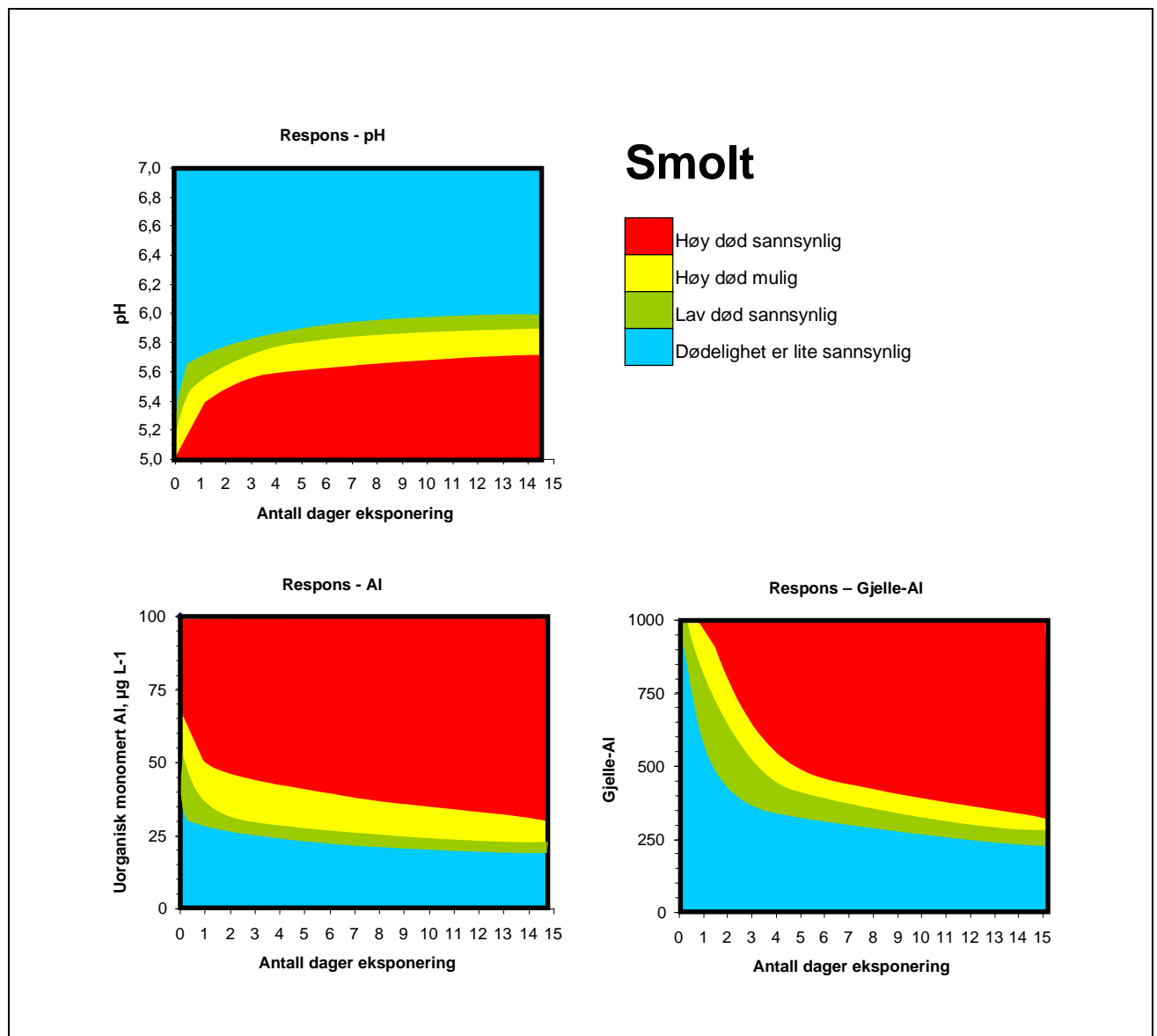




RAPPORT LNR 4797-2004

Effekter av forsuringsepisoder på parr- og smoltkvalitet til laks



Hovedkontor

Postboks 173, Kjelsås
0411 Oslo
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 22 18 52 00
Internet: www.niva.no

Sørlandsavdelingen

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

Østlandsavdelingen

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

Vestlandsavdelingen

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

Akvaplan-niva

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

Tittel Effekter av episoder på parr og smoltkvalitet til laks	Løpenr. (for bestilling) 4797-2004	Dato Februar 2004
	Prosjektnr. Undernr. O-22091	Sider Pris 45
Forfatter(e) Frode Kroglund Bjørn O. Rosseland	Fagområde Sur nedbør	Distribusjon Åpen
	Geografisk område Norge	Trykket NIVA

Oppdragsgiver(e) Direktoratet for Naturforvaltning	Oppdragsreferanse
---	-------------------

Sammendrag

Kalking er igangsatt i en rekke vassdrag for å avgifte forsuret vann. Det er definert vannkjemiske pH-mål for tiltakene. Målene vil kunne underskrides i perioder med høy vannføring, som følge av driftsvikt mm. Det er utført en evaluering av hvor lenge laks (livsstadier parr og smolt) tåler suboptimale vannkvaliteter. Grenseverdiene er basert på hvor lenge fisken kan eksponeres før det påvises dødelighet. Det er utviklet responsmodeller for ulike analysemetoder for aluminium. Vannkvalitetsmålet for smolt kan underskrides i inntil 10 dager hvis pH er i intervallet 5,5 til 5,7 og LAI-konsentrasjonen intervallet 20 til 35 $\mu\text{g Al L}^{-1}$. Hvis pH er lavere enn 5,5 og LAI overstiger 35 $\mu\text{g Al L}^{-1}$, kan høy dødelighet oppstå i løpet av få dager. Tilsvarende grenser for gjelle-akkumulert aluminium er satt til 350 og 550 $\mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tørrvekt. Smoltens saltvannsegenskaper påvirkes i økende grad hvis pH underskrider 6,3, eller hvis fisken eksponeres for mer enn 5 $\mu\text{g LAI L}^{-1}$, eller akkumulerer mer enn 40 $\mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tv. Parr tåler betydelig dårligere vannkvalitet og lengre eksponeringstid enn smolt. Grenseverdiene forutsetter at ubehandlet vannkvalitet faktisk inneholder aluminium. Grenseverdiene ovenfor er ikke gyldige nedstrøms samløp mellom sure sidebekker og kalka elv; områder hvor det vil genereres ustabile tilstandsformer av aluminium. I disse kan fisken oppleve høyere konsentrasjoner av aluminium enn det som rapporteres etter analyse. I surt vann uten aluminium vil pH-verdier ned mot 5,4 være akseptable. pH-grensene forutsetter således forsuring for å være gyldige.

Fire norske emneord	Fire engelske emneord
1. Episoder	1. Episodes
2. Vannkvalitetskrav	2. Water quality
3. Laks	3. Salmon
4. Bestandseffekter	4. Population effects

Frode Kroglund



Forskningsleder

ISBN 82-577-4475-1

Nils Roar Sælthun

Forskningsdirektør

Effekter av forsuringsepisoder på parr og smoltkvalitet til laks

Forord

I Norge er flere vassdrag kalket. Det vannkjemiske målet er ikke alltid oppnåelig. I disse periodene er vannkvaliteten dårligere enn det forvaltningen har satt som mål.

DN ba NIVA utrede betydningen av kortvarige underskridelser av vannkvalitetsmål for laksesmolt og parr. Oppdraget er løst ved å se på dose responssammenhenger etablert i forsøk utført over den siste 10-års perioden.

Grimstad, desember 2003

Frode Kroglund

Innhold

Sammendrag	5
Summary	8
1. Innledning	9
2. MATERIALE OG METODE	13
2.1 Dose – respons modeller	13
2.2 Eksponeringsmiljø	14
2.3 Fiskemateriale:	14
2.4 Vannkjemi	15
2.4.1 Vannets hovedioner	15
2.4.2 Blandsoner; ustabil og stabile tilstandsformer av aluminium	15
2.5 Eksponeringstid	16
2.6 Fastsettelse av kritiske grenser	16
3. RESULTAT OG DISKUSJON	17
3.1 Sammenhenger mellom pH og aluminium	17
3.2 Gjellemetall	19
3.3 Hvor raskt dør fisken?	21
3.4 Dødelighet i forhold til pH og Al	21
3.5 Dødelighet i forhold til gjelle-Al	24
3.6 Saltvannstoleranse	26
3.6.1 Dødelighet	27
3.6.2 Ioneregulering	29
3.6.3 Marin overlevelse	31
3.7 Alternative vannkvalitetsmodeller	32
3.7.1 Kalsium	32
3.7.2 Humus	33
4. Biologiske faktorer; tilpassing og restituering	34
4.1 Tilpassing til belastende miljø	34
4.2 Restituering	34
5. Konklusjon - grenseverdier	36
6. Referanser	41

Sammendrag

Det er tidligere definert entydige pH-mål for kalkingsvirksomheten i vassdrag. Disse pH-målene vil kunne underskrides i perioder som følge av uventet stor flom, kraftige forsureningsepisoder eller som følge av teknisk funksjonssvikt. I løpet av slike episoder vil pH avta, og konsentrasjonen av giftig aluminium vil øke. Dersom pH avtar til kritiske nivå, eller episoden blir langvarig, kan denne underdoseringen resultere i effekter på bestandsnivå. Dette er uønsket. Samtidig vil det være uhensiktsmessig og dyrt å sikre hvert anlegg mot enhver funksjonssvikt. Likeledes er det kostbart å installere doseringsanlegg som kan håndtere enhver flom. Spørsmålet som ble reist fra forvaltningen var: *hvor lenge og hvor mye kan de oppgitte vannkvalitetsnormene underskrides før dette har effekt på bestandsnivå?* I denne utredningen er det argumentert med at dødelighet er den eneste responsen som uomtvistelig er uakseptabel i denne sammenheng. Subletale responser kan ha negativ effekt på bestandsnivå, men vil sannsynligvis ikke forårsake at enketbestander går tapt, ei heller at smoltproduksjonen synker til kritisk lave nivå ettersom normal helsekvalitet vil reetableres når tilfredsstillende vannkvalitet igjen er etablert. Det er likevel tatt et forbehold med hensyn til smoltkvalitet. Smoltens evne til å opprettholde normal helsestatus i saltvann avtar drastisk etter selv kortvarig eksponering til moderat forsuret vann.

Problemstillingene ovenfor er søkt løst ved å sette sammen data fra forsøk utført i løpet av den siste 10-års perioden. Dose-respons modellene som er presentert i denne rapporten, er basert på 150 eksponeringsforsøk med parr og 280 eksponeringsforsøk med smolt. I tillegg inngår forsøk rapportert i Rosseland (1989). Et forsøk er en unik eksponering til en unik vannkvalitet. Ikke alle målevariabler er inkludert i alle forsøk.

I forsøkene er det benyttet to ulike fraksjoneringsprotokoller for aluminium og pH (*in situ* og laboratoriefraksjonert; d.v.s. Al fraksjonert og pH målt i felt eller først etter lagring og transport av vannprøvene). Aluminium er analysert i henhold til protokoller ved NIVA og LAK. Forskjeller i metoder innebærer at laboratoriene vil angi ulike konsentrasjoner av giftig Al i samme vannprøve. I rapporten her er aluminium angitt som mengde labilt-Al (LAl) når prøvene er analysert ved NIVA og som mengde uorganisk aluminium (Ali) når analysene er utført av LAK. Betegnelsen uorganisk labilt aluminium benyttes som fellesbetegnelse. Konsentrasjonen av uorganisk labilt aluminium i vann kan påvirkes av temperatur, pH samt av endringer i en rekke ulike uorganiske og organiske kompleksbindere. Når pH økes i surt vann (som følge av kalking eller blanding av surt og ikke-surt vann) avtar mengden uorganisk labilt aluminium (Rosseland et al., 1992; Lydersen et al., 1994; Poleo et al., 1994; Kroglund et al., 2001ab). Mens pH-økningen er rask, endres konsentrasjonen av uorganisk labilt aluminium sakte, hvor raten er avhengig av temperatur og pH-økningen (Lydersen, 1991; Kroglund et al., 2001ab). Disse prosessene medfører at fisk i et vassdrag kan oppleve høye konsentrasjoner av aluminium, mens det analyseres lave konsentrasjoner i en vannprøve. Dette fenomenet er upresist omtalt som "blandsoner". I blandsoner vil aluminium foreligge på en ustabil tilstandsform. Med økende alder på vannet vil nye likevekter etableres. Nedstrøms en blandsoner vil graden av endring være små og fisken eksponeres under mer stabile forhold. Endringsratene er sterkt påvirket av temperatur og pH. Aluminium på antatt stabil og antatt ustabil tilstandsform er derfor skilt i bearbeidingen, hvor det antas at fisken kan ha opplevd høyere aluminiumskonsentrasjoner enn det som ble analysert under de ustabile betingelsene.

Ved fastsettelse av grenseverdier for kritisk/akseptabel vannkjemi er analyser utført ved NIVA og da under forhold hvor aluminium var på en antatt stabil tilstandsform foretrukket til tross for at presisjonen da er redusert. Dette skyldes at slik prøvebehandling er det normale i de statlige overvåkningsprogrammene. Sammenhenger mellom dose og respons for andre analyseprotokoller og tilstandsformer er vist i figurene. Grenseverdier for andre analyseprotokoller kan derfor avledes.

Aluminium utøver sin giftvirkning etter akkumulering i og på gjellevev. Denne prosessen er rask. I forsøk med laks oppstår det en form for likevekt mellom Ali i vann og Al på gjeller i løpet av 24 timer. Denne avtar også raskt hvis Ali-konsentrasjonen avtar. Den gode sammenhengen mellom aluminium akkumulert på gjeller og Ali medfører at gjelle-Al i rapporten er inkludert som mål for dose, selv om aluminium akkumulert på gjeller ikke inngår i dagens vassdragsovervåking. I flere av modellene er sammenhengene mellom dose og respons mer entydig hvis de baseres på gjelle-aluminium enn hvis de baseres på aluminium målt i lagret vann, jfr. usikkerhet tilknyttet endringer i tilstandsformer til metaller ved lagring.

Grenseverdier for presmolt og smolt

Basert på sammenhenger mellom dødelighet, pH og LAI vil pH ned til 5,7 og eksponering for inntil LAI 20 $\mu\text{g Al L}^{-1}$ kunne aksepteres i inntil 10 døgn, forutsatt stabile forhold. Utover dette, eller ved høyere belastningsnivå, vil dødelighet tilta. Dersom Al er fraksjonert *in situ* økes grenseverdien til 40 $\mu\text{g Al L}^{-1}$, men da som Ali. Dersom fisken er eksponert under mer ustabile forhold (blandsoner) kan den faktiske mengden aluminium fisken opplevde være betydelig høyere enn det som analyseres. Dette vil kunne sannsynliggjøres gjennom måling av gjelle-aluminium. Hvis fisken har en høyere gjelle-Al konsentrasjon enn det som kan forventes utfra LAI-konsentrasjon, er det rimelig sannsynlig at fisken er eksponert i en blandsoner, eller at fisken forut for prøvetakingen opplevde en forsureningsepisode.

Dødelighet vil tilta når Al-konsentrasjonen akkumulert i og på gjellevev overskrider 350 $\mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tv over en periode på minst 7 døgn. Dette er gjelle-Al nivåer som under antatt stabile forhold måles først når *in situ* analysert pH underskrider 6,0, eller når konsentrasjonen av *in situ* fraksjonert Al overskrider 40 $\mu\text{g Al L}^{-1}$.

Smoltens marine overlevelse reduseres også av aluminium i ferskvann. Aluminium påvirker enzymer som er viktige for å opprettholde normal saltbalanse i blod etter utvandring til sjøvann. Vannkvalitetsgrensene må derfor settes slik at de også beskytter smoltifiseringen. Effekter på marin overlevelse kan antydes i saltvannstester eller sannsynliggjøres i forsøk som utføres med individmerket smolt. Både svikt i smoltens evne til å regulere blodsalter og forhøyet dødelighet i saltvannstester er indikasjoner på responser som kan ha effekt på bestandsnivå. Smolt regulerer blodsaltnivået tilfredsstillende i saltvannstestene først når pH var pH 6,3 eller høyere. I et miljø uten aluminium vil pH-verdier ned til 5,4 være tilfredsstillende. Dette illustrerer tolkingsfeil som kan oppstå dersom det legges ensidig fokus på pH. Det ble påvist svekkelse av saltvannstoleranse hos smolt som ble eksponert til 5 μg uorganisk labilt Al eller mer. Dette er konsentrasjoner som er så lave at den analytiske usikkerheten forbundet med korrekt fastsettelse av dose er meget stor. Det er derfor vanskelig å etablere en "ingen effekt" konsentrasjon for aluminium. Det anbefales at pH ikke underskrider 6,3 i mer enn noen få timer i vassdrag som inneholder aluminium. Det foreligger sannsynligvis en form for dose-avhengighet her, men denne kan ikke diskuteres på grunn av mangel på data.

Det var nære sammenhenger mellom svikt i saltvannstoleranse og aluminium akkumulert på gjellevev. Det ble påvist tiltagende effekt på saltvannstoleranse når gjelle-Al konsentrasjonen oversteg ca 40 $\mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tv. Bakgrunnsnivået for upåvirkede gjeller er <10 $\mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tv. Samme grensenivå er antydnet fra forsøk der marin overlevelse er målt ved bruk av Carlin-merket smolt. Effekter på marin overlevelse vil ikke bare være avhengig av hvilken konsentrasjon Al som måles på gjellene, men også hvor lenge fisken har vært eksponert for aluminium. Fra komparative forsøk mellom lakselus og forsurening er det antydnet at en kortvarig eksponering til en høy Al-konsentrasjon kan gi svært høyere gjelle-Al konsentrasjoner, men at denne ikke trenger redusere overlevelsen i samme grad som en langvarig, men lavere dose vil gjøre. Forskjellen skyldes sannsynligvis at det ikke er selve akkumuleringen av Al på gjellene som gir skaden, men interaksjoner som deretter oppstår mellom akkumulert Al og enzymeraktivitet.

Grenseverdier for parr

Parr er betydelig mer robust enn smolt og det er registrert dødelighet kun i et fåtall forsøk. Grenseverdiene for parr er således meget usikre, men det antydes i modellene at pH ned mot 5,0 og inntil $75 \mu\text{g LAI L}^{-1}$ kan aksepteres i inntil 10 døgn. Disse verdiene er basert på fisk eksponert under antatt stabile vannkjemiske forhold. I blandsoner vil de samme grenseverdiene kunne gi omfattende dødelighet. Kunnskap om tilførsler av surt Al-rikt vann innen anadrom strekning av et vassdrag er derfor viktig ved bruk av de foreslåtte grenseverdiene.

Etterprøving av modeller

De foreslåtte modellene kan etterprøves på bakgrunn av oppnådde vannkjemiske forbedringer samt variasjon i vannkjemisk i forhold til populasjonsrespons i kalka elver. Det bør etableres empiriske modeller mellom *in situ* og laboratoriefraksjonert uorganisk labilt Al basert på samme fraksjoneringsprosedyre. Det bør gjennomføres komparative analyser mellom alle vannlaboratorier med hensyn til aluminium. Forskjeller i metode gir forskjeller i konsentrasjon som lett kan medføre feilaktig tolking av vannkvalitet. I vassdrag med mange sure sidebekker kan den konsentrasjon av Al fisken faktisk opplever være høyere enn den konsentrasjon som fremkommer i vannprøver som er lagret gjennom transport. Det må tas hensyn til slikt før vannkvalitetsgrenser settes for enkeltvassdrag. Måling av gjelle-Al vil redusere noe av denne usikkerheten.

Modellene ovenfor gjelder kun ved kortvarige underskridelse av vannkvalitetsmålet. Dersom det oppstår flere påfølgende episoder vil ikke fisken være tilfredsstillende restituert før en påfølgende episode og derved mindre tolerant. Flere repeterte episoder kan betraktes som en langvarig episode.

Summary

Title: **Effects of acidification episodes on salmon parr and smolt quality**

Year: 2003

Author: Frode Kroglund & Bjørn O. Rosseland

Source: Norwegian Institute for Water Research, ISBN No.: ISBN 82-577-4475-1

Salmon stocks are lost from several rivers in Norway. Liming is initiated to mitigate the negative effects of aluminum (Al). The water quality target is defined according to pH, and on the basis of data suggesting that Al is quickly detoxified at pH levels around 6.4, more slowly and to a lesser extent at lower pH levels (Kroglund et al., 2001ab).

The rivers are normally limed using lime dosers. Every river has from one to several of these dosers. During heavy rainfall or during extreme acidification episodes, the predefined pH target can be unattainable, as a doser has a maximum dosing capacity. Furthermore, a doser malfunction will cause the target to be undershot. The question that was raised by the authorities was: *how far and for how long can the set pH-target be undershot before the episode has population effects?*

The parr models is based on of 150 exposure groups while the smolt models is based on 280 exposure groups. Not all combinations of response and dose variables were measured in all water qualities. The exposures were performed over a 10-year period. Dose response models for mortality were generated for pH, inorganic monomeric labile Al (LAl) and gill accumulated Al. Mortality was chosen as the preferred response as fish will recover from prior sublethal exposures when the water quality is returned to qualities that do not inflict any response. This does not exclude possible population effects from sublethal doses, but it is here assumed that these are not the cause for major declines in population density. However, mortality does not hold as a criterion for salmon smolts, as these are extremely sensitive to Al. There are numerous examples illustrating that even low doses will affect hypoosmotic capacity and likely marine survival. With respect to Al, Al fractionated on aged water samples were preferred in the final models as these are Al here is analyzed using the same fractionation and analytical protocol as are used in the national river water quality monitoring program. *In situ* fractionated Al however, gives a better dose predictions.

Based on a model for pH and LAl, smolt are not expected to die during a 10 day exposure period if pH is not reduced below 5.7 and LAl is $< 20 \mu\text{g Al L}^{-1}$. At lower pH levels or higher Al concentrations, mortality will increase. When pH is lower than 5.5 and Al is increased beyond $45 \mu\text{g Al L}^{-1}$, mortality can start within days. In water bodies where the metals are on an unstable form, mortality can start within hours given these limits.

A similar model was only difficult to produce for parr, as fish from this life stage normally did not die under the exposure conditions used. This suggests that the doses that were unacceptable for smolts are acceptable for parr.

Hypoosmotic capacity was impaired in smolts having a gill-Al concentration in excess of $40 \mu\text{g Al g}^{-1}$ gill dw. Only fish exposed to $\text{pH} > 6.3$ and to Al concentrations $< 5 \mu\text{g Al L}^{-1}$ had normal physiological properties following a 24 h seawater challenge test performed at a salinity of 34 ppt. The pH target for liming should therefore not be undershot prior to the smolt run.

1. Innledning

Forsuring har utryddet eller redusert laksebestanden i >50 vassdrag i Norge (Hesthagen et al. 1991; Sandøy & Romundstad, 1995; Kroglund et al, 2002). En rekke mindre vassdrag er også berørt av forsuring, men disse er ikke inkludert i listen over tapte/skadde bestander ettersom smoltproduksjonen her er for lav til at bestanden regnes som en egen populasjon. I forsurede vassdrag er laksebestandene redusert eller utryddet som følge av økte konsentrasjoner av giftig aluminium, mer enn av selve reduksjonen i pH. Vannbehandling er igangsatt i 21 vassdrag. Det vannkjemiske målet med tiltaket kan defineres til å avgifte aluminium, hvor dette oppnås ved å heve pH (kalking) eller ved å binde Al til silikat (silisiumbehandling). Mens silikat avgifter vannet raskt, avgifter kalking aluminium ved at pH-økningen igangsetter en transformasjonsprosess hvor aluminium går fra å være på en giftig tilstandsform til former som er ufarlige for fisk. Denne prosessen er sein, og transformasjonsraten er bestemt av bl.a. temperatur og pH (Kroglund et al., 2001ab). Denne prosessen benevnes blandsoner. I slike områder kan fiske oppleve høyere aluminiumskonsentrasjoner enn det man vil forvente på bakgrunn av pH. Det er forventet at variasjon i biologisk respons kan beskrives på bakgrunn av pH og aluminium (dose) hvis det samtidig tas hensyn til hvordan aluminium endrer tilstandsform når pH endres.

Vannkvalitetskriteriene som er etablert for laks i forsuret og kalket vann har som formål å identifisere de vannkvaliteter hvor det oppnås en maksimal beskyttelse av viktige bestandsegenskaper til lavest mulig økonomisk innsats. Innsats her kan bl.a. være forbrukt kalk. Grenseverdiene er satt slik at viktige eller sensitive egenskaper skal beskyttes, mens mindre viktige egenskaper ikke i samme grad inngår i evalueringen. Det er forbundet stor usikkerhet til defineringen av hva som er en viktig egenskap og hva som er mindre viktige. Fokus har i løpet av den siste 10-års perioden blitt endret fra at overlevelse i ferskvann ble vurdert som et tilstrekkelig mål, til at det i dag kreves at fisken også skal smoltifisere normalt. Dette innebærer at marin overlevelse skal være på samme nivå som i upåvirkta vassdrag. Denne endringen i biologisk mål har medført strengere krav til vannkjemisk måloppnåelse. Opprinnelig ble det ansett som tilstrekkelig å plassere en eller flere kalkdoser i hovedvassdraget. Det vannkjemiske målet på det tidspunktet var å heve pH til et nivå man antok tilsvarte en opprinnelig pH. Økende kunnskap om vannkvalitetskravet til laks og om avgiftingsmekanismer og -rater til aluminium medførte at denne opprinnelige og enkle strategien etterhvert ble erstattet av mer komplekse strategier hvor det tas hensyn til vannkjemisk mål, avgiftningshastigheter til aluminium, lokalisering av sure sidebekker og hydrologi. Ved fastsettelse av vannkvalitetskriterier for laks, er det lagt vekt på at det vannkjemiske målet skal beskytte populasjonen, slik at forsuring ikke lengre skal være årsak til eventuelle bestandssvingninger. Det aksepteres ikke at pH-målet underskrides.

Doseringsanleggene for kalk er dimensjonert tilstrekkelig stor til å kunne avgifte vann i forbindelse med alle vanlig forekommende forsuringsepisoder og vannføringer, men vil ikke nødvendigvis ha tilstrekkelig kapasitet til å kunne avgifte en 100-års flom eller en uventet sterk forsuringsepisode. Erfaringer etter 20 år med kalking tilsier samtidig at ingen kalkingsanlegg har en 100% driftssikkerhet. Utsiktet driftsstans må derfor forventes. Feildosering kan også oppstå dersom pH-sensoren som styrer kalkingsdosen viser feil (f.eks. kalibreringsfeil). I perioder med stor vannføring eller kraftige forsuringsepisoder og i perioder med utsiktet driftsstans vil vannkvalitetsmålene underskrides. I disse periodene vil fiskebestandene oppleve fra suboptimale til letale vannkvaliteter. Effekter på bestand vil avhenge av hvor stor og hvor langvarig underskridelsen er. Denne rapporten har som formål å identifisere kritiske vannkvalitetsgrenser for laks (*Salmo salar* L.) og hvor lenge vannkvalitetene kan være under kritiske grensene uten at bestanden påføres vesentlig skade.

I forsuret vann er aluminium (Al) den primære giftige komponenten, hvor mengden giftig Al normalt vil være korrelert til pH (Henriksen et al., 1988). Sammenhengen mellom pH og giftig Al varierer

imidlertid regionalt i Norge, slik at vannkvalitet ved en gitt pH-verdi vil variere fra vassdrag til vassdrag. Det er likevel fellestrekk innen regioner.

Forsuring påfører enkeltfisk ”skade” ved at uorganiske labilt former av Al fester seg til fiskens gjeller hvor den vil akkumuleres på celleoverflater, i slimlaget som omgir gjellene og vil etterhvert påvises inni celler (Oughton et al., 1992; Gensemer & Playle, 1999). Akkumulering av Al igangsetter en kaskade av histologiske og fysiologiske responser som samlet kan lede til død dersom dosen er tilstrekkelig stor og tilstrekkelig langvarig. Dødelighet tilskrives normalt respirasjonssvikt, ofte sammen med svikt i ioneregulering (Neville, 1985; Rosseland & Staurnes, 1994; Gensemer & Playle, 1999). I forsøk er det dokumentert fiskedød allerede etter 6 timer eksponering når Al-konsentrasjonen var høy, samtidig som den forelå på en ustabil tilstandsform (Rosseland et al. 1992). Tilsvarende rask fiskedød er registrert i blandsoner nedstrøms sideelver preget av avrenningsvann fra gruver (McKnight & Fender, 1984; Herrman & Baumgartner, 1992; Henrey et al, 1999) eller sure sidebekker fra sulfidholdig berggrunn (Ishikawa et al., 2001). Den raske dødeligheten som påvises i blandsoner påvises ikke under mer stabile forhold, hvor dødelighet først vil inntreffe etter flere døgn eksponering, såfremt ikke H⁺ og metallbelastning er ekstrem. Dette innebærer at stabilitet i tilstandsform av metall må inkluderes som en variabel i modellene. Samtidig er det viktig å identifisere forhold hvor dødelighet kan oppstå raskt og skille disse fra forhold hvor dødelighet først vil inntreffe etter lengre tids vedvarende belastning.

Selv om det foreligger dokumentasjon på fiskedød i vassdrag er antall registreringer for få til at det kan etableres dose-respons modeller for fiskedød basert på reelle observasjoner. Det døde laksesmolt i Høyangervassdraget når konsentrasjonen av uorganisk labilt Al økte til 20 µg Al L⁻¹ (Åtland et al., 1998). Konsentrasjonen av Al på gjellene antyder at eksponeringskonsentrasjonen til Al må ha vært høyere enn analysert. I Vikedalselva døde laksesmolt når pH sank under 5,5 og konsentrasjonen av uorganisk labilt Al økte til nivå i overkant av 30 µg Al L⁻¹ (Henriksen et al., 1984). Dette antyder at fiskedød kan oppstå når pH underskrider 5,5 og konsentrasjonen av uorganisk labilt former av Al overskrider 30 µg Al L⁻¹. I Kroglund et al., (2002) ble det konkludert med laksebestander kunne være utryddet når pH <5,7 og konsentrasjonen av LAI overskred 20 µg LAI L⁻¹. Samtidig ble det påvist elver hvor forekomsten av laks var klassifisert som redusert i pH intervallet 5,2-6,1, med LAI-konsentrasjoner i området 5-50 µg Al L⁻¹. Effekter ved ”høy” pH ble registrert i vassdrag hvor det var mange sure sidebekker langs anadrom strekning. Vanskeligheten med disse grensene er at det påvises laks i vassdrag hvor pH er lavere og konsentrasjonen av Al er høyere enn i vassdrag hvor arten er utryddet. Noe av variasjonen mellom dose og respons kan skyldes at Al er på en ustabil tilstandsform, slik at konsentrasjonen analysert på transporterte prøver er lavere enn det fisken opplevde (Kroglund et al., 2001ab). Sistnevnte modell inkluderer heller ikke episoder. Noe av variasjonen i bestandsmodellen kan skyldes feilaktig klassifisering av bestandsstatus og ikke minst, feilaktig klassifisering av den virkelige trusselsfaktoren. For å omgå noe av problemene tilknyttet identifisering av korrekt Al-dose i ferskvann er aluminium akkumulert i og på gjellevev benyttet som mål for dose.

For at et vassdrag skal ha en stedegen bestand må vassdraget også ha en selvreproduserende bestand. Dette forutsetter at fisken skal overleve fra fødsel til gyting. Selv om det fanges voksen laks i et vassdrag og det påvises lakseyngel påfølgende år, trenger ikke denne være opphav til neste generasjon gytefisk. Forsuring påvirker også smoltens overlevelse i sjøvann (Berntssen et al., 1997; Farmer et al., 1989; Saunders et al., 1983; Staurnes et al., 1984; 1993; 1996, Kroglund & Staurnes, 1999; Kroglund et al., 2001b; Kroglund & Finstad, 2003; Magee et al., 2001, 2003; Fivelstad et al., 2003). Utvandrende smolt fra moderat belasta vassdrag kan ha lav til ingen marin overlevelse. Dette er registrert som respons etter flere ulike miljøbelastninger, inklusivt metaller og ulike mikroforurensninger (Wedemeyer et al., 1980; McCormick et al., 1998; Finstad & Jonssen, 2001). Bestanden i et vassdrag kan likevel opprettholdes på et tilsynelatende normalt nivå, men da som følge av gyting utført av feilvandrende fisk. Flere bestander kan derfor feilaktig være klassifisert som redusert når de faktisk er helt eller delvis utryddet. Få dokumenterte eksempler på fiskedød i vassdrag, til tross for vedvarende reduksjon i fangst av voksen laks, kan tyde på at dødelighet ikke kan stilles

som et uomtvistelig krav for å sannsynliggjøre at forsurening er en belastningsfaktor i det enkelte vassdraget. Fra Nova Scotia er det kjent at yngeltetthet og produksjon av smolt er nært relatert til pH, uten at forskjellene i tetthet er relatert til påviste fiskedødsepisoder (Lacroix & Townsend, 1987; Lacroix 1989). Tetthetsreduksjonen kan her skyldes dødelighet forårsaket av vannkjemi, men kan også skyldes indirekte dødelighet hvor tapet av fisk mer er relatert til økt sykdom, redusert inter- og intraspesifikk konkurranse og effekter på atferd. Dersom reduksjon i marin overlevelse er den faktiske tetthetsreduserende mekanismen, kan påvisning av subletale effekter faktisk være en mer robust indikasjon på tilstedeværelse av kritiske forhold for bestanden enn fiskedød.

Det stilles i dag et krav om at vannet etter tiltak ikke skal svekke smoltkvalitet. Basert på forsøk er det observert at pH må være høyere enn 6,2 for å avgifte surt humuspåvirket vann og høyere enn 6,4 for å avgifte aluminiumsholdig vann i klarvannselver. Dette er pH-verdier som vil være høyere enn det vassdraget hadde før forsurening. Behov for tilsvarende overskridelse av opprinnelig pH er dokumentert tidligere (Sunde 1926; Jensen & Leivestad, 1989; Leivestad et al., 1987). Resultatene innebærer at så lenge vassdraget tilføres aluminium på en giftig form, må det opprinnelig pH-nivå overskrides for å oppnå tilfredsstillende avgiftning av aluminium. Samtidig er det rimelig å forvente at når vassdraget ikke lengre tilføres aluminium, som følge av mindre sur nedbør, vil dagens pH-mål kunne reduseres kraftig. Denne konklusjonen er i overensstemmelse med vannkvalitetskriterier for sure humøse elver i Nova Scotia, Canada. Her konkluderes det med at bestandeffekter først oppstår når pH underskrider 5,6, hvor effektene tiltar i omfang først når pH underskrider 5,4 (Lacroix, 1989). Dette er pH-nivå hvor norske laksebestander kan være utryddet (Kroglund et al., 2002). Samtidig ble det i kalkingsforsøk påvist at hvis pH ble økt til antatt bakgrunnsverdi, forelå det fortsatt en giftreserve i vassdraget. For å redusere denne, måtte pH økes utover bakgrunnsverdi (Sangalang et al., 1990). Dette kan tyde på at aluminium hadde en effekt, også i Canada. I forsøk med laksesmolt ble det ikke påvist effekter på forsuringsfølsomme parametre som kortisol, Na-K-ATPase og saltvannstoleranse hos laksesmolt eksponert i 1 mnd ved pH 5,4-5,5 (Fivelstad et al., 2003 in press). Dette underbygger konklusjonene om at H⁺-konsentrasjonen heller ikke er den primære årsak til giftighet under norske forhold. Forsøkene til Sangalang et al (1990) samt en del nyere upublisert forskning gjør at man ikke kan utelukkes at Al utøver en viss gifteffekt også i canadiske vassdrag. Marin overlevelse er ikke undersøkt i de canadiske undersøkelsene.

Som følge av at aluminium er den primære giftstoffet under norske forhold, og at det ikke er en nødvendig sammenheng mellom pH og aluminium, vil ensidig bruk av modeller basert på pH kunne medføre at det igangsettes tiltak der disse ikke behøves (f.eks. i vassdraget sterkt påvirket av humussyrer). Ved fastsettelse av vannkvalitetskriterier i Norge må disse inkludere aluminium. Sammenhenger mellom pH og aluminium er derfor inngående belyst i et eget kapittel. Her legges det samtidig vekt på regionale forskjeller i sammenhenger mellom pH og Al, forskjeller som også kan medføre at vannkvalitet kan fastsettes feilaktig.

I denne utredningen legges det vekt på dødelighet i ferskvann og effekter på saltvannstoleranse for smolt. Det er utført mange forsøk som belyser sammenheng mellom vannkjemi og andre responser hos ulike livsstadier til laks. I denne utredningen inkluderes ikke data fra en del nyere arbeider på rogn. Disse viser at selv kortvarig eksponering av rogn for surt Al-holdig vann i forbindelse med befrukningen skader foster og påfølgende rognutviklingen (Keinänen et al., 2003). Likeledes foreligger det dokumentasjon på at surt vann kan påvirke atferd, og da egenskaper som vandringsvillighet og gyteatferd (Magee et al., 2001, Thorstad et al., 2003; Kogi et al., 2001). Atferdsendringene kan være knyttet til endringer i oksygenopptak og derved påvirke fiskens energiforbruk (Rosseland 1980; Brodeur et al., 2001; Ytrestøyl et al., 2001). Andre undersøkelser påviser effekter på immunologi, hvor svekket fisk kan være mer utsatt ved et smitteangrep (Masaki et al., 2001). Datagrunnlaget for å inkludere gyting, rognoverlevelse og effekter på immunologi vurderes som for usikre til at de inkluderes i denne evalueringen. Samtidig kan det nettopp være disse variablene som forårsaker stor variasjon i bestandsstatus mellom vassdrag og fra år til år innen vassdrag.

Denne rapporten har som formål å identifisere kritiske vannkvalitetsgrenser for laks (*Salmo salar* L.) og hvor lenge vannkvalitetene kan være under kritiske grensene uten at bestanden påføres vesentlig skade. Under materialbearbeidingen ble det klart at det måtte skilles mellom aluminium fraksjonert *in situ* og etter forutgående lagring. Den endelige responsmodellen er basert på dødelighet for parr og smolt, og på saltvannstoleranse hos smolt.

2. MATERIALE OG METODE

Datagrunnlaget er basert på fiskeforsøk utført av NIVA med samarbeidspartnere i perioden 1989 til 2002. Andre forsøk utført i Norge kan benyttes til å verifisere eller forkaste den foreslåtte modellen, og er følgelig ikke inkludert her. Forsøk utført utenfor Norge har også verdi i denne sammenheng, men tildels store og vesentlige forskjeller i vannkjemi og vannkjemiske analyseprotokoller medfører at denne litteraturen må benyttes med forsiktighet. Dersom eksterne data benyttes, er det viktig at vannkemiske variabler (deriblant aluminiumsfraksjoner), fastsettelse av gjelle akkumulert aluminium og fysiologiske responser er analysert med bruk av sammenliknbare protokoller. Fiskefysiologiske responser er i evalueringen basert på sammenliknbare metoder, men ved fastsettelse av aluminiumsfraksjoner (dose) er det benyttet to forskjellige protokoller. Disse avviker betydelig fra hverandre og er ikke uten videre sammenliknbare. Modellen gjelder kun Al fraksjonert som LAI og Ali.

Forsøk utført i Norge tyder ikke på at det er vesentlige stammeforskjeller med hensyn til forsuretoleranse hos laks (Rosseland m.fl., 2001; Kroglund og Finstad, 2003), i motsetning til det som påvises hos innlandsaure (Dalziel m.fl., 1995). Dette utelukker ikke at det kan være store forskjeller i respons eller følsomhet mellom stammer som genetisk står langt fra hverandre, f.eks. mellom stammer i Norge i forhold til stammer i USA og Canada. Inntil det foreligger data på det motsatte antas alle laksestammer å være like følsom for forsurening.

2.1 Dose – respons modeller

Dose-respons er et uttrykk for sammenhengen mellom en dose og hyppigheten av en gitt virkning. I forsuret vann vil samspillet mellom H^+ og Al representere dosen.

Et giftstoff virker ved at det reagerer med ett eller flere målorgan (bindingssteder/reseptorer). En sammenheng mellom dose og respons forutsetter derfor bl.a. følgende:

1. Stoffet reagerer med et bindingssted for å frembringe en respons; f.eks. ved at aluminium akkumuleres i og på gjeller hos fisk.
2. Responsen og graden av respons er relatert til konsentrasjon av stoffet ved bindingsstedet; f.eks. gjelle-Al.

Giftvirkningen vil som regel være avhengig av dosen. En liten dose trenger således ikke ha noen giftvirkning. Men hvis dosen øker vil en gradvis få forskjellige former for responser (virkninger) som blir mer og mer alvorlig hos flere og flere individer i gruppen som blir eksponert. Når summen av individuelle skader blir tilstrekkelig stor kan en bestandseffekt måles. Det foreligger ingen definisjon av hvor stor effekt som tillates uten at skaden betraktes som alvorlig.

Forutsetningene over krever at dosen kan måles eller fastsettes nøyaktig. For metaller som aluminium (og jern), hvor tilstandsformene endres ved lagring av vannprøver, kan den dose fisken faktisk opplevde være betydelig forskjellig fra den dose som blir analysert i ettertid. Videre vil andre vannkemiske og -fysiske og biologiske komponenter innvirke på giftigheten til giftstoffet. Det er velkjent at bl.a. temperatur og ioneinnhold påvirker giftighet, mens livsstadium påvirker følsomhet. Dette skaper variasjon i grad av respons i forhold til dose. Dette kan oppleves som usikkerhet og øke spredningen eller øke ”støy” i modellene.

I enkelte av modellene påvises det ikke økende respons ved økende dose. I disse kan responsen tilta kraftig ved en liten endring i dosen. Her vil det være snakk om terskelverdier. Dose-respons kurver forutsetter en normalfordeling av respons i forhold til dose. I situasjoner der det påvises terskelverdier

vil fordelingen ikke være normalfordelt. Så lenge vannkvalitet er innenfor akseptable grenser påvises ingen negativ respons, men streke responser påvises umiddelbart i vannkvaliteter utenfor optimalområdet.

2.2 Eksponeringsmiljø

I forsøkene er fisk eksponert til en rekke ulike "karmiljø". Eksponeringskarene kan være bur plassert i elv, eller kar (90 L; 70 L vannvolum) på land eller i renner. Under sammenlignbare forhold synes fisk eksponert i renner å respondere kraftigere enn det som forventes med bakgrunn i vannkjemien. Det er ikke registrert vesentlige forskjeller mellom bur og kar såfremt vannstrømmer o.l. ikke blir ekstreme. Eksponeringsmiljø er angitt i databasen, men er ikke inkludert som variabel i rapporten.

2.3 Fiskemateriale:

Kun laks (*Salmo salar* L.) inngår i materialet. Fiskematerialet er inndelt i livsstadiene parr og smolt, som følge av vesentlig forskjell i følsomhet. Grensene mellom parr, presmolt og smolt er ikke entydig definerbare. Parr er her definert som fisk mindre enn 11 cm og som har en typisk parrdrakt. Fisk større enn 11 cm, og som er prøvetatt i perioden mars til mai er definert som smolt, selv om ikke alle smoltkarakterer er etablert på de tidligste datoene. Presmolt prøvetatt i perioden desember til mars er klassifisert som parr. Smoltens følsomhet med hensyn til forringet vannkvalitet tiltar desto nærmere fisken er selve utvandringstidspunktet. Denne endringen i følsomhet med tiltagende smoltifisering vil uvilkaarlig forårsake en del variasjon i en dose-respons modell.

Forhistorie

For villfisk vil forhistorien i stor grad være ukjent. For anleggfsk vil denne som oftest være kjent. Fisk kan være tidligere upåvirket av forsurening og kan da kalles for forsuringuerfaren eller "forsuringnaiv", eller ha opplevd tidligere forsuring eller forsuringsepisoder. Hvis tidligere eksponeringer har økt toleransen ovenfor nye episoder er fisken tilpasset et belastende miljø og kan kalles erfaren. Forskjeller i forhistorie kan påvirke biologiske variabler som tilpassing, bakgrunnsnivå for metall i og på gjeller og bidrar til å påvirke fiskens "kvalitet" ved oppstart av forsøkene. Tilpassing vil medføre at fysiologiske responser dempes i forhold til eksponeringsdose. Det er i flere studier vist at stedegen fisk er mer robust enn anleggsprodusert fisk eksponert i samme vannkjemiske miljø basert på fysiologiske variabler, men at denne samtidig hadde mer omfattende gjellevevskader (Kroglund et al., 1996ab). Begge typer smolt var imidlertid like følsom i forhold til saltvannstoleranse. Saltvannstoleranse må derfor inkluderes som variabel og er nødvendig for evaluering av smoltkvalitet.

Analyser av fisk

Kvalitetsvurdering av fisk i de respektive forsøkene er basert på måling av blod (plasmaklorid, glukose, hematokritt), gjellemetaller (aluminium) og dødelighet. I denne rapporten er kun data for dødelighet benyttet. I forsøkene er det utregnet snittverdier for responser. Disse er basert på responser målt på fra 6 til 12 fisk. I de fleste tilfeller er punktene et snitt av 10 fisk.

Smolt er i de fleste forsøk testet med hensyn til overlevelse og evne til å ioneregulere blodsalter i en saltvannstest. I saltvannstestene er fisken eksponert i 24 timer i ca 34 ppt saltvann ved vanntemperaturer mellom 6 og 12 °C. Ikke alle analyser er utført på all fisk, eller i samtlige forsøk. Saltvannstester er normalt utført i 24 timer i 34 ppt sjøvann, ved en temperatur på 6 til 11°C og med 15 fisk i karet.

Som et mål for saltvannstoleranse beregnes en verdi for endring i plasmaklorid. Denne er beregnet som plasmaklorid målt etter saltvannstest minus den konsentrasjon fisken hadde i ferskvann før testen. I grunnlagsforsøkene er henholdsvis 160 og 120 mM plasmaklorid benyttet som grenseverdier for effekt. Differansen mellom de to gir 40 mM. Innen oppdrettsnæringen vil en slik økning indikere fisk med mangelfull saltvannstoleranse. De aksepterer inntil 15 mM i økning. I rapporten her benyttes 30

mM som indikasjon på ingen påviselig effekt. Dette er lavere enn 40 mM vi burde benytte på grunn av grenseverdiene, men betydelig høyere enn det oppdrettsnæringen aksepterer.

2.4 Vannkjemi

2.4.1 Vannets hovedioner

Vannkjemi er i de fleste datasettene dokumentert med måling av pH, Al-fraksjoner, kalsium (Ca) og total organisk karbon (TOC). ANC er beregnet der analyseprogrammet har vært tilstrekkelig omfattende.

I materialet er det skilt mellom forskjellige fraksjonerings- og analyseprotokoller for aluminium (analyser utført ved NIVA, NINA og Laboratorium for analytisk kjemi, Ås-NLH). Giftighet tilskrives normalt den fraksjonen av Al, som ved NIVA benevnes som labilt Al (LAl), eller som ved LAK benevnes for uorganisk monomert Al (Ali), eller som UmAl ved NINA. I tekst og figurer refererer Ali til Al fraksjonert i felt (*in situ* fraksjonering utført innen sekunder etter at vannprøven er tatt), mens LAl og UmAl referer til analyser foretatt på lagrede vannprøver ved henholdsvis ved NIVA og NINA. Uorganisk labilt Al benyttes som fellesbegrep, selv om de ikke er synonymer. Fraksjonerings- og analyseprotokollene påvirker den konsentrasjon av uorganisk labilt Al som oppgis av de ulike laboratoriene (Andren 2003). Fiskemodellene må derfor ta hensyn til dette.

2.4.2 Blandsoner; ustabil og stabile tilstandsformer av aluminium

Begrepet ustabile tilstandsformer av aluminium ble introdusert med forsøk utført i Audna i 1989 (Rosseland et al., 1992). Før dette var det kjent at Al i overmetning i forhold til pH var mer giftig enn Al i undermetning. Før begreps- og tolkningsapparatet rundt blandsoner ble etablert, ble det i større grad antatt at den analyserte Al-konsentrasjonen også representerte den konsentrasjon fisken faktisk opplevde.

Når pH økes i surt-aluminiumsholdig vann (som følge av kalking eller blanding av surt og ikke-surt vann) avtar mengden uorganisk labilt aluminium (Rosseland et al., 1992; Lydersen et al., 1994; Poleo et al., 1994; Kroglund et al., 2001ab). Dette er årsaken til at vannkvalitet forbedres ved kalking. Mens pH-økningen er rask, endres konsentrasjonen av uorganisk labilt aluminium sakte, hvor raten er avhengig av temperatur og pH-økningen (Lydersen, 1991; Kroglund et al., 2001ab). Disse prosessene medfører at fisk i et vassdrag kan oppleve høye konsentrasjoner av aluminium, mens det analyseres lave konsentrasjoner i en vannprøve. Dette fenomenet er upresist omtalt som "blandsoner". I blandsoner vil aluminium foreligge på en ustabil tilstandsform. Med økende alder på vannet vil det over tid etableres nye likevekter med pH og temperatur. Nedstrøms en blandsoner vil graden av endring derfor være små og fisken eksponeres under mer stabile forhold. Aluminium på antatt stabil og antatt ustabil tilstandsform er derfor skilt i bearbeidingen. Når aluminium er fraksjonert *in situ* tar prøvetakingsprotokollen høyde for dette fenomenet. Når aluminium først fraksjoneres etter at en vannprøve er innlevert til et analyselaboratorium, kan det ikke utelukkes at fisken kan ha opplevd høyere aluminiumskonsentrasjoner enn det som ble analysert.

Basert på en rekke forsøk er det vist at når pH er høyere enn ca 6,2 transformeres Ali til ufarlige Al forbindelser i løpet av minutter, mens Ali forblir biologisk aktiv og påvirker fiskekvalitet i størrelsesorden mange timer når pH etter tiltak er i intervallet 6,1 til 5,7. I mange eldre forsøk er aluminium ikke analysert *in situ*. For å ikke forkaste disse forsøkene er det gjennomført en gjennomgang av forsøksprotokoll. Fisk eksponert under betingelser som sannsynligvis ville ha resultert i ustabile tilstandsformer av aluminium er klassifisert som "ustabil". Fisk eksponert i vann med lang oppholdstid og høy pH er antatt eksponert under forhold hvor aluminium forelå på mer stabile former. Av praktiske årsaker er alle prøver tatt på vann aldret i < 10 minutter definert som sannsynligvis ustabile og presentert separat fra fisk eksponert i vann aldret i 30 minutter eller mer.

In situ fraksjonerte vannprøver gir pr. i dag den beste indikasjon på den faktiske dosen fisken opplevde, men er en upraktisk metode innen vassdragsovervåking. *In situ* fraksjonering innebærer krav til både utstyr og personell. Det finnes i dag alternativer, hvor bruk av passive prøvetakere (f.eks. DGT) kan gi tilfredsstillende mål for vannkvalitet. I rapporten legges det kun vekt på aluminium analysert ved NIVA ved fastsettelse av grenseverdier. De andre metodene og skillet mellom ustabil/stabil er vist for å illustrerer størrelsen på sannsynlig "feil" dersom slik informasjon ikke inkluderes i tolkningen av data.

2.5 Eksponeringstid

Det benyttes kun data fra forsøk hvor fisk ble eksponert i minst 1 uke. Unntak er forsøk hvor det ble påvist dødelighet på kortere eksponeringstider enn dette. Rask dødelighetsutvikling antyder akutt giftig vann, hvor all fisk i forsøket kan være død innen timer. Dette er meget relevant i en dose-respons modell.

2.6 Fastsettelse av kritiske grenser

I denne undersøkelsen legges det mest vekt på dødelighet og på responser i saltvannstoleranse. Timer frem til 1. fisk døde benyttes som et responsmål som indikerer noe om hvor langvarig en belastning kan være før dødelighet blir omfattende. Høy dødelighet i løpet av kortere tid enn 3 døgn defineres som akutt. Gjellemetall brukes som indikator for en metallbelastning og derved som et mål for dose. I tillegg benyttes pH og uorganisk labilt Al som mål for dose.

3. RESULTAT OG DISKUSJON

Alle figurer er bygd opp over samme mal. Det er velkjent at smolt og parr har ulik sensitivitet. Disse er derfor skilt. Det ble tidlig klart at fraksjoneringsmetoder for Al og grad av ustabilitet (les: tilstedeværelse av ustabile tilstandsformer av aluminium) hadde stor betydning for dose – respons sammenhengene. Det er derfor skilt mellom Al analysert som LAI (NIVA; transporterte prøver) eller som Ali (LAK; *in situ* fraksjonert). Det er også skilt mellom responser generert i forsøk hvor Al sannsynligvis var på en ustabil tilstandsform og forsøk hvor Al sannsynligvis var på en tilnærmet stabil form. Alder på vannet etter tiltak og oppholdstid i kar er benyttet til å skille forsøkene med hensyn til antatt stabilitet. Ikke alle kombinasjoner av tall foreligger for begge livsstadiene.

3.1 Sammenhenger mellom pH og aluminium

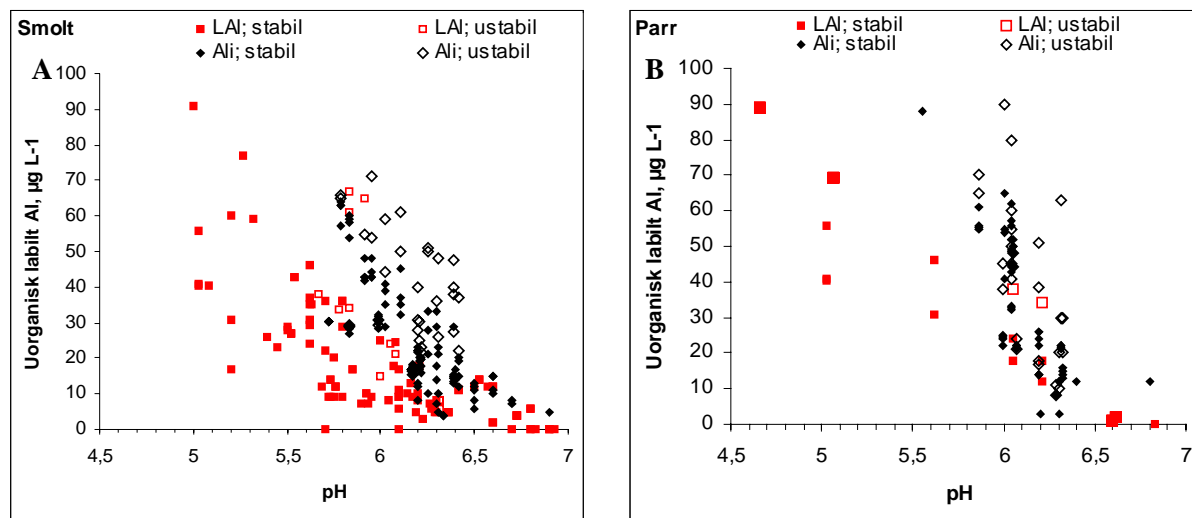
Effekter av ustabil vannkjemi i forsøkene fremkommer i figur 1 ved at det måles mer Ali i forhold til pH i antatt ustabile vannkvaliteter enn i antatt stabile vannkvaliteter med samme pH. En fisk kan således ha opplevd mer Al enn det analysene trenger å antyde.

For å evaluere representativitet av pH/Al nivåene benyttet i fiskeforsøkene er disse samholdt med vannprøver generert innenfor nasjonale overvåkingsprogram (Skjelkvåle et al., 1997). Det var ingen vesentlige forskjeller i sammenhengen mellom pH og LAI i fiskeforsøkene og det som ble målt i 1995-innsjøundersøkelsen for Agder (figur 1; figur 2). Sammenhengen mellom pH og LAI var derimot forskjellig mellom Agder og Vestlandet i det samme datamaterialet (figur 2). Disse regionale forskjellene i sammenheng mellom pH og LAI kan skyldes forskjeller i nedbørintensitet, syre-deposisjon, vannets ionestyrke, humusinnhold mm (Kroglund 2001; Lydersen m.fl., 2002). Isolert bruk av pH som indikator på vannkvalitet kan derfor medføre at vannkvalitet fastsettes feilaktig. Dette medfører også at fiskemodellene kan angi vannkvalitet feilaktig i områder der Al-konsentrasjonen er lavere enn det modellen forventer. Ettersom ikke alle former av Al som inngår i LAI eller Ali er like giftige, kan den vannkvaliteten fisken opplever være forskjellig fra det som antydes i den vannkemiske analysen.

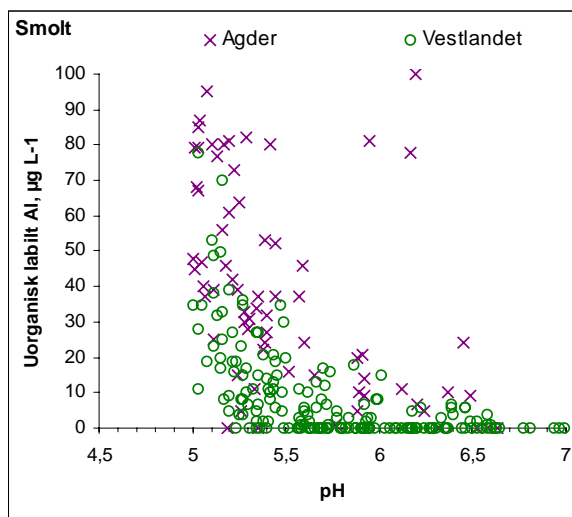
I antatt stabilt vann var sammenhengen mellom pH og LAI forskjellig fra sammenhengen mellom pH og Ali (figur 1). Dersom forholdene var stabile og analysemetodene komparative, burde det ideelt sett ikke være stor forskjell i sammenheng. Begge analysemetoder beregner konsentrasjonen av uorganisk labilt Al som den mengde Al som holdes tilbake i en kationbytter. I komparative analyser utført ved NIVA, NINA, LAK og IVJF-Ås i 1996 og 1997 ble det også påvist tildels betydelig, men systematiske forskjeller mellom laboratoriene (Kroglund et al., 1998ab). I et komparativt forsøk utført under Reetableringsprosjektet (Hindar m.fl., 2000) ble det påvist forskjeller i konsentrasjon av uorganisk labilt Al analysert ved henholdsvis NIVA, NINA og LAK. Likeledes er det i to ringtester (12 laboratorier i Norge, Finland og Sverige) påvist tildels store forskjeller i målt konsentrasjon av uorganisk labilt Al (Andren; 2003). Både i resultatene fra Sverige og fra Norge er det konkludert med at konsentrasjonen av Al analysert som Ali er høyere enn konsentrasjonen analysert som LAI. LAI-konsentrasjonen kan igjen være høyere enn konsentrasjonen analysert som UmAl ved NINA. Ettersom ulike fraksjonerings- og analyseprotokoller påvirker den rapporterte konsentrasjonen av giftig Al, og det innenfor vannkvalitetsovervåking i Norge benyttes flere fraksjonerings- og analyseprotokoller, kan vannkvalitet bedømmes feilaktig hvis ikke analyseinstitusjon inkluderes i vurderingsgrunnlaget. Faktisk Al-belastning kan være særs usikker hvis vann er fraksjonert ved mindre lokale laboratorier, eller i utlandet hvor andre protokoller benyttes. Dette fordi de oppgitte verdiene for uorganisk labilt Al ofte betraktes som synonymer og derved som likeverdige i forhold til en dose-respons modell. Kunnskap om de ulike analyseprotokollene gjør det mulig å tolke de oppgitte verdiene riktigere, men det kan ikke uten videre oppgis en enkelt grenseverdi som skiller akseptable konsentrasjoner av Al fra uakseptable konsentrasjoner som samtidig er uavhengig av analyselaboratorium. Selv om de ulike

fraksjoneringsprotokollene gir ulike sammenhenger mellom pH og uorganisk labilt Al, er det ingen grunn til å påstå at den ene uten videre er "riktigere" enn den andre. I forhold til overføringsverdi til tradisjonelle overvåkingsprogrammer finansiert fra SFT, vil grenser basert på LAI være å foretrekke.

I antatt ustabilt vann var konsentrasjonene Av Ali høyere enn i stabilt vann (figur 1). Dette er å forvente. Denne forskjellen påvises kun hvis vannet fraksjoneres *in situ*, og vil ikke påvises i vannprøver sent til et analyselaboratorium. Innen et vassdrag vil vannkvalitetene kunne være kontinuerlig ustabile på grunn av nye tilførsler av Al fra sure sidebekker, kontinuerlige endringer i pH, ionestyrke og temperatur. Hvilke Al-konsentrasjoner en fisk faktisk opplever vil derfor være usikker. Her vil *in situ* fraksjonert Al gi et bedre mål for vannkvalitet enn Al bestemt på lagrede vannprøver.



Figur 1. Sammenheng mellom pH og uorganisk labile tilstandsformer av Al (LAI; Ali) i forsøk utført med henholdsvis smolt (a) og parr (b). Målinger utført under antatt stabile forhold er markert med fylte tegn, prøver fra antatt ustabile forhold med åpne tegn. Det skilles også mellom Al fraksjonert *in situ* og etter lagring av prøvene.



Figur 2. Sammenheng mellom pH og LAI i Agderfylkene (kryss) og Vestlandet (sirkler) i 1995-innsjøundersøkelsen (basert på data fra 1500-sjøers undersøkelsen i 1995; Skjelkvåle m.fl., 1997).

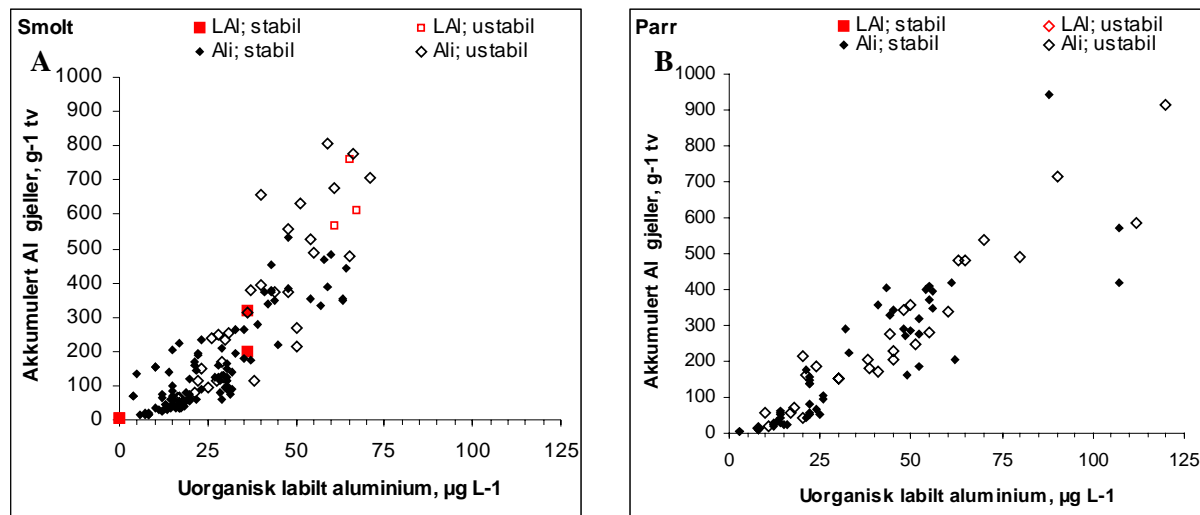
3.2 Gjellemetall

Under nordiske forhold tilskrives giftighet normalt aluminium ettersom H^+ -konsentrasjonen ikke er årsaken til at fisketetthet avtar før pH er vesentlig lavere enn 5,4 (Lacroix & Townsend, 1987; Fivelstad et al., in press.). Aluminium utøver sin giftvirkning gjennom kontakt med fiskens gjeller, ikke gjennom næringskjeder eller opptak gjennom hud. Aluminium akkumuleres på og i gjeller, hvor både akkumulering og eliminering er raske prosesser. Akkumulering av Al på gjeller kan således betraktes som en respons på Al-eksponering, samtidig som gjelle-Al kan oppfattes som en dose i forhold til biologiske responser. Bakgrunnskonsentrasjon av gjelle-Al i vassdrag som ikke er påvirket av forsurening er normalt lavere enn $5 \mu\text{g Al g}^{-1}$ tv (Rosseland et al., 2000; Kroglund upublisert materiale). Vi benytter $10 \mu\text{g Al g}^{-1}$ tv i våre modeller. Høyere, men fortsatt ufarlige konsentrasjoner kan likevel påvises i vassdrag med f.eks. høyt innhold av leire (f.eks. Gråelve i Stjørdal; B.Finstad, NINA, upublisert materiale). Dette innebærer at en "forhøyet" gjelle-Al konsentrasjon ikke nødvendigvis alltid er ensbetydende med forsurening. Hvis akkumulering av Al på gjeller skal benyttes som et mål for dose, må endringer i gjelle-konsentrasjon kunne relateres til endringer i vannkjemi. For at gjelle-Al skal kunne brukes som en responsparameter på en belastning, bør det også etableres en form for likevekt mellom gjelle-Al og Al i vann innen rimelig kort tid. Hvis denne ikke er rask, vil eksponeringsvarighet kunne være mer bestemmende for akkumulert konsentrasjon enn konsentrasjonen av Al i vann.

I flere av våre forsøk er det påvist at gjelle-Al er i likevekt med Ali innen 24 timer etter eksponeringsstart. Kravet til rask etablering av nye likevekter er således tilfredsstillt. I enkelte studier fra Canada og Sverige er det antydnet at likevekt kun oppnås etter lengre eksponeringstid (Karlsson-Norrgrén, 1986; Lacroix & Townsend, 1987). Denne konklusjonen kan være riktig, men svekkes av at den er basert på få vannprøver; ofte kun 3 til 5 vannprøver tatt over en 30 dagers periode. Mangelfull prøvetaking kan derfor være en faktor som forklarer de observerte akkumuleringskurvene. I dose-respons forsøk med ørret, hvor forsøkene ble utført i mer humøst vann, ble likevekter først oppnådd etter tre dager eksponering (B.O. Rosseland upublisert materiale fra ANC-recovery prosjektet, Kroglund upublisert materiale fra Koparen i Sverige). Denne forskjellen i akkumuleringsrate i forhold til laks kan være tilfeldig, men kan også antyde artsspesifikke forskjeller. Forskjellene kan også være relatert til humusinnholdet. Det er kjent at forskjeller i humuskvalitet påvirker akkumuleringsrater og sammenhengene mellom uorganisk labilt Al og gjelle-Al (Peterson et al 1989; Lacroix et al., 1993). Denne usikkerheten bør undersøkes ytterligere da den peker på at ikke all LAI, Ali eller UmAl trenger å være like biotilgjengelig. Foruten akkumulering, vil eliminering av Al påvirke gjelle-Al konsentrasjonen. Overflatebundet gjelle-Al avtar raskt hvis belastningen avtar. I løpet av 24 timer etter avsluttet belastning er gjelle-Al konsentrasjonen betydelig redusert, men ikke nødvendigvis til opprinnelig bakgrunnsnivå. Disse tidsforsinkelsene mellom dose og respons gjør at det i vannforekomster med variabel vannkjemi (f.eks. i løpet av en episode) ikke trenger være entydige sterke sammenhenger mellom gjelle-Al og uorganisk labilt Al.

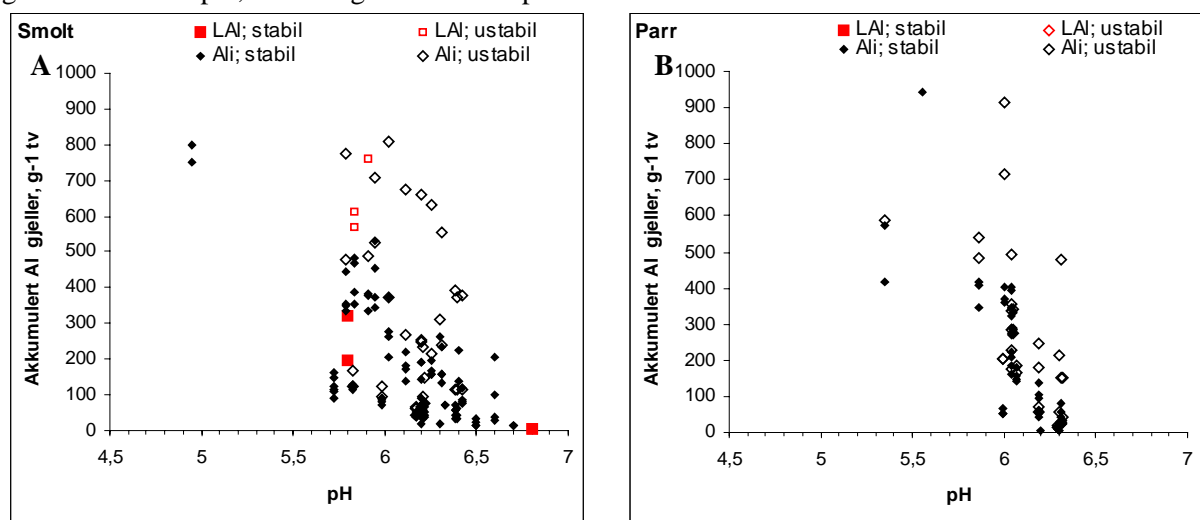
Gjelle-Al ble første gang inkludert som responsparameter i våre forsøk i 1996. Det foreligger derfor få forsøk hvor gjelle-Al er analysert, hvor Al samtidig er fraksjonert som LAI. I eksponeringsforsøkene er den vannkemiske belastningen (dosen) normalt stabil (lite dag til dag variasjon i vannkjemi) gjennom hele eksponeringsperioden. Ettersom vi i lakseforsøkene påviser rask akkumulering og eliminering av Al på gjeller, og dosen i liten grad har variert innen et forsøkskar, kan det forventes at det skal foreligge sammenhenger mellom Ali og gjelle-Al. Det var klare sammenhenger mellom konsentrasjon av Ali i vannet og akkumulering av Al på gjeller for både smolt og parr (figur 3). Ettersom Ali er fraksjonert *in situ*, er det heller ikke overraskende at prøver tatt fra både stabile og ustabile eksponeringsmiljø følger samme kurve. Sammenhengen illustrerer at gjelle-Al uttrykker dosen på en tilfredsstillende måte og angir den faktiske belastningen bedre enn tradisjonelle fraksjoneringsmetoder for Al. Den biologiske virkningen av den fraksjonen som oppgis som uorganisk labilt Al er ikke nødvendigvis et godt mål for vannkvalitet.

I enkelte forsøk hadde fisken en forhøyet gjelle-Al konsentrasjon før forsøksstart. Dette påvises i figur 3a som forhøyde gjelle-Al verdier (enkelte punkter) på tross av lave Al-doser. Tidligere belastninger kan derfor medføre at det måles mer gjelle-Al enn det som forventes utfra målt konsentrasjon av uorganisk labilt Al.



Figur 3. Sammenheng mellom uorganisk labilt Al (hovedsakelig Ali) og Al akkumulert i og på gjellevev hos smolt (a) og parr (b). Målinger utført under antatt stabile forhold er markert med fylte tegn, prøver fra antatt ustabile forhold med åpne tegn. Det skiller også mellom Al fraksjonert *in situ* og etter lagring av prøvene.

Ettersom det er sammenhenger mellom pH og Al i datamaterialet, er det ikke overraskende at det samtidig foreligger en form for sammenheng mellom pH og gjelle-Al. Spredningen er imidlertid høy. Dette skyldes at mens pH endres lite ved aldring av vann, vil Al kunne endres mye. Ved samme pH-verdi kan det derfor påvises betydelige variasjoner i gjelle-Al innen den enkelte rennen i forsøkene. Spredningen kan også antyde at enkelte kombinasjoner av vannkvaliteter kan uriktig ha blitt klassifisert som "stabil". Under stabile forhold var likevel gjelle-Al konsentrasjonen normalt lav når $\text{pH} > 6,4$. Samtidig ble lave konsentrasjoner aldri påvist når $\text{pH} < 6,1$. Dette antyder mulige grensenivåer for pH, selv om grenser basert på Al vil være å foretrekke.

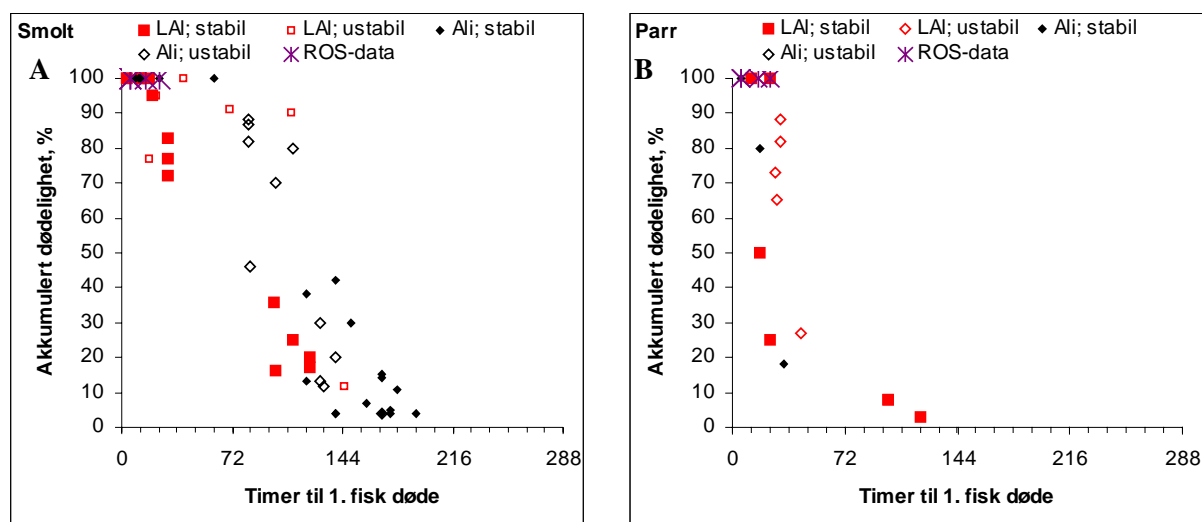


Figur 4. Sammenheng mellom pH og Al akkumulert i og på gjellevev. Målinger utført under antatt stabile forhold er markert med fylte tegn, prøver fra antatt ustabile forhold med åpne tegn. Det skiller også mellom Al fraksjonert *in situ* og etter lagring av prøvene.

3.3 Hvor raskt dør fisken?

Det var en sammenheng mellom hvor raskt fisk begynte å dø og akkumulert dødelighet etter 1 uke (figur 5a). I forsøk hvor dødelighet ble påvist raskt (innen 72 timer), var akkumulert dødelighet i løpet av 10 døgn høy (>70%). I andre forsøk var dødeligheten mer beskjeden eller fraværende. Det forventes at forskjellene i dødelighetsutvikling kan forklares med utgangspunkt i de vannkjemiske variablene som tradisjonelt benyttes til å karakterisere vannkvalitet.

Forskjellene i sammenheng mellom hvor raskt fisken døde og akkumulert dødelighet mellom forsøk hvor Al ble fraksjonert som LAI eller som Ali er overraskende. Mange av forsøkene hvor Al er analysert som LAI ble utført i perioden 1980 til 1995, mens Al som oftest er analysert som Ali etter 1996. I de tidligste forsøkene ble fisken ofte eksponert til svært lave pH-verdier (<5,2) og høye konsentrasjoner Al (>100 $\mu\text{g Al L}^{-1}$). I siste halvdel av 1990-tallet og utover er forsøk med såpass lave pH-verdier mer skjeldne. Forklaringene på forskjellene kan derfor skyldes forskjeller i forsøksoppsett, eksponeringsmiljø, fiskematerialet og i vannkjemiske forhold, og da særlig pH. Uavhengig av årsak, foreligger det likevel en form for sammenheng, hvor rask dødelighetsutvikling assosieres med høy dødelighet hos både smolt og parr. (figur 5a,b).



Figur 5. Sammenheng mellom timer til den første fisken døde og akkumulert dødelighet etter minst en ukes eksponering av smolt (a) og parr (b). Grupper hvor det ikke døde fisk fremkommer ikke i figurene. Målinger utført under antatt stabile forhold er markert med fylte tegn, prøver fra antatt ustabile forhold med åpne tegn. Det skiller også mellom Al fraksjonert in situ og etter lagring av prøvene. ROS-data henspiller på forsøk omtalt i Rosseland, 1989.

3.4 Dødelighet i forhold til pH og Al

Det døde få parr i forsøkene (figur 6b). Det er derfor vanskelig å etablere en dose-responsmodell for dette livsstadiet utfra de foreliggende dataene. pH ned til 5,0 og LAI-konsentrasjoner opp mot 75 $\mu\text{g Al L}^{-1}$ synes å kunne aksepteres i minst en uke, selv om det forelå spredte eksempler på dødelighet ved bedre vannkvaliteter enn dette. Grenseverdiene bør derfor settes høyere, og vurderes fra vassdrag til vassdrag.

I materialet foreligger det en form for sammenheng mellom pH og dødelighet for smolt (figur 6a). Under antatt stabile forhold ble det ikke påvist nevneverdig dødelighet før pH underskred pH 5,7. Dødeligheten var høy i forsøk hvor pH var 5,5 eller lavere. Dette er grenser basert på pH analysert på vannprøver sendt NIVA for analyse. Grenseverdien for dødelighet basert på *in situ* analysert pH var noe høyere. Det er velkjent at lagring av vannprøver påvirker pH. I surt vann vil pH kunne øke fra felt

til analyselaboratoriet, men vil kunne avta i vann med pH høyere enn ca 5,5 (Hindar et al., 2000). Graden av endring er relatert til temperatur, endringer av ulike likevekter (som avgir eller binder H⁺) og til gasser. Forskjellene i grenseverdier mellom lab-analysert og *in situ* analysert pH trenger således ikke være urimelige. Forandringene i pH påvirker samtidig tilstandsformene til Al i de samme vannprøvene.

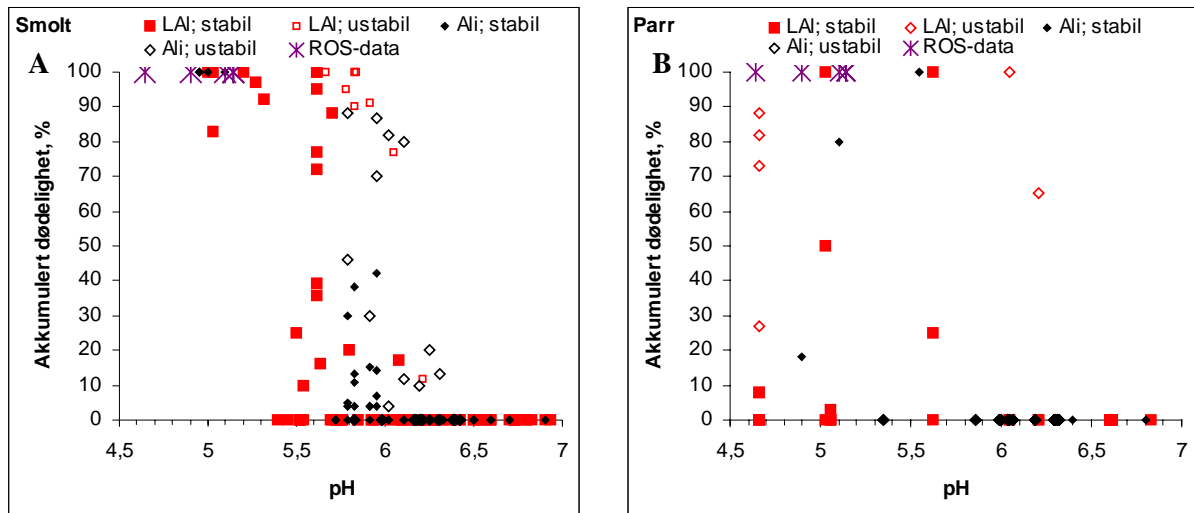
Under ustabile forhold kan dødelighet være høy, på tross av at pH er høy. Dette skyldes at Al under ustabile forhold kan være giftig, selv om pH er høy. Dette innebærer at det kan påtreffes situasjoner hvor pH-verdier høyere enn 5,8 også assosieres med fiskedød. Sannsynlighet for at det etableres blandsoner bør derfor trekkes inn i evalueringene av sannsynlig vannkvalitet.

Ingen fisk døde i forsøk før konsentrasjonen av LAI overskred ca 20 µg Al L⁻¹ (figur 7a). I enkelte forsøk ble det påvist høy dødelighet når LAI-konsentrasjonen overskred 35 µg Al L⁻¹. I forsøk der Al er fraksjonert *in situ* krevdes det mer Al for å fremprovosere dødelighet enn i forsøkene der Al er fraksjonert etter transport av vannprøvene. Dette illustrerer hvordan valg av fraksjoneringsmetode påvirker fastsettelse av grenseverdier. LAI-konsentrasjoner i området 20 til 35 µg Al L⁻¹ skiller mellom vannkvaliteter hvor dødelighet kan forventes og vannkvaliteter hvor en uke eksponering ikke normalt ville medføre dødelighet. Hvis Al er fraksjonert *in situ* er grenseverdiene noe høyere.

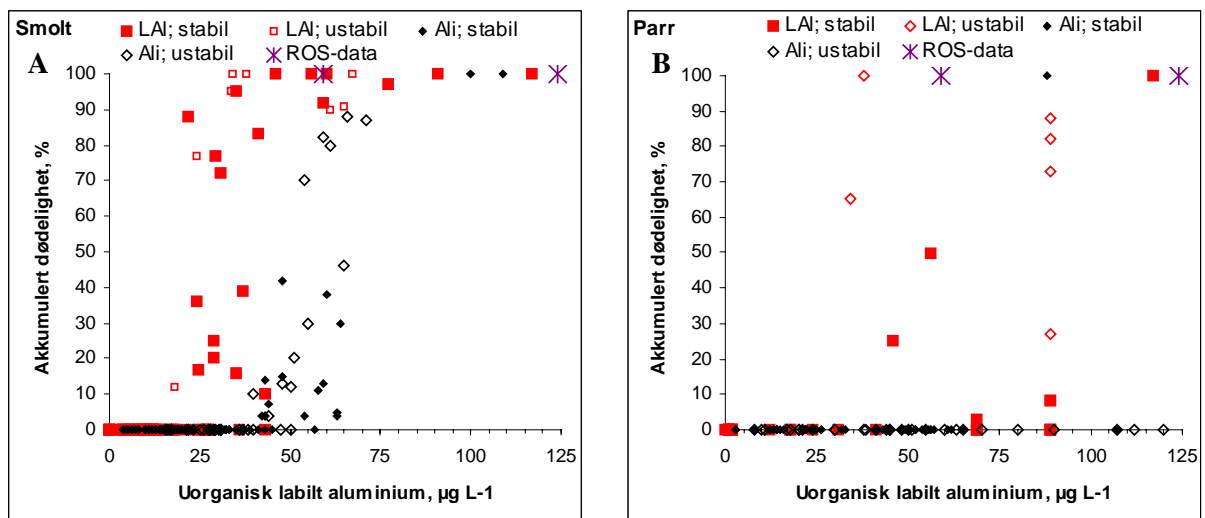
Modellene ovenfor antyder grenser for hvor mye fisk som kan dø under en episode av minst en uke varighet. Det er like viktig å fastslå hvor lenge en belastning kan vedvare før denne resulterer i mulig dødelighet. Rask dødelighetsutvikling (smolt døde på kortere tid enn 24 timer) ble kun registrert når pH underskred pH 5,6 (figur 8a). Det normale var at belastningen måtte opprettholdes i minst tre til fire døgn før dødelighet ble påvist.

I konsentrasjonsområdet 25 til 45 µg LAI L⁻¹ kunne dødelighet inntreffe på fra <24 timer til etter minst 4 døgn eksponering. Når konsentrasjonen av LAI oversteg 40 µg LAI L⁻¹ begynte smolt alltid å dø mindre enn 24 timer etter belastningsstart (figur 8c). Her og er det tydelige forskjeller i responsmodellen avhengig av Al-fraksjoneringsprotokoll.

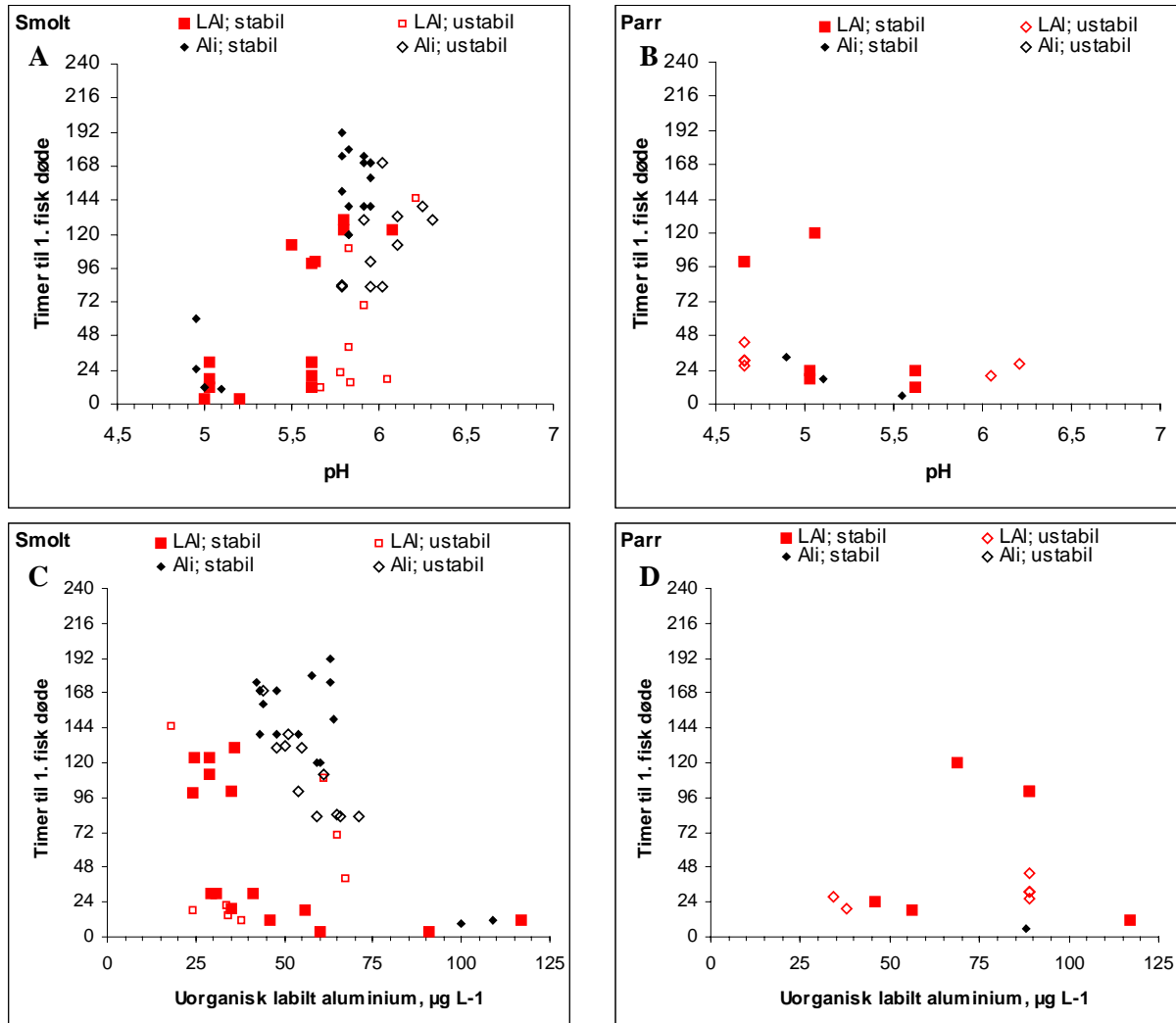
Basert på modellene for pH og LAI kan det foreslås grenseverdier basert på dødelighet. pH bør ikke synke under 5,5, og LAI-konsentrasjonen bør ikke øke til konsentrasjoner som overstiger 40 µg Al L⁻¹ i mer enn 12 timer. pH-verdier mellom 5,6 og 5,7, og LAI-konsentrasjoner fra 25 og 40 µg Al L⁻¹ representerer et usikkerhetsområde hvor fiskedød kan, men ikke trenger forekomme. pH ned til 5,7 og LAI-konsentrasjoner opp til et nivå på 25 µg Al L⁻¹ kan aksepteres i minst en uke, men ikke nødvendigvis over flere uker. Forsøkene er utført over en tidsavgrenset periode på inntil 10 døgn. Effekter som ville ha inntruffet etter 10 døgn eksponering er således ikke fanget opp i disse modellene. Disse grenseverdiene tar ikke hensyn til forskjeller i hvor biotilgjengelig LAI er. Basert på empiriske forhold bør øvre grense for akseptabel LAI reduseres noe i klarvannselver, men kan sannsynligvis økes noe i mer humuspåvirkta vassdrag. Det bør etterhvert etableres dose-responsmodeller som tar hensyn til andre vannkjemiske variabler enn pH og LAI. Vassdragsspesifikke grenseverdier ville tillate vurdering av betydningen av den enkelte underdoseringsepisode for det enkelte berørte vassdraget.



Figur 6. Sammenhenger mellom pH og dødelighet akkumulert over minst en uke eksponering. Målinger utført under antatt stabile forhold er markert med fylte tegn, prøver fra antatt ustabile forhold med åpne tegn. Det skiller også mellom Al fraksjonert *in situ* og etter lagring av prøvene. ROS-data henseiler på forsøk omtalt i Rosseland, 1989.



Figur 7. Sammenhenger mellom uorganisk labilt Al og dødelighet akkumulert over minst en uke eksponering. Målinger utført under antatt stabile forhold er markert med fylte tegn, prøver fra antatt ustabile forhold med åpne tegn. Det skiller også mellom Al fraksjonert *in situ* og etter lagring av prøvene. ROS-data henseiler på forsøk omtalt i Rosseland, 1989.



Figur 8a-d. Sammenhenger mellom pH (a og b) og uorganisk labilt Al (c og d) og antall timer til første død fisk er registrert. Målinger utført under antatt stabile forhold er markert med fylte tegn, prøver fra antatt ustabile forhold med åpne tegn. Det skiller også mellom Al fraksjonert *in situ* og etter lagring av prøvene.

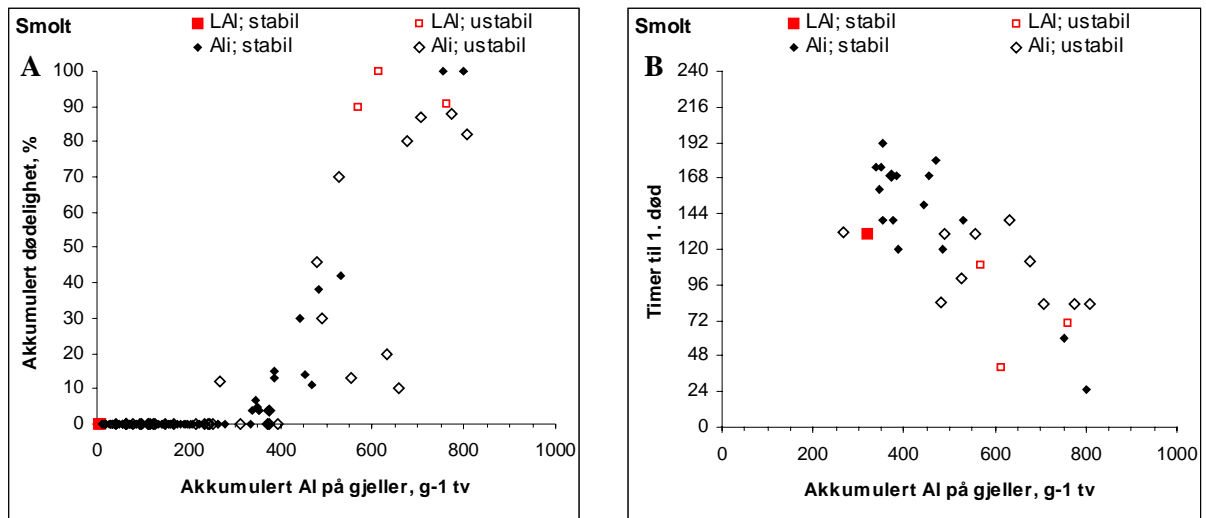
3.5 Dødelighet i forhold til gjelle-Al

Det var en nær sammenheng mellom dødelighet og gjelle-Al hos smolt (figur 9a). Når gjelle-Al konsentrasjonen overskred $300 \mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tv, tiltok dødeligheten. Mer enn 50% dødelighet i løpet av 10 dager eksponering var vanlig først når gjelle-Al overskred $500 \mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tv. Under tilsvarende forhold ble det ikke påvist dødelighet hos parr (figur 10). Antall timer til 1. fisk døde var også relatert til gjelle-Al. Selv når konsentrasjonen var høy ($500 \mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tv), måtte denne konsentrasjonen opprettholdes i minst fem døgn før den første fisken døde (figur 9b). Ved lavere konsentrasjoner måtte fisken eksponeres lengre for å oppnå dødelighet. I forsøk hvor fisken døde på mindre enn 24 timer, er ikke gjelle-Al analysert. Konsentrasjoner som gir så rask dødelighet kan derfor ikke angis, men antas å måtte være høyere enn $1000 \mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tv. I flere renneforsøk er det påvist høy dødelighet på tross av at pH var innenfor nivå som i seg selv ikke gir grunn til å forvente skade. Her må aluminium ha vært årsaken til dødelighet, og det er sannsynlig at gjelle-Al konsentrasjonen var høy. Andre metaller kan også akkumuleres sammen med Al. I enkelte forsøk er

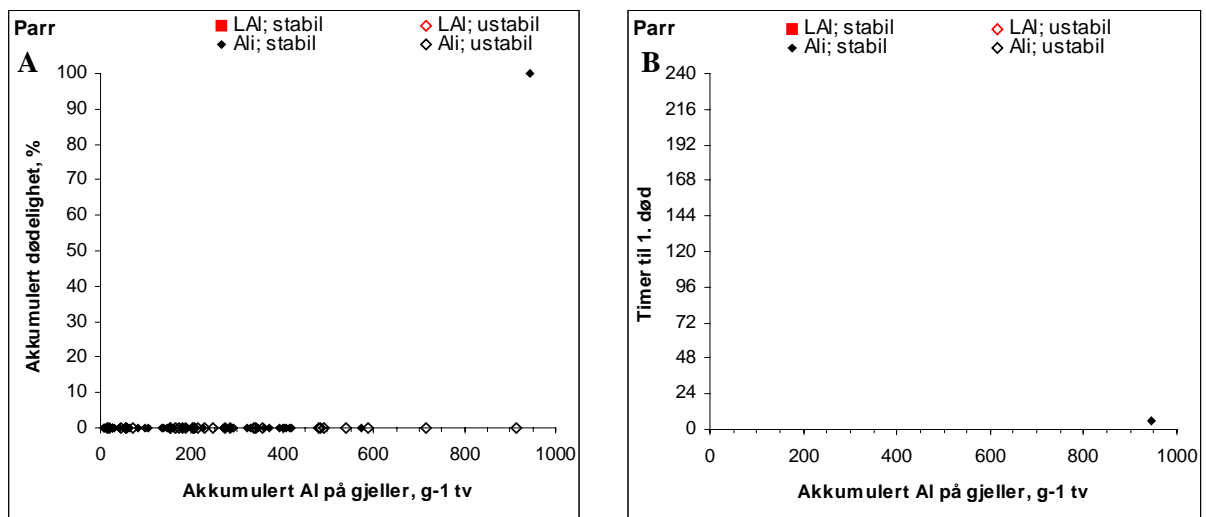
disse analysert, men ikke alle. Noe av variasjonen i respons kan skyldes akkumulering av andre metaller.

Det synes ikke å være forskjeller i dødelighet avhengig av om fisken var eksponert under antatt stabile eller ustabile forhold. Alle punktene antyder samme dose – respons utvikling.

Ettersom dødelighet på parrstadiet var lavt, synes gjelle-Al oppunder 900 $\mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tv å kunne aksepteres over en uke a 10 dager (figur 10ab).



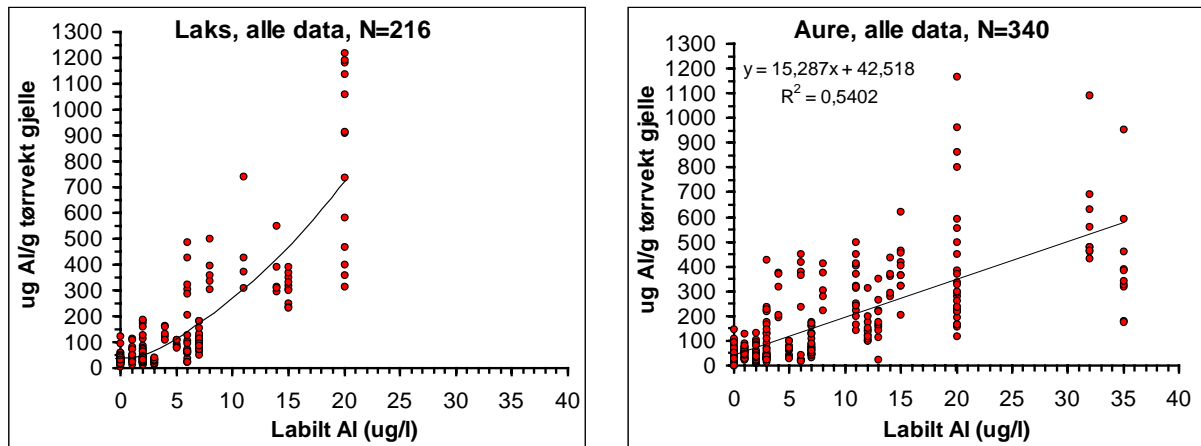
Figur 9. A) Sammenheng mellom gjelle-Al ($\mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tv) og akkumulert dødelighet hos smolt i løpet av minst 7 døgns eksponering og B) sammenheng til antall timer fisken må eksponeres før første dødsfall registreres.



Figur 10. Sammenheng mellom gjelle-Al ($\mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tv) og akkumulert dødelighet hos parr i løpet av minst 7 døgns eksponering og sammenheng til antall timer fisken må eksponeres før første dødsfall registreres.

Det foreligger et større upublisert materiale på sammenhenger mellom LAI og gjelle-Al fra vassdrag på Vestlandet som fører anadrom fisk (Barlaup og Åtland upublisert). Dette materialet er ikke inkludert i modellene ovenfor. I dette materialet fremkommer den en form for sammenheng mellom LAI og gjelle-Al for laks og ørret (figur 11.). Det ble ikke fanget laks i vassdrag hvor LAI-

konsentrasjonen overskred $20 \mu\text{g Al L}^{-1}$, mens sjøaure ble påvist i vassdrag med LAI-konsentrasjoner oppunder $40 \mu\text{g Al L}^{-1}$. Dersom 300 og $500 \mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle settes som kritisk grense med hensyn til mulig og sannsynlig dødelighet, innebærer denne modellen at giftige forhold for laks kan opptre når LAI overstiger 12 til $15 \mu\text{g LAI L}^{-1}$. Dette er uansett lave Al konsentrasjoner, som analytisk vil være usikre i vassdrag påvirket av humus. Dersom samme regnestykke utføres for Ali oppstår kritiske vannkjemi forhold først når Ali er $> 35 \mu\text{g Al L}^{-1}$. Denne forskjellen i grenseverdi for Al er rimelig basert på sammenhenger mellom pH og henholdsvis LAI og Ali illustrert i figur 1 og basert på sammenhenger mellom LAI/Ali og dødelighet (figur 7).



Figur 11. Sammenhenger mellom uorganisk labilt Al og gjelle-Al basert på villfanget laks og sjøørret fra ulike Vestlandsvassdrag (Barlaup og Åtland, upublisert materiale).

3.6 Saltvannstoleranse

Smoltifisering innebærer en tilpasning til et liv i saltvann. Denne kan testes ved bruk av en saltvannstest. Det er kun utført saltvannstester på fisk karakterisert som presmolt og smolt. Saltvannstestene er normalt kun utført ved forsøksavslutning. Dette innebærer at det ikke er utført saltvannstester i grupper hvor det døde mye fisk i selve eksponeringsperioden i ferskvann. Smolt som er hardt belastet i ferskvann, er således ikke inkludert i materialet.

Utvikling av saltvannstoleranse er en gradvis prosess, hvor indre (endogene) rytmer styres av ytre miljøforhold slik at smoltutvandring vil skje på et optimalt tidspunkt (i løpet av smoltvinduet). Overføring av fisk til fullt sjøvann utenfor dette vinduet kan føre til stor dødelighet og lav eller ingen vekst, men årsaken kan ikke da tilskrives en belastning. I forsøkene som inngår i modellen er saltvannstester som oftest utført kun en gang i løpet av forsøksperioden. Testen er derved ikke nødvendigvis utført når fisken som var fullstendig smoltifisert. Dette vil svekke mulighetene til påvisning av sammenhenger mellom vannkvalitet og redusert saltvannstoleranse. Innen forsøk kan slike sammenhenger likevel være tydelige da forsøksbetingelsene her i større grad påviser relative forskjeller i utvikling.

Etablering av saltvannstoleranse (hypoosmotisk kapasitet) er lenge blitt testet i en tredemølletest, hvor smoltens evne til å tilbakeregulere blodsaltnivået etter overføring fra ferskvann til fullt sjøvann utfordres (Clarke, 1982; Saunders et al., 1983). I dag vil denne testen som oftest bli supplert med måling av enzymet Na-K-ATPase (Zaugg & McLain, 1982). Dette enzymet er ikke målt i våre forsøk. Testen bør helst utføres i vann med 34 promille i salinitet og ved temperaturer høyere enn 6°C .

Den økologiske betydningen av salttesten er omdiskutert, selv om det er påvist sammenhenger mellom marin overlevelse og hvor godt fisken regulerte i en slik test (Staurnes et al., 1993b). Innen produksjon av smolt til bruk innen oppdrett har testen en lang tradisjon. Smolt som ikke regulerer

blodelektrolyttene normalt innen 24 timer vil erfaringsmessig bli postsmolt som vokser dårlig, er utsatt for sykdommer og overdødelighet. Det er ingen grunn til å anta at villsmolt er mer robust enn oppdrettssmolt. Smolt som ikke regulerer normalt kan derfor ha en overdødelighet i sjøvann.

Det er ingen grunn til å forvente at det vil være entydige sammenhenger mellom hvor godt/dårlig fisken gjør det i en saltvannstest og hvor god/dårlig marin overlevelse er. Det foreligger en rekke undersøkelser som påviser at fisk med svekket saltvannstoleranse er mer utsatt for predasjon enn fullverdig smolt (se bl.a. Handeland et al., 1996; Järvi 1990). Videre angir ikke testen effekter eller responser på atferd, immunologi eller vekst. Det er utført forsøk som antyder at selv lave Al konsentrasjoner i ferskvann reduserer marin overlevelse (Kroglund og Finstad, 2003; Magee et al, 2003; Finstad et al., in press). Redusert overlevelse kan skyldes at utvandringssadfærd i brakkvann påvirkes. Økt opphold i brakkvannssonen kan øke sannsynligheten for predasjon (Magee et al 2001). I dette siste forsøket ble det registrert at radiomerket forsøringsbelastet smolt sto i brakkvann og/eller returnerte til utsettingsvassdraget (god vannkvalitet) etter et kortvarig saltvannsopphold på 10 ppt. Etter tilbakevandring til ferskvann ble fisken stående i elva i flere døgn før den gjorde nye utvandringforsøk. Referansefisken vandret raskt ut fra samme utsettingslokalitet og hadde ingen tilsvarende "nøling" i brakkvannsområdet eller tilbakevandring til ferskvann. Det er sannsynlig at brakkvannsområdet her representerer et område med forhøyet risiko for å bli spist (Hvidsten og Lund 1988). Selv om saltvannstesten ikke angir et nøyaktig mål på sannsynlig marin overlevelse, er testen likevel en indikator på smoltens evne til å ioneregulere normalt i sjøvann, hvor en smolt med svekket kapasitet kan ha atferdsendringer som gjør fisken mer utsatt for predasjon.

Det er tidligere vist at Na-K-ATPase aktivitet i gjeller hos smolt eksponert for pH 5,0 ble lite påvirket, men at aktiviteten ble vesentlig redusert hvis vannet samtidig var tilsatt 50 µg Al (Staurnes m.fl., 1982; 1993). Smolt som var eksponert noen få timer, men til høyere konsentrasjoner av Al enn dette, hadde ingen marin overlevelse (Staurnes et al. 1996). Nyere forsøk har ikke påvist effekter av H⁺ ved pH-nivåer ned til 5,4 i forsøksvann uten Al (gjelle-Al konsentrasjon <10 µg Al g⁻¹ gjelle tv). Dette forsøket konkluderer med at H⁺ ikke er årsak til helseforringelse hos smolt før pH underskrider 5,4 (Fivelstad et al., in press.). Forsuringseffekter på saltvannstoleranse synes således kun å være relatert til en Al-belastning, hvor selv en moderat belastning kan være uakseptabel.

Saltvannstester avsluttes ofte med måling av plasmaklorid i blod. I henhold til empiriske erfaringer fra oppdrettsindustrien vil en økning i plasmaklorid på inntil 10-15 mM være akseptabelt i en saltvannstest (T.Rosten, KPMG pers. medd.). I villaksforsøkene har vi tidligere antydnet at laksesmolt med plasmaklorid-konsentrasjoner høyere enn 160 mM er å betrakte som mulig til sannsynlig skadet. Settes 120-130 mM som normaltilstand i ferskvann vil dette gi en grenseverdi hvor en økning på inntil 30-40 mM fra ferskvann til saltvann er akseptabel. Vi har ikke grunnlag for å kreve like strenge reguleringsnivå hos villaks som det oppdrettsindustrien benytter. Inntil det foreligger faglige begrunna argumenter anser vi en økning på 30 mM eller mer for å være uakseptabel.

3.6.1 Dødelighet

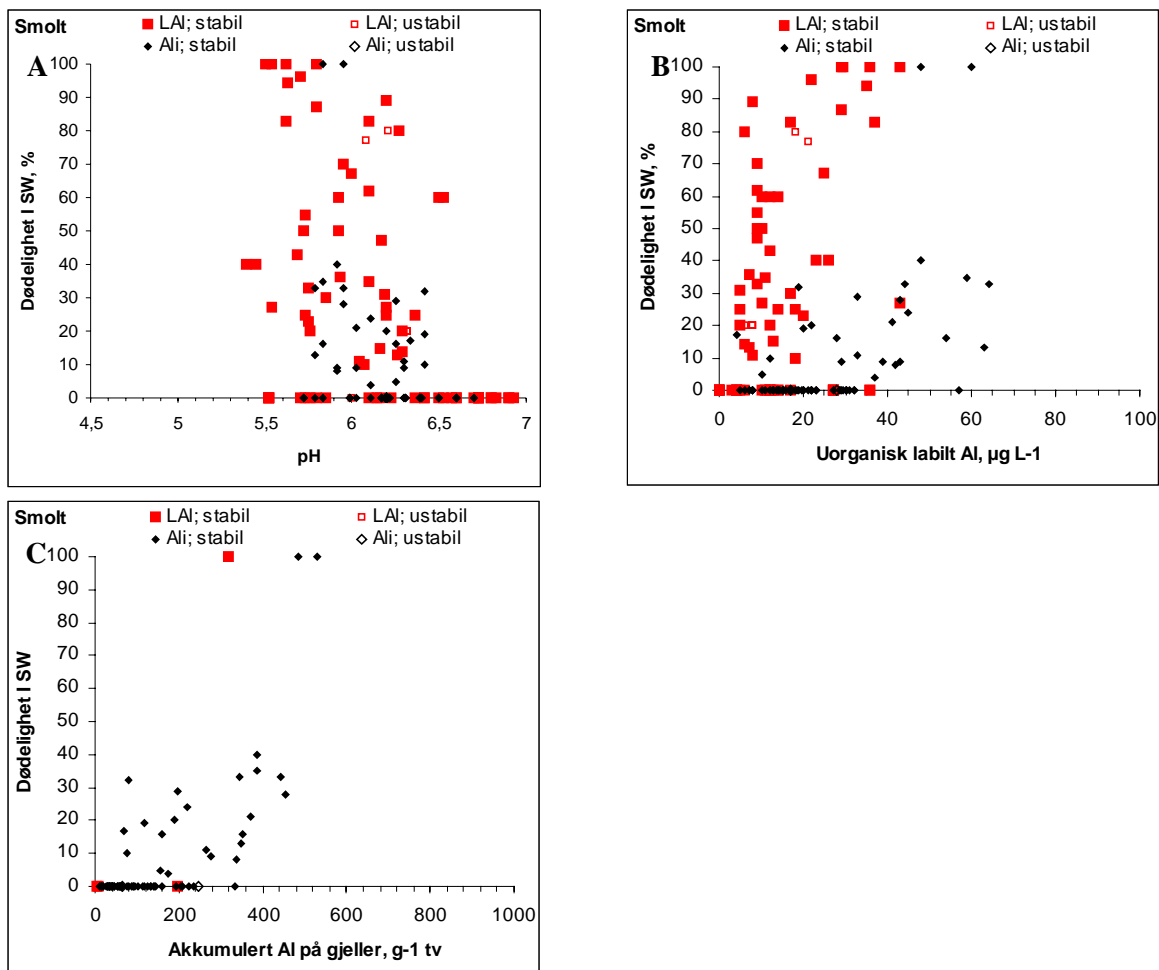
Dødelighet i saltvannstestene er vanskelig relatert til pH i ferskvann (figur 12a). I pH intervallet 5,5 til 6,3 varierer dødelighet fra 0 til 100 % over hele skalaen. Dette tyder på at variasjon i H⁺-konsentrasjon innen dette pH-intervallet ikke er eneste årsak til variasjoner i respons. Det er likevel interessant at det kun unntaksvis ble registrert dødelighet i forsøk hvor pH var høyere enn 6,3. Dette kan tyde på at når pH er 6,3 eller høyere er sannsynligheten for tilstedeværelse av suboptimal vannkvalitet liten.

Det var også en uklar sammenheng mellom dødelighet i saltvannstestene og aluminium (figur 12b). I forsøk hvor Al var analysert som LAI overlevde all fisk i samtlige forsøk inntil LAI-konsentrasjonen oversteg 5 µg Al L⁻¹ (tabell 1). Dette er analytisk meget usikre verdier, særlig i vann som inneholder humus. I konsentrasjonsintervallet fra 5 til 20 µg LAI L⁻¹ er det registrert alt fra null til 100% dødelighet. I forsøk hvor Al er fraksjonert *in situ* var det heller ikke noen entydig sammenheng

mellom dose og respons. Resultatet antyder således at enhver LAI-konsentrasjon $>5 \mu\text{g Al L}^{-1}$ kan, men behøver ikke være belastende. Til tross for stor spredning i dose-respons sammenhenger synes smolt eksponert i vann som med stor sannsynlighet var tilfredsstillende ($\text{pH}>6,3$; $\text{Ca}>2$; $\text{LAI}<5$; $\text{ANC}>35$) å gjøre det tilfredsstillende i testen, mens smolt eksponert i mer suboptimale vannkvaliteter hadde stor spredning i respons. Det var en form for sammenheng mellom dødelighet og gjelle-Al i forsøkene (figur 12c). Dødelighet forekom kun hos grupper hvor gjelle-Al oversteg $75 \mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tv. Dette er gjelle-Al nivåer som antyder en Ali dose på omkring $20 \mu\text{g Al L}^{-1}$.

Tabell 1. Antall forsøk hvor det ble registrert fra null til 100 prosent dødelighet i saltvannstestene i forhold til konsentrasjonen av LAI fisken opplevde før testen.; n=80.

	Ingen død	Moderat død	Høy død	Sum
LAI		$>0-50\%$	$>50\%$	
<5	19			19
5-10	2	9	6	17
10-15	11	6	3	20
15-20	1	3	1	5
>20	7	3	9	19

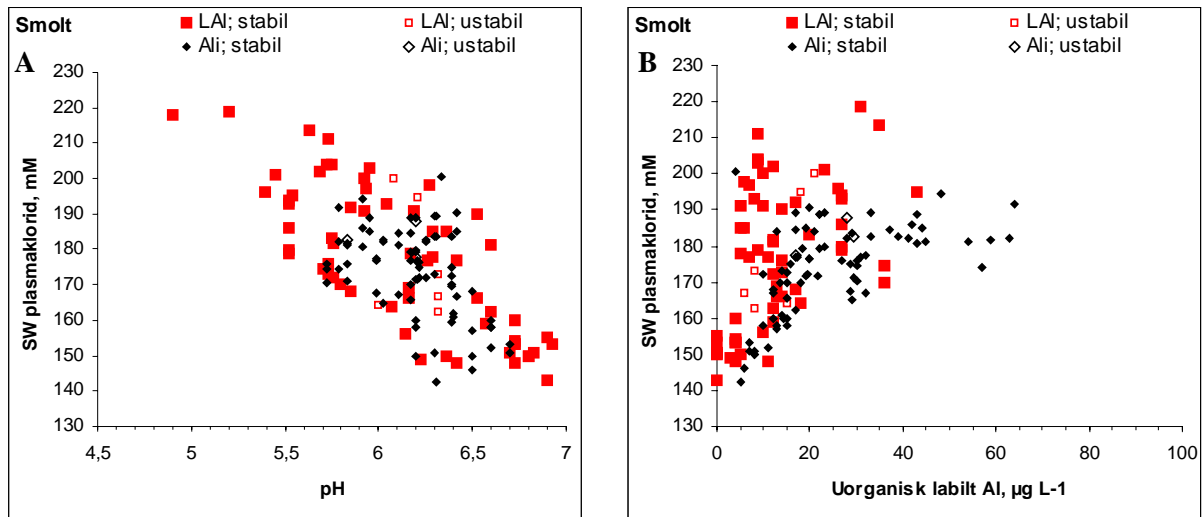


Figur 12. Sammenhenger mellom pH, uorganisk labilt Al og gjelle-Al og dødelighet i saltvannstester (34 ppt i 24 timer). Målinger utført under antatt stabile forhold er markert med fylte tegn, prøver fra antatt ustabile forhold med åpne tegn. Det skiller også mellom Al fraksjonert *in situ* og etter lagring av prøvene.

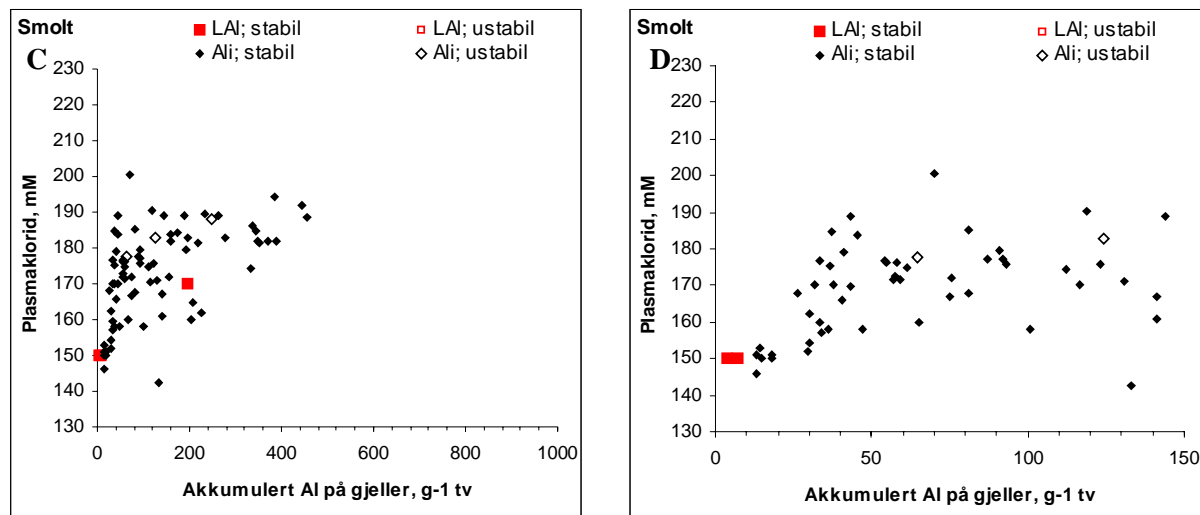
3.6.2 Ioneregulering

Enhver smolt vil oppleve øket blodplasmakonsentrasjoner av klorid etter utvandring til saltvann. Nivåene vil imidlertid tilbakereguleres til normalnivåer i løpet av ett døgn hos frisk smolt. Smolt som er skadet, f.eks. av metaller, vil ikke ha denne evnen og det kan måles forhøyde blodplasmalektrolyttkonsentrasjoner selv etter 24 timer i saltvann. Innen akvakultur settes ofte grensen som indikerer normal reguleringsevne til 145-150 mM i plasmaklorid. Høyere verdier enn dette antyder at saltreguleringsevnen er påvirket i en uheldig retning. Vi har i alle våre forsøk satt grensen til 160 mM plasmaklorid. Dette innebærer at vi setter svakere grenser for villsmolt enn det som kreves innen akvakultur.

Det var en relativt god sammenheng mellom pH og saltregulering (figur 14a), men responsflaten er for bred til at pH med enkelthet kan benyttes som indikator for vannkvalitetsforringelse. Forhøyet plasmaklorid ble målt over nesten hele pH-intervallet. Enkelte fellestrekk skiller seg likevel ut. Det ble aldri målt tilfredsstillende regulering når pH var lavere enn 6,0. Ionereguleringen var alltid tilfredsstillende når pH oversteg 6,6. Dette tyder på at pH-verdier lavere enn 6 representerer et miljø som kan være kritisk. Sammenhengen mellom ioneregulering og aluminium (LAl og Ali) var heller ikke entydig god (figur 14b). Basert på LAl, tiltok svikten når LAl-konsentrasjonen oversteg $5 \mu\text{g Al L}^{-1}$, eller $10 \mu\text{g Al L}^{-1}$ når Al er bestemt som Ali. Dette er svært lave grenseverdier og illustrerer at det kan være vanskelig å "friskmelde" et vassdrag på bakgrunn av Al-analyser. Sammenhengene mellom gjelle-Al og svikt i ioneregulering var rimelig god (figur 14c). Ionereguleringen var økende påvirket når gjelle-Al konsentrasjonen oversteg $40 \mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tv. Basert på sammenhengen mellom Ali og gjelle-Al antyder dette at ioneregulering svikter når Al-konsentrasjonen overstiger $10 \mu\text{g Ali L}^{-1}$. Dersom verdien var oppgitt som LAl ville grenseverdien ha vært lavere enn $10 \mu\text{g Al L}^{-1}$ og i henhold til sammenhengene i figur 9 i området 0 til $5 \mu\text{g LAl L}^{-1}$. Grenseverdiene basert på gjelle-Al sannsynliggjør at de lave toleransegrensene for uorganisk labilt Al.

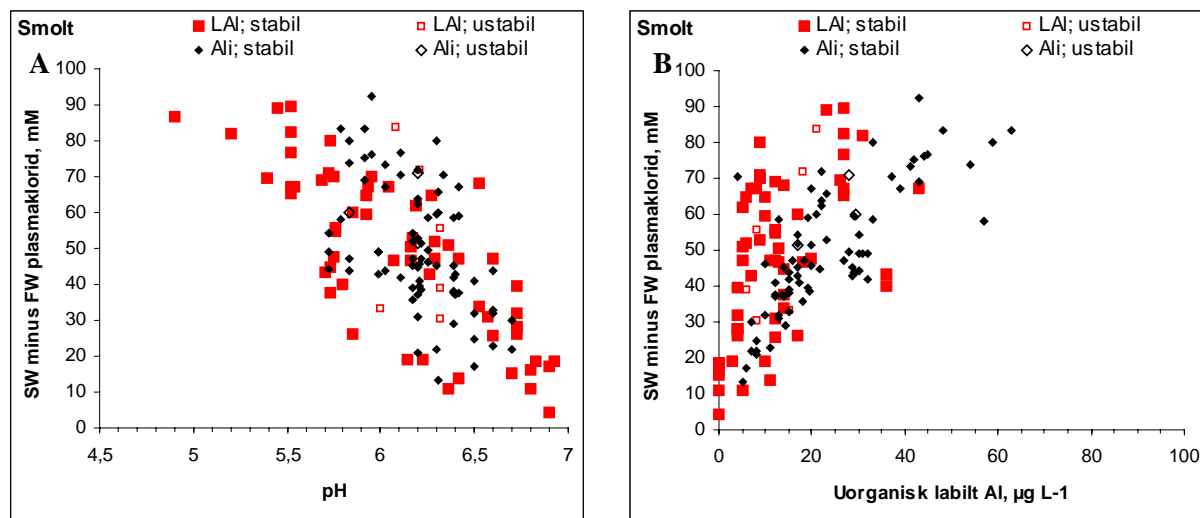


Figur 13. Sammenhenger mellom a) pH, b) uorganisk labilt Al og c,d (neste side) gjelle-Al og plasmaklorid konsentrasjon målt etter 24 timer eksponering i saltvannstester (34 ppt). Målinger utført på fisk som i ferskvann ble eksponert under antatt stabile forhold er markert med fylte tegn, prøver fra antatt ustabile forhold med åpne tegn. Det skiller også mellom Al fraksjonert *in situ* og etter lagring av prøvene. I fig.d er x-akse begrenset oppad til $150 \mu\text{g Al}$.

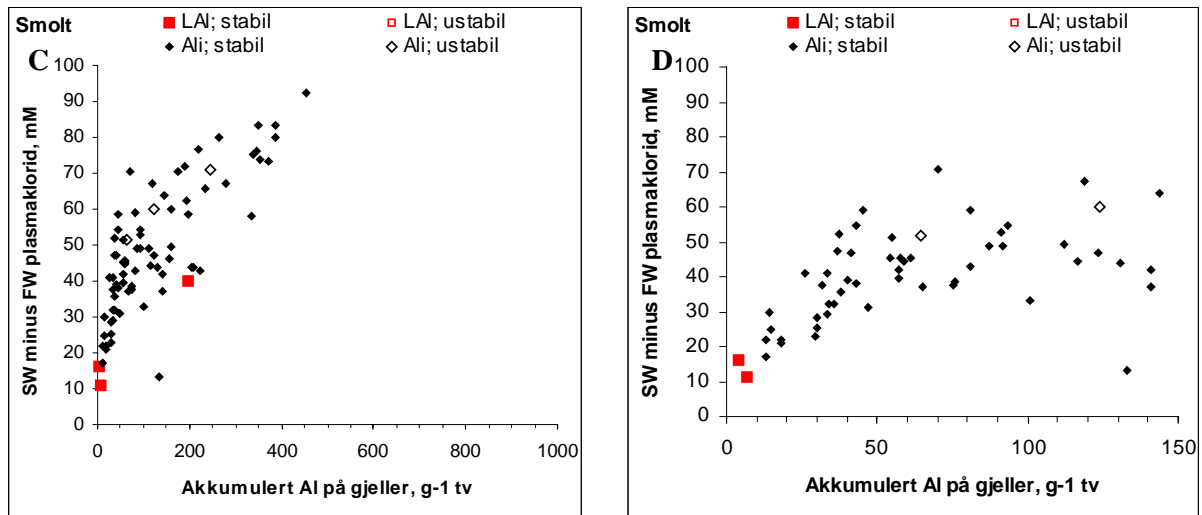


Figur 14 forts. fra forrige side

Som nevnt i kapittel 3.6 er det anbefalt at man studerer sammenhenger mellom plasmaklorid etter en saltvannstest i forhold til den reguleringsevne fisken hadde i ferskvann før overføring til saltvann. Det forelå også gode sammenhenger mellom differanse i plasmaklorid målt etter 24 timer i saltvannstesten og plasmaklorid-konsentrasjonen i ferskvann. Lave differanser ble kun målt hos smolt eksponert ved pH 6,4 eller høyere, eller for $<5 \mu\text{g Al L}^{-1}$. Smolt som hadde $>40 \mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tv hadde tiltagende svikt i ionereguleringsevnen. På tross av stor usikkerhet (forårsaket av stor spredning i materialet) forbundet med de foreslåtte grenseverdiene, antyder resultatet at langt flere laksebestander kan være påvirket av aluminium enn det som fremkommer innen nasjonal overvåking. Dersom modellen er tilnærmet riktig, kan denne forklare noe av år til år variasjonen i fangst av laks.



Figur 15. Sammenhenger mellom a) pH, b) uorganisk labilt Al og c,d (neste side) gjelle-Al og differansen i plasmaklorid målt etter saltvannstest og etter avsluttet eksponeringsperiode i ferskvann. Målinger utført på fisk som i ferskvann ble eksponert under antatt stabile forhold er markert med fylte tegn, prøver fra antatt ustabile forhold med åpne tegn. Det skiller også mellom Al fraksjonert *in situ* og etter lagring av prøvene. I fig.d er x-akse begrenset oppad til $150 \mu\text{g Al}$.



Figur 16. forts. fra forrige side.

3.6.3 Marin overlevelse

Marin overlevelse er undersøkt i en rekke forsøk. Utsetninger i Mandalselva og i Moisauna tidlig på 1980-tallet gav ingen gjenfangst av laks, men det ble gjenfanget laks fra samtidige smoltutsetninger i elvemunningene (Hansen 1987). Det ble ikke registrert gjenfangst av laksesmolt satt ut i Lygna (forsuret elv), mens det ble registrert gjenfangst av laks fra samtidige utsetninger i Audna (kalket elv) (Staurnes et al. 1996). Andre utsettelsesforsøk gjennomført de siste 20 år har gitt samme resultat fra disse vassdragene (Hansen; DN-forsøk upublisert materiale). Normalt vil hovedandelen av smolten forlate vassdraget første natt etter utsetting. Noen fisk vil stå på elva ett til flere døgn. Dersom fisken settes ut omkring middag vil eksponeringsvarigheten være omkring 12 timer for de som vandret første natt, mer for de som vandret påfølgende netter. Etersom gjenfangst er "null" i utsettingene ovenfor, medførte selv en kortvarig eksponering full marin dødelighet ved den vannkvalitet som ble målt i disse vassdragene på 1980 og 1990-tallet. Dette materialet bør sammenstilles i en egen modell.

Selv kortvarig eksponering synes å påvirke overlevelse i en negativ retning (Hansen, 1987; Staurnes, et al., 1996; Magee et al, 2001, 2003; Kroglund & Finstad, 2003; Kroglund et al., 1993; 1993; 1999ab; samt upublisert materiale fra 2002 og 2003). I flere av disse forsøkene er det dokumentert at smolten vandrer ut av vassdraget på tross av at den ikke lengre er saltvannstolerant. Belastningen påvirket således saltvannstoleranse og vandringsvillighet ulikt.

Det er i en rekke forsøk dokumentert redusert marin overlevelse hos smolt eksponert for surt Al-rikt vann i <24 timer. Eksponering av 2+ smolt i to perioder på henholdsvis 15 og 4 timer med en restitueringsperiode på 17 timer mellom eksponeringene, gav 50% reduksjon i gjenfangst (Kroglund upublisert). pH var 5,8 (med $45 \mu\text{g Al l}^{-1}$) i første periode og 5,7 med (med $20 \mu\text{g Al l}^{-1}$) i andre periode. I forsøk utført i Hordaland (Dalevassdraget) ble tilsvarende reduksjoner i gjenfangst påvist etter 10 til 15 timer eksponering. Vannkvaliteten her kunne være noe dårligere (surere med mer Al) enn det som ble benyttet i førstnevnte forsøk. Tilsvarende eksponering i Trønderlag gav ingen effekt på marin overlevelse på tross av at smolten hadde akkumulert Al på gjellene. Sannsynligvis var ikke saltreguleringsenzymet påvirket, delvis på grunn av kort eksponeringstid, delvis på grunn av høy humuskonsentrasjon i vannet.

I flere forsøk er presmolt eksponert til vedvarende suboptimal vannkvalitet (pH ca 5,8; ca $6 \mu\text{g LAI L}^{-1}$) i minst 30 dager før smoltutvandring. I alle disse forsøkene er det registrert redusert vekst i ferskvann, samt 20-30% redusert marin overlevelse (Kroglund & Finstad 2003; + upublisert materiale fra Ims). Gjelle-Al konsentrasjonen målt på belastet presmolt de siste 30 dagene før utsetting fisk var normalt på nivå mellom 40 og $60 \mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tv.

I Suldalslågen og i Vosso er det satt ut Carlinmerket smolt en rekke år. Smolt er enten satt ut i vassdraget, i brakkvannsområdet utenfor elvemunningen eller i en slepemærd. Det er registrert fra få til ingen gjenfangster fra elve- og munnngsutsettingene. Utsettinger i slepemærd har gitt gjenfangster såfremt smoltkvaliteten på utsettingstidspunktet var tilfredsstillende. Smoltparti med forhøyet gjelle-Al konsentrasjon har alltid gitt lav gjenfangst. Forskjellene i overlevelse kan relateres til forsuring, men kan også relateres til forekomst av lakselus i fjordsystemet. Om årsakene til forskjeller skyldes driftsforhold ved de respektive klekkeriene, vannkvalitet eller andre årsaker er debattert.

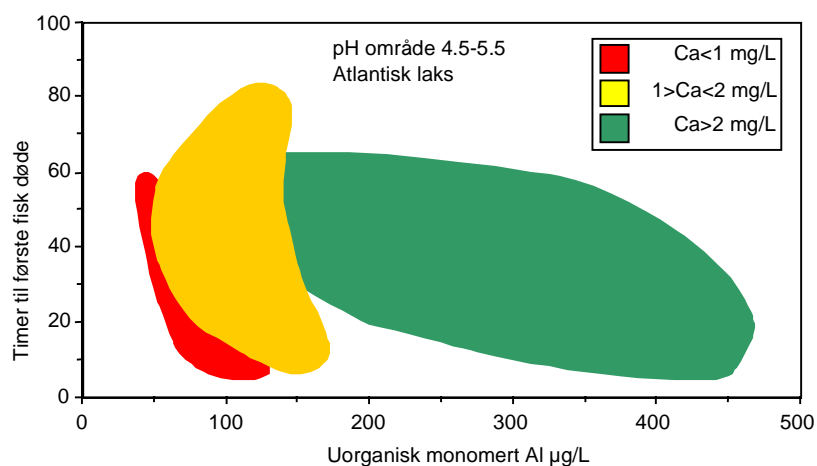
Forsøkene utført på marin overlevelse bør sammenstilles med forsøk utført i vassdrag som er upåvirket av forsuring. Dette kan gi sikrere grenseverdier for vannkvalitet enn det som oppnås ved å samle data fra forsøk.

3.7 Alternative vannkvalitetsmodeller

I modellene ovenfor er andre viktige vannkvalitetsvariabler som TOC og Ca ikke inkludert som forklaringsvariabler. Det er veldokumentert at disse, samt faktorer som temperatur mm er viktige variabler for å forstå forskjeller i respons i forhold til en angitt dose.

3.7.1 Kalsium

Rosseland (1989) demonstrerte hvordan vannets giftighet var relatert til både LAI og Ca for vann i pH-intervallet 4,5 til 5,5. Tid til første fisk døde økte betydelig når Ca-konsentrasjonen ble økt fra $< 1 \text{ mg L}^{-1}$ til $> 2 \text{ mg L}^{-1}$. Dette innebærer at ved samme konsentrasjon LAI vil det ta lengre tid å drepe fisk i et ionerikt vann enn i et ionefattig vann. Utfra dette kan det forventes at vassdrag på Vestlandet vil være mer følsomme for en underskridelse enn vassdrag på Sørlandet ved samme pH og konsentrasjon av uorganisk labilt Al. Lydersen et al., (2002) påpeker at dette ikke nødvendigvis skyldes Ca-konsentrasjonen i seg selv, men at beskyttelsen mer sannsynlig skyldes en økning i ionestyrke. Uansett årsak, dette illustrerer at andre vannkjemiske komponenter må inkluderes dersom dose-responsmodeller skal anvendes til å optimalisere vannkvalitetsgrenser innen enkeltvassdrag. Grenseverdier som er fastsatt på et generelt nivå kan for det enkelte vassdraget være unødig strenge (økonomisk kostnad) eller for slakke (økologisk kostnad).



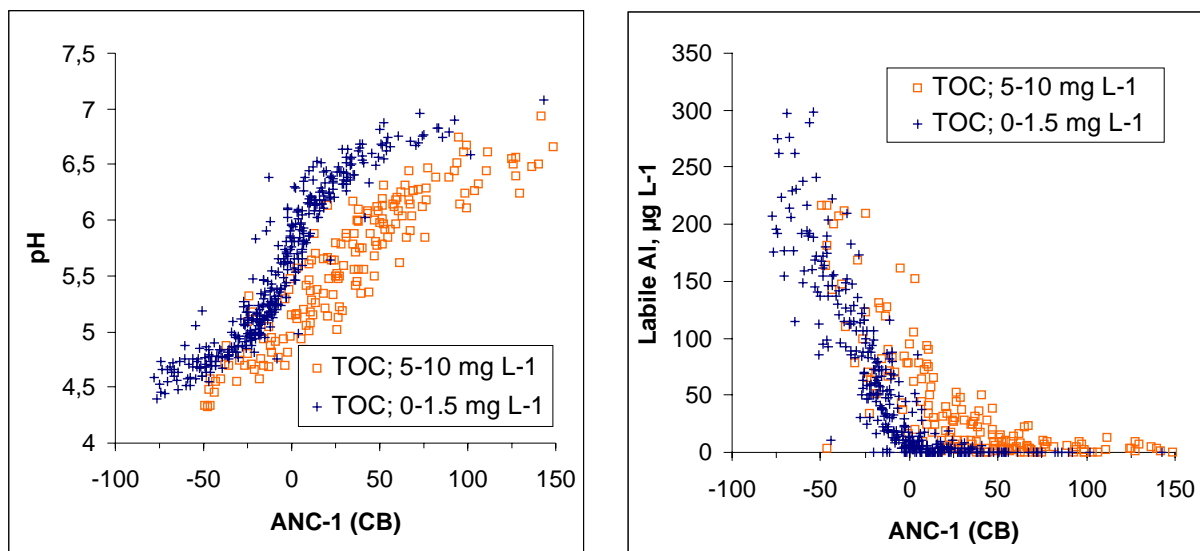
Figur 17. Sammenhenger mellom LAI og timer til første fisk døde for tre konsentrasjonsnivåer av kalsium (etter Rosseland 1989). Bak hver Ca-kategori ligger det en punktsky av observasjoner.

3.7.2 Humus

TOC inkluderes kun indirekte i responsmodeller hvor ANC benyttes som mål for dose. Det er påpekt en rekke ganger de siste 10 årene at humus påvirker biotilgjengeligheten til uorganiske labile former av Al. Dette innebærer at det inngår både giftige og mindre giftige/ugiftige spesier av Al i de Al-fraksjonene som benevnes LAI, Ali eller UmAl. I humuspåvirket vann, eller i vann med mye uorganiske kompleksbindere vil ikke uorganisk monomert Al nødvendigvis angir et tilfredsstillende mål på vannkvalitet. Hvor stor usikkerheten er bør dokumenteres, da den har stor betydning ved fastsettelse av vannkvalitetskrav og -mål i bl.a. humuspåvirket vann.

Vannkvalitetskriterier for laks basert på data fra Nova Scotia tyder på at laksen der ikke påvirkes negativt før pH klart underskrider 5,4 og at utrydding først vil kunne forekomme når pH underskrider 4,9. Al-konsentrasjonen i flere av disse vassdragene er imidlertid på nivå hvor det i modellene ovenfor antydes effekter på individ og populasjon. En vesentlig forskjell mellom Canada og Norge er forskjellene i humusinnhold. Dette kan tolkes som at mye humus beskytter fisken og derved reduserer effekten av uorganisk labilt Al. Teien m.fl. (submitted) har konkludert med at mer Al måtte foreligge som Ali i det humøse vassdraget for å oppnå en viss akkumulering av Al på gjellene enn det som var nødvendig i klarvannsvassdraget. Dette samsvarer med lignende undersøkelser utført i Canada (Peterson et al., 1989; Lacroix et al 1993) og bidrar til å forklare forskjellene i dose – respons forløp mellom Canada og Norge.

Humus påvirker også sammenhengene mellom ANC og pH og aluminium (figur 18ab). Ved samme ANC-verdi var pH lavere og konsentrasjonen av labilt Al høyere i humuspåvirket vann enn i humusfattig vann. Dette kan bety at ANC som vannkvalitetsmål også må justeres i forhold til humusnivå. Med utgangspunkt i en lignende argumentasjon, er det foreslått å innarbeide humus som en komponent i ANC beregningene (Lydersen m.fl., 2001). Noe av variasjonen ovenfor kan derfor nettopp være relatert til humus. Samme problemstilling er belyst i prosjektet ANC-recovery (Rosseland et al upublisert NFR-materiale). I dette prosjektet er det dokumentert at på tross av at ANC i Langtjern, Buskerud, i betydelig høyere enn de nivåene som indikerer suboptimal vannkvalitet, er vannkvaliteten fortsatt giftig for fisk. ANC gir således ikke riktig prognose for vannkvalitet i humøse vannforekomster.



Figur 18. Sammenhenger mellom ANC og pH (a) og labilt aluminium (b) i innsjøer med en humus konsentrasjon som varierte mellom 0 og 1,5 mg C L⁻¹ og mellom 5,0 og 10 mg C L⁻¹ (basert på 1000-sjøers undersøkelsen i 1986).

4. Biologiske faktorer; tilpassing og restituering

4.1 Tilpassing til belastende miljø

Tilpassing til et belastende miljø (akklimering) innebærer at fisken blir mindre følsom for en belastning. Tilpassing til surt vann er undersøkt og påvist eller sannsynliggjort hos en rekke fiskearter, men ikke alle (se bl.a. Orr et al., 1986; Wood et al., 1988; Audet et al., 1988; Mount et al., 1988; Mueller m.fl., 1991; Allin og Wilson, 1999). I enkelte forsøk ble forsøksfisken mer tolerant, mens i andre forsøk ble forsøksfisken mer følsom for surt vann som inneholdt aluminium. Det synes også som om tilpassing er avhengig av hvilken konsentrasjon fisken eksponeres for, men også av hvilken art som inngår i forsøket. Regnbueørret ble tilpasset til Al når den ble eksponert for $24 \mu\text{g/L}^{-1}$ uorganisk labilt Al ved pH 5,2-5,4, men ble mer følsom for Al når den ble eksponert for $30 \mu\text{g/L}^{-1}$ uorganisk labilt Al ved samme pH. I forsøk med langtidseksponering (>60 dager) av laksesmolt ble det påvist en form for tilpassing hos laks (Kroglund & Finstad, 2003). Fisken hadde i forsøket en tiltagende normalisering av plasmaklorid-konsentrasjon, mens glukosenivået forble høyt. Dette kan tolkes som tilpasning, men denne hadde liten økologisk relevans ettersom smoltens saltvannstoleranse ble tiltagende negativt påvirket. Lignende forskjeller mellom forsuringserfarne og -uerfarne (naive) laksesmolt er tidligere beskrevet fra forsøk hvor anleggsprodusert fisk ble eksponert under samme miljøforhold som stedegen laksesmolt (Kroglund et al., 1996ab). Etablering eller iverksettelse av kompensatoriske mekanismer medfører at fisken over tid synes mer normal (reetablert normale kroppsfunksjoner/tilstand (homeostase). Fisk kan ikke leve uendelig lenge med svekket kroppsfunksjoner. Hvis normal fysiologi ikke reetableres, dør fisken. Samtidig innebærer aktiv bruk av kompensatoriske mekanismer at normalfysiologi opprettholdes til en økt "kostnad". Denne "kostnaden" kan defineres som økt energiforbruk. Økt energiforbruk til opprettholdelse av normale kroppsfunksjoner kan redusere energi tilgjengelig for vekst og reproduksjon (Kroglund & Finstad, 2003). Samme respons er også målt i samtlige påfølgende forsøk. Så lenge denne kompenseringen gjør fisken mer "normal", men ikke beskytter saltvannstoleransen har tilpassingen begrenset økologisk relevans. Samtidig kan det ha stor økologisk relevans hvis sannsynligheten for overlevelse gjennom en episode øker, da overlevende fisk vil kunne restitueres. Kompensering medfører også at belastet fisk feilaktig kan klassifiseres som upåvirket av vannkjemien. Normalt vil fiskens helsestatus bli evaluert på et begrenset antall måleparametre. Disse inkluderer sjeldent egenskaper som immunologi og effekter på atferd. Adferdsendringer kan gjøre fisken mer utsatt for predasjon.

Poléo et al. (2001) konkluderer også med at laks tilpasses aluminium, og påpeker samtidig at aluminium gjorde fisken mindre følsom for endringer i salinitet og trekker den konklusjon at kalking kan hemme etablering av saltvannstoleranse. Disse resultatene står i kontrast med resultater fra annen litteratur, samt i forhold til den empiri som foreligger fra kalka elver og fra settefiskanlegg i Norge.

4.2 Restituering

Restituering etter en forutgående forsuringsepisode er inkludert som en del av undersøkelsesprogrammet i en rekke vassdrag og forsøk. Eksponeringsepisoden har i enkelte forsøk vært så kort som 24 timer, mens fisken i andre forsøk har opplevd en tilsvarende episode over mange døgn. Forskjeller i eksponeringsvarighet kan påvirke graden av fysiologisk og histopatologisk skade. Likeledes vil graden av vannkvalitetsforringelse påvirke graden av skade. Fisk som er vesentlig "skadet" vil bruke lengre tid på å oppnå full restituering en mindre skadet fisk. Likeledes har årsak til "skaden" betydning for restitueringsraten. Hvis lav plasmaklorid skyldes håndteringsstress, vil fisken restitueres raskere enn om samme reduksjonen i plasmaklorid skyldes gjellelevsskader forårsaket av forsuring.

I forsøk utført i Vikedal ble fysiologisk status, definert som endringer i plasmaklorid etter en 24 timer forsuringsepisode restituert innen tre døgn etter opphold i en tilfredsstillende vannkvalitet (Kroglund

& Staurnes, 1999). Det ble ikke utført tester på saltvannstoleranse her og restituering er kun basert på ioneregulering. I forsøk utført i Suldal ble laksesmolt som var subletalt skadet restituert i løpet av 10 dager etter overføring til vannkvaliteter hvor pH var hevet til pH 6,4, men ikke i vannkvaliteter hvor pH var hevet til 6,0 (Kroglund et al., 2001b). Restituering her er definert som reetablering av normal gjellevevsstruktur, homeostase i ferskvann og etablering av saltvannstoleranse. Graden av restituering er avhengig av hvor god vannkvaliteten er (Verbost et al., 1995).

Laksesmolt eksponert i 12 timer til henholdsvis pH 6,0 (15 µg Ali) og pH 5,75 (20 µg Ali) hadde fortsatt kompromittert saltvannstoleranse etter 46 timer restituering (Kroglund et al., upublisert). Eksponeringen påvirket imidlertid ikke smoltutvandringen. Dette medførte at svakt belastet smolt utvandret på tross av at den ikke var saltvannstolerant. I et oppfølgingsforsøk utført året etter ble to grupper laksesmolt eksponert til en kortvarig forsureningsepisode (15 timer) mens en gruppe ble eksponert til en langvarig episode (140 timer) før utsetting i Imsa (Kroglund et al., 1995). pH i de kortvarige eksponeringene var 5,2 og 4,9 med henholdsvis 31 og 238 µg LAI L⁻¹, mens langtidseksponert fisk ble eksponert ved pH 5,7 og 36 µg LAI L⁻¹. Eksponeringene resulterte i knapt målbare effekter på plasmaklorid i ferskvann, men saltvannstoleranse og Na-K-ATPase innholdet var redusert. Etter 5 døgn restituering i kar, eller etter fem døgn opphold i Imsa hadde den belasta fisken reetablert en tilnærmet normal saltvannstoleranse. Dette illustrerer at smoltkvalitet vil reetableres hvis vannkvaliteten blir god. Resultatet illustrerer samtidig at tidspunktet for en episode er særs kritisk.

I forsøk restituerte smolt eksponert i vann med pH 6,4 som følge av kalking raskere enn tilsvarende fiskemateriale eksponert i vann hvor samme pH var etablert ved bruk av silikat. Det ble her konkludert med at økt kalsium konsentrasjon syntes å være gunstig for restitueringsraten. Hytterød et al. (2001) fant ikke tilsvarende resultat og konkluderer med at kalsium kan hemme restitueringsraten. Hva som er riktig konklusjon, er uavklart.

Restituering er også undersøkt hos ørret. Også her viser forsøkene at såfremt fisken ikke er kritisk belastet vil den raskt reetablere en mer normal fysiologisk status (Verbost et al., 1995; Kjelsberg, 1997; Hytterød et al., 2001).

5. Konklusjon - grenseverdier

I innledningen ble det argumentert med at rene fysiologiske responser ikke vil være kritiske hvis det kun er snakk om kortvarige episoder med suboptimal vannkvalitet. Dette er fundert i at fisk vil restitueres når en belastning oppheves. All erfaring tyder på at slikt skjer, men en episode kan likevel påvirke egenskaper som er viktig for bestanden, f.eks. vekst og reproduksjon. Episoder kan således påvirke bestandsegenskaper som senere forårsaker svingninger i tetthet og fangst av voksen laks.

De foreslåtte grenseverdiene er basert på sannsynlighet for dødelighet. Det er argumentert for dette som responsmål i innledningen. Samtidig er det ikke dokumentert at bestandsreduksjoner hos laks i våre vassdrag nødvendigvis er relatert til dødelighet; d.v.s. at vannkvaliteten må være letal før det påvises bestandsreduksjoner. Fangst av laks avtok gradvis i sørlandselvene, uten at det samtidig ble registrert fiskedød. Fiskedød kan likevel registreres, men da som oftest i forbindelse med episoder. Redusert yngeltetthet og fangst av laks kan være relatert til endringer i inter- og intraspesifikke faktorer som påvirker konkurranseforhold, predasjon, atferd, vekst, respirasjon, sykdomsresistens, toleranse ovenfor andre stressorer mm. Dersom smoltens marine overlevelse f.eks. reduseres til et kritisk nivå, vil elvebestanden ikke lengre være selvreproduserende. Fortsatt fangst av oppvandrende laks og forekomst av laksyngel i vassdraget kan da skyldes feilvandrere fra andre vassdrag og avkom fra disse, og ikke nødvendigvis fisk fra egen bestand. Det kan derfor være endringer i nettopp de subletale faktorene som leder til utryddelse av en bestand, hvor dette kan inntreffe før vannkvaliteten blir letal. Dette er en usikkerhet som ikke inkluderes i de foreslåtte modellene. Vannkvalitetsgrensene som anbefales nedenfor vil resultere i fisk som kan ha omfattende subletale responser. Graden av respons vil være avhengig av hvor nær vannkvaliteten er mulig dødelige forhold og hvor lenge fisken eksponeres for denne betingelsen. Hvis vassdraget har lav pH som følge av naturlig forsuring gjelder ikke de foreslåtte grenseverdiene.

Som følge av de tildels kompliserte interaksjonene mellom vannkjemi og biologiske responser beskrevet i innledningen og resultatdelen til denne rapporten, er det ønskelig at kalkingen opprettholder en god vannkjemisk status hele året, uten unødige underskridelser av målet. I praksis er ikke dette mulig med dagens strategiske og tekniske løsninger. Det kritiske spørsmålet som er søkt besvart er; *"hvor langvarig underdosering kan aksepteres, uten at den får vesentlig effekt på bestandsnivå?"*. Sentralt her er definisjonen av vesentlig bestandseffekt. Det foreligger ikke uten videre entydige definisjoner for hva som er en vesentlig eller en uakseptabel "skade". Dette temaet er diskutert i flere bøker som omhandler tema innen økofysiologi, stress og forsuring, uten at enighet rundt kriterier dermed er oppnådd (f.eks. Pickering, 1981; Rosseland & Staurnes, 1994; Barton, 1997; Sumpter, 1997; Gensemer & Playle, 1999). På tross av ulike kriterier for definering av skade i de forskjellige fagmiljøene, synes det å foreligge en form for enighet om at effekter som kan påvises ved måling av cortisol, laktat, glukose, blodelektrolytter, blodcellesammensetning, histologi, atferd mm er alle å anse som uakseptable på individnivå. Uenigheten ligger mest i vektlegging av den enkelte responsvariabelen. Minst tre andre biologiske faktorer er også særs vesentlig for fastsettelse av vannkvalitetsgrenser, nemlig mulighetene fisken har til å tilpasse seg en vedvarende belastning (akklimering), mulighetene fisken har til å bli restituert når en belastning opphører, og betydningen av repeterte belastninger. Dette ble diskutert i egne kapitler. Så lenge en episode er kortvarig vil normal helsestatus kunne reetableres.

Det antas her at fiskedød representerer en uønsket tilstand, selv om en begrenset "over" dødelighet hos parr ikke trenger å påvirke størrelsen av den endelige smoltutgangen. Under normale forhold er dødelighet fra rogn til smoltutgang uansett stor. En periodisk overdødelighet trenger ikke være vesentlig for størrelsen på smoltutgangen, så lenge smoltkvalitet ikke reduseres. Men, det synes vanskelig å forvalte vassdrag på basis av at overdødelighet er akseptabelt. Redusert smoltutgang trenger heller ikke innebære redusert fangst av voksen laks hvis smoltstørrelsen har økt som følge av

bedret mattilgang som følge av lavere fisketetthet. Stor smolt har bedre marin overlevelse enn små smolt. Selv om dette er momenter det er viktig å forstå for å forklare forskjeller mellom vassdrag, er ikke denne type momenter inkludert i denne rapporten. Andre modeller, f.eks. ASRAM (Korman et al., 1994) tillater evalueringer av betydningen vannkjemiske påvirkninger har på enkeltbestander. Det er sannsynlig at bestandstetthet i forsurningspåvirka og/eller kalka elver i stor grad er relatert til vannkjemisk og variasjon i denne gjennom året. Det bør utarbeides tilsvarende dynamiske modeller for norske forhold. Uansett, for det videre arbeidet synes det urimelig å anbefale et vannkjemisk mål som "tillater" dødelighet. Dødelighet ansees derfor som et uakseptabelt kriterium, selv om dette vil kunne forekomme under uheldige omstendigheter, og selv om det ikke på kort sikt vil forårsake en bestandsutryddelse.

Varighet av en vannkjemisk underskridelse er samtidig vesentlig for utviklingen av en respons. Dette illustreres i rapporten med tid til 1. fisk døde. Tid til første fisk er valgt som kriterium fremfor mer kjente mål som LT_{50} og LT_{100} . De to sistnevnte angir tid til 50 og 100% død. Dette er dødelighetsnivå som må oppfattes som uomtvistelig uakseptable. Det er likeledes en sammenheng mellom tid til 1. fisk døde og akkumulert dødelighet over en 10-dagers periode. Dersom det ikke døde fisk i løpet av de første eksponeringsdagene er sannsynligheten for høy for lav dødelighet etter 10 dager.

pH, uorganisk labilt Al og akkumulert Al på gjeller er alle benyttet som mål for dose i evalueringen. Vannkvaliteten på anadrom strekning av et vassdrag vil ikke kunne bli vesentlig dårligere enn det vannkvaliteten er i ubehandlet råvann. Vannkvaliteten vil dermed heller ikke kunne bli dårligere enn det vannkvaliteten er i ubehandlet del av vassdraget under en episode. Ettersom ulike vassdrag hadde ulike vannkvaliteter før tiltak ble igangsatt, vil maksimal vannkvalitetsforringelse variere mellom vassdragene. Selv om det her foreslås enkle grenseverdier for hvilken forringelse av vannkvalitet som kan aksepteres, vil lokale forhold gjøre at disse grensene kan være satt unødige strengt, alternativt ikke gi en tilstrekkelig beskyttelse. Det bør derfor etableres vassdragsspesifikke grenser, hvor det bl.a. tas hensyn til sure sidebekker. Dette ville sikre det økologiske målet til en mest mulig økonomisk forsvarlig pris.

Det vil herske en viss usikkerhet med hensyn til mulig vannkvalitetsforringelse langs anadrom strekning av et vassdrag som følge av tilførsler fra sure sidebekker. Disse kan forårsaker blandsoner. Giftigheten av en blandsoner, og det areal som er påvirket av ustabile tilstandsformer av aluminium, er relatert til mengde aluminium vassdraget tilføres, samt til temperatur og pH. Forekomst av blandsoner kan medføre at vannet er giftig på tross av at det i den analyserte vannprøven ikke påvises vannkjemiske element som antyder giftighet. Blandsoner kan således medføre at vannkvalitetsoverskridelser ikke påvises. Gjelle-Al eller *in situ* måling av metaller kan benyttes til å sannsynliggjøre tilstedeværelse av blandsoner.

Samvariasjon mellom gjelle-Al og respons var bedre enn respons i forhold til pH og uorganisk labilt Al i vannet. Noe av dette skyldes at hverken den pH-verdi eller den konsentrasjon av uorganisk labilt Al som måles, trenger å være representative for de konsentrasjoner fisken faktisk opplever. Gjelle-Al vil likevel av praktiske årsaker være vanskelig å benytte for å evaluere dag til dag endringer i vannkvalitet i perioder hvor mål-pH ikke oppnås. Modeller basert på pH vil være å foretrekke.

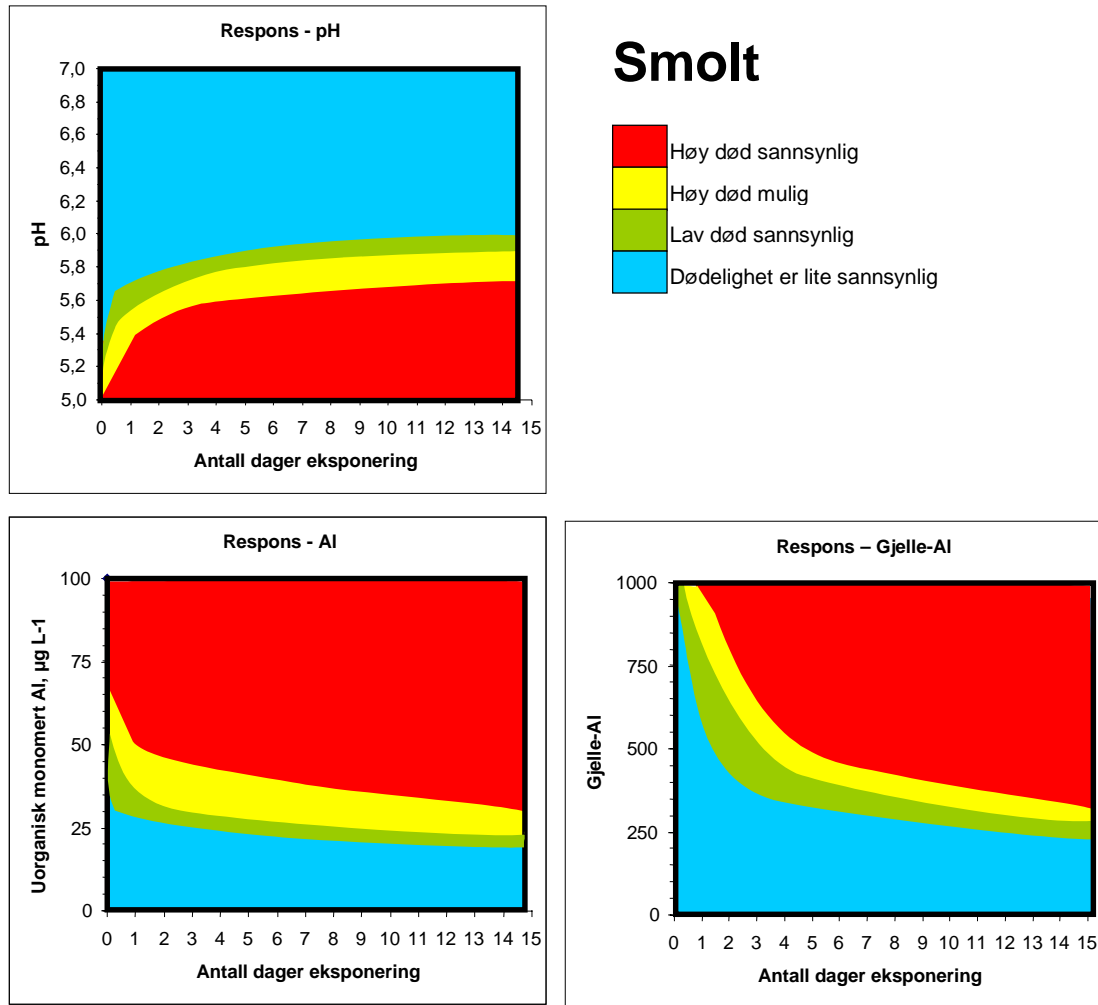
I tabell 2 og figur 19 er det foreslått grenseverdier for lakseparr og -smolt. Ettersom den vannkjemisk som ble benyttet i de forsøkene i de fleste tilfeller ikke var kritisk for parr, er det ikke mulig å etablere entydige modeller for dette livsstadiet. Sannsynligheten for dødelighet i løpet av 10 dager periode er likevel mindre sannsynlig såfremt pH ikke synker til nivå lavere enn 5,6 og LAI ikke overstiger $50 \mu\text{g Al L}^{-1}$. Likeledes synes parr å tåle høye gjelle-Al konsentrasjoner. Dette innebærer at såfremt vannkvalitetsmålet kun underskrides over korte perioder forventes det ikke effekter på parr.

For smolt antydes det at sannsynlighet for dødelighet er lav såfremt pH ikke underskrider 5,7. I pH-intervallet 5,5 til 5,7 kan dødelighet variere fra beskjedent til høy i løpet av en 10 dager periode. Hvis

pH synker under 5,5, vil høy dødelighet kunne oppstå i løpet av få dager. Med hensyn til Al, synes konsentrasjoner av LAI $< 20 \mu\text{g Al L}^{-1}$ ikke å medføre dødelighet. I intervallet 20 til $35 \mu\text{g Al L}^{-1}$ kan dødelighet variere fra beskjedent til 100%. Hvis LAI-konsentrasjonen overskrider $35 \mu\text{g Al L}^{-1}$, er høy dødelighet i løpet av få dager sannsynlig. Gjelle-Al var godt relatert til dødelighet. Først når gjelle Al overstred $350 \mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tv, kan dødelighet påregnes, men da først etter langvarig eksponering.

Saltvannstoleransen til smolt påvirkes før det registreres dødelighet i ferskvann. Det er som forventet mye "støy" og uforklart variasjon i dette materialet. Noe av variasjonen i dose-respons modellene skyldes at smoltifisering er en prosess, hvor de enkelte forsøkene ikke er utført med fisk som er likt smoltifisert. Dette påvirker både følsomhet i forhold til dose, men også i hvilken grad individet burde ioneregulere normalt eller ikke, og da som følge av naturlig utvikling. Dette innebærer at noe av variasjonen i materialet skyldes graden av smoltifisering, noe selve belastningen. På tross av disse usikkerhetene synes kun smolt eksponert under betingelser som ikke resulterte i nevneverdig akkumulering av gjelle-Al å utvikle normal evne til å saltregulere i sjøvann. Effektene på saltvannstoleranse tiltok når fisken hadde akkumulert mer enn $40 \mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tv, eller når den ble eksponert for mer enn $5 \mu\text{g LAI L}^{-1}$. Forringet smoltkvalitet ble kun unntaksvis målt når pH var høyere enn 6,4.

I tabellen er det også inkludert grenseverdier med hensyn til marin overlevelse. Marin overlevelse til Carlin-merket smolt synes å bli redusert når gjelle-Al overstiger ca $40 \mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tv. Først når gjelle-Al konsentrasjonen er høyere enn $150 \mu\text{g Al g}^{-1}$ gjelle tv er reduksjonen betydelig. Forsøkene antyder samtidig at det ikke bare er viktig hvor mye Al som er akkumulert, men også hvor lenge fisken var eksponert til Al før utvandring.



Figur 19. Mulige grenseverdier for kritiske H^+ , uorganisk labilt Al (LAl) og aluminium akkumulert på gjellelev konsentrasjoner i forhold til eksponeringsvarighet for smolt.

Tabell 2. Grenseverdier for lite sannsynlig, moderat og kritisk effekt under antatt stabile vannkjemiske forhold basert på gjelle-Al, pH samt uorganisk labilt Al fraksjonert som enten LAI eller Ali. Grenseverdiene forutsetter at vannkvaliteten inneholder aluminium.

Livsstadium	Effekt på bestand	Responsnivå	Gjelle-Al	pH	LAI	Ali
Parr	Lite sannsynlig	Liten sannsynlighet for død i løpet av 10 døgn	<800	>5,6	<50	<125
	Moderat	Dødelighet er mulig etter minst 4 døgn belastning	Ingen data	4,5-5,5	50-75	
	Kritisk	Høy dødelighet er sannsynlig innen 4 døgn	Ingen data	4,5-5,5	>75	
Smolt	Lite sannsynlig	Liten sannsynlighet for død i løpet av 10 døgn	<350	>5,7	<20	<40
	Moderat	Dødelighet er mulig etter minst 4 døgn belastning	350-500	5,5-5,7	20-35	40-55
	Kritisk	Høy dødelighet er sannsynlig innen 4 døgn	>500	<5,5	>35	>55
Smolt Overlevelse i SV-test	Lite sannsynlig	Liten sannsynlighet for død etter 10 døgn belastning	<75	>6,3	<5	<10
	Moderat	Dødelighet er mulig etter >4 døgn belastning	75-350	5,0-6,3	5-10	10-30
	Kritisk	Høy dødelighet er sannsynlig innen 4 døgn	>350	5,5-6,3	>10	>30
Smolt Ioneregulering	Lite sannsynlig	Lite sannsynlig for vesentlig svikt	<45	>6,3	<5	<10
	Moderat	Moderat svikt i regulering	45-75	6,0-6,3	5-10	10-20
	Kritisk	Stor sannsynlighet for vesentlig svikt	>75	<6,0	>10	>20
Postsmolt Marin overlevelse	Lite sannsynlig	Forsuring lite sannsynlig årsak til evt. lav overlevelse	<45	>6,3	<5	
	Moderat	Moderate effekter på marin overlevelse f(angstreduksjon på 20 til 50%)	>45	5,9-6,0	5-10	
	Kritisk	Omfattende effekter på marin overlevelse (fangstreduksjon på 50 til 100%)	>150	<5,9	>10	

6. Referanser

- Allin, C. J. og R. W. Wilson. 1999. Behaviour and metabolic effects of chronic exposure to sublethal aluminum in acid softwater in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53: 1827-1834.
- Andren, C. 2003. Provningsjæmførelser av aluminiumsfraksjoner 2001 & 2002. ITM-rapport 117, 17 s+vedlegg.
- Audet, C., Munger, R. S., and Wood, C. M. 1988. Long-term sublethal acid exposure in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in soft water: effects on ion exchange and blood chemistry. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45: 1387-1398.
- Barton, B. A. 1997. Stress in finfish: past, present, and future- a historical perspective. *In Fish Stress and Health in Aquaculture. Edited by G. K Iwama, A. D. Pickering, J. P., Sumpter and C. B. Schreck.* Cambridge University Press, pp. 1-33.
- Berntssen, M.H.G., Kroglund, F., Rosseland, B.O. and Wendelaar Bonga, S.E. 1997. Responses of skin mucous cells to aluminium exposure at low pH in Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 54, 1039-1045.
- Brodeur, J.C., Økland, F., Finstad, B., Dixon, G.D. McKinley, R.S. 2001., Effects of subchronic exposure to aluminium in acidic water on bioenergetics of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Ecotox. Environ. Saf.* 49, 226-234.
- Clarke, W.C. 1982. Evaluation of the seawater challenge test as an index of marine survival. *Aquaculture*, 28: 177-183.
- Dalziel, T.R.K., F. Kroglund, L. Lien, and B.O. Rosseland. 1995. The REFISH (Restoring endangered fish in stressed habitats) project, 1988-1994. *Water, Air, and, Soil Pollut.* 85. 321 – 326.
- Farmer, G.J., Saunders, R.L., Goff, T.R., Johnston, C.E., and Henderson, E.B. 1989. Some physiological responses of Atlantic salmon (*Salmo salar*) exposed to soft, acidic water during smolting. *Aquaculture*, 82: 229-244.
- Finstad, B., Jonsson, N., 2001. Factors influencing the yield of smolt releases in Norway. *Nordic J. Freshw. Res.* 75, 37-55.
- Fivelstad, S., Olsen A.B., Stefansson, S. Handeland, S., Waagbø, R., Kroglund, F. & Colt, J. Lack of long term sublethal effects of reduced freshwater pH alone on Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts subsequently transferred to seawater. Accepted for publication in: *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*
- Fivelstad, S., Olsen, A.B., Wågø, R., Zeitz, S, Hosfeld, A.-C.- D., and Stefansson, S. 2003. A major water quality problem in smolt farms: Combined effects of carbon dioxide, reduced pH and aluminium on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts: physiology and growth. *Aquaculture* 215: 339-357.
- Gensemer, R.W., and Playle, R.C. 1999. The bioavailability and toxicity of aluminum in aquatic environments. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 29: 315-450.
- Handeland, S.O., Jarvi, T., Ferno, A., and Stefansson, S.O. 1996. Osmotic stress, antipredator behaviour, and mortality of Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53: 2673-2680.
- Hansen, L.P. 1987. Growth, migration and survival of lake reared juvenile anadromous Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fauna Norw. Ser. A.* 8:29-34.
- Henriksen, A., Skogheim, O.K. & Rosseland, B.O. 1984. Episodic changes in pH and aluminium-speciation kill fish in a Norwegian river. *Vatten* 40: 255-260.
- Henry, T.B., Irwin, E.R., Grizzle, J.M., Wildhaber, M.L. & Brumbaugh, W.G. 1999. Acute toxicity of an acid mine drainage mixing zone to juvenile bluegill and largemouth bass. *Transactions of the American fish soc.* 128: 919-928.
- Herrman, R. & Baumgartner, I. 1992. Aluminum species distribution during mixing of acid coal and slate mine drainage with neutral steam waters. *Geologische Rundschau* 81: 759-767.
- Hesthagen, T., and Hansen, L.P. 1991. Estimates of the annual loss of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Norway due to acidification. *Aquac. Fish. Manag.* 22: 85-91.
- Hindar, A., Teien, H.C., Salbu, B. & Lierhagen, S. & Oug, E. 2000. Faktorer som påvirker aluminiumskjemien og dermed vannkvalitetsmålet for laks i Tovdals- og Mandalsvassdraget. NIVA rapport 4229: 81 s.
- Hvidsten, N.A., and Lund, R.A. 1988. Predation on hatchery-reared and wild smolts of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in the estuary of River Orkla, Norway. *J. Fish Biol.* 33: 121-126.
- Hvidsten, N.A., Kroglund, F. Holst, J.Chr. & Johnsen, B.O., 2002. Undersøkelser av smoltøkologi i Mandalselva.-NINA Oppdragsmelding 730, (23 s).
- Hytterød, S., Scholden, S., Vøllestad, A. & Poleo, A.B.S. 2001. Restituering hos fisk etter eksponering for surt Al-rikt vann. *Vann* 4b: 414-419.

- Ishikawa, K., Horimoto, H. & Hachinohe, N. 2001. Characteristics of Monomeric Al Concentration in An Acidified River. *Water, Air, & Solil. Pollut.* 130: 917-922.
- Jenssen, E. A. and Leivestad, H. 1989. Surt vann og smoltoppdrett (in Norwegian). Sluttrapport fra vannbehandlingsprosjektet Salar/BP 1984 – 1987: 1 - 82.
- Järvi, T. 1990. Cumulative acute physiological stress in Atlantic salmon smolts: the effect of osmotic imbalance and the presence of predators. *Aquaculture*, 89: 337–350.
- Karlsson-Norrgrén, L., Dickson, D., Ljungberg, O., and Runn, R. 1986. Acid water and aluminium exposure: gill lesions and aluminium accumulation in farmed brown trout, *Salmo trutta* L.. *J. Fish Dis.* 9: 1-9.
- Keinänen, M.C. Tigerstedt, P., Kälax, P & Vuorinen, P.J. 2003. Fertilization and embryonic development in whitefish (*Coregonus lavaretus lavaretus*) in acid low-ionic-strength water with aluminum. *Ecotoxicol. Environ.Safety.* 55: 314-329.
- Kjelsberg, B.M. 1997. Beskrivelse av restitueringsevnen hos brunørret (*Salmo trutta*) eksponert for ustabil Al-kjemi. Hovedfagsoppgave i zoologi, Universitetet i Oslo, 56 s.
- Kogi, O., Fuminari, I., Masaki, N. Teiichi, N. Motoyoshi, Y. & Atsush, Ii. 2001. Effects of Acid Stress on Reproductive Functions in Immature Carp, *Cyprinus Carpio*. *Water, Air, & Soil Pollut.* 130: 887-892.
- Korman, J. , Marmorek, D.R., Lacroix, G.L., Amiro, P.G., Ritter, J.A., Watt, W.D., Cutting, R.E. & Robinson, D. C. E. 1994. Development and evaluation of a biological model to assess regional-scale effects of acidification on Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 51: 662-680.
- Kroglund, F. 2001. Vannkvalitet er mer enn pH. pH status 2, s.7
- Kroglund, F., L. P. Hansen, M. Berntssen, B. O. Rosseland og Å. Åtland. 1994b. Effekt av kortvarig surstøt på vandringshastighet til laksesmolt. 4 s i: Vannkvalitetskriterier og laksefisk; en oppsummering av ulike prosjekt utført i 1993. I Kalking i vann og vassdrag FoU årsrapporter 1993, DN notat 1994-14.
- Kroglund, F., L.P. Hansen, M. Staurnes, B.O. Rosseland, M. Berntssen, T. van Berkum, H. Hektoen og R. Andersen. 1995. Utvandring og fysiologisk status til laksesmolt etter kortvarig, episodisk eksponering til moderat surt vann. I Kalking i vann og vassdrag FoU årsrapporter 1994, DN notat 1995-9.
- Kroglund, F., B. Finstad, M. Staurnes, B.O. Rosseland, H. Hektoen, T. van Berkum og M. Iversen. 1996a. Vannkvalitetskriterier til laksesmolt. Undersøkelse av smoltkvalitet i ulike vassdrag i 1994. I: Kalking i vann og vassdrag 1996. Fou-årsrapporter 1994. DN-notat 1996.
- Kroglund, F., B. Finstad, A. Kvellestad, B.M. Larsen og B.O. Rosseland. 1996b. Fastsettelse av forsureningsnivå i ulike Vestlandsvassdrag basert på økofysiologiske og økotoxikologiske metoder. DN-notat 1996.
- Kroglund, F., H.C. Teien B.O. Rosseland E. Lucassen B. Salbu og Å. Åtland 1998a. Endring i aluminiumsgiftighet i en humus-fattig elv ved bruk av kjemiske tiltak. Forsøk med laksesmolt i Suldalslågen. NIVA rapport lprnr. 3970-98, 102 s.
- Kroglund, F., Teien, H.C., Håvardstun, J., Rosseland, B.O., Salbu, B. og Kvellestad, A. 1998b. Varighet av blandsoner og betydningen av ulike aluminiumskonsentrasjoner og kalking for giftighet overfor lakseparr. Renneforsøk utført i Suldalslågen, høst 1996. NIVA-rapport 3815-98, 61 s.
- Kroglund, F., and Staurnes, M. 1999. Water quality requirements of smolting Atlantic salmon (*Salmo salar*) in limed acid rivers. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 56: 2078–2086.
- Kroglund, F., Teien, H.C., Rosseland, B.O., and Salbu, B. 2001a. Time and pH-dependent detoxification of aluminum in mixing zones between acid and non-acid river. *Water Air Soil Pollut.* 130: 905–910.
- Kroglund, F., Teien, H.C., Rosseland, B.O., Salbu, B. , and Lucassen, E.C.H.E.T. 2001b. Water quality dependent recovery from aluminum stress in Atlantic salmon smolts. *Water, Air and Soil Pollut.* 130, 911-916.
- Kroglund, F. Wright, R. & Burchart, C., 2002. Acidification and Atlantic salmon; critical limits for Norwegian rivers. NIVA-rapport 4501: 61s.
- Kroglund, F., and Finstad, B. 2003. Low concentrations of inorganic monomeric aluminium impair physiological status and marine survival of Atlantic salmon. *Aquaculture* 222:119-133.
- Lacroix, G.L., and Townsend, D.R. 1987. Responses of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) to episodic increases in acidity of Nova Scotia rivers. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44: 1475–1484.
- Lacroix, G.L. 1989. Ecological and Physiological Responses of Atlantic Salmon in Acidic Organic Rivers of Nova Scotia, Canada. *Water, Air, and Soil Pollut.* 46: 375-386.
- Lacroix, G. L. , R. H. Peterson, C. S. Belfry, and D. J. Martin Robichaud. 1993. Aluminum dynamics on gills of Atlantic salmon fry in the presence of citrate and effects on integrity of gill structures. *Aquat. Toxicol* 27: 373-402.
- Lydersen, E. , B. Salbu, A. -B. S. Poleo, and I. -P. Muniz. 1991. Formation and Dissolution Kinetics of Al(OH)₃ (s) in Synthetic Freshwater Solutions. *Water Resources Research*, Vol. 27, No. 3: 351-357.
- Leivestad, H., Jensen, E., Kjartansson H. and Xingfu, L. 1987. Aquas speciation of aluminium and toxic effects on Atlantic salmon. *Annl. Soc. r. zool. Belg.* 117- supplement 1: 387-398.

- Lydersen, E., Larssen, T. & Fjeld, E. 2001. TOC sin innvirkning på tålegrenseverdiene for ANC. Sakl vi inkorporere dette i fremtidige ANC-beregninger? *Vann 4b*: 390-400.
- Lydersen, E., A.B.S. Poleo, M. Nandrup Pettersen, G. Riise, B. Salbu, F. Kroglund, og B.O. Rosseland. 1994. The importance of 'in situ' measurements to relate toxicity and chemistry in dynamic aluminium freshwater systems. - *J. Ecol. Chem.* 3: 357-365.
- Lydersen, E., Löfgren, S. & Arnesen, R.T. 2002. Metals in Scandinavian surface waters: effects of acidification, liming, and potential reacidification. *CRC 32*: 73 s.
- Lydersen, E., Øxnevad, S., Østby, K., Andersen, R.A., Bjerkly, F., Vøllestad, A. & Poleo, A.B.S. 2002. The effects of ionic strength on the toxicity of aluminium to Atlantic salmon (*Salmo salar*) under non-steady state chemical conditions. *J. Limnol.*, 61(1): 69-76.
- Magee, J.A., Haines, T.A., Kocik, J.F., Beland, K.F., and McCormick, S. 2001. Effect of acidity and aluminum on the physiology and migratory behavior of Atlantic salmon smolts in Maine, U.S.A. *Water Soil Air Pollut.* 130: 881-886.
- Magee, J.A., Obedzinski, M., McCormick, S.D., and Kocik, J.F. 2003. Effects of episodic acidification on Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts. *Can. J. Aquat. Sci.* 60: 214-221
- Masaki, N., Kougii, O., Akira, K., Motoyoshi, Y., Teiichi, N. & Fuminari, I. 2001. Effect of Acidification Stress on Endocrine and Immune Functions in Carp, *Cyprinus Carpio*. *Water, Air, & Soil. Pollut.* 130: 893-898.
- McCormick, S. D., Hansen, L. P., Quinn, T. P., Saunders, R. L., 1998. Movement, migration, and smolting of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 55, 77-92.
- McKnight, D.M., & Fender, G.L. 1984. The ecological effect of acid conditions and precipitation of hydrous metal oxides in a Rocky Mountain stream. *Hydrobiologia* 119: 129-138.
- Mount, D. R., Ingersoll, C.G., Gulley, D.D., Fernandez, J.D., LaPoint, T.W. Bergman, H.L., 1988. Effect of long-term exposure to acid, aluminum, and low calcium on adult brook trout (*Salvelinus fontinalis*). 1. Survival, growth, fecundity, and progeny survival. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45, 1623-1632.
- Mueller, M.E., D.A. Sanchez, H.L. Bergman, D.G. McDonald, R.G. Rhem, og C.M. Wood. 1991. Nature and Time Course of Acclimation to Aluminum in Juvenile Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*). II. Gill Histopathology. - *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 48: 2016-2027.
- Muniz, I. P. and Leivestad, H. 1980. Toxic effects of aluminium on the brown trout, *Salmo trutta* L. *In Ecological impact of acid precipitation*. Edited by D. Drabløs and A. Tollan. SNSF project, Oslo – Ås: 84-92.
- Neville, C. M. 1985. Physiological response of juvenile rainbow trout, *Salmo gairdneri*, to acid and aluminium - prediction of field responses from laboratory data. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42: 2004-2019.
- Orr, P. L., Bradley, R.W., Sprague, J.B., Hutchinson, N.J., 1986. Acclimation-induced change in toxicity of aluminum to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 43, 243-246.
- Oughton, D.H., Salbu, B., Bjørnstad, H.E. & Day, J.P. 1992. Use of an aluminum-26 tracer to study the deposition of aluminium-species to fish gills following mixing of limed and acidic river waters. *Analyst* 117, 619 - 621.
- Peterson, R. H. Bourbonniere, R.A. Lacroix, G.L: Martin Robichaud, D.J., Takats, P. & Brun. G. 1989. Responses of Atlantic salmon (*Salmo salar*) alevins to dissolved organic carbon and dissolved aluminum at low pH. *Water. Air. Soil Pollut.* 46: 399-413.
- Pickering, A. D. 1981. Introduction: The concept of biological stress. *In Stress and Fish*. Edited by A.D. Pickering. Academic Press, London, pp. 1-9.
- Poleo, A.B.S., Scholden, J. & Hytterød, S. 2001. Adaptasjon hos fisk eksponert for surt Al-rikt vann. *Vann 4b*; 420-426.
- Poléo, A.B.S., Lydersen, E., Rosseland, B.O., Kroglund, F., Salbu, B. Vogt, R. and Kvellestad, A. (1994). Increased mortality of fish due to changing Al-chemistry of mixing zones between limed streams and acidic tributaries. *Water, Air, and Soil Pollut.* 75: 339 - 351.
- Reid, S.D., McDonald, D.G., Rhem, R.R., 1991. Acclimation to sublethal aluminum: Modifications of metal-gill surface interactions of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 48, 1996-2005.
- Rosseland, B.O. 1980. Effects of acid water on metabolism and gill ventilation in brown trout, *Salmo trutta* L., and brook trout, *Salvelinus fontinalis* Mitchill. *In: Drabløs, D. and Tollan, A. (eds.): Ecological impacts of acid precipitation*, p. 348-349, SNSF-project.
- Rosseland, B.O., I. Blakar, A. Bulger, F. Kroglund, A. Kvellestad, E. Lydersen, D.H. Oughton, B. Salbu, B., M. Staurnes, og R. Vogt. 1992. The mixing zone between limed and acidic river waters: complex aluminium chemistry and extreme toxicity for Salmonids. *Environmental Pollution*, 78 : 3-8.
- Rosseland, B.O., and Staurnes. M. 1994. Physiological mechanisms for toxic effects and resistance to acidic water: an ecophysiological and ecotoxicological approach. *In Acidification of Freshwater Ecosystems: Implications for the Future*. Edited by C. E.W. Steinberg and R. F. Wright. John Wiley & Sons Ltd. pp. 228-246.

- Rosseland, B.O., K. Maroni, B. Salbu, og T. Rosten. 2000. Vannkvalitetsundersøkelsen '99. Resultater fra undersøkelser av 53 settefiskanlegg våren 1999 mht. råvann, driftsvann, vannkjemisk miljø i fiskekar og aluminium og jern på gjeller av laksesmolt. Kompendium KPMG, NIVA, LAK/IBK-NLH (sperret).
- Rosseland, B.O., F. Kroglund, M. Staurnes, K. Hindar, og A. Kvellestad. 2001. Tolerance to Acid Water Among Strains and Life Stages of Atlantic Salmon (*Salmo Salar* L.). *Water, Air, and Soil Pollut.* 130: 899-904.
- Sandøy, S. & Romundstad, A.J. 1995. Liming of acidified lakes and rivers in Norway. *Water, Air, and Soil Pollut.* 85: 997-1002.
- Saunders, R.L., Henderson, E.B., Harmon, P.R., Johnston, C.E., and Eales, J.G. 1983. Effects of low environmental pH on smolting of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 40: 1203-1211.
- Skjelkvåle, B. L., Henriksen, A., Faafeng, B., Fjeld, E., Traaen, T. S., Lien, L., Lydersen, E., and Buan, A. K. 1996. Regional innsjøundersøkelse 1995. En vannkjemisk undersøkelse av 1500 norske innsjøer. Statlig program for forurensningsovervåking Rapport 677/96, Statens forurensningstilsyn, Oslo, Norway. 73 pp.
- Staurnes, M., P. Blix og O.B. Reite. 1993a. Effects of acid water and aluminium on parr-smolt transformation and sea water tolerance in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1816-1827.
- Staurnes, M., G. Lysfjord, L.P. Hansen og T. G. Heggberget. 1993b. Recapture rates of hatchery-reared Atlantic salmon (*Salmo salar*) related to smolt development and time of release. *Aquaculture*, 118: 327-337.
- Staurnes, M., F. Kroglund, og B.O. Rosseland. 1995. Water quality requirement of Atlantic salmon in water undergoing acidification and liming in Norway. *Water, Air, and Soil Pollut.* 85: 347-352.
- Staurnes, M., Hansen, L.P., Fugelli, K., and Haraldstad, O. 1996. Short-term exposure to acid water impairs osmoregulation, seawater tolerance, and subsequent marine survival of smolts of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53: 1695-1704.
- Staurnes, M., Sigholt, T. and Reite, O.B. 1984. Reduced carbonic anhydrase and Na-K-ATPase activity in gills of salmonids exposed to aluminium containing acid water. *Experientia* 40, 226-227
- Sumpter, J. P. 1997. The endocrinology of stress. *In Fish Stress and Health in Aquaculture*. Edited by G. K. Iwama, A. D Pickering, J. P. Sumpter and C. B. Schreck. Cambridge University Press, Cambridge pp. 95-118.
- Sunde, S.E. 1926. Acid water kills fry of salmon and trout. *Norsk Jæger- og Fiskefor. Tidsskr.* 2: 1-4 (in Norwegian).
- Thorstad, E.B., Økland, F., Kroglund, F. & Jepsen, N. 2003. Upstream migration of Atlantic salmon at a power station on the River Nidelva, Southern Norway. *Fisheries Management and Ecology*, 2003, 10, 1-8.
- Verbost, P.M., M.H.G. Berntssen, F. Kroglund, E. Lydersen, H.W. Witters, B.O. Rosseland, B. Salbu, og S.E. Wendelaar Bonga. (1995). The toxic mixing zone of neutral and acidic river water: acute aluminium toxicity in brown trout (*Salmo trutta* L.). *Water, Air, and Soil Pollut.* 85: 341 - 346.
- Wedemeyer, G.A., Saunders, R.L., Clarke, W.C., 1980. Environmental factors effecting smoltification and early marine survival of anadromous salmonids. *Mar. Fish. Rev.* 42, 1-14.
- Wood, C.M., McDonald, D.G., Booth, C.E., Simons, B.P., Ingersoll, C.G., Bergman, H.L., 1988. Physiological evidence of acclimation to acid/aluminum stress in adult brook trout (*Salvelinus fontinalis*). I. Blood composition and net sodium fluxes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45, 1587 - 1596.
- Ytrestøy, T., Finstad, B. McKinley, R.S., 2001. Swimming performance and blood chemistry in Atlantic salmon (*Salmo salar*) spawners exposed to acid water with elevated aluminium concentrations. *J. Fish. Biol.* 58, 1025-1038.
- Zaugg, W. S., and McLain L. R. 1982. A simplified preparation for adenosine triphosphate determination in gill tissue. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 39: 215-217.
- Åtland, Å. and Barlaup, B.T. 1995. Avoidance of toxic mixing zones by Atlantic salmon (*Salmo salar*) and brown trout (*Salmo trutta*) 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 studies. Dr. scient. thesis. 103 pp. University of Bergen, Norway 1996.
- Åtland, Å. Bjerknes, V. Barlaup, B., Kvellestad, A., Raddum, G.G., Sundt, R. 1998. Undersøkelse av regulerte vassdrag med anadrome fiskebestander i Høyanger kommune, Sogn og Fjordane. NIVA-rapport 3812-98; 72s.
- Sandøy, S. - Langåker, R.M. 2001. Atlantic Salmon and Acidification in Southern Norway: A Disaster in the 20th Century, but a Hope for the Future? *Water, Air, and Soil Pollut.* 130: 1343
- Sangalang, G.B., Freeman, H. C., Uthe, J.F. & Sperry, L-S. 1990. Effects of diet or liming on steroid hormone metabolism and reproduction in Atlantic salmon (*Salmo salar*) held in an acidic river. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 47:2422-2430.