

**Effekten av metaller på
ektoparasittene *Gyrodactylus*
derjavini og *G. magnificus***

Hilde Birkeland Høivang

Cand. scient. oppgave



**Universitetet i Oslo
Biologisk Institutt
Avdeling for marinbiologi og limnologi
Våren 2007**

Forord

"The real voyage of discovery consists not in seeking new landscapes, but in having new eyes"

Marcel Proust

Denne hovedoppgaven har vært som en lang vinternatt. Med noen stormer, noen vindkast og som en tunnel mot lyset og våren. Men i prosessen har det skjedd en utvikling som har trengt tid for å modnes. Heldigvis har jeg hatt mange gode venner underveis, som har gjort sluttproduktet mulig. Jeg vil takke Johannes Holmen, Maj Arnberg og Victoria Østrem for frivillig å ha blitt med i felt og på fisketur med el-apparat, i kjent "brødrene Dahl-stil". En umåtelig stor takk til tålmodige mamma, pappa og Kjell-Reidar Høivang (de to sistnevnte har også har gått med el-fiske apparat). I tillegg har Anders G. Hagen, Christian Volan, Christian Haugland, Lise Heier, Hege Gehrken, Siri Bergseth, Hege Vestheim, Solvor Berntsen, Margrethe Galasz, Elin Engstrøm og Mikkel Petersen bidratt med mye hyggelig sosialt samvær, samt at studietiden gikk unna med blant annet underholdende kollokvierunder. Sistnevnte skal ha takk for å ha holdt ut med meg på lesesalen på slutten. Sidsel Mørk skal ha takk for hjelp med "Atom Abs'en". Haakon Hansen og Grethe Robertsen er jeg dypt takknemlig for hjelp med artsbestemming og fotografering av parasitten *G. magnificus*. En spesiell takk til Lars Flodmark, Ruben Pettersen og Ragnhild E. Johansen for mange uvurderlige diskusjoner, hjelp i felt og med gjennomgang av teksten. Arne Bjørge har bidratt med kritiske innspill, Kristine Stensberg med redigering og Asbjørn Vøllestad skal ha stor takk for hjelp med statistikken. Til slutt må jeg takke min veileder Toni Poléo for at denne oppgaven i det hele tatt ble mulig og for at Cand. scient drømmen kunne bli virkelighet. Takk for at du ikke gav meg opp. Lærdom kommer ikke av seg selv, har jeg grundig fått erfare -men jeg vil nok se framover med litt andre øyne enn da jeg startet på denne nattevandringen.

1. juni 2007

Hilde

Sammendrag

Ektoparasitter på fisk påvirkes i stor grad av den vannkvaliteten som fisken lever i. Betydningen av vannkvalitet for fisk har vært gjenstand for en omfattende forskningsinnsats siden 1920-tallet.

Derimot har betydningen av vannkvalitet for ektoparasitter på fisk, ikke vært studert i særlig stor grad. Først i de senere årene har flere studier vist at aluminium og sink kan virke inn på dødeligheten av noen ektoparasitter, ved konsentrasjoner som ikke skader verten. Kunnskap om hvordan andre metaller virker inn på ektoparasitter, er fortsatt begrenset.

Hovedmålet med denne oppgaven var å studere effekten av metallene aluminium (Al), sink (Zn), kobber (Cu) og nikkel (Ni) på ektoparasittene *Gyrodactylus derjavini* og *G. magnificus* (Monogenea). På grunn av praktiske problemer med gjennomføringen ble *G. derjavini* kun eksponert for aluminium og sink. *G. derjavini* på ørret (*Salmo trutta*) og *G. magnificus* på ørekyte (*Phoxinus phoxinus*), ble benyttet med naturlige parasittpopulasjoner. Parasittene ble eksponert for ca. 200 µg/l aluminium, ca. 400 µg/l sink, ca. 40 µg/l kobber og ca. 5000 µg/l nikkel i separate kar med vanngjennomstrømning. Kontrollkar med parasitter på fisk og ubehandlet vann fungerte som referanser for hvert av forsøkene. Effekten av metalleksponeringene ble målt ved tellinger av alle parasittene på bedøvet, individmerket fisk. Tellingene ble gjort hyppigere i tidlig fase av hvert forsøk. Hvert forsøk varte mellom ca. 5 og 30 døgn, helt til det ikke var flere parasitter igjen på fiskene i eksponeringskarene med metaller.

Mine resultater viser at aluminium og sink har en reduserende og eliminerende effekt på *G. derjavini* og *G. magnificus* uten at det fører til dødelighet hos vertsfisken. Det er også for første gang blitt vist at nikkel har negativ effekt på *G. magnificus* og at denne effekten er betydelig sterkere på parasitten enn vertsfisken. Ved eksponering av kobber var det ingen signifikant forskjell mellom abundansen (antall parasitter per fisk) i det Cu-eksponerte karet og kontrollkaret. Likevel var det en svak nedgang i prevalensen (%-andel infisert fisk) og dette resultatet åpner muligheten for at en effekt av kobber under litt andre forutsetninger ikke kan utelukkes. Resultatene mine har bidratt til økt kunnskap av hvilke vannkjemiske faktorer som er av betydning for overlevelsen til to arter i slekten *Gyrodactylus*. De er av økologisk betydning i forhold til forståelsen av disse to artenes naturlige utbredelse og forekomst.

Innholdsfortegnelse

1. INNLEDNING	1
1.1. Introduksjon	1
1.2 Metaller i miljøet	2
1.2.1 Aluminium (Al)	2
1.2.2 Sink (Zn)	3
1.2.3 Kobber (Cu)	3
1.2.4 Nikkel (Ni)	4
1.3 <i>Gyrodactylus</i> sp.	5
1.4 Vannkvalitet og ektoparasitter	6
1.5 Problemstilling	7
2. MATERIALE OG METODER	8
2.1 Forsøksdyr	8
2.2 Forsøksoppsett	9
2.3 Forsøksprotokoll	11
2.3.1 Forsøk 1 og 2	11
2.3.2 Problemer med parasittinfeksjonen	12
2.3.3 Forsøk 3 og 4	12
2.3.4 Forsøk 5	13
2.4 Analyser	14
2.4.1 Vannets ledningsevne, pH og temperatur	14
2.4.2 Metallanalyser	14
2.4.3 Parasittundersøkelser	15
2.5 Statistiske analyser	15

3. RESULTATER	17
3.1 Vannets ledningsevne, pH og temperatur	17
3.2 Metaller	19
3.3 Parasitter	23
4. DISKUSJON	29
4.1 Effekt av aluminium (Al)	29
4.2 Effekt av sink (Zn)	31
4.3 Effekt av kobber (Cu)	32
4.4 Effekt av nikkel (Ni)	33
4.5 Hvilken betydning har mine resultater for forekomst, spredning og utbredelse av ektoparasitter generelt og for <i>G. derjavini</i> og <i>G. magnificus</i> spesielt?	35
4.6 Konklusjon	37
5. REFERANSER	38

1. Innledning

1.1. Introduksjon

Navnet ektoparasitt røper at disse dyrene lever på utsiden av sine verter og dermed eksponeres for det samme ytre miljøet som dem. Ektoparasitter på fisk påvirkes derfor i stor grad av den vannkvaliteten som fisken lever i. Betydningen av vannkvalitet for fisk har vært gjenstand for en omfattende forskningsinnsats siden 1920-tallet. Derimot har betydningen av vannkvalitet for ektoparasitter på fisk, ikke vært studert i særlig stor grad. Malmberg (1957; 1970) var tidlig ute med å påpeke at vannkvaliteten var viktig for overlevelsen av ektoparasitter på fisk. Likevel førte ikke denne anerkjennelsen til at forskning på makromiljøet til slike parasitter, skjøt fart. Først i 1988 kom det som synes å være den første rapporten, der betydningen av vannkvalitet for ektoparasitter ble nærmere beskrevet (Khan & Kiceniuk, 1988) og ikke før helt på slutten av 90-tallet ble dette temaet studert mer inngående (Soleng *et al.*, 1999; 2005; Larsen & Buckmann, 2003; Poléo *et al.*, 2004; Pettersen *et al.*, 2006a). Det som først og fremst satte ny fokus på dette forskningsfeltet er mest sannsynlig introduksjonene og spredningene av lakseparasitten *Gyrodactylus salaris* til Norge, som skjedde på 70 -tallet. Denne parasitten regnes i dag som en av de største utryddningstruslene for de norske bestandene av atlantisk laks (*Salmo salar*), en art det er bred interesse å verne om. Siden begynnelsen av 80 -tallet har mange elver blitt behandlet med rotenon for å bekjempe *G. salaris*. Imidlertid tar denne metoden sikte på å drepe parasittens vert, er med andre ord ikke parasittspesifikk (Johnsen *et al.*, 1999) og fører derfor til at også andre fiskearter i elvene dør som følge av behandlingen. Metoden har lenge høstet omfattende kritikk fra mange ulike hold. Denne problemstillingen har inspirert forskere til å rette søkelyset mot andre, mer miljøvennlige og parasittspesifikke metoder og det er her betydningen av ektoparasitters ytre miljø kommer inn.

De siste årene har det blitt publisert flere studier som tar for seg effekten av aluminium (Al) på *G. salaris* (Soleng *et al.*, 1999; 2005; Poléo, *et al.*, 2004). Studiene viser at aluminium har en klar effekt på *G. salaris*, uten at laksen tar vesentlig skade av aluminiumseksponeringen. Dette til tross for at laks regnes for å være en av de mest sensitive fiskeartene for aluminium (Poléo *et al.*, 1997). Disse forskningsresultatene har derfor dannet grunnlaget for utviklingen av en ny metode for å bekjempe *G. salaris* i norske lakseelver uten å ta livet av fisk (Hytterød *et al.*, 2005; Pettersen *et al.*, 2006b). I etterkant av studiene til Soleng *et al.*, (1999) har også effekten av andre metaller blitt testet mot denne parasitten. Poléo *et al.* (2004) studerte effekten av kobber (Cu), sink (Zn), jern (Fe) og

mangan (Mn) på *G. salaris*, i tillegg til aluminium. Videre har det også vært gjort et studium hvor man ikke har variert metallet, men variert parasittene ved å teste effekten av aluminium på flere ulike ektoparasitter hos fisk (Pettersen *et al.*, 2006a). Det gjenstår imidlertid å teste effekten av ulike metaller på andre parasitter enn *G. salaris*. Økt kunnskap om hvordan ulike metaller påvirker ektoparasitter generelt og gyrodactylider spesielt, vil kunne gi en bedre forståelse av betydningen vannkvaliteten har for disse parasittenes forekomst, spredning og utbredelse. Derfor er fokus i denne oppgaven blitt rettet mot to andre gyrodactylider enn *G. salaris* under eksponeringer for metaller, nærmere bestemt aluminium, sink, kobber og nikkel.

1.2 Metaller i miljøet

1.2.1 Aluminium (Al)

Aluminium forekommer i en rekke bergarter og mineraler, og er det tredje vanligste grunnstoffet i jordskorpen (Lydersen, *et al.*, 2002). Under naturlige betingelser forgår det en langsam forvitring av Al-holdige bergarter. Som resultat av denne forvitringen vil aluminium finnes i jorden som ulike organiske og uorganiske utfellinger, eller bundet til overflaten på organiske eller uorganiske partikler (Poléo, 1992). Dette gir et naturlig moderat innhold av aluminium i jord og løsmasser, men lavere konsentrasjoner i vann og vassdrag. Al-konsentrasjonene i de fleste ferskvannssystemer i Norge er <100 µg/l (Poléo, 1995). Sur nedbør øker imidlertid forvitringen av de Al-holdige bergartene og frigjør dermed mer aluminium til jordsmonnet (Lydersen, 1989). Den økte syretilførselen vil dessuten føre til en ionebyttingsprosess i jorden der H⁺ frigjør aluminium som er bundet til organiske og uorganiske partikler. En senket pH i jorden vil også gi høyere løselighet for utfelte Al-forbindelser. Ved forsuring av jordsmonnet vil med andre ord utvasking av Al-forbindelser til vassdragene øke (Cronan & Schofield, 1979). Resultatet blir en økning av Al-konsentrasjonen i vann, noe som regnes som den viktigste årsaken til at fisk dør i forsurede vann og vassdrag (Schofield & Trojnar, 1980; Driscoll *et al.*, 1980; Gensemer & Playle, 1999). Nevnt innledningsvis er det i de siste årene blitt dokumentert at aluminium generelt har en sterkere negativ effekt på ektoparasitter enn på fisk (Soleng *et al.*, 1999; 2005; Larsen & Buchmann 2003; Poléo *et al.*, 2004; Hytterød *et al.*, 2005; Pettersen *et al.*, 2006a; 2006b). Det vil være interessant å utvide denne kunnskapen til å omfatte flere

arter av ektoparasitter, som igjen vil gi et større bilde av betydningen av vannkvaliteten for deres overlevelse og spredningsmuligheter.

1.2.2 Sink (Zn)

Sink er også et grunnstoff som finnes i mineraler i jordskorpen, men finnes i betydelig mindre mengder enn aluminium. Hvert år frigjøres litt mindre enn 9 millioner tonn sink til det globale miljøet, hvorav hele 96 % av dette skyldes menneskelig aktivitet (Leonard & Gerber, 1989). Normale konsentrasjoner av total sink i ferskvannssystemer i Skandinavia er vanligvis lavere enn 5 µg Zn/l (Lydersen *et al.*, 2002). Sink løst i vann, er i likhet med aluminium, giftig for fisk (Eisler, 1993; Lydersen *et al.*, 2002). Det foreligger også noe dokumentasjon på at sink er mer giftig for ektoparasitter hos fisk enn for selve fiskeverten (Larsen & Buchmann, 2003; Poléo *et al.*, 2004; Gheorghiu, 2007). I tillegg er det dokumentert at sink har negativ effekt på frittlevende stadier av digener (cercarielarver) (Mecham & Holliman, 1975; Asch & Dresden, 1977; Evans, 1982a; 1982b; Morley *et al.*, 2001). Fordi sink er så vanlig forekommende i naturen, men likevel synes å virke reduserende og eliminerende på noen ektoparasitter, vil jeg forsøke å utvide den etablerte kunnskapen ved å undersøke om sink har tilsvarende effekt på to gyrodactylider som er nye i denne forsøkssammenhengen.

1.2.3 Kobber (Cu)

I likhet med aluminium og sink finnes det kobber i mange mineraler i jordskorpen (Lydersen *et al.*, 2002). Kobber brukes i en lang rekke produkter over hele verden, og utslippene til miljøet er mange steder betydelige. Normale konsentrasjoner av akvatisk kobber (Cu^{2+}) i overflatevann er som regel lave i Skandinavia < 5 µg Cu/l (Spear & Pierce, 1979; Lydersen *et al.*, 2002), men kan være svært høye i konsentrerte områder påvirket av jordbruk eller gruvevirksomhet (Lydersen *et al.*, 2002). Kobber løst i vann er giftig for fisk og sammenliknet med andre ferskvannsorganismer, regnes fisk for å være relativt sensitive for kobber (Eisler, 1997; Lydersen *et al.*, 2002). Effekten av kobber på limniske ektoparasitter på fisk har ikke vært mye studert. Poléo *et al.* (2004) rapporterer at kobber har ingen, eller svært liten, effekt på *G. salaris*. Det finnes imidlertid arbeid som viser at kobber har negativ effekt på frittlevende stadier av digener (cercarielarver) (Evans, 1982a; 1982b). Kobber er et metall som det er interessant å utvide kunnskapen om, fordi det allerede lenge har vært benyttet som

et pesticid i marine systemer og er kjent for å ha en giftig effekt (Lydersen *et al.*, 2002). Til tross for at Poléo *et al.* (2004) ikke fant noen effekt av kobber på *G. salaris*, vil det være interessant å studere effekten av dette metallet på en annen ektoparasitt mer inngående. En lavere pH enn det Poléo *et al.* (2004) benyttet, vil teoretisk kunne gi en større gifteffekt av metallet (Meador, 1991; Eisler, 1997). Samtidig vil jeg finne ut om kobber kan ha effekt på en gyrodactylide som det generelt finnes lite kunnskap om.

1.2.4 Nikkel (Ni)

Det antas at jordens kjerne består av store mengder nikkel. I jordskorpen er nikkel nokså vanlig, ikke så vanlig som aluminium, men betydelig mer vanlig enn kobber og sink. Nikkel frigjøres til miljøet gjennom forvitring av mineraler og menneskelig aktivitet. Sistnevnte står for 84 % av denne frigjøringen (Eisler, 1998). Normale konsentrasjoner av nikkel i overflatevann i Skandinavia er <1,5 µg Ni/l (Lydersen *et al.*, 2002). Nikkel løst i vann har en toksisk effekt på fisk som minner mye om den effekten aluminium har (Pane, *et al.*, 2004). Aluminium og nikkel synes å virke primært på fiskens respirasjon, mens de fleste andre metaller, inkludert kobber og sink, synes å virke på fiskens ioneregulering (Pane *et al.*, 2003). Så langt jeg har kunnet finne ut har effekten av nikkel på ektoparasitter hos fisk aldri vært studert tidligere. Nikkel er et spesielt interessant metall å studere i forbindelse med ektoparasitter, fordi det på mange måter har likhetstrekk med hvordan aluminium oppfører seg i vann. Med den etablerte kunnskapen som nå finnes om virkningen aluminium har på en rekke ektoparasitter (Soleng *et al.*, 1999; 2005; Larsen & Buckmann, 2003; Poléo *et al.*, 2004; Hytterød *et al.*, 2005; Pettersen *et al.*, 2006a; 2006b), vil det være interessant å finne ut om nikkel gir den samme virkningen.

1.3 *Gyrodactylus* sp.

Slekten *Gyrodactylus* tilhører klassen Monogenea, også kalt monogene ikter eller haptormark. Det siste navnet gjenspeiler at de sitter festet til sin vert med et stort festeorgan anriket med 16 festekroker bakerst på kroppen, en såkalt ”opisthaptor” (Malmberg, 1956). Gyrodactylidene (<1 mm. lange) lever av slim- og epitelceller, er hermafroditter (tvekjønnet), kan reprodusere uten mellomverter og leve hele sitt liv på en og samme vert. Spredning skjer ved direkte kontakt mellom vertsfisk, fra bunnssubstrat eller døde infiserte fisk, men kan også skje indirekte gjennom frie vannmasser (Bakke *et al.*, 2002b). Det er kjent at uten en vert kan de ikke leve lenge (Malmberg, 1957; Bakke *et al.*, 2002b). De har to ulike reproduksjonsstrategier; aseksuell partenogenese og seksuell reproduksjon (Cable & Harris, 2002). I tillegg får reproduksjonen hos gyrodactylidene ofte betegnelsen ”hypervivipar” fordi de ”føder” levende avkom og kan ha en svært kort generasjonstid (<24 timer ved 25°C). Slekten omfatter mer enn 400 beskrevne arter. Mange arter er ikke spesifikt knyttet til kun én art som vertsorganisme og man regner med at vertspotensialet er på hele 25.000 arter, fortrinnsvis teleoster (Bakke *et al.*, 2002a).

Slekten har stor utbredelse på en rekke fiskearter i norsk fauna (Sterud, 1999; Harris *et al.*, 2004) og de aller fleste av gyrodactylidene i norsk fauna representerer ingen utrydningstrussel for vertspopulasjonene de lever på (Mo, *et al.*, 1999). Ett unntak er *G. salaris*, som er i stand til å desimere en laksepopulasjon så kraftig at det i verste konsekvens fører til utryddelse i vassdraget. Man regner med at *G. salaris* kom til Norge gjennom flere innførsler, blant annet av baltisk laks fra Sverige (Hansen, 2007). Atlantisk og baltisk laks tilhører samme art, men har levd atskilt så lenge at det spesifikke immunforsvaret mot parasitten har utviklet seg forskjellig (Hansen, 2007).

Både *G. derjavini* og *G. magnificus* regnes som vanlig forekommende i Norge (Sterud, 1999; Harris *et al.*, 2004). *G. derjavini* har ørret (*S. trutta*) som sin hovedvert, men arten har også blitt funnet på laks, regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*), bekkerøye (*Salvelinus fontinalis*) og karpe (*Cyprinus carpio*) (Ergens, 1983; Malmberg & Malmberg, 1991; Thoen, *et al.*, 1998; Sterud, 1999; Harris *et al.*, 2004). *G. magnificus* har også blitt funnet på ørret, men det er ørekyte (*Phoxinus phoxinus*) som regnes som dens hovedvert (Thoen, *et al.*, 1998; Sterud, 1999). I tillegg er *G. magnificus* blitt funnet på sik (*Coregonus lavaretus*) og mort (*Rutilus rutilus*) (Ergens, 1983; Moravec, 2001; Harris *et al.*, 2004).

1.4 Vannkvalitet og ektoparasitter

Malmberg, (1957; 1970) påpekte som tidligere nevnt at vannkvalitet, derav også vannets humusinnhold og grad av eutrofiering, var av betydning for forekomsten av gyrodactylider. I 1988 ble det rapportert at aromatiske hydrokarboner hadde effekt på en *Gyrodactylus* art hos torsk (*Gadus morhua*) (Khan & Kiceniuk, 1988). Noe senere ble det dokumentert at vannets pH har betydning for forekomsten av parasitter generelt i ulike deler av samme vassdrag og at forekomsten var lavere i sure vassdrag sammenlignet med mindre sure vassdrag (Cone *et al.*, 1993, Marcogliese & Cone, 1996).

De siste års studier har, som jeg har vært inne på, vist at vannkvaliteten kan ha stor betydning for gyrodactyliders interaksjon med sine verter (Soleng *et al.*, 1999; 2005; Larsen & Buckmann, 2003; Poléo *et al.*, 2004; Pettersen *et al.*, 2006a). Først og fremst er det dokumentert at relativt lave konsentrasjoner av aluminium (100 µg/l) i surt vann kan ha en klar negativ effekt på *G. salaris* på laks (Soleng *et al.*, 1999; 2005; Poléo *et al.*, 2004; Hytterød *et al.*, 2005; Pettersen *et al.*, 2006a; 2006b). En studie har også vist at vannets pH alene kan ha en negativ effekt på *G. salaris* (Soleng *et al.*, 1999). Når pH er så lav som 5,0 kan denne effekten virke inn like sterk som effekten av surt Al-rikt vann (Soleng *et al.*, 1999). Videre er det dokumentert at aluminium i surt vann også har effekt på *G. derjavini* og *G. macronychus* (Pettersen *et al.*, 2006a). Pettersen *et al.* (2006a) studerte effekten av aluminium på fire ulike ektoparasitter hos fisk, foruten *G. derjavini* og *G. macronychus* ble effekten på vanlig fiskelus (*Argulus foliaceus*) og glochidiestadiet av andemusling (*Anodonta anatina*) studert. Det ble vist at aluminium hadde effekt på alle de undersøkte parasittartene, uten at fisken tilsynelatende tok skade av eksponeringene. Aluminium synes å ha en sterkere effekt på *Gyrodactylus* artene enn de to andre ektoparasittene (Pettersen *et al.*, 2006a). Larsen & Buchmann (2003) viste at aluminium har en negativ effekt på *Pseudodactylogyrus anguillae* hos ål (*Anguilla anguilla*).

Når det gjelder andre metaller enn aluminium, så er det dokumentert at kobber, jern og mangan ikke har noen nevneverdig effekt på *G. salaris*, mens sink reduserer antallet på laks uten å skade den (Poléo *et al.*, 2004). Larsen & Buchmann (2003) fant at sink har en negativ effekt på *Pseudodactylogyrus anguillae* hos ål (*Anguilla anguilla*).

1.5 Problemstilling

I denne oppgaven har jeg bygget videre på tidligere arbeider og testet den delen av matrisen som enda ikke har vært studert, nemlig effekten av metallene (Al, Zn, Cu og Ni) på andre parasitter enn *G. salaris*, nærmere bestemt monogenene *G. derjavini* og *G. magnificus*. Nikkel er et metall som ikke har vært undersøkt tidligere i denne typen studier.

Betydningen av dette studiet er ikke først og fremst å søke nye metoder eller områder å bekjempe ektoparasitter hos fisk på, men å bidra til økt kunnskap om hvilke vannkjemiske faktorer som virker begrensende/eleminerende for to ektoparasittarter. Parasittisme er den vanligste livsformen på jorda, og alle fiskearter har minst en parasitt (Poppe, 1999). Det er derfor viktig at vi også skaffer oss kunnskap om hvordan denne delen av det biologiske mangfoldet påvirkes av tilførsler av miljøgifter i naturen, enten det er ved forurensning eller ved kjemisk behandling av vassdrag.

Målet med denne hovedfagsoppgaven var å beskrive virkningen av aluminium, sink, kobber og nikkel på de to monogenene *G. derjavini* (på ørret) og *G. magnificus* (på ørekyte). På grunn av problemer med forsøksdyrene, som jeg vil komme nærmere inn på senere i oppgaven, ble målet underveis i arbeidet justert noe. Målsetningen som denne oppgaven har tatt sikte på å nå, har derfor vært å beskrive virkningen av aluminium og sink på *G. derjavini*, og virkningen av aluminium, sink, kobber og nikkel på *G. magnificus*. Forsøkene ble videre designet for å kunne svare på følgende spørsmål:

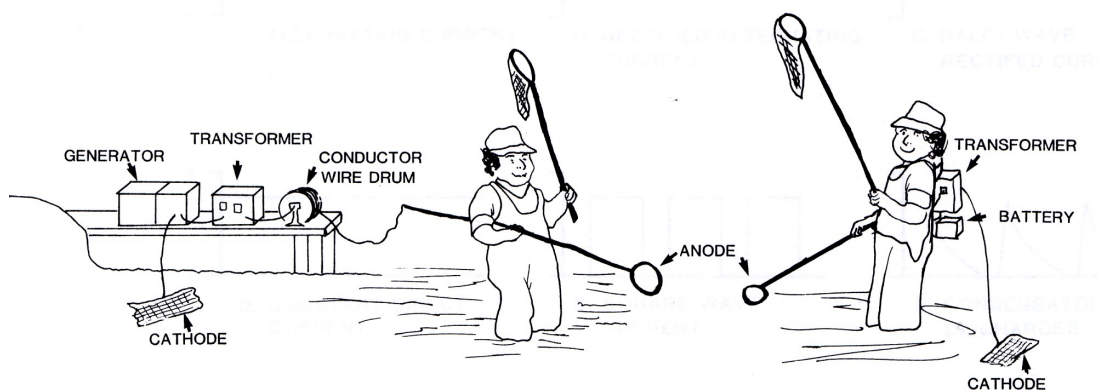
1. Har aluminium (Al) og sink (Zn) effekt på infeksjonen av *G. derjavini* hos ørret?
2. Har aluminium (Al), sink (Zn), kobber (Cu) og nikkel (Ni) effekt på infeksjonen av *G. magnificus* hos ørekyte?
3. Hvilken betydning har mine resultater for forekomst, spredning og utbredelse av ektoparasitter generelt, og for *G. derjavini* og *G. magnificus* spesielt?

2. Materiale og metoder

2.1 Forsøksdyr

Ørret (lengde 8,2 - 14,5 cm, vekt 5,3 - 34,0 g) naturlig infisert med *G. derjavini* ble fanget i Sandvikselva i Bærum, og ørekyte (lengde 3,7 - 8,8 cm, vekt 0,6 - 6,9 g) naturlig infisert med *G. magnificus* ble fanget i Lysakerelva mellom Bærum og Oslo. Dette ble gjort ved hjelp av mobilt elektrisk fiskeapparat, som beskrevet av Bohlin *et al.*, (1989) (figur 1). Umiddelbart etter fangsten ble fisken transportert til Biologisk institutt ved Universitetet i Oslo. Forsøkene ble utført ved akvarieavdelingen ved instituttet i periodene 29. juli – 7. oktober 2002 og 24. februar – 18. oktober 2004. Driftsvannet i akvarieavdelingen er vann fra Oslos drikkevannskilde, Maridalsvannet. Vannet blir grovfiltret, avkloret ved hjelp av natriumtiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) før det distribueres til de ulike forsøksrommene i avdelingen. Tabell 1. viser forsøksvannets kjemiske sammensetning. For å kunne følge parasittinfeksjonen hos hvert enkelt individ ble fisken individuelt merket; ørret med Alcian-blå på buken, og ørekyte ved hjelp av finneklipping.

Hos den innfangede fisken var det stor variasjon i antall parasitter per individ (abundans). Kun ørret med abundans på minimum 50, og ørekyte med abundans på minimum 7 ble plukket ut for bruk i forsøkene. *G. derjavini* er vanlig på ørret i Sandvikselva og ble artsbestemt på bakgrunn av ytre morfologiske trekk. Ørekyte kan ha flere *Gyrodactylus* arter som er vanskelige å skille ved hjelp av ytre morfologi. *G. magnificus* ble derfor artsbestemt ved zoologisk museum, Universitetet i Oslo, ved hjelp av molekylærbiologiske metoder.



Figur 1. Utstyr til bruk ved el-fiske. Til venstre ved stasjonære og til høyre mobile systemer, som er det jeg har brukt. Etter Bohlin, (1989).

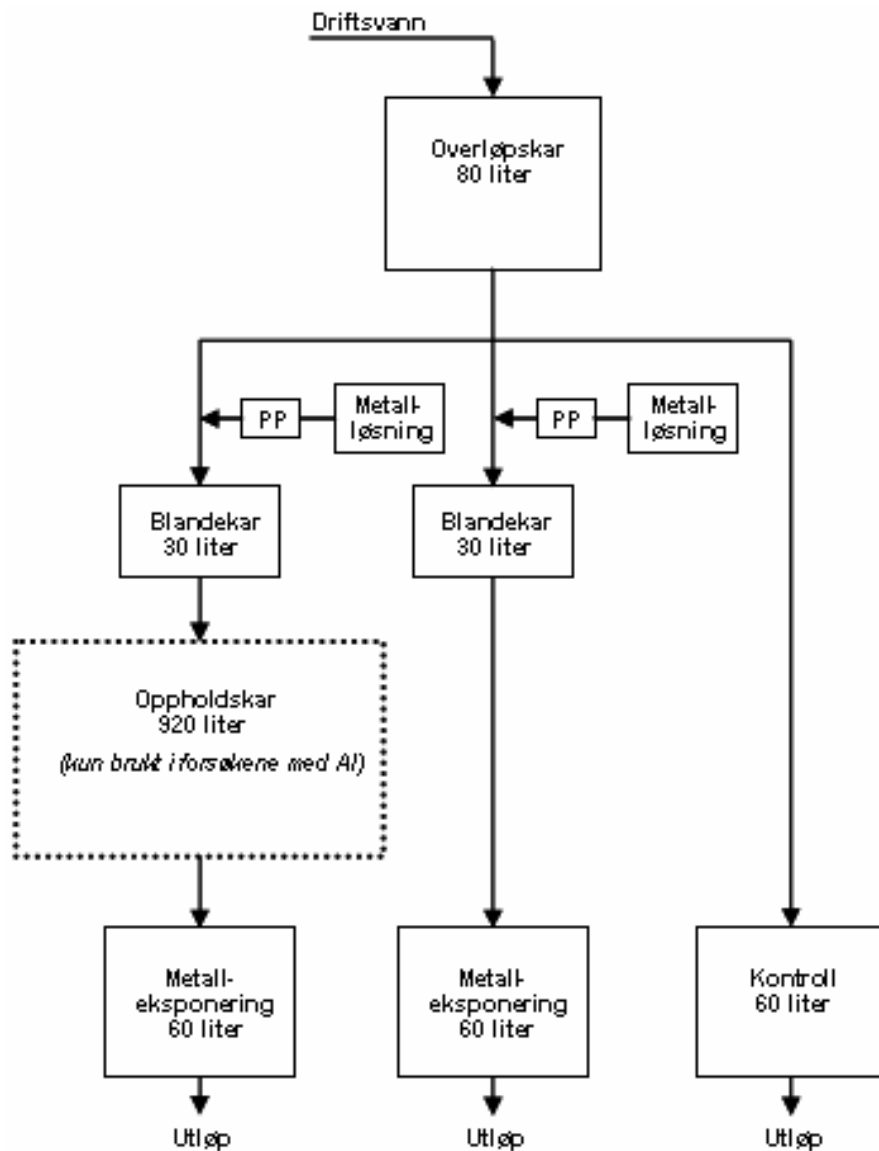
Tabell 1. Forsøksvannets kjemiske sammensetning (gjennomsnitt \pm Sd, n = antall målinger (fra Poléo *et al.*, 2004).

			(n)
Na^+	mg/l	$1,58 \pm 0,09$	(90)
K^+	mg/l	$0,33 \pm 0,05$	(90)
Ca^{2+}	mg/l	$2,42 \pm 0,13$	(90)
Mg^{2+}	mg/l	$0,39 \pm 0,04$	(90)
Cl^-	mg/l	$2,34 \pm 0,16$	(90)
SO_4^{2-}	mg/l	$3,48 \pm 0,33$	(90)
$NO_3^- (N)$	$\mu g/l$	210 ± 33	(90)
Total N	$\mu g N/l$	383 ± 49	(90)
TOC	$\mu g C/l$	$3,79 \pm 0,10$	(90)
Total Cu^{2+}	$\mu g/l$	1 ± 0	(54)
Total $Fe^{2+/3+}$	$\mu g/l$	42 ± 12	(54)
Total Mn^{2+}	$\mu g/l$	8 ± 2	(54)
Total Zn^{2+}	$\mu g/l$	8 ± 1	(54)

2.2 Forsøksoppsett

Forsøksoppsettet ble konstruert slik at det skulle være mulig å skape de kjemiske betingelsene som parasittene skulle eksponeres for. Oppsettet besto av en rekke ulike komponenter (figur 2). Driftsvannet ble ledet inn i et 80 liter overløpskar, som sikret jevnt vanntilførsel til resten av oppsettet. Fra overløpskaret ble vannet ledet til to 30 liters blandekar og til forsøkskaret for kontrollfisken. Blandekarene hadde som oppgave å sikre en god innblanding av de metallene jeg satte til forsøksvannet. Fra hvert blandekar ble vannet ledet videre til et 60 liter forsøkskar for metalleksponering av fisk. I rørene inn til blandingskaret ble metall-løsning tilsatt driftsvannet (figur 2). I forsøkene hvor aluminium inngikk som et av metallene, ble et 920 liter oppholdskar koblet inn mellom det ene blandekaret og forsøkskaret. Hensikten med dette karet var å gi vannet en lang oppholdstid (16 timer) for å sikre at løst aluminium var på stabile former når vannet ble ledet inn i forsøkskaret. Forsøkskarene ble dekket med lokk for å unngå at fisken skulle hoppe ut. Lysregimet under alle forsøkene var 12 t lys og 12 t mørke. Før hvert enkelt forsøk ble alle forsøkskarene syrevasket og desinfisert med Virkon-S.

Selve inndoseringen av metallene ble gjort ved hjelp av peristaltiske pumper (Watson Marlow 205S, Watson-Marlow Bredel, Cornwall, UK). Doseringsløsningene ble laget ved å løse henholdsvis aluminiumsulfat ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$), sink sulfat ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), kobbersulfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) og nikkelnitrat ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) i dobbeltdestillert vann. I tillegg ble doseringsløsningene tilsatt små mengder konsentrert syre for å justere pH i eksponeringsvannet i enkelte forsøk. Svovelsyre (H_2SO_4) ble brukt til å surgjøre Al-, Cu- og Zn-løsningene, mens salpetersyre (HNO_3) ble brukt til å surgjøre Ni-løsningen.



Figur 2. Skjematisk tegning som viser forsøksoppsettet som ble brukt i denne oppgaven (PP = peristaltisk pumpe).

2.3 Forsøksprotokoll

Denne oppgaven har blitt gjennomført som fem separate forsøk (Tabell 2.). I forsøk 1 og 2 ble effekten av aluminium og sink på *G. derjavini* studert; aluminium i forsøk 1 og sink i forsøk 2. I forsøk 3, 4 og 5 ble effekten av aluminium, kobber, nikkel og sink på *G. magnificus* studert; aluminium og kobber i forsøk 3, nikkel og sink i forsøk 4 og bare sink i forsøk 5 (Tabell 2).

Tabell 2. Oversikt over alle forsøkene, forsøksdyr og nominell konsentrasjoner for forsøkene.

Forsøk				
Nr	Forsøksdyr	Periode	Eksposering	*Nominell kons. (µg/l)
1	<i>G. derjavini</i>	29.07 - 13.08.2002	Al	200
	Ørret		Kontroll	0
2	<i>G. derjavini</i>	03.10 - 07.10.2002	Zn	400
	Ørret		Kontroll	0
3	<i>G. magnificus</i> Ørekyte	24.02 - 17.03.2004	Al	200
			Cu	40
			Kontroll	0
4	<i>G. magnificus</i> Ørekyte	26.05 - 10.06.2004	Ni	5000
			Zn	400
			Kontroll	0
5	<i>G. magnificus</i> Ørekyte	03.10 - 18.10.2004	Zn	400
			Kontroll	0

*Med nominell konsentrasjon menes konsentrasjonen jeg hadde til hensikt å eksponere fisk og parasitter for.

2.3.1 Forsøk 1 og 2

Disse forsøkene ble satt i gang dagen etter at ørreten var fanget. I forkant av hvert forsøk ble 20 ørret som var infisert med *G. derjavini* undersøkt for antall parasitter og siden fordelt i to grupper, hvor 10 ble plassert i ett av forsøkskarene og 10 i kontrollkaret. Selve forsøkene ble startet ved at den kjemiske doseringen ble slått på. I forsøkskaret ble fisken eksponert for 200 µg/l aluminium i forsøk

1, og for 400 µg/l sink i forsøk 2. Fisk i kontrollkaret ble eksponert for rent driftsvann i begge forsøkene. Vannets pH, temperatur og ledningsevne ble målt daglig i begge karene gjennom forsøkene og vanngjennomstrømningen i forsøksoppsettet ble kontrollert to ganger hver dag. I forsøk 1 ble det tatt ut vannprøver (100 ml) til metallanalyser ved start, midtveis i og ved slutten av forsøket, mens det i forsøk 2 ble tatt ut prøver til metallanalyser hver dag. Vannprøver til metallanalyser ble tatt fra både forsøkskaret og kontrollkaret.

I forsøk 1 ble undersøkelsene av parasittantallet på forsøksfisken gjort hver dag i begynnelsen av forsøket, og etter fire dager ble parasittantallet underøkt på dag 6, 10 og 15. Forsøk 1 ble avsluttet etter 15 dager. I forsøk 2, som varte veldig kort (65 timer), ble undersøkelsene av parasittantallet på forsøksfisken gjort etter 12, 36 og 65 timer. Forsøk 2 ble avsluttet når det ikke var flere parasitter igjen på fisken i Zn-eksponeringskaret.

2.3.2 Problemer med parasittinfeksjonen

Under gjennomføringen av forsøk 1 og 2 viste det seg at parasittantallet sank meget raskt hos kontrollfisken så vel som den eksponerte fisken. Ørekyten ble ikke brukt i forsøk umiddelbart etter at den ble tatt inn i laboratoriet slik som det ble gjort med ørret (forsøk 1 og 2), og det viste seg at hos samtlige fisk sank parasittantallet betydelig i dagene etter at fisken ble tatt inn i akvarieavdelingen.. Dette var svært overraskende fordi jeg har fulgt samme prosedyre som Pettersen *et al.* (2006a), når det gjelder fangst, transport og oppbevaring av fisk i akvarieavdelingen ved Biologisk institutt. Pettersen *et al.* (2006a) rapporterer ikke om lignende problemer med synkende parasittantall etter at fisken ankom akvarieavdelingen. Imidlertid viste det seg at parasittantallet hos ørekyten etter en stund begynte å stige igjen. Forsøkene med ørekyte ble derfor utsatt inntil antallet parasitter hos flesteparten av individene var tilstrekkelig høyt til at forsøk kunne gjennomføres.

2.3.3 Forsøk 3 og 4

Disse forsøkene ble satt i gang når parasittantallet var tilstrekkelig høyt til at responser på ulike metaller kunne måles, som mål på endring i abundans (antall parasitter pr. fisk) og prevalens (%-andel infisert fisk). I forkant av hvert forsøk ble 30 ørekyter infisert med *G. magnificus* undersøkt for antall parasitter og siden fordelt i tre grupper, hvor 10 ble plassert i hver av de to forsøkskarene, og

10 i kontrollkaret. Selve forsøkene ble startet ved at den kjemiske doseringen ble slått på. I forsøk 3 ble fisk i forsøkskarene eksponert for henholdsvis 200 µg/l aluminium og 40 µg/l kobber, mens i forsøk 4 ble fisk i forsøkskarene eksponert for henholdsvis 400 µg/l sink og 5000 µg/l nikkel. Fisk i kontrollkaret ble eksponert for rent driftsvann i begge forsøkene. Vannets pH, temperatur og ledningsevne ble målt daglig i alle tre karene gjennom forsøkene, og vanngjennomstrømningen i forsøksoppsettet ble kontrollert to ganger hver dag. I begge forsøkene ble det tatt ut vannprøver (100 ml) til metallanalyser hver dag. Vannprøver til metallanalyser ble tatt fra både forsøkskarene og kontrollkaret.

I forsøk 3 ble undersøkelsene av parasittantallet på forsøksfisken gjort på dag 1, 3, 5, 9, 17, 22 og 29. Forsøk 3 ble avsluttet etter 29 dager. I forsøk 4 ble undersøkelsene av parasittantallet på forsøksfisken gjort på dag 1, 4, 8 og 15. Forsøk 4 ble avsluttet etter 15 dager, når det ikke var flere parasitter igjen på den Zn-og Ni-eksponerte fisken. Det ble ikke funnet noe dødfisk i noen av karene i forsøk 3.

2.3.4 Forsøk 5

Når antallet parasitter var tilstrekkelig høyt, ble 20 ørekyte som var infisert med *G. magnificus* undersøkt for antall parasitter, og siden fordelt i to grupper, hvor 10 ble plassert i den ene forsøkskaret og 10 i kontrollkaret. Selve forsøket ble startet ved at den kjemiske doseringen ble slått på. I dette forsøket ble fisken i forsøkskaret eksponert for 400 µg/l sink. Fisk i kontrollkaret ble eksponert for rent driftsvann. Vannets pH, temperatur og ledningsevne ble målt daglig begge karene gjennom forsøket og vanngjennomstrømningen i forsøksoppsettet ble kontrollert to ganger hver dag. Det ble det tatt ut vannprøver (100 ml) til metallanalyser hver dag. Vannprøver til metallanalyser ble tatt fra både forsøkskaret og kontrollkaret.

I forsøk 5 ble undersøkelsene av parasittantallet på forsøksfisken gjort kun før forsøksstart og ved avslutningen av forsøket. Forsøket ble avsluttet etter 15 dager, slik som forsøk 4. Hensikten med dette forsøket var å undersøke om bedøvingen og håndteringen av fisken i forbindelse med undersøkelsene av parasittene påvirket parasittantallet. Bakgrunnen for dette var problemet med synkende abundans hos fisk utenfor forsøk og i kontrollen, som jeg allerede har forklart (se pkt. 2.3.2.).

2.4 Analyser

2.4.1 Vannets ledningsevne, pH og temperatur

Vannprøver for måling av ledningsevne og pH ble tatt ut i 100 ml polyetylenflasker fra forsøkskarene og kontrollkaret. Vannets elektrolyttiske ledningsevne ble målt ved hjelp av et Radiometer CMD 80 ledningsevнемåler (København, Danmark). pH ble målt ved hjelp av et Radiometer PHM 29 pH-meter (København, Danmark) med en GK 2401 C kombinert glass/referanseelektrode. pH-meteret ble kalibrert med 4,00 og 7,00 bufferløsninger (Radiometer Analytical) hver dag før bruk. pH er en temperaturavhengig parameter, og kalibreringsbufferene ble derfor lagret ved samme temperatur som eksponeringsvannet. Vanntemperaturen i forsøkskarene og kontrollkaret ble målt direkte med et kvikksølvtermometer.

2.4.2 Metallanalyser

Konsentrasjonen av aluminium og kobber i vannet ble analysert ved hjelp av keton-ekstraksjon, beskrevet av Barnes (1975). Ved ekstraksjon av en vannprøve kompleksbindes aluminium eller kobber med 8-hydrokysyquinolin (HQ) (C_9H_7NO) og danner Al-oxinat eller Cu-azinat. Dette metall-HQ-komplekset ekstraheres over i en organisk fase av metylisobutylketon (MIBK). Metall-HQ-komplekset er lipofilt og vil derfor gå over i ketonfasen. Ekstraksjonstiden er på 20 sek. slik Barnes (1975) anbefaler. Ekstraktene ble lagret ved 4°C i minst 24 timer før metallkonsentrasjonen ble analysert spektrofotometrisk (Shimadzu UV-1201, Shimadzu Scientific Instruments, Japan), ved 395 nm for aluminium (Tikhonov, 1973; Bloom *et al.*, 1979). Absorbansen ble også målt ved 600 nm for å korrigere for interferens med jern ved 395 nm (Sullivan *et al.*, 1986). Standardavviket for metoden er beregnet til omtrent 1 % av gjennomsnittet (Sullivan *et al.*, 1986) og deteksjonsgrensen er i følge Vogt *et al.* (1994) 13 µg Al/l. Ved analyse av kobber ble ekstraktene avlest ved 407 nm (Schjolden, 1998). Ved denne bølgelengden er det interferens med både jern og aluminium. Bakgrunnsverdiene for kobber i driftsvannet er imidlertid svært lave (tabell 1, Poléo *et al.*, 2004). Ved å trekke absorbansen (407 nm) i ekstrakter fra kontrollvannet (rent driftsvann) fra absorbansen i ekstraktene fra vannet tilsatt kobber, kan konsentrasjonen av kobber i disse vannprøvene bestemmes (Schjolden, 1998).

Konsentrasjonen av sink og nikkel i vannet analysert ved hjelp av atomabsorpsjonsspektrofotometri (AAS) som beskrevet av Kahn, (1968). Det ble brukt et SpektrAA-10 Varian koblet til en Perkin-Elmer luft-acetylen brenner. Vannprøven ble injisert i brenneren. En egen hul katodelampe for hvert av de to metallene ble brukt til å sende lys gjennom flammen, ved bølgelengde 213,9 nm for sink og 232,0 nm for nikkel. Lyset som passerer flammen kan måles av en registrator i spektrofotometeret, som gir et mål på konsentrasjonen i forhold til en standardkurve.

I forbindelse med det første forsøket som ble gjort med sink, forsøk 2, ble vannprøvene sendt til Czech Geological Survey, Praha, for Zn-analysene. Laboratoriet i Praha benytter ionekromatografi (IC), og har oppgitt deteksjonsgrensen til å være 10 µg/l.

2.4.3 Parasittundersøkelser

Hver gang parasittene på fisken skulle telles ble hver fisk forsiktig tatt ut av forsøkskarene ved hjelp av hov og bedøvet i en klorbutanoløsning (0,2 g/l), som anbefalt av Bakke *et al.* (1990). Deretter ble fisken overført til et lite, sort kar, hvor hver enkelt fisk ble undersøkt ved hjelp av stereolupe. Parasitter på fiskenes kropp og finner ble talt. Etter undersøkelsen ble fisken overført til et kar med rikelig oksygenert vann fra den vanntypen de var tatt fra. Fisken ble oppbevart der til anestesien hadde sluttet å virke og så plassert tilbake i forsøket.

2.5 Statistiske analyser

Forsøksoppsettet i denne oppgaven bidrar til at de ti fiskene i hvert kar med samme behandling ikke er uavhengige av hverandre og derfor fungerer som pseudoreplikater. Effekten av et slikt oppsett gjør at de innsamlede resultatene må behandles med varsomhet i statistisk sammenheng. Samtidig er det klare fordeler forbundet med individmerking. Ved gjentatte målinger på samme individ, får jeg en korreksjon av ulikt antall parasitter per fisk ved starttidspunktet. I tillegg bidrar individmerking til at den negative effekten av pseudoreplikater får mindre innflytelse på de statistiske resultatene. Til behandlingen av resultatene fra parasitt-tellingene, ble ”repeated measures ANOVA” (r.m. ANOVA) brukt. I den statistiske analysen danner hvert teltidspunkt av ”antallet parasitter” en responsvariabel (Y) og disse multiple Y-variablene representerer de repeterte målingene. Den uavhengige variabelen ”behandling”, omfatter eksponering for metall og kontroll. ”Tid” representer den effekten som er

uavhengig av de forskjellige forsøkene "behandling". I samtlige av forsøkene vil to ev. tre sider av den statistiske analysen bli presentert:

1) "Tidseffekten": i alle forsøkene (nr. **1. – 5.**) blir det testet for om det er en "tidseffekt" gjennom forsøkene, altså om de repeterte målingene påvirkes av at tiden endrer seg.

2) "Forskjell mellom kar": i samtlige forsøk testes det også for om det er "interaksjon mellom tid og behandling", altså om det noen signifikant forskjell mellom karene med hensyn til interaksjonen.

I forsøk 3. og 4. er det to behandlingskar og èt kontroll-kar og det blir det testet som for de øvrige, men her gis det mulighet til å velge mellom fire standard multivariate tester.

"Pillai's Trace" regnes som den testen som har størst styrke (power) og denne testen er derfor valgt, som anbefalt i JMP 5.0-manual.

3) "Hvilke kar er ev. forskjellig fra hvem": spesielt for forsøk nr. 3. og 4. blir det testet for "hvilke av de tre forsøkskarene som eventuelt er forskjellig fra hvem". Det blir da gjort parvise sammenlikninger med to og to av de tre karene og eksakte F-verdier blir oppgitt. Signifikans-nivået for samtlige av testene er satt til $\alpha = 0,05$. Figurer i oppgaven er laget i SigmaPlot 2000, statistikken er utført med JMP 5.0, mens tabeller og utregninger er fra Excel 2002/XP.

3. Resultater

3.1 Vannets ledningsevne, pH og temperatur

De vannkjemiske analysene viste at forsøksbetingelsene var stabile gjennom begge forsøksperiodene (tabell 3). pH i vannet som var tilsatt metall, lå mellom 5,6 og 6,4 gjennom hele forsøksperioden, mens pH i kontrollvannet varierte mellom 6,1 og 6,5. Den elektrolyttiske ledningsevnen i vannet tilsatt metall varierte mellom 19,0 og 25,7 $\mu\text{S}/\text{cm}$ gjennom det meste av forsøksperiodene. Et unntak var i forsøket med nikkel (forsøk 4), hvor ledningsevnen i vannet tilsatt nikkel lå mellom 34,7 og 42,6 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Dette skyldes mest sannsynlig at dette vannet ble tilsatt relativt mye Ni-nitrat, som har bidratt til økt ledningsevne. I kontrollvannet varierte ledningsevnen mellom 17,0 og 24,4 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Det var en del variasjon i vanntemperatur mellom de ulike forsøkene, som synes å korrespondere godt med årstidene (tabell 3). Høyest temperatur ble målt under forsøk 1 som ble gjort om sommeren (juli-august), mellom 10,0 og 13,3°C. Omtrent samme temperatur ble målt om høsten (oktober), i forsøk 2 og 5, mellom 10,0 og 11,8°C. I forsøk 3, som ble gjort i februar-mars, varierte vanntemperaturen mellom 4,3 og 5,4°C. Forsøk 4 ble gjort om våren (mai-juni), og temperaturen varierte mellom 7,6 og 7,9°C (tabell 3).

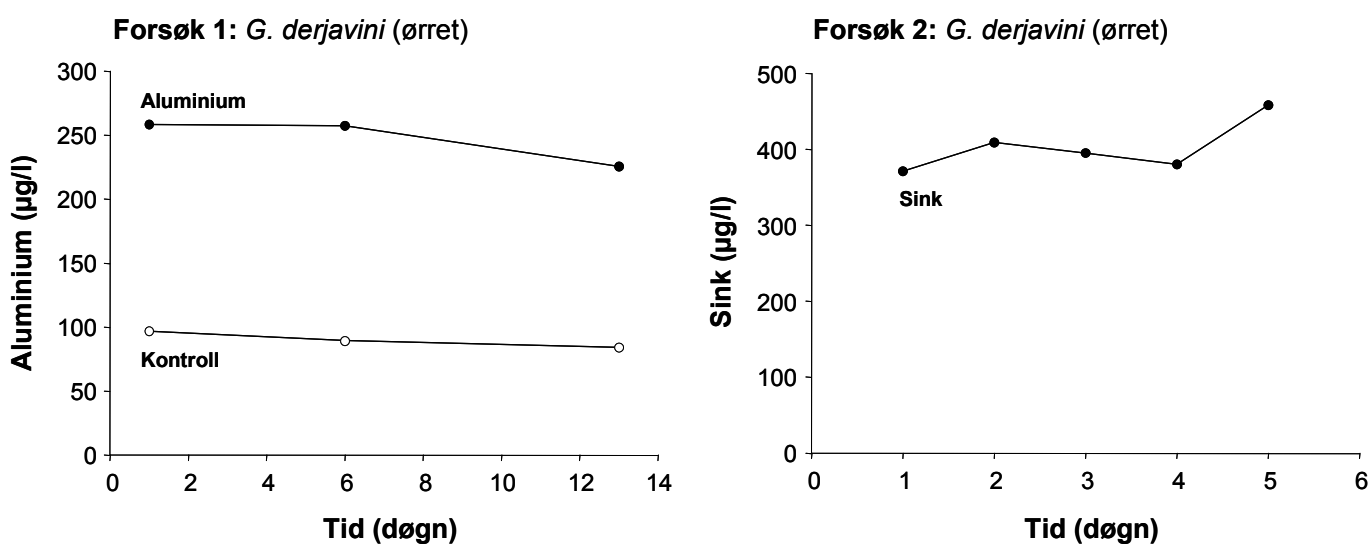
Tabell 3. Minimum- og maksimumverdier for pH og ledningsevne, samt temperatur (middelverdier \pm s.d) målt i forsøksvannet gjennom forsøksperiodene (n = antall målinger).

Forsøk nr.	Eksposering	Forsøksdyr	pH (n)	Ledningsevne $\mu\text{S/cm}$ (n)	Temperatur $^{\circ}\text{C}$ (n)
Nr. 1	Aluminium	<i>G. derjavini</i> på ørret	6,0 - 6,2 (12)	23,0 - 25,0 (12)	13,3 \pm 0,1 (12)
	Kontroll		6,1 - 6,2 (12)	21,0 - 23,0 (12)	10,0 \pm 0,0 (12)
Nr. 2	Sink	<i>G. derjavini</i> på ørret	6,3 - 6,4 (5)	25,0 - 25,0 (5)	11,3 \pm 0,3 (5)
	Kontroll		6,2 - 6,3 (5)	23,0 - 23,0 (5)	10,0 \pm 0,0 (5)
Nr. 3	Aluminium	<i>G. magnificus</i> på ørekyt	5,7 - 6,0 (22)	19,0 - 22,0 (22)	5,4 \pm 0,4 (22)
	Kobber		5,6 - 5,9 (22)	19,0 - 21,5 (22)	4,7 \pm 0,2 (22)
	Kontroll		6,3 - 6,5 (22)	17,0 - 20,2 (22)	4,3 \pm 0,3 (22)
Nr. 4	Nikkel	<i>G. magnificus</i> på ørekyt	5,6 - 5,7 (16)	34,7 - 42,6 (16)	7,9 \pm 0,4 (16)
	Sink		5,8 - 5,9 (16)	22,7 - 24,4 (16)	7,9 \pm 0,4 (16)
	Kontroll		6,4 - 6,5 (16)	19,9 - 21,0 (16)	7,6 \pm 0,5 (16)
Nr. 5	Sink	<i>G. magnificus</i> på ørekyt	5,7 - 5,8 (14)	23,1 - 25,7 (14)	11,7 \pm 0,3 (14)
	Kontroll		6,3 - 6,4 (14)	20,6 - 24,4 (14)	11,8 \pm 0,3 (14)

3.2 Metaller

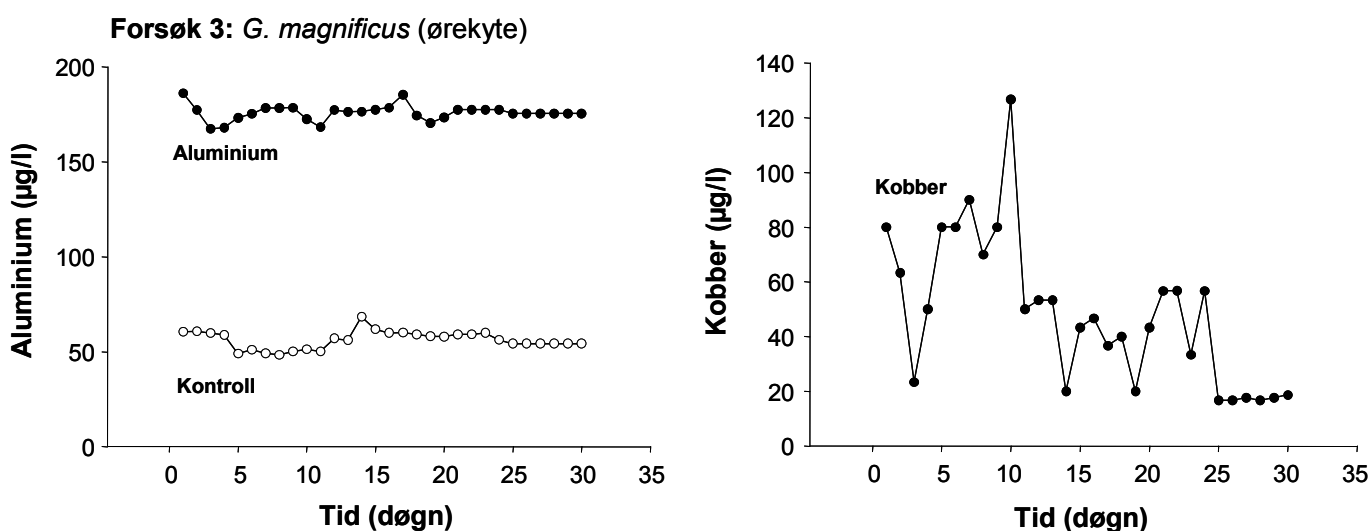
Konsentrasjonen av aluminium i forsøk 1 lå mellom 258 og 225 $\mu\text{g/l}$ (gjennomsnitt: 247 ± 19 (s.d.), $n=3$) i Al-eksponeringen, og mellom 84 og 97 $\mu\text{g/l}$ (gjennomsnitt: 90 ± 6 , $n=3$) i kontrollen (figur 3).

I forsøk 2, lå konsentrasjonen av sink i Zn-eksponeringen mellom 371 og 458 $\mu\text{g/l}$ (gjennomsnitt: 403 ± 34 , $n=5$) gjennom forsøket (figur 3), mens Zn-konsentrasjonen var lavere enn $10 \mu\text{g/l}$ i samtlige vannprøver fra kontrollen ($n=5$).



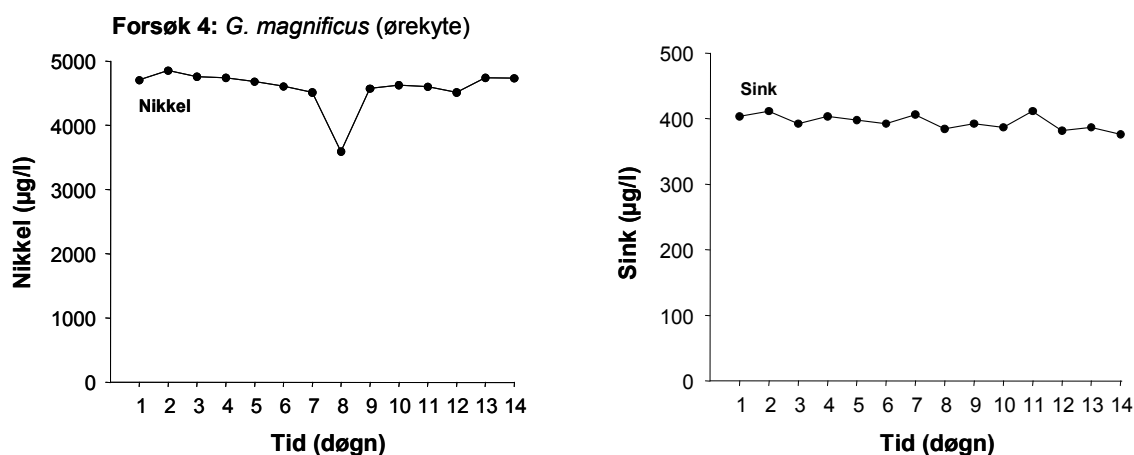
Figur 3. Konsentrasjonen av aluminium, kontrollvannets innhold av aluminium og Zn-konsentrasjonen ($\mu\text{g/l}$) gjennom forsøk 1 og 2. (Zn-konsentrasjonen i kontrollen var under deteksjonsgrensen for IC-analysene ($<10 \mu\text{g/l}$)).

Konsentrasjonen av aluminium gjennom forsøk 3 lå mellom 167 og 186 $\mu\text{g/l}$ (gjennomsnitt: 176 ± 4 , $n=30$) i Al-eksponeringen og mellom 48 og 68 $\mu\text{g/l}$ (gjennomsnitt: 57 ± 5 , $n=30$) i kontrollen (figur 4). Konsentrasjonen av kobber i samme forsøk varierte relativt mye gjennom forsøket og lå mellom 17 og 127 $\mu\text{g/l}$ (gjennomsnitt: 55 ± 25 , $n=30$) i Cu-eksponeringen (figur 4). Cu-konsentrasjonen i kontrollvannet er ikke målt fordi metoden jeg har brukt ikke kan skille bakgrunnsverdier for Cu fra innholdet av Fe og Al.



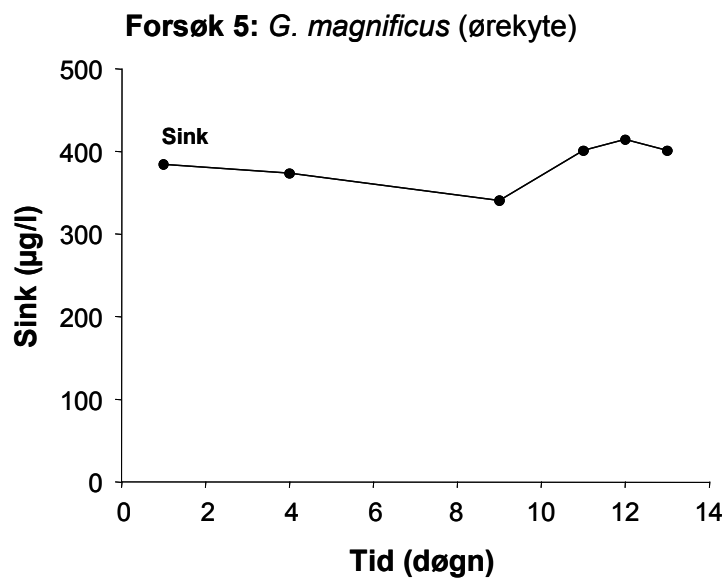
Figur 4. Konsentrasjonen av aluminium, kontrollvannets innhold av aluminium og Cu-konsentrasjonen ($\mu\text{g/l}$) gjennom forsøk 3. (Cu-konsentrasjonen i kontrollvannet er ikke målt).

Konsentrasjonen av sink gjennom forsøk 4 lå mellom 376 og 412 $\mu\text{g/l}$ (gjennomsnitt: 395 ± 11 , $n=14$) i Zn-eksponeringen, og mellom 7 og 13 $\mu\text{g/l}$ (gjennomsnitt: 11 ± 2 , $n=14$) i kontrollen (figur 5). Konsentrasjonen av nikkell i samme forsøk lå mellom 3590 og 4756 $\mu\text{g/l}$ (gjennomsnitt: 4587 ± 303 , $n=14$) i Ni-eksponeringen (figur 5), mens i kontrollen ($n=14$) var Ni-konsentrasjonen under deteksjonsgrensen og ikke vist på figuren (figur 5).



Figur 5. Konsentrasjonen av nikkell og sink ($\mu\text{g/l}$) gjennom forsøk 4. (Konsentrasjonene i kontrollvannet er ikke tegnet inn fordi de var enten under deteksjonsgrensen (Ni), eller så lave (Zn) at det ikke ga mening å inkludere dem i figuren).

Konsentrasjonen av sink gjennom forsøk 5 lå mellom 341 og 414 $\mu\text{g/l}$ (gjennomsnitt: 386 ± 26 , $n=6$) i Zn-eksponeringen, og mellom 2 og 10 $\mu\text{g/l}$ (gjennomsnitt: 6 ± 3 , $n=6$) i kontrollen (figur 6).

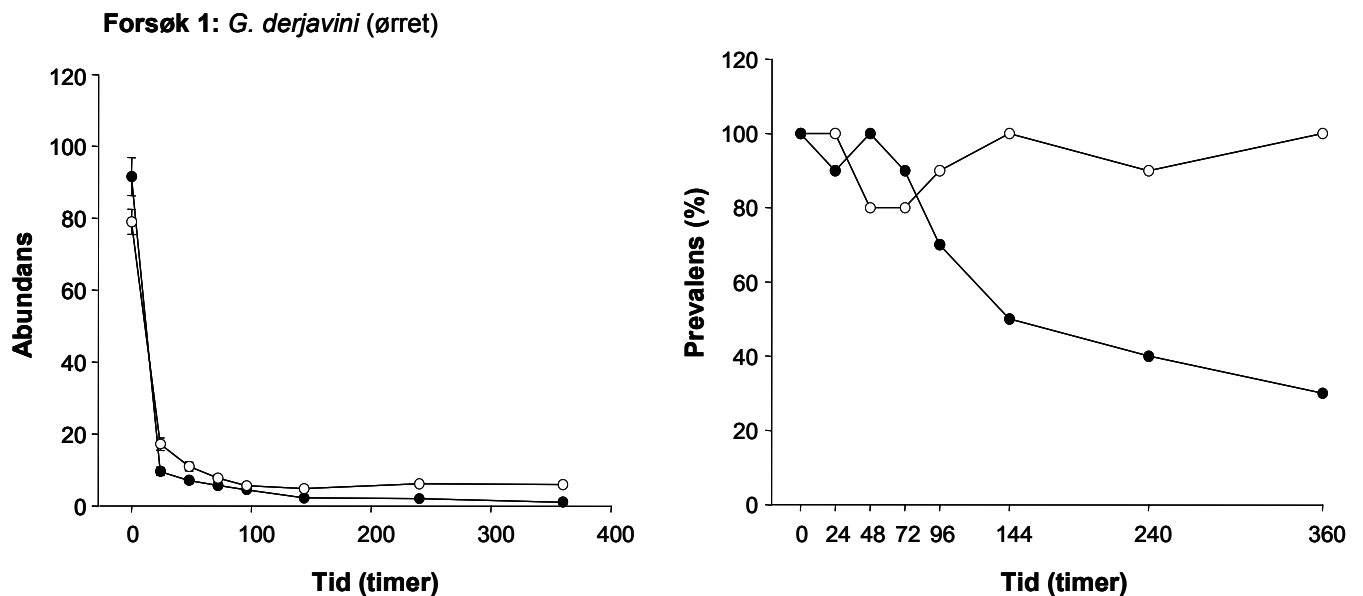


Figur 6. Konsentrasjonen av sink ($\mu\text{g/l}$) gjennom forsøk 5. (Zn-konsentrasjonen i kontrollvannet er ikke tegnet inn fordi den var så lav at det ikke ga mening å inkludere den i figuren).

3.3 Parasitter

1) (jfr. pkt. 2.5) Det var en kraftig og statistisk signifikant nedgang i abundansen (antall *G. derjavini* pr. ørret) i forsøk 1 ($F_{7,11} = 60,32$, $p < 0,0001$). Den kraftige nedgangen skjedde i begynnelsen av forsøket, og fant sted både hos den Al-eksponerte fisken og kontrollfisken (Figur. 7). I løpet av de første 24 timene sank abundansen fra 92 ± 5 til 10 ± 1 parasitter/fisk (gjennomsnitt \pm s.e., $n=10$) hos den Al-eksponerte fisken og fra 79 ± 4 til 17 ± 2 parasitter/fisk ($n=9$) hos kontrollfisken. Gjennom resten av forsøket sank abundansen ytterligere noe og ved forsøkets slutt var den på 1 ± 0 parasitt/fisk ($n=10$) hos den Al-eksponerte fisken og 6 ± 1 ($n=9$) hos kontrollfisken.

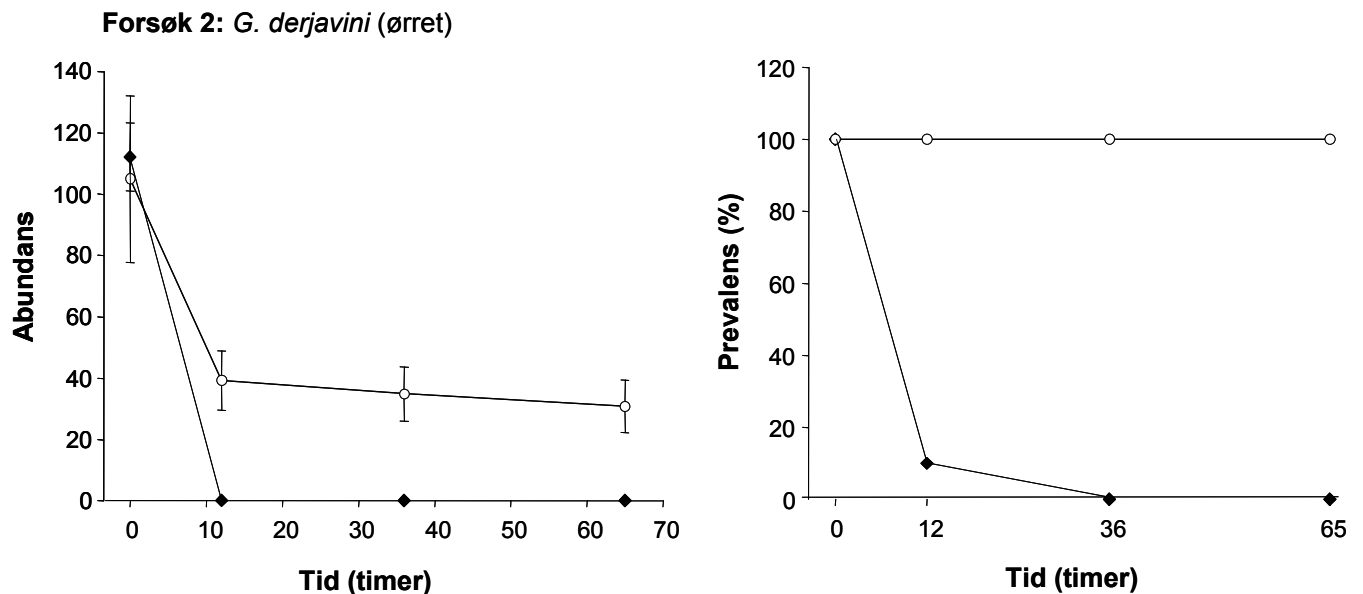
2) Endringene i abundansen var imidlertid ikke signifikant forskjellig mellom de to gruppene ($F_{7,11} = 2,31$, $p = 0,103$). Aluminium synes likevel å ha en effekt på infeksjonen av *G. derjavini* hos ørret. Prevalensen (%-andelen fisk som var infisert) hos Al-eksponert fisk sank fra 100 til 30 % i løpet av forsøksperioden (figur 7). Hos kontrollfiskene varierte prevalensen noe gjennom forsøket, men var aldri lavere enn 80 %. Ved forsøkets slutt var prevalensen hos kontrollfisken igjen 100 %. Det ble funnet en dødfisk fra kontrollkaret ved første parasitt-telling (24 timer fra forsøksstart), som ikke våknet etter anestesen.



Figur 7. Abundans (antall parasitter pr fisk, gjennomsnitt \pm s.e.) og prevalens (%-andel av fisken som er infisert) av *G. derjavini* på ørret. (●) ørret eksponert for Al-rikt vann ($n=10$), (○) ørret eksponert for kontrollvann ($n=9$).

1) Også i forsøk 2 var det en klar nedgang, som var statistisk signifikant, i abundansen av *G. derjavini* på ørret ($F_{3,16} = 48,18$, $p < 0,0001$). Den klare nedgangen skjedde i begynnelsen av forsøket, og fant sted både hos den Zn-eksponerte fisken og kontrollfisken (figur 8). I løpet av de første 12 timene sank abundansen fra 112 ± 11 til $0,1$ parasitter/fisk (gjennomsnitt \pm s.e., $n=10$) hos den Zn-eksponerte fisken, og fra 105 ± 27 til 39 ± 10 parasitter/fisk ($n=10$) hos kontrollfisken. Gjennom resten av forsøket sank abundansen svakt hos kontrollfisken og var ved forsøkets slutt 31 ± 9 parasitter/fisk ($n=10$).

2) Endringene i abundansen var signifikant forskjellig mellom de to gruppene ($F_{3,16} = 21,95$, $p < 0,0001$). Prevalensen hos Zn-eksponert fisk sank fra 100 til 10 % etter bare 12 timer, og etter 36 timer var den 0 % (figur 8). Hos kontrollfisken var det 100 % prevalens gjennom hele forsøket.

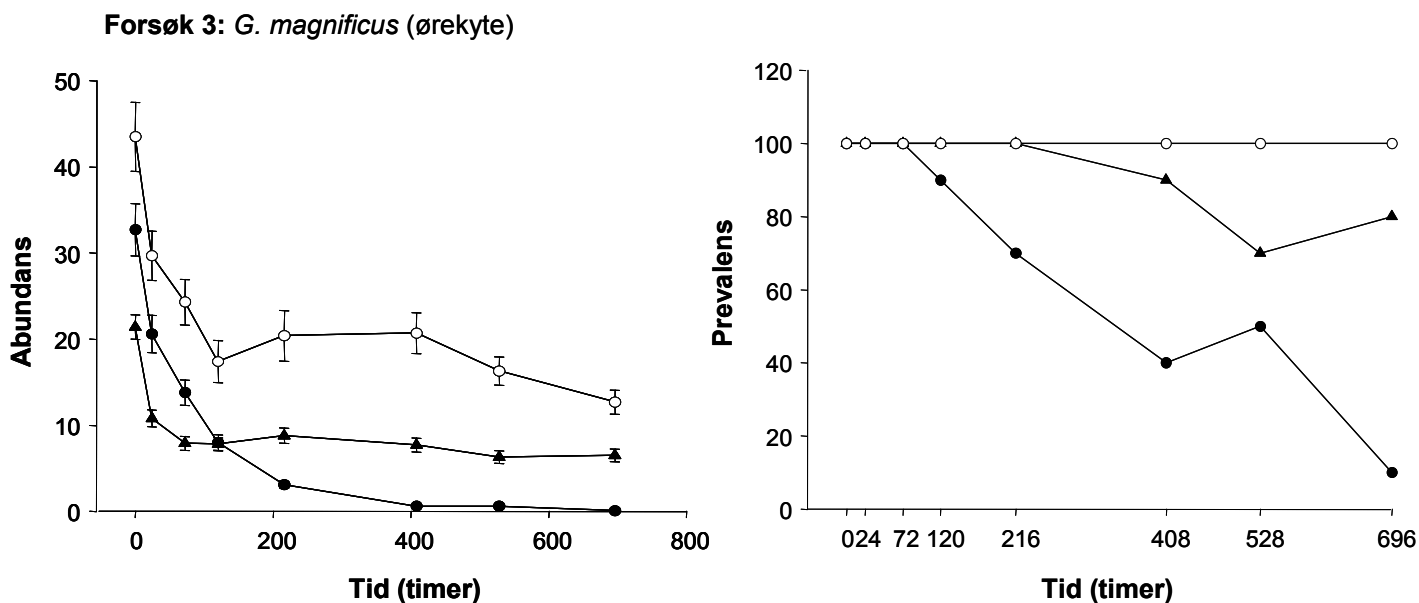


Figur 8. Abundans (antall parasitter pr fisk, gjennomsnitt \pm s.e.) og prevalens (%-andel av fisken som er infisert) av *G. derjavini* på ørret. (●) ørret eksponert for Zn-rikt vann ($n=10$), (○) ørret eksponert for kontrollvann ($n=10$).

1) I forsøk 3 var det en klar nedgang, som var statistisk signifikant, i abundansen av *G. magnificus* på ørekyte ($F_{7,21} = 21,78$, $p < 0,0001$). Den klare nedgangen skjedde i løpet av de fem første dagene av forsøket, og fant sted både hos den Al- og Cu-eksponerte fisken og kontrollfisken (figur 9). I løpet av de første 5 dagene sank abundansen fra 33 ± 3 til 8 ± 1 parasitter/fisk (gjennomsnitt \pm s.e., $n=10$) hos den Al-eksponerte fisken. Etter dette fortsatte abundansen i denne gruppen å synke, og ved forsøkets slutt var abundansen hos den Al-eksponerte fisken 0,1 parasitt/fisk ($n=10$). Hos den Cu-eksponerte fisken sank abundansen fra 21 ± 1 til 8 ± 1 parasitter/fisk ($n=10$) i løpet av 3 dager. Etter dette var abundansen hos den Cu-eksponerte fisken stabil gjennom resten av forsøket og var ved siste undersøkelse 7 ± 1 parasitter/fisk ($n=10$). Hos kontrollfisken sank abundansen fra 44 ± 4 til 17 ± 2 parasitter/fisk ($n=10$) etter 5 dager. Etter dette var abundansen hos kontrollfisken mer stabil gjennom resten av forsøket, men sank til 13 ± 1 parasitter/fisk ($n=10$) ved forsøkets slutt.

2) Endringene i abundansen var signifikant forskjellig mellom de tre gruppene ($F_{14,44} = 4,49$, $p < 0,0001$).

3) De parvise sammenlikningene viste at abundansen hos den Al-eksponerte fisken var signifikant forskjellig fra abundansen hos den Cu-eksponerte fisken ($F_{7,12} = 6,21$, $p = 0,0031$) og kontrollfisken ($F_{7,12} = 5,60$, $p = 0,0047$), mens abundansen hos den Cu-eksponerte fisken ikke var signifikant forskjellig fra abundansen hos kontrollfisken ($F_{7,12} = 2,33$, $p = 0,094$). I forsøk 3 var det ingen endring i prevalens før etter 72 timers eksponering (figur 9). Etter 3 dagers eksponering sank prevalensen hos den Al-eksponerte fisken fra 100 til 10 % ved forsøkets slutt (39 dager). Prevalensen hos den Cu-eksponerte fisken begynte å synke først etter 9 dager, og sank fra 100 til 70 % etter 22 dager, før den steg til 80 % ved forsøkets slutt. Hos kontrollfisken var det 100 % prevalens gjennom hele forsøket.



Figur 9. Abundans (antall parasitter pr fisk, gjennomsnitt \pm s.e.) og prevalens (%-andel av fisken som er infisert) av *G. magnificus* på ørekyte. (●) ørekyte eksponert for Al-rikt vann (n=10), (▲) ørekyte eksponert for Cu-rikt vann (n=10), (○) ørekyte eksponert for kontrollvann (n=10).

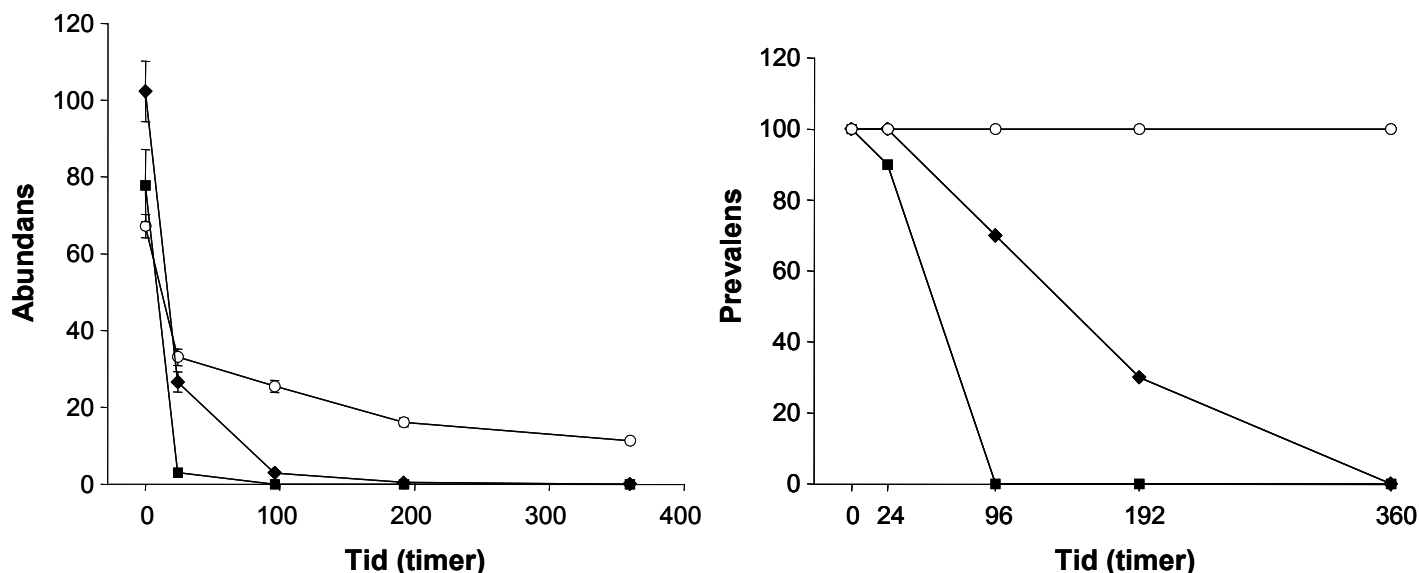
1) I forsøk 4 var det en klar nedgang, som var statistisk signifikant, i abundansen av *G. magnificus* på ørekyte ($F_{4,18} = 98,46$, $p < 0,0001$). Den klare nedgangen skjedde i løpet av det første døgnet av forsøket og fant sted både hos den Zn- og Ni-eksponerte fisken og kontrollfisken (figur 10); fra 102 ± 8 til 27 ± 3 parasitter/fisk (n=10) hos den Zn-eksponerte fisken, fra 78 ± 9 til 3 ± 0 parasitter/fisk (gjennomsnitt \pm s.e., n=10) hos den Ni-eksponerte fisken og fra 67 ± 3 til 33 ± 2 parasitter/fisk (n=10) hos kontrollfisken. Etter dette fortsatte abundansen å synke i alle tre gruppene. Hos den Zn-eksponerte fisken var abundansen sunket til $3 \pm 0,5$ parasitter/fisk (n=8) etter 4 dager, $0,4$ parasitter/fisk (n=9) etter 8 dager, og ved forsøketts slutt var abundansen 0 parasitter/fisk (n=9). Hos den Ni-eksponerte fisken var abundansen 0 parasitter/fisk (n=10) etter 4 dager. Hos

kontrollfiskene sank abundansen gradvis fra dag 1 til forsøkets slutt, fra 33 ± 2 til $11 \pm 0,5$ parasitter/fisk ($n=8$).

2) Endringene i abundansen var signifikant forskjellig mellom de tre gruppene ($F_{8,38}=12,75$, $p<0,0001$).

3) De parvise sammenlikningene viste at abundansen hos de Zn-eksponerte fiskene ($F_{4,11}=7,43$, $p=0,0037$) var signifikant forskjellig fra abundansen hos de Ni-eksponerte fiskene og kontrollfiskene ($F_{4,10}=9,88$, $p=0,0017$). Abundansen hos de Zn-eksponerte fiskene var signifikant forskjellig fra abundansen hos kontrollfiskene ($F_{4,12}=25,05$, $p<0,0001$). I forsøk 4 sank prevalensen hos de metalleksponerte fiskene relativt raskt (figur 10). Hos de Zn-eksponerte fiskene begynte prevalensen å synke etter 24 timer, og sank jevnt fra 100 % til 0 ved forsøkets slutt. Etter 1 døgn hadde prevalensen hos de Ni-eksponerte fiskene sunket fra fra 100 til 90 % og etter 4 døgn var den sunket til 0. Hos kontrollfiskene var det 100 % prevalens gjennom hele forsøket. I løpet av forsøk 4 var det en viss dødelighet hos forsøksfiskene; 1 fisk i Zn-eksponeringen (etter 4 dager), 3 fisk i Ni-eksponeringen (2 etter 4 dager, 1 etter 15 dager), og 2 i kontrollkaret (etter 4 dager).

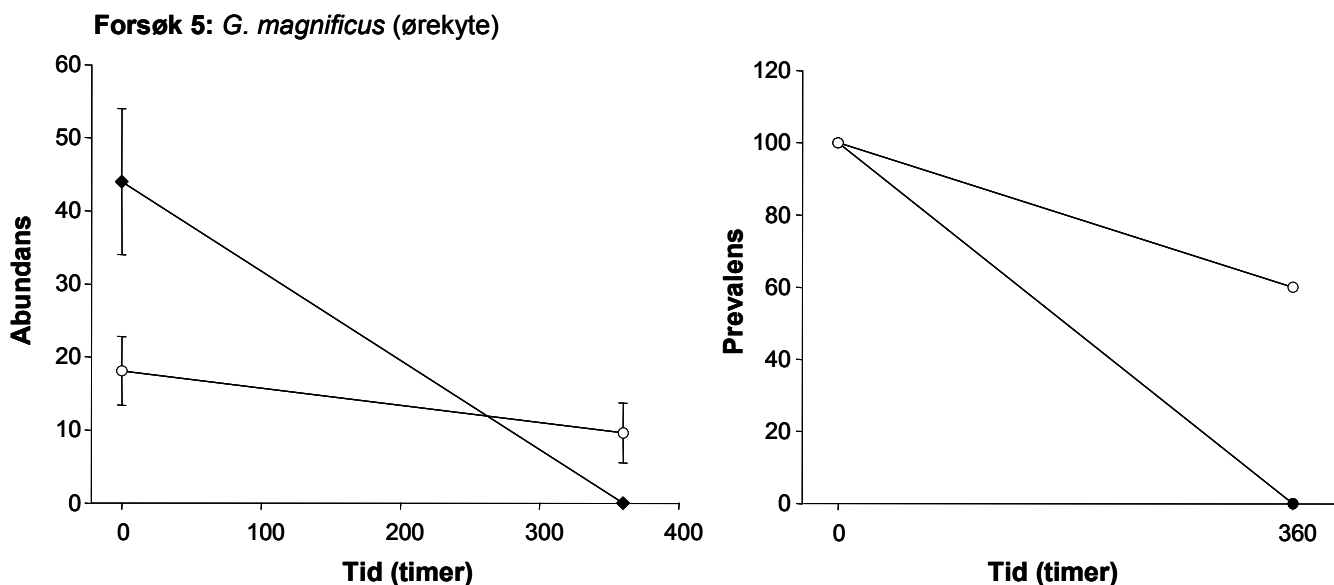
Forsøk 4: *G. magnificus* (ørekyte)



Figur 10. Abundans (antall parasitter pr fisk, gjennomsnitt \pm s.e.) og prevalens (%-andel av fisken som er infisert) av *G. magnificus* på ørekyte. (■) ørekyte eksponert for Ni-rikt vann ($n=7$), (◆) ørekyte eksponert for Zn-rikt vann ($n=9$), (○) ørekyte eksponert for kontrollvann ($n=8$).

1) I forsøk 5 var det en klar nedgang, som var statistisk signifikant, i abundansen av *G. magnificus* på ørekyte ($F_{1,18} = 59,27$, $p < 0,0001$). Hos den Zn-eksponerte fisken sank abundansen fra 44 ± 10 til 0 parasitter/fisk (gjennomsnitt \pm s.e., $n=10$) gjennom forsøket (figur 11). Hos kontrollfisken sank abundansen fra 18 ± 5 til 10 ± 4 parasitter/fisk ($n=9$).

2) Endringene i abundansen var signifikant forskjellig mellom de to gruppene ($F_{1,18} = 11,34$, $p=0,0034$). Prevalensen hos den Zn-eksponerte fisken sank fra fra 100 % til 0 ved forsøkets slutt, og hos kontrollfisken fra 100 til 60 % (figur 11). I løpet av forsøket døde det en fisk i kontrollkaret (etter 2 dager).



Figur 11. Abundans (antall parasitter pr fisk, gjennomsnitt \pm s.e.) og prevalens (%-andel av fisken som er infisert) av *G. magnificus* på ørekyte. (■) ørekyte eksponert for Zn-rikt vann ($n=10$), (○) ørekyte eksponert for kontrollvann ($n=9$).

4. Diskusjon

4.1 Effekt av aluminium (Al)

Resultatene fra denne oppgaven viste at aluminium har negativ effekt på både *G. derjavini* og *G. magnificus* uten at det fører til dødelighet hos fisken. Dette er en bekreftelse på det som har vært vist i flere tidligere studier hvor fisk infisert av ektoparasitter har blitt eksponert for aluminium (Soleng *et al.*, 1999; 2005; Larsen & Buchmann, 2003; Poléo *et al.*, 2004; Pettersen *et al.*, 2006a). I likhet med meg har Pettersen *et al.* (2006a) studert effekten av aluminium på ørret infisert med *G. derjavini*. Deres resultater viste at abundansen av *G. derjavini* var 0 etter 72 timers eksponering for aluminium. I mitt forsøk var det fremdeles en abundans på 6 parasitter/fisk etter 72 timers eksponering for aluminium. Dette til tross for at konsentrasjonen av aluminium var noe lavere i forsøket til Pettersen *et al.* (2006a) enn i mitt, henholdsvis ca 220 µg/l og ca 245 µg/l. Vannets pH var også noe lavere i forsøket til Pettersen *et al.* (2006a) enn i mitt, henholdsvis 5,8 og mellom 6,0 og 6,2. Dette siste kan forklare hvorfor effekten av aluminium synes å ha vært svakere i mitt forsøk med *G. derjavini* sammenlignet med forsøket til Pettersen *et al.* (2006a). Mer aluminium vil være på reaktiv form ved pH 5,8, enn ved pH mellom 6,0 og 6,2 (Lydersen, 1990; Lydersen *et al.*, 1990). Ved pH 5,0 eller høyere vil dessuten aluminium i løsning begynne å polymerisere (Hem & Roberson, 1967; Lydersen, 1990; Lydersen *et al.*, 1990; Poléo, 1995). Det er vist at aluminium er mest giftig for fisk når det foreligger på reaktiv form, samtidig som betingelsene for polymerisering er gode (Poléo *et al.*, 1994; Poléo, 1995; Poléo & Bjerkely, 2000). I Pettersen *et al.* (2006a) sitt forsøk kan mer aluminium ha vært på reaktiv form enn i mitt forsøk, samtidig som betingelsene for polymerisering var såpass gode at de førte til en raskere eliminering av parasitten.

En annen forskjell mellom mitt og Pettersen *et al.* (2006a) sitt forsøk med *G. derjavini*, er at abundansen av parasittene på kontrollfiskene mine sank kraftig i begynnelsen av forsøket, mens den ikke forandret seg gjennom forsøket til Pettersen *et al.* (2006a). Denne forskjellen, indikerer at jeg i mine forsøk hadde noe jeg velger å kalle en ”ukjent eksperimentell faktor”. Denne faktoren ser likevel ikke ut til å ha påvirket den reduserende effekten aluminium hadde på parasittene i noen grad. Dette begrunner jeg med at aluminium eliminerte *G. derjavini* fra ørreten raskere i forsøket til Pettersen *et al.* (2006a) enn i mitt. Det er rimelig å anta at situasjonen ville blitt omvendt fordi den ukjente eksperimentelle faktoren, i likhet med aluminium påvirket abundansen negativt og dermed høyst sannsynlig heller ville ha ført til en additiv reduserende effekt. Nedgangen i prevalensen av *G.*

derjavini hos den Al-eksponerte fisken sammenlignet med kontrollfisken i mitt forsøk styrker denne antagelsen.

I forsøket med *G. magnificus* kan det virke som effekten av aluminium var svakere enn i forsøket med *G. derjavini*. Abundansen og prevalensen av *G. derjavini* hos ørret sank tilsynelatende langsommere enn abundansen og prevalensen av *G. magnificus* hos ørekyte. Forklaringen på dette kan være at Al-konsentrasjonen var en god del lavere i forsøket med *G. magnificus* (ca. 175 µg/l), enn i forsøket med *G. derjavini* (ca 245 µg/l). Imidlertid var også pH noe lavere i forsøket med *G. magnificus* (mellom 5,7 og 6,0) enn i forsøket med *G. derjavini* (mellom 6,0 og 6,2). Ut fra det resonnementet jeg ga ovenfor skulle dette føre til at forholdene for en giftvirkning av aluminium var høyere i forsøket med *G. magnificus* enn i forsøket med *G. derjavini*. Når resultatet likevel var omvendt kan dette skyldes konsentrasjonsforskjellen, som jeg allerede har vært inne på, eller det faktum at vanntemperaturen var betydelig lavere i forsøket med *G. magnificus* (5,4°C) enn i forsøket med *G. derjavini* (13,3°C). Ved lavere temperatur vil mengden reaktivt aluminium være større enn ved høy temperatur, men graden av pågående Al-polymerisering vil være lavere (Lydersen, 1990; Lydersen *et al.*, 1990). Imidlertid er det dokumentert at kombinasjonen av høy andel reaktivt aluminium og lav grad av polymerisering er mindre giftig for fisk enn lav andel reaktivt aluminium og høy grad av polymerisering (Poléo & Muniz, 1993; Poléo *et al.*, 1994; Poléo, 1995). Det bør også nevnes at vanntemperaturen direkte påvirker parasittenes reproduksjonshastighet og overlevelse (Jansen & Bakke, 1991; 1993a; 1993b; Appelby & Mo, 1997; Mo, 1997). Optimal temperatur for reproduksjon for *G. salaris*, ble målt til å være mellom 6-13 °C (Jansen & Bakke, 1991). Det er derfor vanskelig å trekke noen endelig konklusjon på bakgrunn av vannets fysio-kjemiske egenskaper når det gjelder hva som egentlig er årsaken til at de to parasittene ble eliminert med ulik hastighet.

Det kan heller ikke utelukkes at de to *Gyrodactylus* artene har ulik toleranse for aluminium. På den annen side er denne tanken ikke i overensstemmelse med Pettersen *et al.* (2006a), som konkluderte med at det er mye som tyder på at ulike gyrodactylider har en relativt lik toleranse for aluminium. De bygger dette på en sammenligning av effekten av aluminium på *G. salaris* på laks, *G. derjavini* på ørret, og *G. macronycus* på ørekyte (Pettersen *et al.*, 2006a). Det gjenstår derfor å sammenligne disse artenes toleranse for aluminium direkte med toleransen til *G. magnificus* for å gi et endelig svar på dette spørsmålet. Til dette kommer også det faktum at de ulike fiskeartene som disse parasittene lever på har ulik toleranse for aluminium (Poléo *et al.*, 1997) og det er ikke kjent om eliminasjonstiden kan være påvirket indirekte gjennom aluminiums effekt på verten. I en tidligere

hovedfagsoppgave hvor effekten av aluminium på laks infisert med *G. salaris* ble studert, ble det foreslått at aluminium virker direkte på parasitten (Grimsmo, 2000). Resultatene fra denne hovedfagsoppgaven er imidlertid langt fra tilstrekkelige til å trekke en slik konklusjon. I tillegg er det slik at de fleste gyrodactylider og parasitter i sin alminnelighet, kan indusere en immunrespons hos vertsorganismen (Bakke *et al.*, 2002a). Det er derfor rimelig å anta at en slik immunrespons kan bidra til eliminasjonen av parasittene parallelt med effekten av aluminium.

4.2 Effekt av sink (Zn)

Mine forsøk har vist at sink har negativ effekt på både *G. derjavini* hos ørret og *G. magnificus* hos ørekyte. Dette bekrefter resultatene fra to tidligere studier hvor fisk infisert av ektoparasitter har blitt eksponert for sink (Larsen & Buchmann, 2003; Poléo *et al.*, 2004). Larsen & Buchmann (2003) fant at sink hadde en negativ effekt på infeksjonen av *P. anguillae* hos ål, mens Poléo *et al.* (2004) fant at 400 µg/l sink eliminerte *G. salaris* hos laks i løpet 3 døgn (abundans = 0). I mine forsøk ble *G. derjavini* eliminert hos ørret etter 36 timers eksponering for 400 µg/l sink, mens *G. magnificus* hos ørekyte ble eliminert først etter 15 dagers eksponering for samme Zn-konsentrasjon. Dette indikerer at *G. derjavini* er mer følsom for sink enn *G. salaris*, mens *G. magnificus* er betydelig mer tolerant enn de to andre gyrodactylidene. Larsen & Buchmann (2003) fant at effekten av sink på *P. anguillae*, økte dersom pH i vannet ble redusert. Mine resultater viser det motsatte av dette, nemlig at eliminasjonen av *G. magnificus* hos ørekyte ved pH 5,8-5,9 tok 10 ganger så lang tid som eliminasjonen av *G. derjavini* hos ørret ved pH 6,3-6,4. Dette styrker antagelsen om at det er store artsforskjeller i toleransen for sink, sammenlignet med hva vi finner når det gjelder aluminium. Ser vi nærmere på forsøket som ble gjort med *G. salaris*, ble dette gjort ved pH 6,6 (Poléo *et al.*, 2004), altså noe høyere enn mitt forsøk med *G. derjavini*. Det kan derfor synes som om *G. salaris* og *G. derjavini* har noenlunde samme toleranse for sink, mens det er *G. magnificus* som skiller seg ut ved å være betydelig mer tolerant.

Det har tidligere vært vist i flere studier at sink har negativ effekt på frittlevende stadier av digener (Mecham & Holliman, 1975; Asch & Dresden, 1977; Evans, 1982a; 1982b; Morley *et al.*, 2001) og som nevnt også på monogener (Larsen & Buchmann, 2003; Poléo *et al.*, 2004). Mine resultater har vist at ytterligere to monogener påvirkes negativt av sink og er derfor et viktig bidrag til vår kunnskap om effekter av sink på ektoparasitter hos fisk. Til dette kommer også det faktum at eliminasjonen av de to parasittartene skjedde uten at sink synes å ha noen nevneverdig effekt på

fiskene. Èn fisk døde, men først etter 192 timers eksponering for sink, samtidig som det ble også funnet 2 dødfisk i kontrollen.

Jeg nevnte tidligere at jeg hadde problemer med at abundansen av parasitten på kontrollfisk sank, til dels kraftig, i begynnelsen av alle mine forsøk og at dette skyldes en såkalt ukjent eksperimentell faktor. Selv om det blir stor grad av spekulasjon å forsøke å forklare hva denne faktoren er, gir resultatene fra forsøkene med sink og *G. magnificus* (forsøk 4 og 5) en indikasjon på enkelte faktorer det ikke kan være. Det er rimelig å anta at hyppige tellinger av parasitter i starten av forsøkene hvor både fisk og parasitter stadig blir utsatt for anestesi, kan påvirke parasittene negativt uavhengig av metallbelastningen. Jeg observerte imidlertid at prevalensen av *G. magnificus* hos kontrollfisk sank i forsøk 5, mens den holdt seg stabil på 100 % gjennom forsøk 4. I forsøk 4 ble fisken undersøkt for parasitter 5 ganger gjennom forsøket, mens i forsøk 5 ble den undersøkt bare ved start og slutt av forsøket. Dette tyder på at det ikke er hyppig telling av parasitter eller anestesen som påvirker parasittene negativt.

4.3 Effekt av kobber (Cu)

Resultatene fra denne oppgaven viste at kobber kan ha en svak negativ effekt på *G. magnificus* hos ørekyte, uten at det fører til dødelighet hos fisken. I forsøket med kobber var det ingen signifikant forskjell i endringen av abundansen av *G. magnificus* hos Cu-eksponert fisk og kontrollfisk, men prevalensen av *G. magnificus* hos Cu-eksponert fisk sank ned til 70 % i siste halvdel av forsøket og var 80 % ved forsøkets slutt. Prevalensen hos kontrollfisk var 100 % gjennom hele forsøket. Jeg kjenner kun til et tidligere arbeid hvor effekten av kobber på monogener har vært studert og det viste at kobber ikke hadde noen effekt på *G. salaris* hos laks (Poléo *et al.*, 2004). Mine resultater utelukker ikke at kobber likevel kan ha en viss effekt på monogener. Tidligere studier av frittlevende stadier av digener har vist at kobber i likhet med sink har effekt på disse (Evans 1982a; 1982b). Det er imidlertid viktig å understreke her at nedgangen i prevalens hos de Cu-eksponerte parasittene i mitt forsøk var betydelig svakere enn den effekten jeg observerte av sink på den samme arten.

Det faktum at jeg observerte en svakt reduserende effekt av kobber på *G. magnificus* hos ørekyte i mitt forsøk, mens Poléo *et al.* (2004) i deres forsøk ikke fant noen effekt av kobber på *G. salaris* hos laks, kan skyldes at de to forsøkene ble gjort ved ulike pH. I mitt forsøk lå pH mellom 5,6 og 5,9 mens i forsøket til Poléo *et al.* (2004) var pH 6,6. Giftigheten av kobber for fisk er avhengig av flere fysio-kjemiske faktorer, som vannets pH, alkalinitet og hardhet. Disse faktorene bestemmer

hvilke former kobber foreligger på (Pagenkopf *et al.*, 1974; Santore *et al.*, 2001). Cu^{2+} -ionet og Cu-hydroksider regnes som de mest giftige formene av kobber, mens det er vist at Cu-karbonater er mye mindre giftige for akvatiske organismer (Meador, 1991; Eisler, 1997). Cu^{2+} -ioner dominerer i løsning når pH er lavere enn 7.0 og regnes for å være et av de mest giftige metallene i ferskvann (Schroeder *et al.*, 1966; Betzer & Yevich, 1975). Dette kan forklare at jeg fant en svakt reduserende tendens av kobber i mitt forsøk, mens Poléo *et al.* (2004) ikke fant det. I mitt forsøk var pH såpass mye under 7,0 at det er sannsynlig at de dominerende formene for kobber i vannet var Cu^{2+} -ioner og Cu-hydroksider, mens det i forsøket til Poléo *et al.* (2004) var så høy pH (6,6) at en del kobber kan ha foreligget som Cu-karbonater. Cu-konsentrasjoner mellom 10 og 20 $\mu\text{g/l}$ er regnet som akutt giftig for sensitive fiskearter (Lydersen *et al.*, 2002). I mitt forsøk var Cu-konsentrasjonen i gjennomsnitt 55 $\mu\text{g/l}$ og i forsøkene til Poléo *et al.*, (2004) var Cu-konsentrasjonen 80 $\mu\text{g/l}$ på det høyeste. Ingen av disse konsentrasjonene ga dødelighet av verken ørekyte (mitt forsøk) eller laks (Poléo *et al.*, 2004). Derfor kan det likevel hende at konsentrasjonene av kobber har vært for lave, eller at kobber ikke har foreligget på de mest giftige formene, til å gi noen effekt på parasittene i begge disse forsøkene. Evans (1982a; 1982b) oppgir imidlertid ikke vannets pH fra sine studier av kobbers effekt på frittlevende stadier av digener og gjør derfor resultatene vanskelige å tyde.

4.4 Effekt av nikkel (Ni)

Mine resultater har vist at nikkel har negativ effekt på *G. magnificus* hos ørekyte. Dette er første gang en ektoparasitt, nærmere bestemt en monogen, har blitt eksponert for nikkel og resultatene bidrar således til å utvide kunnskapen om metallers effekter på ektoparasitter hos fisk i ferskvann. 3 fisk døde under Ni-eksponeringen, men dødeligheten var ikke vesentlig forskjellig fra kontrollen (2 fisk). I mitt forsøk ble ørekyte som var infisert med *G. magnificus* eksponert for en Ni-konsentrasjon på ca 4600 $\mu\text{g/l}$ gjennom forsøket. I vann av den typen jeg har brukt ligger LC_{50} (96t) for de fleste fiskearter mellom 4000 og 14000 $\mu\text{g/l}$ (Eisler, 1998). Ni-konsentrasjonen i mitt forsøk var derfor det som kan karakteriseres som akutt giftig for fisk. Resultatene viste likevel at dødeligheten av fisk var 30 % totalt for forsøket som varte i 14 døgn, mens *G. magnificus* forsvant fra den Ni-eksponerte fisken i løpet av 4 døgn (abundans og prevalens = 0). Det er derfor liten tvil at *G. magnificus* er betydelig mer sensitiv for nikkel enn ørekyte og dette er helt i overensstemmelse med alle de studiene som hittil er gjort med metaller og ektoparasitter hos fisk i ferskvann (Soleng *et al.*, 1999; 2005; Larsen & Buchmann 2003; Poléo *et al.*, 2004; Hytterød *et al.*, 2005; Pettersen *et al.*, 2006a;

2006b). I tabell 4 har jeg oppsummert dagens samlede kunnskap, inkludert mitt bidrag, om metallers effekt på ektoparasitter hos fisk.

Tabell 4. Oppsummering av resultater fra studier med ektoparasitter hos fisk og metaller.

Metall	Art	pH	Effekt	Referanser
Aluminium (Al)	<i>Gyrodactylus salaris</i>	5,0-5,9	÷	Soleng <i>et al.</i> , 1999; 2005
		6,1-6,2	÷	Poléo <i>et al.</i> , 2004
	<i>Gyrodactylus derjavini</i>	5,8-6,2	÷	Pettersen <i>et al.</i> , 2006a; Mitt forsøk
	<i>Gyrodactylus macronychus</i>	5,8	÷	Pettersen <i>et al.</i> , 2006a
	<i>Gyrodactylus magnificus</i>	5,7-6,0	÷	Mine forsøk
Sink (Zn)	<i>Pseudodactylogyrus anguillae</i>	5,0-6,0	÷	Larsen & Buchmann, 2003
	<i>Anodonta anatina</i> glochidia	5,8	÷	Pettersen <i>et al.</i> , 2006a
	<i>Argulus foliaceus</i>	5,8	÷	Pettersen <i>et al.</i> , 2006a
	<i>Pseudodactylogyrus anguillae</i>	5,0-6,0	÷	Larsen & Buchmann, 2003
	<i>Gyrodactylus salaris</i>	6,5-6,6	÷	Poléo <i>et al.</i> , 2004
Kobber (Cu)	<i>Gyrodactylus salaris</i>	6,6	Ingen	Poléo <i>et al.</i> , 2004
	<i>Gyrodactylus magnificus</i>	5,6-5,9	(÷)?	Mitt forsøk
	<i>Gyrodactylus magnificus</i>	5,6-5,7	÷	Mitt forsøk
Nikkel (Ni)	<i>Gyrodactylus magnificus</i>	5,6-5,7	÷	Mitt forsøk
Mangan (Mn)	<i>Gyrodactylus salaris</i>	6,8	Ingen	Poléo <i>et al.</i> , 2004
Jern (Fe)	<i>Gyrodactylus salaris</i>	6,6-6,7	Ingen	Poléo <i>et al.</i> , 2005
H+	<i>G. salaris</i>	5	÷	Soleng <i>et al.</i> , 1999
		5,2-6,6	Ingen	Soleng <i>et al.</i> , 1999; 2005

4.5 Hvilken betydning har mine resultater for forekomst, spredning og utbredelse av ektoparasitter generelt og for *G. derjavini* og *G. magnificus* spesielt?

Mine resultater, sammen med det som mange andre har kommet frem til i lignende studier (tabell 4), viser at økte konsentrasjoner av metaller i vann og vassdrag vil kunne ha en sterkere effekt på ektoparasitter enn på fisk. Dette kan ha betydning på flere områder. Min første tanke er at det åpner opp for muligheten for at metaller kan tas i bruk som et parasittspesifikt middel i kampen mot uønskede parasitter, slik tilfelle allerede er for aluminium (Hytterød *et al.*, 2005, Pettersen *et al.*, 2006b). De studiene som har vært gjort så langt indikerer at sink kan brukes på samme måte som aluminium (Larsen & Buchmann 2003; Poléo *et al.*, 2004). Mine resultater støtter dette og gir i tillegg indikasjon på at også nikkel kan inkluderes i gruppen av metaller som påvirker parasitter i negativ grad og betydelig kraftigere enn fisk. Ved å ta i bruk aluminium, sink eller nikkel som bekjempelsesmidler mot uønskede parasitter, slik som for eksempel *G. salaris*, er det en annen viktig side som bør tas i betraktning, nettopp dette at disse metallene også virker på parasitter som man ikke har noe mål å utrydde fra et vassdrag. Sett i lys av at ektoparasitter også er organismer som er en del av det biologiske mangfoldet kan man i fremtiden forutse hvordan disse vil reagere på en eventuell kjemisk behandling av et vassdrag. Drammenselva i Buskerud er en av mange norske elver som er infisert av *G. salaris*. Av disse er det den elven som har desidert flest fiskearter og alle disse artene har en eller flere ektoparasitter (Sterud, 1999). Det er derfor ingen tvil om at en eventuell kjemisk behandling mot *G. salaris* i dette vassdraget vil kunne påvirke det biologiske mangfoldet negativt når det gjelder visse ektoparasitter på fisk.

Det andre jeg tenker på i forbindelse med økte konsentrasjoner av metaller i vann og vassdrag, er forurensning. Det vi nå etter hvert vet om ektoparasitter og deres følsomhet for metaller, viser for det første at metallforurensning vil føre til at disse raskt vil kunne gå tapt og forsvinne fra et vassdrag som utsettes for forurensning. Raskere enn fisk. For det andre åpner den relativt høye følsomheten for at man kan ta ektoparasitter hos fisk i bruk som bioindikatorer for metallforurensning og kanskje forurensning generelt. Dette har Poulin (1992) vært inne på tidligere, og han etterlyste nettopp toksikologiske studier med ektoparasitter som monogener. Mine resultater sammen med de andre studiene som har vært gjort de siste årene (tabell 4) bringer derfor Poulin (1992) sin tankegang videre. Det er også interessant å legge til at parasitter er følsomme for andre

forurensninger enn metaller (se oversikt av Poulin, 1992). Metaller kan også forekomme i ulike konsentrasjoner i miljøet som et resultat av naturlige forhold som forvitring av metallrike mineraler fra nedbørsfeltet til et vassdrag. De siste års studier av metallers virkning på ektoparasitter har bidratt til en økt forståelse for at abiotiske faktorer knyttet til vannkvaliteten har betydning for forekomst, spredning og utbredelse av ulike arter ektoparasitter hos fisk. Sammensetningen av ektoparasittsamfunnet kan derfor brukes som et bilde på hva slags vannkvalitet man har i et vassdrag eller deler av et vassdrag.

Det siste jeg tenker på er at metaller kan tas i bruk som parasittspesifikt middel i kampen mot uønskede parasitter i forbindelse med oppdrett av fisk. Både andres og mine resultater som har vært diskutert i denne hovedfagsoppgaven, har relevans først og fremst for ferskvann. Det betyr ikke at forskning som bygger på våre resultater ikke kan lede til nye resultater som har større relevans for saltvann. Oppdrett av fisk i ferskvann er imidlertid en stor næring på verdensbasis. Det er derfor godt mulig at våre samlede resultater kan anvendes kommersielt i fremtiden, dersom man går noen skritt videre og utvikler metoder for metalledosering i landbaserte oppdrettsanlegg.

4.6 Konklusjon

Resultatene fra denne oppgaven har altså vist at aluminium og sink har negativ effekt på både *G. derjavini* og *G. magnificus* uten at det fører til dødelighet hos fisken. Det foreligger ikke tilstrekkelig grunnlag for å hevde at toleransen for aluminium er vesentlig forskjellig hos ulike gyrodactylider. Derimot synes det som om *G. magnificus* er betydelig mer tolerant for sink, sammenlignet med andre gyrodactylider. Dermed har mine resultater bidratt til antagelsen om at det er store artsforskjeller i toleransen for sink mellom ulike gyrodactylider og kanskje ektoparasitter generelt. Videre har resultatene mine åpnet for den muligheten at en tidligere antagelse om at kobber ikke har effekt på gyrodactylider kan være feil, ved at en svak respons hos *G. magnificus* eksponert for kobber ble observert i prevalensen. Jeg har for første gang vist at nikkell har effekt på en ektoparasitt, nærmere bestemt *G. magnificus* og at denne effekten er betydelig sterkere på parasitten enn vertsfisken. Resultatene føyer seg inn i rekken av spesifikke studier av metallers virkninger på ektoparasitter hos fisk og bidrar til økt forståelse av hvordan metaller vil innvirke, som kjemisk bekjempelsesmiddel mot ektoparasitter i naturen så vel som i oppdrett. Resultatene bidrar også til økt forståelse av vannkvalitetens betydning for ektoparasitter i naturen, enten i forurensede eller i upåvirkede vann og vassdrag. Til slutt åpner de samlede resultatene på dette feltet opp for muligheten at ektoparasitter hos fisk kan brukes som bioindikatorer på forurensninger, eller andre endringer av miljøet. Mine resultater har styrket denne muligheten.

Avslutningsvis vil jeg også ta med at arbeidet med denne oppgaven har bekreftet det de fleste andre har erfart som har jobbet med fisk under eksperimentelle forhold, nemlig at dette er vanskelig og arbeidskrevende dersom man skal oppnå gode resultater. Dette fikk jeg ytterligere erfare fordi jeg i tillegg til fisken hadde parasittene å tenke på. Parasittene oppførte seg ikke helt som ventet etter at fisken ble tatt inn i akvarieavdelingen, men jeg har i det minste vist at hyppige tellinger av parasitter eller anestesi ikke synes å påvirke parasittene negativt. I tillegg viser mine resultater at prevalens og abundans ikke alltid er korrelert. Dette understreker viktigheten av å rette oppmerksomheten på begge faktorer i fremtidige studier av den typen jeg har gjort.

5. Referanser

- Appleby, C., & Mo, T.A. (1997). Population dynamics of *Gyrodactylus salaris* (Monogenea) infecting Atlantic salmon, *Salmo salar*, parr in the River Batnfjordselva, Norway. *J. Parasitol.* **83**, 23-30.
- Asch, H.L. & Dresden, M.H. (1977). *Schistosoma mansoni*: effects of zinc on cercarial and schistosomule viability. *J. Parasitol.* **63**, 80-86.
- Bakke, T.A., Jansen, P.A. & Hansen, L.P. (1990). Differences in the host resistance of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., stocks to the monogenean *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957. *J. Fish Biol.* **37**, 577-587.
- Bakke, T.A., Harris, P.D. & Cable, J. (2002a). Host specificity dynamics: observations on gyrodactylid monogeneans. *Int. J. Parasitol.* **32**, 281-308.
- Bakke, T.A., Harris, P.D., Jansen, P.A. & Hansen, L.P. (2002b). Host specificity and dispersal strategy in gyrodactylid monogeneans, with particular reference to *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes, Monogenea). *Dis. Aquat. Org.* **13**, 63-74.
- Barnes, R. B. (1975). The determination of specific forms of aluminium in natural water. *Chem. Geol.* **15**, 177-191.
- Betzer, S.B. & Yevich, P.P. (1975). Copper toxicity in *Budycon canaliculatum* L. *Biol. Bull.* **148**, 16-25.
- Bloom, P.R., McBride, M.B. & Weaver, R.M. (1979). Aluminium organic matter in acidic soils: Buffering and solution aluminium activity. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **43**, 488-493.
- Bohlin, T., Hamrin, S., Heggberget, T.G., Rasmussen, G. & Saltveit, S.J. (1989). Electrofishing – Theory and practice with special emphasis on salmonids. *Hydrobiologia* **173**: 4-43.
- Cable, J. & Harris, P.D. (2002). Gyrodactylid developmental biology: historical review, current status and future trends. *Int. J. Parasitol.* **32**, 255-280.

- Cone, D.K., Marcogliese, D.J. & Watt, W.D (1993). Metazoan parasite communities of yellow eels (*Anguilla rostrata*) in acidic and limed rivers of Nova Scotia. *Can. J. Zool.* **71**, 177-184.
- Cronan, C.S., & Schofield, C.L. (1979). Aluminium leaching response to acid precipitation: Effects on high-elevation watersheds in the Northeast. *Science* **204**: 304-306.
- Driscoll, C.T., Baker, J.P., Bisogni, J.J. & Schofield, C.L. (1980). Effect of aluminium speciation on fish in dilute acidified waters. *Nature* **284**: 161-164.
- Eisler, R. (1993). Zinc hazards to fish, wildlife and invertebrates: A Synoptic Review. *Biol. Report 10. Contaminant Hazard Reviews Report 26. U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service.* 106 pp.
- Eisler, R. (1997). Copper hazards to fish, wildlife and invertebrates: A synoptic review. *Biol. Sci. Report USGS/BSR-1997-0002.* 98 pp.
- Eisler, R. (1998). Nickel hazards to fish, wildlife and invertebrates: A synoptic review. *Biol. Sci. Report USGS/BSR-1998-0001.* 119 pp.
- Ergens, R. (1983) *Gyrodactylus* from Eurasian freshwater Salmonidae and Thymalidae *Folia Parasitol.* **25**, 79-81.
- Evans, N. A. (1982a). Effects of copper and zinc on the life cycle of *Notocotylus attenuatus* (Digenea: Notocotylidae). *Internat J. Parasitol.* **12**, 363-369.
- Evans, N.A. (1982b). Effects of copper and zinc upon the survival and infectivity of *Echinoparyphium recurvatum* cercariae. *Parasitology* **85**, 295-303.
- Gensemer, R.W. & Playle, R.C. (1999). The bioavailability and toxicity of aluminium in aquatic environments. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **29**, 315-450.
- Gheorghiu, C., Cable, J., Marcogliese, D.J. & Scott, M.E. (2007). Effects of waterborne zinc on reproduction, survival and morphometrics of *Gyrodactylus turnbulli* (Monogenea) on guppies (*Poecilia reticulata*). *Int. J. Parasit.* **37**, 375-381.

- Grimsmo, H. (2000). Aluminiums virkning på *Gyrodactylus salaris* infeksjon hos laks (*Salmo salar*): En direkte eller indirekte effekt? *Cand. scient. oppgave i Generell Fysiologi, Universitetet i Oslo*. 46s.
- Hansen, H. (2007). Molecular taxonomy, diagnostics and phylogeography of *Gyrodactylus salaris* and *G. thymalli* (Platyhelminthes, Monogenea). *Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Oslo*. 98 pp.
- Harris, P.D., Shinn, A.P., Cable, J. & Bakke, T.A. (2004). Nominal species of the genus *Gyrodactylus* von Nordmann 1832 (Monogenea: Gyrodactylidae), with a list of principal host species. *Syst. Parasitol.* **59**, 1-27.
- Hem, J.D. & Roberson, C.E. (1967) Form and stability of aluminium hydroxide complexes in dilute solutions. *Geological Survey Water-Supply Paper 1827-A. Government Printing Office, Washington DC*, 55 pp.
- Hytterød, S., Pettersen, R.A., Høgberget, R., Lydersen, E., Mo, T.A., Hagen, A.G., Kristensen, T., Berntsen, S., Abrahamsen, B. & Poléo, A.B.S. (2005). Forsøk på totalutryddelse av *Gyrodactylus salaris* i Batnfjordselva ved hjelp av aluminium som hovedkjemikalium. *NIVA Rapport 5015-2005*. 31s.
- Jansen, P.A. & Bakke, T.A. (1991). Temperature-dependent reproduction and survival of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Platyhelminthes: Monogenea) on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Parasitology* **102**, 105-112.
- Jansen, P.A. & Bakke, T.A. (1993a). Regulatory processes in the monogenean *Gyrodactylus salaris* Malmberg –Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) association. II. Experimental studies. *Fish. Res.* **17**, 103-114.
- Jansen, P.A. & Bakke, T.A. (1993b). Regulatory processes in the monogenean *Gyrodactylus salaris* Malmberg –Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) association. I. Field studies in southeast Norway. *Fish. Res.* **17**, 87-101.
- Johnsen, B.O., Møkkelgjerd, P.I. & Jensen, A.J. (1999). The parasite *Gyrodactylus salaris* on salmon parr in Norwegian rivers. Status report at the beginning of the year 2000. *NINA Oppdragsmelding* **617**,1-129.

- Kahn, H.L. (1968). Principles and Practice of Atomic Absorption. (Reprinted from) *Advances in chemistry series*. Number 73: "Trace Inorganics in Water". 183-229.
- Khan, R.A. & Kiceniuk, J.W. (1988). Effect of petroleum aromatic hydrocarbons on monogeneids parasitizing Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **41**, 94-100.
- Larsen, T.B. & Buchmann, K. (2003). Effects of aqueous aluminium chloride and zinc chloride on survival of the gill parasitizing monogenean *Pseudodactylogyrus anguillae* from European eel *Anguilla anguilla*. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* **23**, 123-127.
- Leonard, A. & Gerber, G.B. (1989). Zinc toxicity: does it exist ? *J. Am. College. Toxicol.* **8**, 1285–1290.
- Lydersen, E. (1989). Aluminium: Kilder, løselighet og tilstandsformer. *Vann* **1**, 116-125.
- Lydersen, E. (1990). The solubility and hydrolysis of aqueous aluminium hydroxides in dilute fresh waters at different temperatures. *Nordic Hydrol.* **21**, 195-204.
- Lydersen, E., Salbu, B., Poléo, A.B.S., & Muniz, I.P. (1990). The influence of temperature on aqueous aluminium chemistry. *Water Air Soil Pollut.* **51**, 203-215.
- Lydersen, E., Löfgren, S. & Arnesen, R.T. (2002). Metals in Scandinavian surface waters: effects of acidification, liming and potential reacidification . *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **32**, 73-295.
- Malmberg, G. (1957). Om förekomsten av *Gyrodactylus* på svenska fiskar. *Skrifter utgivna av Söndre Sveriges fiskeriförening Årsskrift* **1956**, 19-76 .
- Malmberg, G. (1970). Excretory systems and the marginal hooks as a basis for Systematics of *Gyrodactylus* (Trematoda, Monogenea). *Arkiv Für Zoologi* **23**, 1-235.
- Malmberg, G. & Malmberg, M. (1991). Undersökningar angående *Gyrodactylus* på laxfisk i fria vatten och odlingar under åren 1951-72 och 1986- mai 1991. *Information från Sötvattenslaboratorium, Drottningholm* **2**, 1-30.

- Marcogliese, D.J. & Cone, D.K. (1996). On the distribution and abundance of eel parasites in Nova Scotia: Influence of pH. *J. Parasitol.* **82**, 389-399.
- Meador, J.P. (1991). The interaction of pH, dissolved organic carbon, and total copper in the determination of ionic copper toxicity. *Aquat. Toxicol.* **19**, 13-32.
- Mecham, J.A. & Holliman, R.B. (1975). Toxicity of zinc to *Schistosoma mansoni* cercaria in a chemically defined water medium. *Hydrobiologia* **46**, 391-404.
- Mertz, W. (1981). The essential trace elements. *Science* **231**, 1332.
- Mo, T.A. (1997). Seasonal occurrence of *Gyrodactylus derjavini* (Monogenea) on brown trout, *Salmo trutta*, and Atlantic salmon, *S. Salar*, in the Sandvikselva river, Norway. *J. Parsitol.* **83**, 1025-1029.
- Mo, T.A., Appleby, C. & Berland, B. (1999). Platyhelminthes (flatmark). I: Poppe, T. (red.). *Fiskehelse og fiskesykdommer*. Universitetsforlaget AS. 202-211.
- Moravec, F. (2001) Checklist of the metazoan parasites of fisheries of the Czech Republic and the Slovak Republic (1873-2000). *Praha: Academia*, 168 pp.
- Morley, N.J., Crane, M. & Lewis, J.W. (2001). Toxicity of Cadmium and Zinc to *Diplostomum spathaceum* (Trematoda: Diplostomidae) cercarial survival. *Int. J. Parasitol.* **31**, 1211-1217.
- Pagenkopf, G.K., Russo, R.C. & Thurston, R.V. (1974). Effect of complexation on toxicity of copper to fishes. *J. Fish. Res. Board Can.* **31**, 462-465.
- Pane, E.F., Richards, J.G. & Wood, C.M. (2003). Acute waterborne nickel toxicity in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) occurs by a respiratory rather than ionoregulatory mechanism. *Aquat. Toxicol.* **63**, 65-82.
- Pane, E.F, Haque, A. & Wood, C.M. (2004). Mechanistic analysis of acute, Ni-induced respiratory toxicity in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): an exclusively branchial phenomenon. *Aquat. Toxicol.* **69**, 11-24.
- Pettersen, R.A., Vøllestad, A.L., Flodmark, L.E.W. & Poléo, A.B.S. (2006a). Effects of aqueous aluminium on four fish ectoparasites. *Sci. Tot. Environ.* **369**, 129-138.

- Pettersen, R.A., Hytterød, S., Mo, T.A., Poléo, A.B.S., Hagen, A.G., Flodmark, L.E.W., Høgberget, R., Olsen, N., Kjosnes, J.A., Øxnevad, S.A., Håvardstun, J., Kristensen, T., Sandodden, R., Moen, A. & Lydersen, L. (2006b). Kjemisk behandling mot *Gyrodactylus salaris* i Lærdalselva 2005. *NIVA Rapport* 5169-2006. 24s.
- Poléo, A.B.S. (1992). Fisk i surt vann. Døving, K. & Reimers E. (red). I: *Fiskens fysiologi*. John Grieg Forlag AS. 391-400.
- Poléo, A.B.S., (1995). Aluminium polymerization – a mechanism of acute toxicity of aqueous aluminium to fish. *Aquat. Toxicol.* **31**, 347-356.
- Poléo, A.B.S. & Muniz, I.P. (1993). The effect of aluminium in soft water at low pH and different temperatures on mortality, ventilation frequency and water balance in smoltifying Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Environ. Biol. Fish.* **36**, 193-203.
- Poléo, A.B.S. & Bjerkely, F. (2000). Effect of unstable aluminium chemistry on Arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **57**, 1423-1433.
- Poléo, A.B.S., Lydersen, E., Rosseland, B.O., Kroglund, F., Salbu, B., Vogt, R.D. & Kvellestad, A. (1994). Increased mortality of fish due to changing Al chemistry of mixing zones between limed streams and acidic tributaries. *Water Air Soil Pollut.* **75**, 339-351.
- Poléo, A.B.S., Østbye, K., Øxnevad, S.A., Andersen, R. A., Heibo, E. & Vøllestad, L.A. (1997). Toxicity of acid aluminium-rich water to seven freshwater fish species: a comparative laboratory study. *Environ. Pollut.* **96**: 129-139.
- Poléo, A.B.S., Schjolden, J., Hansen, H., Bakke, T.A., Mo, T.A., Rosseland, B.O. & Lydersen, E. (2004). The effect of various metals on *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes, Monogenea) infections in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Parasitology* **128**: 169-177.
- Poppe, T. (1999). Systematisk patologi og patofysiologi. I: Poppe, T. (red.). *Fiskehelse og fiskesykdommer*. Universitetsforlaget AS. 202-211.

- Poulin, R. (1992). Toxic Pollution and Parasitism in Freshwater Fish. *Parasitology Today* **8**, 58-61.
- Santore, R.C., Di Toro, D.M., Paquin, P.R., Allen, H.E. & Meyer, J.S. (2001). Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. 2. Application to acute copper toxicity in freshwater fish and daphnia. *Environ. Tox. Chem.* **20**, 2397-2402.
- Schjolden, J. (1998) Fysiologiske responser hos karuss (*Carassius carassius*) eksponert for høye konsentrasjoner av uorganisk kobber. *Cand. scient. Oppgave i fysiologi. Universitetet i Oslo.* 57s.
- Schofield, C.L. & Trojnar, J.R. (1980). Aluminum toxicity to brook trout (*Salvelinus fontinalis*) in acidified waters. I: T.Y. Toribara, M.W. Miller & P.E. Morrow (red.). *Polluted Rain*, Plenum Press, New York. 341-362.
- Schroeder, H.A., Nason, A.P., Tipton, I.H. & Balassa, J.J. (1966). Essential trace metals in man: copper. *J. Chronic Dis.* **19**, 1007-1034.
- Soleng, A., Poléo, A.B.S., Alstad, N.E.W., & Bakke, T.A. (1999). Aqueous aluminium eliminates *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes, Monogenea) infections in Atlantic salmon. *Parasitology* **119**, 19-25.
- Soleng, A., Poléo, A.B.S. & Bakke, T.A. (2005). Toxicity of aqueous aluminium to the ectoparasitic monogenean *Gyrodactylus salaris*. *Aquaculture* **250**, 616-620.
- Spear, P.A. & Pierce, R.C. (1979). Copper in the aquatic environment. Chemistry, distribution and toxicology. *National Research Council of Canada, Publ. No. NRCC 16454.*
- Sterud, E. (1999) Parasitter hos norske ferskvannsfisk. *Norsk Zoologisk Forening.* Rapport 7.
- Sullivan, T.J., Seip, H.M. & Miniz, I.P. (1986). A comparison of frequently used methods for the determination of aqueous aluminium. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **26**, 61-75.
- Tikhonov, V.N. (1973). *Analytical chemistry of aluminium.* John Wiley and Sons, Inc. New York. 122 pp.

- Toen, E., Haugland, Ø. & Sterud, E. (1998). Parasites of atlantic salmon (*Salmo salar*) and brown trout (*Salmo trutta*) from the river akerselva, Oslo, Norway. *Bull. Scand. Soc. Parasitol.* **8**, 92-96.
- Vogt, R.D., Ranneklev, S.B. & Mykkelbost, T.C (1994). The impact of acid treatment on soilwater at the humex site. *Environ. Internat.* **20**, 277-286.