

Hva betyr ferskvannskvaliteten for sinkgiftigheten hos laks?

Hvor giftig sink er for laks, avhenger ikke bare av hvor mye sink som finnes i vannet, men også av vannkvaliteten. FHF-prosjektet NYBRØK viste at høye sinkkonsentrasjoner kan føre til alvorlige effekter på fisken, men forsøkene ga ikke grunnlag til å fastsette sikre veiledende grenseverdier. I NYBRØK II har vi derfor testet flere sinknivåer i ulike typer ferskvann. Vi har også undersøkt om tilsetning av kalsium kan redusere giftigheten av sink – et tiltak som kan være aktuelt ved ferskvannsbehandling i brønnbåt.

Sara Calabrese¹, Rolf David Vogt¹, Frida Sol Svendsen¹, Kamilla Furseth¹, Endre Steigum¹, Alf Dalum², Susanne Håvardstun Eide³, Linda Andersen³, Markus Valle Sjøstrand³, Henriette Glosvik³, Pablo Balseiro⁴ og Ole-Kristian Hess-Erga¹.

1 Norsk institutt for vannforskning

2 Pharmaq Analytiq

3 Industrielaboratoriet (ILAB)

4 Universitetet i Bergen

Sara.Calabrese@niva.no

NYBRØK II

Fiskevelferdsutfordringer og dødelighetshendelser i ulike brønnbåtoperasjoner var utgangspunktet for BRØK- og NYBRØK-prosjektet. Prosjektresultatene er formidlet gjennom Brønnbåtveilederen (<https://bronnbatveilederen.no/>) og flere populærvitenskapelige artikler og vitenskapelige publikasjoner.

Dette arbeidet er nå videreført i NYBRØK II-prosjektet, hvor det blant annet er blitt gjennomført flere kontrollerte forsøk med sink i ulike ferskvannskvaliteter representative for forhold under ferskvannsbehandling.

Når oppdrettslaks behandles i ferskvann, er målet å bekjempe parasitter uten å påføre fisken unødvendig stress. Både erfaring og forskning viser imidlertid at vannets sinkinnhold kan selv ved moderate konsentrasjoner gi betydelige negative effekter på fiskevelferden.

Giftighet av sink – et metall som blir farlig under ugunstige forhold

Sink er et essensielt næringsstoff for laks og er viktig for vekst og helse. Høye konsentrasjoner av løst sink i vann kan derimot være akutt toksiske. Sink finnes normalt i lave konsentrasjoner i naturlig ferskvann og sjøvann, men kan tilføres brønnvannet fra teknisk utstyr, blant annet galvaniserte overflater. Hvor giftig sink er, avhenger imidlertid i stor grad av vannkvaliteten. Ved ferskvannsbehandling er det særlig den frie formen, Zn^{2+} , som er problematisk og som kan skade gjellene.

I kontrollerte forsøk i NYBRØK-prosjektet, der transport av laks og ferskvannsbehandling mot lakselus

i brønnbåt ble simulert, viste vi at forhøyede sinkkonsentrasjoner kan gi alvorlige effekter og i verste fall føre til fiskedød (Vogtmfl. 2024). Høye sinknivåer ga skader på gjellevevet og førte blant annet til at kloridceller ble ødelagt og avstøtt. Disse cellene er sentrale for reguleringen av fiskens salt- og vannbalanse. Skader på kloridcellene og forstyrrelse av ionetransportmekanismer reduserer fiskens evne til å opprettholde normal ionebalanse, både under ferskvannsbehandling og etter tilbakeføring til sjøvann.

I sjøvann klarte fisken seg godt selv ved en høy sinkkonsentrasjon på 800 $\mu\text{g Zn/l}$, slik den kan være eksponert for under lukket eller semilukket transport. Ved simulert ferskvannsbehandling førte den samme sinkkonsentrasjonen derimot til dødelighet og uttalte gjelleskader. Forsøkene viste også at fisk eksponert for moderate og høye sinkkonsentrasjoner klarte seg bedre i naturlig humusholdig ferskvann enn i behandlet ferskvann der en del av humusen var fjernet, og vannet var tilsatt silikatlut. Dette kan skyldes at humus binder sink og dermed reduserer andelen som foreligger i fri toksisk form. Silikatlut har en kjent avgiftende effekt på aluminium, men forsøkene viste at en tilsvarende beskyttende effekt ikke kunne påvises for sink.

Nye forsøk med naturlig råvann og RO-vann

Forsøkene i NYBRØK viste at vannkvaliteten har stor betydning for

hvor giftig en gitt sinkkonsentrasjon er i ferskvann. De tre konsentrasjonene som ble testet (100, 400 og 800 µg Zn/l) ga imidlertid ikke tilstrekkelig grunnlag for å fastsette veiledende grenseverdier for naturlig ferskvann. Det er også begrenset kunnskap om hvordan ferskvann produsert fra sjøvann ved ultrafiltrering og omvendt osmose (RO) påvirker sinkens toksisitet. Nyprodusert RO-vann er svært bløtt og inneholder lite eller ingen humusstoffer. Det har de senere årene blitt tatt i bruk til ferskvannsbehandling i brønnbåter. Erfaring fra næringen og resultater fra NYBRØK har imidlertid indikert at risikoen for sinktoksisitet kan være større i denne typen vann. I NYBRØK II har vi derfor gjennomført nye forsøk med flere sinkkonsentrasjoner i både naturlig ferskvann og RO-vann, med mål om å etablere et bedre grunnlag for veiledende grenseverdier i de vanligste vanntypene.

Behandling med naturlig råvann

Ferskvann fra naturlige kilder på

Vestlandet og i mange andre deler av Norge er ofte bløte, med lave kalsiumkonsentrasjoner, men samtidig humusrike. Resultatene fra NYBRØK tydet på at toksiske effekter av sink i slike vann kan forventes fra 200 til 500 µg Zn/log høyere. For å undersøke dette nærmere og utfylle konsentrasjonsområdet som tidligere var testet, eksponerte vi fisk for totalsinkkonsentrasjoner på 0 (kontroll), 200, 300 og 500 µg Zn/l. Sink ble tilsatt før behandlingen, slik at fisken ble eksponert for en tilnærmet konstant konsentrasjon gjennom en åttetimers lang simulert ferskvannsbehandling. Etter eksponeringen ble fisken tilbakeført til sjøvann for å simulere tilbakeføring til merd.

Vi observerte ingen tydelige endringer i fiskens atferd under den åttetimer lange eksponeringen, uavhengig av sinkkonsentrasjon. Det var heller ingen dødelighet det første døgnet etter tilbakeføring til sjøvann. I den påfølgende observasjonsperioden døde imidlertid tre fisk i gruppen eksponert for 300 µg Zn/l (11 % akkumulert dødelighet) og fem fisk

i gruppen eksponert for 500 µg Zn/l (18 % akkumulert dødelighet). Resultatene fra forsøket er samlet i **Figur 1**.

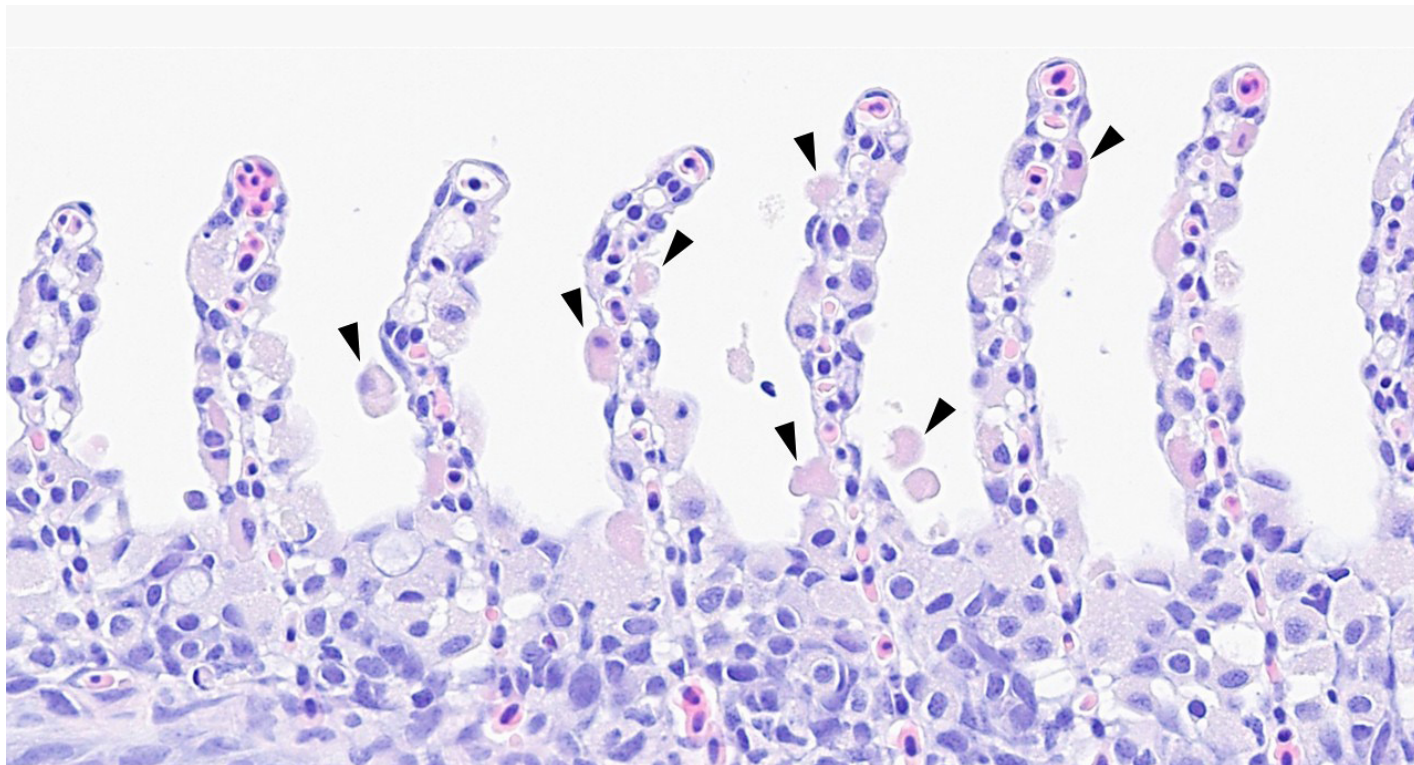
Eksponering for 300 og 500 µg Zn/l påvirket fiskens evne til å regulere salt- og væskebalansen etter tilbakeføring til sjøvann. Dette kunne ses som forhøyede nivåer av natrium og klorid i blodet dagen etter behandlingen. Samtidig falt kalsiumnivået i blodet med økende sinkkonsentrasjon. Dette er forenlig med at sink kan forstyrre kalsiumopptaket over gjellene. Effektene var imidlertid forbigående: én uke etter eksponeringen var nivåene av natrium, klorid og kalsium tilbake på samme nivå som hos kontrollfiskene, noe som tyder på at normal ioneregulering var gjenopprettet. For å undersøke om sinkeksponeringen også hadde påvirket gjellene, benyttet vi et semikvantitativt histopatologisk scoringssystem, der høy score indikerer mer omfattende vevsforandringer eller skader (Sharba mfl. 2026). Gjelleforandringer og signifikant høyere score enn kontrollgruppen ble bare påvist hos fisken som hadde vært eksponert for den høyeste sinkkonsentrasjonen, 500 µg Zn/l, skadene var fortsatt påvisbare én uke etter behandlingen.

Rent RO-vann kan gi økt risiko for sinkforgiftning

En del moderne brønnbåter produserer ferskvann om bord ved omvendt osmose (RO). Dette gir muligheter for å øke behandlingskapasiteten ved at større vannmengder kan skiftes ut under og mellom ferskvannsbehandlinger. RO-vann gir også en mer forutsigbar vannkvalitet enn råvann fra naturlige ferskvannskilder. Imidlertid inneholder ikke dette vannet humusstoffer og det har meget lave konsentrasjoner av kalsium og magnesium. Tidligere langtidsstudier har vist at magnesium kan redusere opptaket og dermed bioakkumuleringen av sink over gjellene, men at det kun er kalsium, og ikke magnesium, som reduserer sinkens toksiske effekter (Alsop og Wood, 1999). Dette peker på at bioakkumulering av sink og akutt sinktoksisitet er forskjellige prosesser, og at redusert kalsiumopptak er den sentrale akutte toksiske mekanismen.



Figur 1. Sammendrag av biologiske responser hos atlantisk laks eksponert for sink under simulert ferskvannsbehandling med ulike vannkvaliteter. Det er viktig å merke seg at de kontrollerte forsøksbetingelsene ikke fullt ut gjenspeiler forholdene under kommersielle operasjoner. Særlig vil innblanding av sjøvann som følger med fisken i praksis gi høyere kalsiumkonsentrasjoner enn i forsøket, noe som kan redusere sinktoksisitet. Illustrasjonen er utformet med bistand fra Microsoft Copilot; alle faglige data og vurderinger er kontrollert av forfatterne.



Figur 2. Nekrose og avstøting av kloridceller (indikert med piler) er typiske gjelleskader observert ved eksponering for høye sinkkonsentrasjoner i ferskvann (Bilde: Alf Dalum).

Kalsiuminnholdet i nyprodusert RO-vann er som regel svært lavt, ofte under 1 mg Ca^{2+}/l . Dermed mangler RO-vann de vannkjemiske faktorene som ellers kan dempe metalltoksisitet. Vann som i utgangspunktet fremstår som «rent» kan derfor innebære økt risiko ved sinkeksponering.

I NYBRØK II undersøkte vi effekten av totale sinkkonsentrasjoner på 0, 100, 200, 300, 400 og 500 $\mu\text{g Zn/l}$ i RO-vann. Mot slutten av den åttetimers lange eksponeringen ble det observert svekket fisk, unormal svømmeatferd og dødelighet i gruppene eksponert for 200, 300 og 400 $\mu\text{g Zn/l}$. Den høyeste samlede dødeligheten ble registrert ved 400 $\mu\text{g Zn/l}$, der 64 % av fisken døde. Sammenlignet med naturlig råvann ga sink i RO-vann sterkere fysiologiske og stressrelaterte responser ved tilsvarende sinkkonsentrasjoner. Sink påvirket også i større grad fiskens evne til å opprettholde normal ionebalanse, både under ferskvannsbehandlingen og etter tilbakeføring til sjøvann. Som i råvannsforsøket falt kalsiumnivået i

blodplasmamedøkendesinkeksponering i RO-vann. Hovedresultatene fra forsøket er samlet i **Figur 1**.

De histologiske undersøkelsene viste moderate gjelleforandringer og signifikant høyere gjellescore hos fisk eksponert for 300 og 400 $\mu\text{g Zn/l}$ sammenlignet med kontrollfisken. Fisk eksponert for 200 $\mu\text{g Zn/l}$ i RO-vann viste også tegn til økt gjellepåvirkning, men kun dagen etter behandlingen. Forandringene omfattet blant annet hypertrofi av respiratoriske epitelceller samt degenerasjon og avstøting av kloridceller (**Figur 2**). Hos fisk eksponert for 300 og 400 $\mu\text{g Zn/l}$ var tegn på gjellepåvirkning fortsatt til stede én uke etter behandlingen.

Et uventet resultat fra forsøkene med RO-vann var at fisken eksponert for den høyeste sinkkonsentrasjonen, 500 $\mu\text{g Zn/l}$, viste mindre påvirkning enn gruppene ved 300 og 400 $\mu\text{g Zn/l}$. Det ble verken påvist tydelige atferdsendringer, økt gjellescore eller tilsvarende høy dødelighet (**Figur 1**). Dette avvek fra dose-respons-mønsteret vi ellers har

sett i NYBRØK og NYBRØK II. Årsaken til dette er ikke helt kjent. Ved gjennomgang av hendelsesforløpet i etterkant har det imidlertid kommet frem at deler av forsøksfisken, deriblant fiskegruppen som ble eksponert for 500 $\mu\text{g/l}$ sink, ble utsatt for færre håndteringssituasjoner i forkant av eksponeringen, enn de andre forsøksgruppene. Det kan derfor ikke utelukkes at forskjeller i forhistorie mellom forsøksgruppene har påvirket resultatene. Samtidig var kalsiumkonsentrasjonen i karene med 500 $\mu\text{g/l}$ sink i gjennomsnitt omtrent dobbelt så høy som i karene med høyest dødelighet, henholdsvis 1,9 og 0,8 mg Ca^{2+}/l . Dette kan ha skyldtes tilfeldig innblanding av mer sjøvann ved overføring av fisken eller rester av sjøvann i RO vanntanken eller forsøkskar. Dersom den reduserte påvirkningen i 500 $\mu\text{g/l}$ -gruppen faktisk skyldtes det høyere kalsiuminnholdet, tydet resultatene på at selv relativt små økninger i kalsiumkonsentrasjonen demper sinkens toksiske effekter. Dette ga grunnlag for å undersøke kalsiumtilsetning nærmere i et eget pilotforsøk.

Økt slimproduksjon – fiskens egen respons

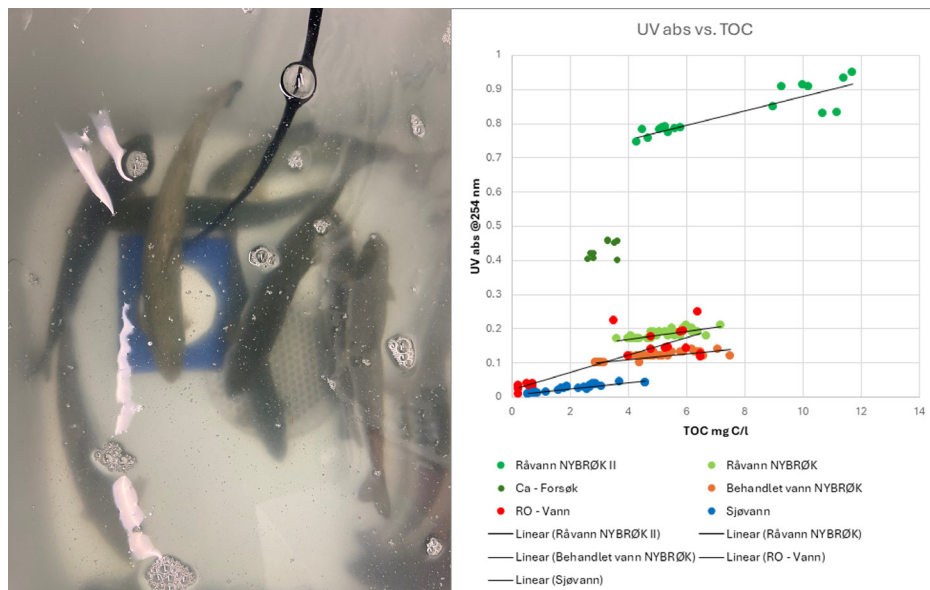
Slimlaget som dekker gjellene, utgjør fiskens første forsvarslinje mot potensielt giftige metaller i vannet. Studier har vist at ved forhøyede metallkonsentrasjoner, øker produksjonen av slim, og antallet slimproduserende celler i gjellene blir flere. Det ekstra slimlaget kan fungere som en beskyttende barriere ved å fange opp og binde metaller før de tas opp. Samtidig fornyes slimlaget kontinuerlig, og gammelt slim støtes av fra gjelleoverflaten. På denne måten fjernes også metallene som har blitt bundet i slimet (Kwong, 2024). I noen av karene med høy sinkkonsentrasjon ble RO-vannet tydelig blakket under eksponeringen (**Figur 3**). Optiske målinger viste en sammenheng mellom sinkkonsentrasjon og slimproduksjon, der mengden slim økte med økende sinknivå.

Denne beskyttelsen har imidlertid klare begrensninger. Selv om slimlaget kan redusere kontakten mellom gjellene og sink i vannet, var responsen ikke tilstrekkelig til å forhindre toksiske effekter ved de høyeste belastningene.

Kalsium – et mulig tiltak mot sinktoksisitet

Forskning har vist at økt kalsiumkonsentrasjon i vannet kan redusere sinkens giftighet hos flere fiskearter, blant annet regnbueørret. De fleste studiene er imidlertid basert på langtidseksponeringer under forhold som skiller seg fra dagens ferskvannsbehandling i oppdrett. Næringen ønsket derfor å undersøke om økt kalsiuminnhold kan være et praktisk tiltak for å redusere de akutte skadevirkningene av sink under brønnbåtoperasjoner. I forbindelse med NYBRØK II gjennomførte vi derfor et begrenset pilotforsøk.

Til forsøket ble det brukt et behandlet ferskvann (som i NYBRØK), dette vannet har en lav kalsiumkonsentrasjon, omkring 1,5 mg Ca²⁺/l, og lavt innhold av organisk materiale. Under slike forhold



Figur 3. Bildet til venstre viser tydelig blakket vann under sinkeksponeringen i RO-vann, som skyldes tilstedeværelse av slim. Grafen til høyre viser at økningen i organisk materiale i RO-vann, målt som TOC, i større grad skyldes økning i fiskeslim, målt som økning i UV-absorpsjon. Forskjeller i nivåene skyldes ulikheter i mengden humusstoffer i vannkvalitetene ved starten av forsøkene. Metoden og mer informasjon om hva målinger av UV-absorpsjon kan fortelle om fiskevelferd under ferskvannsbehandling, er beskrevet i Vogt et al. (2025).

er den bindende effekten av humus liten, og en stor andel av sinken foreligger som fritt Zn²⁺. I forsøket simulerte vi en åttetimers lang ferskvannsbehandling i fire kar, og alle karene ble eksponert for 400 µg Zn/l. For å undersøke om kalsium kunne redusere sinkens giftighet, ble kalsiumklorid (CaCl₂) tilsatt vannet i følgende konsentrasjoner: 5, 10, 20 og 40 mg Ca²⁺/l.

Etter åtte timers eksponering ble fisken tilbakeført til sjøvann. Fisken i gruppen tilsatt den laveste kalsiumkonsentrasjonen (5 mg Ca²⁺/l) fremsto som slapp ved tilbakeførsel og var lite aktiv også flere timer senere. I gruppene med høyere kalsiumkonsentrasjoner var fisken derimot mer aktiv og viste raskere normalisering av atferden etter tilbakeføring til sjøvann.

Fisken som ble eksponert ved 20 og 40 mg Ca²⁺/l viste gjennomgående få fysiologiske tegn til påvirkning av sink, mens gruppen med 5 mg Ca²⁺/l hadde tydeligst respons, blant annet høyere histologisk gjellescore, gjelleforandringer

og forstyrret ioneregulering. Dødeligheten var imidlertid langt lavere enn forventet: bare to fisk døde, begge i gruppen med lavest kalsiumtilsetning (5 mg Ca²⁺/l). I tidligere NYBRØK-forsøk med samme sinkkonsentrasjon og tilsvarende vannkvalitet (1,5 mg Ca²⁺/l) var den akkumulerte dødeligheten over 70 % etter tilbakeføring til sjøvann.

Til tross for at dette var et begrenset pilotforsøk, tyder resultatene på at selv moderate økninger i kalsiumkonsentrasjonen kan redusere sinkens toksiske effekter ved kortvarig eksponering, slik som under ferskvannsbehandling. En sannsynlig mekanisme er at sink og kalsium konkurrerer om opptak fra vannet inn i kloridcellene i gjelleepitelet. Vel inne i cellene hemmer sink den aktive transporten av kalsium videre til blodet. Dette fører til redusert kalsiumopptak, forstyrret kalsiumhomeostase og svekket regulering av andre ioner. Når kalsiumkonsentrasjonen i vannet er lav, får sink større mulighet til å tas opp gjennom gjellene og utøve disse effektene. Omvendt vil høyere

kalsiumkonsentrasjoner føre til at kalsium i større grad utkonkurrerer sink om opptaksstedene. Dette reduserer sinkopptaket og bidrar til å opprettholde fiskens kalsium- og ionebalanse til tross for eksponering for sink.

Vannet endrer seg – hele tiden

En viktig erfaring fra forsøkene (og kommersielle ferskvannsbehandlinger) er at vannkjemien ikke er statisk. Når fisken settes inn i ferskvann, starter flere prosesser som gradvis endrer vannkvaliteten:

- pH faller først som følge av økt CO₂ fra fiskens respirasjon, før den gradvis stiger igjen
- alkaliteten øker, blant annet som følge av fiskens utskillelse av ammoniakk
- ledningsevnen øker på grunn av sjøvann som følger med fisken og ioner som fisken avgir til vannet
- kalsiumkonsentrasjonen øker når sjøvann følger med fisken inn i behandlingsvannet
- total organisk karbon (TOC) øker på grunn av utskillelse av feces og slim fra fisken, NB! i motsetning til humusstoffer vil dette organiske materialet i liten grad kompleksbinde og avgifte metaller

Noen av disse endringene i vannkvalitet kan påvirke hvor giftig sinken er for fisken i vannet.

Er vi nærmere veiledende grenseverdier for sink i brønnbåtsammenheng?

Et gjennomgående ønske fra næringen er å etablere veiledende grenseverdier for sink under ferskvannsbehandling i brønnbåt. Resultatene våre viser imidlertid at dette er krevende fordi vannkvaliteten i stor grad påvirker hvor giftig sink er for fisken.

Forsøkene viser at sink gir sterkere effekter i RO-vann enn i naturlig råvann med humus og høyere kalsiuminnhold. I råvann med kalsiumkonsentrasjoner

under 2 mg/l observerte vi dødelighet og gjelleskader ved totalsinkkonsentrasjoner på 300 µg Zn/l og høyere. I RO-vann oppsto tilsvarende effekter allerede fra 200 µg Zn/l. Dette viser at en veiledende grenseverdi for sink ikke kan vurderes uavhengig av vannkvaliteten.

Samtidig skiller forholdene under kommersielle operasjoner seg ofte fra de kontrollerte forsøksbetingelsene. Sjøvann som følger med fisken kan øke kalsiuminnholdet i brønnvannet, særlig ved gjentatt behandling i samme vann, og dermed redusere sinkens giftighet. Fiskens sårbarhet vil dessuten avhenge av helsetilstand og særlig gjellehelse. I det kontrollerte forsøket ble det benyttet fisk som i utgangspunktet hadde god gjellehelse upåvirket av infeksjøs agens. Under reelle forhold kan gjellehelsen hos fisk som går inn i behandling variere

mye, og det er for eksempel ikke kjent hvordan sinkeksposering vil kunne påvirke sykdomsdynamikken forårsaket av ulike infeksjøs agens. Den samlede belastningen gjennom operasjonen – fra trenging og lasting til behandling og lossing – kan også påvirke utfallet.

Resultatene viser samtidig at risikoen for sinktoksisitet kan reduseres ved å tilpasse vannkvaliteten. Pilotforsøket peker særlig på økt kalsiuminnhold som et mulig beskyttende tiltak. Det er imidlertid behov for videre undersøkelser under forhold som er representative for kommersiell behandling før konkrete anbefalinger om kalsiumdosering kan gis. Det bør også avklares hvilke kalsiumprodukter som er best egnet og om kalsiumtilsetning kan påvirke behandlingseffektiviteten eller ha andre utilsiktede effekter.

Litteratur:

Alsop, D.H. and Wood, C.M., 1999. *Influence of waterborne cations on zinc uptake and toxicity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss**. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 56 (11), pp. 2112–2119.

Hess-Erga O-K., Storsul T., Segadal K., Dalum A.S., Stensby-Skjærvik S., Calabrese S., Vogt R.D., Sandstad A.R., Andersen L., Løseth K., Eide S.H., Handegård R., Steigum E., Svendsen F.S., Furseth K. og Rønnestad I. (2024). *Ny brønnbåtkunnskap – biologiske risikofaktorer ved bruk av brønnbåt til transport og behandling av laks (NYBRØK – 901788)*. NIVA-rapport 8005–2024.

Kwong, R.W., 2024. *Trace metals in the teleost fish gill: biological roles, uptake regulation, and detoxification mechanisms*. Journal of Comparative Physiology B, 194(5), pp. 749–763.

Sundell, K., Birchenough, G., Dalum, A.S., Loibman, S., Benktander, J. and Lindén, S.K., 2025. *A. salmonicida infection inhibits rainbow trout gill mucin production*. Fish & Shellfish Immunology, p. 111089.

Vogt R.D., Calabrese S., Steigum E., Svendsen F.S., Ulven K., Dalum A.S., Andersen L., Lai F., Sjøstrand M.V., Wedaa L., Hanson O. og Hess-Erga O-K. (2024). *Laks påvirkes negativt av sink*. Norsk Fiskeoppdrett Nr. 4.

Vogt, R.D., Steigum, E., Bekkeli, S.K., Rajakumar, J., Calabrese S., Hess-Erga O-K. 2025. *Fargen på ferskvannet under behandling mot lakselus i brønnbåter kan fortelle mye om fiskevelferden*. Norsk Fiskeoppdrett. 2025:46 -50.