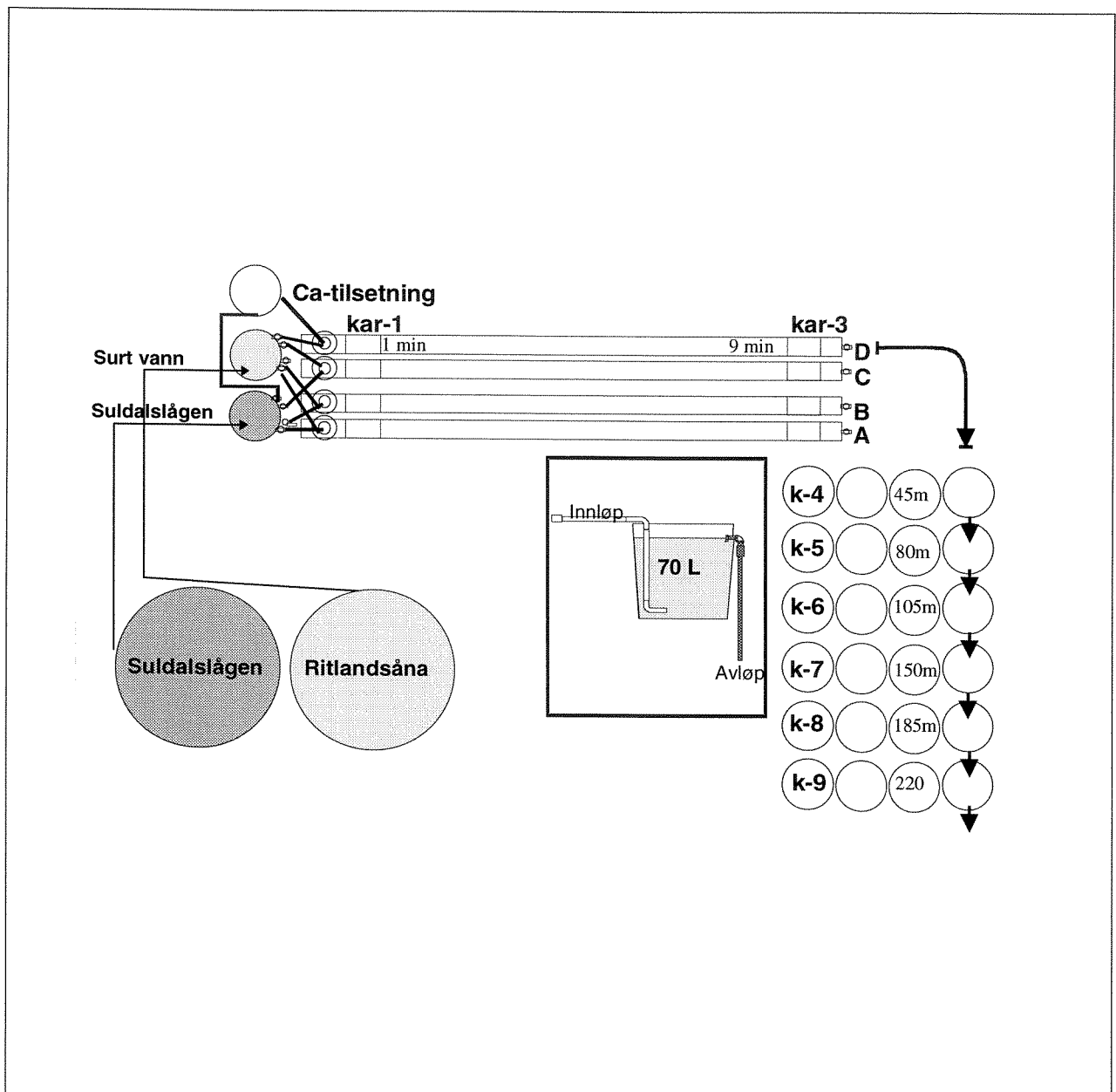


Varighet av ustabil og skadelig aluminiumskjemi på giftighet overfor lakseparr

Renneforsøk utført i Suldalslågen, høst 1996



Hovedkontor

Postboks 173, Kjelsås
0411 Oslo
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 22 18 52 00

Sørlandsavdelingen

Televeien 1
4890 Grimstad
Telefon (47) 37 04 30 33
Telefax (47) 37 04 45 13

Østlandsavdelingen

Rute 866
2312 Ottestad
Telefon (47) 62 57 64 00
Telefax (47) 62 57 66 53

Vestlandsavdelingen

Thormøhlensgt 55
5008 Bergen
Telefon (47) 55 32 56 40
Telefax (47) 55 32 88 33

Akvaplan-NIVA A/S

Søndre Tollbugate 3
9000 Tromsø
Telefon (47) 77 68 52 80
Telefax (47) 77 68 05 09

Tittel Varighet av ustabil og skadelig aluminiumskjemi på giftighet overfor lakseparr; renneforsøk utført i Suldalslågen, høst 1996.	Løpenr. (for bestilling) 3815-98	Dato 1998.2.20
	Prosjektnr. Undernr. O-96085 2	Sider Pris 64
Forfatter(e) Kroglund, F. Teien, H.C. Håvardstun, J. Rosseland, B.O. Salbu, B. Kvellestad, A.	Fagområde Sur nedbør/kalking	Distribusjon Åpen
	Geografisk område Vestlandet	Trykket NIVA

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

<p>Sammendrag</p> <p>Lakseparr fra Suldalslågen ble i fire renner eksponert til blandinger med surt og nøytralt vann med ulik alder (tid fra blanding var fra 0-220 minutter). I hver renne ble det blandet henholdsvis 6, 16 eller 33 volumprosent surt råvann og 94, 84 eller 67 volumprosent "godt" råvann fra Suldalslågen. Eksperimentet skulle simulere tilførsler av sure sideelver og blandsoner i Suldalslågen. pH-endring vil føre til aluminiumspolymerisering. Det ble registrert aluminiumsrelaterte effekter på fisk i blandsonen. Graden av effektene kunne relateres til Al-konsentrasjon. Effektene avtok med økende avstand fra blandingspunktet. Endringer i effekter målt på fisk kunne relateres til endringer i høymolekylært positivt ladd aluminium. En renne med kalket vann fra Suldalslågen ble tilført 33 volumprosent surt vann. I denne rennen avtok giftigheten til aluminium betydelig raskere enn i de rennene der vannet fra Suldalslågen var ukalket. Dette tyder på at kalking av klarvannselver til et pH-nivå av 6.4 gir bedre og raskere avgifting og beskyttelse mot blandsonereffekter enn det som oppnås med lavere pH-mål.</p>

<p>Fire norske emneord</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Forsuring 2. Aluminium 3. Laks 4. Blandsoner 	<p>Fire engelske emneord</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Acidification 2. Aluminium 3. Salmon 4. Mixing zones
---	---



Frode Kroglund
Prosjektleder

ISBN 82-577-3393-8



Merete Johannessen
Forskningsdirektør

**Varighet av ustabil og skadelig aluminiumskjemi
på giftighet overfor lakseparr;**

renneforsøk utført i Suldalslågen, høst 1996.

Forord

Fram til 1997 har det pågått to større forskningsprogram i Suldalslågen. FUS-prosjektet (forsuringsutviklingen i Suldalslågen) hadde i Suldalslågen til oppgave å undersøke vannkvaliteten i vassdraget mens LFS-prosjektet (Lakseforsterkningsprosjektet) skulle undersøke betydningen av reguleringen på blant annet fisk og evertebrater. FUS-prosjektet har påvist at det foreligger mulighetene for både forsuring av og tilstedeværelse av områder med ustabile tilstandsformer til aluminium (blandsoner) (Blakar, 1995). Vannkvalitetsrelaterte årsaker til endringer i populasjonsstruktur hos laks er ikke undersøkt av LFS-prosjektet. Prosjektet har i hovedsak studert betydningen av reguleringen og regulerings-relaterte faktorer på bestandsutviklingen. Innen prosjektet er det så langt konkludert med at forsuring ikke har betydning for utviklingen av fisket i vassdraget (Saltveit, 1995).

For å evaluere betydningen av forsuring igangsatte DN i 1996 et større 3-årig prosjekt i Suldalslågen. FOKUS-prosjektet (Forsuring- og kalking utredning av Suldalslågen) hadde til hensikt å studere betydningen av vannkjemi for fisk i vassdraget. Effekter målt på fisk i forsøk (denne rapporten samt Kroglund m.fl., 1998a) er forsøkt samholdt med observerte tilstander hos stedegen fisk i vassdraget. Data fra naturlige fiskebestander og vannkjemi er rapportert av Kroglund m.fl., 1998c.

FOKUS-prosjektet er et samarbeidsprosjekt mellom NIVA, NINA og LAK, NLH hvor prosjektansvaret er plassert både hos NIVA og NINA.

Klekkeribestyrer Øyvind Vårvik takkes for et godt samarbeide gjennom prosjektperioden. Uten hans hjelp ville utføring av delprosjektene ha blitt vesentlig mer komplisert.

Grimstad, februar 1998

Frode Kroglund

Innhold

1. Innledning	9
2. Metode	11
2.1 Fysiske forhold	11
2.1.1 Måling av oppholdstider og blandingsforhold	12
2.2 Kjemi	14
2.2.1 Feltmetoder	14
2.3 Forsøksfisk	17
2.3.1 Kriterier for vurdering av effekter på bakgrunn av fysiologiske parametre	18
2.3.2 Definerings av vannets aldringstid for dose-respons vurdering	19
3. Resultater og diskusjon	20
3.1 Vannkjemi	20
3.1.1 pH	20
3.1.2 Kalsium	20
3.1.3 Andre kjemiske variable	21
3.1.4 Aluminium i råvannskilder	22
3.1.5 Aluminium i rennene	24
3.1.6 Vurdering av vannkjemi	28
3.2 Fisk	31
3.2.1 Eksponering i råvannkildene	31
3.2.2 Eksponeringer i renne A til -D	33
3.2.3 Betydning av akkumulert teoretisk oppholdstid (aldring)	40
3.2.4 Ulike feltobservasjoner	42
3.3 Vurdering av vannkvalitet og effekter	43
3.3.1 Renne A og D; kalking	43
3.3.2 Renne A, B og C; fortynning	45
4. Samlet vurdering og konklusjon	49
5. Referanser	54

Sammendrag

Det ble i september 1996 gjennomført renneforsøk med simulering av blandsoner mellom surt vann (simulerte sure sidevassdrag; pH 5.6; 90µg Ali/L) og ukalket/kalket vann fra Suldalslågen (pH 6.3; 3µg Ali/L). Fire renner (A- D) ble brukt: "A" (33% vann fra sur kilde, 77% fra Suldalslågen), "B" (16% vann fra sur kilde, 84% fra Suldalslågen), "C" (6% vann fra sur kilde, 94% fra Suldalslågen) og "D" (33% vann fra sur kilde og 77% fra Suldalslågen som var pH-justert til pH 6.7 med Ca(OH)₂). Renne D var en kontroll til renne A ettersom begge skulle ha samme teoretiske Al-konsentrasjon. Renne A, B og C representerte en fortynningsgradient med hensyn til pH og Al.

I samtlige utførte blandsonerforsøk er det påvist endringer i tilstandsformene til Al. Vi har basert flere års arbeid på hypotesen; *aluminium foreligger på enkle tilstandsformer i stabilt surt vann. I "blandsoner" vil det dannes reaktive og akutt giftige positivt ladde former av Al. Disse Al-formene vil deretter tape ladning gjennom en polymeriseringsprosess og bli ugiftige.* Vi har i dette forsøket lagt opp et eksperimentelt arbeid hvor Al fraksjonering i felt skal gi informasjon om endringer i tilstandsformer til Al for modellen ovenfor. Basert på Al-målinger i felt (*in situ*), var det indikasjoner på at lakseparr eksponert til ustabile vannkvaliteter med tot-Ali konsentrasjoner på >10 til 25 µg Ali/L ble påvirket i en negativ retning. Tot-Ali-konsentrasjoner målt etter 1 uke lagring av vannprøvene var lavere enn konsentrasjonene målt i felt. I renne D (kalket renne) ble konsentrasjonen redusert fra 20 til 4 µg Ali/L som følge av lagring. Dette innebærer samtidig at ved tradisjonell prøvetaking og analyse av aluminium ville 4 µg Ali/L bli vurdert som skadelig.

Avgiftingshastigheten var markert forskjellig mellom renne A og D. Det ble påvist negative effekter på fisk 4 timer etter blanding i renne A, mens effektene i hovedsak var borte etter vel 10 minutter i renne D. Denne forskjellen må tilskrives kalking av det gode vannet før blanding. Vi kan ikke basert på dette forsøket fastsette om forskjellen i avgiftingsrate var forårsaket av pH eller av Ca-tilsetningen. I senere forsøk er det ønskelig å kunne skille pH fra ionestyrke/Ca komponenten da dette kan ha betydning for det operasjonelle kalkingsmålet (pH-basert kalkingsmål).

Resultatene viser god overensstemmelse mellom biologiske effekter og de ulike målte Al-tilstandsformene, og er i samsvar med hypotesene som ligger til grunn for virkningsmodellen. God sammenheng mellom dannelsen av høymolekylært-Al og biologiske effekt er også i overensstemmelse med hypotesen. Lavmolekylært-Ali ble også akkumulert på gjellene, selv etter 4 timer aldring av vannet. Denne akkumuleringen hadde sannsynligvis mindre biologisk betydning enn Al akkumulert tidligere i blandsonen. Den andelen lavmolekylært-Ali som fortsatt var tilstede i vannet selv timer og døgn etter pH-økning var sannsynligvis ikke biologisk reaktivt, men vil inkluderes ved analyse av tot-Ali. Kun måling av tot-Ali kan dermed medføre at giftigheten til vannet overestimeres. *In situ* størrelsesfraksjonering av Al med påfølgende ionebytting øker kvaliteten på Al-analysene i forhold til å vurdere giftigheten overfor fisk.

I samtlige forsøk utført på ustabile tilstandsformer til Al er det påvist:

- negative effekter på fisk nedstrøms blandpunktet (fysiologiske eller/og histologiske).
- effektene avtar med økende avstand (tid) fra blanding.
- avgiftingshastigheten varierer med temperatur, pH, kalsiumtilsetning og/eller ionestyrke.
- avgiftingshastigheten kan variere fra minutter til timer avhengig av det vannkjemiske miljø.

- fortynning av giftig vann med ugiftig vann vil redusere det effektive areal som er påvirket.
- området nedstrøms blandpunktet kan i enkelte tilfeller være mer giftig (dødelig) enn det sure råvannet var på tross av at Al-konsentrasjonen var lavere og pH var høyere enn 6.0.
- Tot-Ali avtar med økende tid fra blanding, noe som antas skyldes dannelse av høymolekylært (HMW) Ali umiddelbart etter pH-økning, som med påfølgende aldring taper reaktivitet og ikke lengre holdes tilbake på en ionebytter.
- Endringsraten til HMW-Ali synes å være viktig for å kunne forklare de registrerte biologiske effektene.
- Den biologiske betydningen av de negative påvirkningene vil avhenge av både art, livsstadium og fiskens forhistorie samt av ulike kjemiske og fysiske vassdragsrelaterte faktorer.

Usikkerheter forbundet med Al-analyse i et vassdrag hvor blant annet alder til vannet etter endring i pH og blandingsforhold ikke uten videre kan defineres, unngås i et kontrollert forsøk. Men vi kan ikke uten videre overføre betydningen av effekter målt på fisk i kontrollerte forsøksoppsett til skader på bestandsnivå i naturlige elver. Likevel vil fiskeforsøkene illustrerer noen av mekanismene og prosessene som også vil være tilstede i et vassdrag.

Summary

Title: The duration of unstable toxic forms of aluminium after liming and the importance of pH in reducing the mixing zone toxicity for parr of Atlantic salmon (*Salmo salar*).

Year: 1998

Author: Kroglund, F., H.C.Teien, J.Håvardstun, B.O.Rosseland, B.Salbu and A.Kvellestad.

Source: Norwegian Institute for Water Research, ISBN No.: ISBN 82-577-3393-8

In September 1996, chemical and biological effects of mixing acid Al-rich tributary water (pH 5.6; 90 µg Ali/L) with non-acid water from River Suldalslågen (pH 6.3; 3 µg Ali/L) was simulated in a channel experiment. Four channels (A-D) were used: "A" (33 volume % water from the acid source, 77 volume % from Suldalslågen), "B" (16 volume % water from the acid source, 85 volume % from Suldalslågen), "C" (6 volume % water from the acid source, 94 volume % from Suldalslågen) and "D" (33 volume % acid water and 77 volume % water from Suldalslågen, where the water has been pH-adjusted from pH 6.3 to pH 6.7 using Ca(OH)₂). Channel D functioned thus as a control to channel A, as both should have identical Al-concentrations provided no pH effect. Channel A, B and C represents primarily an aluminium dilution gradient as all Al was derived from the acid water.

Transformation of aluminium has been documented in all "mixing zone" experiments performed so far. We have based several years research on the hypothesis; *aluminium exists on simple low molecular weight forms in stable acid water. In "mixing zones" reactive and acutely toxic positive charged high molecular weight aluminium is formed. These forms of aluminium will, after loss of cationic and reactive properties through polymerisation, become non-toxic.* This experiment was designed so that Al-fractionation *in situ* should give information concerning changes in Al for the above model. Water was aged after mixing for 4 h as opposed to previous experiments where ageing only lasted for 15 minutes. Based on the *in situ* measurements of Al, there were indications suggesting that parr of Atlantic salmon exposed to tot-Ali concentrations from >10 to 25 µg Ali/L were affected negatively. Tot-Ali measured after one week storage of water samples was lower than the concentrations measured *in situ*. In channel D (limed) the concentration was reduced from 20 to 4 µg Ali following storage. This implies that by using traditional water sampling and analysis, 4 µg Ali/L would in this case have been regarded as toxic.

The detoxification rate differed between channel A and D. While toxic responses were present after 4 h ageing in channel A, negative effects were on the whole disappeared after 10 minutes ageing in channel D. This difference must be ascribed to the differences in pH, Ca-concentration or increased ionic strength after mixing. In future experiments it would be beneficial to separate these two factors as it might have implications for the pH target for liming.

The results showed good agreement between biological responses and changes in measured forms of Al, all in agreement with the hypothesis presented above. Good agreement between the initial production and subsequent loss of high molecular weight Ali and measured biological effect are also in agreement with the hypothesis. Low molecular weight Ali, still measured in the samples after 4 hour ageing, seem to have little/less biological significance, but was still accumulated on the gills. This form of Ali would be included in the tot-Ali measurements causing a possible overestimation of toxicity when evaluation is based on water samples only. *In situ* size fractionation combined with *in situ* charge fractionation improves the quality of the Al-analysis relative to estimated biological effects.

In all experiments regarding unstable forms of Al, the results show:

- negative effects on fish downstream the confluence between acid and neutral waters (physiological and histological responses).
- the responses are reduced with increased distance (time) from mixing.
- the detoxification rate is influenced by temperature, pH, calcium concentration and/or ionic strength.
- the detoxification rate can vary from minutes to hours dependant on the water chemical environment.
- the area immediate downstream the confluence (mixing point) can, under certain circumstances, be more toxic (lethal) than the acid water itself, despite lower concentrations of Al and high pH (pH >6).
- tot-Al concentration decreases with increased time from mixing. This is assumed to be caused by polymerisation, increasing the HMW-Al concentration. Through loss of charge properties, HMW-Al becomes less reactive and is not longer ion-exchanger reactive or reactive to fish gills.
- the rate of change in HMW-Al seems to be important for the explanation of the biological responses detected.
- the biological implication of the negative properties of unstable Al (mixing zones) will depend on species, life stage and the pre-exposure history of the fish, together with differences in water chemical and hydrological parameters.

The uncertainties associated with Al analysis in rivers, where mixing and ageing of water is not accountable for, is eliminated in a channel experiment. But we cannot however without reservations transform the fish responses from the channel experiments to indigenous salmon populations. The results however illustrates some of the mechanisms and processes that can be present in a natural watershed.

English translations of Table and Figure legends are given in appendix 1.

1. Innledning

En lang rekke arbeider i de siste 25 år har vist at stabilt surt vann synes å ha sin største giftighet ved pH 5.0-5.5, og at giftigheten er koblet til virkningen av aluminium (Al) (se bl.a. Schofield m.fl., 1977; Dickson, 1978; Howells m.fl., 1983; Leivestad m.fl., 1987). Likeledes er det rapportert dødelighet eller fysiologiske skader i overmettede aluminiumsløsninger (Skogheim m.fl., 1984; Rosseland og Skogheim, 1984; Dickson, 1983; McCahon m.fl., 1989; Hutchinson m.fl., 1989). I de senere år er det imidlertid dokumentert skadelig eller dødelig vannkvalitet også ved høyere pH (pH > 6). Felles for disse tilfeller er at det er en kilde med surt Al-rikt vann til miljøet, for eksempel i områder nedstrøms samløp mellom sure aluminiumsholdige vannkilder og vann med høyere pH. Skadelig vannkjemi i disse tilfellene skyldes ustabil aluminiumskjemi, såkalt "blandsoneskjemi", (Rosseland m.fl., 1992; Kroglund m.fl., 1993b; Lydersen m.fl., 1994; Poléo m.fl., 1994; Verbost m.fl., 1995).

I blandsoner vil tilstandsformene til aluminium endres med tiden, giftige reaktive Al-polymerer vil produseres momentant, og vil foreligge i vannfasen inntil prosessen har kommet til likevekt. nedstrøms "møtepunktet" kan ustabile blandsoner med giftig Al ha et betydelig arealutstreking. Blandsoner nedstrøms samløp mellom sure bekker og kalket vann ble første gang påvist ved forsøk i Audna i 1989 (Rosseland og Hindar, 1991, Rosseland m.fl., 1992). Skadelige blandsoner vil kunne forekomme etter kalking av innsjøer (Wright og Skogheim, 1983), nedstrøms kalkingsanlegg og etter innblanding av sure sidebekker i kalket vann (Rosseland og Hindar, 1991). Andre tilfeller kan være etter innblanding av sure sidevassdrag i hovedelver med pH høyere enn 6 og fortsatt god bufferkapasitet; f.eks. Vosso (Kroglund m.fl., 1993a; 1996; 1998c) eller Suldalslågen (Kroglund m.fl., 1998b) eller i estuarine områder når sure Al-holdige elver renner ut i fjordsystemet (Rosseland m.fl., 1997). "Giftvirkningen" oppstår momentant ved blanding og har en "levetid" som er avhengig av reaksjonshastighet for polymeriseringsprosessen. Ved lav temperatur er "levetiden" lang (Lydersen, 1990). Blandsonens utstreking og "giftighetens" omfang og varighet vil særlig være avhengig av mengde Al som transformeres, pH-forskjellen mellom vannkildene, kalsiuminnhold og/eller ionestyrke, samt hydrologiske forhold (vannhastighet, innblandingsforhold, fortynning) og temperatur (Lydersen, 1995).

I en rekke forsøk utført på 90-tallet er det vist at blandsoner innebærer en tidsavgrenset og ofte akutt økning i giftighet forårsaket av ustabile aluminiumsforbindelser (Rosseland m.fl., 1992; Kroglund m.fl., 1993b; Poléo m.fl., 1994; Lydersen m.fl., 1994). Avgiftingsratene, dvs. hvor lang tid en ulikevektsituasjon påvirker fisken negativt (fysiologisk eller histologisk), er ikke undersøkt i disse forsøkene. Da tid i denne sammenheng er bestemmende for hvilket elveareal som kan bli berørt, betyr det at det er vanskelig å fastslå blandsoners økologiske betydning.

Å definere "forhistorien" til vannet på et bestemt sted i et vassdrag er umulig. Dette problemet unngås i kontrollerte renneforsøk hvor man har kontroll med alle tilsetninger og blandinger, og den etterfølgende aldringsprosess av vannet (Lydersen m.fl., 1994; Poléo m.fl., 1994; Verbost m.fl., 1995). Renneforsøk kan således belyse mekanismer, prosesser og egenskaper som også vil være tilstede i naturlige vassdrag. Forståelsen av mekanismene og prosessene i renneforsøk, vil deretter til en viss grad overføres til vassdrag ved å inkludere hydrologiske data. Resultat fra forsøk må imidlertid ikke overføres til enkeltvassdrag ukritisk.

I tidligere refererte blandsonforsøk har aldringstiden av vannet etter blanding aldri oversteget 15 minutter. Fysiologiske effekter og gjelleskader er observert etter 17 minutters aldring på fisk i settefiskanlegg, med forbedring etter ca. 30 minutt (Rosseland m.fl., 1996). Kroglund m.fl. (1994c) beskrev i forsøk at man så betydelig forskjell på skadebildet til fisk eksponert til samme vannkvalitet i 35 minutter i forhold til i 700 minutter. Forskjellen i skadeomfang må tilskrives forskjeller i alder på

vannet. I forsøk utført i en rekke Vestlandselver med tilsynelatende god vannkvalitet i hovedelva, men med sure sidevassdrag innen nedslagsfeltet, ble det konkludert med at man kunne påvise forsuringsrelaterte effekter på laksesmolt. De observerte endringene kunne indikere mulig skade. Dersom denne konklusjonen er riktig må vannkvaliteten som dannes etter blanding av surt og godt vann opprettholdes som skadelig i timer på tross av høy pH (Kroglund m.fl., 1995; 1996). Dersom den giftige effekten av ustabil aluminiumskjemi kan opprettholdes i timer vil varigheten av, og dermed den økologiske betydningen av blandsoner, sannsynligvis øke. Det er derfor viktig å studere effekter av ulike tilstandsformer av Al på bl.a. lakseparr og smolt over lengre aldringstid av vann enn det som er utført tidligere. Videre må resultat fra forsøk koples opp mot naturlige bestander og vannkjemi i vassdrag. Dette gjøres i FOKUS-prosjektet.

For å undersøke om laksestammen i Suldalslågen er påvirket av blandsoneskjemi, ble følgende problemstillinger reist:

- 1) Hvor lave nivåer av aluminium vil ved ulike pH-nivåer i blandsoner virke negativt på ulike stadier av laks.
- 2) I hvor lang tid etter blanding vil blandsonen kunne medføre fysiologiske og histologiske endringer hos fisk.

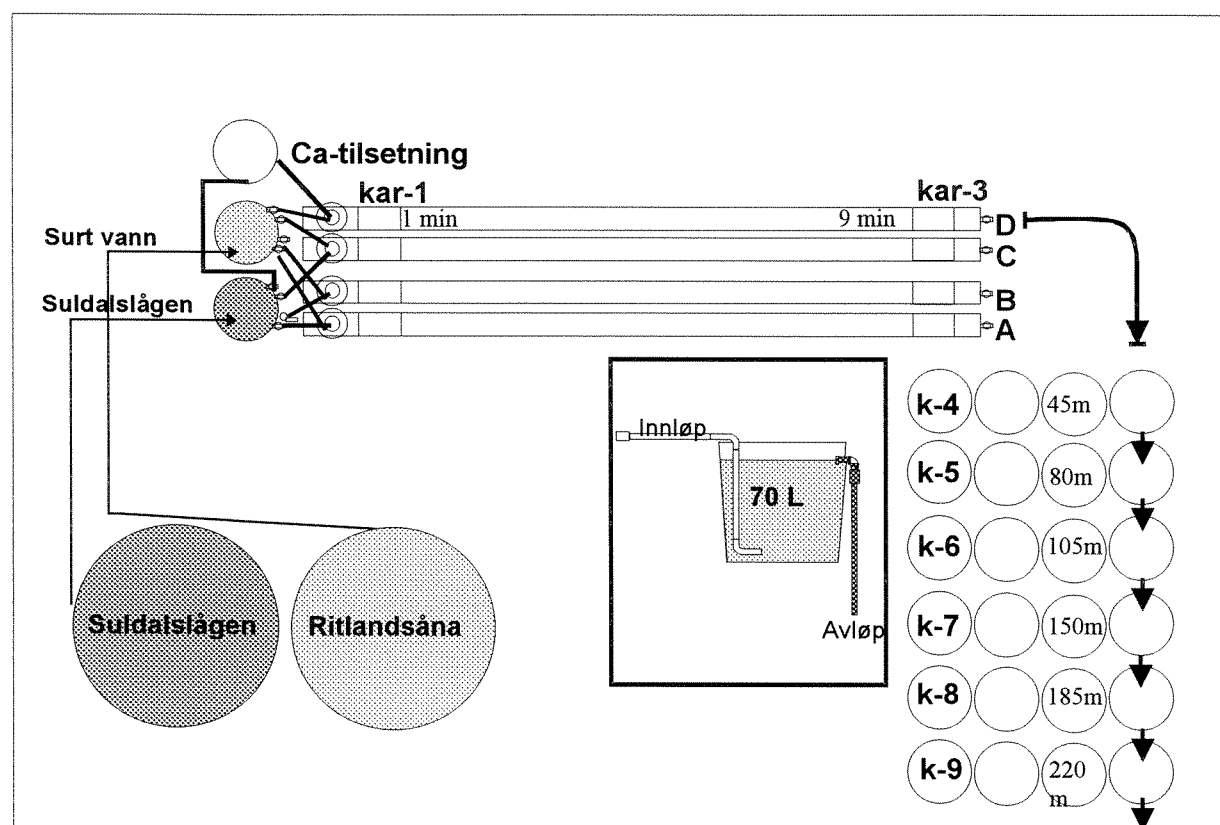
I karforsøk utført våren 1996 ble laksesmolt eksponert til vann aldret inntil 45 minutter (Kroglund m.fl., 1998a). Samtidig ble elvebestanden undersøkt (Kroglund m.fl., 1998b). Her rapporteres resultat fra forsøk utført høsten 1996 hvor lakseparr ble eksponert i fire ulike renner og til vann aldret fra 1 minutt til snaut 4 timer. Vannkvaliteten i rennene ble manipulert ved å tilsette 7, 15 og 30 volumprosent surt aluminiumsholdig vann fra et surt sidevassdrag til vann fra selve Suldalslågen.

2. Metode

2.1 Fysiske forhold

Forsøkene ble utført på fiskeanlegget ved Ritland i Suldal i perioden 21. - 28. september 1996. To råvannkvaliteter ble brukt i forsøket. "Godt råvann" er ubehandlet vann fra Suldalslågen og "surt råvann" er pH-justert vann fra Ritlandsåna tilsatt aluminium. Fiskeforsøkene ble utført i fire identiske separate vannstrømmer, hver bestående av en 7.5 m lang renne og seks 90 L kar. Surt vann og vann fra Suldalslågen ble blandet kontinuerlig forut for hver renne i en 2 L trakt og ledet fram til en perforert bølge fylt med plastnetting for å sikre god blanding. Fremgangsmåten sikret at alt vann var blandet og man unngikk laminære strømmer/områder med ublandet råvann, noe som ble bekreftet med tilsetning av Rhodamine B (som farget vannet rødt). Målte vannføringer, blandingsforhold og effekt på temperatur er angitt i tabell 1.

Rennene vil gi god tidsoppløsning med hensyn til dokumentasjon av vannkjemiske endringer, mens kar plassert i kjede vil gi dårligere tidsoppløsning men mulighet for å oppnå lang aldring av vannet. Fordelen med dette oppsettet er at man både kan påvise raske endringer umiddelbart etter blanding og studere betydningen av langvarig aldring av vannet i samme forsøk (figur 1). Fisk ble eksponert til to stasjoner i rennene og til fire stasjoner i kar. Fisk ble samtidig eksponert i et tilsvarende oppsett med hensyn på surt råvann og vann fra Suldalslågen.



Figur 1. Renne, stasjonplassering og stasjonnummerering. Renne A og D hadde 30 volumprosent tilsetning av surt vann, mens renne B og C hadde henholdsvis 15 og 7 volumprosent tilsetning av surt vann. Renne D hadde samme Al-konsentrasjon som renne A, men vann fra Suldalslågen ble tilført kalk (pH-heving av godt råvann) før blandsonen. Vanntilførsel og avløp fra karene (stasjon 4-9) er antydnet med innskutt bilde.

Surt forsøksvann ble preparert ved å forsure vann fra Ritlandsåna (26 L/min) til pH 5.5 ved tilsetning av saltsyre fra en stamløsning bestående av 150 ml konsentrert HCL løst i 25 L vann og ved tilsetning av 150 µg Al/L fra en stamløsning bestående av 154 g $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ løst i 25 L vann etter pH-justering til pH 3.0. Al vil derved tilføres vann fra Ritlandsåna som Al^{3+} . Etter vannkjemisk justering ble det forsurrede forsøksvannet aldret (aldring henspeiler til økning av vannets alder etter manipulering) i et 11 m³ oppdrettskar. Karvolumet gir en teoretisk oppholdstid på 420 minutter, eller 7 timer. Det tilførte Al (fra stamløsningen) vil etter pH-heving og aldring ha endret tilstandsformen fra lavmolekylære positive former (LMW- Al^{3+}) til å innta en tilstandsform som sannsynligvis var mer naturlig for det sure råvannet basert på pH, organisk innhold og ionesammensetningen forøvrig. Det er ingen grunn til å anta at det sure råvannet var i fullstendig likevekt ettersom aluminium ble kontinuerlig tilført, men det er likevel antatt å representere vannkvaliteter som i perioder forekommer i Ritlandsåna.

2.1.1 Måling av oppholdstider og blandingsforhold

Rennen var 7.5 m lang, var 20 cm bred og hadde en vannhøyde på ca 11cm. Fra karet med pH/Al justert råvann (surt råvann) ble en vannstrøm på ca 15 L/min kontinuerlig pumpet fram til et felles fordelingskar plassert forut for rennene. Likeledes ble vann pumpet fra Suldalslågen til et tilsvarende fordelingskar. Ut av fordelingskarene ble råvannkildene blandet i en trakt og ledet fram til rennene som benevnes "A" (33% vann fra sur kilde, 77% fra Suldalslågen), "B" (16% vann fra sur kilde, 84% fra Suldalslågen), "C" (6% vann fra sur kilde, 94% fra Suldalslågen) og "D" (33% vann fra sur kilde og 77% fra Suldalslågen som ble pH-justert til pH 6.4 med $\text{Ca}(\text{OH})_2$). Renne D var en kontroll til renne A ettersom begge skulle ha samme teoretiske Al-konsentrasjon. Renne A, B og C representerte en fortynningsgradient. Al-konsentrasjonene i renne C kunne således bekreftes også ved å måle Al konsentrasjon i renne A og B. Vannføringen i rennene var på 15 L/minutt. Mellom rennene og karene ble vannføringen redusert til 2 L/min. Blandingsforhold, temperaturer og ustabilitet (variasjon i vannføring) er angitt i tabell 1.

Under forsøket ble de enkelte vanntilførselene målt 2 ganger daglig. Målingene ble utført ved å måle tilført vann over et vist antall sekunder, før mengden ble avlest og notert. Utfra dette ble vanntilførselen beregnet. Var vanntilførselen for lav/høy i forhold til fastsatt verdi ble vanntilførselen justert til riktig nivå ved gjentatte målinger. Målemetoden innebærer en viss usikkerhet. Denne er beregnet på bakgrunn av repeterte målinger til å være på +/- 0.2L/min.

Temperaturen ble målt daglig med en digital termometer av merket JENVEY 2103. Termometermålingene kan også bidra til å kontrollere blandingsforholdet mellom surt og "godt" vann ettersom det var temperaturforskjeller mellom råvannene. De beregnede temperaturene viser seg å stemme bra med de målte verdiene i de ulike blandsonene. Termometermålingene og vanntilførselmålingene gir derfor god dokumentasjon på stabiliteten av blandsoneforsøket gjennom forsøksperioden.

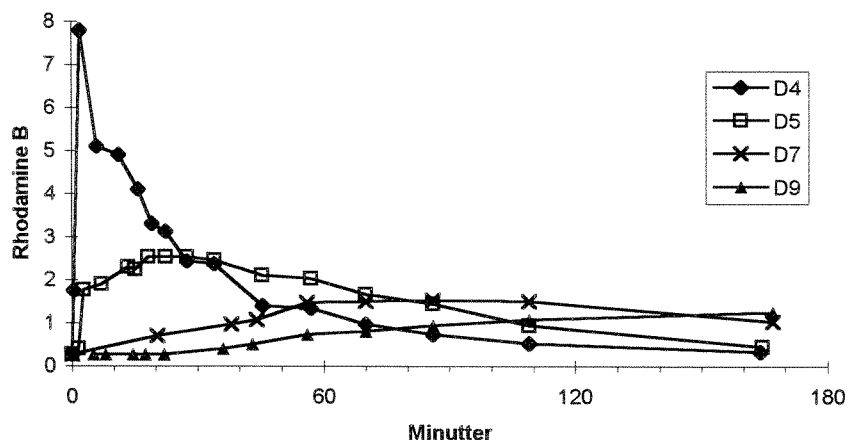
Tabell 1. Temperatur og relativ fordeling (%) mellom forsuret vann fra Ritlandsåna og vann fra Suldalslågen i renne A til D i perioden 21. til 29. september 1996. A, B, C og D henviser til de ulike rennene. "Sur" henviser til prosentandel surt råvann.

Dato og kl.	Surt råvnn °C	Godt råvnn °C	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
			°C	°C	°C	°C	Sur %	Sur %	Sur %	Sur %	L/min	L/min	L/min	L/min
21.09 12	13.5	9.7	10.9	10.4	9.9	10.9	33.3	16.2	6.7	33.3	15	15.4	15	15
22.09 01	13.5	9.7					33.3	16.2	6.7	33.3	15	15.4	15	15
22.09 11	13.1	9.3	10.5	9.9	9.5	10.6	30.6	17.0	4.8	31.9	14.4	14.7	21	14.4
22.09 23							33.3	13.9	7.0	33.3	15	18.0	12.9	15
23.09 11							31.3	16.8	6.8	33.3	16	14.9	14.0	15
23.09 23	13.1	9.2	10.5	9.8	9.4	10.4	33.3	16.8	5.3	33.3	15	14.9	16.9	15
24.09 09							33.3	16.8	5.7	33.3	15	14.9	15.9	15
24.09 22	13.3	9.7	10.7	10.3	9.7	10.8	33.3	16.8	6.7	30.6	15	14.9	15	14.4
25.09 11							33.3	16.1	6.4	33.8	15	14.8	15	14.8
25.09 21	12.8	9.0	10.0	9.5	9.0	10.4	33.3	15.3	6.0	33.3	15	14.7	14.9	15
26.09 11							33.3	16.8	6.7	29.4	15	14.9	15	17
26.09 20	10.4	12.7	9.8	9.6	10.5	10.8	33.3	16.8	6.7	33.3	15	14.9	15	15
27.09 20							33.3	14.1	6.0	33.3	15	16.8	16.8	15
28.09 00	12.5	9.3	10.2	9.8	9.6	10.1	33.3	17.5	6.0	33.3	15	15.0	16.8	15
28.09 09	12.6	9.4					33.3	18.1	7.0	33.3	15	15.1	14.2	15
28.09 20							33.3	17.0	6.7	33.3	15	14.7	15	15
29.09 10							30.6	15.7	6.7	33.3	14.4	15.9	15	15
Snitt:	12.8	9.8	10.4	9.9	9.7	10.6	32.9	16.3	6.3	32.9	15.0	15.3	15.5	15.0
St.avvik:	1.0	1.1	0.4	0.3	0.5	0.3	1.0	1.1	0.6	1.2	0.3	0.9	1.8	0.5

2.1.2 Aldring og fortynning; Rhodamine

Etter avslutning av fiskeforsøket ble de teoretiske oppholdstidene ved de ulike prøvestasjonene fastlagt med tilsetning av Rhodamine B til renne D. Konsentrasjon av Rhodamine B ble målt som fluorescens på et Turner Modell 111 fluorometer. Teoretisk oppholdstid i renna var på grunnlag av vannvolum og vanntilførsel beregnet til 11 minutter. I renne D ble 20 µl Rhodamin fortynnet i 10 ml vann (stamløsning) og tilsatt umiddelbart før samløpet mellom vann fra Suldalslågen og surt vann. På stasjon 1, 2 og 3 som var plassert 1, 3.75 og 6.5 m etter innløpet ble det påvist maksimalkonsentrasjoner av Rhodamine 1, 5 og 9 minutter etter tilsetning. Målt oppholdstid (10.4 minutter etter 7.5m) synes således å stemme overens med beregnet oppholdstid. Foruten at oppholdstiden var som beregnet ble det også observert at konsentrasjonen avtok med økende avstand fra innblandingpunktet. Konsentrasjonsreduksjonen ble kompensert med økt varighet (tid Rhodamine B ble påvist) på hver stasjon. Dette betyr at aldringsbenedvnelser vi benytter (tid fra T=0) ikke er presise enheter og at fisk eksponert på de ulike stasjonene opplever vann aldret over et tidsintervall.

På stasjon D4 ble 20µl Rhodamine tilført vanntilførselen fra renna. Teoretisk oppholdstid i karene var beregnet til 35 minutter (V/Q ; volum/vanntilførsel). Konsentrasjonen i avløpsvannet fra D4, D5, D7 og D9 ble målt jevnlig for å beregne halveringstid for hvert kar. En halveringstid tilsvarer 63.2% av teoretisk oppholdstid såfremt ideell innblanding ble oppnådd. Etter to teoretiske oppholdstider vil 86.5% av vannet være skiftet ut forutsatt ideelle forhold. Alle karene hadde samme fortynningsforløp, men som følge av at Rhodamin konsentrasjonen til stadighet ble fortynnet økte varigheten mens konsentrasjon avtok med økende akkumulert oppholdstid (figur 2). Halveringstid ble beregnet til 37 minutter. Dette stemmer bra overens med beregnet teoretisk oppholdstid ($T_h = V/Q = 70L/2L/min=35$ minutter).



Figur 2. Endring i Rhodamin konsentrasjoner i karrekke D4-D9 med hensyn til tidspunkt fra tilsetning av Rhodamine B (20 μ l) i innløpet til kar D4.

Rhodamin forsøket viste også at noe vann ble transport raskt gjennom karene og betydelig raskere enn teoretisk oppholdstid tilsa. På stasjon 9 ble det påvist Rhodamin allerede etter 40 minutter. Dette betyr at denne stasjonen ikke kun inneholder vann med akkumulert oppholdstid tilsvarende 220 minutter, men at stasjonen også inneholdt vann av betydelig kortere alder enn beregnet. Dette vil ha betydning for fortolkning av kjemiske prosesser som påvirkes av tid og eventuelle effekter som påvises hos fisk i forsøket. De samme faktorene vil også gjøre seg gjeldende i naturlige vassdrag.

2.2 Kjemi

2.2.1 Feltmetoder

pH ble målt daglig i de ulike rennene. I tillegg ble pH målt samtidig med fraksjonering av vann til Al-analyser. pH ble også målt direkte i rennene ved at elektroden ble hengt ned i vannet. pH målt i renna i forhold til pH målt på laboratoriet var ulik på grunn av turbulens innen rennene. pH ble målt med et PHM80 Portable pH meter med radiometer elektrode PHC2005. Temperatur ble målt samtidig som pH.

Det ble utført Al-fraksjonering fra 8 stasjoner i hver renne samt fra begge råvannkildene i felt. Samtidig ble det tatt ut egne vannprøver som ble lagret i 1 uke før fraksjonering fra stasjon 9 og fra råvannkildene. Det ble også samlet vann på 0,5 l plastflasker og 100 ml brune glassflasker fra de ulike vannkvalitetene 3 ganger i løpet av feltforsøket. Disse vannprøvene ble bestemt på LAK mhp:

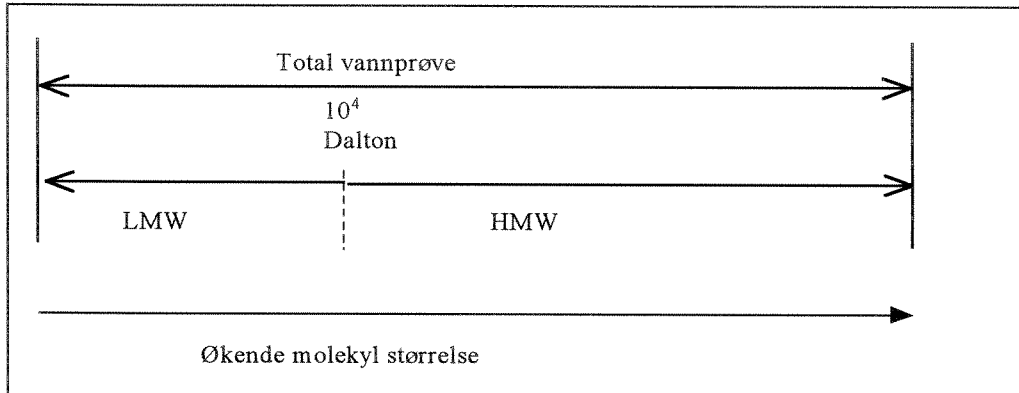
0,5 l plast flaske:	Alkalinitet, NO_3^- , SO_4^- , F, Cl, K, Na, Si, Mg, Ca, Fe, Zn
0,1 l brun glassflaske:	TOC

Na, Ca, Mg, Fe, Zn og Si er bestemt vha ICP. SO_4^- og Cl er bestemt vha Autoanalysator. NO_3^- er bestemt vha FIA. K er bestemt vha Atomabsorbans. Fluorid (F) er bestemt vha ioneselektiv elektrode.

In situ hulfiber ultrafiltrering

For å få informasjon om endring av Al molekylvekt ble vannet ultrafiltrert *in situ*. Når surt Al-rikt vann møter nøytralt eller kalket vann oppstår giftige blandsoner. I blandsonene vil LMW-Al³⁺ polymerisere og danne transiente Al-polymerer. Aluminium kan foreligge på ulike tilstandsformer som varierer med hensyn på molekylvekt og ladningsforhold. Ulike fibre kan brukes til å skille ulike molekylvektklasser. Det ble brukt fibre med nominell molekylvekt grense på 10 000 Dalton (tilsvarer ca 3-4 nm porestørrelse) for å skille lavmolekylært (LMW) fra høymolekylært (HMW) aluminium. Hulfiberen var plassert ved den enkelte stasjonen og en 0.5 - 1.0 m slange ble benyttet for å redusere transporttiden fra

vannlokaliteten til fiberen. En peristaltisk pumpe ble benyttet for å pumpe vannet direkte fra prøvetakningsdypet til molekylvektdiskriminatoren (*in situ* prøvetakning og fraksjonering). Gjennomstrømningen gjennom fiberen uten trykk var på 300-400 ml/min. For å kondisjonere systemet ble det kastet minimum 0.5 l filtrat kastet før ultrafiltratet ble innsamlet. Både totalvannet og ultrafiltratet ble fraksjonert ved hjelp av ekstraksjon og ionebytting.



Figur 3. Ulike molekylvektklasser av Al undersøkt i dette forsøket.

Totalkonsentrasjon av Al (tot Alr= LMW-Alr + HMW-Alr)

Total syrereaktivt konsentrasjon av aluminium benevnes for tot-Alr. Alr omfatter aluminium som løses ved pH <2 og som deretter lar seg ekstrahere. Til bestemmelse av totalt aluminium ble det tatt ut 100 ml prøve i 100 ml plastflasker av polyetylen. Prøvefraksjonen ble surgjort med 1 ml konsentrert saltsyre til pH nær 1.2. Prøven ble lagret i minst 1 måned før videre ekstraksjon og fotometrisk bestemmelse.

For bestemmelse av LMW-Alr ble vannprøven ultrafiltrert med hulfilter (LMW < 10⁴ Dalton). Den lavmolekylære fraksjonen som passerte filteret ble surgjort og ekstrahert som for tot-Alr. Den høymolekylære Al fraksjonen beregnes som:

$$\text{HMW-Alr} = \text{tot-Alr} - \text{LMW-Alr}$$

Ekstraksjon

Totalt monomert aluminium (Ala) er positivt ladd, uladd og negativt ladd aluminium som lar seg ekstrahere. Ved ekstraksjon brukes en organisk kompleksbinder som komplekserer reaktivt Al som deretter ekstraheres over i en organisk fase. Det ble benyttet 20 sekunder ekstraksjonstid. Al i den organiske fasen måles på spektrofotometer og benevnes Ala. Dette kan utføres på ufiltrert og filtrert vann for å skille mellom LMW og HMW former av Ala.

Ved ekstraksjonen vil noe polymert aluminium ekstraheres. Dette fører til at polymert aluminium også inkluderes i fraksjonen Ala. Ettersom polymert Al kan ekstraheres, vil differansen mellom Ala og Ali = Alo også inneholde polymert Al.

Syreløslig reaktivt aluminium

Syreløslig aluminium er aluminium som lar seg ekstrahere etter tilsetning av syre. Denne fraksjonen beregnes ut fra totalt aluminium (Alr) minus totalt monomerisk aluminium (Ala). Syreløslig Al antas i hovedsak å bestå av kolloidalt Al.

Ionebytting

Ionebytter kromatografi fraksjonerer med hensyn til reaktivitet (ladning). Ved å benytte en kationbytter vil positivt ladde tilstandsformer til Al (kationisk Al) holdes igjen på ionebytteren. De uladde eller de negativt ladde samt polymere formene av aluminium holdes ikke tilbake ved ionebytting av prøven. For å bestemme denne fraksjonen av aluminium, blir vannprøven ionebyttet og Al i eluatet (det som går igjennom ionebytteren) bestemt (Alo).

Ionebyttingen ble utført hjelp av en peristaltisk pumpe hvor vann ble pumpet med konstant hastighet (3,8 ml pr ml ionebytttemasse) direkte fra prøvetakningsdypet til en ionebytterkolonne preparert med kationbytter Amberlite IR på Na-form. Eluatet fra kationbytter-kolonnen ekstraheres som for Ala. Eluatet benevnes Alo.

Positivt ladd (uorganisk monomert) aluminium måles ikke direkte, men beregnes som differanse mellom to målte verdier. Differansen mellom Ala og Alo angir konsentrasjonen av positivt ladd aluminium. Denne betegnes som Ali.

$$Ali = Ala - Alo$$

Tilstandsformene til Al inkludert i denne undersøkelsen

Barnes/Driscoll metoden kombinerer ionebytting og ekstraksjon for å fange opp ulike reaktive tilstandsformer for aluminium (Barnes, 1975), disse er vist i figur 4.

Al-r		
Totalt reaktivt aluminium		
Al-a		Alc Syreløselig aluminium (kolloidalt Al)
Totalt monomert aluminium		
Al-o Monomert organisk aluminium (uladd, negativt ladd)	Al-i Monomert uorganisk aluminium (positivt ladd)	

Figur 4. Oppdeling av aluminiums tilstandsformer (Driscoll, 1984).

Kombinasjon av hulfiber ultrafiltrering og Barnes/Driscoll

Ved å kombinere hulfiber ultrafiltrering, ekstraksjon og ionebytting fåes informasjon om molekylvektfordeling og ladningsforhold både i en total prøve og i et ultrafiltrat. Polymerisering reduserer LMW og øker de HMW tilstandsformene.

Oversikt over fraksjoner benyttet i dette arbeidet:

Alr = syrereaktivt Al

Ala = ekstraherbart Al (ingen syretilsetning)

Alc = kolloidalt Al (Alr-Ala; den mengde Al som tilgjengeligjøres ved syretilsetningen)

Alo = ekstraherbart Al som passerer en ionebytter

Ali = differansen mellom Ala og Alo.

Ultrafiltrert vann ble fraksjonert mhp. reaktivt aluminium i felt. Systemet var koblet slik at filtrert vann ble transportert direkte fra hulfiber til kationbytter via en peristaltisk pumpe. På denne måten ble aluminium både fraksjonert mhp. størrelse og ladning, og de ulike Al-tilstandsformene total, LMW og

HMW knyttes til reaktivitet (Al_r , Al_c , Al_a , Al_o , Al_i). De eksperimentelle metodene er således tilpasset hypotesen om endringer i tilstandsformer til Al med tid.

Analysemetoder

Aluminiumkonsentrasjonene i de ulike ekstraherte prøvene ble bestemt på LAK med et spektrofotometer. I spektrofotometeret ble det brukt 6 kvartskuvetter, og ekstraktet ble absorbert ved bølgelengde 395 nm og 600 nm. Prøvene ble lagret 14 dager i kjøleskap før måling av absorbansene. Det ble brukt flere standardløsninger med varierende konsentrasjoner av aluminium som grunnlag for en standardkurve. Disse standardene ble laget i felt og på laboratoriet. Det var liten forskjell mellom standardrekken fra standardene laget i felt og på lab.

På laboratoriet ble surgjorte prøver ekstrahert for bestemmelse av Al_r . Aluminiumkonsentrasjonen ble bestemt ved hjelp av spektrofotometer.

2.3 Forsøksfisk

Forsøksfisken var sommer gammel lakseyngel (0+) av Suldal stamme produsert av villaks foreldre fanget av Suldal elveeierlag i Suldalslågen i 1995. Ved forsøksstart var fisken ($N=416$) 9.9 ± 0.7 cm, hadde en vekt på 10.1 ± 2.3 gram og en K-faktor på 1.05 ± 0.05 med utseende som en typisk lakseparr. Fisken var uten synlige ytre skader. Fisken var drettet opp på vann fra Ritlandsåna fra befruktning og fram til forsøksstart. Dette vannet kan i perioder være surt hvorpå avsyring igangsettes ved klekkeriet. Avsyringsanlegget hadde ikke vært igangsatt siden våren 1996 på grunn av stabilt god vannkvalitet på driftsvannet (definert som $pH > 6$). Det er ikke bekreftet at vannkvaliteten var god. Forsøksfisken var tilpasset en vannkvalitet ikke var vesentlig forskjellig fra vannkvaliteten i Suldalslågen.

Det ble eksponert 36 fisk i hvert av burene i rennene og i karene for langtidseksponering (1, 3 og 7 dager). Korttidseksponering (0.2, 1 og 6 timer) ble utført med egen gruppe fisk ($N=18$) før igangsetting av langtidseksponeringen. Vannbehovet til fisken er fastlagt til 0.8 l/min/kg fisk ved $10^\circ C$. Vanntilførselen skulle dermed være tilstrekkelig for fisk på alle stasjonsnivåer.

Tidsforløpet fra innhenting av fisk til siste fisk var prøvetatt var normalt på 8-12 minutter avhengig av prøveantall ($N=6$ eller 10). All fisk ble under prøvetaking holdt i svart bøtte med lufting. Vann ble skiftet for hver gruppe og fisken ble holdt i samme vann som den ble hentet fra for å unngå unødig kontaminering av prøvene. Det ble tatt prøver fra til sammen 28 ulike stasjoner inklusiv referansekar pr uttakstidspunkt. Prøvetakingstidspunkt er angitt i tabell 2. Fram til 7 dagers prøvetakingen ble 6 fisk prøvetatt pr. uttak. Siste prøvedato ble antall fisk i uttaket økt til 10. Dødelighet ble undersøkt minst to ganger daglig, oftere dersom dødeligheten var stor. Blodprøvene ble tatt fra kaudal-årene med halekappmetoden, samlet i hepariniserte eppendorf rør og sentrifugert ved 11000 rpm. Blodplasmaklorid-nivå (Plasmaklorid) ble bestemt med en Radiometer CMT-10 klorid-titrator i felt. Hematokritt ble fastsatt direkte etter sentrifugering (Compur M 1100 mikrosentrifuge). Andre gjellebue på fiskens venstre side ble dissekert ut, og lagret på buffret formalin for videre analyse ved NVH (Norges Veterinærhøgskole).

Samtlige gjellebuer på fiskens høyre side ble dissekert ut og lagt på forhåndsinnveide syrevaska telleglass for bestemmelse av total aluminiumkonsentrasjon ved LAK. Gjellen ble frysetørket og veid, før den ble oppsluttet i 10% HNO_3 . Oppsluttede gjeller ble målt for aluminium ved bruk av ICP. Resultatet angir konsentrasjon av aluminium (mg Al/L) pr. g gjelle tørrvekt.

Tabell 2. Tidspunkt for prøvetaking og angivelse av analyseparametre. For blodprøver, gjelle-vev og gjelle Al er samtlige stasjoner prøvetatt. For LM og EM er kun stasjon nr. 1, 3, 5 og 9 prøvetatt. Antall fisk prøvetatt er angitt i tabellen. A, B, C, D refererer til rennene med tilhørende stasjon.

Tidspunkt	Blodprøver	Gjelle vev	Gjelle Al	Gjeller til LM og EM
	N=6 eller 10 ved t>140.	N=4	N=6 eller 10 ved t>140.	N=6
0.2 timer	Referanse, Suldalslågen,		A, C, D	A, C, D
1 timer	Suldalslågen,		A, C, D	A, C, D
6 timer	Suldalslågen, A, B, C, D		Referanse, Suldalslågen, A, C, D	A, C, D
24 timer	Suldalslågen, Surt råvann A, B, C, D	A, B, C, D	Referanse, Suldalslågen, A, B, C, D	A, C, D
70 timer	Suldalslågen, A, B, C, D, referanse	Referanse, Suldalslågen, A, B, C, D	Referanse, Suldalslågen, A, B, C, D	
140 timer	Referanse, Suldalslågen, A, B, C, D	Referanse, Suldalslågen, A, B, C, D	Referanse, Suldalslågen, A, B, C, D	

2.3.1 Kriterier for vurdering av effekter på bakgrunn av fysiologiske parametre

Det foreligger ingen standardisert skala som identifiserer “skadd” tilstand fra “uskadd” tilstand basert på fiskefysiologiske parametre. På tross av dette vil verdier innenfor enkelte konsentrasjonsområder betraktes som “normale”, og verdier utenfor disse normalområdene vil oppfattes som indikasjoner på at fisken er i ubalanse. I denne rapporten er det forsøkt å systematisere og standardisere vurderingene i størst mulig grad. Kriteriene gitt i tabell 3 er subjektivt satt og vil måtte justeres etterhvert som erfaringen øker. Verdiene representerer ikke strenge grenser, men må vurderes både på bakgrunn av art, livsstadium, vannkjemisk forhistorie samt endringer over tid i løpet av et forsøk.

Tabell 3. Kriterier for evaluering av fysiologiske effekter benyttet i denne rapporten. I saltvannstestene må smoltstatus og referanseverdier inkluderes som vurderingsgrunnlag.

	Dødelig	Betydelig effekt	Moderat effekt	Nedre normale tilstand Grense mot effekt	Normal tilstand
Plasmaklorid	<90	90-110	110-119	120-125	>125
Hematokritt	>65	55-65	51-55	46-50	35-45
Glukose	>12	9-12	6-9	5-6	3-5
Gjelle-Al*					laveste målte gj.snitt for forsøket;

For enkelte parametre som gjelle-Al (Al konsentrasjon i gjelle homogenat) foreligger det ikke nok data til å fastsette nedre grenseverdier. Det benyttes derfor laveste målte verdi i forsøket, alternativt 0.003 - 0.030 mg Al/g gjelle tørrvekt, som er lave verdier funnet på referansefisk som ikke er utsatt for Al eksponering (M. Kroglund m.fl. 1998). Betydningen av en gitt Al konsentrasjon synes imidlertid å være mer relatert til akkumuleringsrater enn kun til konsentrasjoner. Dette kan innebære at det ikke finnes “trygge” vs. “utrygge” konsentrasjoner av Al på gjellehomogenat (Kroglund m.fl., 1998b).

2.3.2 Definerings av vannets aldringstid for dose-respons vurdering

Det ble forutsatt at vannkvaliteten i karrekkene ble endret med økende aldring av vannet (polymeriseringsgrad av Al). Idet hvert enkelt kar i en rekke også har sin definerte oppholdstid, betyr det at vannkvaliteten i innstrømmende vann til karene også ville være forskjellig fra vannet i avløpet. Det er derfor ikke entydig hvilken vannkjemi-måling som best representerer eksponeringsdosen når det utføres forsøk hvor aldring av vannet er en viktig faktor.

Basert på grunnlag av observasjoner rundt plassering av fisk i karene (holdt seg rundt vanntilløpet) og tilførsel av vann til karene, er det vurdert som mest korrekt å vurdere dose-respons mellom kjemi og fisk på grunnlag av vannkvaliteten i innstrømmende vann.

2.4 Statistiske beregninger

Endring i konsentrasjon av Ali (y-akse) som funksjon av tid (x-akse) ble testet med regresjonsanalyse, med målt konsentrasjon av Ali og tidspunktene 0,1, 10, 40 og 70 minutter som alder på vannet.

Forskjeller mellom ulike fiskegrupper ble testet med ANOVA. Tukey tilleggstest ble benyttet for å påvise grupper som var signifikant forskjellig fra referansefisken.

3. Resultater og diskusjon

3.1 Vannkjemi

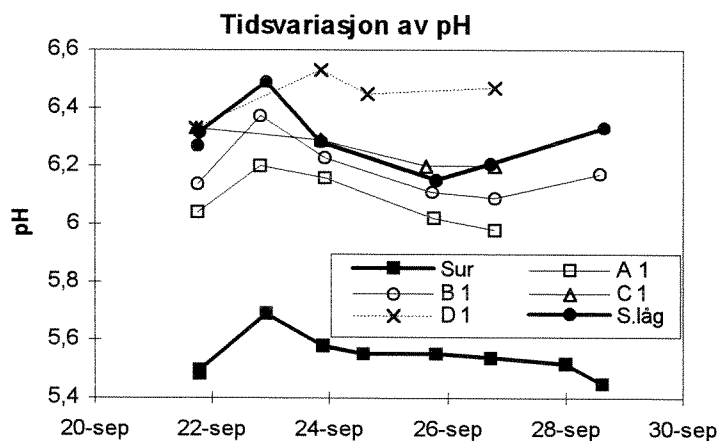
De fysiske forholdene i forsøket var rimelig stabile gjennom hele perioden både mhp vannføring og temperatur (tabell 1). Temperaturforskjellen mellom rennene var på 1 ± 0.6 °C, med høyest temperatur der mest surt vann ble tilført (renne A og D). Surt vann og aluminium er mer giftig ved høy temperatur enn i kaldt vann (Poleo m.fl., 1991; Poléo og Muniz, 1993). Selv om temperatur påvirker både løseligheten av Al og reaksjonshastigheter er det usannsynlig at en temperaturforskjell på 1°C ville være tilstrekkelig til å forklare forskjellene i fiskeresponser påvist i dette forsøket.

3.1.1 pH

pH varierte med ca 0.1 pH-enhet i løpet av forsøksperioden (figur 5), i hovedsak som følge av variasjon i råvannkildene. pH i renne A var lavest, med pH-verdier mellom 6.0-6.1 (tabell 4). Renne D hadde høyest pH med pH-verdier som varierte mellom 6.4 og 6.6. Renne B og C hadde mellomliggende pH-verdier. pH avtok noe med økende alder på vannet i renna. pH kunne synke med inntil 3 tideler fra stasjon 4 til stasjon 9 i renne D. Reduksjonen var mer moderat i renne A og B. Årsaken til dette fallet i pH med økende vannaldring er ikke avklart, men kan skyldes både hydrolyse av aluminium og bidrag av CO₂ fra fisken.

Tabell 4. pH-verdier målt i renne A-D samt i råvannet under feltperioden. Gjennomsnittsverdier og H⁺-korrigerede standard avvik er vist.

Suldalslågen	Surt råvann	Stasjon	Renne A	Renne B	Renne C	Renne D
6.30 (-0.09;+0.12)	5.55 (-0.07;+0.08)	1-3	6.07 (-0.07;+0.09)	6.19 (-0.10;+0.13)	6.29 (-0.05;+0.05)	6.46 (-0.02;+0.02)
		4-9	6.00 (-0.07;+0.09)	6.13 (-0.10;+0.13)	6.10 (-0.09;+0.10)	6.17 (-0.08;+0.09)

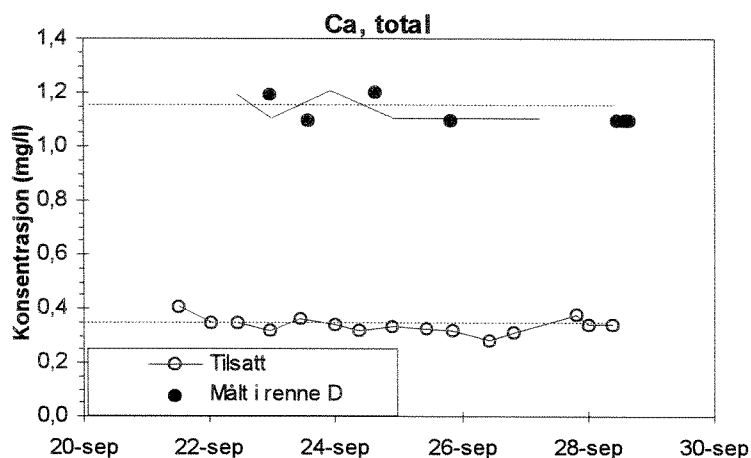


Figur 5. pH-variasjon i råvannkildene og på utløpet av rennene under forsøksperioden.

3.1.2 Kalsium

Kalsiumkonsentrasjonen i Suldalslågen og i surt råvann var på henholdsvis 0.96 ± 0.05 og 1.03 ± 0.07 mg Ca/L (tabell 5). I renne A til -C ble det målt Ca-konsentrasjoner på henholdsvis 0.89 ± 0.02 , 0.89 ± 0.04 og 0.89 ± 0.04 mg Ca/L. Ca-konsentrasjonen i renne D ble økt ved tilsetning av Ca(OH)₂ til råvannet fra Suldalslågen for å heve pH. Tilsetningen medførte en økning på 0.27 mg Ca/L. Ca-konsentrasjonen i

renne D var stabil over tid (figur 6), men fluktuerte noe i råvannet fra Suldalslågen. Denne fluktuasjonen ble dempet som følge av høyere konsentrasjon etter tilsetning.



Figur 6. Kalsiumkonsentrasjonen (mg Ca/L) i renne D (målt) og differansen i konsentrasjon mellom renne D og renne A (tilsatt).

Tabell 5. Gjennomsnittskonsentrasjon \pm standard avvik for Ca-prøver (mg Ca/L) tatt fra råvannkildene og i de ulike rennene. N=5 for renne A, B, C og D. N=7 for råvannkildene.

Kilde:	Suldalslågen	Surt råvann	Renne A	Renne B	Renne C	Renne D
Ca mg/L	0.96 \pm 0.05	1.03 \pm 0.07	0.89 \pm 0.02	0.89 \pm 0.04	0.89 \pm 0.04	1.16 \pm 0.11

3.1.3 Andre kjemiske variable

Det var svært små vannkjemiske forskjeller mellom rennene bortsett fra kalsium (tilsatt) og aluminium (tilsatt). Forskjellen i TOC i råvannkildene var svært forskjellig (0.8-1.5 mg TOC/L) og resulterte i nivåforskjeller mellom rennene (tabell 6).

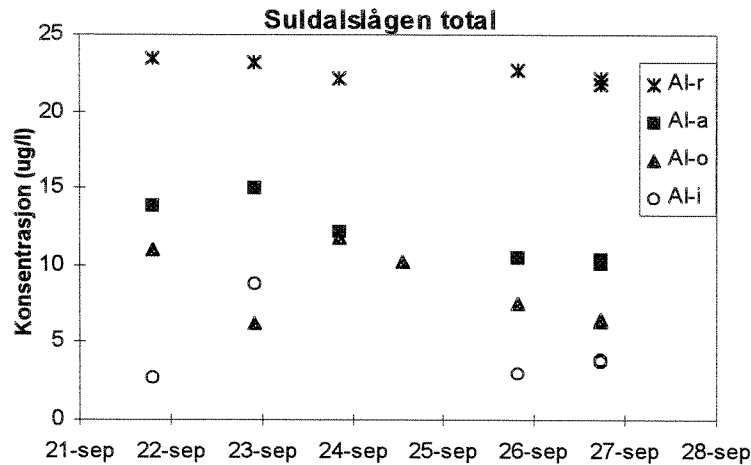
Tabell 6. Konsentrasjon av ulike elementer (mg/L) i vann prøvetatt 23. september 1996. Renne A og D besto av 70 % vann fra Suldalslågen (S. låg) og 30 % vannbidrag fra surt råvann (Surt). Andelen surt råvann var i renne B og C redusert til henholdsvis 16 og 6 %. Surt råvann og vann fra Suldalslågen ble prøvetatt både 23. og 25. september.

Element	A	B	C	D	S.lågn	Surt
S.låg (%)	70	84	94	70	100	0
Surt r(%)	30	16	6	30	0	100
Ca-felt.	0.89 \pm 0.02	0.89 \pm 0.04	0.89 \pm 0.04	1.16 \pm 0.11	0.96 \pm 0.05	1.03 \pm 0.07
NO-3	0.13	0.15	0.17	0.13	0.18 \pm 0.00	< 0.1
SO-4	0.60	0.50	0.40	0.60	0.20 \pm 0.00	0.80 \pm 0.28
K	0.23	0.21	0.22	0.24	0.18 \pm 0.01	0.27 \pm 0.01
Na	1.40	1.20	1.20	1.40	1.10 \pm 0.00	1.90 \pm 0.00
Ca	0.83	0.83	0.83	1.10	0.84 \pm 0.01	0.90 \pm 0.01
Mg	0.24	0.22	0.22	0.24	0.21 \pm 0.01	0.29 \pm 0.00
Cl	2.30	2.00	1.80	2.00	1.70 \pm 0.14	4.00 \pm 0.00
Fe	< 0.02	< 0.02	< 0.02	< 0.02	< 0.02	< 0.02
Zn	< 0.02	< 0.02	< 0.02	< 0.02	< 0.02	< 0.02
F	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
Si	0.35	0.29	0.32	0.32	0.31 \pm 0.01	0.41 \pm 0.02
TOC	1.28 \pm 0.23	1.26 \pm 0.31	0.82 \pm 0.01	1.57 \pm 0.11	0.67 \pm 0.08	2.33 \pm 1.45
ALK	13.5 \pm 0.71	13.50 \pm 2.12	15.50 \pm 0.71	20.00 \pm 0.00	16.00 \pm 0.00	2.00 \pm 0.00

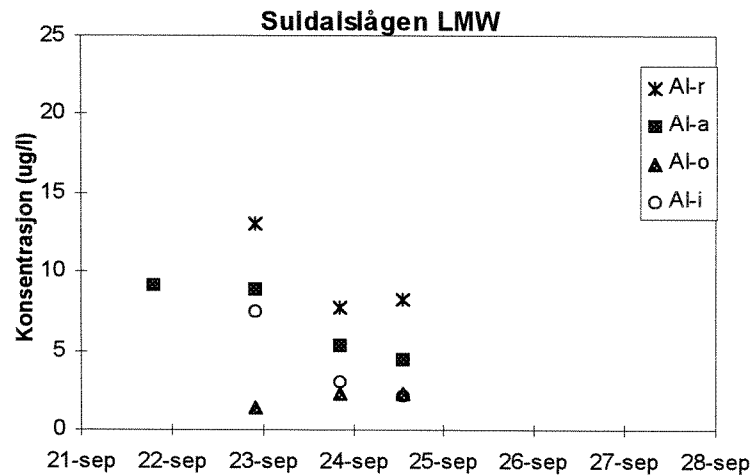
3.1.4 Aluminium i råvannskilder

figur 7 til figur 11 viser konsentrasjonen av ulike Al-fraksjoner målt i henholdsvis vann fra Suldalslågen og Surt råvann. I Suldalslågen varierte Alr-konsentrasjonen mellom 22 og 23 $\mu\text{g Al/L}$ gjennom hele forsøket (figur 7), mens konsentrasjonen av Ala varierte mellom 10 og 15 $\mu\text{g Al/L}$. Konsentrasjonen av Ali var normalt lavere enn 5 $\mu\text{g Al/L}$. Ali og Ala forelå i hovedsak på lav molekylær form (LMW), i motsetning til Alr og Alo (figur 8).

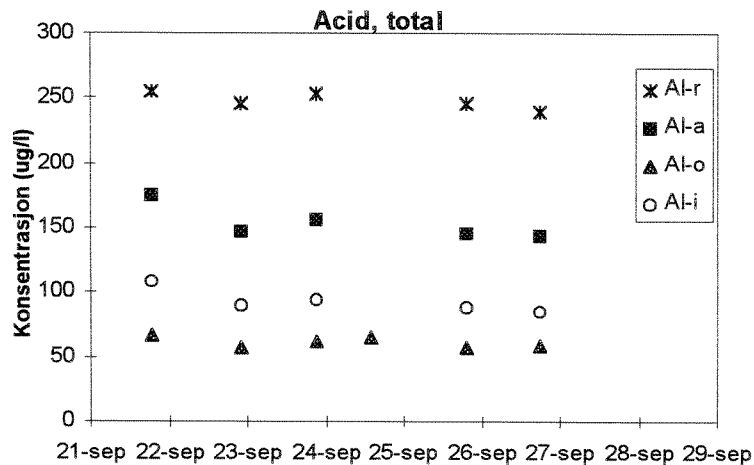
I det sure råvannet var Alr-konsentrasjonen på 250 $\mu\text{g Al/L}$. Av dette var 100 μg på lav molekylær form (LMW). Tot-Ali var på ca 90 $\mu\text{g Al/L}$ (figur 9) hvorav 54 ± 2 forelå som LMW (figur 11).



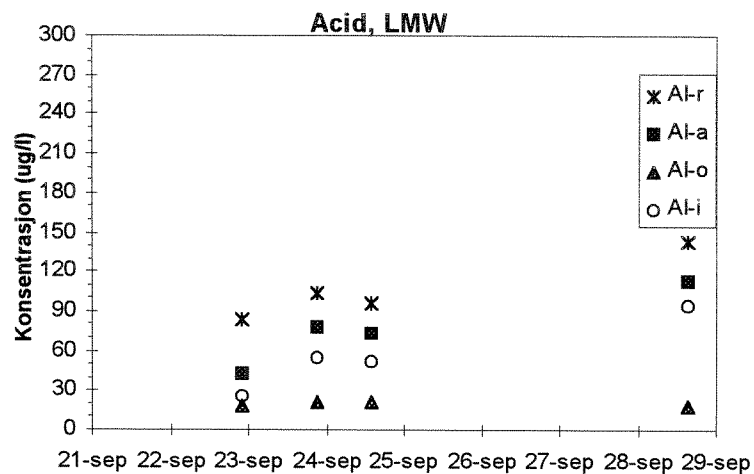
Figur 7. Variasjon i de ulike tilstandsformer av aluminium i Suldalslågen i forsøksperioden



Figur 8. Variasjon i LMW-aluminium i Suldalslågen i forsøksperioden.

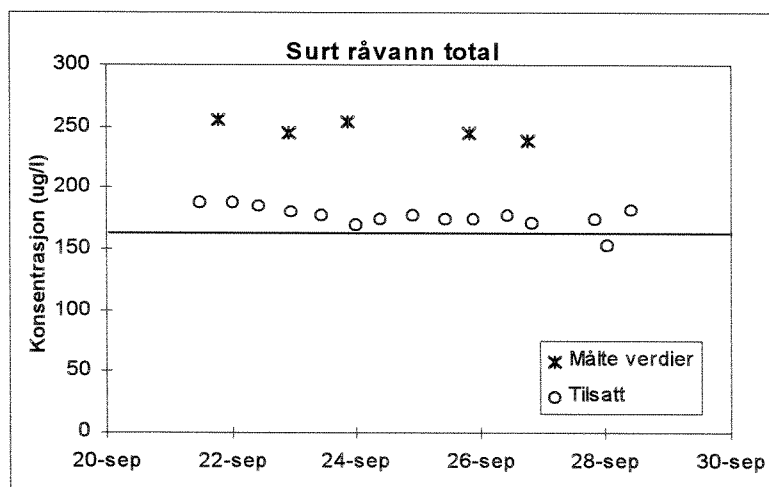


Figur 9. Variasjon i de ulike tilstandsformer av aluminium i Surt råvann i forsøksperioden.



Figur 10. Variasjon i forsøksperioden med hensyn til ulike tilstandsformer av LMW-aluminium i Surt råvann.

Ved beregning av Al-konsentrasjon og tilstandsformer ved T=0 i rennene ble det lagt mest vekt på verdier fra 22-27 september. Avvikende målinger fra siste prøvedato innvirker således lite på gjennomsnittsverdiene. Tilsetning av Al til vann fra Ritlandsåna er vist i figur 11. Tilsetningen avtok med ca 15 µg/L gjennom forsøksperioden. Dette ble beregnet på bakgrunn av tilsatt mengde stamløsning til vannføringen. Tilsetningskonsentrasjonen var i overensstemmelse med målt endring. Denne endringen var i praksis liten og akseptabel for forsøket. Bakgrunnsverdiene for ulike former av aluminium i råvannkildene er angitt i tabell 7.



Figur 11. Tot-Al konsentrasjon ($\mu\text{g Al/L}$) i Surt råvann etter Al tilsetning (målt) og differansen i konsentrasjon mellom ubehandlet og behandlet bekkevann (tilsatt).

Tabell 7. Bakgrunnsverdiene for ulike former av aluminium (Al) i råvannkildene.

Stasjon	Tilsetning ($\mu\text{g/L}$)	Alr ($\mu\text{g/L}$)	Alc ($\mu\text{g/L}$)	Ala ($\mu\text{g/L}$)	Alo ($\mu\text{g/L}$)	Ali ($\mu\text{g/L}$)
S.lågen	0	22 \pm 1	11 \pm 2	12 \pm 2	9 \pm 2	3 \pm 3
Surt råvann	177 \pm 8	247 \pm 6	98 \pm 2	149 \pm 6	61 \pm 3	89 \pm 4

3.1.5 Aluminium i rennene

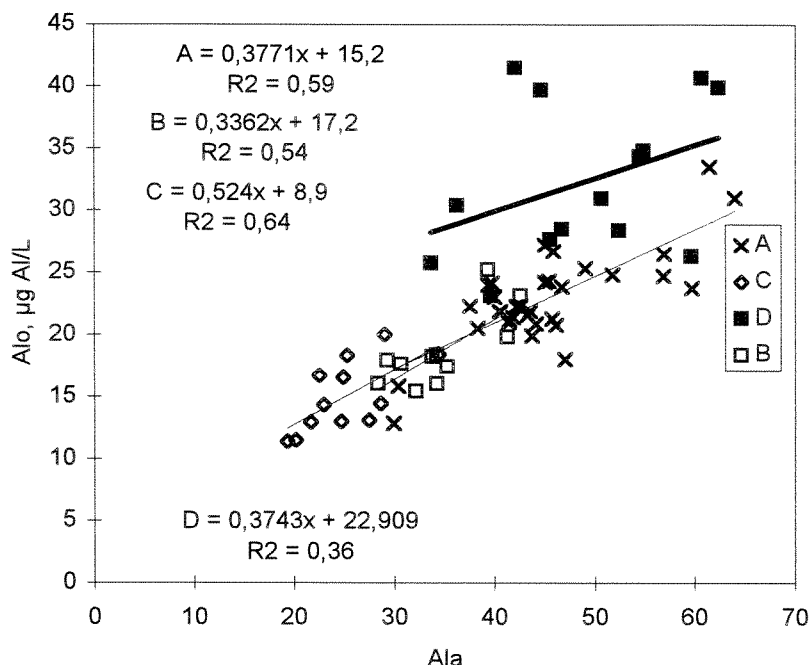
Variasjonen i vanntilførsel gjennom forsøket var gjennomgående liten (tabell 1). Denne variasjonen påvirket likevel Al-konsentrasjonen i rennene. Usikkerhet forårsaket av variasjoner i vanntilførsle er beregnet i tabell 8. Den totale Al-konsentrasjonen ble beregnet til å kunne variere med cirka $\pm 10\%$. Målte vanntilførsler avvek i korte perioder mer enn det som er vist i tabell 9. Dette vil øke variasjonsbredden i Al-konsentrasjon ytterligere. Dette er i tabellen angitt som variasjonsbredde for målte verdier.

Tabell 8. Prosentbidrag vann fra råvannkildene (%), målt vannføring (L/min) med variasjonsbredden i vannføring (Q) og beregnet (på bakgrunn av konsentrasjon i råvannkildene) og målt Alr konsentrasjon i renne A, B, C og D.

Renne	Surt %	S.låg %	S.låg L/min	Surt L/min	Variasjon i Q Suldalslågen L/min	Variasjon i Q Surt råvann L/min	Beregnet variasjon i Alr ($\mu\text{g Al/L}$)	Målt variasjon i Alr ($\mu\text{g Al/L}$)
A	32.9	68.1	10.1	4.9	9.7-10.5	4.5-5.3	87-102	90 (82 -95)
B	16.3	83.7	12.8	2.5	11.9-13.7	2.4-2.6	55-61	58 (56- 61)
C	6.3	93.7	14.5	1	12.8-16.2	1.0-1.2	33-38	38 (36-43)
D	32.9	68.1	10.1	4.9	9.5-10.7	4.5-5.3	87-102	90 (85-105)

I figur 12 er konsentrasjonen av Alo plottet mot Ala for alle rennene. På tross av at renne A og renne D hadde samme blandingsforhold, hadde rennene tydelig ulik Alo/Ala forhold. Alo-konsentrasjonen i renne D med høyere pH var høyere enn i renne A. Konsentrasjonen av Alo i renne A, B og C fulgte en fortynningsgradient av Ala (77% av variasjonen i Alo kan forklares med Ala for renne A, B og C samlet basert på lineær regresjon). Kun 36% av variasjonen i Alo kunne forklares med Ala for renne D. Den primære forskjellen mellom renne A og D var tilsetningen av kalk som hevet pH i renne D. Forskjellen i sammenheng mellom Ala og Alo i renne D i forhold til de andre, gir dermed en indikasjon på at den polymeriseringsprosess som transformerer Ali til Alo, har en polymeriseringsrate som er forskjellig i

renne D i forhold til renne A, B og C. Dette antyder at forholdet mellom de ulike Al-forbindelsene i renne D var påvirket av endringene i enten pH eller Ca.



Figur 12. Sammenhengen mellom Ala og Alo ($\mu\text{g Al/L}$) i renne A, B, C og D. Renne D var kalket og hadde betydelig høyere Alo-konsentrasjon enn målt i de andre 3 rennene. Sammenhengen mellom Alo og Ala er beskrevet med lineære regresjoner for hver renne.

I tabell 9 og tabell 10 er de målte konsentrasjoner av de ulike tilstandsformene til Al presentert. I tabell 9 er de målte verdiene angitt uten noen form for korrigering. Dette innebærer at man ikke har tatt hensyn til variasjon i Al-konsentrasjon som skyldes variasjon i blandingsforholdet mellom råvannkildene og til tidsvariasjon i Al-konsentrasjon i råvannet. Ved vurdering av mekanismer vil denne variasjonen kunne overskygge endringene. For å redusere denne "støyen" ble prosentfordeling av ulike tilstandsformer i forhold til Alr beregnet (tabell 10). Denne tabellen uttrykker den relative fordelingen av Al på ulike tilstandsformer i forhold til Alr og kompenserer for støy forårsaket av variasjon i Alr. Det forutsettes at Alr-konsentrasjonen ikke synker som følge av sedimentasjon. Alr avtar sannsynligvis med noen $\mu\text{g Al/L}$ etter langvarig aldring, men endringen/avtaket er for lite til å ha innvirkning på det videre tallmaterialet. Basert på gjennomsnittsverdier for de ulike tilstandsformene kan tabellen deretter tilbaketransformeres til Al konsentrasjoner for de ulike tilstandsformene. Tabell 9 korrigerer derfor tabell 8 med hensyn til variasjon i Alr (redusert Al-konsentrasjon i surt råvann i løpet av forsøksperioden, variasjoner i vannføring og dosering). Det henvises til tabell 10 ved videre diskusjon av endringer i tilstandsformer til Al. Det gjøres oppmerksom på at fisk ble eksponert for de målte konsentrasjonene, de korrigerede konsentrasjonene er utarbeidet for å studere endringer i tilstandsformer.

Tabell 9.

Målte (ukorrigerede) konsentrasjoner av ulike former av Al (gjennomsnitt og SD) i råvannet, etter blanding og etter aldring. Teoretiske verdier basert på blandforhold er angitt, samt konsentrasjon målt etter en uke lagring på laboratoriet (lab). Tallverdiene 1, 2-3 og 4-9 angir plassering i renna. Endringer og variasjoner i konsentrasjon vil være en funksjon av alder, ustabilitet i dosering og blandingsforhold og ved endringer i vannkvalitet i råvannkildene. For å kompensere for dette er korrigerte tall presentert i tabell 10.

Lokalitet	Tid	N=	Alr		Ala		Ali		Alr		Ala		Ali		Alr		Ala		Ali	
			Tot	Tot	Tot	Tot	Tot	Tot	LMW	LMW	LMW	LMW	LMW	LMW	LMW	LMW	LMW	LMW	LMW	LMW
S.lågen	<2 min	8	22±1	11±2	12±2	9±2	3±3	10±3	3±1	7±2	2±0	4±3	13±2	7±2	6±1	7±2	-1±1			
S.lågen-lab	1 uke	2	20±1	8±1	12±0	9±1	4±0	100±6	24±3	75±3	21±1	54±2	152±3	74±5	78±12	42±2	38±1			
Surt råvann	<2 min	3	247±6	98±2	149±6	61±3	89±4													
Surt råvann lab	1 uke	2	255±3	97±3	159±1	69±1	90±2													
Teoretisk	0		88	36	52	24	28	37	10	27	8	19	55	23	32	17	10			
A1	<2 min	4	88±5	42±3	46±4	22±2	24±3	28±5	11±3	17±2	2±2	15±3	59±9	30±4	29±6	20±3	11±3			
A2-3	<9 min	8	88±5	43±6	45±8	24±2	21±5	27±3	10±2	17±1	4±1	12±2	63±8	34±7	28±9	19±4	9±6			
A4-9	<220	15	85±2	41±4	43±3	23±3	20±4	32±4	13±3	19±2	6±2	13±3	52±4	28±4	24±4	17±3	7±5			
Alab	1 uke	2	78±2	35±5	43±3	24±0	20±3													
Teoretisk	0		58	25	34	17	17	24	7	18	5	12	36	17	18	13	5			
B1	<2 min	2	58±1	23±2	35±3	17±1	18±1	19±1	7±1	12±0	2±0	10±1	39±2	19±1	23±3	16±1	8±2			
B2-3	<9 min	4	58±2	24±1	34±1	17±2	17±1	20±5	7±5	13±3	4±1	9±3	38±7	17±6	20±3	13±1	7±2			
B4-9	<220	3	57±4	26±6	31±4	17±1	14±3	23±2	9±2	14±1	3±2	11±2	35±1	13±0	16±5	14±3	2±2			
Blab	1 uke	2	53±0	24±1	29±2	18±2	11±1													
Teoretisk	0		37	17	21	12	11	16	5	12	3	8	23	11	11	10	3			
C1	<2 min	2	37±1	14±3	23±3	12±4	11±0	11±1	2±0	9±1	3±2	6±1	25±0	12±3	13±2	8±2	5±1			
C2-3	<9 min	5	39±3	12±2	26±5	15±2	11±4	13±5	2±3	10±4	4±2	6±3	26±3	10±4	17±3	11±2	6±4			
C4-9	<220	4	37±1	14±3	23±4	16±4	8±1	13±1	-1±2	14±2	8±5	6±3	25±1	13±2	12±2	9±3	2±3			
Clab	1 uke	2	37±6	17±7	20±1	13±2	7±0													
Teoretisk	0		92	36	54	25	30	38	10	28	8	20	58	27	29	18	10			
D1	<2 min	1	92±5	46±4	46±9	26±4	20±5	15	4±1	11	4	9	73	45	28	21	7			
D2-3	<9 min	2	93±9	49±6	44±6	31±3	13±7	15±5	3±2	14±1	6±4	7±5	78±8	46±6	32±4	25±4	7±7			
D4-9	<220	5	93±2	51±4	43±6	30±4	13±4	18±3	0±1	18±2	6±1	12±1	76±1	48±1	28±1	26±8	1±2			
D=lab	1 uke	2	79±3	48±2	36±0	35±1	4±0													

Tabell 10. Konsentrasjon av ulike Al-former korrigert for variasjon i råvannstilsførsler. Målte Alr verdier er benyttet til normalisering av verdiene i tabell 10.

Lokalitet	Tid	N=#	Alr		Ala		Ali		Alr		Ala		Ali				
			Tot	LMW	Tot	LMW	Tot	LMW	Tot	LMW	Tot	LMW	Tot	LMW			
S.lågen	<2 min	8	22±1	11±2	11±2	8±2	3±3	9±3	3±1	7±2	2±0	4±3	13±3	6±2	6±1	7±3	-1±1
S.lågen-lab	1 uke	2	22±0	9±0	13±0	9±1	4±1	98±5	24±2	74±2	21±1	53±2	149±5	72±6	77±1	41±2	35±4
Surt råvann	<2 min	3	247±6	98±3	149±3	61±2	88±3										
Surt råvann lab	1 uke	2	247	104	143	62	80										
Teoretisk	0		90	37	53	24	29	36	10	27	8	19	54	26	27	18	10
A1	<2 min	4	90	43±3	47±3	23±1	24±3	29±6	12±3	18±3	2±2	16±3	61±6	31±3	29±6	21±3	11±3
A2-3	<9 min	8	90	44±6	46±6	25±4	21±5	27±4	10±2	17±1	5±1	12±2	63±4	34±7	29±8	20±4	9±6
A4-9	<220	15	90	44±4	46±4	24±3	22±4	35±4	14±4	21±3	6±2	14±3	55±4	30±4	25±4	18±4	8±5
Alab	1 uke	2	90	42±4	50±4	27±1	23±4										
Teoretisk	0		58	25	33	17	17	24	7	17	5	12	34	17	17	13	5
B1	<2 min	2	58	23±2	35±2	17±1	18±1	19±1	7±1	12±0	2±0	8±2	39±2	16±1	23±3	15±1	8±2
B2-3	<9 min	4	58	24±1	34±1	17±1	17±1	20±5	7±5	13±3	4±1	9±3	38±7	17±5	20±3	13±1	8±2
B4-9	<220	3	58	26±5	32±5	18±2	14±3	24±4	9±2	15±1	3±2	11±2	35±1	14±1	17±5	14±3	3±2
Blab	1 uke	2	58	26±2	32±2	20±1	12±1										
Teoretisk	0		37	17	21	12	9	16	5	12	3	8	23	11	11	10	3
C1	<2 min	2	37	14±3	23±3	12±3	11±0	11±1	2±0	9±1	3±2	6±1	25±0	12±3	13±2	8±2	5±0
C2-3	<9 min	5	37	12±2	26±3	15±2	11±3	12±4	2±3	10±4	4±2	6±3	26±3	10±4	16±3	11±2	5±3
C4-9	<220	4	37	14±3	23±4	16±4	8±1	13±1	-1±2	14±2	8±5	6±3	25±1	13±2	12±2	9±3	2±3
Clab	1 uke	2	37	17±4	21±4	14±4	7±1										
Teoretisk	0		90	37	53	24	29	36	10	27	8	19	54	26	27	18	10
D1	<2 min	1	90	45±6	45±6	25±2	20±4	16±0	4±1	11±2	4±1	9±2	74±3	45±2	29±1	21±2	8±1
D2-3	<9 min	2	90	50±5	40±5	30±3	10±6	15±3	3±2	13±1	6±3	7±5	74±1	46±5	28±2	24±5	4±2
D4-9	<220	5	90	49±5	41±5	29±4	12±4	17±2	0±1	17±1	5±1	11±2	73±2	46±1	26±2	25±4	1±2
D±lab	1 uke	2	90	49±1	41±1	38±1	4±1										

Usikkerheter

Usikkerheten ved Al-nivåer >20 µg Al/L er bedre enn 10%. Usikkerheten i beregnet konsentrasjon av HMW-Ali og LMW-Ali skyldes usikkerheten forbundet med måling av LMW-Alo, spesielt for verdier nær deteksjonsgrensen. (2 µg Al/L). Diskusjon av endringer av tilstandsformer når Al konsentrasjon er lave må derfor gjøres med forsiktighet. Basert på flere parallelle prøver oppnås likevel god presisjon (<10%).

Renne A

I renne A ble det ikke påvist større endringer i ulike former for Al etter blanding (tabell 10). Tot-Ali avtok med 5 µg Al/L umiddelbart etter blanding av råvannskvalitetene (T<2). Avtaket økte til 7 µg Al etter 220 minutter aldring. Ingen ytterligere endring ble påvist i samme vann prøvetatt 1 uke senere på laboratoriet. Teoretisk HMW-Ali var på 10 µg Al/L ved T=0. Konsentrasjonen avtok til 8 µg HMW-Ali/L med økende alder. Andre former for Al forble relativt stabile gjennom hele aldringsprosessen.

Renne B

I renne B ble det ikke påvist entydige endringer i de ulike tilstandsformene til Al. Tot-Ali avtok til 14 µg Ali/L i vann aldring i 4 timer. Etter 1 uke var konsentrasjonen ytterligere redusert til 12 µg Ali/L. HMW-Ali økte fra T=0 til T=2 minutter med 3 µg Ali/L. Denne økningen avtok med økende aldring slik at konsentrasjonen målt etter 4 timer aldring var redusert til 3 µg Ali/L. Dette avtaket må karakteriseres som stort, selv om måleusikkerhetene økte for de laveste verdiene.

Renne C

I renne C ble det ikke påvist entydige endringer i de ulike tilstandsformene til Al. Ali avtok med 2-3 µg Al/L i renna. HMW-Ali økte med 2 µg Al/L umiddelbart etter blanding, men var etter 220 timer redusert til 2 µg Al/L. Disse endringene beheftes med stor usikkerhet.

Renne D

I motsetning til i renne A, B og C, ble det i renne D registrert en større endring i ulike tilstandsformer til Al. Tot-Ali avtok i renna med 17 µg Al/L etter 220 minutter aldring eller med 25 µg Al/L etter 1 uke lagring. HMW-Ali ble målt til 8 µg Al/L umiddelbart etter blanding, men avtok raskt til 0-2 µg Al/L. Dette var en konsentrasjon som var betydelig lavere enn det som ble målt i renne A. Reduksjonen i HMW-Ali ble kompensert med økning i kolloidalt Al (HMW-Alc), mens HMW-Alo forble relativt uforandret. I Nordmarka (Lydersen m.fl., 1994) ble det observert en økning i tot-Alo. Økningen i tot-Alo i dette forsøket var mer moderat (5 µg Al/L etter 220 minutter aldring). Forskjellen kan skyldes at all prøvetaking i Nordmarka ble konsentrert omkring endringer som inntraff i løpet av de første minuttene etter blanding, mens her ble fokus lagt på langtidstrendene. På tross av kraftig avtak i Ali, ble det etter 4 timer aldring fortsatt målt 12 µg Ali/L som etter 1 uke var redusert til 4 µg Ali/L. Innenfor de første 4 timene av aldringsprosessen innebar de målte verdiene at Alo ikke ble endret, mens Ala avtok og Alc økte.

3.1.6 Vurdering av vannkjemi

Renne A og D hadde identisk tilsetning av surt vann (30%), mens renne B og C ble tilsatt henholdsvis 15 og 7 volumprosent surt råvann. Man kan derfor i første omgang anta at tilstandsformene til Al målt i renne A og -D skulle være lik ved T=0 forutsatt av at kalking ikke påvirket tilstandsformene til Al. Konsentrasjonene i renne A, -B og -C skulle følge en fortynningsgradient. Basert på Alr målingene var Al-konsentrasjonene målt i renne A og -D lik, og Alr-konsentrasjonene i renne A, -B og -C fulgte fortynningsforholdet. Basert på måling av andre Al-former var denne sammenhengen ikke tilstede. Dette sannsynliggjør at det har forekommet tilstandsendringer.

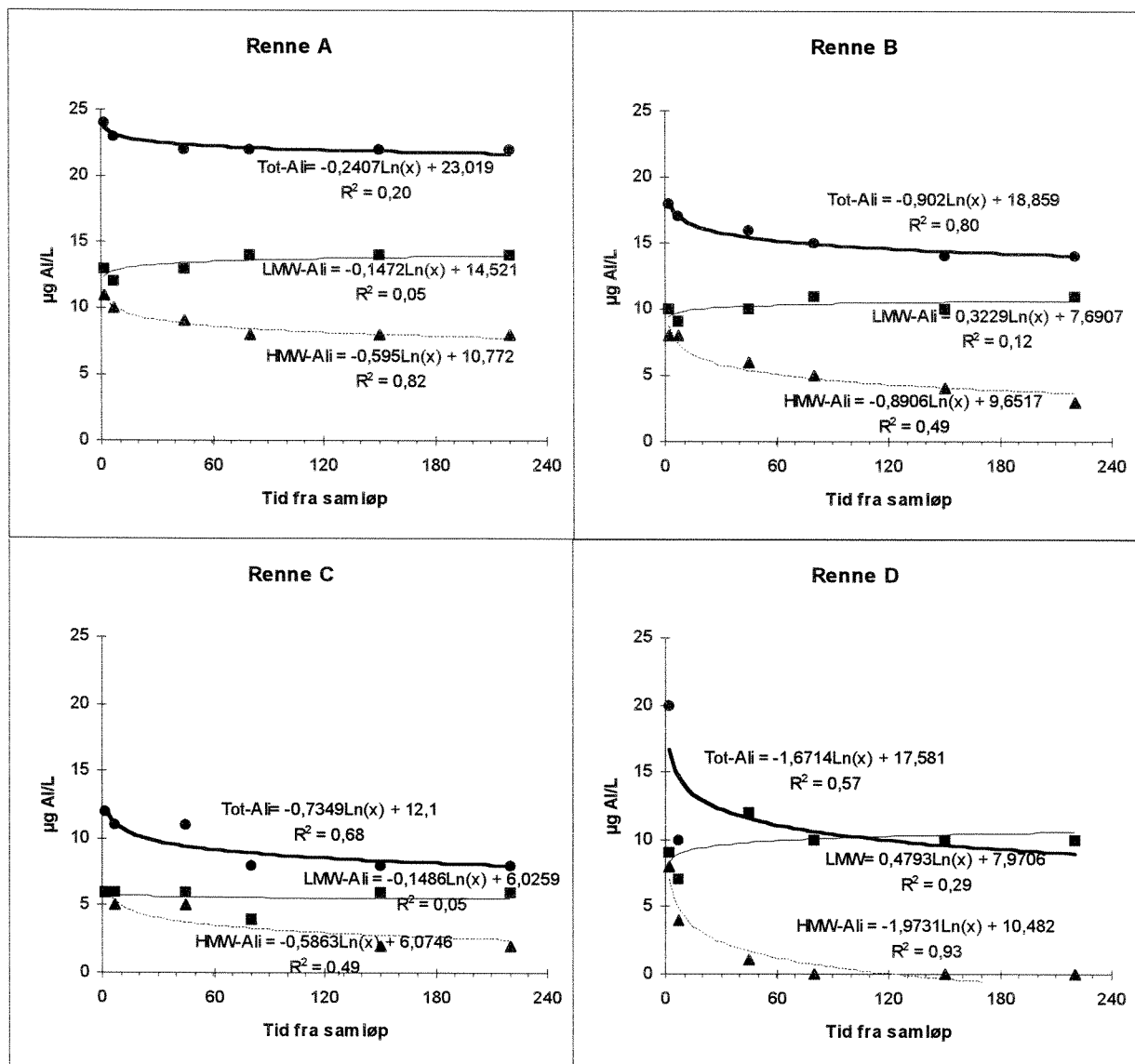
Etter 220 minutter aldri hadde renne A både høyest tot-Ali (22 $\mu\text{g Al/L}$) og høyest HMW-Ali (8 $\mu\text{g Al/L}$) av alle rennene. Tot-Ali målt i renne B, C og D varierte mellom 8 og 14 $\mu\text{g Al/L}$, med lavest konsentrasjon i renne C. Dette kan forklares med fortykning. HMW-Ali avtok i de tre sistnevnte rennene til 1-3 $\mu\text{g Al/L}$ etter 220 minutter aldri, men var fortsatt på 8 $\mu\text{g HMW-Ali}$ i renne A. Tendensen i avtaket var størst og sluttkonsentrasjonen lavest i renne D, hvor konsentrasjonen etter 4 timer var tilsvarende den målt i Suldalslågen (1 $\mu\text{g HMW-Ali/L}$). Resultatet antyder at størst endring i konsentrasjon av kationisk Al ble påvist som endring i HMW-Ali, mens konsentrasjonen av LMW-Ali var mer stabil eller stabiliserte seg på et gitt nivå høyere enn 6 $\mu\text{g Al/L}$ i renne C og høyere enn 10 $\mu\text{g Al/L}$ i rennene B og A (figur 13, tabell 10).

Modellhypotesen omfatter at man etter pH-økning skal måle en rask endring i molekylvekt, deretter en sakte endring av ladning. En skal derfor forvente en rask endring i filtrerbare Al konsentrasjoner, mens endringene som er målbare ved hjelp av ionebytter vil være tregere.

Høyest konsentrasjon av HMW-Ali ble målt i det sure råvannet og utgjør en kilde til HMW-Ali i rennene. HMW-Ali er positivt ladd, men holdes igjen ved filtrering. Konsentrasjonen av HMW-Ali i renne A og D var beregnet til være på 10 $\mu\text{g Al/L}$ kun som følge av blandingen. Når råvannet inneholder LMW-Ali og pH økes er det forventet at konsentrasjonen av HMW-Ali øker raskt som følge av at LMW-Ali polymeriserer (øker i størrelse) og derved ikke lenger passerer filteret. Deretter er det forventet at konsentrasjonen av HMW-Ali skal avta saktere som følge av redusert ladning (reduerte kationiske egenskaper) med økende polymerisering. Første del av denne prosessen er antydning gjennom den moderate, og ikke signifikante økningen fra teoretisk verdi til de konsentrasjonene som ble målt ved $T < 2$ minutter. Andre del av denne prosessen ble observert i alle rennene, tydeligst i renne D, hvor HMW-Ali avtok fra 10 til ca. 4 $\mu\text{g Al/L}$ (60% reduksjon) i løpet av 10 minutter fra pH-heving og som avtok ytterligere (til 1 $\mu\text{g Al/L}$) etter 4 timer aldri. I renne A avtok konsentrasjonen av HMW-Ali fra 10 til ca. 8 $\mu\text{g Al/L}$ etter 220 minutter aldri. Endringene i tot-Ali, LMW-Ali og HMW-Ali som funksjon av tid er vist i figur 13.

Endring i ladningsforhold medfører at HMW-Ali vil avta og HMW-Alo øke så lenge tilstandsformene fortsatt er ekstraherbare, eller som økning i Alc dersom tilstandsformen kun er syreløslig. Det ble ikke påvist vesentlige endringer i Alo i dette forsøket i motsetning til observasjonene fra Nordmarka (Lydersen m.fl., 1994), men økningen i Alc var betydelig. Størst forandring ble målt i renne D (figur 14).

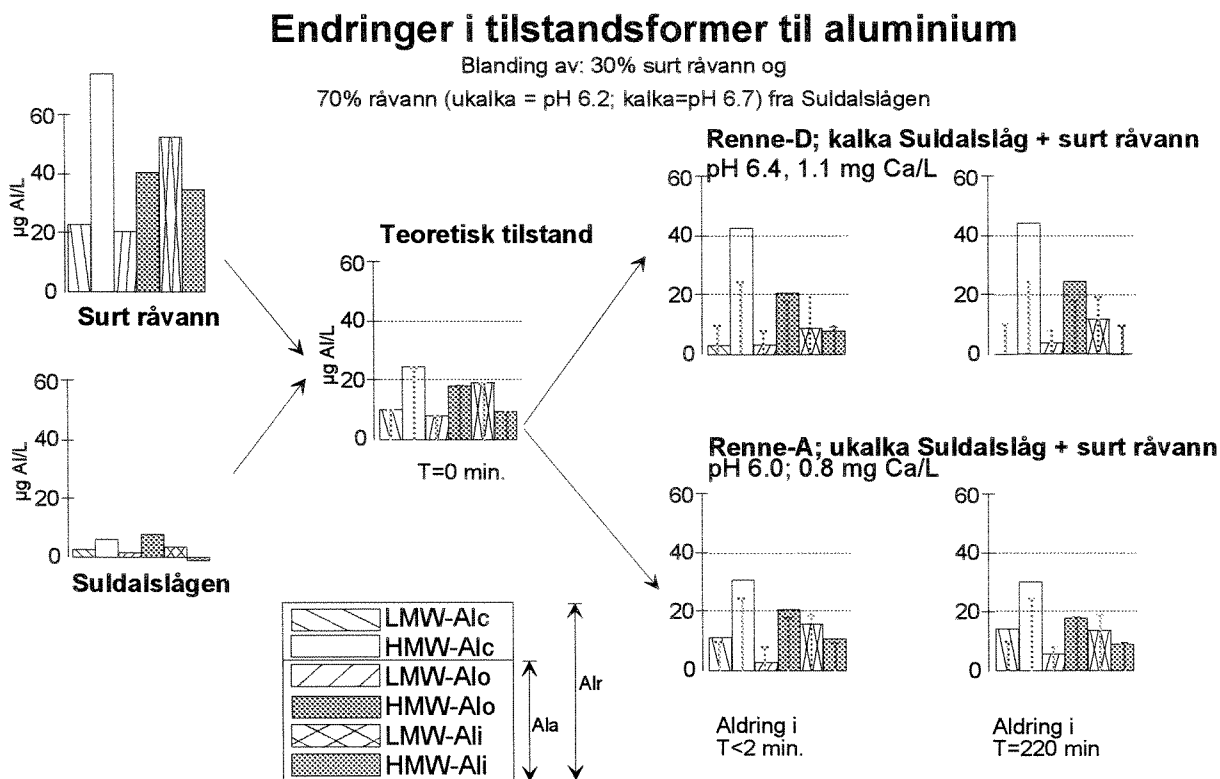
Overføring av HMW-Ali til HMW-Alo eller HMW-Alc innebærer at Tot-Ali avtar. Dette avtaket var fra 29 til 22 $\mu\text{g Al/L}$ i renne A målt i vann 4 timer etter pH-heving (figur 13, tabell 10). I renne D avtok tot-Ali fra 29 til ca 12 $\mu\text{g Al/L}$ over samme tid. Reduksjonen må gjenspeiles enten som økning i Tot-Alo, eller som Tot-Alc dersom transformasjonsprosessene har transformert Al over på en ikke-ekstraherbar form. I renne D ble det målt en svak økning i Alo i løpet av oppholdstiden i rennen, men samtidig avtok Ala. Dette tyder på at noe Ala ble overført til Alc. Alc konsentrasjonen økte fra en beregnet verdi på 37 $\mu\text{g Al/L}$ til 49 $\mu\text{g Al/L}$ innen rennen. Denne økningen skjedde raskt, og i hovedsak innen 1 minutter etter blanding. Det ble ikke målt endring i Alc-konsentrasjonen etter 1 uke lagring, men konsentrasjonen av tot-Alo økte ved at tot-Ali avtok ytterligere. I renne A var beregnet Alc-konsentrasjon på 38 $\mu\text{g Al/L}$. Etter 220 minutter aldri hadde Alc økt til 44 $\mu\text{g Al/L}$. Etter 1 uke var konsentrasjonen uforandret. Dette innebærer at mer Alc ble dannet i renne D enn i renne A, samtidig var Ali reduksjonen størst i renne D. Disse forskjellene sannsynliggjør at renne A og D har ulik utvikling med hensyn til endring i tilstandsformene til Al. Forskjellen må skyldes kalkingen av renne D.



Figur 13. Endring i Al-tilstandsformer over tid (minutter) i blandsonene i rennene A-D. Forløpene er beskrevet som 1. ordensfunksjoner.

Forsøk utført av Oughton m.fl., 1992 viste at dersom man blandet surt og kalket Al-rikt vann, var det kun Al med opphav i Ali fra den sure vannkilden som ble avsatt på gjellene. Al i den kalka vannkvaliteten var ikke reaktivt overfor fiskegjellene. Ali omfatter en rekke ulike positivt ladde former av Al, for eksempel enkle ioner (Al^{3+}) eller bundet til ulike hydroxy grupper og kan være kompleksbundet til ulike ligander som fluor, sulfat, fosfor og silika. Av disse er antatt at $\text{Al}(\text{OH})_2^+$, $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ og Al^{3+} er mer reaktive former av Al, enn Al bundet til andre ligander. Det antas her at det er $\text{Al}(\text{OH})_2^+$, $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ og Al^{3+} på LMW-form som gjennom polymerisering bidrar økning i HMW-Ali samtidig som LMW-Ali avtar. Når disse formene polymeriserer vil dette måles som økning i HMW-Ali samtidig som konsentrasjonen av LMW-Ali avtar. Det antas også at kompleksbundet Al er relativt stabilt og vil foreligge som LMW-Ali i den tid forsøket pågikk. Dette illustreres med reduksjonen i tot-Ali i renne D hvor konsentrasjonen etter 220 minutter fortsatt var på $12 \mu\text{g Al/L}$, men redusert til $4 \mu\text{g Al/L}$ etter 1 uke lagring av vannet. Reduksjonen i tot-Ali fra 4 timer til 1 uke gjenspeiles som økning i tot-Alo.

Resultatene illustrerer betydningen av *in situ* fraksjonering av Al, og hvordan størrelsesfraksjonering med påfølgende separering på ladning med hensyn til reaktivitet og syreløslighet øker muligheten for å følge transformasjoner mellom ulike Al-fraksjoner. Giftighet til Al er avhengig transformasjonsprosessene og reaksjonshastighetene.



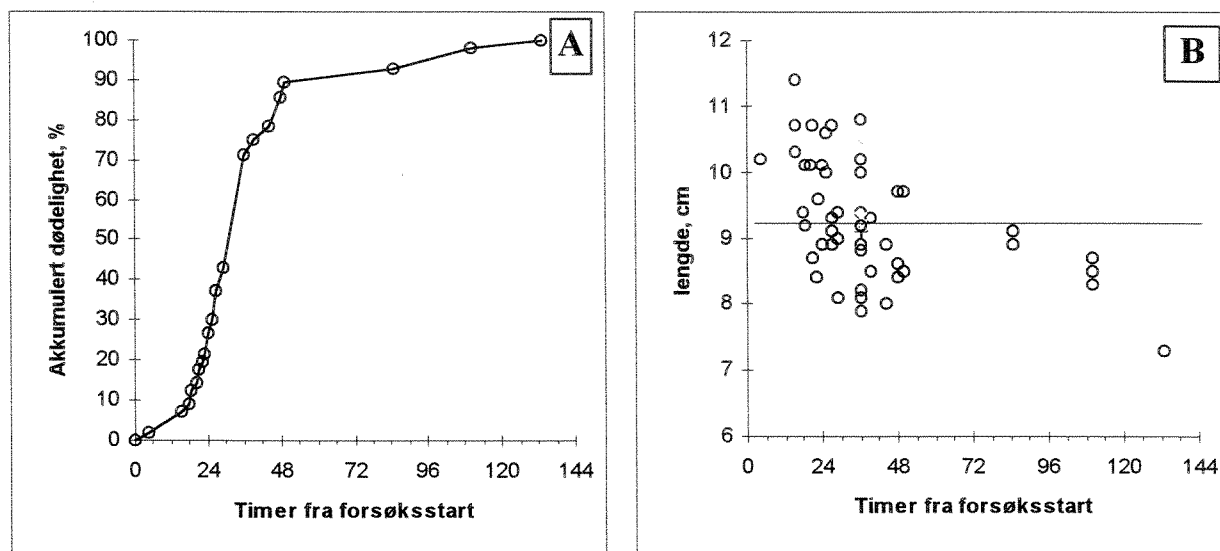
Figur 14. Endringer i ulike tilstandsformer av aluminium (Al) etter blanding av 30% surt råvann med 70% vann fra Suldalslågen. LMW-former av Al er skravert, mens HMW-former er angitt med gråtoner. Teoretisk blanding er den konsentrasjon som oppnås dersom det ikke foregår transformasjon. Både innen 2 og 220 minutter aldri ble det målt forskjeller i konsentrasjon til tilstandsformene som var forskjellig fra teoretisk verdi. Forskjellene mellom renne A og renne D reflekterer virkning av kalking. Teoretiske verdier er angitt i hver figurgruppe som vertikale søyler som hjelp til avlesing.

3.2 Fisk

3.2.1 Eksposering i råvannkildene

Dødelighet

All fisk eksponert i det sure råvannet døde i løpet av forsøksperioden (figur 15a). Det var tendenser til at den minste fisken (<9 cm) overlevde noe lengre enn stor fisk (>10 cm) uten at denne forskjellen sannsynligvis hadde betydning for resultatet i sin helhet (figur 15b). Ingen fisk døde i de fire forsøksrennene A-D.



Figur 15. Dødelighetsutvikling i surt råvann (A). Lengden på død fisk i forhold til dødstidspunkt (B).

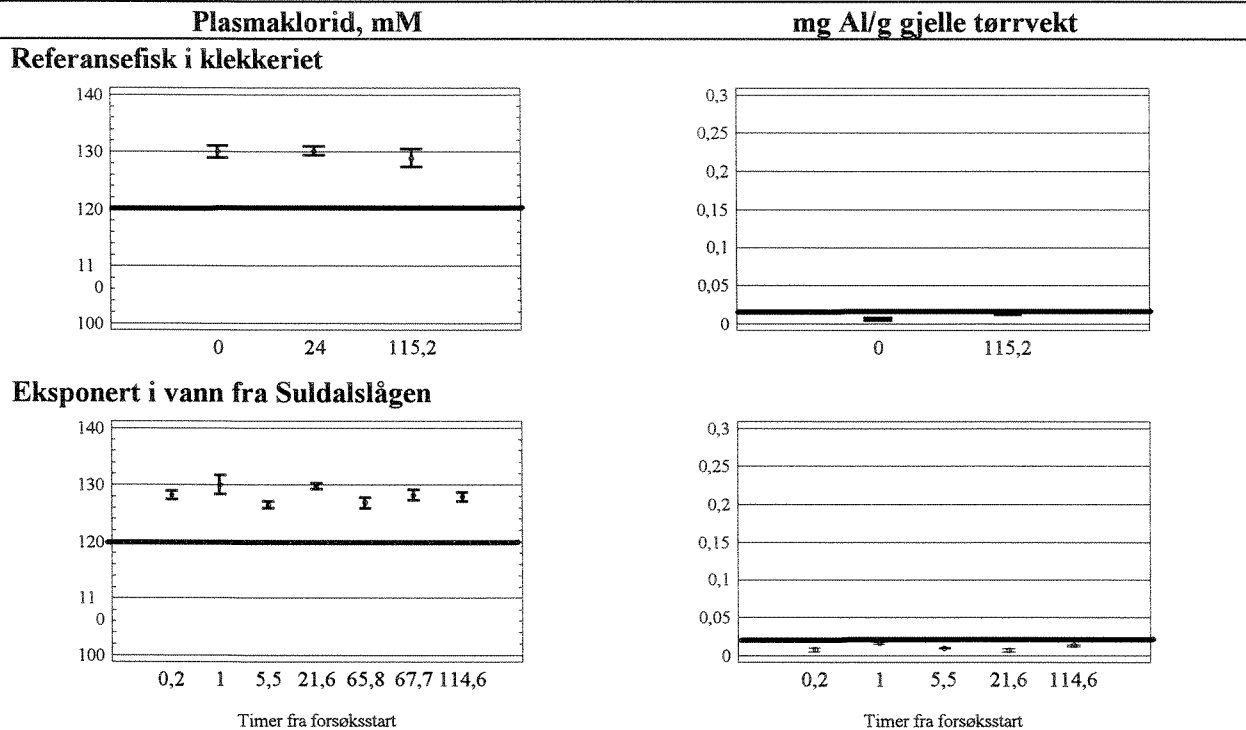
Saltregulering og aluminium på gjellene

Vi har definert at plasmaklorid konsentrasjoner høyere enn 120 mM og Al-konsentrasjon i gjellehomogenat lavere enn 0.0017 ± 3 mg Al/g gjelle tørrvekt indikerer normalt tilstander. Dette er konservativt satte grenser.

Referansecisk i klekkeriet ble prøvetatt ved forsøksstart, etter 24 timer og etter 115 timer. Denne fisken hadde plasmaklorid konsentrasjoner på 130 ± 2 mM. Al-konsentrasjonen på gjellene fra referansecisk var 0.006 ± 0.005 mg Al/g gjelle ved forsøksstart, som økte signifikant ($P=0.033$) til 0.015 ± 0.005 ved forsøkslutt (figur 16). Fisk eksponert til vann fra Suldalslågen hadde plasmaklorid konsentrasjoner på 126-130 mM, verdier som var noe lavere, men sammenlignbare med referansecisken. Al-konsentrasjonen på gjellene var også lav og sammenlignbare med referansecisken (0.007-0.016 mg Al/g gjelle avhengig av uttaket). Både plasmaklorid konsentrasjonen og konsentrasjonen av Al på gjellene er derfor vurdert som normale både hos referansecisken eksponert under klekkeribetingelser og hos fisk eksponert i ubehandlet råvann fra Suldalslågen men ellers under identiske betingelser som fisk eksponert i rennene.

Fisk eksponert i surt vann i 24 timer hadde en plasmaklorid konsentrasjon på 70-75 mM. Dette tyder på akutt ionereguleringssvikt og samsvarer bra med den observerte dødeligheten (30% dødelighet etter 24 timer eksponering). Al-konsentrasjonen på gjellene var etter 24 timer eksponering på 0.944 ± 0.146 mg Al/g gjelle tørrvekt. Denne konsentrasjonen var betydelig høyere enn den som ble målt på referansecisken (<0.0016 mg Al/g gjelle tørrvekt).

Basert på måling av plasmaklorid og akkumulering av Al på gjellene synes verken referansecisken eller fisk eksponert til vann fra Suldalslågen å være negativt påvirket av forsøksbetingelsene. Det synes heller ikke som at håndtering og andre ytre stressfaktorer har påvirket resultatet. Det kan derfor antas at forsøksoppsettet har fungert etter hensikten (figur 16). Fisk eksponert i surt råvann (pH 5.6 og $90 \mu\text{g Al/l}$) derimot viste at denne vannkvaliteten var giftig og der blant annet svikt i saltregulering var en sannsynlig dødsårsak. Fisken døde med utspillet gjellelokk og med gjeller som bar tydelig preg av mucus (slim) utsondring. Idet utspilte gjellelokk er typisk for død fisk ved oksygen svikt (Rosseland m.fl. 1990ab) samtidig som Al-konsentrasjonen på gjellene var svært høy, sannsynliggjør dette at dødeligheten kan være relatert til respirasjonssvikt.



Figur 16. Plasmaklorid (mM) og gjelle-Al (mg Al/g gjelle) målt fra T=0 til T=114 hos referansefisken (eksponert i klekkeriet) samt hos fisk eksponert i vann fra Suldalslågen. Konservativt vurderte normalverdier er angitt med horisontal strek.

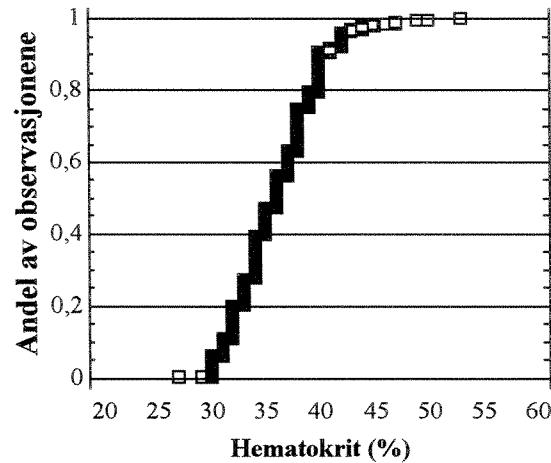
3.2.2 Eksponeringer i renne A til -D

Dødelighet

Ingen fisk døde i rennene, men fisk eksponert på stasjon 1 og 3 (1 og 10 minutter aldring) hadde en adferd som tydet på negativ påvirkning av vannkvaliteten i samtlige renner. Fisken manglet blant annet fluktrespons (sto stille eller lå på siden bakerst i buret ved prøvetaking), hostet, hadde utspillet gjellelokk og avvikende kroppsfarge. Responsene var tydeligst i renne A, minst i renne C og renne D. Disse symptomene ble ikke registrert hos referansefisken og tolkes som tilstandsendring forårsaket av vannkvalitet i blandsonen.

Hematokritt

Blodprosent (hematokritt) var i hovedsak normal for alle stasjoner og renner. Mer enn 80% av målingene lå innenfor 30-40 volumprosent blodplasma. Dette må ansees som normalverdier. Et lite antall målinger viste forhøyde verdier. Disse ble i hovedsak målt i renne A. Fisk eksponert til surt råvann døde med hematokritt konsentrasjoner mellom 38 og 48%. Hematokrittverdiene indikerte ikke tilstedeværelse av suboptimal vannkvalitet (renne A, B, C og D) eller dødelig vannkvalitet (surt råvann).



Figur 17. Fordelingen av hematokrittverdier for samtlige fisk i de ulike rennene. De høyeste verdiene ble målt i renne A.

Saltregulering, eksponeringstid

Det ble målt markerte forskjeller i plasmaklorid både innen og mellom rennene. Både eksponeringstid og aldring av vannet innvirket på plasmaklorid konsentrasjonen (tabell 11; figur 18; figur 19).

24 timer eksponering

Etter 24 timer eksponering ble det kun påvist plasmaklorid verdier under 120 mM på stasjon 1 i renne A og B og på stasjon 80 minutter i renne C og D. I renne A hadde de fleste stasjonene plasmaklorid konsentrasjoner lavere enn referansecfisken. I renne B, -C og -D forekom det fisk i enkelte kar som hadde plasmaklorid verdier lavere enn referansen. Lave verdier ble normalt målt fram til ca 80 minutter aldring av vannet.

70 timer eksponering

Etter 70 timer eksponering var plasmaklorid verdiene i renne A og B lavere enn 120 mM og betydelig lavere enn referansecfisken. I renne C og D hadde kun fisk eksponert i de to første stasjonene lavere plasmaklorid verdier enn 120 mM. Resterende stasjoner hadde verdier oppunder referansecfisken. I alle rennene økte plasmaklorid konsentrasjonen fra stasjon 1 til stasjon 9. Økningen var signifikant i alle renner og antyder redusert effekt av ytre faktorer som for eksempel vannkjemi i blandsonen med økende aldring av vannet.

140 timer eksponering

Forskjellene påvist etter 24 og 70 timer eksponering var opprettholdt etter 140 timer eksponering. I renne A og B hadde tilnærmet alle fiskegruppene plasmaklorid verdier lavere enn 120 mM og betydelig lavere konsentrasjoner enn målt hos referansecfisken. I renne C og D hadde kun fisk på stasjon 1 og 3 verdier betydelig lavere enn 120 mM. Plasmaklorid konsentrasjonene var likevel oftest signifikant lavere enn verdiene målt hos referansecfisken.

Resultatet antyder svikt i ionereguleringen hos fisk i renne A og B, men også at svikten var betydelig mer moderat og normalt begrenset til stasjon 1 og 3 i renne C og D. At plasmaklorid verdiene hos fisk i renne A, B og C normalt var lavere enn verdiene målt hos referansecfisken og hos fisk eksponert til vann fra Suldalslågen kan antyde at selv små og sannsynligvis neglisjerer endringer i saltregulering kan være forårsaket av vannkvalitet. I renne D var all fisk eksponert til vann aldring i 45 minutter eller mer lik fisk eksponert til vann fra Suldalslågen.

Tabell 11. Plasmaklorid konsentrasjoner (gjennomsnitt og standard avvik) for laks (parr) eksponert i 24, 70 og 140 timer fra eksponeringsstart i renne A, B, C og D. Antall fisk prøvetatt er angitt som N=. Det er testet for forskjeller innen rennene, med klekkerifisk som referanse (ANOVA; Tukey ad hoc test). Referanseverdier er angitt som T=0. Prefiks "a" betyr at verdiene var signifikant forskjellige fra referansen. "b" betyr at stasjonene var signifikant forskjellig fra den nederste stasjonen innen renna. Signifikansnivå "P-verdi" er angitt.

24 t	N=		A	N=		B	N=		C	N=		D
0	6		130 ±3	6		130 ±3	6		130 ±3	6		130 ±3
1	6	a	118 ±4	6	a	118 ±3	6	a	122 ±1	6		122 ±5
7	6	a	124 ±2	6	ab	121 ±4	6	a	121 ±4	6	a	118 ±6
45	6	a	123 ±4	6		127 ±3	6		128 ±5	6		123 ±3
80	6	a	122 ±2	6		124 ±3	6	ab	118 ±3	6	a	119 ±4
180	6		127 ±5	6		128 ±4	6		131 ±5	6		130 ±3
220	6	a	122 ±5	6		129 ±3	6		127 ±3	6		129 ±4
P=			0,0000			0,0000			0,0000			0,0000
70 t												
0	12		130 ±3	12		130 ±3	12		130 ±3	12		130 ±3
1	6	ab	103 ±2	6	ab	104 ±3	6	ab	116 ±4	6	ab	103 ±11
7	6	a	108 ±7	6	ab	107 ±8	6	ab	111 ±5	6	ab	118 ±2
45	6	a	111 ±6	6	a	120 ±3	6	a	125 ±3	6		128 ±1
80	6	a	118 ±8	6	a	119 ±4	6	a	124 ±4	6		125 ±4
180	6	a	113 ±6	6	a	117 ±2	6	a	122 ±4	6		124 ±3
220	6	a	116 ±8	6	a	116 ±5	6	a	124 ±1	6		127 ±4
P=			0,0000			0,0000			0,0000			0,0000
140 t												
0	10		129 ±3	10		129 ±3	10		129 ±3	10		129 ±3
1	10	ab	106 ±4	10	ab	110 ±3	10	ab	103 ±10	10	ab	106 ±5
7	10	a	109 ±9	10	ab	107 ±3	10	ab	108 ±4	10	ab	114 ±3
45	10	a	116 ±6	10	a	115 ±4	10	a	119 ±4	10	a	121 ±3
80	10	a	115 ±5	10	a	115 ±6	10	a	120 ±2	10		125 ±4
180	10	a	115 ±7	10	a	116 ±5	10	a	118 ±8	10		124 ±3
220	10	a	116 ±5	10	a	120 ±2	10		123 ±6	10		123 ±4
P=			0,0000			0,0000			0,0000			0,0000

Akkumulering av aluminium, eksponeringstid

Konsentrasjonen av Al på gjellene avtok med økende teoretisk aldringstid på vannet (figur 20). Forskjellen i endring fra T=0 til T=220 minutter var størst i renne D.

Konsentrasjonen av Al på gjellene økte med økende eksponeringstid i renne A og D fra T=0 til T=24 timer (figur 21). Konsentrasjonen etter 24 timer eksponering i renne A og -D viste signifikant økning på alle stasjoner innen renna i renne A, mens i Renne D var økningen kun signifikant på stasjon 1 og 3. Akkumulering var lavere i vann aldret i 220 minutter på samtlige uttak enn i vann tidlig etter pH-heving (tabell 12, figur 21).

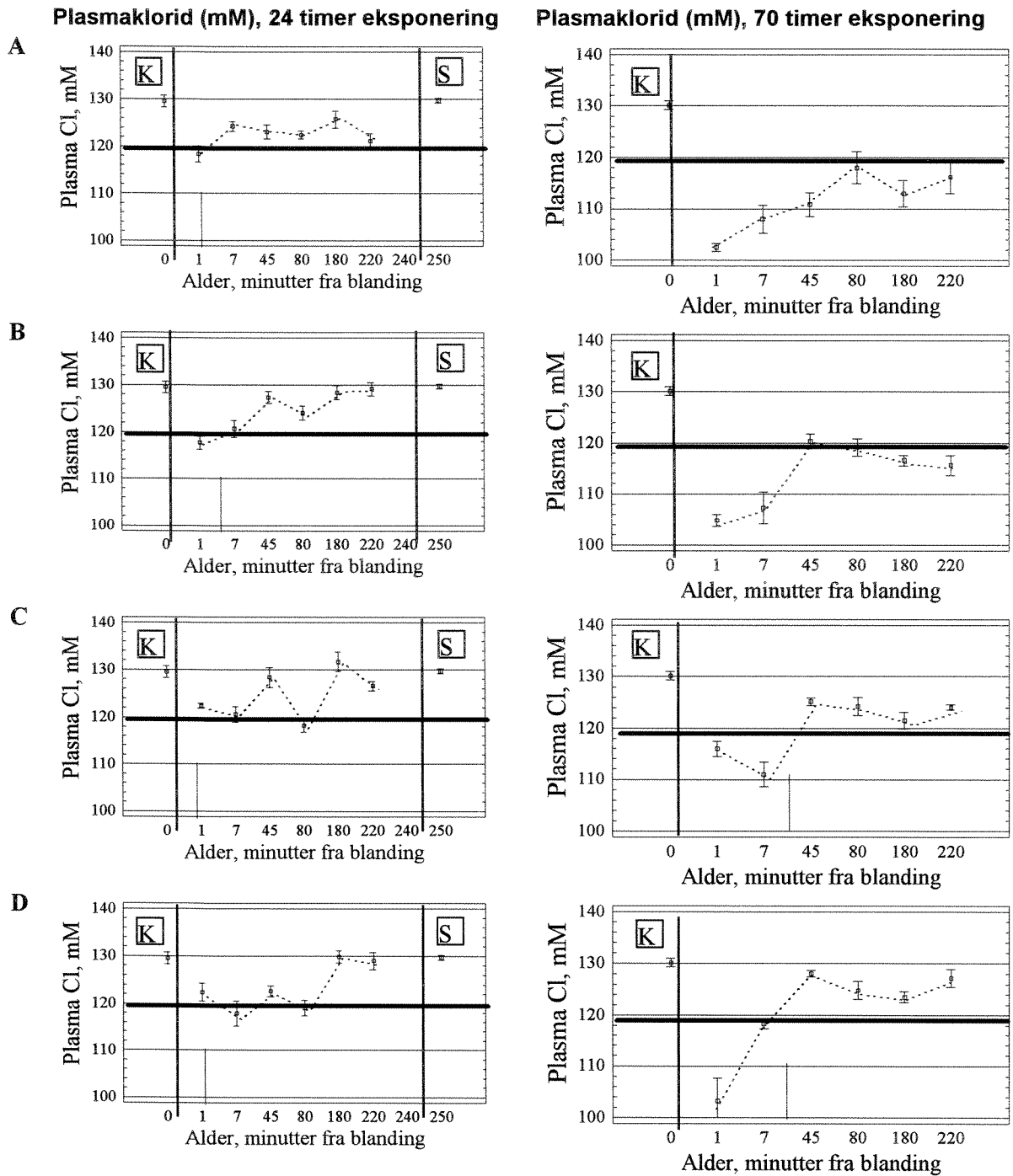
Etter 140 timer eksponering var gjelle-Al konsentrasjonen målt i renne A lavere enn etter 24 timer. Denne forskjellen var ikke tilstede i renne D (tabell 12, figur 21). Endringene observert i renne A kan forklares som en funksjon av endring i vannkvalitet, hvor Al-konsentrasjonen var høyere de første 24 timene av forsøket enn senere. Endringen var på kun 15 µg AL/L. Lacroix m.fl., 1993 påviste at Al akkumulert på gjeller raskt forsvinner dersom fisken overføres til vann med lavere Al-konsentrasjon. Tilsvarende raske endringer ble påvist hos aure eksponert i blandsoner i Nordmarka, Oslo (Verbost m.fl., 1995). Det er derfor rimelig grunn til å anta at endringene kan forklares vannkjemisk. Endringsrater bør inkluderes i fremtidige forsøk. Alternativt er det kjent at konsentrasjonen av Al på gjellene kan reduseres ved at fisken "hoster" bort slim (mucus). Hosting kan ikke forklare reduksjonen ettersom variasjonen innen en stasjon var liten.

Tabell 12. Konsentrasjon aluminium i gjellehomogenat (gjennomsnitt og standard avvik) for laks (parr) eksponert i 24 og 140 timer fra eksponeringsstart. Antall fisk prøvetatt er angitt som N=. 3*2 betyr at gjeller fra seks fisk ble fordelt på 2 prøvetakingsglass (pooled samples). Det er testet for forskjeller innen rennene, med klekkerifisk som referanse (ANOVA; Tukey ad hoc test). Referanseverdier er angitt som T=0. Prefiks "a" betyr at verdier var signifikant forskjellige fra referansen. " b" betyr at stasjonene også var signifikant forskjellig fra stasjonen 9 innen renna. Signifikansnivå "P-verdi" er angitt.

24 t	N=	A	N=	B	N=	C	N=	D
0	6	0.007 ±0.005					6	0.007 ±0.005
1	5 ab	0.330 ±0.084					5 a	0.249 ±0.051
7	5 ab	0.249 ±0.072					4 a	0.024 ±0.004
45	3*2 a	0.195 ±0.035					3*2	0.017 ±0.005
80	6 a	0.221 ±0.049					6	
180	6 a	0.206 ±0.045					6	
220	6 a	0.201 ±0.109					6	0.020 ±0.002
P=		0.000						0.000
140 t								
0	6	0.013 ±0.005	6	0.013 ±0.005	6	0.013 ±0.005	6	0.013 ±0.005
1	5 ab	0.186 ±0.020	5 ab	0.071 ±0.008	5	0.017 ±0.005	5 a	0.214 ±0.005
7	5 ab	0.164 ±0.020	5 ab	0.058 ±0.012	2*3	0.016 ±0.005	4 a	0.057 ±0.003
45	3*2 a	0.178 ±0.000	3*2 a	0.054 ±0.000			3*2	0.025 ±0.000
80	6 a	0.155 ±0.016	6 a	0.061 ±0.002	6	0.012 ±0.016	6	0.028 ±0.002
180	6 a	0.147 ±0.011	6 a	0.058 ±0.003	6 a	0.008 ±0.000	6	0.026 ±0.001
220	6 a	0.140 ±0.011	3*2 a	0.043 ±0.000	6 a	0.008 ±0.003	6	0.020 ±0.000
P=		0.000		0.000		0.021		0.000

Tabell 13. Konsentrasjon av aluminium i gjellehomogenat (gjennomsnitt og standard avvik) for laks (parr) eksponert fra 0.2 til 140 timer i renne A og renne D. Antall fisk prøvetatt var 5-6, med unntak for 45 minutter aldrig på 24 og 140 timer uttaket hvor det ble tatt prøver av 6 fisk fordelt på to prøveglass (pooled samples). Det er ikke testet for forskjeller innen rennene eller mellom stasjonene.

Akkumulert oppholdstid minutter	Akkumulert eksponeringstid (timer) mg Al/g gjelle tørrvekt				
	0.2 t	1.0 t	6 t	24 t	140 t
A					
0	0.006 ±0.005			0.007 ±0.005	0.013 ±0.005
1	0.008 ±0.003	0.026 ±0.004	0.113 ±0.032	0.330 ±0.084	0.186 ±0.020
7	0.007 ±0.020	0.011 ±0.002	0.104 ±0.022	0.249 ±0.072	0.164 ±0.020
45				0.195 ±0.035	0.178 ±0.000
80				0.221 ±0.049	0.155 ±0.016
180				0.206 ±0.045	0.147 ±0.011
220	0.006 ±0.005			0.201 ±0.109	0.140 ±0.011
D					
0	0.006 ±0.005			0.007 ±0.005	0.013 ±0.005
1	0.021 ±0.007	0.022 ±0.011	0.036 ±0.007	0.249 ±0.051	0.214 ±0.005
7	0.008 ±0.006	0.004 ±0.001	0.010 ±0.002	0.024 ±0.004	0.057 ±0.003
45				0.017 ±0.005	0.025 ±0.000
80					0.028 ±0.002
180					0.026 ±0.001
220	0.006 ±0.005			0.020 ±0.002	0.020 ±0.000
P=				0.000	0.000

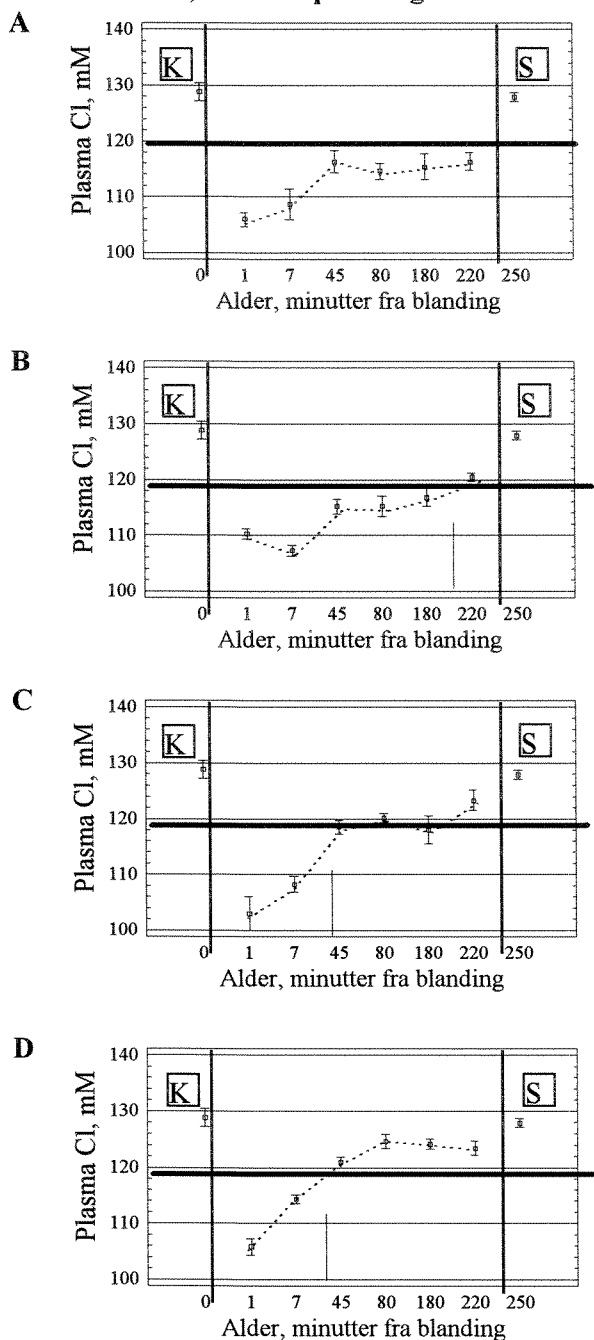


Figur 18.

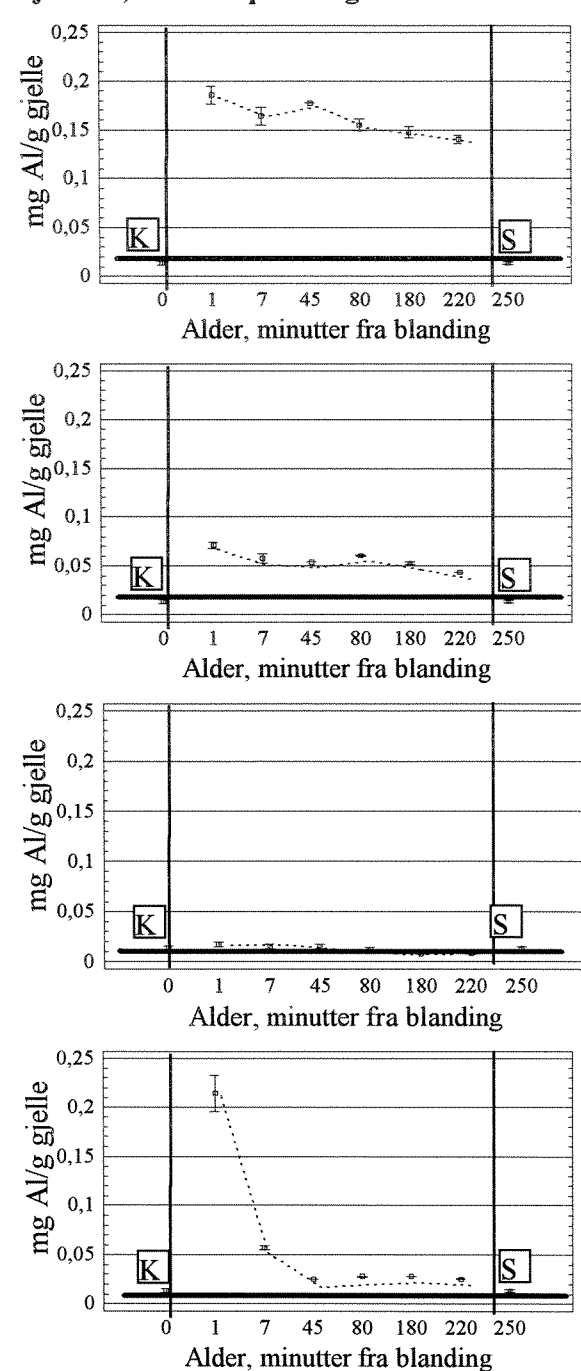
Plasmaklorid hos lakseparr målt etter 24 eller 70 timer eksponering i renne A-D. Konservativt definerte normalnivåer er antydnet med tykk horisontal strek. Referansefisk (K) tilhørende hvert uttak på henholdsvis 24 og 70 t eksponering er angitt som T=0 på hver renne. Prøver tatt av fisk eksponert i 24 timer i stabilt vann fra Suldalslågen er angitt med (S). Referansefisk (K) og fisk eksponert i vann fra Suldalslågen (S) er utskilt med vertikale strek.

140 TIMER EKSPONERING

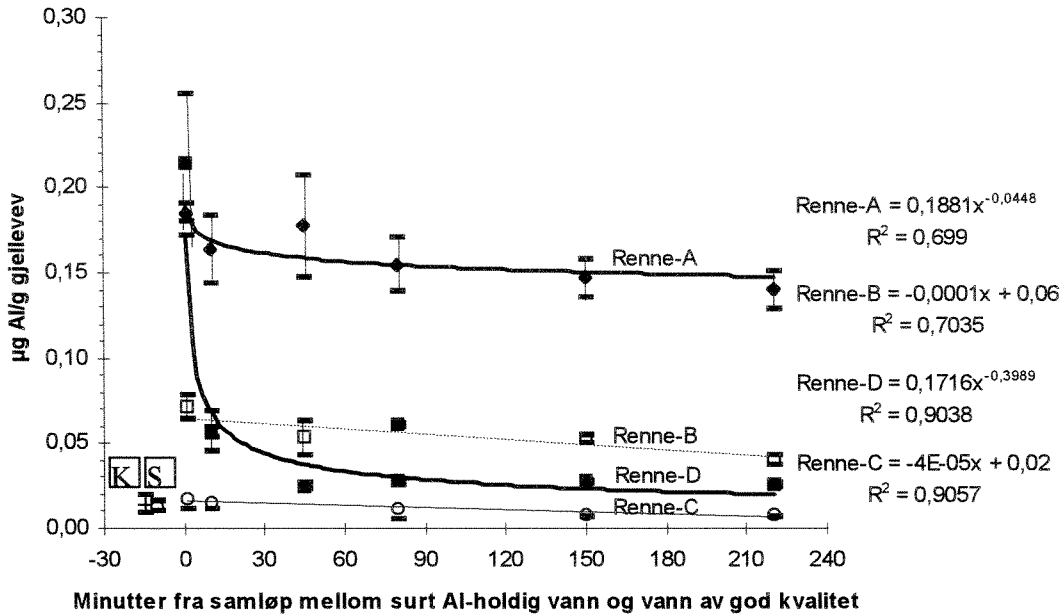
Plasma-Cl, 140 t eksponering



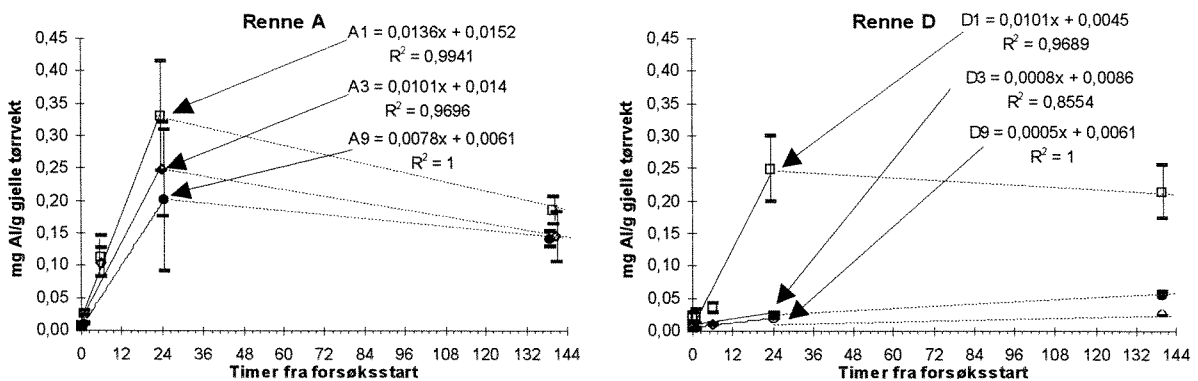
Gjelle Al, 140 t eksponering



Figur 19. Plasmaklorid og gjelle-Al målt på lakse-parr etter 140 timer eksponering i renne A-D. Referansecisk (K) eksponert til klekkerivann i 140 t er angitt som T=0 på hver renne. Prøver tatt av fisk eksponert i 140 t i stabilt vann fra Suldalslågen er angitt med (S). Referansecisken (K) og fisk eksponert i vann fra Suldalslågen (S) er utskilt med vertikale strek.



Figur 20. Konsentrasjon aluminium i gjellehomogenat (mg Al/g gjelle tørrvekt) målt etter 140 timer eksponering på gjeller av lakseparr prøvetatt i Renne A til -D og i vann aldret fra 1 til 220 minutter etter blanding. Gjennomsnittsverdier og standard avvik er vist. Forløpet i samme renne er beskrevet med 1. ordens funksjon. Ligninger med R^2 -verdier er angitt i figuren. Referanseverdier fra fisk eksponert til klekkerivann (K) og til vann fra Suldalslågen (S) i 140 t er markert.



Figur 21. Konsentrasjon aluminium i gjellehomogenat (mg Al/g gjelle tørrvekt) målt på gjeller av lakse-parr eksponert i vann fra tid=0 til tid=140 timer i Renne A og -D i stasjon 1, 3 og 9. Gjennomsnittsverdier og standard avvik er vist. Forløpet fra T=0 til T=24 er beskrevet med en lineær funksjon. Ligninger med R^2 -verdier er angitt i figurene. Stiplede linjer antyder mulige endringer fra T=24 til T=140 timer.

3.2.3 Betydning av akkumulert teoretisk oppholdstid (aldring)

Det diskuteres materiale basert på prøver tatt etter 140 t eksponering fra ulike kar innen hver renne.

1 minutt aldring

All fisk eksponert i vann aldret i 1 minutt hadde redusert plasmaklorid med konsentrasjoner under 110 mM. Det var stor forskjell i konsentrasjon av Al på gjellene, med signifikante forskjeller mellom alle rennene. Høyest konsentrasjon ble målt i Renne A og D (30% surt råvann), mens konsentrasjonen i Renne B og -C var betydelig lavere (figur 22).

7 minutter aldring

All fisk eksponert i vann aldret i 7 minutter hadde redusert plasmaklorid med konsentrasjoner under 115 mM. Fisk eksponert i Renne-D hadde imidlertid signifikant høyere konsentrasjon enn fisk i de andre tre rennene. Det var stor forskjell i konsentrasjon Al på gjellene, hvor renne A hadde signifikante høyere konsentrasjon enn resten og renne C hadde signifikant lavere konsentrasjon enn resten. Forskjellen i konsentrasjon mellom renne B, C og D var moderat (figur 22).

45 minutter aldring

All fisk eksponert i vann aldret i 45 minutter hadde redusert plasmaklorid med konsentrasjoner mellom 115 og 121 mM. Fisk eksponert i renne D hadde signifikant høyere konsentrasjon enn målt i renne A. Det var stor forskjell i konsentrasjon av Al på gjellene, hvor renne A hadde signifikante høyere konsentrasjon enn resten av rennene. Det mangler data for renne C. Renne D hadde signifikant lavere konsentrasjon enn resten. Forskjellen i konsentrasjon mellom renne B og -D var moderat (figur 22).

80 minutter aldring

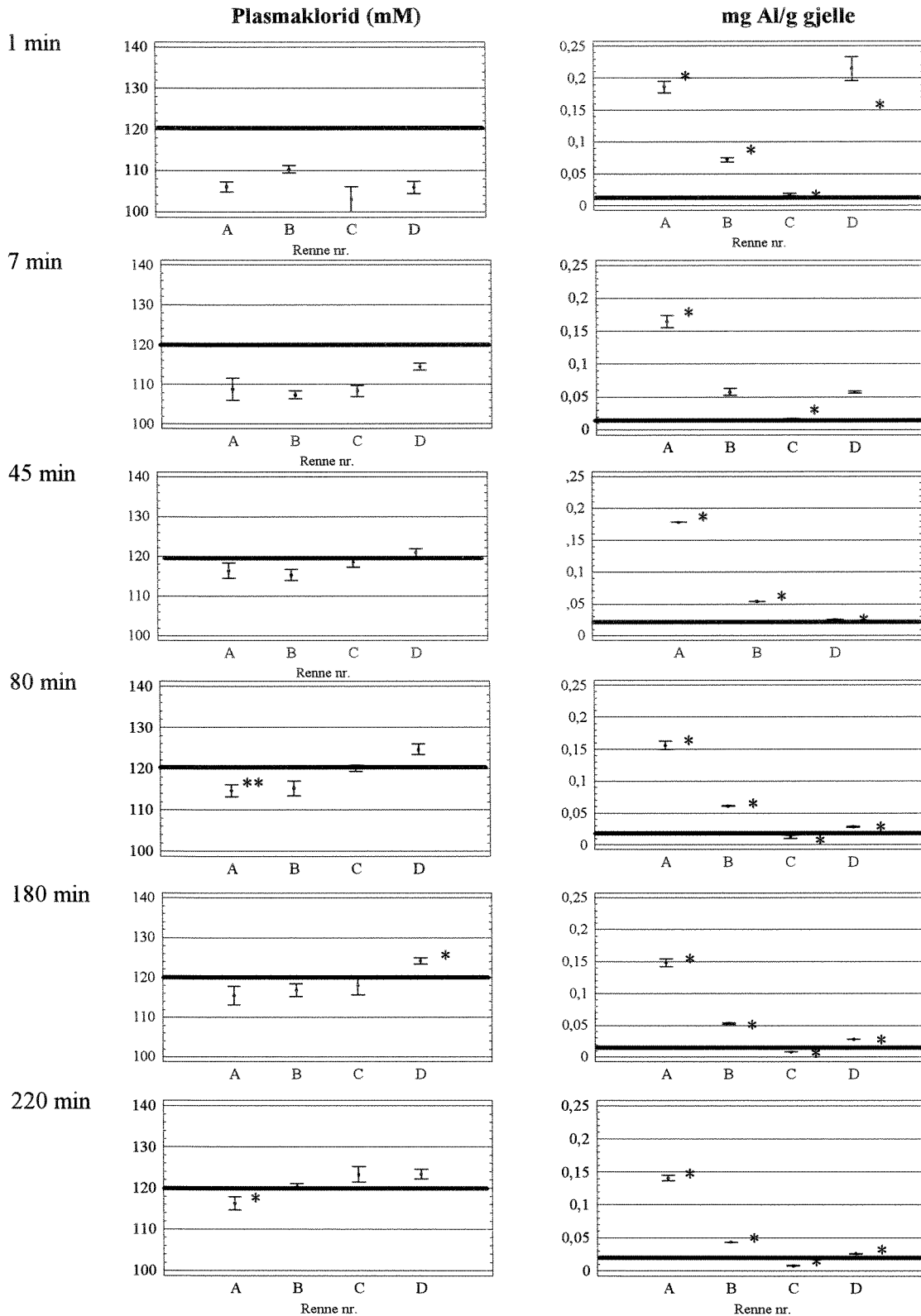
Fisk eksponert i renne A, B og C i vann aldret i 80 minutter hadde redusert plasmaklorid med konsentrasjoner mellom 114 og 120 mM. Fisk eksponert i renne D (125 mM) og i renne C (120 mM) hadde signifikant høyere konsentrasjon enn målt i renne A. Det var stor forskjell i konsentrasjonen av Al på gjellene, hvor renne A hadde signifikante høyere konsentrasjon enn resten av rennene. Forskjellen i konsentrasjon mellom renne B, C og D var moderat, men renne C hadde signifikant lavest konsentrasjon (figur 22).

180 minutter aldring

Fisk eksponert i renne A, B og C i vann aldret i 180 minutter hadde redusert plasmaklorid med konsentrasjoner mellom 115 og 118 mM. Fisk eksponert i Renne D (125 mM) hadde signifikant høyere konsentrasjon enn målt i renne A og i renne B. Det var stor forskjell i mengde Al på gjellene, hvor renne A hadde signifikante høyere konsentrasjon enn resten av rennene. Forskjellen i konsentrasjon mellom renne B til -D var moderat, men renne C hadde signifikant lavest konsentrasjon (figur 22).

220 minutter aldring

I vann aldret i 220 minutter hadde kun fisk eksponert i renne A redusert plasmaklorid med konsentrasjoner under 120 mM. Fisk eksponert i renne C til D (123-125 mM) hadde signifikant høyere konsentrasjon enn målt i renne A. Det var stor forskjell i mengde Al på gjellene, hvor renne A hadde signifikante høyere konsentrasjon enn resten av rennene. Forskjellen i konsentrasjon mellom renne B til -D var moderat, men renne C hadde signifikant lavest konsentrasjon (figur 22).



Figur 22. Gjennomsnittsverdier for plasmaklorid(mM) og gjelle-Al (mg AL/g gjelle) målt på samme posisjon (alder på vannet) i renne A til -D etter 140 timer eksponering.

3.2.4 Ulike feltobservasjoner

Det ble i løpet av feltarbeidet gjort en rekke observasjoner som ikke uten videre er målbare eller kvantifiserbare, men som likevel kan ha verdi for tolking av resultat. Det ble blant annet notert en markert forskjell i hvor lett det var å prøveta fisk fra de ulike rennene og karene. Prøvetaking var vanskeligst på fisk fra A og B-renna, lettest i C og D. Likeledes var prøvetakingen vanskeligere på fisk eksponert i bur 1-3 enn i bur 4-9. Fisk eksponert i vann fra Suldalslågen eller fra referansekarret var lettest å prøveta. Denne forskjellen er notert i feltboka som tallverdi 1=rennende blod og god prøve, 2=rennende blod, lite men tilstrekkelig prøvevolum, 3=seigt blod, men blodet kunne strykes lett av fisken med prøvetakingsrøret, 4=meget seigt blod og blodet kunne vanskelig strykes av haleflaten og 5="tørr" fisk og lite blod. Dette ble notert for å kunne kvalitetsvurdere de enkelte prøvene og ble ikke notert for bruk som stressparameter. Det ble likevel etter prøvetakingen vurdert at de observerte forskjellene kunne reflektere reelle tilstandsforskjeller hos fisk fra de ulike gruppene. I praksis vil små fisk (8-9 cm) få en noe høyere tallverdi enn stor fisk (>10 cm) på grunn av lite blod tilgjengelig for prøvetaking. Likeledes har noen fisk (< 2%) fått økt tallverdi på grunn av prøvetakingen. På tross av denne feilkilden vil evalueringen sannsynligvis reflektere forskjeller i viskositet på blodet.

Tabell 14. Kvalitetskriterier og evaluering av hvor lett det var å få en blodprøve etter 7 dager eksponering. 1=rennende blod og god prøve, 2=rennende blod, lite men tilstrekkelig prøvevolum, 3=seigt blod, men blodet kunne strykes lett av fisken med prøvetakingsrøret, 4=meget seigt blod og blodet kunne vanskelig strykes av haleflaten og 5="tørr" fisk og lite blod. Det er her angitt medianverdier som indikasjon på forskjeller i blodkvalitet for 10 fisk fra hver gruppe.

Vannkvalitet	1 min.	7 min.	45 min.	80 min.	150 min.	220 min.	Ref. fisk
Referanse							1
Suldalslågen							1
Renne A	3	4	3	3	3	2	
Renne B	2	4	3	3	2	2	
Renne C	2	3	2	1	2	2	
Renne D	3	4	3	1	1	1	

Foruten forskjeller i viskositet av blodet ble det også registrert forskjeller i slimkvalitet på fisk ved prøvetakingen. Fisk eksponert i rennene (bur 1 og 3) hadde "tørrere" og mer "klebrig" slim enn det som ble registrert hos fisk fra karene som hadde "sleipere" slim. Mens denne fisken var glatt å holde i var den første gruppen tydelig klebrige og fisken "limte" seg fast til tørkepapir, hender o.l. Det syntes også noe overraskende som at fisk eksponert i stasjon 7 og 9 var mer slimete enn fisk fra stasjon 4 og 5. Fisk eksponert i vann fra Suldalslågen var ikke slimete, ei heller referansefisken. Denne observasjonen er ikke forsøkt kvantifisert, men reflekterer det man opplevde ved prøvetakingen.

Fisk fra bur 1-3 var meget rolig i bøtten under prøvetaking og lette å fange. Fisk fra bur 7 og 9 var meget aktive og unnvek innfangning for prøvetaking. Forskjellen var påtagelig stor og reflekterer sannsynligvis forskjeller i subletalt skadeomfang. Det ble også registrert at gjeller fra fisk i bur plassert tidlig i blandsonen virket mer "hovne og frynsete", mens gjeller fra de nederste stasjonene virket "friskere", dog ikke så "friske" som gjeller fra Suldalslågen eller fra referansefisken.

3.3 Vurdering av vannkvalitet og effekter

Både referansefisken i klekkeriet og fisk eksponert i vann fra Suldalslågen hadde normalt høyt plasmaklorid konsentrasjon og lave konsentrasjoner av Al på gjellene. Fisk eksponert i rennene hadde ulik grad av påvirkning der fisk eksponert til vann umiddelbart etter blanding var mer påvirket enn fisk eksponert til vann med lengre oppholdstid. Fisk eksponert i renne D ble raskest normal på tross av at rennen mottok lik mengde surt råvann og Al som renne A. I renne A ble det sure vannet blandet direkte inn i ubehandlet vann fra Suldalslågen, mens i renne D var vannet fra Suldalslågen på forhånd kalket. Det synes som at kalkingen påvirket avgiftingsraten direkte, enten som følge av pH-heving eller som følge av økt ionestyrke eller kalsium konsentrasjon. Effektene målt i renne B og -C synes å følge et fortynningsforløp (synkende innblandingsandelen surt råvann).

3.3.1 Renne A og D; kalking

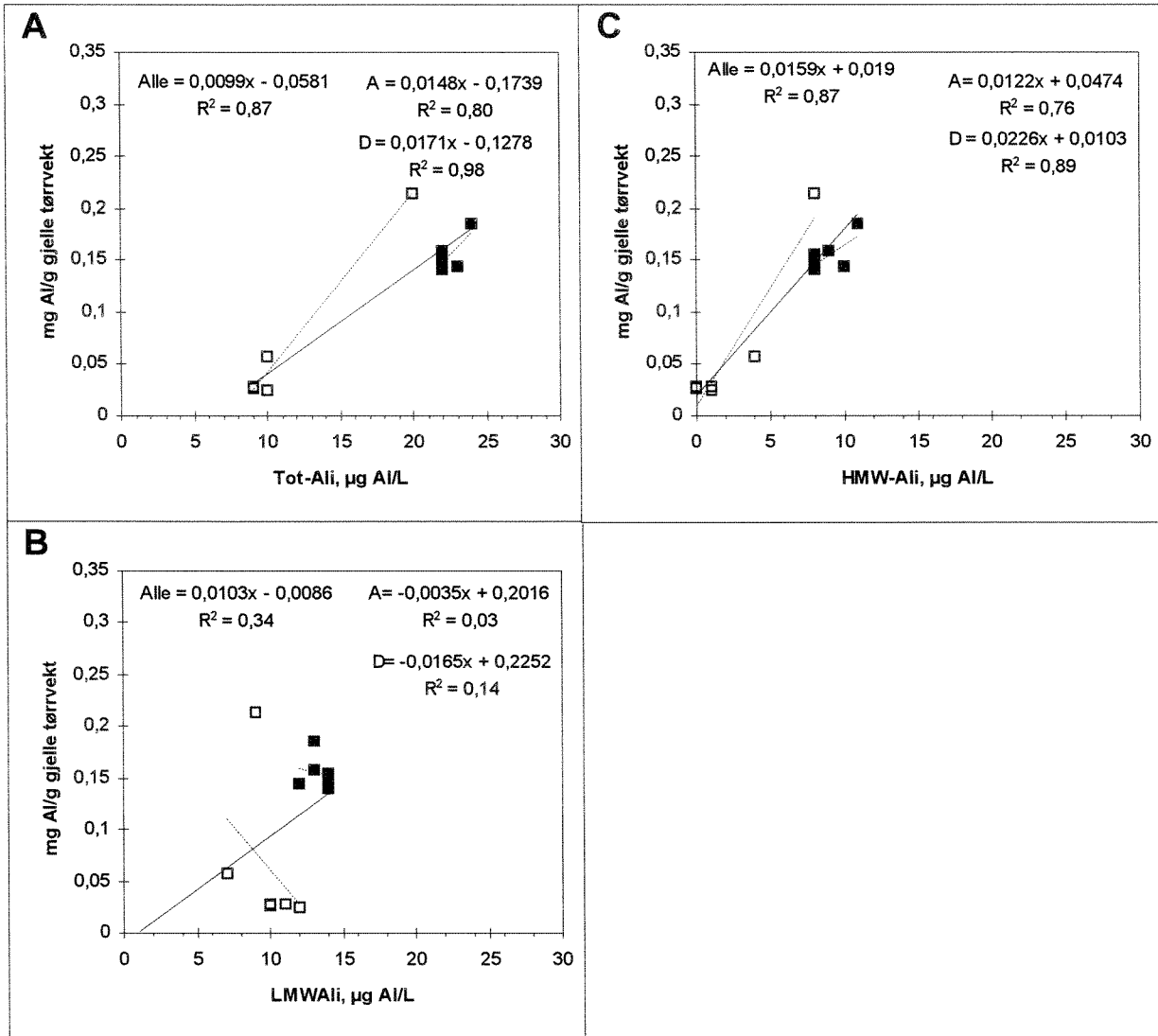
Aluminium på gjeller

Det ble antatt at det ville foreligge en sammenheng mellom tot-Ali, LMW-Ali og HMW-Ali og Al-konsentrasjonen på gjellene. Variasjonen i konsentrasjonen av Al på gjellene kunne forklares med både Tot-Ali (summen av LMW-Ali og HMW-Ali) og HMW-Ali ($R^2 > 0.95$), mens forklaringsnivået for LMW-Ali var lavere ($R^2 = 0.47$) (figur 23). Forskjellen i forklaringsnivå mellom HMW og LMW-Ali antyder at konsentrasjonsforskjeller i HMW-Ali bedre forklarer konsentrasjonen av Al på gjellene enn LMW-Ali.

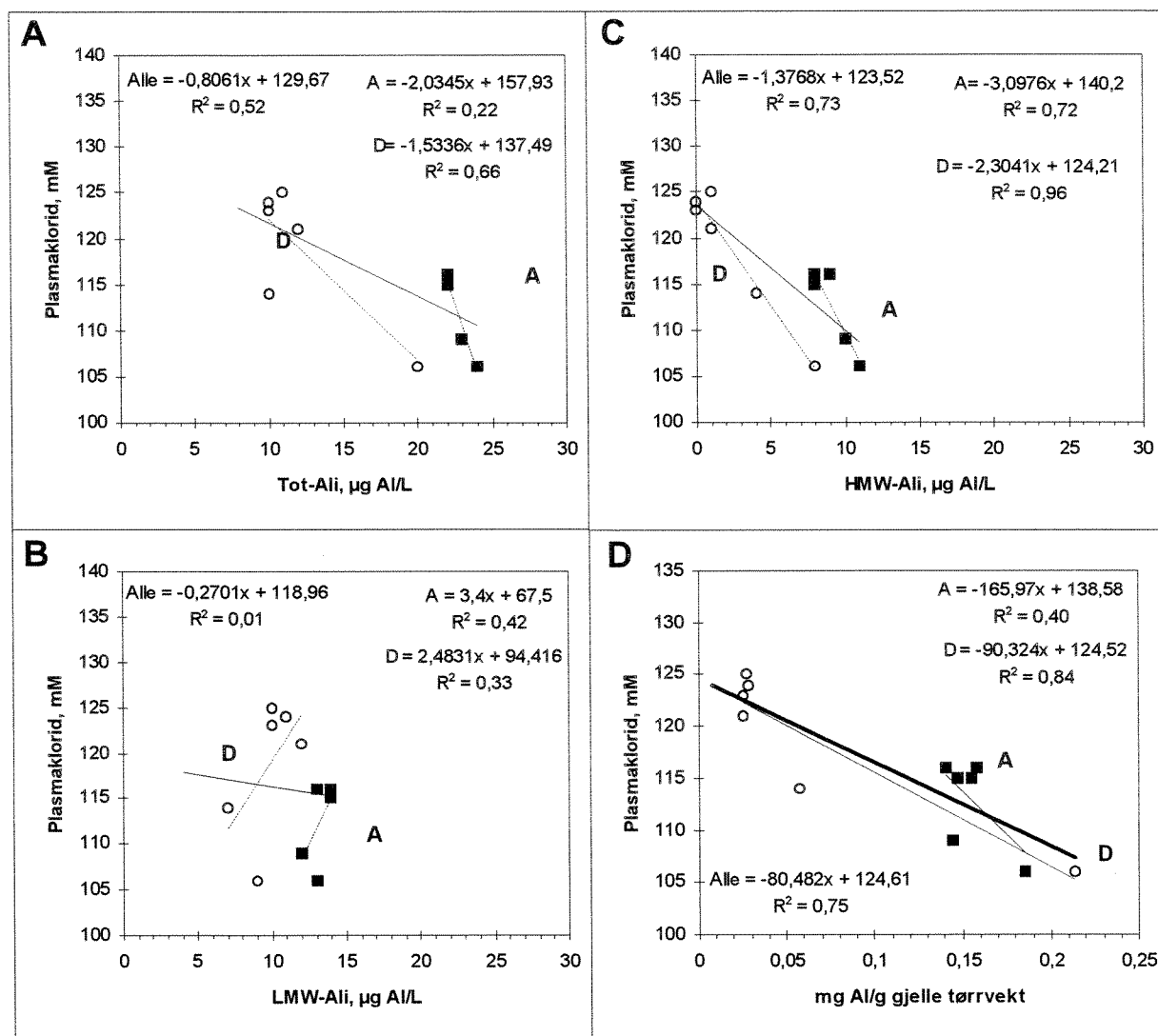
Ioneregulering og aluminium

Variasjon i tot-Ali kunne forklare 52% av variasjonen i plasmaklorid for renne A og D samlet (Figur 24). Forklaringsnivået til HMW-Ali var på $R^2 = 0.72$, mens LMW-Ali konsentrasjonen ikke hadde forklaringsverdi ($R^2 = 0.01$). HMW-Ali korrelerte godt også innen rennene ($R^2 > 0.72$). Sammenhengen mellom endring i plasmaklorid konsentrasjon og HMW-Ali sannsynliggjør at denne form av Al hadde en negativ innvirkning på ioneregulering, og hadde større betydning for ioneregulering enn LMW-Ali.

Laks som hadde en Al-konsentrasjon på gjellene høyere enn ca. 0.05 mg Al/g gjelle tørrvekt hadde reduserte plasmaklorid konsentrasjon basert på data fra renne A og D. Reduksjonen i plasmaklorid konsentrasjon økte med økende konsentrasjon Al på gjellene. Den målte korrelasjonen både mellom HMW-Ali og Al-konsentrasjon på gjellene og HMW-Ali og innvirkning på ioneregulering antyder at det kan foreligge en sammenheng mellom endringer i tilstandsformene til HMW-Ali (polymerisering) og fysiologiske effekter. Svak til ingen korrelasjon med LMW-Ali kan indikere at LMW-Ali målt i en blandsone har mindre biologisk påvirkning enn HMW-Ali. Måling av kun tot-Ali kan i såfall overestimere giftighet.



Figur 23. Al-konsentrasjon i gjellehomogenat (mg Al/g gjelle tørrvekt) fra lakseparr på ulike stasjoner i renne A (svart firkant) og D (åpen firkant) etter 140 timer eksponering i forhold til konsentrasjon av ulike størrelsesfraksjoner positivt ladd Al. A=Tot-Ali; B=LMW-Ali og C=HMW-Ali. Stiplet linje refererer til målinger innen en renne, heltrukket linje til målinger fra begge rennene.



Figur 24. Sammenheng mellom plasmaklorid konsentrasjoner (mM) hos lakseparr målt på ulike stasjoner i renne A (svart firkant) og D (åpen firkant) etter 140 timer eksponering i forhold til konsentrasjon av ulike størrelsesfraksjoner positivt ladd Al. A=Tot-Al; B=LMW-Al og C=HMW-Al. I D er sammenhenger mellom plasmaklorid konsentrasjon (mM) og akkumulert Al konsentrasjon (mg Al/g gjelle tørrvekt) i gjellehomogenat vist.

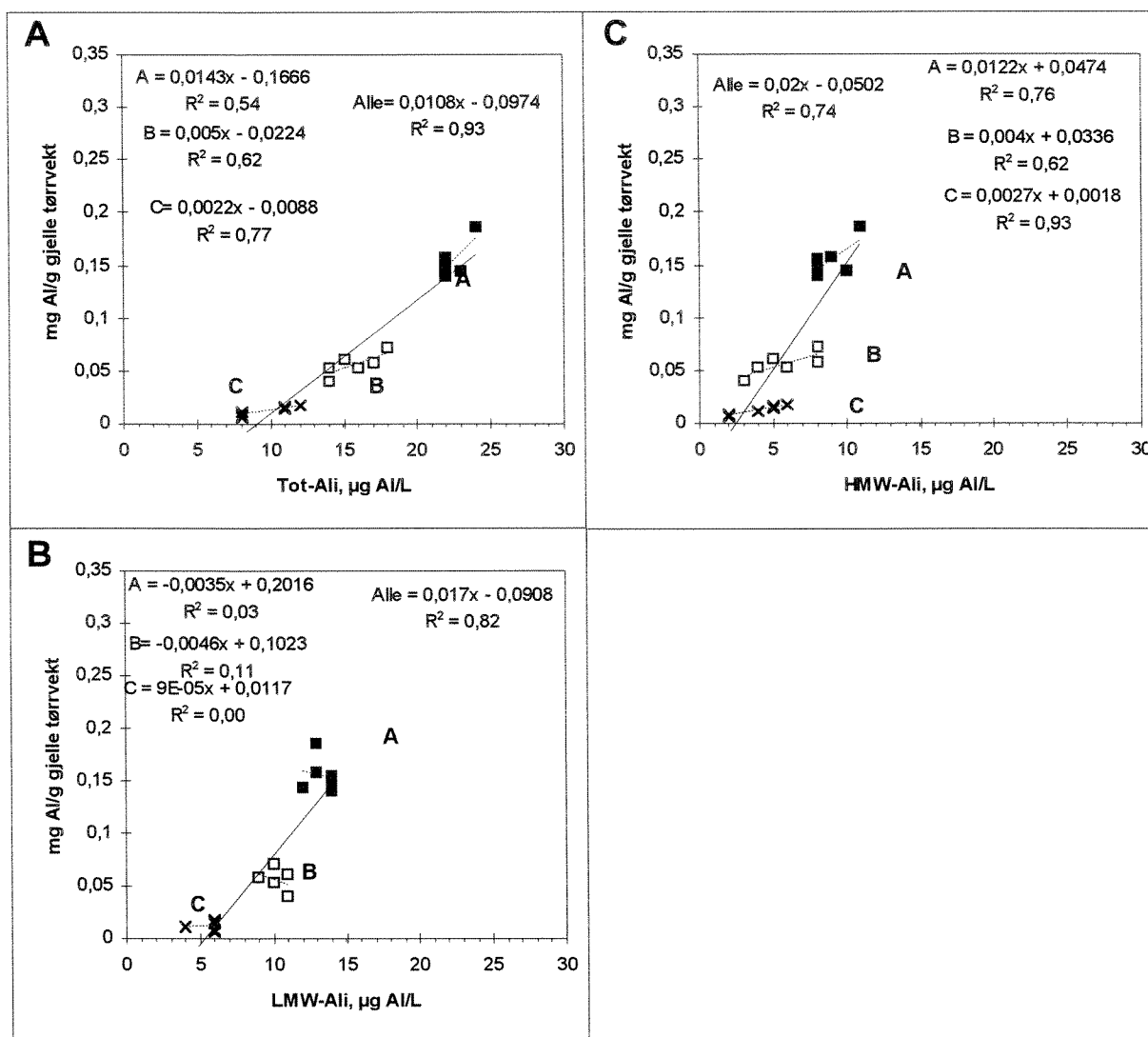
3.3.2 Renne A, B og C; fortytning

Aluminium på gjeller

Konsentrasjonen av Al på gjellene basert på hele materialet kunne både relateres til tot-Al i blandingen ($R^2=0,82$), men også til HMW-Al ($R^2=0,59$) og til LMW-Al ($R^2=0,60$). Dette sannsynliggjør at begge størrelsesfraksjoner kan akkumuleres.

Innen rennene kunne minst 59% av variasjonen i gjelle Al forklares med variasjon i tot- eller HMW-Al, mens LMW-Al ikke hadde forklaringsverdi ($R^2<0,11$). Akkumulering av Al på gjeller i renne A og D kunne heller ikke korreleres med målte konsentrasjoner av LMW-Al, men korreleres med endringer i HMW-Al. Fravær av korrelasjon med LMW-Al, men korrelasjon med HMW-Al innen en renne antyder at det var endringene i konsentrasjonen til HMW-Al som var bestemmende for de observerte

gjelle-Al konsentrasjonene. resultatet indikerer at høymolekylære Al-former som dannes i blandsonen er reaktive med hensyn på gjelleoverflaten.



Figur 25. Al-konsentrasjon i gjellehomogenat (mg Al/g gjelle tørrvekt) fra lakseparr på ulike stasjoner i renne A (lukka firkanter), B (åpne firkanter) og C (kryss) etter 140 timer eksponering i forhold til konsentrasjon av ulike størrelsesfraksjoner positivt ladd Al. A=Tot-Ali; B=LMW-Ali og C=HMW-Ali.

Ioneregulering og aluminium

Det er ikke funnet enkle sammenhenger mellom tot-Ali i vann og variasjon i plasmaklorid konsentrasjon. Variasjonen i plasmaklorid konsentrasjon kunne tildels beskrives på bakgrunn av variasjon i HMW-Ali ($R^2=0,37$), men ikke LMW-Ali ($R^2=0,02$). Mer enn 50% av variasjonen i plasmaklorid konsentrasjon innen rennene kunne forklares med tot-Ali og HMW-Ali.

Det ble påvist en sammenheng mellom gjelle-Al og plasmaklorid konsentrasjon innen alle rennene (R^2 : 0,40-0,66), mens sammenhengen basert på samtlige verdier var svak ($R^2=0,15$). Den påviste sammenhengen innen rennene mellom HMW-Ali og plasmaklorid konsentrasjon og HMW-Ali og Al

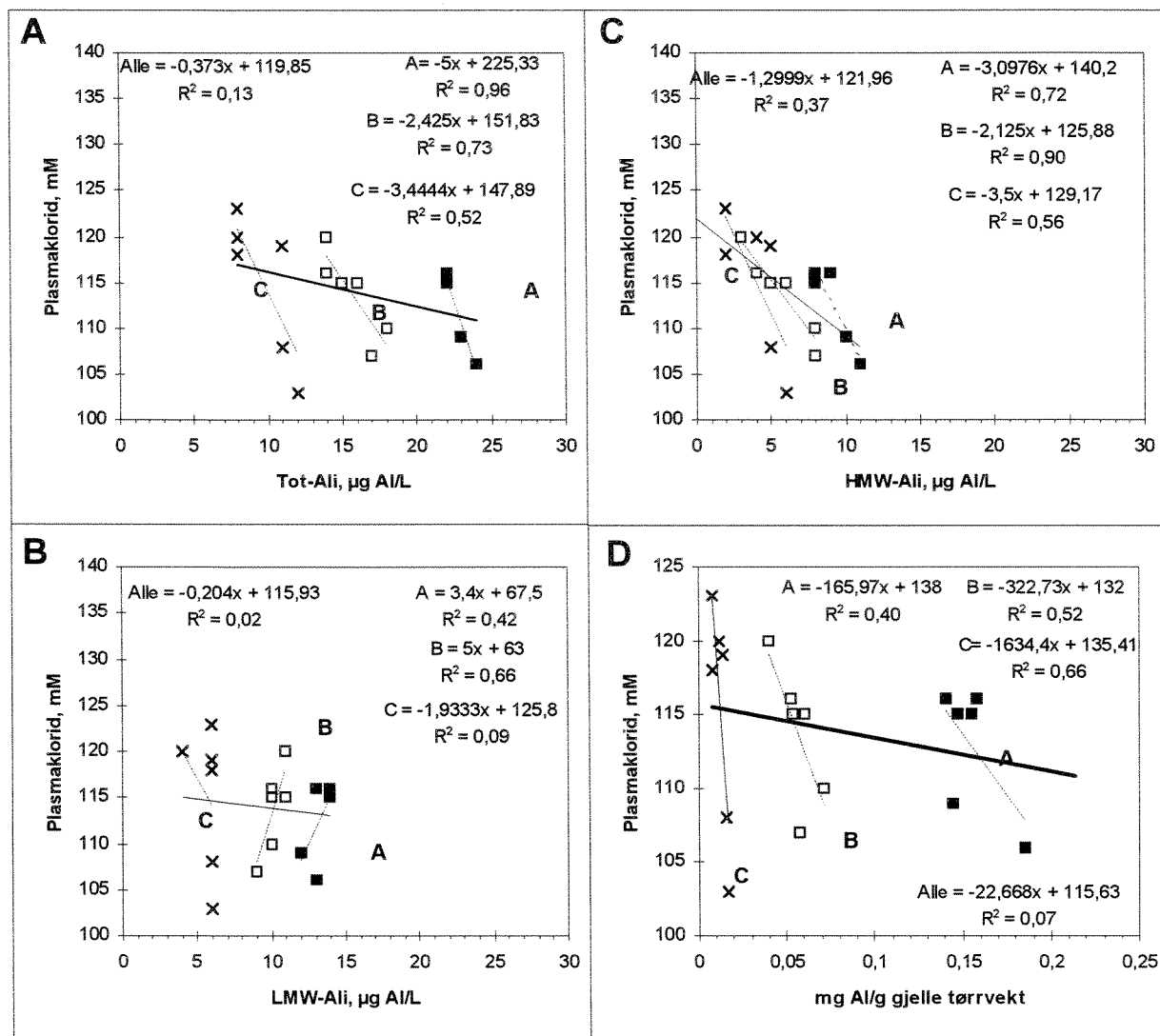
konsentrasjon på gjellene antyder at det var HMW-Ali som påvirket ioneregulering, og at denne i mindre grad ble påvirket av LMW-Ali. Dette er i samsvar med observasjonen mellom målinger i renne A og D. Begge størrelsesfraksjonene ble sannsynligvis akkumulert på gjellene. Dette innebærer i såfall at Al-konsentrasjon på gjeller ikke er et direkte mål på vannkvalitet, men kan likevel brukes som en indikator på mulig giftig vann, hvor lave konsentrasjoner vil være vanskelig å tolke med sikkerhet, mens høye konsentrasjoner sannsynligvis representerer ulike grader giftig vann. Korrelasjonen mellom HMW-Ali og plasmaklorid konsentrasjon i renne C antyder at selv en liten innblanding av surt Al-holdig vann (6 volumprosent) i en blandsonne kan ha negative biologiske effekt. Det er rimelig å anta at størrelsen på effekten vil være proporsjonal med Al-konsentrasjonen i det sure vannet. Resultatet tilsier samtidig at den nedre grense for akseptabel Al-belastning er lav. Dette vil ha betydning for identifisering av potensielt toksiske vannkvaliteter.

Vannprøver sent til et analyselaboratorium kan påvise giftig vann, men som følge av polymeriseringsprosesser kan man ikke konkludere med at målt vannkjemi nødvendigvis er representativ for lokaliteten der prøven ble tatt. In situ fraksjonering av Al vil øke kvaliteten av analysene. Det vil fortsatt gjenstå analytiske problemer ved meget lave Al-konsentrasjoner som følge av deteksjonsgrensene.

Det var ingen entydig sammenheng mellom Al konsentrasjon i gjellehomogenat og svikt i ioneregulering i renne A, B og C. 110 mM plasmaklorid, som antyder svikt i ionereguleringsevnen, ble målt etter akkumulering av henholdsvis 0.02, 0.07 og 0.17 mg Al/g gjelle i renne C, B og A. Samme grad av svikt i ioneregulering ble med andre ord målt ved tre forskjellige Al konsentrasjoner i gjellehomogenatet. Al konsentrasjonen i gjellehomogenatet følger fortynnings gradienten med >99%. Det kan hende at akkumulering av LMW-Ali og HMW-Ali påvirker ionereguleringen ulikt.

Konsentrasjonen av Al på gjellene vil være en funksjon av akkumuleringsrate og raten Al fjernes fra gjellene. Både gjellestruktur og mobilisering av slim kan påvirke totalkonsentrasjon. Fisken kan redusere gjelle konsentrasjonen av Al ved å kvitter seg med slim (ved hosting). Skadelige effekter antas å oppstå når akkumuleringshastigheten er større enn utskilleleshastigheten, dvs. at netto Al akkumulering skjer.

Basert på tidligere erfaringer med blandsonesforsøk vet man at fisk med høy avsetning av Al på gjellene primært rammes av respirasjonssvikt og at ionetapet sannsynligvis har mindre betydning for den akutte fiskedøden (Witters et al. 1995). I situasjoner hvor vannkvaliteten ikke er letal, men suboptimal kan svikt i ioneregulering likevel forventes. Dersom skaden ikke over tid utvikles til å bli letal kan man forvente at kompensatoriske mekanismer iverksettes (i første rekke hormonelle) som tillater en viss tilpasning til uønsket vannkvalitet. Ionestatus vil i såfall sannsynligvis reetableres. Den økologiske betydningen av kompensatoriske mekanismer kan vanskelig kvantifiseres fra denne type forsøk. Ionetapet trenger likevel ikke å være en funksjon av akkumulering av Al på gjellene alene, men kan skyldes samvariasjon med andre effekter som ikke inngår i dette arbeidet.



Figur 26. Sammenheng mellom plasmaklorid konsentrasjoner (mM) hos lakse-parr målt på ulike stasjoner i renne A (lukka firkanter), B (åpne firkanter) og C (kryss) etter 140 timer eksponering i forhold til konsentrasjon av ulike størrelsesfraksjoner positivt ladd Al. A=Tot-Ali; B=LMW-Ali og C=HMW-Ali. I D er sammenhenger mellom plasmaklorid konsentrasjon (mM) og akkumulert Al konsentrasjon (mg Al/g gjelle tørrvekt) i gjellehomogenat vist.

4. Samlet vurdering og konklusjon

All laks som ble eksponert for den sure råvannkvaliteten (pH 5.6; 1.03 mg Ca /L; 93 µg Ali/L) døde i løpet av forsøksperioden. Renne A, -B, og -C besto av en blanding mellom råvann fra Suldalslågen og henholdsvis 33, 16, og 6 volumprosent innblanding av surt råvann. Det ble ikke påvist fysiologiske endringer hos fisk eksponert kun til råvann fra Suldalslågen. Ved siden av å bekrefte at vann fra Suldalslågen, hentet på dette gitte stedet og i denne perioden, ikke var giftig, bekrefter resultatene at forsøksbetingelsene, dvs. karoppsettet i seg selv, ikke påvirker eller stresser fisken. I renne D ble vannet fra Suldalslågen før blanding med surt råvann kalket ved tilsetning av $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Dette økte Ca-konsentrasjonen med ca 0.3 mg Ca/L fra 0.8 mg Ca/L til 1.1 mg Ca/L. På grunn av blandingsforholdene varierte pH fra ca. pH 6.0 i renne A til 6.2 i renne-B, 6.3 i renne C og 6.4 i renne D. I hver renne ble vann aldret i 10 minutter fra blandepunktet til avslutningen av rennen. Teoretisk oppholdstid akkumulert for karrekken gjorde at hver renne samt karrekke hadde 220 minutter aldring (akkumulert teoretisk oppholdstid). Fisk ble eksponert på 6 ulike stasjoner i hver renne/karrekke (=renne), mens vannkjemi ble målt på 8 ulike steder. Ingen av rennene hadde akutt giftig vann, men det ble påvist varierende grad av fysiologiske effekter (definert på bakgrunn av redusert plasmaklorid konsentrasjon eller endringer i hematokritt) og akkumulering av Al på gjellene hos fisk eksponert i samtlige renner.

Renne A-C simulerte en ukalket Suldalslågen med tilførsel av sure sidebekker. Størst effekt på fisk ble målt i renne A. Selv om det ble målt en redusert påvirkning med økende alder på vannet, var vann aldret i 4 timer fortsatt stressende for fisken i denne rennen. I renne B og -C avtok effektene markert med økende alder på vannet. Avtaket i målt fysiologisk effekt var gradvis over hele aldringsforløpet. Sammenliknes renne A til -C avtok også giftigheten med redusert tilførsel av surt råvann (fortynning av Al). Giftigheten til vannkvaliteten i og innen rennene kan ikke tilskrives pH eller Ca men må tilskrives forskjeller i Al-specier. Temperatur innvirker også på reaksjonshastigheten, men var tilnærmet lik i samtlige renner i dette forsøket. Årsaken til forskjeller i vannkvalitet (og giftig effekt) innen rennene må tilskrives pH/Ca-heving forårsaket av blanding av to ulike vannkilder (renne A-D) og kalktilsetning (renne D).

Laksen i renne-D og -A reagerte meget forskjellig, til tross for at de begge hadde identisk tilsetning av surt råvann og skulle i teorien være like giftige. Giftigheten i renne D syntes å opphøre etter ca. 10 minutter aldring i motsetning til i renne A hvor det ble påvist suboptimal vannkvalitet også etter 4 timer aldring. Denne forskjellen må tilskrives kalkingen i renne D. Prøver tatt av fisk eksponert til vann umiddelbart etter blanding antydte derimot at begge vannkvalitetene var like "skadelige". Dette indikerer at vannkvaliteten ble påvirket omtrent likt i begge rennene (økt giftighet umiddelbart etter blanding), men at kalktilsetningen økte transformasjonsraten av Al og derved endret tilstandsformene til Al raskere enn i den ukalkede renna. Dermed påvirkes avgiftingshastigheten til Al. Man kan på bakgrunn av dette forsøket hevde at kalking reduserte giftigheten av blandsoner ved å påvirke transformasjon og tilstandsformene til Al. Kalking i denne situasjonen økte ikke giftigheten av blandsonen. Derimot er disse resultatene i tråd med den foreslåtte hypotesen.

Giftighet til Al tilskrives normalt konsentrasjon av Ali (LAl) i stabile vannmasser. Konsentrasjonen av Ali i rennene var i utgangspunktet (ved tid=0) en funksjon av volum surt råvann tilført rennen. Surt råvann bidro med det vesentligste av Al i forsøket, slik at det var endringer i tilstandsformene til Al fra det sure råvannet som ble fulgt. Tilstandsformene til Al i det sure råvannet ble påvirket av pH-økningen. pH-økningen reduserte konsentrasjonen av tot-Ali over tid. Basert på teoretiske Ali-verdier som fremkommer på bakgrunn av tilsetningsprosenten av surt råvann var tot-Ali konsentrasjonen i renne A, -B, -C og -D på henholdsvis 29, 17, 9 og 29 µg Ali/L ved tid=0. I renne A sank konsentrasjonen til 22

$\mu\text{g Ali/L}$ målt ved 4 timer aldring. Dette innebærer at $7 \mu\text{g Ali}$ ble transformert fra Ali og over til en annen tilstandsform. I renne-D avtok Ali med $17 \mu\text{g Ali/L}$. Generelt dannes HMW-Ali momentant og avtar med tiden. Tot-Alo økte med $5 \mu\text{g Ali/L}$, mens Alc økte med $12 \mu\text{g/L}$. Reduksjonen i HMW-Ali fra ca $10 \mu\text{g Ali/L}$ til ca. $0 \mu\text{g Ali/L}$ synes å være mest interessant for vurdering av vannkvalitet. Tilsvarende endringer i HMW-Ali ble også målt i renne-B og -C, men her var endringene mer usikre på grunn av lave konsentrasjoner av Ali ved $T=0$.

Reduksjonen i HMW-Ali skyldes tap av ladning. Dette gjør at Al som fortsatt er ekstraherbart måles som Alo mens ikke-ekstraherbart Al måles som økning i Alc (forbindelsen er ikke ekstraherbar uten forutgående syretilsetning=Alr). I tidligere forsøk er det funnet sammenheng mellom økning i Alo og giftighet (Lydersen m.fl., 1994). Denne sammenhengen var ikke like opplagt i dette forsøket, men var muligens tilstede i renne D. I forsøket publisert av Lydersen m.fl. (1994), ble vannet aldret i 4.2 minutter etter blanding. Dette tilsvarer et punkt mellom stasjon 1 og 3 i vårt forsøk hvor vannet ble aldret i 4 timer. Vesentlig forskjeller i alder på vannet fra blanding gjør at man fokuserer på ulike deler av en dynamisk prosess, uten at dette medfører uenighet om prosessen. Resultatet fra vårt forsøk antyder at Ali transformeres til Alo og etterhvert til forbindelser som ikke lenger er ekstraherbare. Selv om endringene i HMW-Ali vil være usikre på grunn av lav konsentrasjon, og derved sterkt påvirket av analyseusikkerhet, vil vi basert på dette forsøket konkludere med at *“Tot-Ali ikke er et godt nok uttrykk for giftigheten for fisk”*. Selv om sammenhengene mellom vannkvalitet og fiskerespons målt i dette forsøket fremkom ved å utføre korrelasjonsanalyser, er det rimelig å anta at det var den pågående polymeriseringsprosessen som forårsaket vannkvaliteter som påvirket fisken. De målte Al-konsentrasjonene representerer øyeblikksbilder i en dynamisk prosess. Basert på tradisjonell laboratoriefraksjonert Al er det ikke uten videre mulig å påvise den observerte sammenhengen mellom effekt og endringer i vannkvalitet.

Reduksjonen i HMW-Ali og den tilsynelatende stabile LMW-Ali konsentrasjonen målt etter 2 minutter aldring antyder at disse størrelsesfraksjonene besto av ulike former for reaktivt, positivt ladd Al. Det er ikke fastlagt hvilke former (komplekser mellom Al og ulike ligander) av Ali som forble målt som LMW-Ali etter aldring. Likeledes forble konsentrasjonen av LMW-Ali rimelig stabil over en 4 timers periode i samtlige renner. Etter den umiddelbare reduksjonen fra $T=0$ til $T=2$ minutter var konsentrasjonen relativt uforandret fra $T=2$ til $T=220$ minutter og ble målt i renne A som $14 \pm 3 \mu\text{g Ali/L}$, i renne B som $10 \pm 3 \mu\text{g Ali/L}$, i renne C som $6 \pm 3 \mu\text{g Ali/L}$ og som $10 \pm 5 \mu\text{g Ali/L}$ i renne D ($N=8-21$ for de ulike rennene). LMW-Ali konsentrasjonen målt i renne A, B og C kan forklares kun på bakgrunn av prosentandel surt vann i blandingen ($R^2=0.98$). Konsentrasjonen målt i renne D var lavere enn det som var forventet sammenliknet med konsentrasjonen i renne A. Resultatet sannsynliggjør likevel det vi betrakter som viktig: den biologiske betydningen av Al er ikke kun bestemt av konsentrasjon men også av endringene i tilstandsformene. I renne D avtok tot-Ali konsentrasjonen ytterligere etter 1 uke lagring. Dette antyder at den andel LMW-Ali som fortsatt var tilstede etter 4 timer etterhvert også vil polymerisere og/eller tape ladning. I dette forsøket medførte denne reduksjonen i LMW-Ali økning i Alo.

Dersom det fokuseres på endringer i konsentrasjon av HMW-Ali etter blanding, antyder de målte verdiene at konsentrasjonen avtok gradvis fra 11 til $8 \mu\text{g HMW-Ali/L}$ i renne A, fra 8 til $3 \mu\text{g Ali/L}$ i renne-B og fra 5 til $2 \mu\text{g Ali/L}$ i renne C. I renne-D ble konsentrasjonen av HMW-Ali raskt redusert fra 8 til ca. $1 \mu\text{g Ali/L}$. Endringsforløpene er illustrert i figur 13. Dersom måling av HMW-Ali gir et mål på giftighet i dette forsøket skulle man forvente at giftigheten avtok med økende alder på vannet i renne A, men også at vannkvaliteten forble relativt giftig i forhold til i de andre rennene. Fiskeresultatet antyder denne utviklingen. Basert på HMW-Ali skulle vannkvaliteten i Renne-B og -C være mindre giftig enn renne A. Likeledes skulle vannkvaliteten gå mot ugiftig ved lang aldring. Dette understøttes av målingene på fisk. I renne-D hvor målt HMW-Ali konsentrasjon avtok raskere enn i de andre rennene

skulle fiskeresponsen tyde på god vannkvalitet tidlig i renna. Resultatet fra fisk antydde ugiftig vann etter 10 til 45 minutter aldring. Det synes derfor som at endring (avtak) i konsentrasjon av HMW-Ali medfører reduserte fiskeskader.

Det er ikke klarlagt hvilken rolle kalking hadde for avgiftning av renne D, men det er sannsynlig at pH-økningen (både i renne A og D) skapte toksisk HMW-Ali i vannet og at Ca/ionestyrke påvirket "levetiden" og transformasjonshastigheten til de ulike formene av Al. Når man her fokuserer på endringer i konsentrasjon til HMW-Ali er dette i tråd med hypotesen basert på tidligere arbeider (Rosseland m.fl., 1992; Poléo m.fl., 1994; Lydersen m.fl., 1994; Salbu m.fl., 1995). Giftigheten til Al ligger i overgangen fra LMW-Ali til HMW-Ali som avgiftes ved overgang til uladde polymerer. LMW-Ali representerer kilden til giftig Al, avgiftningen kan studeres ved å følge endringene i HMW-Ali over tid. Det vil også være mulig å studere avgiftningen ved å studere endringer i ugiftige former til Al som Alo og Alc. Ved fastsettelse av vannkjemisk kalkingsmål kan det være ønskelig å karakterisere Al-formene som foreligger samt å kunne skille mellom H^+ og Ca som tiltak. Dersom Ca-tilsetningen direkte eller indirekte ved økning av ionestyrken bidro til forbedringen, kan kalkingsmålet fastsettes på bakgrunn av kalsium og/eller ionestyrke. Dersom H^+ er den viktigste faktoren som påvirker transformasjonsraten til Al må vassdraget avsyres til ønsket pH.

Resultatet fra dette forsøket antyder altså at alle rennene til en viss grad ble avgiftet, og at avgiftingshastigheten ble påvirket av pH-heving og/eller av kalking. Avgiftingshastigheten økte med avtagende Ali konsentrasjon umiddelbart etter blanding og med økende pH. Dette innebærer at surt vann kan avgiftes i løpet av kort tid (minutter) dersom mål-pH/Ca/ionestyrke settes tilstrekkelig høyt. Dersom det operasjonelle vannkvalitetsmålet (pH nivå etter kalking) settes lavere vil varigheten av ustabil Al-kjemi øke noe (timer), noe som vil øke varigheten av giftig vann. Kraftig kalking (høy-pH) vil øke kalkingsomkostningene, men dette kan være nødvendig for å oppnå tilsiktet avgiftning. Avgiftingshastighet er en faktor som man fortsatt ikke har tilstrekkelig data om til å fullt ut benytte i fremtidige kalkingsplaner. Betydelig innsparing bør kunne oppnås i større kalkingsprosjekt dersom avgiftingshastighet inkluderes som en variabel. Denne antagelsen bør etterprøves i andre forsøk.

Dersom det er endring i konsentrasjon av LMW- og HMW-Ali som bestemmer giftigheten i ustabile vannkvaliteter vil ikke måling av tot-Ali gi et presist mål på giftighetsnivå. For ustabile blandsoner vil fraksjonering av tot-Ali etter forsendelse til analyselaboratorium og medfølgende lagring øke feilanalysen. I dette forsøket avtok tot-Ali i renne-D fra 29 til 12 $\mu\text{g Al/L}$, mens sluttkonsentrasjonen etter 4 timer aldring i renne B og C var på henholdsvis 14 og 8 $\mu\text{g Al/L}$. Man burde derved forvente at renne D hadde et skadeomfang tilsvarende det som ble målt i renne-B. Dersom man kun fokuserer på LMW-Ali (henholdsvis 11, 6 og 11 $\mu\text{g Al/L}$ i renne B, -C og -D) skulle renne D være like giftig som renne B. Dette ble ikke observert i forsøket. LMW-Ali konsentrasjonen målt etter fire timer aldring i rennene kan representere lavmolekylært kompleksbundet Al som er mindre giftige enn Al-hydroxydene. Dette kan være mekanismen bak silika som avgiftning, som vist av Birchall m.fl., 1989, Rosseland m.fl. 1996 og Åtland m.fl. 1997. Resultatet kan antyde at LMW-Al-hydroxyder transformeres raskt til HMW-Ali og deretter til partikulær eller kolloidalt Al, mens andre former av Ali transformeres seinere.

pH-hevingen påvirker de monomere lav-molekylære kationiske uorganiske formene av aluminium (LMW-Ali) som dominerer i surt vann gjennom hydrolyse med påfølgende polymerisering/kolloid dannelse som ender med at Al tilslutt foreligger på kolloidal eller inert form. Selv i kalka elver måles det liten til ingen endring i Alr som følge av kalkingen, selv om det ofte konkluderes i undersøkelser med at Al sedimenterer (Hindar og Lydersen, 1995). Dette er basert på målt reduksjon i Ala som skyldes transformering, ikke sedimentering. I løpet av få sekunder etter blanding vil LMW-Ali transformeres til høy-molekylært reaktivt, positivt ladde Al-forbindelser (HMW-Ali). Disse transformeres videre til stabile og ugiftige former over tid. Reaktivt HMW-Ali som dannes momentant ved pH-heving endres til

uladde eller negativt ladde og inerte former av Al når prosessen har nådd likevekt. De reaktive formene har derved en viss "levetid" som vil prege blandsonen som ikke er i likevekt. Økning av molekylvekt skjer raskt, mens endring i laddingsforhold tar lengre tid, noe som også ble påvist i blandsoneforsøkene utført i Nordmarka (Salbu m.fl., 1995). Så lenge polymeriseringsprosessen pågår vil de reaktive transiente HMW-Ali formene kunne avsettes på fiskegjeller. Hvis konsentrasjonen og avsetningshastigheten er større enn utskilleleshastigheten er sannsynligheten for skade stor. Blandsonhypotesen innebærer derfor blant annet at Al er reaktiv og giftig i polymeriseringsfasen, og at tap av ladning reduserer reaktivitet mellom Al og fiskegjellene (Rosseland m.fl., 1992). Det er tidligere vist at gjellene fungerer som nukleerings-flater (Zaug, 1982; Playle og Wood, 1989, 1990). Utfellingen øker mengden Al på gjelleoverflaten som igjen vil kunne lede til respirasjonssvikt (målt som redusert O²-metning i blod) mer enn svikt i ioneregulering. Dette ble antydnet allerede i forsøkene utført i Audna (Rosseland m.fl., 1992), men ble vist første gang av Witters m.fl., (1996).

Transformasjonsprosessen ble i Audna målt som reduksjon i andel LMW-Ali og økning i HMW-Ali (Rosseland m.fl., 1992; Kroglund m.fl., 1993b). Weatherley m.fl., (1991) antydnet samme utvikling ved å måle mengde filtrerbart tot-Al (mengde Al filtrerbart gjennom <0.22 og <0.45 µm filter). Lydersen m.fl. (1994) påviste tap av tot-Ali og økning i konsentrasjon tot-Alo etter blanding av to ulike vannkvaliteter i Nordmarka, Oslo. Salbu m.fl. (1995) påviste at fiskeeffektene i Nordmarka hadde nær sammenheng med produksjon av HMW-Ali og reduksjon av de transiente speciene som følge av tidsavhengig overgang til andre former Al. Best forklaringsnivå på fiskeresultatene ble oppnådd ved å inkluderte både størrelsesfraksjonering med påfølgende kationisk ionebytting som forklaringsvariable. Resultatene er i overenstemmelse med dette forsøket hvor målingene av HMW-Ali synes å forklare de observerte forskjellene i vannkvalitet og fiskeskade best. Måling av kun Alr eller tot-Ali ville i liten grad ha påvist skadelig vannkvalitet, men endringer i tot-Alo og tot-Alc ville kunne forklare de observerte fiskeresultatene.

Den økologiske relevansen av blandsoner er ennå ikke påvist i tilstrekkelig grad for naturlige vassdrag og er kun påvist på bakgrunn av kontrollerte forsøk. Blandsoner er trukket fram som mulig årsak til skader påvist på laksesmolt i flere vestlandsvassdrag uten at dokumentasjon på ustabil Al-kjemi er entydig vist (Kroglund m.fl., 1995; 1996). Studier utført av Åtland og Barlaup (1995) viste at tettheten av yngel av aure og laks nedstrøms samløp mellom sure sidebekker og den kalka elva Audna var redusert dersom pH i sidebekken var lavere enn 5, eller LAl høyere enn 200 µg AL/L. Dette er konsentrasjoner som er betydelig høyere enn det som medfører skade på fisk (Howells m.fl., 1983; Exley og Philips, 1988; Rosseland m.fl., 1990ab; Rosseland og Staurnes, 1994; Staurnes m.fl., 1995). I både Vosso, Suldalslågen, Bjerkreimselva, Rødne, Flekke, Nausta, Jølstra samt i Vikedalselva er det påvist effekter relatert til Al på anleggsprodusert laksesmolt etter eksponering i elvevann i minst fem dager (Kroglund m.fl., 1995; 1996). Både skader på ioneregulering, vevsskader og påvisning av Al på gjelleflatene peker i retning av Al-som årsak til giftighet. Denne giftigheten kan kun forstås som forårsaket av pågående Al-polymerisering, selv om dette ikke er målt da det kreves *in situ* måling av Al for å påvise blandsonene (Lydersen m.fl., 1994). Selv om det i de undersøkelsene ble målt effekter relatert til Al selv ved meget lave Al-konsentrasjoner ble det i denne undersøkelsen målt effekter på fisken i renne D hvor Ali konsentrasjonen etter en uke lagring var på 4 µg Al/L. Fisken opplevde betydelig høyere konsentrasjoner basert på *in situ* målingene.

Foruten at blandsoner kan være ekstremt giftige for laksesmolt, har man også registrert at blandsonene kan være like giftige for sjøauresmolt som for laksesmolt (Rosseland m.fl., 1992). Dette er uventet på bakgrunn av den tradisjonelt påviste høyere toleranse sjøaure har i forhold til laksesmolt ved forsuring (Rosseland og Skogheim, 1984; Rosseland m.fl., 1986). Dette tyder på at under visse betingelser kan blandsonen bli ekstremt giftig og så giftig at artsforskjeller utviskes. Under mindre giftige forhold kan disse artsforskjellene gjøre at mens laks skades kan sjøaure likevel overleve. I forsøk utført i

Vikedalselva i 1991 og 1992 ble det påvist svekket saltvannstoleranse, gjelleforandringer og svikt i ionereguleringssevnen til laks eksponert ved pH lavere enn 6.2 og eksponert til mindre enn 20 µg LA/L (Kroglund og Staurnes, 1993; Kroglund m.fl., 1994a). I disse forsøkene ble ikke tid (avgiftingsrater) inkludert som forklaringsvariabel. Vannprøvene var analysert etter lagring i minst en uke og transport til laboratoriet. På tross av at det ikke ble benyttet *in situ* fraksjonering, noe som svekket kvaliteten på de kjemiske analysene er fiskeresultatene fra Vikedal i overensstemmelse med resultatene oppnådd i denne undersøkelsen. Dette kan tyde på at rask avgiftning oppnås ved pH 6.4 eller høyere, mens avgiftingshastigheten ved pH lavere enn 6.2 er betydelig seinere. Dette har betydning for valg av operasjonelt kalkingsmål som kan settes til pH >6.4.

Ettersom forsøkene i Vikedal og Suldal er utført i ionefattige klarvannselver bør resultatene kun relateres til denne vannkvaliteten og gjelder ikke nødvendigvis for humøse sørlandselver. I Vikedal inntraff biologisk forandringer i vassdraget når kalkingsmålet ble hevet fra pH 6.2 til pH 6.4. Forandringene ble både påvist som forbedret gjellehistologisk status (A.Kvallestad upublisert), økt fisketetthet (B.M.Larsen pers. med) samt stabilisert og høy invertebratindeksverdi (Raddum, 1995). Alle disse forandringene må tolkes som en ønsket effekt og støtter sannsynligheten for at et økt pH-mål ved kalking gir bedre økologisk respons.

På tross av at kopling mellom blandsoner og populasjonsdynamikk fortsatt er mangelfull er det ingen grunn utfra dagens kunnskap til å avvise hypotesen om at blandsoner forekommer og påvirker laksebestanden i Suldalslågen på en negativ måte. pH og Al-konsentrasjonene benyttet i dette forsøket er vanlig forekommende innen vassdraget. Målte fiskeresponser i forsøket sannsynliggjør at stedegen fisk i Suldalslågen tidvis og stedbundet vil "skades". Skadeomfang vil være avhengig av intensitet, varighet til episoden og fiskens art, stadium og unnvikelsesmuligheter. Etter en episode vil fisk kunne restitueres. Restituering betyr ikke nødvendigvis at fiskebestanden er upåvirket av episoden. Om episoder med giftig vann resulterer i bestandsreduksjon eller får andre økologiske effekter undersøkes på stedegen fisk fra vassdraget (Kroglund m.fl., 1998b).

5. Referanser

- Åtland, A. og B.T. Barlaup. 1995. Avoidance of toxic mixing zones by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and brown trout (*Salmo trutta* L.) in the limed River Audna, southern Norway. *Environ.Pollut.* 90: 203-208.
- Åtland, Å., H.Hektoen, J.Håvardstun, E.Lydersen og B.O.Rosseland. 1997. Forsøk med dosering av silikat-lut ved Syrtveit Fiskeanlegg. NIVA rapport nr. 3625.
- Barnes, R.B. 1975. The determination of specific forms of aluminium in natural water. *Chem. Geol.* 15: 177-191.
- Birchall, J.D., C. Exley, J.S. Chappell, og M.J. Phillips. 1989. Acute toxicity of aluminium to fish eliminated in silicon-rich acid waters. *Nature* 338: 146-148.
- Blakar, I.A. 1995. Vannkvalitet i Ulla-Førre og Suldalsområdet i perioden 1990-1993. Lakseforsterkningsprosjektet i Suldalslågen, rapport no. 21; 49 s+vedlegg.
- Denton J, A.J. Freemont og J. Ball. 1984. Detection and distribution of aluminium in bone. *Journal of Clinical Pathology*, 37: 136-142.
- Dickson, W. 1978. Some effects of the acidification of Swedish lakes. *Verh. int. Verein. Limnol.* 20: 851-856.
- Dickson, W. 1983. Liming toxicity of aluminium to fish. *Vatten* 39: 400-404.
- Driscoll, C.T. 1984. A procedure for the fractionation of aqueous aluminum in dilute acidic waters. *Int.J.Environ.Anal.Chem.* 16: 267-283.
- Exley, C. og M.J. Phillips. 1988. Acid rain: implications for the farming of salmonids. I: Muir, J.F. og R.J. Roberts (red), *Recent Advances in Aquaculture*, London: Croom Helm: 225-341.
- Hindar, A. og E.Lydersen. 1995. Er utfelt/sedimentert aluminium etter vassdragskalking et mulig miljøproblem? NIVA. O-92149.
- Howells, G.D., D.J.A. Brown, og K. Sadler. 1983. Effects of acidity, calcium, and aluminium on fish survival and productivity - A review. *J.Sci.Food Agric.* 34: 559-570.
- Hutchinson, N.J., K.E. Holtze, J.R. Munro og T.W. Pawson. 1989. Modifying effect of life stage, ionic strength and post-exposure mortality on lethality of H⁺ and Al to lake trout and brook trout. *Aquat.Toxicol.* 15: 1-26.
- Kroglund, F., Berntssen, M., Åtland, Å. og Rosseland, B. O., 1993a. Er laksen truet ved selv svært moderate forsurening? Eksempler fra Vosso, Hordaland, 1993. NIVA-rapport 2947, 38 s.
- Kroglund F., E. Lydersen og B.O. Rosseland. 1993b. Endringer i aluminiumskjemi i blandsoner med kalket og surt vann -områder karakterisert av aluminiums ulikevekt og stor giftighet for fisk. TVLF og Naturens Tålegrense-seminar, Stjørdal, februar 1993: 45-47.
- Kroglund, F. og M. Staurnes. 1993. Vannkvalitetskriterier for laks etter kalking av Vikedalselva. I: Kalking i vann og vassdrag 1991. Fou-årsrapporter 1991. DN-notat 1993-1: 84-92.
- Kroglund, F., M. Staurnes og A. Kvellestad. 1994a. Vannkvalitetskriterier for laks. Kalking av Vikedalselva, s. 208-223. I: Kalking i vann og vassdrag 1992. FoU-virksomheten. Årsrapporter 1992. DN-notat 1994-2.
- Kroglund, F., L.P. Hansen, B.O. Rosseland, M. Staurnes, M. Berntssen, Å. Åtland, B. Barlaup og E. Lydersen. 1994c. Vannkvalitetskriterier og laksefisk: en oppsummering av ulike prosjekt gjennomført i 1993. DN-utredning 1994-14: 123-164.
- Kroglund F, B. Finstad, M. Staurnes, B.O. Rosseland, H. Hektoen, T.van Berkum og M. Iversen. 1995. Vannkvalitetskrav til laksesmolt: undersøkelse av smoltkvalitet i ulike vassdrag. DN-notat ikke trykt.
- Kroglund F, B. Finstad, A. Kvellestad, B.M. Larsen og B.O. Rosseland. 1996. Fastsettelse av forureningsnivå i ulike Vestlandsvassdrag basert på økofysiologiske og økotoksikologiske metoder. DN-notat ikke trykt.
- Kroglund, F., H.C.Teien, J. Håvardstun, A.Kvellestad, B.Salbu, B.O.Rosseland og B.Finstad. 1998a. Betydningen av lave aluminiumskonsentrasjoner for laksesmolt. DN-rapport.Under utarbeidelse.

- Kroglund, F., B. Finstad, H.C. Teien, J. Håvardstun, B. Salbu, B.O. Rosseland. 1998b. Evaluering av fiskebiologisk status i Suldalslågen basert på vannkvalitetsmålinger våren 1996. DN-rapport. Under utarbeidelse.
- Kroglund, F., A. Hindar og Ø. Kaste. 1998c. Er vannkvaliteten i Vosso-vassdraget en av årsakene til reduksjon i laksebestanden? DN-rapport, under utarbeidelse.
- Kroglund, M., F. Kroglund, H.C. Teien, E. Luccassen, Å. Åtland, J. Håvardstun, O. Pettersen, A. Kvellestad, B.O. Rosseland og B. Salbu. DYNATOX: results from the Estuarine Mixing Zone Experiment, Solbergstrand, April 1997. NIVA-sluttrapport prosjektnr. 108102/122: 2-24.
- Lacroix, G.L., R.H. Peterson, C.S. Belfry og 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.* vol. 27, 3-4.
- Leivestad, H., E. Jensen, H. Kjartansson, og L. Xingfu. 1987. Aqueous speciation of aluminium and toxic effects on Atlantic salmon. *Ecophysiology Of Acid Stress In Aquatic Organisms*. Witters, H.; o. Vanderborght, eds; 387-398.
- Lydersen, E. 1990. The Solubility and Hydrolysis of Aqueous Aluminium Hydroxides in Dilute Fresh Waters at Different Temperatures. *Nordic Hydrology* 21:195-204.
- Lydersen, E., A.B.S. Poléo, N. Pettersen, M. 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. 1995. Kjemiske blandoneffekter i ferskvann I: Konsekvenser av kalking i skog og vatn, seminarrapport. *Norsk Limnologiforening*: 120-131.
- McCahon, C.P., A.F. Brown, M.J. Poulton, og D. Pascoe. 1989. Effects of acid, aluminium and lime additions on fish and invertebrates in a chronically acidic Welsh stream. *Water Air Soil Pollut.* 45: 345-359.
- Oughton, D. H., Salbu, B., Bjørnstad, H. E. & Day, J. P. 1992. Use of Aluminium-26 Tracer to Study the Deposition of Aluminium Species on Fish Gills Following Mixing of Limed and Acidic Waters. *Analyst* 117: 619-621.
- Playle, R.C. og C.M. Wood. 1989. Water pH and aluminium chemistry in the gill micro-environment of rainbow trout during acid and aluminium exposures. *J. Comp. Physiol. B.* 159: 539-550.
- Playle, R.C. og C.M. Wood. 1990. Is precipitation of aluminium fast enough to explain aluminium deposition on fish gills? *Can. J. Fish Aquat. Sci.* 47: 1558-1561.
- Poléo, A. B. S. 1995. Aluminium polymerization a mechanism of acute toxicity of aqueous aluminium of fish. *Aquat. Toxicol.* 31: 347-356.
- Poléo, A.B.S., E. Lydersen og I.P. Muniz. 1991. The influence of temperature on aqueous aluminum chemistry and survival of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fingerlings. *Aquat. Toxicol.* 21: 267-278.
- Poléo, A.B.S. og I.P. Muniz. 1993. The effect of aluminium in soft water at low pH and different temperatures on mortality, ventilation frequency and water balance in smoltifying Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Environ. Biol. Fish.* 36:193-203.
- Poléo, A.B.S., E. Lydersen, B.O. Rosseland, F. Kroglund, B. Salbu, R. Vogt og A. Kvellestad. 1994. Increased mortality of fish due to changing Al-chemistry of mixing zones between limed streams and acidic tributaries. *Water, Air, and Soil Pollut.* 75: 339 - 351.
- Raddum, G.G. og A. Fjellheim. 1995. Acidification in Norway – Status and trends. Biological monitoring – improvements in the invertebrate fauna. *Water Air and Soil pollut.* Vol 85/2: 647-652.
- Rosseland, B.O. og O.K. Skogheim. 1984. A comparative study on salmonid fish species in acid aluminium-rich water. II. Physiological stress and mortality of one and two year old fish. *Rep. Inst. Freshwater Res. Drottningholm* 61: 186-194.
- Rosseland, B.O., O.K. Skogheim, F. Kroglund og E. Hoell. 1986. Mortality and physiological stress of year-classes of landlocked and migratory Atlantic salmon, brown trout and brook trout in acid aluminium-rich soft water. *Water, Air, and Soil Pollut.* 30: 751-756.

- Rosseland, B.O., T.D. Eldhuset og M. Staurnes. 1990a. Environmental effects of aluminium. *Environ. Geochem. Health* 12 (1-2): 17-27.
- Rosseland, B.O., P. Jacobsen og M. Grande. 1990b. I: T.T. Poppe (red.), *Miljørelaterede tilstander, Fiskehelse*, John Grieg Forlag AS: 279-287.
- Rosseland, B.O. og A.Hindar. 1991. Mixing zones - a fishery management problem? In: *International lake and watershed liming practices*. Terrene Inst. Washington, DC: 161-172.
- Rosseland, B.O., I. Blakar, A. Bulger, F. Kroglund, A. Kvellestad, E. Lydersen, D.H. Oughton, B. Salbu, M. Staurnes, og R. Vogt. 1992. The mixing zone between limed and acidic river waters: complex aluminium chemistry and extreme toxicity for salmonids. *Environ. Pollution* 78: 3-8.
- Rosseland, B.O. og M. Staurnes. 1994. Physiological mechanisms for toxic effects and resistance. An ecophysiological and ecotoxicological approach. I: *Acidification of Freshwater Ecosystems* (I:C.E.W. Steinberg og R.W. Wright, red). John Wiley: 227-246.
- Rosseland, B.O. B.Salbu, F.Kroglund, E.Lydersen, D.H.Oughton, G.Riise, S.Wendelaar Bonga, P.Verbost, H.Witters, C.Exley, K.Heydorn, B.Rietz, H.Hektoen, A.B.S.Polèo og M.Staurnes. 1995. Dynamic Al chemistry of mixing zones and related biological and ecological effects. *Water, Air and Soil Pollution* 85: xx-xx.
- Rosseland, B.O., C.M.G. van den Berg, S.W. Bonga, H. Witters, B.Salbu, P.Day, T. Hansen og K.Heydorn. 1997. Toxicity and metal speciation dynamics in estuarine mixing zones. *Prosjektsøknad til EU's 4. Rammeprogram*. 40s.
- Rosseland, B.O., E.Lydersen og F.Kroglund. 1996. Overvåking av vannkvaliteten ved Syrtveit Fiskeanlegg og forsøk med dosering av lut og kisel. NIVA rapport nr. 3446.
- Rosseland, B.O., C.M.G. van den Berg, S.W. Bonga, H. Witters, B.Salbu, P.Day, T. Hansen og K.Heydorn. 1997. Toxicity and metal speciation dynamics in estuarine mixing zones. *Prosjektsøknad til EU's 4. Rammeprogram*. 40s.
- Salbu, B., E.Lydersen, B.O.Rosseland, F.Kroglund og D. Oughton. 1995. Aluminium polymerization and acute toxicity in mixing zones with pH>6. *Env.Sci.&Techn.*, Submitted.
- Saltveit, S.J. 1995. Overvåking av ungfiskbestanden i Suldalslågen. tetthet og vekst hos laks- og ørretunger. *Lakseforsterkningsprosjektet i Suldalslågen*, rapport no. 16; 33 s.
- Schofield, C.L. 1977. Acid snow-melt effects on water quality and fish survival in the Adirondack Mountains of New York State, U.S. Research Technical Completion Report A-072-NY Office of Water Research and Technology, Dept. of the Interior, Washington D.C: 27 sider.
- Skogheim, O.K., B.O. Rosseland og I.H. Sevaldrud. 1984. Deaths of spawners of Atlantic salmon in River Ognå. SW Norway. caused by acidified aluminium-rich water. *Rep. Inst. Freshw. Res. Drottningholm* 61: 195-202.
- Staurnes, M., F. Kroglund og B.O. Rosseland. 1995. Water quality requirement of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in water undergoing acidification or liming in Norway. *Water Air and Soil pollut. Vol 85/2*: 347-352.
- Verboost, P.M., M.H.G. Berntssen, F. Kroglund, E. Lydersen, H.E. 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 Pollution* 85: 341-346.
- Weatherley, N.S., G.P.Rutt, S.P.Thomas, og S.J.Ormerod. 1991. Liming acid streams: Aluminium toxicity to fish in mixing zones. *Water.Air.Soil Pollut.* 55:345-353.
- Witters, H.E., S. Van Puymbroek, A.J.H.X. Stouthart, og S.E.W. Bonga. 1996. Physicochemical changes of aluminium in mixing zones: Mortality and physiological disturbances in brown trout (*Salmo trutta* L.). *Environ Toxicol Chem*, 15: 986-996.
- Wright, R.F. og O.K. Skogheim. 1983. Aluminium speciation at the interface of an acid stream and a limed lake. *Vatten*. 39:301-304.
- Zaugg, W.S. 1982. Some changes in smoltification and seawater adaptability of salmonids resulting from environmental and other factors. *Aquaculture*. 28:143-151.

Appendix 1.

Figure and table legends

- Figure 1. Channel set-up; fish exposure cages (in channel) and -tanks and water sampling points (identical to fish sites). Channel A and D received 33 volume-% acid water (Ritlandsåna), while channel B and C received 16 and 7 volume % acid water respectively. Channel D had the same initial Al-concentration as channel A due to identical mixing ratios, but the non-acid water from River Suldalslågen was limed in channel D prior to mixing. The exposure tanks (70L) with water in and out pipes are indicated.
- Figure 2. Changes in Rhodamine-B concentration with increased age (distance) from injection prior to tank D4 to cage D9. Changes in Rhodamine concentration reflects both ageing and dilution of water as water flows from one tank to the next.
- Figure 3. The different molecule weight classes (total-, low molecular weight (LMW) and high molecular weight (HMW) of aluminium measured *in situ*.
- Figure 4. A schematic presentation of the different forms of aluminium measured by the Barnes/Driscoll method *in situ*.
- Figure 5. pH-variation in the two source waters (brook Ritlandsåna=*Sur* and River Suldalslågen=*S.lågen*) and pH measured at the outlet of channel A, B, C and D during the experimental period.
- Figure 6. Calcium concentration (mg Ca/L) measured in channel D (*målt*) and the difference in Ca-concentration between channel A and D = added concentration (*tilsatt*).
- Figure 7. Time-variation in the concentration of different forms of aluminium measured in River Suldalslågen (non-acid source water).
- Figure 8. Time-variation in the concentration of the different LMW-forms of aluminium measured in River Suldalslågen (non-acid source water).
- Figure 9. Time-variation in the concentration of the different forms of aluminium measured in brook Ritlandsåna (acid source water).
- Figure 10. Time-variation in the concentration of the different LMW-forms of aluminium measured in brook Ritlandsåna (acid source water).
- Figure 11. Total aluminium concentration ($\mu\text{g Al/L}$) measured in brook Ritlandsåna after Al-addition (*målt*) and the difference in Al-concentration between adjusted and unadjusted brook water = added concentration (*tilsatt*).
- Figure 12. The relationship between Al_a and Al_o ($\mu\text{g Al/L}$) in channel A, B, C and D. In channel D the non-acid source water was limed prior to mixing, resulting in higher Al_o -concentrations than measured in channel A. The Al_a/Al_o relationship in channel A, B and C followed the Al-addition determined by the relative addition of the two source waters. The relationships are presented with linear equations for each channel.

- Figure 13. Changes in total-, low molecular weight (LMW) and high molecular weight (HMW) concentration of inorganic monomeric aluminium ($\mu\text{g Al/l}$) in channel (*renne*) A, B, C and D as a function of time (minutes) from mixing (*tid fra samløp*). The relationships are described by a 1. order curve.
- Figure 14. Changes in the concentrations of different forms of aluminium measured after mixing 33 volume % acid water from brook Ritlandsåna (*Surt råvann*) with 77 volume % water from River Suldalslågen (non-acid source water) in channel A and D. Channel D had higher pH after mixing due to liming. LMW-forms of Al are shown with hatched patterns, while HMW-forms are shown with shades of grey. Theoretical concentration (*teoretisk tilstand*) was calculated from the measured concentrations in the two source waters. Both within 2 and after 220 minutes ageing (minutes from mixing) (*aldring*), measured concentrations differed from the theoretical and calculated concentrations. The differences in change most likely reflect differences in transformation rates caused by the liming in channel D.
- Figure 15. Accumulated mortality of Atlantic salmon parr (A) and the relationship between time of death (*timer fra forsøksstart*) in hours to fish size (B) in the acid source water (brook Ritlandsåna).
- Figure 16. Plasma chloride (mM) and gill Al-concentration (mg Al/g gill dry weight) (average \pm SD) measured at the start of the experiment (T=0) and several times up to T=115 h (*timer fra forsøksstart*) in fish from the hatchery (*referansefisk i klekkeri*) and in fish exposed to River Suldalslågen (non-acid source water (*eksponert i vann fra Suldalslågen*)). Values assumed to represent “a no effect baseline” are indicated by thick horizontal lines.
- Figure 17. Accumulated frequency of hematocrit-values measured from the whole fish material (all channels pooled). The highest values were measured in channel A, but there was no clear hematocrit response to the different water qualities.
- Figure 18. Plasma chloride (mM) measured from parr of Atlantic salmon after 24 and 70 h (*timer*) exposure to water aged for 1 to 220 minutes (*alder, minutter fra blanding*) since mixing in channel A, B, C and D. Baseline values assumed to indicate “no effect” are indicated by thick horizontal lines. Values obtained from reference fish from the hatchery at 24 and 70 h exposure times are presented as T=0 and marked with a “K”. Corresponding samples from fish exposed to River Suldalslågen for 24 h are marked with a “S”.
- Figure 19. Plasma chloride (mM) and gill aluminium (mg Al/g gill dry weight) measured from parr of Atlantic salmon after 140 h exposure to water aged for 1 to 220 minutes since mixing (*alder, minutter fra blanding*) in channel A, B, C and D. Baseline values assumed to indicate “no effect” are suggested by thick horizontal lines. Values obtained from reference fish from the hatchery at 115 h exposure is presented as T=0 and marked with a “K”. Corresponding samples from fish exposed to river Suldalslågen for 115 h are marked with a “S”.
- Figure 20. Gill aluminium concentrations measured from fish exposed for 140 h to water aged for 1 to 220 minutes since mixing in channel A, B, C and D. Average values (\pm standard deviation) are presented. Reference values from the hatchery “K” and from River Suldalslågen “S” are marked. The relationship between values within same channel is described by a 1.order equation.
-

- Figure 21. The concentration of Al in gills (mg Al/g gill dry weight) after 0, 0.2, 1, 6, 24 and 140 h (*timer fra forsøksstart*) exposure in water aged from 1 (A1,D1), 7 (A3,D3) or 220 minutes (A9,D9) after mixing in channel A and D respectively. Linear equations representing samples from the first 24 h are presented.
- Figure 22. Average values and standard deviation (bars) for plasma chloride (mM) and gill aluminium (mg Al/g gill dry weight) measured in channel A, B, C and D (*renne nr*) after 140 h exposure at six distances (minutes) after mixing (T=1, 7, 45, 80, 180 and 220 min.).
- Figure 23. The concentration of aluminium in gill homogenate (mg Al/g gill dry weight) from parr of Atlantic salmon sampled from different stations (minutes from mixing) in channel A (black box) and D (open box). In (fig-A), gill-Al is related to the total-Ali concentration, to LMW-Ali in (fig-B) and to HMW-Ali in (fig-C). Relationships are described by linear equations illustrated by dotted line (within channel relationships) and whole line (between channel relationships).
- Figure 24. The plasma chloride concentration (mM) from parr sampled from different stations (minutes since mixing) in channel A and D. In (fig-A), plasma chloride is related to the total-Ali concentration, to LMW-Ali in (fig-B) and to HMW-Ali in (fig-C). Relationships are described by linear equations illustrated by dotted line (within channel relationships) and whole line (between channel relationships). In (fig-D), the relationship between plasma chloride and gill Al-concentration is presented.
- Figure 25. The concentration of aluminium in gill homogenate (mg Al/g gill dry weight) from parr of Atlantic salmon sampled from different stations (minutes from mixing) in channel A (black squares), B (open squares) and C (crosses). In (fig-A), gill-Al is related to the total-Ali concentration, to LMW-Ali in (fig-B) and to HMW-Ali in (fig-C). Relationships are described by linear equations illustrated by dotted line (within channel relationships) and whole line (between channel relationships).
- Figure 26. The plasma chloride concentration (mM) from parr sampled from different stations (minutes since mixing) in channel A (black squares), B (open squares) and C (crosses). In (fig-A), plasma chloride is related to the total-Ali concentration, to LMW-Ali in (fig-B) and to HMW-Ali in (fig-C). Relationships are described by linear equations illustrated by dotted line (within channel relationships) and whole line (between channel relationships). In (fig-D), the relationship between plasma chloride and gill Al-concentration is presented.

- Table 1. Temperature (°C) and relative addition of acid water (*Sur* %) from the brook Ritlandsåna (*surt råvann*) and from River Suldalslågen (Godt %) to channel A, B, C and D. Total measured flow is presented as L/min. Values are presented for all dates (day and hour). *Snitt*=average value and *St.avvik*=standard deviation.
- Table 2. Biological sampling times (*tidspunkt*) and parameters sampled. Blood samples (*blodprøver*), gill tissue for metal staining (*gjelle vev*) and gill Al-concentration (*gjelle Al*) were sampled at all exposure times and from all cages. Gill tissue for LM (light microscopy) and EM (electron microscope) were only sampled from cage 1, 3, 5 and 9 in channel A, C and D.
- Table 3. Criteria used for evaluation of physiological changes. *Dødelighet*=mortality, *betydelig effekt*=significant effect, *moderat effekt*=moderate effect, *nedre normale tilstand, grense mot effekt*=lower level for normal values, *normal tilstand*=normal conditions. *Plasma-Cl*=plasma chloride, *hematokritt*=hematocrit, *glukose*=glucose, *gjelle-Al*=gill aluminium.
- Table 4. pH measured in channel A-D and in both raw water sources, the acid Ritlandsåna (*surt råvann*) and non-acid River Suldalslågen. Average values (based on H⁺) and standard deviation for H⁺ is presented.
- Table 5. Average calcium concentration (Ca) in channel A-D and in both raw water sources (Ritlandsåna and Suldalslågen). Average values (N=5) and standard deviation is presented.
- Table 6. Concentration of different elements (mg/L) measured 23.September 1996 in channel (*renne*) A-D, and from 23. and 25. September for the two source waters; Ritlandsåna (*surt råvann*) and River Suldalslågen (*S.låg*).
- Table 7. Average±(SD) concentration of different forms of aluminium measured in Ritlandsåna (*surt råvann*) and Suldalslågen (*S.lågen*).
- Table 8. Percentage mixing of the two source waters (*Surt og S.låg*), flow (L/min) and measured spread in flow (Q), and the Alr concentration calculated (*beregnet*) from mixing ratios and concentration in source water and measured (*målt*) in the channels (*renne*).
- Table 9. Measured concentrations of total-, LMW- and HMW-forms of aluminium (average±SD) in the two source waters and in channel A, B, C and D. Average values are presented for water aged for <2 minutes, 2-9 minutes and 10-220 minutes and after 1 week storage at the laboratory. Theoretical values based on % mixing is given (*teoretisk*). Some of the variation in measured concentrations could be caused by instability in relative water addition (acid to non-acid water), in the Al addition (to acid source water) and due to fluctuating Al-concentration in the source waters. To reduce the importance of these variables, a “corrected” table is presented as Table 10.
- Table 10. Alr-corrected Al-concentrations from table 10. “Correction” was achieved by setting the measured total Alr concentration equal to 100%, and calculating the percent contribution of the different Al-forms to Alr. Average percent values with (±SD) were then calculated. These average values were then back calculated setting Alr=90µg/L in channel A and D, and to 58 or 37 µg/L in channel B and C. This does not change average concentrations a lot, but reduces the standard deviation.

- Table 11. Plasma chloride concentrations (mM) (average \pm SD) measured in parr of Atlantic salmon exposed for 24, 70 and 140 h in channel A, B, C and D. Sample size is given as N=. Tests for differences within channels, with hatchery fish as reference was performed using one-way ANOVA. Identifying groups that were significantly different from the reference was done by Tukey ad hoc test. Reference concentrations are given as T=0 values. The prefix “a” denotes groups that were significantly different from the reference. Prefix “b” denotes groups that were significantly different from fish exposed in water aged for 220 minutes. Significance levels (P=) are presented.
- Table 12. Gill aluminium concentrations (mg Al/g gill dry weight) (average \pm SD) measured in parr of Atlantic salmon after being exposed for 24 in channel A or D or 140 h in channel A, B, C or D. Sample size is given as N=. A test for differences within channels, with hatchery fish as reference, was performed using one-way ANOVA. Identifying groups that were significantly different was done by Tukey ad hoc test. Reference concentrations are given as T=0 values. The prefix “a” denotes groups that were significantly different from the reference. Prefix “b” denotes groups that were significantly different from fish exposed in water aged for 220 minutes. Significance levels (P=) are presented.
- Table 13. Gill aluminium concentrations (mg Al/g gill dry weight) (average \pm SD) measured in parr of Atlantic salmon after being exposed for 0.2, 1, 6, 24 or 140 h in channel A and D. Sample size was 5 to 6 fish/group. Reference concentrations are given as T=0 values.
- Table 14. Notations regarding how easy it was to sample the blood after 140 h exposure. 1=free flowing blood, normal sample size; 2=slow flowing blood, but normal sample size; 3=“thick” blood, sampling possible, but small sample; 4= very “thick” blood, very small sample; 5=sampling not possible, no blood. Median values for N=10 are presented for each group.