

**Effekt av surt aluminiumsrikt vann  
på atferd hos karuss og laks**

Cand. Scient. oppgave i Zoologi, 2007

Thomas Egeberg Lund

**Biologisk institutt,  
Universitetet i Oslo,  
2007**

## Forord

Denne hovedfagsoppgaven er utført ved Biologisk institutt ved Universitetet i Oslo. Alle forsøk er gjort ved Akvarieavdelingen, Biologisk institutt.

Jeg vil rette en spesiell takk til mine to veiledere, forsker Antonio Polèo og professor Asbjørn Vøllestad. Toni hjalp meg med å komme i gang med oppgaven min, og har hele tiden vært en kilde til kunnskap. Asbjørn har hele tiden utvist stor tålmodighet og har hjulpet meg hver gang det har oppstått vanskeligheter. Han har vært en inspirasjonskilde når veien av og til har virket lang og tung.

Det er mange jeg opp gjennom årene har blitt undervist av, samarbeidet med, og blitt veiledet av. En stor takk rettes til dere alle.

Jeg vil også takke mine foreldre og min forlovede som har vært en motivasjonsfaktor gjennom hele studietiden.

Oslo, juni 2007

Thomas Egeberg Lund

## **Innhold**

<b>Sammendrag</b>	<b>4</b>
<b>1 Innledning</b>	<b>5</b>
<b>2 Materiale og metoder</b>	<b>8</b>
<b>3 Resultater</b>	<b>20</b>
<b>4 Diskusjon</b>	<b>28</b>
<b>5 Konklusjon</b>	<b>34</b>
<b>6 Referanser</b>	<b>35</b>
<b>7 Appendiks</b>	<b>37</b>

## Sammendrag

Jeg ønsket med mine forsøk å rette søkelyset på fisks atferd når de ble utsatt for stabil og ustabil Al-kjemi. Høye Al-konsentrasjoner i vannet forårsakes av sur nedbør, og er en viktig årsak til fiskedød. Aluminium er mest toksisk for fisk ved relativt høy pH (5-6), særlig dersom vannkjemien er ustabil med en høy grad av Al-polymerisering. Jeg ville derfor se på om fisk kunne oppdage forskjeller i Al-toksistet og endre atferd basert på dette.

Jeg utførte 3 forsøk med karuss (*Carassius carassius*) og et forsøk med laks (*Salmo salaris*). I hvert forsøk ble det satt ut 10 fisk i hver av tre forskjellige renner. En med stabil Al-kjemi, en med ustabil Al-kjemi og en kontrollrenne. Jeg observerte deretter atferdsendringer ved plassering under forsøket, samt aktivitet.

Ved observasjon av karuss viste det seg at de endret oppholdssted under Al-eksponering i forhold til før og etter eksponering. De viste også en forhøyet aktivitet som et resultat av Al-eksponering. Laksen viste ingen endring av oppholdssted som et resultat av Al-eksponering. Aktiviteten for laks var høyere før og etter Al-eksponering og sank under Al-eksponeringen.

Det var stor variasjon mellom rennen i forsøkene med karuss.

# 1 Innledning

Sur nedbør regnes som et av de mest alvorlige miljøproblemene i Norge.

Forsuring har ført til at 9600 fiskebestander har dødd ut, og at 5400 fiskebestander er skadet i Sør-Norge (Miljøstatus 2003). Mange andre dyr og planter har også forsvunnet eller blitt skadet som følge av forsuring, selv om disse tallene ikke er like veldokumenterte som forholdet er for fisk.

Det er nå stor enighet blant forskere om at Al-forbindelser løst i vann er den viktigste årsaken til fiskedød i sure vann (Driscoll 1980). Årsakene til at fiskedøden er størst i Sør-Norge er på grunn av større tilførsel av sur nedbør i dette området enn lenger nord, samt at berggrunnen er veldig viktig for miljøets evne til å stå i mot sur nedbør. Størst forurensningsskade finner man der berggrunnen består av sure bergarter som granitt og gneiss, som sammen med vegetasjonen gir et naturlig surt jordsmonn. Langtransportert luftforurensning i form av  $\text{SO}_2$  og  $\text{NO}_x$  omdannes til sterke syrers anioner ( $\text{SO}_4^{2-}$  og  $\text{NO}_3^-$ ) som lett utvaskes fra jordsmonnet. Det er spesielt i områder der jordsmonnet er fattig på kationer som kalsium og magnesium at store mengder løste Al-forbindelser og  $\text{H}^+$ -ioner blir mobilisert og ført ut i vassdragene sammen med disse anionene (Likens et al. 1996). Det er derfor ikke bare tilførsel av luftbåren forurensning som forklarer dens påvirkning på norske vann og vassdrag, men også i høy grad de geologiske forholdene (Henriksen et al. 1988)

Ulike hypoteser har blitt framlagt for å forklare mekanismene bak Al-toksisitet hos fisk. Det som er felles for disse er at aluminium først og fremst skader fiskens gjeller, og dermed forstyrrer fysiologiske prosesser. Tidlige hypoteser var at  $\text{Al}(\text{OH})_3(\text{s})$  ble utfelt på fiskegjellene. Dette førte til irritasjon, økt slimutskillelse med påfølgende tetting av gjelleoverflaten (Baker & Schofield 1980, Muniz & Leivestad 1980). Det ble også foreslått at positivt ladde Al-former, spesielt da  $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$  og  $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ , binder seg til gjellene og endrer membran-permeabiliteten. Dette vil dermed føre til at aluminium akkumuleres inne i epitelcellene. Dette vil føre til forstyrrelser for den cytosoliske kalsium homeostasisen noe som igjen vil føre til celledød (Exley *et al.* 1991).

Senere forskning (Lydersen 1991, Polèo *et al.* 1994, Poléo 1995) har lagt vekt på polymerisering av aluminium som avgjørende for toksisiteten. Denne forskningen legger vekt på at enkle, positivt ladde, uorganiske Al-forbindelser bindes til negativt ladde molekyler på fiskens gjeller. Dette vil igjen føre til at Al-hydroksider i vannet bindes til Al-hydroksider på gjellene, og vil føre til en Al-polymerisering på selve gjelleoverflaten (Polèo 1995). Aluminiumet som bindes til gjellene vil føre til irritasjon og økt slimsekresjon. Dette belegget av slim og aluminium vil øke diffusjonsavstanden for oksygen over gjellene, og vil til slutt resultere i hypoksi for fisken. Etter hvert som Al-polymerenes størrelse øker vil netto ladning synke, og polymerene blir derfor mindre reaktive overfor biologisk materiale (Poléo 1995). Det er dermed slik at toksisiteten er høyest i den initielle fasen av polymeriseringen. Etter som polymerene blir eldre vil toksisiteten avta (Exley *et al.* 1994, Bjerkely 1995). Forskjellen mellom denne hypotesen og de andre hypotesene rundt al-toksisitet

er at den tar utgangspunkt i at Al-kjemien i et naturlig system er ustabil. Tiden Al-hydroksidene tilbringer løst i vann vil altså ha en konsekvens for toksisiteten, da det etter hvert vil dannes større og mindre reaktive polymerer. Det er denne siste hypotesen jeg har tatt utgangspunkt i ved mine forsøk. Dersom fisk har evne til å kunne oppfatte denne forskjellen i toksisitet vil det være naturlig å anta at den vil prøve å oppholde seg i de områdene der Al-toksisiteten er lavest. På bakgrunn av at ulike arter fisk har ulik sensitivitet i forhold til aluminium ville jeg gjøre forsøkene med to forskjellige arter. Laks (*Salmo salaris*) er av de fiskeartene man vet har lavest toleranse overfor aluminium (Polèo et.al 1997). Karuss (*Carassius carassius*) er en fisk som er mye brukt i forbindelse med Al-toksisitet, og den er regnet for å ha en høy toleranse overfor aluminium (Polèo1995). Lite forskning er gjort på om fisk har evne til å oppdage endringer i Al-toksistet. Det er påvist at både laks og ørret (*Salmo trutta*) viser unnvikelsesatferd i forhold til blandingssoner (Åtland og Barlaup 1995). Blandingssoner er soner karakterisert ved en sterk økning i pH med påfølgende høy polymerisering av aluminium. Dette oppstår gjerne der sure bielver renner ut i større elver med høyere pH. Enkelte atferdsmessige studier er også gjort på fisk og deres atferdsmessige respons til andre metaller. Unnvikelses atferd er funnet hos Kongelaks (*Oncorynchus tshawytscha*) og regnbueørret (*Oncorynchus mykiss*) når de har blitt utsatt for kobolt og kobber (Hansen et. al 1999). Utgangspunktet for mine forsøk er hvorvidt fisk kan merke forskjell i Al-toksistet, og dermed forandre atferd basert på dette.

## **Problemstilling**

Hensikten med denne hovedfagsoppgaven var å finne ut om fisk med ulik sensitivitet for aluminium var i stand til å merke hvor Al-toksisiteten var lavest, for dermed å skifte oppholdssted basert på dette. Jeg ønsket også å se om fisk utsatt for både stabil og ustabil Al-kjemi ville endre aktivitetsnivå på bakgrunn av dette. Som forsøksdyr brukte jeg laks og karuss.

Målet med eksperimentene var derfor å besvare følgende spørsmål:

Vil fisk utsatt for forhøyede Al-konsentrasjon i vannet merke dette, for dermed å foreta adferdsendringer i forhold til plassering i karet?

Vil det i så fall være noen forskjell i adferdsendringene dersom de blir utsatt for stabil kontra ustabil Al-kjemi?

Vil påvirkning av aluminium føre til endringer i aktivitetsnivået, og vil i så fall denne endringen være forskjellig basert på om fisken har blitt utsatt for stabil eller ustabil Al-kjemi?

## **2 Materiale og metoder**

### **2.1 Forsøksoppsett**

Forsøkene ble gjennomført ved Biologisk institutts akvarieavdeling på Blindern i perioden 18.05-19.09 2000. Vannet til akvarieavdelingen kommer fra Maridalsvannet i Oslo. Dette blir grovfiltret gjennom et kullfilter og deklorinert med natriumthiosulfat før det tas inn i reservoaret som leverer



råvann til hele Blinderns akvarieavdeling. Vanntemperaturen kan variere mellom 4 og 12 °C. Det er små variasjoner i de vannkjemiske parametrene på årsbasis.

Jeg gjorde tre forsøk med karuss, og fulgte deretter opp med flere forsøk med laks, der bare ett ble godt nok til å inkluderes i denne oppgaven.

Forsøksoppsettet er vist skjematisk i figur1.

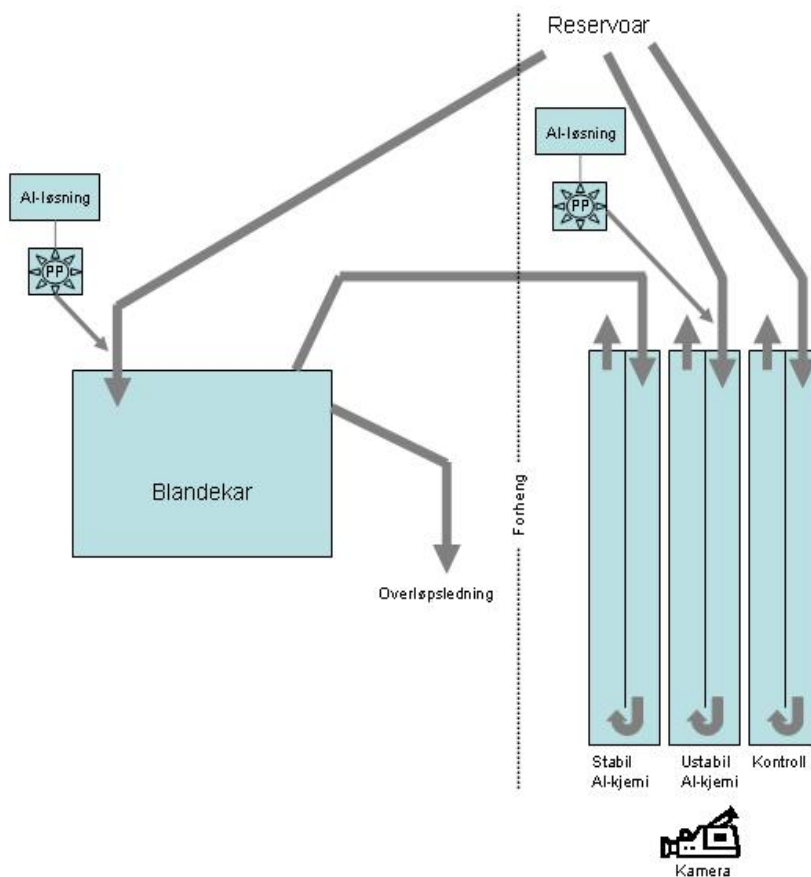


Fig 1. Jeg satte opp 3 renner med ulike behandlinger bak et forheng slik at fisken skulle forstyrres minst mulig. I rennen med stabil vannkjemi ble det først levert 2 l/min med vann fra reservoaret til et blandekar der en peristaltisk pumpe tilsatt 2 ml Al-løsning pr.min. Videre ble 2l/min ført fra blandekaret og inn i rennen. I rennen med ustabil Al-kjemi ble det ført til 11 vann/ min fra reservoaret. En peristaltisk pumpe pumpet inn 2ml/min med Al-løsning rett før vannet gikk ut i rennen. I kontrollrennen tilsatte jeg 2l/min direkte fra reservoaret.

Fiskene ble holdt i tre klekkerenner for ørret for å se om vi kunne observere påvirkning av atferden dersom de ble utsatt for ulike typer aluminium. Disse rennene er 2,5 meter lange. Disse ble delt på langs med kun en en åpning som var plassert på motsatt side av innløp/utløp, slik at den totale lengden av rennene ble 5 meter.. Rennene ble i tillegg delt inn i 18 like store områder ved å feste gul merketape i bunnen. Rennene skulle fylles med 10 fisk i hver renne, og den delen av rommet hvor rennen sto ble adskilt fra resten av rommet med et mørkt forheng slik at bevegelse i rommet skulle gi minst mulig forstyrrelse av fisken. Over rennene ble det hengt opp et overvåkningskamera som var koblet til Tv og video på utsiden av forhenget. Jeg hadde dermed mulighet til å overvåke og filme fisken uten at dette ville bety noe forstyrrelse for de fra meg. Til hver av renne ble det også festet en slange som leverte 1 l/min i rennen med ustabil Al-kjemi og 2l/min i de to andre rennene. Årsaken til at innsiget av vann var mindre i rennen med ustabil Al-kjemi var at aluminiumet dermed ville få mere tid til å polymerisere for dermed å skape en klarere gradient gjennom rennen. Vannet ville deretter gå en vei på 5 meter før det kom til utløpet i den andre enden. Vannet i de tre rennene hadde forskjellige kvaliteter:

Den første rennen ble tilsatt vann med en stabil Al-kjemi. Dette oppnådde jeg ved at aluminiumsløsningen ble blandet med vann i ett stort blandekar som rommet 500 liter. Vann fra dette blandekaret ble deretter tilsatt rennen.

Aluminiumet hadde dermed ca 4 timer på å reagere med vannet før det ble tilsatt rennen. Meningen med dette var at aluminiumet skulle ha dannet mindre reaktive former med vannet før det ble tilsatt klekkerennene.

I den andre rennen ble aluminiumsløsningen tilsatt direkte før det rant ut i klekkerennen, slik at vannet skulle inneholde mest mulig av små reaktive aluminiumsforbindelser. Den tredje rennen var en kontrollrenne, og ble bare tilsatt vanlig vann fra reservoaret til Universitetet i Oslo.

Al-løsningene ble laget med tanke på at jeg ønsket en konsentrasjon av uorganisk Al i rennene på ca.  $200\mu\text{L}$ . Dette fordi man da vil få en løsning som erfaringsmessig er sterk nok til at man vil se klare fysiologiske responser hos fisken samtidig med at man ikke vil få særlig økt dødelighet i et forsøk som varer 6-7 dager (Howells et al. 1990 Polèo et al 1995). Da vannet inneholder en del Al fra før fant jeg ut at jeg best fikk de ønskede forhold ved å tilsette  $180\mu\text{g Al/L}$ . I tillegg ønsket jeg at pH i renne 1 skulle være ca. 5,1 og at pH i renne 2 skulle være ca. 5,8. Årsaken til dette valget var at man erfaringsmessig får en høy polymerisering ved pH 5,8 noe vi ønsket i rennen med ustabil Al-kjemi. Da jeg ønsket en mer stabil Al-kjemi i den første rennen valgte jeg å senke pH i denne rennen til 5,1 da polymeriseringen dermed foregår noe saktere enn ved pH 5,8 (Poleo et al 2000). Jeg skulle ha et innsig med vann på 1 l/min i rennen med ustabil Al-kjemi og 2l/min i rennen med stabil Al-kjemi, og skulle tilsette Al-løsning med peristaltisk pumpe som tilførte 2ml/min. Det viste seg etter litt utprøving at jeg måtte variere mengde Al tilsatt for de to rennene. I rennen med stabil Al-kjemi tilsatte jeg en løsning som ble laget ved å blande 67,5 g  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  og 150 ml 65 %  $\text{HNO}_3$  i en 25 liters dunk med vann. I rennen med ustabil Al-kjemi tilsatte jeg en løsning som ble laget ved å blande 31,25 g  $\text{AL}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  og 25 ml 65 %  $\text{HNO}_3$  i en 25 liters dunk med vann. Dette ga en pH i renne 1 på 5,11 og i renne 2 på 5,94. For

forsøket med laks ønsket jeg å ha 170 µg Al/l slik at jeg her tilsatte 59 g  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  og 150 ml 65 %  $\text{HNO}_3$  i rennen med stabil Al-kjemi og 26,125 g  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  og 25 ml 65 %  $\text{HNO}_3$  til løsningen for rennen med den ustabile Al-kjemien. Årsaken til at vi senket konsentrasjonene i forsøket med laks er at denne er mere sensitiv i forhold til aluminium, og at dette dermed var en nødvendighet for å unngå dødelighet.

## 2.2 Fisken

Jeg benyttet meg av to forskjellige typer fisk til dette forsøket. Karussen ble fanget med ruse i en dam ved Jarmyra i Bærum. Laksen ble hentet fra Drammen og Omland fiskeadministrasjon (DOFA) i Lier. Både karussen og laksen var av størrelser på ca. 10 cm. Før forsøkene ble all fisken oppbevart i kar med temperatur på ca. 10 °C på Akvariavdelingen på blindern.

## 2.3 Gjennomføring av forsøkene

Jeg gjorde 3 forsøk med karuss som hver hadde en varighet på 6 døgn. Jeg gjorde også et forsøk med laks, og dette forsøket varte i 7 døgn. Jeg valgte å bruke ett døgn mer på forsøket med laks, da jeg ønsket å gi laksen en dag mer til å komme seg tilbake til normalt etter at de var blitt utsatt for Al. Dette fordi laks er mer ømfintlige overfor Al, og jeg dermed regnet med at de trengte litt mer tid til dette. Forsøkene ble ellers gjennomført på samme måte for de to artene.

All fisk gikk i kar på Blindern, der de ble matet før de ble satt ut i forsøksrennene. Det ble satt ut 10 fisk i hver renne. Dette tallet holdt seg stabilt for alle forsøkene med karuss, mens det hos laksen endte opp med 12 fisk i rennen med stabil Al-kjemi, 8 fisk i rennen med ustabil Al-kjemi og 9 fisk i kontrollrennen. Det var med andre ord litt hopping mellom rennene i dette forsøket og en hadde også forsvunnet. Denne hadde antageligvis hoppet ut av rennene eller forsvunnet med vannet gjennom utløpet.

All fisk fikk to døgn til å tilpasse seg sitt nye miljø i rennene, før vi tilsatte Al-løsningene. Deretter gikk de i rennene tilsatt Al i tre døgn, før de fikk ett døgn (to døgn for laksen) til å aklimatisere seg igjen i rent vann. Oppsettet for filmingen av fisken er vist i tabell 1:

Tabell 1. Tabellen viser tidspunkt og varighet for filmsnittene som ble tatt opp under forsøket. Den viser også hvilke tidspunkt vi har regnet som før, under og etter Al-eksponering i forsøket. \*Måling 15 og 16 ble bare tatt i forsøket med laks

Film nr.	Dag nr.	Tidspunkt	Lengde	
1	1	Morgen	10 min	Før
2	1	Kveld	10 min	
3	2	Morgen	10 min	
4	2	Kveld	10 min	
5	3	Morgen	60 min	Under
6	3	Formiddag	10 min	
7	3	Ettermiddag	10 min	
8	3	Kveld	10 min	
9	4	Morgen	10 min	
10	4	Kveld	10 min	
11	5	Morgen	10 min	
12	5	Kveld	10 min	
13	6	Morgen	10 min	Etter
14	6	Kveld	10 min	
15*	7	Morgen	10 min	
16*	7	Kveld	10 min	

Ved slutten av hver eksponeringsperiode (dag 5 i forsøket), ble det gjennomført en Al-ekstraksjon. Da hensikten med forsøket var å se hvordan fisken oppførte seg og plasserte seg i rennene når de ble påvirket av ulike Al-løsninger kunne jeg ikke forstyrre fisken ved å ta vannprøver fra rennene for ofte. Det ble derfor kun tatt vannprøver av vannet i selve reservoaret, samt av blandekaret for den stabile Al-løsningen som ble tilført renne 1. Utover dette ble det ikke tatt vannkjemiske prøver under forsøket.

## **2.4 Vannanalyser**

### **2.4.1 pH, ledningsevne og temperatur**

Jeg benyttet et RADIOMETER 29 pH-meter med en GK 2401 C kombinert glass/referanse-elektrode til måling av pH. RADIOMETER pH-buffere 7,00 og 4,01 ble benyttet for å kalibrere elektroden. Jeg oppbevarte pH-elektroden i samme rom som forsøkene fant sted. pH-verdiene ble lest av etter at elektrodene var kalibrert, og etter at pH hadde vært stabil i ett minutt.

Vannets ledningsevne målte jeg ved hjelp av en RADIOMETER CDM 80 ledningsevнемåler med en CDC 104 elektrode. Verdiene ble avlest til nærmeste tidel og temperaturkorrigert til 25 °C. Ledningsevne ble avlest til jeg hadde tre like verdier på rad.

Til temperaturmåling brukte jeg et FLUKE 51 K/J digitalt termometer. Disse verdiene ble avlest til nærmeste tidel etter at temperaturen hadde holdt seg stabil i 1 minutt.

Hver dag ble pH og ledningsevne målt i det store blandekaret som leverte vannet til den renna med den stabile al-kjemien, samt i reservoarvannet på Blindern. På dag 5 i hvert forsøk ble det gjort al-kjemiske prøver samt at jeg fikk sjekket pH. Årsaken til at rennene ikke kunne sjekkes oftere var som tidligere omtalt, fordi dette ville forstyrre fiskene for mye.

#### 2.4.2 Aluminiumsanalyser

Ved hver prøve målte jeg 4 forskjellige fraksjoner av Al-konsentrasjonen. Jeg benyttet en metode basert på en kombinasjon av ionebytting og Al-ekstraksjon (Barnes 1975, Driscoll 1984). Her benytter man ionebytting for å separere Al-forbindelsene basert på deres ladning.

##### Ionebytting

Kationbytting fungerer ved at positivt ladde forbindelser holdes tilbake i ionebytterkolonnen. Uladde og negativt ladde forbindelser vil derimot tillates å slippe gjennom. Ionebytterkolonnen er en glasskolbe med 1 cm i diameter fylt med 10 mL kationbytttermasse (Amberlite IR-120, Na<sup>+</sup>-form). For å begrense forandringene i Al-fraksjoneringen som følge av pH-endringer under analysen, benyttet jeg 0,1 M HCL slik at pH i kolonnen ikke skulle avvike fra pH i vann prøven i for stor grad. Ideelt skal ikke pH avvike med mer enn 0,5

pH-enheter. Væskehastigheten gjennom kolonnen var på 3,8mL/min pr. mL ionebyttermasse, som anbefalt av Driscoll (1984). Vi preparerte kolonnen med 60 mL 10<sup>-4</sup> NaCl mellom hver vannprøve.

### Ekstraksjon

Ekstraksjonen foregår ved at aluminium i vannprøven kompleksbindes med 8-hydrokysquinolin (C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>NO). Deretter tilsettes metylisbutylketon (MIBK), og Al-komplekset ekstraheres over i den organiske fasen gjennom at løsningen ristes i 20 sekunder. Det anbefales av Barnes (1975) at løsningene skal ristes mellom 10 og 30 sekunder for å skille lavmolekylært aluminium med kort reaksjonstid fra høymolekylære aluminiumsformer. 20 sekunder er vanlig å bruke, så jeg valgte det. Det er ikke mulig å ekstrahere kolloidale, polymere og stabile organiske Al-forbindelser etter 20 sekunder. Derfor surgjøres prøven til pH1, slik at disse forbindelsene går over til monomer form. Den totale Al-konsentrasjonen kan bestemmes ved ekstraksjon etter 24 timers surgjøring.

Al/hydrokysquinolin-komplekset har et absorpsjonsmaksimum på 395 nm. Det kan være jern i vannprøven som kan gi et interferensproblem ved denne bølgelengden. Dette ble korrigert for ved å måle absorpsjon ved 600 nm, hvor jern har et annet absorpsjonsmaksimum uten interferens fra andre forbindelser (Sullivan et al. 1986). Konsentrasjonen av jern i råvannet er vanligvis ca 25 µg/L (Moe 1997). Jeg målte Al-ekstraktens absorpsjon på et Shimadzu UV-1201 spektrofotometer. Jeg preparerte en standardrekke (0, 40, 100, 200, 400 og 600 µg/L Al) av KAL(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>\*12H<sub>2</sub>O løst i dobbelt-desstillert vann og H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Standardkurvens linearitet blir testet ved en regresjonsanalyse (alle



R<sup>2</sup>>0,999) i programmet Microsoft Excel 4,0, og Al-konsentrasjon i prøvene ble beregnet ved ligningen:

$$[Alx] = (Abs_{395} - (Abs_{600} * 1,12)) * a + b$$

der a er stigningstallet og b er krysningspunktet

Ved Al-konsentrasjoner på 500-600 µg/L vil MIBK-ekstraksjonen ha en nøyaktighet på +/-1 % av middelverdien (Sullivan et al. 1986).

Deteksjonsgrensen for denne metoden er ca. 13 µg/L (Vogt et al. 1994).

De ulike fraksjonene som ble målt var:

Ala- total mengde monomert aluminium

Alo- organisk monomert aluminium

Alor- total mengde organisk aluminium

Alr- total mengde aluminium

Ali- uorganisk monomert aluminium. Jeg benyttet meg av to ulike metoder for utregning av Ali: Ala-Alo og Alr-Alor. I mine beregninger av Al-gradienter er kun den første metoden brukt, da dette er den mest vanlige metoden å finne Ali på.

Al-fraksjonene som måles er definert ut fra behandlingen vannprøvene fikk før ekstraksjon. Det vil tilsi at fraksjonenes beskrivelse er tilnærminger i forhold til definisjonen. Eksempelvis vil Ala ("monomert aluminium") inkludere både monomere former samt små polymere former som er ekstraherbare innen 20

sekunder, mens Al<sub>0</sub> ("monomert organisk aluminium") inkluderer uladde eller negativt ladde uorganiske forbindelser, samt organiske forbindelser.

## 2.5 Atferd

### 2.5.1 Plasseringsanalyse

Jeg valgte å ta to observasjoner av plassering for hver 10.minutters bolke med film, der plassering ble observert både ved start og slutt av hver bolke.

Plasseringen ble satt i henhold til hvilken av de 18 rutene laget på bunnen av rennen med tape, de hørte til, der rute 1 var nærmest innløpet, og rute 18 var lengst unna.

Jeg valgte å bruke kun de målingene som ble gjort i slutten av hver bolke for mine statistiske analyser. Årsaken til dette var at jeg i større grad kunne utelukke utenforliggende forstyrrelser som kunne oppstå ved oppstart av filming. Disse forstyrrelsene kunne være alt fra lyd fra rommet når man startet opp kamera o.l til at man fysisk måtte koble til slangene med aluminiumsløsning i forkant av måling 5 når man startet selve Al-eksponeringen av fisken. Jeg argumenterte for at stressfaktorer som lå utenfor selve forsøket ville være minst dersom jeg brukte observasjonene fra slutten av hver bolke. Hver fisk fikk en plassering og ut fra disse målingene regnet jeg ut en gjennomsnittsplassering for det totale antallet fisk i en renne til en gitt tid. I tillegg regnet jeg ut standard avvik for hvert av disse tidspunktene.

### 2.5.2 Krysningsanalyse

I løpet av hvert forsøk brukte jeg 5 minutter av 4 forskjellige bolker der jeg i løpet av perioden sjekket hvor mange fisk som krysset en av delelinjene som var satt opp i bunnen av rennene for å lage rutene jeg brukte til plasseringsanalysen. En linje krysset av en fisk ble regnet som en krysning. I de tilfellene med karuss der alle 10 fiskene vandret sammen, ville det derfor bli regnet som 10 krysninger dersom hele gruppen flyttet seg fra en rute til en annen. Bolkene var henholdsvis fra filmsnutt 4, 5, 12 og 14 for karuss og 4,5,12 og 16 for laks. Dette betyr at aktiviteten ble målt rett før Al-eksponering, rett etter at de ble utsatt for Al-eksponering, på slutten av Al-eksponeringen og ved slutten av forsøket. Da det i noen tilfeller var et annet antall fisk i rennen enn det opprinnelige ble alle total tall for krysninger delt på antall fisk, for å få ett gjennomsnittlig antall krysninger pr. fisk. Årsaken til at det kunne være et ulikt antall fisk i en renne på et gitt tidspunkt var noen laks klarte å hoppe mellom rennene, i tillegg var det en laks som hadde forsvunnet enten ved å forsvinne med utløpsvannet eller ved å hoppe ut av rennen og ned på gulvet.

### 2.6 Statistiske metoder

Både plasseringsobservasjonene samt krysningsobservasjonene ble undersøkt statistisk i JMP, der jeg gjorde toveis variasjonsanalyser med interaksjon. Vi undersøkte effekten av tid og behandling samt behandling\*tid.

## 3 Resultater

### 3.1 Vannkjemi

#### 3.1.1 pH, ledningsevne og temperatur

Kalsiuminnholdet i reservoaret vil vanligvis ligge rundt 2,7 mg/L, mens totalt organisk karboninnhold skal ligge under 4 mg/L (Moe 1997)

pH i råvannet varierte i perioden mellom 6,21 og 6,57 mens gjennomsnitts pH var 6,45. Jeg kunne i tillegg måle vannkvaliteten i blandekaret som leverte vann til renne 1. Denne varierte mellom 4,86 og 5,07 for forsøkene med karuss, mens den varierte mellom 4,9 og 5,36 i forsøket med laks. Gjennomsnitts pH for forsøkene var henholdsvis 4,88 og 5,03.

Ledningsevnen i råvannet varierte mellom 21,5 og 23,5  $\mu\text{S}/\text{cm}$  med et gjennomsnitt på 22,06  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Ledningsevnen i blandekaret varierte mellom 28,5 og 32,9  $\mu\text{S}/\text{cm}$  for forsøkene med karuss, og mellom 28,3 og 30,7  $\mu\text{S}/\text{cm}$  for forsøket med laks.

Temperaturen i råvannet varierte mellom 8 og 10 °C med et gjennomsnitt på 8,6 °C.

Vannprøver av selve rennene kunne bare gjøres på dag 5 i forsøkene sammen med at det ble utført en aluminiumsekstraksjon. Man kan se at pH er noe varierende i de forskjellige forsøkene (Tab2). pH i rennen med stabil Al-kjemi varierer mellom 4,8 og 5,07, pH i rennen med ustabil Al-kjemi varierer mellom 5,79 og 6,04, mens kontrollrennens pH varierer mellom 6,29 og 6,41.

Tabell 2. Tabellen viser pH målt i hver renne under Al-ekstraksjon Forsøk 1- 3 er med karuss mens forsøk 4 er med laks.

	Forsøk 1	Forsøk 2	Forsøk 3	Forsøk 4
Stabil Al-kjemi	5,07	5,05	4,89	4,80
Ustabil Al-kjemi	5,86	6,04	5,79	5,87
Kontroll	6,41	6,40	6,34	6,29

### 3.1.2 Aluminiumskjemi

Aluminiumsekstraksjoner ble foretatt ved slutten av hver Al-eksponering i hver renne for hvert forsøk. For rennene der fisken ble utsatt for Al-eksponering ble det gjort 3 replikater ved både innløp og utløp av rennen. For kontrollrennen ble det bare gjort ett replikat ved innløp og utløp. Resultatene for disse målingene finnes i tabell 3.

Tabell 3. Gjennomsnittlige tall for alle de forskjellige Al-fraksjonene som ble målt under ekstrahering. Alle tall er gitt i  $\mu\text{g/l}$ . N for alle målingene= 3 med unntak for kontrollrennene der N=1. Start representerer innløpet til rennen mens slutt representerer utløpet. Prøvene for kontrollrennen i forsøk 3 ble ødelagt og er derfor ikke presentert i denne tabellen.

	Ala	Alo	Alr	Alor	Ali=Ala- Alo	Ali=Alr- Alor
Forsøk 1						
Stabil Al-kjemi start	247,4	74,3	274,7	102	173,1	172,7
Stabil Al-kjemi slutt	238,9	71,7	279,5	99	167,1	180,5
Ustabil Al-kjemi start	193,4	83,7	240,1	127,3	109,6	112,8
Ustabil Al-kjemi slutt	253,1	89,7	249,8	133	163,3	116,8
Kontroll start	63,5	49,3	92,9	76,8	14,2	16,2
Kontroll slutt	64,5	52,1	98	75,8	12,3	22,2
Forsøk 2						
Stabil Al-kjemi start	231,2	49	311,5	126,4	182,2	185,1
Stabil Al-kjemi slutt	213,6	59,3	315,6	132,9	154,3	182,7
Ustabil Al-kjemi start	157,7	73,8	241,8	152,3	83,8	89,5
Ustabil Al-kjemi slutt	181,1	89,2	243,2	158,8	91,8	84,4
Kontroll start	76,1	54,7	163,9	102,5	21,4	61,5
Kontroll slutt	71	59	326,8	112,7	12	214,1
Forsøk 3						
Stabil Al-kjemi start	374,3	18,7	312,6	117,8	355,6	194,8
Stabil Al-kjemi slutt	461,1	25,8	306,3	113,9	435,2	192,3
Ustabil Al-kjemi start	403,7	29,8	294,6	143,8	373,9	150,8
Ustabil Al-kjemi slutt	602,1	45,1	288	152,9	557	135
Kontroll start	x	x	x	x	x	x
Kontroll slutt	x	x	x	x	x	x
Forsøk 4						
Stabil Al-kjemi start	195,2	29,6	271,8	104,8	165.58542	167
Stabil Al-kjemi slutt	210,67,7	40,1	285,5	102,7	170,5	182,8
Ustabil Al-kjemi start	190	72,9	279,2	123,4	117,1	155,8
Ustabil Al-kjemi slutt	207,6	70,1	291,1	137,1	137,5	154
Kontroll start	46,3	29,6	104,4	89,7	16,7	14,8
Kontroll slutt	46,3	39,8	108,6	86,5	6,5	22,2

De to rennene der fisk ble utsatt for Al-eksponering skulle for forsøkene med karuss, etter mine beregninger, ha en total mengde aluminium på 200µg/l. Tilsvarende tall for rennene i lakseforsøket skulle være på 170µg/l. Man kan se at tallene viste en del avvik fra dette. Alr varierte mellom 240,1 og 315,6 i rennene som ble tilsatt aluminium og gjennomsnitts innholdet var under forsøkene på 280,3.

### 3.1.3 Aluminiumsgradienter gjennom rennene

Det var et formål med forsøket å prøve å lage en gradient av polymerisering gjennom rennen med ustabil Al-kjemi, slik at det var en høy grad av polymerisering i starten av rennen men at denne skulle avta nedover i rennen. Som et mål på graden av polymerisering så jeg på totalt Ali-innhold i rennene ved start og slutt. Selv om polymerisering ikke nødvendigvis er gitt ut fra mengden av Ali i vannet fant jeg ut at dette var den beste måten å observere gradienten, da det forteller hvor mye aluminium som er tilgjengelig for polymerisering. Jeg fant ingen gradient av Ali gjennom noen av rennene (appendiks fig. 2).

## 3.2 Atferd

Ved observasjoner av fisken fant jeg at både karussen og laksen oppførte seg slik man kan forvente fra naturen. Karussen vandret stort sett i stim, og dersom noen var ute av stimen, var dette bare for korte perioder. Laksen er, som mange andre laksefisk, territoriell (Johnsson og Forlin, 2003

Waldimarsson og Metcalfe 2001). Dette førte til at fisken spredte seg ut i hele rennens lengde slik at avstanden til artsfrendene ble så stor som mulig. Laksen viste heller ingen tendens til å bevege seg sammen med sine artsfrender med unntak av når de gjorde utfall mot hverandre. For karussen virket det på meg som at de foretrakk en plassering rundt innløpet når vannet ikke inneholdt aluminium, og at de trakk lenger vekk fra innløpet når Al-eksponering startet. Gjennomsnittlig plassering i rennene over tid kan sees for hvert forsøk i appendiksfigur 1. Ved å se på gjennomsnittsplassering for alle karussforsøkene under ett kommer det frem flere interessante trender (fig. 2). Man kan se at karussen i alle rennene oppholder seg ganske nær innløpet før de blir utsatt for Al-eksponering. I rennene der de blir utsatt for Al-eksponering forflyttet de seg så nedover i rennene. Karussen i rennen med ustabil Al-kjemi flyttet seg etter eksponeringen tilbake til utgangsposisjonen, mens karussen i rennene med stabil Al-kjemi forble i den posisjon de var i under eksponeringen. For kontrollrennen var det bare små endringer i posisjonering gjennom forsøket.

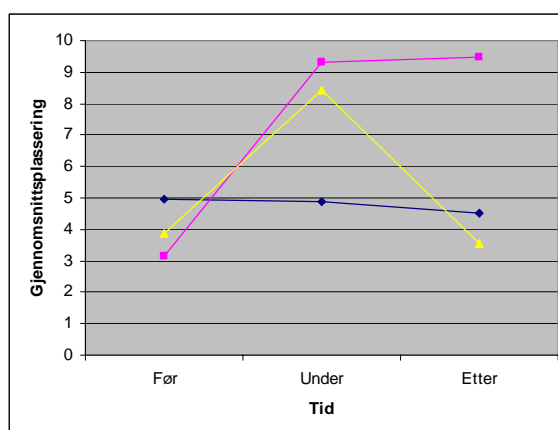


Fig 2. Gjennomsnittsplassering for fiskene i de tre forsøkene med karuss. Firkanter representerer rennene med stabil Al-kjemi, trekantene ustabil Al-kjemi og diamanter representerer kontrollrennene.



Jeg gjorde en toveis variansanalyse med interaksjon for forsøkene med karuss for å se om jeg kunne finne noen forskjeller på plassering i rennene.

Variansanalysen ble gjort med henblikk på behandling og tid, samt en interaksjon på behandling\*tid. Jeg fikk ingen statistisk signifikante resultater som viste noen sammenhenger mellom dette og plassering(Tab4).

Tabell 4. Resultatene av en toveis variansanalyse med interaksjon for forsøkene med karuss.

Effect tests Response posisjon				
Source	DF	Sum of squares	F Ratio	P
Behandling	2	32,2	1,58	0,23
Tid	2	56,2	2,77	0,09
Behandling*Tid	4	66,4	1,63	0,21

Jeg ønsket også å se om det var noen endringer i aktivitet, målt i antall krysninger pr. tid. Dersom man ser på gjennomsnittlig antall krysninger over tid (fig.3) ser man også flere interessante trender.

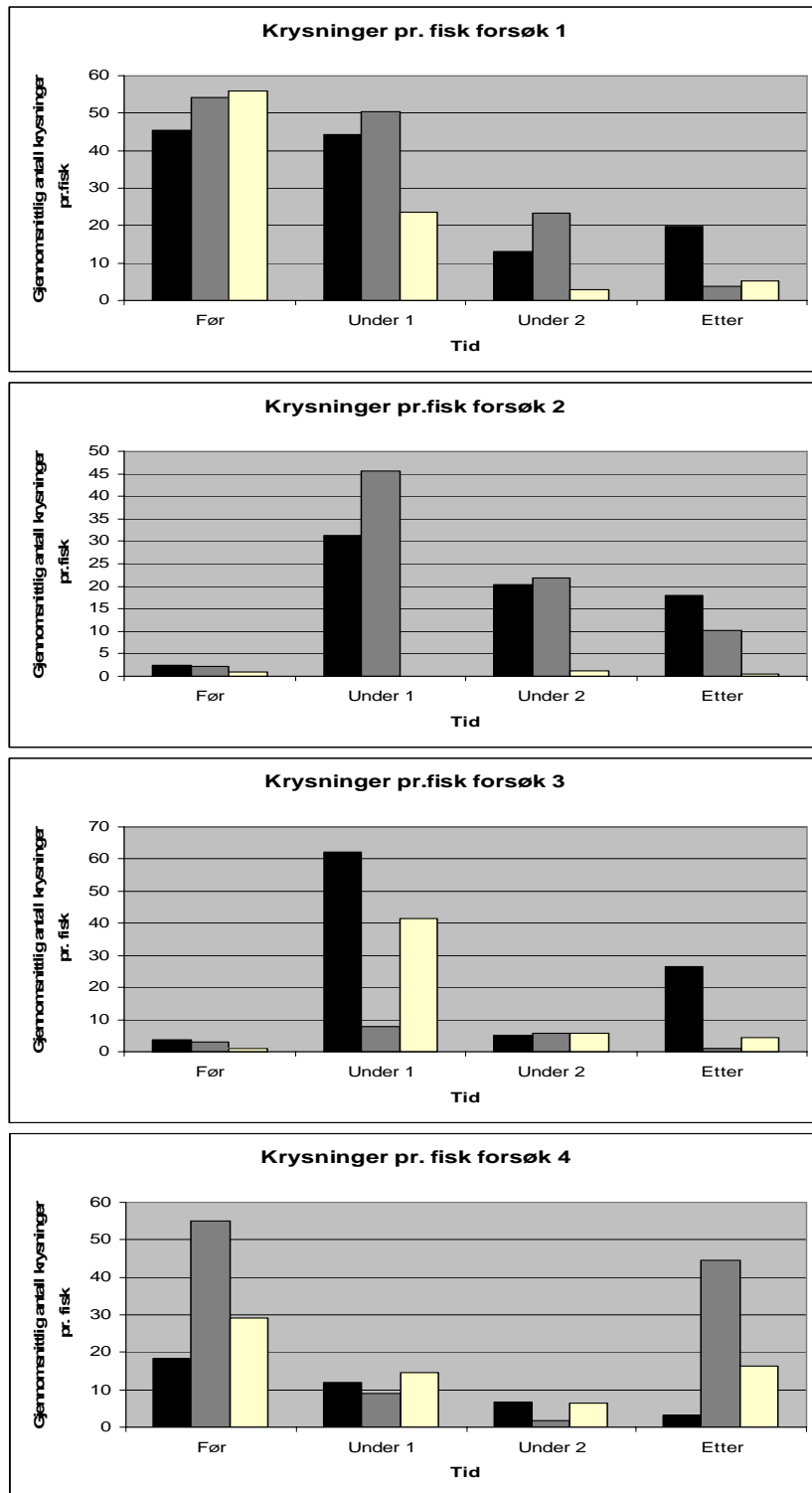


Fig 3 Gjennomsnittlig antall kryssninger pr. fisk for de fire forskjellige forsøken. Forsøk 1-3 er med karuss mens forsøk 4 er med laks. Svarte søyler viser renner med stabil AI-kjemi, grå viser ustabil AI-kjemi og hvite viser kontrollrennene. Før representerer observasjoner fra filmsnutt 4, under 1 representererobservasjoner fra filmsnutt 5, under 2 representerer observasjoner fra filmsnutt 12 og etter representerer observasjoner fra filmsnutt 14 (16 for laks). Antall kryssninger gjelder for en 5 minutters periode for hver søyle.

Dersom man ser bort i fra resultatet fra forsøk 1 ser man at karussen stort sett var ganske rolig før de ble utsatt for Al-eksponering. Ved begynnelsen av Al-eksponeringen går aktiviteten kraftig opp, og mest for de rennene der de blir utsatt for Al-eksponering. Deretter faller aktiviteten ned mot utgangsnivået. Det er også verdt å merke seg det høye antallet kryssninger før Al-eksponering i forsøk 1. For forsøk med laks ser man at aktiviteten både før og etter Al-eksponering er høyere enn aktiviteten under Al-eksponeringen der aktiviteten avtar.

Jeg gjorde en toveis variansanalyse for forsøkene med karuss der jeg så på om det var noen sammenheng mellom behandling og tid med tanke på antall kryssninger. Jeg fikk en statistisk signifikant sammenheng mellom tid og antall kryssninger (Tab.5)

Tabell 5. Resultatene av en toveis variansanalyse med interaksjon for forsøkene med karuss.

Effect tests Response kryssinger				
Source	DF	Sum of squares	F Ratio	P
Tid	3	3348,2	3,85	0,02
Behandling	2	929,5	1,6	0,22

En av årsakene til at jeg ikke kunne finne noen statistisk signifikante endringer i atferd som en respons av behandling kan være at jeg hadde for få replikater, samt at variasjonene innen de replikatene jeg hadde var veldig stor.

## 4 Diskusjon

### 4.1 Forsøksbetingelsene

Det var vanskelig å få tatt alle de prøvene jeg kunne ønske av vannet i rennene. Dette da jeg ville forstyrret forsøksfiskene unødvendig mye.

Målingen som ble gjort viste likevel både en pH, temperatur og ledningsevne som var innenfor det jeg ville forvente. Det skal dog sies at dersom jeg hadde hatt muligheter til å undersøke pH og ledningsevne daglig, så ville jeg nok ha oppdaget tidligere at blandingen som ble tilsatt vannet hadde avvik fra det ønskelige. Da pH var nært korrelert med konsentrasjonen av aluminium i rennen ville en lavere pH raskere kunne fortalt at konsentrasjonen ikke var slik den skulle. Dette fordi en lavere pH i rennen ville tilsa at forholdet mellom vann tilsatt fra reservoar og løsning tilsatt med peristaltisk pumpe hadde endret seg. Da de peristaltiske pumpene var meget stabile gjennom forsøket vil årsaken til en endring i blandingsforhold være fordi innsiget fra reservoaret hadde endret seg.

Det var mitt ønske at den totale konsentrasjonen av aluminium i renne der fisk ble utsatt for Al-eksponering, skulle være tilnærmet  $200\mu\text{g/l}$  for forsøkene med karuss og  $170\mu\text{g/l}$  for forsøket med laks. Ut i fra de målingene jeg gjorde visste dette seg ikke å være tilfellet. Årsaken til dette kan være mange. For det første vil aluminiuminnholdet i råvannet kunne forandre seg noe i løpet av forsøkene slik at den blandingen vi tilsatte måtte vært endret dersom vi fortsatt

skulle fått ønsket konsentrasjon. En annen faktor var at den reelle blandingen som ble tilsatt rennene ble laget ved at en peristaltisk pumpe blandet en aluminiumsløsning inn enten i et blandekar (stabil Al-kjemi), eller i nærheten av utløpet for slangen som levert vann til rennen med ustabil Al-kjemi. Selv om den peristaltiske pumpen viste seg å være veldig nøyaktig selv over tid så var tilsiget av råvann i henholdsvis blandekar og renne utelukkende regulert ved hjelp av diverse klemmer. Det var dermed ikke alltid like lett å sjekke at tilsiget av råvann var slik det skulle være under hele forsøket. Dette sammen med at selve vanntrykket i kjelleren på blindern kunne være noe varierende vil kunne ha medvirket til at vi så ganske store avvik fra den konsentrasjonen vi ønsket.

Et av formålene med dette forsøket var å se om jeg kunne oppdage noen endring i plassering for fisken basert på hvor vannet var mest giftig. I følge mine antagelser ville fisken, dersom den kunne fastslå hvor vannet var mest giftig oppholde seg der det var minst giftig. Da aluminium blir mindre reaktivt etter hvert som det reagerer med vannet lagde vi to ulike eksponeringer. En renne med stabil Al-kjemi der aluminiumet ble blandet med vannet i et stort blandekar og dermed fikk tid til å reagere med det (polymerisere) før det ble tilsatt rennene, og en renne der aluminiumet ble tilsatt vannet i det dette rant ut i rennen. I teorien skulle derfor konsentrasjonen av reaktivt aluminium være høyere i rennen med den ustabile Al-kjemien enn i rennen med den stabile Al-kjemien. I tillegg kunne jeg anta at det også i rennen med ustabil Al-kjemi ville bli en lavere konsentrasjon av reaktivt aluminium etter hvert som vannet rant nedover i rennen. Disse forskjellene i reaktivt aluminium både mellom

rennene og innad i rennene ble vanskelig å påvise ved mine ekstraksjoner (appendiksf. 2). Dette fraværet i forskjell mellom reaktivt aluminium mellom de to rennene kan også være med på å forklare den mangelen på forskjeller vi fant i våre statistiske analyser.

## 4.2 Atferdsrespons

Mine observasjoner av atferdsendringer viste en del interessante trender. Generelt kan det sies at karussen, dersom den ikke ble utsatt for Al-eksponering foretrakk å oppholde seg nær innsiget av vann, noe man kan se fra fig 2. der karussen i alle rennene før Al-eksponering var nær starten av rennen. Denne plasseringen forholdt seg stabil for kontrollrennene gjennom hele forsøket. For karussen som ble utsatt for Al-eksponering ser man at de forflytter seg nedover rennen når dette skjer. Dette skjer uavhengig av om de er utsatt for stabil eller ustabil Al-kjemi. At karussen ikke beveger seg tilbake til utgangspunktet i rennene med stabil Al-kjemi etter at eksponeringen er ferdig kan sies å være noe underlig da det fremkommer et sterkt signal fra mine observasjoner om at karussen i utgangspunktet foretrekker å oppholde seg nær innsiget når vannet ikke er tilsatt aluminium. Årsaken til dette er mest sannsynlig et lavt antall replikater, noe som gjør at enkelte unormale observasjoner vil få en uforholdsmessig stor innflytelse på totalresultatet. For rennene med ustabil Al-kjemi ser man den reaksjonen jeg hadde forventet dersom karuss var i stand til å merke forskjeller i hvor aluminiumet var mest reaktivt for deretter å oppholde seg der vannet var minst giftig. I disse rennene ser man at de oppholder seg nær innsiget før eksponeringen for deretter å

flytte nedover i rennen når de blir utsatt for AI-eksponering. Til slutt flytter den tilbake til innsiget når eksponeringen er over.

Laks har i andre forsøk vist tegn på unnvikelsesatferd når de blir utsatt for AI-eksponering (Åtland 1996). Laks er i motsetning til karuss meget territoriell i renner med den konsentrasjonen av individer vi hadde i forsøkene (Valdimarsson og Metcalfe 2001). I forsøket med laks virket det som at fisken ble for territoriell til å la andre ytre effekter påvirke valg av oppholdsted da observasjonene viste at de spredte seg langs hele rennens lengde fra starten av.

Jeg fant ingen statistisk signifikante forskjeller som et resultat av eksponering som kunne bekrefte disse observasjonene. Årsakene til dette kan være mange. Den første er at jeg ved oppsettet var nødt til å begrense antallet replikater da hvert forsøk tok ca en uke. Jeg var dermed avhengig av å kunne få veldig sterke trender i de forsøkene jeg gjorde for å kunne finne noen statistisk signifikans. Dette var ikke tilfellet i mine forsøk. Selv om det statistisk ikke ble noen signifikante forskjeller over tid som et resultat av behandling vil jeg likevell si at jeg observerte noe som kan tolkes som en reaksjon på behandling. Dette gjaldt for forsøkene med karuss og ikke med laks. Trolig ville ett oppsett som hadde sett på flere individuelle fisk vært en bedre måte å tilnærme seg problemstillingen på, da man hadde fått flere observasjoner, noe som kunne vært med på å gi analysene den styrke man trenger for å kunne påvise statistisk signifikante forskjeller.

Jeg ønsket også å se på om aktivitet, målt som antall kryssinger ville endre seg over tid, som et resultat av behandling. Dersom man ser på de tre karussforsøkene kunne det se ut som om aktiviteten var lav i starten. Deretter tok den seg veldig opp under begynnelsen av AI-eksponeringen, for deretter å avta tilbake mot aktivitetsnivået som ble vist før AI-eksponeringen (fig3). Unntaket fra dette mønsteret finner man i forsøk 1 der aktiviteten er høyest før AI-eksponeringen. Dette gjelder for alle rennene. Jeg vil derfor argumentere for at årsaken til dette er at fisken har blitt stresset av faktorer som ikke var innebefattet i dette forsøket. Fisk er sensitiv til lyd og vil ofte visse unnvikelsesmanøvrer dersom de blir utsatt for dette (Karlsen et. al 2004). Dersom det har vært aktivitet som lager lyd som forplanter seg til vannet i rennene kan dette ha stresset fisken til å foreta unnvikelsesmanøvre noe som vil føre til at aktiviteten som ble målt ville øke. Dersom man ser mønsteret med lav aktivitet før AI-eksponering kombinert med en sterk økning i aktivitet rett etter starten av AI-eksponeringen og en gradvis tilbakevendig til aktivitetsnivået før AI-eksponeringen, vil det være naturlig å konkludere med at AI-eksponeringen utsetter karussen for stress med påfølgende unnvikelsesmanøvre som resultat. En annen årsak til at aktivitetsnivået økte rett etter at AI-eksponeringen startet kan også være at jeg ved begynnelsen av AI-eksponeringen måtte henge over rennene for å koble til AI-løsningene som skulle tilføres. Målingene på aktivitet som jeg gjorde rett etter AI-eksponeringen startet er tatt på slutten av de 1 time lange filmsnittene jeg tok fra AI-eksponeringens første dag. Det er derfor ikke meget sannsynlig at fisken var nevneverdig stresset av dette når målingene ble foretatt.



For lakseforsøket viser aktivitetsobservasjonene noe helt annet. Her er aktiviteten høy både før og etter Al-eksponeringen. Aktiviteten under Al-eksponeringen er vesentlig lavere enn både før og etter. Aktiviteten er generelt høyest i kontroll rennen under Al-eksponeringen, selv om det også her er lavere aktivitet enn før og etter. Denne siste observasjonen gjør at jeg ikke kan utelukke at det også her er utenforliggende faktorer som har påvirket fiskens aktivitet. Det er likevel meget mulig at den avtagende aktiviteten under Al-eksponeringen er et resultat av en dårligere allmentilstand hos laksen, noe som gjør at den foretar færre utfall mot sine naboer og generelt har mindre energi til å bevege seg.

Jeg kunne ikke finne noen statistisk signifikante forskjeller i mine statistiske analyser av karussens endring i aktivitet som et resultat av behandling. Jeg fant imidlertid en signifikant forskjell i antall krysninger som et resultat av tid. Årsaken til dette var at antall krysninger rett etter Al-eksponeringen var signifikant høyere enn etter Al-eksponeringen. Dersom antall krysninger før Al-eksponeringen ikke hadde vært så høy i det første forsøket med karuss, ville jeg nok også kunnet finne en signifikant forskjell mellom aktivitet før eksponering og under eksponering. Det må også her sies at antallet replikater var for lavt til å kunne få en veldig stor styrke på de statistiske analysene. Variasjonen mellom forsøkene for karuss var også veldig høy.

## 5 Konklusjon

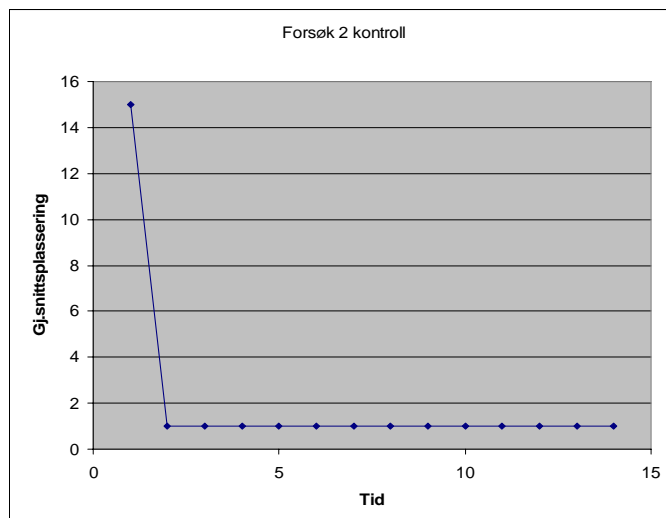
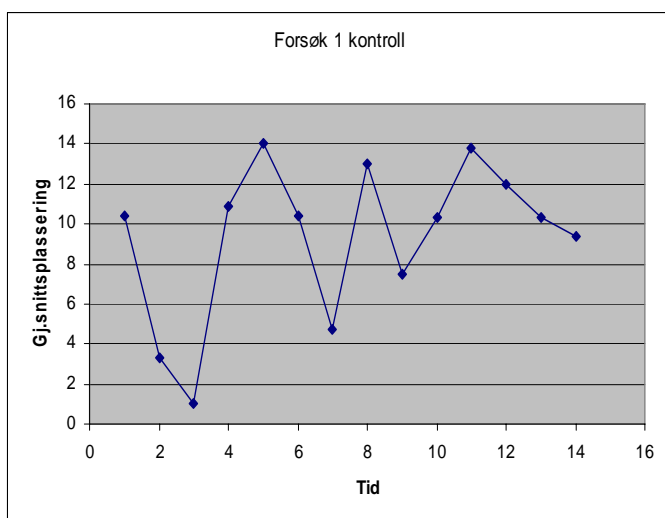
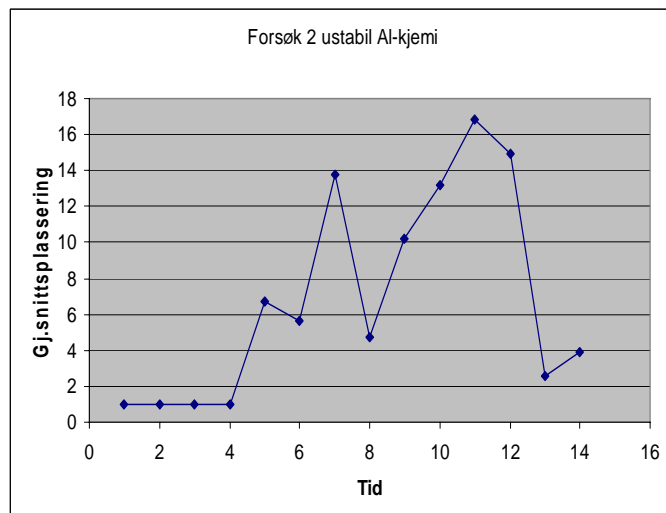
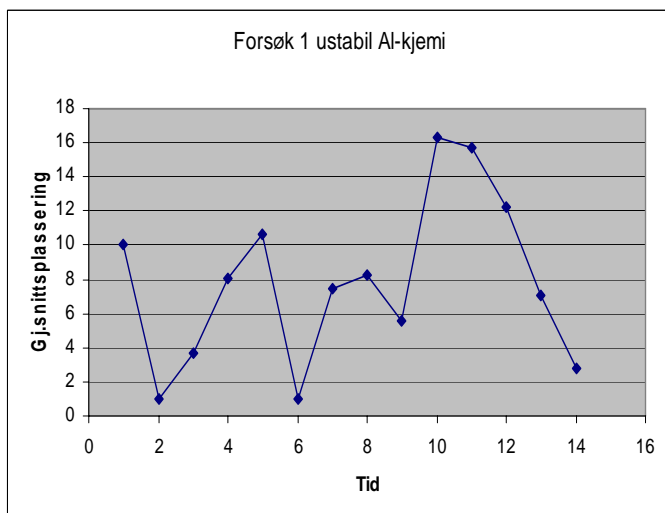
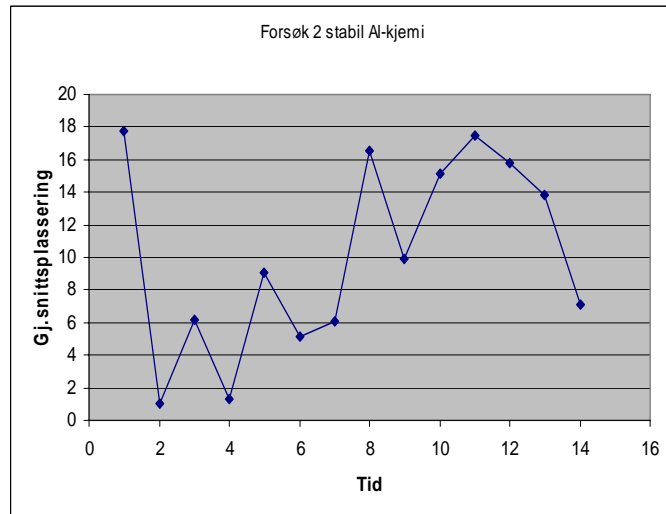
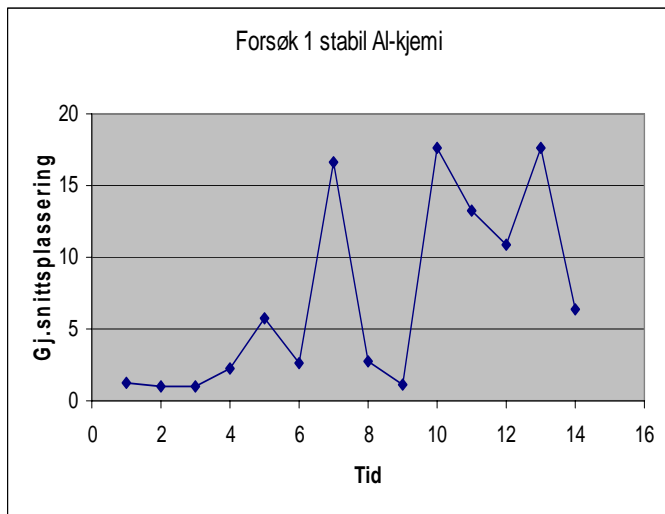
Jeg mener at de observasjonen jeg har presentert baner vei for å si at det er mulig for karuss å kunne oppdage forskjeller i aluminiumstoksisitet, og foreta valg om oppholdsted basert på dette. Det er tydelig at for karussen er Al-eksponering en stressfaktor som fører til unnvikelsesmanøvre, og at den ønsker å oppholde seg andre steder når den blir utsatt for en Al-eksponering kontra der de oppholder seg når de ikke blir utsatt for dette. Observasjonene mine viser at karussen oppholder seg rundt midten av rennen (rute 9) når den blir utsatt for Al-eksponering. Det kan altså være at karussen forflytter seg som en reaksjon på at den merker en generell endring i vannkjemien noe som gjør den usikker og får den til å søke til de områdene som har mest struktur, og dermed mest skjul. Dersom dette er tilfellet kan det være at karussens atferdsendringer ikke er et forsøk på å finne de områdene med minst toksisitet men snarere er et resultat av at dette induserer en fryktrespons som får den til å trekke til områdene med mest skjul. For laksen viser observasjonene at den ikke endrer oppholdssted når den blir utsatt for Al-eksponering. Dette kan være fordi dens territorielle natur er viktigere enn andre ytre faktorer, men det kan også være et resultat av at den ikke evner å oppdage at den blir utsatt for aluminium. Dette kan i så fall være en medvirkende forklaring på hvorfor laks klarer seg vesentlig dårligere enn f.eks karuss når den blir utsatt for toksiske al-konsentrasjoner.

## 6 Referanser

- Baker, J.P. & C.L. Schofield (1980). Aluminum toxicity to fish as related to precipitation and Adirondack surface water quality I: D. Drabløs & J.R. Tollan (red). *Ecological impact of acid precipitation*. SNSF project, Sandefjord, Norway 292-293.
- Barnes, R.B. (1975). The determination of specific forms of aluminum in natural water. *Chemical Geology* **15**: 177-191
- Bjerkely, F. (1995). Effekter av aluminium på røye (*Salvelinus alpinus*) i vann med ustabil Al-kjemi: Et studie av mekanismen for akutt Al-toksisitet for fisk. Cand. scient. oppgave. Universitetet i Oslo.
- Driscoll, C.T., J.P. Baker, J.J. Bisogni & C.L. Schofield (1980). Effect of aluminum speciation on fish in dilute acidified waters. *Nature* **284**: 161-164
- Driscoll, C.T. (1984) A procedure for the fractionation of aqueous aluminum in dilute acidic waters. *International Journal of Environmental Analytic Chemistry* **16**: 267-283
- Exley, C., J.S. Chappell & J.D. Birchall (1991). A mechanism for acute toxicity in fish. *Journal of Theoretical Biology* **151**: 471-428
- Exley, C., J.S. Chappell & J.D. Birchall (1994) *Journal of Theoretical Biology* **167**: 415-416
- Hansen, J.A., J.C.C. Marr, J. Lipton, D. Cabela & H.L. Bergman (1999). Differences in neurobehavioral responses of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to copper and cobalt: Behavioral avoidance. *Environmental Toxicology and Chemistry* **18**: 1972-1978
- Henriksen, A., L.Lien, T.S. Traaen, I.S. Sevaldrud & D.F. Brakke (1988). Lake acidification in Norway-present and predicted chemical status. *Ambio* **17**: 259-266.
- Howells, G., T.R.K. Dalziel, J.P. Reader & J.F. Solbe (1990). EIFAC water quality criteria for European freshwater fish: Report on aluminium. *Chemistry and Ecology* **4**: 117-173
- Johnsson, J.I., J. Parkkonen & L. Förlin (2003). Reduced territorial defence in rainbow trout fry exposed to a paper mill effluent: using the mirror image stimulation test as a behavioural bioassay. *Journal of Fish Biology* **62**: 959-964
- Karlsen, H.E., R.W. Piddington, P.S. Enger & O. Sand (2004). Infrasound initiates directional fast-start escape responses in juvenile roach *Rutilus Rutilus*. *The Journal of Experimental Biology*. **207**: 4185-4193
- Likens, G.E., C.T. Driscoll & D.C. Buso (1996). Long-Term Effects of Acid Rain: Response and Recovery of a Forest Ecosystem. *Science* **272**: 244-246
- Lydersen, E. (1991). Aluminium in dilute acidic freshwaters- Chemical, analytical and biological relevance. Dr.Philos. thesis. Department of Biology, University of Oslo.
- Miljøstatus 2003 Sur nedbør gir omfattende skader. Red. Statens forurensningstilsyn [http://www.miljostatus.no/templates/themepage\\_\\_\\_\\_2149.aspx](http://www.miljostatus.no/templates/themepage____2149.aspx)
- Moe, J. (1997). Toksisiteten av aluminium ved ustabil vannkjemi for fire akvatiske invertebrater. Cand. Scient. oppgave i Zoologi, Biologisk institutt, Universitetet i Oslo.
- Muniz, I.P. & H. Leivestad (1980). Toxic effects of aluminium on the brown trout, *Salmo trutta* L. I.D. Drabløs & A. Tollan (red.) *Ecological impact of acid precipitation*. SNSF Project, Sandefjord, Norway. 320-321

- Polèo, A.B.S. (1995) Aluminium polymerization- a mechanism of acute toxicity of aqueous aluminium to fish. *Aquatic Toxicology* **31**: 347-356.
- Polèo, A.B.S., E. Lydersen, B.O. Rosseland, F. Kroglund, B. Salbu, R.D. Vogt & A. Kvellestad (1994). Increased mortality of fish due to changing Al-chemistry of mixing zones between limed streams and acidic tributaries. *Water, Air and Soil Pollution* **75**: 339-351.
- Polèo, A.B.S., S.A. Øxnevad, K. Østbye, R.A. Andersen, D.H. Oughton & L.A. Vøllestad (1995). Survival of crucian carp, *Carassius carassius*; exposed to high low-molecular weight inorganic aluminium challenge. *Aquatic Science* **57**: 350-359
- Polèo, A.B.S., K. Østbye, S.A. Øxnevad, R.A. Andersen, E. Heibo & L.A. Vøllestad (1997). Toxicity of acid aluminium-rich water to seven freshwater fish species: A comparative study. *Environmental Pollution* **96**: 129-139
- Polèo, A.B.S. & F. Bjerkely (2000). Effect of unstable aluminium chemistry on Arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **57**: 1423-1433
- Sullivan, T.J., H.M. Seip & I.P. Muniz (1986). A comparison of frequently used methods for the determination of aqueous aluminum. *International Journal of Environmental Analytic Chemistry* **26**: 61-75
- Valdimarsson, S.K. & N.B Metcalfe (2001). Is the level of aggression and dispersion in territorial fish dependent on light intensity? *Animal Behaviour* **61**: 1143-1149
- Vogt, R.B., S.B. Rannekleiv & T.C. Mykkelbost (1994). The impact of acid treatment on soilwater chemistry at the humex site. *Environmental International*. **20**: 277-286
- Åtland, Å. & T. Barlaup (1995). Avoidance of toxic mixing zones by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and brown trout (*Salmo trutta* L.) in the limed River Audna, southern Norway. *Environmental Pollution* **90**: 203-208
- Åtland, Å. (1996). Low pH and elevated Al concentrations as behavioural modifiers in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and brown trout (*Salmo trutta* L.)-laboratory and field test studies. Dr.scient thesis. Institute of Zoology, Department of Animal Ecology, University of Bergen

# Appendiks



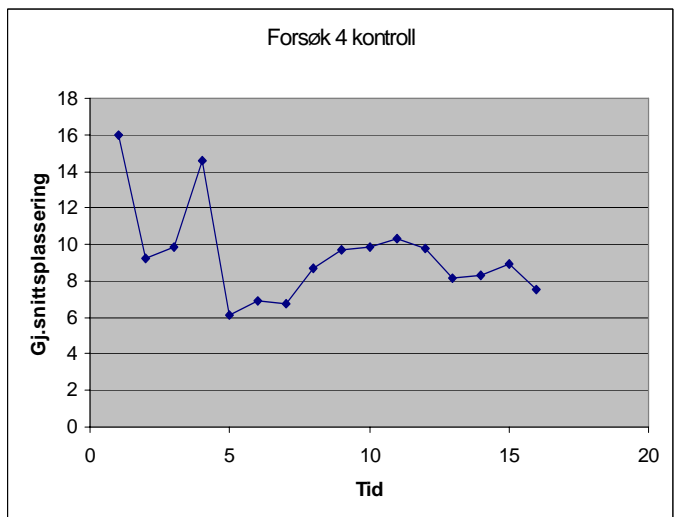
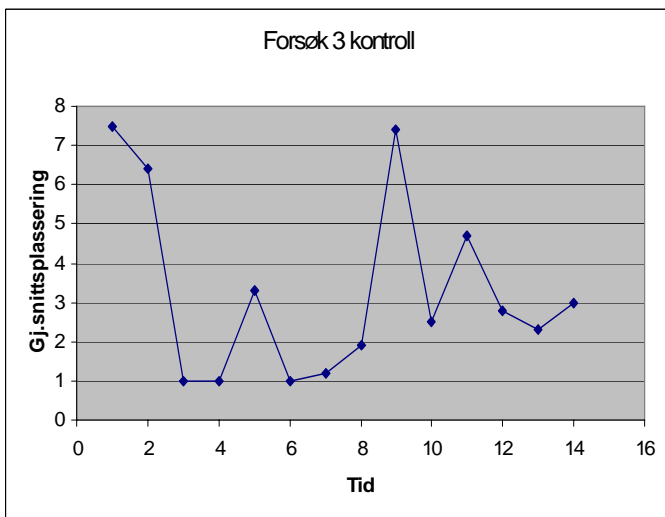
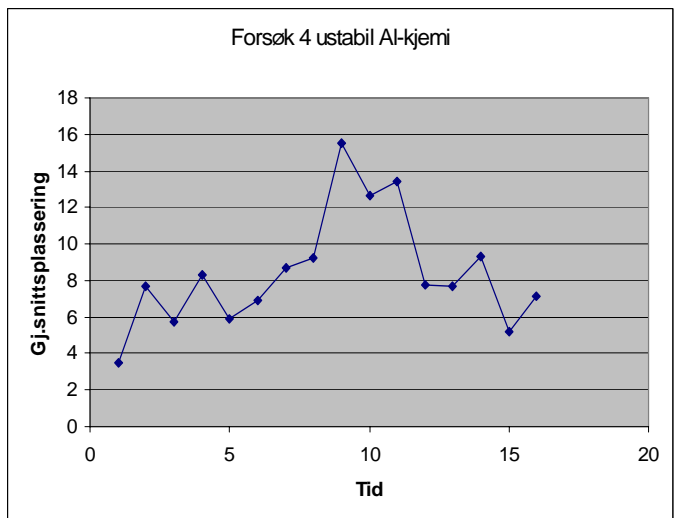
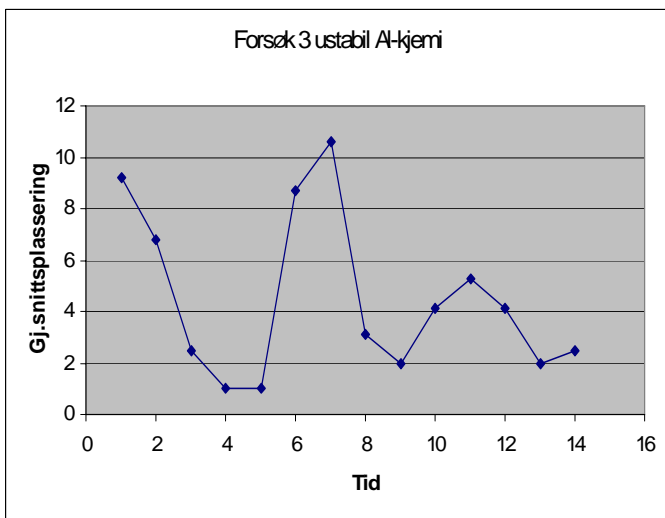
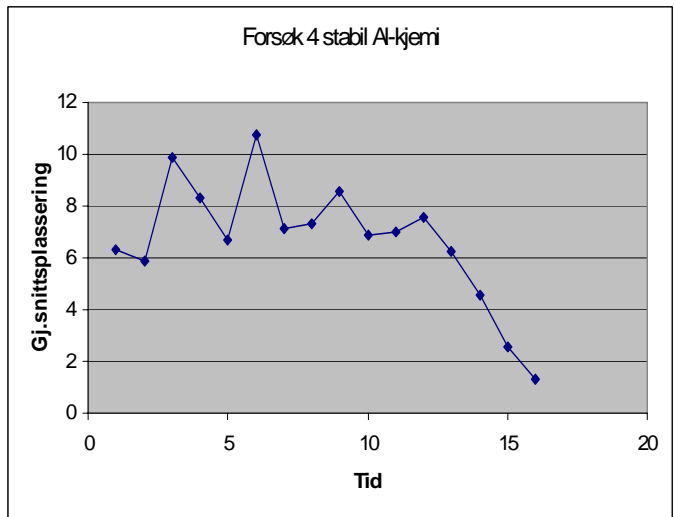
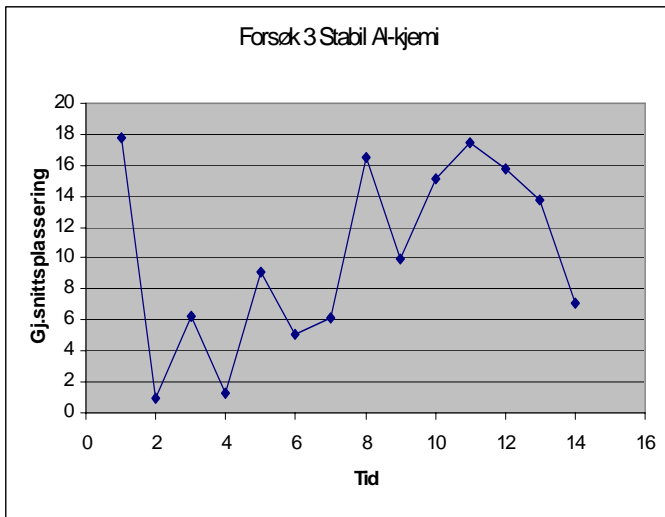


Fig 1. Gjennomsnittlig plassering for fisken i de fire forskjellige forsøkene. Forsøk 1-3 er med karuss mens forsøk 4 er med laks.

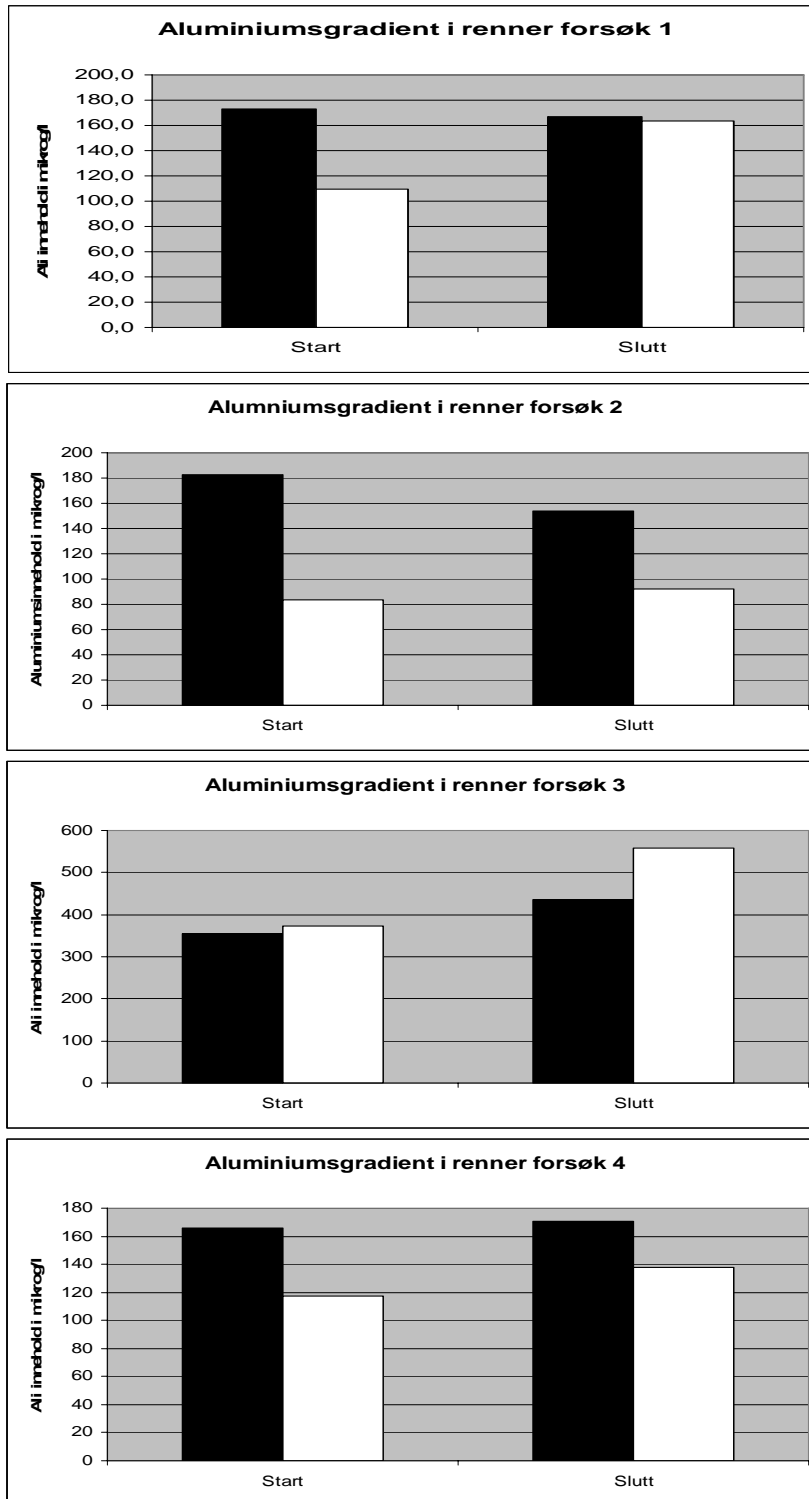


Fig.2 Ali innhold i rennene. Start er ved innsiget av vann og slutt er ved utløpet. Svarte søyler representerer rennene med stabil Al-kjemi mens hvite søyler representerer rennene med ustabil Al-kjemi. Forsøk 1-3 er med karuss mens forsøk 4 er med laks.