

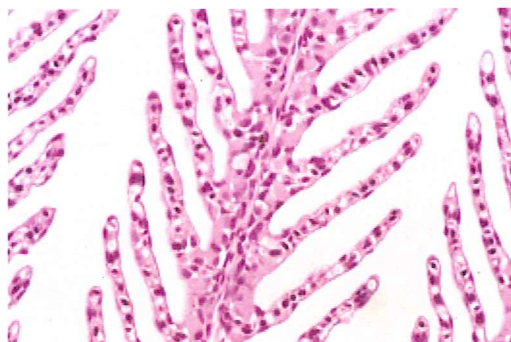
NIVA



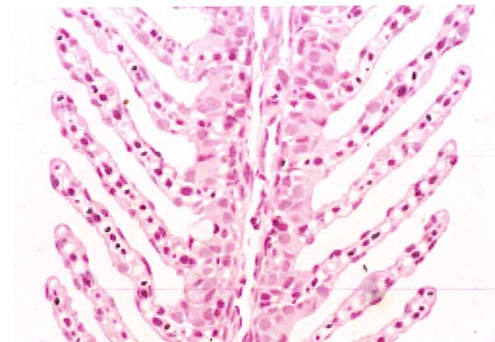
RAPPORT LNR 4158-99

Status for vann- og smoltkvalitet i Otra, Vest-Agder, våren 1999

Gjellevevskategori B
Otra; Lonebekken; el-fiske



Gjellevevskategori B
Otra; Høyebekken; el-fiske



Gjellevevskategori C
Otra sone 5b; Lonebekken; el-fiske



Gjellevevskategori C
Otra; eksponering i bur



Norsk institutt for vannforskning

RAPPORT

Hovedkontor

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

Sørlandsavdelingen

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

Østlandsavdelingen

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

Vestlandsavdelingen

Nordnesboder 5
5008 Bergen
Telefon (47) 55 30 22 50
Telefax (47) 55 30 22 51

Akvaplan-NIVA A/S

9015 Tromsø
Telefon (47) 77 68 52 80
Telefax (47) 77 68 05 09

Tittel Status for vann- og smoltkvalitet i Otra, Vest-Agder våren 1999	Løpenr. (for bestilling) 4158	Dato Des.99
	Prosjektnr. Undernr. O-99097	Sider Pris 40
Forfatter(e) Frode Kroglund Hans Mack Berger (NINA) Arne Lande (Høyskolen i Telemark; HiT) Øyvind Kaste May-Britt Johansen (Norges Veterinærhøgskole, NVH) Jarle Håvardstun	Fagområde Sur nedbør	Distribusjon Åpen
	Geografisk område Vest-Agder	Trykket NIVA
Oppdragsgiver(e) Otra laxefiskelag Fylkesmannen i Vest-Agder	Oppdragsreferanse	

Sammendrag

Smoltkvaliteten i Otra ble evaluert våren 1999 på bakgrunn av målinger av fysiologisk og histopatologisk status samt på bakgrunn av saltvannstester. Det ble ikke påvist "skader" på smoltkvaliteten til smolt innfanget i Høyebekken og eksponert i Otra i 12 dager. Det ble påvist en liten forskjell i kvalitet mellom smolt fra Høyebekken og Straisbekken. Forskjellen var sannsynligvis ikke relatert til vannkjemi i Otra, men til forskjeller i bekkene. På tross av god smoltkvalitet ble det påvist tildels omfattende vevsforandringer samt betydelig akkumulering av Al i gjellene. Vevsforandringene som ble påvist var ikke i seg selv tilstrekkelig til å svekke saltvannstoleransen. Forandringene i gjellevev og aluminiumskonsentrasjonen påvist på og i gjeller kan skyldes responser på vinter vannkvalitet; perioder når vassdraget inneholder mye aluminium. Vannkjemiske forandringer (reduert aluminiums transport) fra vinteren til våren kan ha tillatt fisken å restituere og etablering av saltvannstoleranse. De påviste "skadene" representerer således forhistorien, hvor forhistorien antyder at vannkvaliteten ikke er optimal hele året. Smoltkvaliteten antyder at Otra etterhvert kan ha en selvreproduserende laksestamme. Bestandstettheten og alderssammensetningen av fisk i elva tyder imidlertid på at vassdraget fortsatt er "skadet" og påvirket av tidligere dårlig vannkjemi, deriblant giftutslipp i 1997.

Fire norske emneord	Fire engelske emneord
1. Otra	1. River Otra
2. Laks	2. Atlantic salmon
3. Fysiologi	3. Physiology
4. Vannkvalitet	4. Water quality

Frode Kroglund

Frode Kroglund

Prosjektleder

Bjørn Olav Rosseland Anne Lyche Solheim

Bjørn Olav Rosseland

Forskningsleder

Anne Lyche Solheim

Fungerende forskningssjef

**Smoltkvalitet i Otra, Vest-Agder
våren 1999**

Forord

Prosjektet ble igangsatt på bakgrunn av at det forelå opplysninger om tiltagende forekomst/observasjoner av lakseyngel i Otra. Medlemmer fra Otra Laxefiskelag har sett lakseyngel i elva før 1997, men bekreftede funn ble første gang gjort i tilknytning til et giftutslipp til elva i 1997 (Aanes og Lydersen, 1997). På bakgrunn av disse observasjonene ble det reist spørsmål om vannkvaliteten i Otra igjen var tilfredsstillende for laks og at det var etablert en selvrekrutterende bestand. Det ble våren 1999 igangsatt en undersøkelse av smoltkvalitet finansiert av Otra laxefiskelag og av fylkesmannen i Vest-Agder.

I gjennomføringen av prosjektet deltok H.M. Berger fra NINA (fangst av laks- og auresmolt), A. Lande fra HiT (datainnsamling om historisk utvikling) og J. Håvardstun (prøvetaking i felt). Ø. Kaste har bidratt med vannkjemiske data fra overvåkingsprosjektet. H.C. Teien fra IKB/LAK har analysert konsentrasjonen av aluminium på gjellevev mens M.B. Johansen (Norges veterinærhøgskole) har utført de histopatologiske analysene (forandringer i gjellevev) i samråd med T. Poppe (Norges veterinærhøgskole). Undertegnede har hatt ansvar for gjennomføring av eksponeringsforsøkene og bearbeiding av data vedrørende disse.

Grimstad, desember 1999

Frode Kroglund

Innhold

Sammendrag	7
1. Innledning	10
2. Materiale og metoder	11
2.1 Forsøksprotokoll	11
2.1.1 Fangst av fisk	11
2.1.2 Fangst- og eksponeringslokaliteter	11
2.1.3 Eksponeringsbur	12
2.1.4 Saltvannstester	12
2.2 Fiskematerialet	12
2.2.1 Antall fisk / lokalitet	12
2.2.2 Fiskestørrelser og smoltifiseringsgrad	13
2.3 Prøvetakingsmetoder og responsevaluering	14
3. Historisk utvikling i laksefangst, industrialisering og vannkjemi	15
3.1 Fangst av laks	15
3.2 Inngrep, forurensning og tiltak i vassdraget	16
3.3 Vannkjemiske endringer (overvåkingsprogrammet)	19
3.3.1 Endringer i pH og aluminium samt annen forsursrelevante kjemi (1988-1999)	19
3.3.2 Sammenhengen mellom pH og aluminium	21
4. Resultat og diskusjon	24
4.1 Vannkjemi	24
4.2 Fisketetthet	25
4.3 Belastningsforsøk	26
4.3.1 Gjelle-Al	26
4.3.2 Vevsforandringer i løpet av belastningsperioden	28
4.3.3 Dødelighet i løpet av belastningsperioden	32
4.3.4 Fysiologisk tilstand	32
4.3.5 Sjøvannstester (dødelighet og blodparametre) i løpet av belastningsperioden	32
5. Sluttkonklusjon	34
6. Referanser	35
Vedlegg A. Vannkjemiske analyser	37
Vedlegg B. Fiskebiologiske prøvetakings- og analysemetoder	38
Vedlegg C. Responsevaluering	40

Sammendrag

Fra 1960 til 1990 ble det knapt registrert laks i Otra. Fraværet av laks skyldes delvis industriutslipp, delvis forsuring som tilsammen eller hver for seg skapte et giftig vannkjemisk miljø. Midt på 90-tallet ble det gjennomført betydelig sanering av industriutslipp. Samtidig inntraff en betydelig forbedring av vannkvaliteten som følge av redusert sur nedbør (Kaste m.fl., 1999). Selv om vannkvaliteten i Otra i perioden 1960 til 1990 uomtvistelig var skadelig for laks, foreligger det ikke dokumentasjon på betydningen av de enkelte kildene til den vannkjemiske forverringen. I utgangspunktet vil enhver forandringene i det vannkjemiske miljøet kunne innvirke på vannkvaliteten. Når vannkvalitetsforandringene blir tilstrekkelig store vil disse kunne forårsake biologiske responser. Responsene, eller tilstandsforandringene kan være positive, ha ingen betydning eller være negative. Betydningen eller effekten av en respons vil kunne tilta ved økt eksponeringstid, samtidig som responsene vil kunne modifiseres av en rekke biologiske, fysiske og kjemiske faktorer. Det er ingen enkle sammenhenger mellom vannkemi og forekomst av laks. Det er således ingen enkle sammenhenger mellom gjennomførte tiltak og etablering av en ny laksebestand (Rosseland og Staurnes, 1994). De gjennomførte tiltakene i Otra kan være tilstrekkelige for reetablering av en ny laksebestand, men de kan også være utilstrekkelige til å etablere en laksebestand som har den kvalitet som kreves av en livskraftig bestand. Påvisning av laks i vassdraget er ikke et tilstrekkelig kriterium for å påstå at en stedegen bestand er reetablert.

Vannkvalitetsforringelse eller ”skadelig” vannkemi vil som oftest påvises på individnivå før effekter påvises på bestandsnivå. Responser på individnivå kan måles ved bruk av histologiske (vevsforandringer) og fysiologiske (forandringer i ulike kroppsfunksjoner) metoder, mens forandringer på bestandsnivå som oftest vil innebære bruk av innsamlingsmetodikk som tillater diskusjon av forandringer i tetthet, vekst, smoltalder mm. I denne undersøkelsen skulle vi undersøkt den histologiske og fysiologiske tilstanden hos enkeltindivid av laksesmolt eksponert på ulike steder innen Otra vassdraget. Responsene skulle sammenholdes med vannkjemiske data fra overvåkingsprosjektet. Basert på kunnskap om sammenhengene mellom endringer i vannkvalitet (som følge av forsuring) og responser hos smolt av Atlantisk laks er det tidligere etablert et sett med responskriterier (vedlegg C). Selv om de ulike responsene er kategorisert fra ”normal” til ”dødelig”, foreligger det ingen god og entydig definisjon av hvilke forandringer som er uakseptable i forhold til hvilke tilstandsforandringer som kan aksepteres hos fisk. Smoltkvaliteten er derfor evaluert på bakgrunn av samtlige prøvesett.

Smoltkvalitet til stedegen laks ble undersøkt i 3 sidevassdrag til Otra samt i hovedelva. Fra to av sidevassdragene ble smolt overført til bur plassert i hovedvassdraget. Dersom smolt overført til Otra hadde vært ”negativt” påvirket på overføringstidspunktet ville status til denne fisken etter 12 døgn eksponering i Otra kunne:

- ◆ forbedres (restituering pga bedre vannkemi i Otra,
- ◆ forbli uforandret (vannkjemien i Otra var like belastende eller tillot ikke restituering over 12 dager)
- ◆ tilstanden ble forverret (vannkvaliteten i Otra var dårligere enn i sidevassdraget fisken stammet fra.

Dersom smoltkvaliteten før overførsel til Otra var god ville man kunne forvente enten:

- ◆ ingen forandring (vannkvaliteten i Otra var god)
- ◆ forandringer (vannkvaliteten i Otra påvirket fisken).

Forekomsten av laksesmolt i hovedelva var meget lav våren 1999, mens forekomsten av smolt i sidevassdragene var forholdsvis god (innfangning av smolt ble ikke utført etter metoder som tillater sikker evaluering av tetthet). Lav tetthet av smolt i hovedelva, men tilsynelatende normal forekomst av lakseyngel, skyldes sannsynligvis effekter av giftutslippet sommeren 1997 (Aanes og Lydersen, 1997).

Selv om giftutslippet hadde en uomtvistelig negativ innvirkning på forekomsten av laks i Otra kan det ikke utelukkes at vannkvaliteten i hovedelva om vinteren med pH lavere enn 5.4 og med mer enn 50 µg giftig aluminium også innvirker negativt på yngel overlevelse. Dette bør undersøkes og eventuelt avhjelpest ved igangsetting av kalking.

Smoltkvaliteten basert på saltvannstester var meget god i Otra våren 1999. Saltvannstoleranse er den mest følsomme respons- og kvalitetsindikatoren vi benyttet i denne undersøkelsen. I saltvannstestene (utført ved 34 psu; eller promille) regulerte smolt fra Høyebekken blodsalt konsentrasjonen innenfor grenser som også vil være akseptable innen oppdrettsnæringen i løpet av 24 timer (denne næringen setter strengere krav til smoltkvalitet enn det vi benytter for villfisk). Smolt fra Straisbekken regulerte ikke blodsalt konsentrasjonen i saltvannstesten like godt som smolt fra Høyebekken. Forskjellene i saltreguleringsevne var relatert til forskjeller i smoltifiseringsgrad og størrelse mellom bekkene. Faktorer som innvirket smoltutvikling og vekstforskjeller mellom bekkene kan være:

- ◆ Temperaturforskjeller
- ◆ Andre forskjeller som innvirker på vekst
- ◆ Vannkjemiske forskjeller

Årsaken til forskjellene mellom bekkene kan ikke forklares basert på det innsamlede materialet. Selv om den påviste forskjellen har interesse, synes det i denne omgang likevel viktigere å fokusere på den ”gode” smoltkvaliteten mer enn på årsaken til variasjon mellom enkeltbekker.

Foruten at den undersøkte smolten hadde god saltvannstoleranse, hadde smolten normal fysiologisk tilstand basert på analyse av plasmaklorid (blodsalt), hematokrit (prosentandel røde blodlegemer) og glukose (blodsukker) i blodprøver. Analyse av gjellevev antydte tilstedeværelse av moderate til uttalte vevsforandringer. Det ble påvist lave gjelle-Al konsentrasjoner i Lonanebekken, mens konsentrasjonen i Straisbekken, Høyebekken og i Otra var moderat høy. Med unntak av Lonanebekken, hvor Al ikke lot seg påvise hos flere av fiskene ved bruk av spesialfarging, ble all Al lokalisert dypt i vevet (intraepeteliale). Det ble ikke påvist overflatebundet Al på noen stasjon. Mens saltvannstoleranse og fysiologisk tilstand var god, var det overraskende å finne moderat høye Al konsentrasjoner på gjellene (i underkant av 100 µg Al/g tv) og uttalte vevsforandringer (kategori B og C). Den målte Al konsentrasjonen på gjellene er assosiert med omfattende produksjonsproblemer innen Norsk fiskeoppdrett (Rosseland, B.O. upublisert data), svikt i saltvannstoleranse i forsøk (Kroglund m.fl., 1998a) og blitt assosiert med redusert bestandstetthet i enkelte vestlandsvassdrag (Bjerknes m.fl., 1998). Likeledes var funn av omfattende vevsforandringer på gjellene overraskende ettersom smolten saltvannsregulerte godt og hadde normal fysiologi.

Ettersom det ble påvist Al dypt i gjellevevet antar vi at Al på et eller annet tidligere tidspunkt må ha foreligget overflatebundet på gjellevevet før det ble transportert inn i vevet. Selve mekanismene som forklarer transport av Al fra gjelleoverflate til å bli lokalisert inni celler er fortsatt uklar (Exley og Birchall, 1992). I tidligere forsøk har vi ikke påvist forekomst av Al dypt i vev såfremt eksponeringstiden for Al ikke har vært på minst 1 uke (Kroglund m.fl., 1995; 1996).

Det ble målt LAI konsentrasjoner i bekkene og i Otra på 6 til 16 µg LAI/l i løpet av undersøkelsesperioden pH var høyere enn 6.1 og kalsium varierte mellom 1 og 5 mg Ca/l. Gjelle-Al konsentrasjonen var rimelig godt korrelert med konsentrasjonen av LAI innen samme vassdrag. Det kan hende at den målte konsentrasjonen av LAI i seg selv er tilstrekkelig til å resultere i de målte konsentrasjonene samt lokaliseringen av Al i og på gjellene, men det er også rimelig sannsynlig at intraepeteliale Al bidro med en betydelig bakgrunnskonsentrasjon. Funn av Al lokalisert dypt i vevet fra samtlige fisk som hadde mer enn 30µg Al/g gjelle tv (tørrvekt) tyder på at vannkvaliteten i flere av sidebekkene til Otra inneholdt Al som lot seg akkumulere i gjellevev. Fravær av Al i vev fra flesteparten av fiskene undersøkt fra Lonanebekken (hvor det kun ble målt 29µg Al/g gjelle tv) er

interessant i denne sammenheng. Resultatet tyder på bedre vannkvalitet i Lonanbekken enn i de andre to undersøkte bekkene.

Selv om vannkvaliteten i forsøksperioden kan forklare de målte konsentrasjonen av Al på gjellene kan det tenkes at LAI konsentrasjonen i bekkene samt i Otra var høyere på et tidligere tidspunkt og at det intraepiteliale aluminiumet ble akkumulert på et tidspunkt forut for vår prøvetaking. Det foreligger målinger som viser at LAI konsentrasjonen i Otra kan være betydelig høyere vintermånedene enn konsentrasjonen var under selve forsøksperioden. Det foreligger ikke tilsvarende vannkjemiske målinger fra bekkene. Inntil det motsatte er dokumentert kan vi ikke utelukke at bekkene også transporterer mer LAI i perioder, særlig om vinteren, enn det vi målte i mai. Dersom dette medfører riktighet er en mulig tolkning av resultatene at fisken ble ”påvirket” av Al i løpet av vinteren når Al konsentrasjonen i vannet var høyere. Vannkvalitetsforbedringer, som inntraffer i mars med økt pH og redusert konsentrasjon giftig Al tillater restituering av kroppsfunksjoner viktig for utvikling av blant annet saltvannstoleranse, på tross av at gjelle-Al konsentrasjoner var opprettholdt like i underkant av 100 µg Al/g tv. Det antas at intraepitelt Al ikke representerer samme gifteffekt som overflatebundet Al (Kvellestad og Larsen, 1999). Intraepitelt Al representerer sannsynligvis eksponeringshistorier forut for selve forsøksperioden. Dersom denne hypotesen er riktig vil tidspunktet for ”belastende vannkvalitet” i Otra ha avgjørende innflytelse på smoltkvaliteten. Dersom det inntreffer episoder med surt, Al-rikt vann i april og mai istedenfor i januar og februar vil disse kunne påvirke laksens smoltkvalitet mer enn det som ble påvist våren 1999. Episoder trengs ikke fanges opp av et overvåkingsprogram. Vi kan derfor ikke utelukke at slike episoder ikke vil finne sted.

Dersom vannkvaliteten om vinteren påvirker kvaliteten til laksesmolten produsert innen Otra negativt, bør kalking vurderes. Ved utarbeidelse av en kalkingsplan vil det være viktig å evaluere størrelsen på aluminiumbidrag fra restfeltet til Otra nedstrøms Evje, samt tidspunktet for når vesentlige konsentrasjoner av Al kan tilføres vassdraget.

Basert på at Otra var ”tom” for laks en lang periode før 1993, synes den etableringen som nå pågår å være et resultat av en vesentlig vannkvalitetsendring i Otra. Reetablering av tapte fiskebestander er tidligere gjennomført i Norge gjennom kalking, samt ved sanering av industriutslipp (Akerselva, Oslo). Laks er reetablert i England og i Tyskland gjennom store og kostbare reetableringsprogram. Laks synes å være i prosessen å bli reetablert i Otra som følge av de utførte tiltakene innen vassdraget samt redusert sur nedbør uten at dette har fått den oppmerksomhet ”nyheten” fortjener.

Anbefalinger

- ◆ Det hadde vært ønskelig med pH-logging av vannkvaliteten i hovedløpet for å følge tidsvariasjon/forekomst av episoder i vassdraget. Forekomst av episoder i sidevassdrag bør også undersøkes.
- ◆ Det hadde vært ønskelig med fiskeundersøkelser (bestandsutvikling og kvalitet) på flere tidspunkt gjennom sesongen.
- ◆ Vassdraget er faglig interessant ettersom dette er et av de beste eksemplene vi har på reetablering av en laksebestand etter iverksettelse av forurensningsbegrensende tiltak samt etter redusert sur nedbør. I denne sammenheng er det viktig at Otra ikke er kalket.
- ◆ Selv om Otra ikke er kalket, kan det være strategisk lurt å påvise kildene til aluminium lokalisert mellom Evje og Vennesla og vurdere i hvilken grad disse kan forsinke reetablering av en stedegen laksebestand.

1. Innledning

Vannkvaliteten i Otra har vært overvåket siden begynnelsen av 1960-tallet (se referanseliste i Kaste m.fl., 1999). Vassdraget har vært påvirket av forsurening, kloakk og av industriutslipp, som tilsammen har bidratt til betydelig skader på biologisk mangfold og som sannsynligvis samlet bidro til å utrydde den stede laksebestanden. Fra 1960 til 1990 ble det knapt registrert fangst av laks i vassdraget. En avløpsledning fra industrivirksomheten ved Vennessla til fjorden ble etablert i 1995. Det ble samme år registrert bedringer i vannkvaliteten oppstrøms Vennessla som må tilskrives redusert sur nedbør. Vannkvalitetsforbedringer som følge av tiltak mot sur nedbør, etablering av renseanlegg for kloakk og reduserte eller eliminert industriutslipp er dokumentert i overvåkingsprogrammet for Otra (Kaste m.fl., 1999). Etter 1992 er det igjen registrert betydelige fangster av laks i elva (2 tonn eller mer pr. år). Oktober 1995 og januar 1996 ble det fanget inn tilsammen 3 fiskeyngel som ble sendt til NINA for arts og aldersbestemmelse (E.Sandø pers. medd.). To av fiskene var lakseyngel klekket våren 1995, mens en hadde smoltstørrelse (klekket våren 1994). Denne siste fisken var muligens en hybrid (brev av 16.januar. 1996 fra K.Hindar; NINA). Det antas på denne bakgrunn at småfisk sett i elva årene forut for 1995 også var laks. Selv om laksen i Otra var betraktet som utryddet opplyses det fra Otra laxefiskelag at det sannsynligvis alltid har foregått gyting i flere av sidebekkene til Otra selv i perioden hvor hovedelva ikke hadde laks. Straisbekken regnes som den bekken som med størst sikkerhet alltid inneholdt laks. Endelig bekreftelse på reetablering av laks i Otra kom i forbindelse med giftutslipp i 1997, hvor død lakseyngel og voksen laks ble samlet inn langs elvekanten (Aanes og Lydersen, 1997). Otra laxefiskelag har på bakgrunn av dette reist spørsmål om:

Har vannkvalitetsforbedringene de senere årene medført at Otra igjen har en selvreproduserende laksestamme?

For at vassdraget skal ha en selvreproduserende laksestamme må avkom fra gyting kunne overleve fram til smoltifisering og smoltifisere (bli sjøvannstolerante) normalt. Normal smoltifisering innebærer blant annet at smolten skal kunne vandre ut av vassdraget til rett tidspunkt (innenfor smoltvinduet), skal kunne opprettholde blant annet blodsalt konsentrasjonen på rett nivå (fysiologisk krav) og ha normal overlevelse i sjøvann (økologisk krav) (Heggberget m.fl., 1992). Som voksen skal laksen kunne returnere til vassdraget for å gyte. Dersom denne sirkelen brytes over lengre tid vil ikke en bestand være selvreproduserende. I en rekke undersøkelser utført på oppdrag fra Direktoratet for naturforvaltning (DN) er vannkvalitetskravet til laks og da i særdeleshet laksesmolt undersøkt. I samtlige undersøkelser er det konkludert med at laksesmolt er særlig følsom for aluminium (som tilføres vassdragene som følge av sur nedbør) og mer følsom enn andre livsstadier til laks. Dette innebærer at selv om lakseyngel og smolt observeres i et vassdrag trenger ikke dette nødvendigvis bety at smolten har de nødvendige kvalitetene som tillater den å overleve overgangen til og vekst i sjøvannsfasen. Det er veldokumentert at sjøvannstoleransen til smolt svekkes i forbindelse med eksponering til aluminium (Staurnes m.fl., 1993a; Rosseland og Staurnes, 1994; Staurnes m.fl., 1995; Kroglund m.fl., 1998a; Rosseland, 1999; Kroglund og Staurnes, 1999).

Inntil det sannsynliggjøres at smolt produsert i Otra er sjøvannstolerant kan det ikke konkluderes med at Otra har noen selvreproduserende laksestamme. Dersom vannkvalitetsforbedringene i Otra har medført at det igjen produseres yngel, men at vannkvaliteten fortsatt påvirker smolten, kan det være aktuelt å vurdere ulike vannkvalitetsforbedrende tiltak, deriblant kalking.

Smoltkvaliteten til laks og ørret fanget innen Otravassdraget er i denne undersøkelsen vurdert på bakgrunn av blod- og gjellevevsprøver, samt på bakgrunn av sjøvannstester. Ved å sammenlikne vannkjemi med smoltkvalitet kan vannkvalitet evalueres. Foruten eksponeringsforsøkene er det også utført en vurdering av de vannkemiske endringene som er oppnådd gjennom de ulike igangsatte tiltakene innen vassdraget. Denne vurderingen er utført med henblikk på laksens vannkvalitetskrav.

2. Materiale og metoder

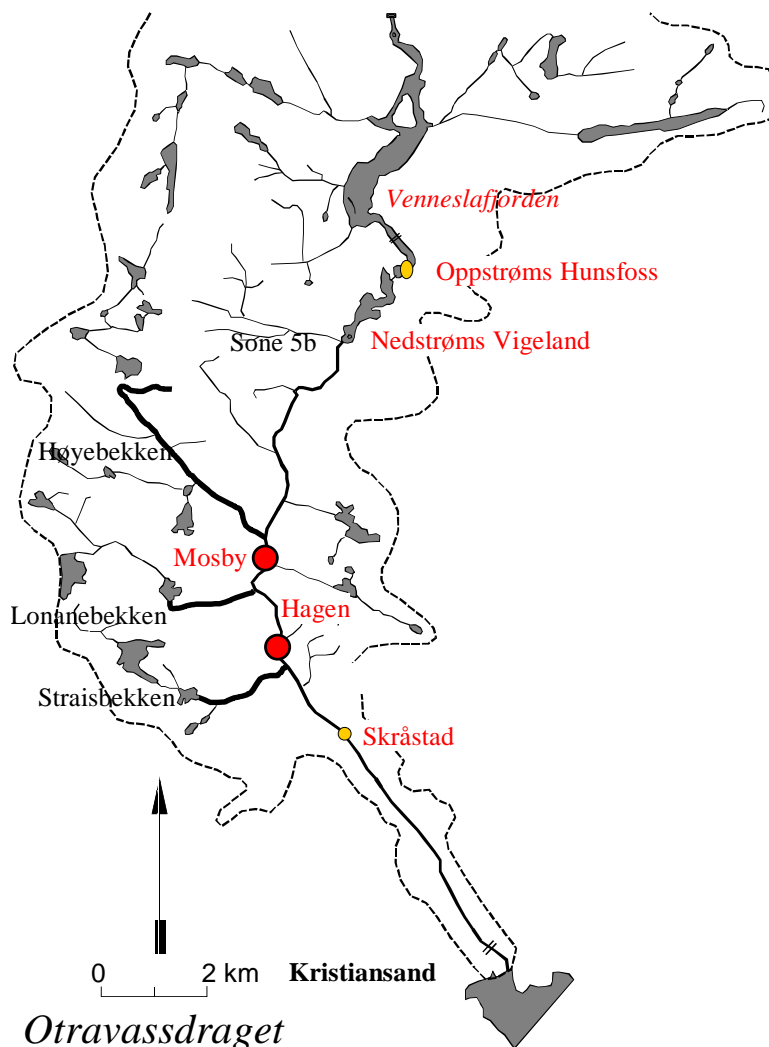
2.1 Forsøksprotokoll

2.1.1 Fangst av fisk

Forsøksmaterialet ble innsamlet ved bruk av elektrisk fiskeapparat 1.mai 1999.

2.1.2 Fangst- og eksponeringslokaliteter

Forsøksfisken ble fanget i tre sidebekker til Otra (Høyebekken, Lonanbekken og Straisbekken) samt i hovedløpet. Alle lokaliteter er lokalisert nedstrøms Vennesla (figur 1). Forsøksgruppene i Otra ble etablert ved at laksesmolt fra Høyebekken og Straisbekken ble overført til bur plassert på henholdsvis Bukkehornet (oppstrøms utløpet fra Høyebekken) og ved Ia (oppstrøms utløpet fra Straisbekken). Et eksponeringsbur var plassert i Lonanbekken som kontroll. Eksponeringsforsøkene ble avsluttet med blod- og vevsprøvetaking samt saltvannstester utført 12.mai 1999.

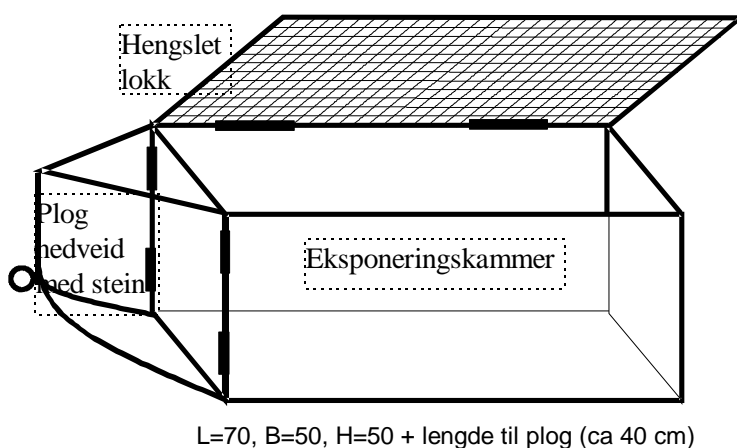


Figur 1. Nedre Otra med nedbørfelt. Stasjoner for vannkjemi (overvåkingsprosjektet; lys sirkel) og for fiskeforsøk (denne undersøkelsen; mørk sirkel) er vist. Strekninger som ble el-fisket er markert med tykk strek på bekken. Vannkjemi stasjonen ved Evje er ikke markert, men ligger oppstrøms Venneslaffjorden.

2.1.3 Eksponeringsbur

Eksponeringsburene benyttet i Otra var identiske til burene benyttet i Audna og i Mandal i 1999, men noe mindre enn burene benyttet i Suldalslågen (Kroglund m.fl., 1998b). Tekniske data for burene er angitt i figur 2. Burene plasseres slik at plogen reduserer vannstrømmen gjennom buret.

Eksponeringsburene ble plassert på dypt vann og sto helt under vann 12.mai. Burene sto på områder hvor det kunne være tildels sterk strøm, men ikke kraftig turbulens. Hvert bur ble fylt med ca. 20 fisk.



Figur 2. Tegning over eksponeringsbur benyttet i Otra våren 1999.

2.1.4 Saltvannstester

Etter 12 dager eksponering i bur i ferskvann ble det tatt prøver av inntil 6 laksesmolt. Resten av fiskematerialet ble overført til saltvannstesting. Sjøvann til saltvannstestene ble produsert ved å løse 3.5kg salt (Instant Ocean) i 140 l ferskvann. Dette vil gi en salinitet omkring 28-33 psu. Saliniteten ble deretter justert til 34.1 psu ved bruk av en salinoterm. Vannet ble deretter fordelt på to 90l svarte murerstamper. Vannet ble luftet med akvarieluftere.

Temperaturen på sjøvannstesten varierte mellom 5 og 9 grader i løpet av døgnet. Temperaturen var lavest seint på natta, eller ca 12 timer etter igangsatt eksponering. Lav temperatur (<5-6°C) vil forsinke smoltens evne til å reetablere normal blodsaltkonsentrasjon i en saltvannstest. Begge sjøvannstestene hadde lik temperatur og saltholdighet slik at eventuelle variasjoner i respons innen vassdraget må tilskrives forskjeller i fiskematerialet, ikke testmiljøet.

2.2 Fiskematerialet

2.2.1 Antall fisk / lokalitet

Det ble tatt prøver av inntil 6 fisk (både av laks og aure) under selve el-fisket. I Høyebekken var forekomsten av laks tilstrekkelig stor til at minst 25 smolt ble innfanget og plassert i midlertidige oppbevaringskasser før transport til permanent eksponeringsstasjon lokalisert i hovedløpet. I Lonanebekken var forekomsten av laksesmolt lav og det ble ikke fanget tilstrekkelig med fisk til å berettiggjøre transport til og videre eksponering i Otra. Innfanget fisk ble derfor holdt igjen i bekken som en referanse på eventuelle bur-effekter. Det ble overført smolt fra Straisbekken til Otra uten at det ble tatt prøver av denne fisken i bekken. Disse prøvene ble utelatt fordi det ble fanget for få smolt til å rettferdiggjøre både prøvetaking i bekken og overføring til Otra. Ettersom det var etablert en referansestasjon i Lonanebekken ble det prioritert å etablere en eksponeringsstasjon med smolt fra

Straisbekken i Otra. Fiskematerialet er angitt i tabell 1. Det ble fanget et lite antall smolt øverst i Otra (Sone 5b), mens det ikke ble påvist smolt på stasjonen ved Hagen.

Tabell 1. Forsøksmaterialet (laks og aure), antall fisk prøvetatt 1.mai samt 12. mai og merknader som ligger til grunn for etablering av de ulike eksponeringsstasjonene. Fiskelengde på 11 cm skiller store laks fra små laks.

	Prøvetatt umiddelbart etter el-fiske 1.mai 1999	Antall laks eksponert på fangststedet og prøvetatt 12.mai 1999	Antall laks overført til bur i Otra og prøvetatt 12.mai 1999	Merknader
Høyebekken	5 laks 4 aure	0	18 store 2 små	Brukbar tetthet. Tilstrekkelig med smolt til å etablere eksponeringsstasjon i Otra.
Lonanbekken	6 laks 6 aure	6	0	Lav tetthet, for få fisk til bureksponering. Et lite antall fisk holdes i bur i bekken for å evaluere "bureffekter".
Straisbekken	0 laks 0 aure	0	10 store 8 små	Lav tetthet. Tilstrekkelig med smolt til å etablere eksponeringsstasjon i Otra, men for få til å dokumentere utgangsstatus.
Vigeland, øvre Sone 5b	2 laks 5 aure	0	0	Liten tetthet, ingen hensikt å etablere noen stasjon.
Otra - Hagen	0	0	0	Stort område undersøkt uten at det ble påvist smolt. Yngel ble påvist.

2.2.2 Fiskestørrelser og smoltifiseringsgrad

Smoltifiseringsgrad ble evaluert etter en morfologisk (utseende) skala beskrevet i Kroglund m.fl., 1998b. Basert på fisk over 11 cm, var laksesmolt fanget i Høyebekken og Lonanbekken større (0.7-1.1 cm) og veide (1.7-2.3 g) mer enn smolten innsamlet i Straisbekken (tabell 2). K-faktoren var samtidig lavere (0.06-0.08). Likeledes var smolt fra de to første bekkene mer smoltifisert (smoltkategori gjennomgående >2) enn fisk fra Straisbekken (smoltkategori 1.6). Dette tyder på at det forelå forskjeller i smoltifiseringsgrad mellom bekkene.

Lakseunger mindre enn 11 cm var mindre smoltifisert enn de større fiskene. Variasjonen i fiskestørrelse og smoltgrad vil ha innvirkning på saltvannsoverlevelse mm.

Tabell 2. Klassifisering av forsøksmaterialet prøvetatt i ferskvann. Det er skilt mellom fisk større enn og mindre enn 11 cm. Antall fisk (n=) er angitt i tabellen. Smoltkategori er definert i Kroglund m.fl., 1998b. Fisk prøvetatt etter sjøvannstestene er ikke inkludert.

	n=	Lengde cm	Vekt g	K-faktor	Smolt kategori*
LAKSESMOLT (>11 CM)					
Høyebekken	9	12.5±0.9	16.0±3.6	0.81±0.07	2.1±0.3
Lonanbekken	11	12.9±0.8	16.6±2.2	0.79±0.12	2.1±0.5
Straisbekken	5	11.8±1.2	14.3±5.0	0.87±0.08	1.6±0.2
Sone 5b	2	13.7±1.6	23.8±7.4	0.92±0.04	2.2±0.5
LAKS (<11 cm)					
Høyebekken	2	10.6±0.1	9.1±0.1	0.76±0.02	1.5±0.0
Lonanbekken	1	10.4	12.3	10.9	1.5
Straisbekken	2	9.7±0.7	7.9±0.9	0.86±0.09	1.5±0.0
AURE					
Høyebekken	4	14.5±2.0	28.3±10.0	0.92±0.08	
Lonanbekken	6	14.4±1.7	30.3±9.8	1.00±0.13	
Straisbekken					
Sone 5b	5	16.9±0.7	46.0±9.5	0.95±0.10	

*Smoltkategori kan egentlig ikke angis som gjennomsnittsverdi med standardavvik ettersom dette er en kategorisering av smoltens utseende, ikke en kontinuerlig målbar variabel. Gjennomsnittsverdi representerer likevel prøvetakingsgruppene godt og benyttes som indikator på utviklingstrinn med spredning.

2.3 Prøvetakingsmetoder og responsevaluering

Beskrivelse av prøvetakingsmetoder og responsevaluering er vedlagt som vedlegg A-C.

Vedlegg A. Vannkjemiske analyser

Vedlegg B. Fiskebiologiske prøvetakings- og analysemetoder

Vedlegg C. Responsevaluering

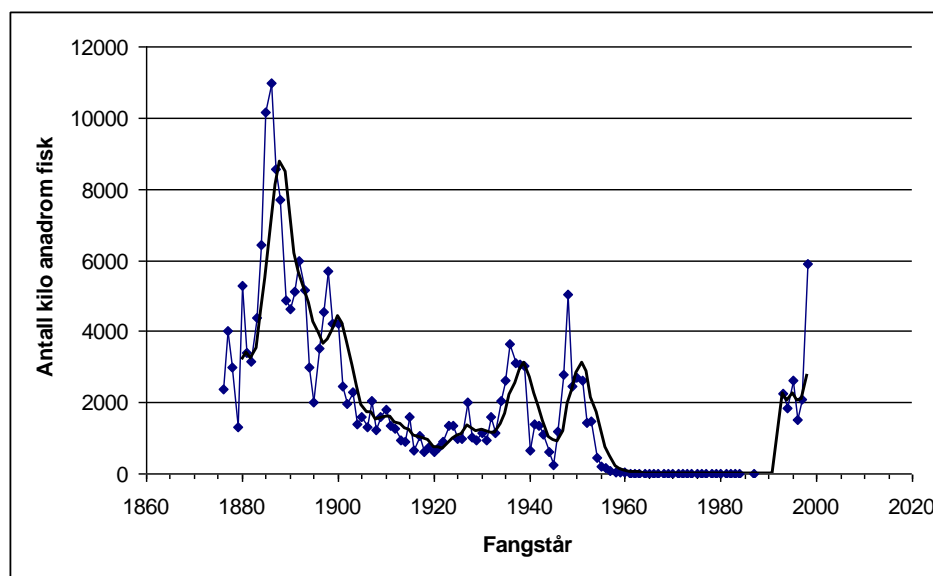
3. Historisk utvikling i laksefangst, industrialisering og vannkjemi

3.1 Fangst av laks

Historisk utvikling

I henhold til fangststatistikken ble høye årsfangster (>4 tonn) innrapportert årlig fra 1880 til 1900 (figur 3). Fra 1890 til 1930 avtok fangstene gradvis til årsfangst på ca. 1 tonn, for å igjen øke svakt mellom 1935 og 1955. Oppgitt fangst var på et minimum gjennom krigsårene 1940-1945. Etter 1955 avtok fangstene til "null" før det igjen ble innrapportert fangster fra 1992. I perioden 1993 til 1997 har årlig fangst variert mellom ca. 1.5 og 2.5 tonn. I 1998 ble det tatt like i underkant av 6 tonn anadrom fisk. Det er ikke dokumentert at den stedege laksen er utdødd, men det lange fraværet av laksefangst fra 1955 til 1992 gjør det lite rimelig å tru at vassdraget nå rekoloniseres av "stedegen" Otra laks. Opphavet til dagens fangst er usikker. Basert på fangst av Carlinmerket laks i Otra vet man at noen av fiskene fanget i 1993 til 1997 stammer fra ulike havbeiteprosjekt samt fra smoltutsettinger i Audna. Det kan heller ikke uten videre utelukkes at laks som fanges i Otra er hjemmehørende i ulike lakselver på Østlandet, samt i Sverige og i Danmark, og således er "feilvandrere" fra en rekke ulike vassdrag. Rømt oppdrettslaks vil sannsynligvis også kunne bidra til yngelproduksjon og til reetablering av en ny Otrastamme.

Dersom 1993 markerer overgangen fra "null" laks i elva til etablering av bestand, vil man med produksjon av 2-årig smolt i vassdraget kunne ha egenprodusert smoltutgang fra våren 1996. Dersom man videre antar at smolten lever minimum 2 år på sjøen før heimvandring ville man kunne oppleve fangst av egenprodusert laks fra sommeren 1998. For at disse antagelsene skal kunne være riktig er det forutsatt at vannkvaliteten i vassdraget var tilstrekkelig god til å tillate normal smoltifisering og marin smoltoverlevelse. Denne problemstillingen danner blant annet grunnlaget for smoltundersøkelsen rapportert her.



Figur 3. Utvikling i fangst av anadrom fisk (laks og aure) i Otra fra 1875 til 1998. Heltrukken linje er beregnet for 5-års glidende middel.

Giftepisoden, 1997

Den 27. juli 1997 ble det sluppet ut ca. 10m³ av fellingskjemikaliet Hypax 18 i Otra. Utslipet skjedde like oppstrøms den lakseførende strekningen i vassdraget og medførte betydelig fiskedød (Aanes og Lydersen, 1997). Under forutsetning av at vannkvaliteten i Otra var reetablert på et tilfredsstillende nivå vil giftepisoden som drepte yngel og voksen laks i 1997 forsinke reetableringen av laks i vassdraget (Aanes og Lydersen, 1997). Alle aldersklasser tilstede i vassdraget ble sannsynligvis påvirket i løpet av denne giftepisoden. El-fiske utført noen dager etter giftutslippet påviste at det fortsatt var en liten bestand av lakseunger igjen i elva. Fangst av voksen laks i august og september viser at ikke all voksen laks var død. Dersom det antas at giftutslippet drepte en betydelig andel av yngelen i 1997 vil tetthetsreduksjonen i yngel ha innvirket på smoltproduksjonen i 1998 og 1999. Dersom man videre antar at gyting forløp normalt høsten 1997 vil det på nytt produseres smolt i vassdraget fra år 2000 (antatt 2-årig smolt). Dersom giftepisoden også påvirket størrelsen på gytebestanden vil tidspunktet for reetablering av "normal" smoltproduksjon utsettes. Giftepisoden i 1997 var sannsynligvis medvirkende årsak til lav fangst av laksesmolt under el-fisket våren 1999.

Samlet vurdering

Basert på tilgjengelig data synes laksebestanden i Otra å være under reetablering. Det er usikkert om de vannkjemiske forbedringene er tilstrekkelig for normal smoltutvikling som vil være en forutsetning for reetablering av en livskraftig stedegen bestand. Giftepisoden i 1997 vil kunne innvirke på fangst av smolt også i 1999.

3.2 Inngrep, forurensning og tiltak i vassdraget¹

Inngrep i vassdraget av vesentlig karakter begynte seint på 1800-tallet ved etablering av Otterelvens papirfabrikk i 1873. Denne gikk konkurs, og Hunsfos fabrikk startet opp cellulose- papir- og tremasseproduksjon i 1886. Vigeland og Hunsfos kraftverk ble etablert i 1898 og 1899. Med dette kan en si at epoken med vannkraftutnyttelse og industri i Otra var satt i gang.

Vannkraft og reguleringer

Nomeland kraftverk kom i 1920, Iveland kraftverk i 1949 og Steinsfoss i 1957. Alle disse kraftverkene ligger i nedre del av elva. Iveland er lengst oppe (ca 35 km fra Kristiansand). Regulering av vassdraget begynte ved at konsesjon til regulering av Byglandsfjorden ble gitt i 1903 og igangsatt i 1911. Regulerings høyden ble satt til maksimalt 4 meter. I 1912 ble det gitt konsesjon til å regulere 5 meter, men denne regulerings høyden kunne ikke utnyttes før en ombygging av dammen ved Byglandsfjord ble gjennomført i 1972. Vassdraget ovenfor Byglandsfjorden er utbygd i stor skala fra ca 1960 og fram til i dag. Første byggetrinn i IS Øvre Otra var ferdig i 1964, 2. byggetrinn i 1977 og 3. byggetrinn i 1983. Siste utbygging var i forbindelse med Hekni kraftverk som ble igangkjørt høsten 1995. Totalt produserer Otra nå ca 4000 GWh pr år.

Utbyggingen har ført til endrede avrenningsforhold i vassdraget. Ved de første konsesjonene som ble gitt i forbindelse med utbyggingen av vassdraget var det ingen konkrete bestemmelser om minstevassføringer. Men ved konsesjonene i 1912 ble det sagt at "heller ikke må vassdragets naturlige lavvannføring forminskes til annen mands skade". Vassdragets naturlige lavvannføring var da 10 m³/sek ut fra Byglandsfjorden, og 16,5 m³/sek ved Vigeland. Seinere er minimums vannføring ut av Byglandsfjorden satt til 15 m³/sek. Ved ny konsesjon i 1974 ble det satt en minstevassføring på 50m³/sek ved Vigeland. Dette må betraktes som en klar forbedring med tanke på forurensning, sammenliknet med tidligere bestemmelser. Nye reguleringskonsesjoner er nå til behandling i NVE.

Opplysninger om reguleringer og minstevannføringer i Otra gitt av Rune Flateby, NVE-Oslo.

Opplysninger om utviklingen på Hunsfos Fabrikk er gitt av Ole Kr.Hodnemyr, Hunsfos Fabrikk – Vennesla.

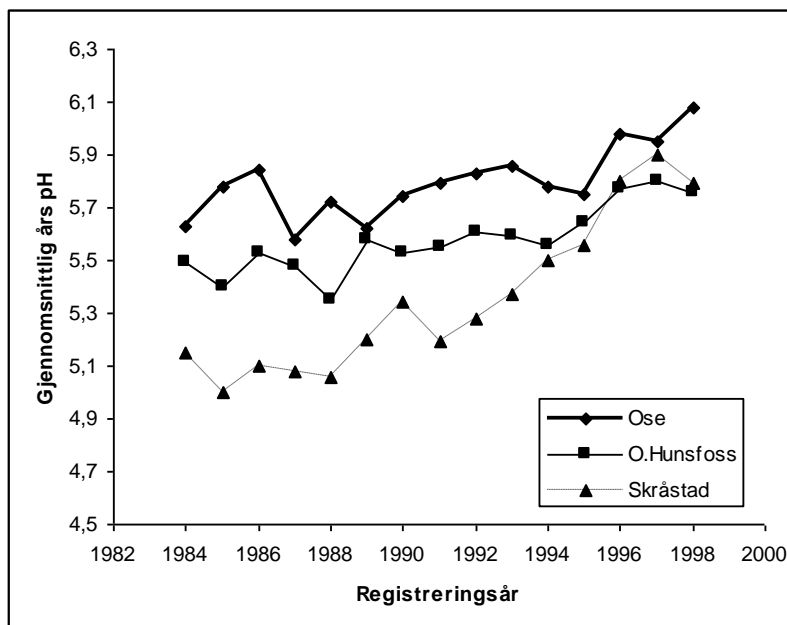
Industri

Industribedrifter som har hatt vesentlige utslipp til vann, og dermed hatt betydning for vannkvaliteten i vassdraget, finner vi først og fremst i Vennessla. Hunsfos fabrikker ble etablert i 1886 (overtok etter Otterelvans papirfabrikk fra 1873), og har vært i kontinuerlig drift fram til nå. Bedriften produserer ulike papirprodukter, og har stort sett hatt en økning i aktivitet og produksjon gjennom de over 100 år den har eksistert. Etter en storbrann i 1895 ble bare sliperiet oppbygd igjen. I 1913 hadde bedriften ca 170 ansatte, men så ble cellulosefabrikken etablert igjen i 1914-15, og i 1918 var tallet på ansatte økt til ca 375, og videre fram til 1940 ca 600 ansatte. Etter krigen (1948) ble det etablert et blekeri (klorforbindelser og stort syreforbruk). Det ble relativt raskt en dobling av antall ansatte til 1200 i 1957. I de senere år har tallet på ansatte gått tilbake, og var i 1985 ca 730. Størrelsen på utslippene er ikke dokumentert før forurensningsundersøkelser ble igangsatt på 60-tallet. Det er ikke usannsynlig at mengden utslipp har økt i takt med antall ansatte, men hvor vesentlige omlegginger i produksjonsprosessen har påvirket utslippets kvalitet og kvantitet.

I 1977 ble det første forurensningbegrensende tiltaket igangsatt. Det ble da etablert en kjemikaliegjenvinning som gjorde at utslippet til Otra gikk dramatisk ned. Fra 1980 ble det også innført oksygenbleking av papirmasse, og klor ble etter hvert mindre brukt. Fra 1993 var blekingen helt klorfri. Prosessen var da alkalisk. Fra 1995 ble industriavløpsledningen fra bedriftene tatt i bruk. Vannforbruket var likevel fortsatt så stort at bare 80% av avløpet fra Hunsfos fabrikker gikk i ledningen. Det ble derfor prioritert at de mest forurensende utslippene skulle slippes inn i ledningen. 1.mai 1999 ble cellulosefabrikken ved Hunsfos nedlagt. Dermed var det plass til alt avløpsvann i industriledningen. Men det viser seg likevel at kapasiteten i ledningen er noe variabel, slik at overløp og utslipp til elva fortsatt kan forekomme i kortere perioder.

Norsk Wallboard A/S ble etablert i 1949, og har i stor grad brukt skogsavfall (sagflis, bark, bordavkapp m.v.) som råstoff i sin plateproduksjon. Vigeland Metal Refinery er et aluminiumsverk som produserer aluminium med høy renhet. Det har eksistert siden 1908. Høye fabrikker driver ulike former for tøyproduksjon. Disse bedriftene har hatt moderate utslipp sammenliknet med Hunsfos fabrikker.

På oppdrag av Vassdragsrådet for Nedre Otra gjorde NIVA en utslippsundersøkelse ved Hunsfos Fabrikker og Norsk Wallboard i 1982. Tall fra denne undersøkelsen viser et totalutslipp på 16,7 tonn løste organiske forbindelser pr døgn, og et totalt tørrstoffutslipp på 52,7 tonn pr døgn. Det totale syreutslippet fra bedriftene ble beregnet til 105 kg ekv H^+ pr døgn, noe som tilsvarer ca 3,8 tonn ren saltsyre pr døgn. Syra var sammensatt vesentlig av saltsyre, eddiksyre og sure svovelforbindelser. I tillegg til syre fra fabrikkene er det også en stor tilførsel av syre fra vassdragets nedbørfelt, vesentlig forårsaket av sur nedbør. Figur 4 illustrerer variasjonen i pH i vassdraget fra 1984 og fram til nå. Som en ser var det en betydelig pH-senkning nedover i vassdraget fra Ose til Hunsfos på 80-tallet. Videre var det en kraftig senkning i pH fra Hunsfos til Skråstad. Den første senkningen skyldes vesentlig sur nedbør, mens den siste skyldes utslipp fra industrien.



Figur 4. Gjennomsnittlig pH-verdi for ulike måleår (1984-1998) ved Ose (representerer areal primært berørt av forsuring), oppstrøms Hunsfos Ose (representerer areal primært berørt av forsuring; restfelt mellom Ose og industripåvirket areal), og ved Skråstad (representerer areal berørt av både industriutslipp samt forsuring).

Kommunalt avløpsvann

Otra har også vært brukt over lang tid som resipient for kommunalt avløpsvann. Det er særlig nedre del av Otra som har vært sterkt belastet. I denne delen av vassdraget ble det i 1982 beregnet at 5 tonn fosfor og 25 tonn nitrogen ble sluppet ut på strekningen Vennesla-Stray. I perioden 1987-1990 ble det gjennomført en betydelig sanering av kloakkutslipp i Vennesla kommune. En avskjærende kloakkledning fra Mosby til Kristiansand ble satt i drift i 1988-89. Avløpet fra Høye fabrikker er også lagt inn her. Utslippene er nå begrensa så sterkt at de ikke kan registreres på de vanlige parameterne i overvåkningsundersøkelsen av Otra (Kaste m.fl.1999).

Samlet vurdering

Denne oversikten viser at reguleringer, industri- og kloakkforurensninger har påvirket elva i negativ retning siden før århundreskiftet. Bildet av de negative effektene er rotete og vanskelig å få oversikt over, og hvem som egentlig "har skylda" for den negative utviklinga av laksefangsten over tid kan være vanskelig å fastslå. Hovedbildet er imidlertid at industrien har påvirket vassdraget sterkt helt fra forrige århundre. Særlig er det grunn til å tro at syreutslippene har hatt økende omfang helt fra 1914-15 og fram til på 70-tallet da kjemikaliegjenvinningen på Hunsfos kom i gang. Fra midten av 70-tallet fikk en også etablert en minstevannføring på 50m³/sek ved Vigeland, noe som var en klar forbedring. Den siste store innvinningen på forurensningsområdet var etableringen av industriavløpsledningen i 1995. På 90-tallet har samtidig den sure nedbøren avtatt, og i 1999 er cellulosefabrikken ved Hunsfos nedlagt. Det avgjørende spørsmålet med hensyn til reetablering av laks er:

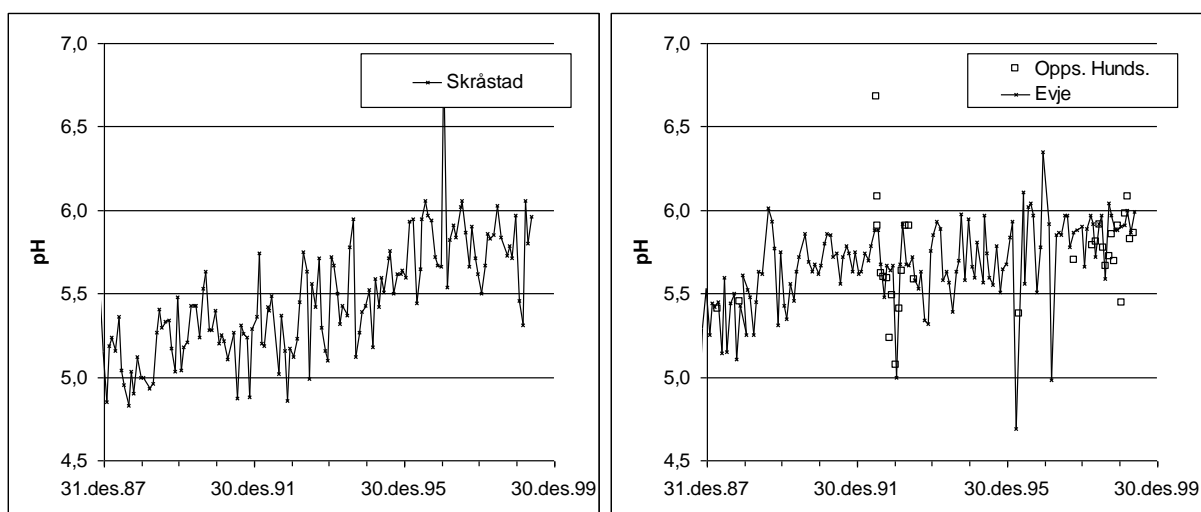
Er det utførte tiltakene tilstrekkelig?

3.3 Vannkjemiske endringer (overvåkingsprogrammet)

3.3.1 Endringer i pH og aluminium samt annen forsuringsrelevant kjemi (1988-1999)

pH

pH målt ved Skråstad økte gradvis fram til omkring 1995 hvorpå nivået stabiliserte seg omkring pH 5.5 til 6.0 (figur 5). pH målt på Evje var normalt lavere enn 5.5 i 1988/89. Med unntak av enkelte "forsuringsepisoder", var pH mellom 5.5 og 6.0 hele 90-tallet (figur 5). Det er likeledes tendenser til at de laveste pH-verdiene (5.5-5.6) forekommer mindre hyppig etter 1997 enn tidligere. Framtidige pH reduksjoner i forbindelse med "episoder" kan likevel ikke utelukkes. Vannprøver tatt på henholdsvis Evje og Skråstad tyder på en betydelig vannkjemisk forbedring, hvor forbedringen inntraff tidligere (fra ca. 1990) på Evje enn ved Skråstad (fra ca. 1996). Likeledes tyder vannprøver tatt oppstrøms Hunsfoss på at vassdraget tilføres surt vann mellom Evje og Vennesla.



Figur 5. Endring i pH målt ved Skråstad, oppstrøms Hunsfoss og ved Evje fra 1988 til 1999.

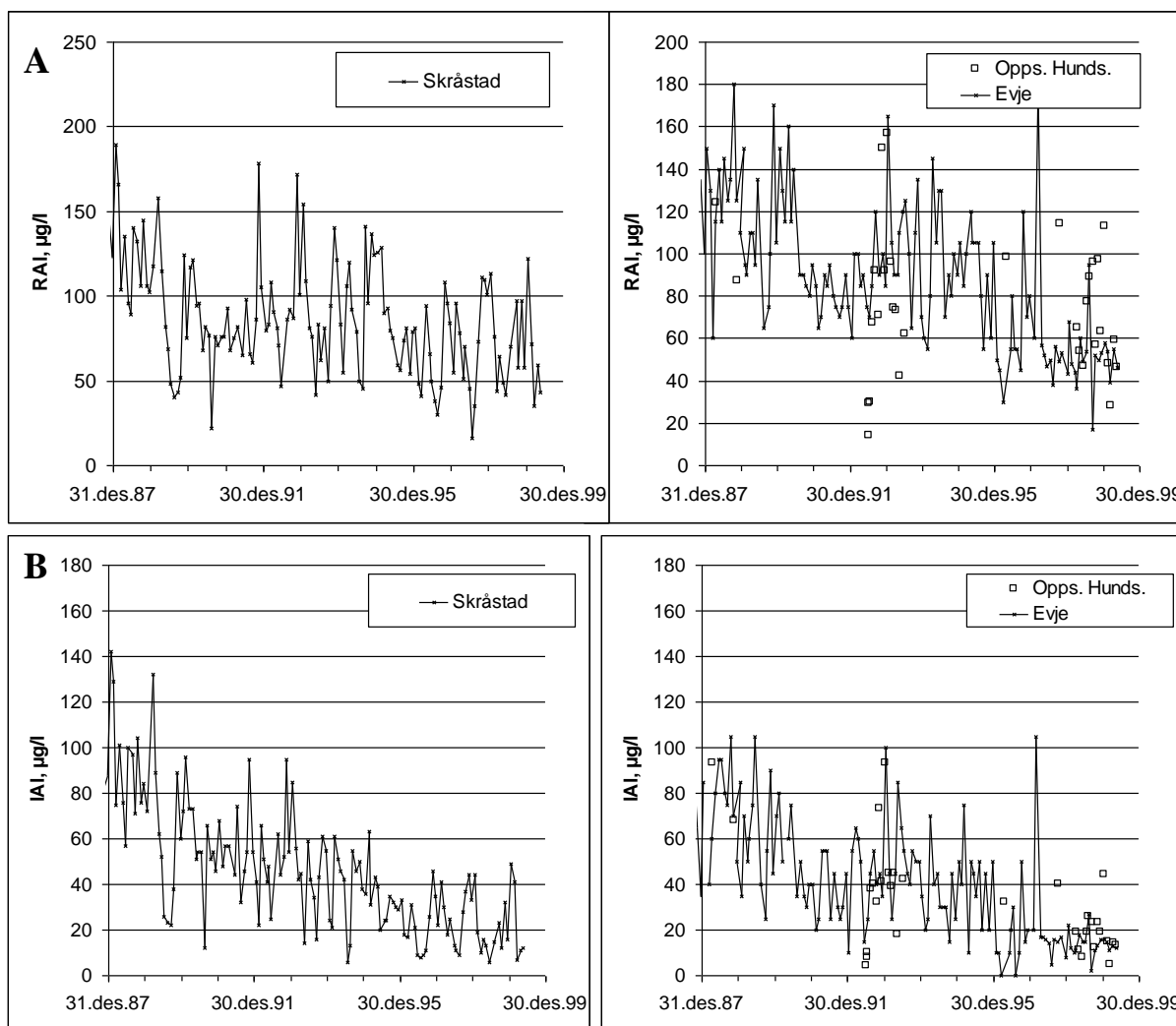
Aluminium

Aluminium vil foreligge på ulike tilstandsformer. LAI utgjør den giftige fraksjonen av aluminium. RAI inkluderer giftig Al samt Al bundet til organisk materiale. RAI og LAI konsentrasjonen har avtatt gradvis gjennom hele observasjonsperioden, både ved Skråstad og ved Evje (figur 6a og b). Sesongvariasjonen i LAI i 1996 til 1999 var betydelig større ved Skråstad enn ved Evje, og det måles tildels høye verdier ved Skråstad om vinteren. Endringene tyder på "større vannkjemisk forbedring" ved Evje enn ved Skråstad. Fra 1996 til 1999 er det knapt målt LAI høyere enn 20 $\mu\text{g Al/l}$ ved Evje, mens det foreligger mange målinger på 40 $\mu\text{g Al/l}$ fra Skråstad. Flere høye målinger av LAI ved Hunsfoss tyder på at vassdragsfeltet mellom Evje og Vennesla fortsatt er påvirket av forsurening og bidrar med aluminium.

Det er ikke undersøkt om aluminium som inngår i ulike prosesser ved industrien omkring Vennesla vil bidra med økning i LAI, ei heller økning i total Al. Giftutslippet sommeren 1997 ble f.eks. ikke fanget opp av overvåkingsprogrammet. Man må derfor vurdere resultatene i figur 6 som minimumsnivåer.

Økningen i pH synes å ha skjedd fra slutten av 80-tallet og frem til midten av 90-tallet. Frem til 1996 var pH-fall henimot 5.5 vanlig i hele vassdraget. I 1996 og senere har dette ikke forekommet. Denne endringen i pH gjenspeiles som en reduksjon i RAI (Figur 6a). På 80-tallet ble det ofte målt RAI-verdier på 120 $\mu\text{g Al/l}$ eller mer. Frem til 1996 avtok konsentrasjonen og verdier lavere enn 80 $\mu\text{g Al/l}$ ble påvist med tiltagende frekvens. Fra 1996 er det kun unntaksmessig målt høyere konsentrasjoner enn 80 $\mu\text{g Al/l}$ og 40-60 $\mu\text{g Al/l}$ var det normale konsentrasjonsområdet. Samtidig som det ble målt en reduksjon i RAI ble det målt en reduksjon i giftig, eller labilt Al (LAI). Inntil 1990 var konsentrasjoner

på 80 µg Al/l vanlig (Figur 6b). Fra 1990 til 1996 er det sjeldent målt høyere konsentrasjoner enn 50 µg Al/l og etter 1996 sjeldent mer enn 20 µg Al/l. Det er ikke mulig å fastsette om reduksjonen i RAl og LAI skyldes redusert tilførsel av Al til vassdraget (reduisert mobilisering av Al) eller om reduksjonen skyldes transformasjon av uorganiske monomere former (LAl) til organiske eller polymere former (ILAl) og eventuelt til kolloidale eller partikulære former (Alc). Dette kan avklares dersom total Al inkluderes i analysene. Det er vesentlig for fastsettelse av vannkvalitet om konsentrasjonen av LAI har avtatt som følge av redusert mobilisering av Al eller om avtaket skyldes transformasjon av giftig Al til ugiftige former.



Figur 6ab. Endring i a) reaktivt (RAI) og b) labilt (giftig) Al målt ved Skråstad, oppstrøms Hunsfoss og ved Evje fra 1988 til 1999.

Annen vannkjemi

Endringer i vannkjemien er behørig dokumentert i de ulike overvåkingsrapportene utarbeidet på Otra. Her presenterer vi kun gjennomsnittsverdier for perioden 1988 til 1991 samt 1994 til 1999 i tabell 3.

pH har økt ved Evje og Skråstad. Endringene har vært størst ved Skråstad. Basert på gjennomsnittsverdier (vist som pH og H^+) er det ingen tydelig forskjell mellom områdene etter 1994.

Reaktivt aluminium (RAI) har avtatt i takt med at pH har økt. Det er ingen tydelig forskjell mellom områdene basert på gjennomsnittsverdier fra 1994.

Ikke-labilt aluminium (ILAI) har avtatt ubetydelig ved Evje, men økt ved Skråstad. Det er ingen tydelig forskjell mellom områdene basert på gjennomsnittsverdier fra 1994.

Labilt aluminium (LAI) har avtatt i takt med at pH har økt. Endringene har vært størst ved Skråstad.

Total organisk karbon (TOC) er kun målt etter 1994. Konsentrasjonen øker fra Evje til Skråstad.

Kalsium (Ca) konsentrasjonen var uforandret på Skråstad mellom periodene. Konsentrasjonen øker fra Evje til Skråstad.

Alkalinitet har økt ved Skråstad. Det er ingen forskjell mellom områdene.

Sulfat (SO₄) konsentrasjonen ved Skråstad er halvert i løpet av observasjonsperioden. Konsentrasjonen er høyere ved Skråstad enn ved Evje.

ANC har økt markert ved Skråstad. Det er en tydelig økning mellom Evje og Skråstad.

Tabell 3. Gjennomsnitt konsentrasjon med standard avvik for ulike vannkjemiske komponenter for perioden 1988-1991 og for perioden etter 1994-1999 for målinger utført ved Skråstad, oppstrøms Hunsfoss og ved Evje fra 1988 til 1999.

		Evje	O .Hundsfoss	Skråstad
pH	før 1991	5.5±0.2		5.2±0.2
	fra 1994	5.8±0.3	5.8±0.2	5.7±0.3
H+	før 1991	3.6±1.6		7.8±4.9
	fra 1994	2.1±2.7	1.8±0.9	2.3±1.4
Reaktivt Al	RAI, µg/l			
	før 1991	112±30		101±37
	fra 1994	71±31	72±26	76±29
Ikke labilt Al	ILAI, µg/l			
	før 1991	52±15		30±13
	fra 1994	47±18	52±16	49±17
Labilt Al	LAI, µg/l			
	før 1991	59±23		71±29
	fra 1994	25±19	20±11	28±15
Total organisk karbon	TOC, mg/l			
	før 1991			
	fra 1994	1.8±0.5	2.5±0.8	2.6±0.7
Kalsium	Ca, mg/l			
	før 1991			1.0±0.2
	fra 1994	0.8±0.1	1.0±0.1	1.0±0.1
Alkalitet	Alk, µeq/l			
	før 1991			0.03±0.02
	fra 1994	0.04±0.00	0.04±0.00	0.04±0.01
Sulfat	SO₄, mg/l			
	før 1991			5.1±7.5
	fra 1994	1.8±0.4	2.0±0.3	2.7±0.6
Syreneutraliserende kapasitet	ANC, µeq/l			
	før 1991			1±17
	fra 1994	11±11	18±6	17±9

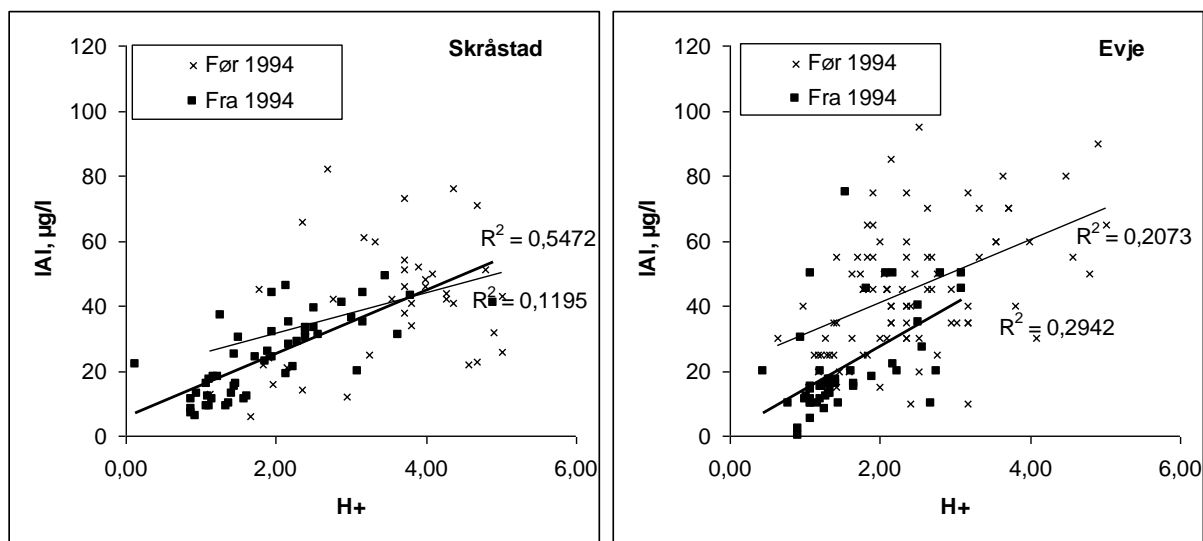
3.3.2 Sammenhengen mellom pH og aluminium

Etterhvert som tilførselen av sur nedbør avtar kan man "spekulere" i om enhver pH-episode (periode med lavere pH enn "normalt") fortsatt og i samme grad som før vil assosieres med en tilsvarende økning i giftig (LAI) aluminium. pH vil etterhvert som "sur nedbør" avtar fortsatt variere gjennom sesongen, blant annet som følge av snøsmelting med påfølgende stor tilførsel av ionefattig vann. Disse pH-fallene trenger ikke i fremtiden bli assosiert med økt mobilisering av Al som var det vanlige fenomenet observert under "forsuringsperioden". Dersom denne type endringer i forholdet mellom pH og Al finner sted vil vannets giftighet kunne avta på tross av at det ikke nødvendigvis registreres noen vesentlig økning eller endring i pH framover. Dersom denne hypotesen er riktig vil pH-verdiene målt

innen vassdraget etterhvert miste sin verdi som indikator på giftig vann. Ved evaluering av endring i vannkvalitet må kalsium og total organisk karbon (TOC) inkluderes som en medvariabel. Høy kalsium konsentrasjon vil virke beskyttende mot Al og derved redusere giftigheten til Al. Høy TOC bidrar til at LAI overestimeres.

Basert på sammenhengene mellom pH og LAI for tidsperioden 1988 til 1994 og fra 1994 til 1999 og begrenset til pH-verdier høyere enn 5.3 synes det ikke å være noen endring i pH - Al forholdet ved Skråstad, men det synes som at det har inntruffet endringer ved Evje. Dette kan skyldes at de vannkjemiske forandringene er større ved Evje enn ved Skråstad, samt at bidrag fra annen forurensning er mindre. Restfeltet mellom Evje og Skråstad mobiliserer Al som kan innvirke på vår evne til å påvise endringer i de nederste delene av vassdraget. Ved Evje synes spredningen i LAI konsentrasjon rundt en gitt pH verdi å være større før 1994 enn etter 1994, selv om enkeltmålinger fra 1994 fortsatt viser høye LAI konsentrasjoner. Likevel synes resultatet å antyde at det ved Evje etter 1994 ble målt lavere LAI konsentrasjoner ved en gitt pH-verdi enn det som ble målt i perioden forut. Begrenset til enkeltmålinger hvor pH er høyere enn 5.8 var gjennomsnittlig LAI 31 ± 13 (n=14) før 1994, og 17 ± 13 (n=37) etter 1994. Dette kan tolkes til å støtte hypotesen om at etterhvert som ”sur nedbør” avtar kan lav pH fortsatt forekomme, men lav pH vil ikke lengre i samme grad medføre tilførsel av giftig Al. Det måles ikke total Al i overvåkingsprogrammet. Dette forhindrer mulighetene til å studere endringer i mobilisering av Al. Total Al bør inkluderes i fremtidig overvåking.

Ettersom det er Al som er den giftige komponenten i surt vann kan endringene i pH-Al forhold innebære at vannkvaliteten gjennomgår en betydelig forbedring på tross av at pH fortsatt kan være på et nivå som tidligere indikerte tilstedeværelse av kritisk surt vann.



Figur 7. Målinger fra 1988 til 1994 og fra 1994 til 1999, avgrenset til kun å gjelde for pH-verdier høyere enn 5.3 målt ved henholdsvis Skråstad og ved Evje.

Samlet vurdering

Endringene i sulfat, pH, aluminium, alkalinitet og ANC målt ved Evje tyder på at forsøringsbelastningen har avtatt. Forskjellene i konsentrasjon av Al mellom Evje, oppstrøms Hunsfoss og Skråstad tyder på at vassdraget fortsatt tilføres surt Al-rikt vann oppstrøms Vennesla. Dette gjør at vannkvaliteten i anadrom strekning av Otra er mer variabel enn vannkvaliteten er høyere oppe i vassdraget. Endringene i vannkemi synes likevel å tyde på at mens 80-tallet var ”sur”, representerer tidlig 90-tallet en overgangsfase som foreløpig har kuliminert med mer stabile, og tildels betydelig forbedringer i vannkvaliteten etter 1995/96. Endringene i vannkvalitet kan ikke forklares med tiltak innen vassdraget da kalkingsvirksomheten innen vassdraget er meget sparsom.

Endringene som følge av tiltak rettet inn mot kloakk og industri har i tillegg hatt en vesentlig og avgjørende innvirkning på vannkvaliteten.

Mulige endringer i sammenhengene mellom pH og LAl ved Evje kan tyde på at vassdraget i fremtiden fortsatt kan ha "pH-episoder", men at disse episodene ikke lengre vil være "like giftige" som under forsuringsperioden. Endringene må sannsynligvis følges over 10 til 20 år før de kan fastslås med sikkerhet.

Enkelte konklusjoner på endringer i forsuringsrelatert vannkjemi synes klare:

- ◆ *Endringene i pH ved Evje sannsynliggjør forbedret vannkvalitet som følge av redusert sur nedbør.*
- ◆ *Endringene ved Skråstad kan tilskrives både redusert sur nedbør samt redusert tilførsel av syre fra industrien.*
- ◆ *Den generelle reduksjonen i LAl må tilskrives redusert sur nedbør med påfølgende redusert mobilisering av Al fra nedbørfeltet.*
- ◆ *I overvåkingsprogrammet analyseres det på to tilstandsformer av Al (RAL og ILAl), hvor LAl utgjør differansen mellom de to. Det er ikke analysert på total Al. Den påviste reduksjonen i RAl kan både skyldes redusert mobilisering av Al, men kan også skyldes transformasjon av RAl til kolloidal eller partikulært Al som følge av pH økningen. Inntil det foreligger målinger av total Al vil ikke dette kunne avklares. Spørsmålet er viktig for fastsettelse av vannkvalitet og for å kunne utføre gode vannkvalitetsevalueringer innen vassdraget.*

4. Resultat og diskusjon

Herunder presenteres resultat fra smoltundersøkelsen samt vannkjemi data fra overvåkingsprosjektet som er relevant for tolking av resultatet.

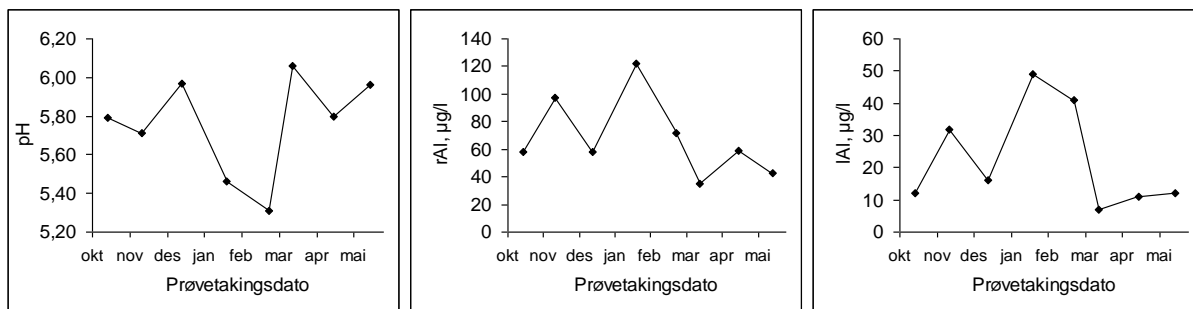
4.1 Vannkjemi

Vannprøvene ble i forbindelse med el-fisket og ved avslutning av eksponeringsperioden. I tillegg foreligger det data fra overvåkingsstasjoner i Otra, presentert tidligere i rapporten. Hver stasjon prøvetatt i forbindelse med denne undersøkelsen presenteres for seg.

Otra

I Otra (målt på stasjon oppstrøms Høyebekken; Mosby) økte pH i løpet av eksponeringsperioden (tabell 4). Denne økningen var assosiert med en betydelig økning i kalsium, TOC, turbiditet samt total Al (total Al). Økningen i total Al medførte ingen endring i LAI, og skyldes kun en økning i ILAI (Al bundet til humus) og Alc (partikulært eller kolloidalt Al). Økningen i total Al skyldes sannsynligvis tilførsel av mer turbid vann (partikkelholdig vann) samt mer humøst vann (økt TOC).

Vannprøver tatt på Skråstad fra oktober 1998 til mai 1999 viste en betydelig pH-reduksjon i januar/februar (figur 8). Perioden med lav pH falt som forventet sammen med perioden som hadde høy LAI (>40 µg Al/l). Vannprøver tatt under fiskeforsøksperioden faller rimelig bra sammen med målingene utført innen overvåkingsprogrammet.



Figur 8. Variasjon i pH, RAl og LAI målt ved Skråstad vinteren/våren 1998/99. Data stammer fra overvåkingsprosjektet i Otra (jamfør med figur 5 og 6 for tidsutvikling fra 1987).

Straisbekken.

Straisbekken var relativt turbid under el-fisket og hadde et moderat høyt TOC-innhold (tabell 4). Kalsium konsentrasjonen og pH var meget høy. Likeledes var total Al høy. Det meste av Al forelå på former som ikke betraktes som giftige for fisk (Alc og ILAI). Fra 1.mai til 12.mai avtok pH noe, og kalsium, turbiditet og TOC avtok betydelig. Det ble målt en reduksjon i total Al, mens LAI økte svakt. Mindre Al var bundet til TOC på dette tidspunktet. Likeledes forelå mindre Al på partikulær eller kolloidal form. Dette skyldes sannsynligvis lavere turbiditet.

Høyebekken

Høyebekken hadde vannkjemiske variasjoner tilsvarende de som ble registret i Straisbekken (tabell 4). Turbiditeten var noe lavere i Høyebekken og mindre Al forelå på partikulær eller kolloidal form, mens mer forelå på organisk form (bundet til humus). Konsentrasjonen giftig Al var noe høyere i Høyebekken enn i Straisbekken. Det foreligger pH-målinger fra 80-tallet i Høyebekken. På 80-tallet var bekken sur og hadde pH-verdier ofte lavere enn 5. Målinger utført i 1998 indikerte høy pH (6.1-6.7) og lave konsentrasjoner av giftig Al (<4 µg Al/l) (Kaste m.fl., 1999).

Lonanebekken

Endringene påvist i Straisbekken og Høyebekken fra 1.mai til 12.mai inntraff i mindre grad Lonanebekken (tabell 4). Turbiditeten var lav, mens kalsium og TOC var høy begge prøvedatoene. Konsentrasjonen av ILAI og LAI var lav, men innenfor konsentrasjonsnivået målt i de andre bekkene.

Tabell 4. pH, RAI og LAI målt i Otra oppstrøms samløpet med Høyebekken, samt i Høyebekken. Straisbekken og Lonanebekken i løpet av forsøksperioden.

	pH	Kond µS/cm	Turbi ditet	Tomg/ l	Total Al µg/l	Alc µg/l	RAI µg/l	ILAI µg/l	LAI µg/l	Ca mg/l
01.05.99 Otra (før samløp med Høyebekken)	6.09	1.47	0.43	1.8	107	58	49	33	16	0.97
12.05.99 Otra (før samløp med Høyebekken)	6.42	5.61	1.7	3.9	202	125	77	61	16	3.76
01.05.99 Straisbekken	6.55	7.4	1.2	2.8	143	94	49	43	6	5.26
12.05.99 Straisbekken	6.14	1.5	0.3	1.9	80	32	48	37	11	0.96
01.05.99 Høyebekken	6.26	4.65	0.46	3.1	171	83	88	77	11	2.1
12.05.99 Høyebekken	5.97	1.46	0.35	1.9	89	38	51	37	14	0.95
01.05.99 Lonanebekken	6.57	7.66	0.35	3	142	77	65	58	7	4.25
12.05.99 Lonanebekken	6.46	5.08	0.47	3.6	154	74	80	69	11	2.97

Konklusjon:

- ◆ pH var innenfor områder hvor pH i seg selv ikke er skadelig for laks.
- ◆ pH-nivået kan kamuflere mulig tilstedeværelse av giftig Al (som tilføres hovedelva mellom Vennesla og Evje) ved at Al transformeres til ILAI eller Alc. Kildene til Al og betydningen av disse bør kvantifiseres og evalueres.
- ◆ LAI konsentrasjonen var gjennomgående lav. Det ble påvist betydelige sesongvariasjoner, med tildels høye LAI-konsentrasjoner om vinteren. Konsentrasjonen var innenfor et område hvor det er påvist negative effekter på laksesmolt når TOC konsentrasjonen er lavere enn 1 mg/l. TOC. Laks vil "tåle" mer LAI i Otra enn laks i mer humusfattige vassdrag tåler.
- ◆ TOC konsentrasjonen i Otra vil innvirke beskyttende på fisken.

4.2 Fisketetthet

Forekomst av fisk slik det omtales her vil ikke være et mål på fiskestatus ettersom el-fisket ikke ble utført for å fastsette fisketetthet. På tross av dette vil man under el-fiske likevel kunne etablere en "følelse" av om forekomsten av fisk er innenfor en normal eller forskjellig fra en normal tetthet.

I samtlige bekker som ble el-fisket ble det påvist både laksesmolt og -yngel. I tillegg ble det innfanget en del ørret. Forekomsten av laks var lavere enn det som er forventet i et "upåvirket" vassdrag. Forekomsten av laksesmolt på Sone 5b (se figur 1; nedstrøms Vigeland) var betydelig lavere enn forventet. Det ble påvist en del yngel. Det ble også påvist flere yngel ved Haus, men ingen smolt. Fraværet av smolt i hovedelva kan enten skyldes at smolten hadde vandret ut av vassdraget, men også yngeldød i forbindelse med giftepisoden i 1997.

Konklusjon:

- ◆ Det er laks i vassdraget.
- ◆ Det ble registrert både yngel og smolt av både laks og aure.
- ◆ Forekomsten var noe mindre enn forventet for et "upåvirket" vassdrag.
- ◆ Det kan ikke utelukkes at smoltutvandringen hadde begynt før el-fisket ble utført. Lav forekomst av smolt kan også skyldes giftutslippet i 1997.

4.3 Belastningsforsøk

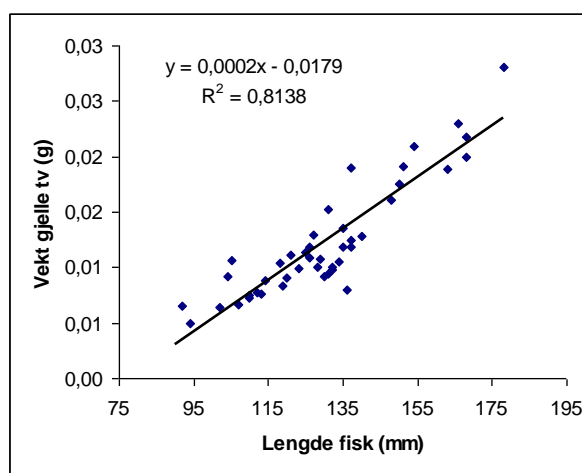
4.3.1 Gjelle-Al

Enkelte tilstandsformer av aluminium vil kunne binde seg til gjelle-slim og til gjellevev (som overflate-Al) for deretter å bli transportert inn i gjellevevet (intracellulært eller intraepitelt Al). Dersom fisken forflyttes fra en belastende til en mindre belastende vannkvalitet eller dersom vannkvaliteten forbedres vil gjelle-Al konsentrasjonen avta. Forekomsten av Al bundet til slim (mucus) vil avta før overflatebundet Al reduseres. Al i gjellevevet vil forsvinne sist.

Endringer i gjelle-Al konsentrasjon representerer en respons i forhold til vannkvaliteten. Al konsentrasjonen på gjellene vil samtidig kunne benyttes som et mål på "Al-dose" i forhold til andre fiskeresponser. Gjelle-Al presenteres i denne rapporten som en "fiskerespons", selv om den målte egenskapen like godt kunne presenteres som "dose" og være et mål på vannkvalitet. Ikke all Al forbundet med gjellene trenger å utøve like sterk negativ påvirkning. Al akkumulert i cellene (i inklusjoner) representerer tidligere belastninger, men trenger ikke lengre utøve noen egen gifteffekt fordi aluminium i inklusjoner sannsynligvis er inaktivisert. Al i cellene kan ha utøvd en stor gifteffekt før inaktivisering. Det er ikke nødvendigvis en entydig sammenheng mellom konsentrasjon (dose) og respons når gjelle-Al måles på villfisk. Dette skyldes ukjent forhistorie og usikkerheter forbundet med korrekt analysering av Al i ferskvann. Likeledes vil aluminium i form av leire mm kunne akkumuleres uten at denne kilden til aluminium utøver noen biologisk effekt.

Kvantitative analyser

Det forelå en klar sammenheng mellom gjellenes vekt og størrelsen (lengden) til fisken. Denne sammenhengen forventes dersom gjelleprøvene klippes ut "likt", og dersom det ikke forekommer innveingsfeil mm. Basert på sammenhengen presentert i figur 9 var det en god sammenheng mellom forskjeller i gjellevekt og forskjeller i fiskestørrelse. Det er således ingen grunn til å forkaste enkeltprøver.



Figur 9. Sammenhengen mellom fiskestørrelse (lengde) og gjellevekt for fisk fra Otra.

Det ble påvist en moderat gjelle-Al konsentrasjonen i Høyebekken og i Sone 5b under el-fisket (tabell 5). Fisk prøvetatt fra Lonanebekken hadde lave konsentrasjoner begge prøvetakingsdatoene. Det var ingen forskjell i konsentrasjon mellom laks og aure prøvetatt på samme stasjon. Spredningen innen en stasjon var normalt liten.

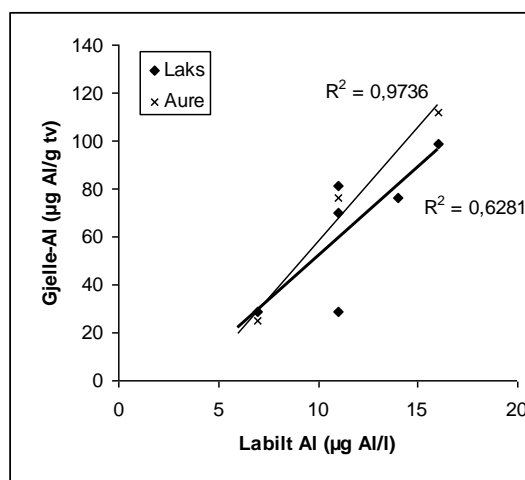
Fisk prøvetatt i bur plassert i Otra hadde fortsatt en moderat høy konsentrasjon ved avslutning av forsøket 12 dager senere (tabell 5). Overføring av fiske fra sidebekker til Otra resulterte derfor ikke i vesentlige endringer i gjelle-Al konsentrasjon. Både aure og laks prøvetatt på St.5b under el-fisket

hadde ubetydelig høyere konsentrasjoner gjelle-Al enn det som ble målt 2 uker senere på laks satt inn i bur i Otra.

Tabell 5. Gjelle-Al målt på fisk (laks og aure) og antall fisk prøvetatt (n=) etter el-fiske og etter eksponering i bur i nedre deler av Otravassdraget samt i sidebekker.

		n=	$\mu\text{g Al g}^{-1} \text{tv}$	n=	$\mu\text{g Al g}^{-1} \text{tv}$
			1.mai 1999		12.mai 1999
LAKS					
Høyebekken		5	81±11		
Bukkehornet	fra			6	76±13
Høyebekken					
Lonanbekken		6	29±23	6	29±7
Sone 5b		2	99±12		
Straisbekken				5	70±14
AURE					
Høyebekken		4	76±16		
Lonanbekken		6	25±13		
Sone 5b		5	112±14		

Konsentrasjonen av gjelle-Al kunne med et rimelig forklaringsnivå ($R^2 > 0.6$) forklares med de målte konsentrasjoner av LAI i vannprøvene tatt i løpet av observasjonsperioden. Dette styrker sannsynligheten for at Al konsentrasjonene målt på gjellene også representerte vannkvaliteten (konsentrasjonen av LAI) på de ulike lokalitetene. Gjelle-Al konsentrasjonen var samtidig innenfor det man kan forvente i forhold til LAI-konsentrasjonen basert på resultat fra renneforsøk utført i Logåna, Mandalsvassdraget (Kroglund upublisert), men lavere enn det som er påvist i tilsvarende studier i humus fattig vann (Kroglund m.fl., 1998a).



Figur 10. Sammenhengen mellom LAI og gjelle-Al hos laks og aure prøvetatt enten under el-fisket eller etter 12 dager eksponering i Otra.

Konklusjon:

- ◆ Det forelå en sammenheng mellom gjelle-Al og LAI.
- ◆ Det ble påvist lave til moderate forekomster av Al på gjellene.
- ◆ De påviste konsentrasjonene er i ulike fiskeforsøk assosiert med "negative" tilstandsforandringer hos laksesmolt.
- ◆ Dette innebærer at de målte konsentrasjonene kan forårsake uakseptable kvalitetsforringelser hos smolt. Konsentrasjonene var likevel innenfor et konsentrasjonsområde hvor det ikke nødvendigvis påvises "negative" effekter på gjellevev eller på fysiologiske parametre. Basert på referansemateriale fra Trønderlag kan aluminium akkumuleres på gjellene i humøst vann (brunfarget vann) samt i turbid vann (vann som inneholder mye partikler).

Kvalitative analyser

Det ble påvist Al lokalisert dypt i vevsstrukturen (tabell 6). Det ble ikke påvist overflatebundet Al. Forekomsten av Al var størst i Høyebekken (80% av prøvene hadde moderat forekomst av Al), minst i Lonanebekken (33% av prøvene hadde ingen funn av Al). Det ble påvist en reduksjon i forekomst i både Høyebekken og i Lonanebekken fra el-fisket til eksponeringsavslutningen. Det foreligger ikke måling på før-tilstand i Straisbekken. Resultatet kan tyde på at forekomsten av Al ble redusert over tid ved eksponering i Otra. Det foreligger ikke kunnskap om den økologiske betydningen av intraepitelialt Al. Overflatebundet Al forårsaker biologiske responser som kan lede til dødelighet.

Etter 12 døgn eksponering i Otra var forskjellene mellom de to stasjonene for små til at forskjellene kan ilegges avgjørende betydning.

Tabell 6. Prosentfordeling av Al-lokalisert i og på vevsoverflaten. Gruppeinndelingen er beskrevet i metodekapitlet.

LAKS	1.mai 1999 Under el-fisket					12.mai 1999 Etter eksponering i bur)				
	n=	Ikke påvist	Lite dyp	Moderat dyp	Overflate	n=	Ikke påvist	Lite dyp	Moderat dyp	Overflate
Høyebekken	5	0	20	80	0	6	33	67	0	0
Bukkehornet fra Høyebekken										
Lonanebekken	6	33	50	17	0	6	83	17	0	0
Sone 5b	2	0	100	0	0					
Straisbekken						5	0	80	20	0
AURE										
Høyebekken	4	0	0	100	0					
Lonanebekken	6	17	83	0	0					
Sone 5b	5	0	40	60	0					

Konklusjon

- ◆ Det ble påvist Al forbundet med gjellene både i de kvantitative og de kvalitative analysene.
- ◆ Det er antatt at Al lokalisert dypt i vev har sin opprinnelse i Al som opprinnelig var overflatebundet.
- ◆ Det er videre ukjent om Al i cellene er ufarlig (nåtilstand) eller om Al i cellene (opprinnelig) påvirket cellefunksjonen i en negativ retning, før inaktivisering og dannelse av inklusjoner.

4.3.2 Vevsforandringer i løpet av belastningsperioden

Det ble ikke registrert såkalte "normalgjeller", hverken i Otra eller i sidebekkene (tabell 7). Det ble heller ikke påvist gjeller med omfattende vevsforandringer (kategori D). De fleste gjellene ble evaluert til å tilhøre kategori B (små vevsforandringer), eller kategori C (moderate eller uttalte forandringer). Eksempler på gjellevev fra fisk prøvetatt innen vassdraget er vist i figur 11.

Det foreligger ikke mulighet å fastsette hvorvidt en gjelle tilhørende kategori B er "skadet" eller ikke. Vevsforandringene er for små i forhold til normalt tilstand. Vi oppfatter vevsforandringene tilhørende kategori "C" å indikere mulig skade, mens gjellevev kategorisert som B tolkes som akseptabel tilstand. Hypertrofi av cellevev (kategori B) kan representere en tilpasning eller forsvarsmekanisme som har til hensikt å redusere ionetapet fra blodet. Samtidig medfører denne endringen økt avstand mellom vann (i vannet) og blod (i gjellene) som påvirker oksygenopptak. Dette siste kan være negativt dersom fisken må utøve stor aktivitet (flukt, forsering av fosser mm). Endringer forårsaket av en "tilpasning" tyder på at det vannkjemiske miljøet ikke er optimalt.

Basert på tilsvarende analyser utført på villfisk innsamlet i Audna (Vest-Agder), Vosso (Hordaland) og Daleelva (Sogn og Fjordane) var det en sammenheng mellom vevskategori og Al konsentrasjon på gjellene. Tilsvarende er gjort i tabell 8. Selv om det er påvist sammenhenger mellom Al konsentrasjon

på gjeller og vevsforandringer i andre undersøkelser er ikke Al eneste årsak til at vevsforandringer kan oppstå. Det forelå ingen systematisk forskjell innen Otravassdraget.

Det ble også påvist noen mikrosporidie-lignende strukturer spredt mellom sekundærlamellene. Funnene tyder på forekomst av parasitter innen vassdraget.

Tabell 7. Histopatologisk klassifisering av gjelleprøver til tilstandskategori A-D. Antall undersøkte gjeller er angitt som n=.

LAKS	VEVSKATEGORI	1.mai 1999				12.mai 1999					
		n=	A	B	C	D	n=	A	B	C	D
Høyebekken	fra	5	0	60	40	0	6	0	33	67	0
Bukkehornet											
Høyebekken											
Lonanebekken		6	0	67	33	0					
Sone 5b		2	0	50	50	0					
Straisbekken	5	0	80	20	0						
AURE											
Høyebekken		4	0	25	75	0					
Lonanebekken		6	0	50	50	0					
Sone 5b		5	0	60	40	0					

Tabell 8. Sammenstilling av kvantitativt målt Al fra fiskegjeller ($\mu\text{g Al/g tv}$), forekomst av Al basert på fargemetoder og vevstilstand

	Kvantitativt målt Al	Mengde Al i og på gjellene fastsatt ved histologiske metoder	Vevstilstand kategori
Høyebekken	81 \pm 11	Moderat - lite	BC
Bukkehornet fra Høyebekken	76 \pm 13	Lite – ikke påvist	CB
Lonanebekken	29 \pm 23	Ikke påvist - lite	BC
Lonanebekken	29 \pm 7	Ikke påvist - lite	BC
Sone 5b	99 \pm 12	Lite	BC
Straisbekken	70 \pm 14	Lite - moderat	BC

Konklusjon

- ◆ Det foreligger ikke et objektivt grunnlag for å definere kategori B som "skadd". Kategori B-gjeller aksepteres derfor som normal på tross av at denne type vevsforandring ofte skyldes en tilpasning. Tilpasninger tyder på at fisken har reagert på vannkvaliteten i vassdraget.
- ◆ Påvisning av kategori C kan tyde på tilstedeværelse av miljørelatert "stress" som påvirker gjellestrukturen i en negativ retning.
 - ◆ Dette "stresset" kan være relatert til:
 - ◆ Vannkvalitet (påvisning av Al; kvantitativ og kvalitativ analysemetode)
 - ◆ Parasitter

Årsak til vevsforandringene bør avklares da dette kan innvirke på reetablering av laks.

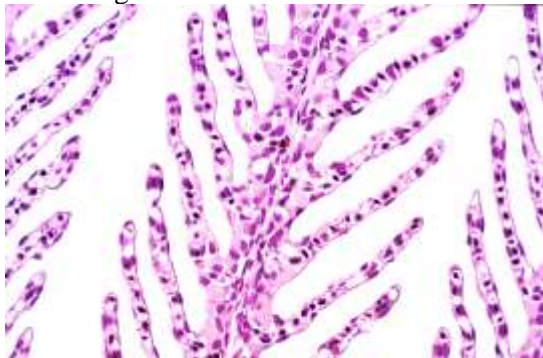
Kategori B gjeller

Laks - 99/f/1941

Otra; **Lonanebekken**; El-fiske

Lite dyp Al; 19 μg Al/g tv

Vevskategori: **B**

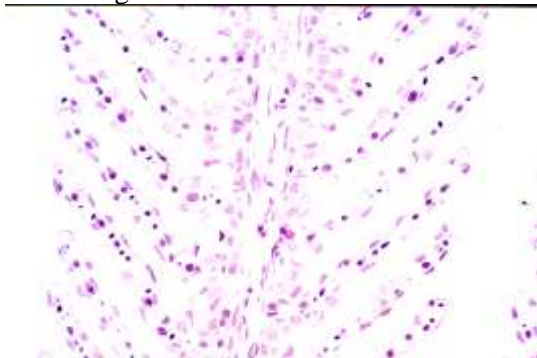


Laks - 99/f/1929

Otra; **Høyebekken**; El-fiske

Lite, dyp Al; 75 μg Al/g tv

Vevskategori: **B**

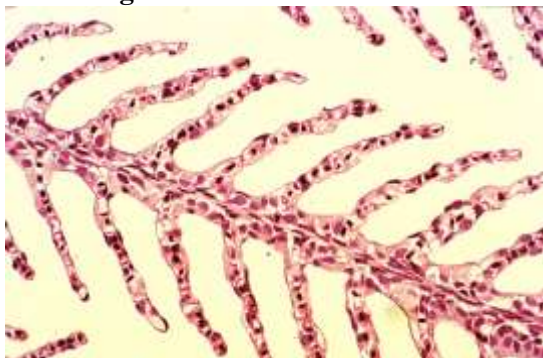


Laks - 99/f/1960

Otra; **Lonanebekken**; Bur 12 dager

Ingen Al; 26 μg Al/g tv

Vevskategori: **B**

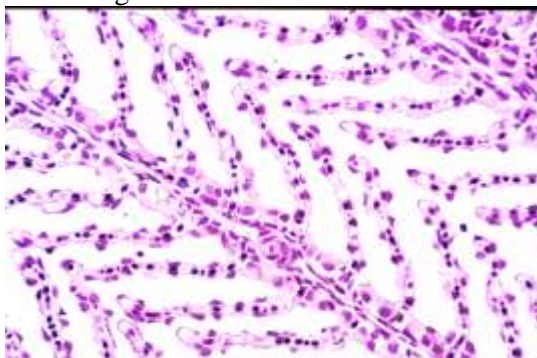


Laks - 99/f/1931

Otra; **Lonanebekken**; El-fiske

Ingen Al; 23 μg Al/g tv

Vevskategori: **B**

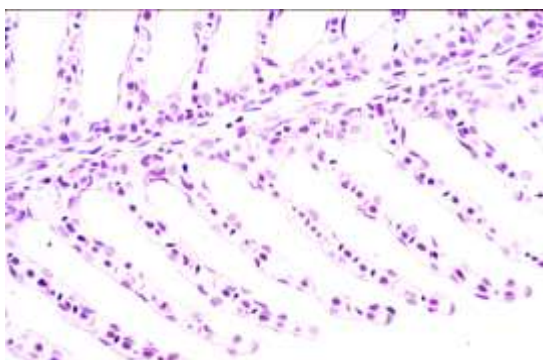


Laks - 99/f/1936

Otra; **Lonanebekken**; El-fiske

Lite dyp Al; 31 μg Al/g tv

Vevskategori: **B**



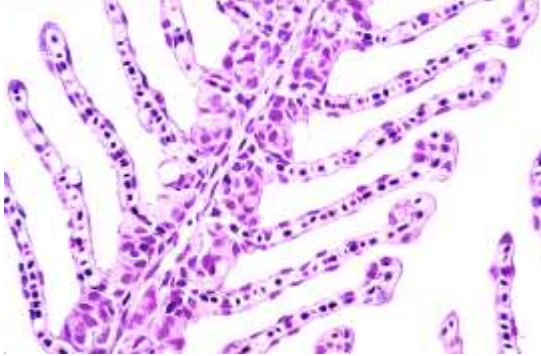
Kategori C gjeller

Laks - 99/f/1945

Otra; Sone 5b; El-fiske

Lite dyp Al; 91 µg Al/g tv

Vevskategori: C

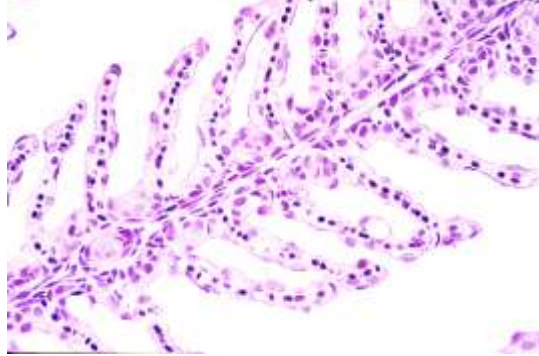


Aure: 99/f/1921

Otra; Høyebekken; El-fiske

Moderat dyp Al; 83 µg Al/g tv

Vevskategori: C

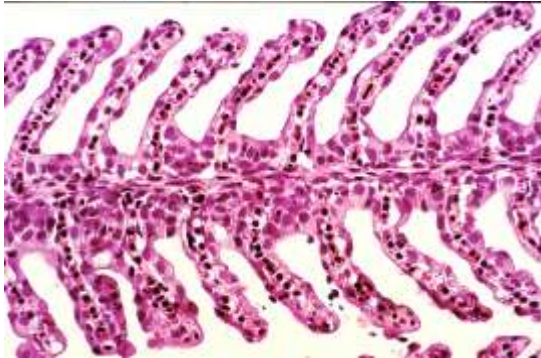


Laks - 99/f/1954

Otra; Høyebekken; Bur 12 dager

Ingen Al; 60 µg Al/g tv

Vevskategori: C



Figur 11. Eksempler på gjellekategori B og C fra prøver innsamlet på ulike steder innen Otra vassdraget i forbindelse med el-fisket eller etter 12 dager eksponering i bur. Evalueringsgrunnlaget er gitt i vedlegg A. Prøvetakingssted, dato, vevskategori og gjelle-Al konsentrasjon er gitt for hvert bilde.

4.3.3 Dødelighet i løpet av belastningsperioden

Det var ingen dødelighet i eksponeringsburene. Det ble ikke innrapportert funn av død fisk i undersøkelsesperioden.

Konklusjon

- ♦ *Vannkvaliteten i prøvetakingsperioden var ikke dødelig.*

4.3.4 Fysiologisk tilstand

Basert på målinger av plasma klorid, hematokritt og glukose var det ingen tegn til fysiologiske forstyrrelser hos fisken. Den variasjonen som likevel ble observert (ikke-signifikant) kan ikke forklares på bakgrunn av de vannkjemiske målingene og skyldes sannsynligvis tilfeldig variasjon.

Tabell 9. Konsentrasjon av plasmaklorid (mM), hematokritt (Hct), glukose (mM) og antall fisk prøvetatt (n=) etter el-fiske og etter eksponering i bur.

	n=	Plasma- klorid mM	Hct %	Glukose mM	n=	Plasma- klorid mM	Hct %	Glukose mM
	Etter el-fiske				Etter bureksponering			
LAKS								
Høyebekken	5	136.5±2.9	34.0±0.8	3.7±0.1				
Otra fra Høyebekken					6	134.7±4.1	37.4±3.7	3.1±0.2
Lonanebekken	6	129.3±7.8	36.3±2.9	3.8±0.9	6	129.7±10.3	42.2±7.8	5.0±2.9
Sone 5b	2	134.0±4.2	32.5±3.5	4.3±1.1				
Straisbekken					5	134.2±1.3	38.0±3.2	3.4±0.6
AURE								
Høyebekken		137.5±1.7	31.5±3.1	4.1±0.8				
Lonanebekken		135.7±3.1	34.8±3.7	5.3±2.1				
Sone 5b		134.2±2.6	38.0±3.8	3.7±0.4				

Konklusjon:

- ♦ *Basert på de fysiologiske parametrene var fiskens fysiologiske status i ferskvann normal.*

4.3.5 Sjøvannstester (dødelighet og blodparametre) i løpet av belastningsperioden

Det ble kun utført sjøvannstester på fisk fra eksponeringsburene plassert i Otra. Fisken stammet fra Straisbekken og Høyebekken. En stor andel av fisken fra Straisbekken var imidlertid mindre enn 11 cm (tabell 10) og ble derfor ikke definert som smolt.

I sjøvannstestene døde 38% av fisken mindre enn 11 cm. Overlevende fisk fra denne størrelseskategorien hadde tydelig forhøyet plasma klorid konsentrasjon (196mM), mens hematokritt nivået var normalt. Fisk fra samme lokalitet, men som var større enn 11 cm hadde ingen dødelighet, plasma klorid på 170mM og normal hematokritt. Tilsvarende verdier fra Høyebekken viste ingen dødelighet, 149mM i plasmaklorid og normal hematokritt. Basert på disse observasjonene var det tydelig en størrelseskomponent i sjøvannstoleransen (fisk mindre enn 11 cm var ikke saltvannstolerant) samt en lokalitetskomponent (fisk fra Høyebekken var mer saltvannstolerant enn fisk fra Straisbekken).

Innen oppdrettsnæringen benyttes ofte et plasmaklorid nivå på 150 µM etter 24 timer test i sjøvann som grense for fullt smoltifisert laks (Hansen, 1998). Fisken fra Høyebekken hadde normal plasmaklorid (149mM) og differansen mellom plasmaklorid målt i ferskvann og i saltvannstesten var på 15 mM. Dette er innefor kriteriene benyttet til karakterisering av smolt som ”god smolt” innen oppdrettsnæringen.

Basert på morfologiske kriterier var fisk fra Høyebekken mer smoltifisert enn den store fisken fra Straisbekken. Denne forskjellen kan derfor muligens gi en delvis forklaring på forskjellene i saltvannstoleranse, uten at vannkjemiske årsaker kan ekskluderes.

Tabell 10. Smoltstatus (smolt), lengde og vekt, dødelighet, konsentrasjon av plasmaklorid og hematokritt (Hct) og antall fisk prøvetatt (n=) i sjøvannstester foretatt etter eksponering i bur. Differansen i plasmaklorid mellom prøver tatt i ferskvann og etter sjøvannstesten er angitt. Resultatet er angitt for fisk større enn 11 cm og for fisk mindre enn 11 cm.

Lokalitet	n=	Smolt grad	Lengde cm	Vekt g	Død %	Hct	Sjøvann Plasma- klorid (mM)	Ferskvann Plasma- klorid (mM)	Differanse mellom plasmaklorid i sjøvann og i ferskvann mM
Straisbekken <11	8	1.2±0.3	9.9±0.6	7.6±1.7	38	30.6±2.3	195.7±23.2	134.7±4.1	61
Straisbekken >11	5	1.7±0.4	12.3±1.3	15.1±5.4	0	32.8±6.1	170.3±19.6	134.7±4.1	36
Høyebekken >11	14	2.4±0.3	13.1±1.0		0	33.0±4.2	149.2±11.1	134.2±1.3	15

Konklusjon:

- ◆ Etter 12 dager eksponering i Otra var smolt fra Straisbekken etter 24 timer sjøvannstest moderat sjøvannstolerant mens fisk fra Høyebekken var sjøvannstolerant.
- ◆ Det ble påvist størrelsesforskjeller i saltvannstoleranse.
- ◆ Forskjellene i sjøvannstoleranse samsvarte med forskjeller i morfologiske karakterer (smoltstatus).
- ◆ Forskjellene i sjøvannstoleranse mellom de to gruppene kan skyldes forskjeller i fiskens forhistorie med hensyn til vanntemperatur, næringstilgang (faktorer som innvirker på vekst), men kan også være relatert til forskjeller i vannkvalitet både på oppvekststedet forut for fangst og på eksponeringsstedet i Otra..

5. Sluttkonklusjon

Det er skrevet konklusjoner etter hvert deltema i resultatkapitlet. Som en samlet vurdering basert på overvåkingsprogrammet synes Otra å ha gjennomgått en betydelig vannkjemisk forbedring i løpet av de siste 5-årene. Denne forbedringen kan måles som økt pH og redusert mengde giftig aluminium i vassdraget. Det vil fortsatt kunne forekomme episoder med lav pH og høy konsentrasjon giftig aluminium. Betydningen av disse for reetablering av laks er imidlertid uklare.

Smolt eksponert 12 døgn i Otra hadde normal fysiologisk status. Gjellene tydet på at vannkvaliteten fortsatt var "irriterende" ved at det ble påvist moderate til uttalte vevsforandringer (kategori B og C). Denne type vevsforandringene kan tyde på at fisken utøver en tilpasning for å motvirke en fortsatt "ikke ideell" vannkvalitet. De påviste vevsendringene registreres ofte som et mottiltak for å reetablere og opprettholde normal blodkjemisk status i moderat belastende vann. Vannkvaliteten i Otra påvirker ikke sjøvannstoleransen i negativ. Selv moderat høye aluminiumkonsentrasjoner i og på gjellene (50-80µg Al/g tv) innvirker ikke negativt på sjøvannstoleransen basert på smoltundersøkelser utført i Otra i motsetning til det som normalt har blitt observert i forsøk. De biologiske prøvene kan tolkes som at fisken utsettes for en ikke ideell vannkvalitet i løpet av vinterperioden som forårsaker akkumulering av aluminium i og på gjellene samt gjellevevsforandringer som forsvarsmekanisme. Forbedringer i vannkjemien i løpet av ettervinteren tillater reetablering av normal smoltstatus og -kvalitet, mens den vannkjemiske forbedringen ikke tillot vevsrestitusjon. Vannkvaliteten i Otra kan som sådan ikke betraktes som stabilt god. Årsaken til vevsforandringer forklares best med mobilisering av Al innen vassdraget ettersom det ikke er andre kjente utslipp som både påvirker både Høyebekken, Lonanebekken samt Otra.

Basert på funnene må det konkluderes med at vannkvaliteten i Otra våren 1999 var akseptabel for laksesmolt. Det foreligger i dag således et godt grunnlag for reetablering av laks i Otra. Reetableringen kan fortsatt motvirkes gjennom framtidige forurensningsepisoder og industriutslipp. Hyppigere kontroll av vannkvaliteten kan fange opp episoder som i dag forblir uregistrert. Montering av en pH-logger vil forbedre mulighetene til å fange opp episoder. Måling av total Al bør igangsettes for å følge videre forurensningsutvikling.

Anbefalinger

- ◆ Det hadde vært ønskelig med pH-logging av vannkvaliteten i hovedløpet for å følge tidsvariasjon/forekomst av episoder i vassdraget. Forekomst av episoder i sidevassdrag bør også undersøkes.
- ◆ Det hadde vært ønskelig med fiskeundersøkelser (bestandsutvikling og kvalitet) på flere tidspunkt gjennom sesongen.
- ◆ Vassdraget er faglig interessant ettersom dette er et av de beste eksemplene vi har på reetablering av en laksebestand etter iverksettelse av forurensningsbegrensende tiltak samt etter redusert sur nedbør. I denne sammenheng er det viktig at Otra ikke er kalket.
- ◆ Selv om Otra ikke er kalket, kan det være strategisk lurt å påvise kildene til aluminium lokalisert mellom Evje og Vennesla og vurdere i hvilken grad disse kan forsinke reetablering av en stedegen laksebestand.

6. Referanser

- Bjerknes, V., B. Barlaup, S. E. Garbrielsen, A. Hindar, E. Kleiven, A. Kvellestad, G. G. Raddum, A. Skiple og Å. Åtland. 1998. Undersøkelse av vassdrag med anadrome fiskebestander i Sogn og Fjordane. NIVA-rapport 3950-98. 138 s.
- Bulger, A. J., L. Lien, B. J. Cosby og A. Henriksen. 1993. Brown trout (*Salmo trutta*) status and chemistry from the Norwegian Thousand Lake survey: statistical analysis. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 50: 575-585.
- Culling, C. F. A., R. T. Allison, R.T og W.T Barr. 1985. *Cellular Pathology Technique*. 4th ed. Butterworths.
- Denton, J., A. J. Freemont og J. Ball. 1984. Detection and distribution of aluminium in bone. - *J. Clin. Path.* 37: 136-142.
- Exley, C. og J. D. Birchall. 1992. The cellular toxicity of aluminium. *J. Theor. Biol.* Vol 159, 1992, 83-98.
- Hansen, T. 1998. Oppdrett av laksesmolt. Landbruksforlaget, ISBN: 82-529-1722-4; 232 s.
- Heath, A.G. 1995. *Water pollution and fish physiology*. Lewis publishers, ISBN: 0-87371-632-9; 359 s.
- Heggberget, T., M. Staurnes, R. Strand og J. Husby. 1992. Smoltifisering hos laksefisk. NINA Forskningsrapport 31. 42 sider.
- Kaste, Ø., A. Lande, B.M. Larsen, K.J. Aanes, og P.A. Åsen. 1999. Tiltaksorientert overvåking av Otra i 1998. NIVA-rapport 4057-99. 58 s.
- Kroglund F, B. Finstad, A. Kvellestad, B.M. Larsen og B.O. Rosseland. 1996. Fastsettelse av forsuringsnivå i ulike Vestlandsvassdrag basert på økofysiologiske og økotoksikologiske metoder. DN-notat ikke trykt.
- 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. og M. Staurnes. 1999. Water quality requirements of smolting Atlantic salmon (*Salmo salar*) in limed acid rivers. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 56/11. 2078-2086.
- Kroglund, F., B. Finstad, B.O. Rosseland, H.C. Teien, J. Håvardstun, B. Salbu. 1998b. Fisk og vannkjemisk status i Suldalslågen, våren 1996. NIVA-rapport 3863-98. 64 sider.
- Kroglund, F., H.C. Teien, B.O. Rosseland, E. Lucassen, B. Salbu og Å. Åtland. 1998a. Endring i aluminiumsgiftighet i en humus-fattig elv ved bruk av kjemiske tiltak. NIVA-rapport 3970-98. 102 sider.
- Kvellestad, A. og B.M. Larsen. 1999. Histologisk undersøkelse av gjeller fra fisk som del av overvåking av ungfiskebestander i lakseførende vassdrag. NINA-fagrapport 36. 76 s.
- Lacroix, G.L. 1987. Fish community structure in relation to acidity in three Nova Scotia rivers. *Can. J. Zool.* 65:2908-2915.
- Peterson, R.H., R. A. Bourbonniere, G. L. Lacroix, D. J. Martin Robichaud, P. Takats and G. Brun. Responses of Atlantic salmon (*Salmo salar*) alevins to dissolved organic carbon and dissolved aluminum at low pH. *Water. Air. Soil Pollut.* 46: 399-413, 1989.
- Rosseland, B.O. 1999. Villaks og forsurening – kunnskapsstatus. Foredrag ved villaksseminaret i Lærdal 29. og 30. mai, 1999. (vil foreligge i kompendium fra seminaret).

- Rosseland, B.O. og M. Staurnes. 1994. Physiological mechanisms for toxic effects and resistance to acidic water: an ecophysiological and ecotoxicological approach. In: Steinberg, C.E.W og Wright, R.F. (eds). *Acidification of Freshwater Ecosystems: Implications for the Future*. John Wiley og Sons Ltd: 228-246.
- 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.
- Staurnes, M., L. P. Hansen, K. Fugelli, og Ø. Haraldstad. 1996. Short-term exposure to acid water impairs osmoregulation, seawater tolerance, and subsequent marine survival of smolts of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* vol 53
- Staurnes, M., P. Blix og O.B. Reite. 1993a. Effects of acid water and aluminium on parr-smolt transformation and sea water tolerance in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1816-1827.
- Staurnes, M., G. Lysfjord, L.P. Hansen og T.G. Heggberget. 1993b. Recapture rates of hatchery-reared Atlantic salmon (*Salmo salar*) related to smolt development and time of release. *Aquaculture*, 118: 327-337.
- Aanes, K.J. og E. Lydersen, 1997. Konsekvens utredning laksedød Otra. NIVA-rapport 3806-98. 86 sider.

Vedlegg A. Vannkjemiske analyser

Det ble tatt vannprøver 1.mai samt 12.mai 1999 i forbindelse med fiske eksponeringene. Prøvene ble analysert ved NIVA's laboratorium i Oslo. I tillegg foreligger det vannprøver innsamlet under det vannkjemiske overvåkingsprosjektet som utføres i Otra (Kaste m.fl., 1999).

I overvåkingsprogrammet inngår ikke total aluminium. Denne parameteren er inkludert i denne undersøkelsen og bør inkluderes i overvåkingsprogrammet. Ved å følge total konsentrasjonen av Al i vassdraget er det mulig å fastsette hvorvidt Al fortsatt mobiliseres innen vassdraget og i hvilken grad Al mobiliseres på giftige tilstandsformer. Dette er viktig for å kunne evaluere tilstedeværelse eller fravær av giftige former av aluminium.

Vedlegg B. Fiskebiologiske prøvetakings- og analysemetoder

Tidsforbruk, fisk

El-fisket:

Fisken var normalt prøvetatt 1 til 2 minutter etter å ha blitt el-fisket.

Eksponeeringsbur:

Fisken var plassert i eksponeeringsbur på fangststedet normalt innen 5 minutter etter el-fiske. Hele el-fisket var normalt avsluttet innen 2 timer. Overføring av fisken fra fangststed til eksponeeringssted i Otra tok mindre enn 15 minutter. Hele fangsten og overføringen vil innebære en moderat håndteringsstress som under normale vannkjemiske forhold skal ha ingen til liten betydning for fysiologisk og histologisk status fastlagt 12 døgn senere.

Prøvetaking av fisk eksponert i bur var normalt avsluttet innen 8-12 minutter etter innfangning. Fisken ble under prøvetakingsperioden holdt i en bøtte med vann under konstant lufting. Vann ble skiftet mellom hver gruppe og fisken ble kun oppbevart i vann fra samme lokalitet som fisken var eksponert til. Denne prosedyren er nødvendig for å unngå kryss-kontaminering av prøvene. Kjemisk bedøvelse av fisken forut for prøvetaking er uakseptabelt i denne type forsøk ettersom bedøvelsesmidlet kan innvirke på vannkjemien som igjen kan påvirke tilstedeværelse av blant annet aluminium på gjellene. Variasjon i tilført mengde bedøvelsesveske mellom ulike kar kan dessuten påvirke de histopatologiske responsnivåene.

Fysiologiske prøver

Fisken ble forut for prøvetaking bedøvd med et lett slag (knipsing) mot hodet. Samtlige fisk ble veid til nærmeste tidels gram og lengdemålt (maksimal lengde naturlig utlagt) til nærmeste mm. Blodprøvene ble tatt fra kaudalårene med hepariniserte sprøyter og overført til eppendorf rør og sentrifugert ved 11000 rpm i 3.5 minutt. Plasma andelen av blodprøven ble deretter overført til et 0.5 ml eppendorf rør og frosset ned for senere analyse. Hematokritt ble fastsatt direkte etter sentrifugering (Compur M 1100 mikrosentrifuge) i felt. Glukose ble analysert på helblod ved bruk av blod glukose elektroder (Medisense) i felt.

Blodplasmaklorid konsentrasjon (plasma Cl) ble bestemt på en Radiometer CMT-10 klorid-titrator etter opptining. Før analyse ble prøvene sentrifugert i 30 sekunder og deretter ristet i 15 sekunder i en vibrator for å hindre feilanalyse på grunn av utfrysing av klorid fra prøven. Denne fremgangsmåten har vist seg å redusere måleavviket mellom 10 påfølgende prøver til under ± 2 mM. Uten denne prosedyren kan spredningen innen en prøve være på inntil ± 20 mM, med ca 5 mM i gjennomsnitt.

Metallkonsentrasjon

Andre gjellebue på fiskens høyre side ble dissekert ut og lagt på forhåndsinnveide syrevaskede telleglass for bestemmelse av total aluminiumkonsentrasjon ved LAK/IKB. Gjellen ble frosset ned i felt og transportert til laboratoriet i frosset tilstand. Ved laboratoriet ble hver prøve frysetørket og veid, før de ble oppløst i 10% HNO₃. Oppløstede gjeller ble målt for aluminium ved bruk av ICP. Resultatet angir konsentrasjon av aluminium (mg Al/L) pr. g gjelle tørrvekt. Et lite antall prøver ble samtidig analysert for jern, kalsium og silikat.

Histologisk undersøkelse av gjeller:

Gjellene klippes ut umiddelbart etter prøvetaking av blod. Dersom det ikke blir tatt blodprøver av fisken, avblødes fisken med hjertepunktur (*blod på gjellene vanskeliggjør senere tolkning av eventuelle tilstandsendringer*). Den andre gjellebuen på fiskens venstre side klippes ut, legges på ferdignumnererte biopsi briketter og fikseres på 10 % fosfat-buffra formalin (4 % formaldehyd) ved pH 7 (Apoteksbolaget Produksjon & Laboratorier, Gøteborg eller Apotekenes laboratorium) i felt. Gjellevevet vil normalt være prøvetatt og plassert i fikseringsveske innen 45 sekunder etter at fisken ble bedøvd (med slag til hodet). Hver gjelle har et referansenummer som senere inngår i Veterinærhøgskolens database over gjeller.

Etter avsluttet felt sendes prøvene til Norges veterinærhøgskole for videre bearbeidelse. Prøvene behandles der etter en standard metode som inkluderer dehydrering gjennom en etanol gradient med økende konsentrasjon, klaring i xylen og innstøping i parafin før skjæring av tynne snitt (3-5µm). Fra hver gjelle lages det to mikroskopi preparater. Det ene preparatet farges med hematoxylin og eosin (HE) etter en metode modifisert fra (Culling m.fl. 1985). Det andre preparatet farges med solokrom azurin i sur løsning (ASA); en metode for påvisning av ulike metaller, blant annet aluminium og jern (Denton m.fl. 1984). Metall som reagerer med fargestoffet blir omtalt som ASA-positivt materiale. Parafinblokkene lagres deretter ved Norges veterinærhøgskole for eventuell senere bruk.

Foruten vevsanalyser undersøkes gjellesnittene for eventuelle parasitter og andre faktorer som kan ha betydning for endringer i vevstilstand samt for fisken helsetilstand.

Ettersom vevsforandringer kategoriseres som tilstandsklasse A-D i denne rapporten, vedlegges et utvalg bilder som dokumentasjon på tilstandskategorier. Bildene vil etterhvert også foreligge på egen billedatabase ved NIVA. Eksempler på typekategorier er gitt i figur 12, vedlegg C.

Vedlegg C. Responsevaluering

Vannkjemisk evaluering (eksponeringsmiljø/vannkvalitet)

Det foreligger ingen entydig god og sikker metode for klassifisering av forsursrelatert vannkjemisk fastsettelse av vannkvalitet. Enkelte momenter som har betydning for evalueringene er anført nedenunder.

pH: pH har i seg selv liten til ingen effekt på laks før pH 5.4 underskrides (Lacroix, 1987). pH 5.4-5.7 er således akseptabel for laks såfremt andre giftstoffer ikke foreligger i vannkilden. Tilstedeværelse av humus (TOC) og aluminium vil påvirke nedre akseptable pH-grense. I forbindelse med kalking bør pH-grensen 6.2-6.4 ikke underskrides i smoltperioden, da som følge av behovet for å avgifte aluminium (Kroglund m.fl., 1998a).

Aluminium: aluminium (Al) er den primære giften i forsuret vann. Al mobiliseres fra berggrunnen som følge av tilførsler av sur nedbør. Dersom et nedbørfelt ikke tilføres sur nedbør vil Al konsentrasjonen i vannmassene normalt være lav. Al foreligger på ulike tilstandsformer, hvor kun enkelte er giftige. Konsentrasjonen av giftig Al er sterkt påvirket av pH og TOC. Giftige tilstandsformer benevnes for labilt aluminium eller LAI i denne rapporten. På grunn av flere kompliserende faktorer, deriblant eksponeringsvarighet (hvor lenge opplever fisken giftig vann), andre vannparametre (pH, temperatur, kalsium) biologiske parametre (arts- og livsstadie avhengig sensitivitet) samt aluminiumets evne til å endre tilstandsform som følge av endringer i pH og temperatur kan det ikke fastsettes entydige nedre grenser for akseptabel LAI. Basert på erfaringer fra en rekke forsøk synes likevel 5-10 µg LAI å representere en sannsynlig nedre grense i humusfattige elver (<1.5 mg TOC/l), mens 15-25 µg labilt Al synes å representere grenseområdet i mer humøse (2-6 mg TOC) vassdrag (Kroglund m.fl., 1998a). I forsurspåvirka vassdrag med pH i området 5.8 til 6.4 kan den analyserte og oppgitte LAI-konsentrasjonen være betydelig lavere enn den konsentrasjonen fisken opplever på grunn av tilstandsendringer forårsaket av temperatur- og pH-endringer. Dette medfører at målte konsentrasjoner henimot "null" LAI i spesielle tilfeller kan være akutt giftige for fisken i vassdraget, selv om denne konsentrasjonen ikke er giftig under stabile forhold.

Kalsium: kalsium demper/modifiserer de negative effektene av Al. Ingen nedre grense, men økende konsentrasjon (inntil 2.5 mg/l) utøver økende beskyttelse mot Al (Rosseland og Staurnes, 1994).

Humus: humus demper/modifiserer de negative effektene av Al. Al i humusfattige elver (<1.5 mg TOC/l) vil være mer giftig enn tilsvarende LAI konsentrasjon i mer humusrike elver (2-6 mg TOC/l). I Kanadiske elver med meget høyt humusinnhold (>20 mg TOC/l) vil 30-40 µg LAI/l ikke påføre laksesmolt skader som påvirker bestandsstørrelse og struktur (Peterson m.fl., 1989).

ANC: acid neutralizing capacity er et mål på vannkvalitet som med hell er benyttet for klassifisering av vannkvalitet i forhold til innlandsfisk (Bulger m.fl., 1993). Vannkjemien i innsjøer kan betraktes som "stabil" under normale forhold ettersom oppholdstiden er lang. I elver vil kontinuerlig tilførsel og innblanding av vann fra sidevassdrag og tilførsel av grunnvann kunne medføre tilstedeværelse av ustabile tilstandsformer av Al. Al vil være ustabil over en tidsavgrenset periode. Det vassdragsareal som inneholder ustabil Al benevnes som en blandson. Under spesielle forhold vil Al i disse blandsonene kunne bli akutt giftig på tross av at øvrig vannkjemisk indikerer tilstedeværelse av god vannkvalitet. Måling av ANC i vassdrag er således ikke nødvendigvis en god vannkvalitets indikator i vassdrag som tilføres Al. Dette vil særlig gjelde i delvis eller moderat forsurspåvirka vassdrag (pH 5.8-6.4).

Andre vannkjemiske og -fysiske variabler: en rekke faktorer, deriblant temperatur og blanding av vann med ulik vannkjemisk sammensetning vil innvirke på vannkvaliteten.

Fysiologiske responser

Fysiologiske responser ble evaluert på bakgrunn av måling av dødelighet, plasmaklorid, hematokritt og glukose. Akkumulering av Al på gjellene er i bearbeidingen av materialet inkludert som dose i forhold til fysiologiske og histopatologiske responser og representerer en respons i forhold til vannkvalitet.

Det foreligger ingen standardisert skala som identifiserer “skadd” tilstand fra “uskadd” tilstand basert på fiskefysiologiske og histopatologiske parametre. På tross av dette vil verdier innenfor enkelte konsentrasjonsområder betraktes som “normale”, og verdier utenfor disse normalområdene vil kunne oppfattes som indikasjoner på at fisken er i fysiologisk ubalanse. Enkelte fysiologiske parametre kan være innenfor “normalområdet” selv om andre variabler antyder at fisken er påvirket i en negativ retning. Iverksettelse av kompensatoriske mekanismer og aklimering kan modifisere responsene og normalisere den fysiologiske tilstanden. Dette innebærer at måling av konsentrasjoner innenfor “normalområdet” ikke nødvendigvis betyr at fisken er upåvirket av ytre påvirkningsfaktorer. Fysiologiske tilstandsendringer (avvik fra normalnivå) derimot sannsynliggjør tilstedeværelse av en mulig “skade”. For å redusere mulighetene for feilvurdering, er “effekt” vurdert på bakgrunn av samtlige analyserte fysiologiske parametre samt på målte endringer i histopatologisk tilstand og på bakgrunn av saltvannstoleranse.

I denne og i tidligere rapporter utarbeidet av NIVA og NINA er det forsøkt å standardisere vurderingene av tilstandsendringene i størst mulig grad. Kriteriene gitt i tabell 11 er fastlagt av Kroglund og Finstad (uferdig notat) og vil bli justert etterhvert som erfaringene tilsier at justering er nødvendig. Responsevurderingen i forhold til de fastsatte grensene representerer heller ikke strenge grenser, og må vurderes både på bakgrunn av art, livsstadium, vannkjemisk forhistorie samt endringer over tid/i løpet av et forsøk.

Vi benytter mindre strenge kriterier for sjøvannstoleranse enn det som benyttes for fastsettelse av smoltkvalitet innen oppdrettsindustrien (Hansen, 1998). Mens oppdrettsindustrien krever at laksesmolt skal kunne regulere plasmaklorid konsentrasjonen til under 150mM i løpet av en 24 timers sjøvannstest, har vi satt grensen til 160mM. Foruten skadeevaluering basert på målte parametre, evalueres også smoltkvalitet på bakgrunn av beregnede differanser i plasmaklorid mellom konsentrasjoner målt i ferskvann og etter saltvannstestene. I henhold til anbefalinger benyttet innen oppdrettsindustrien (T.Rosten pers.medd) bør denne differansen ikke overskride 12 mM. Vi benytter en grenseverdi for mulig skade på 40mM (160mM - 120mM=40mM).

Tabell 11. Kriterier for evaluering av fysiologiske effekter benyttet i denne rapporten. I saltvannstestene må smoltstatus og referanseverdier inkluderes som vurderingsgrunnlag.

		Enhet	Normal tilstand/ ingen effekt påvist	Grense for effekt	Moderat effekt	Betydelig effekt	Akutt dødelig
Ferskvann	Dødelighet	%	0	>0	1-10	10-30	100
	Plasmaklorid	mM	>120	120	119-110	109-90	<90
	Hematokritt	%	<45	45	46-54	55-65	>65
	Glukose	mM	<5	5	5-9	9-12	>12
	Gjelle-Al*	µg Al/g (tv)	<10*	10-30	31-100	>100	>400
Saltvannstest	Dødelighet	%	0	>0	1-10	10-30	
	Plasmaklorid	mM	<160	160	161-170	171-190	>190
	Hematokritt	%	>40	40	39-30	29-20	<20
Beregninger	Plasma Cl i sjøvann minus plasma Cl i ferskvann	mM	<30	40	41-60	61-100	>100

* I turbide og/eller humøse elver fra Trønderlag er det målt gjennomsnittsverdier fra 6 fisk på inntil 50 µg Al/g gjelle tørrvekt, eller enkeltverdier på 100 µg Al/g gjelle tørrvekt uten at denne fisken kan betraktes som “skadet”.

Histopatologiske responser

Kriteriene benyttet for vurdering av histologiske forandringer likner metoden benyttet av Lucassen i Kroglund m.fl., 1998a. Evalueringen i denne undersøkelsen er utført av Norges veterinærinstitutt, som har lagt spesifikke morfologiske tilstandsendringer til grunn for klassifiseringen (tabell 12). Metoden vil bli publisert på et senere tidspunkt.

Vevsforandringer

Gjellenes morfologi (utseende) undersøkes med hensyn på:

Epitelcellelaget (hypertrofi, hyperplasi) på sekundærlamellene.

Slimceller: Forekomst på sekundærlameller.

Sammenvoksnings av sekundærlameller.

Kjerneforandringer.

«Lifting» (epitelcellelaget på sekundærlamellene løsner).

Nekrose.

Gjellene inndeles i fire kategorier eller grupper (A-D) ut fra grad (og omfang) av vevsforandringer. Gruppe-inndelingen er basert på kriteriene angitt i tabell 12. Gjeller som illustrerer de typiske forandringene tilhørende hver kategori er vist i figur 12. Typegjellene stammer ikke fra Otra.

Tabell 12. Tilstandsforandringer (gruppe A-D) i gjellevev basert på morfologiske tilstand.

Gruppe	Morfologisk tilstand
Gruppe A: Normal tilstand	Normal morfologi. Eventuelle forandringer som trolig er av artefaktuell karakter aksepteres.
Gruppe B: Ubetydelige til moderat tilstands- endring	Hypertrofi av epitelet. De enkelte epitelcellene er tykkere enn normalt og kjernen gjerne noe mere prominente.
Gruppe C: Moderate uttalt tilstands- endring	<p>Hypertrofi av epitelet (se Gruppe B).</p> <p>Hyperplasi, dvs. at antallet epitelceller øker i tillegg til at cellene er hypertrofiske. Epitelet vil gjerne bli flerlaget og hyperplasien er gjerne mest uttalt ved basis av sekundærlamellene slik at det dannes «svømmehud» i dette området.</p> <p>Slimceller i sekundærlamellene. Slimceller finnes normalt nesten bare ved basis av sekundærlamellene. Ved kroniske irritasjons- og betennelsestilstander er det vanlig at slimcellene migrerer utover sekundærlamellene.</p> <p>Få sammenvoksnings av sekundærlamellene. De ytre deler av sekundærlamellene kleber seg til hverandre og det etableres en sammenvoksning.</p> <p>Kjerneforandringer. Kjernene er gjerne betydelig mere «frodige» og prominente enn normalt.</p> <p>Lifting» Epitelet løsner fra pilarcellene slik at det dannes et hulrom mellom pilarceller og epitel. Dette kan opptre lokalt, eller omfatte større områder. Tilstanden kan evt. etterfølges av fullstendig løsning av epitelet fra pilarcellene (deskvasjon, «sloughing», epithelio-capillary separation (ECS)). Det er viktig å være klar over at denne type forandringer kan opptre også som følge av suboptimalt prøveuttak og fiksering.</p>
Gruppe D: Omfattende tilstands- endring	<p>Hypertrofi (se Gruppe C).</p> <p>Hyperplasi (se Gruppe C).</p> <p>Slimceller i sekundærlamellene (se Gruppe C).</p> <p>Sammenvoksnings av sekundærlamellene (se Gruppe C).</p> <p>Kjerneforandringer (se Gruppe C).</p> <p>«Lifting» (se Gruppe C).</p> <p>Nekrose. Epitelceller dør i større eller mindre områder, ofte i sterkt fortykkede partier av hyperplastisk epitel. Forandringene i gruppe D er i det alt vesentlige en videreutvikling av forandringene i gruppe C. Alle forandringer er imidlertid mer omfattende og alvorlige.</p>

Påvisning av metall.

Forekomsten av metall på gjeller (fragemetoden) angis i mengde og med lokalisering.

Mengde: Ingen, lite, moderat eller mye.

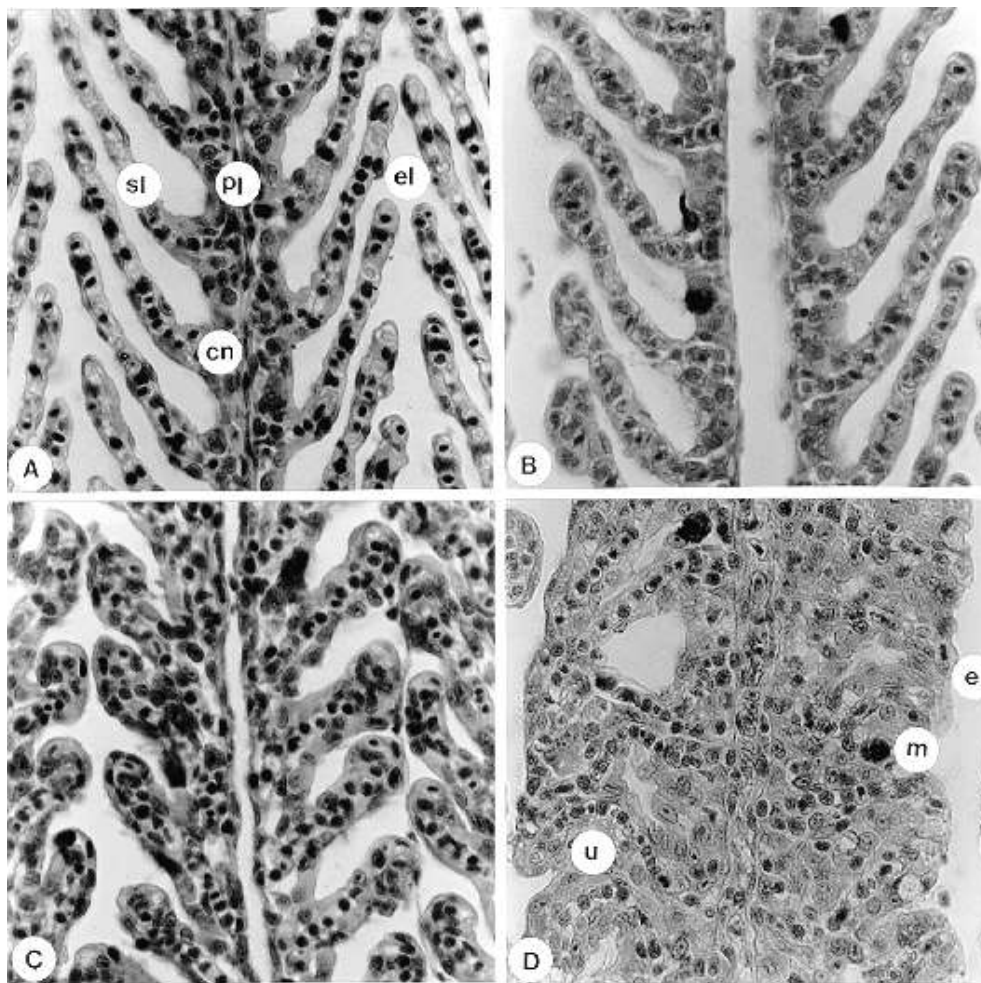
Lokalisering: Dypt (i celler) eller knyttet til overflaten.

Artefakter:

Ulike typer artefakter vil lett kunne oppstå ved uttak og fiksering av gjeller. Disse vil kunne representere en betydelig feilkilde ved evalueringen av preparatene. De vanligste er:

Blødninger; Disse registreres (også makroskopisk) som røde punkter eller «ballonger» på sekundærlamellene. De er gjerne et resultat av hardhendt avlivning og i slike tilfeller er alle blødningene like

Løsning av det respiratoriske epitel fra pilarcellene. Dette er et vanlig artefakt som kan være svært vanskelig å skille fra reelle, akutte forandringer. Forandringene opptrer helst hvis fikseringsvæsken har en temperatur som er svært forskjellig fra omgivelsestemperaturen til fisken, hvis tiden mellom avlivning av fisken og fiksering er for lang, eller hvis det benyttes en fikseringsvæske med feil sammensetning.



Figur 12. Gjellestruktur (400X) av de fire kategoriene som er beskrevet ovenfor. pl, primær lamell; sl, sekundær lamell; cn, blodårer; el, epitel løfting; m, mucous (slim) celler; e, epitel som dekker tilstøtende tupper av sekundær lameller; u, udifferensierte celler som fyller interlamminært rom av fullstendig fusjonerte lameller. Typegjellene stammer ikke fra O₂.