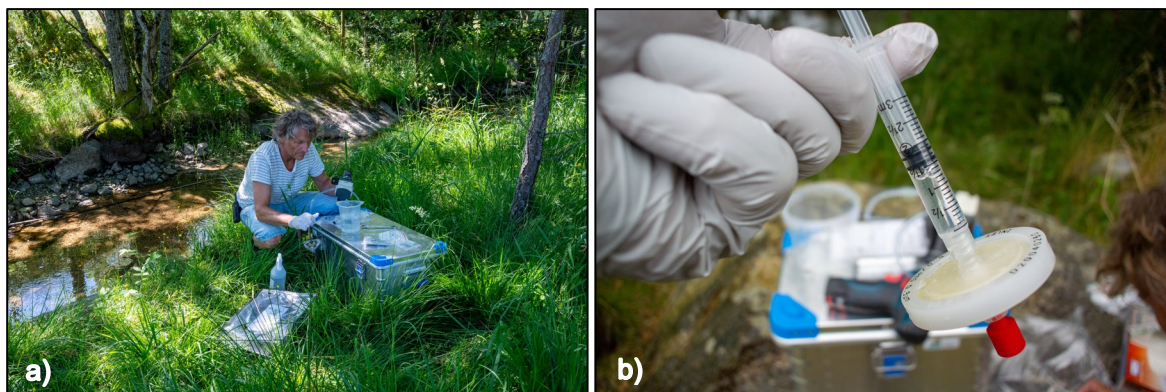


Foto 3.1. Miljø-DNA-prøvetaking. **a)** Filtrering av miljø-DNA-prøve. **b)** Filter for filtrering av miljø-DNA. Foto: Jarle Lunde.

ing Norway AS for analyse. De ble analysert med henblikk på totalt fosfor, totalt nitrogen, totalt organisk karbon, turbiditet, fargetall, suspendert stoff, suspendert stoff glødetap (mål på suspendert organisk materiale), *Escherichia coli* og koliforme bakterier. Basert på resultatene for suspendert stoff og suspendert stoff glødetap, ble også suspendert stoff gløderest regnet ut (mål på suspendert uorganisk materiale). Resultatene for totalt fosfor, totalt nitrogen og totalt karbon vil gi informasjon om hvor næringsstoffer tilføres vassdraget. Resultatene for turbiditet, fargetall, suspendert stoff, suspendert stoff glødetap og suspendert stoff gløderest vil gi informasjon om hvor partikler tilføres vassdraget. Resultatene for *E. coli* og koliforme bakterier vil gi informasjon om både hvor eutrofiering/partikkeltilførsel skjer og om tarmbakterier (fra husdyr eller mennesker) er kilden til denne tilførselen.

3.2 Miljø-DNA

Prøvetaking

Det ble samlet inn miljø-DNA-prøver i 2020 fra de samme fem stasjonene i Ereviksbekken som det ble samlet inn vannkvalitetsprøver fra i 2019 (tre i hovedstrengen nedenfor Ereviksvatnet, én i hovedstrengen mellom Ereviksvatnet og Nordravatnet, og én i sidebekken Nylandsbekken, **figur 3.1**, **tabell 3.1**). Det ble samlet inn prøver 25.06., 20.08, og 10.11.2020. I tillegg ble det gjennomført én innsamlingsrunde 24.09.2020. Denne runden måtte avbrytes, etter innsamlingen ved stasjon 3 og 4, pga. problemer med filtreringsutstyret. Innsamlingsrunden ble avsluttet 04.10.2020, med innsamling fra stasjon 1, 2 og 5. Fem liter vann ble filtrert gjennom et kapselfilter (NatureMetrics) ved hjelp av en batteridrevet peristaltisk pumpe (Bürkle Vampire, **foto 3.1**). Filtrene ble tilsatt ATL-buffer (Qiagen) frem til videre analyser på laboratoriet.

Laboratorieanalyser

DNA ble isolert fra kapselfiltrene ved hjelp av en NucleoSpin Plant II (Machery-Nagel) protokoll. En sekvens av det mitokondrielle genet COI ble amplifisert ved hjelp av generelle markører for vertebrater (Reeves et al. 2018) i en standard to-trinns 16S-Illumina protokoll. En første PCR inkluderte primere med «overhang adaptor»-sekvenser, etterfulgt av en andre PCR for å tilsette Illumina-indeks. PCR-produktene ble kvalitetssjekket på en Tape Station (Agilent 4200) og renses med magnetiske kuler (MAG-BIND RXN PURE PLUS) etter hver PCR. Til slutt ble prøvene normalisert og slått sammen til et bibliotek for sekvensering på en Illumina MiSeq maskin, ved NTNU Genomics Core Facility (GFC) i Trondheim.

Bioinformatiske analyser

Sekvenseringsresultatene ble analysert i programmet dada2 (Callahan et al. 2016) for å generere ASV-er (Amplicon Sequence Variants). Ved å bruke ASVer kontrollerer man for usikkerheten i DNA-sekvensen for hver analyse (både innen og mellom sekvensmaskiner) og genererer biologisk meningsfylte DNA-sekvenser (genotyper) med færre amplifiserings- og sekvenseringsfeil (Callahan et al. 2017). Flere studier har vist at denne tilnærmingen reduserer antall grupper/arter (OTUer (Operational Taxonomic Unit) eller ASVer) og, ikke minst, risikoen for falske genotyper. Dermed reduserer man risikoen for feilaktig påvisning av arter som ikke finnes i prøven (Caruso et al. 2019). Hver ASV ble tilordnet et artsnavn ved hjelp av BLAST søk mot NCBI (GenBank). Bare de virveldyr-ASVene som var over 99% lik med et kjent virveldyr ble inkludert i analysene.

4 Forurensningsbildet

I delkapitlene nedenfor beskrives økologisk tilstand i Ereviksbekken basert på vannkvalitetsanalysene, tilførsel av forurensning basert på vannkvalitetsanalysene og identifikasjon av forurensningskilder basert på miljø-DNA-analysene. Økologisk tilstand gir et overblikk over forurensningsutviklingen i vassdraget. Tilførsel av forurensning (næringsstoffer, partikler og tarmbakterier) viser hvor i vassdraget forurensning tilføres og gir en indikasjon på forurensningskildene. Identifikasjon av forurensningskilder vha. miljø-DNA gir en sikrere fastslåing av hva forurensningskildene er.

4.1 Økologisk tilstand

Ereviksbekken er klassifisert som «kalkfattig» og «klar» i henhold til klassifiseringen gitt i vannforskriften (Direktoratsgruppen vanndirektivet 2018), basert på tidligere vannkvalitetsanalyser (Larsen 2011; 2017, Larsen & Berger 2005). Verdiene av totalt organisk karbon fra prøvene i 2019 (**tabell 4.1**) tilsier også en klassifisering som «klar», men vi undersøkte ikke parametere som gir grunnlag for å klassifisere kalkinnhold. Dermed evaluerer vi resultatene fra vannkvalitetsanalysene i 2019 basert på en klassifisering av bekken som «kalkfattig» og «klar».

Gjennomsnittsverdien av totalt fosfor i Ereviksbekken i 2019 (**tabell 4.1**) tilsvarte «svært god» tilstand, men verdiene overskred klassegrensen for denne tilstandsklassifiseringen ved flere av lokalitetene og i flere perioder. I den nedre delen av vassdraget (stasjon 1-3 nedenfor Ereviksvatnet, der elvemuslingen finnes) tilsa gjennomsnittsverdien «god» tilstand. I løpet av sommer- og høstmånedene (prøvetaking i juni, august, september og oktober) oversteg verdiene klassegrensen for «moderat» tilstand ved alle de fem stasjonene i vassdraget. Gjennomsnittsverdien av totalt nitrogen (**tabell 4.1**) tilsa «moderat» tilstand, men også for dette parameteret var det stor variasjon i rom og tid. Nedenfor Ereviksvatnet tilsvarte gjennomsnittet «moderat» tilstand, men i hovedstrengen ovenfor Ereviksvatnet (stasjon 4) og i sidebekken Nylandsbekken (stasjon 5) tilsa gjennomsnittsverdiene henholdsvis «svært god» og «god» tilstand. I januar tilsvarte verdiene i nedre del av vassdraget «dårlig» tilstand, og om sensommeren (prøvetaking i august og september) oversteg verdiene klassegrensen for «moderat» tilstand ved begge stasjonene ovenfor Ereviksvatnet. Til sammen tilsvarte dette «moderat» økologisk tilstand i bekken inkludert nedre del av vassdraget, men tilstanden var henholdsvis «svært god» og «god» ved stasjon 4 og 5.

Basert på Statens Forurensningstilsyns (SFT; nå Miljødirektoratet) klassifiseringssystem for miljøkvalitet (Andersen et al. 1997) tilsa innholdet av termotolerante koliforme bakterier i gjennomsnitt (**tabell 4.1**) «dårlig» tilstand i Ereviksbekken. Dette var tilfellet for alle områdene i vassdraget, med unntak av hovedstrengen mellom Nordravatnet og Ereviksvatnet (stasjon 4) der tilstanden var «mindre god». I februar og april var tilstanden for vassdraget «god» og i mai var den «mindre god», mens ved de andre prøvetakingsdatoene var den «dårlig».

4.2 Tilførsel av næringsstoffer, partikler og tarmbakterier

I **tabell 4.2** beskrives endringene i vannparametere tilknyttet næringsstoffer, partikler og tarmbakterier nedstrøms i Ereviksbekken. Det vil si endringen i parametere mellom en stasjon og stasjonen nedstrøms denne. Dette gir en oversikt over hvor i systemet næringsstoffer, partikler og tarmbakterier tilføres vassdraget.

Næringsstoffer (her definert som totalt fosfor, totalt nitrogen og totalt organisk karbon) ble tilført Ereviksbekken stort sett via Ereviksvatnet (stasjon 3), i tillegg til via Nylandsbekken (stasjon 5) og hovedstrengen mellom stasjon 3 og 2 i nedre del av vassdraget (**tabell 4.2**). Totalt fosfor ble

tilført i størst mengde til Ereviksvatnet, mens totalt nitrogen i tillegg også ble tilført hovedstrengen mellom stasjon 3 og 2. Verdiene av totalt organisk karbon varierte lite i vassdraget og gir dermed lite informasjon om tilførselen av næringsstoffer til vassdraget.

Tabell 4.1. Resultatet av vannkvalitetsanalysene fra Ereviksbekken i 2019. Prøvene ble tatt ved stasjon 1-5, mellom februar og oktober 2019. Tabellen viser resultatene for totalt fosfor (Tot-P), totalt nitrogen (Tot-N), totalt organisk karbon (TOC), turbiditet (Turb), fargetall (Farge), suspendert stoff (SS), suspendert stoff glødetap (SS-GT), suspendert stoff gløderest (SS-GR), *E. coli* (*E. coli*) og koliforme bakterier (Koliform). Ekstremverdier er markert med gult. For lokalisering av stasjonene, se figur 3.1 og tabell 3.1.

Stasjon	Dato	Tot-P µg/l	Tot-N µg/l	TOC mg/l	Turb FNU	Farge mgPt/l	SS mg/l	SS-GT mg/l	SS-GR mg/l	<i>E. coli</i> MPN/100 ml	Koliform MPN/100 ml
1	12.02.	<3	790	3,1	0,87	18	<2	1,6	<0,4	4	44
	15.04.	11	720	2,8	0,61	15	2,3	<1,5	>0,8	<1	50
	14.05.	10	670	3,0	0,65	13	<2	<1,5	~0,5	14	390
	19.06.	23	620	3,4	0,88	15	<2	<1,5	~0,5	83	920
	14.08.	19	580	4,3	3,50	18	8,4	4,6	3,8	690	2000
	24.09.	6	700	3,9	1,70	*	3,3	1,8	1,5	16	190
	16.10.	15	690	4,0	1,70	23	2,1	3,8	**	40	370
	Gj.snitt	12	680	3,5	1,42	17	<3,1	<2,3	~1,3	<121	566
2	12.02.	<3	780	3,1	0,60	18	7,7	5,4	2,3	6	55
	15.04.	9	720	2,8	0,77	15	3,8	2,9	0,9	5	33
	14.05.	9	660	2,9	0,69	13	<2	<1,5	~0,5	17	200
	19.06.	21	670	3,3	0,69	14	<2	<1,5	~0,5	110	550
	14.08.	19	560	4,4	4,80	17	7,0	5,5	1,5	510	1700
	24.09.	7	710	4,7	1,70	*	3,2	2,1	1,1	22	170
	16.10.	20	600	3,9	0,73	22	<2	5,1	**	55	250
	Gj.snitt	<12	670	3,6	1,42	16	<4,0	<3,5	~1,1	104	422
3	12.02.	5	780	3,1	0,52	18	<2	1,5	<0,5	11	46
	15.04.	10	730	2,9	1,10	15	<2	2,9	**	<1	8
	14.05.	12	680	2,9	0,93	12	<2	1,9	<0,1	2	50
	19.06.	4	620	3,2	0,86	12	<2	<1,5	~0,5	58	130
	14.08.	15	190	3,7	0,49	12	<2	<2	~0,0	4	205
	24.09.	26	560	4,7	14,00	*	21,0	11,0	10,0	46	550
	16.10.	22	670	3,9	12,00	22	15,0	6,3	8,7	91	520
	Gj.snitt	13	600	3,5	4,27	15	<6,6	<3,9	~2,7	<30	216
4	12.02.	<3	240	3,1	0,28	18	<2	1,8	<0,2	1	16
	15.04.	8	190	3,1	0,42	16	2,5	2,1	0,4	1	50
	14.05.	5	200	3,2	0,44	14	<2	<1,5	~0,5	<1	70
	19.06.	<3	220	3,2	0,37	12	<2	<1,5	~0,5	12	38
	14.08.	20	580	4,2	0,76	13	2,3	<2	>0,3	39	730
	24.09.	<3	250	4,0	0,66	*	<2	<1,5	~0,5	19	180
	16.10.	13	210	3,8	0,49	18	<2	<1,5	~0,5	15	140
	Gj.snitt	<8	270	3,5	0,49	16	<2,1	<1,7	~0,4	<12	175
5	12.02.	<3	450	2,3	0,14	15	<2	1,5	<0,5	10	54
	15.04.	7	250	1,6	0,17	10	<2	<1,5	~0,5	<1	82
	14.05.	4	250	2,5	0,20	16	<2	<1,5	~0,5	1	200
	19.06.	4	280	5,1	1,10	37	<2	<1,5	~0,5	180	690
	14.08.	18	580	4,0	0,86	13	4,6	4,6	0,0	11	350
	24.09.	24	720	4,4	1,60	*	3,7	3,7	0,0	30	310
	16.10.	13	180	4,1	0,35	28	4,8	3,9	0,9	13	220
	Gj.snitt	<10	390	3,4	0,63	20	<3,0	<2,6	~0,4	35	272
Gj.snitt	12.02.	<3,4	610	2,9	0,48	17	<3,1	2,4	<0,7	6	43
	15.04.	9	520	2,6	0,61	14	<2,5	<2,2	~0,7	<2	45
	14.05.	8	490	2,9	0,58	14	<2	<1,6	~0,4	<7	182
	19.06.	<11	480	3,6	0,78	18	<2	<1,5	~0,5	89	466
	14.08.	18	500	4,1	2,08	15	<4,9	<3,7	~1,1	251	997
	24.09.	<13	590	4,3	3,93	*	<6,6	<4,0	~2,6	27	280
	16.10.	17	470	3,9	3,05	23	<5,2	<4,1	~3,4	43	300
	Totalt	<11	520	3,5	1,64	17	<3,7	<2,8	~1,3	<61	331

*fargetall ble ikke målt. **SS-GR lot seg ikke kalkulere, da SS-GT var høyere enn SS for denne datoen og SS-GR skal utgjøre differansen mellom SS og SS-GT. Årsaken til dette er ukjent.

Verdiene av totalt fosfor og totalt nitrogen var høyest om sommeren og høsten (prøvetaking i juni, august, september og oktober) i Ereviksbekken, i tillegg til at nitrogenverdiene også var høye om vinteren (prøvetaking i februar) (**tabell 4.1**). Dette tilsier ikke nødvendigvis at tilførselen av næringsstoffer var størst i denne perioden, da målingene kan illustrere en akkumulering av stoffene i vassdraget gjennom sommeren og tidlig høst.

Resultatene for partikkeltransport (her definert som turbiditet, fargetall, suspendert stoff, suspendert stoff glødetap (et mål på organisk suspendert stoff) og suspendert stoff gløderest (et mål på uorganisk suspendert stoff) tilsier at partikler stort sett ble tilført Ereviksbekken via Ereviksvatnet,

Tabell 4.2. Endring i vannkvalitet mellom relevante stasjoner i Ereviksbekken i 2019. Tabellen viser endringene for stasjon 1 mot 2, 2 mot 3, 3 mot 4, 3 mot 5, og 3 mot 4 og 5 (gjennomsnittet av de to stasjonene) mellom februar og oktober 2019. Et positivt tall indikerer en økning i parameteret nedstrøms i vassdraget. Et negativt tall indikerer en reduksjon i parameteret nedstrøms i vassdraget. Tabellen viser forskjellene for totalt fosfor (Tot-P), totalt nitrogen (Tot-N), totalt organisk karbon (TOC), turbiditet (Turb), fargetall (Farge), suspendert stoff (SS), suspendert stoff glødetap (SS-GT), suspendert stoff gløderest (SS-GR), E. coli (E. coli) og koliforme bakterier (Koliform). Ekstremverdier er markert med gult. For lokalisering av stasjonene, se figur 3.1 og tabell 3.1.

Stasjon	Dato	Tot-P µg/l	Tot-N µg/l	TOC mg/l	Turb FNU	Farge mgPt/l	SS mg/l	SS-GT mg/l	SS-GR mg/l	E. coli MPN/100 ml	Koliform MPN/100 ml
1 mot 2	12.02.	~0	10	0,0	0,17	0	<-5,7	-3,8	<-1,9	-2	-11
	15.04.	2	0	0,0	-0,16	0	-1,5	<-1,4	>0,1	<-4	17
	14.05.	1	10	0,1	-0,0,4	0	~0,0	~0,0	~0,0	-3	190
	19.06.	2	-50	0,1	0,19	1	~0,0	~0,0	~0,0	-27	370
	14.08.	0	20	-0,1	-1,3	1	1,4	3,1	2,3	180	300
	24.09.	1	-10	-0,8	0,0	*	0,1	-0,3	0,4	-6	20
	16.10.	-5	90	0,1	0,97	1	>0,1	-1,3	**	-15	120
	Gj.snitt	~0	13	-0,1	-0,01	1	<-0,8	<-1,1	~0,2	<18	144
2 mot 3	12.02.	<-2	0	0,0	0,08	0	>5,7	3,6	>1,8	-5	9
	15.04.	-1	-10	-0,1	-0,33	0	>1,8	0,0	**	>4	25
	14.05.	-3	-20	0,0	-0,24	1	~0,0	<-0,4	~0,4	15	150
	19.06.	17	50	0,1	-0,17	2	~0,0	~0,0	~0,0	52	420
	14.08.	4	370	0,7	4,31	5	>5,0	>3,5	~1,5	506	1495
	24.09.	-19	150	0,0	-12,30	*	-17,8	-8,9	-8,9	-24	-380
	16.10.	-2	-70	0,0	-11,27	0	<-13	-1,2	**	-36	-270
	Gj.snitt	<-1	70	0,1	-2,84	1	~2,6	~0,4	~0,6	>74	207
3 mot 4	12.02.	>2	540	0,0	0,24	0	~0,0	-0,3	~0,3	10	30
	15.04.	2	540	-0,2	0,68	-1	~0,5	0,8	**	~0	-42
	14.05.	7	480	-0,3	0,49	-2	~0,0	>0,4	~0,4	>1	-20
	19.06.	>1	400	0,0	0,49	0	~0,0	~0,0	~0,0	46	92
	14.08.	-5	-390	-0,5	-0,27	-1	~0,3	~0,0	>-0,3	-35	-525
	24.09.	>23	310	0,7	13,34	*	>19	>9,5	~9,5	27	370
	16.10.	9	460	0,1	11,51	4	>13	>4,8	~8,2	76	380
	Gj.snitt	>6	330	-0,1	3,78	0	~4,5	~2,2	~2,9	~18	41
3 mot 5	12.02.	>2	330	0,8	0,38	3	~0,0	-0,3	~0,0	1	-8
	15.04.	3	480	1,3	0,93	5	>-0,5	>1,4	**	~0	-74
	14.05.	8	430	0,4	0,73	-4	~0,0	>0,4	~0,4	1	-150
	19.06.	0	340	-1,9	-0,24	-25	~0,0	~0,0	~0,0	-122	-560
	14.08.	-3	-390	-0,3	-0,37	-1	>-2,6	>-2,6	~0,0	-7	-145
	24.09.	2	-160	0,3	12,40	*	17,3	7,3	10,0	16	240
	16.10.	9	490	-0,2	11,65	-6	10,2	2,4	7,8	78	300
	Gj.snitt	>3	220	0,1	3,64	-4	~3,6	~1,3	~2,5	>-5	-57
3 mot 4 og 5	12.02.	>2	440	0,4	0,31	2	~0,0	-0,3	~0,2	6	11
	15.04.	3	510	0,6	0,81	2	~0,5	>1,1	**	~0	-58
	14.05.	8	470	0,1	0,61	-3	~0,0	>0,4	~0,0	>1	-85
	19.06.	~1	390	-1,0	0,13	-13	~0,0	~0,0	~0,0	-38	-234
	14.08.	-4	-390	-0,4	-0,32	-1	~1,5	>-1,3	~0,2	-21	-335
	24.09.	13	80	0,5	12,87	*	>18,2	>8,4	~9,8	22	305
	16.10.	9	480	-0,1	11,58	-1	>11,6	3,6	8,0	77	340
	Gj.snitt	>5	270	0,0	3,71	-3	~4,1	~1,8	~2,3	~6	-8

*fargetall ble ikke målt. **SS-GR lot seg ikke kalkulere, da SS-GT var høyere enn SS for denne datoen og SS-GR skal utgjøre differansen mellom SS og SS-GT. Årsaken til dette er ukjent.

men at noe av disse partiklene ble sedimentert ut av vannmassene i nedre del av hovedstrengen i vassdraget (nedenfor stasjon 3) der bekken går gjennom et myrområde (**tabell 4.2**). Verdiene for turbiditet og suspendert stoff viser at dette mønsteret gjaldt når man ser på alle former for partikler under ett, og suspendert stoff glødetap viser det samme mønsteret for organisk materiale. Suspendert stoff gløderest tilsier også at uorganisk materiale stort sett ble tilført via Ereviksvatnet, men at det uorganiske materialet bare i liten grad ble sedimentert nedenfor vannet. Det var små forskjeller i fargetall innad i vassdraget, men verdiene var gjennomgående høyest i Nylandsbekken (stasjon 5). Det er lite sannsynlig at fargetallet indikerer en forhøyet partikkeltilførsel i denne sidebekken, da ingen av de andre parameterne indikerte høy tilførsel av partikler der.

At det ble funnet et tilførselsmønster for partikler i Ereviksbekken forklares først og fremst med ekstremt høye målinger av de forskjellige parameterne for partikkeltransport ved utløpet av Ereviksvatnet (stasjon 3) 24.09. og 16.10.2019 (fargetall ble ikke målt 24.09.) (**tabell 4.1**). Dermed kan det være vanskelig å evaluere om dette mønsteret er et kunstig resultat av ekstremverdiene på disse datoene eller om de er representative for vassdraget. Verdiene av turbiditet, fargetall og de suspenderte stoffene var høyest på sensommeren og høsten (prøvetaking i august, september og oktober), mens verdiene av de suspenderte stoffene også var høye om vinteren (prøvetaking i februar) (**tabell 4.1**). Dette sammenfaller med perioder med høy nedbør i området i 2019 (Yr 2020). Dermed kan man forvente at høyere verdier av disse parameterne er vanlig når vannføringen er høy. Nedbørdata fra området for de siste fem år (Yr 2020) viser at nedbøren som regler er høyest om høsten og vinteren. Dermed er det sannsynlig at ekstremverdiene fra september 2019 er vanligere enn våre data tilsier og ikke så ekstreme likevel.

Forekomsten av tarmbakterier (her definert som *E. coli* og koliforme bakterier) tyder på at avføring fra dyr (via beite eller gjødsling) og/eller mennesker (via kloakkutslipp) ble tilført Ereviksbekken i nedre del av vassdraget, spesielt mellom stasjon 3 og 2, og fra Nylandsbekken (stasjon 5) (**tabell 4.2**). Hovedstrengen nedenfor stasjon 2 er også et tilførselsområde, spesielt for koliforme bakterier. Det er interessant at konsentrasjonen av begge bakterietypene var lavere nedenfor Ereviksvatnet (stasjon 3) enn i Nylandsbekken. Dette forklares nok i hovedsak av at vannføringen i Nylandsbekken er mindre enn i hovedstrengen i vassdraget og at man får en fortykningseffekt. Likevel kan det også tyde på at det foregår biologiske prosesser i vannet som reduserer innholdet av disse tarmbakteriene i vannmassene.

Konsentrasjonen av tarmbakterier var høyest i Ereviksbekken om sommeren (prøvetaking i juni og august), og lavest om vinteren og våren (prøvetaking i februar og april) (**tabell 4.1**). Dette tyder på at tilførselen av avføring fra dyr og/eller mennesker er høyest på sommeren. Dette sammenfaller med når hyttene i området er mest i bruk. Resultatet er imidlertid motstridende i forhold til badevannsundersøkelsene i Ereviksvatnet i 2017, som hadde de høyeste verdiene på våren (Eurofins 2017). Høye verdier om våren sammenfaller sannsynligvis med snøsmelting og høy tilførsel av husdyravføring til vannet. Badevannsundersøkelser i 2019 gav høyest verdier i midten av juni, men undersøkelsesperioden varte bare fra midten av juni til slutten av august (Eurofins 2019).

4.3 Identifikasjon av forurensningskilder

Når man skal vurdere resultatene av miljø-DNA-analysene fra Ereviksbekken er det viktig å vurdere metodiske utfordringer knyttet til slike analyser. Hvor mye miljø-DNA som fanges opp i prøvene avhenger ikke bare av biomassen til organismene i systemet, men også av diverse miljøfaktorer, som biologisk aktivitet, vannføring, temperatur, osv. (f.eks. Barnes et al. 2014, Buxton et al. 2017, Eichmiller et al. 2016, Jane et al. 2015, Pilliod et al. 2014, Strickler et al. 2015). I tillegg kan forskjeller i sekvenseringseffektivitet for forskjellige organismer føre til at samme mengde DNA i prøven ikke nødvendigvis fører til samme antall DNA-sekvenser. Dette gjelder spesielt organismer med liten biomasse i prøvene (f.eks. Elbrecht & Leese 2015, Liu et al. 2020, Thomas et al. 2016). Derfor bør resultatene av analysene først og fremst benyttes til å identifisere

arter eller artsgrupper. Store forskjeller i antall DNA-sekvenser som blir identifisert kan indikere forskjeller i relativ biomasse, men det kan altså også skyldes metodiske utfordringer.

I **tabell 4.3** gis det en fullstendig oversikt over de virveldyrene som ble påvist ved hjelp av miljø-DNA ved de forskjellige stasjonene i Ereviksbekken. **Figur 4.1a** gir en oversikt over andel identifiserte DNA-sekvenser for de forskjellige virveldyrene inkludert menneske, mens **figur 4.1b** gir en oversikt over andel identifiserte DNA-sekvenser for de forskjellige virveldyrene ekskludert menneske. DNA fra akvatiske organismer, som ørret, trepigget stingsild, ål og skrubbe, utgjorde mestepartene av de identifiserte DNA-sekvensene, men menneskelig DNA utgjorde også en stor andel av sekvensene ved alle lokalitetene og alle prøvetakingsdatoene. Tilstedeværelsen av menneskelig DNA er vanskelig å evaluere med henblikk på forurensning, da man ikke med sikkerhet kan avgjøre om DNAet kommer fra lokalitetene som er blitt prøvetatt eller om DNAet har kommet inn i prøvene i forbindelse med prøvetaking og/eller analyse (se generell diskusjon rundt problemer knyttet til kontaminering i Sepulveda et al. 2020). Derfor må man benytte funn av virveldyr som kan knyttes til landbruksforurensning (f.eks. landbruksdyr) og kloakkforurensning (f.eks. matprodukter) for å evaluere forurensningskildene i vassdraget, selv om DNA fra enkelte arter både kan komme fra landbruk eller kloakk (Aamodt 2020). For eksempel vil funn av DNA fra storfe, sau og/eller gris kunne være et resultat av landbruks- eller kloakkforurensning, mens funn av DNA fra torsk, laks og/eller lyr vil være et resultat av kloakkforurensning. Dermed bør kunnskap om hvilke landbruksdyr som finnes i nedbørfeltet og sikre tegn på kloakkforurensning benyttes for å evaluere miljø-DNA-analysene.

I to av prøvene fra Ereviksbekken gav analysene resultater som kan tyde på feil under prøvetakingen eller behandlingen av prøvene. Dette gjelder prøven fra september ved utløpet av Ereviksvatnet (stasjon 3), der det kun ble indentifisert DNA-sekvenser fra menneske, og prøven fra august fra hovedstrengen ovenfor Ereviksvatnet (stasjon 4), der det ikke ble identifisert sekvenser fra noen virveldyr. Nærmere undersøkelser (ved hjelp av «Tape Station»-figurer) tyder på at PCR ikke fungerte optimalt, sannsynligvis fordi det var for lite DNA i prøvene eller at noe inhiberte PCR-prosessen.

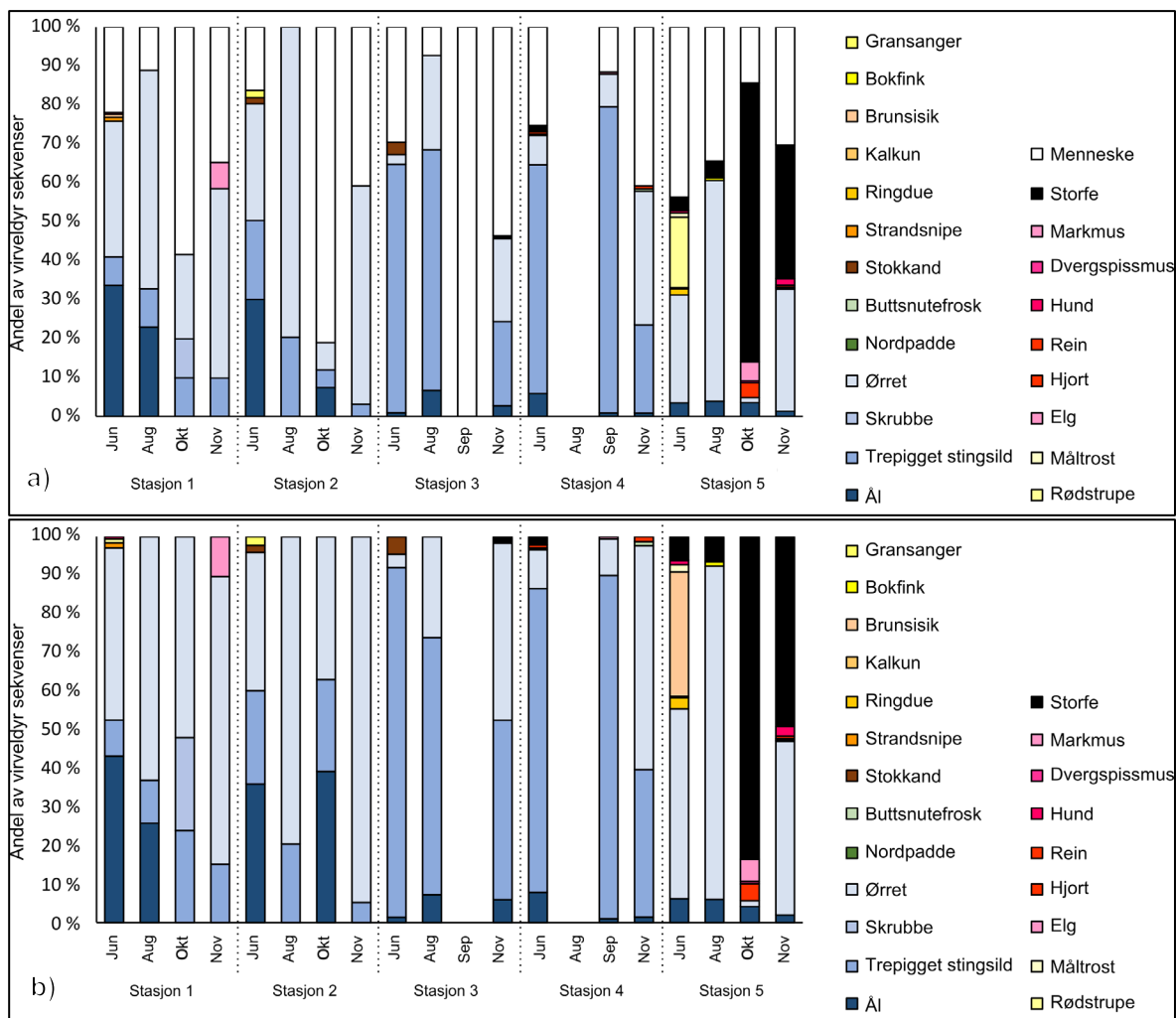
Ved utløpet av Ereviksbekken i sjøen (stasjon 1) utgjorde DNA-sekvenser fra ørret, trepigget stingsild, ål og skrubbe det aller meste av de identifiserte sekvensene (**figur 4.1b**), i tillegg til at menneskelig DNA var vanlig (**figur 4.1a**). Dette var det generelle mønsteret for stasjonen, uavhengig av prøvetakingsdato. Det ble også påvist hunde-DNA i juni (**tabell 4.3**). Dette tyder på at det tilføres avføring fra hund til bekken, men andelen DNA var svært lav (**figur 4.1b**) så dette utgjør sannsynligvis ikke et stort problem. Av fugler, som kan forekomme langs bekken, ble det funnet DNA fra strandsnipe og brunsisik (**tabell 4.3**). Det ble ikke påvist DNA fra virveldyr som tyder på tilførsel av forurensning, hverken fra landbruk eller kloakk.

I midtre del av hovedstrengen av Ereviksbekken (stasjon 2) utgjorde også DNA-sekvenser fra ørret, trepigget stingsild, ål og skrubbe det aller meste av de identifiserte sekvensene (**figur 4.1b**), i tillegg til at menneskelig DNA var vanlig (**figur 4.1a**). Av fugler, som kan forekomme langs eller i bekken, ble det funnet DNA fra stokkand og gransanger (**tabell 4.3**). Det ble ikke påvist DNA fra virveldyr som tyder på tilførsel av forurensning, hverken fra landbruk eller kloakk.

Ved utløpet av Ereviksvatnet (stasjon 3) utgjorde DNA-sekvenser fra trepigget stingsild, ørret og ål det aller meste av de identifiserte sekvensene (**figur 4.1b**), i tillegg til at menneskelig DNA også var vanlig (**figur 4.1a**). I november ble det påvist storfe-DNA (**tabell 4.3**), men andelen sekvenser var svært lav (**figur 4.1b**). Sannsynligvis kan dette knyttes til stor tilførsel av storfe-DNA via Nylandsbekken (stasjon 5) i oktober og november. Se avsnittet om Nylandsbekken, for diskusjon av dette. I tillegg kan dette nok også knyttes til gjødsling av dyrket mark langs Ereviksvatnet med storfe-gjødsel i august (Egil Byberg pers. med.), da nedbørdata (Yr 2020) tyder på at det ikke vil ha vært spesielt stor avrenning fra disse områdene før i september til november. Av fugler, som det vil være naturlig å finne ved eller på vannet, ble det funnet DNA fra stokkand (**tabell 4.3**). Det ble ikke påvist DNA fra virveldyr som tyder på tilførsel av forurensning fra kloakk.

Tabell 4.3. Påviste virveldyr i Ereviksbekken i 2020. Tabellen viser hvilke virveldyr som ble påvist ved hjelp av miljø-DNA ved de forskjellige stasjonene ved de forskjellige prøvetakingsdatoene. Det ble tatt prøver i juni, august og november ved alle stasjonene. I tillegg ble det tatt prøver i slutten av september ved stasjon 3 og 4 og i begynnelsen av oktober ved stasjon 1, 2 og 5. For andel identifiserte DNA-sekvenser for de forskjellige virveldyrene, se **figur 4.1a&b**. For lokalisering av stasjonene, se **figur 3.1** og **tabell 3.1**.

	Stasjon 1			Stasjon 2			Stasjon 3			Stasjon 4			Stasjon 5					
	Jun	Aug	OKt	Jun	Aug	OKt	Jun	Aug	Sep	Nov	Jun	Aug	Sep	Nov	Jun	Aug	OKt	Nov
Ål (<i>Anguilla anguilla</i>)	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Trepigget stingsild (<i>Gasterosteus aculeatus</i>)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Skrubbe (<i>Platichthys flesus</i>)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ørret (<i>Salmo trutta</i>)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nordpadde (<i>Bufo bufo</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Buttsnutetrosk (<i>Rana temporaria</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stokkand (<i>Anas platyrhynchos</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Strandsnipe (<i>Actitis hypoleucos</i>)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ringdue (<i>Columba palumbus palumbus</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kalkun (<i>Meleagris gallopavo</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Brunsisik (<i>Acanthis cabaret</i>)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bokfink (<i>Fringilla coelebs</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gransanger (<i>Phylloscopus collybita</i>)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rødstrupe (<i>Eritriacus rubecula</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Måltrost (<i>Turdus philomelos</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Storfe (<i>Bos taurus</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
Elg (<i>Alces alces</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hjort (<i>Cervus elaphus</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rein (<i>Rangifer tarandus</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hund (<i>Canis lupus familiaris</i>)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dvergspissmus (<i>Sorex minutus</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Menneske (<i>Homo sapiens</i>)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Markmus (<i>Microtus agrestis</i>)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



Figur 4.1. Andel av identifiserte DNA-sekvenser for de forskjellige virveldyrene i Ereviksbekken i 2020. Figuren viser andel DNA-sekvenser for de påviste virveldyrene ved de forskjellige stasjonene ved de forskjellige prøvetakingsdatoene. **a)** Figuren inkluderer andel DNA-sekvenser fra menneske. **b)** Figuren inkluderer ikke andel DNA-sekvenser fra menneske. Det ble tatt prøver i juni, august og november ved alle stasjonene. I tillegg ble det tatt prøver i slutten av september ved stasjon 3 og 4 og i begynnelsen av oktober ved stasjon 1, 2 og 5. For en oversikt over hvilke virveldyr som ble påvist, se **tabell 4.3**. For lokalisering av stasjonene, se **figur 3.1** og **tabell 3.1**.

I hovedstrengen av Ereviksbekken mellom Ereviksvatnet og Nordrvatnet (stasjon 4) utgjorde også DNA-sekvenser fra trepigget stingsild, ørret og ål det aller meste av de identifiserte sekvensene (**figur 4.1b**). I tillegg var menneskelig DNA vanlig (**figur 4.1a**), selv om det ikke ligger hus eller hytter nær bekkestrengen eller i nedbørfeltet til Nordrvatnet og det ikke er opparbeidet badeplasser i vannet (i motsetning til i Ereviksvatnet) (Jon H. Magerøy pers. obs.). Det ble påvist DNA fra storfe og rein i juni, elg i september og hjort i november (**tabell 4.3**), selv om andelen sekvenser var svært lav for alle disse virveldyrene (**figur 4.1b**). DNA fra storfe er sannsynligvis tilført i forbindelse med at et område med dyrket mark innenfor Nordrvatnet ble gjødslet med storfe gjødsel i juni (Olav Lerang pers. med.). DNA fra rein, elg og hjort kunne vært DNA fra matprodukter, men det er svært usannsynlig at dette DNAet kommer fra kloakkforurensning pga. mangelen på bebyggelse i denne delen av nedbørfeltet. Elg (Artskart 2021a) og hjort (Artskart 2021b) er vanlige dyr i området, og DNAet kommer nok fra avføring fra individer som beveger seg i nedbørfeltet. Funn av rein-DNA er overraskende og skyldes nok en metodisk feil (se diskusjon i kapittel 6). Av andre dyr, som det vil være naturlig å finne langs eller i bekken, ble det funnet DNA fra nordpadde og buttsnutefrosk (**tabell 4.3**).

I Nylandsbekken (stasjon 5) utgjorde DNA-sekvenser fra ørret det aller meste av de identifiserte sekvensene i juli, august og, i mindre grad, november, men det ble også funnet DNA fra ål (**figur 4.1b**). I tillegg var menneskelig DNA vanlig (**figur 4.1a**). Denne stasjonen skiller seg ut fra de andre stasjonene ved at DNA-sekvenser fra storfe utgjorde ca. halvparten av de identifiserte sekvensene (utenom sekvenser fra menneske) eller mer i oktober og november. Det ble også funnet en relativt stor andel ringdue-DNA i juni (**figur 4.1b**). I tillegg ble det påvist DNA fra kalkun i juni, hund i juni og hjort i oktober og november (**tabell 4.3**), men i små mengder (**figur 4.1b**). DNA fra storfe kan knyttes til at det går kviger på beite langs bekken, med tilgang til selve bekkeløpet (Egil Byberg pers. med.). Disse dyrene gikk på beite fra mai til (og med) oktober. Større mengder storfe-DNA i bekken i oktober og november, enn juni og august, kan nok knyttes til større avrenning i forbindelse med større nedbørmengder på høsten, enn sommeren (Yr 2020). Ringdue (Artskart 2021c) og hjort (Artskart 2021b) er vanlige dyr i området, og DNAet kommer nok fra avføring fra individer som beveger seg i nedbørfeltet. Funnet av kalkun-DNA er overraskende. Det kunne tenkes å komme fra kalkun som blir holdt i området eller gjødsling med kalkungjødsel, men ingen av grunneierne eller forpakterne langs Nylandsbekken kjenner til at dette skal ha vært tilfellet (Egil Byberg, Arild Erevik og Roald Fossmark pers. med.). Et alternativ er at det kunne være et resultat av kloakkforurensning, men mangelen på andre «matdyr» (utenom storfe) tyder på at dette ikke er et problem i bekken. Kalkun brukes i produksjonen av kjemikalier som brukes i PCR, og dette er nok den sannsynlige årsaken til funnet av kalkun-DNA (se diskusjon i kapittel 6). Avføring fra hund er sannsynligvis et lite problem i bekken. Av andre dyr, som kan forekomme langs eller i bekken, ble det funnet DNA fra nordpadde, buttsnutefrosk, bokfink, rødstrupe, måltrost, dvergspissmus og markmus (**tabell 4.3**).

Miljø-DNA-analysene tyder ikke på at landbruks- eller kloakkforurensning er et problem ved fles-teparten av lokalitetene i Ereviksbekken. Unntaket er Nylandsbekken, der analysene tyder på at kildene til forurensningen i denne bekken i hovedsak er kvigene som går på beite langs bekken (Egil Byberg pers. med.). Samtidig viser vannkvalitetsanalysene at tilførselen av næringsstoffer, partikler og avføring er forhøyet til store deler av vassdraget. Én mulig årsak til at vi ikke fanger opp dette tydeligere i våre miljø-DNA-analyser er at vannkvalitetsanalysene viser at området rundt Ereviksvatnet er det viktigste for tilførsel av næringsstoffer og partikler til vassdraget. DNA som blir tilført direkte til vannet vil kunne sedimentere ut siden vannmassene er stillestående (Fossøy et al. 2017b), både hvis kilden er landbruks- eller kloakkforurensning. Dermed reduserer det sannsynligheten for at vi ville fange opp DNA knyttet til denne forurensningen ved prøvetakingsstasjonen ved utløpet av vannet. Dette vil nok spesielt gjelde i perioder med lite nedbør. Dermed forklarer det kanskje hvorfor vi fanget opp storfe-DNA ved utløpet i begynnelsen av november, etter en periode med store nedbørmengder (Yr 2020), men vi fanget også opp storfe DNA i bekkestrengen mellom Nordrvatnet og Ereviksvatnet, etter gjødsling innenfor Nordrvatnet (Olav Lerang pers. med.) i en periode med lite nedbør (Yr 2020). Én annen mulig årsak til at forurensningsbildet ikke er tydeligere er at gjødslingen med naturgjødsel i hovedsak foregår på våren i nedbørfeltet (Egil Byberg, Gunnar Erevik, Roald Fossmark. Olav Lerang pers. med.). Likevel foregår det en del gjødsling i juni og på høsten som burde kunne fanges opp av våre analyser. Funn av storfe-DNA i bekkestrengen mellom Nordrvatnet og Ereviksvatnet i juni og ved utløpet av Ereviksvatnet i november tyder på at vi fanger opp dette. Årsaken til at vi valgte de prøvetakingsdatoene som vi gjorde, er at dette sammenfaller med den tidsperioden som er den viktigste forurensningsperioden i vassdraget (sommer og høst). Én tredje mulig årsak til at forurensningsbildet ikke er tydeligere er at det også gjødsles noe med kunstgjødsel i nedbørfeltet (Egil Byberg og Gunnar Erevik pers. med.). Dette vil ikke analysene våre kunne fange opp.

Et funn (eller heller mangel på funn) som er uventet er at det ikke ble påvist DNA-sekvenser fra sau ved noen av prøvetakingsstasjonene i Ereviksbekken. Sau er et vanlig beitedyr i nedbørfeltet til bekken. Det er sauebeiter i områdene ved utløpet av Ereviksvatnet, rundt vannet, langs hovedstrengen av bekken mellom Ereviksvatnet og Nordrvatnet, og i øvre del av nedbørfeltet til Nylandsbekken. Disse dyrene gikk på beite fra mai tom. oktober i 2020 (Gunnar Erevik og Roald Fossmark pers. med.). Manglende funn av sekvenser fra sau tyder på at tilførselen av avføring fra dette dyret var lav til bekken, i hvert fall i undersøkelsesperioden. Det er mulig at tilførselen fra avføring fra sau undervurderes, da mye av den potensielt vil tilføres direkte til Ereviksvatnet

(se diskusjon over). Det er også mulig at tilførselen av avføring fra sau, først og fremst, er knyttet til avrenning i forbindelse med gjødsling med sauegjødning om våren, men mengden gjødning som blir brukt er liten (Gunnar Erevik pers. med.). Som diskutert, ville våre undersøkelser i så fall ikke kunne avdekke avrenning i forbindelse med gjødslingen. Manglende funn av DNA fra sau kan ikke knyttes til problemer med å fange opp sau med den brukte metodikken, da det ikke var et problem å fange opp saue-DNA i undersøkelsene i nedbørfeltet til Gjersjøen eller i drikkevannet i Bærum (Aamodt 2020, Frode Fossøy unpubl. mat.).

5 Oppdatert tiltaksanalyse

I Ereviksbekken har først rekrutteringen blant elvemusling og så bestanden av musling gått kraftig tilbake, fra slutten av 1990-tallet og utover 2000-tallet (Larsen 2011; 2017, Larsen & Berger 2005, Ledje 1996b, Jon H. Magerøy pers. obs.). Sammen med tidligere vannkvalitetsanalyser (Eurofins 2017; 2019, Larsen 2011; 2017, Larsen & Berger 2005), tyder våre data på at den økologiske tilstanden i vassdraget har blitt dårligere fra 2003 til 2019. Basert på vannforskriftens klassifiseringsveileder for miljøtilstand i vann (Direktoratsgruppen vanddirektivet 2018) tyder fosfor- og nitrogenverdiene på at tilstanden har blitt redusert fra «svært god» til «moderat». Fra 2006 har nitratverdiene ligget konstant høyere enn det man har funnet i elvemuslingvassdrag med rekruttering, men også i 2003-2005 var flere av verdiene i grenseland til å være problematiske (Larsen 2017, Lois Lugilde 2015, Moorkens et al. 2007). I 2019 var verdiene av totalt fosfor, totalt nitrogen og turbiditet høyere enn det man har funnet i vassdrag med rekruttering (Bauer 1988, Degerman et al. 2009, Killeen 2012, Larsen 2017, Lois Lugilde 2015, Moorkens 2006). I tillegg tilsier innholdet av termotolerante koliforme bakterier «dårlig» tilstand, basert på Statens Forurensningstilsyns (SFT; nå Miljødirektoratet) klassifiseringssystem for miljøkvalitet (Andersen et al. 1997). Tilsammen tyder dette på at tilførselen av næringsstoffer, partikler og tarmbakterier er for høy for elvemusling i Ereviksbekken, og det kan bidra til å forklare hvorfor både rekrutteringen, spesielt, og bestanden av musling har gått tilbake i løpet av de siste tiårene.

Vannkvalitetsanalysene fra Ereviksbekken i 2019 viser at næringsstoffer først og fremst tilføres via Ereviksvatnet (stasjon 3). I tillegg er hovedstrengen rett nedenfor vannet (mellom stasjon 3 og 2) og Nylandsbekken (stasjon 5) viktige tilførselsområder. Konsentrasjonen av næringsstoffene er høyest om sommeren, høsten og, til dels, vinteren, men dette kan representere en akkumulering av stoffene gjennom sommeren og tidlig høst. Partikler tilføres også først og fremst via Ereviksvatnet, men Nylandsbekken er et annet viktig tilførselsområde. Tilførselen av partikler er sannsynligvis størst i forbindelse med høy vannføring om høsten og vinteren. Tarmbakterier tilføres først og fremst nedenfor Ereviksvatnet, spesielt mellom stasjon 3 og 2, men også via Nylandsbekken. Tilførselen ser ut til å være størst om sommeren. Hovedstrengen mellom Nordrvatnet og Ereviksvatnet (stasjon 4) bidrar lite til tilførselene i vassdraget.

Miljø-DNA-analysene identifiserte storfe-DNA i Nylandsbekken (stasjon 5) ved alle prøvetakingsdatoene, ved utløpet av Ereviksvatnet (stasjon 3) i november og i hovedstrengen mellom Nordrvatnet og Ereviksvatnet (stasjon 4) i juni. Andelen DNA-sekvenser av storfe (sammenlignet med alle de identifiserte sekvensene) var spesielt høy i oktober og november i Nylandsbekken. Det er sannsynlig at storfe-DNAet er knyttet til kviger på beite ved Nylandsbekken (Egil Byberg pers. med.), og gjødsling med storfe-gjødsel på et område med dyrket mark innenfor Nordrvatnet (Olav Lerang pers. med.) og på dyrket mark ved Ereviksvatnet (Egil Byberg pers. med.). Det er sannsynlig at miljø-DNA-analysene undervurderer denne tilførselen, da mye av den vil skje direkte til Ereviksvatnet og sedimentering av DNAet i de stillestående vannmassene (Fossøy et al. 2017b) vil føre til problemer med å fange opp dette ved prøvetakingsstasjonen ved utløpet av vannet. I tillegg er det mulig at mye av landbruksstilførselen er knyttet til gjødsling om våren, da det ikke ble tatt miljø-DNA-prøver. Årsaken til at det ikke ble tatt prøver om våren er at vannkvalitetsanalysene viser at forurensningsproblematikken er størst om sommeren og høsten. Det er overraskende at det ikke ble identifisert saue-DNA i noen av prøvene, siden det var sauer på beite langs Ereviksvatnet og flere av bekkestrengene i vassdraget i 2020 (Gunnar Erevik og Roald Fossmark pers. med.). Manglende funn av sekvenser fra sau tyder på at tilførselen av avføring fra dette dyret er lav til bekken, men denne tilførselen er kanskje spesielt undervurdert pga. problematikken rundt identifikasjon av tilførsel til Ereviksvatnet og prøvetakingsdatoene for miljø-DNA. Analysene vil heller ikke kunne identifisere bruk av kunstgjødsel, som brukes noe i nedbørfeltet (Egil Byberg og Gunnar Erevik pers. med.). Uansett viser analysene igjen tegn på kloakkforurensning i vassdraget, men kloakkforurensning direkte til Ereviksvatnet vil være vanskelig å identifisere, akkurat som landbruksforurensning til vannet. Til sammen tyder miljø-DNA-analysene på at landbruksforurensning er hovedårsaken til forurensningen i Ereviksbekken, mens kloakkforurensning nok bidrar lite eller ingenting.



Foto 5.1. Bilder fra Ereviksvatnet. a) Lite kantvegetasjon langs vannet. b) Lite kantvegetasjon og planering av et område ved vannet. c) Planering av et området ved vannet. Foto: Jon H. Magerøy. Fotografiene er hentet fra bilde 3 i NINA Rapport 1452 (Magerøy 2018).

Basert på funnene over er det viktig å gjennomføre tiltak for å redusere tilførselen av næringsstoffer, partikler og avføring/gjødsel til Ereviksbekken, spesielt knyttet til landbruksforurensning. Slike tiltak vil kunne bidra til å forbedre forholdene for elvemusling i vassdraget, men det er viktig å prioritere tiltak i de områdene som er de viktigste tilførselsområdene for næringsstoffer, partikler og tarmbakterier.

Ereviksvatnet (stasjon 3) er det viktigste tilførselsområdet for næringsstoffer og partikler til Ereviksbekken, mens det kan være at biologiske prosesser i vannet bidrar til å redusere tilførselen av tarmbakterier til nedre deler av vassdraget. Hovedkilden til tilførselen til vannet er sannsynligvis avrenning fra landbruksarealene rundt vannet, som består både av husdyrbeite og dyrket mark (Magerøy 2018, Jon H. Magerøy pers. obs.). Områdene med dyrket mark har økt fra 1973 og fram mot 2003. I tillegg ble en del tilleggsareal tørrlagt i forbindelse med senkningen av Ereviksvatnet (Norge i bilder 2020), som fant sted rundt 1980 (Oletta Erevik og Egil Byberg pers. med.). På grunn av landbruksaktiviteten finnes det nesten ikke kantvegetasjon langs store deler av vannet (**foto 5.1a&b, foto 5.2**). Mengden kantvegetasjon har blitt redusert siden 2012. Sannsynligvis har dette først og fremst skjedd i løpet av 2017, da et skogsområde ble hogget i juli. Arbeid med planering av dette området forgikk mellom juli og november 2017 (**foto 5.1b&c**) (Magerøy 2018). Siden den gang har dette området blitt opparbeidet til forproduksjon (Jon H. Magerøy pers. obs.). Slik aktivitet fører til økt avrenning til vannet under arbeidet. I tillegg fører mangelen på kantvegetasjon til at partikler og næringsstoffer lettere tilføres vannet, selv etter at området er dyrket opp. Miljø-DNA-analysene tyder på at gjødsling med storfe gjødsel langs vannet bidrar til forurensning av vannet. Som diskutert ovenfor, undervurderer analysene nok landbruksforurensningen, spesielt knyttet til sau. I tillegg er det mulig at analysene ikke vil kunne identifisere kloakkforurensning til vannet.

Det er viktig å redusere avrenningen til Ereviksvatnet fra landbruksarealene rundt dette, for å forbedre forholdene for elvemuslingen i Ereviksbekken. I dette området vil det viktigste tiltaket



Foto 5.2. Flyfoto av Ereviksvatnet. Bekkestrengene i Ereviksbekken er markert i grønt. Stasjon 5 ligger i Nylandsbekken, stasjon 4 ligger i hovedstrengen ovenfor vannet og stasjon 3 ligger i hovedstrengen nedenfor vannet. Områder der det bør opprettes buffersoner er markert med hvitt. Fotografiet er hentet fra foto 5.2 i Magerøy (2020).

være å opprette buffersoner langs vannet (se **foto 5.2**). Ideelt sett burde en buffersone med naturlig vegetasjon gjenopprettes (Blankenberg et al. 2017). I beiteområdene vil dette kreve gjerding av denne buffersonen, for å hindre at beitedyrene holder vegetasjonen nede. I tillegg vil beplantning med busker og trær føre til at naturlig vegetasjon etableres raskere. Et alternativ er å opprettholde en buffersone med ugjødslet mark ned mot vannet. Dette vil ikke ha like stor effekt på avrenningen som de naturlige buffersonene (Blankenberg et al. 2017), men vil redusere avrenningen til vannet noe. I tillegg er det viktig å opprettholde vegetasjonen som allerede finnes langs vannet, for at avrenning fra de nærliggende områdene ikke skal bli et større problem. En oppsummering av internasjonal og norsk litteratur tilsier at effekten av buffersoner øker mest opp til 10 m, men at effekten i stor grad avhenger av helningsgraden på terrenget (Blankenberg et al. 2017). I Hordaland har man benyttet en sone på 5 m langs elvemuslingvassdrag, men dette var et kompromiss mellom hensyn til muslingen og jordbruksaktiviteten (Kålås et al. 2016). Litteraturen viser at effekten av buffersoner er dårligere på fosfor enn partikler, nitrogen og plantevernmidler (Blankenberg et al. 2017). Siden fosfortilførsel er et problem i Ereviksbekken, anbefaler vi soner på 10 m, men soner på 5 m vil også ha en effekt. Det vil være nødvendig at disse tiltakene gjennomføres i samarbeid med grunneierne, og incentivordninger kan brukes for å få til et godt samarbeid, som utprøvd langs elvemuslingvassdrag i Hordaland (Kålås et al. 2016). Grunneierne vil også kunne gi innspill til hvilke områder som bør prioriteres, avhengig av bruken av områdene (bl.a. gjødsling og beitetrykk). Det er også nødvendig å gjennomføre en kontroll av kloakksystemene ved gårdene og hyttene som potensielt sett kan ha systemer med utløp direkte til Ereviksvatnet, for å forsikre seg om at ingen av disse bidrar til utslipp som påvirker vassdraget. Systemer som bidrar til slike utslipp må utbedres.

Hovedstrengen rett nedenfor Ereviksvatnet (mellom stasjon 3 og 2) er det viktigste tilførselsområdet for tarmbakterier til Ereviksbekken. De høye verdiene av tarmbakterier tyder på at det tilføres avføring fra dyr (via beite eller gjødsling) og/eller mennesker (via kloakkslipp) til vannmassene. I tillegg er området også et viktig tilførselsområde for nitrogen, sannsynligvis fra denne



Foto 5.3. Flyfoto av hovedstrengen nedenfor Ereviksvatnet (mellom stasjon 3 og 2). Bekkestrengen er markert i grønt. Stasjon 3 ligger ved utløpet av vannet og stasjon 2 ligger midterst i bekkestrengen nedenfor vannet. Områder der det bør opprettes buffersoner er markert med hvitt. Fotografiet er hentet fra foto 5.3 i Magerøy (2020).

avføringen. Det er et beiteområde for sau ved utløpet fra vannet, og det kan være en kilde til tarmbakteriene. Vegetasjonssonene har økt langs denne delen av hovedstrengen mellom 1973 og 2003 (Norge i bilder 2020), og er gode i dag (**foto 5.3**) (Magerøy 2018, Norge i bilder 2020). Dette gjør at beiteområdene neppe er eneste kilde til tarmbakteriene i denne delen av hovedstrengen. Det er nok mer sannsynlig at kloakk fra hyttene i dette området bidrar til de høye verdiene av tarmbakterier som ble funnet. Likevel tyder miljø-DNA-analysene på at hverken landbruks- eller kloakkforurensning er et problem i denne delen av bekken. Som nevnt, er det mulig at analysene ikke fanger opp en del av landbruksforurensningen i forbindelse med saueholdet langs bekken. Derimot burde de fange opp tegn på kloakkforurensning, hvis det finner sted, da de ble gjennomført over en periode da hyttebruken og sannsynligheten for utslipp vil være stor.

Selv om vannkvalitetsundersøkelsene og miljø-DNA-analysene gir noe motstridende svar om forurensningsbildet i hovedstrengen rett nedenfor Ereviksvatnet, er det viktig å forbedre forholdene for elvemuslingen i Ereviksbekken. Dermed bør man være føre var og redusere avren-



Foto 5.4. Flyfoto av Nylandsbekken. Bekkestrengen er markert i grønt. Stasjon 5 ligger nederst ved utløpet i Ereviksvatnet. Områder der det bør opprettes buffersoner er markert med hvitt. Fotografiet er hentet fra foto 5.4 i Magerøy (2020).

ningen til hovedstrengen fra beiteområdene ved utløpet av Ereviksvatnet og forhindre eventuelle kloakkutslipp i området. Som diskutert for tiltakene ved vannet, er det viktig å opprette en buffersone innenfor beiteområdet (se **foto 5.3**), ideelt sett gjennom gjerding og reetablering av naturlig vegetasjon. I tillegg er det viktig å opprettholde vegetasjonen som finnes langs denne delen av hovedstrengen, for at avrenning fra de nærliggende områdene ikke skal bli et større problem. Man bør også gjennomføre en kontroll av kloakksystemene ved hyttene i området og utbedre eventuelle mangler.

Nylandsbekken (stasjon 5) er et viktig tilførselsområde for næringsstoffer og tarmbakterier til Ereviksbekken. Dette tyder på at næringsstoffene i stor grad stammer fra avføring fra husdyr som går på beite langs bekken eller gjødsling. I nedre del er det dyrket mark langs bekken, mens i øvre deler renner den gjennom beitemark. Flyfoto viser at vegetasjonen har økt langs Nylandsbekken mellom 1973 og 2003, men det er fremdeles lite vegetasjon langs sørsiden av bekken (**foto 5.4**) (Norge i bilder 2020). Det er ingen ting som tyder på at kloakkutslipp fra gården på Nyland bidrar til tilførselen av næringsstoffer og tarmbakterier til Nylandsbekken, da eventuelle utslipp sannsynligvis går direkte fra gården og ut i Ereviksvatnet (Jon H. Magerøy pers. obs.). Miljø-DNA-analysene tyder på at kviger som går på beite langs bekken (Egil Byberg pers. med.) er hovedkilden til tilførselen av næringsstoffer og tarmbakterier, spesielt siden det gjødsles lite mot dette bekkeløpet (Egil Byberg pers. med.). Analysene viser heller ingen tegn til kloakkforurensning av bekken.

Det er viktig å redusere avrenningen fra beiteområdet for kviger til Nylandsbekken, for å forbedre forholdene for elvemusling i Ereviksbekken. Som diskutert over, er det viktig å opprette en buffersone langs denne bekken (se **foto 5.4**). Ideelt sett bør naturlig vegetasjon gjenopprettes innenfor beiteområdene, der gjerding vil være nødvendig for å oppnå dette. I hvert fall bør det set-



Foto 5.5. Påvirkning i nedre del av Ereviksbekken. a & b) Vegetasjon langs bekken. c) Bekken kommer ut til høyre i bildet. d-f) Hyttene ligger alle innen 50 m fra bekken. Foto: Jon H. Magerøy. Fotografiene er hentet fra bilde 4 i Magerøy (2018).



Foto 5.6. Flyfoto av hovedstrengen ned mot sjøen (mellom stasjon 2 og 1). Bekkestrengen er markert i grønt. Stasjon 2 ligger midterst i bekkeløpet nedenfor Ereviksvatnet og stasjon 1 ligger ved utløpet i sjøen. Fotografiet er hentet fra foto 5.6 i Magerøy (2020).

tes opp et gjerde langs bekken som begrenser tilgangen for kvigene, slik at de ikke har direkte tilgang til hele bekkeløpet (Egil Byberg pers. med.). Dette vil kunne bidra til å redusere tilførselen av storfeavføring til bekken og erosjon i og langs bekkeløpet.

Hovedstrengen nederst mot sjøen (mellom stasjon 2 og 1) er et viktig tilførselsområde for tarmbakterier til Ereviksbekken. Dette tyder på at det tilføres avføring til denne delen av hovedstrengen. Siden vegetasjonssonene er gode (**foto 5.5a&b**) og det er lite landbruksarealer i dette området, er det lite sannsynlig at tarmbakteriene stammer fra husdyravføring eller gjødsel. Derfor er det mest sannsynlig at kloakk fra bebyggelsen i dette området bidrar til de høye verdiene av tarmbakterier som ble funnet. Det finnes en del eldre bebyggelse i området som kan ha kloakk-systemer som fører til utslipp i området, selv om det ikke er observert direkteutslipp til denne delen av hovedstrengen. I tillegg er det bygget mange nye hytter i området (**foto 5.5c-f**, **foto 5.6**) (Larsen 2011, Magerøy 2018, Norge i bilder 2020, Jon H. Magerøy pers. obs.), men man må regne med at eventuelle utslipp fra de nyere hyttene går ut i sjøen. I forbindelse med hytteutbyggingen ble det tilført fyllmasser (**foto 5.5e&f**, **foto 5.6**) og det ble hogget trær ned mot bekken (Larsen 2011, Larsen & Berger 2005, Magerøy 2018). Senere har kantvegetasjonen reetablert seg (**foto 5.5a&b**) (Magerøy 2018), og vannkvalitetsanalysene tyder ikke på at tilførsel av næringsstoffer og partikler til denne delen av hovedstrengen er et stort problem. Miljø-DNA-analysene tyder på at hverken landbruks- eller kloakkforurensning er et problem. De burde fange opp tegn på kloakkforurensning hvis det finner sted, da de ble gjennomført over en periode da hyttebruken og sannsynligheten for utslipp vil være stor.

Selv om vannkvalitetsundersøkelsene og miljø-DNA-analysene gir noe motstridende svar om forurensningsbildet i den nederste delen av hovedstrengen i Ereviksbekken, er det viktig å gjøre

tiltak som forbedrer forholdene for elvemuslingen i bekken. Dermed bør man være føre var og gjennomføre en kontroll av kloakksystemene ved hyttene i området og utbedre eventuelle mangler. I tillegg er det viktig å opprettholde vegetasjonen som finnes langs denne delen av hovedstrengen, for at avrenning fra de nærliggende områdene ikke skal bli et problem.

Hovedstrengen mellom Nordrvatnet og Ereviksvatnet (stasjon 4) er det minst viktige tilførselsområdet blant de undersøkte delene av Ereviksbekken. Likevel er tilførselen av næringsstoffer såpass stor at den ligger i grenseland til å være problematisk for elvemusling, sammenlignet med de nivåene man har funnet blant rekrutterende bestander av elvemusling i Norge (Larsen 2017), Skandinavia (Degerman et al. 2009) og resten av Europa (Bauer 1988, Killeen 2012, Lois Lugilde 2015, Moorkens 2006). Eneste kilde til tilførselen er avrenning fra landbruksarealene langs bekken og oppstrøms Nordrvatnet. Flyfoto viser at vegetasjonen langs bekken og vannet har økt mellom 1973 og 2003, men andelen dyrket mark har også økt i området (Norge i bilder 2020). I dag renner selve bekken gjennom beitemark, og det er noe dyrket mark både i nærheten av bekken og oppstrøms Nordrvatnet (**foto 5.7**, **foto 5.8**) (Magerøy 2018, Norge i bilder 2020, Jon H. Magerøy pers. obs.). Miljø-DNA-analysene tyder på at gjødsling av et området med dyrket mark innenfor vannet har bidratt til tilførselen av næringsstoffer til bekken. I tillegg er det mulig at analysene ikke fanger opp en del av landbruksforurensningen i forbindelse med saueholdet langs bekken.

Det kan være nødvendig å redusere avrenningen fra beitene og områdene med dyrket mark også i den øvre delen av nedbørfeltet, langs hovedstrengen mellom Nordrvatnet og Ereviksvatnet og oppstrøms Nordrvatnet, for å forbedre forholdene for elvemusling i Ereviksbekken. Som diskutert over, er det viktig å opprette en buffersone langs hovedstrengen (se **foto 5.8**). Ideelt sett bør naturlig vegetasjon gjenopprettes, og innenfor beiteområdene vil gjerding være nødvendig for å oppnå dette. Det er gode vegetasjonssoner mellom de fleste områdene med dyrket mark og bekken i denne delen av vassdraget, men det kan være aktuelt med en ugjødslet buffersone i områdene med dyrket mark som ligger ved nordenden av Nordrvatnet. Det er også viktig å opprettholde vegetasjonen som finnes langs bekken og vannet, for at avrenning fra de nærliggende områdene ikke skal bli et større problem.

Tilførselsområdene for næringsstoffer, partikler og/eller tarmbakterier i Ereviksbekken, i rekkefølge fra de viktigste til de minst viktige, er:

- Ereviksvatnet (stasjon 3)
- Hovedstrengen rett nedenfor vannet (mellom stasjon 3 og 2)
- Sidebekken Nylandsbekken (stasjon 5)
- Hovedstrengen nederst mot sjøen (mellom stasjon 2 og 1)
- Hovedstrengen mellom Nordrvatnet og Ereviksvatnet (stasjon 4)

Denne rekkefølgen er likevel ikke den riktige prioriteringsrekkefølgen for tiltak for elvemusling i vassdraget. Muslingen finnes bare nedenfor Ereviksvatnet (Larsen 2011, Larsen & Berger 2005, Magerøy 2018), og tiltak i dette området bør derfor prioriteres. Selv om miljø-DNA-analysene ikke tyder på at kloakkforurensning er et problem, bør man være føre var og gjennomføre en kontroll av kloakksystemene langs denne delen av bekken. Det bør være en relativt enkel jobb å gjennomføre en slik kontroll. Til sammenligning vil det være mer ressurskrevende å gjenopprette buffersoner i store arealer langs Ereviksvatnet (og Nordrvatnet), langs hovedstrengen mellom vannene og langs Nylandsbekken. Selv om dette også er svært viktige tiltak, bør tiltakene nedenfor Ereviksvatnet prioriteres først.

Tiltakene som foreslås her er basert på tiltakene som ble foreslått i den opprinnelige tiltaksanalysen for elvemusling i Ereviksbekken (Magerøy 2018) og oppdatert basert på vannkvalitetsanalysene fra 2019 (opprinnelig rapportert i Magerøy 2020) og miljø-DNA-analysene i 2020. For flere detaljer rundt andre trusler og tiltak, henvises det til den opprinnelige tiltaksanalysen. Den fokuserer også på tiltak knyttet til lav vannføring og fysiske inngrep i nedbørfeltet. Flere av grunneierne i nedbørfeltet har uttalt at de er positive til å bidra til å bedre vannkvaliteten og miljøforhold-



Foto 5.7. Beitemark langs Ereviksbekken mellom Nordravatnet og Ereviksvatnet. a & b) Beitemark holder bekkekanten relativt åpen. Foto: Jon H. Magerøy. Fotografene er hentet fra bilde 3 i Magerøy (2018).



Foto 5.8. Flyfoto av hovedstrengen mellom Nordravatnet og Ereviksvatnet. Bekkestrengen er markert i grønt. Stasjon 4 ligger i øvre del av bekkestrengen. Områder der det bør opprettes buffersoner er markert med hvitt. Fotografiet er hentet fra foto 5.8 i Magerøy (2020).

ene i vassdraget, selv om de ser noen utfordringer knyttet til gårdsdriften i nedbørfeltet (Egil Byberg pers. med., kontakt med andre grunneiere viderefremidlet av Annette Fosså, Fylkesmannen i Rogaland (nå Statsforvalteren i Rogaland)).

6 Bruk av miljø-DNA til å identifisere forurensningskilder

Foreløpig har bruken av miljø-DNA til identifikasjon av forurensningskilder først og fremst fokusert på å identifisere kildene til tarmbakterieforensning (f.eks. Caldwell et al. 2011, González-Saldía et al. 2019, Staley et al. 2018, Stoeckel & Harwood 2007, Toranzos 1991). Slike undersøkelser kan for eksempel skille mellom tarmbakterier fra mennesker og gårdsdyr (f.eks. Lamendella et al. 2007; 2008, Lee et al. 2010). I tillegg er det foreslått at metoden kan brukes for å vurdere effektiviteten av renseanlegg i forbindelse med tømmerforedling (Coble et al. 2019). Dette er foreløpig en relativt begrenset bruk av miljø-DNA til å identifisere forurensningskilder når metoden i prinsippet bør kunne brukes for å identifisere alle typer forurensningskilder som kan knyttes til DNAet til en organisme. Man kan for eksempel identifisere om organiske partikler i et vassdrag kommer fra terrestriske eller akvatiske kilder og bruke dette til å identifisere økt tilførsel av partikler i forbindelse med skogbruk. Potensialet er spesielt stort siden man nå relativt enkelt kan identifisere store organismegrupper gjennom DNA-metastrekkoding (oppsummert i f.eks. Coble et al. 2019, Garlapati et al. 2019, Rees et al. 2014, se Ekrem and Majaneva 2019, Mo and Fossøy 2019 eller Aamodt 2020 for eksempler fra Norge).

I Norge er metastrekkoding tidligere bare brukt til å identifisere kildene som forklarer tilførselsmønstre av forensning i nedbørfeltet til Gjersjøen, som er drikkevannskilde for Nordre Follo og Ås kommuner i Viken fylke (Aamodt 2020, Frode Fossøy upubl. mat.). I disse prøvene fant man at den klart største bidragsyteren til miljø-DNA fra virveldyr var menneske, men gris, sau (som var vanskelig å skille fra geit), stokkand, rotte, vannspissmus og hund var viktige bidragsyttere avhengig av prøvetakingsstasjon og -dato. I tillegg ble det funnet DNA fra katt, rådyr, kalkun, torsk, rev og rein. Det ble også tatt noen referanseprøver fra drikkevannet i Bærum. I disse prøvene fant man også at den klart største bidragsyteren til miljø-DNAet var menneske, men elg, kylling, sau, rein og hund var viktige bidragsyttere avhengig av prøvetakingsdato. I tillegg ble det funnet DNA fra oter og kalkun. Disse miljø-DNA-analysene ville ikke kunne identifisere DNA fra storfe, da storfeserum ble benyttet i analysene. Som nevnt er DNA fra menneske lite egnet til å identifisere forurensningskilder, da man ikke med sikkerhet kan avgjøre om DNAet kommer fra lokalitetene som er blitt prøvetatt eller om DNAet har kommet inn i prøvene i forbindelse med prøvetaking og/eller analyse (se diskusjon nedenfor).

DNA fra urbane dyr som rotte, hund og katt tyder på urban- og/eller kloakkforensning. Torsk er et matprodukt som tyder på kloakkforensning. Funn av enkelte av de andre organismene kan være vanskeligere å tolke, siden gris, sau og kalkun både kan være et matprodukt eller et gårdsdyr. Enkelte av prøvene var tatt i mer landlege områder og funn av gris og sau i disse tyder på utslipp eller avrenning fra gårdsdrift, men de fleste prøvene ble tatt i urbane områder der funn av disse organismene tyder på kloakkutslipp. Funn av kylling og sau i drikkevannet i Bærum tyder på at drikkevannet er påvirket av landbruksforensning, siden drikkevannskildene ligger i mer landlege områder. Det ser også ut som hunder blir luftet i nærområdet til drikkevannskildene. At man finner rein-DNA i disse prøvene er vanskelig å forklare, siden drikkevannskildene ligger i landlege områder der det hverken finnes rein (Artskart 2021d) eller man forventer kloakkutslipp. Dette skyldes nok en feil i metodikken (se diskusjon nedenfor). Funn av kalkun-DNA, både i nedbørfeltet til Gjersjøen og i drikkevannet, kunne tyde på landbruks- og/eller kloakkforensning, men kalkun brukes også til produksjon av kjemikalier som brukes i PCR. Dermed er dette nok mer sannsynlig årsaken til funnet av kalkun-DNA (se diskusjon nedenfor). At man finner organismer som stokkand, vannspissmus, rådyr, rev, elg og oter er ikke overraskende, da disse er organismer som man forventer å finne i nærheten av våre vassdrag. Alt i alt tyder prøvene på at hovedkildene til forensningen i nedbørfeltet til Gjersjøen stort sett er urban og kloakkbasert, mens landbruksforensning dominerer ved én av prøvetakingsstasjonene i nedbørfeltet og i drikkevannet til Bærum.

I Ereviksbekken var DNA fra menneske én av de største bidragsyterne til miljø-DNA fra virveldyr, men ørret, trepigget stingsild, storfe, ål og ringdue var viktige bidragsyttere avhengig av

prøvetakingsstasjon og -dato. I tillegg ble det funnet DNA fra skrubbe, nordpadde, buttsnute-frosk, strandsnipe, brunsisik, stokkand, gransanger, kalkun, bokfink, rødstrupe, måltrost, hund, rein, elg, hjort, dvergspissmus og markmus. Funn av storfe tyder på landbruksforurensning, siden resultatene av analysene ikke tyder på kloakkforurensning i vassdraget. At det ble funnet kalkun er overraskende, siden det heller ikke er kjent at denne fuglen har blitt holdt eller at det er brukt kalkungjødse i den delen av nedbørfeltet der kalkun-DNAet ble funnet (Egil Byberg, Arild Erevik og Roald Fossmark pers. med.). Funn av rein var også overraskende. Begge disse funnene skyldes nok, som nevnt, metodiske utfordringer (se diskusjonene nedenfor). Mangel på funn av sau er også overraskende siden den er et vanlig beitedyr langs vassdraget (Gunnar Erevik og Roald Fossmark pers. med.).

Bruk av miljø-DNA til å identifisere forurensningskilder har stort potensiale (f.eks. Caldwell et al. 2011, Coble et al. 2019, González-Saldía et al. 2019, Staley et al. 2018, Stoeckel & Harwood 2007, Toranzos 1991). Likevel er det også en del utfordringer knyttet til at noen organismer representerer flere forskjellige forurensningskilder (Aamodt 2020, Frode Fossøy upubl. mat., våre data), hvordan miljøforhold påvirker mengden DNA i prøvene (f.eks. Barnes et al. 2014, Buxton et al. 2017, Eichmiller et al. 2016, Jane et al. 2015, Pilliod et al. 2014, Strickler et al. 2015), forskjeller i sekvenseringseffektivitet for forskjellige organismer (f.eks. Elbrecht & Leese 2015, Liu et al. 2020, Thomas et al. 2016), potensialet for kontaminering av prøvene (oppsummert i Sepulveda et al. 2020), at sekvenser kan være knyttet til feil art i databaser (f.eks. Bidartondo 2008, Hofstetter et al. 2019) og at markørene ikke alltid er sensitive nok til å skille mellom nært beslektede arter (f.eks. Bækkeli et al. 2020, Fukumoto et al. 2015, Wilcox et al. 2013; 2015). De tre siste utfordringene kan også føre til at man får såkalte falske positive resultater. Det vil si at man identifiserer DNA fra organismer som ikke var tilstede i prøvene (f.eks. Ficotola et al. 2016, Lahoz-Monfort et al. 2016). Analysene fra nedbørfeltet til Gjersjøen, med referanseprøvene fra drikkevannet i Bærum, (Aamodt 2020, Frode Fossøy upubl. mat.) og Ereviksbekken illustrerer både dette potensialet og disse problemene.

Potensialet illustreres ved at prøvene bidro til å identifisere de viktigste forurensningskildene i de forskjellige prøvetakingsområdene. Miljø-DNAet fra nedbørfeltet til Gjersjøen tyder på at kloakkforurensning er hovedkilden til forurensningen i nedbørfeltet. Unntaket var én bekk i et landlig område i nedbørfeltet, der DNAet tyder på at landbruksforurensning er hovedkilden. I drikkevannet i Bærum ble det funnet miljø-DNA som tyder på at drikkevannskildene er påvirket av landbruksforurensning og at folk går tur med hunder i områdene rundt disse (Aamodt 2020, Frode Fossøy upubl. mat.). Miljø-DNAet fra Ereviksbekken tyder på at landbruksforurensning er hovedkilden til forurensningen i bekken, mens det ikke ble funnet tegn på kloakkforurensning.

Utfordringene knyttet til at noen organismer representerer flere forskjellige forurensningskilder blir illustrert i studiene. I nedbørfeltet til Gjersjøen, med referanseprøvene fra drikkevannet i Bærum, ble det funnet miljø-DNA fra gris, sau og kylling (Aamodt 2020, Frode Fossøy upubl. mat.). I Ereviksbekken ble det funnet DNA fra storfe. DNA fra alle disse organismene kan være en indikasjon på landbruksforurensning eller kloakkforurensning. Heldigvis er det likevel ofte mulig å sannsynliggjøre hva kilden til dette DNAet er. I nedbørfeltet fra Gjersjøen tyder tilstedeværelsen av DNA fra rotte og torsk på kloakkforurensning, mens i Ereviksbekken ble det ikke funnet DNA fra organismer som bare kan knyttes til kloakkforurensning. Det er også mulig å bruke eksisterende kunnskap om nedbørfeltene for å identifisere om det er sannsynlig at DNAet fra en spesifikk organisme kommer fra landbruks- eller kloakkforurensning. For eksempel kommer DNAet fra gris nødvendigvis fra kloakkforurensning, hvis det ikke holdes gris eller gjødsles med grisekjød ved noen av gårdene i nedbørfeltet til en prøvetakingsstasjon. Et alternativ hadde også vært å analysere miljø-DNA-prøvene med henblikk på planter. Dette ville gitt ytterligere informasjon om organismer som kunne knyttes til landbruksforurensning og/eller kloakkforurensning. En slik tilnærming ville krevd større økonomiske ressurser for å gjennomføre prosjektene. På lengre sikt vil denne problematikken sannsynligvis løses ved at man får markører som er spesifikke på organismer som bare kan knyttes til den ene eller den andre forurensningskilden. Man har f.eks. utviklet markører for å identifisere virus og bakterier som er spesifikke for avføringen til forskjellige organismer (f.eks. Ahmed et al. 2010, Lamendella et al. 2007; 2008, Lee et

al. 2010), men mer forskning er nødvendig før disse metodene kan brukes som en generell metodikk for å identifisere forurensningskilder vha. metastrekkoding av miljø-DNA.

Utfordringene knyttet til hvordan miljøforhold påvirker mengden DNA i prøvene (f.eks. Barnes et al. 2014, Buxton et al. 2017, Eichmiller et al. 2016, Jane et al. 2015, Pilliod et al. 2014, Strickler et al. 2015) blir også illustrert i studiene. Både i nedbørfeltet til Gjersjøen (Aamodt 2020, Frode Fossøy upubl. mat.) og i Ereviksbekken var det stor variasjon i andelen miljø-DNA avhengig av prøvetakingsdato. Andelen DNA som kunne knyttes til landbruksforurensning var høyere i perioder med høy vannføring, sannsynligvis pga. høyere avrenning fra beiter og områder med dyrket mark. I begge studiene påvirket derfor prøvetakingsdato og miljøforholdene på disse datoene resultatene. I Ereviksbekken ble nok også resultatene ved stasjonene ved utløpet av Ereviksvatnet og i hovedstrengen mellom Nordrvatnet og Ereviksvatnet påvirket av at miljø-DNA sedimenterer i stillestående vann i innsjøer (Fossøy et al. 2017b). I tillegg er det diverse andre miljøforhold (f.eks. Barnes et al. 2014, Buxton et al. 2017, Eichmiller et al. 2016, Jane et al. 2015, Pilliod et al. 2014, Strickler et al. 2015) som man må vurdere når man skal planlegge når og hvor man skal gjennomføre prøvetaking av miljø-DNA og hvordan man skal tolke resultatene av de påfølgende analysene.

Utfordringene knyttet til forskjeller i sekvenseringseffektivitet for forskjellige organismer (f.eks. Elbrecht & Leese 2015, Liu et al. 2020, Thomas et al. 2016) er også tilstede i begge studiene (Aamodt 2020, Frode Fossøy upubl. mat., våre data), men de gir ikke grunnlag for å vurdere hvordan denne utfordringen påvirker resultatene.

Utfordringene knyttet til kontaminering av prøvene (oppsummert i Sepulveda et al. 2020) illustreres også i studiene. I begge studiene utgjorde DNA fra menneske en stor andel av det identifiserte miljø-DNAet (Aamodt 2020, Frode Fossøy upubl. mat., våre data). Siden det er vanskelig å forsikre seg om at menneske-DNAet stammer fra prøvene og ikke har kommet inn i prøvene i forbindelse med prøvetaking og/eller analyse, er det vanskelig å benytte dette DNAet til å identifisere forurensningskilder i de to studiene. Heldigvis er kontamineringsproblematikken mindre når det gjelder andre organismer, siden de ikke er involvert i hverken prøvetaking eller analyse av prøvene. Likevel forklares nok funnet av kalkun i Ereviksbekken med kontaminering av prøvene med kalkun-DNA, da kalkun brukes til produksjon av kjemikalier som brukes i PCR. Kontaminering av prøvene i labben er nok den mest sannsynlige årsak til tilstedeværelsen av kalkun-DNAet, spesielt siden det ikke er kjent at denne fuglen har blitt holdt eller at det er brukt kalkungjødsel i nedbørfeltet (Egil Byberg, Arild Erevik og Roald Fossmark pers. med.). Funn av kalkun i nedbørfeltet til Gjersjøen og i drikkevannet i Bærum kan også skyldes slik kontaminering, men det er også mulig at det kan skyldes landbruksforurensning knyttet til kalkunproduksjon.

Utfordringene knyttet til at det kan være feil i databasen(e) som brukes til å identifisere DNAet i miljø-DNA-prøvene illustreres muligens også i studiene. Som diskutert over, er funnet av rein-DNA i drikkevannet i Bærum (Aamodt 2020, Frode Fossøy upubl. mat.) svært overraskende, siden det er svært lite sannsynlig at DNAet er kommet inn i prøvene som kloakkforurensning eller fra rein i nedbørfeltet (Artskart 2021d). Funnet av rein-DNA i Ereviksbekken er også overraskende. Det finnes en reinstamme lenger øst i Strand kommune (Artskart 2021d), men gitt vandringsvei og naturforhold er det svært lite sannsynlig at ett streifdyr kom inn i nedbørfeltet (Jarle Lunde pers. obs.) og at DNAet fra dette dyret ble identifisert i prøvene våre. Rein-DNA er også tidligere identifisert i miljø-DNA prøver fra Norge der det ikke var forventet å finne slikt DNA (Frode Fossøy upubl. mat.). Det er derfor mulig at dette skyldes at noen referanse-sekvenser i GenBank har blitt knyttet til feil art, men foreløpige undersøkelser tyder ikke på dette. Uansett tyder disse uventede funnene av rein-DNA på at man må være klar over at man kan få falske positive resultater for denne arten.

Utfordringene knyttet til manglende spesifisitet av markørene (f.eks. Bækkeli et al. 2020, Fukumoto et al. 2015, Wilcox et al. 2013; 2015) som brukes til å identifisere DNAet i miljø-DNA-prøvene illustreres i studiet fra nedbørfeltet til Gjersjøen, med referanseprøver av drikkevannet i Bærum (Aamodt 2020, Frode Fossøy upubl. mat.). I dette studiet var det, som nevnt, vanskelig

å skille sau fra geit, men dette har lite påvirkning på vurderingen om forurensningen skyltes landbruks- eller kloakkforurensning. En slik problematikk forklarer uansett ikke mangelen på funn av sau i Ereviksbekken, siden det heller ikke ble identifisert DNA fra geit. Slik manglende spesifitet av markører er knyttet til nært beslektede arter (f.eks. Bækkelie et al. 2020, Fukumoto et al. 2015, Wilcox et al. 2013; 2015). I de to studiene ble det også funnet DNA fra andre arter som kunne knyttes til landbruks- og/eller kloakkforurensning, som storfe, gris, rotte, hund, katt, kalkun, kylling, torsk og rein. For de fleste av disse artene finnes det ikke nært beslektede arter i Norge. Gris kunne potensielt sett feilidentifiseres som villsvin, men villsvin finnes ikke i nedbørfeltet til Gjersjøelven eller i Bærum (Artskart 2021e). Hund kunne potensielt sett feilidentifiseres som ulv, men hund er en mye mer sannsynlig kilde i disse områdene. Om rotte er brun- eller svartrotte eller om torsk egentlig burde identifiseres som en annen torskefisk har ingenting å si for tolkningen av resultatene.

Studiene fra Norge viser at man kan bruke metastrekkoding til å identifisere forurensningskilder. I nedbørfeltet til Gjersjøen ble kloakkforurensning identifisert som hovedkilden til forurensningen, mens landbruksforurensning ble identifisert som hovedkildene til forurensningen i én av bekkene i nedbørfeltet og i drikkevannet i Bærum (Aamodt 2020, Frode Fossøy upubl. mat.). Landbruksforurensning ble også identifisert som hovedkilden til forurensningen i Ereviksbekken. Likevel er det en del utfordringer knyttet til metodikken. Noen av disse utfordringene vil bestå, som hvordan miljøforhold påvirker mengden DNA i prøvene (f.eks. Barnes et al. 2014, Buxton et al. 2017, Eichmiller et al. 2016, Jane et al. 2015, Pilliod et al. 2014, Strickler et al. 2015). Andre utfordringer vil reduseres ettersom teknologien utvikles videre, som at noen organismer kan knyttes til forskjellige forurensningskilder (Aamodt 2020, Frode Fossøy upubl. mat., våre data), forskjeller i sekvenseringseffektivitet for forskjellige organismer (f.eks. Elbrecht & Leese 2015, Liu et al. 2020, Thomas et al. 2016), potensialet for kontaminering av prøvene (oppsummert i Sepulveda et al. 2020), feil i referansedatabasene (f.eks. Bidartondo 2008, Hofstetter et al. 2019) og at markørene ikke alltid er sensitive nok til å skille mellom nært beslektede arter (f.eks. Bækkelie et al. 2020, Fukumoto et al. 2015, Wilcox et al. 2013; 2015). I løpet av de kommende årene vil metoden blir mer og mer anvendbar når man ønsker å identifisere forurensningskilder i våre vassdrag.

7 Referanser

- Ahmed, W., Goonetilleke, A. & Gardner, T. 2010. Human and bovine adenoviruses for the detection of source-specific fecal pollution in coastal waters in Australia. *Water Research* 44: 4662–4673.
- 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. & Aanes, K.J. 1997. Klassifisering av miljøkvalitet i ferskvann. SFT Veiledning 97:04.
- Anglés d'Auriac, M., Strand, D., Mjelde, M., Demars, B.O.L. & Thaulow, J. 2019. Detection of an invasive aquatic plant in natural water bodies using environmental DNA. *PLoS ONE* 14: e0219700.
- Artskart. 2021a. Elg *Alces alces*. Artsdatabanken, GBIG-Norge og dataeierne. <https://artskart.artsdatabanken.no/>
- Artskart. 2021b. Hjort *Cervus elaphus*. Artsdatabanken, GBIG-Norge og dataeierne. <https://artskart.artsdatabanken.no/>
- Artskart. 2021c. Ringdue *Columba palumbus*. Artsdatabanken, GBIG-Norge og dataeierne. <https://artskart.artsdatabanken.no/>
- Artskart. 2021d. Rein *Rangifer tarandus* (Linnaeus, 1758). Artsdatabanken, GBIG-Norge og dataeierne. <https://artskart.artsdatabanken.no/>
- Artskart. 2021e. Villsvin *Sus scrofa*. Artsdatabanken, GBIG-Norge og dataeierne. <https://artskart.artsdatabanken.no/>
- Barnes, M.A., Turner, C.R., Jerde, C.L., Renshaw, M.A., Chadderton, W.L. & Lodge, D.M. 2014. Environmental conditions influence eDNA persistence in aquatic systems. *Environmental Science & Technology* 48: 1819–1827.
- Bauer, G. 1988. Threats to the freshwater pearl mussel, *Margaritifera margaritifera* in central Europe. *Biological Conservation* 45: 239-253.
- Berggrunn. 2020. Nasjonal berggrunnsdatabase. Norges Geologiske Undersøkelse, Trondheim, Norge. <http://geo.ngu.no/kart/berggrunn/>
- Bidartondo, M.I. 2008. Preserving accuracy in GenBank. *Science* 319: 1616.
- Biggs, J., Ewald, N., Valentini, A., Gaboriaud, C., Dejean, T., Griffiths, R.A., Foster, J., Wilkinson, J.W., Arnell, A., Brotherton, P., Williams, P. & Dunn, F. 2015. Using eDNA to develop a national citizen science-based monitoring programme for the great crested newt (*Triturus cristatus*). *Biological Conservation* 183: 19-28.
- Blankenberg, A.-G.B., Skarbøvik, E. & Kværnø, S. 2017. Effekt av buffersoner. På vannmiljø og andre økosystemtjenester. NIBIO Rapport Vol. 3 Nr. 14. 2017.
- Buxton, A.S., Groombridge, J.J., Zakaria, N.B. & Griffiths, R.A. 2017. Seasonal variation in environmental DNA in relation to population size and environmental factors. *Scientific Reports* 7.
- Bækkeli, K.A.E., Brandsegg, H., Sivertsgård, R., Davey, M. & Fossøy, F. 2020. Påvisning av uønskede fiskearter med miljøDNA i innsjøer i Malvikmarka. På oppdrag fra Fylkesmannen i Trøndelag. NINA Prosjektnotat 263. Norsk institutt for naturforskning.
- Caldwell, J., Payment, P. & Villemur, R. 2011. Mitochondrial DNA as source tracking markers of fecal contamination. S. 229-250 i Hagedorn, C., Blanch, A. & Harwood, V. (Ed.). *Microbial Source Tracking. Methods, Applications, and Case Studies*. Springer, New York, NY, USA.

Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A.J.A. & Holmes, S.P. 2016. DADA2. High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods* 13: 581.

Callahan, B.J., McMurdie, P.J. & Holmes, S.P. 2017. Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. *The ISME Journal* 11: 2639.

Caruso, V., Song, X., Asquith, M. & Karstens, L. 2019. Performance of microbiome sequence inference methods in environments with varying biomass. *mSystems*: e00163-18.

Coble, A.A., Flinders, C.A., Homyack, J.A., Penaluna, B.E., Cronn, R.C. & Weitemier, K. 2019. eDNA as a tool for identifying freshwater species in sustainable forestry. A critical review and potential future applications. *Science of the Total Environment* 649: 1157-1170.

Degerman, E., Alexanderson, S., Bergengren, J., Henrikson, L., Johansson, B.-E., Larsen, B.M. & Söderberg, H. 2009. Restaurering av flodpärlmusselvatten. WWF Sverige, Solna, Sverige.

Demars, B.O.L., Anglès d'Auriac, M., Thaulow, J., Brænden, R. & Mjelde, M. 2018. Kartlegging av vasspest i Vannområde Leira-Nitelva 2018. NIVA Rapport L.Nr. 7309-2018.

Direktoratsgruppen vanddirektivet. 2018. Klassifisering av miljøtilstand i vann. Økologisk og kjemisk klassifiseringssystem for kystvann, grunnvann, innsjøer og elver. Veileder 2:2018.

Eichmiller, J.J., Best, S.E. & Sorensen, P.W. 2016. Effects of temperature and trophic state on degradation of environmental DNA in lake water. *Environmental Science & Technology* 50: 1859-1867.

Ekrem, T. & Majaneva, M. 2019. DNA-metastrekkoding til undersøkelser av invertebrater i ferskvann NTNU Vitenskapsmuseet naturhistorisk notat 2019-10.

Elbrecht, V. & Leese, F. 2015. Can DNA-based ecosystem assessments quantify species abundance? Testing primer bias and biomass - sequence relationships with an innovative metabarcoding protocol. *PLoS One* 10: e0130324.

Engesmo, A., Knudsen, S.W., Christensen, G., Hesselsøe, M. & Anglès d'Auriac, M. 2019. Overvåking og kartlegging av fremmed ferskvannsfisk ved bruk av miljø-DNA. NIVA Rapport L.Nr. 7435-2019.

Espedal, E.O. 2020. Befaring og tiltaksanalyse for tre vassdrag i Ryfylke vassområde. NORCE Laboratorium for ferskvannøkologi og innlandsfiske (LFI) Notat 01/2020.

Eurofins. 2017. Badevann: Uke 21 - 31. Euronfins Analyserapport.

Eurofins. 2019. Badevann: Juni-august. Euronfins Analyserapport.

Ficetola, G.F., Taberlet, P. & Coissac, E. 2016. How to limit false positives in environmental DNA and metabarcoding? *Molecular Ecology Resources* 16: 604-607.

Fossøy, F., Dahle, S., Eriksen, L.B., Spets, M.H., Karlsson, S. & Hesthagen, T. 2017a. Bruk av miljø-DNA for overvåking av fremmede fiskearter. Utvikling av artsspesifikke markører for gjedde, mort og ørekyt. NINA Rapport 1299. Norsk institutt for naturforskning.

Fossøy, F., Brandsegg, H., Sivertsgård, R., Bækkelie, K.A.E., Gjelland, K.Ø., Hesthagen, T. & Sandlund, O.T. 2017b. Eikesdalsvatnet 2017. Miljø-DNA-analyser av ørret og røye i ulike innsjøhabitater. NINA Prosjektnotat 56. Norsk institutt for naturforskning.

Fossøy, F., Thaulow, J., Anglès d'Auriac, M., Brandsegg, H., Sivertsgård, R., Mo, T.A., Sandlund, O.T. & Hesthagen, T. 2018. Bruk av miljø-DNA som supplerende verktøy for overvåking og kartlegging av fremmed ferskvannsfisk. NIVA Rapport 1586. Norsk institutt for naturforskning.

Fossøy, F., Brandsegg, H., Sivertsgård, R., Larsen, B.M. & Magerøy, J.H. 2019. Analyser av miljø-DNA for påvisning av elvemusling. På oppdrag fra Fylkesmannen i Rogaland. NINA Prosjektnotat 195. Norsk institutt for naturforskning.

Fossøy, F., Strand, D.A., Sandercock, B.K. & Johnsen, S.I. 2020a. Miljø-DNA. Uttesting av innsamlingsmetodikk og labanalyser for påvisning av kreps og fisk i ferskvann. NINA Rapport 1778. Norsk institutt for naturforskning.

Fossøy, F., Larsen, B.M., Magerøy, J.H., Brandsegg, H. & Sivertsgård, R. 2020b. Analyser av miljø-DNA fra 1000-rivers prosjektet for påvisning av elvemusling. På oppdrag fra Miljødirektoratet. NINA Prosjektnotat 219. Norsk institutt for naturforskning.

Fukumoto, S., Ushimaru, A. & Minamoto, T. 2015. A basin-scale application of environmental DNA assessment for rare endemic species and closely related exotic species in rivers. A case study of giant salamanders in Japan. *Journal of Applied Ecology* 52: 358–365.

Gargan, L.M., Fossøy, F., Mo, T.A., Carlsson, J.E.L., Ball, B. & Carlsson, J. 2019. Environmental (e)DNA detection of the invasive pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* during the 2017 Norwegian invasion. *bioRxiv*.

Garlapati, D., Charankumar, B., Ramu, K., Madeswaran, P. & Ramana Murthy, M.V. 2019. A review on the applications and recent advances in environmental DNA (eDNA) metagenomics. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 18: 389–411.

Geist, J. & Auerswald, K. 2007. Physiochemical stream bed characteristics and recruitment of the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*). *Freshwater Biology* 52: 2299–2316.

González-Saldía, R.R., Pino-Maureira, N.L., Muñoz, C., Soto, L., Durán, E., Barra, M.J., Gutiérrez, S., Díaz, V. & Saavedra, A. 2019. Fecal pollution source tracking and thalassogenic diseases. The temporal-spatial concordance between maximum concentrations of human mitochondrial DNA in seawater and Hepatitis A outbreaks among a coastal population. *Science of the Total Environment* 686: 158–170.

Hofstetter, V., Buyck, B., Eyssartier, G., Schnee, S. & Gindro, K. 2019. The unbearable lightness of sequenced-based identification. *Fungal Diversity* 96: 243–284.

Jane, S.F., Wilcox, T.M., McKelvey, K.S., Young, M.K., Schwartz, M.K., Lowe, W.H., Letcher, B.H. & Whiteley, A.R. 2015. Distance, flow and PCR inhibition. eDNA dynamics in two headwater streams. *Molecular Ecology Resources* 15: 216–227.

Johnsen, S.I., Strand, D. & Vrålstad, T. 2017. Nasjonal overvåking av edelkreps. Presentasjon av overvåkingsdata og bestandsstatus. NINA Rapport 1284. Norsk institutt for naturforskning.

Killeen, I.J. 2006. The freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* (L., 1758) in the River Ehen, Cumbria. Report on the 2006 survey. Unpublished report to the Environment Agency, Penrith, England.

Killeen, I.J. 2012. Conservation and restoration of a freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*) population in Northern England. S. 69–80 i: Henrikson, L., Arvidsson, B. & Österling, M. (eds.). 2012. Aquatic conservation with focus on *Margaritifera margaritifera*. Proceedings of the international conference in Sundsvall, Sweden, 12–14 August, 2009. *Karlstad University Studies* 2012:40

Kålås, S., Haavik, T.B., Steinsvåg, M.J. & Vatshelle, Ø. 2016. Tiltak i landbruket for å verne bestandar av elvemusling i Hordaland. *Rådgivende Biologer Rapport* 2293.

Lahoz-Monfort, J.J., Guillera-Arroita, G. & Tingley, R. 2016. Statistical approaches to account for false positive errors in environmental DNA samples. *Molecular Ecology Resources* 16: 673–685.

- Lamendella, R., Santo Domingo, J.W., Kelty, C. & Oerther, D.B. 2008. *Bifidobacteria* in feces and environmental waters. *Applied and Environmental Microbiology* 74: 575–584.
- Lamendella, R., Santo Domingo, J.W., Oerther, D.B., Vogel, J.R. & Stoeckel, D.M. 2007. Assessment of fecal pollution sources in a small northern-plains watershed using PCR and phylogenetic analyses of *Bacteroidetes* 16S rRNA gene. *FEMS Microbiology Ecology* 59: 651–660.
- Larsen, B.M. 2011. Overvåking av elvemusling i Norge. Årsrapport 2010. Ereviksbekken og Svinesbekken, Rogaland. NINA Rapport 691. Norsk institutt for naturforskning.
- Larsen, B.M. 2012. 3. Redokspotensial som metode for å kartlegge substratkvalitet for elvemusling. S. 46-65 i: Larsen, B.M. (red.). Elvemusling og konsekvenser av vassdragsreguleringer. En kunnskapsoppsummering. Rapport Miljøbasert Vannføring 8-2012.
- Larsen, B.M. 2017. Overvåking av elvemusling i Norge. Oppsummering av det norske overvåkingsprogrammet i perioden 1999-2015. NINA Rapport 1350. Norsk institutt for naturforskning.
- Larsen, B.M. & Berger, H.M. 2005. Ereviksbekken (Skeiviksbekken), Rogaland (vassdragsnr. kystfelt 032.1). S. 9-17 i: Larsen, B.M. (red.) 2005. Overvåking av elvemusling (*Margaritifera margaritifera*) i Norge. Årsrapport 2003. NINA Rapport 37. Norsk institutt for naturforskning.
- Larsen, B.M. & Magerøy, J.H. 2019. Elvemuslinglokalteter i Norge. En beskrivelse av status som grunnlag for arbeid med kartlegging og tiltak i handlingsplanen for 2019-2028. NINA Rapport 1451. Norsk institutt for naturforskning.
- Larsen, O.K. & Søyland, R. 2010. Kartlegging av sjøørret i Høgsfjorden og omegn. Kartlegging av ungfisktetthet og vandringshinder. Ecofact Rapport 43
- Ledje, U.P. 1996a. Kartlegging av utbredelse av elvemusling (*M. margaritifera*) i Rogaland, 1995. Del 1. Rogaland Consultants Rapport.
- Ledje, U.P. 1996b. Kartlegging av utbredelse av elvemusling (*M. margaritifera*) i Rogaland, 1995. Del 2. Resultater fra feltarbeid. Rogaland Consultants Rapport.
- Lee, D.-Y., Weir, S.C., Lee, H. & Trevors, J.T. 2010. Quantitative identification of fecal water pollution sources by TaqMan real-time PCR assays using *Bacteroidales* 16S rRNA genetic markers. *Applied Microbiology and Biotechnology* 88: 1373–1383.
- Liu, M., Clarke, L.J., Baker, S.C., Jordan, G.J. & Burridge, C.P. 2020. A practical guide to DNA metabarcoding for entomological ecologists. *Ecological Entomology* 45: 373–385.
- Lois Lugilde, S. 2015. Sampling, Modelling and Prediction for Freshwater Species across River Ecosystems. An Example with the Freshwater Pearl Mussel *Margaritifera margaritifera* (L., 1758). Ph.D. Thesis. Department of Zoology and Physical Anthropology. University of Santiago de Compostela, Spain.
- Magerøy, J.H. 2018. Elvemusling (*Margaritifera margaritifera*) i Ereviksbekken. Tiltaksanalyse og søk etter elvemusling i øvre del av bekken. NINA Rapport 1452. Norsk institutt for naturforskning.
- Magerøy, J.H. 2020. Tilførsel av næringsstoffer, partikler og tarmbakterier i Ereviksbekken. Tiltaksanalyse med henblikk på elvemusling. NINA Rapport 1724. Norsk institutt for naturforskning.
- Magerøy, J.H., Kålås, S., Wathne, I., Rikstad, A. & Julien, K. 2019. Del 2. Utsetting av kultivert elvemusling. 2016-2018. S. 13-111 i: Jakobsen, P. (red.). 2019. Samlerapport om kultivering og utsetting av elvemusling. 2018. Universitetet i Bergen, Institutt for biologi, Rapport til Miljødirektoratet og Fylkesmannen i Hordaland.

Magerøy, J.H., Bækkelie, K.A.E., Mo, T.A., Brandsegg, H., Sivertsgård, R. & Fossøy, F. und. arb. Elvemusling i Aurskog-Høland og Nes kommuner. Lokalitetsfastsetting med miljø-DNA og oppfølgende vadesøk i Mangbekken, Haretonelva og Rabillfløyta. NINA Rapport 1707. Norsk institutt for naturforskning.

Mjelde, M., Dervo, B.K., Jensen, T.C. & Elgtvedt, I. 2019. Tilstandsvurdering av 3 kroksjøer i Vannområde Leira-Nitelva 2019. NIVA Rapport L.Nr. 7446-2019.

Mo, T.A. & Fossøy, F. 2019. Fare for uønsket overføring av organismer med utslipp av vann fra Holsfjorden til vassdrag i indre Oslofjord. Vurderinger basert på miljøDNA-undersøkelser. NINA Prosjektnotat 160. Norsk institutt for naturforskning.

Moorkens, E. 2006. Irish non-marine molluscs. An evaluation of species threat status. Bulletin of the Irish Biogeographical Society 30: 348-371.

Moorkens, E.A., Killeen, I.J. & Ross, E. 2007. *Margaritifera margaritifera* (the freshwater pearl mussel) conservation assessment. Backing document. Report to the National Parks and Wildlife Service, Dublin, Ireland.

NEVINA. 2020. Nedbørfelt-vannføring-indeks-analyse. Norges Vassdrags- og Energidirektorat, Oslo, Norge. <http://nevina.nve.no/>

Norge i bilder. 2020. Kartutsnitt. Statens vegvesen, Norsk institutt for bioøkonomi og Statens kartverk. <https://norgebilder.no/>

Pilliod, D.S., Goldberg, C.S., Arkle, R.S. & Waits, L.P. 2014. Factors influencing detection of eDNA from a stream-dwelling amphibian. Molecular Ecology Resources 14: 109–116.

Rees, H.C., Maddison, B.C., Middleditch, D.J., Patmore, J.R.M. & Gough, K.C. 2014. The detection of aquatic animal species using environmental DNA. A review of eDNA as a survey tool in ecology. Journal of Applied Ecology 51: 1450-1459.

Reeves, L.E., Gillett-Kaufman, J.L., Kawahara, A.Y. & Kaufman, P.E. 2018. Barcoding blood meals. New vertebrate-specific primer sets for assigning taxonomic identities to host DNA from mosquito blood meals. PLoS Neglected Tropical Diseases 12: e0006767.

Sepulveda, A.J., Hutchings, P.R., Forstchen, M., Mckeefry, M.N. & Swigris, A.M. 2020. The elephant in the lab (and field). Contamination in aquatic environmental studies. Frontiers in Ecology and Evolution 8: 609973.

Staley, Z.R., Chuong, J.D., Hill, S.J., Grabuski, J., Shokralla, S., Hajibabaei, M. & Edge, T.A. 2018. Fecal source tracking and eDNA profiling in an urban creek following an extreme rain event. Scientific Reports 8: e14390.

Stoeckel, D.M. & Harwood, V.J. 2007. Performance, design, and analysis in microbial source tracking studies. Applied and Environmental Microbiology 73: 2405–2415.

Strickler, K.M., Fremier, A.K. & Goldberg, C.S. 2015. Quantifying effects of UV-B, temperature, and pH on eDNA degradation in aquatic microcosms. Biological Conservation 183: 85-92.

Taugbøl, A., Dervo, B.K., Bærum, K.M., Brandsegg, H., Sivertsgård, R., Ytrehus, B., Miller, A. & Fossøy, F. 2017. Første påvisning av den patogene soppen *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) i Norge. Bruk av miljø-DNA for påvisning av fremmede arter. NINA Rapport 1399. Norsk institutt for naturforskning.

Taugbøl, A., Dervo, B.K., Sivertsgård, R., Brandsegg, H. & Fossøy, F. 2018. Bruk av miljø-DNA til overvåkning av små- og storsalamander. NINA Rapport 1476. Norsk institutt for naturforskning.

Taugbøl, A., Dervo, B.K., Brandsegg, H. & Fossøy, F. 2019. Analyser av miljø-DNA og strykeprøver for overvåking av soppen *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) i Akershus. NINA Rapport 1660. Norsk institutt for naturforskning.

Thaulow, J. & Strand, D.A. 2016. Uttesting av eDNA deteksjonssystem for elvemusling (*Margaritifera margaritifera*), utviklet på NIVA. NIVA Notat L.Nr. 1627/16.

Thaulow, J. & d'Auriac, M.A. 2018. Miljø-DNA detektering av elvemusling *Margaritifera margaritifera* i Skjærsjøelva og Skarselva 2018. NIVA Notat.

Thomas, A.C., Deagle, B.E., Eveson, J.P., Harsch, C.H. & Trites, A.W. 2016. Quantitative DNA metabarcoding. Improved estimates of species proportional biomass using correction factors derived from control material. *Molecular Ecology Resources* 16: 714–726.

Thomsen, P.F., Kielgast, J.O.S., Iversen, L.L., Wiuf, C., Rasmussen, M., Gilbert, M.T.P., Orlando, L. & Willerslev, E. 2012. Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA. *Molecular Ecology* 21: 2565-2573.

Thomsen, P.F. & Willerslev, E. 2015. Environmental DNA. An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological Conservation* 183: 4-18.

Toranzos, G.A. 1991. Current and possible alternate indicators of fecal contamination in tropical waters. A short review. *Environmental Toxicology and Water Quality* 6: 121-130.

Valentini, A., Taberlet, P., Miaud, C., Civade, R., Herder, J., Thomsen, P.F., Bellemain, E., Besnard, A., Coissac, E., Boyer, F., Gaboriaud, C., Jean, P., Poulet, N., Roset, N., Copp, G.H., Geniez, P., Pont, D., Argillier, C., Baudoin, J.-M., Peroux, T., Crivelli, A.J., Olivier, A., Acqueberge, M., Le Brun, M., Møller, P.R., Willerslev, E. & Dejean, T. 2016. Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Molecular Ecology* 25: 929-942.

Wacker, S., Fossøy, F., Larsen, B.M., Brandsegg, H., Sivertsgård, R. & Karlsson, S. 2019. Downstream transport and seasonal variation in freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*) eDNA concentration. *Environmental DNA* 1: 64-73.

Wilcox, T.M., McKelvey, K.S., Young, M.K., Jane, S.F., Lowe, W.H., Whiteley, A.R. & Schwartz, M.K. 2013. Robust detection of rare species using environmental DNA. The importance of primer specificity. *PLoS One* 8: e59520.

Wilcox, T.M., Carim, K.J., McKelvey, K.S., Young, M.K. & Schwartz, M.K. 2015. The dual challenges of generality and specificity when developing environmental DNA markers for species and subspecies of *Oncorhynchus*. *PLoS One* 10: e0142008.

Yr. 2020. Liarvatn målestasjon. Meteorologisk institutt og NRK, Oslo.

Österling, M.E., Arvidsson, B.L. & Greenberg, L.A. 2010. Habitat degradation and the decline of the threatened mussel *Margaritifera margaritifera*. Influence of turbidity and sedimentation on the mussel and its host. *Journal of Applied Ecology* 47: 759-768.

Aamodt, R. 2020. Utprøving av DNA-baserte metoder for kildesporing i Oppegård kommune. Innspillmøte om miljøovervåking. Miljødirektoratet. Oslo. 22.01.2020.

Norsk institutt for naturforskning, NINA, er en uavhengig stiftelse som forsker på natur og samspillet natur–samfunn.

NINA ble etablert i 1988. Hovedkontoret er i Trondheim, med avdelingskontorer i Tromsø, Lillehammer, Bergen og Oslo. I tillegg driver NINA Sæterfjellet avlsstasjon for fjellrev på Oppdal, og forskningsstasjonen for vill laksefisk på lms i Rogaland.

NINAs virksomhet omfatter både forskning og utredning, miljøovervåking, rådgivning og evaluering. NINA har stor bredde i kompetanse og erfaring med både naturvitere og samfunnsvitere i staben. Vi har kunnskap om artene, naturtypene, samfunnets bruk av naturen og sammenhenger med de store drivkreftene i naturen.

ISSN:1504-3312
ISBN: 978-82-426-4671-2

Norsk institutt for naturforskning

NINA Hovedkontor

Postadresse: Postboks 5685 Torgarden, 7485 Trondheim

Besøks-/leveringsadresse: Høgskoleringen 9, 7034 Trondheim

Telefon: 73 80 14 00, Telefaks: 73 80 14 01

E-post: firmapost@nina.no

Organisasjonsnummer 9500 37 687

<http://www.nina.no>



Samarbeid og kunnskap for framtidens miljøløsninger