



**INSTITUTIONEN FÖR BIOLOGI
OCH MILJÖVETENSKAP**

”Undersökning av hälsotillståndet hos abborre i recipienten för Norrunds bruk, 2017”

Lars Förlin, Åke Larsson och Jari Parkkonen
Institutionen för biologi och miljövetenskap, Göteborgs Universitet

2018-06-15



Innehållsförteckning

Sammanfattning	3
Inledning och Syfte	4
Effektstudier hos fisk utanför skogsindustrier	4
Material och Metoder	6
Resultat och Diskussion	8
<i>Inledning</i>	8
<i>Fiske, provtagning och analysarbete</i>	8
<i>Morfometriska mått (kropps- och organindex) och ålder</i>	8
<i>Konditionsfaktor, CF</i>	8
<i>LSI</i>	9
<i>GSI</i>	9
<i>Vitellogenin (hormonella effekter)</i>	10
<i>Röda blodceller och hemoglobin i blodet</i>	10
<i>Glukos i blodet</i>	10
<i>Vita blodceller</i>	11
<i>Jonbalansen</i>	11
<i>EROD i levern</i>	12
<i>Antioxidantzymer och oxidativ stress</i>	12
<i>Acetylkolinesteras</i>	12
Sammanvägda bedömningar och slutsatser	13
Erkännande	13
Litteraturreferenser	14

Sammanfattning

I denna undersökning har fysiologisk metodik använts för att undersöka hälsoeffekter hos abborre i recipienten för Norrsundets bruk. Mätningarna som görs speglar olika funktioner hos fisken såsom immunförsvaret, saltbalansen, blodets syreupptagningsförmåga, ämnesomsättning, försvar mot oxidativ stress m.m. Det rör sig om mätningar av ett 25-tal olika biokemiska och fysiologiska parametrar (biomarkörer) i undersökningen. Resultaten visar tre tydliga avvikelser mellan abborrarna från Norrsundet bruks recipient och referensen Axmarfjärden. Det rör mindre relativa gonadvikter (GSI), lägre nivåer av glukos i blodplasma och högre aktivitet av enzymet acetylkolinesteras (AChE) hos fisken i recipienten. För de övriga, drygt 20 ytterligare parametrar som analyserades ses inga skillnader mellan de båda undersökta grupperna. Det betyder att för de allra flesta undersökta funktioner hos fiskarna föreligger ingen skillnad mellan Norrsundet bruks recipient och referenslokalen Axmarfjärden.

För två av dessa tre variabler, plasmaglukos och enzymet AChE, är bedömningen att de skillnader som ses inte torde ha med de tidigare utsläppen från industrin att göra. Vilken orsak eller orsakerna är till dessa skillnader är dock oklar.

För observationen om mindre relativa gonader hos fiskarna från Norrsundet som indikerar en hämmad utveckling av gonaderna, dvs en påverkan på fortplantningen är bedömningen dock annorlunda och att den torde ha med de tidigare utsläppen från bruket att göra. Dessa resultat stämmer helt överens med de som redovisas i rapporten ”Uppföljande undersökning av tillväxt och fortplantning hos abborre i recipienten till Norrsundets Bruk 2017” (Sandström och Abrahamsson, 2017). Där rapporteras förutom mindre relativa gonader också att könsmognaden är förskjuten mot högre ålder och större storlek hos fiskarna från Norrsundet. Från dessa resultat dras slutsatsen att det finns kvarstående effekter från tidigare utsläpp i Norrsundet Bruks recipient och det rör hämmad fortplantning.

Sammantaget tyder således resultaten från denna fysiologiska hälsoundersökning på att det är en tydlig påverkan på gonadernas utveckling hos abborrarna i Norrsundet och att den med all sannolikhet beror på att fiskarna utsätts för rester från tidigare utsläpp som finns lagrade i sedimenten. När det gäller övriga fysiologiska funktioner som undersökts såsom immunförsvaret, jon-/saltbalansen, ämnesomsättningen, försvaret mot oxidanter m.m. som kan påverkas av utsläpp från skogsindustrier visar resultaten nivåer i recipienten som är jämförbara med referensområden. Detta tyder på att tidigare utsläpp varav en del finns lagrade i recipientens botten sediment inte tycks påverka dessa fysiologiska funktioner.

Inledning och Syfte

I föreliggande undersökning har fysiologisk metodik använts för att undersöka hälsoeffekter hos abborrar i recipienten för Norrsundets bruk. Undersökningen är en del i ett stort screeningsprojekt som är initierat av Naturvårdsverket för att kartlägga miljögifters biologiska effekter vid ett antal svenska kustområden. Norrsundet bruks recipient som är ett av de utvalda områdena i denna mätkampanj var tidigare starkt förorenad. Men sedan bruket lades ner 2008 har utsläppen helt upphört vilket ger möjligheten att belysa frågeställningen om kvarvarande biologiska effekter av historiska utsläpp.

Syftet med undersökningarna är således att försöka bedöma eventuellt kvarvarande hälsoeffekter hos fisk i recipienten. För att få en uppfattning om påverkan har fiskarna från Norrsundet bruks recipient jämförts med fiskar från ett närliggande referensområde, Axmarfjärden. Eftersom Axmarfjärden inte ingick i screeningsprojektet beslöt Stora Enso i samverkan med screeningsprojektet att finansiera att undersökningar kunde göras i detta referensområde. Man beslöt dessutom utöka metodiken så att den omfattade även undersökningar av tillväxt och fortplantning hos abborren i Norrsundet bruks recipient och Axmarfjärden. Detta uppdrag, som genomfördes av SKUTAB, är sedan en tid avrapporterat (Sandström och Abrahamsson, 2017).

Effektstudier hos fisk utanför skogsindustrier

I Sverige har det sedan många år använts fysiologiska, biokemiska och histologiska metoder (så kallade biomarkörer) för att studera hälsoeffekter hos fisk som exponeras för miljöfarliga ämnen. (t.ex. Larsson et al., 1985; Förllin et al., 1986; Larsson et al., 2003; Noaksson et al., 2005; Sturve et al., 2005; Asker et al., 2015). På så sätt har hälsoundersökningar av fisk med hjälp av biomarkörer avslöjat effekter av miljögifter eller komplexa utsläpp i förorenade recipienter. Det har handlat om studier i vattenområden i närheten av skogsindustrier, metallindustrier, petrokemiska industrier eller tätorter. Sedan slutet av 1980-talet används sådan metodik inom Naturvårdsverkets integrerade kustfiskövervakning för att undersöka hälsotillstånd hos fiskar i referenslokaler längs den svenska kusten (Sandström et al., 2005; Ronisz et al., 2005; Hansson et al., 2006; Hanson et al., 2009).

Biomarkörer som används innefattar mätningar som kan ge information om en organisms avgiftningssystem är aktiverat eller ger information om påverkan på viktiga fysiologiska funktioner såsom påverkat immunförsvar, blodets syretransporterande förmåga, saltbalans eller fortplantningsstörningar (Haux and Förllin, 1988; Stegeman et al., 1992; Larsson et al., 2000; Van der Oost et al., 2003). De kan också visa att fisken har exponerats för kemiska ämnen, visar tidiga tecken på effekter av dessa ämnen eller om fisken är uppenbart stressad av något i miljön. Biomarkörerna kan inte identifiera vilka miljögifter som ger signaler om påverkan, men kan ge viss information om vilka ämnesgrupper det kan röra sig om.

När det gäller skogsindustrin var det vid Norrsundets massafabrik som metodiken prövades och utvecklades för att studera toxisk påverkan på abborre från utsläpp från massafabriker. Detta skedde inom ramen för ett större forskningsprojekt med stöd från Naturvårdsverket och pågick under perioden 1983-1993 (Andersson et al., 1988; Naturvårdsverket, 1988; Swedish Environmental Protection Agency, 1993). Undersökningarna på fisken under 1980-talet i Norrsundet visade att utsläppen orsakade allvarliga biologiska effekter på fisken. Effekterna var allvarligast närmast utsläppen där en rad fysiologiska funktionsstörningar på individnivå också slog igenom på störningar på populations- och samhällsnivå. Vid uppföljande

undersökningar av abborrens hälsotillstånd under 1990-talet, den senaste 1995, visade resultaten en påtaglig återhämtning med betydligt färre störningar såväl på individ som på populationsnivå (Tabell 1).

Tabell 1. Översiktlig beskrivning av att hälsotillståndet hos abborre i recipienten för Norrsundets bruk förbättrades under åren 1984 till 1995. Data från Andersson et al., 1988, Larsson et al., 2003 och Larsson et al., 2009.

År	1984/85		1988	1990	1993		1995	
	2-4,5	8			2-4,5	8	2-4,5	8
<i>Avstånd från utsläpp, km</i>	2-4,5	8	2-4,5	2-4,5	2-4,5	8	2-4,5	8
<i>Könskörtlarnas storlek (GSI)</i>	---	-	--	0	-	0	0	0
<i>Könshormoner i plasma</i>	--	-	-	0	0	0	0	0
<i>Leverstorlek (LSI)</i>	++	++	+	0	0	+	0	0
<i>EROD-aktivitet</i>	++++	+++	++	++	++	+	+	+
<i>Kolhydratmetabolism</i>	++	+	0	+	0	0	0	0
<i>Klorid i plasma</i>	--	-	0	0	0	0	0	0
<i>Röda blodkroppar (Ht)</i>	+++	+	++	+	+	0	0	0
<i>Vita blodcellsbilden</i>	---	-	0		0	0	-	0

+ indikerar värden över det normala; 0 indikerar normala värden; - indikerar värden under det normala.

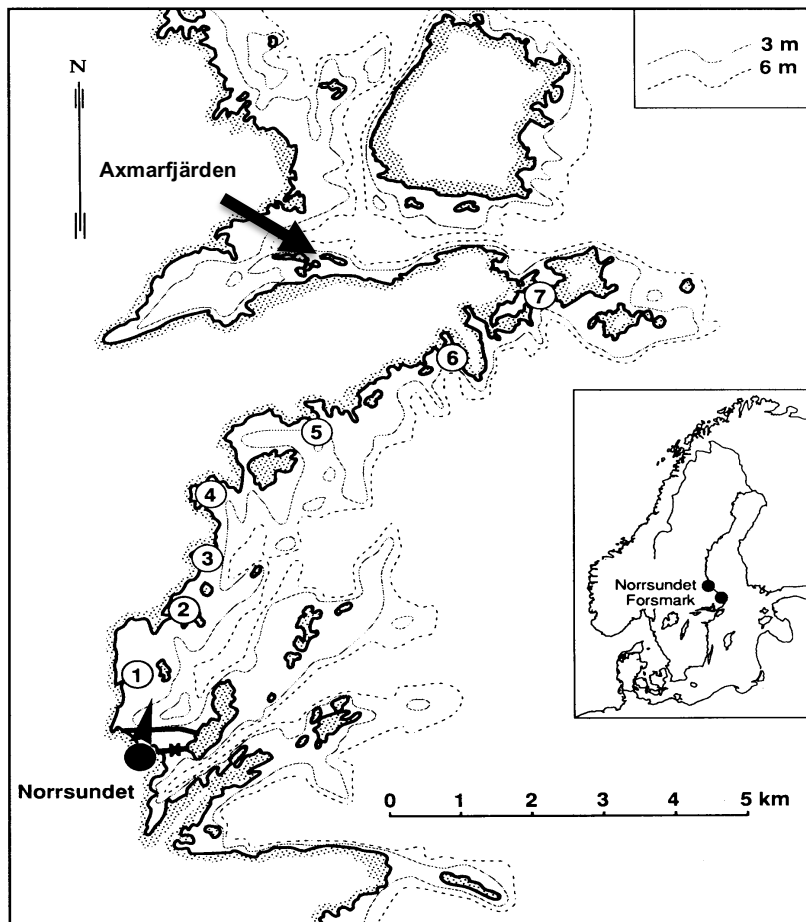
Efter mitten av 1990-talet har undersökningar som gjorts på fiskar i Norrsundets recipient fokuserat på abborrars tillväxt och fortplantning. Vid dessa upprepade tillfällen har det observerats påverkan på dess könsmognad och gonadens utveckling (Sandström och Abrahamsson, 2017). För mer läsning om effekter av svensk skogsindustri på vattenmiljön inklusive fiskars hälsotillstånd, tillväxt och fortplantning rekommenderas två rapporter "Miljösituationen förr och nu i skogsindustrirecipienter" (Sandström et al., 2015) och "Återhämtning och kvarvarande miljöeffekter i skogsindustrins recipienter" (Sandström et al., 2016).

Material och Metoder

Fångst och sumpning av fiskarna sköttes av Kjell Wilund, Gåsholma, och gjordes enligt de standardiserade föreskrifter som finns för denna typ av fiskundersökningar. Detta fiske gjordes parallellt och samordnades med det mer omfattande fisket för analys av tillväxt och könsmognad hos abborre (Sandström och Abrahamsson, 2017). Undersökning av fiskarnas hälsotillstånd gjordes i två områden, dels i Norrsundet bruks recipient och dels i referensen, Axmarfjärden (Figur 1). Provtagning, provberedning och analyser gjordes enligt beskrivningar i undersökningstyp "Hälsotillstånd hos kustfisk – biologiska effekter på subcellulär och cellulär nivå (Larsson och Förlin, 2006). Vilka effekt- och exponeringsvariabler som ingår i undersökningen av fiskens hälsotillstånd framgår av Tabell 2. All data presenteras som medelvärde \pm standardfelet. Signifikant skillnad etablerades med hjälp av Kruskal-Wallis test ($p < 0,05$) och Mann-Whitney test ($p < 0,05$).

Tabell 2. Effekt- och exponeringsvariabler/indikatorer som ingår i undersökningen av fiskens hälsotillstånd (Larsson och Förlin, 2006).

Funktion	Mätvariabel/biomarkör
Energilagring, tillväxt, kondition	Total kroppsvikt, somatisk vikt, längd, ålder, somatisk konditionsfaktor
Fortplantning, hormonstörning	Gonadsomatiskt index (GSI), vitellogenin i blodplasma
Leverfunktion, avgiftning, oxidativ stress	Leversomatiskt index (LSI), EROD-aktivitet, aktiviteterna av glutationreduktas (GR), glutation S-transferas (GST) och katalas
Nerv-och muskelfunktion	Acetylkolinesteras aktivitet (AChE)
Kolhydratmetabolism/stress	Blodglukos
Syretransport, blodbildning	Hematokrit, omogna röda blodceller (iRBC), hemoglobin
Immunförsvar, vävnadsskador	Vita blodceller: lymfocyter, granulocyter, trombocyter
Saltbalans, cellskador	Klorid, natrium, kalium och kalcium i blodplasma
Exponeringsindikator	EROD-aktivitet, GR-aktivitet, GST-aktivitet, katalasaktivitet, acetylkolinesteras-aktivitet



Figur 1: Karta över undersökningsområdet. Abborre fiskades vid den inre delen av Norrsundet bruks recipient vid märkena 1 och 2, samt vid den svarta pilen i referensområdet Axmarfjärden. Utsläppspunktens läge är vid pilen strax nedanför märke 1. Kartan är modifierad från Larsson et al., 2003.

Provtagningarna på lokalerna utfördes under vecka 37, 2017. I korthet gick provtagningen till så att fiskens längd och vikt mättes, dess kön registrerades och en mängd prover togs för mätning av olika biokemiska och fysiologiska parametrar (biomarkörer). Vid provtagningen togs prover från 20 honor och 10 hanar från vardera Norrsundet bruks recipient och Axmarfjärden.

Resultat och Diskussion

Inledning

Vid resultatsammanställningen och tolkningen av data från undersökningen av abborrnarnas hälsotillstånd i recipienten för Norrsundets bruk har de undersökta fiskarna delats in i köns mogna honor och köns mogna hanar. Anledningen är att det är känt att vissa av variablerna som undersöks kan variera mellan kön. Det är samma upplägg som inom nationella övervakningen där fokus ligger på resultat för köns mogna honor. Köns mogna hanar är huvudsakligen medtagna i undersökningen för mätning av halten vitellogenin i blod som markör för en påverkan av hormonstörande ämnen.

Fiske, provtagning och analysarbete

Fisket, med botten nät, sumpning av fisken (abborrarna) i 2-4 dygn efter fisket och provtagningen på 20 köns mogna honor och 10 hanar av storleken 20-30 cm vid båda lokalerna gick helt utan anmärkning.

Morfometriska mått (kropps- och organindex) och ålder

I samband med provtagningen av fisken gjordes en okulär besiktning av fiskarna. Inga eller mycket få synbara yttre skador på abborrarna kunde noteras. Det gäller båda undersökningsområdena. Fiskens vikt, längd och olika organs vikter noterades för att beräkna morfometriska kropps- och organindex. Inga signifikanta skillnader observerades i vikt och längd mellan abborrgrupperna (Tabell 3).

Konditionsfaktor, CF

I Tabell 3 redovisas konditionsfaktorn (CF). CF som är ett mått som beskriver relationen mellan kroppsvikt och längd visade ingen statistiskt belagd skillnad mellan lokalerna. Detta kan ses som att det inte är någon skillnad i näringsstatus hos fisken från de båda undersökta områdena. Det är samma resultat som Sandström och Abrahamsson (2017) redovisar. Det är värt att notera att i tidigare undersökningar i Norrsundet, även efter att det lades ner, har en högre konditionsfaktor alltid förekommit hos abborrarna (Sandström och Abrahamsson, 2017). Detta visar att det tycks ske en successiv förbättring i recipienten.

Tabell 3. Kroppsvikt, kroppslängd, konditionsfaktor (CF), leversomatiskt index (LSI), gonad somatiskt index (GSI) och ålder hos abborrar från Norrsundet och Axmarfjärden.

Station	Vikt, gram	Längd, cm	CF (B)	LSI, %	GSI, %	Ålder
<i>Köns mogna honor</i>						
Norrsundet	241 ± 12 (20) (A)	27,1 ± 0,4	1,19 ± 0,02	1,51 ± 0,04	3,55 ± 0,13 *	4,1 ± 0,1
Axmarfjärden	221 ± 10 (20)	26,6 ± 0,3	1,16 ± 0,02	1,56 ± 0,07	4,55 ± 0,34	4,3 ± 0,2
<i>Köns mogna hanar</i>						
Norrsundet	191 ± 11 (10)	25,1 ± 0,6	1,19 ± 0,03	1,18 ± 0,07	7,14 ± 0,40	--
Axmarfjärden	212 ± 9 (10)	26,0 ± 0,3	1,21 ± 0,02	1,10 ± 0,03	8,98 ± 0,57	--

(A) medelvärde ± standardfel (antal fiskar); (B) konditionsfaktor, gram/cm³; * p < 0,05 jämfört med Axmarfjärden

LSI

I Tabell 3 redovisas LSI (lever somatiskt index) som är levervikten uttryckt i procent av somatisk kroppsvikt. Resultaten visar att det inte finns några statistiskt belagda skillnader mellan lokalerna. Det är samma resultat som Sandström och Abrahamsson (2017) redovisar. LSI mäts därför att en ökad storlek av levern storlek kan vara ett resultat av en naturlig variation i upplagring av näringsämnen (fetter och kolhydrater), men det kan också vara ett tecken på påverkan av miljöfarliga ämnen. Exponering för organiska miljögifter kan orsaka en förändrad storlek på lever som kan tyda på förändrad metabolisk aktivitet. Det är väl känt att leverns relativa storlek kan var större hos fisk som lever i recipienten för skogsindustrier (Sandström et al., 2015), och det har varit fallet när fiskar undersökts i Norrsundet tidigare (Andersson et al., 1988; Sandström och Abrahamsson, 2011), men alltså inte i 2017 års undersökning. LSI-resultaten tyder således på att det successivt sker en förbättring i abborren hälsotillstånd i Norrsundet bruks recipient.

GSI

I Tabell 3 redovisas GSI (gonad somatiskt index) som är gonadvikten uttryckt i procent av somatisk kroppsvikt. Resultaten visar att GSI är lägre hos honfiskarna från recipient jämfört med referensen. Resultaten visar också att det finns en tendens till lägre GSI även hos hanfiskarna från recipienten. Dessa resultat tycks helt stämma överens med de som redovisas från det större abborrmaterialet som parallellt undersöktes i Norrsundet bruks recipient (Sandström och Abrahamsson, 2017).

Förklaringar till att den relativa gonadvikten är lägre i recipienten är att abborrarna från Norrsundet området antingen har mindre antal ägg per viktenhet eller att det enskilda äggets tillväxt varit långsammare. Observationen indikerar en hämmad gonadutveckling jämfört med de från Axmarfjärden (Sandström och Abrahamsson, 2017). En försenad eller hämmad utveckling är i så fall en allvarlig effekt. Orsaken kan vara flera men naturliga miljöfaktorer såsom vattnets temperatur och tillgången på föda kan påverka gonadens utveckling. En ökad tillgång på föda som leder till ökad tillväxt hos fisken kan i sin tur också leda till en minskad relativ gonadvikt. Det kan samtidigt inte uteslutas att det i det här fallet också rör sig om en påverkan av något eller några miljöfarliga ämnen. I detta fall fanns inga avvikelser i vare sig konditionsfaktor eller individuell tillväxthastighet (Sandström och Abrahamsson, 2017), vilket tyder på att naturliga faktorer inte bör ha varit orsaken.

En hämmad gonadutveckling är en välkänd respons hos fiskar som exponerats permanent för organiska miljögifter i laboratorieexperiment och hos fiskar i komplext förorenade recipienter såsom utanför skogsindustrier (Sandström et al., 2015). Det kan således inte uteslutas att de tidigare utsläppen från Norrsundets bruk kan ha bidragit till denna effekt, som således kan ha sitt ursprung i historisk tillförsel. Det verkar därför möjligt att de ämnen som orsakar de observerade effekterna på den relativa gonadvikten tycks finnas ackumulerade i recipientens bottensediment och frigörs successivt vid erosion.

Det är viktigt att notera att Sandström och Abrahamsson (2017) i 2017 års undersökning observerade att könsmogen fisk i recipienten var både större och äldre jämfört med referensfisken. Från dessa resultat dras slutsatsen att det tyder på en hämmad könsmognad hos fisken (Sandström och Abrahamsson, 2017). Liknande resultat har samma forskare noterat även några år tidigare i Norrsundet bruks recipient (Sandström och Abrahamsson, 2011).

Tabell 4. Hematokrit (Ht), hemoglobin (Hb), glukos och vitellogenin i blodet hos abborrar från Norrsundet och Axmarfjärden.

Station	Hb, g/l	Ht, %	Glukos, mmol/l	Vitellogenin, µg/ml
<i>Könsmogna honor</i>				
Norrsundet	73,2 ± 1,5 (20) (A)	31,5 ± 0,6	5,8 ± 0,3 *	±
Axmarfjärden	71,6 ± 1,5 (20)	31,5 ± 0,7	7,4 ± 0,7	±
<i>Könsmogna hanar</i>				
Norrsundet	67,1 ± 2,8 (10)	29,3 ± 1,2	5,5 ± 0,3	2,6 ± 0,6
Axmarfjärden	72,2 ± 3,4 (10)	31,5 ± 1,4	9,4 ± 0,9	2,6 ± 0,2

(A) medelvärde ± standardfel (antal fiskar); * p < 0,05 jämfört med Axmarfjärden

Vitellogenin (hormonella effekter)

I miljöövervakningssammanhang mäts halten vitellogenin i blodplasma hos hanfisk för att ta reda på om de exponerats för ämnen med östrogenliknande effekter. I Tabell 4 kan ses att det inte föreligger några statistiskt belagda skillnader mellan lokalerna. Vitellogeninhalten i hanfisken bedöms dock som lite höga. Oftast ser man nivåer på storleksordningen 0,2-1,0 µg/ml men här är nivåerna storleksordningen drygt 2,6 µg/ml. Men det gäller i båda områden så det går inte att peka ut någon särskild källa för eventuellt utsläpp av ämnen med denna östrogena verkan.

Röda blodceller och hemoglobin i blodet

Det undersöktes om fisken uppvisar blodbrist eller någon annan form av effekt på syreupptagningsförmågan genom att mäta blodets volym av röda blodceller (Hematokrit, Ht), blodets innehåll av hemoglobin (Hb) och andel omogna röda blodceller (iRBC). Inga statistiskt signifikanta skillnader noterades i Ht-värdet, Hb-halten eller andelen iRBC mellan abborrgrupperna (Tabell 4). Det var i undersökningar på 1980-talet som det observerades kraftig påverkan på de röda blodcellerna hos abborre i Norrsundet bruks recipient (Andersson et al., 1988). I de uppföljande undersökningarna under 1990-talet avklingade dessa effekter successivt (Tabell 1; Larsson et al., 2003). Sedan dess är denna undersökning den senaste omfattande uppföljningen av fiskens hälsotillstånd i området. Resultaten från uppföljningen 2017 visar således ingen påverkan på blodcellerna hos abborre vilket tyder på att avklingningen som noterades för drygt 20 år sedan håller i sig och att området verkar ha återhämtat sig med avseende på störningar av blodcellerna. Detta tyder på en tydlig positiv återhämtning sedan industrin lagts ner.

Glukos i blodet

Halten glukos i blodet (Tabell 4) analyserades för att få en uppfattning om kolhydratmetabolismen kunde vara påverkad. Resultaten visar en tydlig statistisk skillnad med lägre nivåer hos fisken från Norrsundet jämför med referensen. I tidiga undersökningar i Norrsundet har både högre och lägre nivåer observerats hos abborre i recipienten jämfört med referensområden, vilket indikerar en påverkan på kolhydratmetabolismen hos fisken

(Andersson et al., 1988). Vid uppföljande undersökningar under 1990-talet har denna påverkan på glukoshalten i blodet försvunnit (Tabell 1; Larsson et al., 2003). Vad orsaken är till att halten av glukos är lägre i Norrsundet jämfört med Axmarfjärden i 2017 års undersökning är oklar. Halten av glukos i blodplasman i abborrarna från Norrsundet är dock jämförbar med nivåerna hos abborrar i andra referensområden i Östersjön, medan den är lite förhöjd hos fisken från Axmarfjärden. Bedömningen är därför att det inte är troligt att de tidigare utsläppen från Norrsundets bruk kan ha bidragit till denna effekt, dvs att det inte är troligt att det finns ämnen lagrade i recipientens bottensediment som påverkar kolhydratmetabolismen hos fisk i området.

Vita blodceller

Vita blodcells bilden undersöks för att ta reda på om immunförsvaret är påverkat. Abborrarna från Norrsundet uppvisar inga skillnader jämfört med referensen i vita blodcells bilden (Tabell 5). Det gäller således andelen lymfocyter, granulocyter, trombocyter och totala halten vita blodceller (WBC). I undersökningarna som gjordes under 1980-talet i Norrsundets recipient observerades en tydlig påverkan med lägre nivåer av de vita blodcellerna vilket indikerade hämmat immunförsvaret (Andersson et al., 1988). I de uppföljande undersökningarna under 1990-talet återgick de vita blodcellerna till normala nivåer (Larsson et al., 2003; se även Tabell 1). Bedömningen var att de förändringar som gjordes i massaindustrin inkluderande såväl processförändringar som bättre rening av utsläppen var orsaken till dessa förbättringar.

Tabell 5. Andelen lymfocyter (%), granulocyter (%), trombocyter (%), total andelen vita blodceller (WBC, %) och andelen omogna röda blodceller (iRBC, %) i blodet hos abborre från Norrsundet och Axmarfjärden.

Station	Lymfocyter %	Granulocyter %	Trombocyter %	WBC %	iRBC %
<i>Könsmogna honor</i>					
Norrsundet	2,83 ± 0,18 (10) (A)	1,09 ± 0,08	1,61 ± 0,15	5,54 ± 0,27	0,71 ± 0,08
Axmarfjärden	2,81 ± 0,17 (10)	1,41 ± 0,09	1,66 ± 0,12	5,87 ± 0,26	0,58 ± 0,09
<i>Könsmogna hanar</i>					
Norrsundet	2,66 ± 0,23 (9)	0,91 ± 0,10	2,02 ± 0,20	5,60 ± 0,40	0,72 ± 0,11
Axmarfjärden	2,41 ± 0,16 (10)	1,20 ± 0,16	1,55 ± 0,20	5,16 ± 0,38	0,70 ± 0,10

(A) medelvärde ± standardfel (antal fiskar)

Jonbalansen

I undersökningen analyserades plasmahalterna av jonerna klorid, natrium, kalium och kalcium för att undersöka om jonbalansen uppvisar rubbningar i jonreglerande organ (Tabell 6.). Resultaten från undersökningarna visar att halterna av samtliga analyserade joner hos fisken från Norrsundet inte avviker från nivåerna i referensen Axmarfjärden. Halterna i blodplasman hos fiskarna i båda områdena är jämförbara med nivåerna hos abborrar från andra områden i egentliga Östersjön. Resultaten från 2017 års undersökning visar således att det inte är någon påverkan på jon-/saltbalansen hos fiskarna i recipienten för Norrsundets bruk.

Tabell 6. Plasma halterna av klorid, natrium, kalium och kalcium hos abborre från Norrsundet och Axmarfjärden.

Station	Klorid mmol/l	Natrium mmol/l	Kalium mmol/l	Kalcium mmol/l
<i>Könsmogna honor</i>				
Norrsundet	100,3 ± 0,7 (20) (A)	161,8 ± 1,5	3,49 ± 0,12	1,27 ± 0,07
Axmarfjärden	99,1 ± 2,1 (14)	158,5 ± 2,9	3,49 ± 0,11	1,36 ± 0,06
<i>Könsmogna hanar</i>				
Norrsundet	101,0 ± 1,7 (10)	157,9 ± 4,5	3,29 ± 0,17	1,21 ± 0,03
Axmarfjärden	96,1 ± 1,9 (9)	148,4 ± 4,4	3,72 ± 0,18	1,23 ± 0,06

(A) medelvärde ± standardfel (antal fiskar)

EROD i levern

EROD-aktiviteten mäts för att ta reda på om fisken blivit exponerad för vissa typer av miljögifter. Resultaten visar att det inte föreligger någon statistisk belagd skillnad i EROD nivåer mellan abborrarna från de båda undersökningsområdena (Tabell 7). I undersökningarna som gjordes 1984, 1985 och 1988 i Norrsundet bruks recipient visades kraftigt förhöjda EROD-nivåer hos abborre särskilt i stationerna alldeles närmast utsläppen. Uppföljande undersökningar under 1990-talet visade fortfarande på förhöjda nivåer men dessa var betydligt mindre kraftiga (Tabell 1; Larsson et al., 2003). Undersökningen 2017, som är den första uppföljande undersökningen sedan dess, visar således ingen påverkan på abborrarnas EROD-aktiviteter. Det betyder att de effekter som fortfarande observerades för drygt 20 år sedan när industrin fortfarande var igång nu har försvunnit när den lagts ner.

Antioxidantzymer och oxidativ stress

Inget av de tre enzymerna glutation S-transferas (GST), glutationreduktas (GR) eller katalas i levern uppvisar signifikanta skillnader hos abborrarna mellan de båda lokalerna Norrsundet och Axmarfjärden. (Tabell 6). Det betyder att resultaten indikerar att det inte verkar föreligga någon påverkan på fiskarnas antioxidantförsvar och således heller inte någon indikation om oxidativ stress i Norrsundets bruks recipient.

Acetylkolinesteras

Aktiviteten av enzymet acetylkolinesteras (AChE) reglerar nedbrytningen av transmittor-substansen acetylkolin i nerv-/muskelsystemet. Aktivitet mäts i muskel för att ta reda på om fisken är exponerad för vissa miljöfarliga ämnen som är kända att hämma detta enzym. Mest kända exemplen på sådana ämnen är några insektbekämpningsmedel som inte längre används i någon stor utsträckning. Det finns även misstanke om att höga nivåer av andra ämnen kan ge en hämning däribland en stor grupp ämnen som kallas organofosfatestrar som finns i vissa bekämpningsmedel, mjukgörare i plaster och syntetiska smörjoljor. Eftersom resultaten visar att nivåerna är högre hos fisken i Norrsundet jämfört med referensen Axmarfjärden (Tabell 7) kan det således uteslutas att det finns ämnen i Norrsundets bruks recipient som hämmar enzymet AChE. Vad orsaken är till att det är en relativt stor skillnad mellan lokalerna är dock oklar. Det är intressant att konstatera att nivån hos fisken i Norrsundet är bland de högsta och nivån i Axmarfjärden är bland de lägsta i jämförelse med nivåerna i andra referensområden i Östersjön.

Tabell 7. Aktiviteter av enzymerna EROD, glutationreduktas (GR), glutation S-transferas (GST), katalas och acetylkolinesteras (AChE) hos abborre från Norrsundet och Axmarfjärden.

Station	EROD (1)	GR (1)	GST (2)	Katalas (2)	AChE (1)
<i>Könsmogna honor</i>					
Norrsundet	0,22 ± 0,01 (20) (A)	11,7 ± 0,4	0,124 ± 0,004	170 ± 7	25,3 ± 1,2 *
Axmarfjärden	0,20 ± 0,01 (20)	11,8 ± 0,3	0,128 ± 0,004	178 ± 10	18,5 ± 1,6
<i>Könsmogna hanar</i>					
Norrsundet	0,34 ± 0,03 (10)	11,5 ± 0,3	0,143 ± 0,006	234 ± 12	23,5 ± 1,7
Axmarfjärden	0,26 ± 0,04 (10)	12,0 ± 0,4	0,137 ± 0,003	195 ± 16	20,8 ± 2,1

(1)nmol/mg prot. x min; (2) µmol/mg prot. x min; * p < 0,05 jämfört med Axmarfjärden

Sammanvägda bedömningar och slutsatser

I denna undersökning som rör mätningar av ett 25-tal olika biokemiska och fysiologiska parametrar (biomarkörer), visar resultaten tre tydliga avvikelser i dessa mätvariabler mellan abborrarna från Norrsundet bruks recipient och referensen Axmarfjärden. Dessa skillnader är således mindre relativa gonadvikter (GSI), lägre nivåer av glukos i blodplasma och högre aktivitet av enzymet acetylkolinesteras (AChE) hos fisken i recipienten. För två av dessa tre variabler, plasmaglukos och enzymet AChE, är bedömningen att de inte torde ha med de tidigare utsläppen från industrin att göra. Vilken orsak eller orsakerna är till skillnaderna är dock oklar.

Bedömningen för den tredje signifikanta skillnaden är dock annorlunda. Det rör således observationen om mindre relativa gonader hos fiskarna från Norrsundet som indikerar en hämmad utveckling av gonaderna, dvs en påverkan på fortplantningen. Den effekten är med all sannolikhet orsakad av att fiskarna utsätts för rester från tidigare utsläpp som finns lagrade i sedimenten.

När det gäller de övriga fysiologiska funktioner såsom immunförsvaret, jon-/saltbalansen, ämnesomsättningen, försvaret mot oxidanter, avgiftningskapacitet m.m. som kan påverkas av utsläpp från skogsindustrier visar resultaten på en återhämtning till nivåer i recipienten som är jämförbara med referensområden. Detta tyder på att tidigare utsläpp varav en del finns lagrade i recipientens bottensediment inte tycks påverka dessa fysiologiska funktioner.

Erkännande

Vi vill tacka Olof Sandström och Noomi Asker för värdefulla synpunkter och kommentarer på rapporten, och Linda Andersson och Jenny Lycken för teknisk assistans vid provtagningen och analysarbetet.

Litteraturreferenser

- Andersson T., Förlin L., Härdig J. and Å. Larsson. 1988. Physiological disturbances in fish living in coastal water polluted with bleached kraft pulp mill effluents. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45: 1525– 1536.
- Asker N., Carney Almroth B., Albertsson E., Coltellaro M., Bignell J.P., Hanson N., Scarcelli V., Fagerholm B., Parkkonen J., Wijkmark E., Frenzilli G., Förlin L. and Sturve J.. 2015. A gene to organism approach—assessing the impact of environmental pollution in eelpout (*Zoarces viviparus*) females and larvae. *Environ. Toxicol. Chem.* 34, 1511-1523.
- Förlin L., Haux C., Andersson T., Olsson P.-E. and Larsson Å. 1986. Physiological methods in fish toxicology: laboratory and field studies. In: *Fish Physiology: Recent Advances* (Nilsson, S., Holmgren, S., eds.). Croom Helm, London. pp. 158-169.
- Hanson N., Förlin L. and Larsson Å. 2009. Evaluation of long-term biomarker data from perch (*Perca fluviatilis*) in the Baltic Sea suggests increasing exposure to environmental pollutants. *Environ Toxicol Chem.* 28, 364-373.
- Hansson T., Lindesjö E., Förlin L., Balk L., Bignert A. and Larsson Å. 2006. Long-term monitoring of the health status of female perch (*Perca fluviatilis*) in the Baltic Sea shows decreased gonad weight and increased hepatic EROD activity. *Aquatic Toxicology* 79, 341-355.
- Haux C. and Förlin L. 1988. Biochemical methods for detecting effects of contaminants on fish. *Ambio* 6, 376-380.
- Larsson Å., Haux, C. and Sjöbeck M.-L. 1985. Fish physiology and metal pollution: results and experiences from laboratory and field studies. *Ecotox. Environ Safety*, 9, 250-281.
- Larsson Å., Förlin L., Grahn O., Landner L., Lindesjö E. and Sandström O. 2000. Guidelines for interpretation and biological evaluation of biochemical, physiological and pathological alterations in fish exposed to industrial effluents. SSVL. Miljö 2000. Rapport nr 5.
- Larsson Å., Förlin L., Lindesjö E., and Sandström O. 2003. Monitoring of individual organisms responses in fish populations exposed to pulp mill effluents. In: *Environmental Impacts of Pulp and Paper Waste Streams*. Eds T.R. Stuthridge, M.R. van den Heuvel, N.A. Marvin, A.H. Slade, J. Gifford. SETAC Press. Pp 216-226.
- Larsson Å. och Förlin L. 2006. Hälsotillstånd hos kustfisk – biologiska effekter på subcellulär och cellulär nivå, Naturvårdsverket, 2006-02-10.
<http://www.naturvardsverket.se/upload/stod-i-miljoarbetet/vagledning/miljoovervakning/handledning/metoder/undersokningstyper/kusthav/fiskhalso.pdf>
- Larsson Å., Förlin L., Hanson N., Reutgard M., Sundelin B., Eriksson-Wiklund A-K., Magnusson M och Granmo Å. 2009. Effektstudier – olika program med gemensamt mål. HAVET 2009, 77-80

- Naturvårdsverket. 1988. Biologiska effekter av blekeriavlopp. Slutrapport från projektområdet Miljö/Cellulosa I. Naturvårdsverket Rapport 3498. 134 sid.
- Noaksson, E., Linderöth M., Tjärnlund U. and Balk L. 2005. Toxicological effects and reproductive impairments in female perch (*Perca fluviatilis*) exposed to leachate from Swedish refuse dumps. *Aquat. Toxicol.* 75: 162-177.
- Ronisz D., Lindesjö E., Larsson Å., Bignert, A. and Förlin L. 2005. Thirteen years of monitoring selected biomarkers in Eelpout (*Zoarces viviparus*) at reference site in the Fjällbacka archipelago on the Swedish west coast. *Aquat. Ecosystem Health Manage.* 8, 175-184.
- Sandström O., Larsson Å., Andersson J., Appelberg M., Bignert A., Ek H., Förlin L. and Olsson M. 2005. Three decades of Swedish experience demonstrates the need for integrated long-term monitoring of fish in marine coastal areas. *Water Qual Res J Can* 40, 233-250.
- Sandström O., Grahn O., Karlsson M., Larsson Å., Malmaeus M. och Viktor T. 2015. Miljösituationen förr och nu i skogsindustrirecipienter - Bakgrundsrapport. IVL-rapport C115.
- Sandström O., Grahn O., Larsson Å., Malmaeus M. Viktor T. och Karlsson M. 2016. Återhämtning och kvarvarande miljöeffekter i skogsindustrins recipienter. Utvärdering av 50 års miljöundersökningar IVL-rapport B 2272
- Sandström O. och Abrahamsson I. 2017. Uppföljande undersökning av tillväxt och fortplantning hos abborre i recipienten till Norrsundets Bruk 2017. SKUTAB 2017-12-30, 16 sid.
- Stegeman J.J., Brouwer M., Di Giulio R.T., Förlin L., Fowler B.A. Sanders B.M. and Van Veld P.A. 1992. Molecular responses to environmental contamination: Enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effects. In *Biomarkers: Biochemical, Physiological, and Histological Markers of Anthropogenic Stress*. Eds Hugget R.J., Kimerle R.A., Mehrle P.M. and Bergman H.L. SETAC Special Publications Series, Lewis Publishers. pp. 235-335.
- Sturve J., Berglund Å., Balk L., Broeg K., Böhmert B., Massey S., Parkkonen J., Stephensen, E., Koehler A. and Förlin L. 2005. Effects of dredging in Göteborg harbour, Sweden, assessed by biomarkers in eelpout (*Zoarces viviparus*). *Environ. Toxicol. Chem.* 24: 1951-1961.
- Swedish Environmental Protection Agency. 1993. Bleached Pulp Mill Effluents: Composition, fate and effects in the Baltic Sea. Final report from Environment Cellulose II (Editor: Anders Södergren).
- Van der Oost R., Beyer J. and Vermeulen N.P.E. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Biochem. Pharmacol.* 13, 57-149.