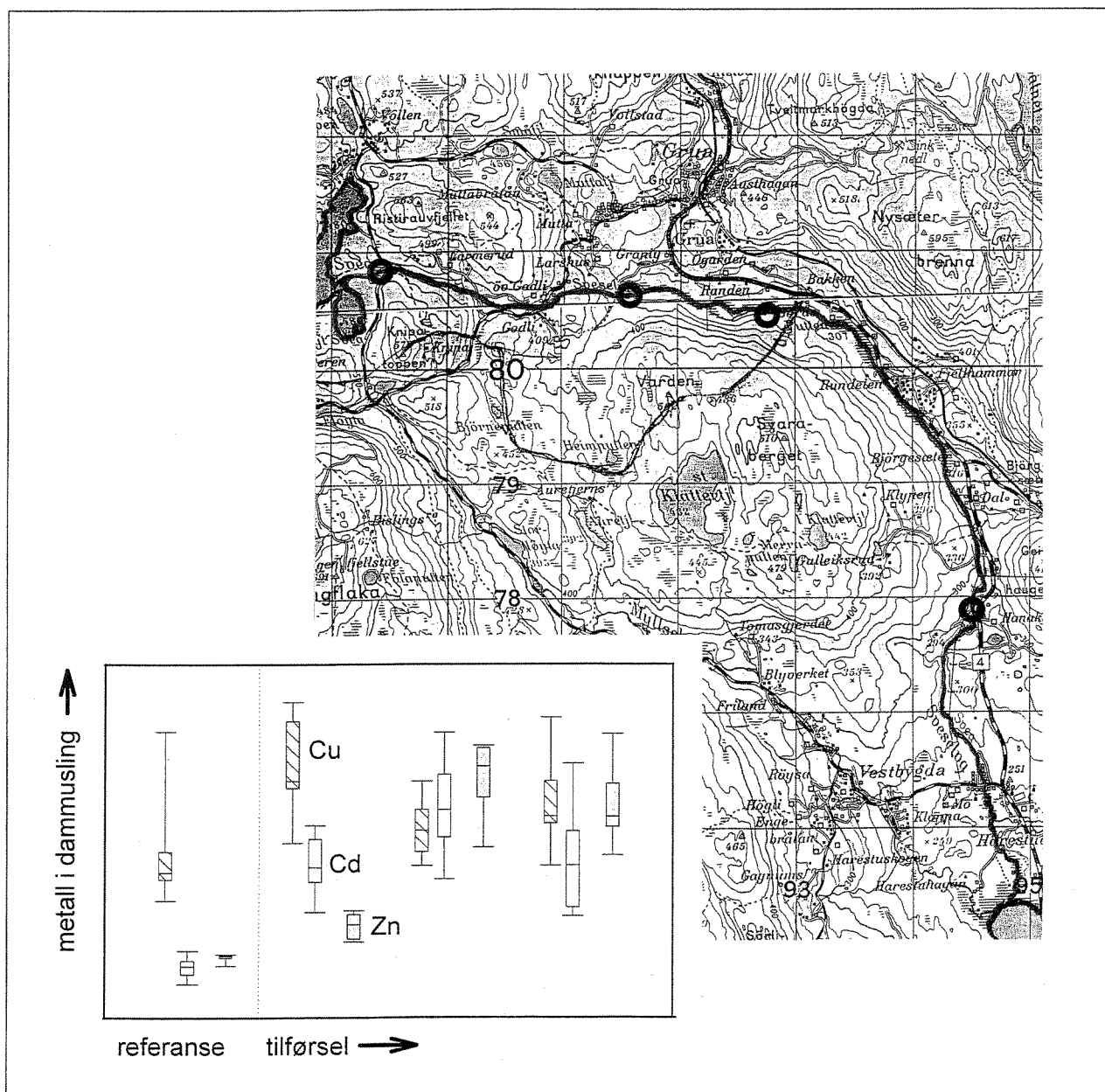


# Sink i ferskvann -

kjemi, tilførsler og biologiske effekter



## Hovedkontor

Postboks 173, Kjelsås  
0411 Oslo  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 22 18 52 00

## Sørlandsavdelingen

Televeien 1  
4890 Grimstad  
Telefon (47) 37 29 50 55  
Telefax (47) 37 04 45 13

## Østlandsavdelingen

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

## Vestlandsavdelingen

Nordnesboder 5  
5008 Bergen  
Telefon (47) 55 32 56 40  
Telefax (47) 55 32 88 33

## Akvaplan-NIVA A/S

Søndre Tollbugate 3  
9000 Tromsø  
Telefon (47) 77 68 52 80  
Telefax (47) 77 68 05 09

Tittel Sink i ferskvann – kjemi, tilførsler og biologiske effekter	Løpenr. (for bestilling) 3801-97	Dato 16. februar 1998
	Prosjektnr. Undernr. 97143	Sider Pris 70
Forfatter(e) Ketil Hylland Rolf Tore Arnesen Torgeir Bakke Åse Bakketun Torleif Bækken	Fagområde Ferskvann	Distribusjon
	Geografisk område	Trykket NIVA

Oppdragsgiver(e) Statens forurensningstilsyn (SFT)	Oppdragsreferanse Grethe Braastad
---	--------------------------------------

## Sammendrag

Det er laget en kunnskapsstatus for betydningen av sink i ferskvann med særlig vekt på tilførsler fra gruveavrenning. I tillegg ble det utført en undersøkelse av biologiske effekter i et vassdrag, Sveselva, med sink-belastning, men få andre metaller. Alle levende organismer har behov for sink, men det er begrensede kunnskaper om mekanismene bak giftigheten til metallet. Effekt-grenser for akvatiske organismer varierer fra 10 til over 1000 µg/l. Blant de mest følsomme organismene er enkelte alger, planktoniske krepsdyr og utviklingsstadier hos fisk. I Sveselva var det tilsynelatende effekter på vegetasjon (begroing) allerede ved 20-30 µg/l, men det er usikkert om dette var det reelle belastningsnivået. Både vegetasjon og bunndyr var klart påvirket på stasjoner med konsentrasjoner i området 250-670 µg/l. Kadmium og sink akkumulerte i gjellene til utplassert dammusling på alle stasjoner nedenfor tilførsleene og førte til noe forhøyde konsentrasjoner av metallotionein. Dammusling med høye metall-nivåer i gjellene filtrerte mindre alger og hadde høyere respirasjon enn dammusling med lavere metall-nivåer i gjellene. Resultatene viser at det er viktig å benytte flere mål for biologiske effekter i overvåking av effektene av metall-forurensning og å integrere kjemisk og biologisk overvåking.

Fire norske emneord 1. Zn 2. gruve 3. biologiske effekter 4. ferskvann	Fire engelske emneord 1. Zn 2. mining 3. biological effects 4. freshwater
--	---



Ketil Hylland  
Prosjektleder

ISBN 82-577-3377-6



Jens Skei  
Forskningssjef

O-97143

**Sink i ferskvann**

kjemi, tilførsler og biologiske effekter

## Forord

Dette prosjektet ble initiert etter diskusjoner mellom Grethe Braastad, SFT, og Rolf Tore Arnesen, Eigil Iversen og undertegnede på NIVA om kunnskapshull innen overvåkingen av effekter av avrenning fra gruver.

Denne rapporten er resultatet av et samarbeid mellom ulike forskningsmiljøer på NIVA. Harry Efraimsen utførte respirasjonsmålingene på marflo. Vev fra dammusling ble opparbeidet av Åse Kristine Rogne og Åse Bakketun. Metall-analysene i vev fra dammusling og marflo ble gjort av Arne Godal. Randi Gaarder og Jan Terje Arntzen målte metallotiene i gjeller fra dammusling. Dag Berge takkes for innsamling av dammusling og verdifulle innspill om eksperimentell bruk av dammusling. Han takkes også for å ha delt sin lokalkunnskap om gruvedriften ved Grua med oss og for å ha tatt vannprøvene.

Oslo, 16. februar 1998

*Ketil Hylland*

---

# Innhold

<b>Sammendrag</b>	<b>6</b>
<b>Summary</b>	<b>7</b>
<b>1. Innledning</b>	<b>8</b>
1.1 Bakgrunn	8
1.2 Mål med prosjektet	8
1.3 Gjennomføring av prosjektet	8
1.3.1 Teoretisk del	8
1.3.2 Eksperimentell del	9
<b>2. Kjemi, produksjon, tilførsler og kriterier</b>	<b>11</b>
2.1 Kjemi	11
2.2 Forekomst og produksjon	12
2.3 Bruk av sink	13
2.3.1 Internasjonalt	13
2.3.2 Nasjonalt	14
2.4 Sink i norsk miljø	16
2.5 Vannkvalitetskriterier	21
<b>3. Biologisk betydning</b>	<b>24</b>
3.1 Fysiologiske og biokjemiske roller til sink	24
3.2 Opptak, akkumulering, utskillelse	25
3.3 Hvordan påvirker sink akvatiske organismer?	26
3.4 Interaksjoner med andre metaller	27
3.5 Betydningen av andre faktorer for miljøeffektene av sink	28
<b>4. Effekter av sink fra gruveavrenning</b>	<b>29</b>
4.1 Områdebeskrivelse	29
4.2 Metoder	31
4.3 Vannkjemi i forsøksperioden	32
4.4 Bioakkumulering av kadmium, kobber og sink	33
4.5 Naturlig vegetasjon	35
4.5.1 Artsmangfold	35
4.5.2 Artssammensetning og mengdemessig forekomst	35
4.5.3 Begroing - enkeltarter	37
4.6 Naturlig bunndyrsamfunn	38
4.7 Toleranseutvikling (PICT)	41
4.8 Effekter på utplasserte organismer	43
4.8.1 Effekter på marflo, <i>Gammarus lacustris</i>	43
4.8.2 Effekter på dammusling, <i>Anodonta piscinalis</i>	44
<b>5. Diskusjon</b>	<b>49</b>
5.1 Effekter av sink på vegetasjon	49
5.2 Effekter av sink på bunndyr	50
5.3 Effekter av sink på fisk	52

5.4 Effekter av sink på plankton	52
5.5 Hva er den beste metoden til å identifisere biologiske effekter av sink?	52
<b>6. Konklusjoner</b>	<b>54</b>
<b>7. Referanser</b>	<b>56</b>
<b>Vedlegg A. Bestemmelse av "scope for growth"</b>	<b>64</b>
<b>Vedlegg B. Begroingsorganismer i Sveselva</b>	<b>66</b>
<b>Vedlegg C. Prosentvis forekomst av kiselalger i kiselalgeprøver</b>	<b>67</b>
<b>Vedlegg D. Konsentrasjoner av metaller og metallotionein i dammusling</b>	<b>68</b>

---

## Sammendrag

1. Det er laget en kunnskapsstatus for betydningen av sink i ferskvann med særlig vekt på tilførsler fra gruveavrenning. I tillegg ble det utført en undersøkelse av biologiske effekter i et vassdrag med sink-belastning, men få andre metaller (Sveselva, Grua, Hadeland).
2. I noen norske vassdrag er det tildels svært høye konsentrasjoner av sink, ofte sammen med andre metaller. Eventuelle biologiske effekter tilskrives ofte andre metaller, særlig kadmium og kobber, og det er i stor grad ukjent hva betydningen av de observerte konsentrasjonen av sink er.
3. Alle levende organismer har behov for sink. Sink inngår i 200-300 enzymer og har betydning for vekst, helse, ioneregulering, avgiftning, oksygentransport og nervesystemet.
4. Det mangler kunnskap om virkningsmekanismene for giftigheten av sink, men en av mekanismene bak giftigheten av sink ved langtidseksposering skyldes trolig forstyrrelse av metabolismen av kobber og i noen grad jern.
5. Forbehandling av fisk (og i noen grad evertebrater) med ikke-giftige nivåer av sink vil gi økt toleranse for senere akutte belastninger med sink, kobber og/eller kadmium.
6. Effekt-grenser for sink varierer fra 10 til over 1000  $\mu\text{g/l}$ . Blant de mest følsomme organismene er enkelte alger, planktoniske krepsdyr og utviklingsstadier hos fisk. Voksen fisk er generelt lite følsom.
7. I Sveselva var det tilsynelatende effekter på begroing (både naturlig og ny-etablert) allerede ved 20-30  $\mu\text{g/l}$ , men andre resultater tyder på at de målte konsentrasjonene i vann ikke ga et korrekt bilde av belastningen på denne stasjonen. Både vegetasjon og bunndyr var klart påvirket på stasjoner med konsentrasjoner i området 250-670  $\mu\text{g/l}$ .
8. Kadmium og sink akkumulerte i gjellene til utplassert dammusling på alle stasjoner nedenfor tilførselene. Det var også økt syntese av metallothionein i gjellene til dammusling på disse stasjonene, men økningen i metallothionein-konsentrasjon var liten. Dammsling med høye metall-nivåer i gjellene filtrerte mindre alger og hadde lavere respirasjon enn dammusling med lavere metall-nivåer i gjellene.
9. Resultatene viser at det er viktig å benytte flere mål for biologiske effekter i overvåking av effektene av metall-forurensning og å integrere kjemisk og biologisk overvåking.

## Summary

Status is presented for the current knowledge of the importance of Zn in freshwater with emphasis on inputs from mining activities. In addition, a study on the biological effects of Zn was done in a river with high levels of Zn, but low concentrations of other metals (Sveselva, Hadeland, Norway).

High concentrations of Zn have been observed in Norwegian rivers, commonly in association with increased concentrations of Cd and/or Cu. In the cases where biological effects have been observed, it has been thought that they are caused by the presence of metals other than Zn.

All living organisms need Zn. This essential metal is required for the proper function of 200-300 different enzymes and proteins, which are involved in processes related to growth, health, ion-regulation, detoxification, oxygen transport and the nervous system.

There is limited knowledge of the mechanisms for Zn toxicity, but it is thought that effects from chronic exposure could be due to disturbance of Cu and/or Fe homeostasis. Effects on aquatic organisms have been observed in the range 10-1000 µg/l.

Pre-treatment of fish (and to some extent invertebrates) with sublethal levels of Zn results in increased tolerance to acute exposure to Zn, Cu and/or Cd.

There appeared to be effects from Zn on epiphytic vegetation (natural and established) at concentrations of 20-30 µg/l, but other results indicate that the concentration measured in water was lower than that for which the organisms were exposed. Both epiphytes and macrobenthos were clearly affected at concentrations in the range of 250-670 µg/l.

Both Zn and Cd accumulated in the gills of the bivalve *Anodonta piscinalis*, relating to increased concentrations of the metal-binding protein metallothionein in those tissues. Bivalves with high metal levels filtered less algae and had lower respiratory rates than bivalves with lower levels.

The results indicate that it is important to use a set of methods to evaluate the biological effects of metal stress and that biological and chemical measures should be used in an integrated fashion.

Title: Zinc in freshwater – chemistry, sources and biological effects

Year: 1997

Authors: Ketil Hylland, Ketil Hylland, Rolf Tore Arnesen, Torgeir Bakke, Åse Bakketun, Torleif Bækken, Eigil Iversen, Eli-Anne Lindstrøm, August Tobiesen, Karl Jan Aanes

Source: Norwegian Institute for Water Research, ISBN No.: ISBN 82-577-3377-6



# 1. Innledning

## 1.1 Bakgrunn

Spormetallet sink (Zn) er påkrevd for alle levende organismer. Metallet inngår blant annet i enzymer som er involvert i celledeling og vekst, beskyttelse mot reaktive stoffer, respirasjon, ioneregulering og energiomsetning (Galdes og Vallee, 1988; Ralston og O'Halloran, 1990; Thiele, 1992). Som mange andre metaller vil imidlertid sink være giftig ved høye konsentrasjoner. I naturen forekommer sink ofte sammen med andre metaller, særlig kadmium (Cd) og/eller kobber (Cu). Eventuelle gifteffekter tilskrives da som oftest de andre metallene og ikke sink. Sink er til og med blitt tilskrevet en beskyttende effekt ved tilstedeværelse sammen med andre metaller. Belastning med lave nivåer av sink, kadmium og kobber vil blant annet kunne føre til at fisk får høyere toleranse for plutselige pulser med høyere konsentrasjoner av et eller flere av disse metallene. Det er imidlertid flere vassdrag i Norge med høye konsentrasjoner av sink (Arnesen og Iversen, 1995) og det kan ikke utelukkes at sink-konsentrasjonene som er funnet kan føre til negative effekter på fauna eller flora. Dette har foreløpig vært lite undersøkt, kanskje særlig fordi det har vært vanskelig å isolere effekter av sink fra effekter forårsaket av andre metaller. I en tidligere oppsummering av biologiske effekter av gruveforurensning var en av sluttkonklusjonene at sink ikke hadde store negative effekter i norske vassdrag (Grande, 1991).

Det eksisterer et bredt dataunderlag til vurdering av konsentrasjoner som vil gi akutt eller kronisk giftighet av sink. Slike data er imidlertid ikke tilstrekkelige til å kunne gi en tilfredsstillende vurdering av risikoen knyttet til sink i norske ferskvann. Det er i tillegg behov for kunnskap om effekter på norske arter i ulike stadier, ved pulsvis belastning, om toleranseutvikling og ikke minst om interaksjoner med andre kjemiske stoffer i vannet, deriblant andre metaller.

## 1.2 Mål med prosjektet

Det overordnede målet med prosjektet er å klargjøre i hvor stor grad nivåene av sink som forekommer i norske vassdrag har negative effekter på akvatiske organismer. Dette hovedmålet ble inndelt i følgende delmål:

1. gi en oversikt over kjemiske og fysiske egenskaper til sink i ferskvann
2. gi en oversikt over tilførsler av sink til ferskvann i Norge med særlig vekt på gruver
3. gi en oversikt over den biologiske betydningen av sink med hovedvekt på ferskvannsorganismer
4. sammenligne ulike organismegrupper og metoder til overvåking av eventuelle biologiske effekter av sink
5. med utgangspunkt i punkt 3 og 4, angi et konsentrasjonsområde der sink kan ha biologiske effekter.

## 1.3 Gjennomføring av prosjektet

Prosjektet ble gjennomført med en teoretisk del og en eksperimentell del.

### 1.3.1 Teoretisk del

Den teoretiske delen hadde som mål å gi en kunnskapsstatus for

- tilførsler og kilder til sink for norske vassdrag
- vannkjemien til sink
- vannkvalitetskriterier for sink i ferskvann
- betydningen av sink som et essensielt spormetall

- mekanismer for eventuelle gifteffekter av sink og interaksjoner mellom sink og andre metaller
- konsentrasjoner av sink der biologiske effekter kan inntreffe
- betydningen av andre faktorer for eventuelle gifteffekter av sink
- resultater av tidligere undersøkelser om effektene av sink i ferskvannsmiljø

### 1.3.2 Eksperimentell del

Den eksperimentelle delen hadde som mål å sammenligne ulike biologiske effekter i et vassdrag med høye sink-konsentrasjoner, men lave nivåer av andre metaller. Dette skulle oppnås ved undersøkelser av naturlige samfunn (begroing og bunndyr) og studier av organismer som ble transplantert (dammusling og marflo) eller fikk etablere seg (alger) på de aktuelle stasjonene. Vassdraget som ble valgt var Sveselva ved Grua, Hadeland. Denne elva har tildels høye konsentrasjoner av sink (opp til 600-700 µg/l), men lave konsentrasjoner av andre metaller (Arnesen, 1996). Som nevnt ovenfor, vil alltid kadmium følge sink i noen grad, og konsentrasjonene av kadmium i Sveselva har vært opp til 1.4 µg/l.

#### *Naturlige samfunn*

Begroing er en praktisk betegnelse på en enhet som omfatter organismer innen gruppene alger, bakterier, sopp og mikroskopiske dyr, som sitter fast på eller lever tilknyttet ulike typer substrat i vannet. Fordi vannmosene vokser direkte på et fast underlag, og ikke er festet med røtter i et sediment slik som frøplantene, inngår de vanligvis også under betegnelsen begroing. Ved å være festet til underlaget samtidig som de er avhengige av å ta til seg næringen sin fra det vannet som til enhver tid omgir dem, vil dette samfunnet være et direkte resultat av vannkvaliteten. Ettersom generasjonstiden i begroingssamfunnet varierer fra flere år, f.eks. brunalgen *Heribaudiella*, til et par dager, f.eks. encellede flagellater, kan som oftest effekter av både kort- og langvarig påvirkning registreres. Man får med andre ord et integrert bilde av det som har skjedd i vassdraget i tiden før prøvetakingen. Ved observasjonene i Sveselva var det i alt vesentlig det *fastsittende algesamfunnet* som ble vurdert.

Bunndyr er en stor gruppe organismer som omfatter arter med svært forskjellige egenskaper. Det finnes ekstreme rentvannsarter og det er arter som er meget tolerante overfor forurensninger. Dette er en nødvendig forutsetning for å kunne bruke dem i overvåking og klassifisering av forurensette resipienter. Bunndyrsamfunnene er viktige for omsetningen av organisk materiale i vassdraget og derved for vassdragets selvrensningsevne. Bunndyrene har også en viktig funksjon som næring for fisken i vassdraget.

Sammensetningen av et dyresamfunn på elvebunnen er bestemt av et mangfold av miljøparametre. De mange populasjonene i et samfunn har ulike tålegrenser og preferanseområder. Når en eller flere av miljøparametrene endres, vil også bunndyrsamfunnet endres. Ved å analysere bunndyrsamfunnets sammensetning vil det derfor være mulig å få fram informasjon om påvirkningstype samt miljøpåvirkningens utstrekning og størrelse i resipienten (Aanes og Bækken 1989). Bunndyrene gir gjennom sitt livsløp et integrert bilde av forholdene i vassdraget over lengre tid (flere måneder).

#### *Transplanterte organismer og begroing på utplassert substrat*

Det ble utplassert bur med dammusling (*Anodonta piscinalis*) og marflo (*Gammarus lacustris*) på fire steder i Sveselva. På hver av de fire stedene ble det også utplassert substrat for alger. Det er både fordeler og ulemper ved utplassering av organismer framfor undersøkelser av organismer som naturlig finnes i et område. Fordelene er at alle organismene har likt utgangspunkt og at det er mulig å oppnå en kontrollert belastning. Ulempene er at belastningsperioden nødvendigvis må bli relativt kort og at en ikke har mulighet til å identifisere en eventuell tilpasning hos den aktuelle arten til de lokale forholdene.

Dammusling og marflo ble utsatt på fire stasjoner i vassdraget i 3 uker og skulle benyttes til målinger av biotilgjengelighet og effekter av metallene i vannet. For å kunne vurdere tilgjengeligheten av metall

i vannet ble det tatt prøver til metall-analyse. For videre å kunne vurdere den biologiske aktiviteten til det akkumulerte metallet ble konsentrasjonene av metallotionein i vevet bestemt. I denne sammenhengen vil metallotionein være et mål for intracellulær tilgjengelighet av metallene kadmium, kobber og/eller sink. For å videre kunne få et mål for eventuelle effekter på populasjoner av dammusling i områder med slik metall-belastning ble det målt de ulike parametrene som utgjør vekstpotensialet ("scope for growth") for enkeltindivider.

Vekst er et integrert resultat av flere viktige fysiologiske prosesser i en organisme, og redusert vekst derfor et sentralt mål for stress. Spesielt indikerer vekst balansen mellom prosesser for energioptak (fødeopptak og assimilasjon) og energibruk (forbrenning og ekskresjon). Disse funksjonene kan uttrykkes i form av energiflukt pr tidsenhet (f.eks.  $J h^{-1}$ ). Derved kan man på basis av målingene kalkulere den energiflukt skjellene teoretisk vil ha tilgjengelig for vekst og reproduksjon. Denne energiflukt eller mål for energistatus er betegnet scope-for-growth, SFG, som forenklet kan oversettes til vekstpotensiale. SFG blir i utgangspunktet uttrykt ved formelen:

$$SFG = I * A - (R+E)$$

der I = næringsopptak  
A = % av næringen som blir assimilert (assimilasjonseffektivitet)  
R = energitap gjennom forbrenning (respirasjon)  
E = energitap gjennom (nitrogen-)ekskresjon

SFG vil variere fra klart positiv under optimale livsbetingelser til klart negativ når dyret lever under stressforhold der kroppsreservene forbrukes.

Det er etter hvert opparbeidet en betydelig erfaring og rutine i måling av SFG i blåskjell (*Mytilus edulis*) under tilnærmet naturlige betingelser, og SFG-målinger på blåskjell gjøres i dag i flere overvåkingsprogrammer (Widdows & Donkin 1992, Widdows et al 1995).

I tillegg til utsetting av organismer ble det satt ut substrat til etablering av begroing. Som følge av seleksjon og adaptasjon vil trolig begroingsamfunn i sinkbelastede vassdrag ha utviklet en høyere toleranse for sink enn samfunn som ikke er utsatt for sinkbelastning. Dette fenomen som benevnes PICT ("Pollution-Induced Community Tolerance") er påvist blant annet for arsen og TBT (Blanck & Wängberg 1988, Blanck & Dahl 1996). Undersøkelse av sinktoleransen hos samfunn i de undersøkte vassdragene vil vise om sinkbelastningen har ført til begroingssamfunnene er adaptert til sink.

## 2. Kjemi, produksjon, tilførsler og kriterier

### 2.1 Kjemi

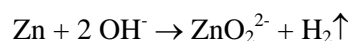
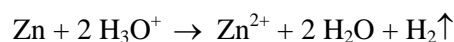
Sink er et metall i sidegruppe II i det periodiske system sammen med elementene kadmium og kvikksølv. Disse metallene har to elektroner i det ytre skall, og opptrer derfor med valenstallet + 2 i forbindelser. Kvikksølv kan også ha valenstall + 1. I tabell 1 finnes noen hovedtall for de fysiske egenskaper for metallisk sink.

Tabell 1. Noen egenskaper for metallet sink.

Navn	Kjemisk tegn	Atomnr.	Atommasse	Tetthet	Smeltepunkt	Kokepunkt
Sink	Zn	30	63.37	7.14	419.4	907

Sink (Zn) er grunnstoff nr. 30 i det periodiske system og tilhører derved innskuddsgrunnstoffene. Det finnes i samme sidegruppe som elementene nr. 48 kadmium (Cd) og nr. 80 kvikksølv (Hg). Til venstre for sink i det periodiske system finner vi element nr. 29 kopper (Cu). Fordi det ofte er en viss likhet mellom naboelementer i det periodiske system, er sinks plassering viktig for dets egenskaper. Disse forhold fører bl.a. til at sink, kadmium og kopper ofte forekommer sammen i naturen, både i berggrunn og i vassdrag. Selv om naboskap i det periodiske system som nevnt kan gi likhetstrekk i elementenes egenskaper, kan de i mange sammenhenger - f.eks. biologisk - være svært forskjellige.

Metallet sink er en forholdsvis god leder for varme og elektrisk strøm. I fuktig luft overtrekkes det med et tynt lag av sink- oksid eller karbonat som beskytter mot videre korrosjon. Både sink og sinkhydroksid løses i syrer og sterke alkalier. Slike metaller som løses både i surt og basisk miljø kaller vi amfotære.



På grunn av sine kjemiske og fysiske egenskaper brukes store mengder sink til korrosjonsbeskyttelse og til produksjon av batterier. Metallet legerer lett med andre metaller, og brukes bl.a. sammen med kopper i legeringer som messing, nysølv og bronse.

I tabell 2 finnes en oversikt over egenskapene for en del uorganiske sinkforbindelser. De aller fleste salter er lett løselige i vann. De mest tungtløselige forbindelsene er sinkoksid (ZnO), sinksulfid (ZnS) og sinkkarbonat (ZnCO<sub>3</sub>), men også disse løses lett i fortynnet syre.

Tabell 2. Egenskaper for en del uorganiske sinkforbindelser.

Formel	Navn	Tetthet g/cm <sup>3</sup>	Smeltepunkt ° C	Oppl. i vann g/l ved 20 ° C
ZnO	Sinkoksid	5.70	Subl. 1800	Uoppl.
Zn(OH) <sub>2</sub>	Sinkhydroksid	3.08		1.5 · 10 <sup>-3</sup>
ZnS	Sinksulfid	4.06	Subl. 1182	10 <sup>-2</sup> - 10 <sup>-3</sup>
ZnCl <sub>2</sub>	Sinkklorid	2.92	365	786
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	Sinksulfat-hydrat	1.96		350
ZnCO <sub>3</sub>	Sinkkarbonat	4.35	140 → CO <sub>2</sub>	Tungt oppl.

På grunn av den store likhet mellom kadmium og sink, forekommer disse to grunnstoffene ofte sammen, selv om kadmium alt i alt finnes i betydelig lavere konsentrasjoner i de fleste sammenhenger.

Ved normale temperaturer er sink ikke flyktig, men på grunn av sitt lave kokepunkt vil metallet både under produksjon ved reduksjon av malm i smelteovn og ved forbrenning av sinkholdige materialer sink fordampe og følge røykgassen, dersom det ikke gjøres spesielle tiltak.

Plasseringen av sink i spenningsrekken, ( $e_0 = -0.76$  V) medfører at metallet oksideres lett f.eks. i vandig miljø. Under gitte forhold kan metallet løse seg i vann ved hydrogenutvikling. Denne egenskapen har ført til at metallet bl.a. brukes i tørrbatterier og som offeranode ved elektrolytisk korrosjonsbeskyttelse. Også i andre sammenhenger, f.eks. i analytisk kjemi og industrielt kan sink benyttes som reduksjonsmiddel.

## 2.2 Forekomst og produksjon

I naturen forekommer sink kun i bundet form, dvs. det finnes ikke som metall. De viktigste sinkmineralene for produksjon av metallet er sinkblende (sphaleritt) (ZnS), men det finnes også forekomster av sinkspatt (galmeia) (ZnCO<sub>3</sub>) og sinkholdige silikater f.eks. Zn<sub>2</sub>SiO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O. Her i landet er sinkblende viktigst. Den forekommer i stor utstrekning i de fleste sulfidmalmer både i eksisterende og nedlagte gruver. Et unntak er nikkलगruvene der tungmetallene i avrenningen først og fremst utgjøres av nikkell og kopper.

Produksjon av sinkmalm foregår i en rekke land. Raffinering av sinkkonsentrater til metall kan foregå både tørt og vått. Ved tørr produksjon smeltes oksidet med kull slik at metallet reduseres ut. Ved våt produksjon elektrolyseres metallet fra en vandig sinksulfatløsning. Ved Norzinks anlegg i Odda foregår en betydelig sinkproduksjon fra vandig løsning.

I naturen finnes sink vanligvis med oksidasjonstallet +2. Metallet løser seg i surt miljø og danner hydratiserte Zn<sup>2+</sup> ioner. I sterke baser dannes som nevnt sinkkationer, men slike ioner forekommer neppe under naturlige betingelser. Enkelte tungtløselige sinkforbindelser kan løses i ammoniakk hvor det dannes positivt ladede sinkaminkomplekser ([Zn(NH<sub>4</sub>)<sub>4</sub>](OH)<sub>2</sub>).

I nærvær av organiske forbindelser, danner sinkioner komplekser med aminosyrer, peptider, proteiner og nukleotider. Det er spesielt thiol- og hydroksylgrupper og nitrogenligander som danner slike komplekser med sink og danner bakgrunnen for metallens viktige rolle for mange livsprosser.

Etter forekomst i jordskorpen er sink element nr. 24 i rekken, med en midlere konsentrasjon på 70 mg/kg. Sink forekommer ofte i malmer sammen med andre metaller, i første rekke bly, kopper, sølv og kadmium. Det metallet som er nærmest sammenknyttet med sink i naturen er som tidligere nevnt kadmium. Prosentvis innhold av kadmium i sinkkonsentrat etter oppredning spenner fra 0.07 til 0.83

%, med et gjennomsnitt på 0.23 %.. Den gjennomsnittlige konsentrasjonen av sink i konsentratet er 55 %, slik at det produseres ca. 3 kg kadmium for hvert tonn sink som raffineres (OECD 1995).

## **2.3 Bruk av sink**

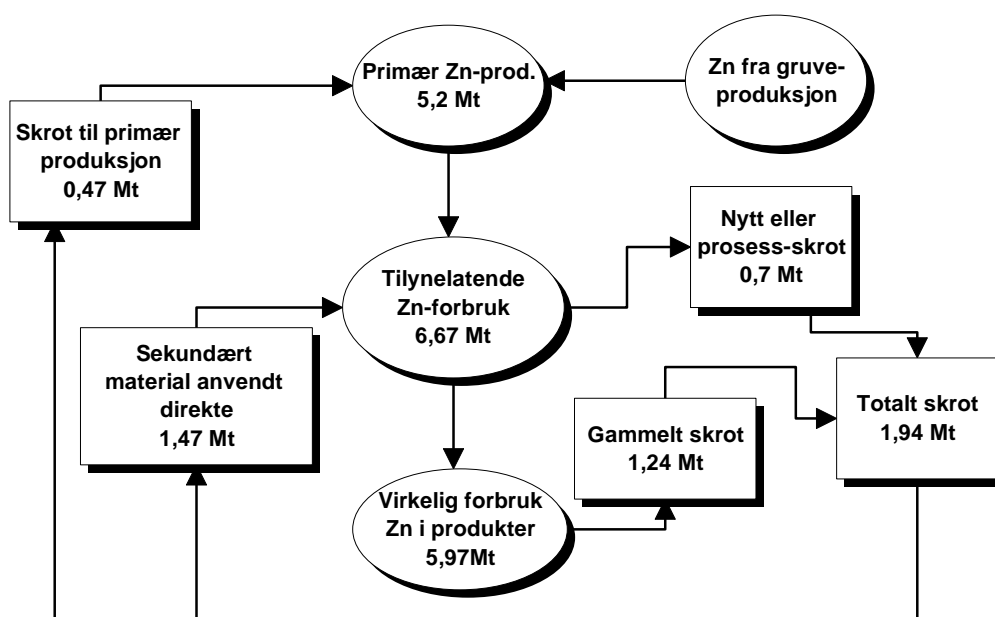
### **2.3.1 Internasjonalt**

Sink og forbindelser av sink benyttes i en rekke sammenhenger. Metallisk sink benyttes primært som korrosjonsbeskyttelse for ståldeler og stålkonstruksjoner, men benyttes også som legeringsmetall ved framstilling av messing og andre sinklegeringer. Disse legeringene brukes ved presstøping av en rekke konstruksjonsdetaljer. Sinkoksid brukes hovedsakelig i gummiproduksjon og som råvare ved produksjon av visse medisiner som benyttes i landbruket. Sinkklorid anvendes som trebeskyttelsesmiddel, som hjelpemiddel ved lodding, for fylling av tørrbatterier og til galvaniseringsbad. Sinkfosfat benyttes som korrosjonshemmende pigment og inngår i tannsement og andre dentalprodukter, mens metallisk sinkpulver anvendes som pigment i malingindustrien.

Sinkkjemikalier har således et bredt anvendelsesområde, og uten at den skal være fullstendig, gir følgende liste en oversikt over en del slike områder: Overflatebehandlings kjemikalier, kjemiske reagenser og katalysatorer, flotasjonsagenser, garvingsmidler, oljetilsetning, flammesikringsmiddel., hjelpemiddel ved gummiproduksjon (aktivator, akselerator og vulkaniseringsmiddel), fargepigment, tørkemiddel (i farger), insekts- og soppbekjempningsmiddel, trebeskyttelsesmiddel, dyrefórtilsetning, matvaretilsetning, legemiddel, salver etc.

I 1946 (Mineral Yearbook 1946) (Flood, Kjemi 1951) ble råstoffreservene for sink i verden anslått til 25 mill tonn, mens forbruket på denne tiden var ca. 1.7 mill tonn. I en utredning som ble publisert i 1993 (Levasseur) ble de nåværende utnyttbare sinkreservene anslått til 300 mill tonn, og med en antatt brytningstakt på ca. 5 mill. tonn pr. år og et tap på 30 %, skulle disse reservene vare i 40 år. En rekke forskjellige slike beregninger har gitt vesensforskjellige resultater som i stor grad skyldes premissene for beregningen. En avgjørende faktor er sinkprisen, som igjen avhenger av etterspørslen.

Forbruket av sink i verden kan deles i to, det primære og det sekundære. Det primære er den andel av forbruket som tas fra naturlige forekomster, mens den sekundære utgjør gjenbruket, d.v.s. andelen som gjenvinnes av skrot. I figur 1 er det gitt en oversikt over hvordan det globale forbruket av sink ble antatt å foregå i 1990 (van Assche 1996). Det reelle forbruket av sink var etter dette knapt 6 mil. tonn pr. år.



Figur 1. Materialstrøm for sink i verden, 1990 (van Assche 1996).

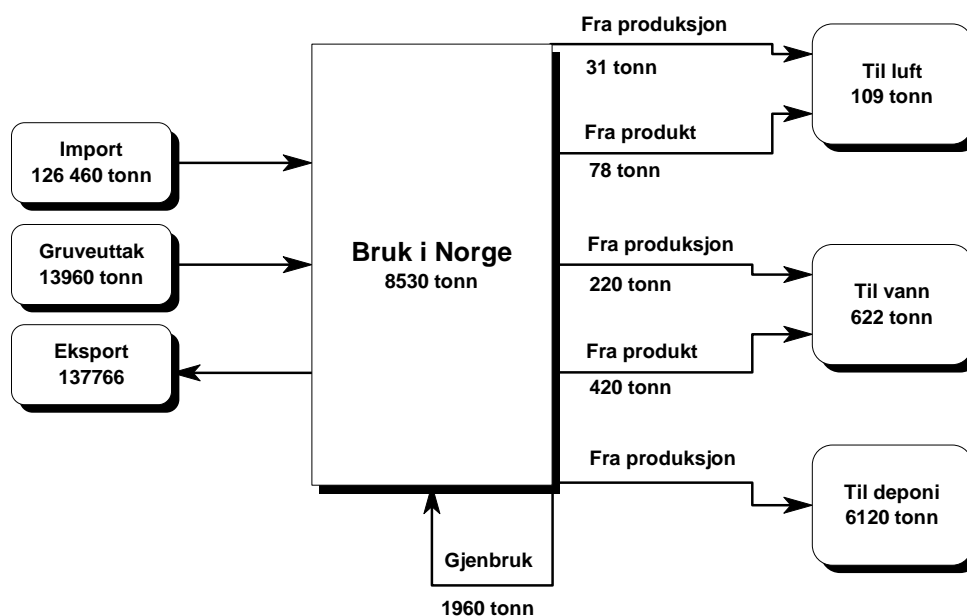
I vårt naboland Sverige har produksjonen av sink i 1980- og 90- årene ligget omkring 200 000 tonn sink pr. år, men det produseres ikke lengre metallisk sink i Sverige fra konsentrater og andre primær-råstoff. For opparbeiding eksporteres slike konsentrater til Finland og Norge.

### 2.3.2 Nasjonalt

I regi av SFT er det utarbeidet en materialstrømsanalyse av sink (Mosland og Christiansen 1993). En del sammenfattende konklusjoner er referert her, for øvrig henvises til denne rapporten for detaljer om bruk av sink i Norge.

Med utgangspunkt i endringen av utslipp til vann fra 1985 til 1991, konkluderer rapporten med at utslipp til vann er redusert med 77 % i denne perioden. Denne reduksjonen er i stor grad knyttet til at Norzink i 1986 begynte innlagring av jarositt i fjellhaller framfor å slippe det ut til vann. Utslippet til luft har derimot økt med 14 %. Dette siste skyldes først og fremst at utslippene fra bruk av bildekk har øket med 14 %. De største utslippene til vann kommer fra offeranoder for korrosjonsbeskyttelse og gruver. De største utslippene til luft skyldes bruk av bildekk og produksjon av legeringer. Tabell 3 viser bruk og eksport av sink innen en del bruksområder i Norge. Materialstrøm for sink i Norge i 1991 er vist i figur 2.

Det er i dag to gruver som produserer sink primært fra malm (Norsulfid AS avd. Grong Gruber og AS Bleikvassli Gruber). Gjennom tidene har det vært en lang rekke gruver som har hatt en slik produksjon, og som en følge av dette er det til dels betydelig avrenning av sink fra enkelte gamle gruveområder her i landet.



Figur 2. Materialstrøm for sink i Norge 1991. (Mosland og Christiansen 1993).

Tabell 3. Bruk og eksport av sinkholdige produkter i Norge.

Bruksområde	Bruk tonn/år	Eksport tonn/år
Offeranoder	370	640
Varmforsinking	4400	300
Elektrolytisk forsinking	210	830
Sprøytemetallisering	50	-
Legeringer	810	4650
Ferdige produkter	190	20
Maling	1100	9100
Plast og gummi	970	550
Smøreolje	70	-
Kjemikalier	22	6
Medisin	3	30
Kjemisk overflatebehandling	7	-
Batterier	310	-
Metallproduserende industri	10	40
Gruver	-	4300
Sinkprodusent	-	117300
Annen bruk	3	-
<b>Totalt</b>	<b>8530</b>	<b>137766</b>

- ikke data

I materialstrømanalysen (Mosland og Christiansen 1993) finnes følgende vurdering av sink:

"Innen flere områder blir sink benyttet som erstatning for mer miljøskadelige tungmetaller som f.eks. bly og kadmium. Disse områdene er bl.a. innen overflatebehandling og i PVC-



plast. Sett på bakgrunn av dette må det vurderes nøye hvilke områder man eventuelt skal gå inn å regulere sinkbruken i."

## 2.4 Sink i norsk miljø

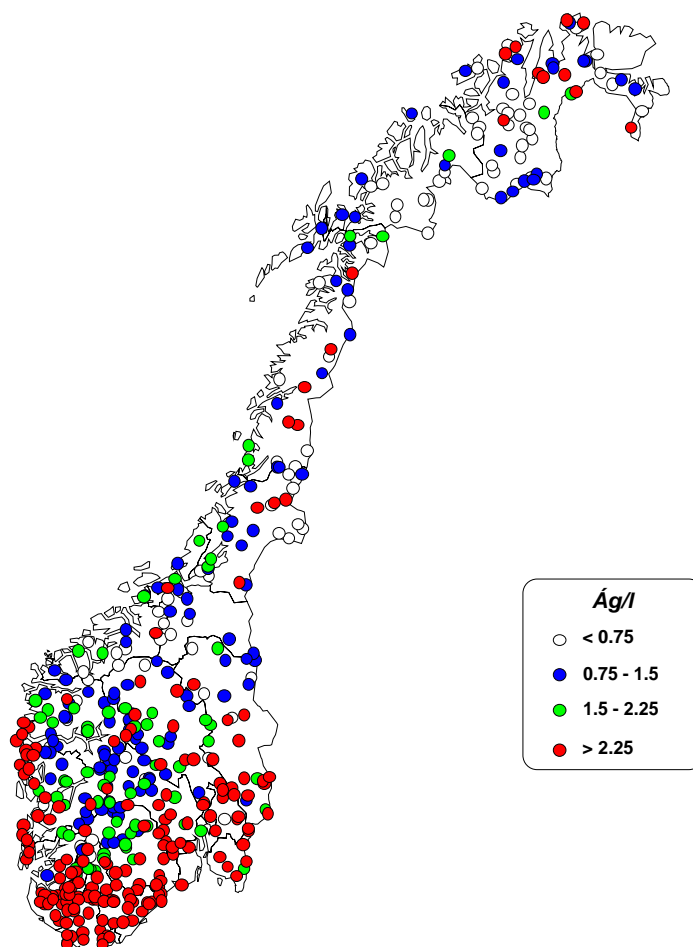
Mengden av sink i bergarter og jordsmonn her i landet vil variere sterkt. I jord er gjennomsnittlig konsentrasjon anslått til over 200 mg/kg. Lokalt er det imidlertid målt betydelig høyere verdier her i landet.

I vann er normalt konsentrasjonene av sink lave, ofte mindre enn 1 µg/l. Sink er et meget vanlig forekommende metall, og det har vært vanskelig å måle bakgrunnskonsentrasjoner, fordi nesten alle miljøer kan være litt forurenset med sink. Først fra de senere år foreligger det en del data som angir noenlunde pålitelige bakgrunnskonsentrasjoner for en del norske vassdrag.

Høsten 1995 gjennomførte NIVA en regional undersøkelse som en del av SFTs program for overvåking av langtransportert luft og nedbør. I 473 statistisk utvalgte innsjøer er det analysert på en rekke sporelementer, bl.a. sink. Arbeidet er rapportert i en NIVA-rapport (Skjelkvåle *et al.* 1996), og kartet i figur 3 viser fordelingen av konsentrasjonsnivåer for sink over landet. I tabell 4 er fordelingen beskrevet med noen enkle statistiske parametre.

## REGIONAL INNSJØUNDERSØKELSE h°sten 1995

ICP-MS ANALYSE : Zn



Figur 3. Konsentrasjonsnivåer for sink i en del norske innsjøer (Skjelkvåle *et al.* 1996).

Tabell 4. Konsentrasjonen av sink i 473 statistisk utvalgte norske vannforekomster (µg/l). (Skjelkvåle *et al.* 1996.).

Minimum	Nedre kvartil	Median	Øvre kvartil	Maksimum
< 0.3	0.88	1.7	4.035	139

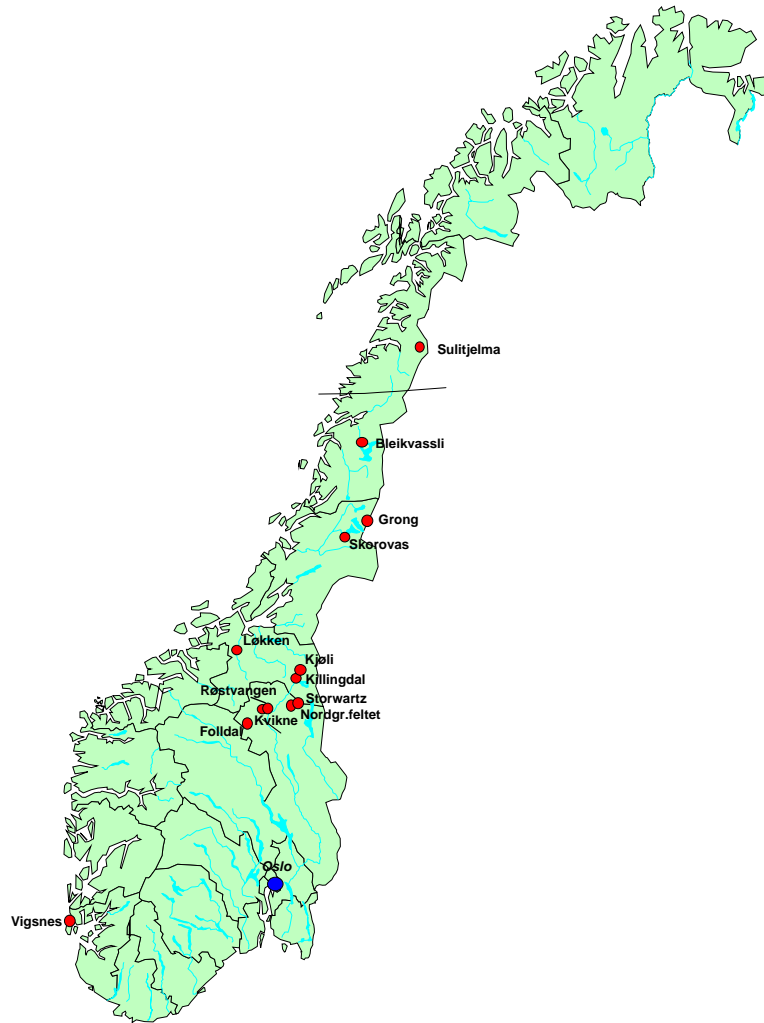
Tabell 5. Utslipp av sink fra ulike kilder til luft, vann og deponier fra norsk virksomhet i 1991 (England og Kjus 1993).

Bruksområde	Total sinkbelastning (tonn/år)		
	Luft	Vann	Deponi
Gruver	i.d.	180	2600
Sinkprodusenter	3	10	3300
Pigmentproduksjon	2	1	i.d.
Metallproduksjon	11	10	200
Offeranoder	i.d.	420	i.d.
Varmforsinking	i.d.	0.2	10
El. forsinking	i.d.	0.4	4
Legeringer	15	i.d.	3
Maling	i.d.	i.d.	0.6
Bildekk	75	i.d.	i.d.
Medisin	i.d.	0.6	i.d.
Avfallsforbrenning	3		

i.d. - ikke data.

Av tabell 5 fremgår det at en av de viktigste kilder til høye sinkkonsentrasjoner i norske vassdrag er eksisterende og nedlagte sulfidmalmgruver. Disse utslippene fortsetter i lang tid etter at selve gruvedriften er nedlagt. Det meget store antall slike gruver som har vært i drift i løpet av de siste vel 300 år, har ført til at mange vassdrag i dag har overkonsentrasjoner av sink. I en NIVA-rapport (Arnesen og Iversen 1995) er de største utslippene av tungmetaller fra slike kilder beskrevet. I tabell 6 er transport av sink fra en del gruveområder presentert i form av tidsveiet årsmiddel fra 1985 og 1993. Den nevnte rapporten er under revisjon, og en ny utgave vil foreligge tidlig i 1998.

Oversikter som den vist i tabell 6 har ofte stor usikkerhet og det må ikke legges for stor vekt på enkelttall. Dette kan best illustreres ved at utslippstallene for sink til vassdrag fra norske gruver i 1995 (Arnesen og Iversen) ble beregnet til ca. 263 tonn pr. år for 1985 og til 186 tonn i 1993. En del av denne forskjellen ble tilskrevet miljøtiltak ved gruvene, men en betydelig del av forskjellen ble også antatt å skyldes meteorologiske forhold. De viktigste gruveutslippene av sink er i det følgende illustrert ved et kart over beliggenhet (figur 4) og estimerte utslipp av sink fra de enkelte bergverk (tabell 6).

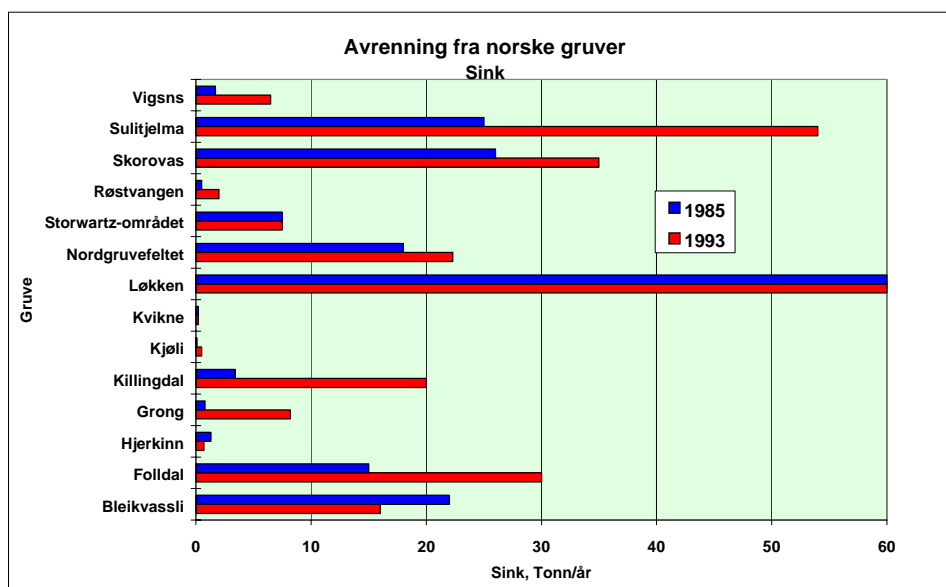


Figur 4. Gruveområder med høy avrenning av tungmetaller til norske vassdrag.

Tabell 6. Transport av sink fra norske bergverk i 1985 og 1993. Gruver som fortsatt er i drift (1997) er uthevet i teksten. Alle data er i tonn/år.

Gruveområde	Sink 1985	Sink 1993
<b>Bleikvassli Gruber</b>	<b>16</b>	<b>22</b>
Folldal Verk, Folldal	30	15
Folldal Verk, Hjerkin	0.7	1.3
<b>Grong Gruber</b>	<b>8.3</b>	<b>0.8</b>
Killingdal Gruber	20	3.4
Kjøli Gruber	0.5	0.1
Kvikne Kobberverk	0.2	0.2
Løkken Gruber	60	64
Røros Kobberverk, Nordgruvefeltet	7.5	7.5
Røros Kobberverk, Storwartz	2	0.5
Røstvangen Gruber	35	26
Skorovas Gruber	54	25
Sulitjelma Bergverk	6.5	1.7
Total	263	186

De samme tallene er illustrert grafisk i figur 5.



Figur 5. Transport av sink fra norske bergverk i 1985 og 1993.

Den til dels store avrenningen fra enkelte gruveområder har ført og fører til høye konsentrasjoner i resipienten. I tabell 7 er dette illustrert med noen eksempler. Det er store variasjoner, noe som dels skyldes avrenningens størrelse, men også resipientens størrelse i forhold til belastningen. Tabellen viser at det i enkelte vassdrag finnes ekstremt høye sinkkonsentrasjoner. Effekten av dette er ikke alltid enkelt å vurdere. Ofte finnes sink sammen med andre metaller i slike gruvevassdrag.

Tabell 7. Konsentrasjon av sink i resipienten for en del gruveområder.

Gruve	Vassdrag	Sink µg/l
Bleikvassli Gruber	Bleikvatn	1381
Folldal Verk, Folldal	Folla	70.1
Folldal Verk, Hjerkin	Folla	22.7
Grong Gruber	Huddingselva	3
Hadeland Bergverk, Grua	Sveselva	291
Killingdal Gruber	Gruvebekken	55000
Kjøli Gruber	Storbekken	560
Kvikne Kobberverk	Gruvbekken	260
Løkken Gruber	Raubekken	2900
Røros Kobberverk, Nordgruvefeltet	Orva	580
Røros Kobberverk, Storwartz	Hitterelva (1994)	123
Røstvangen Gruber	Kuvlbekken	15000
Skorovas Gruber	Skorovasselva	562
Sulitjelma Bergverk	Langvatnet	26

En rekke andre gruveområder gir også avrenning som lokalt gir betydelig høyere sinkkonsentrasjoner enn dem som er listet i tabell 7. Vassdragene som dette gjelder er som regel mindre bekker og små elver som kun har lokal betydning. En nasjonal kartlegging av dette for sink og andre metaller er nyttig, bl.a. for planleggingsformål, og for vurdering av fremtidige tiltak. NIVA har på oppdrag fra SFT og Bergvesenet gjennom flere år arbeidet med å registrere nedlagte gruver over hele landet, og har til nå besøkt mellom 100 og 200 slike steder.

## 2.5 Vannkvalitetskriterier

I en rapport fra Statens naturvårdsverk (SNV) i Sverige (Lindeström, Nordén och Tyler 1988) finnes følgende avsnitt i sammendraget:

“Trots höga sinkhalter har man i fält knappast funnit något fall där man med säkerhet har kunnat visa at effekter i miljön orsakats av sink, enbart eller som huvudkomponent”.

Den samme rapporten henviser til eksperimentelle resultater som tyder på at sink gir effekter på enkelte vannlevende organismer i konsentrasjoner ned til 10 µg/l. Disse eksperimentelle resultatene er i mange tilfeller lagt til grunn for vurdering av “miljøfarligheten” av sink.

På bakgrunn av meget varierende beskrivelser av sink som miljøtrussel, er det interessant å se hvordan dette har gitt seg utslag i kriterier for miljøkvalitet og bruk av vann. I SFTs Veiledning: “Klassifisering av miljøkvalitet i ferskvann” (Holtan 1989) finnes klassifisering av vannkvalitet og egnethet for ulike formål. I tabell 8 er de fem forskjellige kvalitetsklassene vist. Det er imidlertid ofte slik at kravene til egnethet er svært strenge i forhold til den aktuelle anvendelsen og til de krav som gjelder f.eks. drikkevann. Dette fører bl.a. til at vann med sinkkonsentrasjoner i området 60 - 110 µg Zn/l klassifiseres som “Mindre egnet” for friluftsbad og rekreasjon. For et slikt formål har antakelig konsentrasjonen av sink mindre betydning dersom andre krav til kvalitet er oppfylt.

Tabell 8. Tilstandsklasser for sink i ferskvann etter Holtan (1989).

I	II	III	IV	V
God	Mindre god	Nokså dårlig	Dårlig	Meget dårlig
< 10	10 - 30	30 - 60	60 - 110	> 110

I Sverige har man tilsvarende kvalitetsklassifisering av vann for ulike formål (SNV 1990). De generelle klassene for slik kvalitetsbedømmelse for sink er gjengitt i tabell 9. Det fremgår av tabellen at disse kravene er noe strengere enn de norske, men ellers er den svenske veiledningen svært lik den norske.

Tabell 9. Svensk system for tilstandsklasser for sinkforurenset vann (SNV 1990)

1	2	3	4	5
Mycket låga	Låga	Måttlig höga	Höga	Mycket höga
=< 1	1 - 5	5 - 15	15 - 75	> 75

I Sverige har forurensning med sink fått en del oppmerksomhet. I 1987 ble det oppnevnt en delegasjon for å se på muligheten for å "rense" Dalelven som renner ut i Bottenhavet ved Skutskär. Flere gruver og meallforarbeidende industrier ligger i nedbørfeltet, og det bli i stor grad fokusert på å redusere utslippene av tungmetaller - i stor grad sink - til vassdraget (SOU 1988). I en rapport til Dalälvsdelegationen angir Lindeström (1991) at det ikke først og fremst er behov for en reduksjon av sinknivået, men at arbeidet bør konsentreres om kadmium, bly og kopper i den nevnte rekkefølgen.

En meget omfattende presentasjon av sink i det svenske miljø er gitt i utredningen "Sink - resurs och/eller hot? En faktaredovising (Landner och Lindeström 1996).

I Verdens Helseorganisasjons retningslinjer for drikkevann (WHO 1993) listes sink blant stoffer som kan føre til klager fra forbrukerne (utseende, smak). Nivået for sink er satt til 3 mg Zn/l på dette grunnlaget.

EUs direktiv om drikkevannskvalitet (1980) angir 100 µg Zn/l som krav til råvannskilden og 5 mg Zn/l etter henstand i rørsystemet. Også her er det utseendet og smak som angis som problem. Antakelig med utgangspunkt i EUs direktiv har Sosial- og Helsedepartementet utgitt en forskrift om drikkevannsforsyning og drikkevann (1995). Her er det som veiledende verdier for sink angitt 100 µg Zn /l ved utløp fra pumpe eller behandlingsanlegg. 1000 µg etter 12 timers henstand i rør mens største tillatte konsentrasjon fra pumpe eller behandlingsanlegg er 300 µg Zn/l.

En viktig kilde til spredning av tungmetaller i miljøet, er anvendelse av slam fra kommunale renseanlegg som jordforbedringsmiddel. Sosial- og helsedepartementet har utgitt en forskrift om slikt slam (1995) der det bl. al. er gitt bestemmelser om maksimale innhold av sink for forskjellige anvendelser av slammet. I tabell 10 er disse verdiene listet.

Tabell 10. Maksimale innhold av sink i slam som skal brukes, Helse- og sosialdepartementet 1995.

Anvendelse	Maks. sinkkonsentrasjon, mg Zn/kg TS
Jordbruksareal, priv. hager og parker	1500
Grøntareal	3000

På grunn av manglende konsistens når det gjelder bedømmelse av miljøvirkninger av sink i en del sammenhenger, vil det være meget nyttig å ha en mer omfattende gjennomgang av dette. Fordi sink er et så vanlig metall i en rekke sammenhenger og fordi det er et av de mest mobile tungmetallene i naturen, er det spesielt viktig for sink, men også for en rekke andre metaller ville en slik gjennomgang ha stor interesse. For mange av disse andre metallene er datagrunnlaget for en slik gjennomgang betydelig dårligere enn for sink.



### 3. Biologisk betydning

Av metallene som finnes i jordskorpa er det enkelte som gjennom fremveksten av ulike livsformer har blitt benyttet i biologiske systemer, oftest som elektron-donor eller -akseptor, men også i strukturelle roller. Hvilke sporelementer som har biologiske roller er naturligvis ikke kun bestemt av forekomst, men også av egenskaper som valens(er), størrelse og elektronegativitet. Det er beskrevet en interessant sammenheng mellom giftighet av en rekke metaller for krepsdyret *Daphnia magna* og konsentrasjonen av det aktuelle metallet i et "gjennomsnittlig" ferskvann, der det viser seg at giftigheten til et metall er motsatt proporsjonal med konsentrasjonen i vannet (Lithner, 1989). De mest toksiske metallene er altså de som også forekommer i lave konsentrasjoner i jordskorpa, slik som kvikksølv (Hg) og kadmium (Cd). Sink (Zn) er et metall som forekommer i høye konsentrasjoner i jordskorpa og er også lite giftig for de fleste organismer.

Alle levende organismer har behov for sink for å kunne eksistere. Sporelementer eller metaller som er nødvendige for en eller flere organismer kalles "essensielle". Sink er et essensielt metall. Andre essensielle innskuddsmetaller er jern (Fe), kobolt (Co), kobber (Cu), mangan (Mn), molybden (Mo) og krom (Cr). Mens det er tvil om den biologiske betydningen til noen metaller, slik som eksempelvis nikkel (Ni), er det andre metaller som ikke har noen kjent biologisk funksjon. Bly (Pb), kadmium, kvikksølv, sølv (Ag) og gull (Au) er eksempler på slike ikke-essensielle metaller. Til tross for at organismer har større evne til å regulere opptak og akkumulering av essensielle enn ikke-essensielle metaller, vil også essensielle metaller være giftige i tilstrekkelig høye konsentrasjoner.

Det vil her bli gitt en oversikt over hvilke roller sink har i organismer, hvordan metallet tas opp og fordeles i vev, hvilke konsekvenser underskudd kan ha og hvilke konsekvenser for høye konsentrasjoner i miljøet kan ha. Sink har interaksjoner med andre metaller, både essensielle og ikke-essensielle, og virkningene av sink vil kunne endres av en rekke miljøfaktorer.

#### 3.1 Fysiologiske og biokjemiske roller til sink

Sink inngår i mellom 200 og 300 ulike enzymer og proteiner. Dette omfatter enzymer som inngår i celledeling og DNA-reparasjon, oppbygging av bindevev og membran-stabilisering. I tillegg inngår sink i enzymet karbon anhydrase som inngår i reguleringen av blodets pH og derved oksygentilførsel fra lungene til vevet. Dette enzymet finnes i høye konsentrasjoner i alle røde blodceller. Et annet sink-avhengig enzym som finnes i de røde blodcellene er  $\delta$ -aminolevulinsyre dehydratase, en enzym som inngår i oppbygging av hem. Hem er en byggestein i alle cytokromer og hemoglobin. Det er også andre viktige enzymer i blodceller og lever som har sink som en nødvendig bestanddel, deriblant noen av enzymene som inngår i forsvaret mot frie radikaler. Disse enzymene er katalase, som katalyserer nedbrytningen av hydrogenperoksid til vann og oksygen, og Cu,Zn superoksid-dismutase (SOD), som katalyserer omsetningen av oksygen radikaler (Chung et al. 1988; Halliwell og Gutteridge, 1989).

I de fleste vev hos alle vertebrater (ryggradsdyr) er det et vannløselig protein, metallotionein, som trolig regulerer den intracellulære tilgjengeligheten av sink (Kägi, 1991; Kägi og Schäffer, 1988). Metallotionein er et lavmolekylært protein som binder både sink og kobber i de fleste celler. Mengden av metallotionein i en celle reguleres blant annet ved konsentrasjonen av sink og mengden øker også ved belastning med andre metaller, som kobber, kadmium og kvikksølv. Siden metallotionein også indueres av og binder de ikke-essensielle metallene har det også vært foreslått at proteinet beskytter mot gifteffekten til metallene kobber, kadmium og kvikksølv. Det er ikke klart om alle de ikke-essensielle metallene bindes direkte til metallotionein og derved erstatter sink som så fører til økt syntese av proteinet eller om de virker på DNA og gir økt syntese. Økt konsentrasjon av metallotionein i vevet har imidlertid vært foreslått som en av mekanismene bak den beskyttende

effekten en forbehandling med sink kan gi for senere eksponering for toksiske nivåer av sink, kobber og/eller kadmium (Anadu et al. 1989; Duncan og Klaverkamp, 1983; Klaverkamp et al. 1984; Yamamoto og Date, 1987). Parellelt har det også vært foreslått at metallotionein med sink faktisk regulerer aktivitetene til en rekke enzymer og cellulære prosesser gjennom å begrense tilgangen på dette metallet (Karin et al. 1987). Metallotionein har også vært identifisert i en rekke evertebrater, deriblant muslinger (Mackay et al. 1990; Roesijadi et al. 1989a) og krepsdyr (Brouwer et al. 1995; Brouwer et al. 1989; Lerch et al. 1981; Pedersen et al. 1994). Det er imidlertid også eksempler på evertebrater der proteinet ikke har vært funnet, men andre metall-bindende proteiner synes å ha samme rolle (Clubb et al. 1975; Dallinger et al. 1989; Dohi et al. 1983). Det er sannsynlig at begge forsøksorganismene som ble benyttet i dette prosjektet, dammusling og marflo, har dette proteinet.

Sammen med jern og kobber er sink det sporelementet som har fått størst oppmerksomhet, blant annet fordi ulike sink-enzymmer har så mange ulike roller i celler. I de siste fem-ti årene har det vært mye oppmerksomhet omkring rollen til sink i tilknytning til enzymer og proteiner som har interaksjoner med DNA gjennom såkalte "zinc-finger" (Predki og Sarkar, 1994). Dette gjelder blant annet polymeraser og revers transkriptase, enzymer som har roller i DNA-replikasjon, -reparasjon og -regulering.

Sink har også en rolle i det celle-medierte immunforsvaret. Ved sink-mangel reduseres immunresponsen hos pattedyr (Shi et al. 1997), men sink kan også redusere negative effekter av andre metaller på immunforsvaret (Pocino et al. 1990). Lite er kjent om betydningen av sink i immunforsvaret hos fisk eller evertebrater, men metallet har trolig en betydning også for immunforsvaret hos fisk.

I tillegg til disse rollene, har sink også en betydning i sentralnervesystemet. Sink inngår i enzymet pyridoksal kinase og det har vært foreslått at nervøs aktivitet i deler av nervesystemet kan reguleres ved tilgjengeligheten av sink, blant annet gjennom metallotionein (Ebadi et al. 1989; Ou og Ebadi, 1992). En interessant forskjell mellom regulering av proteinet i lever og hjerne er at kadmium ikke fører til økt syntese i hjerne (Paliwal et al. 1990), noe som støtter hypotesen at induksjon av metallotionein alltid er mediert av sink (ikke ved direkte effekt av andre metaller). En særlig form av metallotionein med sink har også vært knyttet til ulike patologiske tilstander i nervesystemet, slik som Alzheimer's syndrom (Palmiter et al. 1992; Uchida et al. 1991).

Sink er altså et spormetall som har funksjoner i mange livsnødvendige prosesser, fra celle-delning, oppbygning av vev, beskyttelse mot radikaler, regulering av blodets pH, oksygentransport, immunforsvaret, regulering av enzymer og overføring av signaler i nervesystemet. Det er derfor lett å tenke seg at selv små forstyrrelser av tilgangen på dette metallet, det være seg for lite eller for mye, vil kunne ha alvorlige konsekvenser. Av de samme grunner vil imidlertid også opptak, fordeling og utskillelse av sink være strengt regulert hos alle organismer.

## **3.2 Opptak, akkumulering, utskillelse**

Mens noe nær alt sink hos landlevende dyr vil tas opp via mage-tarm systemet, er det tre opptaksveier som er aktuelle for akvatiske organismer: via mage-tarm systemet, via gjeller eller via kroppsoverflaten. Det meste av kunnskapene om opptak via mage og/eller tarm kommer fra medisinsk forskning og gjelder rotte eller mus (se oversiktsartikkel av (Cousins, 1985)). Hos pattedyr (rotte, mus, menneske) har det vært antatt at opptak av sink er en energikrevende prosess og at opptaket foregår via et bærer-molekyl. Opptaket av sink øker ved sink-, jern- eller kobber-mangel, men vil minke ved høye konsentrasjoner av jern i kosten. Motsatt vil også høye konsentrasjoner av sink i kosten kunne redusere opptaket av kobber. Det har vært få studier av sink-opptak via tarm hos fisk, men det er sannsynlig at mekanismene ikke er veldig ulike de som er funnet hos pattedyr. Både hos pattedyr og

fisk er det trolig at proteinet metallotionein fungerer som en buffer i tarm-mukosa (cellelaget som er inn mot tarm-innholdet), men at det ikke er dette proteinet som regulerer opptaket. Det er lite kunnskap om opptak via tarm hos evertebrater. Det er imidlertid både taksonomiske og funksjonelle forskjeller. Organismer som filtrerer vil ha et mer effektivt opptak enn organismer som lever av detritus eller er rovdyr. Grupper som har skjell vil ha et større behov for kalsium enn andre grupper og vil være mer utsatt for akkumulering av metaller, deriblant sink (se nedenfor).

Hos akvatiske organismer vil imidlertid opptak av sink via gjeller eller kroppsoverflate nesten alltid være viktigere enn opptak via mage eller tarm. Det er sannsynlig at det meste av sink-opptaket over gjellene til fisk skjer via klorid-celler (McDonald og Wood, 1993; Spry og Wood, 1988, 1989). Dette er spesialiserte celler som spiller en sentral rolle i ioneregulering og –transport. Opptak via mellomrom mellom cellene (paracellulært) har også vært foreslått (Wicklund, 1990a). Opptaket inn i klorid-cellene foregår etter all sannsynlighet via ”fasilitert diffusjon” gjennom ionekanaler for kalsium. Ved at proteiner i klorid-cellene (deriblant metallotionein) tar opp alt sink som kommer inn blir det etablert en negativ balanse som fører til diffusjon av mer sink fra omgivelsene inn i klorid-cellene. Det er usikkert hvordan sink så transporteres ut i blodet, men dette foregår trolig via en av ionepumpene (en energikrevende prosess). I blod bindes nesten alt sink til proteinet albumin, uavhengig av om det tas opp fra tarm eller via gjelle). Sink transporteres først til leveren, men fordeles så til andre organer, særlig beinvev og skjell (hos fisk) (Hogstrand og Haux, 1991; Sauer og Watabe, 1989). Det er sannsynlig at opptaket i evertebrater også skjer via mer eller mindre spesialiserte celler, i hovedsak celler knyttet til ioneregulering.

### 3.3 Hvordan påvirker sink akvatiske organismer?

Det er store forskjeller mellom arter når det gjelder giftigheten av sink (målt som dødelighet; se Tabell 11). Som det vil framgå, varierer resultatet over to størrelsesordener, fra 8 til 560 µg/l. Det er også andre tester som viser at effekt-nivåene kan ligge enda høyere for noen fiskearter (Lin og Dunson, 1993).

Tabell 11. Kronisk giftighet (NOEC - "no effect concentration") av sink for et utvalg ferskvannsorganismer (oversikt hentet fra OSPAR 1996). Hardhet er oppgitt som mg CaCO<sub>3</sub>.

Art/taksonomisk gruppe	hardhet	varighet (dager)	konsentrasjon (µg/l)	kommentar
Chlorella vulgaris (alge)	i.o.	14-35	400-560	
Scenedesmus sp. (alge)	15-200	4	15-225	
Corbicula sp. (musling)	68	28	25	adult
Ceriodaphnia dubia (krepsdyr)	81-168	7	8-50	ulike stadier
Daphnia magna (krepsdyr)	45-225	21-49	25-420	ulike stadier
ørkyt (fisk)	70	150	50	1-årig fisk
regnbueørret (fisk)	26-330	21-600	36-545	ulike stadier

i.o. - ikke oppgitt

Med de mange ulike rollene sink har er det kanskje ikke så overraskende at det ikke er lett å identifisere enkeltprosesser som avgjørende for en eventuell giftighet av metallet. Hos pattedyr er det nesten umulig å oppnå giftighet – forsøksdyr har vært gitt sink i doser opp til 100 ganger det som er normalbehov uten at dette har gitt noen effekter. Det har da også vært argumentert for at sink overhode ikke har skadelige effekter hos pattedyr (Léonard og Gerber, 1989).

Det er imidlertid et samspill mellom sink og andre essensielle metaller, særlig jern og kobber. Kronisk høye konsentrasjoner av sink i føde eller drikkevann vil kunne føre til mangel på de andre metallene fordi opptaket i tarmen reduseres (Cousins, 1985; Cousins, 1986). Det kan også synes som om høy

sink-akkumulering kan redusere kobber-konsentrasjonene i lever hos pattedyr til skadelig lave nivåer. Videre kan forhøyd inntak av sink kan også ha negative effekter på immunforsvaret og påvirke kolesterol-metabolismen (Fosmire, 1990).

Som det vil framgå av Tabell 11 kan sink være giftig for akvatiske organismer, også i lave konsentrasjoner. I de fleste studier har endepunktet vært dødelighet eller redusert vekst og det er derfor lite kunnskaper om hvilke mekanismer som ligger bak disse effektene. Det er også trolig at det er en kombinasjon av ulike faktorer. Som nevnt ovenfor vil høye nivåer av sink kunne påvirke metabolismen av jern og kobber, noe som kan være dødelig ved kronisk eksponering. Sink har lav akutt giftighet, men høye nivåer vil kunne påvirke ionepumper. Både sink og kadmium kan interagere med kalsium-avhengige signal-molekyler og derved forstyrre vitale prosesser i celler. Et eksempel på et slikt kalsium-avhengig molekyl er membran-proteinet kalmodulin som kan påvirkes av blant annet sink og kadmium (Behra, 1993).

I felt-studier vil det ofte være vanskelig å skille effektene som forårsakes av sink fra de som skyldes de andre metallene som alltid vil være tilstede. I undersøkelser med ferskvannsmuslingen *Pyganodon (Anodonta) grandis*, fant Couillard og hans medarbeidere at det var effekter av en blandet eksponering med både kadmium, kobber og sink tilstede (Couillard et al. 1995; Couillard et al. 1993; Couillard et al. 1995). Tilsvarende har det blitt funnet klare responser hos fisk eksponert under tilsvarende betingelser (McCarter et al. 1982; McCarter og Roch, 1984; Roch og McCarter, 1984). I begge disse tilfellene er det imidlertid sannsynlig at effekten i stor grad skyldes de andre to metallene og ikke sink, til tross for at sink-konsentrasjonene i vannet var høyere enn konsentrasjonene av kadmium og kobber. Andre studier (og resultater funnet i dette prosjektet) viser at høyere sink-nivåer enn de som var tilstede i studiene ovenfor ikke har påviselige effekter på de aktuelle parametrene, konsentrasjonen av metallotionein og vekst.

I tillegg til de mer åpenbare gift-effektene, vil sink også kunne ha mer skjulte effekter. For lite eller for mye sink vil kunne påvirke hormonregulering hos fisk – i hovedsak ved at sink-nivået i ulike kjertler er avgjørende for syntesen av hormoner (Kime, 1995). Sink vil også kunne påvirke klekkesuksess hos fisk, i en undersøkelse i 1965 ble det påvist effekter på klekkesuksessen til ørret ved 300 µg/l (Arnesen, 1965).

Sink har også vist seg å kunne ha effekter på atferd hos fisk (Atchison et al. 1987). Regnbueørret og laks unngår vann med sink-konsentrasjoner over 50 µg/l. Andre effekter av sink-eksponering på atferd til fisk er: økt ventilasjon, hyperaktivitet (i tilknytning til gyting) og redusert effektivitet i innfangning av fødeorganismer.

Siden sink alltid forekommer sammen med andre metaller finnes det ikke studier av samfunnseffekter som er forårsaket av sink alene. Det nærmeste en kommer er studier i svenske vassdrag, der det ikke ble funnet effekter på bunndyrfaunaen i vassdrag med opp til 700 µg/l sink (Lindeström, pers. medd.). I multifaktor analyser kom det fram at næringstilgangen var bestemmende for faunasammensetningen, ikke metall-konsentrasjonene.

### **3.4 Interaksjoner med andre metaller**

Som nevnt ovenfor vil flere metaller kunne påvirke opptaket av sink i tarm. Tilsvarende vil høye konsentrasjoner av sink redusere opptaket av andre metaller, deriblant kadmium, i tarm (Wicklund et al. 1988). Siden opptaket av de to metallene over gjeller (hos fisk) antas å foregå gjennom kalsium-kanaler, vil en forvente at opptaket av kalsium, kadmium og sink er kompetitivt. Dette betyr at fisken vil akkumulere mindre av metallene ved høy kalsium-konsentrasjon ("hardt vann") og at både fisk og evertebrater vil akkumulere mindre kadmium hvis det er høye konsentrasjoner av sink i vannet enn

hvis det er lite sink (Hemelraad et al. 1987). Mange av disse forsøkene er imidlertid gjort med svært høye sink-konsentrasjoner og lave kadmium-konsentrasjoner, så den miljømessige relevansen er svak.

Det er en rekke studier som viser at eksponering for en lav konsentrasjon av enten sink, kobber eller kadmium gir økt toleranse for de samme tre metallene (Chapman, 1985; Klaverkamp et al. 1984; McDonald og Wood, 1993; Roch og McCarter, 1984). Tilsvarende sammenheng mellom kadmium og kobber har blitt funnet for ferskvannsmuslingen *Dreissena polymorpha* under kronisk eksponering for metallene (Kraak et al. 1993). I korttids-forsøk var imidlertid effekten av disse to metallene synergistisk, mens effekten av sink og kadmium var additiv (Kraak et al. 1994). Sink hadde forøvrig liten effekt på kadmium-akkumulering i disse forsøkene.

Det er gjort omfattende studier av interaksjonene mellom sink og kadmium når det gjelder akkumulering, omsetning og effekter på fisk (Glynn et al. 1992; Wicklund, 1990a; Wicklund et al. 1990b; Wicklund et al. 1988). Resultatene tyder på at effekten av de to metallene (på overlevelse) er additiv, mens sink øker omsetningshastigheten av kadmium i noen vev og derved kanskje reduserer giftigheten ved kronisk belastning.

I en undersøkelse av akutte effekter av ulike metall-kombinasjoner for *Daphnia magna* fant (Tomasik et al. 1995) ikke noen beskyttende effekt av sink i forhold til andre metaller, men økt giftighet av kombinasjon mellom nikkel og sink. For yngel av ørret reduserte tilstedeværelsen av enten sink eller bly i noen grad giftigheten av kobber og/eller aluminium (Sayer et al. 1991).

En interessant observasjon har blitt gjort i Sverige, der de ser at kvikksølv-akkumulering i fisk som lever i sjøer med forhøyde sink-nivåer er kraftig redusert i forhold til fisk i sjøer med normalnivåer av sink (Landner og Lindeström, 1996). En mulig forklaring er at høye sink-nivåer har negativ effekt på den mikrobielle faunaen som omdanner uorganisk kvikksølv til organisk kvikksølv. Fisk akkumulerer hovedsakelig organisk kvikksølv. En annen forklaring er at sink gir en økning i demetylering av organisk kvikksølv i vann, sediment eller i fisk.

### **3.5 Betydningen av andre faktorer for miljøeffektene av sink**

Både miljøfaktorer og egenskaper ved organismene vil kunne ha betydning for effektene av sink. De viktigste miljøfaktorene er pH og hardhet, men også temperatur, årstid og oksygen vil også kunne ha betydning. Det er en rekke biologiske faktorer som vil kunne ha betydning, slik som utviklingsstadium, alder, kjønn, ernæringsstatus, helsestatus og reproduktiv status (se (Rand og Petrocelli, 1984) for en oversikt)

Lav pH og høy konsentrasjon av Ca ("hardt" vann) fører til lavere opptak av sink i fisk enn ved høy pH (Cusimano et al. 1986) og mindre Ca ("bløtt vann") (Spry og Wood, 1988,1989; Wood, 1992).

I en undersøkelse med vannloppa *Daphnia magna*, fant Stuhlbacher et al. (1993) at høyere temperatur ga raskere akklimering til kadmium. Ernæringsstatus og alder syntes ikke å ha effekt i denne undersøkelsen.

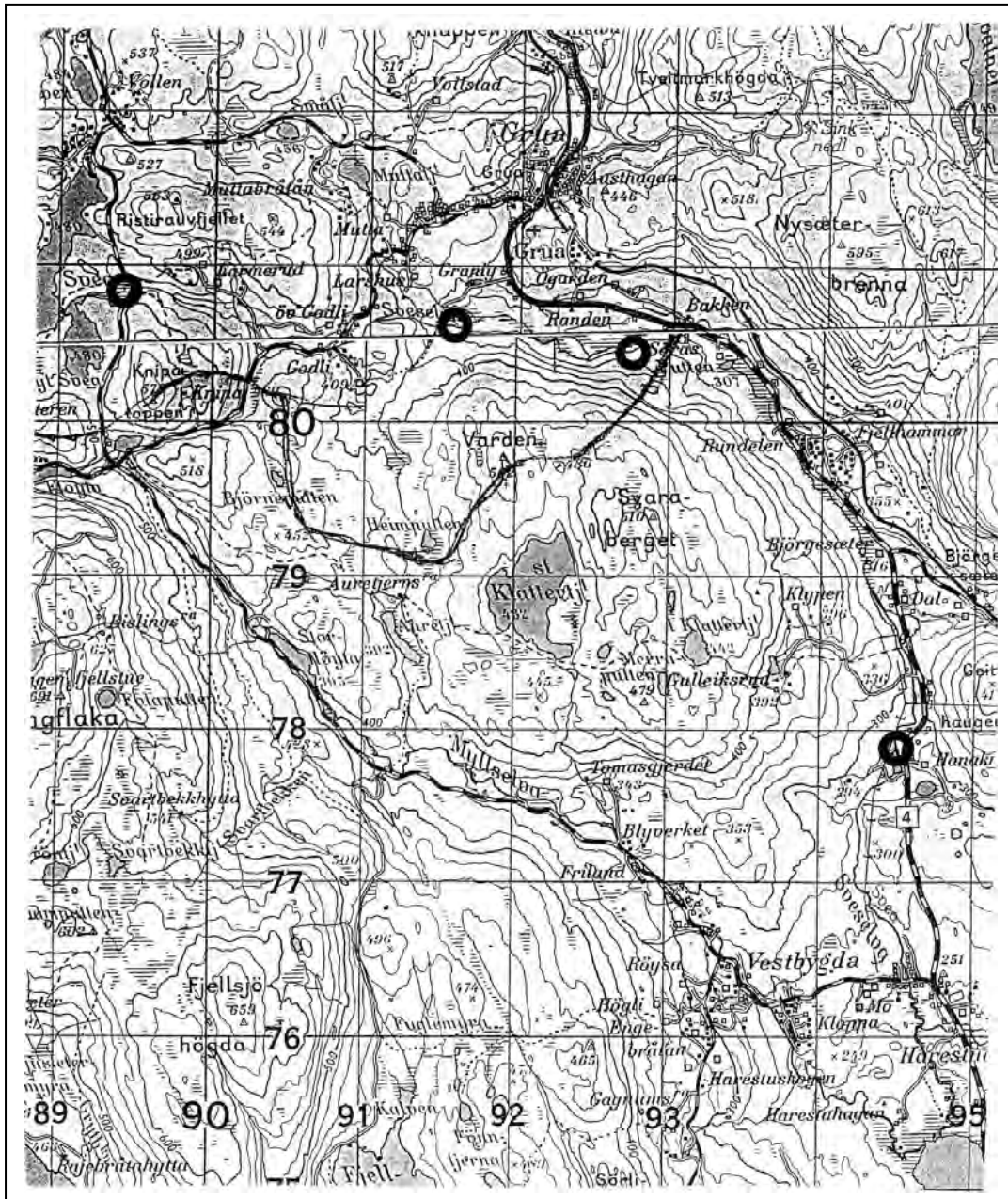
Størrelsen til fisk (og andre organismer) kan ha betydning for akkumulerings- og utskillelsesrater av sink (Newman og Mitz, 1988). Generelt vil det være slik at mindre individer vil ha større gjelleoverflate i forhold til kroppsstørrelsen og derved være mer utsatt for opptak over gjellene. Det er imidlertid uklart hvorfor utskillelsesratene skulle være høyest for små individer.

## 4. Effekter av sink fra gruveavrenning

I tillegg til en oppsummering av kunnskapsstatus for betydningen av sink i ferskvann ble det utført en undersøkelse av biologiske effekter i et vassdrag som er belastet med sink, men få andre metaller. Målene med denne undersøkelsen var å sammenligne ulike metoder til kvantifisering av biologiske effekter samt å sammenholde disse resultatene med effekt-nivåer funnet av andre.

### 4.1 Områdebeskrivelse

Forsøket ble valgt utført i Sveselva, Grua, Hadeland, med utgangspunkt i resultatene beskrevet av (Arnesen, 1996). Det har vært gruvedrift i området siden 1888 da malmen ved Nyseter ble oppdaget. Driften ble nedlagt i 1915, men så tatt opp igjen i 1922 med flotasjon som oppredningsmetode. Malmen ble da transportert fra gruva til vaskeriet med taubane. Virksomheten ble imidlertid lagt ned i 1925 på grunn av manglende lønnsomhet. Avfall fra flotasjonsprosessen hadde da blitt spredt over et område på flere kvadratkilometer rett sør for der Grua sentrum er i dag. Dette materialet gir tilførsler til Sveselva som renner gjennom dette området og gir høye nivåer av sink i hele strekningen av elva ned til Harestuvannet. Spesielt for denne tilførselen er at det er høye konsentrasjoner av sink, men lave konsentrasjoner av andre metaller. Det eneste andre metallet som forekommer i vesentlig forhøyde konsentrasjoner er kadmium. Konsentrasjonene av kadmium er 0,1-0,2% av de som finnes for sink. Det ble valgt ut fire stasjoner i området til undersøkelsene (indikert på Figur 6 med sirkler). Referansestasjonen, stasjon 1, ligger noen hundre meter fra innsjøen Svea. Stasjon 2 ligger i den øverste delen av tilførselsområdet, men nært det gamle vaskeriet og en tipp med flotasjonsmaterialet. Stasjon 3 ble lagt i nedkant av tilførselsområdet og stasjon 4 noen kilometer lenger ned i vassdraget.



Figur 6. Oversikt over stasjonsplassering (markert med ringer). Fra kartblad 1815 I, Gran (1:50 000).

## 4.2 Metoder

### *Naturlig vegetasjon (begroing)*

Materiale til analyse av begroingssamfunnet ble samlet ved en befarings i vassdraget 14/10 1997. Fire stasjoner ble prøvetatt, stasjonsplasseringen er vist i Figur 6. Det ble både samlet prøver av hele samfunnet og separate kiselalgeprøver.

### *Naturlig bunndyrsamfunn*

Bunndyrprøvene som her er bearbeidet ble samlet inn på de fire stasjonene i Sveselva. Lokalitetene som ble benyttet som prøvetakingssted er de samme som ble brukt ved eksponering av muslinger og krepsdyr samt ved innsamling av begroingsprøver.

Bunndyrprøvene som her er bearbeidet, vurdert og sammenstilt i denne rapporten ble samlet inn den 14. oktober 1997. Prøvene ble samlet inn ved hjelp av en standardisert metode (Norsk Standard nr. 4719). Det ble brukt en elvehåv med maskevidde 250 µm og prøvetakingens varighet var 3 ganger ett minutt. Prøvene ble konservert i 70% etanol. Opptelling og bestemmelse av arter og grupper ble utført ved NIVAs laboratorium i Oslo.

### *Begroing på utplassert substrat (PICT, "pollution-induced community tolerance")*

Leirpotter med agar ble satt ut med bunnen i været på de 4 stasjonene i Sveselva den 22 september, en leirpotte per stasjon. Etter 3 uker, den 14 oktober ble pottene tatt opp og alt materialet fra et areal på 125 cm<sup>2</sup> skrapet av og over i et glass med 150 ml av vannet fra øverste stasjon (stasjon 1). Straks etter ved innkomst til NIVA, ble hver av prøvene fordelt på 5 glasskolber og tilsatt ulike konsentrasjoner av sink (56, 100, 180, 320 og 560 µg/l). For å sikre at næringssalt ikke skulle være begrensende for <sup>14</sup>C-opptaket ble mediet tilsatt 1% Z<sup>8</sup><sup>1</sup>. Prøvene ble satt kjølig 15°C over natten, og neste dag ble prøvene tilsatt <sup>14</sup>C-merket bikarbonat og inkubert i lys i 3 timer. Inkuberingen ble stanset ved at 3 prøver med 10 ml ble overført til scintillasjonsglass tilsatt 0.2 ml av en 10% saltsyre løsning. Det ga en pH på <2 og etter henstand over natten sikrer dette at all uorganisk <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> blir drevet ut av prøven. <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> opptak ble målt etter tilsetning av Instagel med en Packard Minaxi B 4000 Liquid Scintillation counter. DPM ("disintegrations per minute", et mål for mengde <sup>14</sup>C i prøven) ble korrigert med intern standard og alle prøvene ble fratrukket blank verdi.

### *Bioakkumulering og responser hos utplassert dammusling og marflo*

Dammusling (*Anodonta piscinalis*) ble innsamlet i Haugestadvannet, Eikernvassdraget, Vestfold. Etter en ukes akklimering ved NIVA ble bur med 10 dammusling utplassert på de fire stasjonene i Sveselva. Burene hadde fri gjennomstrømning av vann og ble fylt med 10 cm ren sand som substrat for muslingene. På de samme fire stasjonene ble det satt ut bur med 20 marflo (*Gammarus lacustris*) i hvert. Etter tre ukers eksponering (2 ½ uke for marflo) ble organismene tatt inn og transportert til NIVA. Etter et døgn oppbevaring i NIVAs akvariesystem (vann direkte fra Maridalsvannet) ble det målt opptak av alger og respirasjon for alle dammuslinger fra hver stasjon og samme antall (10) som hadde blitt holdt i NIVAs akvariesystem i hele perioden. Disse målingene ble benyttet til å beregne vekstpotensiale ("scope for growth") for de ulike gruppene (se nedenfor). Etter gjennomførte målinger ble den ytre gjellen dissekert ut (uten glochidie-larver i hunnene) og homogenisert i iskald buffer (0.1 M Na-fosfat buffer, pH 7.8, med Complete protease-inhibitor, 1 mM glutation og 0.15 M KCl). Fra homogenatet ble det tatt 1 mL til metall-analyser, resten ble sentrifugert ved 10 000 g i 30 min ved 4°C. Supernatanten ble tatt av, fordelt på fire rør og frosset ved -80°C for senere analyse for metallotionein og protein. En ml homogenat ble tatt av fra hver prøve til metall-analyser (Cd, Cu, Zn). Metall-konsentrasjonene i prøvene ble målt med ET-AAS etter NIVAs akkrediterte metoder. Det ble

---

<sup>1</sup> næringsoppløsning



også gjort metall-analyser på blandprøver av marflo fra tre grupper (stasjon 1 og 2, referanse). Analyser ble gjort på individer mindre enn 30 mg og individer større enn 30 mg fra hver av gruppene.

Metallotionein ble analysert med differensiell puls polarografi som beskrevet av (Olafson og Olsson, 1991), men med visse endringer. Supernatant ble fortynt 1:2 eller 1:3 med 0.9% NaCl og varmedenaturert ved 95°C i 3 min. Prøven ble deretter overført direkte til is og så sentrifugert ved 10 000 g i 5 min. Hundre til 200 µl av supernatanten ble injisert i elektrolytten og konsentrasjonen beregnet med utgangspunkt i en kanin-MT standard. Protein ble målt ved metoden beskrevet av Lowry (Lowry et al. 1951) med bovint gamma globulin som standard.

Respirasjon ble målt for enkeltindivider av marflo fra stasjon 1 og 2, samt referansegruppen. Respirasjonen ble målt ved utskilt CO<sub>2</sub>. SFG-målingen ble gjort på grupper á 10 skjell fra hver av de 5 testbestandene (4 stasjoner i Sveselva og en referansegruppe på NIVA) etter eksponeringen i metallholdig miljø. Erfaring fra blåskjell har vist at ved forsiktig behandling vil normaltstand av SFG beholdes i minst 3-4 døgn etter innsamling. Dette betyr at man kan frakte skjell fra et undersøkelsesområde til laboratoriet og utføre målingene der. Det finnes ikke tilsvarende erfaring for dammuslinger. I forsøket ble målingene gjennomført innen 1-3 døgn etter avsluttet eksponering.

SFG-målingene ble utført ved NIVAs økotoksikologiske laboratorium på Brekke i perioden 15-17 oktober 1997. Testskjellene ble fraktet nedkjølt til NIVA, hvor de ble oppbevart i ubehandlet strømmende vann fra Maridalsvannet. Målingene ble utført enkeltvis på de 5 x 10 individene. Alle forsøk ble gjennomført i filtrert vann fra Maridalsvannet. Temperatur under forsøkene ble holdt rundt 16-17°C.

For mer detaljer om SFG-målingene se Vedlegg A.

#### ***Statistiske analyser***

Vevsnivåer av metaller eller effekt-responser i dammusling i de fem gruppene ble testet med variansanalyse (ANOVA) under H<sub>0</sub>: ingen forskjell mellom gruppene (Sokal og Rohlf, 1981). Variablene ble log-transformert hvis nødvendig for å oppnå homogene varianser. Responser ble også sammenholdt med vevsnivåer av metaller og konsentrasjoner av metaller i vann med enkel lineær regresjon og multippel regresjon (Draper og Smith, 1981). Signifikansnivået for forkastning av H<sub>0</sub> ble satt til 0.05.

### **4.3 Vannkjemi i forsøksperioden**

Det ble tatt vannprøver ved de fire stasjonene på tre tidspunkter. En prøve (på alle stasjoner unntatt 1) ble tatt ved utsetting av burene, en prøve midt i perioden og en prøve ved slutten av perioden. Resultatene for generelle vannparametre er presenter i Tabell 12. Som det vil framgå er det små forskjeller mellom stasjonene med hensyn på pH og magnesium (Mg). Det var noe høyere ledningsevne (konduktivitet) på stasjon 3 i forhold til de andre stasjonene. Stasjon 2 og 4 hadde lavere konsentrasjon av kalsium (Ca) enn de to andre stasjonene. Videre var innholdet av organisk karbon lavere på stasjon 3 og 4 enn på stasjon 1 og 2. Det var høyere konsentrasjoner av sulfat på stasjon 3 og 4, i overensstemmelse med metall-konsentrasjonene.

Tabell 12. Fysiske og kjemiske egenskaper til vannet på de fire stasjonene i forsøksperioden. Median (min, maks); prøver tatt ved utsetting (22.9), 2.10 og ved innsamling (14.10).

	pH	ledningsevne (mS/m)	sulfat (mg/l)	Ca (mg/l)	Mg (mg/l)	TOC (mg/l)
stasjon 1	7.7 (7.6, 7.8)	15.5 (14.4, 16.5)	8.4 (7.9, 8.9)	30 (27, 32)	1.6 (1.5, 1.7)	4.9 (4.4, 5.3)
stasjon 2	7.7 (7.7, 7.8)	13.0 (9.96, 13.8)	8.3 (7.6, 8.8)	23 (17, 26)	1.5 (1.3, 1.6)	4.4 (4.0, 5.2)
stasjon 3	7.5 (7.5, 7.7)	17.6 (17.3, 18.6)	22 (19, 24)	31 (30, 31)	1.7 (1.6, 1.7)	3.9 (2.9, 4.5)
stasjon 4	7.7 (7.6, 7.8)	15.4 (14.9, 16.6)	20 (16, 23)	24 (24, 26)	1.5 (1.5, 1.6)	3.1 (2.6, 3.7)

Det var lave metall-konsentrasjoner på stasjon 1, noe forhøyd på stasjon 2 og høye konsentrasjoner av sink på stasjon 3 og 4 (Tabell 13). Konsentrasjonen av sink var overraskende lite forhøyd på stasjon 2 som lå i nedkant av en tipp med flotasjonsmateriale. Kadmium fulgte sink og var noe forhøyd på stasjonene 3 og 4. Det var imidlertid lite kadmium i vannet på stasjon 2 (i det minste på prøvetakingstidspunktene). Det var bare små overkonsentrasjoner av de andre metallene, med mulig unntak av mangan (Mn) som var forhøyd på stasjon 3.

Tabell 13. Konsentrasjoner av metaller i vannet på de fire stasjonene i forsøksperioden. Minimum, maksimum; prøver tatt ved utsetting (22.9), 2.10 og ved innsamling (14.10). Alle verdier er i µg/l.

	Pb	Cd	Cu	Zn	Cr	Ni	Co	Mn
stasjon 1	0.04, 0.11	0.02, 0.04	0.4, 1.6	0.5, 4.8	0.5, 1.2	0.3, 1.2	0.04, 0.20	9.9, 21
stasjon 2	0.08, 0.19	0.05, 0.11	0.5, 0.7	9.4, 23	0.9, 0.9	0.3, 1.0	0.05, 0.20	1.2, 5.3
stasjon 3	0.13, 0.23	0.52, 1.30	0.8, 1.5	300, 670	0.5, 1.0	0.8, 1.6	0.15, 0.40	27, 67
stasjon 4	0.07, 0.23	0.43, 0.72	0.8, 1.2	250, 390	0.6, 0.6	0.4, 1.4	0.10, 0.20	2.2, 16

#### 4.4 Bioakkumulering av kadmium, kobber og sink

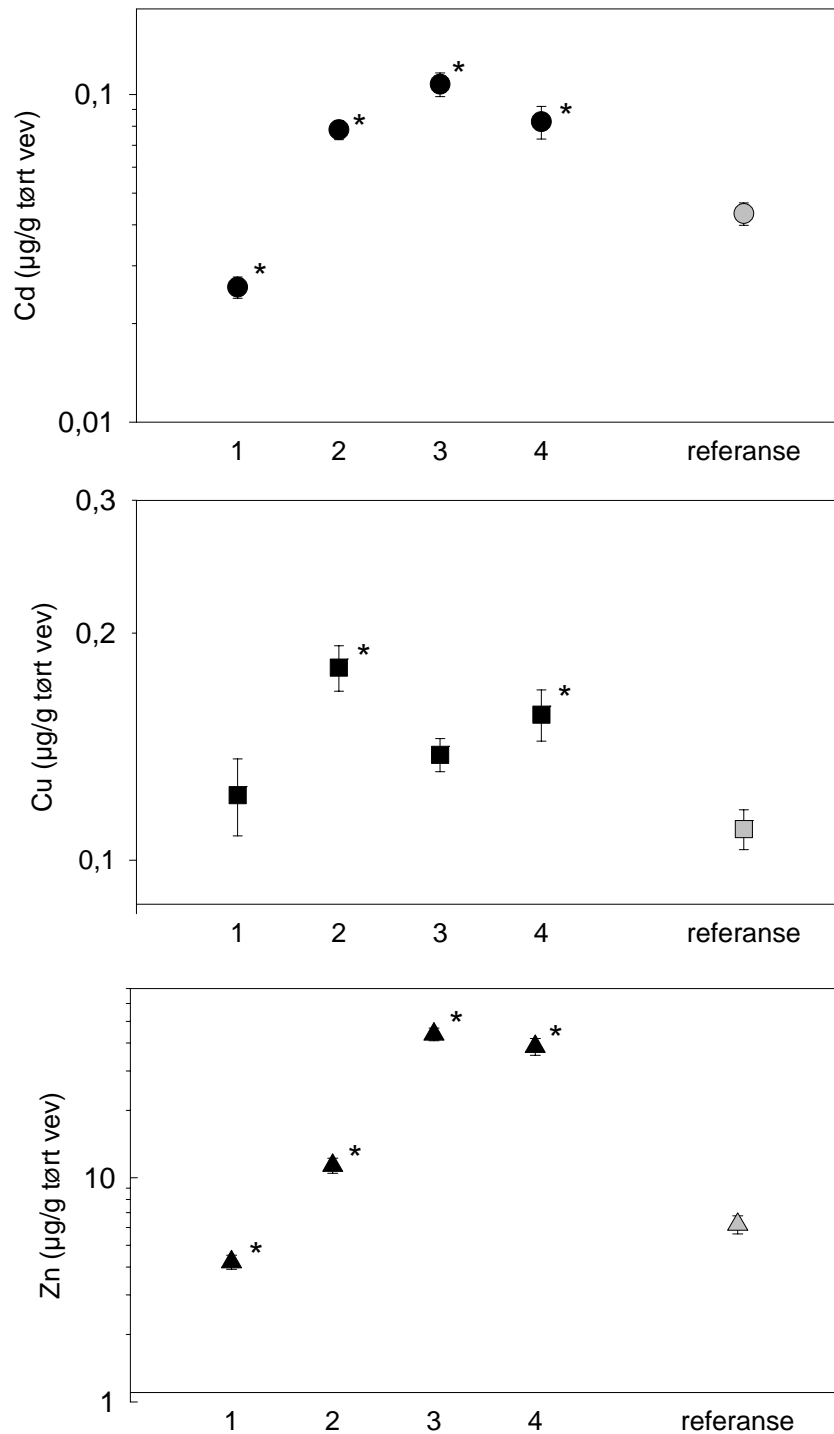
Både kadmium og sink akkumulerte i gjellene til dammusling holdt i bur på de tre stasjonene nedenfor tilførselsområdet (stasjon 2,3 og 4; figur 7). Ved slutten av forsøket var det også noe høyere konsentrasjoner av både kadmium og sink i gjeller til dammusling holdt på NIVA sammenlignet med dammusling holdt øverst i Sveselva.

Det var også overraskende høye konsentrasjoner av kadmium i gjellene til dammusling holdt på stasjon 2. De målte konsentrasjonene av kadmium i vannet på denne stasjonen var langt lavere enn ved stasjon 3 og 4, men kadmium-konsentrasjonen i gjellene var på samme nivå på alle tre stasjonene.

Også marflo akkumulerte både kadmium og sink på stasjon 2 (Tabell 14). Også marflo syntes å akkumulere noe både kadmium og sink når de ble holdt i NIVAs akvariesystem med råvann fra Maridalsvannet sammenlignet med når de ble holdt på stasjon 1, ved Svea. Det var ingen systematiske forskjeller mellom store og små individer når det gjaldt akkumulering av metaller.

Tabell 14. Metall-konsentrasjoner i blandprøver av marflo. Individer mindre enn 30 mg ble slått sammen (verdi til venstre) og individer større enn 30 mg (verdi til høyre). Alle verdier er i µg/g våtvekt.

	Cd	Cu	Zn
stasjon 1	0.05, 0.08	18.2, 15.1	23.9, 17.9
stasjon 2	1.31, 0.60	16.8, 13.8	37.9, 34.3
referanse	0.31, 0.22	10.1, 12.3	14.1, 16.9



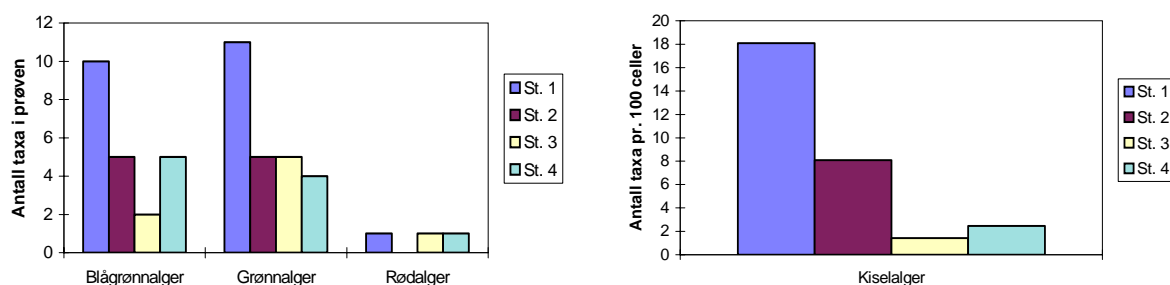
Figur 7. Konsentrasjoner av kadmium (øverst), kobber (i midten) og sink (nederst) i gjellene til dammusling (*Anodonta piscinalis*) holdt på fire stasjoner i Sveselva (1-4) eller ved NIVA, Oslo (referanse). Gjennomsnitt med standarfeil (n=10). \*: signifikant ulik referanse (p<0.05, Dunnett's test). Merk log-akse.

## 4.5 Naturlig vegetasjon (begroing)

Samfunnstruktur (artssammensetning, artsmangfold og mengdemessig forekomst) brukes som grunnlag for å vurdere virkningen av sink på naturlig begroing.

### 4.5.1 Artsmangfold

Figur 8 viser artsantall av alger i de innsamlede prøvematerialet. For alle algegrupper i Figur 8 var det markerte reduksjoner i mangfold fra referansestasjonen, st. 1, til stasjonen nedstrøms i vassdraget, st. 2. Mellom stasjon 2 og stasjonene nedstrøms, st. 3 og st. 4, var det bare mindre endringer i mangfoldet. Dette tilsier at effekter av sink (og eventuelt andre forhold som påvirker mangfoldet) har størst betydning mellom st. 1 og 2. Bortsett fra noe lavere mangfold av kiselalger ser en økning i sinkkonsentrasjonen fra 10-20 til 300-670 mellom st. 2 og st. 3 ikke ut til å påvirke mangfoldet. En reduksjon av sinkinnholdet mellom st. 3 og 4, fra 300-670 til 250-390, kunne på den annen side forventes å gi en økning i artsmangfoldet. Dette ser heller ikke ut til å skje.



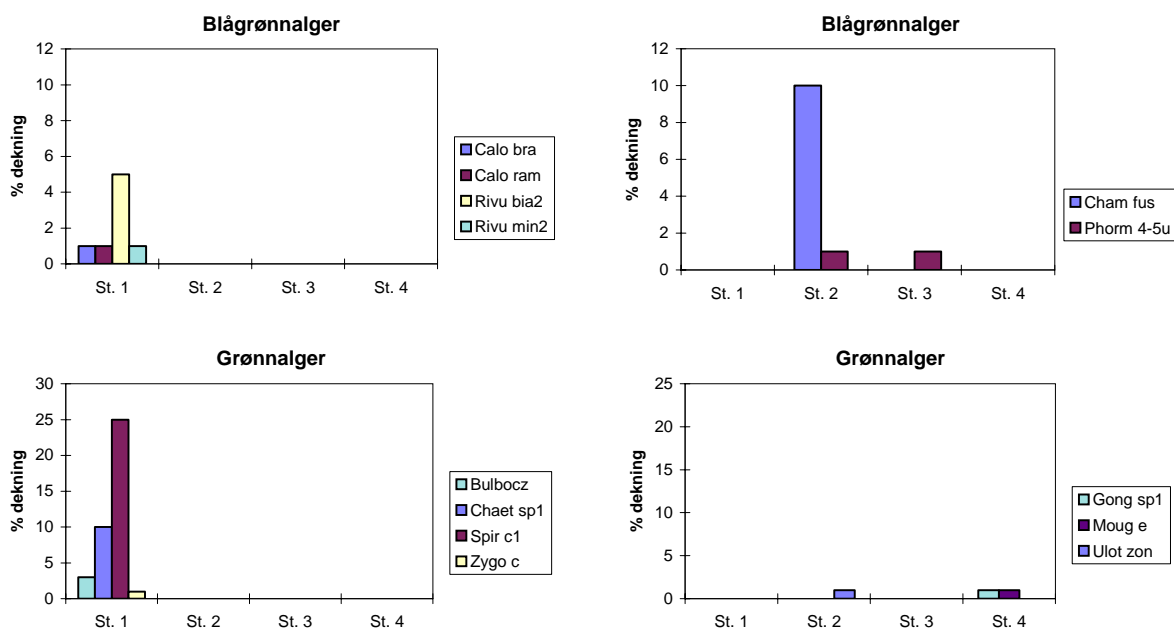
Figur 8. Artsmangfold av tre algegrupper i vanlige algeprøver (venstre) og antall kiselalgetaxa pr. 100 celler i kiselalgeprøver (høyre). Sveselva 14/10 1997.

### 4.5.2 Artssammensetning og mengdemessig forekomst

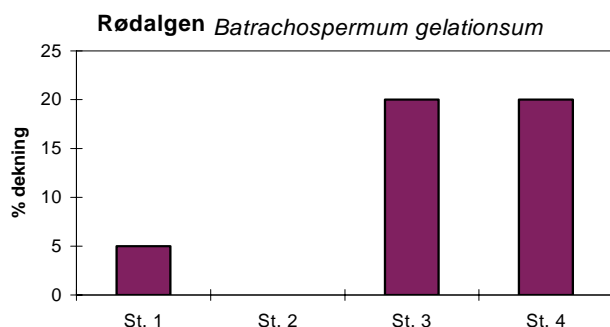
Vedlegg B viser artssammensetning av hele begroingssamfunnet, mens vedlegg C viser frekvens av kiselalger i kiselalgeprøvene.

#### *Prøver av hele begroingssamfunnet*

Det er ikke mulig på grunnlag av artssammensetning av begroing å gi en generell karakteristikk av vannkvaliteten i Sveselva, til det var forskjellene mellom stasjonene for store. På referansestasjonen, st. 1, var samfunnet preget av organismer som trives i næringsfattig, men elektrolyttrikt vann. Ingen effekter av forurensning kunne påvises. Her hadde fire blågrønnalger som alle trives i næringsfattig upåvirket vann, en viss mengdemessig betydning, se Figur 9 øverst til venstre. Ingen av disse ble observert nedstrøms i vassdraget. Det samme gjaldt fire grønnalger som til sammen dekket vel 30 % av elveleiet på st. 1, Figur 9 nederst til venstre. Disse ble heller ikke observert nedstrøms i vassdraget. På stasjon 2 hadde begroingen mindre mengdemessig forekomst og var preget av noen få arter, ingen av de dominerende artene ble observert på referansestasjonen, Figur 9 til venstre (øverst og nederst). De to nederste stasjonene var preget av rødalgen *Batrachospermum gelatinosum*, denne ble også observert på referansestasjonen, Figur 10.



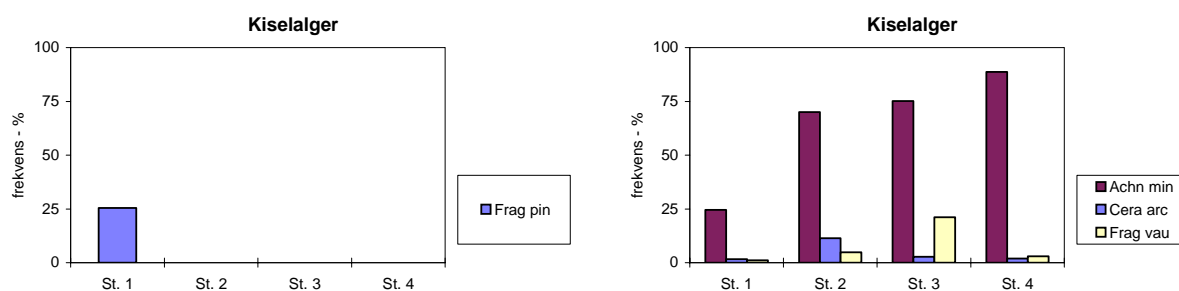
Figur 9. Prosent dekning av elveleiet av kvantitativt viktige blågrønnalger og grønnalger (angitt ved koder) som bare vokser på referansestasjonen (venstre) og lenger ned i vassdraget (høyre). Sveselva 14/10 1997.



Figur 10. Prosent dekning av elveleiet av rødalger. Sveselva 14/10 1997.

### Kiselalgeprøver

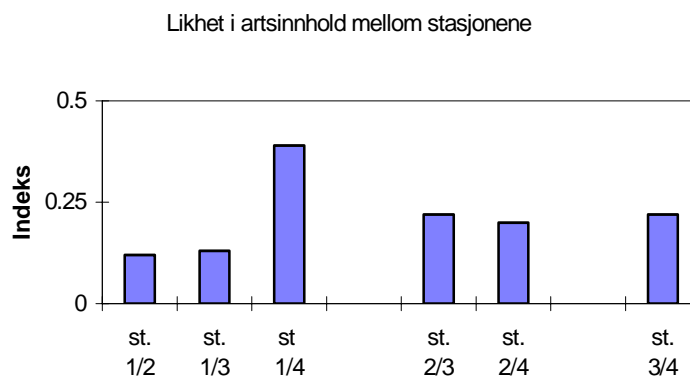
Samtidig som kvantitativt viktige arter forsvant fra vassdraget nedstrøms st. 1, Figur 11 til venstre, så kiselalgene ut til få økt mengdemessig forekomst fra og med st. 2. På grunn av den nevnte reduksjon i artsmangfold av kiselalger (Figur 8) resulterte dette i sterk dominans av noen få arter, hvorav *Achnanthes minutissima* var fullstendig dominerende, Figur 11 til høyre. På stasjoene 2, 3 og 4 utgjorde den over 75% av kiselalgesanfunnet. *A. minutissima* hadde forøvrig også mengdemessig betydning på referansestasjonen.



Figur 11. Frekvens i kiselalgeprøver av noen arter (angitt ved koder) som har mengdemessig betydning på st. 1, men forsvinner i sinkbelastet del av elva (venstre) og arter som får økt frekvens nedstrøms st. 1 (høyre). Sveselva 14/10 1997.

En analyse av begroingens likhet i artsinnhold som bare er basert på fravær og tilstedeværelse av artene bekrefter at begroingssamfunnet gjennomgår store endringer fra st. 1 til st. 4. I vassdrag som ikke utsettes for påvirkninger som i særlig grad berører begroingens artsinnhold, er vanligvis grad av likhet mellom ulike stasjoner godt over 0.50. Ingen av stasjonene i Sveselva viste så stor likhet, Figur 12. Bortsett fra st. 1 og st. 4, som viste en likhet på 0.4, viste alle de øvrige stasjonene en likhet seg imellom på under 0.25.

På stasjon 3 var det et innslag av organismer som trives i noe næringsrikt vann, bl.a. kiselalgen *Fragilaria vaucheria* (Figur 9 til høyre) og av ciliater (Vedlegg B. ). Sistnevnte livnærer seg av lett nedbrytbart organisk materiale. Det tilsier at det her er en viss forekomst av næringsalter og løst lett nedbrytbart organiske materiale.



Figur 12. Likhet i artsinnhold (Sørensen 1948) mellom de fire stasjonene i Sveselva, 14/10 1997.

### 4.5.3 Begroing - enkeltarter

*Chamaesiphon fuscus* (Rostaf.)Hansg.

Vanligvis vokser blågrønnalgen *C. fuscus* på stein, som små mørkebrune flekker av varierende størrelse. I Sveselva dannet den et sammenhengende svartbrunt belegg som dekket de største steinene på st. 2, Figur 9 (øverst-høyre). Den ble ikke observert i vassdraget forøvrig. Liknende unormalt store forekomster av *C. fuscus* er også registrert i Gaula (Lindstrøm & Rørslett 1991, Traaen et al. 1995) og i Orkla (Grande og Romstad 1988, 1996). Begge disse vassdragene er belastet med tungmetaller. Kobber er viktigste tungmetallforurensning i begge vassdrag, men også sink tilføres fra gamle gruver i

nedbørfeltene. Det er kjent at enkelte blågrønnalger kan få unormalt stor forekomst i sinkrike vassdrag (Whitton et al. 1981, Takamura et al. 1989), men at det opptrer unormalt store forekomster av *C. fuscus* der det bare er sinkpåvirket, er såvidt vites ikke rapportert fra andre vassdrag.

#### *Batrachospermum gelatinosum* (L.) deCandolle

Denne rødalgen er omgitt av en gelatinøs kappe, en egenskap som i henhold til litteraturen i noen grad kan hindre opptak og akkumulering av tungmetaller inne i algecellen (Genter 1996). Dette kan muligens bidra til at tungmetallinnholdet i *B. gelatinosum* ikke blir vesentlig høyere enn bakgrunnsnivåene og derfor tillates stor forekomst i den sinkbelastede delen av Sveselva, Figur 10. Analyser av BCF ("bioconcentration factor") av sink og eventuelt andre tungmetaller i algemateriale samlet oppstrøms og nedstrøms tungmetallpåvirket elvestrekning vil kunne belyse dette.

#### *Achnanthes minutissima* Kuetz.

I likhet med blågrønnalgen *C. fuscus* kan kiselalgen *A. minutissima* få unormalt stor forekomst ved tungmetallforurensning. Den kjennetegnes ved å tåle høye konsentrasjoner av både kobber og sink og kan i mange tilfeller danne tilnærmet monokultur i kiselalgesamfunnet i metallforurensede vassdrag (Say og Whitton 1980, Lindstrøm & Rørslett 1991, Traaen et al. 1995). Dette var også tilfellet på de tre nederste stasjonene i Sveselva, Figur 11 til venstre.

## 4.6 Naturlig bunndyrsamfunn

Bunndyrsamfunnet på referanselokaliteten, stasjon 1, var ulikt det som ble funnet ved de tre andre stasjonene (Tabell 15). Faunasammensetningen indikerer imidlertid at noe av denne forskjellen må tilskrives andre faktorer enn metall-belastningen. Enkelte av artene på stasjon 1, slik som døgnfluene *Leptaphlebia vespertina* og *Caenis moesta*, er arter som foretrekker mykt substrat og lite strøm. Disse gjenfinnes da ikke på noen av de andre stasjonene. Tilsvarende vil en art som *Baetis rhodani* hovedsakelig finnes i områder med strøm og den er da også fraværende på stasjon 1, men forekommer på de tre andre stasjonene. Artsantallet av steinfluer gir det samme bildet, med kun en art på stasjon 1.

Sett bort fra stasjon 1 var det imidlertid også høyere diversitet av døgnfluer på stasjon 2 enn på stasjon 3 og 4 (Figur 13). Spesielt to *Baetis*-arter, *B. muticus* og *B. niger*, var fraværende på stasjon 3, der det også var de høyeste metall-konsentrasjonene. Begge var imidlertid tilstede på stasjon 4.

Det var små forskjeller mellom stasjon 2, 3 og 4 med hensyn på steinflue-faunaen (Figur 14). Det var en art, *Namoura avicularis*, som forekom i høy tetthet på stasjon 3, men ikke på noen av de andre stasjonene. Dette er en art som også finnes i områder med langsom vanntransport, og det er trolig lokale mikrohabitat som har gjort at den har kunnet trives på denne stasjonen og ikke nødvendigvis høy metall-toleranse.

For vårfluer var det tydelige tegn til at stasjon 3 og 4 var belastet, mens stasjon 2 hadde en relativt normal diversitet (Figur 15). Også her var det andre arter på stasjon 1.

Tabell 15. Oversikt over bunndyr innsamlet på fire stasjoner i Sveselva 14.10.97.

## DØGNFLUER

	St1	St2	St3	St4
<i>Baetis muticus</i>	1	139	0	92
<i>Baetis niger</i>	103	15	0	15
<i>Baetis rhodani</i>	0	111	147	497
<i>Centroptilum luteolum</i>	130	12	422	0
<i>Heptagenia dalecarlica</i>	0	1	0	0
<i>Heptagenia sulphurea</i>	0	1	0	0
<i>Leptophlebia vespertina</i>	71	0	0	1
<i>Ephemera vulgata</i>	17	0	0	0
<i>Ephemera danica</i>	8	0	0	0
<i>Caenis moesta</i>	1071	0	0	0
Antall arter	6	5	2	3

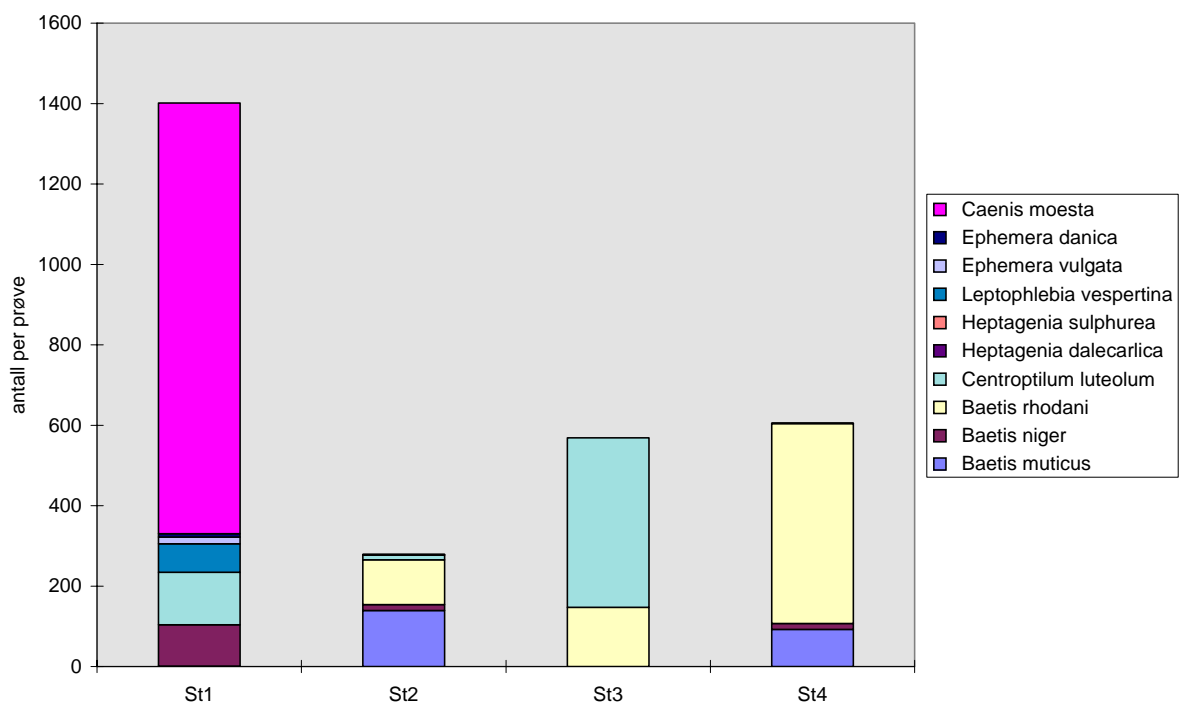
## STEINFLUER

	St1	St2	St3	St4
<i>Diura nanseni</i>	0	16	2	8
<i>Isoperla grammatica</i>	0	0	1	13
<i>Siphonoperla burmeisteri</i>	0	45	0	1
<i>Brachyptera risi</i>	0	3	0	0
<i>Amphinemura sp.</i>	0	625	299	498
<i>Amphinemura sulcicollis</i>	0	180	12	279
<i>Protonemura meyeri</i>	0	1	0	0
<i>Nemoura avicularis</i>	0	0	112	0
<i>Nemoura sp.</i>	24	36	3	36
<i>Capnopsis schilleri</i>	0	15	202	49
<i>Leuctra sp.</i>	0	0	9	0
<i>Leuctra hippopus</i>	0	32	166	125
Antall arter	1	9	9	8

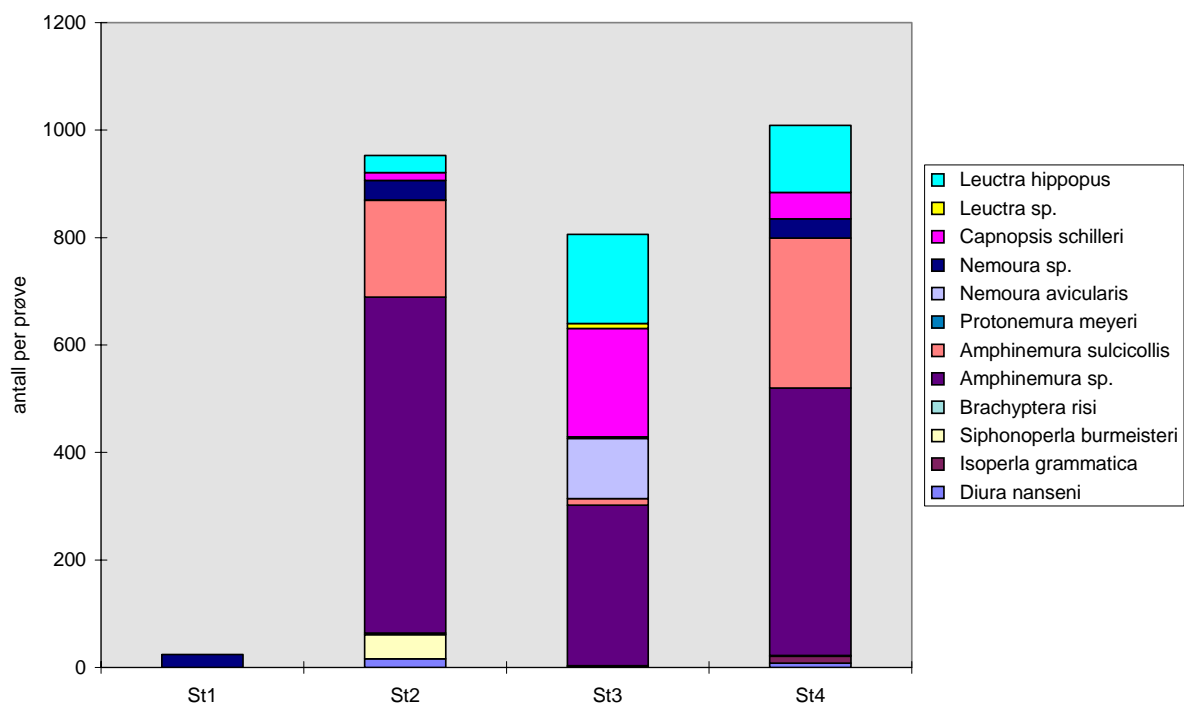
## VÅRFLUER

	St1	St2	St3	St4
<i>Rhyacophila nubila</i>	0	5	36	81
<i>Agapetus ochripes</i>	0	1	0	0
<i>Oxyethira sp.</i>	1	0	0	0
<i>Polycentropus flavomaculatus</i>	43	33	90	78
<i>Hydropsyche siltalai</i>	0	2	0	0
<i>Hydropsyche pellucidula</i>	0	2	0	0
<i>Hydropsyche sp.</i>	0	12	0	0
<i>Micrasema sp.</i>	0	28	0	0
<i>Lepidostoma hirtum</i>	0	0	0	25
<i>Limnephilidae indet.</i>	2	48	2	0
<i>Silo pallipes</i>	0	13	0	0
<i>Athripsodes sp.</i>	1	0	0	0
<i>Ceraclea nigronevosa</i>	1	0	0	0
<i>Mystacides azurea</i>	16	1	0	0
<i>Sericostoma personatum</i>	0	2	0	0
<i>Beraeodes minutus</i>	0	0	12	0
<i>Trich. indet</i>	0	1	0	27
Antall arter	6	12	4	4

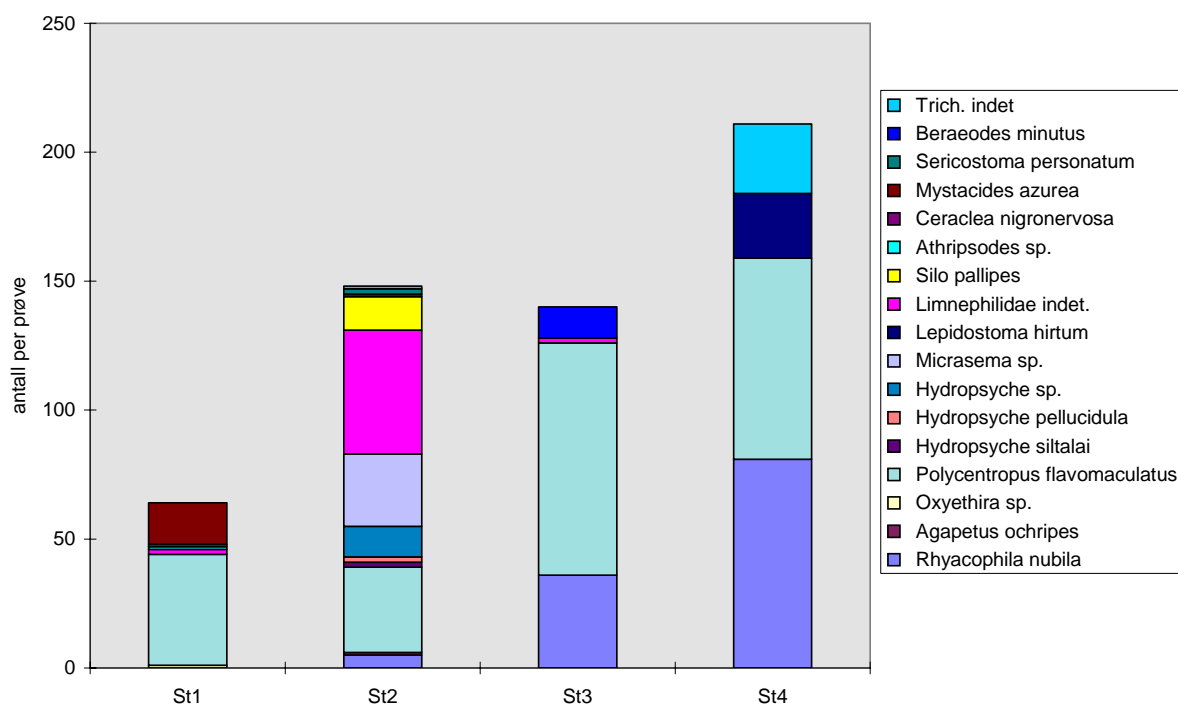




Figur 13. Antall individer av ulike arter døgnfluer på hver stasjon.



Figur 14. Antall individer av ulike arter steinfluer på hver stasjon.



Figur 15. Antall individer av ulike arter vårfluer på hver stasjon.

#### 4.7 Toleranseutvikling (PICT)

$^{14}\text{C}$ -opptaket ble målt som DPM som gir et relativt mål for primærproduksjonen i prøvene. Tabell 16 nedenfor gir DPM i alle prøvene. På stasjon 1 hadde potten veltet og påveksten er nok påvirket av dette. Påveksten på stasjon 2 og 3 var nok kanskje mer preget av tilførsel av metaller.

Ved å normalisere  $^{14}\text{C}$ -opptaket til kontrollen (null tilsetning) og benytte gjennomsnittet av de målte verdier blir det mulig å sammenligne effekten av sink innbyrdes (Figur 16). På alle stasjonene kan det se ut som om  $^{14}\text{C}$ -opptaket er noe redusert (10-30 %) ved den laveste tilsetningen av sink. Det er kun stasjon 1 som får økt  $^{14}\text{C}$ -opptak ved midlere konsentrasjoner av sink, men her er standardavviket stort og dette er ikke en signifikant effekt. Ved 560  $\mu\text{g/l}$  sink har alle en reduksjon i  $^{14}\text{C}$ -opptak på mellom 62 % og 78 %.

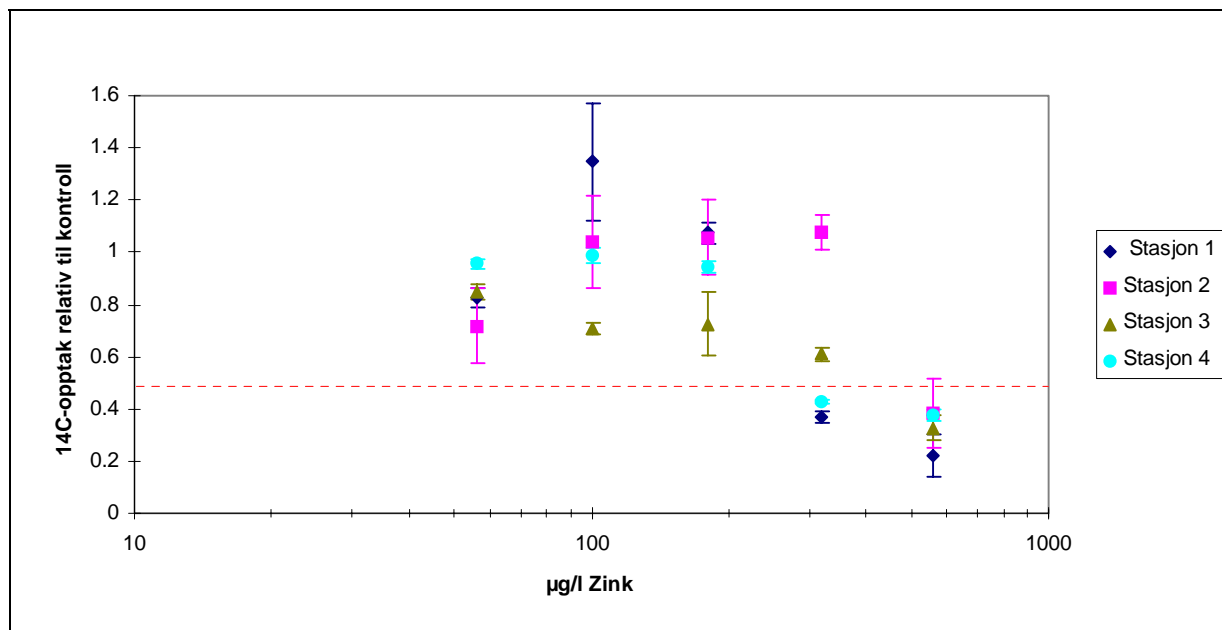
Det var mulig å beregne en EC50 verdi for begroing på alle stasjonene (den konsentrasjon som gir 50 % reduksjon i  $^{14}\text{C}$ -opptak). Disse verdiene er oppført i Tabell 17. EC50 verdiene vil være et mål for hvor sensitive algene er med hensyn til eksponering av sink. Av tabellen fremgår det at stasjon 1 og 4 har relativt lik sensitivitet, mens stasjon 3 og særlig 2 er betydelig mindre sensitive.

Tabell 17. Beregnet EC50 for  $^{14}\text{C}$ -opptak hos påvekstlger ved eksponering for sink.

Tabell 16.  $^{14}\text{C}$ -opptak som DPM i fastsittende alger fra stasjon 1-4. Prøvene er inkubert i medium laget med vann tatt fra stasjon 1. Den oppgitte sink konsentrasjonen er derfor den tilsetningen som ble gjort til alle prøvene. na=not available

Zn $\mu\text{g/l}$	Stasjon			
	1	2	3	4
	DPM			
0	287	257	536	3016
	286	279	511	3007
	307	254	482	2899
56	273	226	467	2855
	276	252	458	2898
	267	233	449	2804
100	322	249	407	2855
	368	281	406	3020
	318	272	418	2932
180	301	266	462	2759
	298	257	407	2871
	308	283	381	2814
320	218	276	377	1354
	213	271	385	1345
	216	264	369	1391
560	208	192	na	1155
	188	209	270	1288
	197	216	292	1216

Stasjon nr.	Beregnet EC50 $\mu\text{g/l}$
1	288
2	509
3	397
4	295

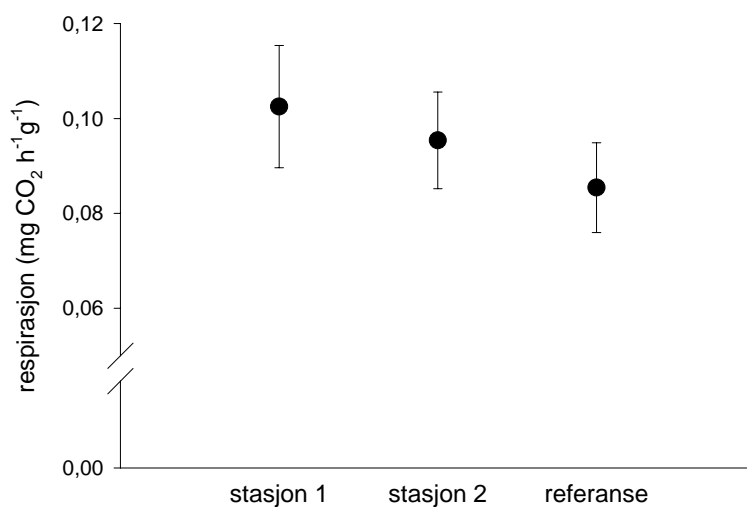


Figur 16. Normaliserte  $^{14}\text{C}$ -opptakstall for stasjonene 1-4. Tallene er midlet og inntegnet med standardavvik for de 3 parallellene. Den prikkete linjen angir hvor nivået for 50% inhibering av opptaket ligger i forhold til kontrollen.

## 4.8 Effekter på utplasserte organismer

### 4.8.1 Effekter på marflo, *Gammarus lacustris*

På grunn av stor dødelighet i boksene fra stasjon 3 og 4 grunnet transporten ble det bare målt respirasjon for individer fra stasjon 1 og 2, samt referansegruppen som hadde vært holdt ved NIVA. Det var ingen forskjeller i respirasjonsrater mellom de ulike gruppene av marflo (Figur 17). Som nevnt ovenfor døde alle individene fra stasjon 3 og 4 under transporten tilbake til NIVA.

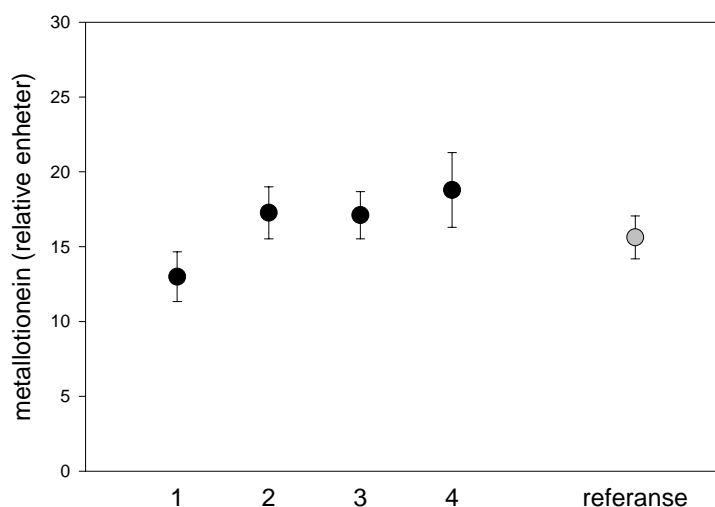


Figur 17. Respirasjonsrater til marflo holdt på stasjon 1, stasjon 2 og i NIVAs akvariesystem (referanse). Gjennomsnitt med standarfeil (n=8).

#### 4.8.2 Effekter på dammusling, *Anodonta piscinalis*

Dammusling var utplassert i ren sand i plastbokser med god vanngjennomstrømning. Effekter på dammusling ble vurdert ved å måle konsentrasjon av metall-bindende proteiner i gjellene og ved kvantifisering av vekst-potensiale ("scope for growth").

Det var en svak økning i metallotionein-konsentrasjonen i gjellene til dammusling holdt på stasjon 2-4 i forhold til stasjon 1 (Figur 18). Konsentrasjonen av metallotionein i referansemuslinger holdt ved NIVA hadde også tilsynelatende økt i forhold til musling holdt på stasjon 1.



Figur 18. Konsentrasjoner av metallothionin i gjellene til dammusling holdt på stasjoner i Sveselva (1-4) og ved NIVA (referanse). Gjennomsnitt med standardfeil, n=10. Ingen av gruppene var signifikant ulik referanse-gruppen.

#### Næringsopptak og assimilasjon

Gjennomsnittlig filtreringshastighet varierte fra 0.62 til 1.05 l h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> for de ulike bestandene. Samsvarende energiopptak varierte fra 4.65 til 6.35 J h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> (Tabell 18). Skjell fra bestand C hadde lavest energiopptak. Høyeste (B) og laveste (C) bestandsgjennomsnitt var signifikant forskjellige (variansanalyse, p < 0.05), de øvrige ikke.

Tabell 18. Bestandsgjennomsnitt (± st.avvik) for skallengde, energiopptak (assimilert), energiforbruk (respirert) og scope-for growth (SFG) pr time og gram tørrvekt skjellmat. Grupper med ulike superskript er signifikant forskjellige (p<0.05).

Bestand	stasjon	Skallengde (mm)	Assimilert J h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup>	Respirert J h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup>	SFG J h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup>
A	1	65 ± 5	6.10 ± 3.07 <sup>ab</sup>	6.56 ± 1.71 <sup>a</sup>	-0.46 ± 1.75
B	2	60 ± 5	7.84 ± 3.56 <sup>a</sup>	6.27 ± 1.17 <sup>a</sup>	1.58 ± 2.27
C	3	66 ± 8	4.65 ± 2.51 <sup>b</sup>	5.75 ± 1.42 <sup>ab</sup>	-1.10 ± 2.01
D	4	65 ± 6	5.08 ± 3.52 <sup>ab</sup>	4.93 ± 0.65 <sup>b</sup>	0.15 ± 2.51
E	referanse	69 ± 9	6.35 ± 3.85 <sup>ab</sup>	6.02 ± 1.40 <sup>ab</sup>	0.33 ± 2.51

#### Respirasjon

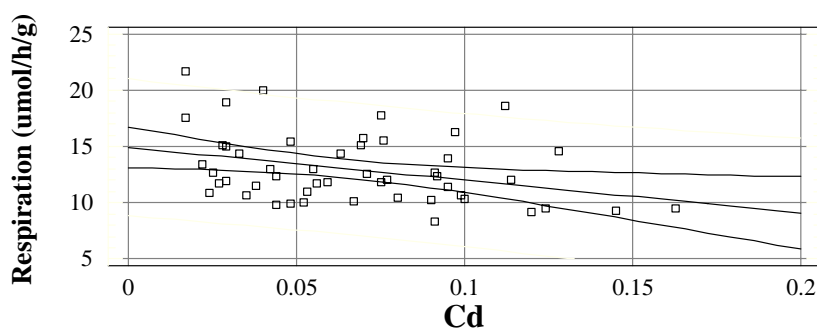
Gjennomsnittlig oksygenforbruk (respirasjon) varierte fra 10.82 μmol O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> i bestand D til 14.38 μmol O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> i bestand A. Omregnet til energiforbruk tilsvarte dette fra 4.93 til 6.56 J h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> (Tabell 18). Bestand A og B hadde signifikant høyere energiforbruk enn D, forøvrig var det ingen forskjeller mellom bestandene.

*Vekstpotensiale - scope for growth*

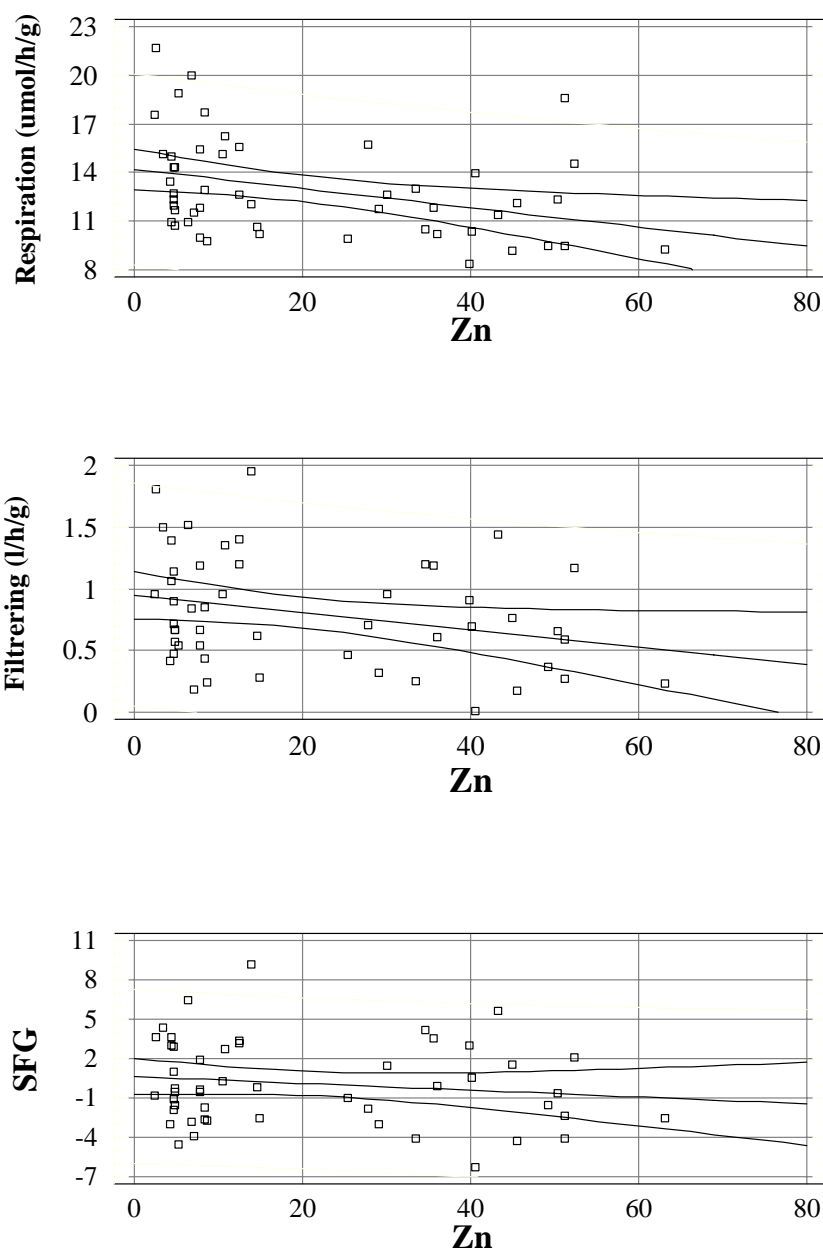
SFG-verdiene lå relativt nært 0 for de fleste bestandene, og forskjellene mellom bestandene var ikke statistisk signifikant. Tendensen var likevel at bestand C hadde lavest gjennomsnittlig SFG med en verdi på  $-1.10 \text{ J h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ . Bestand A hadde også negativ SFG. Ut fra dette ville disse bestandene hatt et netto energiforbruk, og ingen energi tilgjengelig for vekst, under de næringsforhold som forekom i deres opprinnelige biotop. De øvrige bestandene hadde positiv SFG, og best energitilstand ble funnet i bestand B med  $1.10 \text{ J h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ .

*Sammenheng mellom fysiologisk tilstand og vevsinnhold av metaller*

Sammenhengen mellom de individuelle fysiologiske rater (næringsopptak, respirasjon, SFG) og vevsinnhold av kadmium, kobber og sink ble undersøkt ved regresjonsanalyse. Det ble funnet signifikant negativ korrelasjon mellom kadmium og respirasjon (Figur 20), sink og næringsopptak, sink og respirasjon (Figur 20).



Figur 19. Sammenheng mellom kadmiuminnhold i dammuslinger og respirasjon. Hvert punkt indikerer ett individ. Helningsvinkelen i regresjonslinjen er signifikant forskjellig fra 0 ( $p < 0.05$ ). Figuren angir også 95% konfidensintervall rundt regresjonslikningen.

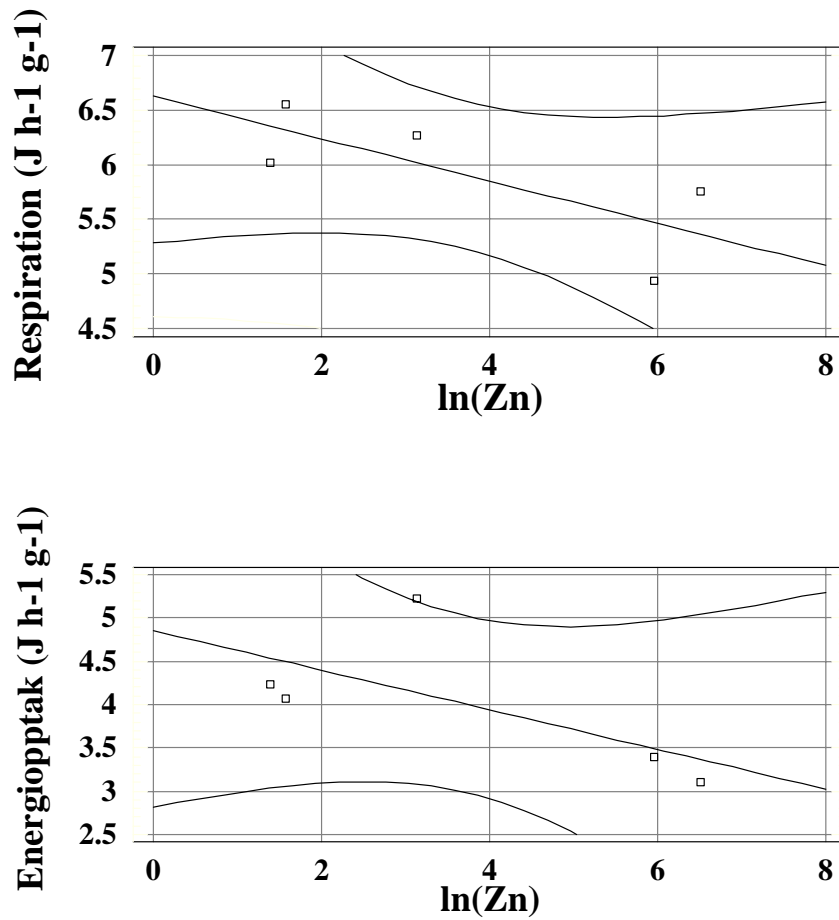


Figur 20. Sammenheng mellom sinkinnhold i dammuslinger og fysiologiske responser. Hvert punkt indikerer ett individ. Bortsett fra for SFG er helningsvinkelen i regresjonslinjene signifikant forskjellig fra 0 ( $p < 0.05$ ). Figuren angir også 95% konfidensintervall rundt regresjonslikningen.

#### *Sammenheng mellom metallinnhold i vannet og fysiologisk tilstand*

Det var en svak negativ sammenheng mellom maksimalinnhold av sink i vannet gjennom eksponeringsperioden og bestandsgjennomsnitt for energiopptak og respirasjon (Figur 21). Sammenhengen var kun statistisk signifikant ( $p < 0.05$ ) for respirasjon, men antyder at sink i vannet kan ha virket negativt både på energiopptak og forbruk. Disse to prosessene virker mot hverandre i SFG som derved ikke varierte systematisk med vannets sinkinnhold.





Figur 21. Sammenheng mellom maksimalt sinkinnhold i vannet under eksponering og gjennomsnittlig fysiologisk funksjon pr bestand. Helningsvinkelen i regresjonslinjen for respirasjon er signifikant forskjellig fra 0 ( $p < 0.05$ ). Figuren angir også 95% konfidensintervall rundt regresjonslikningene.

## 5. Diskusjon

Denne rapporten inneholder kapitler som utgjør kunnskapsstatus (2 og 3) i tillegg til et kapittel som beskriver en felt-undersøkelse. Diskusjonen vil omfatte resultatene fra felt-undersøkelsen, men trekke inn elementer fra de to andre kapitlene for derved å oppnå en helhetlig vurdering.

### 5.1 Effekter av sink på vegetasjon

Sett i forhold til referansestasjonen, st. 1, gjennomgår begroingssamfunnet i Sveselva så store endringer fra og med st. 2 at dette i alt vesentlig må skyldes sinkpåvirkningen i vassdraget. Det gjelder hele samfunnsstrukturen. Artsmangfoldet av alger halveres, for kiselalgesamfunnet er reduksjonen enda mer markert. Samtidig skjer det en tilnærmet total utskiftning av artsinnholdet. En viss eutrofiering på st. 3 og noe ulike fysiske forhold fra stasjon til stasjon kan bidra til forskjeller i artsinnhold, men forskjellene tilskrives i alt vesentlig sinkpåvirkningen. Fra og med stasjon 2 preges samfunnet av noen få arter, hvorav flere er kjent for å tåle høye konsentrasjoner av tungmetaller. Enkelte arter eks. blågrønnalgen *Chamaesiphon fuscus* og kiselalgen *Achnanthes minutissima* har sogar vist seg å få uvanlig stor forekomst ved tungmetallpåvirkning. Dette ser også ut til å være tilfellet i Sveselva.

At effektene er såvidt markerte på st. 2 kan enten tyde på at sink har markerte effekter på begroingssamfunnet selv ved så lave konsentrasjoner av sink som 20-30 µg/l, eller at lokaliteten utsettes for periodisk høyere metallbelastning enn de kjemiske analysene av vannet viser. At sink skulle ha markerte effekter på samfunnsstruktur av begroing allerede ved 20-30 µg/l er i følge litteraturen noe overraskende (Genter 1996). Norske vannkvalitetskriterier tilsier imidlertid effekter av sink på noen organismer allerede ved 30-60 µg/l (Bratlid et al. 1997).

Bortsett fra en viss reetablering av trådformede grønnalger og noe høyere likhet i artsinnhold mellom st. 1 og 4 enn mellom de øvrige stasjonene, er det lite som tyder på en normalisering av samfunnet fra st. 3 til st. 4. Det tilsier at langtidspåvirkning av sink svarende til belastningen på st. 4, 250-390 µg/l, har markerte effekter på samfunnsstruktur av begroingssalger.

I tillegg til undersøkelse av det naturlige samfunnet ble det gjort undersøkelser av hvor sinktilpasset ny begroing på de fire stasjonene ville være (PICT). Resultatene viser at begroingssamfunnet som etablerer seg på stasjoner med høy sink-belastning har høyere toleranse for sink, i overensstemmelse med det som tidligere har blitt funnet for arsen og TBT (Blanck og Dahl, 1996; Blanck og Wängberg, 1991; Molander et al. 1992). Av forsøkene som er gjort her kan man ikke vurdere hvorvidt det er slik at enkeltarter med tiden har adaptert seg eller om variasjon i sensitivitet utelukkende skyldes endringer i algesamfunnet. For å avdekke slike effekter må det utføres kontrollerte forsøk i laboratoriet med algearter tatt fra områder med ulik eksponering. Dette forsøket må sees på som et pilot forsøk, hvor hovedhensikten var å avdekke om metoden kunne avdekke adaptasjon til høye sink konsentrasjoner. Med bedre kontroll på plassering av pletter og en gunstigere innsamlingtidspunkt, ville man kunne ha oppnådd mer representative algebegroingssamfunn. Mengde algemateriale var i minste laget og ga derfor relativt store standardavvik i <sup>14</sup>C-opptakstallene. På stasjon 4 hvor det var mye alger ble parallellene meget gode (se Figur 16). For å få en bedre forståelse av funksjonsnivået til algesamfunnet burde <sup>14</sup>C-opptaket vært relatert til mengde klorofyll i algesamfunnet. Derved ville man kunne vurdere om adaptasjonen til høyere sink konsentrasjoner hadde medført en effektivitetskostnad i form av f.eks. lavere fotosyntesekapasitet. Dette modellsystemet egner seg også godt til å undersøke om en slik adaptasjon til sink også vil gjelde andre metaller. Det var imidlertid ikke tilstrekkelig materiale til å undersøke eventuelt økt toleranse til kobber og/eller kadmium i dette prosjektet.

## 5.2 Effekter av sink på bunndyr

Det var ikke klare effekter av de sink-nivåene som ble funnet ved stasjon 2 (10-20 µg/l) på bunndyrfaunaen. Faunaen på stasjon 2 kan ikke sammenlignes direkte med faunaen på referansestasjonen (stasjon 1), men det kan allikevel sies å være høy diversitet av alle tre organismegruppene (døgnfluer, steinfluer og vårfluer) på stasjon 2. Det var imidlertid klare effekter av det som trolig var metall-belastningen på bunndyrsamfunnene på stasjon 3 og 4. Dette resultatet er imidlertid ikke overraskende siden sinknivåene i vannet på disse to stasjonene lå over 250 µg/l.

Eksponering av dammusling på de fire stasjonene ga ingen dødelighet etter tre ukers eksponering. Det er dessverre ikke kvantitative mål for overlevelse av marflo, men det ble observert mange levende i alle boksene ved innsamling (de fleste individene i to av boksene døde senere under transport tilbake til NIVA).

Mens akkumuleringen av sink i gjellene til dammusling overensstemte bra med vann-konsentrasjonene, var det langt høyere nivåer av kadmium i gjellene til dammusling på stasjon 2 enn det som ville ha vært forventet med utgangspunkt i vann. Med utgangspunkt i andres resultater er det imidlertid sannsynlig at kadmium-konsentrasjonen i gjeller til utplassert dammusling beskriver belastningen i vannet bedre enn konsentrasjonene av sink. Ved moderate konsentrasjoner av sink (<200 µg/l) akkumulerte muslingen *Dreissenia* ikke dette metallet (Kraak et al. 1994). Dammusling på stasjon 2 ble trolig eksponert for både kadmium og sink i høyere konsentrasjoner enn det som ville ha vært antatt med utgangspunkt i vann-verdiene. Siden sink-akkumulering reguleres vil dette nivået ikke stige hvis belastningen har ligget ned mot 100-200 µg/l. Det samme resultatet ville ha bli funnet hvis muslingene hadde blitt eksponert for en puls med høy konsentrasjon tidlig i eksponeringsperioden. Kadmium har lang halveringstid og ville ha forblitt i vevet, mens sink ville ha blitt skilt ut.

Den lille økningen i metallotionein i gjellene selv ved høye sink-konsentrasjoner i vannet overensstemmer med observasjonene til (Hemelraad et al. 1987), som ikke fant vesentlig økning i lavmolekylære metall-bindende proteiner (metallotionein) ved belastning med 2.5 mg/l sink. Metallotionein i gjeller til ferskvannsmuslinger har vist klare responser i andre undersøkelser der muslingene har vært eksponert for kadmium, kobber og sink (Couillard et al. 1995; Couillard et al. 1995; Legrand et al. 1987; Tessier og Blais, 1996). Tilsvarende har flere studier med østers vist at eksponering for kadmium vil føre til økninger av metallotionein i gjeller (Roesijadi et al. 1996; Roesijadi og Klerks, 1989b).

Det var ingen målbare effekter av belastningen på respirasjon hos marflo. Det syntes imidlertid heller ikke som om utplassering og transport påvirket respirasjonen siden verdiene for referansegruppen som ble holdt på NIVA var de samme som for felt-eksponerte individer.

Filtreringshastighet i dammuslinger under dette forsøket var langt lavere enn man har funnet for blåskjell under tilsvarende temperaturbetingelser. Blåskjell på størrelse rundt 40-50 mm vil normalt filtrere rundt 2 - 3 l h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> (Widdows & Johnson 1988, Hylland *et al* 1997, og andre), mot 0.6 - 1.1 l h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> funnet hos dammuslingene. Det er ikke funnet arbeider som indikerer hva normalnivået av filtrering hos dammuslinger er, men lav filtreringshastighet, 0.05 - 0.30 l h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>, ble også funnet av Daukas et al. (1981) hos *Anodonta implikata* ved bruk av samme måleteknikk. Filtreringsaktiviteten hos dammuslinger synes å være periodisk i langt større grad enn hos blåskjell (Salanki og V.-Balogh 1989, Earll 1976). Earll (1976) anslår at dammuslinger kan være inaktive i vel 20% av døgnet, og inaktive perioder kan ha hatt noe innvirkning på de målte filtreringshastigheter. Våre tall angir maksimal filteringshastighet i 3-4 tidsintervall over en periode på ca 2 timer, og forskjellene i filtrering fra intervall til intervall kunne være opp til en størrelsesorden. Filtreringshastighet på over 1 l h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> i et enkelt intervall var imidlertid sjelden.

Den lave filtreringshastigheten gjør at beregnet energioptak blir lavt når man legger standard verdi for assimilasjonseffektivitet hos blåskjell, og næringsinnhold i vannet dammuslingene ble samlet fra opprinnelig, til grunn for beregningene. Det ikke er kjent hvor almenyldige disse standardverdiene er, men uansett gyldighet påvirker de i hvert fall ikke den relative forskjell i energioptak mellom testbestandene.

Energiforbruket målt som respirasjon,  $4.9 - 6.6 \text{ J h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ , varierte innen samme intervall som er funnet for blåskjell av tilsvarende størrelse under normale betingelser (Widdows & Johnson 1988, Hylland et al 1997).

Under de gitte betingelsene ble SFG funnet å være nær 0 for samtlige testbestander. To av bestandene hadde negativt gjennomsnittlig SFG, dvs at de i sin normale biotop ville ha hatt et netto teoretisk forbruk av energi også under normalt tilstand. Det er ikke sannsynlig at reell assimilasjonseffektivitet avviker vesentlig mellom dammuslinger og blåskjell, siden næringsopptak og fordøyelsesystem er svært likt. Imidlertid er SFG følsom for hvilken næringsverdi som settes på vannet de filtrerer. For testbestand C (gj.sn. SFG:  $-1.10$ ) behøver man f.eks bare å endre denne fra 15 til  $19 \text{ J l}^{-1}$  for at SFG skal bli positiv. Det er sannsynlig at partikkelmengden i det vannet dammuslingene reelt sett filtrerer er høyere enn i vannet generelt siden dammuslingene lever delvis nedgravd i sedimentet og derfor pumper fra laget like over bunnen. Pålitelige tall for næringsinnholdet her finnes imidlertid ikke.

Jo høyere faktor for næringsinnhold som anvendes jo mer vil også bestandsforskjeller i SFG reflektere forskjeller i energioptak. Dette viser at dersom beregning av SFG i dammuslinger skal gi resultater med populasjonsøkologisk utsagnskraft, må man ha realistiske tall først og fremst for næringsinnhold i det vannet muslingene normalt vil oppholde seg i. I forsøk som her der formålet er å sammenlikne teoretisk vekstpotensiale mellom bestander ut fra filtreringshastighet og respirasjon målt under samme betingelser, er imidlertid de anvendte standardfaktorer akseptable.

Både energioptak og energiforbruk viste synkende tendens med økning av vevsnivå av sink og økende konsentrasjon av sink i vannet skjellene hadde vært utsatt for. Laveste energioptak ble funnet hos skjellene som hadde blitt plassert rett nedenfor tilførselsområdet i testvassdraget (bestand C) hvor sinknivået i vannet var høyest (maksimalt  $670 \mu\text{g/l}$ ). Vevsnivået av sink i denne testbestanden var i gjennomsnitt 7-10 ganger høyere enn i kontrollbestandene etter belastningsperioden (Figur 7). Laveste oksygenforbruk ble funnet hos skjellene satt noen kilometer lenger nede i vassdraget (bestand D). Om det var vannivået eller vevsnivået av sink som hadde størst innvirkning på de fysiologiske prosessene er vanskelig å avgjøre siden disse var sterkt korrelerte. Man må regne med at iallfall filtreringshastighet, til dels også oksygenopptak, kan påvirkes både av atferd (sink i vannet) og fysiologisk/biokjemisk tilstand (sink i vevet). Siden målingene foregikk i rent vann 1-3 døgn etter at belastningen var avsluttet, er det imidlertid mest sannsynlig at det er vevsnivået av sink som har vært avgjørende.

SFG er differansen mellom energioptak og energiforbruk og siden begge prosessene viste fallende tendens med økende sinkbelastning, varierte SFG usystematisk i forhold til metallbelastningen. Dette er en annen situasjon enn man f.eks har funnet ved oljebelastning av blåskjell (Widdows og Johnson 1988) der økende belastning har resultert i synkende energioptak og økende energiforbruk, og derved forsterket negativ effekt på SFG. Likevel var tendensen at den mest belastet bestanden (C) også hadde det laveste teoretiske energetiske vekstpotensialet.

Nytteverdien i de fysiologiske effektmålingene av dammuslinger i denne undersøkelsen ligger først og fremst i de enkelte energiprosessene næringsopptak og respirasjon som begge viste relativt klare negative reaksjoner på metallbelastningen. Beregning av teoretisk vekstpotensiale, scope-for-growth, ut fra disse ga langt større usikkerhet både fordi SFG er avhengig av realistiske tall for naturlig

næringsinnhold i vannet skjellene lever i, og for skjellenes assimilasjonseffektivitet, og fordi effektene på hovedelementene som inngår i SFG var slik at SFG ble mer ufølsom enn disse.

### 5.3 Effekter av sink på fisk

Fisk var ikke inkludert i den eksperimentelle delen av dette prosjektet. I forhold til andre ferskvannsorganismer er fisk generelt lite følsomme for forhøyde nivåer av sink. Det har imidlertid vært beskrevet effekter ved konsentrasjoner ned under 100 µg/l, som oftest på stadier i utvikling (egg, larver). For de fleste fiskearter vil en måtte ha konsentrasjoner over 200-300 mg/l for å få effekter på voksne individer (i bløtt vann).

### 5.4 Effekter av sink på plankton

Noen arter av både planteplankton og dyreplankton er særlig følsomme for sink, med effekter observert ned mot (og i noen tilfeller under) 50 µg/l. Dette gjelder også arter og slekter som finnes i norske vassdrag, slik som *Selenastrum* og *Daphnia*. Det er imidlertid store artsforskjeller, selv mellom arter i samme slekt.

### 5.5 Hva er den beste metoden til å identifisere biologiske effekter av sink?

Det ble benyttet en rekke ulike metoder til å undersøke effektene av sink i et vassdrag. Responsene til de ulike metodene er skissert i Tabell 19. Som det vil framgå var det tilsynelatende effekter på flere parametre på stasjon 2 med relativt lave målte sink-konsentrasjoner i vannet. Et problem i tolkningen av resultatene er det faktum at stasjon 1 også skilte seg fra de andre stasjonene med hensyn på andre egenskaper enn metall-belastning. Det var imidlertid klare signaler på stasjon 2 om metall-påvirkning, særlig på vegetasjon. Sammenholdt med resultatene for bioakkumulering viser imidlertid resultatene at det trolig er tilførsler av både kadmium og sink som ikke blir fanget opp i analysene av vann fra denne stasjonen.

Tabell 19. Respons i ulike metoder til vurdering av biologiske effekter ved sink-belastning. -: ingen respons (eller referanse), (+): svak respons, ++: respons, +++: sterk respons, (-): ikke relevant

	stasjon 1	stasjon 2	stasjon 3	stasjon 4	referanse
Zn-konsentrasjon vann (µg/l)	0.5-4.8	9.4-23	300-670	250-390	
Cd-konsentrasjon vann (µg/l)	0.02-0.04	0.05-0.11	0.5-1.3	0.43-0.72	
vegetasjonssamfunn	-	+	+	+	im
bunndyrsamfunn	(-)	-	++	++	im
PICT	-	++	+	-	im
metallotionein i dammusling	-	(+)	(+)	(+)	-
Zn i dammusling	-	+	++	++	-
Cd i dammusling	-	++	++	++	(+)
SFG i dammusling	+	-	+	(+)	(+)
respirasjon hos marflo	-	-	im	im	-
forventet effekt (litteratur)	-	(+)	++	++	-

im – ikke målt

Som det vil framgå var det ingen av metodene som alene kunne gi et oversiktsbilde av mulige effekter. Resultatene tyder på imidlertid på at vegetasjon, både naturlig begroing og toleransen til nyetablert begroing, er følsom for sink. Uten mål for biotilgjengelighet og bioakkumulering ville det imidlertid ha vært vanskelig å tolke resultatet (lav konsentrasjon i vannet, men allikevel effekter). Det skal ikke

utelukkes at tilsvarende effekter ville ha vært observerbare for bunndyr med en relevant referanse, men bunndyrsamfunnet på stasjon 2 var tilsynelende relativt upåvirket. De biokjemiske og fysiologiske målene viste at dammusling ble påvirket, men at påvirkningen ikke syntes å ha alvorlige konsekvenser her. Dammusling var imidlertid svært godt egnet til slike utsettingsforsøk og arten kan være en god modell for effekter av andre metaller.

Det ble ikke benyttet fisk i denne undersøkelsen, hovedsakelig fordi effekter av sink på fisk er svært godt dokumentert. Det er mulig at det ville ha blitt noe dødelighet av fisk (ørret) utplassert på stasjon 3. Det er videre sannsynlig at fiskens gjeller og lever ville ha akkumulert kadmium, men trolig ikke sink, på stasjon 2, 3 og 4.

Resultatene viser tydelig at det er nyttig å benytte en kombinasjon av kjemiske og biologiske metoder til å beskrive en belastningssituasjon for et vassdrag. Bruk av få metoder vil kunne gi misvisende konklusjoner, slik som at stasjon 2 i denne undersøkelsen var enten "lite belastet" (med utgangspunkt i vann-analysene og bunndyr-resultatene) eller "svært belastet" (med utgangspunkt i vegetasjons- og bioakkumuleringsresultatene).

## 6. Konklusjoner

Sink forekommer i naturen nesten alltid sammen med andre metaller, særlig kadmium. Sink benyttes mye som korrosjonsbeskyttelse og som legeringsmetall, men det er også en rekke andre anvendelsesområder. Bakgrunnsnivået av sink i norske vassdrag er trolig  $< 1 \mu\text{g/l}$ .

Det er to norske gruver i drift som gir tilførsler av sink til miljøet, Bleikvassli og Grong Gruber. Ved siste oversikt kom de største tilførslene fra gruver i Løkken, Sulitjelma, Skorovass, Folldal, Nordgruvefeltet (Røros), Killingdal og Bleikvassli.

Vannkvalitetskriterier for sink gir  $1-10 \mu\text{g/l}$  som øverste grense for den laveste kategorien ("god", "mycket låga"), mens drikkevannskriterier ligger fra  $100 \mu\text{g/l}$  og oppover.

Alle levende organismer, fra bakterier til blåhval, har behov for sink. Sink har betydning for vekst, immunforsvaret (helse), ioneregulering, avgiftning (frie radikaler, cytokromer), oksygentransport (oppbygging av hemoglobin) og nervesystemet.

Det er begrensede kunnskaper om mekanismene bak eventuell giftighet av sink, men det er sannsynlig at interaksjoner med andre metaller som jern og kobber er viktige.

Kronisk eksponering for lave nivåer av metallene kadmium, kobber og/eller sink vil gi en økt toleranse for de samme metallene hos fisk. Det samme vil være tilfelle hos noen evertebrater. I blandingseksponering vil imidlertid gifteffektene være additive eller synergistiske.

Effektene av sink i ferskvann vil særlig være avhengig av pH og hardhet, men også vannets temperatur og oksygen-innhold vil ha betydning for giftigheten. Det er ulike mekanismer for akutt og kronisk giftighet av sink, noe som må tas hensyn til ved beregning av kriterier.

Effekt-grenser for sink varierer fra omkring  $10 \mu\text{g/l}$  til over  $1 \text{mg/l}$ . De mest følsomme artene i korttidstester er alger og krepsdyr, mens voksne fisk er tolerante. Utvikingsstadier hos fisk kan imidlertid være følsomme.

Det var tilsynelatende effekter på vegetasjon ved eksponering for  $20-30 \mu\text{g/l}$  sink. Nyetablert begroing på denne stasjonen hadde høyere sink-toleranse enn begroing på stasjoner med over  $200 \mu\text{g/l}$  sink i vannet. Dette resultatet kan tyde på at det er en metall-belastning på denne stasjonen som ikke fanges opp av vann-analysene.

Både vegetasjon og bunndyr var klart påvirket på stasjoner med sink-nivåer i området  $250-670 \mu\text{g/l}$ .

Både kadmium og sink akkumulerte i gjellene til dammusling på alle sink-belastede stasjoner. Konsentrasjonene av kadmium i både dammusling og marflo på stasjonen midt i influensområdet var høyere enn det som ville ha vært forventet med utgangspunkt i vann-konsentrasjonene. Dette resultatet støtter opp om observasjonene av effekter på vegetasjon på denne stasjonen og peker i retning av at det er pulsvis eller heterogen tilførsel av metaller på denne stasjonen.

Det var en sammenheng mellom metall-akkumulering og konsentrasjonen av metall-bindende proteiner i gjellene til dammusling. Det var også en negativ sammenheng mellom metall-akkumulering og fysiologiske responser hos muslingene. Ingen av disse effekt-markørene ga sterke responser selv på stasjonen med  $300-670 \mu\text{g/l}$  sink.

Det er viktig å benytte de riktige overvåkingsmetodene. I denne undersøkelsen var det svært nyttig å ha et bredt spekter av både kjemiske og biologiske parametre for tolkningen av forurensningsbelastningen.



## 7. Referanser

- Anadu, D.I., Chapman, G.A., Curtis, L.R. og Tubb, R.A. (1989) Effect of zinc exposure on subsequent acute tolerance to heavy metals in rainbow trout. *Bull.environ.Contam.Toxicol.* **43**, 329-336.
- Arnesen, R.T. (1965) En undersøkelse av vassdragsforurensninger 1962-64 for Elektrokemisk A/S Skorovas gruber. 42/62, pp.1-151. Oslo: NIVA.
- Arnesen, R.T. (1996) Forurensningstransport fra Hadeland Bergverk, Grua i Lunner kommune. 3561-96, pp.1-19. Oslo: NIVA.
- Arnesen, R.T. og Iversen, E. (1995) Transport av tungmetaller fra norske kisgruver. 3294, pp.1-164. Oslo: NIVA.
- Atchison, G.J., Henry, M.G. og Sandheinrich, M.B. (1987) Effects of metals on fish behavior: a review. *Environ.Biol.Fishes* **18**, 11-25.
- Behra, R. (1993) *In vitro* effects of cadmium, zinc and lead on calmodulin-dependent actions in *Oncorhynchus mykiss*, *Mytilus* sp. and *Chlamydomonas reinhardtii*. *Arch.environ.Contam.Toxicol.* **24**, 21-27.
- Blanck, H. og Dahl, B. (1996) Pollution-induced community tolerance (PICT) in marine periphyton in a gradient of tri-n-butyltin (TBT) contamination. *Aquat.Toxicol.* 59-77.
- Blanck, H. og Wängberg, Å. (1991) Pattern of cotolerance in marine periphyton communities established under arsenate stress. *Aquat.Toxicol.* 1-14.
- Bratlid, J.L., Holtan, H. og Rosland, D.S. 1997. Klassifisering av miljøkvalitet i ferskvann. Veiledning. (under utarbeidelse).
- Brouwer, A., Enghild, J., Hoexum-Brouwer, T., Thogersen, I. og Truncali, A. (1995) Primary structure and tissue-specific expression of blue crab (*Callinectes sapidus*) metallothionein isoforms. *Biochem.J.* **311**, 617-622.
- Brouwer, M., Winge, D.R. og Gray, W.R. (1989) Structural and functional diversity of copper-metallothioneins from the American lobster *Homarus americanus*. *J.inorg.Biochem.* **35**, 289-303.
- Bækken, T., Grande, M. og K. J. Aanes. 1993. Naturens Tålegrenser. Tungmetaller og effekter på macrovertebrater og fisk. Effekter av kadmium og sink - eksperimentelle undersøkelser. Fremdriftsrapport for arbeid utført i 1992. NIVA , Oslo. Rapport nr. 0-91112/91443. 27 s.
- Chapman, G.A. (1985) Acclimation as a factor influencing metal criteria. In: Bahner, R.C. og Hansen, D.J., (Eds.) *Aquatic toxicology and hazard assessment: eight symposium*, pp. 119-136. Philadelphia: American Society for Testing and Materials]
- Chung, K., Romero, N., Tinker, D., Keen, C.L., Amemiya, K. og Rucker, R. (1988) Role of copper in the regulation and accumulation of superoxide dismutase and metallothionein in rat liver. *J.Nutr.* **118**, 859-864.

- Clubb, R.W., Lords, J.L. og Gaufin, A.R. (1975) Isolation and characterization of a glycoprotein from the stonefly, *Pteronarcys californica*, which binds cadmium. *J.Insect Physiol.* **21**, 53-60.
- Couillard, Y., Campbell, P.G.C., Pellerin-Massicotts, J. and Auclair, J.C. (1995) Field transplantation of a freshwater bivalve, *Pyganodon grandis*, across a metal contamination gradient. II. Metallothionein response to Cd and Zn exposure, evidence for cytotoxicity, and links to effects at higher levels of biological organization. *Can.J.Fish.aquat.Sci.* **52**, 703-715.
- Couillard, Y., Campbell, P.G.C. og Tessier, A. (1993) Response of metallothionein concentrations in a freshwater bivalve (*Anodonta grandis*) along an environmental cadmium gradient. *Limnol.Oceanogr.* **38**, 299-313.
- Couillard, Y., Campbell, P.G.C., Tessier, A., Pellerin-Massicotts, J. og Auclair, J.C. (1995) Field transplantation of a freshwater bivalve, *Pyganodon grandis*, across a metal contamination gradient. I. Temporal changes in metallothionein and metal (Cd, Cu, and Zn) concentrations in soft tissues. *Can.J.Fish.aquat.Sci.* **52**, 690-702.
- Cousins, R.J. (1985) Absorption, transport, and hepatic metabolism of copper and zinc: Special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol.Rev.* **65**, 238-309.
- Cousins, R.J. (1986) Toward a molecular understanding of zinc metabolism. *Clin.Physiol.Biochem.* **4**, 20-30.
- Cusimano, R.F., Brakke, D.F. og Chapman, G.A. (1986) Effects of pH on the toxicities of cadmium, copper, and zinc to steelhead trout (*Salmo gairdneri*). *Can.J.Fish.aquat.Sci.* **43**, 1497-1503.
- Dallinger, R., Janssen, H.H., Bauer-Hilty, A. og Berger, B. (1989) Characterization of an inducible cadmium-binding protein from hepatopancreas of metal-exposed slugs (arionidae, mollusca). *Comp.Biochem.Physiol.* **92C**, 355-360.
- Dohi, Y., Ohba, K. og Yoneyama, Y. (1983) Purification and molecular properties of two cadmium-binding glycoproteins from the hepato-pancreas of a whelk, *Buccinum tenuissimum*. *Biochim.Biophys.Acta* **745**, 50-60.
- Daukas, P., Peterson, B.J., Bowden, W.B.. The clearance rates of chlorophyll a of the freshwater mussels, *Anodonta implicata* Say and *Elliptio complanata* (Lightfoot). *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab. Woods Hole*, 161, 325. 1981. Summary only.
- Draper, N.R. og Smith, H. (1981) *Applied regression analysis*, 2 edn. New York: John Wiley & Sons.
- Duncan, D.A. og Klaverkamp, J.F. (1983) Tolerance and resistance to cadmium in white suckers (*Catostomus commersoni*) previously exposed to cadmium, mercury, zinc, or selenium. *Can.J.Fish.aquat.Sci.* **40**, 128-138.
- Earll, R., Evans, D.T. (1974) Selector systems in recording physiological and behavioural activity in sedentary aquatic animals. *J. exp. mar. Biol. Ecol.* **15**, 35-41.
- Ebadi, M., Paliwal, V.K., Takahashi, T. og Iversen, P.L. (1989) Zinc metallothionein in mammalian brains. In: Hamer, D.H. og Winge, D.R., (Eds.) *Metal ion homeostasis: molecular biology and chemistry*, pp. 257-267. New York: Alan R. Liss, Inc.]
- EU-direktiv 80/778/EØF. Rådets direktiv av 15. juli 1980 om kvalitet av drikkevann.

- Fosmire, G.J. (1990) Zinc toxicity. *Am.J.Clin.Nutr.* **51**, 225-227.
- Galdes, A. og Vallee, B.L. (1988) Categories of zinc metalloenzymes. In: Sigel, H., (Ed.) *Metal ions in biological systems, vol. 15*, pp. 1-54. New York: Marcel Dekker, Inc.]
- Genter, R.B. 1996. Ecotoxicology of Inorganic Chemical Stress to Algae. In: Stevenson, R.J., Bothwell, M.L. & Lowe, R.L. (eds.) *Algal Ecology. Freshwater Benthic Ecosystems. Aquatic Ecology Series.* Academic Press San Diego, California: 403-468.
- Glynn, A.W., Haux, C. og Hogstrand, C. (1992) Chronic toxicity and metabolism of Cd and Zn in juvenile minnows (*Phoxinus phoxinus*) exposed to a Cd and Zn mixture. *Can.J.Fish.aquat.Sci.* **49**, 2070-2079.
- Grande, M. og Romstad, R. 1988. Tiltaksorientert overvåking i Orkla 1987. Statlig program for forurensningspåvirkning, SFT. Rapport nr 326/88: 66 sider.
- Grande, M. (1991) Biologiske effekter av gruveindustriens metallforurensninger. 2562, pp.1-136. Oslo: NIVA.
- Grande, M. og Romstad, R. 1996. Tiltaksorientert overvåking i Orkla 1995. Statlig program for forurensningspåvirkning, SFT. Rapport nr 670/96: 53 sider.
- Halliwell, B. og Gutteridge, J.M.C. (1989) *Free radicals in biology and medicine*, 2 edn. Oxford: Clarendon Press.
- Hemelraad, J., Klenveld, H.A., de Roos, A.M., Holwerda, D.A. og Zandee, D.I. (1987) Cadmium kinetics in freshwater clams. III. Effects of zinc on uptake and distribution of cadmium in *Anodonta cygnea*. *Arch.environ.Contam.Toxicol.* **16**, 95-101.
- Hogstrand, C. og Haux, C. (1991) Binding and detoxification of heavy metals in lower vertebrates with reference to metallothionein. *Comp.Biochem.Physiol.* **100C**, 137-142.
- Holtan, H. , red (1989) Vannkvalitetskriterier for ferskvann. TA-630, SFT.
- Hylland, K., Bakke, T., Förlin, L. (1998) Overvåking av effekter av miljøgifter på blåskjell og torsk fra Grenlandsfjordene 1996. NIVA/SFT Overvåkingsrapport 714/97 TA-nr. 1486/97, 28 s.
- Jørgensen, C.B., Kjørboe, T., Møhlenberg, F., og Riisgaard, H.U. Ciliary and mucus-net filter feeding, with special reference to fluid mechanical characteristics. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 15, 283-292. 1984.
- Karin, M., Haslinger, A., Heguy, A., Dietlin, T. og Cooke, T. (1987) Metal-responsive elements act as positive modulators of human metallothionein-II<sub>A</sub> enhancer activity. *Mol.Cell Biol.* **7**, 606-613.
- Kime, D.E. (1995) The effects of pollution on reproduction in fish. *Rev.Fish Biol.Fish.* **5**, 52-96.
- Klaverkamp, J.F., Macdonald, W.A. og Duncan, D.A. (1984) Metallothionein and acclimation to heavy metals in fish: a review. In: Cairns, V.W., Hodson, P.V. and Nriagu, J.O., (Eds.) *Contaminant effects on fisheries*, pp. 99-113. New York: John Wiley & Sons]

- Kraak, M.H.S., Lavy, D., Schoon, H., Toussaint, M., Peeters, W.H.M. og van Straalen, N.M. (1994) Ecotoxicity of mixtures of metals to the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Environ.Toxicol.Chem* 109-114.
- Kraak, M.H.S., Schoon, H., Peeters, W.H.M. og van Straalen, N.M. (1993) Chronic ecotoxicity of mixtures of Cu, Zn, and Cd to the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Ecotoxicol.Environ.Saf* 315-327.
- Kägi, J.H.R. (1991) Overview of metallothionein. In: Riordan, J.F. og Vallee, B.L., (Eds.) *Metallobiochemistry, Part B: metallothionein and related molecules*, pp. 613-626. London: Academic Press]
- Kägi, J.H.R. og Schäffer, A. (1988) Biochemistry of metallothionein. *Biochem.* **27**, 8509-8515.
- Landner, L. og Lindeström, L. (1996) Zink - resurs eller hot? En faktaredovisning. pp.1-142. Fryksta, Sweden: Miljöforskargruppen.
- Legrand, C., Huizenga, D., Schenk, R., Tessier, A. og Campbell, P.G.C. (1987) Cadmium-, copper- and zinc-binding proteins in various tissues of the freshwater pelecypod *Anodonta grandis* collected from a mining area. *Experientia Suppl.* **52**, 31-31.
- Lerch, K., Ammer, D. og Olafson, R.W. (1981) Amino acid sequence of crab metallothionein. *FEBS Lett.* **126**, 165-168.
- Léonard, A. og Gerber, G.B. (1989) Zinc toxicity: does it exist? *J.Am.Coll.Toxicol.* **8**, 1285-1290.
- Levasseur, J. 1993. Le zinc, propriétés et applications. *Matériaux et Techniques*, 6 - 7: 45.
- Lin, H.-C. og Dunson, W.A. (1993) The effect of salinity on the acute toxicity of cadmium to the tropical, estuarine, hermaphroditic fish, *Rivulus marmoratus*: A comparison of Cd, Cu, and Zn tolerance with *Fundulus heteroclitus*. *Arch.Environ.Contam.Toxicol* 41-47.
- Lindeström, L. (1991) Miljöbedömning av metallsituationen i Dalälven och Bottenhavet. Konsekvenser av at åtgärda gruvavfall. Rapport för Dalälvdelegationen. MFG T9103.
- Lindeström, L., Nordén, U., Tyler, G. (1988) Zinc i miljön. En kunnskapsöversikt sammanställd för projektområdet "metallers påverkan på den yttre miljö". SNV-rapport 3429, 111 s.
- Lindstrøm, E.-A. & Rørslett, B. 1991. The effects of heavy metal pollution on periphyton in a Norwegian soft-water river. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 24: 2215-2219.
- Lithner, G. (1989) Some fundamental relationships between metal toxicity in freshwater, physico-chemical properties and background levels. *Sci.total Environ.* **87/88**, 365-380.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. og Randall, R.J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J.biol.Chem.* **193**, 265-275.
- Mackay, E.A., Overnell, J., Dunbar, B., Davidson, I., Hunziker, P.E., Kägi, J.H.R. og Fothergill, J.E. (1990) Polymorphism of cadmium-induced mussel metallothionein. *Experientia* **46**, A36
- McCarter, J.A., Matheson, A.T., Roch, M., Olafson, R.W. og Buckley, J.T. (1982) Chronic exposure of coho salmon to sublethal concentrations of copper - II. Distribution of copper between

- high- and low- molecular-weight proteins in liver cytosol and the possible role of metallothionein in detoxification. *Comp.Biochem.Physiol.* **72C**, 21-26.
- McCarter, J.A. og Roch, M. (1984) Chronic exposure of coho salmon to sublethal concentrations of copper - III. Kinetics of metabolism of metallothionein. *Comp.Biochem.Physiol.* **77C**, 83-87.
- McDonald, D.G. og Wood, C.M. (1993) Branchial mechanisms of acclimation to metals in freshwater fish. In: Rankin, J.C. og Jensen, F.B., (Eds.) *Fish ecophysiology*, pp. 297-321. London: Chapman & Hall]
- Molander, S., Dahl, B., Blanck, H., Jonsson, J. og Sjöström, M. (1992) Combined effects of tri-n-butyl tin (TBT) and diuron on marine periphyton communities detected as pollution-induced community tolerance. *Arch.environ.Contam.Toxicol.* 419-427.
- Mosland, A.B. og Christiansen, J.V. 1993. Materialstrømanalyse av sink. Vurdering av alternativer SFT TA-nr. 1016/1993, ISBN 82-7655-175-0.
- Newman, M.C. og Mitz, S.V. (1988) Size dependence of zinc elimination and uptake from water by mosquitofish Gambusia affinis (Baird and Girard). *Aquat.Toxicol.* **2**, 7-32.
- OECD 1995. Risk Reduction Monograph No. 5: Cadmium. Background and national experience with reducing risk. OECD Environment Monograph Series No. 104. OECD/GD(94)97, Paris
- Olafson, R.W. and Olsson, P.-E. (1991) Electrochemical detection of metallothionein. In: Riordan, J.F. og Vallee, B.L., (Eds.) *Metallobiochemistry. Part B: metallothionein and related molecules*, pp. 205-213. London: Academic Press]
- OSPAR (1996) Report of the third OSPAR workshop on ecotoxicological assessment criteria. pp.1-34. London: Oslo and Paris Commissions.
- Ou, C.Z. og Ebadi, M. (1992) Pineal and retinal protein kinase C isoenzymes: cooperative activation by calcium and zinc metallothionein. *J.Pineal Res.* **12**, 17-26.
- Paliwal, V.K., Iversen, P.L. og Ebadi, M. (1990) Regulation of zinc metallothionein II mRNA level in rat brain. *Neurochem.Int.* **17**, 441-447.
- Palmiter, R.D., Findley, S.D., Whitmore, T.E. og Durnam, D.M. (1992) MT-III, a brain-specific member of the metallothionein gene family. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* **89**, 6333-6337.
- Pedersen, K.L., Pedersen, S.N., Højrup, P., Andersen, J.S., Roepstorff, P., Knudsen, J. og Depledge, M.H. (1994) Purification and characterization of a cadmium-induced metallothionein from the shore crab *Carcinus maenas* (L.). *Biochem.J.* **297**, 609-614.
- Pocino, M., Malave, I. and Baute, L. (1990) Zinc administration restores the impaired immune response observed in mice receiving excess copper by oral route. *Immunopharmacol.Immunotoxicol.* **12**, 697-713.
- Predki, P.F. og Sarkar, B. (1994) Metal replacement in "zinc finger" and its effect on DNA binding. *Environ.Health Perspect.* **102, supplement 3**, 195-198.
- Ralston, D.M. and O'Halloran, T.V. (1990) Metalloregulatory proteins and molecular mechanisms of heavy metal signal transduction. *Adv.inorg.Biochem.* **8**, 1-31.

- Rand, G.M. og Petrocelli, S.R. (1984) *Fundamentals of aquatic toxicology*, New York: Taylor & Francis.
- Roch, M. og McCarter, J.A. (1984) Hepatic metallothionein production and resistance to heavy metals by rainbow trout (*Salmo gairdneri*) - I. Exposed to an artificial mixture of zinc, copper and cadmium. *Comp.Biochem.Physiol.* **77C**, 71-75.
- Roesijadi, G., Hansen, K.M. og Unger, M.E. (1996) Cadmium-induced metallothionein expression during embryonic and early larval development of the mollusc *Crassostrea virginica*. *Toxicol.appl.Pharmacol.* **140**, 356-363.
- Roesijadi, G., Kielland, S. og Klerks, P. (1989a) Purification and some properties of novel molluscan metallothioneins. *Arch.Biochem.Biophys.* **273**, 403-413.
- Roesijadi, G. og Klerks, P.L. (1989b) Kinetic analysis of cadmium binding to metallothionein and other intracellular ligands in oyster gills. *J.exp.Zool.* **25**, 1-12.
- Salanki, I. Balogh, K.V. Physiological background for using freshwater mussels in monitoring copper and lead pollution. *Hydrobiologia*, vol. 188-189, 445-454. 1989.
- Sauer, G.R. og Watabe, N. (1989) Temporal and metal-specific patterns in the accumulation of heavy metals by the scales of *Fundulus heteroclitus*. *Aquat.Toxicol.* **14**, 233-248.
- Say, P.J. & Whitton, B.A. 1980. Changes in flora down a stream showing a zinc gradient. *Hydrobiologia* 76: 255-262.
- Sayer, M.D.J., Reader, J.P. og Morris, R. (1991) Embryonic and larval development of brown trout, *Salmo trutta* L.: Exposure to trace metal mixtures in soft water. *J.Fish Biol* 773-787.
- Shi, H.N., Koski, K.G., Stevenson, M.M. og Scott, M.E. (1997) Zinc deficiency and energy restriction modify immune responses in mice during both primary and challenge infection with *Heligmosomoides polygyrus* (Nematoda). *Parasite Immunol.* **19**, 363-373.
- Skjelkvåle, B.L. Henriksen, A. Vadset, M., Røyset, O. (1996) Sporelementer i norske innsjøer - Foreløpig resultat for 473 sjøer. NIVA-rapport 3457.
- SNV 1990. Bedömningsgrunder för sjöar og vattendrag; SNV Almäna Råd 90:4. Statens naturvårdsverk (SNV), Stockholm.
- Sokal, R.R. og Rohlf, F.J. (1981) *Biometry* , 2 edn. New York: W.H. Freeman & Co.
- Sosial- og helsedepartementet 1995. Forskrift om avløpsslam Oslo 2. januar 1995.
- Sosial- og helsedepartementet 1995. Forskrift om vannforsyning og drikkevann m.m. Oslo 1. februar 1995.
- SOU 1988:34 Dalälven, en miljösatsning.
- Spry, D.J. og Wood, C.M. (1988) Zinc influx across the isolated, perfused head preparation of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in hard and soft water. *Can.J.Fish.aquat.Sci.* **45**, 2206-2215.
- Spry, D.J. og Wood, C.M. (1989) A kinetic method for the measurement of zinc influx in vivo in the rainbow trout, and the effects of waterborne calcium on flux rates. *J.exp.Biol.* **142**, 425-446.

- Stuhlbacher, A., Bradley, M.C., Naylor, C. og Calow, P. (1993) Variation in the development of cadmium resistance in *Daphnia magna* Straus; effect of temperature, nutrition, age and genotype. *Environ.Pollut.* **80**, 153-158.
- Takamura; N., Kasai, F. & Watanabe M.M., 1989. Effects of Cu, Cd, and Zn on photosynthesis of freshwater benthic algae. *J. Appl. Phycology.* 1: 39-52.
- Tessier, C. og Blais, J.-S. (1996) Determination of cadmium-metallothionein in Zebra mussels exposed to subchronic concentrations of Cd<sup>2+</sup>. *Ecotoxicol.environ.Safety* **33**, 246-252.
- Thiele, D.J. (1992) Metal-regulated transcription in eukaryotes. *Nucleic Acids Res.* **20**, 1183-1191.
- Tomasik, P., Magadza, C.H.D., Mhizha, S. og Chirume, A. (1995) The metal-metal interactions in biological systems. Part 3. *Daphnia magna*. *Water, Air, Soil Pollut* 695-711.
- Traaen, T.S., Arnekleiv, J.V. & Lindestrøm, E-A., 1995. Overvåking av Gaula, i Sør-Trøndelag. Vannkjemiske og biologiske undersøkelser. Årsrapport for 1994. Statlig program for forurensningsovervåking, SFT. Rapport nr. 609/95: 48 sider.
- Uchida, Y., Takio, K., Titani, K., Ihara, Y. og Tomonaga, M. (1991) The growth inhibitory factor that is deficient in the Alzheimer's disease brain is a 68 amino acid metallothionein-like protein. *Neuron* **7**, 337-347.
- van Assche, F. 1996. Zinc in the environment. Paper presented at the Oslo Conference by the European Zinc Institute.
- Whitton, B.A., Gale, N.L. & Wixon, B G 1981. Chemistry and plant ecology of zinc-rich waters dominated by blue-green algae. *Hydrobiologia* 83: 313-341.
- Wicklund, A. (1990a) Metabolism of cadmium and zinc in fish. Uppsala Universitet. pp.1-31.
- Wicklund, A., Norrgren, L. og Runn, P. (1990b) The influence of cadmium and zinc on cadmium turnover in the zebrafish, *Brachydanio rerio*. *Arch.environ.Contam.Toxicol.* **19**, 348-353.
- Wicklund, A., Runn, P. og Norrgren, L. (1988) Cadmium and zinc interactions in fish: effects of zinc on the uptake, organ distribution, and elimination of <sup>109</sup>Cd in the zebrafish, *Brachydanio rerio*. *Arch.environ.Contam.Toxicol.* **17**, 345-354.
- Widdows, J., Donkin, P. Mussels and environmental contaminants: bioaccumulation and physiological aspects. I: Gosling, E. (red) *The Mussel Mytilus*; kapittel 8, Elsevier Press, Amsterdam, s. 384-424, 1992.
- Widdows, J., Donkin, P., Brinsley, M.d., Evans, S.V., Salkeld, P.N., Franklin, A., Law, R.J., Waldock, M.J. Scope for growth and contaminant levels in North Sea mussels *Mytilus edulis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 127: 131-148, 1995.
- Widdows, J., Johnson, D. Physiological energetics of *Mytilus edulis*: scope for growth. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 46, 113-121, 1988.
- Wood, C.M. (1992) Flux measurements as indices of H<sup>+</sup> and metal effects on freshwater fish. *Aquat.Toxicol.* **22**, 239-264.

- World Health Organization (WHO) 1993. Guidelines for drinking-water quality, Second edition, Volume 1, Recommendations. Geneva 1993.
- Yamamoto, Y. og Date, K. (1987) Protective role of metallothionein against acute cadmium toxicity in rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi* **53**, 833-839.
- Aanes, K.J. & Bækken, T. 1989. Bruk av vassdragets bunnfauna til å klassifisere vannkvalitet. (Use of the macroinvertebrates in the watercourse to classify water quality.). Rapport 1: Generell del. NIVA Report no. 2278, 66 s.
- Aanes, K. J. 1996. Tester med blyholdige sedimenter fra Store Bleikvann, Nordland Fylke NIVA-rapport 3430. 83 s.
- Aanes, K. J. 1988. Environmental impact of pyrite mining and dressing on a mountain stream in Norway. Proceedings from the first International Conference on Control of Environmental problems from Metal Mines. pp 1-17.
- Aanes, K. J., T. Bækken og M. Grande. 1994. Tungmetaller og effekter på invertebrater og fisk. Del 3: Sink. I: Naturens Tålegrenser. Ed. I. Fløysand og T. Johannesen. pp 121 - 124.



## Vedlegg A. Bestemmelse av "scope for growth"

### *Næringsopptak*

Dammuslinger tar opp næring ved å pumpe vann over gjellene som fungerer som et filter. Partikler som fanges opp her (effektivt i størrelse over 4 µm, Jørgensen et al. (1984)), fraktes videre langs gjellene til munnen. Næringsopptak ble beregnet ut fra måling av hvor mye vann hvert skjell filtrerte pr tidsenhet multiplisert med teoretisk mengde partikulært materiale i det innstrømmende vann, og konvertert til energifluks.

Filtreringshastighet ble beregnet ut fra måling av partikkelretensjon i lukket system. Skjellene ble plassert individuelt i beger med 2 l vann tilsatt en kultur av mikroalgen *Selenastrum capricornutum*. Cellekonsentrasjonen ved starten av forsøket ble justert inn på ca 25 000 celler l<sup>-1</sup>. Etter noen minutters tilpasning ble det tatt ut en vannprøve fra hvert beger og cellekonsentrasjonen målt ved bruk av en Coulter Multisizer partikkelteller. Uttak av prøve for telling ble deretter gjort 3 - 4 ganger med 26 - 43 min intervall. Som kontroll ble 2 beger uten skjell inkludert i tellingene. Filtreringshastighet for hver individ i hvert tidsintervall ble beregnet på basis av målt fall i konsentrasjon av partikler over intervallet ved bruk av formelen:

$$\text{Filtreringshastighet (l h}^{-1}\text{)} = v \cdot (\ln C_1 - \ln C_2) t^{-1}$$

der  $v$  = begervolum (2 l)

$C_1$  = konsentrasjon av partikler ved begynnelsen av tidsintervallet

$C_2$  = konsentrasjon av partikler ved slutten av samme tidsintervall

$t$  = intervallengde (minutter)

Maksimal filtreringsrate som gjennomsnitt over to påfølgende tidsintervaller ble anvendt i utregningen av fødeopptak for SFG. Ved omregning av filtreringshastighet til fødeopptak ble det anvendt en næringsverdi på vannet muslingene filtrerer på 15 J (joule) pr liter. Denne ble beregnet på grunnlag av måling av klorofyll (Chl a) i omgivende vann da muslingene ble samlet (10.1 µg l<sup>-1</sup>, Berge NIVA pers. medd.), et midlere forhold mellom Chl a og nitrogen i algemateriale på 0.2 (Tobiesen NIVA pers. medd.), typisk C:N forhold i alger på 106:16 (atomært), og energiinnhold i karbon på 50.2 J mg<sup>-1</sup> C.

### *Assimilasjonseffektivitet*

Assimilasjonseffektiviteten ble ikke målt i forsøket. For blåskjell har de vist seg at populasjonsforskjeller i assimilasjonseffektivitet har relativt liten innvirkning på SFG, og man benytter ofte en standard verdi på 50 %. Såvidt vi vet er assimilasjonseffektiviteten hos dammuslinger ikke undersøkt, og som tilnærming ble samme verdi som for blåskjell, dvs 50 %, benyttet.

### *Oksygenforbruk (respirasjon)*

Respirasjon ble målt som reduksjon i oksygeninnholdet i vannet i lukket kammer med individuelle skjell. Hvert skjell ble passert i et temperaturkontrollert kammer utstyrt med magnetrører. Vannet i kammeret var prefiltret vann fra hovedinntaket, og gjennomboblet med luft til 100 % metning. I kammerlokket var montert en WTW Trioxmat 201oksygenelektrode koblet til et WTW Interlog OK1 flerkanales oksyrometer. Etter ca 10 min akklimatisering ble kammeret fylt med mettet vann, lokket påsatt og oksygeninnhold og temperatur i kammeret logget automatisk hvert minutt i minst 1 time. Skjellenes oksygenforbruk ble regnet ut etter formelen:

$$\text{Opptaksrate O}_2 (\mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1}) = [C(t_0) - C(t_1)] (V_r) 60 (t_1 - t_0)^{-1}$$

der  $t_0, t_1$  = start og sluttid (min) for måleperioden

$C(t)$  = konsentrasjon av oksygen i kammervannet ( $\mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1}$ ) ved tid  $t$

$V_r$  = volum av kammer minus volum av skjell (l).

### *Nitrogenekskresjon*

Energitap i form av utskillelse av nitrogen (som ammonium  $\text{NH}_4^+$ ) er i blåskjell tett koblet til respirasjon og utgjør en liten andel (< 5 %) av totalt energitap. Derfor blir dette leddet som oftest utelatt fra beregningene av SFG, så også her.

### *Størrelsesmålinger*

I tillegg til de fysiologiske målingene ovenfor ble følgende målt for hvert skjell:

- Skallengde (L)
- Totalt volum ( $V_r$ )
- tørrvekt skallinnmat (TW)

### *Scope for growth*

De enkelte ledd i SFG ble beregnet for hvert individ som energiflukt pr time og pr gram tørrvekt skjellmat ( $\text{J h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ ) etter følgende formler:

#### **Konsumert energi:**

$$I = \text{gjennomsnittlig filtreringsrate (l h}^{-1} \text{ g}^{-1}) \odot (15 \text{ J l}^{-1}).$$

#### **Absorbert energi:**

$$A = I \odot \text{Ass. eff. (50 \%)}$$

#### **Respirert energi:**

$$R = \text{oksygenforbruk (}\mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}) \odot 0.456$$

der omregning fra oksygenopptak til energiforbruk er gjort etter en varmeequivalent på  $0.456 \text{ J } \mu\text{mol}^{-1} \text{ O}_2$ .

#### **Ekskretert energi:**

ikke inkludert

#### **Scope for growth:**

$$\text{SFG} = A - R$$

## Vedlegg B. Begroingsorganismer i Sveselva

Organismene angitt ved Rubin-kode. Tallangivelser viser organismenes prosentvise denning av elveleiet. Organismer som enten vokser blant disse eller har liten forekomst er angitt med: x=enkelteksemplarer, xx=sjarsomt, xxx=vanlig.

	St. 1	St. 2	St. 3	St. 4
<b>Blågrønnalger (Cyanophyceae)</b>				
Calo bra	1			
Calo ram	1			
Cham fus		10		
Chro stro	xx			
Chroococz		x		
Homo 1-2u	xx			
Homo bat	1			xxx
Homo jan		xx		
Lyngbyz				xx
Phorm 4-5u		1	1	
Pseuanz	xx			xx
Rivu bia2	5			
Rivu min2	1			
Uicyacoc	xx			xxx
Uicyatri	xx	x	xx	xx
Ant. taxa	10	5	2	5
<b>Grønnalger (Chlorophyceae)</b>				
Bulbocz	3			
Chaet sp1	10			
Clost sp1		xx		
Clost sp2			x	
Cosmariz	xx		x	
Gong sp1				1
Moug a (6u)		x	x	
Moug a (8-10u)	x			
Moug e	xx			1
Sp ab:ac	xx			
Spir c1	25	xx		xx
Spir lap				
Staurasz			x	
Stigeocz		xx		
Uide coc	xxx		xxx	
Uidechae	1			xx
Ulot zon		1		
Zygo b (25-26u)	xx			
Zygo c	1			
Ant. taxa	11	5	5	4
<b>Kiselalger (Bacillariophyceae)</b>				
Achn min	x	xxx	25	1
Cera arc		xxx	xx	xxx
Didy gem	1			
Frag uln		xxx	xxx	xxx
Frag vau			xxx	xx
Tabe flo	xx		xx	xx
Ant. taxa	3	3	5	5
<b>Rødalge (Rhodophyceae)</b>				
Batr gel	5		20	20
Lemanez				x
Ant. taxa	1		1	2
<b>Nedbrytere (Saphrophyter)</b>				
Cili uid			xxx	
Flag far			xx	
Jern agg	xx	xx		xx
Jern trå	x		xx	xx
Sopp spo			xx	
Ant. taxa	2	1	4	2

## Vedlegg C. Prosentvis forkomst av kiselalger i kiselalgeprøver

Kiselalge - Rubinkode	St. 1	St. 2	St. 3	St. 4
Achn kry				
Achn lin	2.7			
Achn mar	0.0	1.4		
Achn min	24.5	70.0	75.1	88.7
Achn sp2	0.5			
Achn sp3	0.5			
Amph pel	0.5			
Anom vit	2.1	1.0		2.5
Cera arc	1.6	11.4	2.8	2.0
Cocconeaz		0.5		
Cycl sp1	4.8			
Cycl sp2	2.1			
Cycl sp3	0.5			
Cymb aff	1.6			
Cymb ces	0.5			
Cymb mic	2.1	0.5		
Cymb sp1	0.0	0.5		
Denticulz	2.1	1.4		
Diat vul	1.1	0.5		
Didy gem	1.1			
Euno sp1	1.1			
Euno sp2	0.5			
Frag pin	25.5			
Frag rum	3.2	1.0		
Frag sp1	0.5	1.0		
Frag uln	1.1	1.9	0.9	3.9
Frag vau	1.1	4.8	21.1	2.9
Gomp int	2.7			
Gomp sp1	0.5	1.4		
Gomp sp2				
Gomp ven	1.6			
Navi cry	0.5			
Navi sp1	1.1	0.5		
Nitz pal				
Nitz sp1	0.5			
Nitz sp2	2.1	1.0		
Pinn sp1	1.6			
Pinn sp2	1.6			
Stau sp1	0.5			
Tabe flo	1.6			
Uide pen	4.3	1.4		
<b>Totalt</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>

## Vedlegg D. Konsentrasjoner av metaller og metallotionein i dammusling

kode	tørrvekt (g)	protein (mg/mL)	MT (µg/mg protein)	Cd (µg/g tørt vev)	Cu (µg/g tørt vev)	Zn (µg/g tørt vev)	alder (år)	kjønn	lengde (cm)
A1	1,1376	1,8648	6,27	0,029	0,21	4,6	6	F	65,0
A2	1,0526	1,6286	8,45	0,025	0,1	4,6	6	F	65,3
A3	0,9524	2,036	2,61	0,033	0,12	4,7	3	F	64,1
A4	1,5787	3,246	8,66	0,022	0,09	4,2	5	F	72,6
A5	0,4977	1,7928		0,017	0,08	2,4	2	M	60,5
A6	0,9674	2,252	4,49	0,024	0,1	4,3	3	M	63,9
A7	1,2109	2,09	6,28	0,027	0,11	4,8	5	M	67,6
A8	1,3779	2,644	7,17	0,035	0,11	4,8	5	M	69,8
A9	0,4685	1,3612	4,17	0,017	0,2	2,5	2	M	53,8
A10	0,6629	1,997	7,64	0,029	0,1	5,2	4	M	64,5
B1	0,3632	1,0112	4,96	0,048	0,19	7,8	2	M	48,8
B2	0,7618	2,26	8,44	0,076	0,17	12,5	3	M	62,4
B3	0,5362	1,7326	5,12	0,075	0,17	8,4	3	M	55,4
B4	0,9521	2,156	9,37	0,099		14,6	6	M	67,3
B5	0,5818	1,5304	5,12	0,091	0,22	12,4	2	M	58,7
B6	0,5078	1,4254	3,87	0,097	0,23	10,8	2	M	57,7
B7	0,5604	1,7424	3,73	0,069	0,15	10,5	2	M	58,2
B8	0,9845	2,528	5,20	0,09	0,21	14,9	3	F	66,4
B9	0,5844	1,5868	9,17	0,077	0,17	13,9	2	F	61,7
B10	0,6822	2,026	7,36	0,059	0,11	7,7	3	F	60,9
C1	0,7093	2,158	4,46	0,128	0,15	52,4	3	M	67,5
C2	1,2655	2,676	10,58	0,12	0,17	45	4	F	70,7
C3	0,4216	1,8084	4,92	0,07	0,11	27,8	3	M	50,6
C4	0,9548	1,968	5,41	0,112	0,14	51,2	3	M	65
C5	0,6344	1,7306	7,10	0,1	0,13	40,1	2	M	59,2
C6	0,8194	2,29	7,37	0,095	0,12	40,6	2	F	64
C7	1,3468	1,742	15,06	0,163	0,17	51,2	6	M	73,2
C8	0,625	2,431	2,67	0,071	0,11	30,1	3	F	59
C9	1,8589	2,695	7,42	0,124	0,15	49,2	4	F	73,8
C10	1,0325	1,014	22,58	0,092	0,13	50,3	3	F	74
D1	0,9172	2,454	3,50	0,091	0,17	39,8	3	F	64,4
D2	1,125	2,348	6,05	0,095	0,21	43,2	3	M	66,9
D3	0,7805	1,5662	11,44	0,075	0,14	35,6	3	M	63,7
D4	0,9159	1,7604	4,09	0,048	0,09	25,4	4	M	61,9
D5	0,6169	2,43	4,53	0,055	0,14	33,5	2	F	59,5
D6	0,7741	1,6766	11,75	0,114	0,17	45,5	6	M	67,1
D7	0,6672	1,787	6,16	0,08	0,14	34,6	3	M	59
D8	0,7811	2,718	9,54	0,067	0,15	36	4	F	64

D9	1,3979	3,628	9,62	0,056	0,13	29	4	F	67,1
D10	2,1011	2,756	13,07	0,145	0,22	63,2	6	F	79,1
E1	0,8635	2,362	8,47	0,029	0,11	4,4	3	F	64,1
E2	1,2041	2,65	8,90	0,053	0,11	6,4	3	M	66,1
E3	1,1873	2,804	5,65	0,052	0,14	7,7	3	F	75
E4	1,0677	2,798	6,79	0,063	0,14	4,8	3	F	76
E5	1,529	1,832	13,32	0,042	0,09	8,3	4	F	75,1
E6	1,6652	0,7786	23,02	0,038	0,12	7	7	M	80
E7	0,3235	1,7706	3,75	0,028	0,07	3,3	2	M	56
E8	1,633	1,4782	12,14	0,044	0,1	8,6	6	M	76,5
E9	0,5694	1,924	2,95	0,044	0,11	4,6	2	M	55,3
E10	0,9337	2,396	5,48	0,04	0,11	6,8	4	M	70,6