

Forsøksbehandling med monokloramin mot *Gyrodactylus salaris* i elva Glitra



RAPPORT

Hovedkontor

Gaustadalléen 21
0349 Oslo
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 22 18 52 00
Internett: www.niva.no

NIVA Region Sør

Jon Lilletuns vei 3
4879 Grimstad
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 37 04 45 13

NIVA Region Innlandet

Sandvikaveien 59
2312 Ottestad
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 62 57 66 53

NIVA Region Vest

Thormøhlensgate 53 D
5006 Bergen
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 55 31 22 14

NIVA Danmark

Njalsgade 76, 4. sal
2300 København S, Danmark
Telefon (45) 39 17 97 33

Tittel

Forsøksbehandling med monokloramin mot *Gyrodactylus salaris* i elva Glitra

Løpenummer

7238-2018

Dato

16.02.2018

Forfatter(e)

Anders Gjørwad Hagen¹, Sigurd Hytterød², Kjetil Olstad³, Øyvind Garmo¹, Mari Darrud², Tobias Holter³, Julie Svendsen², Tor Atle Mo³, Carlos Escudero¹, Elena Martínez-Francés¹ og Mona Gjessing²

Fagområde

Vannressursforvaltning

Distribusjon

Åpen

Geografisk område

Buskerud

Sider

27

¹Norsk institutt for vannforskning, ²Veterinærinstituttet i Oslo, ³Norsk institutt for naturforskning

Oppdragsgiver(e)

Miljødirektoratet

Oppdragsreferanse

Anne Kristin Jørnliid

Utgitt av NIVA

Prosjektnummer 17155

Sammendrag

Laboratorieforsøk ved Veterinærinstituttet har vist at hypokloritt tilsatt i svært lave konsentrasjoner (18-50 µg/l) til vannet kan fjerne *G. salaris* fra laksunger i løpet av 2-6 dager uten å ha vesentlige negative effekter på fisken. Senere forsøk har i tillegg vist at tilsetning av 30-50 µg monokloramin/l også fjerner *G. salaris* fra laksunger i løpet av 2-6 dager i vann fra Drammenselva. Resultatene fra disse forsøkene legger grunnlag for å utrede monokloramin som et potensielt kjemikalium til bekjempelse av *G. salaris* i norske laksevassdrag.

I denne rapporten presenteres et feltforsøk der målet har vært å utrede om monokloramin kan brukes i fullskala behandling mot *G. salaris*. Tilnærmingen er basert på forskningsbehov som har fremkommet etter laboratorieforsøkene nevnt over og i et fagseminar arrangert i mars 2016 der aktuelle problemstillinger ble diskutert. Problemstillingene omfatter doseringsteknologi, eventuelle akutte effekter på biota og det avgjørende spørsmålet om hvorvidt effekten av klor mot parasitten reduseres når kjemikaliet tilsettes til en elv og transporteres med vannmassene i et naturlig vassdrag.

Spørsmålene er besvart gjennom et klordoseringsforsøk i elva Glitra, øverst i Lierelva i Buskerud. Forsøkslokaliteten ble benyttet til å gjennomføre flere undersøkelser for å belyse de aktuelle problemstillingene.

Forsøkene viste at monokloramin har god behandlende effekt mot *G. salaris* når kjemikaliet tilsettes og transporteres med vannmassene i et naturlig vassdrag, og at effekten fra ett doseringspunkt vedvarte i minimum 80 minutter. I tillegg ble det ikke observert vesentlige negative effekter på laks og bunndyrsamfunnet i vassdraget under kloraminbehandlingen. Doseringsteknologien og metodikken for produksjon av monokloramin i felt fungerte tilfredsstillende og sikret en stabil konsentrasjon av kjemikaliet i ellevannet gjennom forsøket. Det kreves svært lave konsentrasjoner av klor for å fjerne *G. salaris*, noe som gjør klor godt egnet til behandling i vassdrag med høy vannføring. Monokloramin fremstår således som en god kandidat for videre utvikling av en behandlingsmetode mot *G. salaris*.

Fire emneord

1. *Gyrodactylus salaris*
2. Monokloramin
3. Behandling
4. Glitra

Four keywords

1. *Gyrodactylus salaris*
2. Monochloramine
3. Treatment
4. Glitra

Denne rapporten er kvalitetssikret iht. NIVAs kvalitetssystem og godkjent av:

Anders Gjørwad Hagen
Prosjektleder

Erik Höglund
Kvalitetssikrer

ISBN 978-82-577-6973-4
NIVA-rapport ISSN 1894-7948

**Forsøksbehandling med monokloramin mot
Gyrodactylus salaris i elva Glitra**

Forord

På bakgrunn av tidligere utredningsarbeider fremla prosjektgruppen for Miljødirektoratet i februar 2017 forslag til videre utredning av klor som bekjempelsesmiddel i kampen mot parasitten *G. salaris*. Med utgangspunkt i et skissert prosjekt valgte Miljødirektoratet å støtte prosjektet med et tilskudd (Avtalenummer 17010237).

Prosjektet er organisert som et samarbeid mellom NIVA, Veterinærinstituttet og NINA. Koordinerende og administrativt ansvar har ligget hos NIVA, ved prosjektleder forskningsleder Anders Gjørwad Hagen. De tre institusjonene NIVA, Veterinærinstituttet og NINA er likestilte.

Forsøkene er gjennomført med base i Drammen og Omland Fiskeadministrasjon (DOFA) sitt klekkeri ved Glitra. Vi vil takke DOFA og spesielt Trond Håvelsen for god hjelp i gjennomføring av prosjektet. Vi vil også takke Glitrevannverket for et godt samarbeid og for hjelp med å holde stabil vannføring i Glitra under forsøket.

Forsøkene er gjennomført med tillatelse fra Mattilsynet i henhold til *Forskrift om bruk av dyr i forsøk* med saksnr. 17/120152

Oslo, 20.02.2018

Anders Gjørwad Hagen

Innholdsfortegnelse

1	Innledning	6
2	Materiale og metoder	7
2.1	Dosering av kjemikalier og kjemianalyser	8
2.2	Prøvetaking og bestemmelse av klor i felt	10
2.3	Effekter på <i>G. salaris</i>	11
2.4	Fysiologiske effekter hos laks	12
2.4.1	Blodanalyser	13
2.4.2	Gjelleanalyser	13
2.5	Bunndyrundersøkelser	13
3	Resultater	15
3.1	Vannkjemi	15
3.2	Effekter på <i>G. salaris</i>	18
3.3	Fysiologiske effekter hos laks	19
3.3.1	Blodanalyser	19
3.3.2	Gjelleanalyser	21
4	Diskusjon	22
4.1	Oppsummering	24
5	Referanser	25

Sammendrag

Gyrodactylus salaris ble introdusert til Norge på 70-tallet. Parasitten er ansett som en stor trussel mot norsk villaks og myndighetene har som mål å utrydde den fra alle områder hvor den er etablert. Det brukes derfor store ressurser på bekjempelse av parasitten. Dagens situasjon tilsier at vedlikehold og utvikling av metoder for bekjempelse fortsatt er viktig.

Laboratorieforsøk ved Veterinærinstituttet har vist at hypokloritt tilsatt i svært lave konsentrasjoner til vannet kan fjerne *G. salaris* fra laksunger i løpet av 2-6 dager uten å ha vesentlige negative effekter på fisken. Senere forsøk har i tillegg vist at klor tilsatt som monokloramin ga lengre virketid mot *G. salaris* enn klor tilsatt som natriumhypokloritt, og at tilsetning av 30-50 µg monokloramin/l også fjernet *G. salaris* fra laksunger i løpet av 2-6 dager i vann fra Drammenselva. Resultatene fra disse forsøkene legger således grunnlag for å utrede monokloramin som et potensielt kjemikalium til bekjempelse av *G. salaris* i norske laksevassdrag.

I denne rapporten presenteres et feltforsøk der målet har vært å utrede om monokloramin kan brukes i fullskala behandling mot *G. salaris*. Tilnærmingen er basert på forskningsbehov som har fremkommet etter laboratorieforsøkene nevnt ovenfor og i et fagseminar arrangert i mars 2016 der aktuelle problemstillinger ble diskutert. Problemstillingene omfatter doseringsteknologi, eventuelle akutte effekter på biota og det avgjørende spørsmålet om hvorvidt effekten av klor mot parasitten reduseres når kjemikaliet tilsettes til en elv og transporteres med vannmassene i et naturlig vassdrag.

Spørsmålene er besvart gjennom et klordoseringsforsøk i elva Glitra, øverst i Lierelva i Buskerud. Forsøkslokaliteten ble benyttet til å gjennomføre flere undersøkelser for å belyse de aktuelle problemstillingene.

Forsøkene viste at monokloramin har god behandlende effekt mot *G. salaris* når kjemikaliet tilsettes og transporteres med vannmassene i et naturlig vassdrag, og at effekten fra ett doseringspunkt vedvarte i minimum 80 minutter. I tillegg ble det ikke observert vesentlige negative effekter på laks og bunndyrsamfunnet i vassdraget under kloraminbehandlingen. Doseringsteknologien og metodikken for produksjon av monokloramin i felt fungerte tilfredsstillende og sikret en stabil konsentrasjon av kjemikaliet i elvevannet gjennom forsøket. Det kreves svært lave konsentrasjoner av klor for å fjerne *G. salaris*, noe som gjør klor godt egnet til behandling i vassdrag med høy vannføring. Monokloramin fremstår således som en god kandidat for videre utvikling av en behandlingsmetode mot *G. salaris*.

1 Innledning

Gyrodactylus salaris tilhører en dyregruppe med akvatiske parasitter som på norsk kalles haptormark. Parasitten lever kun i ferskvann og den infiserer primært laks (*Salmo salar*), hvor den i hovedsak finnes på kroppen og finnene. *G. salaris* føder levende unger som blir sittende på samme verten som mor-individet. *G. salaris* ble introdusert til Norge på 70-tallet og parasitten er påvist i 50 norske elver (Hytterød mfl. 2016). Parasitten er ansett som en stor trussel mot norsk villaks og myndighetene har som mål å utrydde den fra alle områder hvor den er etablert (Anon 2014). Det brukes derfor store ressurser på bekjempelse av parasitten og per januar 2018 er 32 vassdrag friskmeldt, 11 vassdrag er ferdigbehandlet, men fortsatt ikke friskmeldt og syv vassdrag fordelt på to regioner er fortsatt infiserte (Hytterød mfl. 2018, under utarbeidelse). Nåværende smittestatus i tillegg til faren for fremtidige nye innførsler fra smittede regioner og/eller infiserte vassdrag i våre naboland tilsier at vedlikehold og utvikling av metoder for bekjempelse fortsatt er viktig.

Laboratorieforsøk ved Veterinærinstituttet i Oslo (VI) har vist at hypokloritt tilsatt i svært lave konsentrasjoner til vannet kan fjerne *G. salaris* fra laksunger i løpet av 2-6 dager uten å ha synlige negative effekter på fisken (Hagen mfl. 2014). Vannet i forsøksavdelingen ved VI var det samme som Oslos drikkevann, men modifisert ved blant annet filtrering for å fjerne partikler og rester av tilsatt klor. Det var derfor et åpent spørsmål hvorvidt klorforbindelser ville fungere mot *G. salaris* i naturlig, ubehandlet ellevann. I 2015 ble det gjort forsøk som viser at klorforbindelser er svært effektivt mot *G. salaris* i vann fra Drammenselva. Tilsetning av 30-50 µg klor/l fjernet også her *G. salaris* fra laksunger i løpet av 2-6 dager (Hagen mfl. upubliseret). I dette forsøket ble klorforbindelsene tilsatt som monokloramin, og den reduserende effekten mot parasitten var svært god selv 120 minutter etter kjemikaliet var tilsatt vannet. Det ble også dokumentert en god terapeutisk margin, det vil si ingen dødelighet hos fisk som kunne relateres til kloreksponeringen, innenfor behandlingstiden som var nødvendig for å fjerne alle *G. salaris*. Forsøkene i 2015 viste dermed at resultatene fra laboratorieforsøkene var reproducerbare i et feltforsøk med ellevann fra et *G. salaris*-infisert vassdrag. Disse forsøkene viste også at klor tilsatt som monokloramin ga lengre virketid mot *G. salaris*, enn klor tilsatt som natriumhypokloritt.

Klorforbindelser er de mest brukte desinfeksjonsmidlene på verdensbasis og de er også rutinemessig brukt til behandling mot ektoparasitter innenfor oppdrett og kultivering både i ferskvann og saltvann. Sammen med resultatene fra forsøkene nevnt over legger dette grunnlag for å utrede monokloramin som et potensielt kjemikalium til bekjempelse av *G. salaris* i norske lakseelver. I denne rapporten presenterer vi et feltforsøk der målet har vært å utrede om monokloramin kan være en kandidat for bruk i fullskala behandling mot *G. salaris* i en elv. Tilnærmingen er basert på forskningsbehov som har fremkommet etter laboratorieforsøkene nevnt ovenfor og i et fagseminar arrangert i mars 2016 der aktuelle problemstillinger ble diskutert.

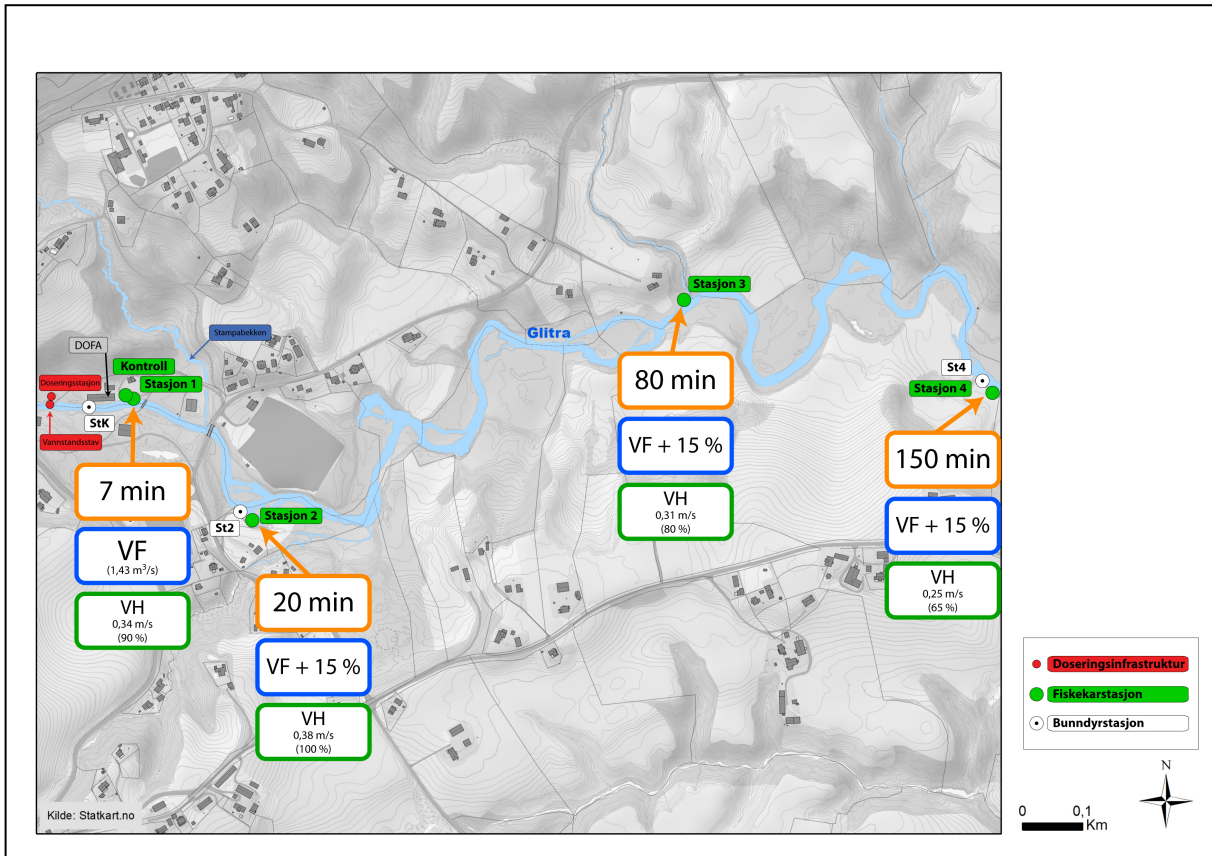
I alle tidligere forsøk med klor mot *G. salaris* har infiserte laksunger blitt eksponert for klortilsatt vann i eksperimentelle forsøksoppsett. Slike forsøk kan ikke ta høyde for en rekke naturlige faktorer som vil kunne påvirke effekten av en faktisk klorbehandling i et naturlig vassdrag. Med bakgrunn i de tidligere forsøkene med klorforbindelser mot *G. salaris* gjennomført på «laboratorieskala», var hovedformålet i dette prosjektet å utrede om klor kan egne seg som bekjempelsesmiddel i kampen mot *G. salaris* i en elv. Problemstillinger og spørsmål som ble ansett som kritisk i denne sammenhengen omfattet i første rekke forhold knyttet til doseringsteknologi, eventuelle akutte effekter på biota og det avgjørende spørsmålet om hvorvidt effekten av klor mot parasitten reduseres når kjemikaliet tilsettes til en elv og transporteres med vannmassene i et naturlig vassdrag.

Spørsmålene er besvart gjennom forsøk og undersøkelser bygget opp rundt et klordoseringsforsøk i elva Glitra, øverst i Lierelva i Buskerud. Forsøkslokaliteten (her: elvestrekningen fra doseringspunktet og nedover) ble benyttet til å gjennomføre flere undersøkelser for å belyse viktige problemstillinger ved en klordosering i et naturlig elvesystem. Det ble gjennomført tre selvstendige arbeidspakker hvorav to forsøk med laks som vert eller modellorganisme; 1) "Effekter på *G. salaris*" og 2) "Fysiologiske effekter hos laks" og ett forsøk der effekter på bunndyrsamfunnet (virvelløse dyr) i elva ble studert. Bunndyrstudien rapporteres som en egen rapport (Eriksen mfl. 2018).

2 Materiale og metoder

Forsøkene ble gjennomført i siste halvdel av september 2017. Oppsettet ble designet med ett doseringspunkt, der ønsket konsentrasjon av monokloramin ble tilsatt ved hjelp av vannføringsstyrte pumper. Nedstrøms doseringspunktet ble det etablert fire fiskekarstasjoner for undersøkelse av effekter på fiskefysiologi og effekter på *G. salaris*. I tillegg ble det etablert en referansestasjon med vanninntak oppstrøms doseringspunktet, for å representere ubehandlet elvevann. Forsøkslokaliteten er dermed definert som elvestrekningen fra doseringspunktet til og med nederste fiskekarstasjon, samt vanninntaket for referansestasjonen (Figur 1).

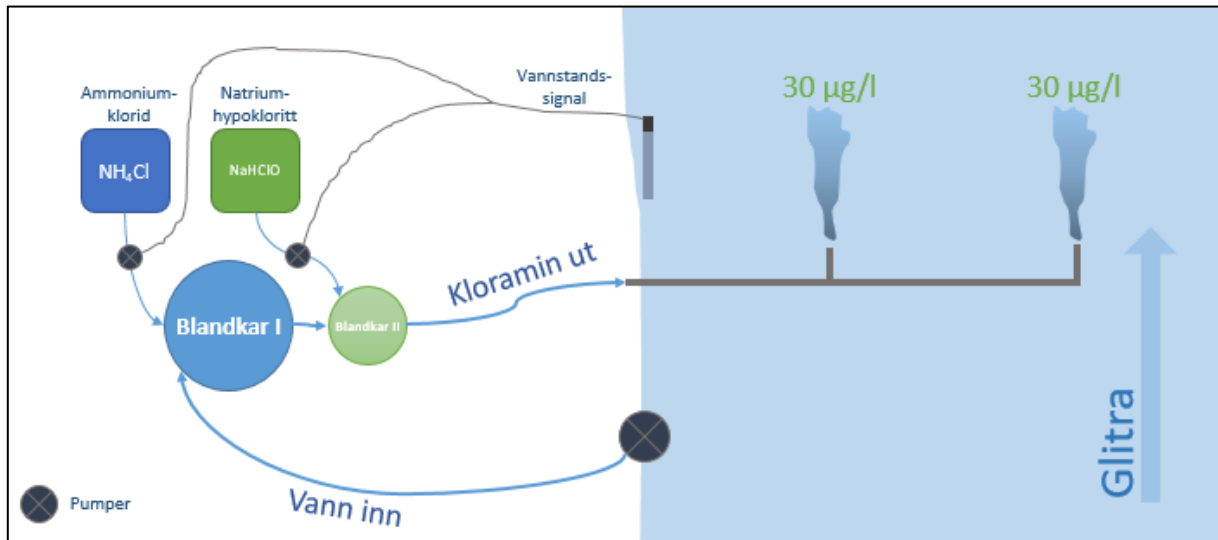
Forsøkene ble lagt til elva Glitra ved Sjøstad (se Figur 1). Glitra er en sideelv til Lierelva, som har sitt utløp til Drammensfjorden. Glitra ble valgt som forsøkslokalitet fordi vannkjemien i denne elva er relativt lik som i Drammenselva, en elv der kloramin skal vurderes som behandlingsmetode. Glitra egnet seg også godt som forsøkselv på grunn av størrelse og fordi vassdraget er regulert, med de muligheter dette gir for å kontrollere vannføringen gjennom forsøksperioden.



Figur 1. Oversikt over forsøkslokaliteten i Glitra. Transporttiden for vannet fra doseringspunkt er angitt i minutter i oransje bokser, relativ vannføring ved stasjonene er gitt i blå bokser og vannhastighet ved stasjonene er gitt i grønne bokser.

2.1 Dosering av kjemikalier og kjemianalyser

Monokloramin ble laget ved å bruke natriumhypokloritt (oppgitt til 10-20 ww% og målt til 17,5 ww%) og ammoniumklorid, levert av hhv. Solberg Industrier og Univar. Ammoniumklorid ble løst i ellevann i en IBC-tank (1000 l) til en konsentrasjon på ca. 125 g/l (50 kg i 400 l). Monokloramin med nominell konsentrasjon av aktivt klor (det vil si klor som reagerer med analysereagensen DPD, se under) på 200 mg/l ble produsert ved å blande ammoniumklorid og natriumhypokloritt. Det ble pumpet 10-15 l ellevann per minutt opp i det øverste av to sammenkoblede kar (Figur 4). Ammoniumklorid og hypokloritt ble tilsatt til hhv. det øverste og nederste karet under høy turbulens for å oppnå rask innblanding. Doseringen av begge kjemikalier ble gjort ved hjelp av peristaltiske pumper (WM-300) som var styrt av et signal fra vannstandsmålere i elva (Figur 2 og Figur 3).



Figur 2. Doseringsstasjonen. Vannløst ammoniumklorid tilsettes i første blandekar, og deretter tilsettes hypokloritt. Ferdig blandet monokloramin ledes til elv. Kjemikaliedoseringen var vannføringsproporsjonal og automatisk styrt ved hjelp av et vannstandssignal.

Ammoniumkloriddosen ble tilpasset slik at det molare forholdet mellom aktivt klor (som Cl_2) og nitrogen som ammonium (NH_4^+) ble ca. 0,6 (nominelt). Pumpingen av vann ble justert manuelt (ca. 1 liter vann per ml hypokloritt/minutt for dosering av $30 \mu\text{g}$ aktivt klor/l). Denne blandingen hadde en pH på 8,3-8,4, som er området hvor produksjonen av monokloramin skjer raskest. Reaksjonstiden er, foruten pH, avhengig av temperatur og konsentrasjonen av hypokloritt og ammonium. Under de gitte betingelsene vil det ifølge de reaksjonskinetiske konstantene publisert av Qiang og Adams (2004) ta mindre enn ett sekund å omdanne 99 % av hypokloritten til monokloramin. Oppsettet gav doseringsblandingen en reaksjonstid på ca. ett minutt ved vannpumpehastighet 10 l/minutt før kjemikalietilsett vann ble ledet til elva. Det ble ikke gjort ytterligere tester for å optimalisere betingelsene for dannelse av monokloramin, men et titeringsforsøk (Figur 10) og målinger i fiskekarene bekreftet at doseringen sørget for aktivt klor nedover i vassdraget.



Figur 3. Vannstandsmålere (høyre) og peristaltiske pumper brukt til vannføringsstyrt dosering av kjemikalene. Foto: Anders Gjørwad Hagen/NIVA

2.2 Prøvetaking og bestemmelse av klor i felt

Vannprøver for kloranalyser ble tatt minst én gang per dag fra innløpsvannet til fiskekarene og analysert så raskt som mulig i feltlaboratoriet etablert i bygningen til Drammen og Omland Fiskeadministrasjon (DOFA) (Figur 1). Prøvene ble filtrert gjennom et membranfilter med porestørrelse 0,45 µm. Filtratet (25 ml) ble tilsatt 0,15 ml fosfatbuffer (30 g dinatriumhydrogenfosfat, 46 g kaliumdihydrogenfosfat og 0,8 g EDTA i 1 l MilliQ) og deretter 0,15 ml av en fargereagens bestående av N,N-dietyl-p-fenylendiaminsulfat (DPD) (1,5 g DPD, 2 ml konsentrert svovelsyre og 0,2 g EDTA i 1 l MilliQ). Prøvene ble ristet godt og tilsatt 2-3 «fyrstikkhoder» med kaliumjodid i fast form og deretter ristet på ny. Prøvene stod deretter én time i mørket før absorbans av lys med bølgelengde 510 nm ble målt med et Shimadzu UV1240 mini-spektrofotometer i kyvetter med 5 cm lysvei. Målt absorbans i ubehandlet referansevann ble trukket fra og differansen ble brukt til å beregne klorkonsentrasjonen (aktiv klor) basert på en standardkurve. Standardene ble laget ferske ved å fortynne en konsentrert klorklørning med kjent konsentrasjon. Fra stasjon 1 ble det tatt triplikate prøver. En titrering med henholdsvis natriumhypokloritt (14 % aktiv klor) og den feltblandede løsningen med monokloramin som ble dosert til elv (ca. 200 mg/l som aktiv klor, se over) ble gjennomført på feltlaboratoriet for å undersøke reduksjon av klor etter få minutters virketid. Disse prøvene ble behandlet på samme måte som prøvene fra fiskekarene (se over).

Det ble målt pH fem ganger i løpet av forsøksperioden ved en fast stasjon i elva ved DOFA (prøvelokalitet Glitra elv). Turbiditet, ledningsevne og temperatur ble målt 10 ganger ved samme lokalitet. Det ble tatt prøver for bestemmelse av blant annet TOC og kjemisk (permanganat) oksygenforbruk åtte ganger i løpet av forsøksperioden.



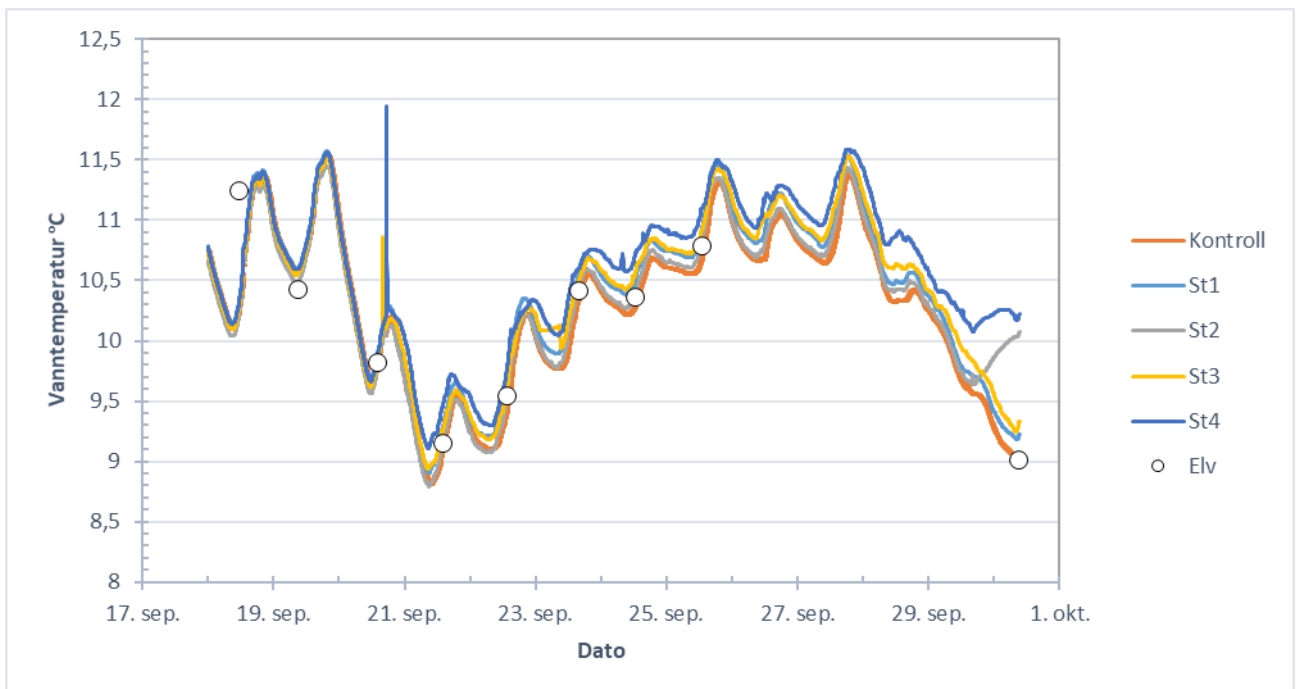
Figur 4. Bilder fra dosering av monokloramin. Bildet til høyre viser systemet for produksjon av monokloramin. Vann fra elva ble pumpet opp i den største murstampen. Der ble ammoniumklorid tilsatt, før løsningen ble ledet ned i den minste murstampen. Der ble natriumhypokloritt tilsatt slik at det ble dannet monokloramin. Bildet til venstre viser rørsystemet som ledet monokloraminløsningen fra den minste murstampen ut i elven i to punkter. Foto: Anders Gjørwad Hagen/NIVA

Vannføringen i forsøksperioden varierte fra ca. 1000 l/s til ca. 1400 l/s. Glitrevannverket regulerte vannføringen i forsøksperioden og sørget for en relativt stabil vannføring innenfor disse grenseverdiene (Figur 5).



Figur 5. Vannføring ved Justad i forsøksperioden. Vannføringsstasjonen ligger om lag 150 meter nedstrøms stasjon 1.

Vanntemperaturen i forsøksperioden lå mellom 8,8 og 11,9 °C. Temperaturøkningen kvelden 20. september er reell og skyldes tømning av 136 m³ vann fra holdekar for ørret fra anlegget på DOFA. Denne effekten påvirket ikke stasjon 1, som var oppstrøms utslippsstedet.



Figur 6. Vanntemperatur i forsøkskarene ved alle stasjoner, samt kontrollmålinger i elva ved DOFA, i forsøksperioden.

2.3 Effekter på *G. salaris*

Klekkerfisk, laksunger (0+; gjennomsnittslengde 70 mm) fra Lierelvas egne laksestamme, ble smittet med *G. salaris* fra infisert villfisk. Til oppsmittning ble det fanget 10 laksunger i Glitra ved hjelp av

elektrisk fiskeapparat. Disse ble plassert i en tank med rent, ubehandlet ellevann ved klekkeriet til DOFA, før de ble satt i kohabitasjon med klekkerifisken over en periode på 5 døgn. Ved alle stasjoner ble det satt ut 10 oppsmittede klekkerifisk med kjent *G. salaris*-infeksjon dagen etter at kloramindoseringen ble startet. Ved stasjon 1 – 4 ble ellevann pumpet inn i karet, hvor vannivået ble holdt jevnt ved overløp. I referansekaret ble vannet tilført via kran direkte fra DOFA-anleggets vannanlegg (anlegget får vann fra en kilde oppstrøms klordoseringspunktet, og er således ikke behandlet). Karene var dekket med tette lokk for å hindre rømming og for å unngå tilgang for predatorer (Figur 7).



Figur 7. Stasjon 2, to fiskekar for fysiologiundersøkelser (venstre) og ett fiskekar for undersøkelser av *G. salaris*-infeksjon (høyre) Foto: Anders Gjørwad Hagen/NIVA

Ved gitte tidspunkter (se Tabell 1) ble alle 10 fisk undersøkt for *G. salaris* ved hjelp av stereolupe (Leica MZ 7₅) ved 10x-15x forstørrelse. Før disse undersøkelsene ble fisken bedøvet ved hjelp av FinquelVet (15 mg/l). Under selve undersøkelsen ble fisken holdt i plastikkar med vedlikeholdskonsentrasjon av FinquelVet (halv dose av bedøvelseskonsentrasjon).

2.4 Fysiologiske effekter hos laks

Totalt 50 laksunger (1+; gjennomsnittslengde 169 mm) fra DOFAs klekkeri, fordelt på to kar (replikater) ved hver stasjon, ble holdt ved stasjonene 1 til 4 og referansestasjon. Ved gitte tidspunkt ble det tatt ut 10 fisk fra hver stasjon (fem fisk fra hvert av de to replikatene) til prøvetaking for fysiologiske analyser (se **Feil! Fant ikke referanseilden.** Tabell 1). Fisken ble tatt ut fra karene med håv, bedøvet og deretter avlivet ved slag mot hodet før prøvetaking. Karene og vannkilden hadde samme prinsipielle konstruksjon som i arbeidspakken for «Effekter på *G. salaris*».

2.4.1 Blodanalyser

Blodprøven ble tatt fra dorsalvenen ved hjelp av hepariniserte 1 ml engangssprøyter (Figur 8). Det ble tatt ca. 0,6 ml blod fra hver fisk. Litt av blodet ble overført fra sprøyten til to kapillærrør. Resterende blod ble overført til eppendorfrør for separering av røde blodceller og plasma ved hjelp av en sentrifuge (LW Scientific ZipCombo, ZCC-12HD-40T3) ved 1200 rpm i 3 min. Hematokritt ble målt som % pakket cellevolum (PCV) med hematokrittskive. Plasma ble fryst ved -20 °C og senere analysert for kloridioner (Cl⁻)(Convergys® ISE comfort Electrolyte Analyzer).



Figur 8. Blodprøven ble tatt fra dorsalvenen ved hjelp av hepariniserte 1 ml engangssprøyter. Foto: Anders Gjørwad Hagen/NIVA

2.4.2 Gjelleanalyser

Den andre gjellebuen på fiskens venstre side ble klippet ut og fiksert på bufret formalin (Figur 9). Histopatologiske vurderinger ble gjort på HE-fargede gjellevevssnitt, fremstilt etter normale prosedyrer. Eventuelle gjelleskader fra behandlingene ble notert. Kun gjelleprøver fra det siste prøveuttaket ved stasjon 1-3 og kontroll ble preparert og tolket.

2.5 Bunndyrundersøkelser

I forbindelse med forsøket ble det gjennomført omfattende arbeider for å undersøke om kloraminbehandlingen hadde negative effekter på bunndyrsamfunnet i elva. Resultatene er utgitt som en egen rapport (Eriksen mfl. 2018), og omtales bare kortfattet i diskusjonen i denne rapporten.



Figur 9. Dissekering av venstre gjellebue nr 2 for histologiske undersøkelser. Foto: Anders Gjørwad Hagen/NIVA

Tabell 1. Antall fisk som ble undersøkt den enkelte dato i arbeidspakken «Effekter på *G. salaris*» og antall fisk som ble prøvetatt den enkelte dato i arbeidspakken «Fysiologiske effekter hos laks». *Forsøket ble avsluttet den 30.09., og fiskene fra dette prøveuttaket ble avlivet og konserveret på etanol for undersøkelse i laboratoriet.

	Effekter på <i>G. salaris</i>					Fysiologiske effekter hos laks				
	Kontroll	St. 1	St. 2	St. 3	St. 4	Kontroll	St. 1	St. 2	St. 3	St. 4
19.09.2017	10	10	10	10	10					
20.09.2017	10	10	10	10	10	10	9	11	10	10
21.09.2017	9	10	10	10	10					
22.09.2017	9	10	10	10	9	10	9	11	10	10
24.09.2017	7	9	10	10	9					
25.09.2017						10	9	11	-	10
26.09.2017	7		10	9	9					
28.09.2017						10	10	10	10	10
29.09.2017	7			9	9					
30.09.2017*	7		10	9						

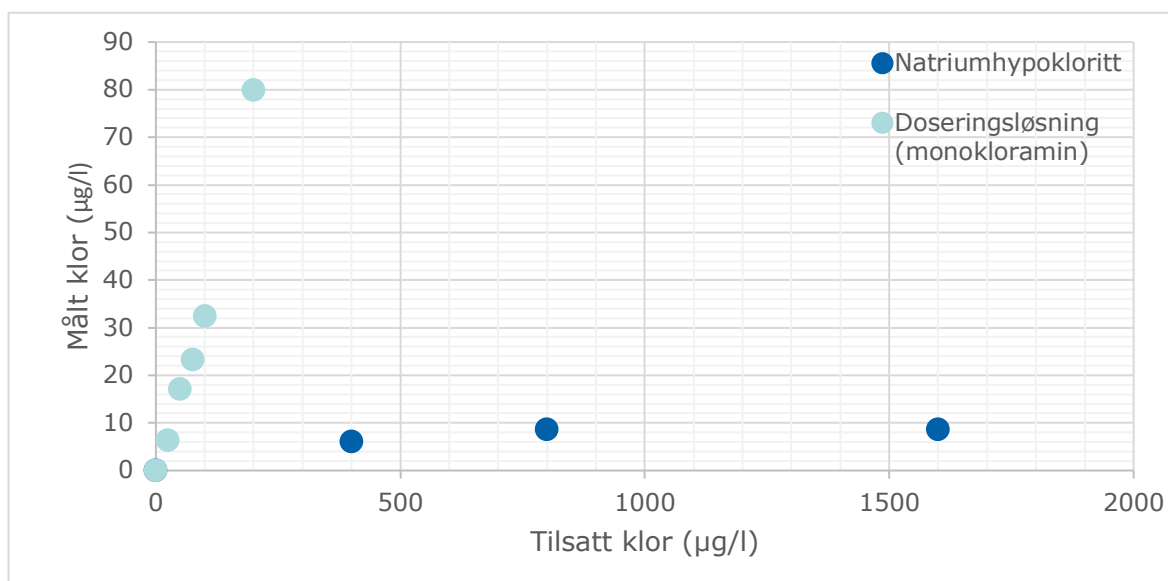
Tabell 2. Døde fisker per dato i arbeidspakkene «Effekter på *G. salaris*» og «Fysiologiske effekter hos laks». *Forårsaket av pumpestans.

	Effekter på <i>G. salaris</i>					Fysiologiske effekter hos laks				
	Kontroll	St. 1	St. 2	St. 3	St. 4	Kontroll	St. 1	St. 2	St. 3	St. 4
20.09.2017	1									
21.09.2017					1					
22.09.2017	2	1								
23.09.2017									17*	
24.09.2017		1		1						
28.09.2017		2								
29.09.2017		1								

3 Resultater

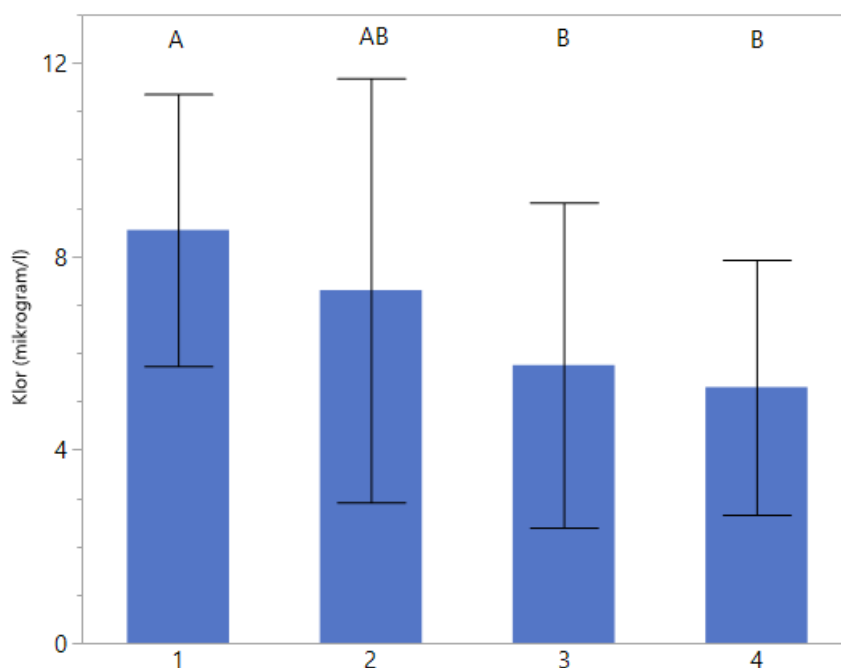
3.1 Vannkjemi

Titreringsforsøket med natriumhypokloritt og den feltblandede løsningen med monokloramin viste at konsentrasjoner av aktivt klor på opptil 1,6 mg/l tilsatt som hypokloritt, raskt ble redusert (Figur 10). Med monokloramin-doseringsløsningen holdt derimot 25-35 % av tilsatt klor seg på aktiv form selv ved lave doser. Responsen var tilnærmet lineær for monokloramin.



Figur 10. Målt klorkonsentrasjon (aktiv total) som funksjon av dose tilsatt som natriumhypokloritt eller monokloramin. Tid mellom tilsetning av kjemikalier og gjennomført analyse var kort (< 10 min).

Ønsket tilsatt klorkonsentrasjonen i elvevannet var 30 µg/l. I følge Figur 10 skulle dette gi i underkant av 10 µg klor/l i elvevannet ved stasjon 1, minus det som eventuelt går tapt ved lysnedbrytning og reaksjon med substrat. Målingene av aktivt klor fra stasjon 1 ga imidlertid ingen holdepunkter for at reduksjonen av klor i løpet av de første minuttene var vesentlig høyere i elva Glitra (Figur 11) enn i laborieprøvene (Figur 10). Konsentrasjonen av aktivt klor sank noe nedover til stasjon 4, men mindre enn forventet (Figur 11). Resultatavviket mellom triplikatene fra stasjon 1 viste i gjennomsnitt et standardavvik på 18 prosent og indikerer betydningen av tilfeldige feil ved prøvetaking og analyse.



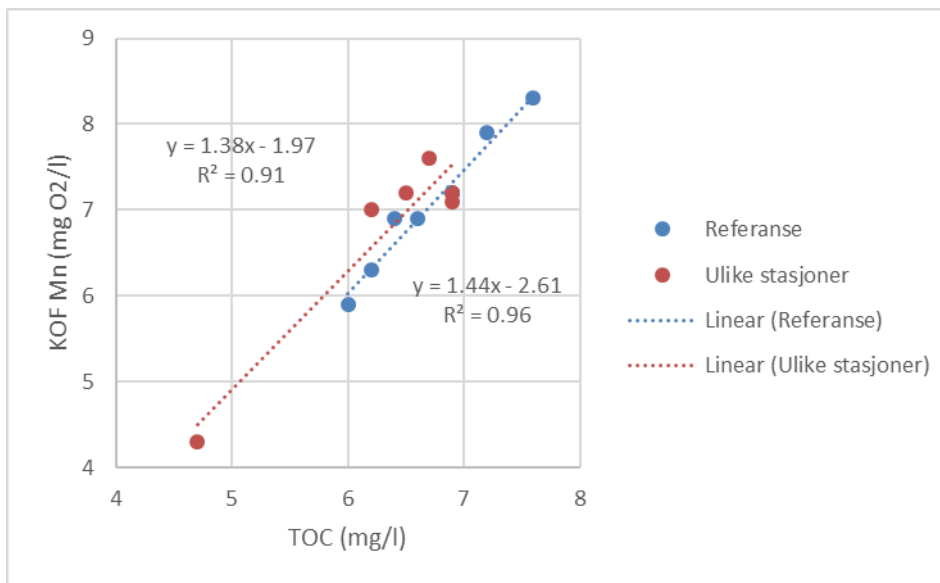
Figur 11. Målte konsentrasjoner av aktiv klor (aktiv total) ved stasjon 1, 2, 3 og 4 gjennom forsøket. Søylene viser gjennomsnitt med standardavvik. Statistisk signifikante forskjeller ($p < 0,05$) i nivåer mellom stasjoner er markert med bokstav (A, B, AB). Ved stasjoner som ikke er forbundet med felles bokstav, var det signifikant forskjell ($p < 0,05$) på nivåene¹.

Absorbansen av lys med bølgelengde 510 nm før tilsetning av fosfatbuffer og DPD var høyere i prøver fra stasjon 3 og 4 enn i prøver fra stasjon 1, 2 og referanse. Dette kan ha medført feilaktig høye målinger for stasjon 3 og 4. Det ble tatt én enkelt prøveserie den 27. september for å undersøke andre egenskaper og stoffer som kunne tenkes å påvirke klormålingene. Vannet i Glitra er etter norske forhold kalkrikt med pH nærmere 8 og relativt høy konsentrasjon av organisk materiale (Tabell 3). Forskjellene mellom stasjonene var små. Det ble heller ikke registrert store variasjoner i vannkjemi gjennom forsøksperioden. Både total organisk karbon (TOC) og kjemisk oksygenforbruk med permanganat (KOF Mn) som oksidasjonsmiddel ble bestemt for å undersøke om det var forskjell på reaktiviteten til det organiske materialet mellom stasjoner og gjennom forsøksperioden. Resultatene var nært korrelert (Figur 12) noe som i grove trekk indikerer stabil sammensetning av det organiske materialet. Vannet i Stampabekken hadde betydelig lavere konsentrasjoner av kalsium og jern og noe mer mangan enn vannet fra Glitra. Det var små forskjeller i vannkjemi ved stasjonene 1-4 (Tabell 3).

¹ Resultatene fra hver stasjon var tilnærmet normalfordelt. Enveis ANOVA $F(3,82) = 5,068$, $p = 0,0029$) viste at det var statistisk signifikante forskjeller mellom gruppene. Tukeys HSD-test ($p = 0,05$) ble brukt til å finne ut for hvilke grupper som var signifikant forskjellige.

Tabell 3. Vannkjemi under forsøksperioden. Analysene av jern, kalsium, mangan, TOC og KOF ble gjort av Eurofins. Konduktivitet, pH, temperatur og turbiditet er målt in situ.

Navn	Dato	Jern (µg/l)	Kalsium (mg/l)	Mangan (µg/l)	TOC (mg/l)	KOF Mn (mg O ₂ /l)	Konduktivitet (µS/cm)	Turbiditet (NTU)	pH	Temperatur (° C)
Glitra Ref	19.09.2017	65	15	1,0	6,2	6,3				
Glitra elv	19.09.2017						88	0,7	7,80	10,4
Glitra elv	20.09.2017						85	0,9		9,8
Glitra elv	21.09.2017						74	1,0		9,2
Glitra Ref	22.09.2017				7,2	7,9				
Glitra elv	22.09.2017						75	1,0		9,5
Glitra Ref	23.09.2017						73	1,0		10,4
Glitra Ref	24.09.2017				6,6	6,9				
Glitra elv	24.09.2017						70	0,9		10,4
Glitra Ref	25.09.2017				7,6	8,3				
Glitra elv	25.09.2017						65	0,8	7,69	10,8
Glitra Ref	26.09.2017				6,9	7,2				
Glitra Ref	27.09.2017	84	11	1,1	6,9	7,2				
Glitra Ref	28.09.2017	74	11	1,0	6,4	6,9				
Glitra elv	28.09.2017						69	0,9	7,76	10,5
Glitra Ref	29.09.2017	68	11	1,0	6,0	5,9				
Glitra elv	29.09.2017						68	0,7	7,77	9,6
Glitra elv	30.09.2017						65	0,8	7,72	9,0
St. 1	27.09.2017	85	12	1,0	6,7	7,6				
St. 2	27.09.2017	82	13	1,0	6,9	7,1				
St. 2	27.09.2017	79	13	1,2	6,5	7,2				
St. 4	27.09.2017	72	15	1,9	6,2	7,0				
Stampabekken	09.10.2017	23	33	5,1	4,7	4,3				



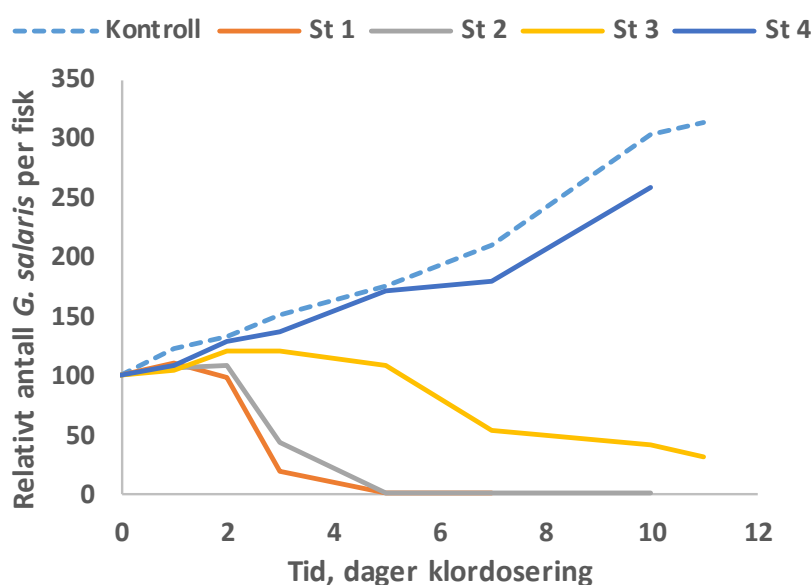
Figur 12. Korrelasjoner mellom kjemisk oksygenforbruk med permanganat (KOF Mn) og total organisk karbon (TOC) ved referansestasjonen gjennom forsøksperioden (blå) og ved ulike stasjoner på samme tid den 27. september (blå).

3.2 Effekter på *G. salaris*

Gjennomsnittlig abundans for *G. salaris* ved prøveuttakene på de forskjellige stasjonene er presentert som reelle summer i Tabell 4 og som relativ prosentvis sammenligning i Figur 13. Etter smitting av laksungene med *G. salaris* varierte infeksjonen i de fem gruppene fra gjennomsnittlig abundans på 122,3 i referansegruppen til 161,6 i gruppen på stasjon 4. Ett døgn etter at kloramindoseringen ble startet hadde abundansen økt i alle gruppene. Dette skyldes med stor sannsynlighet at doseringspumpen for hypokloritt hadde stoppet i løpet av natten, og at forsøkskarene dermed ikke fikk tilført kloramintilsatt vann som planlagt. Pumpen ble startet på formiddagen den 20. september. Dagen etter ble det observert en reduksjon i antall *G. salaris* ved stasjon 1 og 2 sammenlignet med i referansegruppen og ved stasjon 3 og 4. De påfølgende dagene ble parasittantallet på laksungene ved stasjon 1 og 2 kraftig redusert, og det ble også observert en reduksjon i abundans ved stasjon 3. Ved stasjon 1 ble det registrert null parasitter ved telling fem dager etter oppstart. På stasjon 2 ble det påvist totalt fem *G. salaris*-individer på dag fem. Her ble det registrert null parasitter på dag syv. For stasjon 1 og 2 er det imidlertid sannsynlig at infeksjonen forsvant på dagen mellom tellinger, altså henholdsvis dag fire og seks. Ved stasjon 3 forsvant ikke infeksjonen i løpet av forsøket, selv om det var en sterk nedgang i infeksjon de siste dagene i forsøksperioden (Figur 13). Ved stasjon 4 var infeksjonsforløpet tilnærmet likt som i referansegruppen, hvor det var stabil økning hele veien.

Tabell 4. Utvikling i gjennomsnittlig abundans for infeksjonen med *G. salaris* på stasjonene som hadde eksponering for klorholdig vann (stasjon 1- 4) og referansestasjonen under forsøkene i september 2017. *Den 30. september ble fiskene avlivet og konserverert på etanol for senere undersøkelse for *G. salaris*. Strek (-) indikerer at fiskene ikke ble undersøkt fordi parasittinfeksjonen var borte ved forrige undersøkelse.

Dato	Dag nr.	Referanse	Stasjon 1	Stasjon 2	Stasjon 3	Stasjon 4
19.sep	0	122,3	139,9	141,9	122,8	161,6
20.sep	1	150,6	155,0	152,0	129,0	175,6
21.sep	2	162,7	137,2	153,1	147,1	208,0
22.sep	3	184,7	27,5	61,9	148,5	219,9
24.sep	5	215,3	0	0,5	134,3	276,4
26.sep	7	257,6	-	0	66,1	290,7
29.sep	10	370,1	-	0	49,8	417,6
30.sep	11	384*	-	-	39,4*	-



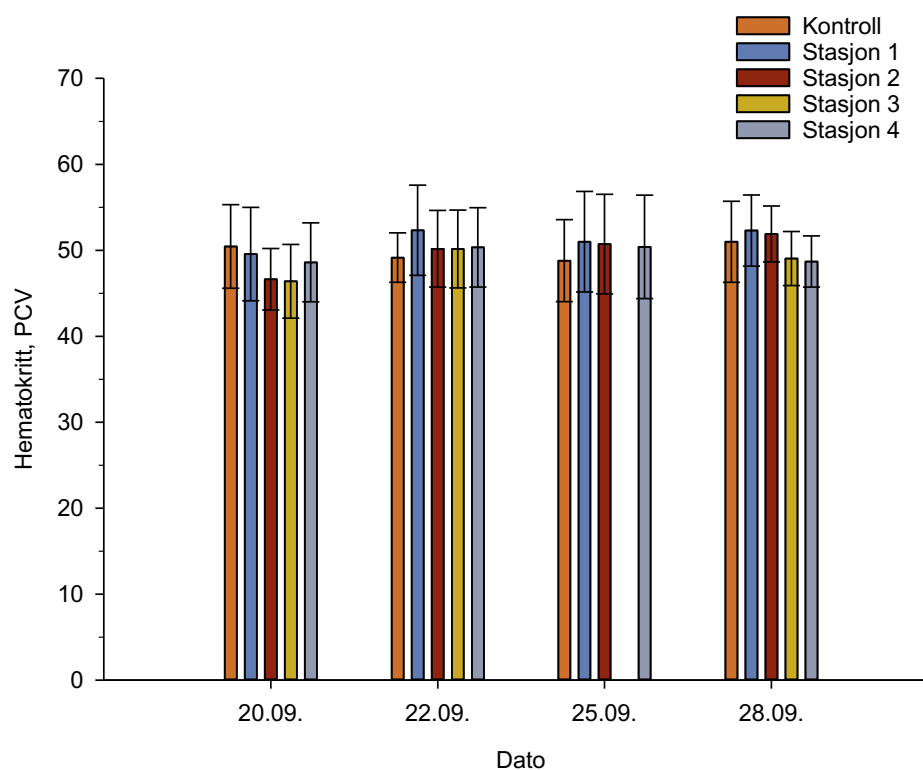
Figur 13. Utviklingen i relativ gjennomsnittlig abundans (prosentvis endring) for infeksjonen med *G. salaris* på stasjonene som hadde eksponering for klorholdig vann (stasjon 1- 4) og referansestasjonen.

3.3 Fysiologiske effekter hos laks

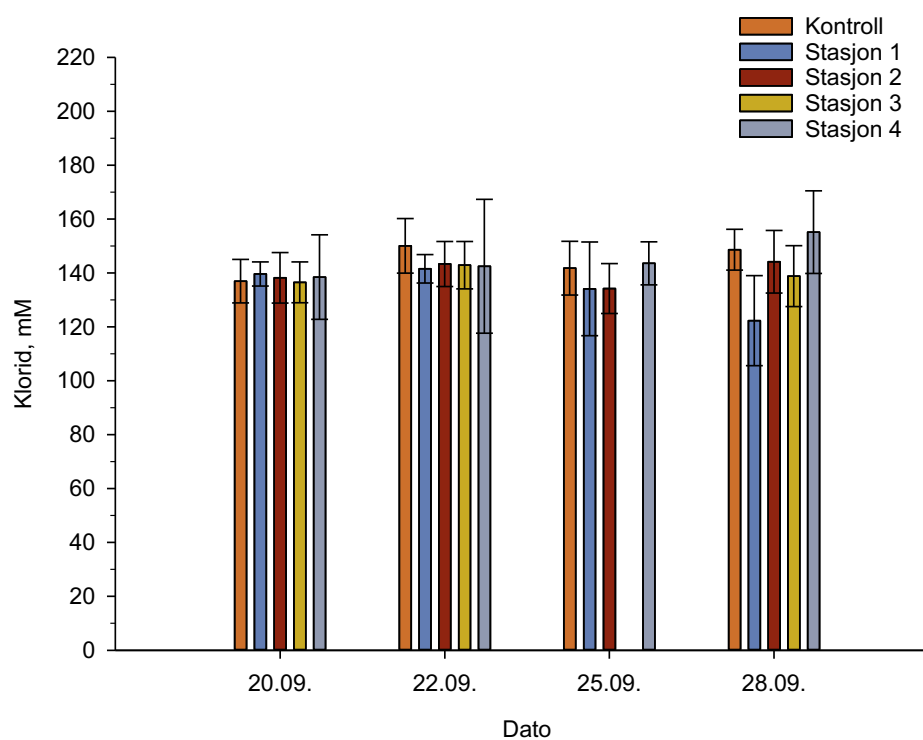
3.3.1 Blodanalyser

Det var ingen signifikante forskjeller i hematokritt mellom de eksponerte gruppene og kontrollgruppen. Det var heller ingen signifikante trender i hematokritt innenfor hver gruppe gjennom forsøket (parvis post-hoc test basert på Hotelling's p-verdier med sekvensiell Bonferroni-justering) (Figur 14).

Ved siste prøveuttak på stasjon 1, den 28.09., var plasmakloridverdien tilsynelatende lavere enn ved de andre uttakene i samme gruppe (Figur 15). Verdien er imidlertid ikke signifikant ved konservativ testing (sekvensiell Bonferroni-justering).



Figur 14. Verdier for hematokritt (% pakket cellevolum (PCV)) i blodprøver fra fisk i doseringsforsøk med monokloramin i Glitra, september 2017. Verdiene er gitt som gjennomsnittsverdi (\pm standardavvik) per stasjon (referanse og stasjon 1 – 4) per dato for prøvettak.



Figur 15. Verdier for plasmaklorid (millimolar) i blodprøver fra fisk i doseringsforsøk med monokloramin i Glitra, september 2017. Verdiene er gitt som gjennomsnittsverdi (\pm standardavvik) per stasjon (referanse og stasjon 1 – 4) per dato for prøvettak.

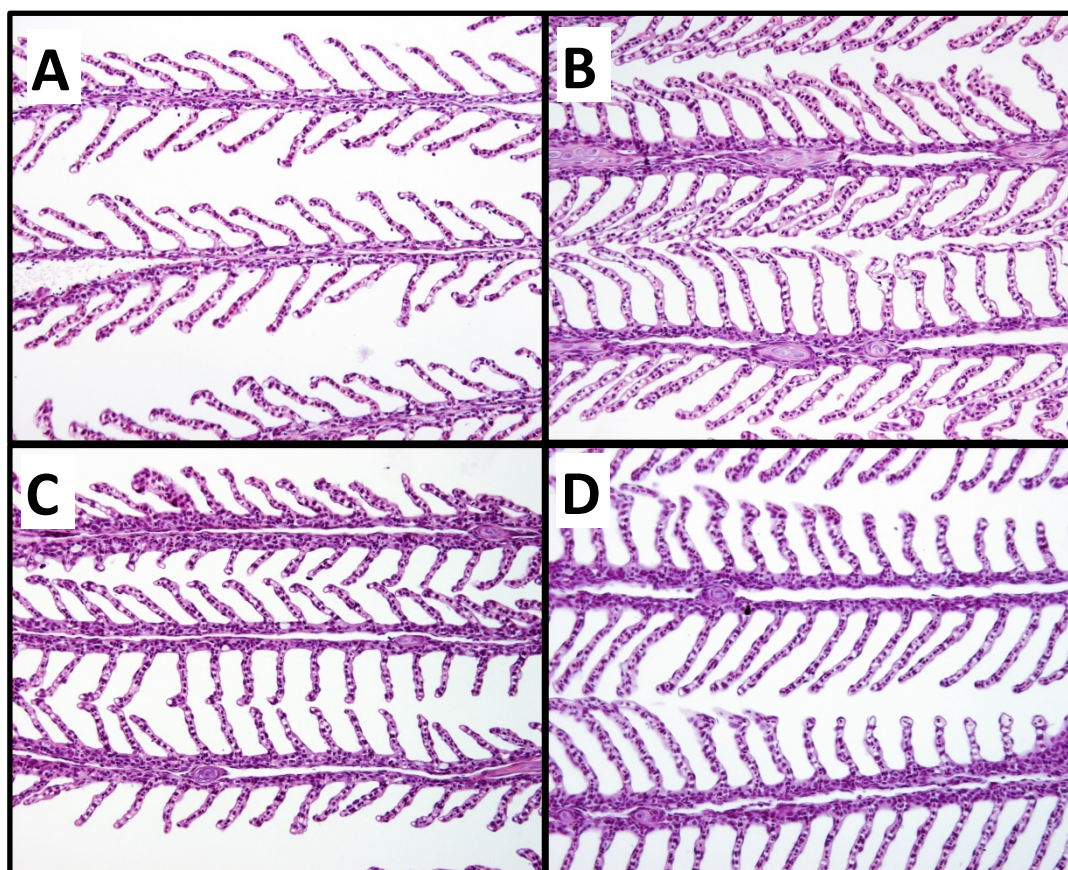
3.3.2 Gjelleanalyser

Ved histologiske vurderinger av gjeller fra laksunger ved prøveuttaket etter ni dager med kloreksponering ble gjellene fra fisk i alle forsøksgruppene, inkludert kontrollgruppen vurdert som friske. Det ble ikke observert forskjeller mellom gruppene som kan relateres til klorbehandlingen, men seks av ti fisker i kontrollgruppen hadde basofilt materiale klistret til lamellene. Det er ikke gjort forsøk på å ytterligere identifisere dette materialet. Det er imidlertid påfallende at det ikke ble funnet slik materiale på fiskene i de kloramineksponerte gruppene.

To fisk ved henholdsvis stasjon 1 og 2 fikk påvist sparsomt ødem mellom pilar- og epitelceller i sekundærlamellene (Tabell 5).

Tabell 5. Resultater fra undersøkelser av HE-farget gjellevevsnitt fra prøveuttaket ni dager ut i klorbehandlingsperioden.

	Referanse	St 1	St 2	St 3	St 4
Uten anmerkninger	10	9	9	10	Ikke analysert
Sparsomt ødem		1	1		Ikke analysert



Figur 16. HE-farget gjellevevsnitt fra fisk i kontrollgruppen (A), Stasjon 1 (B), Stasjon 2 (C) og Stasjon 3 (D) ved siste prøveuttak, ni dager inn i perioden med klor dosering. Foto: Mona Gjessing/Veterinærinstituttet

4 Diskusjon

Feltforsøket i Glitra viste at kloramindosering direkte i en naturlig elv kan fjerne *G. salaris* fra laksunger i løpet av fem til sju dager uten vesentlige negative effekter på laksunger eller bunndyrsamfunnet i elva. Tilsetning av klor i elva hadde svært god effekt mot *G. salaris*, i likhet med det som tidligere er vist i laboratorieforsøk (Hagen mfl. 2014) og i forsøk med naturlig elvevann fra Drammenselva (Hagen mfl. upubliserte data). Ved stasjon 1 og 2 forsvant alle *G. salaris* fra laksen etter henholdsvis fem og sju dager. I løpet av den 11 dager lange doseringsperioden ble antall parasitter på fisken redusert til 32 % av startinfeksjonen ved stasjon 3. I forsøk gjennomført ved Drammenselva i 2015 forsvant *G. salaris*-infeksjonen etter fire og seks dagers eksponering for 30 µg klor/l ved henholdsvis 10 og 80 minutters oppholdstid. Ved 120 minutters oppholdstid var det fortsatt igjen fire *G. salaris* på fisken etter 14 dagers behandling. Til sammenlikning var den beregnede «oppholdstiden» (tilsvarer transporttiden fra doseringspunkt til respektive stasjon) for vannet i forsøket i Glitra på sju minutter for stasjon 1, 20 minutter for stasjon 2 og 80 minutter for stasjon 3. Nedgangen i antall *G. salaris* ved stasjon 1 og 2 i Glitra var svært lik effekten som ble observert ved 10 minutters oppholdstid i forsøkene fra 2015. I utgangspunktet vil det være rimelig å anta at den noe reduserte effekten ved stasjon 3 sammenliknet med effekt ved tilsvarende oppholdstider i 2015-forsøkene, skyldes en kombinasjon av nedbryting av kjemikaliet og fortynning som følge av vanntilførsel nedover elveløpet. Vannføringsmålinger gjort under forsøksperioden viste en 15 % økning i vannføringen mellom stasjon 1 og 2, fra Stampabekken. Relativt liten forskjell i effekt på parasitten mellom stasjon 1 og stasjon 2 kan skyldes at vannet fra Stampabekken ikke var fullstendig innblandet i Glitra ved stasjon 2 og at fortynningseffekten først gjorde seg fullt ut gjeldende på stasjon 3. Fortynningen er imidlertid liten, og konservativt må det antas at reduksjonen i effekt mot parasitten mellom stasjon 2 og stasjon 3 i hovedsak skyldes nedbryting av kjemikaliet.

Det ble observert en gradient i effekt mot *G. salaris* fra stasjon 1, nærmest doseringspunktet og nedover elva. Ved stasjon 3 ble antall *G. salaris* på fisken redusert til ca. en tredjedel av startinfeksjonen i løpet av forsøksperioden. Dette viser at det fortsatt var en effekt av klor mot *G. salaris* etter 80 minutters oppholdstid i elva og med en klorkonsentrasjon som var redusert med minimum 15 % i forhold til ved stasjon 1. For en eventuell videre utvikling av en metode med klor som behandling kjemikalium mot *G. salaris* vil dette være svært nyttig kunnskap. Ytterligere en stasjon for registrering av effekt mot *G. salaris* mellom Stasjon 2 og 3 ville kunne gi svar på varighet av effekt mot parasitten med høyere grad av oppløsning.

Ved dosering av monokloramin til en elv, der klor i vannet kan reagere med bunnssubstrat slik som mose og annet organisk materiale, ville man kunne forvente at reaksjonen med substrat «forbruker» en del klor og dermed reduserer konsentrasjonen av klor i elvevannet. Hvis konsentrasjonen av klor i slike tilfeller blir for lav, vil effekten mot parasitten reduseres. Det er kjent fra kjemisk behandling med aluminiumsulfat at slik inaktivering av virkestoffer kan forekomme. I dette forsøket var ønsket tilsatt klorkonsentrasjon i elvevannet 30 µg/l, noe som uten lysnedbryting eller reaksjon med substrat skulle gi i underkant av 10 µg aktiv klor/l i elvevannet ved stasjon 1. Midlere konsentrasjon ved stasjon 1 var i underkant av 10, og ved dette lave nivået var det ikke mulig å kvantifisere betydningen av slike elvespesifikke faktorer. Konsentrasjonen av aktivt klor sank også noe nedover til stasjon 4, men mindre enn forventet. Årsaken til dette er kan være en feilkilde under klorbestemmelsen, og faktiske konsentrasjoner kan ha vært noe lavere enn det resultatene viser. Dette støttes av observert infeksjonsutvikling til *G. salaris* ved stasjon 4 som ikke viste noen reduserende effekt på parasittinfeksjonen. Dette tilsier at det ikke var tilstrekkelig aktivt klor i vannet ved denne stasjonen.

Det er godt kjent at klorforbindelser er giftig for fisk (Larson mfl. 1978), men det er stor variasjon i litteraturen med hensyn på tålegrenser for ulike fiskearter, særlig ved lave klorkonsentrasjoner. Det er også uklarerheter rundt faktiske grenseverdier for enkelte arter, da det er rapporter forskjellig tålegrense for samme fiskeart er ulike studier.

Gjennom hele forsøksperioden ble all fisken i karene observert minst to ganger daglig. I denne forbindelse ble det ikke påvist nevneverdig avvikende adferd eller andre forhold som skulle tilsi at fisken var negativt påvirket av kloreksponeringen.

Dødeligheten i fysiologiforsøket ved stasjon 3 den 23. september skyldes en vannpumpestopp, og er ikke relatert til belastning som følge av klorbehandlingen.

Under forsøket døde det til sammen 10 fisk i karene der det ble holdt laksunger med kjent *G. salaris*-infeksjon. Av disse døde sju fisk i løpet av de seks første dagene, samtlige i forbindelse med bedøvelse og parasitt-telling i laboratoriet. Tre av fiskene var i kontrollgruppen. De tre øvrige fiskene som døde senere i forsøket stammet alle fra kar 1, og av disse døde to og en fisk på henholdsvis dag ni og 10; fire og fem dager etter siste telling i dette karet. Når det totalt døde fem fisk i kar 1 må det derfor stilles spørsmål om hvorvidt dette alene kan knyttes til kloreksponeringen. Siden det var dødelighet i alle grupper unntatt kar 2, og i kombinasjon med det faktum at tre fisk døde i kontrollgruppen, er det nærliggende å anta at eksponering for klor ikke er hovedårsaken til den observerte dødeligheten i forsøket som helhet. Det var kun dødelighet blant fisken som jevnlig ble undersøkt for *G. salaris*. Disse fiskene ble bedøvet og håndtert ved hver undersøkelse. Selv om bedøvelse og håndtering ble gjort skånsomt, kan det ikke utelukkes at denne håndteringen har bidratt til dødeligheten, eventuelt i kombinasjon med den økte belastningen som følge av klorbehandlingen. Fraværet av dødelighet blant fisken som ble holdt i «fysiologikarene» ved de samme stasjonene støtter antakelsen om at ikke kloreksponering alene er årsak til dødeligheten. Her må imidlertid også størrelsesforskjellen tas i betraktning, ved at det i førstnevnte forsøk var brukt 0+ laks med gjennomsnittsstørrelse 70 mm og i sistnevnte ble brukt 1+ laks med gjennomsnittsstørrelse 169 mm. Ved eksponering for surt aluminium er det kjent at større fisk er mer følsomme for kjemikaliet enn det liten fisk er. I forbindelse med klorbehandling kan det imidlertid ikke utelukkes at dette forholdet er motsatt. Konklusjonen blir derfor at tålegrense for klor hos fisk av ulik størrelse bør følges opp med nærmere undersøkelser.

Klor er et oksidasjonsmiddel som kan ha en korrosiv virkning på biologiske overflater, for eksempel på fiskegjeller. Dette antas å kunne medføre fysiologiske responser slik som endret blodkjemi og fysiske endringer i gjelleoverflaten. I dette forsøket ble det ikke påvist signifikante endringer i plasmaklorid (Cl⁻). Det ble registrert en tilsynelatende reduksjon i Cl⁻-nivå ved stasjon 1 sammenlignet med hos kontrollfisken mot slutten av forsøket, men endringen var ikke signifikant, og i tillegg lå gjennomsnittsverdiene innenfor det som er beskrevet som normalverdier for laks i ferskvann (Arnesen mfl. 1998; Evans, 1979; Evans, 1993; Handeland mfl. 1998; Handeland mfl. 2000; Iversen & Eliassen, 2012; Iversen mfl. 2009). Det var imidlertid enkeltfisk som hadde lavere kloridverdier enn det som er beskrevet som normalverdier. Dette indikerer at det er nødvendig å gjøre oppfølgende forsøk for å utrede de fysiologiske effektene av klormainbehandling i mer detalj.

Det var ingen signifikante endringer i hematokritt hos fisk ved noen av stasjonene gjennom forsøket, men gjennomsnittlig hematokritt lå generelt noe høyere enn det som er beskrevet i Sandnes mfl (1988) som normalverdier for laks. Dette kan skyldes en generell økning i størrelsen (svelling) av røde blodceller som følge av økt adrenalinkonsentrasjon (Heming mfl. 1987) på grunn av den økte stressfaktor forsøket representerer, men bedøvelsen ved avlivning kan også være en medvirkende årsak til de forhøyede hematokrittverdiene (Phuong mfl. 2017).

Det var ingen vesentlige histologiske endringer på fiskens gjeller som følge av klorbehandlingen, og gjellene ble vurdert som friske. Undersøkelser av gjeller fra fisk ved siste prøveuttak, ni dager ut i behandlingen, viste imidlertid sparsomt ødem på to individer. Det er godt dokumentert at sterke oksidasjonsmidler kan skade fiskegjeller, og skadene kan være synlige som blødninger, hyperplasi, sammenvoksinger av lameller og nekroser (Speare mfl. 1999). Slike skader ble imidlertid ikke påvist i vårt forsøk. Dette indikerer at kloreksponering der det tilsettes ca. 30 µg klor/l som monokloramin i en periode på 10 dager relativt sett er en skånsom behandling for laks.

I bunndyrrapporten (Eriksen mfl. 2018) kommer det frem at kloraminbehandlingen i Glitra samlet sett hadde liten sporbar effekt på bunnfaunaen, og vanlig tiltaksrettet overvåking i form av sparkeprøver hadde ikke fanget opp effekter av kloreksponeringen. Ved hyppig prøvetaking og ulike prøvetakingsmetoder (sparkeprøver, drivprøver og Surberprøver), ble det likevel påvist effekter av behandlingen. Den tydeligste effekten ble funnet for døgnfluefamilien Baetidae, som hadde økte tettheter i drivprøver, reduserte tettheter i Surberprøver samt lavere dominans i sparkeprøver utover i behandlingsperioden. Et interessant moment er likevel at både aluminiums- og rotenonbehandlinger har forårsaket nokså umiddelbare responser i drivtettheter for Baetidae (Eriksen mfl. 2008), mens ingen slike effekter ble påvist de første fire timene av kloraminbehandlingen (Eriksen mfl. 2018). Det ser derfor ut til at effekten kommer senere, og funnene samsvarer med funn fra laboratorieforsøk, der følsomheten for klor økte med eksponeringstiden (Williams mfl. 2003).

4.1 Oppsummering

Hovedmålet i dette prosjektet har vært å utrede om monokloramin kan egne seg som bekjempelsesmiddel i kampen mot *G. salaris*. Forsøkene har vist at klor som monokloramin har god behandlende effekt mot parasitten når kjemikaliet tilsettes og transporteres med vannmassene i et naturlig vassdrag, og at effekten fra ett doseringspunkt vedvarte i minimum 80 minutter. I tillegg ble det ikke observert vesentlige negative effekter på laks og bunndyrsamfunnet i vassdraget under kloraminbehandlingen. Doseringsteknologien og metodikken for produksjon av monokloramin i felt fungerte tilfredsstillende og sikret en stabil konsentrasjon av kjemikaliet i elvevannet gjennom forsøket. Konsentrert hypokloritt (17 %) og ammoniumklorid er kommersielle produkt som er tilgjengelig i store kvanta, og det kreves svært lave konsentrasjoner av klor for å fjerne *G. salaris*. Dette gjør klor logistisk godt egnet til behandling i vassdrag med høy vannføring.

Kloramin fremstår således som en god kandidat for videre utvikling av en behandlingsmetode mot *G. salaris*.

5 Referanser

Anon (2014). Handlingsplan mot lakseparasitten *Gyrodactylus salaris* for perioden 2014-2016. Miljødirektoratet 2014. 114 s.

Arnesen, A. M., Johnsen, H. K., Mortensen, A. & Jobling, M. (1998). Acclimation of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts to 'cold' sea water following direct transfer from fresh water. *Aquaculture*, 168, 351-367.

Eriksen, T. E., (2008). Korttidseffekter på bunndyr i elv av kjemisk behandling mot *Gyrodactylus salaris*. Master thesis (in Norwegian). Norwegian University of Science and Technology:74.

Eriksen, T. E. (2018). Korttidseffekter på elvelevende bunnfauna av kloraminbehandling mot parasitten *Gyrodactylus salaris* i Glitra. NIVA-rapport 7237-2018. 28 s.

Evans, D. H. (1979). Fish. In: Maloiy, G. M. O. (ed.) *Comparative physiology of osmoregulation in animals*, Vol. 1. Academic Press, London, p. 305–390

Evans, D. H. (1993). Osmotic and ionic regulation [in fish]. *CRC Marine science series*, p. 315-341

Hagen, A.G., Hytterød, S., & Olstad, K. (2014). Low concentrations of sodium hypochlorite affect population dynamics in *Gyrodactylus salaris* (Malmberg, 1957); Practical guidelines for the treatment of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parasite. *Journal of Fish Diseases* 37, 1003-1011.

Hagen, A.G., Hytterød, S. Garmo, Ø. & Olstad, K. Upublisert. GyroKlor: Klorforbindelser til kjemisk behandling mot lakseparasitten *Gyrodactylus salaris*. Kortrapport til Miljødirektoratet etter tilskudd til tiltak 2015, ref nr. 15RFBE7C.

Handeland, S. O., Berge, Å., Björnsson, B. T. & Stefansson, S. O. (1998). Effects of temperature and salinity on osmoregulation and growth of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts in seawater. *Aquaculture* 168(1), 289-302.

Handeland, S. O., Berge, Å., Björnsson, B. T., Lie, Ø., Stefansson, S. O. (2000). Seawater adaptation by out-of-season Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts at different temperatures. *Aquaculture* 181, 377-396.

Heming T.A., et al. (1987). Effects of adrenaline on ionic equilibria in red blood cells of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Fish Physiol Biochem.* Mar;3(2):83-90.

Hindar, A., Hagen, A.G., Hytterød, S., Høgberget, R., Moen, A. & Olstad, K. (2015). Tiltak med AIS for utryddelse av lakseparasitten *Gyrodactylus salaris* i Lærdalselva i 2011 og 2012. NIVA-rapport 6701-2015. 75 s.

Hytterød, S., Hansen, H., Johansen, K. og Larsen, S. (2016). The surveillance programme for *Gyrodactylus salaris* in Atlantic salmon and rainbow trout in Norway 2016. Surveillance programmes for terrestrial and aquatic animals in Norway. Annual report 2016. Oslo: Norwegian Veterinary

Institute 2017. 4s.

Hytterød, S., Hansen, H., Johansen, K. og Larsen, S. (2018). The surveillance programme for *Gyrodactylus salaris* in Atlantic salmon and rainbow trout in Norway 2017. Surveillance programmes for terrestrial and aquatic animals in Norway. Annual report 2017. Oslo: Norwegian Veterinary Institute 2018. 4s.

Iversen, M. & Eliassen, R. (2012). Stressovervåkning av settefiskproduksjonen i Mainstream Norway AS 2009 - 2011. Stresskartlegging av laksesmolt (*Salmo salar* L.), og effekten av stressreducerende tiltak på stressnivå, dyrevelferd og produksjonsresultatet. UiN-rapport nr 05/2012. 54 pp.

Iversen, M., Eliassen, R.A. & Finstad, B. (2009). Potential benefit of clove oil sedation on animal welfare during salmon smolt, *Salmo salar* L. transport and transfer to sea. *Aquaculture Research* 40, 233-241.

Larson G.L., Warren C.E., Hutchins F.E., Lamperti L.P., Schlesinger D.A. & Seim W.K. (1978). Toxicity of Residual Chlorine Compounds to Aquatic Organisms. United States Environmental Protection Agency, Ecological Research Series EPA-600/3/78/023, 105 pp.

Phuong, L.M., Damsgaard, C., Huong, D.T.T., Ishimatsu, A., Wang, T. & Bayley, M. (2017). Recovery of blood gases and haematological parameters upon anaesthesia with benzocaine, MS-222 or Aqui-S in the air-breathing catfish *Pangasianodon hypophthalmus*. *Ichthyological Research* 64, 84-92.

Sandnes, K, Lie, Ø & Waagbø, R. (1988). Normal ranges of some blood chemistry parameters in adult farmed Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Journal of Fish Biology* 32, 129-136.

Speare, D.J., Carvajal, V. & Horney, B.S. (1999). Growth Suppression and Branchitis in Trout Exposed to Hydrogen Peroxide. *Journal of Comparative Pathology* 120, 391-402.

Qiang, Z., Adams, C.D., (2004). Determination of Monochloramine Formation Rate Constants with Stopped-Flow Spectrophotometry. *Environ. Sci. Technol.* 38, 1435–1444.
<https://doi.org/10.1021/es0347484>

Williams, M. L., C. G. Palmer & A. K. Gordon, (2003). Riverine macroinvertebrate responses to chlorine and chlorinated sewage effluents - Acute chlorine tolerances of *Baetis harrisoni* (Ephemeroptera) from two rivers in KwaZulu-Natal, South Africa. *Water SA* 29(4):483-488.

NIVA: Norges ledende kompetansesenter på vannmiljø

NIVA gir offentlig vannforvaltning, næringsliv og allmennheten grunnlag for god vannforvaltning gjennom oppdragsbasert forsknings-, utrednings- og utviklingsarbeid. NIVA kjennetegnes ved stor faglig bredde og godt kontaktnett til fagmiljøer i inn- og utland. Faglig tyngde, tverrfaglig arbeidsform og en helhetlig tilnæringsmåte er vårt grunnlag for å være en god rådgiver for forvaltning og samfunnsniv.



Norsk institutt for vannforskning

Gaustadalléen 21 • 0349 Oslo
Telefon: 02348 • Faks: 22 18 52 00
www.niva.no • post@niva.no