



**INSTITUTIONEN FÖR BIOLOGI
OCH MILJÖVETENSKAP**

Undersökning av hälsotillståndet hos tånglake i Landskrona och Byfjorden/Uddevalla, 2017

Lars Förllin (1), Åke Larsson (1), Jari Parkkonen (1), Fredrik Franzén (2) och
Noora Mustamäki (2)

(1) Institutionen för biologi och miljövetenskap, Göteborgs Universitet

(2) Institutionen för akvatiska resurser, Sveriges Lantbruksuniversitet

Oktober 2019

Innehållsförteckning

Inledning	3
Effektstudier hos fisk	3
Syfte	3
Material och Metoder	4
Resultat och Diskussion	6
<i>Inledning</i>	6
<i>Fiske, provtagning och analysarbete</i>	6
<i>Morfometriska mått (kropps- och organindex) och ålder</i>	6
<i>Konditionsfaktor, CF</i>	6
<i>LSI</i>	7
<i>GSI, ESI och vitellogenin</i>	8
<i>Röda blodceller och hemoglobin i blodet</i>	9
<i>Glukos i blodet</i>	9
<i>Vita blodceller</i>	9
<i>Jonbalans i blodet</i>	10
<i>EROD i levern</i>	11
<i>Antioxidantzymer och oxidativ stress</i>	11
<i>Acetylkolinesteras</i>	12
<i>Fortplantningskontroll</i>	13
Sammanfattande beskrivning av påverkan på lokaler	14
Sammanvägda bedömningar och slutsatser	15
Litteraturreferenser	17

Inledning

I föreliggande undersökning har fiskfysiologisk metodik använts för att undersöka hälsoeffekter hos tånglake från hamnen i Landskrona och i mynningen av Byfjorden. Undersökningarna är en del i ett stort screeningsprojekt som är initierat av Naturvårdsverket för att kartlägga miljögifters biologiska effekter vid ett antal svenska kustområden. Båda områden anses vara s.k. recipientområden; områden som är påverkade av mänsklig aktivitet, utsläpp eller annan störning av människan. Resultaten från recipientområde Landskrona har jämförts med en referenslokal vid Kullen och resultaten från recipientområde Byfjorden har jämförts med referenslokalen Fjällbacka. Fjällbacka ingår som referenslokal i det nationella övervakningsprogrammet för fiskbestånd, fiskhälsa och miljögifter hos fisk. Kullen är en provfiskelokal som används för beståndsskattningar av fisk men som tidigare inte använts för undersökningar av hälsotillstånd hos fisk. Metodiken som använts för att studera effekter hos tånglakarna är likadan som för de effektstudier som idag görs bland annat i den nationella kustfiskövervakningen.

Effektstudier hos fisk

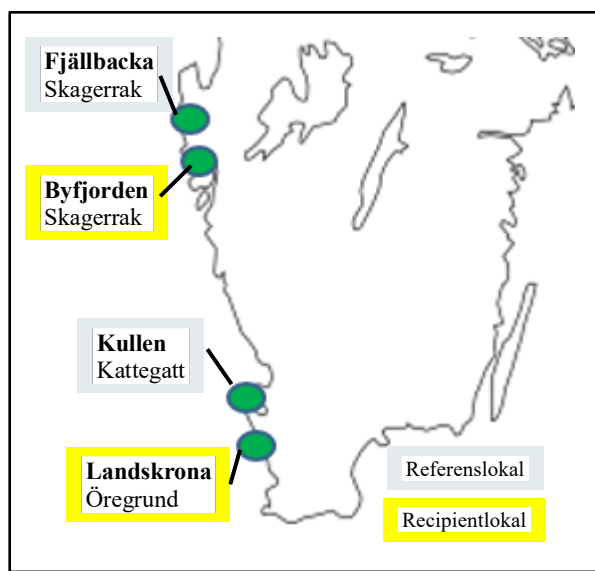
I Sverige har det sedan många år använts fysiologiska, biokemiska och histologiska metoder (så kallade biomarkörer) för att studera hälsoeffekter hos fisk som exponeras för miljöfarliga ämnen. Detta har gjorts i såväl kontrollerade akvarieundersökningar i laboratoriet som i fältundersökningar på fiskar från mer eller mindre förorenade recipienter för avloppsvatten (Larsson et al., 1985; Förllin et al., 1986; Larsson et al., 2003; Noaksson et al., 2005; Sturve et al., 2005; Asker et al., 2015). Studier har till exempel utförts i vattenområden som tar emot förorenat vatten från skogsindustrier, metallindustrier, petrokemiska industrier eller tätorter. På så sätt har hälsoundersökningar av fisk med hjälp av biomarkörer avslöjat effekter av miljögifter eller komplexa utsläpp i förorenade recipienter. 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 ifall viktiga fysiologiska funktioner såsom immunförsvar eller fortplantning är påverkade (Haux and Förllin, 1988; Stegeman et al., 1992; Larsson et al., 2000; Van der Oost et al., 2003). Biomarkörerna kan delas in i markörer för exponering som visar att kemiska ämnen tagits upp av organismen och olika försvarsmekanismer har aktiverats och i markörer för effekt som visar att olika fysiologiska funktioner är påverkade. Det betyder att biomarkörer på individnivå kan 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.

Syfte

Syftet med undersökningarna var att försöka bedöma vilka hälsoeffekter fiskar uppvisar som lever nära större tätorter på lokaler som kan beskrivas som recipientlokaler. I föreliggande undersökning har därför fiskfysiologisk metodik använts för att undersöka om tånglakar i hamnen i Landskrona och i mynningen av Byfjorden nära Uddevallabron uppvisar negativa

hälsoeffekter. Metodiken som används för att studera effekter hos tånglakarna är av samma typ som för de effektstudier som idag görs bland annat i den nationella kustfiskövervakningen (Mustamäki et al., 2019a; Mustamäki et al., 2019b). För att få en uppfattning om påverkan i respektive recipientlokal har fiskarna från dessa jämförts med fiskar från ett närliggande referensområde, Kullen, för Landskrona-lokalen och Fjällbacka för Byfjorden-lokalen. De undersökta lokalerna Landskrona och Byfjorden, tillsammans med referenslokalerna Kullen och Fjällbacka, är angivna i Figur 1. Lokalernas placering har framtagits i samarbete med respektive Länsstyrelser och Naturvårdsverket.



Figur 1. Lokaler i fysiologiundersökningen på tånglake som utfördes hösten 2017.

Material och Metoder

Allt arbete gjordes enligt de standardiserade föreskrifter som finns för denna typ av fiskundersökningar. Fisket görs med ryssja och fisken sumpas 2-4 dygn för att fisken ska återhämta sig från fångststressen innan provtagningen. Undersökning av fiskarnas hälsotillstånd gjordes således i två recipientområden där Landskrona jämförs med referensområde Kullen och Fjällbacka jämförs med referensområde Fjällbacka (Figur 1, Tabell 1). I Tabell 1 anges positionerna för fisket i de olika lokalerna.

Fångst och sumpning av fiskarna gjordes vid undersökningen i recipientområdet Landskrona av Leif Olsson och fiskarna sumpades vid Borstahusen (Landskrona) och i referensområdet Kullen av Anders Jälkén och fiskarna sumpades i hamnen i Svanshall. I recipientområdet Byfjorden gjordes fiske och sumpning av fiskarna av Bobo Royson (Grundsund) och sumpades vid Kärranäs (Uddevalla) och i referensområdet Fjällbacka gjordes fisket av Alf Gustavsson och fiskarna sumpades i Fjällbacka hamn.

Tabell 1. Positioner för undersökta stationer i de områden där provfiske utfördes hösten 2017.

Station	koordinater	Provtagningsdatum
Landskrona	WGS84 decimal (lat, lon) 55.853, 12.831	20171108
Kullen	WGS84 decimal (lat, lon) 58.644, 11.245	20171109
Byfjorden	WGS84 decimal (lat, lon) 56.252, 12.663	20171206
Fjällbacka	WGS84 decimal (lat, lon) 58.327, 11.849	20171205

Provtagning, provberedning och analyser gjordes enligt beskrivningar i undersökningstyp ”Hälsotillstånd hos kustfisk – biologiska effekter på subcellulär och cellulär nivå (Larsson och Förllin, 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 Mann-Whitney test ($p < 0,05$). Hos honorna gjordes dessutom en yngelkontroll enligt beskrivning i undersökningstyp ”Reproduktionskontroll – Tånglake.Handledning för miljöövervakning” (Andersson, 2014).

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

Funktion	Mätvariabel/biomarkör
Energilagring, tillväxt, kondition	Total kroppsvikt, somatisk vikt, längd, ålder, somatisk konditionsfaktor (CF)
Fortplantning, hormonstörning	Gonadsomatiskt index (GSI), vitellogenin (vtg) 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-aktivitet)
Kolhydratmetabolism/stress	Blodglukos
Syretransport, blodbildning	Hematokrit (Ht), omogna röda blodceller (iRBC), hemoglobin (Hb)
Immunförsvar, vävnadsskador	Vita blodceller: lymfocyter, granulocyter, trombocyter
Saltbalans, cellskador	Halter av klorid, natrium, kalium och kalcium i blodplasma
Fortplantningskontroll	Yngelstatus: antal levande, döda och missbildade yngel
Exponeringsindikator	EROD-aktivitet, GR-aktivitet, GST-aktivitet, katalasaktivitet, AChE-aktivitet

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). Avsikten var att ta prover från 20 köns mogna honor och 10 hanar. För bestämning av yngelstatus var avsikten att ta prover från 40 köns mogna honor.

Resultat och Diskussion

Inledning

Vid resultatsammanställningen och tolkningen av data från undersökningen av tånglakarnas hälsotillstånd har de undersökta fiskarna delats in i de två grupperna könsmogna honor och könsmogna hanar. Anledningen till att dela på könen är att det är känt att vissa av variablerna som undersöks kan variera mellan kön och med könsmognad. Det är samma upplägg som inom nationella övervakningen där fokus ligger på resultat för könsmogna honor. Könsmogna 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

Avsikten var att ta prover från 20 könsmogna honor och 10 hanar av storleken 20-30 cm från varje lokal. Det lyckades inte få 20 honor från samtliga lokaler. Särskilt dålig med honfiskar fanns det i lokalen Byfjorden. Det gick heller inte att få tag på fullt antal hannar i alla lokaler (Tabell 3). Det är inte ovanligt att tillgången är begränsad på hannar av den storleksklass som prover tas från. I bästa fall kan cirka en 1/3-del vara hannar men ofta är andelen lägre. Förutom att det således var lite få fiskar i några lokaler gick provtagningen av fisken utan några problem.

Tabell 3. Antal könsmogna hon- och hantånglakar som prover tagits från för undersökning av fiskens hälsotillstånd i recipientlokalerna Landskrona och Byfjorden och respektive referenslokaler Kullen och Fjällbacka.

Station	Könsmogna tånglakehonor	Könsmogna tånglakehanar
Landskrona	20	10
Kullen	16	7
Byfjorden	10	7
Fjällbacka	20	8

Morfometriska mått (kropps- och organindex) och ålder.

Både honfiskarna och hanfiskarna från Landskrona var något större än fiskarna från Kullen (Tabell 4). i Byfjorden var hanfiskarna mindre än i Fjällbacka, medan honfisken var av samma storlek i båda lokalerna (Tabell 5). Honfisken från Kullen var äldre än fisken från Landskrona och honfisken från Byfjorden var äldre än fisken från Fjällbacka (Tabell 4). Dessa skillnader tyder på att fisken från Kullen växer långsammare än fisken från Landskrona, och att fisken från Byfjorden växer långsammare än fisken från Fjällbacka.

Konditionsfaktor, CF

I Tabell 4 och 5 redovisas också konditionsfaktorn (CF), som är ett mått som beskriver relationen mellan kroppsvikt och längd. CF visade tydliga statistiska skillnader mellan lokalerna Kullen och Landskrona för både hon- och hanfisken (Tabell 4). CF var betydligt mindre i referenslokalen än recipientlokalen Landskrona. Resultaten visar således att fiskarna

från Landskrona var fetare än fiskarna från referensen. Dessa skillnader kan vara resultatet av naturlig variation i särskilt på tillgång på föda. Det fanns ingen skillnad i CF mellan fisken från Byfjorden och Fjällbacka.

Tabell 4. Kroppsvikt, kroppslängd, konditionsfaktor (CF), leversomatiskt index (LSI), gonad somatiskt index för hanar (GSI), embryosomatiskt index för honor (ESI) och ålder hos tånglake från Landskrona och Kullen. Resultaten presenteras som medelvärde ± standardfel.

Station	Vikt, gram	Längd, cm	CF (A)	LSI, %	GSI/ESI, %	Ålder
<i>Könsmogna honor</i>						
Kullen	57,8 ± 5,8	23,8 ± 0,7	0,41 ± 0,01	1,53 ± 0,05	12,9 ± 1,1	2,2 ± 0,3
Landskrona	88,9 ± 8,3 *	25,8 ± 0,7	0,49 ± 0,01 *	1,50 ± 0,07	14,1 ± 1,0	1,5 ± 0,2 *
<i>Könsmogna hanar</i>						
Kullen	37,9 ± 7,7	22,1 ± 1,4	0,32 ± 0,01	1,06 ± 0,05	0,35 ± 0,02	-
Landskrona	45,1 ± 3,1	22,4 ± 0,6	0,40 ± 0,01 *	1,62 ± 0,15 *	0,29 ± 0,02	-

(A) konditionsfaktor, gram/cm³; * p < 0,05 jämfört med Kullen.

Tabell 5. Kroppsvikt, kroppslängd, konditionsfaktor (CF), leversomatiskt index (LSI), gonad somatiskt index för hanar (GSI), embryosomatiskt index för honor (ESI) och ålder hos tånglake från Byfjorden och Fjällbacka. Resultaten presenteras som medelvärde ± standardfel.

Station	Vikt, gram	Längd, cm	CF (A)	LSI, %	GSI/ESI, %	Ålder
<i>Könsmogna honor</i>						
Fjällbacka	87,6 ± 7,9	25,3 ± 0,6	0,52 ± 0,02	1,51 ± 0,05	26,0 ± 1,5	1,4 ± 0,2
Byfjorden	88,2 ± 14	24,3 ± 1,1	0,53 ± 0,03	1,81 ± 0,09 *	34,6 ± 3,1 *	2,6 ± 0, *
<i>Könsmogna hanar</i>						
Fjällbacka	63,4 ± 7,8	25,6 ± 1,0	0,37 ± 0,01	1,24 ± 0,11	0,37 ± 0,02	-
Byfjorden	41,3 ± 9,7	21,6 ± 1,4 *	0,37 ± 0,01	1,18 ± 0,08	0,46 ± 0,03 *	-

(A) konditionsfaktor, gram/cm³; * p < 0,05 jämfört med Fjällbacka;

LSI (Leversomatiskt index)

I Tabell 4 och 5 redovisas LSI (lever somatiskt index) som är levervikten uttryckt i procent av somatisk kroppsvikt. I föreliggande undersökning visar resultaten att den relativa leverstorleken (LSI) hos hantånglake från recipientområdet Landskrona var betydligt större än från referenslokalen Kullen, men någon liknande skillnad fanns inte hos honfisken från dessa lokaler (Tabell 4). Hos honfiskar från Byfjorden var LSI något större jämfört med referenslokalen Fjällbacka, medan hos hanar ingen skillnad observerades (Tabell 5). Skillnaderna i leverns relativa storlek kan vara ett resultat av variation i upplagring av näringsämnen (fetter och kolhydrater) i levern, men 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. Vad orsakerna till dessa skillnader i relativ levervikt är går inte att fastställa men det går inte att utesluta att leverns större storlek hos hanfisk från Landskrona och honfisk från Byfjorden visar att de är något påverkade av miljöstörande ämnen. Såväl mekanismen bakom som betydelsen av denna leverförändring är oklar.

GSI, ESI och vitellogenin

I Tabell 4 och 5 redovisas GSI (gonad somatiskt index) som är gonadvikten uttryckt i procent av somatisk kroppsvikt. Hos honfisken är GSI beräknad på den totala vikten av embryon och kallas därför embryo somatiskt index (ESI), medan det hos hanarna är beräknat på gonadvikten (alltså testikelvikten).

Resultaten visar att både ESI hos honor och GSI hos hanar var högre hos fiskar från recipientområdet Byfjorden jämfört med referensområdet Fjällbacka. Resultaten visar således på fler och större yngel hos honor i Byfjorden jämfört med Fjällbacka. Mellan recipientområdet Landskrona och kontrollområdet Kullen observerades inga skillnader mellan områden i GSI hos hanar och ESI hos honor. Resultaten tyder på någorlunda normal utveckling av ynglen i recipientområden Landskrona och Byfjorden.

I Tabell 6 och 7 redovisas halten vitellogenin (guleprotein) i blodet hos honfisken. Vitellogenin (vtg) bildas i levern under inverkan av honfiskens östrogen och transporteras via blodet till gonaden för att inkorporeras i ägget. Resultaten visar att vtg-nivåerna är lägre hos fisken från Landskrona och Byfjorden jämfört med respektive referensområde. Skillnaderna får anses vara ganska små men det går inte att utesluta att den speglar en påverkan av föroreningar.

Tabell 6. Hematokrit (Ht), hemoglobin (Hb), glukos och vitellogenin i blodet hos tånglake från Kullen och Landskrona. Resultaten presenteras som medelvärde ± standardfel.

Station	Hb, g/l	Ht, %	Glukos, mmol/l	Vitellogenin, µg/ml
<i>Könsmogna honor</i>				
Kullen	48,5 ± 3,1 (A)	18,8 ± 1,3	2,3 ± 0,1	115 ± 14
Landskrona	46,5 ± 2,5	20,3 ± 1,3	2,7 ± 0,1 *	67 ± 9 *
<i>Könsmogna hanar</i>				
Kullen	47,2 ± 4,2	20,3 ± 2,3	2,5 ± 0,2	0,09 ± 0,02
Landskrona	61,3 ± 2,6 *	26,9 ± 2,2	3,2 ± 0,2	0,18 ± 0,03 *

* p < 0,05 jämfört med Kullen

Tabell 7. Hematokrit (Ht), hemoglobin (Hb), glukos och vitellogenin i blodet hos tånglake från Fjällbacka och Byfjorden. Resultaten presenteras som medelvärde ± standardfel.

Station	Hb, g/l	Ht, %	Glukos, mmol/l	Vitellogenin, µg/ml
<i>Könsmogna honor</i>				
Fjällbacka	41,2 ± 2,3 (A)	16,3 ± 0,9	2,6 ± 0,1	32 ± 6
Byfjorden	45,6 ± 3,6	19,2 ± 1,0 *	2,6 ± 0,1	13 ± 2 *
<i>Könsmogna hanar</i>				
Fjällbacka	55,3 ± 4,9	21,6 ± 1,7	2,8 ± 0,1	0,09 ± 0,02
Byfjorden	72,3 ± 3,1 *	29,0 ± 1,2 *	3,0 ± 0,1	0,09 ± 0,02

* p < 0,05 jämfört med Fjällbacka

I miljöövervakningssammanhang mäts halten vtg i blodplasma även hos hanfisk för att ta reda på om de exponerats för ämnen med östrogenliknande effekter. Normalt produceras försvinnande små mängder hos fiskhanar. I tabell 6 kan ses att vtg nivåerna är statistiskt högre hos hantånglakarna från recipientområdet Landskrona jämfört med referensområdet Kullen. Resultaten betyder således att hanfisken i Landskrona är exponerad för ämnen med östrogen verkan vilket kan ha en negativ inverkan på fiskens fortplantningsförmåga. I Byfjorden observerades inte förhöjda vitellogeninhalter hos hanar.

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), och de röda blodcellernas innehåll av hemoglobin (Hb) och andel omogna röda blodceller (iRBC). Hb-halterna är signifikant högre hos hantånglakarna både i Landskrona och Byfjorden jämfört med respektive referensområde (Tabell 6 och 7). Ht-värdet är signifikant högre hos både han- och honfisken från Byfjorden jämfört referensområdet (Tabell 7). Skillnaderna speglar sannolikt olika behov och kanske förmåga att ta upp syre hos fiskgrupperna där fisken från Byfjorden verkar kompensera med lite högre andel röda blodceller, men även något högre Hb-halter särskilt hos hanfisken. Genom att beräkna kvoten mellan Hb och Ht kan man dock se att skillnaden mellan recipient- och referensområde för de olika fiskgrupperna blir relativt liten. Det tyder på att skillnaderna i Hb och Ht inte bedöms som allvarliga utan sannolikt speglar normala anpassningar.

Glukos i blodet

Halten glukos i blodet (Tabell 6 och 7) analyserades för att få en uppfattning om kolhydratmetabolismen kunde vara påverkad. Resultaten visar en signifikant högre nivå av blodsocker hos hantånglakarna från Landskrona jämfört med referensområdet Kullen (Tabell 6). En liknande tendens ses även hos hantånglakarna från Landskrona men skillnaden var inte statistiskt signifikant. Det ses dock ingen skillnad hos fiskarna från Byfjorden jämfört med referensområdet Fjällbacka (Tabell 7). De observerade nivåerna av blodsocker ligger inom de intervaller som observeras hos tånglakar som ingår i de årliga undersökningarna i svensk kustfiskövervakning i referensområden. Det går dock inte att utesluta att resultaten indikerar en påverkan på kolhydratomsättningen hos fisken från Landskrona.

Vita blodceller

Vita blodcells bilden undersöks för att ta reda på om immunförsvaret är påverkat. Den totala andelen vita blodceller (WBC) var signifikant högre hos hantånglakarna från Landskrona jämfört med referensområdet Kullen (Tabell 8). Även andelen omogna blodceller (iRBC) hos fisken från Landskrona uppvisar signifikant avvikelse jämfört med referensområdet (Tabell 9). För fisken från Byfjorden ses få signifikanta avvikelser. Därvidlag ses inga skillnader i andelen lymfocyter, trombocyter, WBC eller iRBC. Tånglakarna från Byfjorden uppvisar dock signifikant skillnad för andelen granulocyter (Tabell 9). För Landskrona lokalen är den samlade bedömningen att den relativt höga andelen WBC indikerar en tydlig påverkan på immunförsvaret, medan för Byfjordenlokalen indikerar resultaten en relativt måttlig påverkan på immunförsvaret.

Tabell 8. Andelen lymfocyter (%), granulocyter (%), trombocyter (%), total andelen vita blodceller (WBC, %) och andelen omogna röda blodceller (iRBC, %) i blodet hos tånglake från Kullen och Landskrona. Resultaten presenteras som medelvärde ± standardfel.

Station	Lymfocyter %	Granulocyter %	Trombocyter %	WBC %	iRBC %
<i>Könsmogna honor</i>					
Kullen	1,03 ± 0,10	0,84 ± 0,10	0,73 ± 0,09	2,59 ± 0,17	0,70 ± 0,08
Landskrona	1,22 ± 0,07	0,94 ± 0,09	0,88 ± 0,08	3,04 ± 0,13 *	0,50 ± 0,04 *
<i>Könsmogna hanar</i>					
Kullen	0,92 ± 0,18	1,11 ± 0,16	0,71 ± 0,14	2,75 ± 0,18	0,37 ± 0,08
Landskrona	1,08 ± 0,12	0,95 ± 0,13	0,63 ± 0,06	2,66 ± 0,22	0,73 ± 0,15

* p < 0,05 jämfört med Kullen

Tabell 9. Andelen lymfocyter (%), granulocyter (%), trombocyter (%), total andelen vita blodceller (WBC, %) och andelen omogna röda blodceller (iRBC, %) i blodet hos tånglake från Fjällbacka och Byfjorden. Resultaten presenteras som medelvärde ± standardfel.

Station	Lymfocyter %	Granulocyter %	Trombocyter %	WBC %	iRBC %
<i>Könsmogna honor</i>					
Fjällbacka	0,81 ± 0,06	1,01 ± 0,07	0,76 ± 0,07	2,58 ± 0,11	0,88 ± 0,08
Byfjorden	1,00 ± 0,07	0,71 ± 0,07 *	0,88 ± 0,06	2,59 ± 0,12	0,66 ± 0,10
<i>Könsmogna hanar</i>					
Fjällbacka	1,10 ± 0,15	0,81 ± 0,13	0,73 ± 0,12	2,64 ± 0,26	0,57 ± 0,07
Byfjorden	0,86 ± 0,22	0,72 ± 0,15	0,57 ± 0,06	2,16 ± 0,44	0,48 ± 0,05

* p < 0,05 jämfört med Fjällbacka

Jonbalans i blodet

I undersökningen analyserades plasmahalterna av jonerna natrium, kalium och kalcium för att undersöka om jonbalansen uppvisar rubbningar i jonreglerande organ (Tabell 10 och 11). Resultaten visar att plasmanivån av kalcium var signifikant lägre hos tånglakarna från Byfjorden jämfört med referensområdet Fjällbacka (Tabell 11). För tånglakarna från Landskrona var nivåerna av kalcium signifikant högre än hos fisken från referensområdet Kullen (Tabell 10). I båda fallen bedöms kalciumomsättningen vara störd hos fisken men orsakerna är sannolikt olika. För fisken från Landskrona är det därvidlag intressant att notera att det finns stora upplag av kalkinnehållande material i en stor konstgjord ö, Gipsön, i området utanför Landskrona där fisken insamlades. Det kan därför inte uteslutas att orsaken till de relativt höga kalciumnivåerna hos Landskronafisken beror på att fisken på något vis exponeras, sannolikt via vattnet, för kalcium som läcker ut i vattnet från Gipsön. För fisken från Byfjorden, med lägre nivåer av kalcium än fisken från referensområdet är situationen annorlunda. I Byfjorden där tånglakarna fångades har havsvattnet något lägre salthalt (och har därmed också lägre halt av kalcium) än havsvattnet i referensområdet Fjällbacka. Det kan leda till något lägre plasmanivåer. Men skillnaderna bedöms för stora för att enbart kunna förklaras av skillnader i vattnets koncentration av kalcium. Det är sedan länge känt att fiskar som exponeras för metaller men även andra miljöföroreningar kan få problem med kalciumomsättningen med låga blodvärden av kalcium som följd. Det kan därför inte

uteslutas att de låga nivåerna av kalcium i blodet hos tånglakarna från Byfjorden åtminstone delvis beror på exponering för miljöföroreningar/miljögifter.

Tabell 10. Plasma halterna av natrium, kalium och kalcium hos tånglake från Kullen och Landskrona. Resultaten presenteras som medelvärde ± standardfel.

Station	Natrium mmol/l	Kalium mmol/l	Kalcium mmol/l
<i>Könsmogna honor</i>			
Kullen	181,7 ± 1,4	5,34 ± 0,17	1,37 ± 0,04
Landskrona	184,1 ± 1,7	5,18 ± 0,14	1,66 ± 0,06 *
<i>Könsmogna hanar</i>			
Kullen	179,2 ± 3,5	5,27 ± 0,25	1,23 ± 0,10
Landskrona	181,1 ± 3,8	4,89 ± 0,19	1,57 ± 0,16

* p < 0,05 jämfört med Kullen

Tabell 11. Plasma halterna av natrium, kalium och kalcium hos tånglake från Fjällbacka och Byfjorden. Resultaten presenteras som medelvärde ± standardfel.

Station	Natrium mmol/l	Kalium mmol/l	Kalcium mmol/l
<i>Könsmogna honor</i>			
Fjällbacka	194,5 ± 1,2	5,01 ± 0,08	1,74 ± 0,07
Byfjorden	188,6 ± 1,6 *	4,97 ± 0,23	1,29 ± 0,03 *
<i>Könsmogna hanar</i>			
Fjällbacka	194,5 ± 2,0	5,13 ± 0,35	1,93 ± 0,16
Byfjorden	191,8 ± 1,6	5,09 ± 0,23	1,33 ± 0,04 *

* p < 0,05 jämfört med Fjällbacka

EROD i levern

EROD-aktiviteten mäts för att ta reda på om fisken blivit exponerad för vissa typer av miljögifter (Tabell 12 och 13). Resultaten visar att det föreligger en statistisk belagd skillnad i EROD nivåer mellan tånglakarna från Byfjorden jämfört med referenslokalen Fjällbacka. För recipientlokalen Landskrona ses ingen skillnad jämfört med referenslokalen Kullen. De förhöjda EROD aktiviteterna hos fisken från Byfjorden tyder att fiskarna har varit exponerade för ämnen som inducerar (ökar) EROD-aktiviteten, troligast så kallade polycykliska aromatiska kolväten (PAH) som kan finnas i fossil olja eller som bildas vid förbränning.

I Fjällbacka har EROD-aktiviteten analyserats årligen sedan 1989 och nivåerna pendlar mellan cirka 30 till cirka 220 pmol/mg protein x minut. Fram till cirka 2008 sågs en successiv ökning som verkar ha avstannat (Mustamäki et al., 2019b). Denna ökning som också observerades hos tånglake och abborre från referenslokan Kvädöfjärden (Mustamäki et al., 2019a) och hos abborre från flera referenslokaler i Östersjön, anses åtminstone delvis kunna bero på ökad bioturbation orsakad av kraftiga förändringar i bottenfaunasamhället och därmed frigörande av ”gamla” miljögifter ur sediment (Hanson et al., 2016).

Antioxidantzymer och oxidativ stress

Antioxidantzymer mäts för att ta reda på om fisken är utsatt för oxidativ stress. En ökad aktivitet av dessa enzym kan tyda på oxidativ stress. Enzymen glutationreduktas (GR) och glutation S-transferas (GST) i levern uppvisar inga signifikanta skillnader hos hontånglakarna från Byfjorden jämfört med fisken från referenslokalen Fjällbacka. Hos hanfiskerna ses en signifikant lägre nivå av GR hos hanfiskerna från Byfjorden jämfört med referensfisken (Tabell 13). Hos hontånglakarna från Landskrona är både GR och GST lägre i recipienten och även hos hantånglakarna är GST lägre jämfört med tånglakarna från referensområdet Kullen (Tabell 12). Resultaten visar att fiskarna i de båda recipientlokalerna lokalerna inte verkar ha varit utsatta för oxidativ stress. Vad som orsakar denna lägre aktivitet av enzymen är inte känd men det kan inte uteslutas att de kan orsakas av miljöföroreningar.

Tabell 12. Aktiviteter av enzymerna EROD, glutationreduktas (GR), glutation S-transferas (GST), katalas och acetylkolinesteras (AChE) hos tånglake från Kullen och Landskrona. Resultaten presenteras som medelvärde ± standardfel.

Station	EROD (1)	GR (1)	GST (2)	AChE (1)
<i>Könsmogna honor</i>				
Kullen	0,112 ± 0,019	31,2 ± 1,3	0,670 ± 0,036	17,2 ± 1,6
Landskrona	0,079 ± 0,010	26,9 ± 1,0 *	0,445 ± 0,020 *	8,2 ± 0,4 *
<i>Könsmogna hanar</i>				
Kullen	0,278 ± 0,059	27,2 ± 2,0	0,803 ± 0,056	22,1 ± 3,9
Landskrona	0,287 ± 0,049	25,2 ± 1,7	0,609 ± 0,051 *	10,9 ± 0,8 *

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

Tabell 13. Aktiviteter av enzymerna EROD, glutationreduktas (GR), glutation S-transferas (GST), katalas och acetylkolinesteras (AChE) hos tånglake från Fjällbacka och Byfjorden. Resultaten presenteras som medelvärde ± standardfel.

Station	EROD (1)	GR (1)	GST (2)	AChE (1)
<i>Könsmogna honor</i>				
Fjällbacka	0,076 ± 0,015	29,3 ± 1,0	0,448 ± 0,019	27,3 ± 3,0
Byfjorden	0,224 ± 0,033 *	27,3 ± 1,3	0,486 ± 0,058	23,1 ± 3,1
<i>Könsmogna hanar</i>				
Fjällbacka	0,166 ± 0,026	31,2 ± 2,7	0,740 ± 0,055	22,1 ± 4,3
Byfjorden	0,421 ± 0,049 *	23,4 ± 1,5 *	0,742 ± 0,059	24,3 ± 2,3

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

Acetylkolinesteras

Aktiviteten av enzymet acetylkolinesteras (AChE) reglerar nedbrytningen av transmittor-substansen acetylkolin i nerv-/muskelsystemet. Aktiviteten 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 så stor utsträckning. Det finns även misstanke om att höga nivåer av andra ämnen kan ge en påverkan däribland en stor grupp ämnen som kallas organofosfater som finns i vissa bekämpningsmedel, mjukgörare i plaster och syntetiska smörjolja. Resultaten visar att

AChE aktiviteten hos både hon- och hantånglakarna från Landskrona var signifikant lägre jämfört med referensen Kullen (Tabell 12). Däremot ses inga avvikelser för tånglakarna från recipienten Byfjorden jämfört med referensen Fjällbacka (Tabell 13). Resultaten tyder således på en påverkan på den nervösa regleringen hos fisken från Landskrona.

Fortplantningskontroll

Tånglake används förutom undersökning av vuxna individers hälsa även för reproduktionskontroll eftersom dess embryon utvecklas i honans ovarium. Det gör det möjligt att under senhösten undersöka förekomst av missbildningar, tillväxtrubbningar eller onormal dödlighet hos ynglen som eventuellt kan kopplas till belastning av miljögifter (Andersson, 2014).

Resultaten indikerar en relativt stor andel missbildade yngel och förhöjd nivå av sent döda yngel hos hontånglaken från Landskrona (Tabell 14). Enligt föreslagna gränsvärden ligger andelen missbildade yngel så pass högt att fortplantningen bedöms påverkad (ICES, 2012; HELCOM, 2013). Även andelen sent döda yngel var förhöjd hos honor från Landskrona. Hos ynglen från Kullen indikerar resultaten en relativt stor andel tidigt döda yngel (Tabell 14). Ökad andel döda yngel anses bero på att honan utsatts för syrebrist medan en ökad andel missbildningar anses bero på belastning av miljögifter. Resultaten tyder således på att det finns en påverkan av miljögifter på fortplantningen hos fisken från Landskrona medan fisken från Kullen varit utsatt för syrebrist. Yngelkontrollen för fisken både från Byfjorden och Fjällbacka visar att yngelstatus ligger på bakgrundsnivå (Tabell 15).

Tabell 14. Reproduktionsframgång hos tånglakehonor från Landskrona jämfört med referensområdet Kullen samt föreslagna gränsvärden för bakgrundsnivå, förhöjd nivå och påverkad nivå (ICES, 2012; HELCOM, 2013).

	Tidigt döda yngel	Sent döda yngel	Missbildade yngel	Onormala yngel, totalt
Kullen	5,53 %	1,56 %	0,00 %	7,09 %
Landskrona	1,59 %	2,59 %	2,27 %	6,45 %
Föreslagna gränsvärden för				
Bakgrundsnivå	0-2,5 %	0-2 %	0-1 %	0-5 %
Förhöjd nivå	>2,5-5 %	>2-4 %	>1-2 %	>5-10 %
Påverkad nivå	>5 %	>4 %	>2 %	>10 %

Tabell 15. Reproduktionsframgång hos tånglakehonor från Byfjorden jämfört med referensområdet Fjällbacka samt föreslagna gränsvärden för bakgrundsnivå, förhöjd nivå och påverkad nivå (ICES, 2012; HELCOM, 2013).

	Tidigt döda yngel	Sent döda yngel	Missbildade yngel	Onormala yngel, totalt
Fjällbacka	0,05 %	1,00 %	0,11 %	1,15 %
Byfjorden	0,75 %	1,38 %	0,32 %	2,45 %
Föreslagna gränsvärden för				
Bakgrundsnivå	0-2,5 %	0-2 %	0-1 %	0-5 %
Förhöjd nivå	>2,5-5 %	>2-4 %	>1-2 %	>5-10 %
Påverkad nivå	>5 %	>4 %	>2 %	>10 %

Sammanfattande beskrivning av påverkan på lokalerna

Ett stort antal parametrar ingår i den utförda fiskfysiologiska undersökningen. Syftet är att kunna göra en bedömning av fiskhälsan på de olika lokalerna utifrån en sammanvägning av resultaten från parametrarna. I fiskfysiologiska undersökningar anses en tydlig skillnad föreligga i en parameter om en statistiskt signifikant skillnad ($p < 0,05$) finns mellan en recipientlokal och en referenslokal. Båda recipientlokalerna, Landskrona och Byfjorden, uppvisade flera statistiskt signifikanta skillnader i de uppmätta parametrarna jämfört med respektive referensområde Kullen och Fjällbacka (Tabell 16). Nedan har resultaten från undersökningarna summerats per lokal.

Tabell 16. Parametrar i undersökningen 2017 där statistiskt signifikant skillnad ($p < 0,05$) noterades på lokalen Byfjorden jämfört med referenslokalen Fjällbacka och på lokalen Landskrona jämfört med referenslokalen Kullen. S= Signifikant skillnad mot respektive referenslokal med avseende på hontånglake. s= Signifikant skillnad mot respektive referenslokal med avseende på hantånglake.

Parameter	Landskrona	Byfjorden
Reproduktion		
Gonadosomatiskt index (GSI)	-	S s
Vitellogenin (hane)	s	-
Vitellogenin (hona)	S	S
Kondition och metabolism		
Konditionsfaktor (CF)	S s	-
Leversomatiskt index (LSI)	s	S
glukos	S	-
Avgiftningskapacitet		
EROD	-	S s
GR	S	s
GST	S s	-
Katalas	-	-
Immunförsvar		
WBC	S	-
Lymfocyter	-	-
Granulocyter	-	S
Trombocyter	-	-
Röda blodceller		
Hematokrit (Ht)	-	S s
Hemoglobin (Hb)	s	s
Omogna röda blodceller (iRBC)	S	-
Jonreglering		
Natrium (Na)	-	S
Kalium (K)	-	-
Klorid (Cl)	-	-
Kalcium (Ca)	S	S s
Nervfunktion		
Acetylkolinesteras (AChE)	S s	-

Landskrona

Resultaten visar att det hos dontånglaxar från Landskrona ses tydliga avvikelser i många variabler jämfört med referensen Kullen (Tabell 16). För honfisken gäller dessa avvikelser signifikant lägre plasma nivåer av vitellogenin, större konditionsfaktor (CF) och högre halt av plasmaglukos, lägre aktivitet av enzymen glutationreduktas och glutationtransferas, högre halt av antalet vita blodceller (WBC), färre omogna röda blodceller (iRBC), högre halt av plasmakalcium och slutligen lägre aktivitet av enzymet acetylkolinesteras (AChE). Dessa resultat tyder på att det finns en påverkan på många av fiskens fysiologiska funktioner såsom fiskens fortplantning, ämnesomsättning, saltbalans, immunförsvar och förmåga att ta upp syre, samt en påverkan på den nervösa regleringen. När det gäller hanfisken uppvisade resultaten i likhet med honfisken signifikant större konditionsfaktor, lägre aktiviteter av enzymet GST, och lägre aktivitet av acetylkolinestaras. Dessutom visade resultaten hos hanfisken förhöjda halter av vitellogenin och högre halt av hemoglobin. Utöver dessa avvikelser indikerar resultaten en relativt stor andel missbildade yngel hos tånglaxen från Landskrona. Tillsammans indikerar dessa resultat att det finns en påverkan på många av fiskens fysiologiska funktioner såsom fortplantning, ämnesomsättning, saltbalans, immunförsvar och förmåga att ta upp syre, samt en påverkan på den nervösa regleringen.

Byfjorden

Resultaten visar att det hos dontånglaxar från Byfjorden ses några tydliga avvikelser i flera variabler jämfört med referensen Fjällbacka (Tabell 16). För honabborrarna gäller dessa avvikelser signifikant större GSI, lägre halt vitellogenin, större LSI, högre aktivitet av enzymen EROD och katalas, högre hematokrit samt högre halt av plasma kalcium. Högre GSI och lägre vitellogenin halt anses inte tyda på störningar av fortplantningen. Dessa resultat tyder snarare på att dessa fiskar ligger lite före i utvecklingen än fiskarna från referensen. Den högre EROD aktiviteter hos honfisken indikerar en exponering för vissa organiska föroreningar. Hanfisken uppvisar i allt väsentligt samma avvikelser i de olika variablerna jämfört med Fjällbacka. När det gäller kontrollen av tånglaxens fortplantningsframgång så ses inga avvikelser med Fjällbacka utan den ligger under gränsvärdet för vad som föreslagits som bakgrundsnivån. Utöver dessa avvikelser hos fiskarna indikerade resultaten en påverkan på fiskens tillväxt eftersom tånglaxarna från Byfjorden var äldre men samtidigt av samma storlek, vilket indikerar en långsammare genomsnittligt tillväxt, jämfört med fisken från referensområdet Fjällbacka.

Sammanvägda bedömningar och slutsatser

Det har sedan ett antal år tillbaka redovisats en modell för att bedöma eventuell påverkan i skogsindustrirecipienter hälsotillståndet hos abborre (Larsson et al., 2000; Sandström et al., 2005; Hanson et al., 2014; Sandström et al., 2016). Denna modell som vidareutvecklats något i Hanson et al. (2010) kan också tillämpas på resultaten från de undersökta områdena i Landskrona och Byfjorden. Modellen bygger på att parametrarna delas in i fysiologiskt funktionella grupper såsom fortplantning, immunförsvar, kondition, hematologi och jonreglering. En oacceptabel påverkan bedöms föreligga i en funktion om minst tre parametrar i en funktionell grupp avviker signifikant från referenslokalens värden. Om minst två funktioner uppvisar en oacceptabel påverkan anses fiskhälsan vara påverkad. Om en eller två parametrar i en funktionell grupp avviker skall vidare undersökningar utföras. Dessutom säger modellen att om resultaten visar en störd fortplantning eller en minskad tillväxt anses

fiskhälsan påverkad. I Hanson et al. (2010) görs en ytterligare viktning av parametrarna vilket gör att även en reducerad kondition ger bedömningen oacceptabel störning på funktion.

I Tabell 17 redovisas omfattningen av påverkan i de olika funktionella grupperna lokalvis enligt bedömningsmodellen. Resultaten visar en oacceptabel störning för fortplantning hos fisken från Landskrona. Denna bedömning förstärks av att resultaten visade en relativt stor andel missbildade yngel hos tånglaken från Landskrona. Det betyder att bedömningen är att påverkan är av en sådan dignitet att fiskhälsan måste anses vara påverkad. För fisken från Byfjorden visar resultaten en påverkan på de flesta fysiologiska funktioner (Tabell 17). Eftersom det hos fisken från Byfjorden ses en påverkan på tillväxt blir bedömningen att påverkan även på fisken från Byfjorden är sådan att fiskhälsan är påverkad.

I tidskriften Havet beskrivs också denna fiskmodell för bedömning av fiskfysiologiska undersökningar där även halter av miljögifter ingår (Reutgardh et al., 2010). Förutom att således även miljögiftshalter ingår i denna bedömningsmall införs en marginell förenkling för bedömningen av när fiskens hälsa är påverkad. Den bedöms påverkad om minst fem biomarkörer (parametrar), i minst två olika funktionella grupper, visar på signifikant skillnad. Även i denna modell, som således i allt väsentligt är lik modellen som beskrivs i stycket ovan, ger störd fortplantning och reducerad kondition bedömningen påverkad fiskhälsa. Tillämpas detta på resultaten från 2017 års undersökning kan man se att det finns en påverkan i minst sex funktioner (Tabell 16) hos fisken från båda lokalerna. Den samlade bedömningen blir även här att fiskens hälsa är påverkad.

Tabell 17. Sammanfattande beskrivning av om det finns en påverkan i de olika fysiologiska funktioner där ett antal parametrar analyserats i fisk från lokalerna i Landskrona och Byfjorden. S= Signifikant skillnad mot Kullen för Landskrona och mot Fjällbacka för Byfjorden med avseende på hontånglake. s= Signifikant skillnad mot Kullen för Landskrona och mot Fjällbacka för Byfjorden med avseende på hantånglake.

Funktion	Parameter/biomarkör	Landskrona	Byfjorden
Fortplantning	GSI, vitellogenin	Ss	SSs
Kondition o energi	LSI, CF, glukos	SSss	S
Leverfunktioner	EROD, GR, GST, Katalas	SSs	Sss
Immunförsvar	Vita Blodceller	S	S
Hematologi	Ht, Hb, iRBC	Ss	Sss
Jonreglering	Na, K, Cl, Ca	S	SSs
Nervfunktion	AChE	Ss	

	Ingen/obetydlig påverkan på funktion
	Påverkan på funktion (ytterligare undersökning bör göras)
	Oacceptabel störning i funktion

Resultaten visar att flera olika fysiologiska funktioner hos tånglaken är påverkade i de båda undersökta recipientlokalerna Landskrona och Byfjorden. Avvikelserna bedöms som så allvarliga att störningar på populationsnivå inte kan uteslutas.

Det är viktigt att tillägga att det rapporteras om successiva förändringar över tid av hälsotillståndet hos tånglake i nationella referensområden Fjällbacka och Kvädöfjärden. Kvädöfjärden ligger i egentliga Östersjön. Dessa förändringar tycks vara ett generellt fenomen i svenska kustområden och observeras även hos abborre som undersöks i nationella referensområden Kvädöfjärden, Torhamn och Holmön i Östersjön. Huruvida denna successiva förändring hos fisken på individnivå har resulterat i påtagliga förändringar på populationsnivå är oklart, men det kan konstateras för tånglake att beståndet har drastiskt minskat särskilt på västkusten under ett antal år och är på många ställen hotad.

Litteraturreferenser

Andersson J. 2014. Reproduktionskontroll – Tånglake.Handledning för miljöövervakning. Programområde Kust och Hav. Havs- och vattenmyndigheten. 11 sidor.

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.

Hanson N., Förlin L. and Larsson Å. 2010 Spatial and annual variation to define the normal range of biological endpoints: An example with biomarkers in fish. *Environ. Toxicol. Chem.*, 29, 2616-2624.

Hanson N., Larsson Å. och Förlin L. 2014. Gränsvärden för biomarkörer och dess tillämpning i bedömninggrunder för fiskhälsa. <http://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:851071/FULLTEXT01.pdf>

Hanson N., Larsson Å., Parkkonen J., Förlin L., Faxneld S., Nyberg E., Bignert A., Ek Henning H., Olsson J., Bryhn A. and Ericson Y. 2016. Bottendjuren påverkar fiskens hälsa. HAVET 2015/2016. pp. 86-89 (in Swedish). <http://havsmiljoinstitutet.se/publikationer/havet/havet2015-2016>

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. *Aquat. Toxicol.* 79, 341-355.

Haux C. and Förlin L. 1988. Biochemical methods for detecting effects of contaminants on fish. *Ambio* 6, 376-380.

HELCOM. 2013. HELCOM core indicators: Final report of the HELCOM CORESET project. *Balt. Sea Environ. Proc.* No. 136

ICES. 2012. Report of the Working Group on Biological Effects of Contaminants (WGBEC), 12–16 March 2012, Porto, Portugal. ICES CM 2012/SSGHIE:04. 131 pp.

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>

Mustamäki N., Olsson J., Franzén F., Förlin L., Larsson Å., Parkkonen J., Faxneld S., Danielsson S. and Ek C. 2019a. Faktablad från integrerad kustfiskövervakning 2018:3. Kvädöfjärden (Egentliga Östersjön) 1988-2018. <http://www.slu.se/faktablad-kustfisk>

Mustamäki N., Olsson J., Franzén F., Förlin L., Larsson Å., Parkkonen J., Faxneld S., Danielsson S. and Ek C. 2019b. Faktablad från integrerad kustfiskövervakning 2018:1. Fjällbacka 1989-2018. <http://www.slu.se/faktablad-kustfisk>

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.

Reutgardh M., Sundelin B., Magnusson M., Granmo Å., Larsson Å., Förlin L., Hanson N och Parkkonen J. 2010. Biologiska effekter – bedömningsgrunder under utveckling. HAVET 2010, 77-80.

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., 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., 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.

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.

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.