

Vannkvalitet – laksefisk

Sigurd Stefansson, Universitetet i Bergen (UiB)

Medforfattere: Grete Bæverfjord, Akvaforsk, R. Nigel Finn og Sigurd Handeland, UiB, Bengt Finstad, NINA, Sveinung Fivelstad, Høgskolen i Bergen, Torstein Kristensen, Frode Kroglund og Trond Rosten, NIVA, Bjørn Olav Rosseland og Brit Salbu, Universitetet for Miljø og Biovitenskap, Hilde Toften, Fiskeriforskning, Olav Breck, Marine Harvest, Ellen Bjerkås, NVH, Rune Waagbø, NIFES.

Moderne produksjon av laksefisk foregår kan på mange måter betraktes som en industriell produksjon av fisk. Oppdrett av laksefisk er kjennetegnet av bl.a. høye fisketettheter, lavt spesifikt vannforbruk, bruk av høyenergifôr, hurtig vekst, redusert generasjonstid og styring av viktige miljøfaktorer i en årstidsuavhengig produksjon. Intensiteten i produksjonen er særlig høy i settefiskanleggene, der vannforbruket pr. kg fisk er vesentlig redusert på få år, og produksjonen opprettholdes ved bl.a. økt tilsetning av oksygen. Smoltproduksjonen foregår langs hele kysten i vannkilder med svært ulik råvannskvalitet, bl.a. varierer surhetsgrad og innholdet av metaller mye mellom anlegg og regioner. Fra næringen rapporteres det om problemer knyttet til deformiteter, sykdom og dødelighet på smolt etter utsett, og disse problemene settes i sammenheng med den økte intensiteten i produksjonen, bl.a. gjennom en forverring av vannkvaliteten. Forskningen på dette området de senere år har avdekket viktige sammenhenger mellom vannkvalitet og kvaliteten på den fisken som produseres. Høy tetthet, lavt spesifikt vannforbruk med bruk av oksygen fører bl.a. til en opphopning av karbondioksyd i karet, redusert pH og fare for å øke giftigheten av metaller i vannet. Tettheten i seg selv synes ikke å være den mest kritiske faktoren. Vi har vist at bl.a. aluminium kan ha negativ virkning på smoltkvaliteten ved svært lave konsentrasjoner, og at eksponering for surt vann/aluminium kan øke følsomheten for lakselus. Dårlig vannkvalitet øker også følsomheten for IPN, og en har observert økt forekomst av skjelettdeformiteter som følge av dårlig og variabel vannkvalitet. Forskningen har også bidratt til å definere grenseverdier for sentrale vannkvalitetsparametre.

Utviklingsstadier – særlig følsomme perioder

Laksefisk går gjennom viktige utviklingsmessige sprang fra befruktning gjennom embryogenese og klekking til frittlevende plommeseekkyngel og seinere parr. Etter en vekstperiode på flere måneder (år) går parren inn i en gjennomgripende forvandling til en smolt, preadaptert til sjøvann. Disse utviklingsstadiene kjennetegnes ved dyptgripende endringer i viktige organsystemer og funksjoner, noe som gjør fisken svært sårbar for forstyrrelser i miljøet. I dette avsnittet har vi tatt opp spesifikke problemstillinger knyttet til vannkvalitet under rognutvikling og smoltifiseringen.

Rogn

Under oogenesisen er plasmamembranen permeabel for lavmolekylære stoffer slik at bl.a. vann og ioner kan transporteres inn i oocytten. Etter befruktning og aktivering blir permeabiliteten for vann og ioner ekstremt lav (1, 2). Ytterst er lakseeget dekket av en sterk hinne (chorion) som bl.a. beskytter mot ytre mekanisk påvirkning. Chorion har høy permeabilitet for vann, ioner, NH_3 og gasser, men slipper ikke igjennom store

molekyler (3). Ved befruktningen og kontakt med ferskvann blir lakseeget aktivert, dvs. at de kortikale vesikler tømmer sitt innhold ut i spalten, det perivitelline rom (PVS), mellom plasmamembranen og chorion (kortikalreaksjonen). Siden peptidene fra de kortikale vesikler er for store til å passere gjennom porene i chorion, og de samtidig er negativt ladet ved normale pH verdier, vil det oppstå en likevekt som medfører en influks av vann og kationer til PVS. I den første timen etter gyting og befruktning vil derfor PVS øke i størrelse til det utgjør ca. 25 prosent av eggets totalvekt (4). Etter svellingen starter herdingen av chorion, i denne prosessen avgis det NH_4^+ hvilket kan være substrat for bakterievekst, eller gi direkte toksiske effekter ved lav vannutskifting. PVS danner et rom for embryoet å vokse i innenfor chorion. Størrelsen på PVS bestemmer hvor lenge embryoet kan utvikle seg før egget må klekke. Det er derfor viktig at både lav pH og visse salter (særlig Al^{3+} , men også Zn^{2+} , Mg^{2+} og SO_4^{2-}) ved lav konsentrasjon (1-5 mM) hemmer dannelsen av PVS (5). Innblanding av sjøvann til 1 ppt reduserer PVS med 50 prosent (4). Salteffekten på PVS skyldes en hemming av enzymene som splitter proteinet til små peptider ifm kortikalreaksjonen (6), mens pH effekten er antatt å henge sammen med kolloidenes netto ladning og dermed deres evne til å trekke andre ioner inn i PVS (7, 8).

Smolt – regulering av vann- og saltbalanse

De dramatiske endringene i sjøvannstoleransen som finner sted under smoltifiseringen er mer dyptgripende enn den størrelsesavhengige økningen i ionereguleringsevne gjennom yngel- og parrstadiet. I motsetning til de fleste andre euryhaline arter skjer utviklingen av sjøvannstoleranse mens laksen fortsatt er i ferskvann. Smolten utvikler trekk som er karakteristiske for saltvannsfisk og sies å være preadaptert til saltvann. Mitokondrierike 'kloridceller' i gjellene differensieres til nye former og øker i antall samtidig som cellene samles i grupper på de primære gjellefilamentene, mellom sekundærlamellene. Mellom kloridcellene og utløpere fra støtteceller dannes 'lekkende forbindelser'. Aktiviteten til enzymet Na^+, K^+ -ATPase fører til at Na^+ drives fra blodet ut i vannet. $\text{Na}^+, \text{K}^+, 2\text{Cl}^-$ -cotransporter (NKCC) sørger for transport av Cl^- inn i kloridcellen, for siden å transporteres ut av cellen gjennom spesielle Cl^- kanaler (Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR). K^+ 'resirkuleres' inn og ut av kloridcellene, dels gjennom aktiv kotransport med Na^+ og Cl^- , dels gjennom spesielle K^+ -kanaler. I timene etter overføring til sjøvann øker drikkeraten for å kompensere vanntapet. Overskuddet av toverdige ioner som Mg^{2+} og SO_4^{2-} skilles ut gjennom en mer konsentrert urin.

De dyptgripende endringene i mekanismene for ionetransport i gjellene gjør smolt spesielt utsatt for dårlig vannkvalitet. En alvorlig konsekvens er at de cellulære tilpasningene til ioneregulering i sjøvann rammes, selv om smolten tilsynelatende er normal og i stand til å opprettholde salt- og vannbalansen i ferskvann. En vil altså ikke få noe forvarsel om at smoltkvaliteten kan være kraftig redusert.

Vannkvalitet - virkninger, vannbehandling, tiltak

Rognstadiet

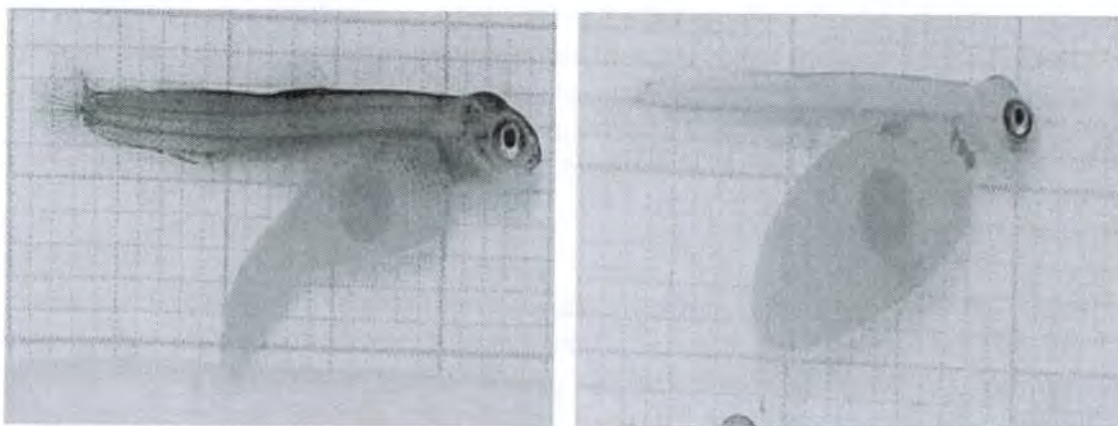
Studier viser at så lite som ett minutt innstrømning av vann med høyt innhold av Al og lav pH førte til redusert befruktning, økt dødelighet og deformiteter i sik (9). I innledende forsøk med laks ble tørrbefruktet rogn inkubert i vann med ulike O_2 og CO_2

trykk, og metaller fra befruktning til startfôring. Det ble observert en betydelig høyere dødelighet etter ca. 100 døgngader (dC) for de fleste testgrupper. Videre ble rogn fra AquaGen inkubert med ulik dosering av jern (Fe^{II} og Fe^{III}) fram til startfôring. I tillegg ble grupper under ellers god vannkvalitet utsatt for høye verdier av CO_2 (20 – 25 mg CO_2/L) og O_2 (120 og 150 prosent). Vanntemperaturen var under 7 °C. Befruktingen var 100 prosent i referansegruppene. Etter ca. 100 dC økte dødeligheten dramatisk i de fleste eksponerte gruppene, mens kontrollgruppene utviklet seg normalt. Foreløpige data tyder på klare negative effekter av både to- og tre-verdig jern og CO_2 , men liten tilleggseffekt av O_2 ved høyt CO_2 . I parallelle forsøk ble også opptak av isotoper av Fe, Mn og Cd og Zn fra svellevannet og inn i rognvæsken studert. Metallene kommer inn med svellevannet, men fortsetter å strømme inn i egget også etter at svellefasen er over. Dette understreker betydningen av god vannkvalitet under hele perioden fra befruktning til startfôring.

Yngel, parr og smolt

Aluminium (Al)

Al er vanlig forekommende i berggrunnen og frigjøres til overflatevann ved forvitningsprosesser. Sur nedbør medfører at mer Al løses ut og surt vann vil derfor normalt alltid ha høyt innhold av Al (11). Surt vann er ikke i seg selv det største problemet. For ørret må en under pH 4,6 for å få osmoreguleringsproblem, og for laks har en pH på 5,4 ikke skadet bestander (13) eller saltvannstoleranse (14) såfremt vannet ikke inneholder uorganisk Al. Som regel foreligger Al på en rekke former, bl.a. som frie ioner (Al^{3+}), organisk bundet (Al-org.), eller som uorganisk bundet til fluor (AlF^{2+}), eller som hydroksyder (AlOH^{2+} , $\text{Al}(\text{OH})_2^+$) (15). Toksisiteten synes å ligge til de uorganiske forbindelsene (kalt 'labilt Al' (LAl) eller uorganisk monomert Al, Al_i), som i første rekke utgjøres av Al-hydroksydene, mens organisk kompleksbinding reduserer Al-toksisiteten (15). Konsentrasjonen av organisk materiale er derfor viktig for giftigheten av Al, og ved høye humuskonsentrasjoner (høy total organisk karbon, TOC) vil en stor andel av Al foreligge organisk bundet, og derved være mindre giftig. Kalsiumkonsentrasjonen i vannet har også stor betydning for giftigheten av Al og andre metaller, fordi kalsium er et viktig element i cellemebranens permeabilitet.



Figur 1. Til venstre plommeseckyngel av laks i referanse vann. Til høyre plommeseckyngel eksponert for to-verdig jern. Til tross for like mange døgngader, er den jerneksponerte yngelen langt mindre utviklet enn referanse yngelen. Foto: Bjørn Olav Rosseland.

De negative effektene av Al for fisk er i første omgang knyttet til utfelling av de positivt ladete metallformene til det negativt ladete slimlaget på fiskegjellen. Disse utfellingene kan forårsake problemer ved å irritere gjellevevet og forårsake økt slimlag som kan påvirke respirasjonen. På lengre sikt kan selv lave konsentrasjoner av LAI ved moderat lav pH (rundt 6.0) gi redusert antall slimceller og endre slimegenskaper (16). Laks under smoltifisering får naturlig redusert antall slimceller (17). Endret permeabilitet øker krav til ionereguleringsmekanismene i kloridcellene. Al kan forårsake en direkte hemming av transportproteiner, og dermed redusere kapasiteten til ioneopptak i ferskvann (18, 19, 20, 21) og ioneutskilling i sjøvann (22, 23).

Det er en nær sammenheng mellom Al i vannet og akkumulering av Al på gjellene (24ab, 25, 21, 26). Ved høye konsentrasjoner dør fisken som følge av svikt i respirasjon og ioneregulering (27). Lave, ikke-dødelige konsentrasjoner av Al kan påvirke etablering av saltvannstoleranse. For laksefisk er derfor både perioden forut for smoltifisering (vinter) og selve smoltifiseringen (vår) meget kritisk, særlig siden sure episoder ofte sammenfaller med smoltifiseringen. Det er det klimatiske forløpet om vinteren i form av sjøsaltepisoder, avsmelting eller snømengder som vil være bestemmende for kvaliteten på avrenningsvannet senere på våren (28). Surt vann og Al kan også virke indirekte ved at de forstyrrer cellefunksjon (29), celledifferensiering (30), integriteten til cellevevet (31, 29) og gjennom dannelsen av frie radikaler som reagerer med lipider (fett) i cellemembranen og dermed endrer arbeidsbetingelsene for transportproteinene i membranen (32, 33, se også diskusjon om gasser).

En konsentrasjon på 15-20 $\mu\text{g LAI/L}$ anses som en grenseverdi for skader på laksesmolt (34) i ferskvannsfasen, mens verdier ned mot 10 $\mu\text{g LAI/L}$ har vist seg å kunne påvirke sjøvannstoleransen til laksesmolt (35). I typisk ionefattige vannkvaliteter med lav TOC anses $\leq 10 \mu\text{g Al/g}$ (tørrvekt gjelle) som bakgrunnsnivå (36, 37). Laksesmolt må ha over 100-200 $\mu\text{g Al/g}$ for å se fysiologiske endringer og over 350 $\mu\text{gAl/g}$ for dødelighet i ferskvann. Sjøvannstoleransen blir påvirket ved over 40 $\mu\text{gAl/g}$, mens dødelighet i sjøvann først oppstår over 150 $\mu\text{g/g}$ (36). Nye undersøkelser har vist en halvering av marin overlevelse på laksesmolt med gjelle-Al helt ned i 40 $\mu\text{g Al/g}$, (35, 21, 38, se videre nedenfor).

Surt vann med Al kan ha betydning for oppdrettsfisk i merd i fjorden. I fjorder under episoder der mildvær, snøsmelting og store nedbørmengder kan overflatevannet ned til 5-6 m dyp ha konsentrasjoner av Al $> 100 \text{ mg/L}$. Det er påvist kraftig økning av Al på gjellene, fra $< 10 \mu\text{g/g}$ under normale forhold til $>200 \mu\text{g/g}$ i forbindelse med massiv dødelighet. En av hovedårsakene til den økte giftigheten er at sjøvann mobiliserer Al bundet til humus eller kolloider fra ferskvannskilden (39, 40, 26). Det samme kan være tilfelle for marine arter som eksponeres for tilsvarende blandsoner (41, 42, 43).

Jern (Fe)

I vann kan Fe foreligge i forskjellige tilstandsformer, fra enkle 2- og 3-verdige ioner til hydrolyseprodukter, komplekser eller bundet til organiske (humus) eller uorganiske (leire) kolloider og partikler. Når jernholdig anoksisk grunnvann møter oksygenrikt overflatevann oppstår 'redoks - blandsoner' hvor Fe^{2+} oksideres til Fe^{3+} -ioner (Fe^{III} -forbindelser) som hydrolyserer, polymeriserer og utfelles, ofte kalt okerutfelling. Det er registrert høye konsentrasjoner av Fe^{II} i enkelte settefiskanlegg som benytter grunnvann. I anlegg med høye konsentrasjoner av to-verdig jern vil lufting/oksygenering kunne starte utfelling av jernoksid direkte i fiskekarene. Høye nivåer av Fe^{II} -tilstandsformer kan danne frie radikaler med etterfølgende oksidativt stress og lipid-peroksidering

(‘harskning’) av fett (44). To-verdig jern er også direkte toksisk ved at det kan hemme fiskens kalsiumopptak. Fe og Al er dessuten rapportert å kunne forsterke de toksiske effektene av hverandre (45, 46).

For å bestemme giftigheten av jern er derfor viktig å fastslå hvor stor andel av jernet som er organisk bundet. Flere forsøk har vist redusert giftighet av jern når humusinnholdet er høyt (47). På bakgrunn av undersøkelser i settefiskanlegg i perioden 1999-2002 har en sett at problemer kan oppstå når den totale jernkonsentrasjonen i vannet overstiger $70 \mu\text{g/L}$ og forholdet Fe/TOC blir større enn 40 (48). NIVA/UMB har i flere sammenhenger målt jernverdier på mellom $100\text{-}150 \mu\text{gFe/g}$ gjelle i områder med lite jern i råvannet (48). Nyere forsøk har vist at oksidasjon av $<200 \mu\text{g FeII}$ til FeIII førte til betydelig akkumulering av Fe på fiskegjeller ($>1000 \mu\text{g/g}$ gjelle) samt negative effekter på fisk inkludert fiskedød (49). Et betydelig arbeid er derfor igangsatt for å se om ulike tiltak kan redusere problemet med oksydering, bl.a. bruk av silikatlut (50, se nedenfor).

Karbondioksyd, CO_2

Undersøkelser har vist at bakgrunnsnivå i råvannskildene til flere enn 100 smoltanlegg ligger på fra $1\text{-}2,5 \text{ mg CO}_2/\text{L}$. I tørkeperioder vil imidlertid CO_2 anrikt grunnvann kunne dominere i en råvannskilde og dersom temperaturen er lav kan dette føre til en CO_2 overmetning som vanskelig fjernes ved tradisjonell lufting. Dette vil komme i tillegg til fiskens egenproduksjon av CO_2 i oppdrettsenheten. Fritt CO_2 vil derfor kunne være et problem ved landbasert produksjon med oksygentilsetning og også i lukket transport av fisk. I situasjoner med god vannutskiftning og uten ekstra oksygenering blir O_2 begrensende lenge før CO_2 når kritiske verdier. I intensiv produksjon med tilførsel av O_2 og redusert spesifikt vannforbruk kan CO_2 fra stoffskiftet kan hope seg opp i vannet. CO_2 er en sur gass som reagerer med vann og danner karbonsyre, H_2CO_3 som spaltes til H^+ og HCO_3^- og fører til en reduksjon i pH. CO_2 konsentrasjonen kan således ha direkte og indirekte virkninger på fiskens fysiologi, den griper inn i det viktige bikarbonat (HCO_3^-) buffersystemet og kan dermed endre blod pH, syre-basebalansen og slik også påvirke salt-vannbalansen (51). Undersøkelser har videre pekt på en negativ effekt av høy CO_2 på mineralisering (51).

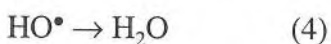
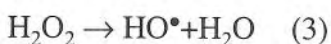
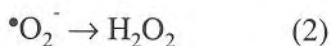
Høy CO_2 i intensivt oppdrett ($30\text{-}40 \text{ mgCO}_2/\text{L}$), er en følge av lavt vannforbruk, høy fisketetthet og stort forbruk av oksygen tilsatt i overmetning. CO_2 senker vannets pH og påvirker dermed de forbindelser som har pH-avhengige tilstander. En pH reduksjon forårsaket av høy CO_2 vil kunne remobilisere metallioner, f. eks. Al (52). Konsekvensene av en slik CO_2 skapt reduksjon i pH vil tilsvare de som er beskrevet ovenfor. Høyt CO_2 kan føre til utfelling av kalk i nyrene, såkalt ‘nephrocalcinose’. Denne tilstanden er karakterisert ved synlige, hvite, osteaktige, kalkholdige avleiringer i nyrene. Nephrocalcinose er påvist ved konsentrasjoner ned mot $10 \text{ mg CO}_2/\text{L}$ etter lang tids eksponering. Økt kapasitet for å binde metabolsk CO_2 synes å være mulig å oppnå ved å øke bikarbonatinnholdet i vannet ved vannbehandling som sjøvannstilsetning og kalking (53), med en reduksjon på mellom $2\text{-}4 \text{ mgCO}_2$ ved en normal lav sjøvannstilsetting til smoltkar.

Oksygen, O_2

Intensiv smoltproduksjon innebærer som regel høy biomasse, lavt spesifikt vannforbruk og bruk av oksygenering for å sikre nok O_2 i karet. For å sikre nok O_2 har man latt innløpsvannet og/eller karet bli overmettet med O_2 . Resultatet vil ofte være at fisken

kontinuerlig eller episodisk utsettes for høye O₂ nivåer. Ved å tilsette ren oksygen til overmetning, vil vannbehovet reduseres betraktelig. Dette kan skape store problemer. For det første krever slike systemer et sterkt sikkerhets og overvåkingssystem, idet svikt i oksygentilførselen raskt vil medføre anoksi og kvelning. Det største problemet ligger imidlertid i giftigheten av oksygen.

Ved oksygenering med ren oksygen gass vil høy overmetning av oksygen være giftig for fisk, uten at dette har noe å gjøre med gassboblesyke eller med høyt trykk i seg selv. Giftigheten skyldes dannelsen av det frie oksygenradikalet superoksid (O₂⁻).



Under normale forhold er dette et radikal som dannes som et ledd i den aerobe respirasjonsskjede. Virkemåten til O₂⁻ i vann vil dels være gjennom direkte virkning på transportproteiner i membranen, dels gjennom endringer i proteinsyntesen og dels gjennom oksydering av lipider i cellemembranen (32, 33; se også ovenfor om metaller). For å motvirke dette har organismer et forsvarssystem som bl.a. involverer antioksydantene vitamin A, C og E, og Glutathion. Nyere data viser at partialtrykket i arterielt blod for mange fiskearter ikke inneholder mer oksygen enn det som tilsvarer ca. 30 prosent metning (Massabuau 2003), sannsynligvis fordi dannelsen av frie radikaler øker dramatisk over dette trykket. Blir oksygentrykket langt høyere enn normalt, slik det blir ved superoksygenering, er det sannsynlig at partialtrykket av oksygen i blodet øker sterkt, med den konsekvens at konsentrasjonen av frie radikaler vil øke. Hydrogen peroksid (H₂O₂) vil også kunne virke negativt på erythropoetin (EPO) produksjonen, dvs. redusere dannelsen av hemoglobin og røde blodceller. Ved overføring til et miljø med lite O₂ (som sjøvann) vil dette medføre et ytterligere problem. Nye undersøkelser tyder på at laks kan være mer sårbar for fri radikaldannelse som følge av hyperoksi enn tidligere undersøkte arter, med mindre at laksen har utviklet et bedre avgiftningssystem enn andre fiskearter. Videre forskning vil kunne avklare betydningen av de ulike mekanismene mer i detalj.

En rekke anlegg har montert CO₂ fjernings utstyr med kar-intern resirkulering. Det gjenstår imidlertid å dokumentere om dette er med på å redusere det oksydative stresset fra superoksygeneringen, dvs. gradienter/soner med overtrykk av oksygen i karet.

Avgiftning av Al- og Fe-holdig vann

Når surt, aluminiumsrikt ferskvann endrer pH f.eks. ved kalking, luttilsetning eller ved blanding med sjøvann, vil pH-endringen forårsake polymerisering av Al, dvs. at lavmolekylære Al-forbindelser bindes til større komplekser (19, 54, 55, 49, 26). I denne fasen, før en ny likevekt er oppnådd, kan giftigheten øke kraftig ved at de ennå positivt ladde Al-kompleksene bindes til gjellens negativt ladde slimlag. Dette er årsaken til at en anbefaler en viss oppholdstid etter vannbehandling av aluminiumsrikt vann, og/eller behandling med silikatlut som forhindrer dannelsen av polymerer ved pH-hevingen (56, 57, 26, 58). Fe^{III} specier som hydrolyserer og polymeriserer er svært gjellereaktive og avsettes raskt på gjeller og medfører ioneregulering og respiratorisk stress og dødelighet. Ved å øke pH (fra 6,3 til 7,0) økte oksidasjon av Fe^{II} og dannelsen av svært gjellereaktivt Fe-tilstandformer gjennom hydrolyse og polymerisering av Fe^{III}. Ved

oksidasjon av Fe^{II} økte Fe avsetningen på gjellen, noe som resulterte i høy dødelighet innen 24 timer. Resultater indikerer at bruk av silikatlut eller sjøvann i vannkvaliteter med Fe^{II} reduserer avsetning av Fe på gjeller.

Tetthet – vannkjemi og smoltkvalitet

Tilgangen på ferskvann regnes i dag som en flaskehals hos en rekke norske smoltprodusenter. Resultatet er at mange anlegg i perioder har en for høy stående biomasse sett i forhold til vannforbruk, hvilket igjen innebærer at produksjonsvannet må oksygeneres med påfølgende økte nivåer av CO₂ og TAN. For å unngå denne situasjonen er det bl.a. diskutert å begrense fisketettheten i oppdrettskarene til maksimalt 20-30 kg/m³. Gjennomsnittlig tetthet i norske anlegg er beregnet til å være mellom 40 og 50 kg/m³. Et eventuelt pålegg om å begrense den stående biomassen av settefisk av laks vil således innebære en kraftig produksjonsbegrensning for norsk laksenæring. Vi har gjennomført et forsøk motivert ut fra ønsket om å kartlegge eventuelle effekter av tetthet og vannkvalitet på vekst og smoltifisering hos laks. Potensielle 1+ smolt av AquaGen avstamning ble holdt ved 10 °C og under styrt lysregime (6 uker med LD 12:12, etterfulgt av 6 uker med 24L). Tetthet ved start ble satt til 20, 40, 60 og 80 kg/m³ og spesifikk vannforsyning var 0,3-0,4 L/kg fisk pr. min. Oksygen ble tilsatt etter behov for å holde nivået i avløp >80 prosent. Under hele perioden ble fisketettheten holdt konstant ved at økningen i biomasse (tilveksten) ble fjernet regelmessig. I begynnelsen av mai ble en gruppe fisk overført til kar med sjøvann for oppfølging av sjøvannsvekst.

I ferskvannsfasen ble det registrert en gjennomsnittlig vekstrate på rundt 0,4 prosent pr. dag i alle grupper, og det var ingen forskjell mellom gruppene. Med unntak av 80 kg/m³ gruppen, hvor det vi fant et noe forhøyet nivå av plasma glukose, ble det ikke registrert noen forskjeller mellom gruppene mhp. kondisjon, finneslitasje, gjelle Na⁺, K⁺-ATPase samt plasma, Cl⁻, CO₂, hct, pH, HCO₃ eller Hb under smoltifisering. Dette verifiseres av resultatene fra sjøvannsfasen, hvor det ble observert en økning i vekstrate fra 0,4 prosent til ca. 0,7 prosent i alle grupper, uten at det ble funnet forskjeller mellom gruppene. Det ble heller ikke funnet noen forskjeller i finneslitasje eller fysiologiske parametre etter 12 uker i sjø. Kort oppsummert kan vi si at tettheter opp til 80 kg/m³ ikke synes å være begrensende for vekst og smoltkvalitet gitt at tilførsel av vann og fôr er tilstrekkelig til å opprettholde et godt karmiljø.

Grenseverdier og langtidseffekter av vannkvalitet på laksesmolt – vannmengder, CO₂, oksygenering, pH, Al

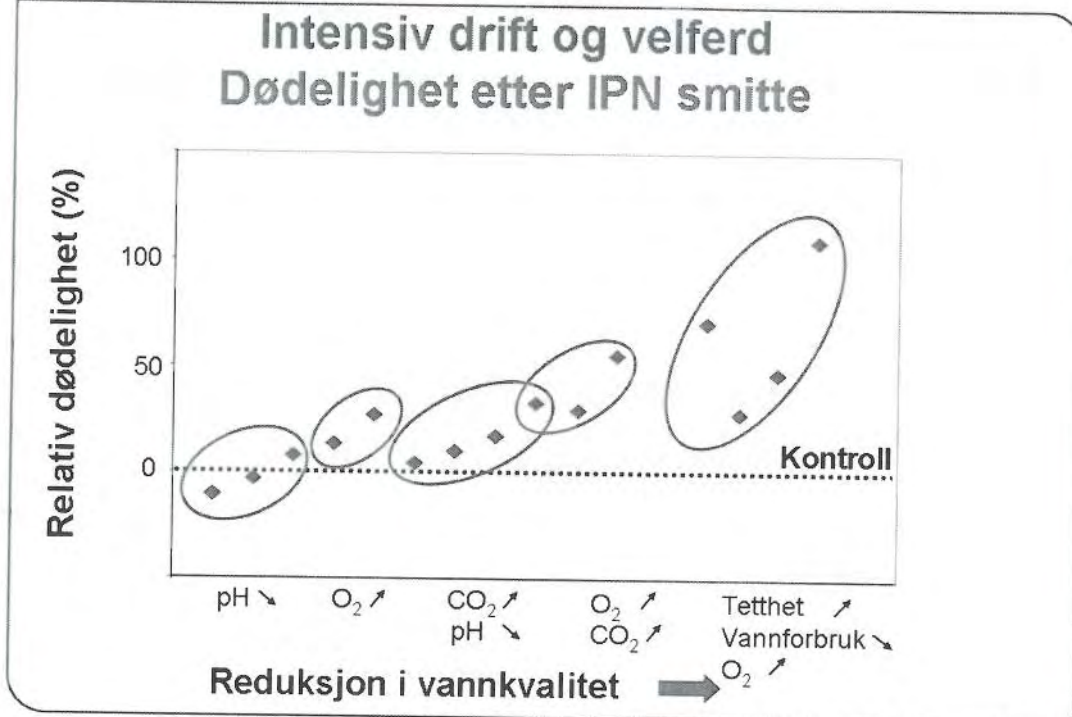
Ved Høgskolen i Bergen (HiB) er det siden 1991 utført en serie langtidforsøk for bl.a. å bestemme grenseverdier for vanngjennomstrømning og oksygenering i smoltanlegg. Allerede i 1991 ble det påvist at redusert vanngjennomstrømning kombinert med oksygenering kunne ha en rekke skadelige effekter på laksesmolt. Driftskriteriet på 0,3 L/kg fisk/min ble senere fastlagt basert på dette arbeidet. På initiativ fra Forskningsrådet ble det etablert et samarbeidsnettverk mellom HiB, Fiskeanleggene på Sævareid, Veterinærinstituttet avdeling Bergen og Universitetet i Bergen. Nettverket utførte flere forsøksserier i tidsrommet 1996-2003 blant annet for å bestemme grenseverdier for CO₂ for laksesmolt. Grenseverdien for CO₂ i de nye driftsforskriftene (på 15 mg/L) er basert på denne forskningen. Forsøkene i denne perioden omhandlet vanngjennomstrømning under startforing (59) og smoltifisering (60, 61), forsøk med effekter av pH alene (14),

Når laksesmolt blir utsatt for forhøyet CO₂ konsentrasjon øker respirasjonsfrekvensen og hematokrit (53, 52) blir midlertidig forhøyet. Plasma Cl⁻ er alltid lavere hos smolt som er eksponert for CO₂. Langtidseffekter av CO₂ er forhøyet forekomst av nefrokalsinose, redusert kondisjonsfaktor, noe redusert vekst og i en del tilfeller økt dødelighet. I forsøk ved HiB er det nylig påvist at en økning i CO₂, og reduksjon i pH sel ved lave Al konsentrasjoner kan virke ødeleggende på laksesmolt (51). Forsøket ble terminert etter 25 dager, da var dødeligheten 42 prosent i gruppen med 19mg/L CO₂, pH 5,7, og resten av fisken hyperventilerte. I et annet forsøk er det vist at CO₂ er mest toksisk ved lav temperatur (62), noe som betyr at oppdrettsnæringen har behov for temperaturjusterte grenseverdier for bl.a. CO₂. Vi har også utført forsøk som tyder på at svak oksygenovermetning ikke er skadelig for fisk når det totale gasstrykket er lavt (63). Laks i intensivt oppdrett må leve en stor del av livet i et miljø med forhøya CO₂ og videre forskning på denne parameteren er vesentlig for næringen.

Vannkvalitet – helse og produksjonslidelser

Vannkvalitet – smoltkvalitet – følsomhet for IPN

Infeksiøs pankreas nekrose (IPN) rammer i hovedsak yngel, men i de senere år er det rapportert om et økende antall utbrudd rundt smoltifisering og inntil ett år etter utsetting i sjøvann. Tidligere undersøkelser har vist at svært intensiv drift med høy grad av oksygenering og lavt spesifikt vannforbruk kan gi økt mottakelighet for IPN. Disse innledende resultatene pekte på dårlig vannkvalitet som en sannsynlig årsak til de økte problemene med IPN. Vi har derfor gjennomført en serie forsøk hvor grupper av laksesmolt har gått i ferskvann med ulike tettheter og konsentrasjoner av CO₂ og O₂ og ulik pH. Fisken har deretter blitt smittet med IPN virus i sjøvann. Resultatene viser økt dødelighet i alle smitteforsøkene hvor laks har vært utsatt for ulike uheldige miljøforhold i settefiskfasen. CO₂, O₂ og fisketetthet er identifisert som risikofaktorer og kombinasjonen av flere miljøfaktorer og svingninger i nivåene synes å forverre situasjonen, selv om stabile høye oksygenivå ser ut til å motvirke en del av de negative effektene av andre vannkvalitetsparametrene. Høyest risiko for IPN er forbundet med høye fisketettheter, lavt vannforbruk og variable høye oksygenforhold.



Figur 2. Relativ tilvekst (prosent av vekstrate til kontrollgruppe) hos laks under ulike oppdrettsbetingelser (surt vann, økt CO₂ og O₂, redusert spesifikt vannforbruk, økt fisketetthet)

Surt vann og CO₂ reduserer veksten i ferskvann og kan øke mottakeligheten for IPN hos laksesmolt etter utsett i sjø

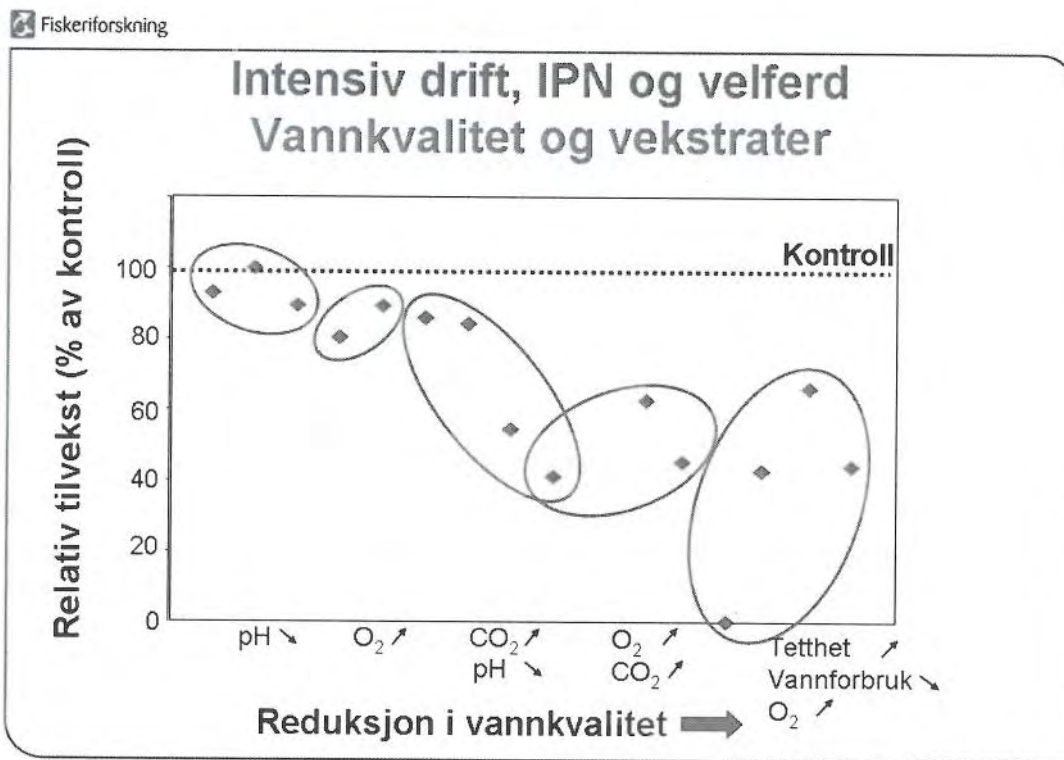
Grupper av laks under smoltifisering ble eksponert for pH 5,7; 5,9; 6,5 og de tre samme surhetsgradene kombinert med tre forskjellige nivå av CO₂ (9, 13 og 20 mg/L) i 5-6 uker i ferskvann. Alle karene hadde samme tetthet (25-30 kg/m³), spesifikt vannforbruk (1,3 L/kg/min) og vanntemperatur (10 °C). Fisken ble deretter smittet med IPN-virus.

Gruppene utsatt for de høyeste CO₂ konsentrasjonene (13-20 mg/L) og lavest pH (5,9-5,7) vokste dårligere enn kontrollgruppen, mens fisk eksponert for lav pH alene ikke viste avvik. Etter overføring til sjøvann og smitte med IPN virus var det en tendens til økt dødelighet hos grupper fra de høyeste CO₂ konsentrasjonene og lavest pH. Lave pH nivåer alene så ikke ut til å gi utslag i økt dødelighet etter IPN smitte. Høye CO₂ konsentrasjoner og lav pH reduserer også laksens vekstprestasjoner i sjøvann. Våre funn tilsier at man bør unngå CO₂ konsentrasjoner over 12-13 mg/L og pH verdier under 5,9.

Intensiv produksjon kan hemme vekst, prestasjoner i sjø og øke risikoen for IPN

Grupper av laks under smoltifisering ble utsatt for høy fisketetthet, lavt spesifikt vannforbruk, høy oksygenmetning, høy konsentrasjon av CO₂ og lav pH. Sammenlignet med kontrollgruppa (tetthet: 25 kg/m³, og spesifikt vannforbruk: 1,3 L/kg/min), fant vi at en fisketetthet opp mot 80-87 kg/m³ hemmet veksten og reduserte forsvarsevnen mot IPN. Kombinasjonen av høy tetthet og lavt spesifikt vannforbruk (0,14 l/kg/min) ga ytterligere redusert vekst i ferskvann og dårlige prestasjoner i sjøvann, og fiskens forsvarsevne mot IPN virus var tydelig svekket. Dette var tilfelle uansett oksygennivå (103, 134 eller 161 prosent), men det var en tendens til økende problemer ved økende oksygennivå. I gruppen som fikk den høyeste oksygenmetningen (161 prosent),

kombinert med høy tetthet og lavt spesifikt vannforbruk, ble det registrert slimansamlinger i vannet, soppputbrudd og gassblæresyke i ferskvannsfasen. Denne gruppen hadde den høyeste dødeligheten etter sjøvannsoverføring og IPN smitte. Den hadde også de dårligste prestasjonene de første tre ukene etter sjøvannsoverføringen. Det ble funnet klare tegn til stress hos fisk som ble utsatt for lavt spesifikt vannforbruk. Resultatene tyder på at oksygenmetninger over 134 prosent, spesifikt vannforbruk under 0,14 l/kg/min og CO₂-konsentrasjoner over 12 mg/L er forbundet med økt risiko for sykdommer og redusert velferd hos laksesmolt, både i ferskvann og etter overføring til sjøvann.



Figur 3. Relativ dødelighet ((prosent av dødelighet i kontrollgruppe) hos laks under ulike oppdrettsbetingelser (surt vann, økt CO₂ og O₂, redusert spesifikt vannforbruk, økt fisketetthet) utsatt for IPN smitte i sjøvann

Høye O₂- og CO₂ nivå kan hemme vekst og øke risikoen for IPN

Grupper av laks under smoltifisering ble eksponert til tre forskjellige O₂-metninger (85 %, 130 % og 155 %; pH 6,5) og de tre samme metningene kombinert med høyt innhold av CO₂ (30-35 mg/L; pH 5,6) i 5-6 uker i ferskvann. Alle karene hadde samme tetthet (25-30 kg/m³), spesifikt vannforbruk (1,4 l/kg/min) og vanntemperatur (10 °C). Fisken ble deretter smittet med IPN virus i sjøvann.

Foreløpige resultater viser at samtlige eksponerte grupper hadde redusert vekst i ferskvannsprisjonen. De tre gruppene som gikk i vann med høyt CO₂-nivå hadde dårligst tilvekst. Det kan se ut som om litt forhøyet O₂-nivå kan motvirke en del av de negative effektene av høyt CO₂-nivå. Resultatene tyder ikke på at veksten etter overføring til sjøvann ble redusert som følge av behandlingen i ferskvannsfasen. Imidlertid var det en tendens til reduserte forsvarsevne mot IPN virus hos alle behandlingsgrupper, med høyest dødelighet ved høyt O₂ og CO₂ nivå. Resultatene tyder altså på at både høye nivåer av CO₂ og O₂ er forbundet med redusert helse og velferd hos laksesmolt.

Vannkvalitet i ferskvann og deformiteter i sjø - er det en sammenheng?

Siden deformiteter ble registrert som et problem i laksenæringa på midten av 1990-tallet har forskning vist klare sammenhenger mellom temperatur og utvikling av deformiteter, både på rogn- og settefiskstadiet, og tilsvarende klare effekter av langvarig underdekning av mineraler. I moderne, intensivt smoltoppdrett er betydningen av vannkvalitetsendringer i søkelyset, situasjoner der høy tetthet og lavt spesifikt vannforbruk gir redusert vannkvalitet i karet. I tillegg kommer mulige effekter av feildosering av oksygen.

Ingen sikre effekter av høye nivå av CO₂

I situasjoner der CO₂-nivået økte med økende biomasse i karet, men der forholdene ellers var stabile, fikk vi ingen utslag på utvikling av ryggvirvler, selv med eksponering for 20-25 mg/L CO₂ i fire til seks uker. I enkeltgrupper der karmiljøet var mer ustabil så vi imidlertid et høyt innslag av fisk med forkortede halevirvler ved slakting. I disse karene var fôropptaket ustabil, og som en konsekvens var det vanskelig å oppnå riktig regulering av oksygentilsetning. CO₂-innholdet var oppe i 30-35 mg/L i flere uker, og oksygenivået var ustabil med periodevis overmetning i karet (>100 prosent). Eksponering for høye nivå av CO₂ i ferskvann kan være en medvirkende faktor til utvikling av misdannelser i ryggvirvlene.

Overdosering av O₂ gir redusert tilvekst og uregelmessige ryggvirvler i sjø

Effekter av overdosering (125-130 prosent metning) med O₂ i ferskvatn ble undersøkt i et forsøk der øvrige miljøbetingelser ble holdt under kontroll. Fisken ble eksponert i to perioder, først i en vekstperiode med fullt lys, og deretter under lysperiodekontroll fram mot smoltutsett. Vi så klare effekter på vekst i ferskvatn, og vektforskjellene var tydelige også etter 4 mnd i sjø, med 20 prosent reduksjon i vekt hos de mest eksponerte gruppene. Det ble også observert økt forekomst av uregelmessigheter i ryggvirvlene hos den mest eksponerte fisken av en type som indikerer en sammenheng med seinere utvikling av deformiteter. Det var særlig klar effekt av O₂-nivå i ukene før smoltutsett.

Grenseverdier for gassblæresyke under hyperoksiske betingelser

Det er tidligere observert at laks eksponert for høye nivåer av O₂ utvikler gassblærer under huden, og en har også sett en film av biologisk materiale på vannoverflaten. For å finne ut hvilke nivåer av overmetning som gir slike forandringer ble det gjennomført et korttidsforsøk der oksygenivået i karet ble økt gradvis. Filmen på vannoverflata ble observert første gang 8-10 dager etter eksponering, ved 150-170 prosent metning. Omtrent samtidig ble det først funnet gassblærer på fisk. Analyser av denne filmen viste spor etter bakterier, amøber, sopphyfer, skjell og leukocytter, noe som indikerer at hudskader hos eksponert fisk gir avstøtning av organisk materiale, som igjen gir grobunn for mikroorgansimer.

Til sammen peker disse resultatene på at redusert vannkvalitet er av betydning for utvikling av ryggdeformiteter. Resultatene er spesielt entydige for O₂, og det er verdt å merke seg at også veksten kan påvirkes negativt av en O₂-metning i karet >100 prosent. Mekanismene er likevel fortsatt uklare. Vi mangler også kunnskap om tidlige tegn på feilutvikling av ryggvirvlene, og vi håper at videre forskning vil kunne gi mer utfyllende svar på disse spørsmålene.

Vannkvalitet under transport

Vi skiller mellom tre transporttyper; åpen, vekselvis åpen og lukket og lukket transport.

Lite problemer med åpen transport i brønnbåt

Utfordringer med vannkvalitet ved åpen transport i brønnbåt er knyttet til vannkvaliteten på det vannet man tar inn i brønnen, samt forholdet mellom biomasse og gjennomstrømming. Vanligvis er dette aldri noe problem, vanngjennomstrømmingen er som regel 3-4 ganger det som benyttes i settefiskproduksjon (dvs. $> 100 \text{ liter/m}^3$ brønnvolum/min). I de fleste tilfeller er vanngjennomstrømmingen alene nok til å forsyne fisken med O_2 og fjerne avfallsproduktene. Unntaket kan være når båten ligger ved kai og må forsyne fisken med vann via pumper. I visse situasjoner vil det da være nødvendig å løse inn tilleggsoksygen. Grenseverdi for laks bør ikke underskride 50 prosent metning, men heller ikke overskride 120 – 130 prosent oksygenmetning, se eget avsnitt om oksygen. Det er normalt med tettheter på $115\text{-}180 \text{ kg/m}^3$ ved åpen transport av slaktelaks. Problemer oppstår når det av smittemessige hensyn er påkrevd å gå med lukkede brønnventiler eller ved transport av smolt over lange perioder med lukkede ventiler. Disse utfordringene er omtalt under utfordringer med lukket transport.

Ved frakt av smolt anbefales en tetthet på $35\text{-}50 \text{ kg/m}^3$ når frakten i hovedsak foregår med åpne ventiler. Det vil normalt ikke kunne akkumuleres CO_2 eller NH_3 til farlige nivå under de betingelser som er beskrevet over, CO_2 nivå i brønnbåter med åpne ventiler kan ligge under 2 mg/L . Et viktig forhold er risikoen for å få inn alger og kjemikalier. I tillegg kan det oppstå uheldig blandsonekjemi om man kjører igjennom et surt ferskvannslag i en fjord, eller laster inn surt ferskvann sammen med smolten i en brønn fylt med sjøvann. Problemene med surt ferskvann i blanding med sjøvann hvor Al mobiliseres og blir biotilgjengelig og slår seg på gjellene på fisken er omtalt over.

Lukket transport er problematisk

Vannkvaliteten i en lukket transport er bestemt av fiskens metabolisme. Vi er spesielt opptatt av O_2 , CO_2 , $\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$ (TAN) og TOC. Når CO_2 akkumuleres vil pH i vannet synke, og raskere i ferskvann enn i sjøvann. For transport av laksefisk i lukket system anbefaler man ikke at CO_2 kommer over 60 mg/L når TAN og TOC er høye. En forstudie med transport av slaktelaks i lukkede og kjølte systemer viser at fisk kan transporteres i lukket brønn i 8-10 t med tettheter omkring 120 kg/m^3 uten dødelighet eller forringelse av kjøttkvalitet. Selv om CO_2 kan nå nivå $> 50 \text{ mg/L}$ er det NH_3 som representerer den største faren i en lukket transport. Faremomentet oppstår om man må ta inn friskt sjøvann med høyere pH i brønnen. Akutt NH_3 dødelighet kan oppstå pga. rask pH heving da NH_4^+ kan gå over til NH_3 . For å holde konsentrasjonen av NH_3 lav må pH holdes under 6,5, noe som vil skje av seg selv etter 1-2 timer lukket transport i sjøvann pga. akkumulering av CO_2 .

Vannkvalitet i matfiskproduksjon

I enkelte fjordområder kan oksygenforholdene variere kraftig. De vanskeligste forholdene opptrer på høsten når temperaturen i overflaten er høy, samtidig med høy biomasse i sjøen. I de fleste fjorder vil det på høsten og vinteren skje 'upwelling' av dypvann, når kaldt og saltrikt vann trenger inn i de dypere vannlag. I dype terskelfjorder med dårlig utskifting kan vannet være oksygenfritt og inneholde H_2S . Det kan være

store variasjoner i temperatur i en merd og dette får direkte konsekvenser for hvor fisken stiller seg. Ved høye sjøtemperaturer søker laksen mot de lag i vannsøylen med lavest temperatur. Torskene viser samme respons, og søker mot lavere temperatur når oksygenmetningen faller. Den faktiske vannkvalitet som fisken opplever når den står tett i slike lag i merden er fortsatt dårlig beskrevet.

I sjøen vil vannet normalt sett holde en O₂ metning på omkring 100 prosent før det driver inn i merden, men algeaktivitet og oppblomstring av zooplankton kan periodevis medføre svingninger i O₂ og CO₂ konsentrasjonen. O₂ nivået inne i merden er avhengig av forbruket til biomassen og det er denne parameteren som også først vil bli begrensende. Oksygenmangel i en oppdrettsmerd kan motvirkes ved tilsats av O₂ og/eller bruk av strømsettere. Krav til vannkvalitet i matfiskanlegg ivaretas best ved å stille krav til fisketetthet, vanngjennomstrømming i noten (liten begroing) og å opprettholde not-geometrien. Måling av oksygennivå utenfor og i merden, samt på lesiden av merden vil gi en indikasjon på vannkvaliteten i merden.

Vannkvalitet – smoltkvalitet og interaksjoner med lakselus

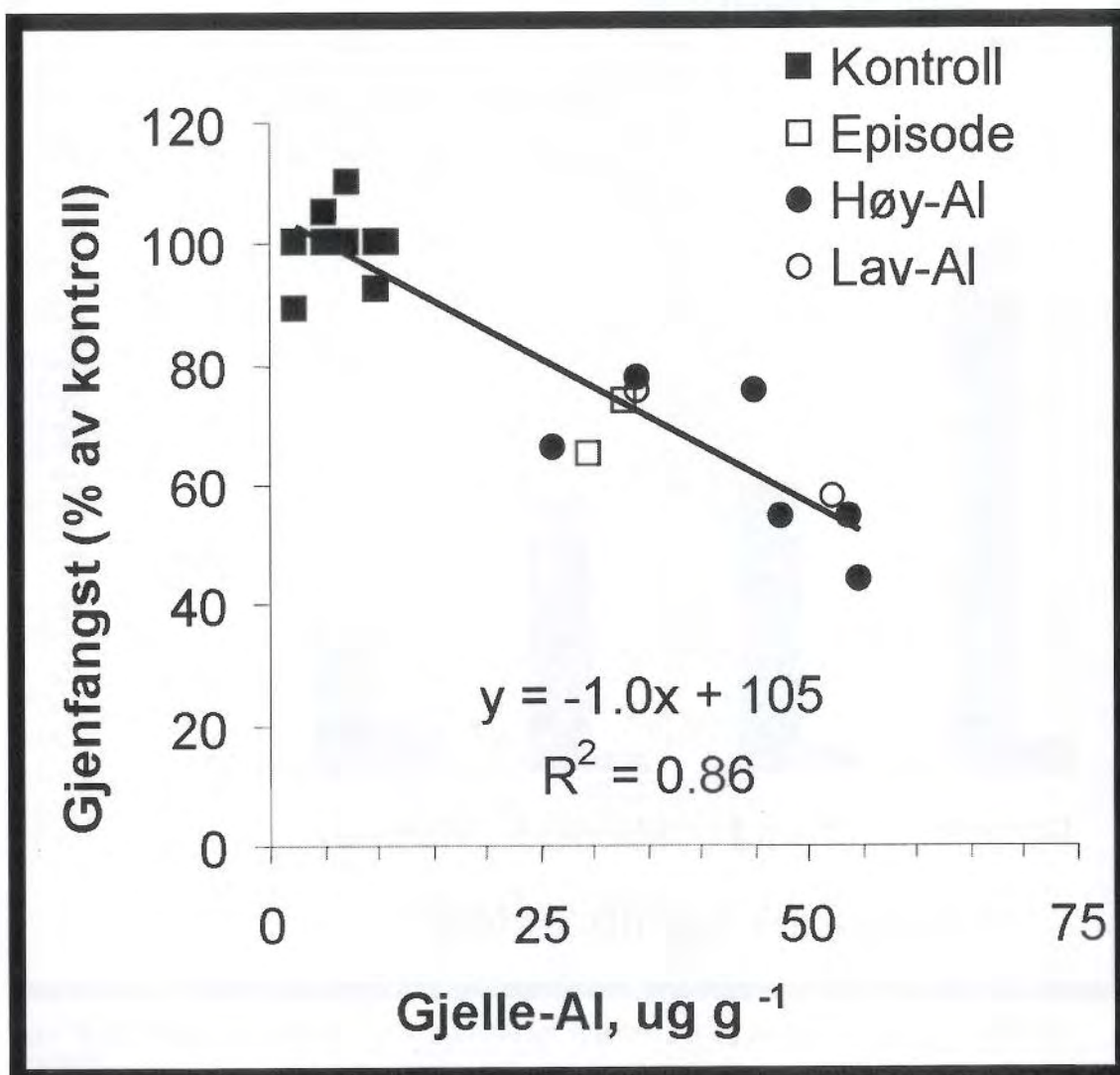
Forsuring er en viktig årsak til laksens tilbakegang eller utryddelse fra flere vassdrag i Norge (64, 65). Ved høye konsentrasjoner av Al dør fisken som følge av svikt i respirasjon og ioneregulering (27). Ved lavere konsentrasjoner vil fiskens fysiologi være påvirket. Det kan ha stor økologisk betydning hvis belastningen inntreffer i kritiske øyeblikk, f.eks. forut for smoltutvandring. Lave konsentrasjoner av Al kan påvirke vekst og etablering av saltvannstoleranse. Mens det er stor enighet om at høye konsentrasjoner av Al i ferskvann har bestandseffekt, er det mindre dokumentasjon på den økologiske betydningen av en ikke-dødelig belastning. Flere laksebestander på Vestlandet er utsatt for moderat forsuring (65), men er også utsatt for lakselus etter utvandring (66, 67). Forsøkene som ble utført ved NINAs forskningsstasjon på Ims, hadde som formål å studere sammenhenger mellom vannkvalitet og sjøoverlevelse, samt betydningen av vannkvalitet i ferskvann for mottagelighet og følsomhet for lakselus.



Figur 4. En økning i gjelle-Al fra 25 til 50 µg Al/g reduserte gjenfangst av tilbakevandrende laks med 20 til 50 prosent ifht. kontroll.

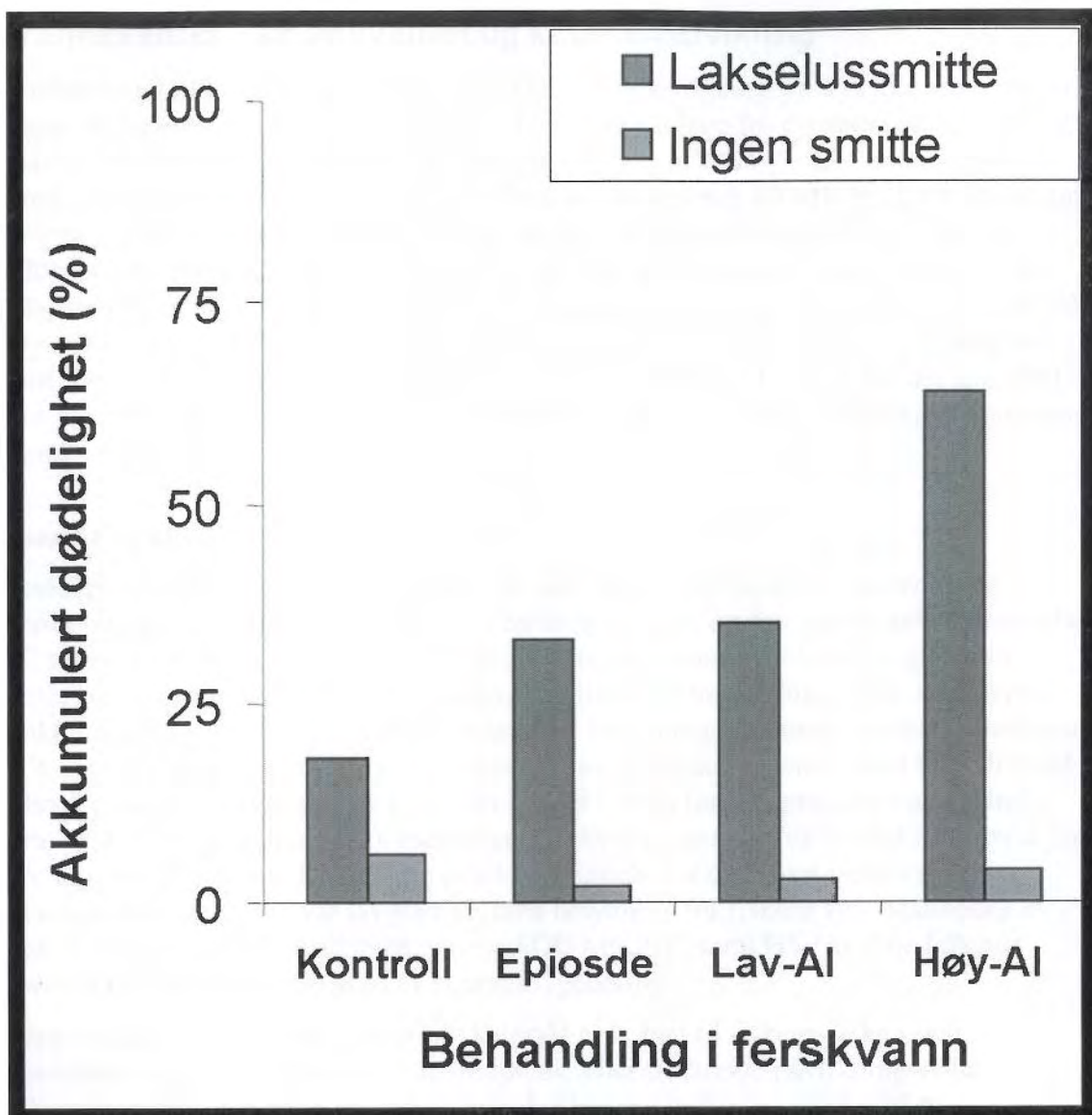
Årene 1999, 2000, 2002, 2003 og 2004 ble grupper a 1200 til 1500 presmolt av Imsa stamme eksponert for godt vann (midlere pH >6.5; <5 µg LAI•L-1) eller for en av tre belastende vannkvaliteter (episodisk høy Al, langvarig lav-Al eller langvarig høy-Al). Den langvarige belastningen varte i minst 30 dager før smoltutvandring, episodene varte de siste tre dagene før utsett. Midlere pH varierte fra 5,9 til 6,4 i lav-Al og fra 5,5 til 6,0 i høy-Al. LAI varierte fra 6 til 11 µg•L-1 i lav-Al og fra 12 til 21 µg•L-1 i høy-Al. Etter avsluttet belastning ble majoriteten av smolten satt ut i Imsa 150 m oppstrøms elvemunningen. Utvandring fra elva var således frivillig. Tilleggsgrupper ble satt ut 800

m oppstrøms en fangstfelle i elva for å studere utvandring. Følsomhet for lakselus ble undersøkt i 2004 ved at to grupper a 150 individer fra hver Al-behandling samt kontroll gradvis ble tilvent sjøvann. Etter ett døgn ved 33 ‰ ble den ene gruppen eksponert for lakselus, den andre gruppen fungerte som kontroll (68).



Figur 5. Eksponering for Al øker følsomheten for ytterligere stress. En gjelle-Al konsentrasjon på 50 $\mu\text{g Al/g}$ fører til 3 ganger så høy dødelighet som følge av lakselus.

Mengden gjelle-Al var nær korrelert til Al i vannet når LAI oversteg 5 $\mu\text{g Al}\cdot\text{L}^{-1}$. Forut for utsetting i elva hadde behandlingsgruppene gjelle-Al fra 25 til 60 $\mu\text{g Al/g}$, mens kontrollfiskene hadde gjelle-Al området $5.9 \pm 3.3 \mu\text{g Al/g}$. Fiskens fysiologi ved utsetting samt gjenfangstratene til voksen laks var nær knyttet til gjelle-Al. Gjenfangst til de gruppene som ble satt ut i Imsa var redusert i alle grupper med gjelle-Al over 25 $\mu\text{g Al}\cdot\text{g}$ på utsettingstidspunktet, og reduksjonene var doseavhengige. Sammenhengen mellom gjenfangst, fysiologi, gjelle-Al og LAI antyder at selv LAI konsentrasjoner nær deteksjonsgrensen for dagens metoder kan representere kritiske forhold.



Figur 6. Smolt utsatt for AI er mer følsomme for sykdommer og parasittangrep. Foto: Bengt Finstad.

Lusa utviklet seg fra copepoditt til voksen som forventet basert på temperatur. Etter 28 dager ble det påvist både chalimus stadium 3 og 4, preadulte hanner og preadulte hunner. Etter 48 dager ble det påvist fra chalimus 3 til voksne hunner, uavhengig av behandling. Laksesmolt som var påvirket av AI var mer følsom for lakselus, og dødeligheten var også her doseavhengig. Dødeligheten økte dramatisk når lusa utviklet seg til preadulte etter 28 dager. Dette er i samsvar med tidligere erfaringer, hvor det også er vist at den økte dødeligheten inntreffer forsinket i forhold til tidspunktet for smitte (68, 69). Forsurningsnivået definert ut fra konsentrasjonen LAI ($5-15 \mu\text{g}\cdot\text{AI l}^{-1}$) var på et nivå som normalt ikke har blitt forbundet med større bestandseffekt hos laks. Den kombinerte effekten av moderat forsurening i ferskvann og lakselus i sjøvann kan ha en større negativ betydning enn hver av faktorene alene og kan være skyld i lave bestander av laks i mange vassdrag.

Vannkvalitet – smoltkvalitet og kataraktutvikling

I tilknytning til hovedprosjekt ble det gitt en ekstrabevilgning for å dekke inn området katarakt og undersøke hvordan forhold i ferskvannsanlegg før og under smoltifisering påvirker kataraktutvikling hos laks, både før og etter utsetting i sjø. Samtidig ønsket man gjennom undersøkelser av utvandrende vill laksesmolt å kartlegge katarakt, og om mulig å avdekke årsaksforhold. Arbeidet knyttet seg til karforsøk gjennomført på Høgskolen i Bergen (HiB) og på Ims i 2004, samt til undersøkelser av villsmolt fra Hardangerfjorden og Sognefjorden. Hovedtyngden av analyser ble gjennomført på HiB og NIFES, og sistnevnte institusjon utviklet metodikk og gjennomførte målinger av mRNA-verdier for utvalgte antioksidantenzymmer i linsevev. I tillegg ble det analysert for histidinforbindelser i linse og muskelvev fra vill laks og ørret under kjønnsmodning, fanget i elv.

Gasser og katarakt

Lakseparr/smolt i ferskvann eksponert for ulike nivåer av superoksygenering og karbondioksid (6 uker) ble monitorert i ferskvannsfasen og den påfølgende sjøvannsfase (7 uker). En rekke undersøkelser, herunder kataraktcreening, ble utført gjennom forsøket. I tillegg ble det prøvetatt muskel og linsevev for måling av frie aminosyrer inkl. histidinforbindelser som bl.a. antas å ha betydning for linsens antioksidantstatus. Utover dette ble det i linsene målt ekspresjon av antioksidantgener, samt HSP70 (heat shock protein). Ved sluttuttak i sjøvann ble det funnet forøket prevalens av katarakt (range 4-32 % på gruppenivå), med høyest frekvens i gruppen eksponert for høyest grad av superoksygenering. Denne gruppen hadde imidlertid også best vekst i sjøfasen. Kataraktforandringene var lavgradige, uten betydning for fiskens syn. Målingene av mRNA nivåer av antioksidantenzymene SOD og GST, samt HSP70 viste fallende verdier relatert til økende grad av superoksygenering.

Oppsummert kan en ikke si hvorvidt katarakt er koblet til fiskens raske vekst, en sammenheng som er observert i andre forsøk, eller til direkte påvirkning av høye oksygenverdier. Fallende verdier av antioksidantene indikerer imidlertid at superoksidasjon kan representere en stressfaktor for linsen. Vellykket rensing og måling av mRNA i linsevev viser at denne tilnærmingen i fremtiden kan være et nyttig verktøy for å identifisere etiologiske faktorer for kataraktutvikling hos ulike oppdrettsarter.

Smoltkvalitet og katarakt

Innsamling av vill utvandrende laksesmolt ble foretatt i 2002 og 2004 i Sognefjorden og i 2005 i Hardangerfjorden, og kataraktfunn ble sammenholdt med fysiologiske parametere. Osmotisk katarakt ble påvist på hhv 111/178 (Sognefjorden 2002) og 16/73 (Sognefjorden 2004) fisk. I Hardangerfjorden i 2005 ble det ikke påvist katarakt på noen av de 33 undersøkte fiskene. Osmolalitet i kammervæske var høyere hos fisk fra Sognefjorden 2002 og 2004 enn hos fisk fra Hardangerfjorden 2005, med høyeste verdier hos fisk med osmotisk katarakt. Gjelle-ATPase var lavere hos fisk med katarakt enn hos normal fisk (statistisk signifikant i 2002, ikke statistisk signifikant i 2004) og lavere enn hos normal villaks-kontrollfisk undersøkt tre døgn etter overføring til saltvann ved NINA Forsøksstasjon Ims, Rogaland. Histidin i linser var lavere i fisk fra Ims enn hos utvandrende laksesmolt. Det ble ikke påvist forskjell i N-acetylhistidin i linser hos fisk fra de 2 fjordene. Dessverre ble gjelleprøvene fra Hardanger ødelagt. Det ble ikke påvist omfattende lusepåslag på noe av fisken.

Funn av osmotisk katarakt sammenholdt med ATP-ase og osmolalitätsverdier indikerer at fisken i Sognefjorden ikke var optimalt smoltifisert ved utvandring. Infestasjon med lakselus kan være en årsak til defekt osmoregulering, men det ble bare påvist minimalt med lus på den undersøkte fisken. Svakheten i undersøkelsen er at prøvene i Sogn og Hardanger av praktiske grunner ikke ble tatt samme år og at fisken i Hardangerfjorden ble fanget lenger inne i fjorden enn fisken i Sognefjorden, dvs at den har hatt kortere opphold i saltvann. Fisken fra Hardangerfjorden skulle likevel hatt tid til å utvikle osmotisk katarakt hvis den var disponert for det. Det ser derfor ut til å være forskjell på den undersøkte postsmolten fra de to fjordene. Dette bør følges opp med gjentatte undersøkelser under utvandring og med undersøkelse av miljøfaktorer som kan påvirke smoltifisering.

Histidinnivåer i villfisk

Analysene ble gjort på laks og ørret med vekter hhv. rundt 2 og 2.5 kilo, fanget i elva Røssåga. Det ble funnet sammenlignbare verdier av fritt histidin og histidinforbindelser. Verdiene for anserin (muskel) og N-acetylhistidin (linse), brukt som markører for histidinstatus hos Atlantisk laks i oppdrett, viste medium til høye verdier, i forhold til snittverdier hos oppdrettslaks. Dette indikerer at ville salmonider har god tilgang på histidin gjennom fôrintak, eller at vekstmønster eller miljø i mindre grad enn hos oppdrettslaks "forbruker" disse forbindelsene, som en tror har viktige funksjoner knyttet til osmoregulering, vevsbuffering og som antioksidanter.

Perspektiver

Forståelsen for sammenhengene mellom vannkvalitet og produksjon av laksefisk, både i natur og kultur, er i stadig endring. Nye forskningsresultater fører bl.a. til at tradisjonelle oppfatninger utfordres, grenseverdier må defineres på nytt, produksjonsstrategier revideres og ny teknologi utvikles og tas i bruk. Videre fremgang på dette forskningsfeltet forutsetter forskningsaktivitet i hele spennet fra grunnleggende studier av de enkelte fysisk/kjemiske og biologiske faktorer til tverrfaglige prosjekter i stor skala, der samspill mellom faktorer og betydningen av skala kan avdekkes. Forskningen må ha som langsiktig mål å bidra til en lønnsom og bærekraftig produksjon gjennom alle stadier av livssyklus, der fiskens krav til miljøet står sentralt og der ny kunnskap bidrar til å sikre normal utvikling, god helse og økt velferd i intensivt oppdrett.

Referanser

- 1) Krogh A, Ussing HH (1937) A note on the permeability of trout eggs to D₂O and H₂O. *J Exp Biol* 14: 35-37
- 2) Loeffler CA, Løvtrup S (1970) Water balance in the salmon egg. *J Exp Biol* 52: 291-298
- 3) Lønning S, Davenport J (1980) The swelling egg of the long rough dab, *Hippoglossoides platessoides limandoides* (Bloch). *J Fish Biol* 17: 359-378
- 4) Li X, Jenssen E, Fyhn HJ (1989) Effects of salinity on egg swelling in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 76: 317-334
- 5) Eddy FB, Talbot C., 1983. Formation of the perivitelline fluid in Atlantic salmon eggs (*Salmo salar*) in fresh water and in solutions of metal ions. *Comp Biochem Physiol* C75: 1-4
- 6) Inoue S, Kitajima K, Inoue Y, Kudo S (1987) Localization of polysialoglycoprotein as a major glycoprotein component in cortical alveoli of the unfertilized eggs of *Salmo gairdneri*. *Dev Biol* 123: 442-454
- 7) Peterson RH (1984) Influence of varying pH and some inorganic cations on the perivitelline potential of eggs of the atlantic salmon (*salmo salar*). *can j fish aquat sci* 41: 1066-1069
- 8) Alderdice DF, 1988. Osmotic and ionic regulation in teleost eggs and larvae. In: Hoar WS, Randall DJ (eds) *Fish physiology*, Vol XI. The physiology of developing fish. Part A Eggs and larvae. Academic Press, New York, p 163-251
- 9) Keinanen, M., Tigerstedt, C., Pia Kalax, P. and Vuorinen, P.J. 2003. Fertilization and embryonic development of whitefish (*Coregonus lavaretus lavaretus*) in acidic low-ionic-strength water with aluminium. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 55, 314–329
- 11) Henriksen, A., Lien, L., Rosseland, B.O., Traaen, T. & Sevaldrud, I. 1989. Lake acidification in Norway - present and predicted fish status. - *Ambio* 18: 314-321.
- 13) Lacroix. G.L., 1989. Ecological and Physiological Responses of Atlantic Salmon in Acidic Organic Rivers of Nova Scotia, Canada. *Water, Air, & Soil Pollution* 46, 375-386.
- 14) Fivelstad, S., Olsen, A.B., Wågbø, R., Stefansson, S., Handeland, S., Waagbø, R., Kroglund, F. and Colt, J. 2004b. Lack of long-term sublethal effects of reduced freshwater pH alone on Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts subsequently transferred to seawater". *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 61: 511-518.
- 15) Driscoll C.T, Baker J.P. & Bisogni J.J., 1980. Effect of aluminum speciation on fish in dilute acidified waters. *Nature* 284 (5752): 161-164
- 16) Berntssen, M.H.G., Kroglund, F., Rosseland, B.O. & Wendelaar Bonga, S.E., 1997. Responses of skin mucous cells to aluminium exposure at low pH in Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts. - *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54: 1039-1045.
- 17) O'Byrne-Ring, N., Dowling, K., Cotter, D., Wheland, K. and Macevilly, U. 2003. Changes in mucus cell numbers in the epidermis of the Atlantic salmon at the onset of smoltification. *Journal of Fish Biology* 63, 1625–1630
- 18) Staurnes, M., Blix, P. and Reite, O.P., 1993. Effects of acid water and aluminum on parr-smolt transformation and seawater tolerance in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.* 50; 1816-1827.
- 19) Rosseland, B.O., Blakar, I., Bulger, A., Kroglund, F., Kvellestad, A., Lydersen, E., Oughton, D.H., Salbu, B., Staurnes, M & Vogt, R. 1992. The mixing zone between limed and acidic river waters: complex aluminium chemistry and extreme toxicity for Salmonids. - *Environmental Pollution* 78: 3-8.
- 20) Kroglund, F. and Staurnes, M., 1999. Water quality requirements of smolting Atlantic salmon (*Salmo salar*) in limed acid rivers. *Can. J. Fish and Aquat. Sci.* 56 (11); 2078-2086.
- 21) Kroglund, F., Finstad, B., Stefansson, S. O., Nilsen, T., Kristensen, T., Rosseland, B. O., Teien, H. C. & Salbu, B. 2006. Exposure to moderate acid water and aluminum reduces Atlantic salmon postsmolt survival. *Aquaculture* 00, 000-000.

- 22) Magee, J. A., Haines, T. A., Kocik, J. F., Beland, K. F. & McCormick, S. D., 2001. Effects of acidity and aluminium on the physiology and migratory behaviour of Atlantic salmon smolts in Maine, USA. *Water, Air, and Soil Pollution* 130, 881-886.
- 23) Silva, V. S. & Gonçalves, P. P., 2003. The inhibitory effect of aluminium on the (Na/K)ATPase activity of rat brain cortex synaptosomes. *J. Inorg. Biochem.*, 97, 143-150
- 24 a) Kroglund, F., Teien, H.C., Rosseland, B.O., Salbu, B., and Lucassen, E.C.H.E., 2001a. Water quality dependent recovery from aluminum stress in Atlantic salmon smolt. *Water, Air, & Soil Pollution* 130(1-4); 911-916.
- 24 b) Kroglund, F., Teien, H.-C., Rosseland, B.O. & Salbu, B. 2001b. Time and pH-dependent detoxification of aluminum in mixing zones between acid and non-acid rivers. - *Water, Air, and Soil Pollut.* 130: 905-910.
- 25) Kroglund, F. & Rosseland, B.O. 2004. Effekter av forsureningsepisoder på parr- og smoltkvalitet til laks. NIVA Rapport, LNR 4797-2004, 45 pp. (ISBN 82-577-4475-1)
- 26) Teien, H.C., 2005. Transformation of aluminium species in unstable aquatic mixing zones – mobility and bioavailability towards fish. Dissertation thesis, Norwegian University of Life Sciences, Dep. of Plant and Environmental Sciences; Isotope lab, N-1432. Ås, Norway. 2005-1; 85p + 8 articles.
- 27) Rosseland, B.O. & Staurnes, M. 1994. Physiological mechanisms for toxic effects and resistance to acidic water: An ecophysiological and ecotoxicological approach. Pp 227-246 in: Steinberg, C.E.W. & Wright, R.W. (eds.) *Acidification of Freshwater Ecosystems: Implications for the Future*. John Wiley & Sons, Ltd.
- 28) Bjerknes, V., Fyllingen, I., Holtet, L., Teien, H.-C., Rosseland, B.O. & Kroglund, F., 2003. Aluminium in acidic river water causes mortality of farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) in Norwegian fjords - *Marine Chemistry*, Volume 83, Issues 3-4, November 2003: 169-174.
- 29) Jagoe, C.H. & Haines, T.A., 1997. Changes in gill morphology of Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts due to addition of acid and aluminium to stream water. *Environmental Pollution*, 97, 137- 146.
- 30) Conklin, D. J., Mowbray, R. C. & Gingerich, W. H., 1992. Effects of chronic exposure to soft, acidic water on gill development and chloride cell number in embryo-larval brook trout, *Salvelinus fontinalis*. *Aquat. Toxicol.*, 22, 39-52.
- 31) Lacroix, G. L., Peterson, R. H., Belfry, S. & Martin-Robichaud, D. J., 1993. Aluminum dynamics on gills of Atlantic salmon fry in the presence of citrate and effects on integrity of gill structures. *Aquat. Toxicol.*, 27, 373-401.
- 32) Rohn, T. T., Hinds, T. R. & Vincenzi, F. F., 1993. Ion-transport ATPases as targets for free-radical damage - protection by aminosteroid of the Ca²⁺ pump ATPases and Na⁺/K⁺ pump ATPases of human red-blood-cell membranes. *Biochem. Pharmacol.*, 46, 525-534.
- 33) Rohn, T. T., Hinds, T. R. & Vincenzi, F. F., 1996. Inhibition of Ca²⁺-Pump ATPase and the Na⁺/K⁺-Pump ATPase by Iron-Generated Free Radicals PROTECTION BY 6,7-DIMETHYL-2,4-DI-1-PYRROLIDINYL-7H-PYRROLO[2,3-~IPYRIMIDINE SULFATE (u-89843~), A POTENT, NOVEL, ANTIOXIDANT/FREE RADICAL SCAVENGER. *Biochem. Pharmacol.*, 51, 471-476.
- 34) Staurnes, M., Kroglund, F. & Rosseland, B.O. 1995. Water quality requirement of Atlantic salmon in water undergoing acidification and liming in Norway. - *Water, Air, and Soil Pollution* 85: 347-352.
- 35) Kroglund, F. and Finstad, B., 2003. Low concentrations of inorganic monomeric aluminum impair physiological status and marine survival of Atlantic salmon. *Aquaculture* 222; 119-133.
- 36) Kroglund, F., Teien, H.C., Håvardstun, J., Rosseland, B.O., Salbu, B. & Kvellestad, A. 1998. Varighet av ustabil og skadelig aluminiumskjemi på giftighet overfor lakseparr. Renneforsøk utført i Suldalslågen, høst 1996. (The duration of unstable toxic forms of aluminium after liming and the importance of pH reducing the mixing zone toxicity for parr of Atlantic salmon in River Suldalslågen, Autumn 1996). - NIVA rapport Lnr. 3815-98. 64 pp.
- 37) Rosseland, B.O., Rosten, T., Salbu, B., Kristensen, T., Åtland, Å., Kroglund, F., Teien, H.-C., Heier, L.S., Tollefsen, K-E. and Baeverfjord, G. 2005. Documentation of fish welfare: freshwater

- quality criteria as basis for fish welfare strategies in intensive production of salmonides. Aquaculture Europe 2005. Lessons from the past to optimise the future. Trondheim, Norway, August 5-9, 2005. European Aquaculture Society, Special publication 35, 390-391.
- 38) Finstad, B., Kroglund, F., Strand, R., Stefansson, S. O., Bjørn, P. A., Rosseland, B. O., Nilsen, T. O. & Salbu, B., 2006. Salmon lice or suboptimal water quality – reasons for reduced postsmolt survival? Aquaculture 00, 000-000.
- 39) Rosseland, B.O. 1998. Kritisk for fisk når surt aluminiumsrikt ferskvann og saltvann blandes. (Critical for fish when acid aluminium-rich fresh water and sea water mixes). - NIVA Årsberetning 1997: 28-29.
- 40) Rosseland, B.O., Åtland, Å. Kristensen, T., & Salbu, B. 2004. Sjøvann kan drepe fisk i smoltanlegg. Norsk Fiskeoppdrett 3, 60-61.
- 41) Rosseland, B.O., Salbu, B., Kroglund, F., Hansen, T., Teien, H.C., Håvardstun, J., Åtland, Å., Østby, G., Kroglund, M., Kvellestad, A., Pettersen, O., Bjerknes, V., Wendelaar Bonga, S., van Ham, E.H., Lucassen, E., Berntssen, M.H.G., Weinhoven, S., and Lohne, S. 1998. Endring i metallers tilstandsform i overgangen fra ferskvann til sjøvann (estuarier) og virkningen på laks og marine organismer (estumix). Norwegian Institute of Water Research. Final report for project no. 108102/122. In Norwegian.
- 42) Kristensen, T. 2001. Respiratory and physiological effects of inequilibrium aluminium chemistry on Atlantic cod, *Gadus morhua*, in an experimental estuarine mixing zone. Cand. Scient. Thesis. Department of Zoology, NTNU, 59pp.
- 43) Kristensen, T., Andersen, R., Staurnes, M., Nordtug, T., Skjærvø, G., Teien, H.-C. & Rosseland, B.O. 2000. Histologiske og fysiologiske effekter, spesielt for strandsoneorganismer. En undersøkelse av respirasjonsforstyrrelser og fysiologiske effekter av aluminium på fisk i en marin blandsonne. Sluttrapport for NFR Prosjektnr. 113984/122. MAREMI, 14 s.
- 44) Lappivaara, J. . Kiviniemi, A. & Oikari, A, 1999. Bioaccumulation and Subchronic Physiological Effects of Waterborne Iron Overload on Whitefish Exposed in Humic and Nonhumic Water. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 37, 196 - 204
- 45) Peuranen, S.. 2000. The effect of aluminium and iron on fish gills. PhD Thesis, University of Helsinki (Department of Biosciences, Division of Animal Physiology) and Finnish Game and Fisheries Research Institute, 42 pp., ISBN 951-776-295-5.
- 46) Peuranen, S., Keinänen, M., Tigerstedt, C., Kokko, J. And Vuorinen, P.J. 2002. The effects of Fe and Al exposure with or without humic acid at two pH levels on the gills, oxygen consumption and blood plasma parameters of juvenile grayling (*Thymallus thymallus*). Arch. Hydrobiol. (printed in Peuranen 2000)
- 47) Peuranen S, Vuorinen Pj, Vuorinen M, Hollender A 1994.The effects of iron, humic acids and low pH on the gills and physiology of brown trout (*Salmo trutta*). Annales Zoologici Fennici 31
- 48) Rosseland, B.O., Rosten, T., Salbu, B., Kristensen, & Sørli, L. 2002. Vannkvalitetsundersøkelsen 2001. Oppsummering. Rapport NIVA, KPMG, NLH (Sperrret)
- 49) Teien, H.C., Standring, W.J.F., Salbu, B., Marskar, M., Kroglund, F., and Hindar, A., 2004. Mobilization of aluminum and deposition on fish gills during seasalt episodes – catchment liming as countermeasure. J. Environ. Monit. 6; 191-200.
- 50) Åtland, Å., Kroglund, & Røyset, O. 2003. Avgiftning av jern ved dosering av flytende silikat - en pilotstudie. NIVA Rapport, LI. Nr. 4694, 15 s., ISBN 82-577-4362-3.
- 51) Fivelstad, S., Olsen, A.B., Wågbo, R., Zeitz, S, Hosfeld, A.-C.- D., Stefansson, S. 2003a. A major water quality problem in smolt farms: Combined effects of carbon dioxide and reduced pH (Al) on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts. Aquaculture, 215, 339-357.
- 52) Fivelstad, S., Olsen, A., Åsgård, T., Bæverfjord, G., Rasmussen, T., Vindheim, T. and Stefansson, S.O. 2003b. Long-term sub-lethal effects of carbon dioxide on Atlantic salmon smolts: ion regulation, haematology, element composition, nephrocalcinosis and growth parameters. Aquaculture 215: 301-319.

- 53) Fivelstad, S., Olsen, A. B., Kløften, H., Ski, H., W., Stefansson, S. 1999a. Effects of carbon dioxide for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts at constant pH in bicarbonate rich freshwater. *Aquaculture* 178, 171-187.
- 54) Lydersen, E., Poleo, A.B.S., Nandrup Pettersen, M., Riise, G., Salbu, B., Krogglund, F. & Rosseland, B.O. 1994. The importance of "in situ" measurements to relate toxicity and chemistry in dynamic aluminium freshwater systems. - *J. Ecol. Chem.* 3: 357-365.
- 55) Poleo, A.B.S., Lydersen, E., Rosseland, B.O., Krogglund, F., Salbu, B. Vogt, R. & Kvellestad, A. 1994. Increased mortality of fish due to changing Al-chemistry of mixing zones between limed streams and acidic tributaries. - *Water, Air, and Soil Pollution* 75: 339-351.
- 56) Staurnes, M., Nordtvedt, R. & Rosseland, B.O. 1998. Vannkvalitet. (Water quality). Pp 87-113 in: Hansen, T. (ed.) *Oppdrett av laksesmolt. (Production of Atlantic salmon smolt)*. Landbruksforlaget, ISBN 82-529-1722-4.
- 57) Åtland, Å., H.C. Teien, V. Bjerknes & Rosseland, B.O., 2001. Erfaringer med bruk av silikat i settefiskproduksjon. *Norsk Fiskeoppdrett* 2 /2001.
- 58) Teien, H.-C., Krogglund, F., Salbu, B., Åtland, Å., and Rosseland, B.O. (2006). Sodium silicate as alternative to liming - reduced aluminium toxicity for Atlantic salmon in unstable mixing zones. *Sci. Total Environ.* (In press)
- 59) Fivelstad, S., Bergheim, Kløften, H., Haugen, R., Lohne, T. and Olsen, A. 1999b. Water flow requirements in the intensive production of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): Growth and oxygen consumption. *Aquacultural Engineering*, 20, 1-15.
- 60) Fivelstad, S. and Binde M. 1994. Effects of reduced waterflow in softwater on Atlantic salmon smolts (*Salmo salar* L.) while maintaining oxygen at constant level by oxygenation of the inlet water. *Aquacultural Engineering*, 13, 211-238.
- 61) Fivelstad, S., Bergheim, A., Hølland, P. M., Fjermedal, A. B. 2004a. Water flow requirements in the intensive production of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 231, 263-277.
- 62) Fivelstad, S., Wågbo, R., Olsen, A. B. Sublethal effects of carbon dioxide at two temperatures on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr: physiology and growth, in prep. 1-20.
- 63) Hosfeld, C. D., Fivelstad, S., Waagbø, R., Olsen, A. B., Breck, O., Engevik, A., Mollan, T., Lunde, T., Stefansson, S. Long-term separate and combined effects of environmental hypercapnia and hyperoxia in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts. (in prep.)
- 64) Hesthagen, T. and Hansen, L. P., 1991. Estimates of the annual loss of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Norway due to acidification. *Aquacult. Fish. Manage.* 22; 85-91.
- 65) Krogglund, F., Wright, R. F., and Burchart, C., 2002. Acidification and Atlantic salmon: critical limits for Norwegian rivers. Oslo, Norwegian Institute for Water Research; 61 p.
- 66) Holst, J.C. Jakobsen, P.J., Nilsen, F., Holm, M., Asplin, L., 2001. Lakselusen dreper villaksen. Kan vi spore effekter av tiltakene så langt? Institute of Marine Research, Bergen, Norway, Havbruksrapporten 2001.
- 67) Heuch, P.A., Bjørn, P.A., Finstad, B., Holst, J.C., Asplin, L., Nilsen, F., 2005. A review of the Norwegian 'National Action Plan Against Salmon Lice on Salmonids': The effect on wild salmonids. *Aquaculture* 246, 79-92.
- 68) Bjørn, P.A., Finstad, B., 1997. The physiological effects of salmon lice infection on sea trout post smolts. *Nordic J. Freshw. Res.* 73, 60-72.
- 69) Finstad, B., Bjørn, P.A., Grimnes, A., Hvidsten, N.A., 2000. Laboratory and field investigations of salmon lice [*Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer)] infestation on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) post-smolts. *Aquacult. Res.* 31, 795-803.
- 70) Massabuau, J.C. 2003. Primitive, and protectice, our cellular oxygenation status. *Mechanisms of Ageing and Development* 124, 857-863.