

# Fosfori ja typpi kasviplanktonin kasvua rajoittavina ravinteina Vanajavedellä – alueellinen ja ajallinen vaihtelu

Pro gradu -tutkielma

Helsingin yliopisto

Akvaattiset tieteet

Henna Raitanen

5.5.2020

Tiedekunta – Fakultet – Faculty Bio- ja ympäristötieteellinen tiedekunta		Koulutusohjelma – Utbildningsprogram – Degree Programme Akvaattisten tieteiden koulutusohjelma	
Tekijä – Författare – Author Henna Raitanen			
Työn nimi – Arbetets titel – Title Fosfori ja typpi kasviplanktonin kasvua rajoittavina ravinteina Vanajavedellä – alueellinen ja ajallinen vaihtelu			
Oppiaine/Opintosuunta – Läroämne/Studieinriktning – Subject/Study track Akvaattiset tieteet			
Työn laji – Arbetets art – Level Pro gradu –tutkielma		Aika – Datum – Month and year 5.5.2020	Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages 50
Tiivistelmä – Referat – Abstract			
<p>Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää mikä on rehevöityneen Vanajaveden kasviplanktonin kasvua rajoittava ravinne ja onko siinä alueellista ja vuodenaikaista vaihtelua. Työssä arvioitiin myös Paroisten jätevedenpuhdistamon vaikutusta vesistön ravinnepitoisuuksiin ja rajoittavaan ravinteeseen. Tutkimusmenetelmiä vertailemalla selvitettiin, soveltuuko luonnon leväyhteisöllä toteutetut minimiravinnekoeket ja kasviplanktonin vasteen mittaaminen fluoresenssina rajoittavan ravinteiden määrittämiseen. Fluoresenssituloksia verrattiin minimiravinnekoeken a-klorofyllipitoisuuksiin ja kirjallisuuden ravinne- eli N:P-suhteisiin.</p> <p>Suomen pintavesien on oltava EU:n vesipuitedirektiivin mukaisesti vähintään hyvässä ekologisessa tilassa vuoteen 2027 mennessä. Kasviplanktonin kasvua rajoittava ravinne haluttiin selvittää, sillä minimiravinteiden tietäminen edesauttaa tehokkaiden kunnostustoimenpiteiden suunnittelua ja toteuttamista. Vanajanreitti on ekologiselta tilaltaan välttävä ja Vanajanselkä tyydyttävä.</p> <p>Viiidestä tutkimuspisteestä kolme sijaitsi Vanajanreiteillä ja kaksi Vanajanselällä. Kasviplanktonin kasvua rajoittavan ravinteiden selvittämiseksi tehtiin kasvatuskokeet marras-, maaliskuu-, touko-, heinä- ja elokuussa otetuista näytevesistä. Laboratoriossa tehdyissä kokeissa valaistus ja lämpötila säädettiin jokaisen kasvatuksen ajaksi muistuttamaan sen hetkisiä luonnonolosuhteita. Näytevesistä poistettiin eläinplankton suodattamalla vedet 50 µm planktonhaavin läpi. Käsittelyjä oli neljä: kontrolli ilman ravinneisäystä, typpisäys, fosforisäys ja typpi+fosforisäys. Kasviplanktonin vaste eri käsittelyihin mitattiin kasvatusten aikana säännöllisin väliajoin fluoresenssina käyttäen fluorometrisensoria ja kasvatusten lopuksi analysoitiin lisäksi a-klorofyllipitoisuus laboratoriossa. Ennen jokaista kasvatusta myös näytepisteiden ravinnepitoisuudet määritettiin.</p> <p>Tutkimuksen aikana havaittiin alueellisia ja ajallisia muutoksia rajoittavassa ravinteessa ja ravinnepitoisuuksissa. Nämä muutokset selittyvät vuodenaikojen vaihtumisella, ravinnekuormituksella jätevedenpuhdistamolta sekä denitrifikaatiolla Vanajanselällä. Minimiravinnekoeket mitattujen fluoresenssilukemien ja a-klorofyllipitoisuuksien mukaan fosfori rajoitti kasviplanktonin kasvua Vanajanreiteillä ja Vanajanselällä ympäri vuoden. Elokuussa kaikilla näytepisteillä fosforin lisäksi myös typpi oli rajoittava ravinne, eli havaittiin yhteisrajoittavuutta. Yhteisrajoittavuustilanteissa joko ei havaittu toissijaisesti rajoittavaa ravinnettä tai se oli fosfori. Vain kerran, elokuussa pisteellä ennen jätevedenpuhdistamoa havaittiin yhteisrajoittavuustilanne, jossa typpi oli toissijaisesti rajoittava ravinne. Pelkkä typpi ei ollut yksinään kasviplanktonin kasvua rajoittava ravinne yhdenkään kasvatuksen aikana.</p> <p>Ravinnepitoisuudet olivat keskimäärin korkeammat Vanajanreiteillä kuin Vanajanselällä. Ravinnesuhteiden perusteella määritetty rajoittava ravinne antoi samansuuntaisia tuloksia kuin kasvatuskokeet. Kasvatuskokeet kuitenkin antoivat rajoittavasta ravinteesta tarkemman kuvan kuin N:P-suhteet, jotka ovat useiden eri järvien keskiarvo eivätkä siten välttämättä sovellu tarkan järviokohtaisen tiedon saamiseen rajoittavasta ravinteesta.</p> <p>Kasvatusten a-klorofyllimääritykset antoivat varmistuksen siitä, että fluoresenssi oli luotettava tapa mitata kasviplanktonin vastetta ravinneisäyksiin. Fluoresenssimittari, joka mittaa a-klorofyllin lisäksi myös syanobakteereille tyypillisen yhteystypigmentin, fykosyaniinin fluoresenssia olisi vielä entuudestaan parantanut kasvatuskokeiden tarkkuutta.</p> <p>Koska tulosten perusteella Vanajavesi on selvästi fosforirajoitteinen ja vesistössä esiintyy säännöllisesti typensidontaan kykeneviä syanobakteerilajeja, vain fosforikuormituksen vähentäminen oletettavasti hillitsee kasviplanktonin kasvua. Paroisten puhdistamon fosforinpoistoteho on jo erinomainen. Vanajaveden fosforikuormasta suurin osa on peräisin maataloudesta ja näiden päästöjen merkittävä vähentäminen on edellytys sille, että Vanajanreitti ja Vanajanselkä saadaan hyvään ekologiseen tilaan vuoteen 2027 mennessä.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords Rajoittava ravinne, kasviplankton, fosfori, typpi, minimiravinnekoeket, kasvatuskoe, rehevöityminen, sisävesistö			
Ohjaaja tai ohjaajat – Handledare – Supervisor or supervisors Jukka Horppila, Tiina Tulonen ja Lauri Arvola			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited Bio- ja ympäristötieteellinen tiedekunta			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information			

Tiedekunta – Fakultet – Faculty Faculty of Biological and Environmental Sciences		Koulutusohjelma – Utbildningsprogram – Degree Programme Degree Programme in Aquatic Sciences	
Tekijä – Författare – Author Henna Raitanen			
Työn nimi – Arbetets titel – Title Phosphorus and nitrogen as phytoplankton limiting nutrients in Vanajavesi – temporal and seasonal changes			
Oppiaine/Opintosuunta – Läroämne/Studieinriktning – Subject/Study track Aquatic Sciences			
Työn laji – Arbetets art – Level Master's thesis		Aika – Datum – Month and year 5.5.2020	Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages 50
Tiivistelmä – Referat – Abstract			
<p>In this study, the goal was to determine which nutrient, phosphorus or nitrogen, limits the phytoplankton growth at the Vanajavesi freshwater site. The aims were to detect spatial and temporal changes and find out if the wastewater treatment plant (hereafter, WWTP) located by the study site affects the nutrient concentrations and the limiting nutrient. The reliability of determining limiting nutrient by bioassays and measuring the phytoplankton response to different treatments as fluorescence was also evaluated.</p> <p>The study was conducted because knowledge of nutrient limitation is essential when allocating resources to reduce nutrient loading and planning other remediation practices in eutrophicated waterbodies. According to the EU Water Framework Directive, all waterbodies in the EU must be in a good ecological status by the year 2027. This goal is yet to be achieved in Vanajavesi; the ecological status of the river Vanajanreitti is poor and that of lake Vanajanselkä is moderate.</p> <p>The samples for bioassays were taken from five different locations. Three sampling sites were in the river and two by the lake. Based on the direction which the water flows, one of the sampling sites was before the outlet from the WWTP and the rest after it.</p> <p>The bioassays were carried out with the water and natural phytoplankton community taken from the study site. The experiment was conducted five times: in November, March, May, July and August. The temperature and light conditions in the incubation room were set to mimic those in Vanajavesi at each given time. Part of the preparations was to filter out the zooplankton using 50 µm plankton net.</p> <p>There were four different treatments: control without nutrient additions, nitrogen addition, phosphorus addition and nitrogen and phosphorus additions. Fluorescence from the 2 litre incubation bottles was measured every 1-3 days during each experiment. Chlorophyll a was determined in laboratory before and after the experiments. Nutrient concentrations were also determined before each experiment.</p> <p>Small seasonal and temporal changes were observed in the nutrient concentrations and the limiting nutrient. These changes were most likely due to changing seasons, effluent from the WWTP and denitrification at lake Vanajanselkä. Phosphorus limited phytoplankton growth year around at all places. At the end of the summer also nitrogen was limiting. In July co-limitation was detected in all sampling sites. In situations of co-limitation there was either no secondary limiting nutrient, or it was phosphorus. Only once, in August at the sampling point before the outlet from the WWTP, was the secondary limiting nutrient nitrogen.</p> <p>On average the nutrient concentrations were higher in the river than in the lake. Chlorophyll a concentrations and some nutrient concentrations were higher after the WWTP. However, no significant negative impact due to WWTP could be detected, especially at lake Vanajanselkä and the WWTP did not result in a change from phosphorus limitation to nitrogen limitation.</p> <p>Bioassays and the phytoplankton yield measured with a fluorometer was a reliable way of determining the limiting nutrient. Chlorophyll a concentrations verified the fluorescence results. The probe used in this study measured only the fluorescence of chlorophyll a. Even more accurate result of the phytoplankton biomass would have been obtained with a probe that measures also the fluorescence of phycocyanin, the photosynthetic pigment in cyanobacteria, because cyanobacteria has less chlorophyll a than other phytoplankton groups.</p> <p>As Vanajavesi is phosphorus limited or co-limited by phosphorus and nitrogen year around, reductions in phosphorus loading will likely improve the water quality. The main source of phosphorus to Vanajavesi is the nutrient loading from agricultural practises on the drainage basin. Efficient management of this diffuse loading will cause the phytoplankton biomass, especially the biomass of harmful cyanobacteria, to decrease. Nitrogen-fixing cyanobacteria is not dependent on the nitrogen concentrations in the water column, but the concentration of phosphorus. Significantly reducing the phosphorus loading is a prerequisite for the Vanajanreitti and Vanajavesi to be in a good ecological status by the year 2027.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords Limiting nutrient, phytoplankton, phosphorus, nitrogen, bioassay, eutrophication, freshwater			
Ohjaaja tai ohjaajat – Handledare – Supervisor or supervisors Jukka Horppila, Tiina Tulonen and Lauri Arvola			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited Faculty of Biological and Environmental Sciences			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information			

# Sisällysluettelo

Johdanto .....	3
Rehevöityminen.....	3
Kasviplanktonin kasvu .....	4
Kasviplanktonin kasvua rajoittavat ravinteet .....	5
Minimiravinnekoeket .....	8
Tutkimuksen tarkoitus.....	10
Tutkimusalue .....	11
Aineisto ja menetelmät .....	14
Näytteenotto .....	14
Minimiravinnekoeket .....	15
Laboratorioanalyysit.....	17
Fluoresenssin mittaus.....	18
Kasviplankton .....	19
Tilastollinen testaus.....	20
Tulokset .....	20
Vanajaveden vedenlaatu.....	20
Minimiravinnekoeket .....	23
Ravinneresultat.....	27
Kasviplanktonilajisto.....	28
Tulosten tarkastelu.....	29
Ajallinen ja alueellinen vaihtelu .....	29
Jätevedenpuhdistamon vaikutus.....	31
Mittausmenetelmien vertailu.....	34
Johtopäätökset .....	36
Kiitokset.....	37
Lähdeluettelo.....	37
Liitteet.....	43

# Johdanto

## Rehevöityminen

Jokiin ja järviin päätyvä typpi (N) ja fosfori (P) lisäävät vesistöjen perustuotantoa ja ajan myötä vesipatsaan, sedimentin sekä huokosveden ravinnepitoisuus nousee (Holling, 1973). Ilmiötä kutsutaan rehevöitymiseksi. Koska perustuottajat, eli vesikasvit ja levät muodostavat perustan vesistön ravintoverkolle, johtaa veden kohonnut ravinnepitoisuus muidenkin trofiatasojen biomassan kasvuun (Schindler, 2006). Hajotustoiminnassa kuluu happea. Kun hajotettavaa biomassaa on enemmän, happi voi loppua kesän kerrostuneisuuskaudella alusvedestä. Pitkien ja kuumien kesien aikana rehevöityneiden järvien happikadot voivat johtaa kalakuolemiin. Kalakuolemia voi esiintyä myös talvella, etenkin matalissa ja rehevissä järvissä (Venugopalan ym., 1998). Alusveden hapettomuus on haitallista myös pohjaeläimille (Scavia ym., 2014).

Typeä ja fosforia päätyy vesistöihin hajakuormituksena, mm. pintavaluntana pelloilta ja pistekuormituksena esimerkiksi jätevedenpuhdistamoilta. Suomessa jätevedenpuhdistamoiden puhdistusprosessit ovat niin tehokkaita, että suurin osa ravinteista saadaan poistettua vedestä ennen kuin puhdistettu vesi johdetaan luonnonvesistöihin. Fosforista saatiin vuonna 2010 puhdistettua Suomen jätevedenpuhdistamoilla keskimäärin 95,9 %, typestä 55,8 % ja orgaanisesta aineesta 96,7 % (Säylä & Vilpas, 2012). Tästä huolimatta jätevedenpuhdistamon vaikutus on yleensä havaittavissa alapuolisessa vesistössä.

Rehevöityminen kiihdyttää itse itseään. Järvien sedimentteihin on varastoitunut raudan kanssa saostunutta fosforia ja osa siitä liukenee takaisin vesipatsaaseen (Ulén, 1978). Alusveden hapettomuus voimistaa tätä sisäistä kuormitusta. Myös rehevöityneen järven särkikalavaltaiseksi muuttunut kalasto (Jeppesen ym., 2000) voi lisätä liukoisen fosforin kulkeutumista sedimentistä vesipatsaaseen. Etenkin lahnat ruokailevat järven pohjalla pölyttäen sedimenttiä. Tätä kutsutaan bioturbaatioksi. Sisäinen kuormitus ruokkii leväkasvua ja voi olla hetkellisesti jopa merkittävämpi syy vesipatsaan fosfaattipitoisuuden nousulle kuin valuma-alueelta tuleva ulkoinen kuormitus (Ulén, 1978).

Kalaston muutosten lisäksi myös perustuottajien väliset vuorovaikutukset voivat muuttua.

Vesikasvit ja kasviplankton, eli mikrolevät yleensä runsastuvat rehevöitymisen myötä.

Kuormituksen jatkuessa kasviplanktonbiomassa voi nousta niin korkeaksi, että etenkin pinnan alla

kasvat vesikasvit kärsivät lisääntyneen varjostuksen vuoksi (Moss, 1976; Sand-Jensen & Søndergaard, 1981).

Rehevöityneissä järvissä runsaina esiintyvät syanobakteerit ovat erityisen haitallisia. Monet syanobakteerilajit ovat myrkyllisiä ja voivat pahimmassa tapauksessa jopa johtaa lemmikkieläinten tai karjan kuolemaan (Sivonen ym., 1990). Uimareille ne voivat aiheuttaa flunssankaltaisia oireita, oksentelua, ripulia ja vuosia jatkunut altistus esim. juomavedessä, jopa syöpää (Hernández ym., 2009). Runsaat syanobakteeriesiintymät rajoittavat juoma-, löyly- ja kasteluveden saatavuutta ja vähentävät vesistöjen virkistyskäyttömahdollisuuksia. Kaikkiin syanobakteeriesiintymiin on hyvä varmuuden vuoksi suhtautua kuin ne olisivat myrkyllisiä. Myrkyt eivät välttämättä tuhoudu edes vettä keitettäessä. Rehevöitymisen ohella ilmastonmuutoksen aiheuttama pintavesien lämpötilan nousu ja kasvukauden piteneminen lisää riskiä syanobakteerien massaesiintymiseen (Hense ym., 2013; Paerl & Paul, 2012).

#### Kasviplanktonin kasvu

Kasviplankton tarvitsee kasvaakseen ravinteita, valoa ja levälajille sopivan lämpötilan. Makroravinteista tärkeimmät ovat fosfori, typpi ja hiili (Redfield, 1958). Myös mikroravinteiden vähäisyys voi rajoittaa kasviplanktonin kasvua (Goldman, 1978). Veden kerrostuneisuus, voimakas virtaus tai aaltoliike voi painaa leväsoluja syvälle pois vesistön pintaosien eufoottisesta kerroksesta, jossa valoa on perustuottajille tarpeeksi (Yamaguchi ym., 2015).

Näiden fysikaalisten ja kemiallisten tekijöiden lisäksi myös vesistön ravintoverkkoon liittyvät biologiset tekijät, kuten eläinplanktonin laidunnus ja vesikasvien erittämät allelokemikaalit vaikuttavat kasviplanktonin esiintymiseen (Hilt & Lombardo, 2010). Vesikasvit ja bakteerit myös kilpailevat ravinteista kasviplanktonin kanssa. Tätä ravinnekilpailua esiintyy myös kasviplanktonilajien välillä.

Kasviplanktonyhteisössä on usein huomattavissa samaa kaavaa seuraava vuodenaikaissuksessio. Kasviplanktonilajien kokonaisbiomassassa on usein kesän aikana kaksi huippua, vaikka eri lajien runsassuhteet vaihtelevat kasvukauden aikana. Tähän vaikuttavat eri kasviplanktonryhmien ominaisuudet. Esimerkiksi monien syanobakteerien optimilämpötila on korkeampi (25-35 °C) kuin piilevien, joiden ideaalinen kasvulämpötila on noin 15 °C (Paerl ym., 2011). Tämä on yksi syy,

minkä takia syanobakteereita esiintyy enemmän loppukesästä pintaveden lämpötilan ollessa korkeimmillaan. Vanajavedellä syanobakteereita esiintyy elokuun loppupuolella myös sen vuoksi, että öiden pidentyessä sekoittumissyvyys kasvaa ja pintaveden tulee fosforia syvemmältä alusvedestä. Näin muodostuu tilanne, jossa fosforia on tarjolla, mutta epäorgaaninen typpi on usein kulutettu lähes loppuun (Arvola 2020, kirjallinen tiedonanto).

Kasviplanktonryhmien välillä on eroa myös siinä, kuinka hyvin ne menestyvät ravinnepilpailussa muita kasviplanktonlajeja vastaan (Gotham & Rhee, 1981a, 1981b). Ravinnepilpailussa menestymiseen vaikuttaa leväryhmille ominaisten optimilämpötilojen lisäksi myös vesipatsaan ravinnepitoisuudet. Esimerkiksi Tilmanin ym. (1982) tutkimuksessa piilevälaji *Asterionella formosa* menestyi syanobakteereita paremmin matalassa fosforipitoisuudessa. Toisaalta syanobakteerit ovat ainoa kasviplanktonryhmä, jossa tavataan typensidontaan kykeneviä lajeja. Nämä lajit, kuten *Dolichospermum* sp., pystyvät hyödyntämään veteen liunneen typen (DIN) lisäksi myös molekylaarista typpeä (N<sub>2</sub>) (Kanninen ym., 1982). Typen muuntaminen leville käyttökelpoiseen muotoon tapahtuu tähän tarkoitukseen erikoistuneissa soluissa, heterosyyteissä. Lisäksi syanobakteereilla on kaasuvakuoleja, joiden avulla ne pystyvät säätelemään sijaintiaan vesipatsaassa. Esimerkiksi piileviin verrattuna ne pysyvät paremmin valoisassa pintavesikerroksessa. Piilevät sen sijaan vajoavat nopeammin pohjalle.

Kasviplanktonin kasvua rajoittavat ravinteet

Kasviplanktonsoluissa on keskimäärin hiiltä, typpeä ja fosforia suhteessa 106:16:1, atomien lukumäärän mukaan laskettuna (Redfield, 1958). Redfield esitti teorian, että kasviplanktonin kasvulle ideaalissa olosuhteissa vesipatsaassa kyseisiä ravinteita on samassa suhteessa. Kun suhde muutetaan massaksi, eli mikrogrammoiksi on Redfieldin suhde typen ja fosforin osalta n. 7:1. Tämän suhteen perusteella voi teoriassa päätellä kumpi ravinteista rajoittaa kasviplanktonin kasvua. Siten vesistössä vallitsee fosforirajoitteisuus, kun typpi- ja fosforipitoisuuksien suhde on yli 7. Typpirajoitteisuus vallitsee, jos N:P-suhde on alle 7. Typpipitoisuuden nousu johtaisi tässä tapauksessa kasviplanktonbiomassan lisääntymiseen. Tutkimustulosten perusteella asia ei kuitenkaan ole aivan näin yksinkertainen ja on myös havaittu hieman korkeamman N:P-suhteen ennustavan rajoittavan ravinteen paremmin (Kolzau ym., 2014).

Rajoittavan ravinteen selvittämistä hankaloittaa se, että typpeä ja fosforia esiintyy vesistössä useassa eri muodossa. Liukoinen typpi ja fosfori on helpommin kasviplanktonin käytettävissä kuin esim. savipartikkeleihin sitoutuneet ravinteet. Liukoiseen typpien (DIN, *dissolved inorganic nitrogen*) lukeutuu nitraatti ( $\text{NO}_3^-$ ), nitriitti ( $\text{NO}_2^-$ ) ja ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ). Liukoista fosforia (SRP, *soluble reactive phosphorus*) on fosfaatti ( $\text{PO}_4^{3-}$ ). Kokonaistyppeen (TN, *total nitrogen*) ja kokonaisfosforiin (TP, *total phosphorus*) sisältyy liukoisten ravinteiden lisäksi myös typpi ja fosfori, joka on sitoutuneena vedessä oleviin hiukkasiin ja leväsoluihin.

N:P-suhteita voidaan ilmaista kokonaisravinteiden suhteena TN:TP tai liukoisten ravinteiden suhteena DIN:SRP. Liukoisten ravinteiden pitoisuudet kuvaavat kokonaisravinteita paremmin, kuinka paljon juuri sillä hetkellä vesipatsaassa on leväkasvulle käyttökelpoista ravinnettä. Liukoisten ravinteiden pitoisuuksissa ja suhteissa voi olla merkittävää vaihtelua vuoden, jopa vuorokauden aikana. Mikäli siis vesistön tilasta halutaan akuuttia tietoa, on liukoisten ravinteiden N:P-suhteita perusteltua käyttää. Kokonaisravinteet puolestaan antavat paremman yleiskuvan vesistön tilasta (Hellström, 1996). Pitkäaikaisen tilan seuraamiseen TN:TP-suhde voi siis soveltua paremmin. Toisaalta Kolzaun ym. (2014) laskemista erilaisista ravinnesuhteista etenkin DIN:TP-suhde ennusti toteutuneita a-klorofyllipitoisuuksia parhaiten.

Kokonaisravinteisiin ja liukoisiin ravinteisiin pohjautuvia N:P-suhteita on käytetty vesistön rajoittavan ravinteen määrittämisessä. Ravinnesuhteiden lisäksi ravinteiden absoluuttisten pitoisuuksien avulla voidaan tehdä suuntaa antavia päätelmiä vesistön rajoittavasta ravinteesta. Typpirajoitteisissa olosuhteissa DIN-pitoisuuksien on raportoitu olevan  $<100 \mu\text{g/l}$  ja fosforirajoitteisissa vesistöissä SRP-pitoisuus on ollut alle  $10 \mu\text{g/l}$  (Kolzaun ym., 2014).

Tutkimuksissa joissa on verrattu tuloksia kasviplanktonin kasvatuskokeilla, eli levätesteillä selvitetystä minimiravinteesta ja laboratoriossa määritetyistä ravinnepitoisuuksista, näyttäisi siltä että TN:TP-suhteen ollessa  $<17$  on järvi todennäköisesti fosforirajoitteinen (Forsberg ym., 1978; Sakamoto, 1966). TN:TP-suhteen ollessa 10-17, voi rajoittava ravinne olla joko typpi, fosfori tai molemmat. TN:TP-suhteen ollessa  $<10$ , on rajoittava ravinne todennäköisesti N (taulukko 1). Liukoisille ravinteille, eli DIN:SRP-suhteille vastaavat raja-arvot ovat  $>12$ , 5-12 ja  $<5$  (Forsberg ym., 1978).



Taulukko 1. Rajoittavaa ravinnetta ennustavat N:P-suhteet massan mukaan laskettuna. (Forsbergin ym. 1978 mukaan).

TN:TP	DIN:SRP	Rajoittava ravinne
<10	<5	N
10-17	5-12	N ja/tai P
>17	>12	P

Myös (Downing & McCauley, 1992) päätyivät saman suuntaisiin johtopäätöksiin. He totesivat, että järvi on todennäköisesti N-rajoitteinen, kun TN:TP  $\leq 14$ .

Vähätyppisissä olosuhteissa kasviplanktonryhmistä cyanobakteereiden suhteellisella osuudella on tapana kasvaa. Smith (1983a) huomasi, että cyanobakteerit yleistyvä huomattavasti, kun TN:TP-suhde laskee 29 alapuolelle. Floridalaisen Okeechobee-järven kasviplanktonista jopa 50-80 % oli cyanobakteereita kun TN:TP oli alle 15 ja DIN:SRP-suhde oli 6 (Havens ym., 2003).

Yleisesti ottaen typensidontaan kykeneviä lajeja suosivat olosuhteet, joissa TN:TP-suhde on alle 22 (Smith ym., 1995). Kuitenkin myös typensidontaan kykeneville cyanobakteerilajeille on energeettisesti edullisempaa käyttää nitraattia tai ammoniumia, jos niiden pitoisuudet vesipatsaassa ovat riittäviä (Kanda ym., 1990). Se, että järvessä tavataan typensidontaan kykeneviä cyanobakteereita ei siis välttämättä tarkoita, että ne sitovat molekulaarista typpeä. Heterosyyttien on todettu aktivoituvan vasta kun DIN <50-100  $\mu\text{g/l}$ . Myös vesistöissä, joissa DIN:SRP-suhde laskee alle 11, typensidonnan lisääntyy (Horne & Commins, 1987).

Hellströmin (1996) mukaan TN:TP-suhteen ollessa välillä 10-15, kykenevät cyanobakteerit typpeä sitomalla kompensoimaan alhaista typpipitoisuutta niin, että fosforista muodostuu kasviplanktonbiomassaa rajoittava ravinne. Näin on todettu tapahtuvan ainakin kesän kerrostuneisuuskaudella eufoottisessa kerroksessa. TN:TP-suhteen lasku 10 alapuolelle tarkoittaa sitä, että cyanobakteerien typensidonta ei enää kompensoi denitrifikaation vuoksi ilmakehään kaasuuntuvan typen häviötä ja levätuotantoa rajoittaa typpi. Myös Schindler (1975) esitti, että pitkällä aikavälillä olosuhteiden pysyessä suhteellisen muuttumattomina kasviplanktonyhteisön mukautumisen ja cyanobakteerien typensidonnan vuoksi kasviplanktonbiomassa todennäköisesti asettuu fosforipitoisuuden määrittämälle tasolle, vaikka kasvatuskokeiden tulosten perusteella vesistön rajoittava ravinne lyhyellä aikavälillä olisikin typpi.

Kasviplanktonin kasvua rajoittava ravinne voi vaihdella vuodenaikojen mukaan (Kolzau ym., 2014). Luonnossa monet prosessit vaikuttavat ravinteiden kemiallisiin reaktioihin ja fysikaaliseen kulkeutumiseen, ja eri vuodenaikoina esiintyvillä kasviplanktonlajeilla on erilaiset ravinnevaatimukset. Etenkin kasviplanktonille suoraan käyttökelpoisten liukoisten ravinteiden pitoisuudet voivat muuttua paljon nopeammin kuin kokonaisravinnepitoisuudet. Tämän vuoksi pelkillä ravinneanalyyseillä ei usein pystytä selvittämään kasviplanktonin kasvua rajoittavaa ravinnetta. Vesistöissä tapahtuvien monimutkaisten prosessien lisäksi myös laboratorioanalyysien tarkkuus voi asettaa rajoituksia. Esimerkiksi vesipatsaassa olevaa liukoista fosforia (*dissolved inorganic phosphorus*, DIP) määritettäessä voi osa hiukkasiin sitoutuneesta fosforista liueta näytettä suodatettaessa, jolloin fosfaattipitoisuudesta tulee todellisuutta korkeampi (*soluble reactive phosphorus*, SRP). Tämän vuoksi myös liukoisten ravinteiden pitoisuuksiin perustuvat arviot kasviplanktonin kasvua rajoittavasta ravinteesta ovat usein vain suuntaa-antavia. Pelkästään levillä tehtävillä kasvatuskokeilla eli ns. minimiravinnekokeilla on mahdollista tarkemmin selvittää, kuinka paljon vesistöissä on biologisesti käyttökelpoisia ravinteita suhteessa kasviplanktonilajiston ravinnevaatimukseen. Rajoittavan ravinteen selvittäminen on tärkeää, jotta rehevöitymisen hidastamiseksi ja järvien kunnostamiseksi tehtävät toimenpiteet saadaan suunniteltua mahdollisimman tehokkaiksi.

### Minimiravinnekokeet

Kasviplanktonin kasvua rajoittava ravinne voidaan selvittää minimiravinnekokeella, joka on biotestien yksi sovellutus. Biotesteillä voidaan selvittää erilaisten yhdisteiden pitoisuuksia tai niiden vaikutuksia eliöihin. Tutkittava yhdiste voi olla esimerkiksi ympäristömyrkky, kuten raskasmetalli tai kloorattu hiilivety (Thomas ym., 1974). Testiorganismina voidaan käyttää esimerkiksi kaloja, jolloin tutkittavat aineet voivat johtaa mm. testiorganismien normaalista poikkeavaan käyttäytymiseen, kasvuun tai kuolemaan.

Minimiravinnekokeissa testiorganismina käytetään kasviplanktonia ja tutkittavat yhdisteet ovat leväkasvuun tarvittavat ravinteet. Rajoittavan ravinteen selvittämiseksi kasviplanktonia kasvatetaan eri ravinnepitoisuuksissa. Mittaamalla kasviplanktonin vaste eri ravinnekäsittelyihin saadaan selville sen vesistön minimiravinne, josta näytevedet otettiin. Koska levien kasvuun

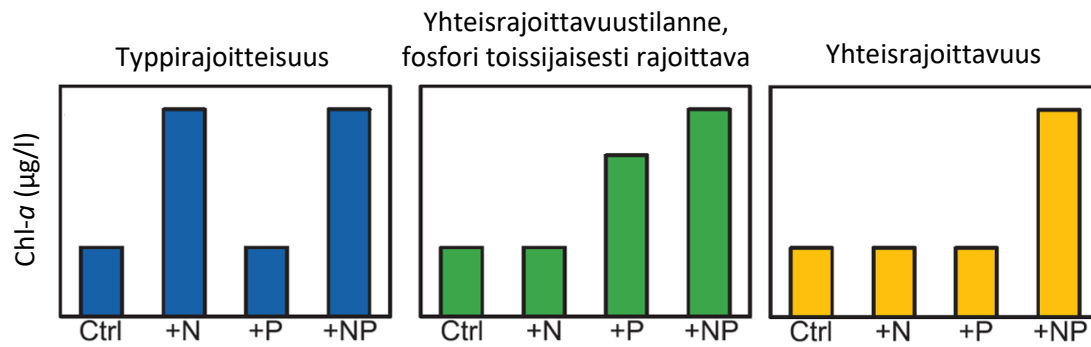
vaikuttaa tutkittavien yhdisteiden lisäksi myös lämpötila ja valaistus, on ne pidettävä vakioina koko kasvatuksen ajan luotettavien tulosten saamiseksi.

Vaikka tutkittava yhdiste pysyisi samana, voidaan levätestejä suorittaa monella eri tavalla. Levätestit voivat olla pitkä- tai lyhytaikaisia ja ne voidaan suorittaa kentällä tai laboratorioissa (Holmboe ym., 1999). Levätestejä voidaan tehdä puhdasviljelmällä, jossa on vain yksi tai useampi laji (Forsberg ym., 1978) tai luonnon kasviplanktonyhteisöllä, josta on ennen kasvatuksia poistettu eläinplankton.

Fysikaalisten ja kemiallisten prosessien lisäksi ravinteet kiertävät vesistön ravintoverkossa ja muuntuvat biologisissa prosesseissa. Kun halutaan määrittää tietyn vesistön biologisesti käyttökelpoisia ravinteita, on levätesteissä hyvä käyttää kyseisen alueen luonnollista kasviplanktonyhteisöä. Näin saadaan todenmukaisempi kuva vesistön tilanteesta, kuin puhdasviljelmää käyttämällä. Luonnon lajistoa käyttämällä saadaan selville miten tietyn järven lajisto reagoi ravinnelisäyksiin, koska eri lajeilla on hieman erilaiset ravinnevaatimukset. Toinen hyvä puoli luonnonlajiston käytössä on se, että vesistöä otetulla lajistolla on soluissaan historia vesistön aiemmista ravinneolosuhteista. Kasviplanktonisolut nimittäin varastoivat ravinteita, mikäli niitä on tarjolla ylen määrin. Tyypeä ja fosforia on saattanut varastoitua eri suhteessa, riippuen niiden saatavilla olevista pitoisuuksista. Kasvatuskokeita on jatkettava niin pitkään, että ravinnelisäykäsittelyjen välillä saadaan selkeät erot näkyviin.

Minimiravinnekokeen tulos tulkitaan kasviplanktonin vasteen perusteella. Rajoittava ravinne on se, jonka lisääminen johtaa korkeimpaan kasviplanktonbiomassaan (kuva 1). Tilanne, jossa typpi ja fosfori rajoittavat kasviplanktonin kasvua yhtä paljon, on myös mahdollinen.

Yhteisrajoittavuustilanteita voi olla myös sellaisia, joissa toinen ravinteista rajoittaa kasviplanktonin kasvua toista ravinnetta enemmän eli kasvatuskokeilla saadaan selville myös toissijaisesti rajoittava ravinne. Luotettava tulos edellyttää, että ravinnelisäykset ovat niin suuria, ettei ravinne loppu kasvatuksen aikana. Ravinteita voi myös lisätä eri pitoisuuksia, mikäli tahdotaan tietää missä ravinnepitoisuudessa rajoittava ravinne vaihtuu. Esimerkiksi Kanninen ym. (1982) toteuttivat levätestit Vesijärvellä lisäämällä liukoista typpeä 0, 140 ja 700 µg/l ja liukoista fosforia 0, 32 ja 160 µg/l.



Kuva 1. A-klorofyllin vaste ravinnelisäyksiin ja rajoittavan ravintein tulkinta kasvatuskokeiden tuloksista (Harpolen ym. 2011 ja Kolzaun ym. 2014 mukaan)

Levätesteissä kasviplanktonin kasvua voidaan mitata usealla eri tavalla. Kasviplanktonisolujen lukumäärä voidaan laskea mikroskoopin avulla ja suhteuttaa biomassa näytteen tilavuuteen. A-klorofyllipitoisuus voidaan määrittää laboratoriossa tai fluoresenssimittarilla, ja kasviplanktonin yhteyttämisaktiivisuus voidaan selvittää hapentuoton tai radioaktiivisen hiilen sitomisen avulla (Goldman, 1978).

Levätesteissä myös *in vivo* fluoresenssimittauksia voidaan käyttää kasviplanktonin kasvun seuraamiseen. Kyseisen menetelmän etuna on, että fluoresenssimittaus voidaan tehdä suoraan kasvatusliuoksesta, jolloin koejärjestelyä ei tarvitse häiritä ja kasvatusliuoksen tilavuus pysyy samana koko kasvatuksen ajan. Thomas ym. (1974) ovat todenneet, että *in vivo* fluoresenssilukema korreloi hyvin kasviplanktonikasvuston solujakautumisnopeuden kanssa.

#### Tutkimuksen tarkoitus

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää, mikä on kasviplanktonin kasvua rajoittava ravinne ja miten se vaihtelee Vanajanreitillä ja Vanajanselällä vuodenaikojen mukaan. Rajoittava ravinne selvitettiin minimiravinnekokeilla mittaamalla kasviplanktonin vaste fluoresenssina, sekä määrittämällä a-klorofyllipitoisuus laboratoriossa. Minimiravinnekokeiden tuloksia verrattiin ravinnemäärittämisavun avulla laskettuihin ravinnesuhteisiin ja kirjallisuudesta saatuihin ravinnesuhteiden raja-arvoihin. Eriyksen tutkimuksesta tekee se, että koekasvatukset kattoivat myös talven, alkukesän ja loppusyksyn, sillä usein kasviplanktonitutkimukset rajoittuvat avovesikauteen. Koeasetelma on mielenkiintoinen myös siksi, että tutkimusalue on rehevöitynyt reittivesistö, joka voidaan jakaa kahteen selkeästi erilaiseen osioon; ekologiselta tilaltaan

välttävään Vanajanreittiin ja tyydyttävään Vanajanselkään. Jokimaisen Vanajanreitin varrella on jätevedenpuhdistamo, josta pääsee puhdistettujen jätevesien mukana vesistöön typpeä ja fosforia. Vanajanreitiltä vedet virtaavat Vanajanselän järviosuudelle, jossa denitrifikaatio on voimakasta.

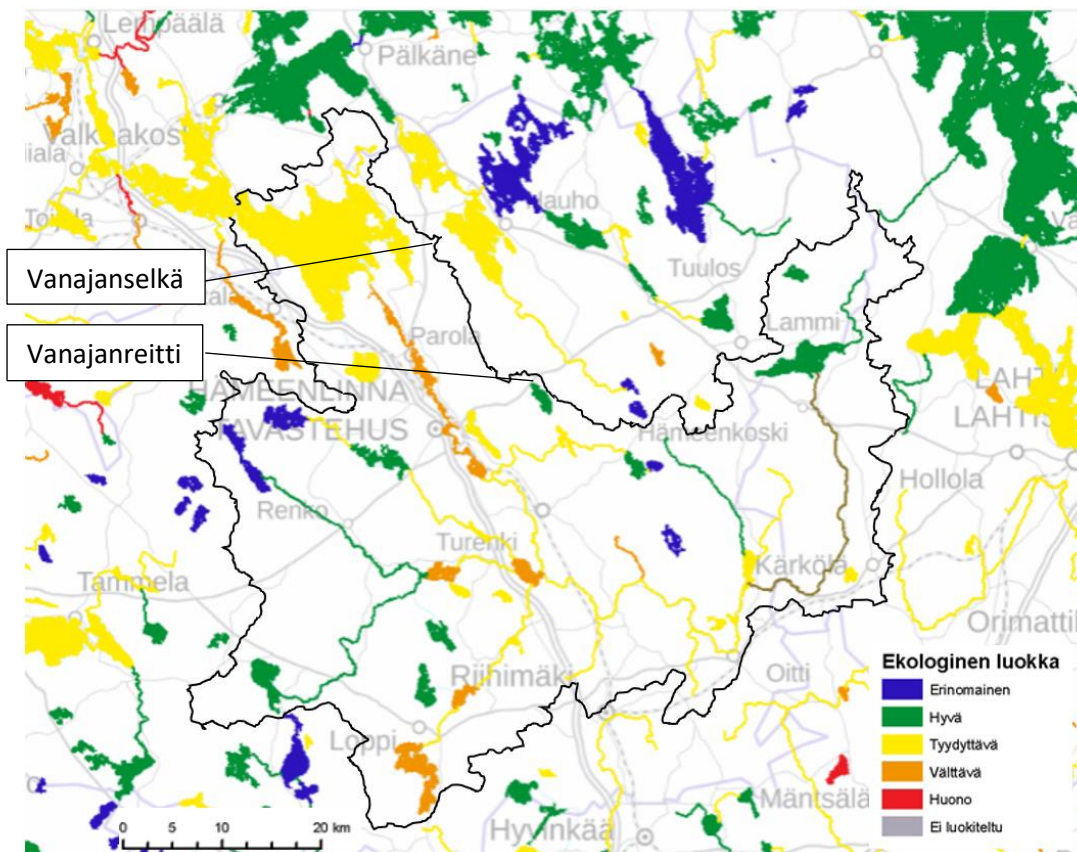
Tutkimuskysymykset:

1. Ovatko Vanajanselkä ja Vanajanreitti typpi- vai fosforirajoitteisia?
2. Onko kasviplanktonin kasvua rajoittavissa ravinteissa alueellista tai vuodenaikaista vaihtelua?
3. Mikä on jätevedenpuhdistamon vaikutus vesistön ravinnesuhteisiin ja kasviplanktonin kasvuun?
4. Miten kasviplanktonin kasvatuskokeet ja fluoresenssimittaus soveltuvat ravinnerajoitteisuuden arviointiin?

## Tutkimusalue

Tutkimusalue, Vanajavesi, voidaan karkeasti jakaa kahteen erilaiseen vesistöalueeseen.

Vanajanreitti on jokimainen reittivesistö, joka on pintavesityypiltään erittäin lyhytviipymäisten järviä jatkumo (Vesikartta, 2020). Ekologiselta tilaltaan välttävä Vanajanreitti virtaa luoteeseen ja laskee Vanajanselkään (kuva 2). Vanajanselkä on suuri runsashumuksinen järvi, jonka kokonaispinta-ala on 103 km<sup>2</sup>, kun alarajana on Sääksmäen silta. Vanajanselkä on luokiteltu ekologiselta tilaltaan luokkaan tyydyttävä. Vanajanselkä on suhteellisen matala, sen syvin kohta on 25 m ja keskisyvyys vain 8 m. Vanajaveden virtaus on keskimäärin 73 m<sup>3</sup>/s ja teoreettinen viipymä vuoden verran (Leppäranta ym., 2012).



Kuva 2. Vanajaveden valuma-alue ja pintavesimuodostumien ekologist luokat (Vesikartan 2020 ja Kaipaisen ym. 2009 mukaan).

Vanajaveden valuma-alue, 2745 km<sup>2</sup> (VALUE, 2020) on vesistön pinta-alaan nähden suhteellisen suuri. Valuma-alueesta noin 20 % on maatalouskäytössä. Rakennettuja alueita valuma-alueesta on 6 %. Erilaiset metsät, avoimet kankaat ja kalliomaat peittävät 63 %, kosteikkoja ja avosoita on 1,1 % valuma-alueesta ja vesialueita 9 % (Suomen ympäristökeskus, 2020). Lisäksi Vanajanreitillä on pistekuormittaja, HS-veden Paroisten jätevedenpuhdistamo.

Ei ole täyttä varmuutta siitä onko Vanajanselkä luonnostaan niukkaravinteinen (Kansanen & Aho, 1981) vai rehevä järvi (Kaipainen ym., 2009). Joka tapauksessa sen ravinnepitoisuudet ovat ihmistoiminnan vaikutuksesta nousseet, etenkin kun rehevöitymiskehitys kiihtyi 1900-luvulla. 1950 - 1960-luvuilla ei enää ollut epäilystäkään siitä, etteikö järvi olisi runsasravinteinen. 1970-luvulla järvessä oli usein pahoja syanobakteerien massaesiintymiä, alusveden hapettomuutta ja kalakuolemia. Jäteveden puhdistamisen tehostuttua 1970-luvulla kalakuolemat harvinaistuivat, mutta syanobakteerit aiheuttavat edelleen ongelmia. Nykyään suurin osa Vanajanselän kuormituksesta johtuu hajakuormituksesta, pääasiassa maataloudesta. Merkittävien

pistekuormittaja on Paroisten jätevedenpuhdistamo (Kaipainen ym., 2009), jossa jätevesien keskivirtaama on 20 000 m<sup>3</sup>/vrk (n. 1,5 m<sup>3</sup>/s). Paroisten puhdistamon fosforinpoistotehokkuus on n. 95 % ja typenpoistotehokkuus n. 60 % (Etelä-Suomen Aluehallintovirasto, 2010; HS-Vesi, 2020).

Tutkimus toteutettiin marraskuun 2016 ja elokuun 2017 välisenä aikana. Tutkimusajanjakson aikana virtaamassa oli selkeästi huomattavissa kevään lumiensulaminen, vähentynyt sadanta kesällä ja syksyn sateisempi aika (kuva 3).



Kuva 3. Virtaama 15.9.2016-15.9.2017 Lempäälän Kuokkalankoskelta, jonne vesi Vanajanselältä virtaa (SYKE, 2017).

Vuoden 2016 syksyn lämpötilat olivat tutkimusalueella lähellä vuotuisia keskiarvoja, mutta loka- ja joulukuu olivat keskimääräistä vähäsateisempia. Vuoden 2017 tammi-, helmi- ja maaliskuu olivat hieman keskimääräistä leudompia. Kesä puolestaan oli keskimäärin asteen viileämpi kuin tavallisesti. Sadanta seurasi vuotuisia keskiarvoja, paitsi touko- ja heinäkuussa 2017, jolloin satoi hieman tavallista vähemmän (Ilmatieteen laitos, 2016, 2017).



## Aineisto ja menetelmät

### Näytteenotto

Näytteet minimiravinnekokeisiin otettiin Vanajanreitiltä kolmesta eri paikasta ja Vanajanselältä kahdelta pisteeltä (kuva 4). Ensimmäinen näytteenottopaikoista, Aulangon rautatiesilta (AU) on Vanajanreitillä ennen jätevedenpuhdistamoaa. Alavirtaan seuraava, Kirstulansalmi (KIR) on veden virtaussuunnassa Rautamonojan, eli puhdistetun jäteveden purkautumispaikan jälkeen. Mierola (MIE) on virtaussuuntaan nähden viimeinen näytevedenottopaikka, joka on Vanajanreitillä. Seuraavat näytteenottopaikat, Ruskeenkärki (RUS) ja Sääksmäki (SÄÄ) ovat Vanajanselkä-järven rannalla.



Kuva 4. Näytteenottopisteet kartalla. HS-veden jätevedenpuhdistamon purkautumispaikka on punaisen nuolen kohdalla. Vesi virtaa Vanajanreitillä ja Vanajanselällä kaakosta luoteeseen (Metsähallitus, MML, retkikartta.fi 2020).



Koska ravinteiden pitoisuuksissa voi olla huomattavaa vaihtelua vuodenaikojen välillä, minimiravinnekoheet toistettiin viitenä ajankohtana: marraskuussa, maaliskuussa, toukokuussa, heinäkuussa ja elokuussa.

Vedet otettiin varrellisella kuupalla pintavedestä n. 20 cm syvyydestä. Mierolan näytteenottopiste oli laiturilla, ja näytteenottokohdan syvyys oli n. 1,2 m. Kaikissa muissa näytteenottopisteissä syvyys oli 20-60 cm. Veteen kahlattiin rannasta ja vesi otettiin kohdasta, jossa kahlauksen aiheuttama sedimentin pölyäminen oli mahdollisimman vähäistä. Vesi kaadettiin kuupalla suppilon läpi muovikanistereihin. Kevättalven näytteenoton aikana 28.2.2017 vesistöissä oli 8-43 cm jääpeite kaikilla näytteenottoaikoilla paitsi Mierolansalmella, joka oli sula. Jääpeitteeseen kairattiin reikä, vedenpinnalla kelluva jäämurska poistettiin ja vettä otettiin kanistereihin kuten muillakin koekerroilla. Kanistereita säilytettiin yön yli pimeässä kylmiössä, 7-7,5 °C lämpötilassa talven, kevään ja alkukesän kasvatuksissa ja pimeässä kasvatushuoneessa lämpötilassa 16-18 °C ennen kesän kasvatusten aloittamista heinä- ja elokuussa.

#### Minimiravinnekoheet

Rajoittava ravinne selvitettiin minimiravinnekokeilla, eli kasvattamalla kasviplanktonia eri ravinnepitoisuuksissa ja mittaamalla levien vaste eri käsittelyihin. Näytevesi suodatettiin 50 µm eläinplanktonhaavin läpi ennen kaatamista 2 litran kasvatuspurkkiin. Purkit olivat 17 cm korkeita ja materiaaliltaan läpinäkyvää elintarvikekäyttöön soveltuvaa PET 1-muovia. Pohjan mitat olivat 12x12 cm. Purkkien kannet olivat valkoista läpinäkymätöntä muovia. Suodatus poisti vedestä suurimmat roskat sekä eläinplanktonin pienimpiä alkueläimiä ja lukuun ottamatta. Näin pystyimme paremmin kokeen edetessä toteamaan kasviplanktonin vasteen veden ravinnepitoisuuksiin, kun laidunnus ei vaikuttanut kasviplanktonin tiheyteen.

Jokaiselta viideltä näytteenottoaikalta otettu vesi käsiteltiin neljällä eri tavalla, ja jokaista käsittelyä oli kolme rinnakkaista kasvatuspurkkiä. Kontrollikasvatuspurkkiin (C-purkki) laitettiin vain eläinplanktonhaavin läpi suodatettu vesi. N-purkkeihin laitettiin veden lisäksi typpiravinnetta, P-purkkeihin fosforiravinnetta ja NP-purkkeihin molempia ravinteita. Ravinneliuos valmistettiin erikseen jokaisen kasvatuskerran alussa liuottamalla mittapulloissa kaliumnitraattia (KNO<sub>3</sub>) ja kaliumdivetyfosfaattia (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) ionivaihdettuun veteen. Ravinneliokset, eli kantaliokset olivat

yhtä vahvoja jokaisella kasvatuskerralla; typpipitoisuus oli 2 000 000 µg/l ja fosforipitoisuus 80 000 µg/l. Ravinneliuosta lisättiin jokaisella kasvatuskerralla kuhunkin 2 litran purkkiin 1 ml lukuun ottamatta kolmatta kasvatuskertaa (5-2017), jolloin ravinteita lisättiin kaksinkertaisesti eli 2 ml.

Ravinnelisäys nosti näyteveden nitraattipitoisuutta n. 1000 µg/l ja fosfaattipitoisuutta n. 40 µg/l. Toukokuun kasvatuksessa ravinnepitoisuuksien nousu oli 2000 µg/l nitraatille ja 80 µg/l fosfaatille. Kasvatuksen alussa purkkien ravinnepitoisuudet olivat ravinnelisäyksien ja luonnossa kullakin näytteenottopisteellä ja -hetkellä olleiden ravinnepitoisuuksien summa.

Kasvatushuoneen lämpötila ja valon intensiteetti säädettiin ottaen huomioon kunkin kasvatusajankohdan mukaiset olosuhteet luonnossa (taulukko 2).

Taulukko 2. Kasvatusolosuhteet.

Kasvatus	Näytevesien haku (pvm)	Kasvatuslämpötila (°C)	Kasvatuksen kesto (vrk)	Kasvatusvalaistus (µmol/m <sup>2</sup> /s)
11-2016	8.11.2016	5	12	15-30
3-2017	28.2.2017	5	12	15-30
5-2017	8.5.2017	9	7	22-48
7-2017	4.7.2017	18	6-8	23-58
8-2017	15.8.2017	18	6	21-56

Minimiravinnekoeket toistettiin viisi kertaa: marraskuussa 2016 (9.-21.11.2016), sekä vuonna 2017 maaliskuussa (1.-13.3.2017), toukokuussa (9.-16.5.2017), heinäkuussa (5.-12.7.2017) ja elokuussa (16.-22.8.2017). Jokaisella kasvatuskerralla näytevedet otettiin samoista viidestä vedenottopisteestä (AU, KIR, MIE, RUS ja SÄÄ). 11-2016 ja 3-2017 kasvatuksissa kasvatushuoneen lämpötila oli 5 °C, 5-2017 kasvatuksessa 9 °C ja 7-2017 sekä 8-2017 kasvatuskerralla kasvatushuoneen lämpötila oli 18 °C. Kylmemmillä marraskuun ja maaliskuun kasvatuskerroilla kasvatusta jatkettiin hieman muita kasvatuksia pidempään (12 vuorokautta), jotta kasviplankton ehti reagoida ravinnelisäyksiin. 5-2017 kasvatuksen kesto oli 9 vuorokautta ja loppukesän kasvatukset kestivät 6 vuorokautta (taulukko 2). Kasvatushuoneessa oli jatkuva valaistus ja valointensiteetti oli kasvatuskertojen aikana keskimäärin 20, 25, 40, 50 ja 50 µmol/m<sup>2</sup>/s. Valaistus mitattiin LI-1400 -tiedonkeruuyksikköön liitetyllä Li-Cor 2π -anturilla (Li-Cor Biosciences, Inc., USA). Koska valaistus jakautui kasvatushuoneessa hieman epätasaisesti (kuva 5), siirreltiin 60 koekasvatuspurkkia järjestelmällisesti kunkin kasvatuskerran aikana, jotta valaistuserot saatiin

minimoitua. Kasvatuksien aikana purkkien kannet olivat vain löyhästi laskettu purkkien päälle, jotta kaasut pääsivät vaihtumaan.



Kuva 5. Koepurkit kasvatushuoneessa.

#### Laboratorioanalyysit

Jokaisen koekerran alussa planktonhaavilla suodatetuista näytevesistä mitattiin liukoinen typpi, liukoinen fosfori ja orgaaninen hiili (DOC). Lisäksi määritettiin kokonaistyyppi ja kokonaisfosfori. Kasviplanktonin a-klorofylli, sekä pH määritettiin kasvatuksen alussa ja lopussa.

DOC määritettiin suodatetusta näytteestä SFS-EN 1484 -standardin mukaisesti Shimadzun TOC- $V_{CPH}$  Analyzer -laitteella.

Fosfaattifosfori määritettiin GF/C-lasikuitusuodattimen läpi suodatetusta näytevedestä Gallery Plus diskreettilaitteella modifioidun ISO/DIS 15681-2 -standardin mukaisesti. Kokonaisfosfori määritettiin vastaavasti, mutta suodattamattomasta, happaman peroksidisulfaatin kanssa autoklavoidusta vedestä.

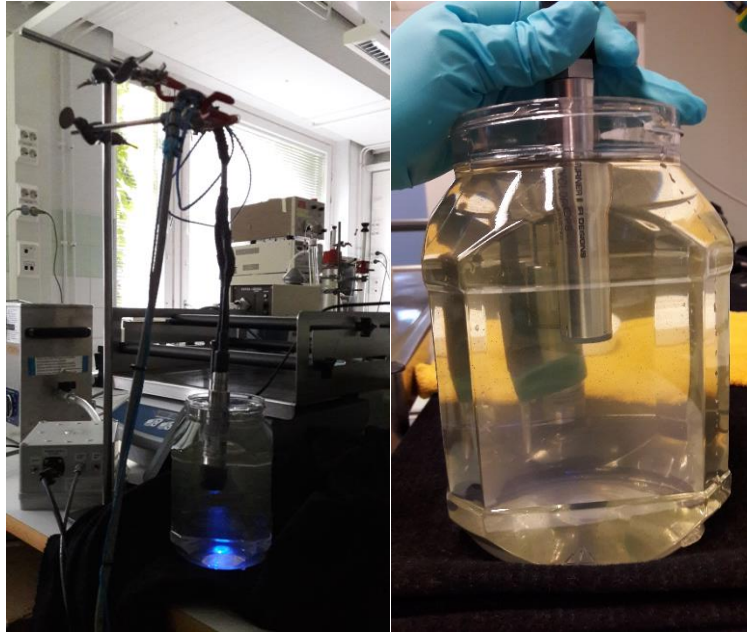
Typpimääritykset suoritettiin samalla laitteella. Suodatetusta näytteestä määritettiin ammoniumtyppi standardin SFS-EN ISO 11732 mukaisesti ja nitraatti- ja nitriittityppi standardin SFS-EN ISO 13395 mukaisesti. Kokonaistyyppi määritettiin myös Gallery Plus diskreettilaitteella,

mutta suodattamattomasta, alkaalisen peroksidisulfaatin kanssa autoklavoidusta näytevedestä standardin SFS-EN ISO 11905-1 mukaisesti.

A-klorofylli määritettiin standardin SFS 5772 mukaisesti etanoliuutolla ja UV-Vis – spektrofotometrillä (Shimadzu UV-1800). Absorbanssi mitattiin aaltopituudella 665 nm, sekä näyteveden sameuden aiheuttaman mittausepävarmuuden poistamiseksi myös aaltopituudella 750 nm. Näytteiden pH mitattiin Thermo Orion 3 Star –mittarilla.

#### Fluoresenssin mittaus

Kasviplanktonin vastetta ravinnelisäyksiin tutkittiin kasvatusten aikana mittaamalla a-klorofyllin fluoresenssi 1-3 päivän välein. Fluoresenssia mitattaessa mittaushuone oli pimennetty. Mittaus suoritettiin Turner Desings Cyclops-7 Fluorometer-fluoresenssimittarilla. Fluoresenssimittarin sensoria säilytettiin hanavedellä täytetyssä 10 litran muoviämpärissä, jonka vesi vaihdettiin päivittäin ennen mittausta. Kasvatuspurkit olivat mittauksen ajan 15-120 min huoneenlämmössä mittaushuoneessa. Mittausvuorossa olevan purkin kansi kierrettiin kiinni ja se käännettiin kahdesti ylösalaisin, jotta kasviplankton saatiin sekoittumaan veteen tasaisesti, minkä jälkeen kansi avattiin fluoresenssin mittaamiseksi. Fluoresenssisensori huuhdeltiin ruiskupulloa käyttäen ionivaihdetulla vedellä ennen kuin sensori upotettiin kasvatuspurkin veteen. Sensori upotettiin osittain veteen ja nostettiin ylöspäin pari kertaa ennen kuin sitä pidettiin 10 sekunnin ajan merkkiviivaan asti upotettuna samalla kun juokseva fluoresenssilukema tallentui tietokoneelle. Sensori oli 12 cm pitkä ja siihen painettua viivaa käytettiin merkinä, jotta sensori saatiin upotettua vuorollaan jokaiseen kasvatuspurkkiin samaan 7,5 cm syvyyteen (kuva 6).



Kuva 6. Fluoresenssisensori näytepurkissa mittaussyvytydessä. Fluoresenssia mitattaessa sälekaihtimet olivat kiinni ja huoneen valot sammutettu.

10 sekunnin mittauksen aikana tallentuneista fluoresenssilukemista laskettiin keskiarvot, joiden avulla tulokset käsiteltiin ja tilastolliset analyysit tehtiin. Kasvatukset lopetettiin, kun fluoresenssissa oli saatu käsittelyjen välillä aikaan selkeä ero, tai kun fluoresenssi alkoi kääntyä kasvupiikin jälkeen laskuun. Ravinnesuhteiden perusteella rajoittava ravinne määritettiin käyttämällä Forsbergin ym. (1978) ravinnesuhteita.

### Kasviplankton

Kasviplanktonilajisto määritettiin kasvatusten lopputilanteesta korkeimpaan fluoresenssilukemaan johtaneesta käsittelyistä, jokaiselta näytestä erikseen. Kolmesta rinnakkaisesta kasvatuspullostasta otettiin kokoomanäyte, joka säilöttiin happamalla Lugolin-liuoksella ja säilytettiin kylmäkellarissa (7 °C). Näytteitä laskeutettiin jo aiemmin määritetyn  $\alpha$ -klorofyllipitoisuuden perusteella Utermöhl-menetelmällä 25-100 ml kyvetille, jotta kasviplanktonia oli sopivasti mikroskoopilla tarkastelemista varten. Näytteitä tarkasteltiin käänteismikroskoopilla (Leica DMIL) ja mikroskooppiin liitetyllä videokameralla (Leica MC170 HD) otettiin jokaisesta näytteestä kuvat 10 näkökentästä.

## Tilastollinen testaus

Tilastollinen testaus suoritettiin ohjelmilla Microsoft Excel ja IBM SPSS Statistics 25. Yksisuuntainen varianssianalyysi (ANOVA) tehtiin, jotta saatiin selville käsittelyjen (C, N, P ja NP) välillä olevat merkitsevät erot. Ennen testausta fluoresenssiaineisto oli jaettu kasvatuksien ja näytepisteiden mukaisesti. Post hoc testeistä käytettiin Bonferronia.

## Tulokset

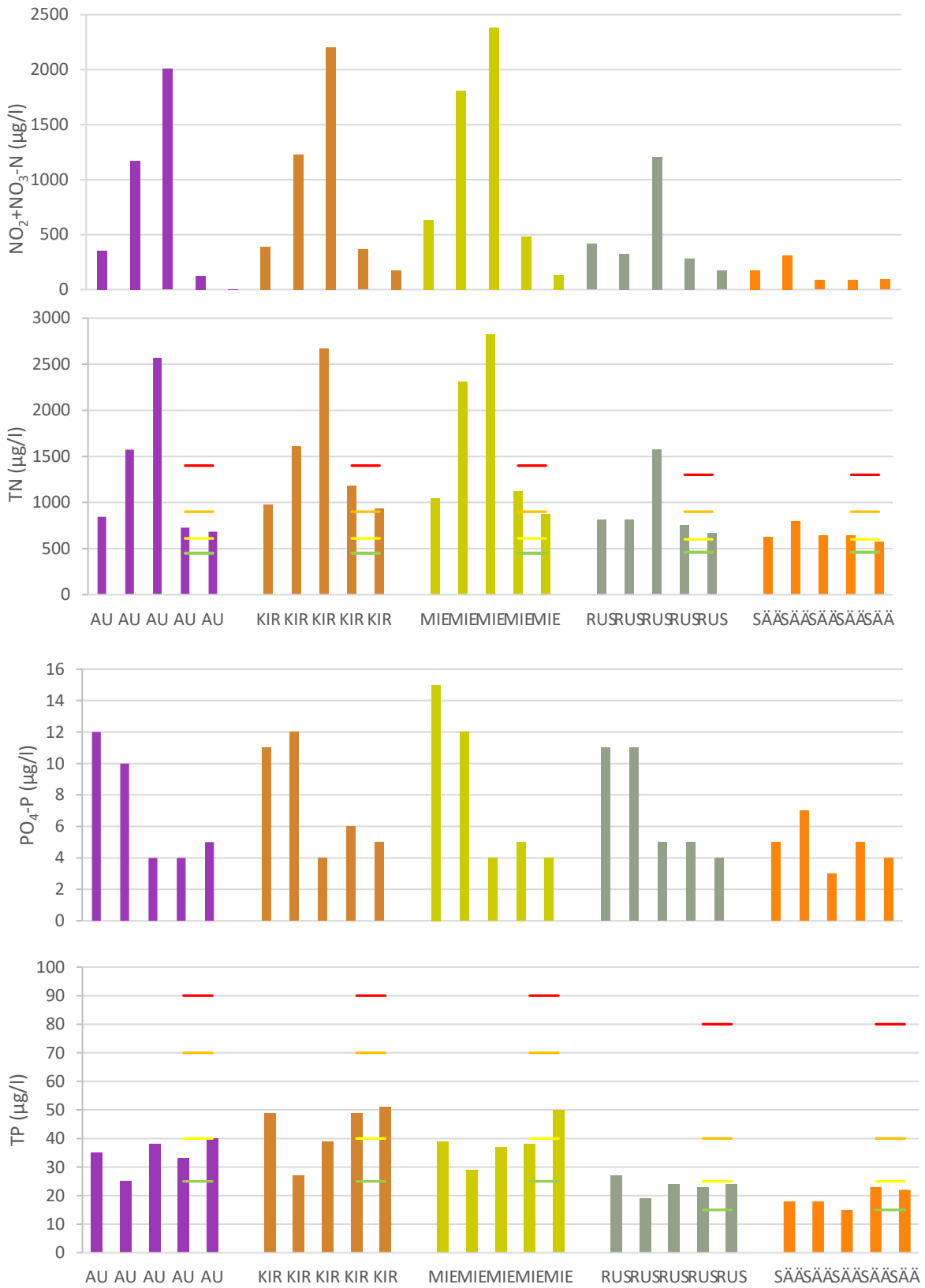
### Vanajaveden vedenlaatu

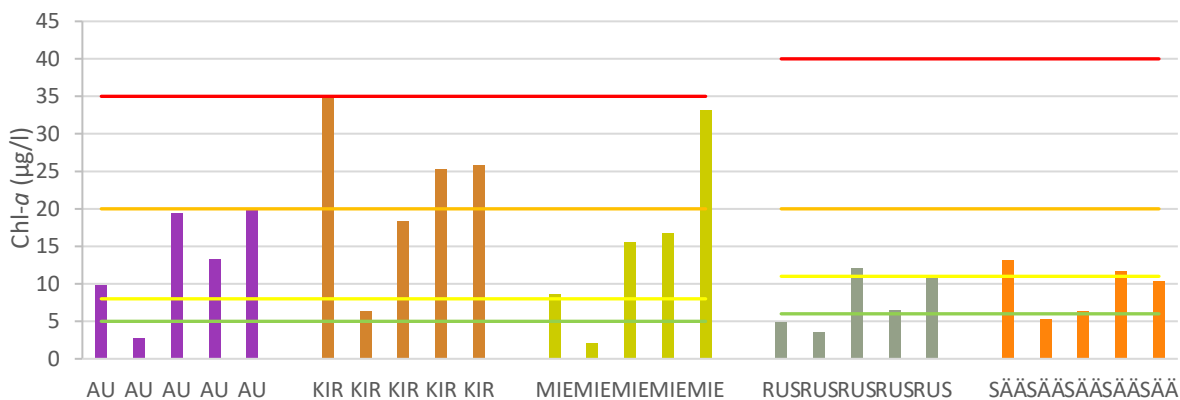
Minimiravinnekokeisiin otettujen vesien laboratorioanalyysitulokset (liite 1) kuvastavat Vanajanreitillä ja Vanajanselällä näytteenottohetkellä vallinnutta tilaa. Ravinne- ja a-klorofyllipitoisuudet jokiosuudella, eli Vanajanreitillä olivat pääosin korkeammat kuin Vanajanselän järviosuudella (kuva 7).

Kokonaistyyppipitoisuudet olivat jokipisteillä keskimäärin korkeammat kuin järvipisteillä ja olivat kaikilla pisteillä matalimmillaan elokuussa.

Liukoisen typen pitoisuus kohosi selvästi marraskuun ja maaliskuun välillä kaikilla jokipisteillä, sekä SÄÄ-pisteellä (kuva 7). DIN-pitoisuudet nousivat jokipisteillä vielä lisää maaliskuu- ja toukokuun välillä, jolloin myös RUS-pisteen liukoinen tyyppi lisääntyi. Kaikilla näytteenottopisteillä liukoisen typen pitoisuudet laskivat kesän aikana. Elokussa 2017 Aulangon näytteenottopisteellä liukoista typpeä ei ollut lainkaan, mutta alavirtaan mentäessä muilta näytteenottopisteiltä sitä löytyi. Elokuuta lukuun ottamatta liukoista typpeä oli ympäri vuoden selkeästi vähemmän Sääksmäen näytteenottopisteellä kaikkiin muihin näytteenottopisteisiin verrattuna.

Ammoniumtypen pitoisuus vaihteli jokiosuuden havaintopisteillä 10 ja 61 µg/l välillä (liite 1). Poikkeuksen muodosti Kirstulansalmi heinäkuussa, jolloin ammoniumtyppeä oli huomattavasti enemmän, 137 µg/l. RUS- ja SÄÄ-pisteillä ammoniumtyypipitoisuudet olivat keskimäärin matalampia kuin jokipisteillä (8-26 µg/l) kaikilla näytteenottokerroilla.





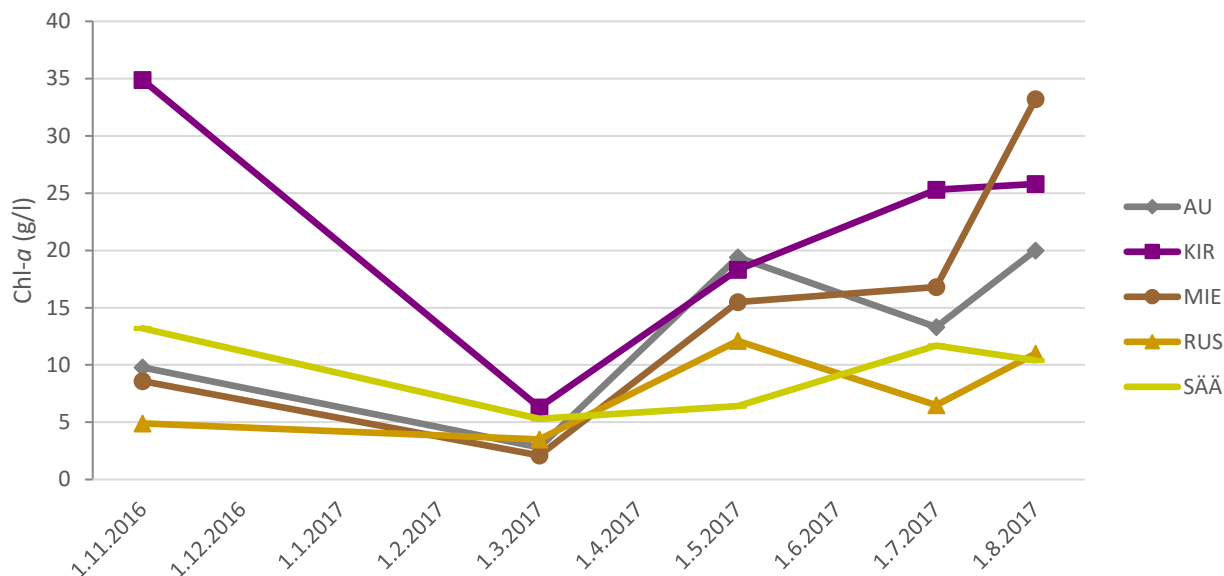
Kuva 7. Näytteenottopisteiden ravinne- ja a-klorofyllipitoisuudet näytteenottohetkellä. Pylväät kuvaavat vasemmalta oikealle kasvatusajankohtia kronologisessa järjestyksessä. Poikittaisviivoista punainen ilmentää huonon ekologisen tilan alarajaa, oranssi välttävän, keltainen tyydyttävän ja vihreä hyvän.

Fosfaattia oli marras- ja maaliskuussa vain 5-15 µg/l (kuva 7, liite 1). Seuraavien näytteenottojen aikaan fosfaattipitoisuudet olivat 3-6 µg/l, eli todella matalat. Ajoittain sitä ei käytännössä ollut luonnonvedessä enää ollenkaan, sillä ravinnemäärittämisestä saadut lukemat lähestyivät fosfaatin määrityksessä käytetyn analyysin määritysalarajaa. Kuten kokonaistypen, myös kokonaisfosforin pitoisuudet olivat keskimäärin korkeammat jokipisteillä järvipisteisiin verrattuna.

A-klorofyllipitoisuudessa oli havaittavissa fosfaattipitoisuuksiin nähden käänteinen ilmiö; marras- ja maaliskuussa a-klorofyllipitoisuudet olivat matalia (2,1-13,2 µg/l) ja touko-, heinä- ja elokuussa korkeampia (6,4-33,2 µg/l). Poikkeuksena tähän, a-klorofyllipitoisuus Kirstulansalmella marraskuussa (34,9 µg/l) oli selvästi korkeampi kuin muilla näytteenottopaikoilla marraskuussa. Muutenkin Kirstulansalmen a-klorofyllipitoisuus oli kaikilla näytteenottokerroilla viiden näytepisteen korkein tai toiseksi korkein.

A-klorofyllipitoisuus oli kaikilla näytteenottopisteillä korkeampi toukokuussa kuin maaliskuussa. Kesän aikana a-klorofyllipitoisuuksissa oli AU- ja RUS-pisteillä havaittavissa pientä laskua ennen kuin se lähti kaikilla paitsi SÄÄ-pisteellä nousuun ja saavutti AU-, MIE- ja KIR-pisteiden osalta kesän maksimiarvonsa elokuussa (kuva 8).





Kuva 8. A-klorofyllipitoisuus näytteenotopisteillä.

Liukoisen orgaanisen hiilen pitoisuudet olivat jokipisteillä 9,4-12,0 mg/l. Järvipisteillä DOC-pitoisuudet olivat keskimäärin hieman matalampia (7,6-9,8 mg/l). DOC-pitoisuudet pysyivät kaikilla pisteillä suhteellisen tasaisina, mutta lievää pitoisuuden nousua oli havaittavissa paikoissa AU, MIE ja SÄÄ marraskuun 2016 ja helmikuun 2017 välillä. Maaliskuun alussa määritettiin myös liukoinen epäorgaaninen hiili (DIC) kahdelta näytteenotopisteeltä. KIR-pisteellä DIC oli 7,99 mg/l ja RUS-pisteellä 6,79 mg/l.

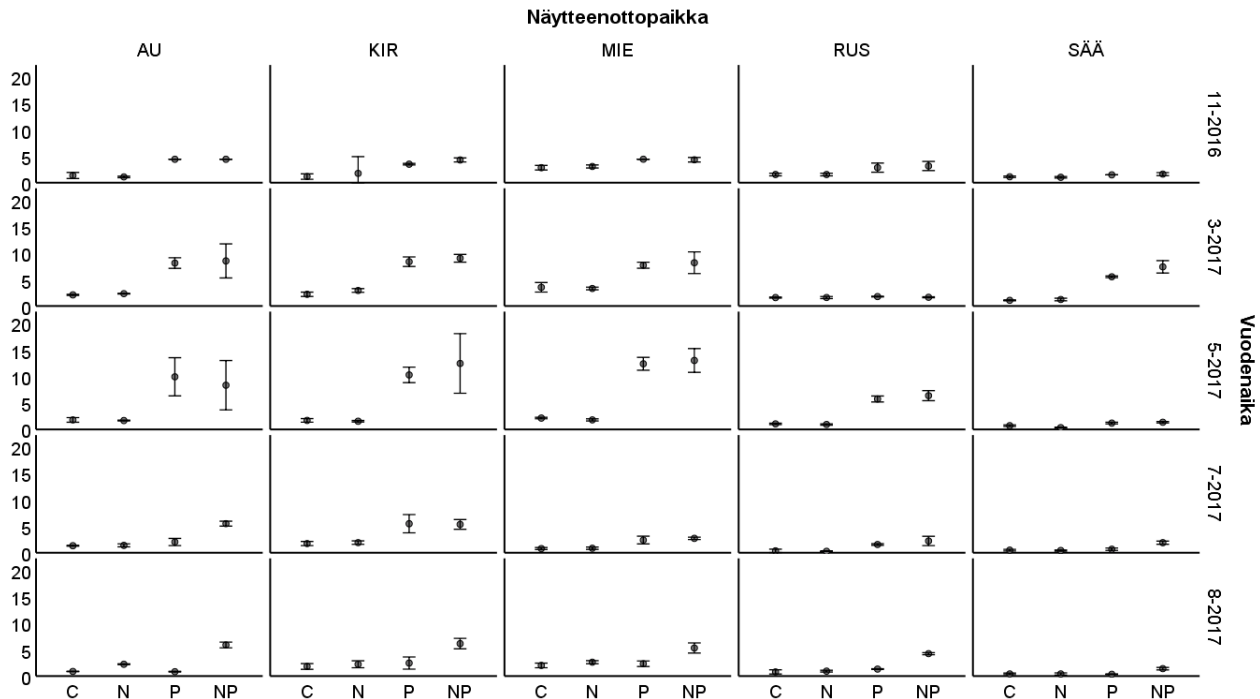
Näytevesien pH vaihteli kaikilla näytteenotopisteillä välillä 7,09-7,78. Joki- ja järvipisteiden välillä ei ollut havaittavissa selkeitä eroja pH-arvoissa kasvatusten alussa, eikä lopussa.

#### Minimiravinnekoeket

Fosfori rajoitti leväkasvatuskokeiden perusteella kasviplanktonin kasvua kaikilla näytteenotopisteillä ympäri vuoden. Fosforin lisäksi ajoittain myös typpi rajoitti kasviplanktonin kasvua. Tällaista yhteisrajoittavuutta havaittiin ainakin 3-2017 kasvatuksessa pisteellä SÄÄ, 7-2017 kasvatuksen aikana pisteellä AU ja SÄÄ, sekä 8-2017 kasvatuksen aikana kaikilla näytepisteillä.

Kasviplanktonfluoresenssi nousi kasvatuksen myötä lähes kaikissa käsittelyissä ja kaikilla havaintopisteillä (liite 3). Pääsääntöisesti fluoresenssilukemat nousivat muita korkeammiksi Vanajanreitin kasvatuksissa, erityisesti Mierolansalmen näytteissä. Fluoresenssilukemat olivat

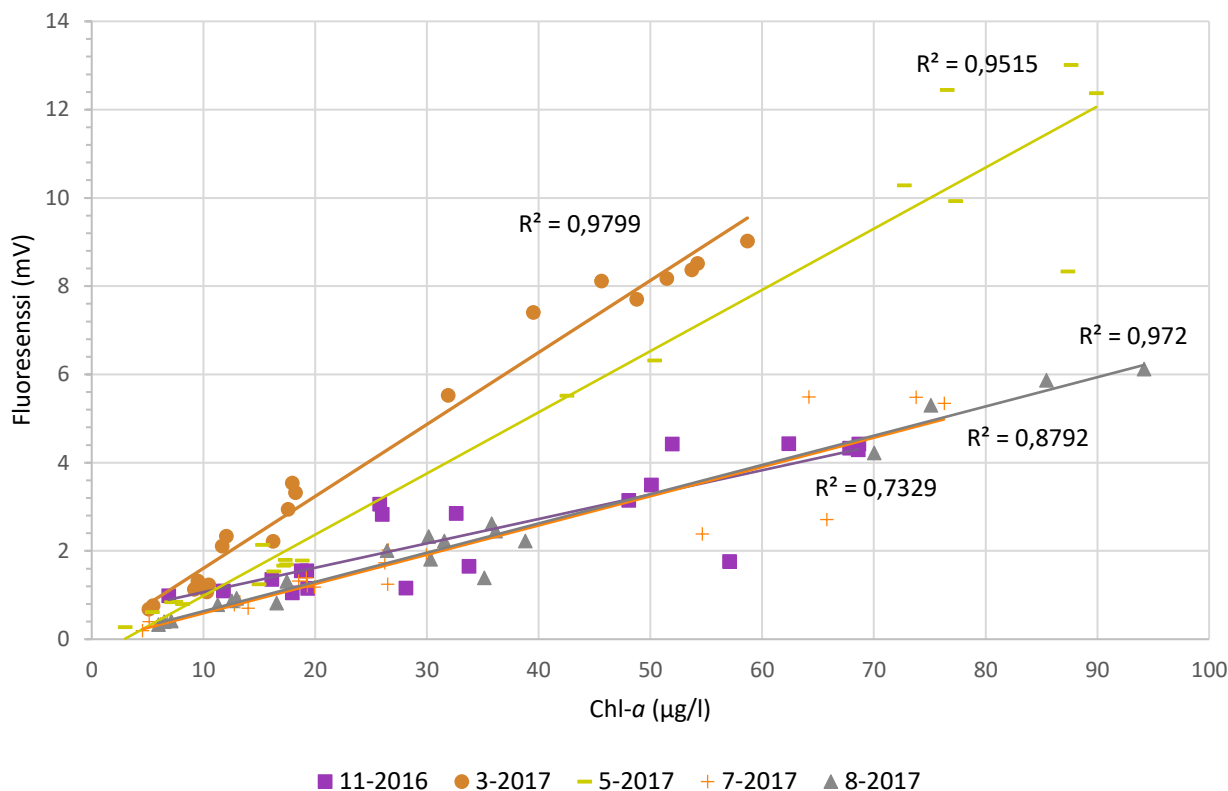
pääosin korkeimmat kasvatuspurkeissa, joihin oli lisätty fosforia (kuva 9). Kaikissa kasvatuksissa rinnakkaisnäytteet antoivat hyvin samanlaiset tulokset.



Kuva 9. Kasvatuskokeiden fluoresenssitulokset millivolteina kasvatusten viimeiseltä päivältä tai hetkeltä, jolloin fluoresenssi oli korkeimmillaan.

Kaikissa kasvatuksissa fluoresenssit eivät kuitenkaan noudattaneet yleistä kasvutrendiä. RUS-purkeissa fluoresenssi lähti laskuun 3-2017 kasvatuksen aikana ennen kuin käsittelyjen välille ehti muodostua eroa. Tämän vuoksi kasvatuskokeiden perusteella ei pystytty fluoresenssin eikä a-klorofyllipitoisuuksien avulla määrittämään rajoittavaa ravinnetta RUS-pisteelle maaliskuussa. Mikroskopointi paljasti, että purkeissa oli alkueläimiä, jotka käyttävät ravintonaan kasviplanktonia. 11-2016 kasvatuksen aikana KIR-pisteellä ja 5-2017, 7-2017 ja 8-2017 kasvatusten aikana SÄÄ-pisteellä fluoresenssikäyrät laskivat kasvatusten alussa, ennen kuin alkoivat taas nousta. Näiden käsittelyjen välillä oli silti riittävästi eroja rajoittavan ravinteen määrittämiseksi, vaikka kaikissa fluoresenssi ei kasvatuksen aikana palautunut lähtötasolle.

Fluoresenssin ja a-klorofyllin välinen selityskerroin  $R^2$  oli ensimmäistä kasvatusta lukuun ottamatta 0,83-0,97 (kuva 10). 11-2016, 7-2017 ja 8-2017 kasvatusten kulmakertoimet olivat hyvin samankaltaisia. 3-2017 ja 5-2017 kasvatusten aikana samat a-klorofyllipitoisuudet johtivat keskimäärin korkeampaan fluoresenssilukemaan kuin muissa kasvatuksissa.



Kuva 10. Kasvatusten lopputilanteen fluoresenssin (taustafluoresenssi vähennetty) ja a-klorofyllin välinen suhde.

Minimiravinnekoekiden perusteella kasviplanktonin kasvua rajoittava ravinne oli pääosan vuotta fosfori (taulukko 3). Tilastollisesti analysoitujen fluoresenssitulosten mukaan yhteisrajoittavuutta esiintyi SÄÄ-pisteellä 11-2016 kasvatusta lukuun ottamatta jokaisen kasvatuksen aikana. 7-2017 kasvatuksen aikana yhteisrajoittavuutta oli SÄÄ-pisteen lisäksi myös pisteillä AU ja RUS. Elokuussa yhteisrajoitteisuutta oli kaikilla koepisteillä. Yhteisrajoittavuustilanteissa toissijaisesti rajoittava ravinne oli fosfori 3-2017 ja 5-2017 kasvatuksissa SÄÄ-pisteellä, ja 7-2017 kasvatuksissa pisteillä AU ja RUS. Vain kerran, 8-2017 kasvatuksessa AU-pisteellä havaittiin yhteisrajoittavuutta, jossa toissijaisesti rajoittava ravinne oli typpi. Tämä oli siis ainoa tapaus, jolloin pelkkä typpilisäys sai kasviplanktonin saannon kontrollia suuremmaksi. Fluoresenssiaineistosta piirrettyjen kuvaajien perusteella SÄÄ-pisteellä 11-2016 kasvatuksen aikana myös yhteisrajoitteisuus saattoi olla mahdollista, ja 5-2017 kasvatuksen aikana fosforirajoitteisuus. 11-2016 ja 5-2017 kasvatuksissa SÄÄ-pisteen NP- ja P-käsittelyjen fluoresenssit olivat koko ajan tai hetkellisesti samat, kunnes P-käsittelyn fluoresenssi laski kahden viimeisen mittauspäivän välissä. Myös 11-2016 kasvatuksessa KIR-pisteellä kuvaajien perusteella vallitsi yhteisrajoitteisuus, vaikka tilastollisen testin mukaan rajoittava ravinne oli fosfori.

Taulukko 3. Rajoittava ravinne fluoresenssitulosten tilastollisen analyysin ja kasvatuskokeiden lopussa mitattujen a-klorofyllipitoisuuksien perusteella.

P= fosforirajoitteisuus, NP= fosforin ja typen yhteisrajoitteisuus, N= typpirajoitteisuus.

Toissijaisesti rajoittava ravinne suluissa. \*  $p$ -arvo  $<0,05$ , \*\*  $p$ -arvo  $<0,01$ .

	11-2016		3-2017		5-2017		7-2017		8-2017	
	Fluor.	Chl- <i>a</i>	Fluor.	Chl- <i>a</i>	Fluor.	Chl- <i>a</i>	Fluor.	Chl- <i>a</i>	Fluor.	Chl- <i>a</i>
AU	P**	P	P**	P	P**	P	NP**(P*)	NP(P)	NP**(N**)	NP(N)
KIR	P	NP	P**	P	P**	P	P**	P	NP**	NP
MIE	P**	P	P**	P	P**	P	P**	P	NP**	NP
RUS	P**	NP(P)	-	-	P**	P	NP*(P**)	P	NP**	NP
SÄÄ	P*	NP	NP**(P**)	P	NP*(P**)	NP(P)	NP**	NP(P)	NP**	NP

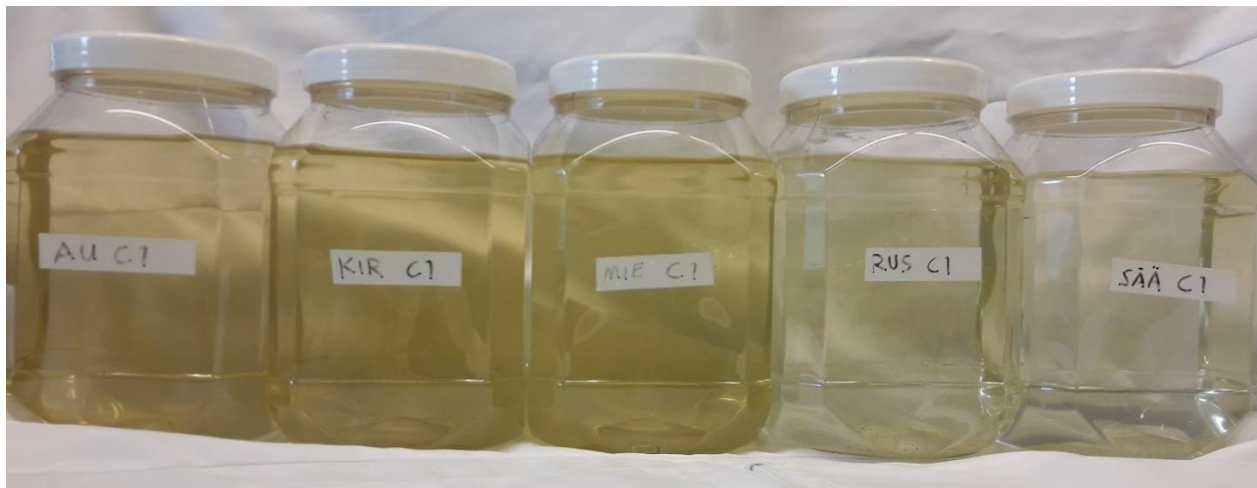
Fluoresenssiaineiston perusteella rajoittavaksi ravinteeksi määritettiin fosfori, mikäli P- ja NP-käsittelyjen välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa. Tulostaulukon (taulukko 3)  $p$ -arvot kertovat korkeimman ja toiseksi tai kolmanneksi korkeimman fluoresenssin välisestä merkitsevyydestä, riippuen siitä oliko tulos fosforirajoitteisuus vai yhteisrajoitteisuus.

Minimiravinnekokeiden a-klorofyllitulokset antoivat pääosin samoja tuloksia kuin tilastollisesti analysoidut fluoresenssilukemat, jopa toissijaisesti rajoittavasta ravinteesta (taulukko 3). Vain 11-2016 kasvatuksessa kolmella pisteellä, 3-2017 kasvatuksessa SÄÄ-pisteellä ja 7-2017 kasvatuksessa RUS-näytepisteellä toinen menetelmästä ilmensi fosforirajoitteisuutta, kun toisen menetelmän mukaan vallitsi yhteisrajoitteisuus. Fosfori määritettiin rajoittavaksi ravinteeksi tilanteissa, joissa tyypillisäys johti samaan a-klorofyllipitoisuuteen kuin kontrollikäsittely ja käsittelyt, joissa koepurkkeihin oli lisätty fosforia, johtivat huomattavasti edellä mainittuja korkeampaan a-klorofyllipitoisuuteen. Tilanteissa, joissa fosfori todettiin rajoittavaksi, oli joidenkin pisteiden osalta hieman viitteitä yhteisrajoittavuudesta, sillä P-käsittelyn a-klorofyllipitoisuus suhteessa NP-käsittelyn a-klorofyllipitoisuuteen vaihteli välillä 76-103 %. Yhteisrajoitteisuutta todettiin tilanteissa, joissa NP-käsittely johti kaikkia muita käsittelyjä selkeästi korkeampaan fluoresenssiin. A-klorofyllilukemille ei voitu laskea merkitsevyyksiä, sillä ne oli määritetty kokoomista ja rinnakkaisia näytteitä ei ollut.

Jokaisen kasvatuksen aikana pH nousi ja joidenkin kasvatusten lopussa pH oli jopa yli 10.

Käsittelyissä, jotka johtivat kontrollia korkeampaan fluoresenssi ja a-klorofyllilukemaan, oli myös pH hieman korkeammalla.

Joki- ja järvipisteiden veden värissä oli silminnähtäviä eroja kasvatusten alussa ja lopussa (kuva 11). Järvinäytteiden fluoresenssi lähti nousemaan hitaammin ja 7-2017 kasvatuskerralla järvinäytteiden (RUS, SÄÄ) osalta kasvatustetta jatkettiin kaksi päivää jokinäytteitä pidempään.



Kuva 11. Näytepurkkien vedessä oli havaittavissa eroja näytepisteiden välillä.

11-2016 ja 3-2017 kasvatuksissa kaikkien näytepisteiden kasviplankton lähti kasvamaan hitaammin kesän kasvatukseen verrattuna. Näitä talvella suoritettuja kasvatuksia jatkettiin pidempään, sillä kesti kauemmin ennen kuin käsittelyjen välillä oli havaittavissa eroja.

#### Ravintesuhteet

Kokonaisravinteiden suhteiden perusteella fosfori oli kasviplanktonin kasvua rajoittava ravinne ympäri vuoden. Vain AU- ja MIE-pisteillä elokuussa TN:TP-suhteen perusteella saattoi fosforin lisäksi, tai fosforin sijaan rajoittava ravinne olla typpi. Kokonaisravinteiden tuloksista poiketen, liukoisten ravinteiden suhteen perusteella 8-2017 MIE-pisteellä rajoittava ravinne oli varmasti fosfori.

Kokonaisravinteille lasketut TN:TP-suhteet vaihtelivat välillä 17-80. Jokiosuudella maaliskuu- ja toukokuussa TN:TP-suhteet olivat korkeammat (60-80) ja muina aikoina matalampia (17-30). Järvipisteillä TN:TP-suhteissa ei ollut yhtä paljon vaihtelua, mutta myös RUS- ja SÄÄ-pisteillä TN:TP-suhteet olivat hieman korkeammat 3-2017 ja 5-2017 kasvatusten aikana.

Liukoisten ravinteiden DIN:SRP-suhteet olivat 7-600. Liukoisten ravinteiden N:P-suhteet olivat selkeästi korkeimmat jokipisteillä toukokuussa (504-600). Myös RUS-pisteellä liukoisten ravinteiden N:P-suhde oli toukokuussa poikkeuksellisen korkea (243). SÄÄ-pisteen DIN:SRP oli korkeimmillaan maaliskuun kasvatuksen aikaan. Mikäli toukokuun arvot jätetään pois, vaihteli DIN:SRP-suhde välillä 7-154.

Kun ravinnefraktioiden suhteet ryhmiteltiin kasvatuskokeiden perusteella saadun rajoittavan ravinteen mukaisesti, huomattiin että ravinnesuhteiden vaihteluvälit olivat osittain päällekkäisiä (taulukko 4). Taulukkoa tehdessä huomioitiin vain tilanteet, joissa kasvatuskokeiden fluoresenssi ja a-klorofylli antoivat rajoittavasta ravinteesta saman tuloksen. Typpirajoitteisuuden suhteiden taulukoimisessa käytettiin hyväksi AU-pisteen 8-2017 kasvatuksen ravinnepitoisuuksia. Tällöin vallitsi yhteisrajoitteisuus, jolloin tyyppi oli toissijaisesti rajoittava ravinne. Ravinnesuhteet ovat siis vielä AU-pisteen elokuun ravinnesuhteista alhaisemmat tilanteessa, jossa vesistössä vallitsee yhteisrajoitteisuuden sijaan typpirajoitteisuus.

Taulukko 4. Eri ravinnefraktioiden suhteet kasvatuskokeiden perusteella saadun rajoittavan ravinteen mukaisesti ryhmiteltynä. Typpirajoitteisuutta ilmentäviin suhteisiin on suhtauduttava varauksella, sillä tässä kasvatuskokeessa ei havaittu typpirajoitteisuutta.

TN:TP	DIN:SRP	DIN:TP	TN:SRP	Rajoittava ravinne
<17	<7	<0,9	<136	N
17-43	22-48	3-8	129-218	NP
24-80	33-600	10-65	70-707	P

## Kasviplanktonlajisto

Kolmella ensimmäisellä kasvatuskerralla kasviplanktonlajisto oli piilevävaltaista.

Heinä- ja elokuun kasvatuksissa oli huomattavasti enemmän syanobakteerilajeja kuin muina ajankohtina. Elokuun kasvatuksissa syanobakteerilajeista yleisimmät olivat *Merismopedia* sp., *Microcystis* sp., *Uroglena* sp. ja *Dolichospermum* sp. Kasviplanktonin monimuotoisuus oli runsasta kaikkien kasvatusten lopussa kaikissa niissä purkeissa, joiden lajistoa tarkasteltiin. Yhdessäkään kasvatuksessa mikään yksittäinen kasviplanktonitaksoni ei dominoinut.

## Tulosten tarkastelu

Minimiravinnekoeket sekä niitä täydentävät vedenlaatu- ja kasviplanktonitulokset osoittivat Vanajanreitin ja Vanajanselän olevan pääosin fosforirajoitteisia. Vesistöalueet on luokiteltu ekologiselta tilaltaan välttäväksi (Vanajanreitti) ja tyydyttäväksi (Vanajanselkä). EU:n vesipuitedirektiivin mukaisesti Vanajaveden tilan on parannuttava vuoteen 2027 mennessä ja fosforirajoitteisissa vesistöissä tämä edellyttää mm. fosforikuormituksen vähentämistä. Ainoastaan elokuun tulokset viittasivat kaikilla näytepisteillä myös typen rajoittaneen fosforin ohella levien kasvua. Huomionarvoista on, ettei typpi ollut missään vaiheessa yksin levien kasvua rajoittava ravinne. Myös muissa vesistöissä on havaittu kasviplanktonin kasvua rajoittavan ravinteiden vuodenaikaisvaihtelua (Kolzau ym., 2014).

## Ajallinen ja alueellinen vaihtelu

Tulosten perusteella ravinnerajoitteisuudessa ei juurikaan esiintynyt vuodenaikaista eikä alueellista vaihtelua. Kokeissa havaitut muutokset ravinnepitoisuuksissa johtuivat todennäköisesti kasviplanktonin sukkessiosta, vuodenaikojen välisistä eroissa lämpötilassa ja valaistusolosuhteissa, lumien sulamisesta johtuvasta hajakuormituksesta ja kerrostuneisuuden muodostumisesta sekä purkautumisesta. Talvella ja keväällä vedessä oli enemmän liukoisia ravinteita ja myös kokonaistyyppipitoisuus oli korkeampi. Tällöin levätesteissä fosfori osoittautui rajoittavaksi ravinteeksi. Luonnossa lisäksi jääpeitteestä johtuva auringonvalon vähäisyys ja alhainen lämpötila ovat voineet rajoittaa kasviplanktonin kasvua etenkin talvella (Vehmaa & Salonen, 2009). Kun jäät lähtivät, ilma ja vesi lämpenivät ja auringonvaloa oli enemmän, kiihtyi kasviplanktonin kasvu. Liukoisten ravinteiden pitoisuudet laskivat kesän aikana kasviplanktonin käyttäessä ravinteita kasvuunsa. Myös kuolleiden kasviplanktonisolujen sedimentaatio ja kesän aikana tehostunut denitrifikaatio laskivat liukoisten ravinteiden ja kokonaistypen pitoisuuksia. Denitrifikaatio tehostuu lämpimässä, ja tilanteessa, jossa vesipatsaassa on nitraattia, mutta alusvesi on hapetonta (Uusheimo ym., 2018). Lisäksi kesän aikana vahvistunut Vanajanselän lämpötilakerrostuneisuus johti päällysveden liukoisten ravinteiden loppumiseen, kun alusvedessä liukoista typpeä ja fosforia saattoi olla enemmän. Nämä seikat johtivat siihen, että elokuussa sekä typpi että fosfori rajoittivat kasviplanktonin kasvua. Syksyn täyskierron aikana pinta- ja alusveden sekoittuessa myös erot

ravinnepitoisuuksissa tasaantuvat. Tämä voidaan todeta korkeampina liukoisten, mutta paikoin myös kokonaisravinteiden pitoisuuksina marraskuun kasvatuksessa verrattuna loppukesän kasvatukseen. Oletettavasti dynamiikka on samansuuntaista vuodesta toiseen, ellei lämpötiloissa ja sadannassa ole merkittävää vaihtelua vuosien välillä. Kasviplanktontulokset antoivat viitteitä siitä, että lajiston vuodenaikaissukcessio seurasi kirjallisuudessa raportoituja linjoja niin biomassan kuin lajistonkin suhteen; syanobakteerit yleistyvät loppukesästä ja kesän aikana on kaksi kasviplanktonbiomassamaksimia (Kanninen ym., 1982). Koska mittauksia oli vain viisi, tämän kokeen puitteissa oli vaikea saada kovin tarkkaa kuvaa kasviplanktonbiomassan muutoksista.

Kuten Vanajavedessä, myös esimerkiksi saksalaisissa järvissä fosfori on keväällä ollut rajoittava ravinne ja syksyllä typen merkitys rajoittavana ravinteena on korostunut. Kolzaun ym. (2014) tutkimuksessa varsinaista typpirajoitettisuutta tavattiin loppukesällä ja syksyllä etenkin matalissa polymiktisissä järvissä, jotka sekoittuvat kesän aikana epäsäännöllisiin väliajoin. Kyseisessä tutkimuksessa SRP-pitoisuus oli fosforirajoitteisena aikana  $<10 \mu\text{g/l}$ . Liukoisen typen pitoisuus typpirajoitteisena aikana oli  $<100 \mu\text{g/l}$ . Vanajavedellä DIN-pitoisuus oli  $<100 \mu\text{g/l}$  vain elokuussa AU-pisteellä ( $36 \mu\text{g/l}$ ). Myös SÄÄ-pisteeltä elokuussa mitattu DIN-pitoisuus oli matala,  $109 \mu\text{g/l}$ . Kyseisillä pisteillä elokuussa myös SRP-pitoisuudet olivat matalia,  $5 \mu\text{g/l}$  AU-pisteellä ja  $4 \mu\text{g/l}$  SÄÄ-pisteellä. Matalat liukoisten ravinteiden pitoisuudet ovat linjassa pisteiltä kokeellisesti selvitetyn rajoittavan ravinteiden kanssa.

Rehevöitynyt Vesijärvi todettiin ravinnesuhteiden ja kasvatuskokeiden perusteella typpirajoitteiseksi (Kanninen ym., 1982). Vesijärvellä TN:TP-suhteet olivat 4,5-23 ja DIN:SRP-suhteet 0,8-13. Pääosin fosforirajoitteisen Vanajaveden ravinnesuhteisiin verrattuna olivat Vesijärven ravinnesuhteet huomattavasti alhaisempia. Vesijärvellä liukoisen typen pitoisuudet olivat huomattavasti Vanajaveden vastaavia matalammat, mutta liukoista fosforia oli Vesijärvellä keskimäärin enemmän kuin Vanajavedellä. Kasvatuskokein määritetty rajoittava ravinne, liukoisten ravinteiden pitoisuudet, sekä ravinnesuhteet antoivat siis molemmilla vesistöillä loogisen tuloksen kasviplanktonin kasvua rajoittavasta ravinteesta.

Vanajavedellä näytepisteiden väliset erot rajoittavassa ravinteessa voivat selittyä jätevedenpuhdistamon vaikutuksella, muulla valuma-alueelta tulevalla kuormituksella, sekä Vanajanselällä tapahtuvalla denitrifikaatiolla, joka voi johtaa jopa 50 % typpipitoisuuden laskuun (Kaipainen ym., 2009). Heinäkuussa typen ja fosforin yhteisrajoittavuutta esiintyi vain pisteellä ennen jätevedenpuhdistamon purkupuutkea (AU) ja viimeisellä pisteellä kaukana puhdistamosta



(SÄÄ). Onkin oletettavaa, että puhdistamolta pääsee suhteessa enemmän typpeä kuin fosforia vesistöön ja tämä typpi denitrifikoituu Vanajanselällä ennen kuin vesimassat virtaavat SÄÄ-pisteelle asti. Jätevedenpuhdistamon typpikuormitus selittäisi senkin, miksi elokuun yhteisrajoittavuustilanteessa toissijaisesti rajoittava ravinne AU-pisteellä oli typpi, mutta yhdelläkään jätevedenpuhdistamon jälkeisistä näytepisteistä ei vastaavaa havaittu.

### Jätevedenpuhdistamon vaikutus

Jätevedenpuhdistamolla vaikuttaisi olevan vesistöä lievästi rehevöittävä vaikutus. Välittömästi puhdistamon alapuolisella vesialueella a-klorofyllipitoisuus oli korkeampi ja ravintesuhteet muuttuivat. Rajoittava ravinne pysyi kuitenkin samana. Jätevedenpuhdistamon alapuolisessa vesistössä ja sen valuma-alueella on muitakin kuormituslähteitä. Kasviplanktonin kasvua inhiboivaa vaikutusta jätevedenpuhdistamolla ei havaittu olevan.

Koska vesistö on pääosan vuotta fosforirajoitteinen, johtuu kokeessa todettu kasviplanktonbiomassan nousu puhdistamon alapuolisella Vanajanreitillä todennäköisimmin jätevedenpuhdistamon fosforipäästöistä. Jätevedenpuhdistamolta tulee kuitenkin kasviplanktonille suhteessa enemmän käyttökelpoista typpeä kuin fosforia. Rautamonojassa, jonka kautta Paroisten puhdistamon puhdistettu jätevesi purkautuu Vanajanreitille, on TN:TP-suhde 88 ja DIN:SRP-suhde 831 (Huotari, 2020, kirjallinen tiedonanto). Ravinnepitoisuuksien nousu KIR- ja MIE-pisteiden välillä viittaisi kuitenkin myös muihin kuormituslähteisiin. Tällä välillä on runsaasti asutusta ja mm. hevostiloja. Vanajanreitille ja Vanajanselälle virtaa Rautamonojan lisäksi vettä useasta muustakin joesta, joiden ravinteet lisäävät kuormitusta.

Vanajanselän valuma-alue on suuri verrattuna järven pinta-alaan ja suurin osa vesistöä rehevöittävästä ravinnekuormituksesta tulee hajakuormituksena mm. maataloudesta (Kaipainen ym., 2009), eikä pistekuormituksena jätevedenpuhdistamoilta. Koko valuma-alueelta peräisin olevasta kokonaistyppikuormasta vain 22 % ja kokonaisfosforikuormasta vain 6 % tulee Paroisten jätevedenpuhdistamolta. Vanajaveden suurimman kuormittajan eli maatalouden osuus vesistön kokonaiskuormituksesta on 56 % kokonaistypen ja 67 % kokonaisfosforin osalta (Kaipainen ym., 2009).

Levätestien tulosten ja ravinnesuhteiden perusteella Paroisten puhdistamolle rakennettava uusi, erityisesti typenpoistoa tehostava jätevedenkäsittely-yksikkö tuskin hillitsee Vanajanreitin ja Vanajanselän rehevöitymistä, sillä kasviplankton on suurimman osan vuodesta fosforirajoitteista. Tämän tutkimuksen perusteella vain fosforikuormituksen vähentäminen hillitsee kasviplanktonin kasvua. Jätevedenpuhdistamon fosforinpoistotehokkuutta on kuitenkin vaikea enää tehostaa, joten päähuomio tulisi kohdistaa hajakuormituksen vähentämiseen. Jotta Vanajanreitti ja Vanajanselkä olisivat EU:n vesipuidedirektiivin vaatimassa hyvässä ekologisessa luokassa vuoteen 2027 mennessä, on etenkin valuma-alueen hajakuormitusta fosforin osalta välttämätöntä vähentää. Etenkin heterosyyttillisten syanobakteerilajien kasvua hillitsee vain vesipatsaan fosfaatti- ja kokonaisfosforipitoisuuden lasku (Kanninen ym., 1982). Kuormituksen kontrolloimisen lisäksi mahdollisesti myös yhtä tai useampaa rehevöityneiden vesistöjen kunnostuskeinoista on käytettävä, jotta ekologinen tila parantuu tarpeeksi EU:n asettaman aikarajan puitteissa. Fosforipitoisen pohjasedimenttikerroksen poistaminen ruoppaamalla, sekä ravintoverkkokunnostusten toteuttaminen särkikalaja poistokalastamalla, sekä petokaloja ja vesikasveja istuttamalla merkittävien kuormitusvähennysten yhteydessä ovat keinoja, joiden on todettu johtavan vesipatsaan ravinnepitoisuuksien laskuun ja vedenlaadun parantumiseen (Søndergaard ym., 2000). Kaikki menetelmät eivät kuitenkaan tuota toivottua lopputulosta jokaisessa järvessä ja kunnostustoimenpiteet onkin aina suunniteltava vesistökohtaisesti niin lyhyen kuin pitkän tähtäimen tavoitteet huomioiden. Esimerkiksi mittava poistokalastus on voinut parantaa vedenlaatua muutamaksi vuodeksi, mutta se on alkanut taas huonontua kalastuksen lopettamisen jälkeen, mikäli päästövähennykset ja muut kunnostustoimenpiteet eivät ole olleet riittäviä.

Joillain vesistöillä pelkkä fosforikuorman vähentäminen on riittänyt vedenlaadun parantumiseen. Esimerkiksi Erie- ja Ontario-järvellä kokonaisfosforipitoisuudet kohosivat eksponentiaalisesti urbanisaation myötä 1940-luvulla (Schelske ym., 2006). Kokonaisfosforipitoisuus oli 1970-luvulla 27 µg/l ja Erie-järven länsiosissa jopa 50 µg/l, kun ennen rehevöitymiskehityksen alkua pitoisuudet olivat 5 µg/l luokkaa. Kokonaisfosforipitoisuus saatiin kuitenkin molemmilla järvillä laskemaan 1970-luvun lopulla, kun USA ja Kanada sitoutuivat vähentämään fosforipäästöjä (Scavia ym., 2014; Schelske ym., 2006). Sittemmin Erie-järven ulkoisen ravinnekuorman lisääntyminen on johtanut syanobakteerien massaesiintymisten paluuseen (Scavia ym., 2014).

Erie-järvi on suuri ja syvä verrattuna esimerkiksi Vanajanselkään. Mikäli rehevöitynyt järvi on matala ja ravinnekuormitus on ollut vesimassaan nähden mittavaa, voi järven sisäinen kuormitus hidastaa vedenlaadun parantumista. Jos sedimenttiin on varastoitunut paljon fosforia, ei pelkkä fosforikuormituksen vähentäminen välttämättä lyhyellä aikavälillä näy parantuneena vedenlaatuna. Kuitenkin kun ulkoista fosforikuormitusta on merkittävästi vähennetty, on myös rehevöityneiden järvien sisäinen fosforikuormitus vähitellen vähentynyt ja vuosien ja vuosikymmenten aikana järvet ovat palautuneet hiljalleen parempaan ekologiseen tilaan (Søndergaard ym., 2000; Åhlgren, 1978).

On myös raportoitu tilanteita, joissa vesipatsaan fosforipitoisuus on saatu laskemaan mutta siitä huolimatta kasviplanktonbiomassa on pysynyt korkeana. Tämän ilmiön voi selittää teoria vaihtoehtoisista tasapainotiloista. Etenkin matalissa järvissä voi samoissa ravinnepitoisuuksissa vallita perustuottajista joko vesikasvit tai kasviplankton. Kasviplanktonvaltaisessa tilassa vesi on sameampaa, eivätkä etenkin uposlehtiset vesikasvit saa tarpeeksi valoa kasvaakseen. Usein ravinnepitoisuuksien nousu johtaa kasviplanktonin runsastumiseen. Mikäli vesistön lajisto on muuttunut rehevälle järvelle tyypilliseksi, voi niukkaravinteisemmassa, vesikasvivaltaisessa tilassa vallitsevan lajiston palauttaminen edellyttää merkittävää ravinnepitoisuuksien laskua. Joissain järvissä ravinnepitoisuudet on pitänyt saada rehevöitymiskehityksen alkua edeltävää tilaa matalammalle tasolle, jotta kasviplanktonbiomassa laskee ja vesikasvivaltainen tila palautui (Duarte ym., 2009; Holling, 1973; Norström ym., 2009). Mikäli vesipatsaan ravinnepitoisuuksia ei saada riittävän alas, voi vesistön kunnostaminen vaatia päästövähennysten lisäksi muitakin kunnostustoimia, kuten esimerkiksi yllä mainittuja ravintoverkkokunnostuksia (Norström ym., 2009).

Vanajaveden tapauksessa typpikuormituksen vähentämisen positiivinen vaikutus vesistön ekologiseen tilaan on työntulosten valossa hieman kiistanalaista (Schindler, 1975).

Fosforikuormituksen merkittävä vähentäminen todennäköisesti sen sijaan parantaisi järven vedenlaatua ja ekologista tilaa. Hämeen elinkeino-, liikenne- ja ympäristökeskus kirjasi, että Vanajaveden tilan on mahdollista parantua ekologiseen luokkaan hyvä EU:n asettaman aikarajan puitteissa (Hämeen elinkeino-, liikenne- ja ympäristökeskus, 2010). Eurooppalaisissa järvissä tehdyt tutkimukset osittain tukevat tavoitteiden mahdollista toteutumista. Vain aika näyttää kuinka nopea ja pysyvä positiivinen kehitys juuri Vanajanselällä ja Vanajanreitillä tulee olemaan. Muutoksen nopeus riippuu kunnostustoimenpiteiden tehokkuudesta eli mm. siitä kuinka paljon

ravinnekuormitusta vähennetään. Tosiasia on, että vuosikausia jatkuneen ravinnekuormituksen rehevöittämiin vesistöjen palauttaminen pysyvästi niukkaravinteisemmiksi, kirkasvetisemmiksi ja lajistoltaan rehevöitymistä edeltäneeseen tilaan vie aikaa (Schindler, 2006).

### Mittausmenetelmien vertailu

Fluoresenssitulosten sekä muiden käytettyjen menetelmien ja lähestymistapojen antamat tulokset viittaavat siihen, että valittu koeasetelma oli toimiva. Minimiravinnekoeket antoivat tarkemman kuvan rajoittavasta ravinteesta, kuin pelkät ravinnesuhteet. Myös monissa muissa tutkimuksissa leväkasvatuskokeiden fluoresenssi ja a-klorofyllimittaukset ovat antaneet samansuuntaisia tuloksia kasviplanktonin kasvua rajoittavasta ravinteesta (Forsberg ym., 1978; Rinne & Saloniemi, 1983).

Menetelmistä yksikään ei ole selkeästi paras, sillä kaikilla on omat hyvät sekä huonot puolensa. Kasvatuskokeissa oli kolme rinnakkaista käsittelyä, joiden keskihajonta (liite 3) oli hyvin pieni. Myös se, että fluoresenssimittaria pidettiin mittauksen aikana aina samassa syvyydessä, vähensi kasvatustankin fluoresenssilukemaan mahdollisesti aiheuttamaa virhettä. Koska fluoresenssi mitattiin lähes joka päivä, saatiin selville, että yhden kasvatuksen aikana kasviplanktonin kasvu kääntyi laskuun yhden näytepisteen osalta (3-2017 RUS) kesken kasvatuksen. Tätä ei olisi voitu havaita vain kasvatuksen loppupäivän tilanteesta määritetystä a-klorofyllistä. Vertailua olisi parantanut se, että a-klorofyllipitoisuudet olisi määritetty kokoomaan sijaan jokaisesta rinnakkaisesta erikseen. Tämä olisi kuitenkin lisännyt merkittävästi työmäärää. Lopputilanteen a-klorofyllimääritykset toteutettiin tässä tutkimuksessa pääosin vain fluoresenssitulosten varmistamiseksi.

Fluoresenssimittauksilla on tarkoitus saada selville kasviplanktonin kasvunopeus ja saanto. Fluoresenssimittari ei suoraan mittaa kasviplanktonbiomassaa, vaan sen sijaan a-klorofyllin fluoresenssia. Usein kasviplanktonbiomassan ja a-klorofyllin fluoresenssin korrelaatio on varsin hyvä, mutta fluoresoivan a-klorofyllin ja kasviplanktonbiomassa suhde voi vaihdella useasta erisyydestä (Huotari & Ketola, 2014). Erityisesti tilanteessa, jossa kasviplanktoniyhteisöstä suuri osa on syanobakteerilajeja, voi pelkästään a-klorofylliä mittaava fluoresenssimittari antaa biomassasta liian matalan arvion. Tämä johtuu siitä, että kasviplanktonisoluissa on a-klorofyllin lisäksi muitakin yhteytyspigmenttejä, eikä kaikki kasviplanktonisoluissa oleva a-klorofylli fluoresoi. Erityisesti syanobakteereilla on yhteytyspigmenttinä runsaasti fykosyaniinia ja biomassansa nähden

vähemmän a-klorofylliä kuin monilla muilla kasviplanktonryhmillä. Tämä voi selittää hienoisen eron fluoresenssin ja a-klorofyllin perusteella määritetyssä rajoittavassa ravinteessa loppukesästä Ruskeenkärjen järvipisteellä. Fluoresenssitulosten tarkkuus parantuisi, jos käytössä olisi sekä a-klorofylliä että fykosyaniinia mittaava fluoresenssimittari. Lisäksi kasviplanktonlajistosta olisi saatu parempi käsitys, mikäli lajisto olisi mikroskoipoitu ennen kasvatuksia eikä vasta kasvatusten jälkeen.

Minimiravinnekokeet ovat aikaa vieviä, sillä ne vaativat useita päiviä kestävän kasvatusvaiheen. Nopeampaa on selvittää rajoittava ravinne ravinnemääritysten ja niiden perusteella laskettavien N:P-suhteiden avulla. Ravinnesuhteet ovat kuitenkin yhdellä tai usealla vesistöllä tehtyjen minimiravinnekokeiden tulosten keskiarvoja eivätkä välttämättä sovellu juuri tietyn yksittäisen järven tutkimiseen. Ravinnesuhteet eivät ota huomioon sitä, että vesistöjen välillä voi olla huomattavia eroja kasviplanktonyhteisöissä. Ravinnesuhteet eivät myöskään huomioi kasviplanktonin vuodenaikaissuksessiota. Erityisesti typensidontaan kykenevien syanobakteerien ravinnevaatimukset eroavat muista kasviplanktonryhmistä.

Jopa saman vesistön sisällä N:P-suhteet voivat antaa ristiriitaista tietoa rajoittavasta ravinteesta. Esimerkiksi kokonaisravinteiden suhteiden perusteella laskettu rajoittava ravinne voi erota liukoisten ravinteiden pitoisuuksien perusteella lasketusta. Myös Vanajaveden minimiravinnekokeiden perusteella määritetyn rajoittavan ravinteen mukaan ryhmiteltyjen ravinnesuhteiden luokkarajat olivat pääosin päällekkäiset. Pelkästään DIN:TP-suhteen avulla pystyttiin yksiselitteisesti määrittämään, oliko rajoittava ravinne fosfori vai vallisiko yhteisrajoittavuustilanne. Myös Kolzau ym. (2014) tulivat tulokseen, että DIN:TP-suhde antoi luotettavimman arvion vesistön kasviplanktonituotantoa rajoittavasta ravinteesta. Heidän tulostensa mukaan vesistö oli typpirajoitteinen silloin kun DIN:TP-suhde oli <2,6 ja fosforirajoitteinen kun DIN:TP-suhde oli >2,6. Vanajavedellä vallisiksi yhteisrajoitteisuus, kun DIN:TP-suhde oli 3-8. Typpirajoitteisuutta ei havaittu edes tilanteessa, jossa kyseinen suhde oli 0,9.

Kasvatuskokeet antavat siis ravinnesuhteita tarkempaa tietoa, mutta kertovat rajoittavan ravinteen vain valituissa kasvatusolosuhteissa. Tulokset kasvatusten välisistä eroista fluoresenssin ja a-klorofyllin välisessä korrelaatiossa olivat mielenkiintoisia. Havaittuja eroja voi selittää se että 3-2017 ja 5-2017 kasvatusten aikaan luonnossa valon vähäisyys rajoitti kasviplanktonin kasvua, ei ravinteiden vähäisyys. Mielenkiintoista olisikin mahdollisen valorajoitteisuuden aikana tutkia kasvatuskokeilla ravinnerajoitteisuuden lisäksi myös valorajoitteisuutta. Talvella pintavettä varjosti

jääpeite ja keväällä veden sameus lisääntyi lumiensulamiseden kuljettaman partikkeliaineksen vuoksi (Shanafield ym., 2010). Vallalla oli tällöin lajisto, jonka sama a-klorofyllipitoisuus johti korkeampaan fluoresenssiin, verrattuna kolmen muun kasvatuksen aikaiseen kasviplanktonlajistoon. Loppupalvella ja keväällä a-klorofyllistä suurempi osa saattoi olla kasviplanktonin fluoresoivissa osissa. Näillä leväryhmillä saattoi myös olla enemmän muita yhteytyspigmenttejä, jotka fluoresoivat samalla valon aallonpituudella kuin a-klorofylli. Kesänaikaisten kasvatusten päinvastaista ilmiötä selittää se, että syanobakteerien a-klorofylli on sijoittunut solun sisällä alueille, jotka eivät fluoresoi (Huotari & Ketola, 2014).

## Johtopäätökset

Kasvatuskokeiden tulosten perusteella Vanajanreitti ja Vanajanselkä ovat loppukesää lukuun ottamatta fosforirajoitteisia. Heinäkuussa kahdella ja elokuussa kaikilla viidellä näytteenottopisteellä oli havaittavissa fosforin ja typen yhteisrajoitavuutta. Useissa yhteisrajoittavuustilanteissa fosfori oli toissijaisesti rajoittava ravinne. Vain Aulangon näytteenottoaikalla eli pisteellä ennen Paroisten jätevedenpuhdistamoja oli yhteisrajoittavuustilanne, jossa typi rajoitti kasviplanktonin kasvua enemmän kuin fosfori. Minimiravinteissa havaittu ajallinen ja alueellinen vaihtelu johtui vuodenaikojen vaihtumisesta, vesistön ulkoisista kuormituslähteistä ja Vanajanselän denitrifikaatio-ominaisuuksista. Paroisten jätevedenpuhdistamon ravinnepäästöt oli huomattavissa Vanajanreitillä, mutta niillä ei todettu olevan merkittävää vaikutusta vedenlaatuun, etenkin Vanajanselällä.

Fosforirajoitteisten Vanajanselän ja Vanajanreitin syanobakteerien massaesiintymien vähentämiseksi fosforikuormituksen vähentäminen on tehokkain ja todennäköisesti ainoa keino. Koska Paroisten jätevedenpuhdistamon fosforinpuhdistusteho on jo erinomainen, maatalouden fosforipäästöjä hillitsemisellä voidaan tehokkaimmin parantaa vesistön vedenlaatua ja ekologista tilaa.

Minimiravinnekokeet ja kasviplanktonin vasteen mittaaminen fluoresenssina ja a-klorofyllipitoisuuksina on tarkka ja luotettava tapa määrittää vesistön rajoittava ravinne.

## Kiitokset

Suuret kiitokset FT Tiina Tuloselle, professori Lauri Arvolalle ja professori Jukka Horppilalle työni ohjaamisesta. Lisäksi haluan kiittää tutkimusteknikko Jussi Viléniä, FM Michaela Suttneria, erikoislaboratoriomestari Riitta Ilolaa ja Lammin biologisen aseman muuta henkilökuntaa. Kiitokset myös Lammin biologisen aseman Ympäristötutkimuksen Säätiölle, jolta saamani apuraha mahdollisti tutkimuksen suorittamisen koko laajuudessaan.

## Lähdeluettelo

- Aroviita, J., Hellsten, S., Jyväsjärvi, J., Järvenpää, L., & Järvinen, M. (2012). Ohje pintavesien ekologisen ja kemiallisen tilan luokitteluun vuosille 2012-2013. *Ympäristöhallinnon ohjeita, 2012(7)*.
- Downing, J. A., & McCauley, E. (1992). The nitrogen: Phosphorus relationship in lakes. *Limnology and Oceanography, 37(5)*, 936–945.
- Duarte, C. M., Conley, D. J., Carstensen, J., & Sánchez-Camacho, M. (2009). Return to Neverland: Shifting Baselines Affect Eutrophication Restoration Targets. *Estuaries and Coasts, 32(1)*, 29–36.
- Etelä-Suomen Aluehallintovirasto. (2010). *Jäteveden johtamista Paroisten jätevedenpuhdistamolta koskevan luvan nro 35/2005/1 (21.9.2005) muuttaminen, Hämeenlinna. Päätös Nro 99/2010/2 Dnro ESAVI/13/04.08/2010.*
- Forsberg, C., Ryding, S.-O., Claesson, A., & Forsberg, Å. (1978). Water chemical analyses and/or algal assay? — Sewage effluent and polluted lake water studies. *SIL Communications, 1953-1996, 21(1)*, 352–363.
- Goldman, C. R. (1978). The use of natural phytoplankton populations in bioassay. *SIL Communications, 1953-1996, 21(1)*, 364–371.
- Gotham, I. J., & Rhee, G.-Y. (1981a). *Comparative kinetic studies of nitrate-limited growth and nitrate uptake in phytoplankton in continuous culture.*

- Gotham, I. J., & Rhee, G.-Y. (1981b). *Comparative kinetic studies of phosphate-limited growth and phosphate uptake in phytoplankton in continuous culture.*
- Harpole, W. S., Ngai, J. T., Cleland, E. E., Seabloom, E. W., Borer, E. T., Bracken, M. E. S., Elser, J. J., Gruner, D. S., Hillebrand, H., Shurin, J. B., & Smith, J. E. (2011). Nutrient co-limitation of primary producer communities: Community co-limitation. *Ecology Letters*, *14*(9), 852–862.
- Havens, K. E., James, R. T., East, T. L., & Smith, V. H. (2003). N:P ratios, light limitation, and cyanobacterial dominance in a subtropical lake impacted by non-point source nutrient pollution. *Environmental Pollution*, *122*(3), 379–390.
- Hellström, T. (1996). An empirical study of nitrogen dynamics in lakes. *Water Environment Research*, *68*(1), 55–65.
- Hense, I., Meier, H. E. M., & Sonntag, S. (2013). Projected climate change impact on Baltic Sea cyanobacteria: Climate change impact on cyanobacteria. *Climatic Change*, *119*(2), 391–406.
- Hernández, J. M., López-Rodas, V., & Costas, E. (2009). Microcystins from tap water could be a risk factor for liver and colorectal cancer: A risk intensified by global change. *Medical Hypotheses*, *72*(5), 539–540.
- Hilt, S., & Lombardo, P. (2010). Effects of macrophytes on phytoplankton: Nutrient uptake *versus* allelopathy. *SIL Proceedings, 1922-2010*, *30*(9), 1317–1320.
- Holling, C. S. (1973). Resilience and Stability of Ecological Systems. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *4*(1), 1–23.
- Holmboe, N., Jensen, H., & Andersen, F. (1999). Nutrient addition bioassays as indicators of nutrient limitation of phytoplankton in an eutrophic estuary. *Marine Ecology Progress Series*, *186*, 95–104.
- Horne, A. J., & Commins, M. L. (1987). Macronutrient controls on nitrogen fixation in planktonic cyanobacterial populations. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, *21*(3), 413–423.
- HS-Vesi. (2020). Jätevesien käsittely. <https://hsvesi.fi/vesi-ja-vesihuolto/jatevesien-kasittely/>.



- Huotari, J., & Ketola, M. (2014). Jatkuvatoinen levämäärien mittaus Hyvät mittauskäytännöt ja aineiston käsittely. *Ympäristöhallinnon ohjeita*, 2014(5), 70.
- Hämeen elinkeino-, liikenne- ja ympäristökeskus. (2010). *Hämeen vesienhoidon toimenpideohjelma vuoteen 2015*.
- Ilmatieteen laitos. (2016). Vuoden 2016 sää. <https://www.ilmatieteenlaitos.fi/vuosi-2016>.
- Ilmatieteen laitos. (2017). Vuoden 2017 sää. <https://www.ilmatieteenlaitos.fi/vuosi-2017>.
- Jeppesen, E., Peder Jensen, J., SØndergaard, M., Lauridsen, T., & Landkildehus, F. (2000). Trophic structure, species richness and biodiversity in Danish lakes: Changes along a phosphorus gradient: A detailed study of Danish lakes along a phosphorus gradient. *Freshwater Biology*, 45(2), 201–218.
- Kaipainen, H., Jutila, H., Bilaletdin, Ä., & Frisk, T. (2009). *Vanajaveden vesiensuojelu ja yhdyskuntien jätevesikuormitus* (Nro 1; Pirkanmaan ympäristökeskuksen raportteja, s. 44). Pirkanmaan ympäristökeskus.
- Kanda, J., Ziemann, D. A., Conquest, L. D., & Bienfang, P. K. (1990). Nitrate and ammonium uptake by phytoplankton populations during the spring bloom in Auke Bay, Alaska. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 30(5), 509–524.
- Kanninen, J., Kauppi, L., & Yrjänä, E.-R. (1982). The role of nitrogen as a growth limiting factor in the eutrophic Lake Vesijärvi, southern Finland. Teoksessa V. Ilmavirta, R. I. Jones, & P.-E. Persson (Toim.), *Lakes and Water Management* (ss. 81–85). Springer Netherlands.
- Kansanen, P. H., & Aho, J. (1981). Changes in the macrozoobenthos associations of polluted Lake Vanajavesi, Southern Finland, over a period of 50 years. *Annales Zoologici Fennici*, 18(2), 73–101. JSTOR.
- Kolzau, S., Wiedner, C., Rucker, J., Köhler, J., Köhler, A., & Dolman, A. M. (2014). Seasonal Patterns of Nitrogen and Phosphorus Limitation in Four German Lakes and the Predictability of Limitation Status from Ambient Nutrient Concentrations. *PLoS ONE*, 9(4), e96065.

- Leppäranta, M., Heini, A., Jaatinen, E., & Arvola, L. (2012). The influence of ice season on the physical and ecological conditions in Lake Vanajanselkä, southern Finland. *Water Quality Research Journal of Canada*, 47(3–4), 287.
- Moss, B. (1976). The Effects of Fertilization and Fish on Community Structure and Biomass of Aquatic Macrophytes and Epiphytic Algal Populations: An Ecosystem Experiment. *The Journal of Ecology*, 64(1), 313.
- Norström, A., Nyström, M., Lokrantz, J., & Folke, C. (2009). Alternative states on coral reefs: Beyond coral–macroalgal phase shifts. *Marine Ecology Progress Series*, 376, 295–306.
- Paerl, H. W., Hall, N. S., & Calandrino, E. S. (2011). Controlling harmful cyanobacterial blooms in a world experiencing anthropogenic and climatic-induced change. *Science of The Total Environment*, 409(10), 1739–1745.
- Paerl, H. W., & Paul, V. J. (2012). Climate change: Links to global expansion of harmful cyanobacteria. *Water Research*, 46(5), 1349–1363.
- Redfield, A. C. (1958). The biological control of chemical factors in the environment. *American Scientist*, 46(3), 230A – 221. JSTOR.
- Rinne, T., & Saloniemi, T. (1983). *Kasviplanktonin kasvua säätelevistä ravinnetekijöistä Helsingin ja Espoon merialueilla v. 1982*. (Raportti, s. 12). Helsingin kaupungin rakennusvirasto.
- Sakamoto, M. (1966). Primary production by phytoplankton community in some Japanese lakes and its dependence on lake depth. *Arch Hydrobiol*, 62, 1–28.
- Sand-Jensen, K., & Søndergaard, M. (1981). Phytoplankton and Epiphyte Development and Their Shading Effect on Submerged Macrophytes in Lakes of Different Nutrient Status. *Internationale Revue Der Gesamten Hydrobiologie Und Hydrographie*, 66(4), 529–552.
- Scavia, D., David Allan, J., Arend, K. K., Bartell, S., Beletsky, D., Bosch, N. S., Brandt, S. B., Briland, R. D., Daloğlu, I., DePinto, J. V., Dolan, D. M., Evans, M. A., Farmer, T. M., Goto, D., Han, H., Höök, T. O., Knight, R., Ludsin, S. A., Mason, D., ... Zhou, Y. (2014). Assessing and addressing the re-eutrophication of Lake Erie: Central basin hypoxia. *Journal of Great Lakes Research*, 40(2), 226–246.

- Schelske, C. L., Stoermer, E. F., & Kenney, W. F. (2006). Historic low-level phosphorus enrichment in the Great Lakes inferred from biogenic silica accumulation in sediments. *Limnology and Oceanography*, *51*(1part2), 728–748.
- Schindler, D. W. (1975). Whole-lake eutrophication experiments with phosphorus, nitrogen and carbon. *SIL Proceedings, 1922-2010*, *19*(4), 3221–3231.
- Schindler, D. W. (2006). Recent advances in the understanding and management of eutrophication. *Limnology and Oceanography*, *51*(1part2), 356–363.
- Shanafield, M. A., Susfalk, R. B., & Taylor, K. C. (2010). Spatial and temporal patterns of nearshore clarity in Lake Tahoe from fine resolution turbidity measurements. *Lake and Reservoir Management*, *26*(3), 178–184.
- Sivonen, K., Niemelä, S. I., Niemi, R. M., Lepistö, L., Luoma, T. H., & Räsänen, L. A. (1990). Toxic cyanobacteria (blue-green algae) in Finnish fresh and coastal waters. *Hydrobiologia*, *190*(3), 267–275.
- Smith, V. H. (1983). Low Nitrogen to Phosphorus Ratios Favor Dominance by Blue-Green Algae in Lake Phytoplankton. *Science*, *221*(4611), 669–671.
- Smith, V. H., Bierman, V. J., Jones, B. L., & Havens, K. E. (1995). Historical trends in the Lake Okeechobee ecosystem. 4. Nitrogen:phosphorus ratios, cyanobacterial dominance, and nitrogen fixation potential. *Archiv Fuer Hydrobiologie, Supplement*, *107*(1), 71–88.
- Suomen ympäristökeskus. (2020). *Avoin data*. [www.syke.fi/avoindata](http://www.syke.fi/avoindata)
- Säylä, J., & Vilpas, R. (2012). Yhdyskuntien jätevesien puhdistus 2010. *Suomen ympäristökeskuksen raportteja*, *2012*(21), 1–30.
- Søndergaard, M., Jeppesen, E., Jensen, J. P., & Lauridsen, T. (2000). Lake restoration in Denmark. *Lakes & Reservoirs: Research & Management*, *5*(3), 151–159.
- Thomas, W. H., Seibert, D. L. R., & Dodson, A. N. (1974). Phytoplankton enrichment experiments and bioassays in natural coastal sea water and in sewage outfall receiving waters off Southern California. *Estuarine and Coastal Marine Science*, *2*(3), 191–206.

- Tilman, D., Kilham, S. S., & Kilham, P. (1982). Phytoplankton Community Ecology: The Role of Limiting Nutrients. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 13(1), 349–372.
- Ulén, B. (1978). Seston and sediment in Lake Norrviken. *Schweizerische Zeitschrift Für Hydrologie*, 40(2), 262–286.
- Uusheimo, S., Tulonen, T., Aalto, S. L., & Arvola, L. (2018). Mitigating agricultural nitrogen load with constructed ponds in northern latitudes: A field study on sedimental denitrification rates. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 261, 71–79.
- Vehmaa, A., & Salonen, K. (2009). Development of phytoplankton in Lake Pääjärvi (Finland) during under-ice convective mixing period. *Aquatic Ecology*, 43(3), 693–705.
- Venugopalan, V. P., Nandakumar, K., Rajamohan, R., Sekar, R., & Nair, K. V. K. (1998). Natural eutrophication and fish kill in a shallow freshwater lake. *Current Science*, 74(10), 915–917. JSTOR.
- Yamaguchi, H., Hirade, N., Higashizono, K., Tada, K., Kishimoto, K., Oyama, K., & Ichimi, K. (2015). Light and nutrient limitation on phytoplankton production in the strait of an enclosed coastal sea (Bisan Strait, eastern Seto Inland Sea, Japan). *Journal of Sea Research*, 103, 75–83.
- Åhlgren, I. (1978). Response of Lake Norrviken to reduced nutrient loading. *SIL Proceedings, 1922-2010*, 20(2), 846–850.

## Liitteet

### Liite 1. Näytepisteiden vedenlaatu ja kasvatuskokeiden fluoresenssitulosten tilastollisten analyysien perusteella määritetty rajoittava ravinne

Näytepiste	pvm	N/NO <sub>2</sub> +NO <sub>3</sub> µg/l	P/PO <sub>4</sub> µg/l	N/NH <sub>4</sub> µg/l	TN µg/l	TP µg/l	Chl- <i>a</i> µg/l	DOC mg/l	pH	TN:TP (massa)	DIN:SRP (massa)	Rajoittava ravinne
Aulangon rautatiesilta, Vanajanreitti	9.11.2016	353	12	47	844	35	9,8	9,4	7,09	24	33	P
	1.3.2017	1170	10	38	1574	25	2,8	11,8	7,22	63	121	P
	9.5.2017	2006	4	10	2570	38	19,4	11,1	7,40	68	504	P
	5.7.2017	126	4	26	726	33	13,3	11,9	7,45	22	38	NP (P)
	15.8.2017	2	5	34	682	40	20,0	12,0	7,51	17	7	NP (N)
Kirstulansalmi, Vanajanreitti	9.11.2016	390	11	43	979	49	34,9	10,3	7,29	20	39	P
	1.3.2017	1230	12	33	1611	27	6,3	11,9	7,37	60	105	P
	9.5.2017	2205	4	12	2670	39	18,3	10,8	7,49	68	554	P
	5.7.2017	365	6	137	1186	49	25,3	11,9	7,47	24	84	P
	15.8.2017	176	5	36	934	51	25,8	11,8	7,35	18	42	NP
Mierolansilta, Vanajanreitti	9.11.2016	635	15	61	1044	39	8,6	9,9	7,23	27	46	P
	1.3.2017	1810	12	32	2308	29	2,1	12,0	7,38	80	154	P
	9.5.2017	2381	4	18	2828	37	15,5	10,2	7,50	76	600	P
	5.7.2017	481	5	35	1126	38	16,8	11,8	7,65	30	103	P
	15.8.2017	130	4	20	871	50	33,2	11,5	7,55	17	38	NP
Ruskeenkärki, Vanajavesi	9.11.2016	415	11	12	812	27	4,9	9,2	7,48	30	39	P
	1.3.2017	326	11	16	812	19	3,5	9,8	7,66	43	31	-
	9.5.2017	1206	5	9	1580	24	12,1	9,4	7,77	66	243	P
	5.7.2017	281	5	26	756	23	6,5	9,0	7,78	33	61	NP (P)
	15.8.2017	171	4	20	670	24	11,0	9,0	7,70	28	48	NP
Sääksmäki, Vanajavesi	9.11.2016	177	5	8	630	18	13,2	7,6	7,47	35	37	P
	1.3.2017	312	7	8	794	18	5,3	9,5	7,66	44	46	NP (P)
	9.5.2017	86	3	8	646	15	6,4	7,5	7,69	43	31	NP (P)
	5.7.2017	87	5	24	643	23	11,7	8,0	7,74	28	22	NP
	15.8.2017	93	4	13	575	22	10,4	8,0	7,69	26	27	NP

Liite 2. Hyvin lyhytviipymäisten (Lv) ja suurten humusjärvien (Sh) ekologisen tilan luokkarajat kokonaistypen, -fosforin ja a-klorofyllin (Chl-*a*) osalta (Aroviita ym., 2012).

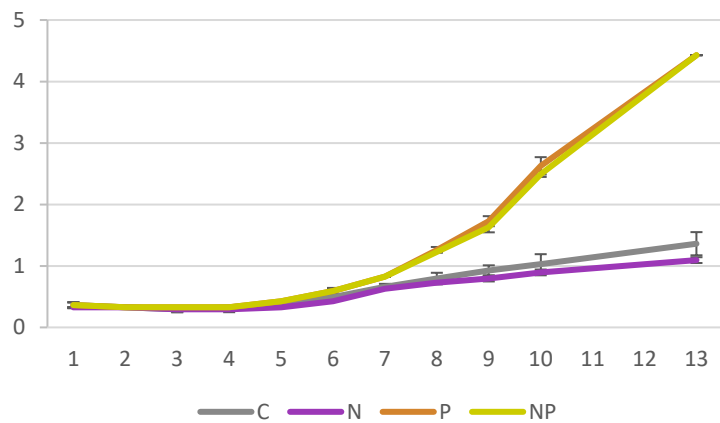
		Kasvukausi VI-IX		
		TN (µg/l) (0-2 m)	TP (µg/l) (0-2 m)	Chl- <i>a</i> (µg/l)
<b>Lv Hyvin lyhytviipymäiset järvet*</b>	Erinomainen	<450	<25	<5
	Hyvä	450-610	25-40	5-8
	Tyydyttävä	610-900	40-70	8-20
	Välttävä	900-1400	70-90	20-35
	Huono	>1400	>90	35-50
<b>Sh Suuret humusjärvet</b>	Erinomainen	<460	<15	<6
	Hyvä	460-600	15-25	6-11
	Tyydyttävä	600-900	25-40	11-20
	Välttävä	900-1300	40-80	20-40
	Huono	>1300	>80	40-60

\* Luvut ovat ravinteiden suhteen suuntaa-antavia (humuspitoisuus vaihtelee).

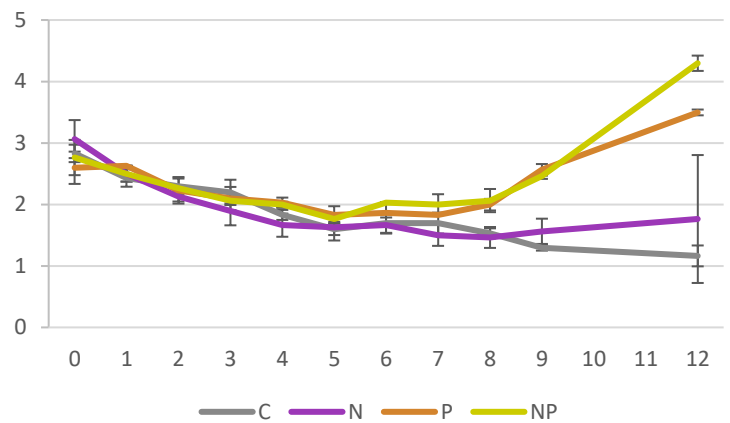
Liite 3. Kasvatuskokeiden fluoresenssi, taustafluoresenssi vähennetty

11-2016 Kasvatus

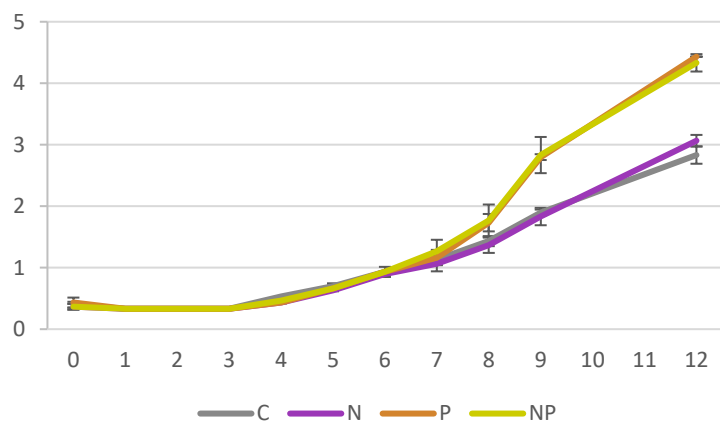
AU fluoresenssi 9.-21.11.2016



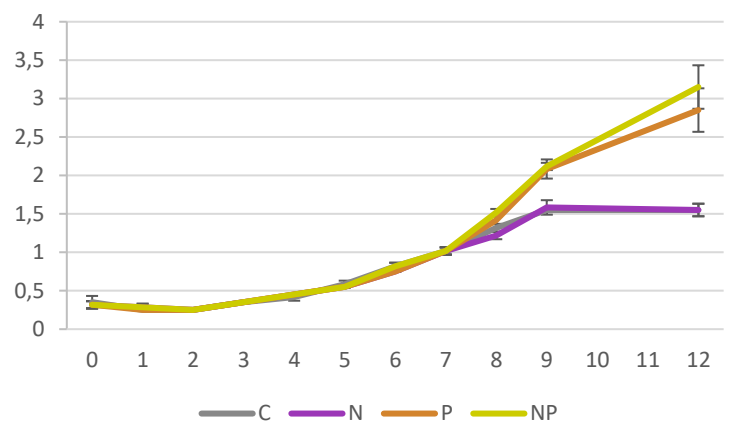
KIR fluoresenssi 9.-21.11.2016



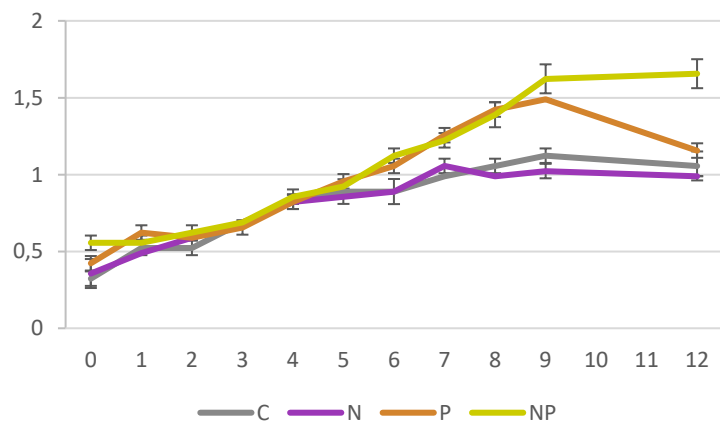
MIE fluoresenssi 9.-21.11.2016



RUS fluoresenssi 9.-21.11.2016

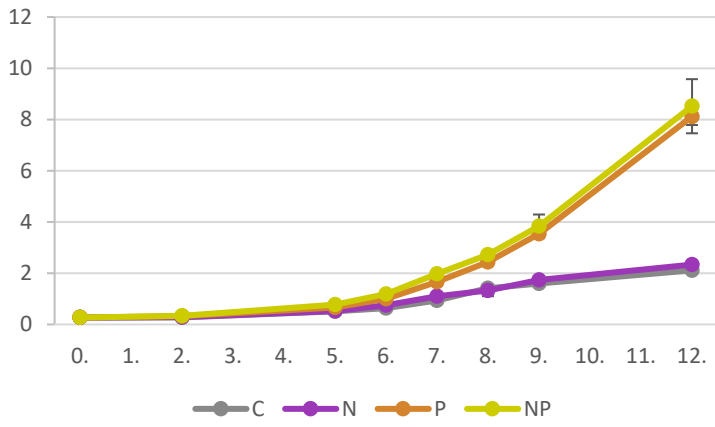


SÄÄ fluoresenssi 9.-21.11.2016

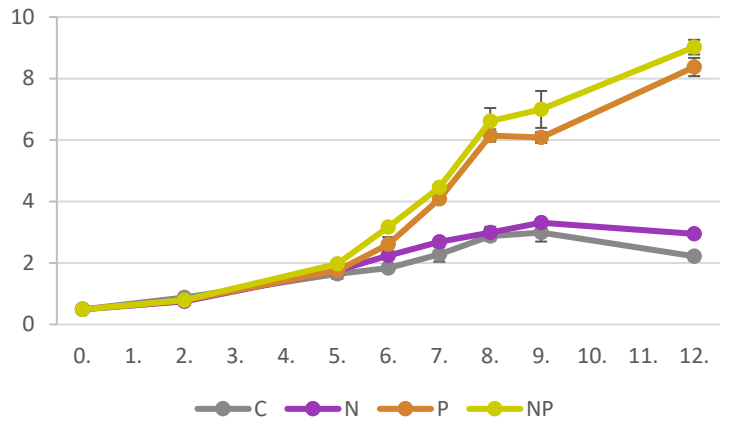


3-2017 Kasvatus

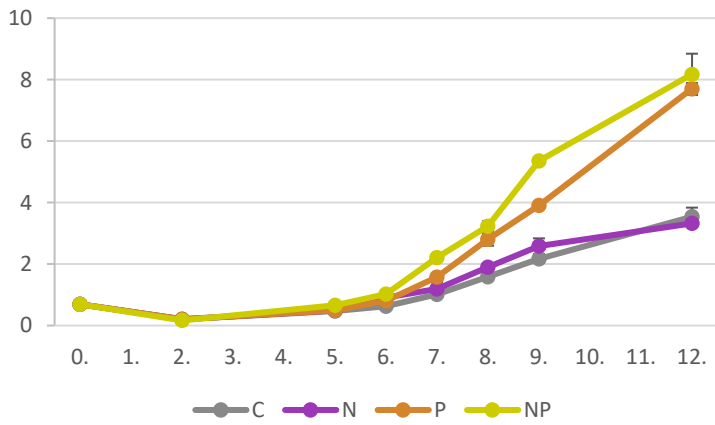
Fluoresenssi AU 1.-13.3.2017



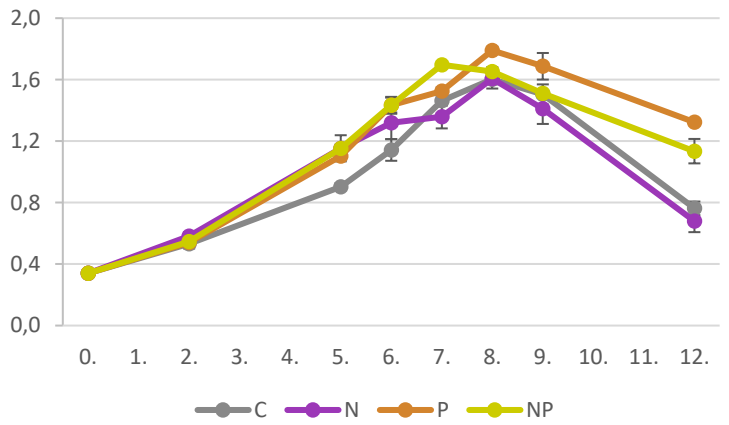
Fluoresenssi KIR 1.-13.3.2017



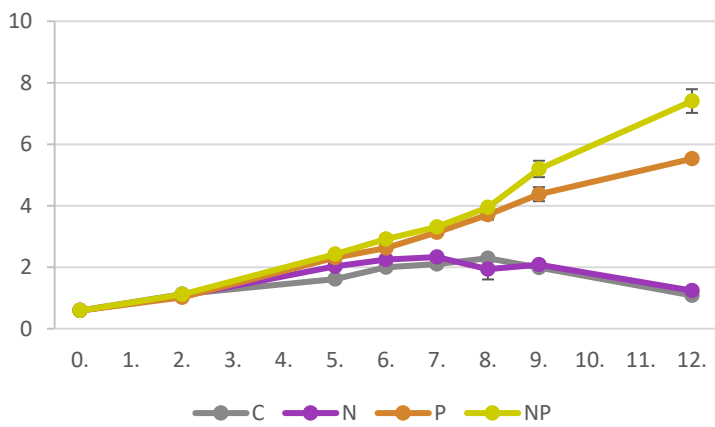
Fluoresenssi MIE 1.-13.3.2017



Fluoresenssi RUS 1.-13.3.2017



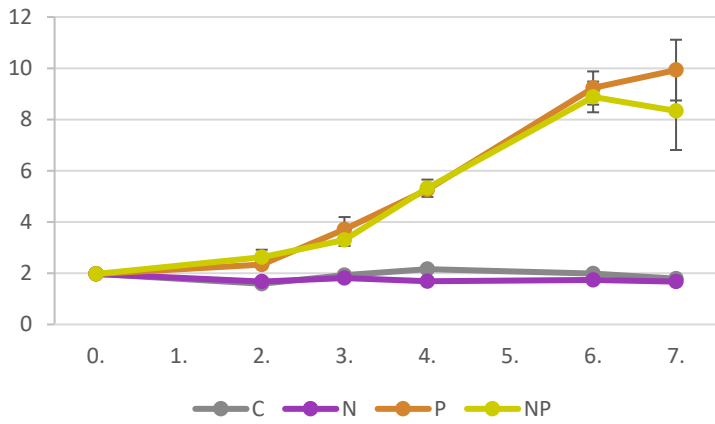
Fluoresenssi SÄÄ 1.-13.3.2017



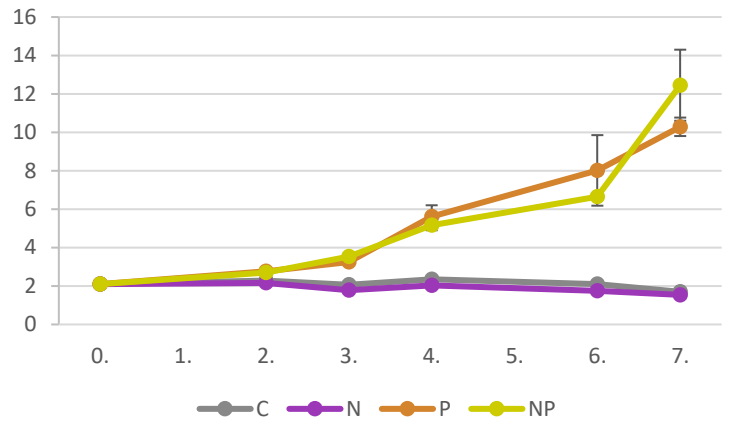


5-2017 Kasvatus

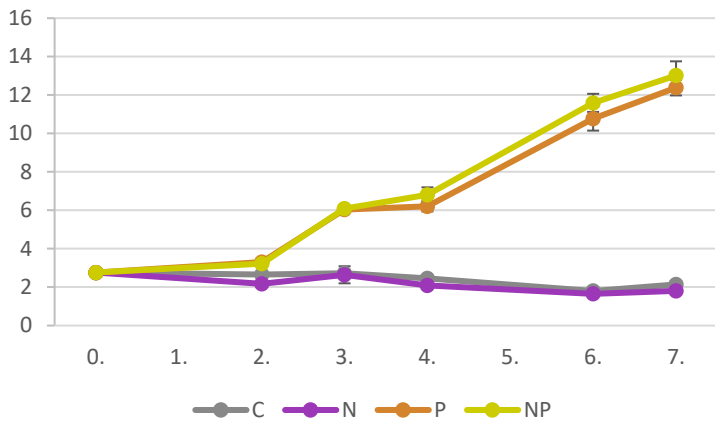
Fluoresenssi AU 9.-16.5.2017



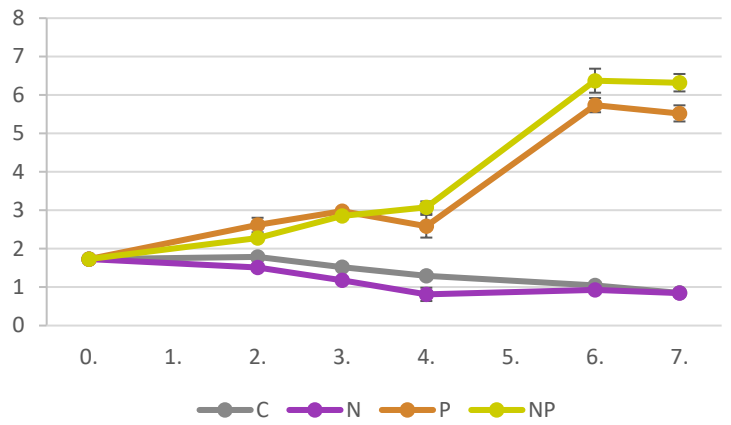
Fluoresenssi KIR 9.-16.5.2017



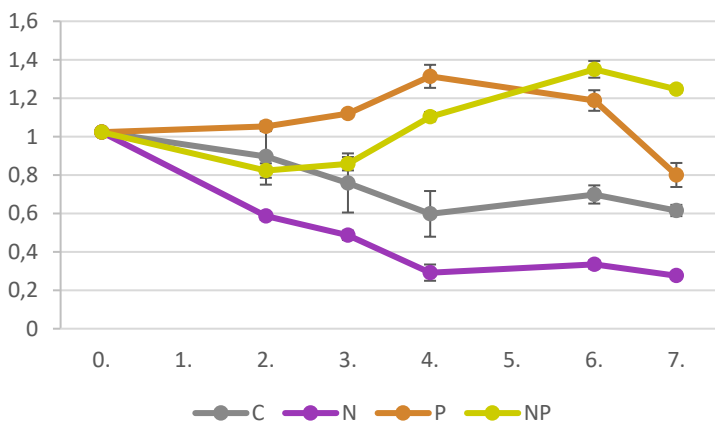
Fluoresenssi MIE 9.-16.5.2017



Fluoresenssi RUS 9.-16.5.2017

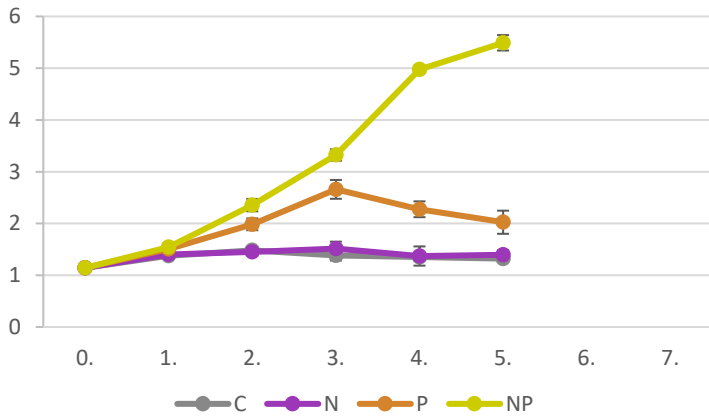


Fluoresenssi SÄÄ 9.-16.5.2017

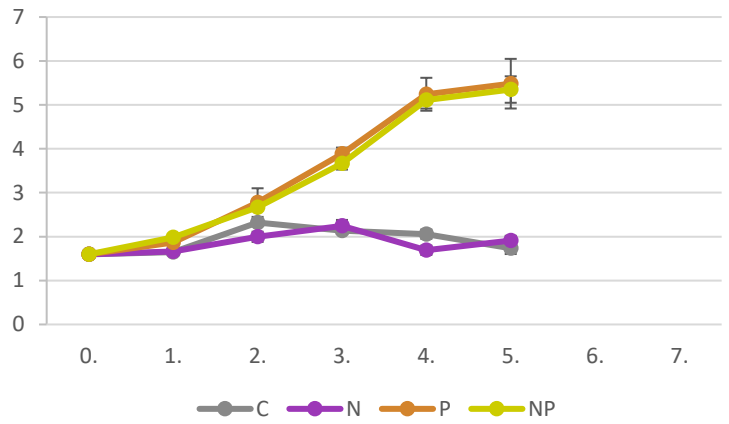


7-2017 Kasvatus

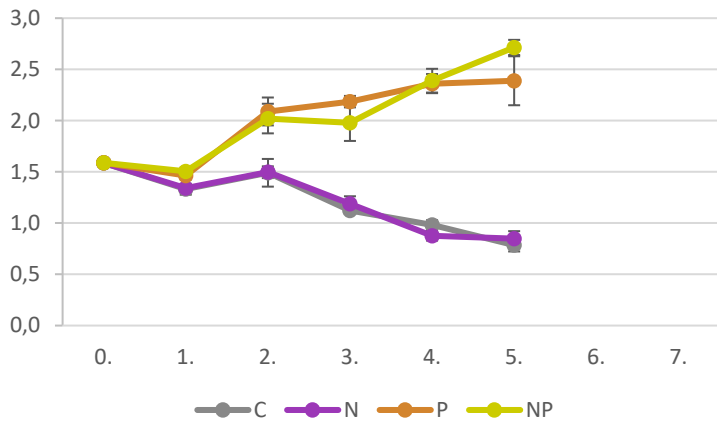
Fluoresenssi AU 5.-12.7.2017



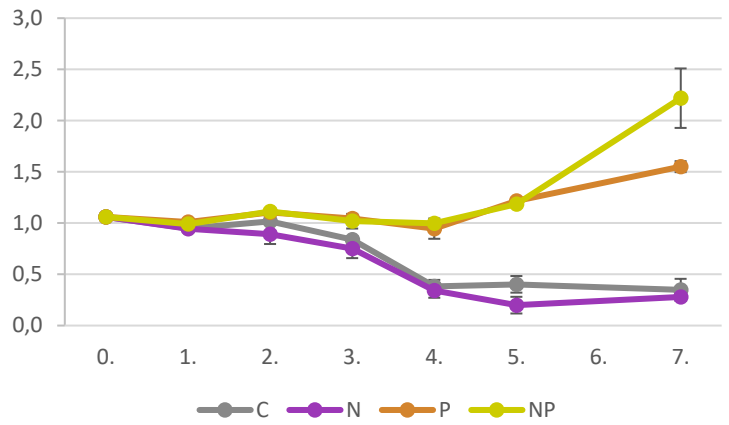
Fluoresenssi KIR 5.-12.7.2017



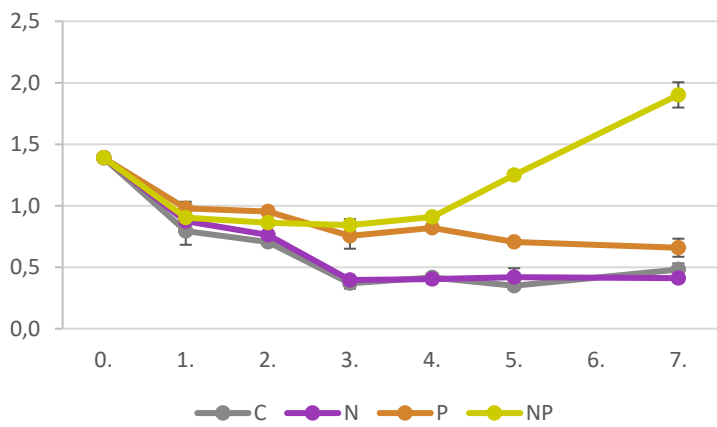
Fluoresenssi MIE 5.-12.7.2017



Fluoresenssi RUS 5.-12.2017

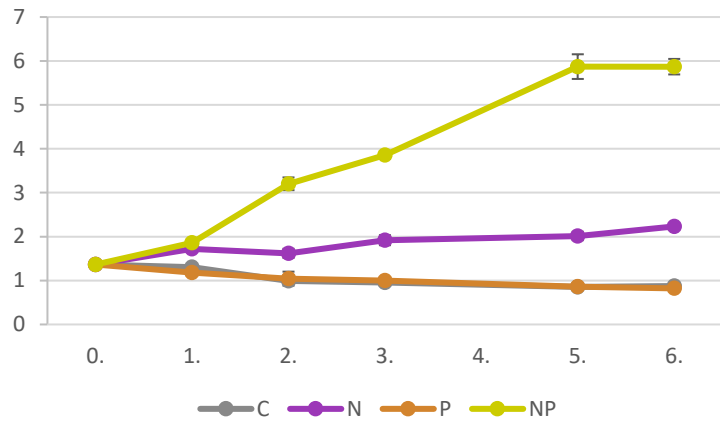


Fluoresenssi SÄÄ 5.-12.7.2017

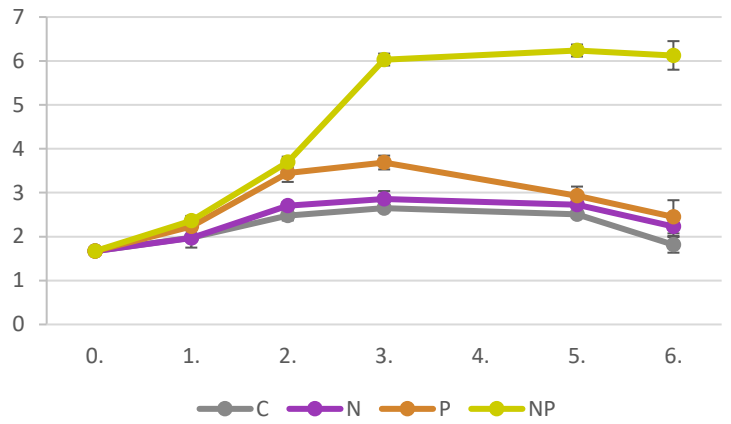


8-2017 Kasvatus

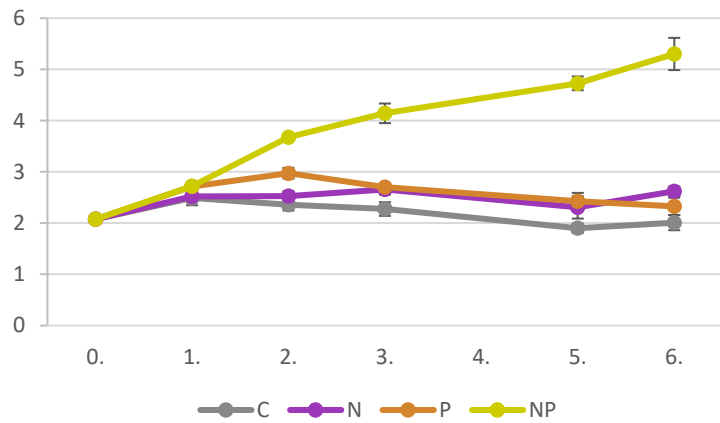
AU fluoresenssi 16.-22.8.2017



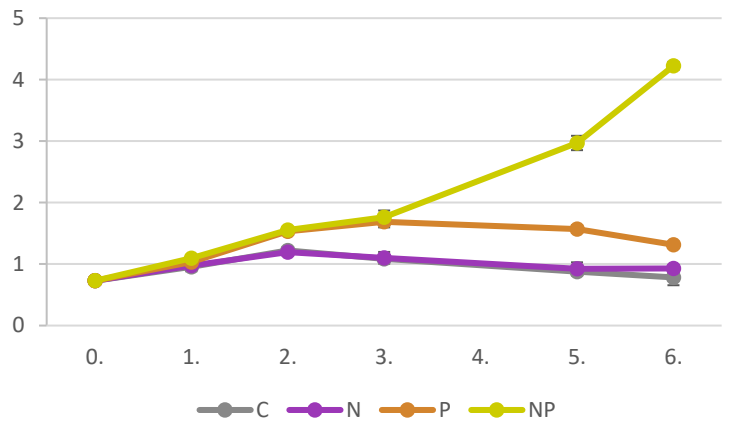
KIR fluoresenssi 16.-22.8.2017



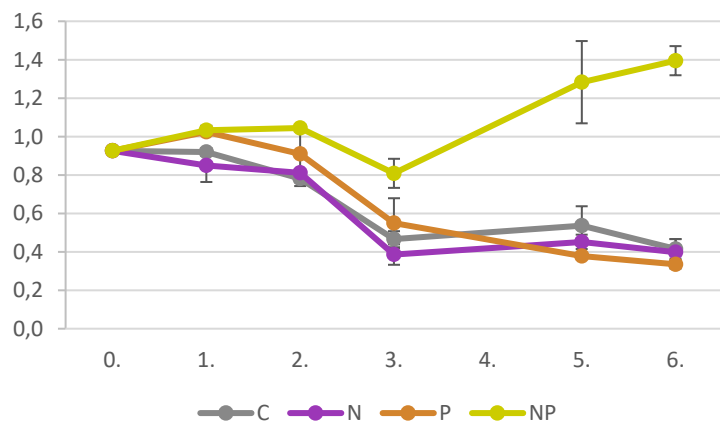
MIE fluoresenssi 16.-22.8.2017



RUS fluoresenssi 16.-22.8.2017



SÄÄ fluoresenssi 16.-22.8.2017



Liite 4. A-klorofylli kasvatusten lopussa (µg/l).

