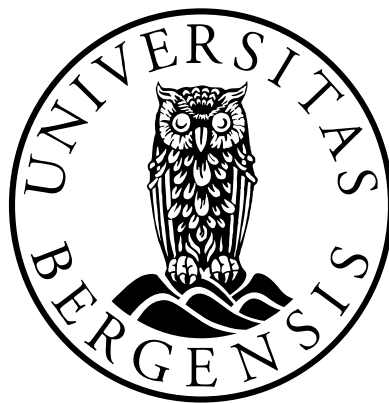


**Miljøundersøking av Tveitevatnet og Fjøsangervassdraget
i Bergen, med fokus på abbor (*Perca fluviatilis*) som
indikatororganisme**

Maja Helgheim

Masteroppgåve i miljøtoksikologi til graden Master of Science



**Biologisk institutt
Universitetet i Bergen**

Takkseiingar

Takk til UiB, NIVA og NIFES for samarbeidet i oppgåva, og takk til Bergen kommune for økonomisk støtte til prosjektet.

Arbeidet med denne oppgåva har blitt utført på miljøtoksikologi laben på UiB. Eg vil først takke rettleiarane mine Anders Goksøyr, Marianne Brattås, Anne-Katrine Lundebye og Anders Hobæk for hjelpa eg har fått til oppgåva og for svar på spørsmål eg har hatt. Takk til miljøtoksikologigruppa som eg har fått vere ein del av, og ein ekstra takk til Odd-Andre og Roger som har vert veldig hjelpsame med spørsmål eg har hatt i mitt arbeid på lab.

Eg har også fått hjelp av fleire utanfor miljøtoksikologi gruppa som eg vil takke. Anne-Katrine Lundebye og NIFES for å utføre analyser av metall og PCB. Havforskningsinstituttet og Jarle Klungsoyr for analyser av PCB i sediment. Jordan Donn Holl på Institutt for govitenskap for hjelp til kornfordeling og glødetap analysene. Anna Shepherd på Universitetsmuseet for hjelp med elementanalyser av sediment. Ann Kristin Frøyset på Molekylærbiologisk Institutt for hjelp med Image Lab. Kenneth Bruvik i Norges Jeger- og Fiskeforbund for lån av teiner. Eg setter virkelig pris på all hjelpa eg har fått av dokke og for at dokke alle har vert så hjelpsame og hyggelege å arbeide med.

Eg vil takke heile familie min for støtta eg har fått desse åra som student. Mamma og pappa, tusen takk for at dokke er dei beste foreldra ein kan ønske seg! Og til hunden min, Pia, som alltid får meg i godt humør <3

Eg vil spesielt takke min beste venn og roommate Frøydis for å ha helde ut med meg, høyrd på all frustrasjonen min og hjelpt meg til å tenke positivt, og ikkje minst for alt det kjekke vi har funnet på for å kople av frå studiane! Du er awesome!

Og til alle studieevenane mine, takk for fem kjekke, minnerike og til tider krevjande år som student ilag med dokke :)

Bergen, 15. januar, 2015

Maja Helgheim

Samandrag

Tveitevatnet (Årstad bydel, Bergen kommune) har lenge vore påverka av forureina sigevatn frå eit gammalt deponi på Slettebakken i tillegg til industri i nærområdet, noko som har gjort at miljøgifter som PCB og tungmetall har samla seg opp i miljøet. Slike vatn er spesielt utsette for forureining på grunn av den lange opphaldstida vatnet har her, og det kan dermed bli eit konsentrert område med miljøgifter som brytast sakte og akkumulera i næringskjeda. Hovudmålet med denne oppgåva har vore å undersøke om desse miljøgiftene påverkar abbor i Tveitevatnet med omsyn til fiskehelse og mattryggleik. Og om andre vatn i nærområdet eventuelt har blitt påverka av miljøgifter i same grad.

Abbor vart fanga i Tveitevatnet (n = 13) og Myrvatnet (n = 15), der Myrvatnet vart brukt som referanselokalitet. Sedimentprøver vart teke i Tveitevatnet og Myrvatnet i tillegg til Solheimsvatnet, Storetveitevatnet og Kristianborgvatnet som ligg i Fjøsangervassdraget saman med Tveitevatnet. Sedimenta vart analysert for ΣPCB_7 og ei rekkje ulike metall, i tillegg til kornfordeling og nivået av organisk materiale. I prøver frå abbor vart biomarkørane CYP1A, HSP70, vitellogenin og katalase nytta for å undersøke tidlige teikn på negativ effekt frå eksponering for diverse miljøgifter på fiskehelse. Galle vart undersøkt for PAH-metabolitter. PCB, DDT og tungmetall vart undersøkt i muskelvevet til abbor av omsyn til mattryggleik. I tillegg vart nivåa av desse miljøgiftene målt i levervevet for å undersøke samanhengen mellom kjemisk forureiningsnivå og biomarkør-respons.

Kornfordeling viste ein relativt lik profil i alle vatna, og alle hadde eit høgt innhald av organisk materiale. PCB-nivåa i sedimenta viste høgste verdi i Tveitevatnet og Storetveitvatnet, men alle vatna låg innan klassifiseringa moderat forureining av PCB. Nivåa av metall i sedimenta viste generelt høge verdjar av sink og bly i alle vatna, medan nivået av kobbar varierte frå god i Solheimsvatnet og Kristianborgvatnet til veldig dårlig i Storetveitevatnet. Kvikksølv var for lavt til å kunne detekterast i sediment frå alle dei fem vatna. Biomarkørane i abbor viste omlag lik uttrykking i abbor frå Tveitevatnet samanlikna med Myrvatnet for CYP1A og HSP70 medan uttrykkinga i katalase var signifikant høgare i abbor frå Tveitevatnet. Enzymaktiviteten for CYP1A og katalase viste høgst verdjar for abbor i Myrvatnet der katalaseaktiviteten var statistisk signifikant. Målingar av PCB, DDT og metall viste ein høgare konsentrasjon av miljøgifter i levervevet enn muskelvevet på abbor, men verdiane som blei målt var generelt låge for abbor i begge vatna. Samtlege av målingane av vevet viste høgast verdi for abbor frå Myrvatnet, der

skilnadane i DDT målingane var statistisk signifikante. PCB₆ og metalla bly, kvikksølv og kadmium i filet av abbor var under EUs øvre grenseverdi for desse miljøgiftene i filet. Dermed er det ikkje bekymring med omsyn til mattryggleik av abbor undersøkt i denne oppgåva.

Innholdsliste

Takkseiingar.....	3
Samandrag.....	4
Forkortingar.....	9
1. INNLEIING.....	10
1.1 Bakgrunn.....	10
1.1.1 Innsjøar er utsett for forureining.....	10
1.1.2 Lokalitet for denne masteroppgåva.....	11
1.2 Abbor.....	13
1.3 PCB.....	14
1.4 PAH.....	17
1.5 Tungmetall.....	19
1.6 DDT.....	20
1.7 Miljøgifter og matvaretryggleik.....	21
1.8 Klassifisering av forureining.....	21
1.9 Biomarkørar.....	22
1.9.1 Definisjon.....	22
1.9.2 Biomarkørar brukt i denne oppgåva.....	23
1.10 Tidligare undersøkingar av Tveitevatnet.....	23
1.10.1 Vassprøver.....	23
1.10.2 Sedimentprøver.....	24
1.10.3 Vevsprøver frå abbor.....	24
1.11 Problemstilling.....	25
2. MATERIAL.....	26
2.1 Sediment.....	26
2.2 Abbor (<i>Perca fluviatilis</i>).....	28
2.3 Kjemikaliar og kit.....	28
2.4 Instrument og utstyr.....	29
2.5 Løysingar og bufferar.....	30
2.6 Antistoff.....	32
2.7 Produsentar.....	33
2.8 Statistiske analyser.....	33
2.9 Analyser av blottemembran.....	33
3. METODE.....	34
3.1 Innsamling av prøvemateriale.....	34
3.1.1 Prøvetaking av abbor.....	34
3.1.2 Innsamling av sedimentprøver.....	35
3.2 Fulton og leversomatisk indeks.....	35
3.3 Opparbeiding av vevsprøver.....	35
3.4 Måling av proteinkonsentrasjon.....	36
3.4.1 Bradford for måling av leverprøver.....	36
3.4.2 Fluorescens for måling av plasmaprøver.....	36
3.5 SDS-PAGE, elektroforese.....	37
3.6 Western blot.....	38
3.7 Galle målingar.....	39
3.7.1 Biliverdin.....	39
3.7.2 PAH.....	40
3.8 Katalase aktivitet.....	40
3.9 Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) aktivitet.....	41

3.10 Metallanalyser i muskel og lever.....	42
3.11 Analysemetodar for dei organiske miljøgiftene.....	42
3.11.1 PCB.....	42
3.11.2 DDT.....	42
3.12 Sedimentanalyser.....	43
3.12.1 Glødetap.....	43
3.12.2 Kornfordelingsanalyser.....	43
3.12.3 Elementanalyser.....	44
3.12.4 PCB analyse.....	44
3.13 Statistiske prøver.....	44
4. RESULTAT.....	46
4.1 Sedimentanalyser.....	46
4.1.1 Kornfordeling.....	46
4.1.2 Glødetap.....	47
4.1.3 Elementanalyser.....	47
4.1.4 PCB analyser.....	48
4.2 Abboren sin tilstand.....	50
4.2.1 Vekt og lengd.....	50
4.2.2 Leversomatisk indeks og kondisjonsfaktor.....	51
4.3 Proteinkonsentrasjon.....	52
4.4 Biomarkøranalyser.....	52
4.4.1 CYP1A.....	54
4.4.2 EROD.....	54
4.4.3 HSP70.....	54
4.4.4 Vtg.....	54
4.4.5 Katalase.....	55
4.4.6 Katalaseaktivitet.....	55
4.5 Galleprøver.....	55
4.5.1 Polyaromatiske hydrokarbon.....	55
4.5.2 Biliverdin.....	57
4.6 Vevsanalyser på abbor.....	57
4.6.1 Analyse av PCB og DDT i muskelvev og levervev.....	57
4.6.2 Metallanalyse av vev.....	58
5. DISKUSJON.....	61
5.1 Prøvematerialet.....	62
5.1.1 Prøvetaking av sediment.....	62
5.1.2 Prøvetaking av abbor.....	63
5.2 Sedimentanalyser.....	64
5.2.1 Kornfordeling og glødetap.....	64
5.2.2 PCB i sediment.....	64
5.2.3 Metall i sediment.....	65
5.3 Abbor.....	66
5.3.1 Fysiologiske parameter.....	66
5.3.2 Biomarkørar.....	67
5.3.3 PCB, DDT og metall i abbor.....	71
5.3.4 PAH i abbor.....	75
5.4 Myravatnet som referanselokalitet.....	77
5.5 Konklusjon.....	78
5.6 Vidare arbeid.....	79
6. REFERANSAR.....	82

Appendiks A.....96
Appendiks B.....100

Forkortingar

Tabell I: Liste over forkortingane brukt gjennom oppgåva.

Forkorting	Fullstendig namn
A	Ampere
APS	Ammoniumpersulfat
BSA	Bovint serumalbumin
CBB	Coomassie Brilliant Blue
CYP	Cytokrom P450
DMSO	Dimethyl sulfoksid
DTT	Diklor-difenyl-trikloretan
ECL	Elektrokjemisk luminescens
EDTA	Etylen-Diamin-Tetra-Acetat
ELISA	Enzymlinka immunosorbent assay
EROD	7-etoksyresourfin-O-deetylase
HSP70	Varmesjokkprotein
H ₂ O ₂	Hydrogenperoksid
K	Fultons kondisjonsfaktor
KBV	Kristianborgvatnet
LOI	Glødetap
LSI	Liversomatisk indeks
MV	Myrvatnet
NADPH	B-Nicotinamid adenin dinukleotid fosfat redusert tetranatrium salt
NIFES	Nasjonalt institutt for ernærings- og sjømatforskning
NIVA	Norsk institutt for vassforskning
PAH	Polyaromatiske hydrokarbon
PCB	Polyklorerte bifenyler
SDS	Natrium dodecyl sulfat
SDS-PAGE	Polyakrylamid-gelelektroforese
STV	Storetveitevatnet
SV	Solheimsvatnet
TEMED	N,N,N',N'-tetrametyletyldiamin
Tris	Tris-(hydroksymetyl)-aminometan
TTBS	Tween-tris-buffra saltløyseing
TV	Tveitevatnet
V	Volt
VTG	Vitellogenin
W	Watt
WB	Western blotting

1. INNLEIING

1.1 Bakgrunn

1.1.1 Innsjøar er utsett for forureining

Innsjøar og vatn er ofte spesielt utsett for forureining frå miljøgifter. Det er fleire grunnar til dette, deriblant at innsjøar, vatn og elver ofte vart brukt til dumping av avfall opp gjennom tidene noko Dei store sjøane i USA (Shear, 2006), Karachay i Russland (Myasoedov and Drozhko, 1998) og Mjøsa i Noreg (Fjeld, 2004) er dømer på. Alt frå kjemikaliar, kloakk, industrielt avfall, hushaldningsavfall og radioaktivt avfall vart dumpa i vatna. Dei store sjøane i USA utgjer det største området med ferskvatn på planeten og har vert brukt som ein resurs for fiske, industri, båttransport og rekreasjon, noko som har resultert i ulike typar forureining. Det har blitt funnet meir enn tusen ulike kjemikaliar i desse vatna, der mange av dei har kjente toksiske effektar (Hicks, 1996). Innsjøen Karachay vart frå 1951 brukt til dumping av radioaktivt avfall frå kjernekraftverket Mayak, og i 1991 vart det rapportert at Karachay var den mest forureina staden på jorda (Lenssen, 1991). Mjøsa var med i ei større undersøking gjort av NIVA for å kartleggje halogenerte organiske miljøgifter i norske ferskvassfisk (Fjeld, 2001) der det vart påvist unormalt høge verdiar av bromerte flammehemmarar i fisken lake. Dette gjorde at det vart gjort fleire undersøkingar på lake i Mjøsa (Fjeld et al., 2004) som bekrefta svært høge verdiar av bromerte flammehemmarar. Undersøkinga gjort av Fjeld et al. (2004) viste at den høge konsentrasjonen av flammehemmarane i hovudsak kom frå avrenning frå ein nærliggande tekstilfabrikk.

Innsjøar blir påverka av omgivnadane rundt (Muller et al., 1998). Nedbørssfeltet til ein innsjø er det området rundt innsjøen som samlar opp nedbør som går til innsjøen. Frå dette området kan innsjøen også motta avrenning frå industri eller jordbruk som er i nærleiken. Det er ikkje berre forureining i nærområdet som kan verke inn på innsjøen, men også miljøgifter som kjem via lufta. Forureining i luft kan komme frå ei forureiningskjelde langt unna (Gangoiti et al., 2001) og påverke innsjøen ved at forureiningspartiklane blir brakt ned til bakken ved nedbør som deretter blir samla opp i innsjøar. Særskilt innsjøar med ei stor overflate, slik som Dei store sjøane i USA, er utsett for dette. Noko som gjer at det er lett for å få opphoping av miljøgifter i innsjøar og vatn er at vatnet har lang opphaldstid i innsjøar sidan det er lite utskifting av vatn her. Dette gjer at miljøgiftene ikkje blir spreidd over eit større område og blir mindre konsentrert slik som eventuelle miljøgifter blir i

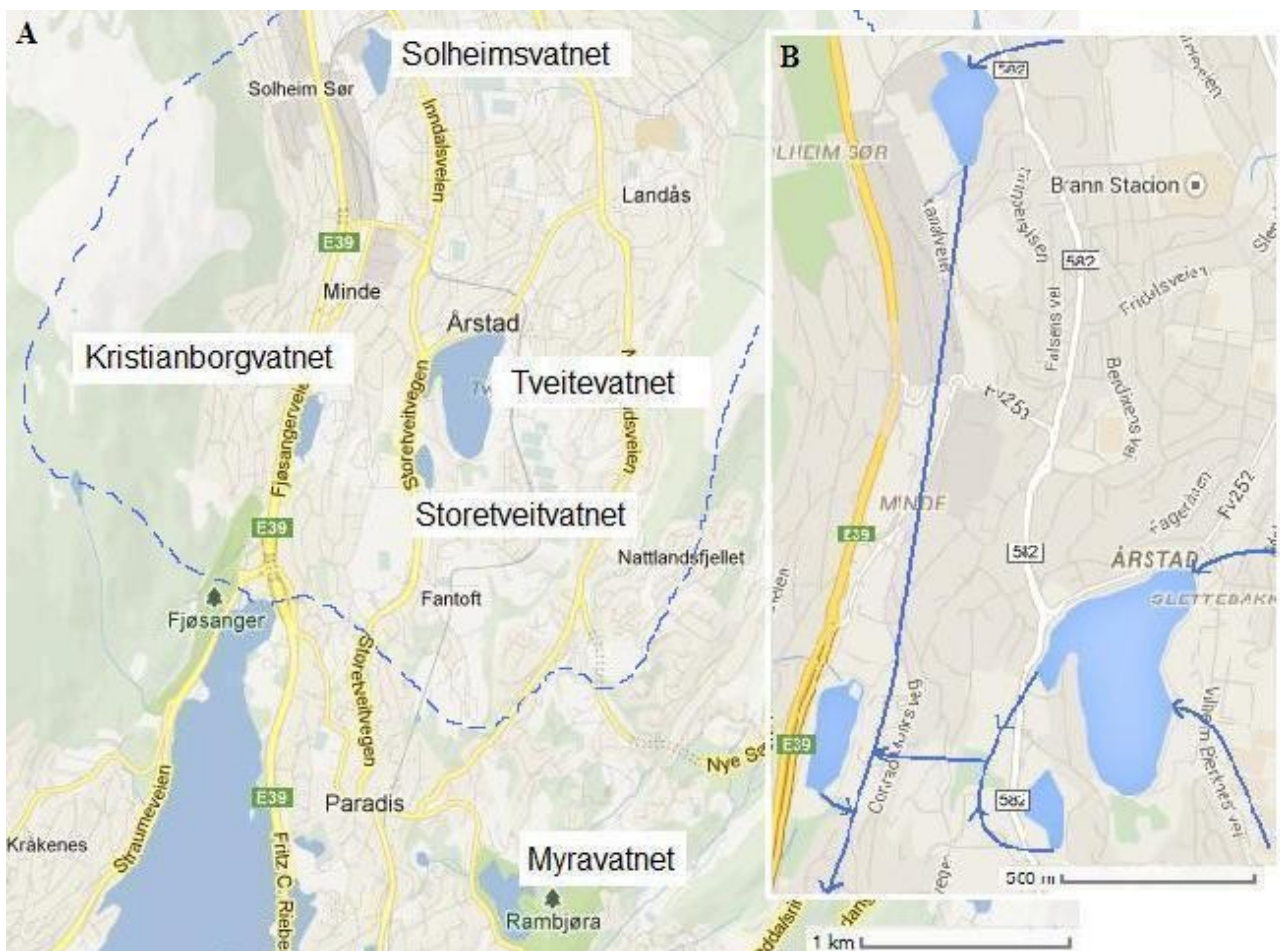
havet, men at det blir ein større konsentrasjon på eit meir avgrensa område.

1.1.2 Lokaltet for denne masteroppgåva

Tveitevatnet ligg ved Slettebakken litt sør for Bergen sentrum (figur 1.1) ved 60.354760 N, 5.354075 Ø. Vatnet er del av Fjøsangervassdraget, vist på figur 1.1, saman med Solheimsvatnet, Kristianborgvatnet og Storetveitvatnet. Tveitevatnet ligger nært det gamle avfallsdeponiet på Slettebakken og det er tidlegare dokumentert at PCB frå deponiet lek ut og akkumulerer i sedimenta i Tveitevatnet (Hobæk., 2007). Undersøkinga av PCB-forureininga og andre miljøgifter i vatna som blir gjort under dette prosjektet vil bygge vidare på tidlegare prøvetaking av sediment i Tveitevatnet gjort av NIVA i 2007 (Hobæk., 2007) og 2008 (Kallqvist and Brooks, 2008), samt målingar av kvikksølv og PCB i filet og lever på abbor gjort i 2009 av NIFES (NIFES, 2009). Denne undersøkinga vil gje eit betre bilete på korleis fisk i Tveitevatnet kan ha blitt påverka og korleis konsentrasjonen av miljøgiftene i sedimenta har utvikla seg sidan dei førre undersøkingane. Solheimsvatnet er også interessant å undersøke abbor i ettersom det er kontakt mellom Tveitevatnet og Solheimsvatnet. Medan Storetveitvatnet og Kristianborgvatnet er interessante å undersøke sidan desse ikkje har blitt mykje undersøkt tidlegare sjølv om dei ligger i same område som Tveitevatnet og er del av det same vassdraget. Myravatnet er eit tilsynelatande reint vatn og vil difor vere referanselokalitet for undersøkinga slik at ein skal kunne samanlikne prøvene av abbor i dette vatnet med abbor frå Tveitevatnet for å sei noko om effekten PCB-forureininga har på abbor som lever i forureina vatn.

Det er gjort fleire undersøkingar på Tveitevatnet i tillegg til undersøkingane gjort av NIVA og NIFES. I 1993 vart det undersøkt for kloakkforureining der det blei fastslått at Tveitevatnet var forureina av kloakk (Bjørklund et al., 1994). Ein grunn til denne forureininga er korleis kloakksystemet er konstruert der ein i periodar med mykje nedbør vil få overstrauming av kloakkrøyra (Bjørklund et al., 1994). Det har også lenge vert kjent at Tveitevatnet i Bergen har høge konsentrasjonar av PCB i sedimenta (Rognerud et al., 1997, Hobæk, 1998). Noko som etter NIVA si undersøking i 2007 blei fastslått å komme frå avrenning frå det gamle deponiet som ligger på Slettebakken (Hobæk., 2007). I dette prosjektet vil vi kunne sjå korleis forholda i Tveitevatnet har endra seg, viss der er ei endring, frå dei forje målingane og fram til i dag. Ein veit at vatnet lenge har vert forureina, men ein veit lite om korleis denne forureininga har påverka økosystemet og artane som lev her.

Myrvatnet ligger ved 60.332804 N, 5.357423 Ø, litt sør for Tveitevatnet (figur 1.1). Dette vatnet er valt som referanselokalitet og ligger i Nestunvassdraget. Myrvatnet vart valgt som lokalitet på grunnlag av fleire faktorar. For det første ligg Myrvatnet i nærområdet til Tveitevatnet slik at dei to vatna har blitt utsett for omlag like forhold i naturen, i tillegg til at prøvetaking er meir effektivt ved å ikkje måtte reise langt for eit referansevatn. Myrvatnet får vatn frå eit anna nedbørsområdet enn Tveitevatnet og resten av Fjøsangervassdraget som ein kan sjå på figur 1.1. der vasskilje er teikna inn, og avrenninga frå nærområdet vil difor vere ulikt for Tveitevatnet og Myrvatnet. Det er ikkje registrert kjente fyllingar rundt dette vatnet og det er ikkje mykje industri her eller andre kjente kjelder for forureining. Det var difor rimeleg å gå ut i frå at dette vatnet har bra kvalitet og ikkje høge nivå av miljøgifter. I tillegg viste ein at det var abbor i Myrvatnet, og at denne vart sett ut i same tidsrom som abborren i Tveitevatnet.

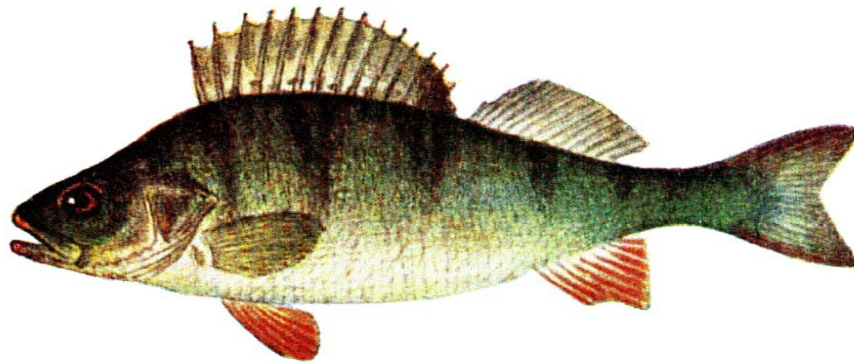


Figur 1.1: Kart A er eit utsnitt som viser området sør for Bergen sentrum. Her kan ein sjå kor Solheimsvatnet, Kristianborgvatnet, Tveitevatnet, Storetveitvatnet og Myrvatnet ligg, og korleis vatna er plassert i forhold til kvarandre. (modifisert frå www.google.no/maps). Den stipla linja viser nedbørsfeltet/vasskilje til Fjøsangervassdraget, og kart B viser Fjøsangervassdraget med Solheimsvatnet, Tveitevatnet, Kristianborgvatnet og Storetveitvatnet der pilene indikera kor vatn kjem inn og går ut av kvart av vatna.

1.2 Abbor

Abbor, *Perca fluviatilis*, høyrer til familien *Percidae* som er under ordenen *Perciformes*, piggfinnefiskane, og tilhører klassen *Actinopterygii* og fylumet *Chordata* (Braband, 1992, Pethon and Nyström, 2005). Abboren, 1.2, har litt pukkelforma rygg og kroppen er flattrykt frå sida. Fargen på fisken er grønbrun med 5-7 mørke striper langs sida. Huda er dekkja med ctenoide skjell. Bukfinnane, gattfinnen og halefinnen er raudlege. Gjellelokket har ein kraftig pigg posteriort, og ein finner piggstrålar på den fremste av dei to ryggfinnane i tillegg til 2 piggstråler i analfinnen og bukfinnane. Fisken gyter i mai-juni avhengig av temperatur. Abboren har utbreiing over heile Europa med unntak av Spania og Portugal, samt delar av Asia. I Noreg er abboren mest utbreidd på Sør-Austlandet og i Nord-Noreg. Abbor er ein ferskvassfisk og ein finner den hovudsaklig i innsjøar, men dei kan også leve i frie vassmasser og stilleflytande elver. På tross av at abboren er ein ferskvassfisk tolerer den også sjøvatn der saltinnhaldet ikkje er for stort. Storleiken på fisken kjem an på forholda den lever i. Nokre stader med mykje næring og lite konkurranse kan den bli så stor som 50 cm og opp mot 5 kg stor, medan den i små næringsfattige vatn blir den ofte ikkje meir enn 50 gram. Denne abboren blir kalla tusenbrødre og er den typen vi finn i Tveitevatnet og Myravatnet. Fleire land melder om ei negativ miljøpåverking der abboren har blitt introdusert. Informasjonen om abbor er samanfatta frå informasjon funnet på Fishbase (Luna, 2014) og i fiskebøker (Braband, 1992, Pethon and Nyström, 2005).

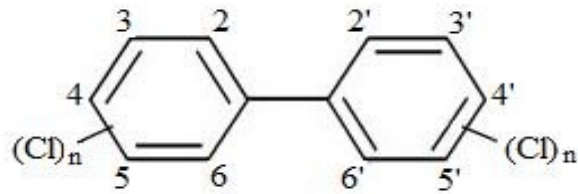
Ein grunn til at abbor var vald som indikatororganisme for miljøforureining i denne undersøkinga er at vi veit det er mykje av denne fisken i både Tveitevatnet og Myravatnet noko som gjer den relativt enkel å fange. Vi veit òg at det er abbor i Solheimsvatnet og Storetveitevatnet, men desse vart ikkje teke prøver av sidan vi ikkje fekk fangst under fisinga og ikkje hadde fleire dagar til feltarbeid. Abbor blei sett ut ulovlig i Tveitevatnet og Myravatnet i 2007 (NIFES, 2009) og er ein uønska art i vatna i Bergen sidan den øydelegger for anna fisk, noko som gjer den til ein grei fisk å bruke i oppgåva. Abbor er ein god matfisk og populær sportsfisk. Dette gjere at den er attraktiv for folk å fiske noko som er ugunstig på grunn av dei potensielle miljøgiftene i fisken. Abbor er ein relativt mager fisk med feittinnhald frå 0,5 - 2% i fillet. Sidan PCB er feittløyselig og konsentrasjonen av PCB i fileten er knytt til feittinnhald vil det vere naturleg å finne enda høgare konsentrasjon av PCB i fileten til andre fiskar med større feittinnhald, som til dømes aure, i Tveitevatnet.



Figur 1.2: Abbor (*Perca fluviatilis*) (bilete frå *Iduns kokbok*, skanna av *Projekt Runeberg*, henta frå: *wikipedia* http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Abborre,_Iduns_kokbok.jpg)

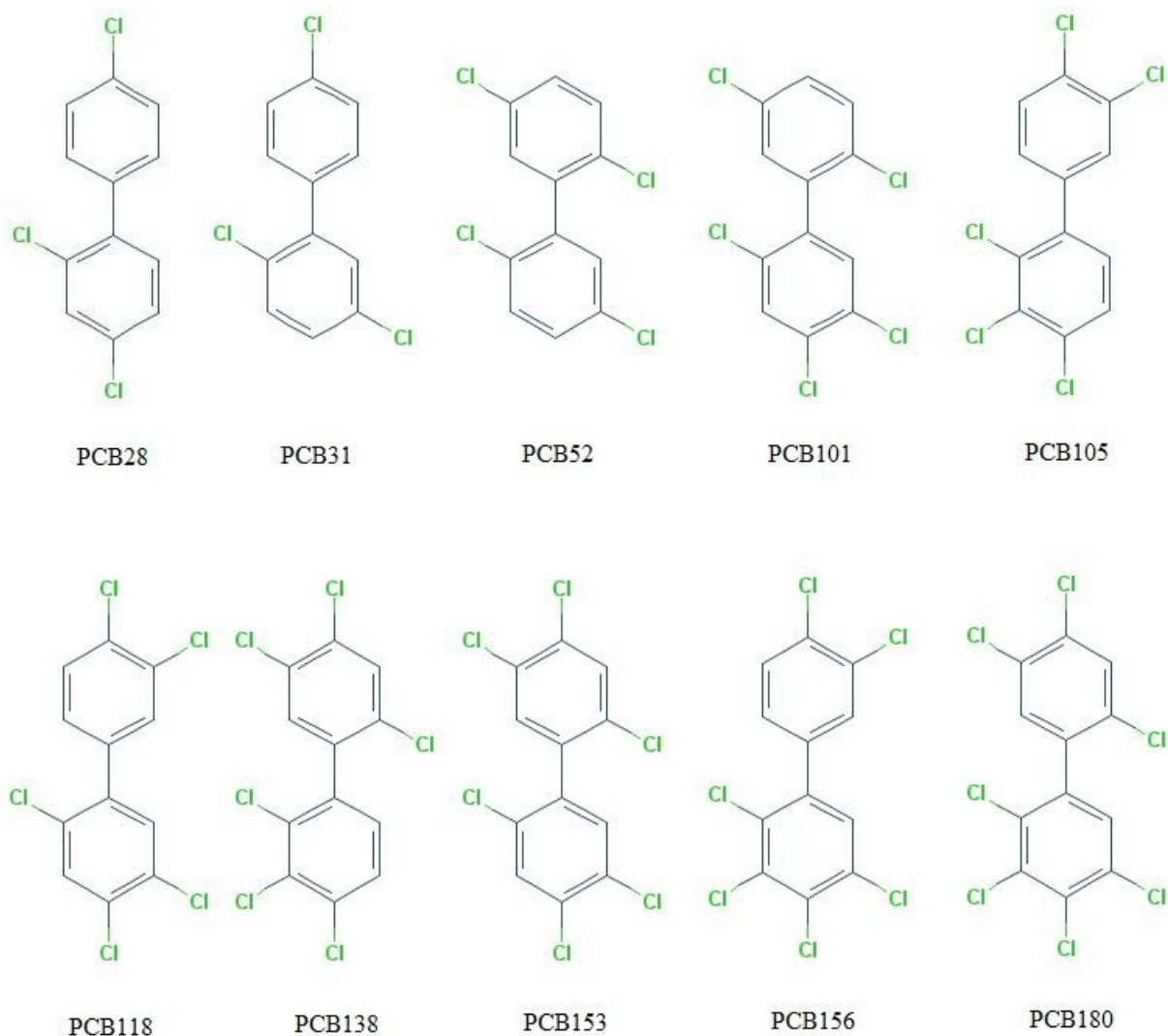
1.3 PCB

PCB står for polyklorete bifenylylar og består av to aromatiske ringar som har 1-10 kloratom bunde til seg, figur 1.3. Det finnast 209 ulike PCB-er, der figur 1.4 viser eit utval av dei vanligaste. Eit PCB kongen med mange kloratom festa til seg er giftigare enn eit med få (Borja et al., 2005). Dei fleste PCB-ar har kloratom i ortho posisjon, noko som gir ein fleksibel struktur, medan ei gruppe PCB-ar, 4 non-ortho og 8 mono-ortho PCB forbindingar, er utan fleire kloratom i ortho posisjon. Desse PCBane blir kalla koplane PCB-ar (eller dioksin-liknande PCB; DL-PCB) og går under klassifiseringa dioksinliknande sambindingar på grunn av ein stivare struktur og eit meir plant molekyl som liknar strukturen til polyklorert dibenzo-p-dioksin (PCDD) (Smith and Gangolli, 2002). PCB har blitt brukt i mange ulike produkt på grunn av sine kjemiske eigenskapar som gjer den motstandsdyktig mot flammar, som til dømes: isolatorar i kondensatorar og transformatorar, maling, blekk, trykksverte, kjølevesker, skjæreoljer, hydrauliske system, asfalt, mjuknar i plast og som smørjemiddel (Borja et al., 2005, Ruteretur, 2005, Fjeld, 2001). Dette er produkt som ein kan finne i gamle deponi slik som på Slettebakken. Rundt 1980 innførte mange land forbod mot bruk av PCB, og i dag er PCB forbode brukt i de fleste land, men på grunn av den tidlige utstrakte bruken av PCB og det høge stabiliteten av denne sambindinga har PCB blitt spreidd overalt i miljøet. Stoffet er lite nedbrytbart og ei vanlig miljøgift. Alle PCB-er er så og seie uløyselige i vatn, men løyselige i hydrofobe media slik som feittstoff. Dette gjer at PCB er veldig persistente i miljøet og at dei bioakkumulerar i levende system (Smith and Gangolli, 2002). Blir PCB slept ut i miljøet vil det vere der i mange år sidan det er så resistent mot kjemisk og biologisk nedbryting (Fjeld et al., 2001).



Figur 1.3: Generell strukturformel for PCB. (Illustrasjon Maja Helgheim)

Dei PCB-kongena som er mest interessante for denne oppgåva er dei som går under samleomgrepet PCB₇ (eller ICES-7) og PCB₆ (også kjent som ICES-6 eller indikator PCB). Den førstnemnde gruppa PCB-er inkluderer PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 118, PCB138, PCB 153 og PCB 180 (figur1.4). Sidan PCB 118 er dioksin-liknande er denne teke ut i PCB₆ eller indikator PCB. Summen av indikator PCBer (PCB 28, 53, 101, 138, 153 og 180) utgjere omlag halvparten av total ikkje dioksin-lignande PCB kongen (NDL-PCB) i fôr og mat (EC, 2011b). Denne summen blir difor sett på som ein passende markør for førekomst og menneskelig eksponering for NDL-PCB og blir brukt til å sette ein øvre grenseverdi for kva verdi av PCB som er tillat i matfisk i EU. Ein anna grunn for å måle nivået av akkurat desse PCB-kongena er at desse har blitt undersøkt for i levervevet til abbor og i sediment frå Tveitevatnet ved tidlegare undersøkingar, og ein kan dermed samanlikne resultatata ein får med resultat frå tidligare år og sjå på utviklinga.



Figur 1.4: 10 PCB-kongener analysert for i sedimenta i denne oppgåva. PCB28, PCB31, PCB52, PCB101, PCB105, PCB118, PCB138, PCB153, PCB156 og PCB180. I fiskevev var det ICES-7 som vart målt: PCB28, PCB52, PCB101, PCB118, PCB138, PCB153 og PCB180. (figurer henta frå PubChem)

Sidan PCB er feittløyslege og akkumulera i den akvatiske næringskjeda (Smith and Gangolli, 2002) er dei å finne i feittvev i dei fleste fiskeartane, noko som gjer konsum av fisk til ei mulig eksponeringskjelde av PCB (Fattore et al., 2006). Dei tolv koplane PCB-ane (dei dioksin-liknande PCBane) er i tillegg til dei polyklorerte stoffa PCDD (polyklorerte dibenzo-p-dioksin) og PCDF (polyklorerte dibenzo-furan) klassifisert som dioksin eller dioksinliknande sambindingar. Denne gruppa av stoff er karsinogen, teratogen og hormonforstyrarar (Aoki, 2001). Mange av dei koplane PCB-ane verkar som ligand til aryl hydrokarbon (Ah) reseptorar noko som kan føre til at det blir

uttrykt ei rekkje gen som kan føre til negative effektar i verten. Nokre av dei negative effektane desse PCB-ane kan føre til i menneske er til dømes klorakne, thymusatrofi, skade på leveren, fødsel defektar, negative effektar på immunsystemet og kreft (IARC, 1997, IPCS, 1993, Van den Berg et al., 2006). For dei ikkje dioksin-liknande PCBane (NDL-PCB) veit ein mindre om mekanisme og effekter, men det er mistenkt at eksponering for desse òg kan gi negative effektar, slik som DL-PCBar, på helsa til menneske. Eksponering for NDL-PCB skjer hovudsaklig gjennom matinntak, og PCB produkt er alltid ein mikstur av ulike PCBar (Elabbas et al., 2013). Sidan PCB produkta er ein mikstur av både DL-PCB og NDL-PCB er det usikkert kva kongener i blandinga som bidrar mest til dei toksiske eigenskapane til PCB, og det har vert vanskelig å sjå på effekt av spesifikke ikkje dioksinliknande PCB-kongen. Sidan NDL-PCB utgjer ein stor del av den totale mengda PCB funnet i mat er det viktig å undersøke for desse, samtidig som det må vere eit overordna mål å finne ut meir om effektane av desse som gruppe og som individuelle kongen.

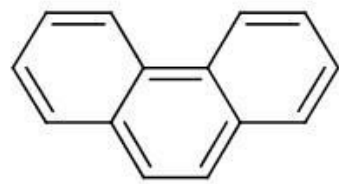
1.4 PAH

PAH, polysykliske aromatiske hydrokarbon eller polyaromatiske hydrokarbon, er ei gruppe kjemiske forbindingar som består av eit molekyl som er samansett av to eller fleire benzenringar. Det finst mange ulike forbindingar av PAH-er, der dei som vart nytta i denne oppgåva er vist på figur 1.5. PAH dannast naturleg ved til dømes brannar eller vulkanutbrot, men oppstår òg frå menneskelig aktivitet der den største kjelda er forbrenning av fossilt brensel i tillegg til forureining ved eksos og oljesøl (Cornelissen et al., 2008, Kreitsberg et al., 2010). Denne menneskelige aktiviteten har gjort PAH til ei utbreidd miljøgift. PAH-forbindingane er stabile og lipofile slik som PCB. Kor feittløyselig ein PAH er kjem an på storleiken på molekylet, der dei største er mest feittløyselige. Grunna dei lipofile eigenskapane til PAH-er vil mesteparten av PAH-ane som blir skild ut i vatn synker ned og leggje seg i sedimenta. Frå sedimenta blir PAH teke opp i fisk gjennom mat eller gjeller. Kontaminerte byttedyr er vanlegvis den største kjelda for PAH for organismar høgare i næringskjeda (Malins et al., 1987), og PAH kan biomagnifiserast opp gjennom dei trofiske nivåa dersom den ikkje blir biotransformert av avgiftingsenzym som til dømes cytokrom P450. Etter biotransformasjon av framandstoffet blir PAH utskilt i galle og urin, men galle er den viktigaste utskillingsvegen (Escartín and Porte, 1999, Beyer et al., 2010).

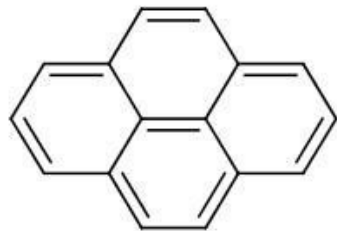
Det er vist at PAH er med på å indusere biotransformasjonsenzym, avgiftingsenzym, som til dømes cytokrom P450 systemet (CYP1A) (Goksøyr, 1995b, Ramachandran et al., 2004).

Biotransformasjonen kan i seg sjølv føre til negativ effekt ved at det blir danna reaktive mellomprodukt i prosessen. Desse reaktive produkta kan danne bindingar i celler som til dømes DNA eller protein (Farmer et al., 2003, Dévier et al., 2013) og føre til mutasjonar. Mutasjonar i cellene kan føre til kreft, og fleire PAH-metabolittar er kjente karsinogen. Spesielt fisk i eit tidlig livsstadium er utsett for miljøgifter som PAHer der effekt av eksponering for PAH-metabolittar viser igjen på blant anna auka dødleghet, svekka immunforsvar, ødem og deformasjonar i vekst og utvikling (Barron et al., 2004)

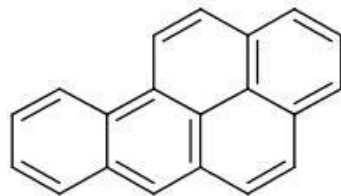
I denne undersøkinga vart det valt å undersøke galle for tre ulike PAH-metabolittar; benzo(a)pyren, pyren og fenantren. Desse tre klassane av PAHer har ulike bølglengdepar for fluorescens, og ved å undersøke for desse klassane kan ein få ei breiare oversikt over kva type PAH-forureining som er tilstades i vatna som blir undersøkt. Dei ulike PAHane har også ulike kjelder, og profilane kan dermed òg seie noko om kva som er kjelda til forureining. Benzo(a)pyren er den mest undersøkte PAH-en og antas å vere ein av dei mest helseskadelege forbindingane og er klassifisert som kreftframkallande og skadelig for arvestoffet og reproduksjon. Benzo(a)pyren har vert brukt som ein indikator på førekomst og effekt av karsinogene PAHer i mat (EC, 2011a) og er difor naturleg å undersøke. I tillegg til benzo(a)pyren, og 13 andre PAHer, er pyren og fenantren inkludert på ei liste av EFSA (European Food Safety Authority, før kalt SCF (Scientific committee on Food)) over PAH-metabolittar med moglege genotoksiske og mutagenisk effektar på dyr (SCF, 2002). Både benzo(a)pyren og fenantren har ein bay-region i molekylet, og PAHer med denne eigenskapen har vert forbundet med epigenetisk toksisitet, der dei fungera effektivt med å hemme kommunikasjonen mellom celler (Weis et al., 1998, Upham et al., 1998, Rummel et al., 1999).



Fenantren



Pyren



Benzo(a)pyren

Figur 1.5: Strukturen til tre PAH-er; fenantren, pyren og benzo(a)pyren (Toxnet, 2005) som vil bli undersøkt for i galle i denne oppgåva.

1.5 Tungmetall

Tungmetall som til dømes bly (Pb), kadmium (Cd), kvikksølv (Hg), krom (Cr), sink (Zn), arsen (As) og kobbar (Cu) er ei viktig gruppe miljøgifter på grunn av at dei er vedvarande i naturen i tillegg til at dei kan ha giftig effekt på organismar som blir eksponert for desse metalla. Tungmetall er grunnstoff og difor ikkje mogeleg å bryte ned, noko som gjer at organismar har vanskelig for å kvitte seg med desse stoffa. Dette føre til bioakkumulering i organismar, biomagnifiserast opp gjennom næringskjeda (Yang et al., 2014, Bai et al., 2011) og medfører risikoar for heile økosystem (Yi et al., 2011). Naturen og innsjøar kan få tilført skadelege mengder av metall gjennom ulike kjelder som til dømes industriutslepp, avfall frå husstandar, kloakk og landbruk (Mueller et al., 1989).

Det har blitt dokumentert fleire negative effektar, som til dømes reduksjon av veksthormon under utvikling, forstyrning i ionebalansen/ioneregulering, skade på lever, endokrin forstyrning og reduksjon i reproduksjon, apoptose og død i akvatiske miljøer eksponert for ulike tungmetall (McGeer et al., 2000, Jones et al., 2001, Klaper et al., 2006, Richter et al., 2011, Olsvik et al., 2011, Olsvik et al., 2013). På grunn av bioakkumuleringa og biomagnifisering vil tungmetalla funnet i fisk potensielt også føre til negative effektar på menneske. Konsumering av fisk er blant anna ei av dei største kjeldene til metylkvikksølv (Morel et al., 1998, Bjørnberg et al., 2005), som er den giftigaste forma av kvikksølv og ei kjent nervegift hos menneske. Noko som gjer Hg til eit viktig stoff å undersøke med omsyn til matvaretryggleik. Andre tungmetall som er spesielt viktige, og undersøkt i denne oppgåva, er kadmium, bly, arsen og kobbar. Kadmium er klassifisert som karsinogen for menneske, i tillegg til å føre til skade på nyrer og bein og forårsake oksidativt stress (Maret and Moulis, 2013, Zang and Bolger, 2014). Også her er mat, inkludert sjømat, ei sentral kjelde for inntak av tungmetallet. Eksponering for høge verdiar av bly kan virke inn på nervesystemet til menneske, særleg hos små barn. Bly er også assosiert med hjertesjukdom og heva blodtrykk hos vaksne menneske (Carrington and Bolger, 2014). Sjømat bidrar òg til mykje av den totale mengda arsen menneske får i seg gjennom mat, og sidan denne toksikanten er forbunde med kardiovaskulære sjukdommar, å verke inn på nervesystemet og utvikling, i tillegg til danning av kreft (Tao and Bolger, 2014), er dette eit farleg tungmetall som burde overvakast i matfisk. For kvikksølv, bly og kadmium har EC sett maksimumsgrenser for kva nivå som er tillate i matfisk (EC, 2006b). Kobbar skil seg frå dei andre tungmetalla som er omtalt ovanfor med at dette metallet ikkje er spesielt giftig for pattedyr, men langtidseksponering for eit høgt nivå av kobbar kan likevel føre til lever- hjerne- og nyreskader (HHS, 2004).

1.6 DDT

DDT, diklor-difenyl-trikloreten, er eit kjemisk stoff som har ei nervelammande verknad. DDT er eit veldig giftig og brytast sakte ned. Stoffet er omlag uløseleg i vatn, men løyser seg lett i feitt og blir difor biomagnifisert i næringskjeda. DDT vart mykje brukt som insekticid frå 1942-1970, men etter at det vart kjent at stoffet var helseskadeleg og kunne føre til kreft vart stoffet forbode i fleire land rundt 1970, der i blant i Noreg. Effektane av DDT på menneske er noko usikre, men DDT er forbunde med kreft i andre dyr som til dømes mus og ikkje-menneskelege primatar (Smith, 2001, Takayama et al., 1999), å medføre endokrine forstyrningar og å verke inn på reproduktivitet og utvikling (Hose et al., 1989). I naturen har DDT vist seg å føre til tynning av eggaskalet til fuglar og

ein nedgang i reproduksjonen (Gilbertson et al., 1991, Vos et al., 2000) . Hos fisk har eksponering for DDT resultert i blant anna forstyrning av endokrine organ og problem med reproduksjon (Leaños-Castañeda et al., 2007). Ved måling av DDT er det ofte vanleg å bruke Σ DDT som gir summen av DDT, DDE (diklor-difenyl-dikloretylen) og DDD (diklor-difenyl-dikloretan) i prøva. DDE og DDD er nedbrytingsprodukt av DDT, og vil finnast i fisken så lenge der er DDT å bryte ned (Mahmood et al., 2013).

1.7 Miljøgifter og matvaretryggleik

Det er øvre grenseverdier i EU og Noreg for kva som er den maksimale mengde av ei rekkje miljøgifter som er tillat i matvarer (EC, 2011c, EC, 2011b, EC, 2006b, EC, 2011a, EC, 2006a). Grenseverdier er sett for å hindre at produkt med for høge verdier av framandstoff når fram til forbrukaren. Grenseverdiene for eit uønskt stoff kan vere ulikt frå matvare til matvare. I EU og Noreg er det blant anna etablert øvre grenseverdier for metalla kadmium, kvikksølv og bly, og dei organiske miljøgiftene dioksin, dioksin-lignande PCB og PCB₆ (indikator PCB) i fiskefillet og fiskelever (EC, 2006b, EC, 2011b) . Det er òg sett øvre grenseverdier for PAH i fisk, men desse gjeld for røykt fisk (EC, 2011a).

1.8 Klassifisering av forureining

Det er fleire grader av forureining frå miljøgifter som til dømes PCB. Desse gradene vil gi ulike effektar på organismar som blir eksponert for dei gitte miljøgiftene. I denne undersøkinga vil målingane av PCB og metall i sedimenta bli klassifisert ut i frå tabell 1.1 som er vist nedanfor. Dei ulike metalla eller PCB har eigne grenser for kva som blir sett på som lite eller mykje forureining av det spesifikke stoffet (sjå avsnitt 1.7), og kva forureningsklasse forureningsnivået faller under. Det er òg nokre metall, bly der i blant, som har ulike grenser for klasseinndelinga ut i frå om det er sediment frå ferskvatn eller saltvatn. Klasseinndeling viser til kva effekt forureningsstoffet har om nivået av miljøgifta ligger innan for dei ulike klassane.

I Bakgrunn	II God	III Moderat	IV Dårlig	V Svært dårlig
Bakgrunnsnivå	Ingen toksiske effekter	Kroniske effekter ved langtids-eksponering	Akutte toksiske effekter ved korttidseksponering	Omfattande toksiske effekter

Tabell 1.1: Tabell over det klassifiseringssystemet som blir nytta i denne oppgåva til å vise grada av forureining i sedimenta. Tabellen er laga ut i frå Klima og forurensingsdirektoratet sitt klassifiseringssystem (Bakke et al., 2007).

1.9 Biomarkørar

1.9.1 Definisjon

Biomarkørar blir brukt til å påvise at organismar er utsette for forureiningar. Det er fleire ulike definisjonar på ein biomarkør. Ein biomarkør kan definerast som ein kvar biologisk respons på kjemikalie i miljøet, på individnivå eller lågare, som viser eit avvik frå normaltilstanden (Walker et al., 2006). Biomarkørar kan delast inn i tre grupper; biomarkørar for eksponering, biomarkørar for effekt og biomarkørar for sensitivitet (IPCS, 1993, van der Oost et al., 2003). Biomarkørar for eksponering viser om ein organisme er eksponert for kjemikalier som til dømes PCB, men ikkje om grada av negativ effekt. Biomarkørar for effekt viser den negative effekten kjemikalien har på organismen. Og biomarkørar for sensitivitet viser eigenskapen ein organisme har til å bli påverka av den bestemte miljøgifta (Timbrell, 1998, Walker et al., 2006, van der Oost et al., 2003).

Spesifisiteten til dei ulike biomarkørane varierer frå dei med høg spesifisitet der ein kjemikalie gir ei spesifikk effekt på organismen, til dei som er uspesifikke der til dømes effekt på immunsystemet kan komme av fleire ulike forureiningsstoff (Walker et al., 2006).

I fleire studier av forureina vatn har biomarkørar blitt brukt for å undersøke effekt av forureininga i området. I fleire undersøkingar rundt Stockholm, Sverige, har fysiologiske og biokjemiske biomarkørar i abbor blitt studert (Hansson et al., 2006a, Hansson et al., 2006b, Hansson et al., 2014). Biokjemiske markørar som EROD aktivitet, acetylcholinesterase (AChE) aktivitet, glutation s-transferase (GST) aktivitet og metallotionin har vore brukt til å undersøke effekt av blant anna PCB og metallforureining (Beyer et al., 1996, Hansson et al., 2006b). Fysiologiske biomarkørar som vekt, lengde, alder, somatisk vekst, gonadesomatisk indeks, leversomatisk indeks, hjernesomatisk indeks for å undersøke effekt av DDT på abbor (Linderoth et al., 2006). I ei undersøking i Østersjøen vart PAH-metabolittar i galle brukt som biomarkør for forureining av PAH i fisk (Vuorinen et al., 2006). Vitellogenin som biomarkør for endokrin forstyrning er brukt i fleire studier der fisk har blitt eksponert for til dømes PCB (Hennies et al., 2003, Vega-López et al., 2006).

1.9.2 Biomarkørar brukt i denne oppgåva

Biomarkørane CYP1A, HSP70, vitellogenin og katalase vart undersøkt i denne undersøkinga. I fisk er cytokrom P450 enzyma ansvarlige for biotransformasjonen av fleire framandstoff som til dømes ulike typar PCB og PAH-er (van der Oost et al., 2003). Til dømes vil fisk påverka av PAH føre til oppregulering av enzyma cytokrom P450 monooksidase, glutation S-transferase (GST) og uridine 5-difosfat-glucuronosyltransferase (UDP-GT) (Tuvikene, 1995). Induksjon av CYP1A i fisk er eit tidlig varselsignal på at organismen er utsett for framandstoff (Nilsen et al., 1998b, Goksøyr, 1995a). Vitellogenin (vtg) er eit eggeplommeprotein som vanlegvis berre blir produsert av hoer (Goksøyr et al., 2003). Finner ein høge verdiar av dette proteinet i hannfisk kan det vere eit teikn på at det endokrine systemet har blitt påverka. HSP70 er eit stressprotein og er involvert i vern og reparasjonen av celler som er utsett for stress og skadande forhold (van der Oost et al., 2003). Katalase (CAT) er eit enzym som hjelper til med å fjerne hydrogenperoksid ved å katalysere reaksjonen av hydrogenperoksid til oksygen og vatn. Ei endring i katalase aktiviteten kan vere ein indikasjon på at organismen har blitt eksponert for oksidantar (van der Oost et al., 2003).

1.10 Tidligare undersøkingar av Tveitevatnet

1.10.1 Vassprøver

I 2007 gjorde NIVA ei undersøking av PCB i Tveitevatnet ved bruk av passive prøvetakara for å avklare om det var fleire forureiningskjelder rundt vatnet. Hovudfokus var å sjå på overvassledninga frå det nedlagte deponiet på Slettebakken som munnar ut i Tveitevatnet på austsida, og overvassledninga i nordenden av vatnet der det tidligare har rent relativt store mengder olje ut i Tveitevatnet. Den klart høgste konsentrasjonen av PCB, med ein middelkonsentrasjon av 10 PCB-forbindingar på 1474 pg/L, kom frå det gamle deponiet. Ser ein på mengd og samansetjing av PCB er det sannsynleg at kjelda til PCB-forureininga kjem frå det gamle deponiet på Slettebakken (Hobæk., 2007). I bekken mot nord vart det funnet den høgste konsentrasjon av PAH-forbindingar (Hobæk., 2007). NIVA fastslo med desse resultatata at i 2007 mottok Tveitevatnet framleis tilføring av PCB, og at forureiningsnivået ikkje var betra sidan 1996 (Hobæk., 2007).

1.10.2 Sedimentprøver

Tveitevatnet har blitt målt til å ha relativt høg konsentrasjon av PCB₇ (opp til 120-150 mg/kg) i sedimenta (Kallqvist and Brooks, 2008). I følge Miljødirektoratet si klassifisering (Bakke et al., 2007) var sedimenta i Tveitevatnet moderat (17-190ug/kg) forureina av PCB₇, noko som kan gi kroniske effektar ved langtidseksponering (Bakke et al., 2007). Målingar NIVA gjorde av tungmetall i sedimenta i 2008 viste ut i frå Miljødirektoratet si klassifisering (Bakke et al., 2007) at nivået av kadmium var klassifisert som godt til moderat forureining medan kobbar vart klassifiserte som svært dårlige, å bly og sink vart klassifisert som dårlige.

1.10.3 Vevsprøver frå abbor

Målingane av tungmetall i muskelvevet på abbor i 2008 (NIFES, 2009) viste at selen låg på 0,34 mg/kg og kvikksølv nivået låg på 0,11 mg/kg. Medan verdiane av arsen, kadmium og bly var svært lave. Målingane av ΣPCB₇ som vart målt frå same fisken i 2008 viste ein verdi på 64 µg/kg våtvekt i abbor (NIFES, 2009). Dette er relativt låge verdiar for både tungmetall og PCB i fisk, men denne konsentrasjonen kan vere lågare enn det det ville vert i fisk som har levd heile livet sitt i Tveitevatnet. Einar Kleven fastslo i NIFES sin rapport at abboren mest sannsynlig vart sett ut i Tveitevatnet vinteren 2006/2007, og at dei med ein alder på 5-9 år ikkje har levd heile livet sitt i dette vatnet (NIFES, 2009).

1.11 Problemstilling

Det er tidligare dokumentert at Tveitevatnet er svært forureina, men det er sett lite på innverknaden miljøgiftene har hatt på fiskehelse og mattryggleik.

Måla for denne masteroppgåva er å:

- Undersøke nivået og kva effekt PCB og andre miljøgifter i Tveitevatnet har hatt på abbor, ved bruk av biomarkørar og kjemiske analyser. Dermed vil ein sjå om miljøgiftene påverkar fiskehelsa og mattryggleiken på abbor i dette økosystemet. Myrvatnet vert brukt som referanselokalitet.
- Kartlegge nivåa av miljøgifter i sedimentprøver frå Tveitevatnet for å sjå om miljøgiftene i sedimenta er på same nivå som tidligare år eller om konsentrasjonen av PCB, PAH-forbindingar og tungmetall i sedimenta har minka.
- Det er i tillegg eit mål å ta sedimentprøver frå Solheimsvatnet, Storetveitvatnet og Kristianborgvatnet, som ligger i same området som Tveitevatnet og Myrvatnet, for å få eit oversiktsbilete av omfanget av miljøgifter i vatna i Bergensdalen.

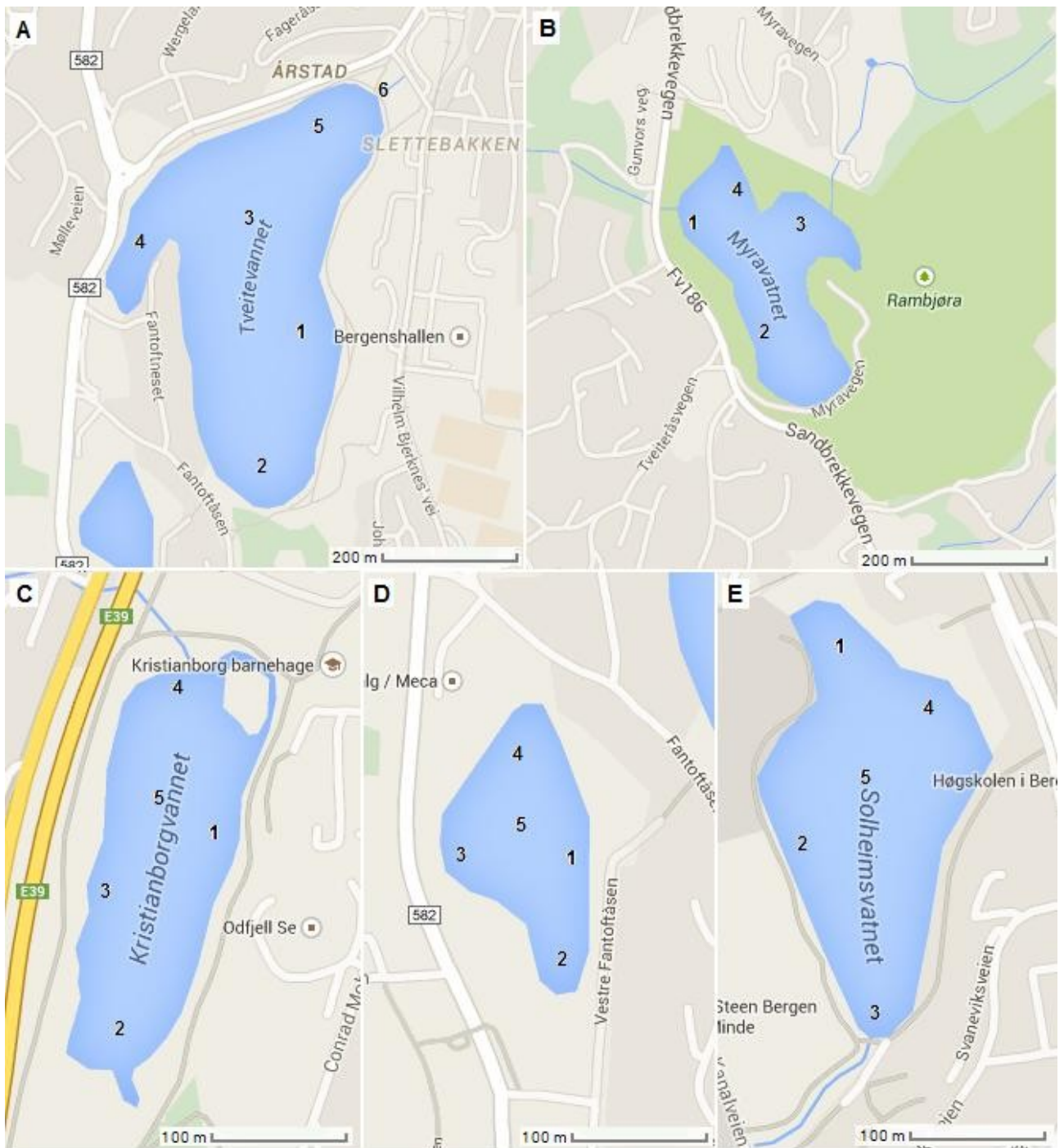
2. MATERIAL

2.1 Sediment

Det vart teke sedimentprøver frå Myrvatnet, Tveitevatnet, Solheimsvatnet, Storetveitvatnet og Kristianborgvatnet. Prøvene frå Myrvatnet vart tekne 13. juni 2013, prøvene frå Tveitevatnet vart tekne 28. august 2013, og 29. august 2013 vart prøvene frå dei tre andre vatna teke. Det vart teke 4-6 prøver frå kvart vatn der innsamlingsposisjonane (tabell 2.1) som visast på karta i figur 2.1, var jamt fordelt utover i dei ulike vatna.

Tabell 2.1: Viser koordinatene for sedimentprøvene frå Tveitevannet (TV), Myravannet (MV), Solheimsvannet (SV), Kristiansborgvannet (KBV) og Storetveitvannet (STV).

Vatn	Prøver	Grader N	Min N	Grader Ø	Min Ø
Tveitevatnet	1	60	21,171	5	21,324
	2	60	21,298	5	21,258
	3	60	21,298	5	21,221
	4	60	21,307	5	21,041
	5	60	21,381	5	21,401
	6	60	21,443	5	21,443
Myrvatnet	1	60	20,036	5	21,330
	2	60	20,030	5	21,518
	3	60	19,945	5	21,404
	4	60	20,054	5	21,407
Solheimsvatnet	1	60	22,200	5	20,778
	2	60	22,159	5	20,742
	3	60	22,061	5	20,789
	4	60	22,168	5	20,866
	5	60	22,153	5	20,813
Storetveitvatnet	1	60	21,041	5	21,049
	2	60	21,073	5	21,037
	3	60	21,100	5	21,061
	4	60	21,124	5	21,023
	5	60	21,087	5	20,978
Kristianborgvatnet	1	60	21,271	5	20,505
	2	60	21,132	5	20,414
	3	60	21,189	5	20,380
	4	60	21,218	5	20,444
	5	60	21,259	5	20,424



Figur 2.1: Prøvestasjonane for opphenting av sediment frå A - Tveitevatnet, B - Myrvatnet, C - Kristianborgvatnet, D - Storetveitvatnet og E - Solheimsvatnet.

2.2 Abbor (*Perca fluviatilis*)

Abbor vart fanga med garn (maskevidd - 30mm) i Myrvatnet og Tveitevatnet. Deretter vart fisken sett i ruser fram til avliving. Fiskane vart avliva på staden, og det vart teke prøver av lever, blod, galle og muskel for vidare analyser. Dette står forklart i meir detaljar i metodekapittelet (avsnitt 3.1.1). Det vart teke prøve av 20 fisk frå Myrvatnet, der dei fem av desse vart brukt for å prøve ut dei ulike analysemetodane, og 13 fisk vart fanga frå Tveitevatnet som vist i tabell 4.4.

2.3 Kjemikaliar og kit

Tabell 2.2: Oversikt over kjemikaliar og kit som vart brukt til å utføre arbeidet og analysane i denne oppgåva.

Kjemikalium	Produsent	Produktnummer
Akrylamid/bis-løysing 30% (37, 5:1)	Sigma – life	D89555
Ammoniumpersulfat (APS)	Bio-Rad	161-0700
Bovine serum albumine	Sigma – life	A4503
Coomassie Brilliant Blue (CBB) G250	Merck	1.15444.0025
DMSO	Sigma – life	D8418
DTT	Sigma – life	D9779
Eddiksyre	Sigma	33209
EDTA	Merck	1.08418,1000
Etanol, 99,8%	Sigma – Aldrich	32221
Ethoxyresorufin	Sigma	E3763
Fosforsyre	Merck	100573
Glyserol, 85%	Merck	1.04094,1000
Glysin	Sigma – life	G8898
HCl	Merck	1.00317
Heparin	LEO Pharma	009165-06
H ₂ O ₂ , 30%	Merck	1.07209.0250
KCl	Sigma – life	p9541
KH ₂ PO ₄	Merck	4873.1000
K ₂ HPO ₄	Sigma - Aldrich	P5504
Metanol CH ₃ OH	Sigma - Aldrich	34860N
NaCl	Merck	1.06404.1000
NADPH	Sigma	N7505
NaH ₂ PO ₄ * H ₂ O	Merck	1.06346.100
Na ₂ HPO ₄ * 2H ₂ O	Merck	1.06580.0500
Ponceau S	Sigma – Aldrich	P7170
Precision plus protein all blue standards	Bio-Rad	350000686
Resorufin	Fluka	83635
SDS, 20%	VWR/Amresco	M112
Serva Blue G	Serva	
SuperSignal® West Pico Chemiluminescent substrat	Thermo scientific	34080
TEMED	Sigma – life	T9281
Trizma® base	Sigma – life	T1503
Tris-HCl, 0,5 M, pH 6,8	Bio-Rad	161-0799
Tris-HCl, 1,5 M, pH 8,8	Bio-Rad	161-0798
Tween 20	Bio-Rad	170-6531
Tørrmjølk < 1% fett	Normilk AS, Levanger	
Qubit® Protein assay kit	Invitrogen	Q33211

2.4 Instrument og utstyr

Tabell 2.3: Oversikt over kva instrument og utstyr som vart brukt til å utføre prøvetaking og analyser i oppgåva.

Generelt utstyr er notert med namn, medan meir spesifikke instrument og utstyr er notert med produsent, modell og produktnummer der dette var mogeleg.

Instrument/utstyr	Modell	Produsent	Produktnummer
Alluminiumsbeholdar med papirlukk		Plus Pack	832510699
Blotteutstyr	Diverse	Bio-Rad	
ChemiDoc™ XRS		Bio-Rad	
Disseksjonsutstyr (skalpell, pinsett, saks, knivblad)			
Elektroforeseutstyr			
Elektroforese celle			
Eppendorfrøyr			72.690.001
Falconrøyr, 15 mL			
Falconrøyr, 45 mL			
Fastprepkuler	Precellys 24	Bertin Technologies	03961-1-103
Fastpreprøyr		VWR	211,01
Fastprepmaskin		M.P Biomedicals	6120235
Filterpapir		Munktell	
Flytande nitrogen			
Fryseboks i plast (81 plassar)			
Gam – 3cm			
Gel-støyping utstyr		Bio-Rad	
Glasrøyr med snap-cap			2783/6
Grabb			
GPS			
Kryorøyr, 1,0 mL			72.377
Kvartskuvette (1mL)			
Magnetrorar	VS-C7-2	VWR	
Mikrotilterplater	96-general	Greiner	655101
Mini Trans-Blot® Elektrophoretic Transfer Cell		Bio-Rad	170-3930
Pasturpipette			
pH-meter	PHM210	MeterLab®	651R126 N090
PVDF; Immobilon-P, 45 µm		Millipore	IPVH 000 10
Qubit® protein assay kit	For protein	Invitrogen	Q33211
Qubit® røyr		Invitrogen	Q32856
Qubit® 2.0 Fluorometer		Invitrogen	Q32866
Ristemaskin	VWR		444-1372
Rister	HS 501 Digital	IKA® - WERKE	10.013856
Sentrifuge	CT 15RE himac	VWR	
Sonic bad	RK 1028 C	Bandelin	
Spektrofotometer platelesar	EnSpire™	PerkinElmer	23000322
Sprøyter, plastipak luer, 1 mL		BD	300013
Sprøytespisser, microlance 3 kanyler, 23G x 1"		BD	304432
Strømforsyning	Powerpac™ HC	Bio-Rad	043BR35404
Svarte 96 mikroplater	Nunc™		
Touch N Tuff nitril hanskar			
Tørris			
Vamemaskin	Thermomixer Compact	eppendorf	
Vameskap		Termaks	
Vekt	SI-64	Denver	25005455
Vekt (2)	EK-300i	AND	P 1839409

2.5 Løysingar og bufferar

Tabell 2.4: Løysingar som vart brukt til feltarbeid.

Buffer / Løysing	Innhald
10 x PBS	14,4 g Na ₂ HPO ₄ * 2H ₂ O 2,4 g KH ₂ PO ₄ 80 g NaCl 2,0 g KCl dH ₂ O til 1L
1 x PBS	100 mL 10 x PBS 900 mL dH ₂ O Juster pH til 7,3 ved bruk av 6M HCl eller 6M NaOH
Etanol, 70%	700 mL 99,8% etanol 300 mL dH ₂ O

Tabell 2.5: Innhaldet i homogeniseringsbufferen som vart brukt til opparbeiding og homogenisering av leverprøver.

Buffer	Innhald
Homogeniseringsbuffer	13,8 g NaH ₂ PO ₄ * H ₂ O 11,19 g KCl 0,372 g EDTA 1 mL DTT 117,7 mL 85% Glyserol Juster pH til 7,4 ved bruk av 6M NaOH dH ₂ O til 1L

Tabell 2.6: Løysingar som vart brukt til måling av proteinkonsentrasjon i lever etter Bradford metoden.

Løysing	Innhald
10 mg/mL BSA	100 mg BSA 10 mL dH ₂ O
0,2 M BSA arbeidsløysing	100 µL BSA 4900 µL dH ₂ O
Serva Blue G fargeløysing	100 mg Serva Blue G 50 mL 96% etanol dH ₂ O til 1000 mL Filtrer løysinga
17 % fosforsyre	200 mg 85% fosforsyre 800 mL dH ₂ O
CBB arbeidsløysing	1 del Serva Blue G 1 del fosforsyre Blandinga er holdbar 1 time

Tabell 2.7: Løysing brukt til måling av proteinkonsentrasjonen til plasmaprøver ved bruk av Qubit.

Løysing	Innhald
Qubit arbeidsløysing (per prøve)	1 µL Qubit protein reagent 199 µL Qubit protein buffer

Tabell 2.8: Løysingar til kjøring av akrylamid gelar.

Buffer / Løysing	Innhald
10% SDS	1 del 20% SDS 1 del dH ₂ O
10% APS	0,1 g APS 1,0 mL dH ₂ O
10x Tris/Glysin/SDS buffer (TGS), pH 8,3	30,4 g Tris (250mM) 144,1 g Glycine (1920 mM) 10 mL SDS (1%) Tilsett ca. 800 mL dH ₂ O Juster pH til 8,3 med 6M HCl dH ₂ O til 1L
Kjøyrebuffer (1xTGS)	100 mL 10x Tris/Glysin/SDS buffer (TGS) 900 mL dH ₂ O

Tabell 2.9: Gel-løysingar til SDS-PAGE.

Kjemikali	12,5%	9%	7%	4%
30% akrylamid/bis	4,167 mL	3,0 mL	2,5 mL	650 µL
dH ₂ O	3,178 mL	4,345 mL	4,845 mL	2,995 mL
1,5 M Tris-HCl pH 8,8	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL	-
0,5 M Tris-HCl pH 6,8	-	-	-	1,25 mL
10 % SDS	100 µL	100 µL	100 µL	50 µL
10% APS	50 µL	50 µL	50 µL	50 µL
TEMED	5 µL	5 µL	5 µL	10 µL
Totalt volum	10 mL	10 mL	10 mL	5 mL

Tabell 2.10: Løysingar og buffer brukt til western blotting og til framkalling av membran.

Buffer / Løysing	Innhald
Blottebuffer: Towbin buffer	3,03 g Tris 14,4 g glysin 200 mL metanol dH ₂ O til 1000 mL
5x TBS (Trisbuffer saltløysing)	24 g Tris 292,5 g NaCl 1800 mL dH ₂ O Juster pH til 7,5 ved bruk av 6 M HCl dH ₂ O til 2000 mL
0,05% TBS-tween	200 mL 5x TBS 800 mL dH ₂ O 0,5 mL Tween-20
5 % tørrmjølk	6,25 g tørrmjølk 125 mL TBS-tween
SuperSignal West Pico ECL (per membran)	500 µL peroksid løysing 500 µL luminol

Tabell 2.11: Løysinga brukt til galle-analysene.

Løysing	Innhald
Etanol, 48%	20mL 99,8% etanol 20mL dH ₂ O

Tabell 2.12: Buffer og løysing brukt til å undersøke katalase aktiviteten i lever av abbor.

Buffer / Løysing	Innhald
Fosfatbuffer, 100mM	6,81 g KH ₂ PO ₄ (syre) i 1L dH ₂ O 11,41 g K ₂ HPO ₄ (base) i 1L dH ₂ O Bruk basen og juster pH-en til 7,4 med syra
H ₂ O ₂	1,4 mL 30% H ₂ O ₂ 25 mL fosfatbuffer Dekkast med aluminiumsfolie og lagrast på is

Tabell 2.13: Buffer og løysingar brukt til EROD analyse.

Buffer / Løysing	Innhald
Fosfatbuffer, 100mM	4,54 g KH ₂ PO ₄ (syre) i 1L dH ₂ O 11,48 g K ₂ HPO ₄ (base) i 1L dH ₂ O Bruk basen og juster pH-en til 7,6 med syra
Ethoxyresorufin	
Stamløysing (414,5 µM)	5 mg ethoxyresorufin 50 mL DMSO
Arbeidsløysing (46 µM)	1,11 mL stamløysing 8,89 mL buffer
Resorufin	
Stamløysing (2 mM)	21,32 mg Resorufin 50 mL DMSO
Arbeidsløysing (46 µM)	69 µL stamløysing 2,931 mL buffer
NADPH (5,75 mM)	10 mg NADPH 2,087 mL buffer

2.6 Antistoff

Tabell 2.14: Liste over dei antistoffa som vart brukt til western blotting.

Antistoff	Produsent	Produktnummer	Fortynning til WB
Mus anti-fisk CYP1A peptid	Biosense	C02401101	1 til 500
Mus anti-varmesjokk protein 70	Sigma		1 til 5000
Mus anti-stripete havabbor vitellogenin	Biosense	V01405101-500	1 til 500
Kanin antiserum katalase	Inbiolabs	(A276)	1 til 1000
HRP geit-anti kanin IgG	Dako	P0448	1 til 2000
HRP geit-anti mus IgG	Dako	P0447	1 til 1000

2.7 Produsentar

Tabell 2.15: Oversikt og informasjon om produsentar av utstyr brukt i oppgåva.

Forkorta namn	Produsent	Adresse	Land
BD	Bandelin electronic	12207 Berlin	Tyskland
	BD (Becton, Dickinson and Company)	Franklin Lakes, NJ	USA
	Bertin Technologies		Frankrike
Bio-Rad	Bio-Rad Laboratories	Hercules, CA 94547	USA
Biosense	Biosense Laboratories	Bergen	Noreg
Dako	Dako Denmark A/S	Produktionsvej 42 2600 Glostrup	Danmark
Fluka	Fluka Chemie		Sveits
	Greiner bio-one GmbH	72636 Frickenhausen	Tyskland
Merck	Invitrogen, life technologies	Carlsbad, CA	USA
	LEO Pharma a/s	2750 Ballerup	Danmark
	Merck KGaA	64271 Darmstadt	Tyskland
	Millipore	Massachusetts	USA
Munktell	M.P Biomedicals	Irvin, California	USA
	Munktell Filter AB	SE-791 10 Falun	Sverige
	Normilk AS	7600 Levanger	Noreg
Serva	Plus Pack AS	DK-5260 Odense S	Danmark
	Serva Electrophoresis GmbH	69115 Heidelberg	Tyskland
Sigma	Sigma-Aldrich	Spruce Street St. Louis, MO 63103	USA
Thermo	Thermo scientific	3747 N. Meridian Rd., Rockford	USA

2.8 Statistiske analyser

Til å finne statistisk signifikans vart R, versjon 2.13.2 frå «the R foundation for statistical computing» brukt.

2.9 Analyser av blottemembran

Image Lab, versjon 5.1 -Beta build 1 frå Bio-Rad Laboratories vart nytta til å gjennomføre analysene av membranar etter western blott, og brukt til relativ kvantifisering og kontroll av proteinkonsentrasjonane i kvar brønn.

3. METODE

3.1 Innsamling av prøvemateriale

3.1.1 Prøvetaking av abbor

1. Fisken vart teke livet av ved eit kakk i hovudet. Deretter vart den målt og vegd.
2. Fisken vart deretter skjert opp ved å klippe strupen og klippe langs buken. Blodprøva vart teke frå hjarte med ei heprinisert sprøyte. Blodet vart lagra i eppendorfrøyr som blei oppbevart på is ute i feltet. På laben etter feltarbeidet vart blodprøvene sentrifugert på 12000g ved 4°C i 10 min. Dette gjorde at plasma og dei raude blodcellene skiltes og plasma vart pipetert over i kryorøyr som vart lagt på flytande nitrogen og deretter lagra i frys på -80°C.
3. Heile levren vart teken ut og vegd, deretter vart den teken oppi eit kryorøyr og lagt i flytande nitrogen. Levrane over 0,700g vart delt i to og lagt i to kryorøyr merka med lever 1 og lever 2. Til slutt vart det slakta 3-4 fisk til å lage ei samleprøve av levrane til metall og organisk analyse. Levren brukt til organisk analyse vart lagra i eit glasrøyr, og leverprøva for metall vart lagra i eit plastikkøyr. Begge desse prøvene vart lagt på tørris.
4. Galleblæra vart skjert forsiktig laus frå dei andre organa. Etter dette vart galleblære vaska grundig, men forsiktig, i PBS. Deretter vart galleblæra hold over eit kryorøyr og blæra vart stukke hol på slik at gallen rann ned i kryorøyret. Røyret vart lagt i flytande nitrogen.
5. Muskelprøver vart tekne ved å skjere bitar av fileten på fisken. Muskelprøvene vart tekne frå same staden på kvar fisk. Fileten vart lagt på eit kryorøyr og lagt i flytande nitrogen. Til NIFES vart det teke prøver av minimum 10g muskel som vart lagt i glasrøyr med snap-cap og lagt på tørris.
6. Viss det var mogeleg vart abboren kjønnsfastsett ved å sjå på gonadane øverst og bakarst i bukholå inntil ryggrada som viser at det er ein hannfisk, eller rognsekk i buken som viser at det er ein hofisk.

Alt utstyret vart vaska med PBS og desinfisert med 70% etanol mellom kvar fisk som blir tatt prøve av. Alle prøvene som vart lagt i kryorøyr vart lagra i ein frysar, med ein temperatur på -80°C, fram til dei skal analyserast. Prøvene vart analysert ved UiB i tillegg til at muskelprøver vart analyserte ved NIFES.

3.1.2 Innsamling av sedimentprøver

Alle sedimentprøvene vart samla inn ved bruk av ein Van Veen grab. Opninga på grabben gapar over ca 14 x 14 cm og tek sediment frå øverste lag og ned til maks 5 cm. (0,02m²) Prøvene av sedimenta vart lagra i aluminiumsboksar etter opphenting, og sett på kjølerom med 4°C. Sedimentprøvene vart tekne på ulike stader i vatna, som er vist i figur 2.1, slik at det blir mogeleg å sjå på gradientdringa gjennom vatna. Alle sedimentprøvene vart merka med koordinatar (tabell 2.1) frå den nøyaktige staden der dei blei tekne opp.

3.2 Fulton og leversomatisk indeks

Fultons kondisjonsfaktor blei rekna ut ved bruk av formelen $K = (\text{vekt (g)} / \text{lengd (cm)}^3) * 100$. Og leversomatisk indeks vart rekna ut med formel $LSI = (\text{levervekt (g)} / \text{totalvekt (g)}) * 100$.

3.3 Opparbeiding av vevsprøver

Leverprøvene vart homogenisert i homogeniseringsbufferen (tabell2.5) i fastprep røyr i ei FastPrep24 maskin. Fastprep røyr vart laga til med 500 mg Precellys 24 kuler oppi kvart røyr. Først vart leverprøvene henta frå frysen og lagt på is. Det vart teke seks til sju prøver om gangen for å unngå at dei var tinte for lenge før homogeniseringa. Omlag 250 mg lever vart vegd opp og lagt i fastpreprøyrret, som også vart lagra på is. Deretter blei omlag 1 mL (x mg lever * 4) homogeniseringsbuffer tilsett til røyrret. Fastpreprøyra med prøve i blei rista i ei fastprep24 maskin på 6m/s i 20 sekunder, lagt på is i 3 minutt, og deretter rista i 20 sekunder til. Etter denne prosessen vart røyra sentrifugerast ved 12000g omdreiningar ved 4°C i 10 minutt i ei CT 15RE himac sentrifuge. Dette skilde prøva frå kvarandre med eit feittlag på toppen, den ønska blandinga i midten og nedbrotne celler og vev på botnen med kulene. Den ønska blandinga vart pipetert over i eit eppendorfrøyr der den igjen vart sentrifugert med same innstillingar som ovanfor, også her i 10 minutt. Deretter vart den homogene blandinga pipetert opp og fordelt på fire eppendorfrøyr slik at ein ikkje trengde å tine og fryse den same prøva til alle analysane.

3.4 Måling av proteinkonsentrasjon

3.4.1 Bradford for måling av leverprøver

For å finne proteinkonsentrasjonen i alle prøvene av abbor blei Bradford metoden brukt. Alle løysingar brukt i denne analysa er vist i tabell 2.6. Ei standardrekke med åtte ulike BSA konsentrasjonar vart laga til ved å blande eit gitt volum BSA arbeidsløysing med dH₂O i eppendorfrøyr. Konsentrasjonane av BSA i eppendorfrøyra gjekk frå 0 – 0,060mg/mL. 50µL frå kvar standard vart avsett på ei mikroplate, kvar standar i triplett. Deretter vart 300µL CBB arbeidsløysing sett til kvar brønn med prøve oppi. Mikroplata vart rista i 30 sekunder før den skulle stå 10-15 min å inkubere i romtemperatur før absorbansen skulle målast ved 595nm. Standarkurva blei laga i Excel, og måtte ha ein $R^2 > 0,99$ før den blei nytta til å rekne ut proteinkonsentrasjonen av leverprøvene. Leverprøvene vart fortynna 1:1600, og vart sett på likt som standarane med 50µL prøve i triplettar og 300µL CCB før plata vart rista, inkubert i 10 minutt og avlese på platelesaren. Absorbsjonen som vart målt her blei blankkorrigert og (teke gjennomsnittet av før den) vart sett inn i formelen frå standarkurva for å få proteinkonsentrasjonen av prøva. Dette resultatet måtte så gangast med fortynninga av prøva, i dette tilfellet 1600.

3.4.2 Fluorescens for måling av plasmaprøver

Måling av fluorescens vart brukt for å finne proteinkonsentrasjone til plasmaprøvene. Det var tilsaman 24 plasmaprøver, tv11, tv12, tv13 og mv11 vart ikkje teke blodprøve av eller prøva var for lita til å kunne testast. Først vart det laga til tre standarar for kalibrering av Qubit® 2.0 Fluorometeret. Alle standarane og prøvene vart laga i 0,5 mL Qubit® røyr i redusert lys. Qubit arbeidsløysinga vart laga som vist i tabell 2.7. Det vart laga til arbeidsløysing for 16 prøver om gangen, 12 plasmaprøver, 3 standarar og ein ekstra som tryggleiksmargin, for å ikkje la prøvene stå for lenge før avlesing. Sluttvolumet i kvart røyr må vere 200 µL der alle standarane trenger 190 µL arbeidsløysing, og prøvene trenger mellom 180 – 199 µL arbeidsløysing avhengig av kor stort volum av prøve som kan brukast. 190 µL arbeidsløysing vart pipetert opp kvart av røyra for standarane, deretter vart det teke oppi 10 µL av dei tre Qubit standarane til dei tre røyra merka med standar ein to og tre og røyra vart forsiktig rista/vortex 2-3 sekunder og spinna ned. 198 µL arbeidsløysing vart pipetert oppi røyra for plasmaprøvene, og deretter vart 2 µL av plasmaprøvene pipitert oppi og røyra vart rista i 2-3 sekunder og spinna ned. Alle røyrene vart inkubert i mørket i romtemperatur i 15 minuttar. Qubit fluorometeret vart stilt inn på proteinmålingar, og ei ny kalibrering av instrumentet vart gjort. Røyrret for standar nr. 1 vart sett inn i apparatet, lokket vart

lukka og instrumentet målte fluorescensen ved 485/590nm. Det same vart gjort for standard nr. 2 og nr. 3. Deretter blei prøvene lest på same måte som standarane. Qubit fluorometer rekna direkte ut kva konsentrasjonen av plasmaprøvene var ved bruk av formelen: Konsentrasjon av prøve = QF verdi * (200/x) der QF verdien er den verdien gitt av Qubit® 2.0 fluorometer og x er antall μL av plasmaprøve i røyra.

3.5 SDS-PAGE, elektroforese

SDS-PAGE, polyakrylamid gel-elektroforese, blir brukt til separasjon av protein. Denne protokollen er basert på Laemmli artikkel (1970). Alle løysingane brukt til analysa står oppført i tabell 2.8. Først vart blandinga for gelane laga til (tabell 2.9) i falconrøyr. Blandinga vart laga til i eit avtrekkskap og med bruk av nitril hanskar. 10% APS og TEMED vart ikkje blanda oppi før gelane var klare til å bli støypt sidan det er desse kjemikaliane som gjer at gelen stivnar. Utstyret for gelstøyping vart sett ihop. Alt utstyr med kontakt til acrylamid brukast hanskar til. Glasplatene som vart brukt til støyping blei først vaska i varmt vatn og såpe og deretter skylt med dH_2O og 70% etanol. Gelstøypingskammeret vart sett ihop. Støypekammeret blei testa for lekkasje ved å fylle dH_2O oppi kammeret mellom dei to glasplatene og la det stå i omlag 10 minutt. Vatnet blei deretter tømt ut og gelen kunne støypast. APS og TEMED vart blanda oppi falconrøyr for separasjonsgel. Deretter blei gelløysinga pipetert opp i støypingskammeret med ei pastørpipette til det var omlag 2 cm igjen opp til toppen av glasplatene. dH_2O blei forsiktig fylt på toppen av gelen for å verne overflata til gelen medan den stivnar. Då gelen var stivna vart vatnet tømt av. Deretter vart APS og TEMED blanda oppi konsentrerende gel (4%) og falconrøyr og pipetert oppi støypingskammeret heilt til toppen og ein kam for å lage 15 brønner blei pressa ned i 4% gelblandinga mellom dei to glasplatene. Etter gelen var polymerisert vart den lagra med fuktig papir rundt seg i eit kjøleskap fram til elektroforese.

Leverprøvene som skulle køyrast på gelen vart først fortynna slik at alle prøvene hadde ein proteinkonsentrasjon på $4 \mu\text{g}/\mu\text{L}$. Det skulle settast på $12 \mu\text{g}$ protein i kvar brønn, i eit volum på $10 \mu\text{L}$. Det vart dermed rekna ut at ein trengde $9 \mu\text{L}$ prøve, $6 \mu\text{L}$ 5x prøvebuffer og $15 \mu\text{L}$ dH_2O ved tillaging av eit volum på $30 \mu\text{L}$. Av plasmaprøvene skulle det settast på $7 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ protein i eit volum på $10 \mu\text{L}$. Ut i frå dette vart det rekna ut kor mykje av kvar komponent som skulle brukast til å lage til ei blanding med eit volum på $12 \mu\text{L}$. Prøvene vart deretter varma i ein Thermomixer Compact ved 95 grader, i fem minutt, for å denaturere proteina før dei forsiktig blei spinna ned.

Etter dette vart utstyret for å utføre elektroforese sett saman og gelane sett oppi behaldaren som vart fylt med køyrebuffer, 1 x TGS. I den første brønnen på alle gelane vart det satt på 5 µL med ein proteinstandard (precision plus protein all blue standards) som viste molekylvekta for protein i gelen. 10 µL prøve vart deretter sett på i dei andre brønnane i ei bestemt rekkjefølgje. Etter å ha fylt alle brønnane vart spenninga sett på konstant 200V og gelane vart køyrd i omlag 45 minutt, til dei blå banda nærma seg enden av gelane. Etter dette vart det gjort western blot på gelane.

Dei ulike proteina har ulik molekylvekt og trenger difor ulik storleik i porene i gelane. Molekyl med høg molekylvekt vil ikkje gå like lett gjennom gelen som molekyl med lav vekt og det er difor viktig å tilpasse gelane etter kva protein ein er ute etter. Gelar med høg prosent er mindre porar i enn gelar med lag prosent. Sidan vi i dette studiet var på jakt etter å analysere leverprøvene for CYP1A med molekylvekt på om lag 58kDa, HSP70 som ligger på omlag 73 kDa, vtg med rundt 210 kDa og katalase med omlag 60 kDa, og plasmaprøvene for vtg, var det bruk for ulike typar gelar. Derfor vart det laga gelar på 12,5% til bruk av analyser av CYP1a, HSP70 og katalase. Og 7 % gelar til vitellogenin.

3. 6 Western blot

Ved bruk av western blotting kan ein identifisere eit bestemt protein i ein kompleks mikstur av protein. Protein miksturen blir behandla med SDS, sodium dodecyl sulfate, som er ein sterkt denaturerande detergent. Blandinga blir deretter separert ved SDS-PAGE. Proteinkomponentane blir overført til ein PVDF blottemembran ved hjelp av elektrisk straum. Her blir dei spesifikke proteina identifisert ved enzym-bunde antistoff som er spesifikke for det proteinet ein er interesserte i. Er proteinet bunde til eit enzym-bunde antistoff kan ein påvise det ved bruk av chemiluminescence (Nilsen et al., 1998b). Western blotting vil skje etter framgangsmåtane som er forklart av Nilsen et al., (1998).

Western blot, WB, vart gjort ved bruk av mini trans-blot® elektroforese overførings celle (tank system) beskrevet av Towbin et al. (Towbin et al., 1979). Løysingar og buffer brukt til western blott står beskrevet i tabell 2.10. PVDF membran vart klipt opp, omlag 9*6 cm², og kalibrert i metanol i 20 sekunder, skylt i dH₂O og lagt i towbin buffer i 15-20 minutt. Gelane etter SDS-PAGE vart tatt ut av glasplatene og lagt i transfer/towbin buffer i 10 minutt. (Eine gelen vart lagt i comassie farge for å sjå korleis overføringa av protein var før og etter WB). Kassetar blei brukt til å holde gelen og membranen saman under overføringa. Kassetten vart lagt ned i ein behaldar med buffer med den

svarte sida ned, deretter blei det lagt ein svamp oppå og to filterpapir før gelen blei lagt ned. Etter gelen vart membranen lagt oppå og deretter to nye filterpapir og til slutt ein svamp på toppen før kassetten vart lukka. Det vart passa på at det ikkje kom luftbobler mellom laga i kassetten.

Kassetten blei deretter plassert i transfer cella med svart mot svart, og tanken blei fylt med buffer. Elektroforese kan gjere at gelen og bufferen blir varn, og det vart difor brukt eit kjøleelement oppi tanken. Spenninga vart stilt inn på konstant 100V, og vart køyrd i ein time. (Gelen kan leggest i comassie farge for å samanliknast med gelen før wb for å sjå på overføringa).

Membranen vart etter dette farga med Ponceau S i omlag 5 minutt for å sjå kor jamt med protein det var sett på i brønnane. Membranen vart teke bilete av med kvitt lys ved bruk av ChemiDoc™ XRS. Etter dette blir membranen vaska i dH₂O i ein passende boks for å få vekk PonceauS fargen. Deretter Vaskast membranen i TBS-tween i 5 minutt før den blei blokka i 100mL 5% tørrmjølk i 45 minutt. Etter dette vart membranen igjen vaska i TBS-tween to gongar, i 5 minutt, og membranen vart inkubert med primærantistoff som var fortynta i 5% tørrmjølk. Membranane vart inkubert med primærantistoff i minst eit døgn på ein rister, og i 4 grader celsius. Etter inkubasjonstida vart membranane vaska i TBS-tween to gongar, i 5 minutt, før sekundærantistoffet vart sett på, også dette fortynta i 10mL 5% tørrmjølk. Pass på at sekundærantistoffet samsvarar med primærantistoffet. Membranane stod tre timar i romtemperatur å inkuberte med sekundærantistoffet før dei igjen vart vaska to gongar med TBS-tween i 5 minutt, og deretter to gongar med dH₂O i 5 minutt.

Proteina på membranen vart detekterte ved bruk av kjemiluminisens, SuperSignal® West Pico Chemiluminescent substrat. 500µL peroksid og 500 µL luminol frå west pico kitet vart blanda. Membranen vart løfta opp og rista vekk overflødig vatn før den vart lagt på brettet på ChemiDoc™ XRS maskina. Deretter vart ECL blandinga pipetert ut på heile membranen, skuffa vart lukka igjen og det vart teke bilete av membranen etter 1-20 sekunder i første omgang og etter lengre tid dersom signalet var dårlig.

3.7 Galle målingar

3.7.1 Biliverdin

Mengda av biliverdin vart målt på platelesar. Først vart galleprøvene fortynta 1:40 i 48% etanol. Deretter vart 300 µL 48% etanol sett av som blank på ei 96 grønn general mikroplate og 300 µL av

prøvene sett på i duplikat. Nokre galleprøver var for lite galle til å måle biliverdin, og i nokre var det berre nok til ei prøve og ikkje duplikat. Absorbansen av prøvene vart målt ved 660 nm på ein EnSpire platelesar.

3.7.2 PAH

Det vart målt for tre ulike PAH forbindingar i galle. Fenantrenmetabolittar med optimalt bølgjelengdepar 275/383 nm, pyrenmetabolittar med 341/383 og benzo(a)pyrenmetabolittar med 379/425. Endre Aas sitt arbeid (Aas, 1994) innan feltet, i tillegg til andre sine erfaringar (Lee and Anderson, 2005, Kreitsberg et al., 2010) vart brukt som rettleiing på måling av PAH metabolittane i denne oppgåva. Først vart galleprøvene fortynna 1:1600 i 48% etanol. Deretter vart 300 µL 48% etanol fylt oppi dei to første brønnane på ein 96 brønn general mikroplate, og 300µL av galleprøvene vart fylt opp i brønnane i duplikat. For å finne ut om fenantren- og pyrenmetabolittar er tilstades vart platelesaren stilt inn på å lese fluorescens med eksitasjonsbølgjelengde på minimum 230 og maksimum 363, medan emisjonsbølgjelengda vart stilt inn på 383. For å analysere galleprøvene for benzo(a)pyren vart platelesaren stilt på 300 på minimum eksitasjonsbølgjelengde, 405 på maks og emisjonsbølgjelengde på 425.

3.8 Katalase aktivitet

Katalaseaktiviteten vart målt i lever ved bruk av eit spektrofotometer med kinetisk måling på 240nm gjennom eit minutt. Metoden vart utført etter protokoll frå IRIS, internasjonalt forskningsinstitutt i stavanger, som bygger på metodane frå Claiborne (1985). Buffer og løysingar vart tillaga som vist i tabell 2.12. Fosfatbufferen vart delt opp i to behaldarar der den eine vart lagra på is og den andre i romtemperatur. I denne analysen bør det brukast prøver som ikkje har vert tint før sidan prøver som har vert tint fleire gongar kan påverke enzymaktiviteten. Leverprøvene vart fortynna med fosfatbufferen på is 1:10 for å få ein proteinkonsentrasjon på omlag 3mg/mL. (Det vart også testa med fortynningane 1:5 og 1:20, men konkludert med at det var 1:10 som gav det beste resultatet for analysen). Spektrofotometeret vart stilt inn på å utføre kinetiske avlesingar med 30 sekunder intervall med kontinuerlige avlesingar kvart 1 sekund. Avlesinga vart gjort ved 240nm. Først vart spektrofotometeret blankkorrigert med ei 1mL kvartskuvette med 1mL buffer i, og deretter vart ei prøve uten cytosol, 950µL buffer og 50µL H₂O₂, lest av. Denne burde ha OD rundt 1-1,5. Deretter vart prøvene lesast av. 900µL romtemperert buffer, 50µL H₂O₂ og 50µL av den fortynna prøva vart blanda oppi kuvetta, i den rekkefølga, og kuvetta vart vendt raskt tre gongar før

den vart sett inn i spektrofotometeret for avlesing. Denne prosessen må gå rimeleg fort, og vere lik for kvar måling. Kvar prøve vart laga til og målt tre gongar for å få best mogeleg resultat. Mellom kvar avlesing vart kvartskuvetta skylt med dH₂O og dunka på eit papir for å få ut vatnet i kuvetta.

3.9 Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) aktivitet

Ein vanlig måte å undersøke responsen til CYP1A isoenzym er å sjå på dens katalytiske aktivitet. Aktiviteten til ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) kan målast ved å følgje auke i fluorescens av reaksjonsproduktet resorufin. Ei auke i EROD aktivitet har blitt observert i mange arter fisk etter dei har vort utsett for forureiningsstoff. PCB og PAH-forbindingar gir stor auke i CYP1A katalytiske aktivitetar (van der Oost et al., 2003, Tuvikene, 1995). EROD aktiviteten vart målt i S12-fraksjonen frå lever etter Mayers metode (Nilsen et al., 1998a) tilpassa mikrotiterplater (Eggens and Galgani, 1992). Fosfatbuffer vart tillaga slik som vist i tabell 2.13, og pH vart justert til 7,6 etter tilvising frå Goksøyr et al. (1991). Bufferen blei lagra kjølig. Ethoxyresorufin og resorufin vart det laga stamløysingar av (tabell 2.13) som vart målt absorbans på for å determinere konsentrasjonane av løysingane. Absorbansen til dei to løysingane vart målt i tripletar på platelesar ved ei bølgjelengd på 572nm, og deretter vart konsentrasjonen rekna ut og ei arbeidsløysing med den ønska konsentrasjon på 46µM vart tillaga. Både ethoxyresorufin og resorufin er sensitive for lys og vart dermed laga til i redusert lys og lagra mørkt, på is. NADPH vart tillaga (tabell 2.13) og lagra på is. NADPH er ikkje stabilt og ny blanding må lagast kvar dag. Ei svart mikroplate vart brukt til dei neste målingane. Først vart det laga ei standardrekke i eppendorfrøyr med fem ulike resorufinkonsentrasjonar frå 0 til 0,575µM. Frå desse vart det sett på tripletar med 10µL i kvar brønn. Og 210µL fosfatbuffer. Dette gav ei standardkurve med sluttkonsentrasjonar frå 0 til 0,025µM resorufin. Deretter vart leverprøvene frå abborane fortynna 1:5, noko som gav ein konsentrasjon på rundt 4mg/mL og sett på i tripletar med 10µL prøve i kvar brønn. 200µL buffer og 10µL ethoxyresorufin vart sett til kvar av brønnane med leverprøvene. Deretter vart det sett på 10µL NADPH i kvar brønn rett før avlesing. EnSpire platelesar vart brukt til å gjere målingane. Platelesaren var på førehand stilt inn på fluorescens, med eksitasjon på 544nm og emisjon på 584nm. Plata vart stilt inn på å (gjer kinetiske målingar over tid der den vart) lesast kvart minutt i tjue minutt, med ti sekunder risting mellom avlesingane. Det vart deretter rekna aktiviteten ved hjelp av proteinkonsentrasjon og auke i fluorescens (av resorufin) per minutt. Verdiane er gitt i pmol resorufin/min/mg protein.

3.10 Metallanalyser i muskel og lever

Lever og muskelprøver for dei kjemiske analysane vart homogenisert i flytande nitrogen ved NIFES. Prøvene av muskelvev frå individuelle fiskar, og samleprøver av levervev, blei delt i to røyr, eit til metallanalyser og eit til analyse av organisk materiale (PCB og DDT).

For metall vart det vegd inn 0,2 gram frå kvart prøvemateriale til analysane. Alle målingane vart utført ved NIFES ved bruk av Agilent 7500c induktivt koplet plasma-massespektrometer (ICPMS), som beskrevet av Julshamn et al. (2007). Før sluttbestemming vart prøvene dekomponert i ultra rein salpetersyre og hydrogenperoksid og varma opp i mikrobølgeovn (Milestone-MLS-1200). Kvantitativ ICPMS vart nytta til kvantifisere følgjande metall: jern, kobbar, sink, arsen, tinn, kadmium, kvikksølv og bly. Rhodium vart nytta som intern standard for å korrigere for eventuell drift i instrumentet og gull vart brukt som stabilisator for kvikksølvbestemminga. Riktighet og presisjon i bestemmingane vart utført ved å analysere eit sertifisert referansemateriale (SRM) frå National Research Council (Ottawa, Canada; Tort-2 (hodenyre frå hummar)). Dette referansematerialet er eit av dei sertifiserte referansemateriala som er kommersielt tilgjengelig i dag. Metoden er akkreditert etter NS-EN-ISO 17025.

3.11 Analysemetodar for dei organiske miljøgiftene

3.11.1 PCB

Homogenisert prøve vart blanda med hydromatriks og tilsett ¹³C-merka internstandard for PCB7. Blandinga vart overført til ein ASE 300 og ekstrahert med heksan under forhøgja trykk og temperatur. Vidare opprensing vart gjort kromatografisk og PCB vart eluert i 50 % DCM/heksan fraksjonen. Etter opparbeidinga av prøvene vart volumet redusert ved inndamping før tilsetning av ¹³C-merka PCB7 som gjenvinningsstandarder (for kvalitetssikring/kontroll) før analyse på GCMSMS-EI. Metoden ved NIFES er akkreditert.

3.11.2 DDT

Homogenisert prøvematerialet vart tilsatt intern standard og ekstrahert med heksan ved hjelp av Accelerated Solvent Extractor (ASE 300™, Dionex, USA). Ekstraktet vart oppkonsentrert ved hjelp av nitrogen og varme (Turbovap II™ Zymark, USA) og deretter vidare opprensing ved bruk av konsentrert svovelsyre, deretter sluttbestemming på GC-MS (TRACE GC Ultra™/DSQ™)

Single Quadrupole GC/MS, Thermo Finnigan, Bremen, Tyskland) i SIM modus.

Gasskromatografen var utstyrt med ei Rtx-5ms kolonne (Restek, USA). Saman med kvar prøveserie vart det opparbeida ei kalibreringskurve som vart brukt for kvantifisering. Metoden ved NIFES er akkreditert for fiskemuskel, fôr og marine oljer.

3.12 Sedimentanalyser

3.12.1 Glødetap

Målinga for glødetap vart gjort ved geologisk institutt i Bergen. Diglar til alle prøvene vart forberedt med å stå i varmeskap. Dei vart tekne ut, avkjølte og deretter vegd. Hugs å alltid bruke hanskar for å ta borti diglane. 1,5 gram av sedimentprøvene vart vegd opp og tømt oppi digelane som igjen vart vegde. Prøvene vart deretter sett i ein omn på 105 grader celsius over natta for å få vekk all fukt før dei vart vegd ein gong til. Etter dette vart prøvene sett inn i ein omn ved 550 grader, i ein time. Ver obs på at omnen ikkje skal vere forhandsoppvarma, då kan prøvene ta fyr. Etter ein time vart omnen skrudd av og døra opna. Då temperaturen hadde gått ned til 250 grader vart prøvene teke ut og sett over i ein eksikator som vart lukka slik at ein oppnår eit vakuum. Prøvene stod i eksikatorens til dei var avkjølt og kunne vegast ein siste gong.

3.12.2 Kornfordelingsanalyser

Kornfordelingsanalysene vart gjort ved det geologisk institutt. På førehand vart sedimentprøvene tørka på 45 grader celsius i eit døgn slik at der vart 12-13 gram tørt sediment av kvar prøve. 11 gram vart så vegd opp og putta i glaskolbar med vatn og deretter sett på risting i 48 timar for å få sedimentet heilt løyst opp. Etter 48 timar med risting var det framleis klumpar i sedimentet og kolbane vart sett i sonisk bad i 10 minutt, deretter vart det tilsett ei lita mengd 10% H₂O₂ og kolbane vart sett tilbake på risting i eit døgn. Etter dette vart det tilsett 30% H₂O₂ og kolbane rista eit døgn til. Sidan sedimenta framleis klumpa seg saman vart prøvene tørka i ein omn ved 50°C i tre døgn for å få vekk meir av det organiske materialet som gjer at partiklane i sedimenta henger så godt fast i kvarandre. Det vart tilsett ca. 100mL calgon til kvar kolbe og dei vart sett på risting ved 150 RPM i eit til to døgn. Calgon løysinga var tillaga på førehand på lab på det geologiske Institutt. Silene, frå Endecotts, som vart brukt var 150µm, 125µm og 63µm. Silene vart sett oppå kvarandre der den største sila var øverst og den minste nederst. Prøvene vart helt ut oppå 150µm sila der alle klumpar og større partiklar gradvis vart bråte ned med henda og dH₂O. Etter dette sitter ein igjen med dei partiklane som er over 150µm, dei som er mellom 125 – 150 µm og dei som er mellom 63 – 125

μm på kvar si sil. I tillegg er vatnet og dei partiklane som er under $63\mu\text{m}$, som er silt og leirepartiklane, samla opp i ein kolbe under silene for vidare analyse. Når alle partiklane var separerte blei kvar størrelsesorden skylt ut av silene med dH_2O og ned i kvar sine kolbar. Desse vart deretter sett i ein omn ved ca 50°C til vatnet var fordampa. Etter at prøvene var heilt tørre vart dei vegd opp. Kornstorleiken vart samanlikna opp mot Udden-Wentworth skalaen der sedimentar under $63\mu\text{m}$ er klassifisert som silt og under $2\mu\text{m}$ er klassifisert som leirepartiklar.

3.12.3 Elementanalyser

Elementanalysene på sedimentprøvene vart gjort ved Universitetsmuseet i Bergen. Før desse analysane vart sedimenta tørka i tørkeskap på 45°C i eit døgn. Omlag 1cm_3 tørka sediment av kvar prøve vart brukt for å utføre analysane. Målingane vart gjort ved bruk av ein handhølt XRF (røntgenfluorescens-spektrometri) der sedimentprøva vart målt i 30 sekunder. Målinga skjer ved at røntgenstrålar med høg energi blir sendt inn på prøva som så vil sende ut fluorescensstråling ved ulike bølgjelengder som tilsvara eit gitt element. Bølgjelengdene blir separert ut ved vinkelavhengig refleksjon via ein krystall før den blir registrert av ein detektor.

3.12.4 PCB analyse

Sedimentprøvene vart analyserte for ΣPCB_{10} (PCB28, PCB31, PCB52, PCB101, PCB105, PCB118, PCB138, PCB153, PCB156 og PCB180) ved Havforskninginstituttet i Bergen. Det vart laga samleprøver frå kvart av vatna. Sedimenta vart tørka og deretter vart målingane gjort ved bruk av GC-MS.

3.13 Statistiske prøver

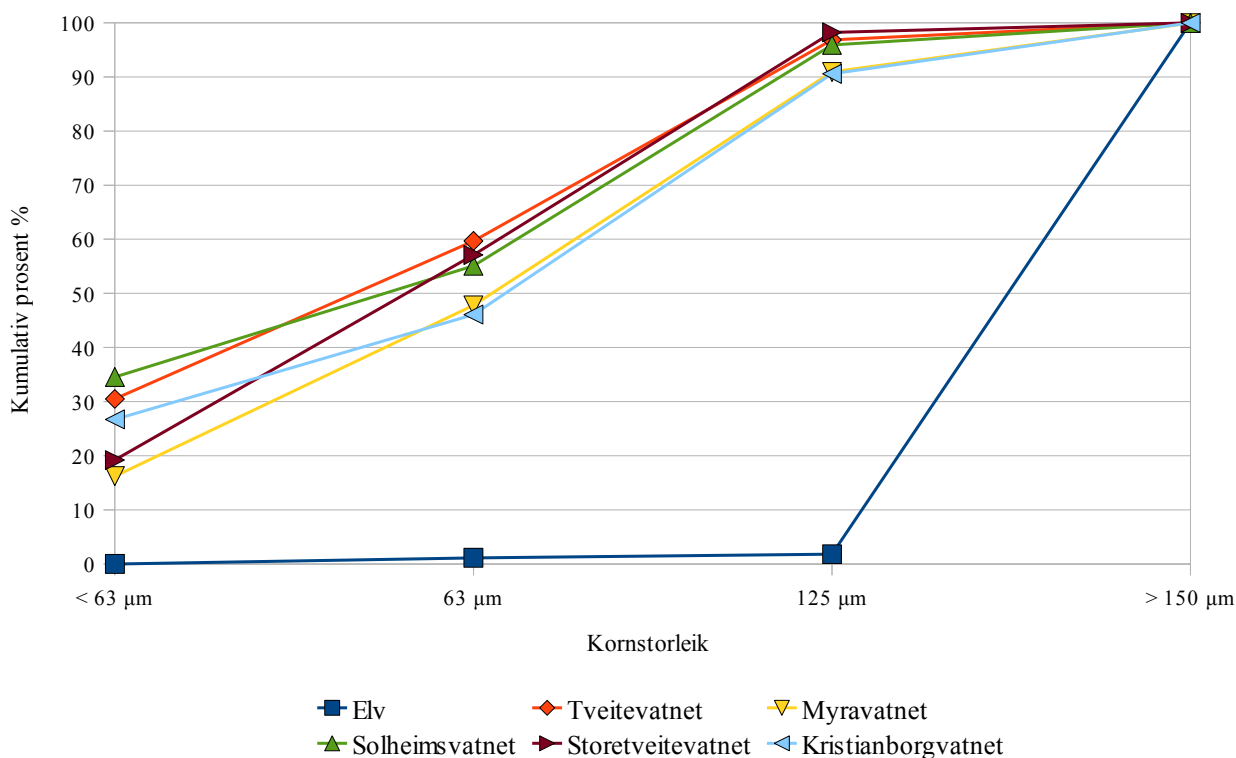
Det vart gjort ein t-test på alle resultatane det vart rekna gjennomsnittet av. T-testen hjelper til å vise om ulikskapane mellom observasjonane i vatna er statistisk signifikante eller ikkje innan eit 95% konfidensintervall (er $p < 0,05$ er ulikskapen statistisk signifikant). Til desse statistiske analysane vart programmet R brukt.

4. RESULTAT

4.1 Sedimentanalyser

4.1.1 Kornfordeling

Kornfordelingsanalysene viser at alle vatna følgjer same fordelingsmønster av kornstorleik (figur4.1) men at verdiane er noko ulike frå vatn til vatn. Unntaket var sedimentprøva som vart teke frå elva i Tveitevatnet der 98,29% av sedimentet var over 150 μm . Solheimsvatnet er det vatnet med størst prosentdel under 63 μm med 34,55%, medan Myravatnet har den minste prosenten av silt og leire med ein verdi på 16,21% som er under 63 μm . Ein tabell over verdiane frå alle stasjonane er lagt med i appendiks A.



Figur 4.1: Kumulativ framstilling av kornfordeling i sedimenta. Figuren viser dei gjennomsnittlege verdiane for kornfordeling i dei fem vatna som vart undersøkt, i tillegg til målestasjonen «Elv» som er sediment teke frå elva som munnar ut i Tveitevatnet. Det er målt kor mange prosent av sedimentet som er under 63 μm og kor mange prosent som er over 63 μm , 125 μm og 150 μm .

4.1.2 Glødetap

Glødetapet er eit mål på kor mykje organisk materiale det er i sedimenta. Eit høgt glødetap vil bety at det er mykje organisk material i sedimentprøva. Storetveitevatnet og Myrvatnet har høgst glødetap, og deretter er det Kristianborgvatnet, Tveitevatnet og Storetveitevatnet (tabell 4.1). Sedimenta i elva som munnar ut i Tveitevatnet består av store sandkorn, grus og stein, noko som resulterer i eit veldig lavt glødetap noko som samsvarar med eit lavt nivå av organisk materiale.

Tabell 4.1: *Det prosentvise glødetapet for Tveitevatnet, Myrvatnet, Solheimsvatnet, Storetveitevatnet, Kristianborgvatnet og elva som munnar ut i Tveitevatnet (TV6). Desse verdiane er eit gjennomsnitt av alle målestasjonane i kvart av vatna. Elva som munnar ut i Tveitevatnet, TV6, er ikkje teken med i gjennomsnittet for Tveitevatnet i denne figuren fordi prøva frå TV6 bestod av sand og grus og ville gitt eit feil bilete av den gjennomsnittleg verdien av glødetapet.*

Vatn	Glødetap (%)
Elv (TV6)	0,94
Tveitevatnet	24,98
Myrvatnet	35,21
Solheimsvatnet	18,84
Storetveitevatnet	39,51
Kristianborgvatnet	27

4.1.3 Elementanalyser

Elementanalysene viste at det varierte kva vatn som hadde dei høgste verdiane av dei ulike metalla, men at alle viste omlag like verdjar. Tabell 4.2 viser eit utval av dei viktigaste tungmetalla som vart målt, medan ein kan sjå verdiane for alle metalla det vart målt for i appendiks A. Sink, kobbar og bly viste alle høge verdjar i henhold til Miljødirektoratet sitt klassifikasjonssystem der alle vatna vart klassifisert med moderat eller dårlig tilstand bortsett frå tilstanden til Solheimsvatnet og Kristianborgvatnet som vart klassifisert som god for kobbar. Det vart ikkje detektert spor etter kvikksølv eller kadmium i noko av vatna. Arsen vart detektert i Tveitevatnet, Myrvatnet og Kristianborgvatnet, men berre som klasse I, bakgrunnsnivå. Solheimsvatnet var det vatnet med lågast verdi på sink, kobbar og bly, sjølv om nivået av sink og kobbar var relativt høgt også her.

Tabell 4.2: Nivået av seks utvalde tungmetall (bly (Pb), kvikksølv (Hg), kobbar (Cu), sink (Zn), kadmium (Cd) og arsen (As)) funnet i sedimentprøver frå Tveitevatnet, Myrvatnet, Solheimsvatnet, Storetveitevatnet og Krisitanborgvatnet. Målingane er gjort med handholt XRF og målingane er vist som mg/kg. LOD i tabellen står for nedre deteksjonsgrense.

Metall	Tveitevatnet (mg/kg)	Myrvatnet (mg/kg)	Solheimsvatnet (mg/kg)	Storetveitevatnet (mg/kg)	Kristianborgvatnet (mg/kg)	Elv (mg/kg)
Pb	136 ± 58	99 ± 29	85 ± 18	90 ± 37	72 ± 30	22
Hg	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Cu	137 ± 67	141 ± 35	74 ± 18	154 ± 47	80 ± 31	35
Zn	498 ± 284	747 ± 460	457 ± 147	629 ± 616	545 ± 213	125
Cd	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
As	13 ± 1	10 ± 6	<LOD	<LOD	8 ± 2	<LOD

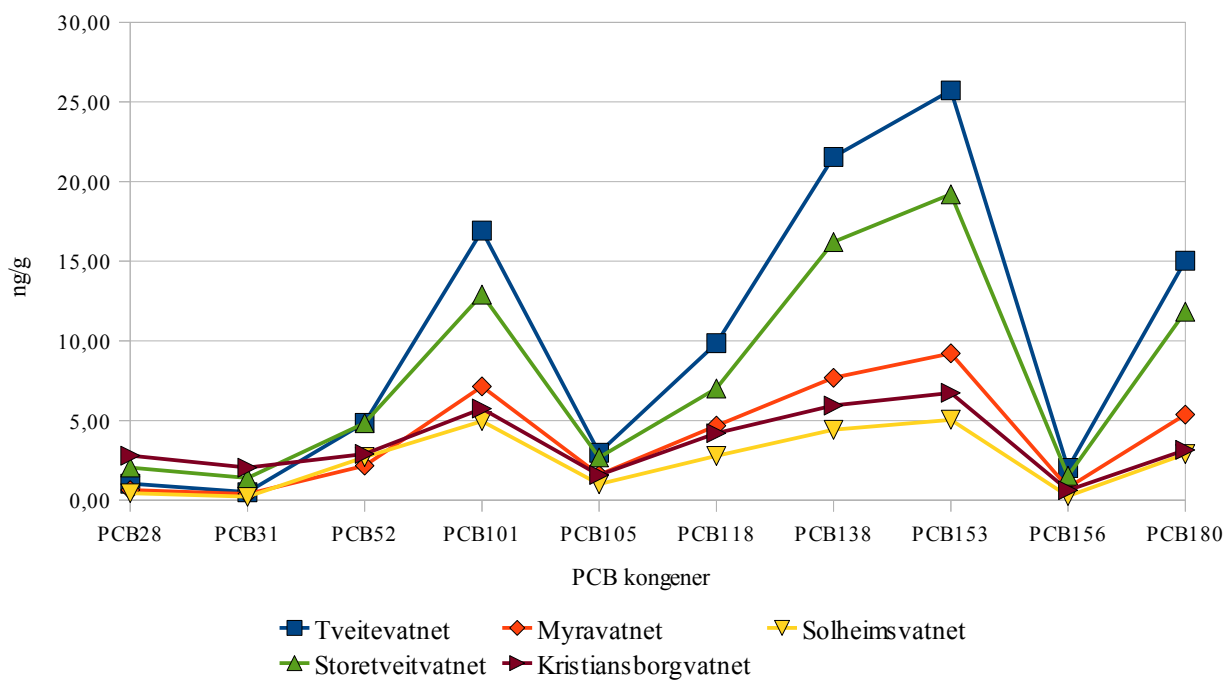
4.1.4 PCB analyser

Ti ulike PCB-kongen vart målt for å sjå kor høg konsentrasjon av PCB det var i sedimenta. Desse målingane viste at Tveitevatnet hadde den høgste verdien samanlagt med 100,5 ng/g tørt sediment der ΣPCB_7 vart målt til 95,0 ng/g (Tabell 4.3). Storetveitevatnet hadde også ein høg verdi med 79,7 ng/g tørt sediment der ΣPCB_7 74,0 ng/g. Myrvatnet som var referansevatn i denne undersøkinga hadde ΣPCB_7 verdi på 39,9 ng/g, noko som var høgare enn både Solheimsvatnet og Krisitanborgvatnet. Målingane av alle PCB kongena inkludert i figur 4.2 viser at det var mest av PCB138 og PCB153, og at desse var relativt mykje høgare i sedimentet i Tveitevatnet og Storetveitevatnet i forhold til dei tre andre vatna.

I tabell 4.4 er data frå denne oppgåva samanstillt med resultat frå tidlegare undersøkingar av Tveitevatnet og Solheimsvatnet.

Tabell 4.3: ΣPCB_{10} (PCB28, PCB31, PCB52, PCB101, PCB105, PCB118, PCB138, PCB153, PCB156, PCB180), ΣPCB_7 og ΣPCB_6 målt i sedimentprøver frå dei fem vatna. Målingane vart gjort på samleprøver av sediment frå vatna.

Vatn	Tveitevatnet	Myrvatnet	Solheimsvatnet	Storetveitevatnet	Kristianborgvatnet
ΣPCB_{10} (ng/g)	100,5	39,7	25,0	79,7	35,7
ΣPCB_7 (ng/g)	95,0	37,0	23,3	74,1	31,5
ΣPCB_6 (ng/g)	85,1	32,2	20,5	67,0	27,3



Figur 4.2: Nivået av ti ulike PCB kongener (PCB28, PCB31, PCB52, PCB101, PCB105, PCB118, PCB138, PCB153, PCB156, PCB180) som er målt frå samleprøver av sediment frå Tveitevåtnet, Myravåtnet, Solheimsvåtnet, Storetveitvåtnet og Kristiansborgvåtnet. Prøvene er målt i ng/g tørt sediment.

Tabell 4.4: Oversikt over nivået av PCB og eit utval tungmetall som vart målt i vatna i denne undersøkinga, i tillegg til data frå tidlegare målingar gjort i 1995 (Rognerud et al., 1997), 2007 (Hobæk., 2007) og 2008 (Kallqvist and Brooks, 2008). Fargekoden på cellene viser grada av forureininga i henhold til klassifiseringa sett av Miljødirektoratet/Klima- og forureiningsdirektoratet (tabell 1.1).

	Tveitevåtnet		Myravåtnet		Solheimsvåtnet	Storetveitvåtnet	Kristiansborgvåtnet		
	1995 ¹	2007 ²	2008 ³	2013 ⁴	2013 ⁴	1995 ¹	2013 ⁴	2013 ⁴	2013 ⁴
ΣPCB ₇ (ng/g)	122	101	22 - 36	95	37	22,7	23	74	32
Pb (mg/kg)	140	-	190	136 ± 58	99 ± 29	109	85 ± 18	90 ± 37	72 ± 30
Hg (mg/kg)	0,3	-	-	< LOD	< LOD	0,2	< LOD	< LOD	< LOD
Cu (mg/kg)	203	-	270	137 ± 67	141 ± 35	118	74 ± 18	154 ± 47	80 ± 31
Zn (mg/kg)	775	-	1008	498 ± 284	747 ± 460	563	457 ± 147	629 ± 616	545 ± 213

¹ NIVA

² NIVA

³ NIVA

⁴ Denne undersøkinga

4.2 Abboren sin tilstand

Abboren fanga i Tveitevatnet og Myrvatnet var i bra tilstand utan ytre sår, sopp, parasittar og sjukdommar. Dei fleste fiskane såg normale ut inni, men to-tre fiskar frå Myrvatnet og ein fisk frå Tveitevatnet hadde ein sjukdom i levra som gjorde at det var mange kvit-gjennomsiktige granulomer i levra. Etter å ha undersøkt ein av granulomane i mikroskop tyder resultatet på at det mest sannsynleg er ein parasitt i levra (men vidare analyse må utførast for å slå fast kva parasitt dette er). Abborane med denne sjukdommen vart ikkje tekne med i dei vidare analysane. Ein annan observasjon som vart gjort i feltet var at fisken i Tveitevatnet virka meir slimete enn den frå Myrvatnet. Dette kan tyde på at abboren i vatnet er utsett for miljøgifter og produserer meir slim som ein verningsmekanisme slik som til dømes laks vernar seg mot krom forureining (Arillo and Melodia, 1990). Det var også eit mykje større antal fisk i Tveitevatnet enn Myrvatnet, og fisken var generelt litt mindre i Tveitevatnet noko ein kan sjå i tabell 4.5.

4.2.1 Vekt og lengd

Fisken frå Myrvatnet var litt større enn fisken fanga i Tveitevatnet. Abboren frå Myrvatnet hadde ei gjennomsnittslengd på 21,8 cm og gjennomsnittsvekt på 123,2 gram, medan abboren frå Tveitevatnet har ei gjennomsnittslengd på 21,6 cm og gjennomsnittsvekt på 114 gram (tabell 4.5). Sjølv om måla av lengd og vekt på abbor i dei to vatna er litt ulike er ikkje denne ulikskapen statistisk signifikant.

Tabell 4.5: Tabellen viser kjønn, vekt, lengde og levervekt av fisken fanga frå Tveitevatnet og Myravatnet. I tillegg ser ein leversomatisk indeks og kondisjonsfaktoren for kvar enkelt fisk.

Vatn	Individ	Kjønn	Vekt (g)	Lengde (cm)	Levervekt (g)	LSI	Fulton (K)	
Tveitevatnet	1	♀	94	20,5	0,69	0,74	1,09	
	2	♀	103	21	0,90	0,87	1,11	
	3	♀	110	22	0,95	0,86	1,03	
	4	-	94	20,5	0,78	0,83	1,09	
	5	♀	155	24,5	0,99	0,64	1,05	
	6	♂	86	20,5	0,72	0,84	1,00	
	7	♀	80	19,5	0,56	0,70	1,08	
	8	♀	130	22,5	1,17	0,90	1,14	
	9	♀	192	25,5	1,40	0,73	1,16	
	10	♀	75	19	0,48	0,64	1,09	
	11	♀	138	22,5	0,76	0,55	1,21	
	12	♀	118	22	0,63	0,53	1,11	
	13	♀	107	21	0,77	0,72	1,16	
Myravatnet	6	-	185	24,5	1,49	0,81	1,26	
	7	-	97	20,5	0,56	0,58	1,13	
	8	♀	107	21	0,78	0,73	1,16	
	9	♀	103	21	0,59	0,57	1,11	
	10	♀	91	20,5	0,67	0,74	1,06	
	11	-	92	20,5	0,50	0,54	1,07	
	12	-	84	20	0,56	0,67	1,05	
	13	♀	138	22,5	0,71	0,51	1,21	
	14	♂	190	25	1,11	0,58	1,22	
	15	♂	97	20	1,32	1,36	1,21	
	16	♂	111	21	0,68	0,62	1,20	
	17	♂	90	20	0,84	0,94	1,13	
	18	♂	229	26,5	1,35	0,59	1,23	
	19	♀	110	21,5	0,66	0,60	1,11	
	20	-	124	22,5	0,73	0,59	1,09	
	Gjennomsnitt Tveitevatnet			114,0 ± 33,0	21,6 ± 1,9	0,83 ± 0,25	0,74 ± 0,12	1,10 ± 0,06
	Gjennomsnitt Myravatnet			123,2 ± 43,7	21,8 ± 2,0	0,84 ± 0,32	0,70 ± 0,22	1,15 ± 0,07

4.2.2 Leversomatisk indeks og kondisjonsfaktor

Abborane frå Myravatnet hadde ein gjennomsnittleg kondisjonsfaktoren på 1,15, medan abbor frå Tveitevatnet hadde ein verdi på 1,10 (tabell 4.5). Vidare er den gjennomsnittlege levervekta for abbor i Tveitevatnet og Myravatnet omtrent like med eit gjennomsnitt på henholdsvis 0,83g og 0,84g (tabell 4.5). Dette gjer at den leversomatiske indeksen til abboren i Tveitevatnet blir gjennomsnittleg litt større enn for abboren i Myravatnet med verdiar på henholdsvis 0,74 og 0,70 (tabell 4.5). Den leversomatiske indeksen viser at abboren i Tveitevatnet har større lever i forhold til kroppsstorleiken enn abboren i Myravatnet. Ingen av desse forskjellane er statistisk signifikante.

4.3 Proteinkonsentrasjon

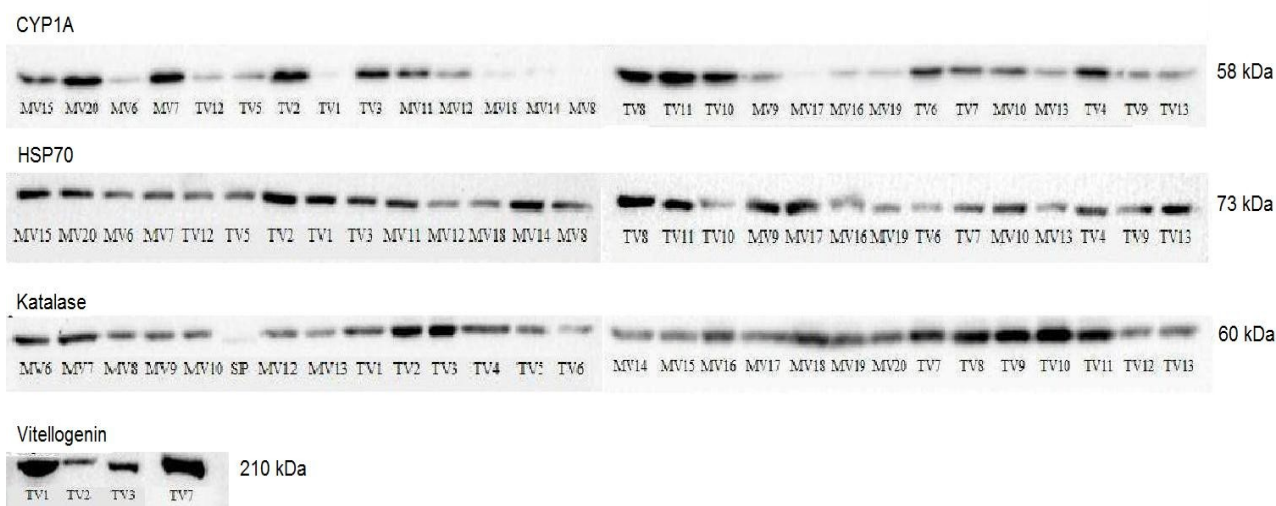
Proteinkonsentrasjonen i Tveitevatnet hadde eit gjennomsnitt på 32,6 mg/mL i lever og 4,4 mg/mL i plasma, medan proteinkonsentrasjonen for abbor i Myravatnet hadde eit gjennomsnitt på 28,6 mg/mL i levra og 6,7 mg/mL (tabell 4.6). Proteinkonsentrasjonane var ikkje statistisk signifikant forskjellige. Proteinkonsentrasjonen i plasma viser veldig stor variasjon på nokon av prøvene som vart målt, så dette gjennomsnittet av proteinkonsentrasjonen i plasma er ikkje heilt reelt. Ein fullstendig tabell av proteinmålingane er vist i appendiks B.

Tabell 4.6. Proteinkonsentrasjonen i lever og plasma etter målingar med henholdsvis Bradford og fluorescens.

Vatn	Lever(mg/mL)	Plasma (mg/mL)
Tveitevatnet	32,6 ± 7,2	4,4 ± 7,2
Myravatnet	28,6 ± 7,2	6,7 ± 8,0

4.4 Biomarkøranalyser

Ved bruk av gelelektroforese og Western blott vart det undersøkt om ein kunne detektere ei opp- eller nedregulering av spesifikke protein i abboren. Det vart brukt antistoffa CYP1A, HSP70, vitellogenin og katalase for å teste for desse biomarkørane. Det vart gjort kvantitative utrekningar av intensiteten på banda der ein brukte relativ kvantifisering for å samanlikne intensiteten for abbor i Tveitevatnet i forhold til abbor i Myravatnet. Det vart også gjort kvantifisering av proteinmengda i kvar brønn ved bruk av Ponceau S. Dette vart gjort for å fastslå om det vart sett på lik mengd protein i kvar brønn slik at uttrykkinga ein ser for kvart av individa på westernblotta kan samanliknast med kvarandre utan at ulik proteinkonsentrasjon skal verke inn på grada av uttrykking som er vist.



Figur 4.3: Western blott analysert med mus anti-fisk CYP1A, mus anti-HSP70, kanin anti-katalase og mus anti-striped bass vitellogenin. Sekundærantistoff for membranane med CYP1A, HSP70 og vitellogenin var geit anti-mus, medan sekundærantistoffet katalase var geit anti-kanin. Prøvene er frå levervevet (12S-fraksjonen) til abbor med unntak av vitellogenin der prøvene er frå plasma. MV står for abbor fanga i Myrvatnet og TV står for abbor fanga i Tveitevatnet, medan tala bak MV og TV spesifiserer kva individ prøva er frå.. Ein positiv kontroll, ei samleprøve frå torsk, på blottet for katalase er merkt med SP. Proteina på membranane vart detekterte ved bruk av kjemiluminisens.

Tabell 4.7: Tabellen viser ei samanslåing av resultatane frå den relative kvantifiseringa av western blotta i tillegg til å vise aktivitetmålingane for katalase og måling av EROD (CYP1A aktivitet). Målingane er gjort på levervev frå abbor, med unntak av vitellogenin-målingane som vart gjort på plasma. For utrekning av den relative kvantifisering til CYP1A, HSP70 og katalase vart MV6 (vist i figur 4.3) brukt som utgangspunkt for utrekningane der ein satt $MV6=1$. For vitellogenin vart TV3 (vist i figur 4.3) brukt som utgangspunkt for den relative kvantifiseringa.. Dei statistisk signifikante målingane er merkt med gult. For EROD målingane vart ikkje verdiar som låg utanfor standardkurva tekne med sidan ein ikkje kan stole på desse tala. (det var tre verdiar frå Myrvatnet og to verdiar frå Tveitevatnet som låg utanfor, frå målingane i Myrvatnet var to over standardkurva og ei under, og frå TV var begge under konsentrasjonen i standardkurva).

Analyse	Tveitevatnet	Myrvatnet
Relativ kvantifisering CYP1A	4,17 ± 2,7	2,41 ± 2,6
EROD (pmol/mg protein/min)	2,63 ± 2,0	3,58 ± 2,9
Relativ kvantifisering HSP70	1,32 ± 0,8	1,23 ± 0,6
Relativ kvantifisering katalase	1,29 ± 0,6	0,86 ± 0,3
Katalase aktivitet	0,54 ± 0,3	1,03 ± 0,2
Relativ kvantifisering vitellogenin	4,21 ± 4,1	-

4.4.1 CYP1A

WB gjort med mus anti-fisk CYP1A viser band på om lag 58 kDa som er den forventede molekylvekt for dette proteinet. Blottet påviser at CYP1A er tilstades i alle prøvene med unntak av MV8 (individ nummer åtte frå Myrvatnet). Men for å vertifisere signala frå westernblotta har alle antistoffa vert blotta for to eller fleire gongar, og desse har vist signal for MV8 òg. Frå figuren 4.3 ser ein at det er ulik intensitet på banda, og etter relativ kvantifisering viser det at intensiteten i uttrykkinga er størst i abbor frå Tveitevatnet i forhold til abbor frå Myrvatnet (tabell 4.7). Ved bruk av student t-test finner ein at denne forskjellen i intensitet ikkje er statistisk signifikant ($p=0.08$).

4.4.2 EROD

Resultatet frå EROD analysane viser at Myrvatnet hadde ein høgre aktivitet enn Tveitevatnet med ein verdi på 3,58 i forhold til 2,63 pmol/mg protein/min i Tveitevatnet (Tabell 4.7), men at denne skilnaden ikkje var statistisk signifikant.

4.4.3 HSP70

Mus anti-hetesjokk protein 70 viste eit band ved omlag 73 kDa som er den forventede molekylvekt for dette proteinet. Det vart detektert band rundt denne molekylvekt for alle individa frå Tveitevatnet og Myrvatnet (figur 4.3). Intensiteten av banda variera noko og ved relativ kvantifisering har Tveitevatnet ein litt høgre verdi enn Myrvatnet (tabell 4.7), men denne ulikskapen er ikkje statistisk signifikant.

4.4.4 Vtg

Vitellogenin vart målt i både lever og plasma frå abbor ved western blot, men det vart ikkje detektert noko band på membranane med prøver frå lever. For plasmaprøvene vart det detektert eit band ved den forventede molekylvekt på vitellogenin, ved omlag 210 kDa. Det vart detekterte band for fire individ, alle frå Tveitevatnet (figur 4.3) der spesielt to av banda (TV1 og TV7) var veldig intense. Ved den relative kvantifiseringa vart verdien for Myrvatnet sett til null sidan det ikkje var nokre band frå desse individa (tabell 4.7), men skilnaden er ikkje statistisk signifikant fordi det er eit høgt standardavvik på målingane av abbor frå Tveitevatnet. Alle prøvene som viser band i denne analyse er kjønnsmoden hofisk (men mange av prøvene som ikkje viser band er også kjønnsmoden hofisk) der det er

forventa å detektere vitellogenin. Dermed kan ein ikkje fastsetje at desse banda påviser forureining og hormonforstyrning i abboren frå Tveitevatnet.

4.4.5 Katalase

Kanin anti-katalase som antistoff gav band på omlag 60kDa som er den forventa molekylvekta for katalase. Det vart detektert band ved denne molekylvekta på alle individprøvene (figur 4.3). Den relative kvantifiseringa viser at det er ein forskjell på intensiteten av uttrykkinga av katalase i abbor frå Tveitevatnet og Myravatnet (tabell 4.7) der Tveitevatnet viser ein høgare intensitet av banda, og ein t-test bekreftar at denne forskjellen er statistisk signifikant ($p=0,035$).

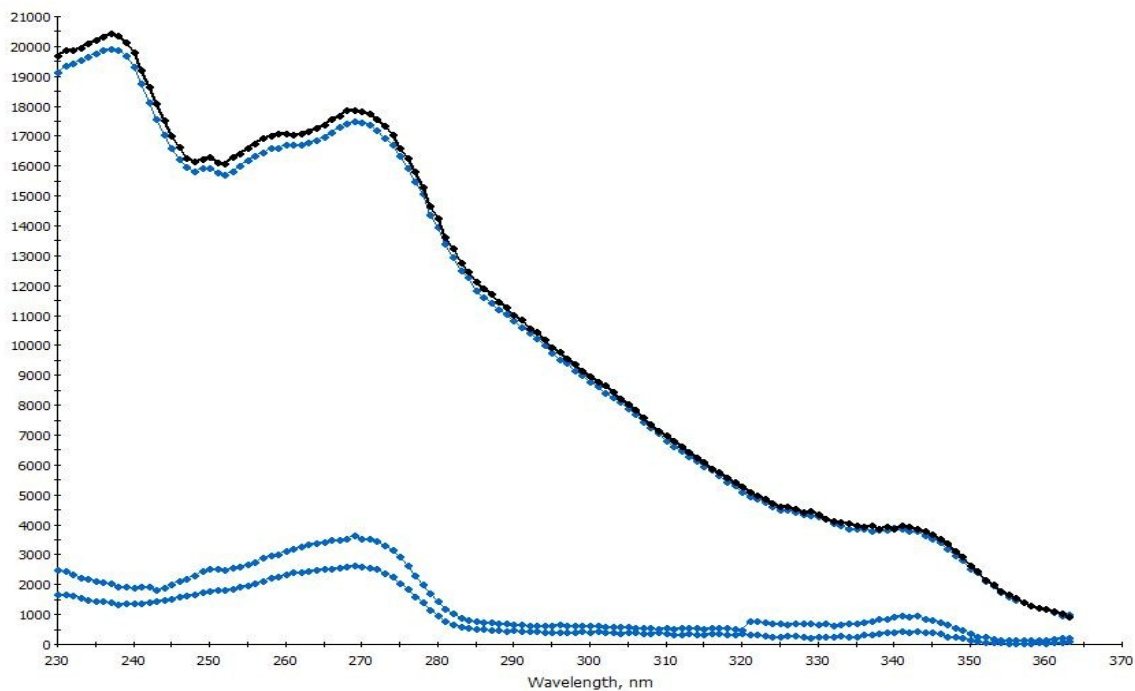
4.4.6 Katalaseaktivitet

Katalaseaktiviteten viser ein statistisk signifikant forskjell ($p=0,00002$) mellom vatna der Myravatnet har ein dobbel så stor aktivitet som Tveitevatnet (Tabell 4.7)

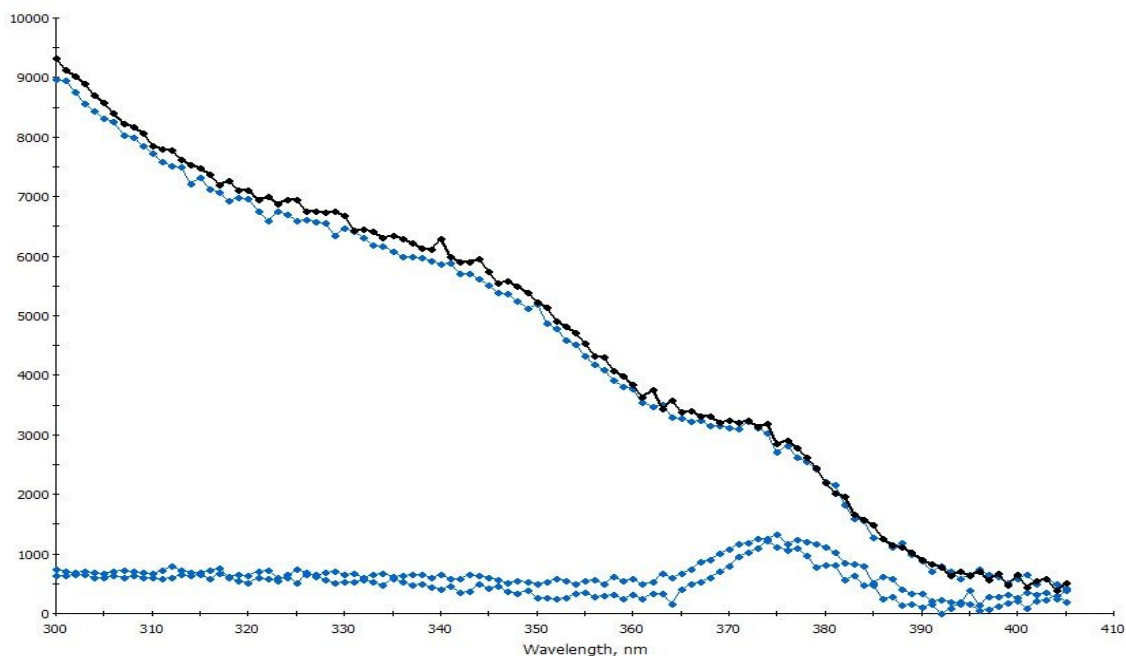
4.5 Galleprøver

4.5.1 Polyaromatiske hydrokarbon

Målingane av PAH-metabolittar i galle viser at det er PAH-metabolittar (benzo(a)pyren, pyren og fenantren) tilstades i galleprøvene. Det er ulike optimale bølgjelengdepar for måling av PAH-metabolittar, og figur 4.4 og 4.5 viser at det er toppar rundt dei optimuma ein er ute etter for dei tre metabolittane det er testa for der PAH-forbindingar som fluorescerar ved eksitasjon/emisjon på 275/383 nm blir kalla fenantrenmetabolittar, ved 341/383 blir kalla pyrenmetabolittar og ved 379/425 blir kalla benzo(a)pyrenmetabolittar. Vidare viser tabell 4.8 verdiane av fluorescens målingane. Desse verdiane viste ikkje statistisk signifikante skilnader mellom Tveitevatnet og Myravatnet.



Figur 4.4: Fluorescens eksitasjonsscan med avlesingar frå minimum bølgjelengde 230 og maksimum bølgjelengde 363 for eksitasjon, med 383 som emisjonsbølgjelengde. Innan intervallet frå 230-263 nm viser grafen toppar for eksitasjonsbølgjelengde rundt 275 og 341 som viser til henholdsvis fenantrenmetabolittar og pyrenmetabolittar som har optimalt bølgjelengdepar på 275/383 nm og 341/383 nm. Eksitasjonsscanen vart gjort i duplikat og viser resultatet av måling av galle frå abbor nr 9 frå Tveitevatnet (TV9) fortynna 1:1600 øverst på grafen, og måling av 48% etanol til blankkorreksjon nederst.



Figur 4.5: Fluorescens eksitasjonsscan med avlesingar frå minimum bølgjelengde 300 og maksimum bølgjelengde 405 for eksitasjon, med 425 som emisjonsbølgjelengde. Innan scanningintervallet på 300-405 nm viser grafen ein topp for eksitasjonsbølgjelengde rundt 379 viser til benzo(a)pyrenmetabolittar som har optimalt bølgjelengdepar på 379/425. Eksitasjonsscannet vart gjort i duplikat og viser resultatet av måling av galle frå abbor nr 9 frå Tveitevatnet (TV9) fortynna 1:1600 øverst på grafen, og måling av 48% etanol til blankkorreksjon nederst.

Tabell 4.8: PAH-metabolittane, fenantren, pyren og benzo(a)pyren, målt i galle. Tabellen viser gjennomsnittet frå målingane av galle frå abbor frå Tveitevatnet og Myrvatnet, Samt standardavviket for målingane.

PAH-metabolitt	Tveitevatnet	Myrvatnet
Fenantren	13813 ± 7850	9412 ± 4000
Pyren	2029 ± 1011	2375 ± 936
Benzo(a)pyren	222 ± 62	295 ± 217

4.5.2 Biliverdin

Biliverdin som er eit mål på galletettleik vart målt, men viste ingen statistisk signifikant forskjell mellom abbor frå dei to vatna (tabell 4.9)

Tabell 4.9: Absorbansen til galleprøvene ved 660 nm. Denne målinga viser nivået av biliverdin i galleprøvene.

Vatn	Absorbans (660 nm)
Tveitevatnet	0,008 ± 0,004
Myrvatnet	0,011 ± 0,006

4.6 Vevsanalyser på abbor

4.6.1 Analyse av PCB og DDT i muskelvev og levervev

Σ PCB₆ er eit samleomgrep på målingar av dei seks PCB kongena (PCB28, PCB52, PCB101, PCB138, PCB153 og PCB180) som utgjer 40-60% av total mengd ikkje dioksin liknande

PCB-er i matvarer (EC, 2001). ΣPCB_7 er summen av dei same PCB-ane som i ΣPCB_6 i tillegg til PCB118 som er ein dioksinliknande PCB. Målingane gjort her viser at abbor frå Myrvatnet har ein høgare verdi av PCB i muskelvevet og levervevet enn abbor frå Tveitevatnet (tabell 4.10), men denne forskjellen er ikkje statistisk signifikant. ΣDDT viser derimot ein statistisk signifikant forskjell mellom abbor i Myrvatnet og Tveitevatnet, med høgst verdi i Myrvatnet for både muskel og lever analysane der DDT i levervevet hos abbor frå Tveitevatnet var for lav til å detekterast. Målingane av DDT i lever på abbor frå Myrvatnet viste berre førekomst av DDE metabolitten. Målingane av PCB og DDT i vevet og i lever viser i tillegg at det er ein høgare konsentrasjonen av desse miljøgiftene i levera enn i muskelvevet på abboren, med unntak av DDT analysane på abbor frå Tveitevatnet.

Tabell 4.10: ΣPCB_6 , ΣPCB_7 og ΣDDT målt i muskelvevet og levervevet til abbor frå Tveitevatnet og Myrvatnet. Tabellen viser gjennomsnittet for alle individa frå begge vatna. Verdiane er oppgitt i ng/g.

Vatn	Vev	$\Sigma\text{PCB 6}$ (ng/g)	$\Sigma\text{PCB 7}$ (ng/g)	ΣDDT (ng/g)
Tveitevatnet	Muskel	2,4 ± 1,1	2,6 ± 1,1	0,4 ± 0,1
Myrvatnet	Muskel	2,5 ± 1,3	2,9 ± 1,5	0,7 ± 0,3
EU øvre grenseverdi	Muskel	125		
Tveitevatnet	Lever	47,9 ± 11,5	51,4 ± 12,5	<LOD
Myrvatnet	Lever	50,7 ± 50,9	62,3 ± 64,3	7,7 ± 3,1
EU øvre grenseverdi	Lever	200		

4.6.2 Metallanalyse av vev

Metallanalysene gjort på muskelvev og levervev viste at det var mest sink og jern tilstades i vevet på abboren. Resten av metalla det vart målt for finner ein i små mengder i både muskelvevet og levervevet til abboren frå dei to vatna, der dei viktigaste for undersøking av matvaretryggleik er vist i tabell 4.11 nedanfor. Ein fullstendig tabell over alle dei målte metalla i muskel- og levervevet til abboren i denne oppgåva er vist i appendiks B.

Metallanalysene for muskel- og levervev viste ingen store skilnader mellom abbor frå Tveitevatnet og abbor frå Myrvatnet. Til likhet med analysane av PCB og DDT i muskelvev og levervev ser ein eit høgare nivå av metall for omlag samtlige prøver gjort på levervev i henhold til muskelvev.

Tabell 4.11: Metallanalyser av muskelvev og levervev i abbor frå Tveitevatnet og Myrvatnet. Verdiane er oppgitt i mg/kg våtvekt. Tabellen viser også dei øvre grenseverdiane for matfisk som er sett av EU.

Vatn	Vev	Pb (mg/kg)	Hg (mg/kg)	Cd (mg/kg)
Tveitevatnet	Muskel	0,01 ± 0,0	0,11 ± 0,0	<0,001
Myrvatnet	Muskel	0,01 ± 0,0	0,13 ± 0,0	<0,001
EU øvre grenseverdi	Muskel	0,30	0,50	0,05
Tveitevatnet	Lever	0,81 ± 0,8	0,12 ± 0,0	0,42 ± 0,1
Myrvatnet	Lever	1,16 ± 0,7	0,09 ± 0,0	0,41 ± 0,0

I tabell 4.12 er data av målingar i muskelvevet til abbor i denne undersøkinga samanstillt med resultat frå tidlegare undersøkingar av Tveitevatnet. Medan tabell 4.13 viser data av levervevet frå abbor teke i denne undersøkinga til samanlikning med tidligare undersøkingar i Tveitevatnet og Årungen, som er eit vatn i Akershus.

Tabell 4.12: Målingar av PCB, DDT og eit utval metall i muskelvevet på abbor frå Tveitevatnet og Myrvatnet, samt tidligare målingar gjort på ørret, gjedde og abbor i Tveitevatnet (Naturvernforbundet, 1998, NIFES, 2009) .

	Tveitevatnet, 1998		Tveitevatnet, 2008		Tveitevatnet	Myrvatnet
	Ørret	Gjedde	Gjedde	Abbor	Abbor	Abbor
ΣPCB ₇ (ng/g)	135,8 ± 33,3	7			2,60 ± 1,1	2,88 ± 1,5
ΣDDT (ng/g)	23,3 ± 4,6	1			0,35 ± 0,1	0,71 ± 0,3
Hg (mg/kg)	0,11	0,24	0,07 ± 0,0	0,11 ± 0,0	0,11 ± 0,0	0,13 ± 0,0
Pb (mg/kg)	<0,03	<0,03	0,01	0,02	0,01 ± 0,0	0,01 ± 0,0
Cd (mg/kg)	<0,01	<0,01	0,003	0,002	<0,001	<0,001

Tabell 4.13: Samanlikning av PCB og DDT funnet i levervev til abbor (gjedde og ørret) ved ulike undersøkingar. Tidligare målingar frå Tveitevatnet frå 1998 (Naturvernforbundet, 1998) og 2008 (NIFES, 2009), samt målingane gjort i denne undersøkinga av abbor frå Tveitevatnet og Myrvatnet i tillegg til data frå Årungen (Sharma et al., 2009)

	Tveitevatnet, 1998		Tveitevatnet, 2008		Tveitevatnet	Myrvatnet	Årungen
	Ørret	Gjedde	Gjedde	Abbor	Abbor	Abbor	Abbor
ΣPCB ₇ (ng/g)	104	307	173 ± 73	64 ± 52	51,40 ± 12,5	62,30 ± 64,3	24,91 ± 20,1
ΣDDT (ng/g)	17	47			0,00 ± 0,0	7,70 ± 3,1	42,35 ± 39,2

5. DISKUSJON

Formålet med denne masteroppgåva har vert å undersøkje om abbor frå Tveitevatnet har blitt påverka av miljøgiftene i vatnet, og å sjå korleis tilstanden til vatnet er med tanke på miljøgifter i sedimenta. Dei delmåla som vart sett var: 1. Å undersøkje kva effekt PCB og andre miljøgifter i Tveitevatnet har hatt på abboren si helse, ved bruk av biomarkørar, og mattryggleiken ved å sjå på nivåa av miljøgifter i filet. 2. Kartleggje nivåa av miljøgifter i sedimentprøver frå Tveitevatnet, og sjå om nivået av PCB og tungmetall har endra seg frå tidligare målingar. 3. Sjå om sedimentet frå Solheimsvatnet, Storetveitvatnet og Kristianborgvatnet er påverka av dei same miljøgiftene som Tveitevatnet er påverka av.

Ei slik miljøundersøking som dette med innsamling av sediment og biota, der miljøkjemiske analyser blir samanlikna med biomarkørdata og miljøgifter funnet i organismen er veldig vanlig å utføre for å undersøke om fisk (eller andre organismar) er eksponert og påverka av miljøgifter, og det finst mange studie av denne typen (Beyer et al., 1996, Richard et al., 1997, Fu and Wu, 2006, Okay et al., 2009, Hansson et al., 2006b, Linderoth et al., 2006). I slike studie blir det ofte teke prøver frå fleire ulike stasjonar i eit område, dette kan til dømes omfatte prøvestasjonar oppover ei elv, innover ein fjord eller i ulike vatn, for å sjå på miljøgiftene sin gradient i området, og deretter samanlikne desse dataa med prøver teke frå biota ved dei same stasjonane. Prøvene av biota kan bli teke av villfisk (eller andre organismar) som har eit stasjonært levesett, men det kan òg bli utført burforsøk (Oikari, 2006) der fisk blir fanga og sett i bur i området ein vil undersøke, eller der fisk som ikkje har vert utsett for forureining blir sett ut i forureina vatn (Beyer et al., 1996). Ved slike tilfelle er det viktig å skilje mellom fisk som har levd lenge i forureina miljø i forhold til fisk som blir sett ut i forureina vatn. Dette er viktig sidan det ved fleire undersøkingar (Forlin and Norrgren, 1998, Hylland, 2006, Nacci et al., 2002, Wirgin and Waldman, 2004) har blitt slått fast at fisk som er vand til å leve i forureina miljø har tilpassa seg leveforholda og vil ikkje gi like store utslag på analyser av effekt av miljøgifter som «rein» fisk som bli sett ut i forureina vatn gir. Ved å utføre denne typen miljøundersøking kan ein sjå kor forureininga mest sannsynleg kjem frå i tillegg til å undersøke om analysane teke av biota samsvarar med dei kjemiske analysane gjort på sedimentprøvene.

I diskusjonen vil det bli lagt vekt på å relatere mine funn med funn som har blitt gjort i andre

undersøkingar av abbor, både i Noreg og andre land. Det vil bli sett på faktorar som kan seie noko om fiskehelsa til abboren i både Tveitevatnet og Myravatnet, i tillegg til å sjå på verdiane som har blitt målt av miljøgifter i abbor samanlikna med EU sine øvre grenseverdiane av det som er tillate for matfisk for å sjå på mattryggleiken i fisk frå Tveitevatnet. Vidare blir det også diskutert, og klassifisert, kor mykje miljøgifter vatna i bergsdalen er utsett for, og om desse verdiane blir gjenspegla i funna gjort i abbor.

5.1 Prøvematerialet

Å utføre ei sjølvstendig miljøundersøking kan vere krevjande med tanke på innsamling av prøvemateriale sidan ein ikkje veit på førehand kva for eit prøvemateriale ein vil få tak i. Når ein har eit avgrensa tidsrom for innsamling av materiale kan det vere usikkert kor mange individ ein får teke prøver av og til dømes kva kjønn det er på fisken og storleiken på individa.

5.1.1 Prøvetaking av sediment

Det vart teke 4-5 sedimentprøver frå kvart av vatna der prøvestasjonane var spreidd rundt i vatna. Dette antal sedimentprøver vart vurdert som eit tilstrekkelig prøvemateriale for å få eit oversiktsbilete på den gjennomsnittlige mengda PCB og tungmetall i vatna. Likevel kan ei slik prøvetaking ha sine avgrensingar sidan ein med eit avgrensa utval prøvestasjonar ikkje kan vite om desse prøvestasjonane har ein mykje høgare eller lågare verdi enn det som generelt er til stades i sedimentet i resten av vatnet, og dermed påverke gjennomsnittet for vatnet. Dette gjelder spesielt dersom ein tek samleprøver for sedimentet, slik som det vart gjort for PCB-målinga, og ein ikkje kan sjå skilnaden frå stasjon til stasjon. For å få eit meir representativt resultat på gjennomsnittsmålingane, dersom ein utfører analyser av samleprøver, må ein ta eit større antal prøver. På grunn av uvisse rundt målingar av samleprøver vil ein helst unngå å bruke denne metoden dersom ein har anledning til å måle enkeltprøver. Samtidig vil dei prøvene som vart teke i samband med denne oppgåva vere tilstrekkelige for å sjå på ein overleggjande trend for PCB i vatna. I tillegg vil ein kunne sjå om der er markante ulikskapar mellom stasjonane på målingar av tungmetall i tillegg til kornfordeling og glødetap-analysane (appendiks A) og dermed få eit inntrykk om stasjonane er like eller ikkje.

5.1.2 Prøvetaking av abbor

Abbor var valt til denne undersøkinga, noko som viste seg å vere eit godt val med tanke på fangst av fisken sidan det omlag berre vart observert og fanga abbor i både Tveitevatnet og Myravatnet. Det var òg fanga tilstrekkelig med fisk frå begge vatna, og særleg i Tveitevatnet vart det fanga mange fisk. Men grunna eit avgrensa tidsrom for innsamling vart det ikkje anledning til å ta prøver av alle abboren som vart fanga, noko som hadde vert ønskelig. I etterkant kan ein tenke seg at det hadde vert lurt å hatt med ein ekstra hjelpar i felten for å kunne teke prøver av fleire av fiskane og dermed oppnådd eit meir statistisk holdbart resultat frå analysane, der eit antal på tjue abbor frå kvart vatn hadde vert ønskelig.

Det kan vere fleire faktorar som spelar inn på det innsamla prøvematerialet som til dømes kjønn, storleik, individuelle skilnadar og tilfeldighet. Vel ein å utføre eit kontrollert eksponeringsforsøk eller utsetjing i bur (Oikari, 2006) vil ein kunne eliminere litt av tilfeldigheten rundt nokre av desse faktorane, og dette kunne vert passande dersom målet var å utelukkande sjå kva effekt spesifikke konsentrasjonar av bestemte miljøgifter har på abboren. Men når målet er som i denne oppgåva, å undersøke fisk i sitt naturlege element, og undersøke påverkinga av å leve i desse vatna vil prøvematerialet som vart samla inn til denne undersøkinga vere godt for å undersøke dei reelle forholda i vatna sjølv om ein ikkje kan vere sikker på om ein har teke prøver av abbor som er meir eller mindre utsatt for miljøgifter enn gjennomsnittet av fiskane i vatnet. Det er også denne tilfeldigheten som gjer at ein vil ha prøver av flest moglege individ for å gjere variasjonen mindre og få ein representativt utval prøver å utføre analyser på. Denne tilfeldigheten ved innsamling gav oss ei ujamn kjønnsfordeling for den innsamla fisken, der flest var hoer. I Tveitevatnet vart det berre teke prøver av ein hann. Ved eit større prøvematerial vil denne tilfeldigheten bli mindre. Det er også moglege at kjønnsfordelinga i vatnet er ujamn, men dette trenger ein eit større prøvematerial til for å kunne stadfeste.

5.2 Sedimentanalyser

5.2.1 Kornfordeling og glødetap

Miljøgifter er hovudsaklig knytt til små partiklar, som silt og leire som er under 0,2 μm , og til organisk materiale. Derfor vil både kornfordeling og glødetap vere parameter som spelar inn og kan vere med og forklare nivåa av PCB og metall funnet i sedimentprøvene. Sediment med ein høg prosentandel små partiklar vil ha eit større overflateareal til binding med metall og organiske miljøgifter og ein vil difor finne høgare konsentrasjon av desse miljøgiftene i småkorna sediment enn ein vil gjere i sediment som består av større partiklar (Zonta et al., 1994, Trefry et al., 2014). Det same gjelder innhald av organisk materiale der sediment med ein høg del organisk materiale vil ha eit høgare nivå av miljøgifter knytt til seg.

Sedimenta i denne undersøkinga viser at alle vatna hadde ein tilnærma lik profil for kornfordeling, noko som gjer at ein kan samanlikne resultatata frå PCB og metallanalysane frå dei ulike vatna utan at kornfordelinga skal spele tydelig inn på skilnadar i resultatet. Glødetapet viste at alle vatna hadde eit høgt innhald av organisk materiale og vil dermed lettare kunne binde seg til metall og PCB i vatnet. Det var ikkje statistisk signifikante skilnader på glødetapet til dei ulike vatna noko som gjer at vatna er samanliknbare for metall og PCB målingane.

5.2.2 PCB i sediment

PCB nivåa i sedimenta i Tveitevatnet, Myrvatnet, Solheimsvatnet, Storetveitevatnet og Kristianborgvatnet viste at alle vatna låg innanfor grensene på kva som blir klassifisert som moderat forureining av PCB av Miljødirektoratet (tidlegare Klima- og forurensningsdirektoratet (Klif, 2012) med verdiar som varierte frå 94 ng/g i Tveitevatnet, som hadde den høgste verdien, til 23 ng/g i Solheimsvatnet, som hadde det lågaste nivået av ΣPCB_7 . Den høge verdien i Tveitevatnet var forventa ut i frå bakgrunnen for vatnet. Dei tidligare målingane gjort i Tveitevatnet viste i 2008 ein verdi på 22-36 ng/g (Kallqvist and Brooks, 2008), medan det året før, i 2007, vart målt eit gjennomsnitt på 101ng/g (Hobæk., 2007). Ut i frå målingane gjort i 2008 av NIVA (Kallqvist and Brooks, 2008) er innhaldet av PCB høgare i dag, men alle målingane frå 2007, 2008 og denne undersøkinga viser PCB-verdiar som er innan området som klassifiserast som middels forureining (tabell 5.1), og kan gi toksisk effekt ved langtidseksponering. Ein kan òg sjå at samansettinga av PCB-kongen i

sedimenta frå denne målinga samsvarar med profilen av PCBer målt av Hobæk i 2007.

Samanlikna med miljøundersøking i Sørfjorden i Noreg, som også er rekna som eit forureina område, vart summen av 13 PCB-kongen målt til å vere frå 6-18 ng/g tørrvekt sediment (Beyer et al., 1996) noko som er lågare enn samtlige av vatna i denne undersøkinga. Frå den same undersøkinga vart summen av dei 13 PCB-kongena målt til 0,77 ng/g for referansevatnet, noko som er mykje lågare enn det som vart målt i referansevatnet i denne undersøkinga (Σ PCB7: 37 ng/g). Dette viser at PCB-forureininga i vatna i Bergensdalen er relativt høg til samanlikning med andre vatn som også blir karakterisert som forureina. Frå ei regional undersøking av miljøgifter i innsjøsediment i 1997 (Rognerud et al., 1997) viste Tveitevatnet høgst verdi av til saman 69 innsjøar med ein verdi på 122 ng/g for Σ PCB7, noko som var tre gongar så høgt som innsjøen med nest høgst innhald av PCB. Desse dataa viser den store påverknaden Tveitevatnet har hatt av PCB-forureining i forhold til andre vatn i Noreg, men samtidig ser ein ein litt lågare konsentrasjon av PCB i Tveitevatnet i 2014 samanlikna med den regionale undersøkinga i 1997.

5.2.3 Metall i sediment

Det vart målt høge verdier av ei rekke metall frå mange av vatna undersøkt i dette studiet. Resultata blei samanlikna med klassifiseringssystemet utarbeida av klima og forureiningsdirektoratet (Klif, 2012) og tidligare målte verdier for Cd, Cu, Pb og Zn i Tveitevatnet (Rognerud et al., 1997, Kallqvist and Brooks, 2008) og Solheimsvatnet (Rognerud et al., 1997) (tabell 4.4). Kobbar viste dei mest varierte målingane av alle metallane der verdiane varierte frå å vere gode i Solheimsvatnet og Kristianborgvatnet, dårlig i Tveitevatnet og Myravatnet, og veldig dårlig i Storetveitvatnet. Nivået av kobbar har gått ned etter førre måling i Tveitevatnet i 2008, og ligg i 2014 under klassifiseringa dårlig i staden for veldig dårlig. For sink er alle vatna klassifisert som veldig dårlig, noko som kan gi akutt toksisk effekt (Klif, 2012). Sjølv om sink ligg innan same forureiningsklasse for Tveitevatnet i 2014 som det var i 2008 kan det sjå ut som ein liten nedgang i innhaldet av sink i sedimenta ut i frå målingane gjort i denne undersøkinga. Bly viste moderat forureining for alle vatna, og har endra seg lite frå 2008 til 2014 i Tveitevatnet. Nivåa av kvikksølv var for lavt til å detekterast i alle vatna og blir difor klassifisert som bakgrunnsdata.

5.3 Abbor

5.3.1 Fysiologiske parameter

Abbor fanga i Myrvatnet var litt større enn abbor i Tveitevatnet, sjølv om denne skilnaden ikkje var statistisk signifikant. Storleik på fisk er positivt korrelert med alder på fisk, noko som kan vere med å indikere at alderen på fisken er noko ulik for dei to vatna. Alder vart ikkje undersøkt på abboren så det er usikkert om det er noko forskjell mellom vatna. Dersom skilnaden i storleik er grunna ulik alder på abboren kan dette verke inn på bioakkumulering og konsentrasjonen av miljøgifter ein finner i vevet på abboren. Dette kan difor vere med på å forklare individuelle skilnader eller skilnader mellom vatna.

Kondisjonsfaktoren for abbor i Tveitevatnet og Myrvatnet viste ingen skilnad mellom vatna og vart målt til å vere tilnærma lik det som er vanlig i abbor som ikkje er utsett for forureining (Balk et al., 1996). Den like kondisjonsfaktoren for abbor frå dei to vatna tyder på at helsetilstanden til abboren er lik i dei to vatna. Denne antakinga vert forsterka av målingane av leversomatisk indeks (LSI) som ikkje var ulik for abboren i dei to vatna. Den like LSI kan tyde på at feittinnhaldet i levra er lik for abbor frå Tveitevatnet og Myrvatnet, og indikerer også at næringstilgangen er lik i vatna (Leamon et al., 2000). Undersøkingar av abbor frå vatn som ikkje skal vere påverka av forureining viser ein normalverdi for LSI på abbor på 1,4-1,6% (Balk et al., 1996) noko som også stemmer med målingar gjort på abbor i Østersjøen (Hansson et al., 2006a). Samanlikning med verdiane frå abboren i denne undersøkinga, som låg på rundt 0,7%, viser at den leversomatiske indeksen for abbor i Tveitevatnet og Myrvatnet er mykje lågare enn det ein forventar å finne i abbor som ikkje er påverka av forureining. Dette kan tyde på at abboren er påverka av forureining. Den leversomatiske indeksen har ved fleire tilfelle vist ei auke om ein fisk er utsatt for forureining over ein lengre periode (Everaarts et al., 1993, Vignier et al., 1992, Fletcher et al., 1982), men det er òg observert lågare LSI for fisk som er eksponert for miljøgifter (Aas et al., 2001) og stress (Ram and Singh, 1988). Ein lav LSI kan òg indikere næringsmangel i vatna, noko som kan vere sannsynlig sidan ein finner abboren som tusenbrødrer som er vanlig i næringsfattige vatn. Det er sannsynlig at ein finner ein auka LSI dersom fisk som har god næringstilgang blir eksponert for framandstoffer, medan ein vil observere ein minke i den leversomatiske indeksen dersom fisken ikkje har tilgang på nok næring (Heath, 1995).

Ut i frå at desse fysiologiske faktorane er omlag like for abbor i Tveitevatnet og Myrvatnet

tyder det på at helsetilstanden er tilnærma lik for abbor i begge vatna. Indikasjonane på helsetilstand og miljøstress gjennom kondisjonsfaktor tyder på at tilstanden til abboren er god, medan den lave LSI verdien tydar på miljøstress i form av forureining eller næringsmangel, eller ein kombinasjon av desse to.

5.3.2 Biomarkørar

Å bruke fisk for å undersøke for helse-effekta av miljøgifter er mykje brukt, og det blir ofte då sett på biomarkørar. Det er gjort fleire undersøkingar av biomarkørar i ulike fiskar i til dømes Dei store sjøane (Feeley, 1995, Hoffman et al., 1993, Arcand-Hoy and Metcalfe, 1999) og undersøkingar av lake i Mjøsa (Mariussen et al., 2008, Berg et al., 2013). I Sverige er det også gjort ein del forskning spesifikt på abbor (Hansson et al., 2006b, Hansson et al., 2014, Linderoth et al., 2006) der det er sett på innverknaden ulike miljøgifter har hatt på til dømes CYP1A aktivitet i lever.

Hansson et al., (2006b) har brukt biokjemiske biomarkørar (EROD, AChE, GST, metallotionin, DNA-addukter) og konsentrasjonen av Σ PCB i abbor for å verifisere ein forureiningsgradient med Stockholm som kjelde for forureininga. Tilsaman vart det teke prøver frå ti stasjonar vest og aust for Stockholm. Resultata frå analysane av abbor viste dårlig fiskehelse der det var auka EROD aktivitet i levera, auka lever EROD somatisk indeks, minke i AChE aktivitet i muskel og ei auke av DNA-addukter i leveren. Størst negativ effekt vart funnet sentralt rundt Stockholm og mot Østersjøen.

Linderoth et al., (2006) utførte ei liknande undersøking som Hansson et al., (2006b) der dei same prøvestasjonane rundt Stockholm vart nytta. Grunnleggande fysiologiske biomarkørar og konsentrasjonen av Σ DDT i abbor vart undersøkt. Også i denne undersøkinga vart ein forureiningsgradient med Stockholm som kjelde for forureininga bekrefta, i tillegg til sterk indikasjon på forureiningskjelder frå Østersjøen. Abboren viste dårleg fiskehelse med tilbakeståande vekst, auka antal kjønsumodne hoer, lav gonadesomatisk indeks og forstyrra feittmetabolisme. Σ DDT, som indikator på forureininga, viste høge verdiar spesielt rundt Stockholm.

I det tredje studiet av området rundt Stockholm vart det brukt cytologiske og biokjemiske biomarkørar for å sjå på forureiningsgradienten (Hansson et al., 2014). Dei fleste

biomarkørane i tillegg til konsentrasjonen av ΣPBDE, fire organotin stoff og PFOS i abbor viste ein gradert respons med Stockholm som kjerne for forureininga samt indikasjonar på forureining frå Østersjøen. Fiskehelsa var dårlig med blant anna endra lever apoptose, auka katalaseaktivitet, minka hjerne aromatase aktivitet og minka lysosomal membranstabilitet i leveren.

Alle desse tre undersøkingane som er nemnd ovanfor viser at abbor er ein god indikatorart for fleire ulike forureiningar, og at mange ulike typar biomarkørar kan brukast til å sjå på effekt av forureining i abbor. For denne undersøkinga vart det valt å nytte fire ulike biomarkørar for å undersøke effekt av PCB og tungmetall i abboren i Tveitevatnet. Det var analyserte for CYP1A, HSP70 og katalase i levervevet, medan vitellogenin vart analysert for i levervevet og i plasmaprøver.

CYP1A er eit viktig protein i biotransformasjon av miljøgifter og fleire studier har vist at eit individ eksponert for organiske miljøgifter som til dømes PCB, PAH, PCDD og PBDE kan få oppregulert CYP1A i lever (Aas et al., 2001, Hektoen et al., 1994, Chen et al., 2001) slik at enzymba kan katalysere nedbryting av miljøgiftene. Den relative kvantifiseringa av CYP1A viste omlag dobbel så høg verdi av CYP1A uttrykking i abbor frå Tveitevatnet i forhold til abbor i Myrvatnet, men ulikskapen var ikkje statistisk signifikant. Likevel kan ein sjå ein trend i at Tveitevatnet har høgare uttrykking. At ulikskapen ikkje er signifikant kan komme av at det er relativt høge verdiar av miljøgifter i sedimenta i Myrvatnet òg, så abboren i dette vatnet kan også vere påverka av PCB og tungmetall. Aktiviteten til CYP1A (målt som EROD-aktivitet) var noko lågare, men ikkje signifikant lågare, i abbor frå Tveitevatnet i forhold til abbor i Myrvatnet. Verdiane målt frå dei to vatna var generelt veldig lave verdiar (Tveitevatnet: 2,6 og Myrvatnet: 3,6) i forhold til aktiviteten som har blitt målt i abbor frå andre forureina områder. Hansson et al., målte til dømes ein EROD aktiviteten på 260 pmol/min/mg ved den mest forureina stasjonen i undersøkinga, og rundt 50 pmol/min/mg ved fleire mindre forureina stasjonar (Hansson et al., 2006b). Også ei undersøking av helsetilstanden til abbor frå 1988 til 2000 viser ingen lågare EROD enn 40 pmol/min/mg (Hansson et al., 2006a). Verdiane som er målt av EROD i abbor frå Tveitevatnet og Myrvatnet er òg generelt lav i forhold til fisk som ikkje er eksponert for miljøgifter (Goksøyr and Larsen, 1991) med måling av EROD til 20-30 pmol/min/mg. Det er gjort studie som viser til at miljøgifter kan virke hemmande på CYP1A aktiviteten (Besselink et al., 1998, Schlezinger and Stegeman, 2001, Hansson et al., 2014) og at aktiviteten av

CYP1A kan gå ned viss eit individ er eksponert for ein spesiell miks av PCB-er (Newsted et al., 1995). Ein lav EROD aktivitet har også vert observert utan at dette har gitt ei lav uttrykking av CYP1A protein (Rice and Schlenk, 1995). Det er også mogeleg at den lave aktiviteten skyldast at prøvene har vert tint for lenge eller for mange gongar og fått redusert enzymaktiviteten.

Etter relativ kvantifisering av westernblottet viser det at intensiteten i uttrykkinga er størst i abbor frå Tveitevatnet i forhold til abbor i Myrvatnet. Ved bruk av student t-test finner ein at denne forskjellen i intensitet ikkje er statistisk signifikant ($p=0.08$). Denne tilsynelatande oppreguleringa av CYP1A i abboeren frå Tveitevatnet kan tyde på at fisken her er påverka av forureining som til dømes PCB. Den lave verdien av EROD, og manglande induksjon av CYP1A kan samanliknast med andre studie av abbor, og andre fisk, der organismar som lev i forureina områder har mindre respons på forureininga enn artar frå reine områder som blir utsett for forureining, som nemnd innledningsvis i diskusjonen. Til dømes fant Förlin og Nordgren (1998) at abbor som hadde levd i eit PCB-forureina vatn ikkje gav induksjon av CYP1A når fisken var eksponert for PCB, medan fisk frå eit referansevatn som vart eksponert for same PCB-mengd gav induksjon av CYP1A og auka EROD aktivitet.

HSP70 uttrykkinga var ikkje ulike mellom abbor i Tveitevatnet og abbor i Myrvatnet. Sjølv om det ikkje er ein skilnad mellom vatna ser ein at HSP70 er uttrykt i alle individa (figur 4.4), og sidan induksjon av HSP70 er dokumentert som ein respons til stress i marine organismar (Voznesensky et al., 2004) kan resultata i denne undersøkinga vere ein respons til at fisken vart eksponert for stress gjennom fangst, temperaturendring og at mange fiskar vart oppbevart i eit avgrensa rom. Samtidig viser forskning også døme på at det ikkje er noko samband mellom uttrykking av HSP70 og transport av fisken sjølv om fisken her blir utsett for stress (Leggatt et al., 2006). Det har også vert studie som demonstrerar at auken i induksjon av HSP70 kan vere ein indikator på stress i cellene assosiert med eksponering for forureining (Vijayan et al., 1998) noko som òg kan vere grunnen til uttrykking av HSP70 i abbor i denne undersøkinga.

Uttrykkinga av katalase var signifikant høgare i abbor frå Tveitevatnet enn i abbor frå Myrvatnet. Ei oppregulert uttrykking av katalase kan tyde på at fisken har blitt eksponert for stoff som forårsaker oksidativt stress (Kim et al., 2010), som gjer at det blir produsert meir katalase for å spalte hydrogenperoksidet til vatn og oksygen. Katalaseaktiviteten skulle

i prinsippet auka ved auka uttrykking av proteinet, men det gjer den ikkje i dette forsøket der katalaseverdien er signifikant høgare i Myrvatnet enn Tveitevatnet. Dette kan komme av at prøvene frå Tveitevatnet kan ha mista litt av enzymaktiviteten sin viss dei har vort tint for lenge. Det tok til dømes lengre tid med prøvetaking av abbor i Tveitevatnet enn i Myrvatnet sidan Myrvatnet vart teke prøve frå to dagar medan alle abborane vart teke prøve av på same dag i Tveitevatnet.

Ein auka konsentrasjon av vitellogenin er forbundet med eksponering for miljøgifter (Havelkova et al., 2008, Vega-Lopez et al., 2006). Ved eksponering for hormonforstyrrende miljøgifter vil vitellogenin bli induert i hannfisk òg (Sumpter and Jobling, 1995). Frå analysane av vitellogenin i plasma frå abbor viste det at nokre prøver vart uttrykt veldig klart medan andre ikkje vart detekterte. Det var ikkje eit samsvar mellom dei individa det vart målt høg proteinkonsentrasjon i plasma på og dei individa som uttrykte vitellogenin. Det var berre abbor frå Tveitevatnet som viste oppregulering av vitellogenin, men det var samtidig berre 4 av 13 fiskar som viste denne oppreguleringa. Mogelegeins kan det vere at desse fiskane var meir framskridande i kjønnsmodning enn dei andre fiskane, men sidan gonadeindeks ikkje vart målt kan ein ikkje sei med sikkerheit at dette er grunnen til den ulike uttrykkinga. Ein kan heller ikkje trekkje nokon slutningar om det at ingen av hannane uttrykte signal sidan det berre var ein hanne med i innsamlinga frå Tveitevatnet. Den positive kontrollen i dette westernblottet viste heller ingen signal, noko som kan komme av at samleprøva brukt som positiv kontroll var av torsk, og at denne mogelegeins ikkje var kompatibel med antistoffet som vart brukt som var spesifisert for stripa havabbor (*Morone saxatilis*). I ettertid ser ein at det skulle vort funnet ein anna positiv kontroll for måling av vitellogenin i plasma for å vere meir sikker på at resultatet av målingane var riktig.

Noko anna som kan ha spelt inn på denne analysen er veldig ulike proteinkonsentrasjonar i plasma (appendiks B). Dette kan komme av at det under prøvetakinga var vanskeleg å skulle ta blodprøven frå hjartet på fisken sidan abborane var små av storleik. At ulikskapen kjem frå denne prøvetakinga er likevel ganske usikkert sidan det etter nokre forsøk med prøvetaking gjekk relativt greit å ta desse prøvene. Det kan difor vere rimeleg å tru at variasjonen i proteinkonsentrasjonen i plasma kom av fortynningsfeil av at det var nokre sprøyter med for mykje heparin igjen i sprøytene ved prøvetaking. Sidan plasma som regel har ein høg proteinkonsentrasjon vil det vere sannsynleg at prøvene med proteinkonsentrasjon på rundt 20 mg/mL er prøvene som viser den reelle konsentrasjonen,

medan fleirtalet av prøvene viser ein for liten konsentrasjon grunna fortynning. Samtidig virkar det merkelig at nesten alle prøvene har den same fortynningsfeilen med så like verdiar, men det kan det vere at sprøytene er heparinisert feil slik at alle vart lik feil på, og så har nokre av dei blitt tømt for heparin før prøvetaking. Desse målingane kan òg tyde på at qubit ikkje var ein bra metode for måling av proteinkonsentrasjonen i plasma sidan den Ponceau S farga membranen etter SDS-PAGE viste veldig ulik proteinkonsentrasjon i kvar brønn sjølv om proteinkonsentrasjonen vart rekna nøye ut for å sette på lik konsentrasjon i alle brønner. Det er lite sannsynlig at variasjonen her kjem av feil under påsetting av prøver i brønnane sidan alle prøvene for lever viste at det vart sett på lik konsentrasjon i brønnane.

Grunnen til manglande skilnad mellom abbor i Tveitevatnet og Myravatnet på biomarkøranalysane kan forklarast med at PCB og metalla undersøkt i levervevet ikkje viste skilnader mellom abbor frå dei to vatna. Utan ein skilnad i nivået av miljøgifter i levervevet vil ein ikkje forvente å finne ein skilnad i biomarkøranalysane sjølv om sedimentanalysane viser at Tveitevatnet har høgare nivå av PCB. Sidan leveranalysene og biomarkør analysane ikkje gjenspeglar skilnadar i forureininga av sediment kan det tyde på at abbor ikkje er ein god indikatorart for PCB forureining. Samtidig kan ein sjå på undersøkinga gjort av Hansson et al. (2006b) at abbor viste ein gradient for dei biologiske analysane som samsvarte med forureiningsgradienten i området.

5.3.3 PCB, DDT og metall i abbor

PCB analysene viser at det er litt høgare verdiar av PCB i muskelvevet på abbor frå Myravatnet i henhold til Tveitevatnet, men at denne skilnaden var ikkje er statistisk signifikant og at det er lave verdiar i muskelvevet til abbor for begge vatna. ΣPCB_6 i muskelvevet på abboren ligger på rundt 2,4-2,5 ng/g noko som er lågt i henhold til EU sin øvre grenseverdi for ΣPCB_6 i fisk (EC, 2011b). Denne verdien viser også eit relativt lavt innhald i henhold til andre studie som har blitt gjort på abbor i forureina vatn. Blant anna har summen av 14PCB-kongen i abbor i området rundt Stockholm blitt målt til å vere så høgt som 150 ng/g i filet (Hansson et al., 2006b). Om ein samanliknar resultatet av ΣPCB_7 frå denne undersøkinga med verdiane målt i filet og lever på ørret i Tveitevatnet i 1998 ser ein ein mykje høgare verdi av PCB i ørreten med verdiar på henholdsvis 136 ng/g og 104 ng/g (Naturvernforbundet, 1998) i forhold til 2,6 ng/g og 51,4 ng/g i fillet og lever frå abbor i denne undersøkinga. Sidan abbor og ørret lagrar miljøgiftene ulikt i kroppen kan ein ikkje

med dette resultatet sei at PCB eksponeringa i Tveitevatnet har gått ned, men det er mogeleg ettersom skilnaden på målingane er så stor som den er.

Resultata frå målingane av Σ DDT i muskelvevet viser at abbor frå Myravatnet har ein signifikant høgare verdi enn abbor frå Tveitevatnet. Sjølv om Myravatnet viser ein høgare verdi er det framleis ein låg verdi som vart målt i abbor frå Myravatnet (0,7 ng/g). Samanlikna med tidligare målingar av DDT i muskelvevet til ørret og gjedde frå Tveitevatnet i 1998 (Naturvernforbundet, 1998) vart det målt eit relativt høgt nivå av miljøgifta i ørret (23,3 ng/g) medan gjedde hadde ein låg verdi (1 ng/g) av DDT i muskelvevet. Ut i frå dette verkar det som om det er store skilnader frå art til art for denne målinga, og det er difor ikkje mogeleg å sjå om nivået av DDT har minka ut i får ei samanlikning med desse dataa. Målingane av DDT i denne undersøkinga samanlikna med studie frå andre forureina områder viser at nivåa av DDT i abboren frå Tveitevatnet og Myravatnet er små i samanlikning med abbor frå andre forureina områder som til dømes området rundt Stockholm der verdiane av Σ DDT varierte frå omlag 2,5 ng/g på stadane med minst forureining til 24 ng/g nær kjelda til forureininga (Linderoth et al., 2006)

Metallnivåa i muskelvevet på abbor varierer mellom vatna og metall der nokre er høgst i Myravatnet og nokre er høgst i Tveitevatnet, men alle målingane frå begge vatna viser at nivået av metall i muskelvevet er innanfor dei øvre grenseverdiane sett av EU (EC, 2006b). Samanlikning mellom Tveitevatnet og Myravatnet viser ingen skilnader mellom vatna, og viser lave verdier for Pb (0,1 og 0,1 mg/kg), Hg (0,11 og 0,13 mg/kg) og Cd (<0,001 mg/kg) for henholdsvis Tveitevatnet og Myravatnet samanlikna med maksverdi for det som er tillat for matfisk for Pb (0,30 mg/kg), Hg (0,50 mg/kg) og Cd (0,050 mg/kg) og med kva som blir sett på som toksiske verdier (Rahman et al., 2012). Samanlikna med ei anna undersøking av abbor i forureina vatn viser målingane av metall i abbor frå Tveitevatnet og Myravatnet høgare verdier av Pb, Hg og Cd i muskel i forhold til det som har blitt målt av Szefer et al., (2003) med Pb, Hg og Cd på hanholdsvis 0,013, 0,046 og 0,003 mg/kg i abbor (Szefer et al., 2003). Tidligare målingar i Tveitevatnet (Naturvernforbundet, 1998, NIFES, 2009) viser òg veldig lave konsentrasjonar av dei ulike metalla der NIFES målte Pb, Hg og Cd til henholdsvis 0,02, 0,11 og 0,002 mg/kg i abbor og 0,01, 0,07 og 0,003 mg/kg i gjedde, og Naturvernforbundet målte 0,03, 0,11 og 0,01 mg/kg i ørret og 0,03, 0,24 og 0,01 mg/kg i gjedde. Dei lave verdiane av metall i muskelvevet har mogelegens noko å gjere med at abbor er ein mager fisk og at ein normalt vil finne framandstoffa i levera på denne type fisk.

Samtidig viste ørret òg, som er ein feit fisk, ein lav verdi for metallmålingane, noko som kan tyde på at den lave verdien i muskelvevet er grunna at fisken ikkje er eksponert for store mengder tungmetall i vatna.

Mattilsynet har kostholdsråd for ferskvassfisk der det blir tilrådd å ikkje ete lever frå sjølvfiska ferskvassfisk. Dei gir også råd om å avgrense inntaket av sjølvfangst når det er kjent at fisk og sjømat har inneholdt forureiningsstoff som er høgare enn dei øvre grenseverdiane som er sett (Mattilsynet, 2013b). Mattilsynet har i tillegg ein generell varsel på at gravide og ammande ikkje bør ete gjedde, abbor over 25 cm, ørret over èn kilo eller røye over én kilo, og at andre personar ikkje bør ete desse fiskeslaga meir enn ein gang i månaden i gjennomsnitt. Desse kostholdsråda er på bakgrunn av målingar av kvikksølv i lever på ferskvassfisk (Mattilsynet, 2013a). Abboren fiska i denne undersøkinga låg på mellom 19 og 26,5 cm og går delvis under denne anvisninga, men med dei funn som blei gjort i denne undersøkinga av både PCB og metall i lever og filet på fisken ser det ikkje ut til at abbor frå Tveitevatnet og Myrvatnet er helsefarlege. Sjølv om abboren i seg sjølv ikkje er helsefarleg må ein halde seg innanfor dei anbefalte grensene for verkeleg inntak av ulike forureiningsstoff, som til dømes inorganisk kvikksølv (4 µg/kg bw/to gongar vekelig), kadmium (månadleg tolerable inntak på 25 µg/kg kroppsvekt) eller bly (0.02-3 µg/kg bw for vaksne og 0.03 to 9 µg/kg bw for barn), som er sett av WHO (WHO, 2010, WHO, 2011b, WHO, 2011a)

Øvre grenseverdi for kva som er maksimum nivå av ΣPCB_6 som er tillat i lever på matfisk er sett til 200ng/g (EC, 2001). Samanlikna med verdiane frå denne undersøkinga som var tilnærma lik for begge vatna med ein verdi rundt 50 ng/g ser ein at abboren frå desse vatna er målt til å vere godt innanfor den øvre grenseverdien som er tillat for matfisk. Det var ingen statistisk signifikant skilnad på ΣPCB_7 i abbor frå dei to vatna, men Myrvatnet viste ein litt høgare verdi noko som viser at det vart målt ein høgare verdi for PCB118 i abbor frå Myrvatnet (11,6 ng/g) enn abbor frå Tveitevatnet (3,6 ng/g). Denne målinga av PCB118 i abbor frå Myrvatnet var også høg til samanlikning med målingane av abbor i innsjøen Årungen i Noreg, der verdien låg på 3,8 ng/g, som omlag er det same som for abboren i Tveitevatnet (Sharma et al., 2009).

Tidligare målingar av ΣPCB_7 i lever på abbor frå Tveitevatnet viser ein gjennomsnittlig verdi på 64 ± 52 ng/g våtvekt (NIFES, 2009) samanlikna med nivået av ΣPCB_7 i denne

undersøkinga som var 51 ± 13 ng/g. Det kan sjå ut som ein liten nedgang i nivået av PCB i levera på abboren dei siste seks åra, men på grunn av høg individuell variasjon ser ein ikkje ein statistisk signifikant nedgang av PCB i levera på abbor. I 1998 var nivå av ΣPCB_7 i lever på ørret og gjedde på henholdsvis 104 og 307 ng/g i Tveitevatnet (Naturvernforbundet, 1998). Desse nivåa er høgare enn det som er funnet i dette studiet, noko som kan tyde på at eksponeringa for PCB har blitt redusert på desse seksten åra, men på den andre sida kan desse verdiane vere høgre fordi målingane vart teke av mykje større fisk og av fisk som er høgare i næringsnett og meir utsett for biomagnifisering. Ut i frå desse tidlegare undersøkingar er det resultat som tyder på ein mogeleg nedgang i PCB i levera på abboren i Tveitevatnet, men verdien her og i Myrvatnet er framleis høge i henhold til undersøkingar gjort i andre forureina innsjøar i Noreg som til dømes Årungen der ΣPCB_7 vart målt til 25 ± 20 i abbor (Sharma et al., 2009). Frå Årungen var det òg teke prøver av gjedde, der ΣPCB_7 vart målt til 135 ± 98 ng/g. Samanliknar ein forholdet på PCB målingane i abbor og gjedde i Årungen ($25:135 = 0,18$) får ein eit forhold som samsvarar med forholdet mellom verdiane målt i Tveitevatnet for abbor i 2014 og gjedde i 1998 ($51:307=0,17$), noko som kan vere med å styrke eit argument for at PCB-nivået i levera på fisken ikkje har endra seg frå 1998, og om ein hadde målt abbor i Tveitevatnet i 1998 ville forholdet mellom abbor og gjedde vert det same og verdien til abbor ville vert lik verdien i denne undersøkinga.

Samanliknar ein nivået av PCB funnet i filet og lever i abbor med PCB funnet i sediment ser ein at skilnaden i nivåa i sedimenta ikkje gjenspeglar seg i verdiane funnet i filet og levervev. Tveitevatnet hadde over dobbelt så høg verdi av PCB i sedimenta samanlikna med Myrvatnet, medan både filet og levervevet viste omlag like nivå av PCB frå begge vatna.

DDT i levera var, i likskap med muskelanalysene, høgare i abbor frå Myrvatnet samanlikna med Tveitevatnet. Abbor frå Tveitevatnet viste ingen teikn til oppsamling av DDT i levervevet, og til samanlikning vart det funnet DDT i lever frå ørret (17 ng/g) og gjedde (47 ng/g) i Tveitevatnet i 1998 noko som kan tyde på at eksponeringa for DDT har blitt redusert i Tveitevatnet. Og med ei halveringstid på 5-7 år (Brevik et al., 1996) i vevet er det mogeleg at miljøpåvirkinga av DDT har forsvunne frå Tveitevatnet, og at det ikkje er nokon nye kontamineringskjelder for DDT. Sjølv om det vart funne DDE i levervevet til abboren i Myrvatnet var dette ein lav verdi ($7,7 \pm 3,1$ ng/g), og mykje lågare samanlikna med abbor frå Årungen ($43,4 \pm 39,2$ ng/g). Ein mogeleg årsak til at det vart funne DDE i Myrvatnet og ikkje Tveitevatnet er at Myrvatnet har hatt meir jordbruk i området rundt vatnet, og DDT

var mykje brukt som insekticide før det vart forbode i Noreg i 1970.

Nivåa av Pb, Hg og Cd i levra var omlag like for abbor i Tveitevatnet og Myravatnet. Pb og Cd viste høgare verdiar samanlikna med det som var målt i muskelvevet, medan nivået av Hg var omlag likt i begge veva. Kvikksølv i levervevet var i tillegg under grenseverdien for det som er tillatt i muskelvevet til matfisk. Samanlikna med tidligare undersøkingar av abbor i metallforureina områder viser abbor frå Tveitevatnet og Myravatnet Pb (0,81/1,16 ng/g), Hg (0,12/0,09 ng/g) og Cd (0,42/0,41 ng/g) verdiar som er på lik linje eller høgare enn det andre har målt i abbor (0,031 og 0,032) for henholdsvis Pb og Cd (Szefer et al., 2003).

PCB, DDT og metallnivåa i levervevet var tydelig høgre samanlikna med nivåa av miljøgifter i muskelvevet. Dette skyldast at abbor, som ein mager fisk, lagrar mykje av feittet i levra medan muskelvevet inneheld lite feitt. Dette gjer at dei feittløselege miljøgiftene blir lagra i levra framfor i muskelvevet. Hos ørret som er ein feit fisk vil ein sjå høgare nivå av miljøgiftene i muskelvevet på fisken. I tillegg er det levra som har ansvaret for biotransformasjonen og vil vere utsett for opphoping av metall og andre stoff viss det er for mykje av dei til at levra får brutt dei ned og skilt dei ut. Dette forholdet mellom konsentrasjon av miljøgifter i levervev i forhold til muskelvev er dokumentert i fleire undersøkingar av både abbor og andre fiskeartar (Benemariya et al., 1991, Szefer et al., 2003, Sindayigaya et al., 1994, Dietz et al., 1996).

5.3.4 PAH i abbor

Sidan galle er den viktigaste utskiljingsvegen for PAH-metabolitter (Beyer et al., 2010) er å måle PAH ved direkte fluorescens av galle metode for å undersøke om fisk har vert eksponert for PAH og kva PAH-forbindingar som har blitt teke opp av fisken. Å måle PAH ved direkte fluorescens av galle er ein metode der nøyaktigheita blir senka, men metoden er rask, enkel og billig å utføre (Insausti et al., 2009), og blir difor ofte brukt. Det var ingen statistisk signifikant skilnad på dei to vatna, men gjennomsnittleg var det funnet litt høgare verdiar av PAH-metabolittar i prøvene teke frå abbor i Tveitevatnet. For dei tre PAH-metabolittane undersøkt viste fenantren ein mykje høgare verdi ved fluorescens enn dei to andre metabolittane. Pyren viste omlag 1/10 av fluorescensverdien til fenantren, medan benzo(a)pyren viste ein enda lågare verdi med omlag 1/10 av verdien til pyren. Målingane av abbor frå myravatnet viste omlag same forholdet av metabolittane som for abbor i

Tveitevatnet. Andre PAH-metabolittar enn dei som er nemnd ovanfor vil kunne fluorescere ved dei bølglengdepara som er brukt i denne oppgåva, og bidra med fluorescens til målingane gjort i denne undersøkinga. Til dømes vil andre 2- og 3-ringa PAHer som naftalen og fluoren kunne bidra med fluorescens ved optimal bølglengdeparet til fenantren (Krahn et al., 1991).

Nivået av PAH ein finner i galle er avhengig av eksponeringa for PAH-metabolittar organismen er utsett for i tillegg til tettleiken på gallen i galleblæra. Galle blir brukt under fordøying av mat og vil difor finnast i ulik mengd i galleblæra avhengig av om organismen nyleg har ete eller ikkje. Ein fisk som nylig har ete vil ha mindre galle tilgjengelig for prøvetaking til samanlikning med fisk som ikkje har ete som vil ha meir galle og høgare gallettleik. Dermed kan måling av galle vise høgare verdiar av PAH-sambindingar i fisk som ikkje har utskilt galle gjennom fordøying samanlikna med fisk som nyleg har ete. Det er difor ein mogelegheit å normalisere nivåa av PAH-metabolittane mot gallettleik, der til dømes biliverdin konsentrasjonen har blitt brukt (Collier and Varanasi, 1991).

I denne undersøkinga var det ikkje nok galle til å måle biliverdin av alle individa, og det blei difor ikkje gjort normalisering av PAH målingane i forhold til biliverdin-verdiar. I nokre tilfelle, slik som dette eller om det er stor variasjon på dei individuelle målingane blir normalisering av dataa ofte ikkje nytta (Aas et al., 2000a). Dette er tilfellet dersom ei normalisering av dataa kan forstyrre datasettet og virke meir negativt og overskygge fordelene med normaliseringa (Aas et al., 2000b, Aas et al., 2001, Haugland et al., 2005). Biliverdinmålingane i denne undersøkinga viste litt høgare verdi i abbor frå Myravatnet, noko som kan vere med å gi eit høgare resultat av PAH-metabolittar for Myravatnet under analyse, men utan fullstendige tal for alle individa blir det vanskeleg å seie noko om skilnaden i gallettleik, og om dette kan ha verka inn på PAH-nivåa som vart målt i galle.

5.4 Myrvatnet som referanselokalitet

Myrvatnet kan synes som ein dårlig referanselokalitet når ein ser på resultatet frå målingane gjort i denne oppgåva. Sjølv om Tveitevatnet har noko større uttrykking av dei målte biomarkørane er denne skilnaden ikkje signifikant og det kan tenkast at målingane gjort på abbor frå Myrvatnet indikerer at også dette vatnet viser oppregulering av proteina det vart testa for. Myrvatnet viser også høgare verdiar av PCB og DDT i muskel- og levervev, og her var skilnaden statistisk signifikant for DDT målingane. PCB-nivåa i sedimenta vart målt til å vere 40 ng/g noko som er middels dårlig, og er ikkje bra for eit referansevatn som skal ha lave nivå av miljøgiftene som ein undersøker i dei andre vatna. Mangel på statistisk signifikante resultat frå analysane som vart utført kan i stor grad forklarast med at Myrvatnet også er utsett for miljøgifter.

5.5 Konklusjon

På grunnlag av undersøkingane gjort i denne oppgåva er det mykje som tyder på at alle vatna i Bergensdalen er påverka av miljøgifter som PCB og tungmetall. Dette gjelder også referansevatnet Myrvatnet som var antekt å vere eit relativt reint vatn. Av alle dataa samla inn er det Solheimsvatnet som har lågast verdiar av miljøgifter i sedimenta, men det er framleis relativt høge verdiar her òg. Det ser også ut til at abbor kan vere påverka av miljøgiftene på grunnlag av biomarkøranalysane med uttrykking av relativt sterkt signal på fleire av biomarkørane det vart testa for. Samtidig kan ein ikkje sjå klare teikn på opphoping av miljøgifter i vevet på fisken.

Det ser ikkje ut til av forureininga i Tveitevatnet har verka merkbart inn på fiskehelsa til abbor. PCB₆ og metalla bly, kvikksølv og kadmium låg godt under dei øvre grenseverdiane sett av EU for kva som er tillat for desse miljøgiftene i fileten på matfisk. I tillegg viste òg levervevet relativt lave verdiar av miljøgiftene. På bakgrunn av dette kan ein sei at det ikkje er bekymring for mattryggleik i henhold til abbor undersøkt i denne oppgåva, men det kan framleis vere ein risiko om ein ikkje følgjer kostholdsråd om maks vekentleg inntak av til dømes uorganisk kvikksølv (4 µg/kg bw).

Målet med å undersøke miljøeffekta ved bruk av biomarkørar vart nådd på den måten at Tveitevatnet viste relativt stor uttrykking av alle biomarkørane det vart testa for. På den andre sida vart det ikkje noko statistisk signifikant skilnad mellom Tveitevatnet og Myrvatnet, som var referanselokalitet, på tre av desse biomarkørane (CYP1A, HSP70 og vitellogenin). Det vart difor vanskelig å verifisere kor tydelig denne oppreguleringa var. Nivået av PCB₆ i sedimenta var over dobbelt så høgt i Tveitevatnet som i Myrvatnet, men dette var ikkje gjenspegla i PCB₆ nivå i fiskelever. I og med at leverkonsentrasjonen av PCB₆ var tilsvarande lik abbor frå Tveitevatnet og Myrvatnet er det ikkje forventa skilnad i biomarkøranalysane. Det hadde mogelegeins gitt klarare svar å samanlikne abbor i Tveitevatnet med abbor frå ein annan lokalitet som ikkje var kontaminert slik som Myrvatnet.

Målet om å kartleggje nivåa av miljøgifter i sedimentet frå Tveitevatnet vart nådd for undersøking av PCB og tungmetall til å samanlikne med tidligare analyser, der konklusjonen

er at forholda ikkje har endra seg merkbart frå tidligare år og at Tveitevatnet er framleis påverka av relativt høge mengder miljøgifter.

Tilleggs målet om å ta sedimentprøver frå dei andre vatna i Bergsdalen, Solheimsvatnet, Storetveitevatnet og Kristianborgvatnet, for å få eit oversiktsbilete av miljøgiftene vart nådd i den grada forsøket vart konstruert, men det hadde vert betre med ei meir omfattande undersøking av sedimenta for å få eit meir nøyaktig resultat av konsentrasjonen av PCB i sedimenta.

5.6 Vidare arbeid

Eit meir omfattande arbeid med analyse av biomarkører kan gi eit betre bilete av eventuelle biologiske effektar av miljøgiftene i Tveitevatnet. Dette kunne vert interessant å sjå på ved bruk av proteomikk til dømes. Det kan også då tenkast å bruke eit anna referansevatn.

Sidan eit avgrensa tal prøvestasjonar for sedimenprøvetaking vil gi eit avgrensa resultat kunne ei meir omfattande prøvetaking og analyse av sedimentprøver gitt ei betre innsikt i forureiningssituasjonen enn det samleprøver gir.

Det kan også vere interessant å gjere oppfølgande studie når/dersom Bergen kommune byrjar å grave opp søppelfyllinga på Slettebakken for å deponere massane andre stader. Dette kan brukast til å følgje med på om forureiningssituasjonen i Tveitevatnet endrar seg ved eit slik tiltak.

Ei vidare undersøking og kartlegging av Myrvatnet for å finne grunnen til forureininga her skulle vert gjort. Det er også eit rykte om at der ligg eit gammalt deponi under vatnet, noko som skulle vert undersøkt vidare.

6. REFERANSAR

- AAS, E. 1994. Direkte fluorescensmålinger av galle fra fisk som forurensingsindikator for polysykliske aromatiske hydrokarboner (PAH). *Universitetet i Bergen, Institutt for fiskeri og marinbiologi*.
- AAS, E., BAUSSANT, T., BALK, L., LIEWENBORG, B. & ANDERSEN, O. K. 2000a. PAH metabolites in bile, cytochrome P4501A and DNA adducts as environmental risk parameters for chronic oil exposure: a laboratory experiment with Atlantic cod. *Aquatic Toxicology*, 51, 241-258.
- AAS, E., BEYER, J. & GOKSØYR, A. 2000b. Fixed wavelength fluorescence (FF) of bile as a monitoring tool for polyaromatic hydrocarbon exposure in fish: an evaluation of compound specificity, inner filter effect and signal interpretation. *Biomarkers*, 5, 9-23.
- AAS, E., BEYER, J., JONSSON, G., REICHERT, W. L. & ANDERSEN, O. K. 2001. Evidence of uptake, biotransformation and DNA binding of polyaromatic hydrocarbons in Atlantic cod and corkwing wrasse caught in the vicinity of an aluminium works. *Marine Environmental Research*, 52, 213-29.
- AOKI, Y. 2001. Polychlorinated Biphenyls, Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins, and Polychlorinated Dibenzofurans as Endocrine Disrupters—What We Have Learned from Yusho Disease. *Environmental Research*, 86, 2-11.
- ARCAND-HOY, L. D. & METCALFE, C. D. 1999. Biomarkers of exposure of brown bullheads (*Ameiurus nebulosus*) to contaminants in the lower Great Lakes, North America. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18, 740-749.
- ARILLO, A. & MELODIA, F. 1990. Protective effect of fish mucus against Cr(VI) pollution. *Chemosphere*, 20, 397-402.
- BAI, J. H., CUI, B. S., CHEN, B., ZHANG, K. J., DENG, W., GAO, H. F. & XIAO, R. 2011. Spatial distribution and ecological risk assessment of heavy metals in surface sediments from a typical plateau lake wetland, China. *Ecological Modelling*, 222, 301-306.
- BAKKE, T., BREEDVELD, G., KÄLLQVIST, T., OEN, A., EEK, E., RUUS, A., KIBSGAARD, A., HELLAND, A. & HYLLAND, K. 2007. Veileder for klassifisering av miljøkvalitet i fjorder og kystfarvann - Revisjon av klassifisering av metaller og organiske miljøgifter i vann og sedimenter. *Statens forurensingstilsyn*, 1-12.
- BALK, L., LARSSON, Å. & FÖRLIN, L. 1996. Baseline studies of biomarkers in the feral female perch (*Perca fluviatilis*) as tools in biological monitoring of anthropogenic substances.

Marine Environmental Research, 42, 203-208.

- BARRON, M. G., CARLS, M. G., HEINTZ, R. & RICE, S. D. 2004. Evaluation of Fish Early Life-Stage Toxicity Models of Chronic Embryonic Exposures to Complex Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Mixtures. *Toxicological Sciences*, 78, 60-67.
- BENEMARIYA, H., ROBBERECHT, H. & DEELSTRA, H. 1991. Atomic absorption spectrometric determination of zinc, copper, and selenium in fish from Lake Tanganyika, Burundi, Africa. *Science of The Total Environment*, 105, 73-85.
- BERG, V., ZERIHUN, M. A., JØRGENSEN, A., LIE, E., DALE, O. B., SKAARE, J. U. & LYCHE, J. L. 2013. High prevalence of infections and pathological changes in burbot (*Lota lota*) from a polluted lake (Lake Mjøsa, Norway). *Chemosphere*, 90, 1711-1718.
- BESSELINK, H. T., DENISON, M. S., HAHN, M. E., KARCHNER, S. I., VETHAAK, A. D., KOEMAN, J. H. & BROUWER, A. 1998. Low Inducibility of CYP1A Activity by Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Flounder (*Platichthys flesus*): Characterization of the Ah Receptor and the Role of CYP1A Inhibition. *Toxicological Sciences*, 43, 161-171.
- BEYER, J., JONSSON, G., PORTE, C., KRAHN, M. M. & ARIESE, F. 2010. Analytical methods for determining metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) pollutants in fish bile: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 30, 224-244.
- BEYER, J., SANDVIK, M., HYLLAND, K., FJELD, E., EGAAS, E., AAS, E., SKÅRE, J. U. & GOKSØYR, A. 1996. Contaminant accumulation and biomarker responses in flounder (*Platichthys flesus* L.) and Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) exposed by caging to polluted sediments in Sørfjorden, Norway. *Aquatic Toxicology*, 36, 75-98.
- BJORNBERG, K. A., VAHTER, M., GRAWE, K. P. & BERGLUND, M. 2005. Methyl mercury exposure in Swedish women with high fish consumption. *Sci Total Environ*, 341, 45-52.
- BJØRKLUND, A., JOHNSEN, G. H. & KAMBESTAD, A. 1994. Miljøkvalitet i vassdragene i Bergen kommune, status 1993. *Rådgivende Biologer AS, Institutt for miljøforskning.*, 103-106 s.
- BORJA, J., TALEON, D. M., AURESENIA, J. & GALLARDO, S. 2005. Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. *Process Biochemistry*, 40, 1999-2013.
- BRABAND, Å. 1992. *Norges dyr fiskene 1*, J.W. Chappelens Forlag a.s.
- BREVIK, E. M., GRANDE, M., KNUTZEN, J., POLDER, A. & UTNE SKAARE, J. 1996. DDT contamination of fish and sediments from Lake Ørsjøen, Southern Norway: Comparison of data from 1975 and 1994. *Chemosphere*, 33, 2189-2200.
- CARRINGTON, C. D. & BOLGER, P. M. 2014. Toxic Metals: Lead. In: MOTARJEMI, Y. (ed.) *Encyclopedia of Food Safety*. Waltham: Academic Press.

- CHEN, G., KONSTANTINOV, A. D., CHITTIM, B. G., JOYCE, E. M., BOLLS, N. C. & BUNCE, N. J. 2001. Synthesis of Polybrominated Diphenyl Ethers and Their Capacity to Induce CYP1A by the Ah Receptor Mediated Pathway. *Environmental Science & Technology*, 35, 3749-3756.
- COLLIER, T. & VARANASI, U. 1991. Hepatic activities of xenobiotic metabolizing enzymes and biliary levels of xenobiotics in english sole (*Parophrys vetulus*) exposed to environmental contaminants. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 20, 462-473.
- CORNELISSEN, G., PETTERSEN, A., NESSE, E., EEK, E., HELLAND, A. & BREEDVELD, G. D. 2008. The contribution of urban runoff to organic contaminant levels in harbour sediments near two Norwegian cities. *Marine Pollution Bulletin*, 56, 565-573.
- DÉVIER, M.-H., LE DÛ-LACOSTE, M., AKCHA, F., MORIN, B., PELUHET, L., LE MENACH, K., BURGEOT, T. & BUDZINSKI, H. 2013. Biliary PAH metabolites, EROD activity and DNA damage in dab (*Limanda limanda*) from Seine Estuary (France). *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 708-722.
- DIETZ, R., RIGET, F. & JOHANSEN, P. 1996. Lead, cadmium, mercury and selenium in Greenland marine animals. *Science of The Total Environment*, 186, 67-93.
- EC 2006a. Commission Recommendation of 16 November 2006 on the monitoring of background levels of dioxins, dioxin-like PCBs and non-dioxin-like PCBs in foodstuff (notified under document number C(2006) 5425). *Official Journal of the European Union*, 49, 24-31.
- EC 2006b. COMMISSION REGULATION (EC) No 1881/2006. setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*.
- EC 2011a. COMMISSION REGULATION (EU) No 835/2011. amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*.
- EC 2011b. COMMISSION REGULATION (EU) No 1259/2011. amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for dioxins, dioxin-like PCBs and non dioxin-like PCBs in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*.
- EC 2011c. COMMISSION REGULATION (EU) No .../... draft amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards cadmium. *The European commission*.
- EGGENS, M. L. & GALGANI, F. 1992. Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity in flatfish: fast determination with a fluorescence plate-reader. *Mar. Environ.*, 33, 213-221.
- ELABBAS, L. E., WESTERHOLM, E., ROOS, R., HALLDIN, K., KORKALAINEN, M., VILUKSELA, M. & HÅKANSSON, H. 2013. 10 - Non-dioxin-like polychlorinated

- biphenyls (NDL-PCBs) in foods: exposure and health hazards. *In: ROSE, M. & FERNANDES, A. (eds.) Persistent Organic Pollutants and Toxic Metals in Foods.* Woodhead Publishing.
- ESCARTÍN, E. & PORTE, C. 1999. Hydroxylated PAHs in Bile of Deep-Sea Fish. Relationship with Xenobiotic Metabolizing Enzymes. *Environmental Science & Technology*, 33, 2710-2714.
- EVERAARTS, J. M., SHUGART, L. R., GUSTIN, M. K., HAWKINS, W. E. & WALKER, W. W. 1993. Biological markers in fish: DNA integrity, hematological parameters and liver somatic index. *Marine Environmental Research*, 35, 101-107.
- FARMER, P. B., SINGH, R., KAUR, B., SRAM, R. J., BINKOVA, B., KALINA, I., POPOV, T. A., GARTE, S., TAIOLI, E., GABELOVA, A. & CEBULSKA-WASILEWSKA, A. 2003. Molecular epidemiology studies of carcinogenic environmental pollutants: Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in environmental pollution on exogenous and oxidative DNA damage. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 544, 397-402.
- FATTORE, E., FANELLI, R., TURRINI, A. & DI DOMENICO, A. 2006. Current dietary exposure to polychlorodibenzo-p-dioxins, polychlorodibenzofurans, and dioxin-like polychlorobiphenyls in Italy. *Mol Nutr Food Res*, 50, 915-21.
- FEELEY, M. M. 1995. Biomarkers for Great Lakes priority contaminants: Halogenated aromatic hydrocarbons. *Environmental Health Perspectives*, 103, 7-16.
- FJELD, E., KNUTZEN, J., BREIVIK, E.M., SCHLABACH, M., SKOTVOLD, T., BORGEN, A., WIBORG, M.L. 2001. Halogenerte organiske miljøgifter og kvikksølv i norsk ferskvannsfisk 1995-1999. Rapportnr. 827. Oslo, Statlig program for forurensingsovervåking.
- FJELD, E., SCHLABACH, M., BERGE, J.A., EGGEN, T., SNILSBERG, P., KJELLBERG, G., ROGNERUD, S., ENGE, E.K., BORGEN, A., GUNDERSEN, H. 2004. Kartlegging av utvalgte nye organiske miljøgifter - bromerte flammehemmere, klorerte parafiner, bisfenol A og triclosan. Rapportnr. 4809. Norsk institutt for vannforskning.
- FLETCHER, G. L., KING, M. J., KICENIUK, J. W. & ADDISON, R. F. 1982. Liver hypertrophy in winter flounder following exposure to experimentally oiled sediments. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 73, 457-462.
- FORLIN, L. & NORRGREN, L. 1998. Physiological and morphological studies of feral perch before and after remediation of a PCB contaminated lake: Jarnsjon. *Ambio*, 27, 418-424.
- FU, C.-T. & WU, S.-C. 2006. Seasonal variation of the distribution of PCBs in sediments and biota in a PCB-contaminated estuary. *Chemosphere*, 62, 1786-1794.

- GANGOITI, G., MILLÁN, M. M., SALVADOR, R. & MANTILLA, E. 2001. Long-range transport and re-circulation of pollutants in the western Mediterranean during the project Regional Cycles of Air Pollution in the West-Central Mediterranean Area. *Atmospheric Environment*, 35, 6267-6276.
- GILBERTSON, M., KUBIAK, T., LUDWIG, J. & FOX, G. 1991. Great lakes embryo mortality, edema, and deformities syndrome (GLEMEDS) in colonial fish - eating birds: Similarity to chick - edema disease. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 33, 455-520.
- GOKSØYR, A. 1995a. Use of cytochrome P450 1A (CYP1A) in fish as a biomarker of aquatic pollution. *Arch Toxicol Suppl*, 17, 80-95.
- GOKSØYR, A. 1995b. Use of cytochrome P450 1A (CYP1A) in fish as a biomarker of aquatic pollution. In: DEGEN, G., SEILER, J. & BENTLEY, P. (eds.) *Toxicology in Transition*. Springer Berlin Heidelberg.
- GOKSØYR, A., ARUKWE, A., LARSSON, J., CAJARAVILLE, M., HAUSER, L., NILSEN, B., LOWE, D. & MATTHIESSEN, P. 2003. Links between the cellular and molecular response to pollution and the impact on reproduction and fecundity including the influence of endocrine disrupters. In: *Impacts of Marine Xenobiotics on European Commercial Fish-Molecular Effects and Population Responses*.
- GOKSØYR, A. & LARSEN, H. E. 1991. THE CYTOCHROME-P450 SYSTEM OF ATLANTIC SALMON (SALMO-SALAR) .1. BASAL PROPERTIES AND INDUCTION OF P450-1A1 IN LIVER OF IMMATURE AND MATURE FISH. *Fish Physiology and Biochemistry*, 9, 339-349.
- HANSSON, T., BARŠIENĖ, J., TJÄRNLUND, U., ÅKERMAN, G., LINDEROTH, M., ZEBÜHR, Y., STERNBECK, J., JÄRNBERG, U. & BALK, L. 2014. Cytological and biochemical biomarkers in adult female perch (*Perca fluviatilis*) in a chronically polluted gradient in the Stockholm recipient (Sweden). *Marine Pollution Bulletin*, 81, 27-40.
- HANSSON, T., LINDESJÖÖ, E., FÖRLIN, L., BALK, L., BIGNERT, A. & LARSSON, Å. 2006a. Long-term monitoring of the health status of female perch (*Perca fluviatilis*) in the Baltic Sea shows decreased gonad weight and increased hepatic EROD activity. *Aquatic Toxicology*, 79, 341-355.
- HANSSON, T., SCHIEDEK, D., LEHTONEN, K. K., VUORINEN, P. J., LIEWENBORG, B., NOAKSSON, E., TJÄRNLUND, U., HANSON, M. & BALK, L. 2006b. Biochemical biomarkers in adult female perch (*Perca fluviatilis*) in a chronically polluted gradient in the Stockholm recipient (Sweden). *Marine Pollution Bulletin*, 53, 451-468.
- HAUGLAND, C., UGLAND, K. I., BØRSETH, J. F. & AAS, E. 2005. Polycyclic aromatic

- hydrocarbons in capelin (*Mallotus villosus*) in the Barents Sea by use of fixed wavelength fluorescence measurements of bile samples. *Marine Pollution Bulletin*, 50, 95–104.
- HAVELKOVA, M., SVOBODOVA, Z., KOLAROVA, J., KRIJT, J., NEMETHOVA, D., JARKOVSKY, J. & POSPISIL, R. 2008. Organic pollutant contamination of the river Tichi Orlice as assessed by biochemical markers. *Acta Veterinaria Brno*, 77, 133-141.
- HEATH, A. G. 1995. *Water pollution and fish physiology*, CRC press.
- HEKTOEN, H., BERNHOFT, A., INGEBRIGTSEN, K., UTNE SKAARE, J. & GOKSØYR, A. 1994. Response of hepatic xenobiotic metabolizing enzymes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and cod (*Gadus morhua*) to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (2,3,7,8-TCDD). *Aquatic Toxicology*, 28, 97-106.
- HENNIES, M., WIESMANN, M., ALLNER, B. & SAUERWEIN, H. 2003. Vitellogenin in carp (*Cyprinus carpio*) and perch (*Perca fluviatilis*): purification, characterization and development of an ELISA for the detection of estrogenic effects. *Science of The Total Environment*, 309, 93-103.
- HHS, U. S. D. O. H. A. H. S. 2004. Toxicological profile for copper *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*.
- HICKS, H. E. 1996. The Great Lakes: A historical overview. *Toxicology and Industrial Health*, 12, 303-313.
- HOBÆK, A. 1998. Overvåking av ferskvannsresipienter i Bergen kommune: Miljøgifter i innsjøsedimenter og i avrenning frå avfallsdeponier. *Lnr. 3793-98. 27s. NIVA-rapport*
- HOBÆK., N. V. V. A. 2007. PCB i Tveitevannet: Kildesøk og nye målinger i sediment. *Notat. 1-7 s. Norsk institutt for vannforskning. .*
- HOFFMAN, D. J., SMITH, G. J. & RATTNER, B. A. 1993. BIOMARKERS OF CONTAMINANT EXPOSURE IN COMMON TERNS AND BLACK-CROWNED NIGHT HERONS IN THE GREAT-LAKES. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 12, 1095-1103.
- HOSE, J. E., CROSS, J. N., SMITH, S. G. & DIEHL, D. 1989. Reproductive impairment in a fish inhabiting a contaminated coastal environment off Southern California. *Environmental Pollution*, 57, 139-148.
- HYLLAND, K. 2006. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) ecotoxicology in marine ecosystems. *Journal of Toxicology and Environmental Health-Part a-Current Issues*, 69, 109-123.
- IARC 1997. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. *International Agency for Research on Cancer*, 69.
- INSAUSTI, D., CARRASSON, M., MAYNOU, F., CARTES, J. E. & SOLE, M. 2009. Biliary

- fluorescent aromatic compounds (FACs) measured by fixed wavelength fluorescence (FF) in several marine fish species from the NW Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin*, 58, 1635-1642.
- IPCS 1993. Environmental Health Criteria 140. Polychlorinated Biphenyls and Terphenyls. *World Health Organization*.
- JONES, I., KILLE, P. & SWEENEY, G. 2001. Cadmium delays growth hormone expression during rainbow trout development. *Journal of Fish Biology*, 59, 1015-1022.
- KALLQVIST, T. & BROOKS, S. 2008. The toxicity of sediments collected from Lake Tveitevatn, Norway. Ref: O-28284. 1-12 s. *Norsk institutt for vannforskning*. .
- KLAPER, R., REES, C. B., DREVNICK, P., WEBER, D., SANDHEINRICH, M. & CARVAN, M. J. 2006. Gene expression changes related to endocrine function and decline in reproduction in fathead minnow (*Pimephales promelas*) after dietary methylmercury exposure. *Environ Health Perspect*, 114, 1337-43.
- KLIF 2012. Utkast til Bakgrunnsdokument for utarbeidelse av miljøkvalitetsstandarder og klassifisering av miljøgifter i vann, sediment og biota. TA 3001/2012.
- KRAHN, M. M., YLITALO, G. M., JOSS, J. & CHAN, S.-L. 1991. Rapid, semi-quantitative screening of sediments for aromatic compounds using sonic extraction and HPLC/fluorescence analysis. *Marine Environmental Research*, 31, 175-196.
- KREITSBERG, R., ZEMIT, I., FREIBERG, R., TAMBETS, M. & TUVIKENE, A. 2010. Responses of metabolic pathways to polycyclic aromatic compounds in flounder following oil spill in the Baltic Sea near the Estonian coast. *Aquatic Toxicology*, 99, 473-478.
- LEAMON, J., SCHULTZ, E. & CRIVELLO, J. 2000. Variation Among Four Health Indices in Natural Populations of the Estuarine Fish, *Fundulus heteroclitus* (Pisces, Cyprinodontidae), from Five Geographically Proximate Estuaries. *Environmental Biology of Fishes*, 57, 451-458.
- LEAÑOS-CASTAÑEDA, O., VAN DER KRAAK, G., RODRÍGUEZ-CANUL, R. & GOLD, G. 2007. Endocrine disruption mechanism of o,p'-DDT in mature male tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Toxicology and Applied Pharmacology*, 221, 158-167.
- LEE, R. F. & ANDERSON, J. W. 2005. Significance of cytochrome P450 system responses and levels of bile fluorescent aromatic compounds in marine wildlife following oil spills. *Mar Pollut Bull*, 50, 705-23.
- LEGGATT, R. A., SCHEER, K. W., AFONSO, L. O. B. & IWAMA, G. K. 2006. Triploid and diploid rainbow trout do not differ in their stress response to transportation. *North American Journal of Aquaculture*, 68, 1-8.

- LENSSSEN, N. 1991. Nuclear Waste: The Problem that Won't Go Away. *Worldwatch Institute, Washington, D.C.*
- LINDEROTH, M., HANSSON, T., LIEWENBORG, B., SUNDBERG, H., NOAKSSON, E., HANSON, M., ZEBUHR, Y. & BALK, L. 2006. Basic physiological biomarkers in adult female perch (*Perca fluviatilis*) in a chronically polluted gradient in the Stockholm recipient (Sweden). *Mar Pollut Bull*, 53, 437-50.
- MAHMOOD, M., BHAVSAR, S. P. & ARHONDITSIS, G. B. 2013. Examination of temporal DDT trends in Lake Erie fish communities using dynamic linear modeling. *Journal of Great Lakes Research*, 39, 437-448.
- MALINS, D. C., MCCAIN, B., MYERS, M., BROWN, D., KRAHN, M., ROUBAL, W., SCHIEWE, M., LANDAHL, J. & CHAN, S. 1987. Field and laboratory studies of the etiology of liver neoplasms in marine fish from Puget Sound. *Environmental Health Perspectives*, 71, 5.
- MARET, W. & MOULIS, J.-M. 2013. The Bioinorganic Chemistry of Cadmium in the Context of Its Toxicity. In: SIGEL, A., SIGEL, H. & SIGEL, R. K. O. (eds.) *Cadmium: From Toxicity to Essentiality*. Springer Netherlands.
- MARIUSSEN, E., FJELD, E., BREIVIK, K., STEINNES, E., BORGES, A., KJELLBERG, G. & SCHLABACH, M. 2008. Elevated levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in fish from Lake Mjosa, Norway. *Science of the Total Environment*, 390, 132-141.
- MATTILSYNET 2013a. Ferskvannsfisk og kvikksølvforurensing. *Matportalen.no*.
- MATTILSYNET 2013b. Fraråder fiskelever fra selvfangst. *Matportalen.no*.
- MCGEER, J. C., SZEVEDINSZKY, C., MCDONALD, D. G. & WOOD, C. M. 2000. Effects of chronic sublethal exposure to waterborne Cu, Cd or Zn in rainbow trout. 1: Iono-regulatory disturbance and metabolic costs. *Aquatic Toxicology*, 50, 231-243.
- MOREL, F. M. M., KRAEPIEL, A. M. L. & AMYOT, M. 1998. THE CHEMICAL CYCLE AND BIOACCUMULATION OF MERCURY. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29, 543-566.
- MUELLER, C. S., RAMELOW, G. J. & BECK, J. N. 1989. SPATIAL AND TEMPORAL VARIATION OF HEAVY-METALS IN SEDIMENT CORES FROM THE CALCASIEU RIVER LAKE COMPLEX. *Water Air and Soil Pollution*, 43, 213-230.
- MULLER, B., LOTTER, A. F., STURM, M. & AMMANN, A. 1998. Influence of catchment quality and altitude on the water and sediment composition of 68 small lakes in Central Europe. *Aquatic Sciences*, 60, 316-337.
- MYASOEDOV, B. F. & DROZHKO, E. G. 1998. Up-to-date radioecological situation around the

- 'Mayak' nuclear facility. *Journal of Alloys and Compounds*, 271, 216-220.
- NACCI, D. E., KOHAN, M., PELLETIER, M. & GEORGE, E. 2002. Effects of benzo[a]pyrene exposure on a fish population resistant to the toxic effects of dioxin-like compounds. *Aquatic Toxicology*, 57, 203-215.
- NATURVERNFORBUNDET, H. 1998. Fisk i Tveitevatnet. *Upublisert*.
- NEWSTED, J. L., GIESY, J. P., ANKLEY, G. T., TILLITT, D. E., CRAWFORD, R. A., GOOCH, J. W., JONES, P. D. & DENISON, M. S. 1995. DEVELOPMENT OF TOXIC EQUIVALENCY FACTORS FOR PCB CONGENERS AND THE ASSESSMENT OF TCDD AND PCB MIXTURES IN RAINBOW-TROUT. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 14, 861-871.
- NIFES 2009. Målinger av kvikksølv og PCB i abbor, gjedde og ål i tveitevannet, Bergen kommune. Notat, nr.2. 1-3 s. + vedlegg. Nasjonalt institutt for ernærings- og sjømatforskning. .
- NILSEN, B., BERG, K., ARUKWE, A. & GOKSØYR, A. 1998a. Monoclonal and polyclonal antibodies against fish vitellogenin for use in pollution monitoring. *Mar Environ Res*, 46, 153 - 157.
- NILSEN, B. M., BERG, K. & GOKSØYR, A. 1998b. Induction of cytochrome P450 1A (CYP1A) in fish. A biomarker for environmental pollution. *Methods Mol Biol*, 107, 423-38.
- OIKARI, A. 2006. Caging techniques for field exposures of fish to chemical contaminants. *Aquatic Toxicology*, 78, 370-381.
- OKAY, O. S., KARACIK, B., BAŞAK, S., HENKELMANN, B., BERNHÖFT, S. & SCHRAMM, K. W. 2009. PCB and PCDD/F in sediments and mussels of the Istanbul strait (Turkey). *Chemosphere*, 76, 159-166.
- OLSVIK, P. A., AMLUND, H. & TORSTENSEN, B. E. 2011. Dietary lipids modulate methylmercury toxicity in Atlantic salmon. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 3258-3271.
- OLSVIK, P. A., LINDGREN, M. & MAAGE, A. 2013. Mercury contamination in deep-water fish: Transcriptional responses in tusk (*Brosme brosme*) from a fjord gradient. *Aquatic Toxicology*, 144–145, 172-185.
- PETHON, P. & NYSTRÖM, B. O. 2005. *Aschehougs store fiskebok: Norges fisker i farger*, [Oslo], Aschehoug.
- RAHMAN, M. S., MOLLA, A. H., SAHA, N. & RAHMAN, A. 2012. Study on heavy metals levels and its risk assessment in some edible fishes from Bangshi River, Savar, Dhaka, Bangladesh. *Food Chemistry*, 134, 1847-1854.
- RAM, R. N. & SINGH, S. K. 1988. Carbofuran-induced histopathological and biochemical changes in liver of the teleost fish, *Channa punctatus* (bloch). *Ecotoxicology and Environmental*

- Safety*, 16, 194-201.
- RAMACHANDRAN, S. D., HODSON, P. V., KHAN, C. W. & LEE, K. 2004. Oil dispersant increases PAH uptake by fish exposed to crude oil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 59, 300-308.
- RICE, C. D. & SCHLENK, D. 1995. Immune Function and Cytochrome P4501A Activity after Acute Exposure to 3,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl (PCB 126) in Channel Catfish. *Journal of Aquatic Animal Health*, 7, 195-204.
- RICHARD, M. R., FOX, M. E. & PICK, F. R. 1997. PCB Concentrations and Congener Composition in Macrophytes and Sediments in the St. Lawrence River near Cornwall, Ontario. *Journal of Great Lakes Research*, 23, 297-306.
- RICHTER, C. A., GARCIA-REYERO, N., MARTYNIUK, C., KNOEBL, I., POPE, M., WRIGHT-OSMENT, M. K., DENSLOW, N. D. & TILLITT, D. E. 2011. Gene expression changes in female zebrafish (*Danio rerio*) brain in response to acute exposure to methylmercury. *Environ Toxicol Chem*, 30, 301-8.
- ROGNERUD, S., FJELD, E. & LØVIK, J. E. 1997. Regional undersøkelse av miljøgifter i innsjøsedimenter. Delrapport 1. Organiske mikroforurensinger. Rapport 712. Statlig program for forurensingsovervåking.
- RUMMEL, A. M., TROSKO, J. E., WILSON, M. R. & UPHAM, B. L. 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbons with bay-like regions inhibited gap junctional intercellular communication and stimulated MAPK activity. *Toxicological Sciences*, 49, 232-240.
- RUTERETUR 2005. PCB Hva er det, hvilken skade kan det gjøre og hvor finnes det? Notat fra Ruteretur - Basiskunnskap om PCB.
- SCF 2002. Opinion of the Scientific Committee on Food on the risks to human health of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in food. *The European commission*.
- SCHLEZINGER, J. J. & STEGEMAN, J. J. 2001. Induction and suppression of cytochrome P450 1A by 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl and its relationship to oxidative stress in the marine fish scup (*Stenotomus chrysops*). *Aquat Toxicol*, 52, 101-15.
- SHARMA, C. M., ROSSELAND, B. O., ALMVIK, M. & EKLO, O. M. 2009. Bioaccumulation of organochlorine pollutants in the fish community in Lake Årungen, Norway. *Environmental Pollution*, 157, 2452-2458.
- SHEAR, H. 2006. The Great Lakes, an ecosystem rehabilitated, but still under threat. *Environmental Monitoring and Assessment*, 113, 199-225.
- SINDAYIGAYA, E., VAN CAUWENBERGH, R., ROBBERECHT, H. & DEELSTRA, H. 1994. Copper, zinc, manganese, iron, lead, cadmium, mercury and arsenic in fish from Lake

- Tanganyika, Burundi. *Science of The Total Environment*, 144, 103-115.
- SMITH, A. G. 2001. Chapter 60 - DDT and its Analogs. In: KRIEGER, R. I. K. C. (ed.) *Handbook of Pesticide Toxicology (Second Edition)*. San Diego: Academic Press.
- SMITH, A. G. & GANGOLLI, S. D. 2002. Organochlorine chemicals in seafood: occurrence and health concerns. *Food and Chemical Toxicology*, 40, 767-779.
- SUMPTER, J. P. & JOBLING, S. 1995. VITELLOGENESIS AS A BIOMARKER FOR ESTROGENIC CONTAMINATION OF THE AQUATIC ENVIRONMENT. *Environmental Health Perspectives*, 103, 173-178.
- SZEFER, P., DOMAGAŁA-WIELOSZEWSKA, M., WARZOCHA, J., GARBACIK-WESOŁOWSKA, A. & CIESIELSKI, T. 2003. Distribution and relationships of mercury, lead, cadmium, copper and zinc in perch (*Perca fluviatilis*) from the Pomeranian Bay and Szczecin Lagoon, southern Baltic. *Food Chemistry*, 81, 73-83.
- TAKAYAMA, S., SIEBER, S. M., DALGARD, D. W., THORGEIRSSON, U. P. & ADAMSON, R. H. 1999. Effects of long-term oral administration of DDT on nonhuman primates. *J Cancer Res Clin Oncol*, 125, 219-25.
- TAO, S. S. H. & BOLGER, P. M. 2014. Toxic Metals: Arsenic. In: MOTARJEMI, Y. (ed.) *Encyclopedia of Food Safety*. Waltham: Academic Press.
- TIMBRELL, J. A. 1998. Biomarkers in toxicology. *Toxicology*, 129, 1-12.
- TOWBIN, H., STAHELIN, T. & GORDON, J. 1979. ELECTROPHORETIC TRANSFER OF PROTEINS FROM POLYACRYLAMIDE GELS TO NITROCELLULOSE SHEETS - PROCEDURE AND SOME APPLICATIONS. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76, 4350-4354.
- TOXNET 2005. *Toxicology Data Network*, <http://toxnet.nlm.nih.gov/>.
- TREFRY, J. H., TROCINE, R. P., COOPER, L. W. & DUNTON, K. H. 2014. Trace metals and organic carbon in sediments of the northeastern Chukchi Sea. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 102, 18-31.
- TUVIKENE, A. 1995. RESPONSES OF FISH TO POLYCYCLIC AROMATIC-HYDROCARBONS (PAHS). *Annales Zoologici Fennici*, 32, 295-309.
- UPHAM, B. L., WEIS, L. M. & TROSKO, J. E. 1998. Modulated gap junctional intercellular communication as a biomarker of PAH epigenetic toxicity: Structure-function relationship. *Environmental Health Perspectives*, 106, 975-981.
- VAN DEN BERG, M., BIRNBAUM, L. S., DENISON, M., DE VITO, M., FARLAND, W., FEELEY, M., FIEDLER, H., HAKANSSON, H., HANBERG, A., HAWS, L., ROSE, M., SAFE, S., SCHRENK, D., TOHYAMA, C., TRITSCHER, A., TUOMISTO, J., TYSKLIND,

- M., WALKER, N. & PETERSON, R. E. 2006. The 2005 World Health Organization reevaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicological Sciences*, 93, 223-241.
- VAN DER OOST, R., BEYER, J. & VERMEULEN, N. P. E. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13, 57-149.
- VEGA-LÓPEZ, A., MARTÍNEZ-TABCHE, L., DOMÍNGUEZ-LÓPEZ, M. L., GARCÍA-LATORRE, E., RAMÓN-GALLEGOS, E. & GARCÍA-GASCA, A. 2006. Vitellogenin induction in the endangered goodeid fish *Girardinichthys viviparus*: Vitellogenin characterization and estrogenic effects of polychlorinated biphenyls. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 142, 356-364.
- VEGA-LOPEZ, A. N., MARTINEZ-TABCHE, L., DOMINGUEZ-LOPEZ, M. L., GARCIA-LATORRE, E., RAMON-GALLEGOS, E. & GARCIA-GASCA, A. 2006. Vitellogenin induction in the endangered goodeid fish *Girardinichthys viviparus*: Vitellogenin characterization and estrogenic effects of polychlorinated biphenyls. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology*, 142, 356-364.
- VIGNIER, V., VANDERMEULEN, J. H. & FRASER, A. J. 1992. Growth and Food Conversion by Atlantic Salmon Parr during 40 Days' Exposure to Crude Oil. *Transactions of the American Fisheries Society*, 121, 322-332.
- VIJAYAN, M. M., PEREIRA, C., KRZYNSKI, G. & IWAMA, G. K. 1998. Sublethal concentrations of contaminant induce the expression of hepatic heat shock protein 70 in two salmonids. *Aquatic Toxicology*, 40, 101-108.
- VOS, J. G., DYBING, E., GREIM, H. A., LADEFOGED, O., LAMBRE, C., TARAZONA, J. V., BRANDT, I. & VETHAAK, A. D. 2000. Health effects of endocrine-disrupting chemicals on wildlife, with special reference to the European situation. *Crit Rev Toxicol*, 30, 71-133.
- VOZNESENSKY, M., LENZ, P. H., SPANINGS-PIERROT, C. & TOWLE, D. W. 2004. Genomic approaches to detecting thermal stress in *Calanus finmarchicus* (Copepoda: Calanoida). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 311, 37-46.
- VUORINEN, P. J., KEINÄNEN, M., VUONTISJÄRVI, H., BARŠIENĖ, J., BROEG, K., FÖRLIN, L., GERCKEN, J., KOPECKA, J., KÖHLER, A., PARKKONEN, J., PEMPKOWIAK, J. & SCHIEDEK, D. 2006. Use of biliary PAH metabolites as a biomarker of pollution in fish from the Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 53, 479-487.
- WALKER, C. H., SIBLY, R. M., HOPKIN, S. P. & PEAKALL, D. B. 2006. Principles of Ecotoxicology. *Taylor & Francis Group, I.I.C*, 149 - 163.

- WEIS, L. M., RUMMEL, A. M., MASTEN, S. J., TROSKO, J. E. & UPHAM, B. L. 1998. Bay or baylike regions of polycyclic aromatic hydrocarbons were potent inhibitors of gap junctional intercellular communication. *Environmental Health Perspectives*, 106, 17-22.
- WHO, W. H. O. 2010. World Health Organization (WHO) cadmium guidelines. *The Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)*.
- WHO, W. H. O. 2011a. Evaluations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Lead. *World Health Organization*.
- WHO, W. H. O. 2011b. Evaluations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Mercury. *World health organization*.
- WIRGIN, I. & WALDMAN, J. R. 2004. Resistance to contaminants in North American fish populations. *Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 552, 73-100.
- YANG, J., CHEN, L., LIU, L. Z., SHI, W. L. & MENG, X. Z. 2014. Comprehensive risk assessment of heavy metals in lake sediment from public parks in Shanghai. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 102, 129-135.
- YI, Y., YANG, Z. & ZHANG, S. 2011. Ecological risk assessment of heavy metals in sediment and human health risk assessment of heavy metals in fishes in the middle and lower reaches of the Yangtze River basin. *Environmental Pollution*, 159, 2575-2585.
- ZANG, Y. & BOLGER, P. M. 2014. Toxic Metals: Cadmium. *In: MOTARJEMI, Y. (ed.) Encyclopedia of Food Safety*. Waltham: Academic Press.
- ZONTA, R., ZAGGIA, L. & ARGESE, E. 1994. Heavy metal and grain-size distributions in estuarine shallow water sediments of the Cona Marsh (Venice Lagoon, Italy). *Science of The Total Environment*, 151, 19-28.

Appendiks A

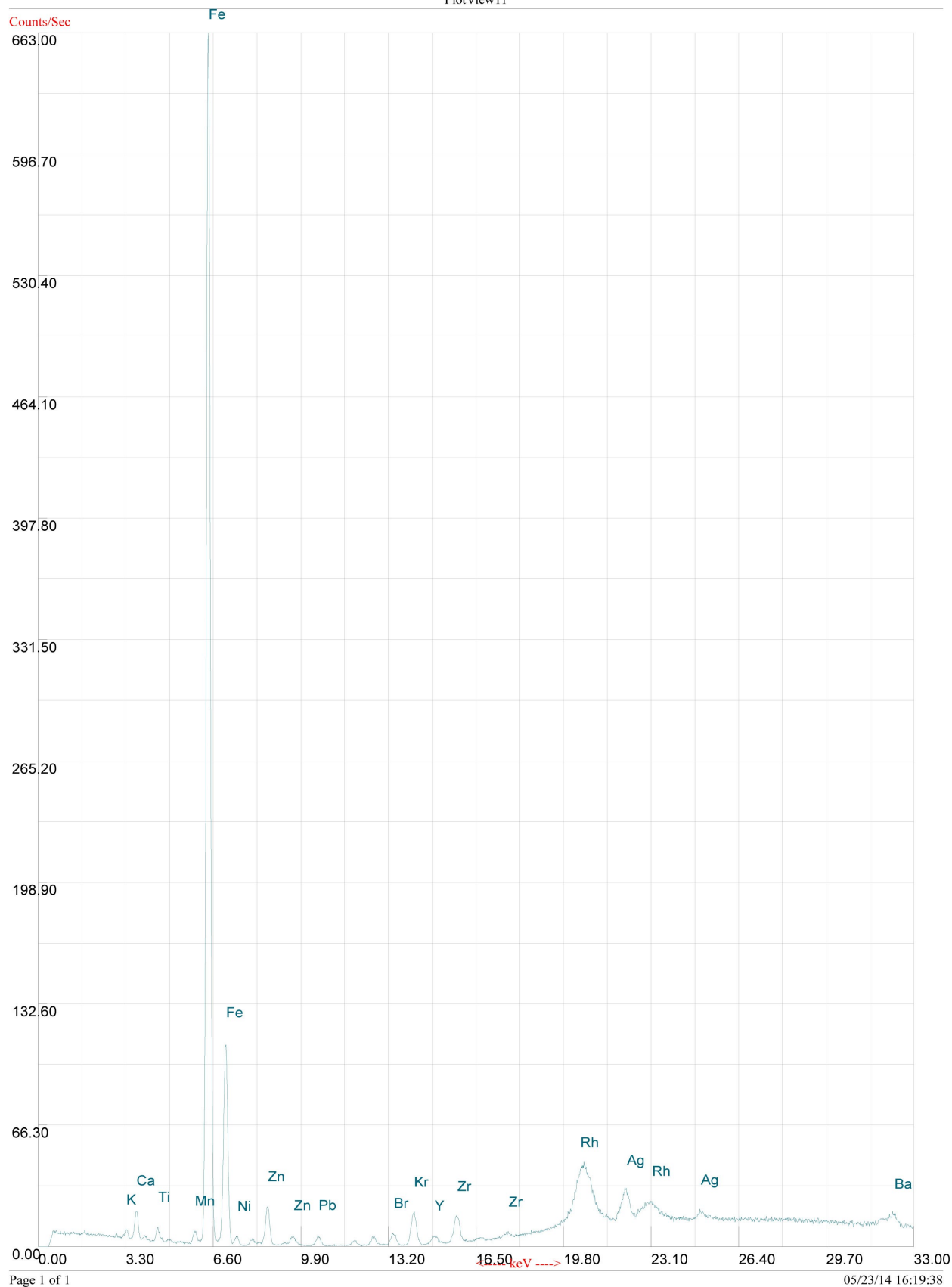
Informasjon om undersøkingane utført på sedimentprøvene

Vatn	Glødetap (%)	Gjennomsnitt (%)
TV1	23,83	
TV2	27,43	
TV3	27,75	
TV4	24,13	
TV5	21,76	24,98
TV6	0,94	20,97
MV1	30,90	
MV2	27,42	
MV3	52,01	
MV4	30,49	35,21
SV1	21,62	
SV2	13,56	
SV3	19,96	
SV4	17,34	
SV5	21,73	18,84
STV1	39,50	
STV2	40,39	
STV3	38,41	
STV4	40,08	
STV5	39,19	39,51
KBV1	30,80	
KBV2	24,39	
KBV3	30,17	
KBV4	25,99	
KBV5	23,67	27

Tabell A.1: Glødetapet frå alle sedimentstasjonane

Prøve	>150 µm	125 µm	63 µm	< 63 µm	Totalt
TV1	0,19	2,39	3,46	4,35	10,39
TV2	0,24	3,6	3,41	3,01	10,25
TV3	0,09	3,01	3,32	3,58	10
TV4	0,16	3,85	3,17	2,8	9,97
TV5	0,93	6,08	1,52	1,81	10,34
TV6	10,33	0,07	0,12	-	10,51
MV1	0,13	4,62	3,53	0,87	9,16
MV2	0,87	4,73	3,11	1,35	10,06
MV3	2,06	3,54	2,56	1,89	10,05
MV4	0,51	4,08	3,23	2,27	10,09
SV1	0,16	3,68	2,44	4,25	10,54
SV2	0,77	4,84	2,23	2,47	10,31
SV3	0,09	2,44	2,15	5,71	10,39
SV4	0,29	5,5	1,81	2,77	10,36
SV5	0,8	4,73	2,04	2,72	10,28
STV1	0,03	3,44	4,4	1,42	9,29
STV2	0,11	2,73	3,32	2,73	8,88
STV3	0,28	3,84	4,09	1,66	9,86
STV4	0,13	5,57	2,27	1,18	9,15
STV5	0,27	3,48	3,47	1,9	9,11
KBV1	3,07	3,68	1,44	1,49	9,68
KBV2	0,34	3,28	2,12	4,29	10,03
KBV3	0,2	6,19	1,8	2,26	10,46
KBV4	0,39	4,48	2,18	3,15	10,19
KBV5	0,75	4,78	2,24	2,28	10,05

Tabell A.2: Kornfordeling frå alle sedimentstasjonane



Figur A.1: Eit døme på spekteranalysene av metall i sedimanta som vart teke med handholdt XRF. Dette spekteret viser analyse for stasjon 1 i TV

Metall	Tveitevatnet (mg/kg)	Myrvatnet (mg/kg)	Solheimsvatnet (mg/kg)	Storetveitevatnet (mg/kg)	Kristianborgvatnet (mg/kg)	Elv (mg/kg)
Mo	< LOD	< LOD	5,28 ± 2,21	< LOD	< LOD	< LOD
Zr	73,33 ± 9,76	75,26 ± 46,99	114,12 ± 11,39	43,03 ± 19,07	128,51 ± 46,89	132,77
Sr	106,34 ± 18,33	111,62 ± 48,16	124,58 ± 15,72	64,66 ± 26,56	139,33 ± 48,22	195,53
U	< LOD	7,21 ± < LOD	11,67 ± 2,81	8,14 ± < LOD	11,36 ± 4,16	9,96
Rb	21,07 ± 7,71	16,53 ± 5,18	28,64 ± 3,52	11,91 ± 5,76	23,63 ± 7,17	27,44
Th	12,9 ± 3,72	10,22 ± 3,36	14,74 ± 1,91	7,93 ± 2,36	10,99 ± 2,84	9,95
Pb	135,52 ± 58,19	98,72 ± 29,23	84,59 ± 17,69	89,46 ± 37,26	72,27 ± 29,75	21,76
Se	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
As	12,92 ± 0,75	10,31 ± 5,57	< LOD	< LOD	7,7 ± 1,77	< LOD
Hg	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Au	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Zn	497,88 ± 283,85	747,37 ± 459,71	456,64 ± 146,68	628,74 ± 615,56	544,84 ± 212,72	125,17
W	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Cu	136,86 ± 67,03	141,41 ± 34,97	74,02 ± 17,58	153,89 ± 47,22	79,8 ± 31,22	34,74
Ni	< LOD	< LOD	52,63 ± < LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Co	< LOD	< LOD	< LOD	130,19 ± < LOD	< LOD	< LOD
Fe	96652,49 ± 59404,06	45065,94 ± 16254,3	71472,52 ± 21198,67	20140,22 ± 8374,62	23391,38 ± 5689,61	20559,53
Mn	838,69 ± 419,05	2083,31 ± 1496,29	639,72 ± 94,66	340,36 ± 39,92	421,81 ± 140,47	448,83
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
V	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Ti	4629,71 ± 4995,74	3916,1 ± 2659,77	3459,4 ± 2188,81	15008,83 ± 18994,3	3915,65 ± 5472,37	2124,43
Sb	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Sn	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Cd	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Pd	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Ag	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
BaI	899766,94 ± 40056,66	938379,34 ± 14716,52	917699,65 ± 17049,4	958763,64 ± 4521,15	962461,55 ± 4055,61	966926,94
Nb	6,83 ± 3,33	8,02 ± 2	11,09 ± 2,54	5,42 ± 1,51	9,06 ± 2,47	7,93
Bi	10,08 ± 2,22	8,31 ± 2,47	10,92 ± 2,51	6,77 ± 0,95	9,97 ± 1,98	5,88
Re	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Ta	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Hf	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

Tabell A.3: Alle elementanalyser i sedimenta.

PCB kongen	Tveitevatnet	Myrvatnet	Solheimsvatnet	Storetveitevatnet	Kristiansborgvatnet
PCB 28	1,04	0,63	0,44	2,05	2,79
PCB 31	0,50	0,39	0,21	1,39	2,04
PCB 52	4,86	2,17	2,71	4,84	2,90
PCB 101	16,92	7,14	4,97	12,91	5,75
PCB 105	2,98	1,59	1,00	2,68	1,58
PCB 118	9,85	4,68	2,78	7,01	4,21
PCB 138	21,55	7,68	4,42	16,21	5,94
PCB 153	25,72	9,21	5,05	19,20	6,74
PCB 156	2,01	0,79	0,26	1,53	0,63
PCB 180	15,04	5,38	2,89	11,84	3,16
Sum	100,48	39,66	24,74	79,66	35,74

Tabell A.4: Verdiane på alle målte PCB-kongen i samleprøvene.

Appendiks B

Informasjon om prøvematerialet frå abbor

Prøve	Lever (mg/mL)	Plasma (mg/mL)
MV6	35,10	2,36
MV7	34,54	12,10
MV8	37,60	2,08
MV9	34,54	2,03
MV10	33,71	1,91
MV11	33,71	-
MV12	23,98	19,90
MV13	33,43	1,85
MV14	36,48	2,20
MV15	16,48	21,10
MV16	26,76	20,40
MV17	18,70	1,11
MV18	21,20	1,87
MV19	22,31	1,96
MV20	20,37	2,21
TV1	30,65	2,04
TV2	20,92	2,20
TV3	25,93	2,11
TV4	30,65	2,38
TV5	34,54	24,90
TV6	36,21	2,04
TV7	43,99	2,47
TV8	33,71	2,08
TV9	26,76	2,01
TV10	35,65	2,06
TV11	22,59	-
TV12	42,32	-
TV13	39,54	-

Tabell B.1: *Alle verdiane for proteinkonsentrasjon i lever og plasma.*

	PCB-28 ^a	PCB-52	PCB-101	PCB-118 ^b	PCB-138 ^c	PCB-153	PCB-180	LB	UB	LB	UB	op-DDT	pp-DDT	op-DDD	pp-DDD	op-DDE	pp-DDE	LB
	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	Sum PCB 6	Sum PCB 6	Sum PCB 7	Sum PCB 7	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	Sum DDT
Myrvatn 6	< 0,05	0,08	0,2	0,2	0,7	0,7	0,4	2	2	2,2	2,2	< 0,05	0,07	< 0,05	0,1	< 0,05	0,4	0,6
Myrvatn 7	< 0,05	0,09	0,2	0,3	0,9	0,8	0,5	2,5	2,5	2,8	2,9	< 0,05	0,2	< 0,05	0,1	< 0,05	0,5	0,8
Myrvatn 8	< 0,05	0,1	0,5	0,7	1,6	1,4	0,5	4,1	4,1	4,8	4,8	< 0,05	0,1	0,05	0,3	< 0,05	1,1	1,5
Myrvatn 9	< 0,05	0,08	0,1	0,2	0,5	0,5	0,3	1,6	1,6	1,7	1,8	< 0,05	< 0,05	< 0,05	0,07	< 0,05	0,3	0,4
Myrvatn 10	< 0,05	0,1	0,2	0,3	0,7	0,6	0,3	1,9	2	2,2	2,2	< 0,05	0,06	< 0,05	0,08	< 0,05	0,4	0,5
Myrvatn 11	< 0,05	0,2	0,2	0,2	0,6	0,5	0,2	1,6	1,6	1,8	1,8	0,06	0,1	< 0,05	0,2	< 0,05	0,4	0,8
Myrvatn 12	< 0,05	0,09	0,2	0,3	0,9	0,8	0,4	2,4	2,4	2,7	2,7	< 0,05	0,1	< 0,05	0,2	< 0,05	0,6	0,8
Myrvatn 13	< 0,05	0,09	0,2	0,2	0,5	0,4	0,1	1,2	1,3	1,4	1,5	< 0,05	0,1	< 0,05	0,1	< 0,05	0,4	0,6
Myrvatn 14	< 0,05	0,2	0,2	0,3	0,8	0,7	0,4	2,2	2,2	2,5	2,6	0,05	0,1	< 0,05	0,1	< 0,05	0,4	0,7
Myrvatn 15	< 0,05	0,2	0,3	0,4	1,2	1,1	0,5	3,3	3,3	3,6	3,7	0,06	0,2	< 0,05	0,1	< 0,05	0,7	1
Myrvatn 17	< 0,05	0,07	0,2	0,4	1	0,9	0,4	2,6	2,6	2,9	3	< 0,05	0,07	< 0,05	0,09	< 0,05	0,5	0,7
Myrvatn 18	< 0,05	0,1	0,2	0,3	0,6	0,5	0,2	1,6	1,7	1,9	1,9	< 0,05	0,06	< 0,05	0,1	< 0,05	0,3	0,4
Myrvatn 19	< 0,05	0,5	2	3,3	7	4,7	1,5	16	16	19	19	< 0,05	0,2	< 0,05	0,1	< 0,05	0,8	1
Myrvatn 20	< 0,05	0,1	0,8	1,1	2,5	1,5	0,6	6	6	7	7	< 0,05	0,07	< 0,05	0,07	< 0,05	0,3	0,4
Tveitvatn 1	< 0,05	0,08	0,2	0,3	1	0,8	0,5	2,5	2,6	2,8	2,8	< 0,05	0,06	< 0,05	0,2	< 0,05	0,1	0,3
Tveitvatn 2	< 0,05	0,1	0,3	0,3	1,1	0,9	0,5	3	3	3,3	3,3	< 0,05	0,08	< 0,05	0,2	< 0,05	0,2	0,4
Tveitvatn 3	< 0,05	0,1	0,3	0,2	1	0,8	0,4	2,5	2,6	2,7	2,8	< 0,05	0,07	< 0,05	0,2	< 0,05	0,2	0,4
Tveitvatn 4	< 0,05	0,08	0,2	0,2	0,8	0,6	0,3	1,9	1,9	2,1	2,1	< 0,05	0,05	< 0,05	0,1	< 0,05	0,1	0,3
Tveitvatn 5	< 0,05	0,2	0,4	0,5	1,8	1,5	1	4,9	4,9	5	5	< 0,05	0,08	0,05	0,2	< 0,05	0,3	0,6
Tveitvatn 6	< 0,05	0,08	0,3	0,3	1,1	0,9	0,5	2,8	2,9	3,1	3,2	< 0,05	0,07	< 0,05	0,2	< 0,05	0,2	0,4
Tveitvatn 7	< 0,05	0,08	0,1	0,2	0,6	0,5	0,3	1,7	1,7	1,8	1,9	< 0,05	0,05	0,05	0,1	< 0,05	0,1	0,3
Tveitvatn 8	< 0,05	0,1	0,3	0,4	1,4	1,1	0,7	3,6	3,7	4	4	< 0,05	0,07	< 0,05	0,2	< 0,05	0,2	0,4
Tveitvatn 9	< 0,05	0,09	0,2	0,2	0,6	0,5	0,2	1,6	1,7	1,9	1,9	< 0,05	0,07	0,05	0,1	< 0,05	0,2	0,4
Tveitvatn 10	< 0,05	0,05	0,1	0,2	0,6	0,4	0,3	1,5	1,6	1,7	1,8	< 0,05	< 0,05	< 0,05	0,07	< 0,05	0,1	0,2
Tveitvatn 11	< 0,05	< 0,1	0,2	0,2	0,6	0,5	0,2	1,4	1,6	1,6	1,8	< 0,05	0,07	< 0,05	0,09	< 0,05	0,3	0,4
Tveitvatn 12	< 0,05	< 0,1	0,1	0,1	0,4	0,3	0,2	1,1	1,2	1,2	1,3	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	0,08	0,08

Tabell B.2: Dataa frå PCB og DDT i muskelvevet

Metaller	Muskelvev		Levervev	
	Tveitevatnet(mg/kg)	Myrvatnet(mg/kg)	Tveitevatnet(mg/kg)	Myrvatnet(mg/kg)
Ag	<0,002	<0,002	-	-
As	0,12 ± 0,1	0,08 ± 0,0	0,08 ± 0,0	0,41 ± 0,1
Ba	0,17 ± 0,2	0,11 ± 0,1	-	-
Cd	<0,001	<0,001	0,42 ± 0,1	0,41 ± 0,0
Co	0,00 ± 0,0	0,01 ± 0,0	0,24 ± 0,1	0,28 ± 0,0
Cu	0,15 ± 0,0	0,19 ± 0,1	7,90 ± 4,5	7,30 ± 2,2
Fe	1,77 ± 0,4	2,53 ± 0,5	430 ± 108,2	470 ± 75,5
Hg	0,11 ± 0,0	0,13 ± 0,0	0,12 ± 0,0	0,09 ± 0,0
Mn	0,23 ± 0,1	0,29 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,30 ± 0,1
Mo	<0,001	<0,001	-	-
Pb	0,01 ± 0,0	0,01 ± 0,0	0,81 ± 0,8	1,16 ± 0,7
Se	0,60 ± 0,1	0,55 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,60 ± 0,1
Sn	0,00 ± 0,0	0,01 ± 0,0	-	-
Sr	0,20 ± 0,1	0,28 ± 0,2	-	-
V	0,00 ± 0,0	0,01 ± 0,0	-	-
Zn	5,31 ± 2,1	4,93 ± 0,5	28 ± 3,5	27 ± 1,2

Tabell B.3: Alle metallanalysane som vart gjort i muskelvev og levervev på abbor i Tveitevatnet og Myrvatnet

