

”Effektstudier, fiskhälsa och miljöövervakning”

Rapport om Fiskhälsa, för HMI-projektet fysiologiska
anomalier i Hanöbukten i relation till övriga Östersjön

Lars Förlin

November 2017

Kontaktuppgifter:

Institutionen för biologi och miljövetenskap
Göteborgs Universitet, Box 463, 405 30 Göteborg

Telefon: 031 786 3676; 0705 163676

Emailadress: lars.forlin@bioenv.gu.se

Innehåll

<i>Effektstudier hos fisk – fiskhälsa</i>	<i>3</i>
<i>Effekter på fiskhälsa av skogsindustriutsläpp</i>	<i>4</i>
<i>Toxiska effekter på fiskar i förorenade områden – Stockholm</i>	<i>5</i>
<i>Toxiska effekter på fiskar i Göta älvs mynning</i>	<i>5</i>
<i>Är kustfisken frisk i ”opåverkade” referensområden?</i>	<i>6</i>
<i>Vad visar undersökningar av fiskhälsa i Hanöbukten?</i>	<i>8</i>
<i>Erkännanden</i>	<i>10</i>
<i>Litteraturreferenser</i>	<i>10</i>

Effektstudier hos fisk - fiskhälsa

I dagens samhälle använder och producerar vi mer kemikalier än vad vi någonsin gjort tidigare. Det finns hundratusentals kemikalier i omlopp och bara i vardagsprodukter finns det 30-40 tusen olika ämnen (McKinney et al., 2007). Riskbedömningen är grovmaskig och många kemiska ämnen som är miljöfarliga kommer ut på marknaden. Många har egenskaper som gör dem miljöfarliga (EEA, 2011; EEA 2912; Johnston et al., 2009; HELCOM 2017; Gustavsson et al., 2017). Det innebär att de kan vara giftiga, svårnedbrytbara, och ansamlas i näringsväven. Exakt vilka kemikalier som verkligen är ett hot mot miljön och deras sammanlagda påverkan är till stor del okänt. Ett är dock säkert, många kemikalier hamnar förr eller senare i vattenmiljön där de kan ge skador på allt levande. För miljöövervakningen är det viktigt att följa och upptäcka miljöförändringar och för att ge underlag för att försöka förklara miljöhot inte minst för att uppfylla kraven i våra direktiv för vatten och havsmiljön. Men det är en komplicerad uppgift att reda ut och förstå orsakerna till förändringar som kan vara orsakade av en komplex blandning av kemikalier.

Inom miljöövervakningen mäts halter av olika kända ämnen i biota och sediment (Bignert et al., 2016). Men det stora antalet kemikalier i omlopp i vårt samhälle analyseras inte regelbundet eller inte alls. Haltmätningar säger således inte allt eller ofta inget alls om huruvida ämnena orsakar biologiska effekter i miljön. Det är därför viktigt att kombinera haltanalyser med biologisk effektövervakning som kan fånga upp den faktiska påverkan på olika organismer i miljön (t.ex. Lehtonen et al., 2006; Lehtonen et al., 2014; Hylland et al., 2017). Miljögifters effekter i miljön studeras oftast på enskilda arter. Det kan finnas olika skäl till det såsom att arten är hotad, har skyddsvärde, är ekonomiskt viktig och/eller är viktiga för ekosystemets funktion. Ytterligare skäl är att det finns mycket kunskap om en art och att den kan bättre än andra indikera förekomst av vissa föroreningars effekter. Dessutom är det en fördel att studera stationära arter så att organismen representerar provtagningsplatsen och därmed föroreningssituationen. I Sverige används abborre och tånglake för studier av kustfiskars hälsotillstånd som i sin tur bidrar till att ge ett integrerat mått på kustekosystemet tillstånd (Larsson et al., 1985; Larsson et al., 2007; Hedman et al., 2011).

I Sverige har sedan många år (1970-talet) använts biokemiska, fysiologiska, morfologiska och histologiska metoder (så kallade biomarkörer) för att studera hälsoeffekter hos fisk som exponerats för enskilda miljögifter eller avloppsvatten. Detta har gjorts i såväl kontrollerade laboratorieundersökningar som i fältundersökningar på fiskar som lever i förorenade recipienter för avloppsvatten (t.ex. Bengtsson et al., 1975; Larsson 1975; Larsson et al., 1985; Förlin et al., 1986; Noaksson et al., 2005; Sturve et al., 2005; Asker et al., 2015; Larsson et al., 2003). 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 vattenområden i närheten av till exempel 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). Dessa undersökningar har under senare år visat att hälsotillståndet hos fisk i opåverkade kustreferensområden uppvisar signifikanta tidstrender för allt fler biomarkörer (Larsson et al., 2011). Det finns ett antal omgivningsfaktorer såsom klimat- och temperaturförändringar, förändrad bottenfauna och förändrat födoval som kan ha påverkat fiskens fysiologi, men det kan inte uteslutas att tidtrenderna signalerar att kustfisken (och den övriga miljön) är utsatt för fler eller mer föroreningar som påverkar flera viktiga biokemiska och fysiologiska funktioner (Förlin et al., 2014a och b; Förlin et al., 2017).

Biomarkörer som används innefattar mätningar på cellnivå t.ex. av enzymer som kan ge information om en organisms avgiftningssystem är aktiverat eller ger information om påverkan på viktiga fysiologiska funktioner (Haux and Förlin, 1988; Stegeman et al., 1992; Larsson et al., 2000; Van der Oost et al., 2003). Det kan t.ex. röra sig om påverkat immunförsvar eller fortplantningsstörningar. Biomarkörerna kan delas in i exponeringsmarkörer som visar att kemiska ämnen tagits upp av organismen och olika försvarsmekanismer har aktiverats och i effektmarkörer 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.

I denna delrapport sammanfattas resultat och tolkningar från svenska studier där olika toxiska effekter och patologiska förändringar påvisats hos vildlevande fisk. Liknande fältobservationer i andra länder redovisas också.

Effekter på fiskhälsa av skogsindustriutsläpp

I början av 1980-talet startades omfattande studier på fisk i recipienten för Norrsundets sulfatmassafabrik. Dessa effektstudier gjordes inom ramen för Naturvårdsverkets Miljö/Cellulosaprojekt I och II (Naturvårdsverket, 1988; Swedish Environment Protection Agency, 1993). Mycket allvarliga effekter på fisk konstaterades av klorblekeriutsläppet från fabriken (Andersson et al., 1987; Andersson et al., 1988; Härdig et al., 1988; Larsson et al., 1988). Man redovisade leverförstoring och kraftig ökning av EROD-aktiviteten i levern som indikerade att fisken påverkats av miljöföroreningar, möjligen klorerade substanser i utsläppen. Man såg också hämmad tillväxt av könsorganen och reducerad könshormonnivå i blodet vilket pekade på fortplantningsstörningar. Fler andra typiska effekter var störd kolhydratmetabolism, förändringar i vita blodcells bilden som tydde på nedsatt immunförsvar, störd jonbalans, stimulerad produktion av röda blodceller. Andra studier i samma recipient observerade grava fenskador, skelettförändringar och deformerade käkben hos olika fiskarter (Lindesjö & Thulin, 1992; Lindesjö et al., 1994).

Samtidigt kunde man i andra fiskstudier i Norrsundet-recipienten påvisa försenad könsmognad och kraftigt minskad yngelproduktion. I dessa studier kunde också konstateras tillväxtstörningar hos vuxen fisk, ökad mortalitet, låga tätheter av abborre och andra arter, och förskjuten balans mellan olika fiskarter (Sandström et al., 1988; Karås et al., 1991). Sammantaget visade således undersökningarna i recipienten för Norrsundet massafabrik på allvarliga effekter hos fisk från subcellulär nivå till populations- och samhällsnivå. De observerade effekterna var också dosberoende med de flesta och kraftigaste effekter i närområdet 2-5 km från utsläppet. Många effekter kunde påvisas upp till 10 km från fabriken, där avloppsvattnet hade en utspädning på mer än tusen gånger. Exakt vilken eller vilka kemiska substans(er) i klorblekeriavloppsvattnet som orsakade effekterna kunde aldrig klarläggas.

Senare undersökningar utanför andra svenska massafabriker och uppföljande laboratorieförsök med fisk som exponerades för avloppsvatten från klorblekerier, har visat att de observerade effekterna inte var unika för recipienten vid Norrsundets bruk. Dessutom visade undersökningar utanför flera fabriker längs Bottenhavskusten att vissa effekter kunde spåras hos fisk upp till 2-4 mil från fabriken (Förlin et al., 1991; Balk et al., 1993; Förlin et al., 1995). Många av dessa effekter har även observerats t.ex. vid ett antal nordamerikanska massafabriker (Hodson et al., 1992; Servos et al., 1992; Munkittrick et al., 2003).

Utöver dessa effekter har man kunnat påvisa hormonstörningar hos fisk utanför massafabriker och hos laboratorieexponerad fisk (van der Kraak et al., 1992; Munkittrick et al., 1994; Karels et al., 2001). Utanför en massafabrik i södra Sverige har observerats skeva könskvoter hos tånglake med en onormalt stor andel hanyngel (Larsson et al., 2000; Larsson & Förlin, 2002). I laboratoriestudier med zebrafisk bekräftades att avloppsvatten från skogsindustrin innehöll ämnen med androgena effekter som resulterade i ett ökat antal hanfiskar (Örn et al., 2006) eller ger andra androgena effekter hos fisk (Larsson et al., 2002; Katsiadaki et al., 2002).

De allvarliga effekterna av utsläppen som sågs nära Norrsundet och andra massaindustrier bidrog starkt till en snabb teknikutveckling inom skogsindustrin under slutet av 80-talet och början av 90-talet med successiv avveckling av klorgasblekningen och andra åtgärder för att reducera utsläppen av klorhaltigt material och organisk substans. Vid upprepade undersökningar under denna period i recipienten för Norrsundet bruk observerades en positiv återhämtning av fiskarnas hälsotillstånd och

av fiskesamhället i recipienten. 1995 hade de flesta effekter försvunnit och de som var kvar (t ex svag EROD-induktion, något försenad könsmognad, och svag störning av yngelproduktionen) kunde bara observeras i närområdet (Sandström, 1995; Larsson et al., 2003). Efter att Norrsundet bruks lagts ner 2008 gjordes 2011 en uppföljning i området. Den visade emellertid att det fortfarande 3 år efter nedläggning förekom fortplantningsstörningar hos fisk i området (Sandström och Abrahamsson, 2012).

För mer läsning om effekter av svensk skogsindustri på vattenmiljön inklusive fiskhälsa rekommenderas två rapporter ”Miljösituationen förr och nu i skogsindustrirecipienten” (Sandström et al., 2015) och ”Återhämtning och kvavrande miljöeffekter i skogsindustrins recipienten” (Sandström et al., 2016).

Toxiska effekter på fiskar i förorenade områden - Stockholm

Under ett par år vid millennieskiftet genomfördes mycket omfattande undersökningar på fisk i vattnen i och kring Stockholm. Avsikten var att studera hur en hel storstad påverkar hälsotillståndet hos fisk. En storstad är en stor diffus källa som sprider ut en mycket komplex blandning av merparten av de miljöstörande kemikalier som används i vårt samhälle. Ett stort antal fiskar, abborrar, undersöktes i en gradient från centrala Stockholm och vidare in i Mälaren, och i en andra gradient från centrala Stockholm och österut till de yttersta öarna i Stockholms skärgård. Ett mycket stort och omfattande batteri av biokemiska och fysiologiska biomarkörer användes för att studera hälsotillståndet hos abborre. Man mätte också halten av välkända miljögifter (såsom PCB, DDT och HCB) i muskel hos fisken för att få en uppfattning om hur persistenta miljögifter sprids i undersökningsområdet (Linderoth et al., 2006; Hansson et al., 2006; Hansson et al., 2014).

Resultaten visade med mycket stor tydlighet att fisken i vattnen kring Stockholm var påtagligt påverkade av föroreningar. Fisken uppvisade en lång rad effekter som tyder på en kraftig exponering för miljöstörande ämnen. Bland effekterna man noterade som indikerade exponering för miljögifter var minskad kroppstillväxt, störd fettomsättning, förhöjd aktivitet hos avgiftningsenzymet EROD och hög halt av DNA-addukter. Dessutom påvisades förminskade gonader och en onormalt hög frekvens av icke köns mogna honfiskar. Fisken i vattnen kring Stockholm noterades ha höga halter av DDT och PCB. Däremot var halterna av t.ex. HCB jämförbara med bakgrunds nivåerna i Östersjön.

De mest uttalade effekterna på fisken observerades i centrala Stockholm med avtagande effekter in i Mälaren och ut mot Stockholms skärgård. Ett lika intressant som förvånande resultat var att vissa störningar på fortplantningen, var lägre i mellanskärgården jämfört med centrala Stockholm och ökade igen när man kom ut i ytterskärgården. Dessa resultat tyder på att de blir en påspädning av olika föroreningar från Östersjön in mot kusten.

Denna typ av undersökningar ger sällan svar på vilket eller vilka ämne(n) som orsakar de påvisade effekterna. Däremot indikerar de att en storstad som Stockholm är en stor och diffus källa för ett stort antal antropogena ämnen som används i samhället. Exemplet med undersökningarna i Stockholm pekar också på vikten av att genomföra standardiserad miljöövervakning i hårt belastade områden i anslutning till storstäder, vid flodmynningar och andra komplext förorenade områden.

Toxiska effekter på fiskar i Göta älvs mynning

Göta älv är Sveriges vattenrikaste älv vars avrinningsområde utgör ca 10 % av landets yta. Vid Göta älvs mynning ligger Göteborg stad och Skandinavien största hamn. Sedimenten i mynningsområdet och hamnen är mycket kraftigt kontaminerade med höga koncentrationer av flera miljöstörande ämnen, såsom PAH, PCB, dioxiner, TBT och många metaller (Brack & Stevens, 2001; Magnusson et al., 1996; Brack, 2002).

Under de senaste åren har ett flertal undersökningar, särskilt på tånglakar, genomförts för att studera effekter av föroreningar på fiskar i mynningsområdet. Dessa undersökningar visar att tånglakar från mynningsområde har påverkats av miljöstörande ämnen (Förlin et al., 2000; Förlin et al., 2008; Asker et al., 2013; Asker et al., 2015; Asker et al 2016). En förhöjd EROD-aktivitet, ökad DNA-addukthalt, förändrat immunförsvar, samt förekomst av celldöd, förfettnin av leverceller och makrofagscentra i levern tyder på en påverkan av miljöföroreningar såsom PAHer, och/eller plana dioxinliknande ämnen. Kemiska analyser som gjorts i gallvätska har visat på höga halter av vissa PAH-substanser och hydroxylerade metaboliter av PAHer. I gallproverna har man också funnit ämnen med känd östrogenverkan (nonylfenol och bisfenol A) samt det bakteriedödande ämnet triclosan.

I början av 2000-talet utfördes under knappt ett år en mycket omfattande muddring i Göteborgs hamn för att öka hamnens kapacitet att ta emot större fartyg. Med hjälp av biomarkörer studerades hälsotillståndet hos tånglake före och under muddringen (Sturve et al., 2005; Almroth et al., 2005). Undersökningarna som gjordes innan arbetena startade visade att fiskar i Göteborgs hamnområde och dess närhet var kroniskt påverkade av både organiska ämnen och metaller. Under muddringsaktiviteterna förstärktes biomarkörresponsen påtagligt. Förhöjd EROD-aktivitet och nivå av cytokrom P4501A i levern indikerade en ökad exponering för PAHer. Ökad exponering för metaller återspeglades i förhöjt genuttryck för metallothionein och ökad proteinoxidering indikerade oxidativ stress. En minskad lysosomal membranstabilitet hos tånglakarna under muddringen indikerade en ökad celltoxicitet. På sommaren samma år som muddringsarbetet pågick skedde av misstag ett utsläpp av bunkerolja (10-100 ton) i hamnen. Eftersom oljan som släpptes ut innehöll mycket höga halter av PAH ledde utsläppet till extremt kraftiga responser hos biomarkörer som är känsliga för PAH såsom t.ex. extremt höga EROD aktiviteter i lever och DNA addukter (Sturve et al., 2014). Dessutom noterades att PAH halter i gallan hos fisken i hamnen var extremt höga.

Resultaten visade att muddringsverksamheten och utsläppet av bunkerolja medförde att miljöstörande ämnen fick en omfattande spridning i området och att det framkallade förstärkta och mycket kraftiga toxiska effekter hos fisk. Anmärkningsvärt var att även tånglakar i nationella referensområdet i Fjällbacka, ca 15 mil norr om Göteborg, under tiden för muddringen uppvisade ett antal liknande men svagare biomarkörrespons (såsom ökad EROD-aktivitet, minskad lysosomal membranstabilitet, förekomst av DNA-addukter, och förändrade vitellogeninhalter i blodet) jämfört med de effekter som observerades hos som fiskar nära muddringsområdet (Sturve et al., 2005). Resultaten antyder att muddringsaktiviteter i ett förorenat område frigör föroreningar som kan spridas långväga och påverka fiskar (och ekosystemet), inte bara i närområdet utan i det här fallet också fisk längs stora delar av västkusten norr om Göteborg.

Med undantag för de uppenbara effekterna orsakade av bunkeroljeutsläppet ger inte dessa undersökningar i Göta älvs mynningsområde i likhet med undersökningarna i Stockholm svar på vilket eller vilka ämne(n) som orsakade de påvisade effekterna. Däremot indikerar de att stora städer som Stockholm och Göteborg med kringliggande mänskliga aktiviteter är stora och diffusa källor för ett stort antal kemikalier som används i samhället. Dessa exempel pekar också på vikten av att genomföra standardiserad miljöövervakning i hårt belastade områden i anslutning till storstäder, vid flodmynningar och andra komplext förorenade områden. Idag görs ingen sådan regelbunden miljöövervakning i förorenade områden i Sverige.

Är kustfisken frisk i ”opåverkade” referensområden?

Inom den marina kustfiskövervakningen har känsliga biomarkörer använts sedan 1988 för att följa hälsotillståndet hos fisk i opåverkade referensområden. Hälsoundersökningarna syftar till att påvisa och följa negativa och/eller positiva förändringar av miljötillståndet i våra kustområden (Sandström et al., 2005; Hansson et al., 2006; Larsson et al., 2007). Årliga provtagningar görs på abborre vid Holmöarna i Bottniska viken, på abborre och tånglake vid Kvädöfjärden i egentliga Östersjön, på abborre vid Gåsefjärden/Torhamn i Blekinges skärgård och på tånglake i skärgården utanför

Fjällbacka. Nyligen startades även undersökningar på abborre i Forsmark i Bottenhavet. Dessa referensområden bedöms vara obetydligt påverkat av lokala utsläpp och annan mänsklig aktivitet.

1998 startades den integrerade kustfiskövervakningen i Kvädöfjärden. Denna integrering av övervakningen har resulterat i ett mycket omfattande och unikt datamaterial i form av långa tidsserier för ett 50-tal biologiska och kemiska mätvariabler som belyser förändringar i kustfiskens status från cellnivå till populations- och samhällsnivå, samt hur miljögiftsbelastningen har förändrats i området. Årligen beskrivs utifrån dessa undersökningar miljöstatus i varje referensområde i ett faktablad (t.ex. Förlin et al., 2017a)

I referensområdet Kvädöfjärden visar resultaten från den integrerade kustfiskövervakningen att utvecklingen av både fiskens hälsostatus och halter för vissa miljögifter inte är tillfredställande (Balk et al., 1996; Hansson et al., 2006; Hanson et al., 2009; Larsson et al., 2011; Förlin et al., 2017a). Med tiden har det visat sig att alltför många hälsvariabler uppvisar signifikanta tidstrender hos både abborre och tånglake. Utöver inducerat avgiftningssystem och förminskade gonader, observeras symptom hos en eller båda fiskarterna såsom ökad oxidativ stress, påverkat immunförsvar, påverkad saltreglering och ämnesomsättning, samt minskad nybildning av röda blodceller. Förändringarna visar att flera viktiga fysiologiska funktioner hos fisken är påverkade och mycket talar för att fisken är exponerad för kemiska ämnen. Liknande förändringar har även observerats hos kustlevande fisk i samtliga kustreferensområden (i Bottenviken, i egentliga Östersjön, södra Egentliga Östersjön och Västerhavet) (Ronisz et al., 2005; Förlin et al. 2017b, c och d). Det kan tyda på att det är fråga om en likartad och generell påverkan på fiskars hälsotillstånd i svenska kustområden.

När det gäller den successiva minskningen av den relativa gonadstorleken har den planat ut och verkar visa en viss återhämtning under senare år. Histologiska studier indikerar att gonadminskningen hos abborrhonorna i Kvädöfjärden kan förklaras av att antalet ägg minskar (Larsson et al., 2011). Det kan inte uteslutas att gonadstorleken under delar av perioden också påverkats av vattentemperaturen som i sin tur påverkar fiskens kroppstillväxt. En ytterligare förklaring till den minskade gonadstorleken hos abborre är att fisken var exponerad för något eller några miljögift(er) som påverkar könsmognaden och fortplantningsfunktionen. Antagandet om en ökad exponering för främmande ämnen stöds av att exponeringsbiomarkören EROD visar kraftigt ökad aktivitet fram till år 2011. En upptill femfaldig ökning av leverns EROD-aktivitet hos abborre tyder på att fisken sannolikt har varit exponerad för potenta organiska miljögifter (t ex vissa PAH och ämnen med dioxinlik effekt) (Hanson et al., 2009).

Undersökningarna på yngelbärande tånglakehonor i Kvädöfjärden visar att andelen honor med döda yngel har ökat något (Förlin et al., 2017a). I Fjällbacka har missbildade och döda yngel förekommit under de flesta av provtagningsåren (Förlin et al., 2017b). Ungefär 2-3 procent av alla yngel som kontrollerats har varit döda och 1 procent missbildade. Under den tid yngelundersökningar pågått i Fjällbacka har andelen missbildade och döda yngel varit mycket vanligare där än i referensområdet Kvädöfjärden i egentliga Östersjön och Holmön i Bottniska viken. Det har föreslagits att förekomst av döda yngel indikerar episoder av låga syrenivåer medan förekomst av missbildningar tyder på exponering för miljögifter (Gercken et al., 2006). Vilka miljögifter som påverkat tånglaken i Fjällbacka skärgård är inte känt.

Den mångfacetterade symptombilden som observeras hos abborrar och tånglakar i referensområdena liknar till viss del kända effekter av vissa organiska miljögifter, men den påminner än mer om effektbilden hos fiskar i komplext förorenade områden (Hanson et al., 2009; Hanson et al., 2012; Förlin et al., 2014a; Förlin et al., 2014b). Resultaten från övervakningen av miljögifter i referensområdena är dock inte i samklang med bilden av försämrad hälsa hos den kustlevande fisken. I Kvädöfjärden, som är det mest undersökta området, visar undersökningarna av tånglake att de flesta övervakade organiska miljögifterna och metallerna minskar eller är oförändrade (Bignert et al., 2016; Förlin et al., 2017a). Däremot har trenderna i abborre svängt för ett flertal ämnen. Efter en tidigare nedgång, så uppvisade kvicksilver, DDE och HCH i abborrens muskel signifikanta öknings mellan åren 2004-2013. Ökade eller oförändrade halter av ett antal ”gamla” miljögifter signalerar att det pågår en diffus tillförsel av dessa till Kvädöfjärden eller en frisättning från sediment. Det senare stöds av en ökad förekomst av bottengrävande organismer, framför allt av den utifrån kommande

havsborstmasken *Marenzelleria*, vars grävande levnadssätt misstänks kunna frigöra gamla kemikaliesynder (Hanson et al., 2016; Hanson et al., manuscript). Efter år 2011 har dock förekomsten av *Marenzelleria* minskat igen.

Dessutom visar studier att ett flertal perfluorerade ämnen, hydroxylerade bromerade ämnen och siloxaner ökar i strömming i Östersjöns (Faxneld et al., 2014). Även i sillgrissleägg från Stora Karlsö ökar flertalet perfluorerade ämnen. Eftersom mängden kemikalier ökar mycket kraftigt i samhället och de flesta av dem inte övervakas idag, så kan en exponering för en blandning av olika kända och okända kemiska ämnen vara en mycket trolig förklaring till de observerade hälsoeffekterna hos de bestånd av kustfisk som undersökts.

I ett uppföljningsprojekt, Fokus Kvädöfjärden, genomfördes en kartläggning av avrinningsområdet och dess miljöstörande verksamheter. I detta brett upplagda projekt kartlades vattenomsättning och transport- och exponeringsvägar för miljögifter. Det kartlades också vilka miljögifter som kan vara involverade. Och dessutom togs fram information om kända förändringar i ekosystemet under aktuell tidsperiod. Därutöver tittade man också på hur olika omgivningsfaktorer ex. temperatur, nederbörd, salthalt och siktdjup kan tänkas bidra till observerade effekter på fisken (Förlin et al., 2014a; Förlin et al., 2014b inklusive delrapporter). Resultaten visar att det är svårt att hitta en enkel förklaring till den försämrade fiskhälsan i Kvädöfjärden eller liknande effekter i de tre andra nationella referensområden. Det är många kemiska ämnen som kan misstänkas ha bidragit till de negativa hälsoeffekterna (Faxneld och Nyberg, 2014; Larsson et al., 2014) och tyvärr är mätningarna få av dessa ämnens halter i vatten, sediment och fisk i Kvädöfjärden. Dessutom har olika omgivningsfaktorer som kan påverka fiskens fysiologi såsom vattentemperatur och födotillgång förändrats. Den period då de största hälsoeffekterna observerades, sammanföll med en kraftig förändring i bottenfaunasamhället och därmed möjligtvis frigörande av ”gamla” miljögifter ur sediment (Hanson et al., 2016). Det är således troligt att det är en samverkan av förekomsten av olika kemiska ämnen och förändringar i omgivningsfaktorer såsom temperatur, salthalt och födotillgång som tillsammans bidrar till förändringarna i fiskens hälsa (Förlin et al., 2014b). Det krävs fortsatta studier för att få ökad klarhet i orsakerna till den försämrade hälsan hos kustfisk i Kvädöfjärden och andra kustområden.

Vad visar undersökningar av fiskhälsa i Hanöbukten?

Undersökningar på hälsotillståndet hos kustlevande fiskar i Hanöbukten ingår i ett uppdrag från Havs- och vattenmyndigheten att övervaka miljön i Hanöbukten under tre år för att undersöka eventuella samband mellan miljöfarliga ämnen och fiskhälsa. Studierna av fiskens hälsa ska integreras med kartläggning av kustfiskbestånd och miljöfarliga ämnen. Fiskhälsoundersökningarna i Hanöbukten görs på skrubbskädda med hjälp av ett batteri bestående av väl beprövade biokemiska, fysiologiska och histologiska mätvariabler, så kallade biomarkörer för att försöka spåra förekomst och effekter av toxiska ämnen i miljön. I projektet har årliga undersökningar gjorts på skrubbskädda under perioden 2015 – 2017. Resultaten från 2017 års undersökning är preliminära eftersom några analyser återstår att göra när denna rapport skrivs.

För att få en uppfattning om påverkan i området har fiskar från Hanöbukten jämförts med fiskar från referensområden som används inom ramen för den nationella miljöövervakningen (se tidigare avsnitt i denna rapport). Dessa nationella områden ska vara obetydligt påverkade av lokala utsläpp och annan mänsklig aktivitet. Undersökningarna har varit upplagda på lite olika sätt de tre åren. Det gäller främst val av lämplig referenslokal. Första året, 2015, användes Kvädöfjärden (i Östergötlands skärgård) som referens och 2016 och 2017 användes Torhamn som referens. I själva Hanöbukten har undersökningarna gjorts på skrubbskäddor som infångats i två olika lokaler, en lokal nära Vitemölla och en andra lokal nära Yngsjö i Hanöbukten. Det är viktigt att notera att dessa lokaler inte ligger nära något känt lokalt utsläpp utan är valda för att kunna representera en generell påverkan/situation i Hanöbukten.

I samband med provtagningen av fisken visade den okulära besiktningen inga synbara yttre skador på skrubbskäddorna från någon av fångstlokalerna under de tre åren. Inte heller sågs några tecken på stress eller onormalt beteende hos de grupperna av sumpad fisk eller i samband med provtagningen. Samtliga skrubbskäddor från Hanöbukten och från referensområdena bedömdes alltså vid den okulära besiktningen vara i lika god kondition. Resultaten från fiskarnas fysiologi skiljde sig dock en del mellan åren. Resultaten från 2015 års undersökningar visade på mycket tydliga fysiologiska skillnader mellan fisken som fångats i Hanöbukten (fisken var fångad vid Vitemölla) jämfört med referenslokalen Kvädöfjärden. Dessa resultat har tolkats som en tydlig påverkan av något eller några toxiska ämnen på fisken i Hanöbukten (Olsson et al, 2016). Den uppföljande undersökningen 2016 kunde emellertid inte belägga dessa tydliga fysiologiska skillnader utan istället indikerade resultaten möjligen en mindre påverkan på fisken från Hanöbukten (fisken fångad vid Yngsjö) när den jämfördes med fisken från Torhamn. Mycket preliminära resultat från 2017 års undersökningar, då fiskar från både Yngsjö och Vitemölla undersökts, tyder på små eller inga skillnader jämfört med referensstationen vid Torhamn. Det verkar således som resultaten från 2017 års undersökningar liknar 2016 års resultat vilka gav tecken på en mindre eller ingen påverkan på fisken i själva Hanöbukten (Olsson et al., 2017).

Resultaten från 2015 års undersökningar visade bland annat att den relativa gonadstorleken (gonadosomatiskt index, GSI), var betydligt mindre hos skrubbskäddor från Hanöbukten jämfört med skrubbor från Kvädöfjärden. Det kan finnas flera förklaringar till dessa påtagliga skillnader. En förklaring rör skillnader i gonad- och äggutveckling hos utsjölekande och kustlekande skrubbskäddor. Den kustlekande producerar fler ägg och skulle därför kunna ha större äggmassa och större relativ gonadvikt än den utsjölekande skrubbskäddan (Nissling och Dahlman 2010). Den mindre gonadstorleken hos fisken i Hanöbukten skulle därmed helt eller delvis kunna förklaras av att det är den utsjölekande skrubbskäddan som har undersökts i Hanöbukten och den kustlekande i Kvädöfjärden. Eftersom det finns två olika lektyper (kustlekande och utsjölekande) av skrubbskädda i Östersjön gjordes en genetisk analys av 2015 och 2016 års skrubbor (sådana analyser pågår även för 2017 års fiskar) för att ta reda på om de olika lektyperna kan ha påverkat utfallet av undersökningarna.

Den genetiska analysen visade som väntat på att den provtagna fisken från Kvädöfjärden bestod till största delen av kustlekande skrubbor, att en majoritet av skrubborna i Torhamn var utsjölekande och att provet från själva Hanöbukten nästan uteslutande bestod av utsjölekande fisk. Eftersom det alltså även fanns ett mindre antal utsjölekande skrubbor från Kvädöfjärden i 2015 års undersökningar var det möjligt att jämföra dessa med den utsjölekande typen från Hanöbukten. Trots att denna jämförelse gjordes på färre fiskar från Kvädöfjärden visade resultaten att merparten av de tydliga fysiologiska skillnaderna hos skrubborna kvarstod mellan Hanöbukten och Kvädöfjärden även när endast de utsjölekande fiskarna jämfördes. Dessa resultat tyder på att det finns en annan förklaring till de observerade skillnaderna än de rent genetiska till varför skrubborna från Hanöbukten avviker från Kvädöfjärden i 2015 års undersökning

En annan möjlig förklaring till de mindre gonaderna är att skrubbskäddan i Hanöbukten vid 2015 års undersökning har en senare utveckling, försenad och/eller hämmad gonadutveckling jämfört med Kvädöfjärden. En försenad eller hämmad utveckling är i så fall en allvarlig defekt. Orsaken kan vara flera men naturliga miljöfaktorer såsom vattnets temperatur och tillgången på föda påverkar gonadens utveckling. En ökad tillgång på föda som leder till ökad tillväxt hos fisken kan i sin tur leda till en minskad relativ gonadvikt. Det kan samtidigt inte uteslutas att det också rör sig om en påverkan av något eller några miljöfarliga ämnen. En hämmad gonadutveckling är en välkänd respons hos fiskar som exponerats permanent för organiska miljögifter i laboratorieexperiment och hos fiskar i komplext förorenade recipienter (t.ex. utanför skogsindustrier). Vilka är då dessa föroreningar och varifrån kommer de? Det vet vi inte men det kan röra sig om frisättning från sedimenten och i så fall höra samman med de förändringar som skett i bottenfaunasamhället längs våra kuster, med periodvis stor förekomst av den grävande havsbortsmasken *Marenzelleria*, som både kan leda till att födotillgång förändras och till att gamla miljögifter frigörs ur sedimenten (Hanson et al., 2016) (jämför även med avsnittet ”Är kustfisken frisk i ”opåverkade” referensområden?”).

Eftersom det finns tydliga tecken på att många organismer i miljön lider brist på tiamin är det berättigat att fråga sig om de observerade förändringarna kan vara orsakade av denna vitaminbrist (Balk et al., 2016). Symptombilden för 2015 års undersökningar talar inte emot att det föreligger en sådan brist men det saknas mätningar på skrubba från Hanöbukten för att undersöka detta förhållande (Hansson och Balk, 2017). Det är dock viktigt i framtida undersökningar att undersöka tiaminstatus hos fisken i Hanöbukten.

På 2017 års fiskar görs en omfattande histo-patologisk undersökning av skrubbskäddorna från alla tre tidigare undersökta lokaler. Det har därför tagits prover på många av fiskens organ (lever, gälar, tarm, hjärta, skin m.m.). Syftet är att ta reda på om det är någon avgörande skillnad i förekomst av sjukliga vävnadsförändringar hos fisken mellan de olika lokalerna, men också för att ta reda på om patologin hos skrubborna i Hanöbukten och vid Torhamn skiljer sig från skrubbskäddor fångade i andra havsområden (t.ex. i Nordsjön och runt Brittiska öarna). På Cefas (Centre for Environment, Fisheries and Aquaculture Science) i Weymouth, England gör man sådana analyser och har också långa serier av dylika mätningar att jämföra med. Allt analysarbete är inte helt klart när denna rapport skrivs, men underhandsrapporter från Weymouth tyder på att det finns mycket få vävnadsförändringar och att skrubbskäddorna som undersöktes 2017 väsentligen tycks vara helt friska.

Sammanfattningsvis tyder undersökningarna av skrubbskäddans hälsa i Hanöbukten på en påverkan under 2015 men möjligen endast en liten eller obetydlig sådan 2016 och 2017. En slutsats från dessa resultat är att de kan tyda på episodiskt förekommande förändringar av fisken hälsotillstånd i Hanöbukten, dvs. påverkan under 2015 men inte de två andra åren. Vad orsaken till dessa förändringar under 2015 kan vara är inte känd. Den kan vara orsakad av olika naturliga omgivningsfaktorer såsom olika födoval eller vattentemperatur, men det kan inte uteslutas att förändringarna kan vara orsakade av något eller några toxiska ämnen eller ha uppstått på grund av brist på något essentiellt näringsämne som t.ex. tiamin. Det vore värdefullt att fortsätta att undersöka skrubbskäddans hälsostatus med årliga undersökningar på samma sätt som idag sker på abborre och tånglake i några utvalda referensstationer för att följa upp om eller när episodiska förändringar uppträder och om möjligt ta reda vilka orsakerna kan vara.

Erkännande

Jag vill tacka Åke Larsson för alla viktiga bidrag till denna rapport och Henrik Svedäng för många värdefulla kommentarer.

Litteraturreferenser

Almroth B.C., Sturve J., Berglund A. and Forlin L. 2005. Oxidative damage in eelpout (*Zoarces viviparus*), measured as protein carbonyls and TBARS, as biomarkers Aquat. Toxicol. 73, 171-180.

Andersson T., Bengtsson B.-E., Förlin L., Härdig J. and Larsson Å. 1987. Long-term effects of bleached kraft pulp mill effluents on carbohydrate metabolism and xenobiotic biotransformation enzymes in fish. Ecotoxicol. Environ. Safety, 13, 53-60.

Andersson T., Förlin L., Härdig J. and Larsson Å. 1988. Physiological disturbances in fish living in coastal water polluted with bleached kraft mill effluents. Can. J. Fish Aq. Sci. 45, 1525-1536.

Asker N., Kristiansson E., Albertsson E., Larsson DGJ and Förlin L. 2013. Hepatic transcriptome profiling indicates differential mRNA expression of apoptosis and immune related genes in eelpout (*Zoarces viviparus*) caught at Göteborg harbor, Sweden. Aq. Toxicol, 130-131, 58-67.

Asker N., Carney Almroth B., Albertsson E., Coltellarò 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.

Asker N., Albertsson E., Wijkmark E., Bergek S., Parkkonen J., Kammann U., Holmqvist I., Kristiansson E., Strand J., Gercken J. and Forlin 2016. Biomarker responses in eelpouts from four coastal areas in Sweden, Denmark and Germany. *Marine Env Res* 120, 32-43.

Balk, L., Förlin, L., Söderström, M and Larsson, Å., 1993. Indications of regional and large-scale biological effects caused by bleached pulp mill effluents. *Chemosphere* 27: 631-650.

Balk, L., Larsson A and Forlin L., 1996. Baseline Studies of Biomarkers in the Feral Female Perch (*Perca fluviatilis*) as Tools in Biological Monitoring of Anthropogenic Substances. *Marine Environmental Research* Vol. 42, No. 1-4, pp. 203-208
Flera "egna" HAVET rapporter

Balk, L. Hägerroth, PÅ, Gustavsson H., Sigg L., Åkremann G. Ruiz Munoz Y., Honeyfield D., Tjärnlund U., Oliviera K., Ström K., McGormick SD. Karlsson S., Ström M., van Manen M., Berg AL. Halldorson HÅ., Strömqvist J., Collier TK., Börjeson H., Mörner T and Hansson T. 2016. Widespread episodic thiamine deficiency in Northern Hemisphere wildlife. *Sci. Rep.* 6, 38821.

Bengtsson, B.-E., Carlin, C.H., Larsson, Å. and Svanberg, O. 1975. Vertebral damage in minnows, *Phoxinus phoxinus* L., exposed to cadmium. *Ambio* 4: 166-168.

Bignert A., Danielsson S., Faxneld S and Nyberg E. 2016. Comments Concerning the National Swedish Contaminant Monitoring Programme in Marine Biota, 2016, 5:2016. Swedish Museum of Natural History, Stockholm, Sweden. 311 pp.

Brack, K. and Stevens, R. 2001. Historical pollution trends in a disturbed, estuarine sedimentary environment, SW Sweden. *Environ. Geol.* 40, 1017-1029.

Brack, K. 2002. Organotin compounds in sediments from the Göta älv estuary. *Water, Air and Soil Pollution* 135, 131-140.

European Environmental Agency (EEA) 2011: Hazardous substances in Europe's fresh and marine waters, Technical Report, 2011.

European Environmental Agency (EEA) 2012: European waters — assessment of status and pressures, Report, 2012

Faxneld S. och Nyberg E. 2014. Kvädöfjärden. Delrapport: kopplingar mellan miljögifter och fiskfysiologi. Delrapport till projektet Fokus Kvädöfjärden med medel från HaV.

Faxneld S., Nyberg E., Danielsson S och Bignert A. 2014. Miljögifter i biota. HAVET 2013-2014, 78-81.

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.

Förlin, L., Andersson, T., Balk, L & Larsson, Å., 1991. Biochemical and physiological effects of pulp mill effluents on fish. In: *Environmental fate and effects of bleached pulp mill effluents.* Swedish Environmental Protection Agency, Report 4031: 235-243.

Förlin L. Andersson T., Balk L. and Larsson Å. 1995. Biochemical and physiological effects of bleached pulp mill effluents in fish. *Ecotox. Environ. Safety.* 30, 164-170.

Förlin L, Parkkonen J., Ronisz D., Stenborg A., Larsson J., Stephensen E., Sturve J., Thörnqvist S., Adolfsson-Erici M., Lindesjö E. och Ericson G. 2000. Undersökning av tånglake i Göta älvs mynning, Stenungsund, Brofjorden och Fjällbacka. Rapport till Bohuskustens vattenvårdsförbund 200-09-08.

- Förlin L., Parkkonen J., Holmqvist I., Sturve J., Fagerholm B., Andersson J., Adolfsson-Erici M., Liewenborg B och Balk L. 2008. Undersökning av tånglake i Göta älvs mynning, Stenungsund, Brofjorden och Fjällbacka. Rapport till Bohuskustens vattenvårdsförbund 2008-06-25.
- Förlin, L., Larsson Å., Hanson N., Parkkonen J., Nyberg E., Faxneld E., Bignert A., Ek Henning H, Bryhn A., Gårdmark A., och Olsson J. 2014a. Vad orsakar den försämrade hälsan hos kustfisk? - Fokus Kvädöfjärden. Slutrapport inklusive nio delrapporter för projektet Fokus Kvädöfjärden med medel från HaV-myndigheten, 2014-03-20.
- Förlin, L., Larsson Å., Hanson N., Parkkonen J., Nyberg E., Faxneld E., Bignert A., Ek Henning H, Bryhn A., Gårdmark A., och Olsson J. 2014b. Fokus Kvädöfjärden: Varför mår kustfisken dåligt. HAVET 2013/2014: 26–30.
- Förlin, L., Larsson, Å., Parkkonen, J., Ericson, Y., Ek, C., Faxneld, S., Danielsson, S., Nyberg, E., Olsson, J. och Franzén, F. 2017a. Faktablad från integrerad kustfiskövervakning 2017:3. Kvädöfjärden (Egentliga Östersjön) 1988-2016. <http://www.slu.se/faktablad-kustfisk>
- Förlin, L., Larsson, Å., Parkkonen, J., Ericson, Y., Ek, C., Faxneld, S., Danielsson, S., Nyberg, E., Olsson, J. och Franzén, F. 2017b. Faktablad från integrerad kustfiskövervakning 2017:1. Fjällbacka (Västerhavet) 1989-2016. <http://www.slu.se/faktablad-kustfisk>
- Förlin, L., Larsson, Å., Parkkonen, J., Ericson, Y., Ek, C., Faxneld, S., Danielsson, S., Nyberg, E., Olsson, J. och Franzén, F. 2017c. Faktablad från integrerad kustfiskövervakning 2017:2. Holmöarna (Bottniska viken) 1989-2016. <http://www.slu.se/faktablad-kustfisk>
- Förlin, L., Larsson, Å., Parkkonen, J., Ericson, Y., Ek, C., Faxneld, S., Danielsson, S., Nyberg, E., Olsson, J. och Franzén, F. 2017d. Faktablad från integrerad kustfiskövervakning 2017:4. Torhamn (södra Egentliga Östersjön) 2002-2016. <http://www.slu.se/faktablad-kustfisk>
- Gercken J., Förlin L. and Andersson J. 2006. Developmental disorders in larvae of eelpout (*Zoarces viviparus*) from German and Swedish Baltic coastal waters. *Marine Pollution Bulletin*, 53, 497-507.
- Gustavsson M.B., Magnér J., Carney-Almroth B., Eriksson M.K., Sturve J. and Backhaus T. 2017. Chemical monitoring of Swedish coastal waters indicates common exceedances of environmental thresholds, both for individual as well as their mixtures. <https://doi.org/10.7287/peerj.2894v1>
- 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., Larsson Å., Förlin L., Parkkonen J., Nyberg E., och Bignert A. 2012. Förändringar i fiskhälsa – orsaker söks på bred front. HAVET 2012, 85-87.
- Hanson N., Larsson Å., Parkkonen J., Förlin, L., Faxneld E., Nyberg E., Bignert A., Ek Henning H, J. Olsson., Bryhn A., och Ericson Y. 2016. Bottendjuren påverkar fiskens hälsa. HAVET 2015/2016: 86-89.
- Hanson N., Larsson Å., Parkkonen J., Nyberg E., Faxneld S., Bignert A., Ek Henning H., Bryhn A., Olsson J. and Förlin L. Monitoring reveals a link between increasing soft bottom fauna, increased exposure to contaminants, and impaired coastal fish health in the Baltic Sea. *Manuscript*.
- Hansson T., Lindsjö E., Förlin L., Balk L., Bignert A. and Larsson Å. 2006a. 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.
- Hansson, T., Schiedek, D., Lehtonen, K., Vuorinen, P.J., Liewenborg, B., Noaksson, E., Tjärnlund, U., Hansson, M., Balk, L. (2006b). Biochemical biomarkers in adult female perch (*Perca fluviatilis*) in a chronically polluted gradient in the Stockholm recipient (Sweden). *Mar. Poll. Bull.* 53: 451-468.

- Hansson T., Barsiene J., Tjärnlund U., Åkerman G., Linderöth M., Zebuhr Y., Stembeck J., Järnberg U and Balk L. 2014. Cytological and biochemical biomarkers in adult female perch (*Perca fluviatilis*) in a chronically polluted gradient in the Stockholm recipient (Sweden). *Mar Poll Bull* 81, 27-40.
- Hansson T och Balk L. 2017. Sannolik tiaminbrist i Hanöbukten. Rapport för HMI-projektet fysiologiska anomalier i Hanöbukten i relation till övriga Östersjön.
- Haux C. and Förlin L. 1988. Biochemical methods for detecting effects of contaminants on fish. *Ambio* 6, 376-380.
- HELCOM, 2017. The integrated assessment of hazardous substances - supplementary report to the first version of the 'State of the Baltic Sea' report. Available at: <http://stateofthebalticsea.helcom.fi/about-helcom-and-the-assessment/downloads-and-data/>
- Hedman, J.E., Rudel, H., Gercken, J., Bergek, S., Strand, J., Quack, M., Appelberg, M., Förlin, L., Tuvikene, A. and Bignert, A., 2011. Eelpout (*Zoarces viviparus*) in marine environmental monitoring. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 2015-2029.
- Hodson, P.V., McWirther, M., Ralph, K., Gray, B., Thivierge, D., Carey, J., van der Kraak, G., Wittle, D. and Levesque, M.C. 1992. Effects of bleached kraft mill effluent on fish in the St. Maurice River, Quebec. *Environ. Toxicol. Chem.* 11: 1635-1651.
- Hylland, K., Burgeot, T., Martinez-Gomez, C., Lang, T., Robinson, C.D., Svavarsson, J., Thain, J.E., Vethaak, A.D. and Gubbins, M.J., 2017. How can we quantify impacts of contaminants in marine ecosystems? The ICON project. *Mar Environ Res* 124, 2-10.
- Härdig J., Andersson T., Förlin L., Bengtsson B.-E. and Larsson Å. 1988. Longterm effects of pulp bleached mill effluents on hematology and ion balance in fish. *Toxicol. Environ. Safety*, 15, 96-106.
- Johnston, E.L. and Roberts D.A 2009. Contaminants reduce the richness and evenness of marine communities: A review and meta-analysis. *Environ. Poll.*, 157, 1745-1752.
- Katsiadaki, I., Scott, A.P., Hurst, M.R., Matthiessen, P. and Mayer, I. 2002. Detection of environmental androgens: a novel method based on enzyme-linked immunosorbent assay of spiggin, the stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) glue protein. *Environ. Toxicol. Chem.* 21: 1946-1954.
- Karels, A., Markkula, E. and Oikari, A. 2001. Reproductive, biochemical, physiological, and population responses in perch (*Perca fluviatilis* L.) and roach (*Rutilus rutilus*) downstream of two elemental chlorine-free pulp and paper mills. *Environ. Toxicol. Chem.* 20: 1517-1527.
- Karås, P., Neuman, E. and Sandström, O., 1991. Effects of pulp mill effluent on the population dynamics of perch, *Perca fluviatilis*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 48: 28-34.
- Larsson, Å. 1975. Some biochemical effects of cadmium on fish. In: *Sublethal effects of toxic chemicals on aquatic animals*. (Koeman, J.H., Strik, J.J.T.W.A., eds.). Elsevier Scientific Company, Amsterdam, The Netherlands. pp. 3-13.
- Larsson, Å., Haux, C. and Sjöbeck, M.-L. 1985. Fish physiology and metal pollution: results and experiences from laboratory and field studies. *Ecotoxicol. Environ. Safety* 9: 250-281.
- Larsson Å., Andersson T., Härdig J, and Förlin L. 1988. Physiological disturbances in fish exposed to bleached kraft mill effluents. *Water Sci. Technol.* 20, 67-76.
- 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., Förlin L., Hanson N., Ek H., Sturve J och Parkkonen J. 2007. Hälsotillståndet hos abborre och tånglake. HAVET 2007, 100-102.
- Larsson Å., Förlin L., Hanson N., Parkkonen J., Bignert A., Nyberg E., Danielsson S., Andersson J och Appelberg M. 2011. Kustfisken alltmer påverkad av miljögifter. HAVET 2011, 74-79.
- Larsson Å., Förlin L. och Hanson N. 2014. Toxiska effekter och effektmönster av komplexa kemikalieblandningar och enskilda kemikalier på fiskar – En kunskapsmanställning. Delrapport till projektet Fokus Kvädöfjärden med medel från HaV.
- Larsson D. G. J., Hällman H. and Förlin L. 2000. More male fish embryos near a pulp mill. Environ. Toxicol. Chem. 19(12), 2911-2917.
- Larsson D.G.J., Kinnberg K., Sturve J., Stephensen E., Skön M. and Förlin L. 2002. Studies of masculinization, detoxification and oxidative stress responses in guppies (*Poecelia reticulata*) exposed to effluent from a pulp mill. Ecotox. Environ. Safety. 52, 13-20.
- Larsson D.G.J and Förlin L 2002. Male-biased sex ratios of fish embryos near a pulp mill: Temporary recovery after a short-term shutdown. Environ Health Perspec. 110, 739-742.
- Lehtonen, K.K., Schiedek, D., Kohler, A., Lang, T., Vuorinen, P.J., Förlin, L., Barsiene, J., Pempkowiak, J. and Gercken, J., 2006. The BEEP project in the Baltic Sea: Overview of results and outline for a regional biological effects monitoring strategy. Mar. Pollut. Bull. 53, 523-537.
- Lehtonen, K., Sundelin, B., Lang, T. and Strand, J., 2014. Development of Tools for Integrated Monitoring and Assessment of Hazardous Substances and Their Biological Effects in the Baltic Sea. Ambio 43, 69-81.
- Linderoth, M., Hansson, T., Liewenborg, B., Sundberg, H., Noaksson, E., Hansson, M., Zebühr, Y. and Balk, L. 2006. Basic physiological biomarkers in adult female perch (*Perca fluviatilis*) in a chronically polluted gradient in the Stockholm recipient (Sweden). Mar. Poll. Bull. 53: 437-450.
- Lindesjö, E. and Thulin, J. 1992. A skeletal deformity of the northern pike (*Esox lucius*) related to pulp mill effluents. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science 49: 166-172.
- Lindesjö, E., Thulin J., Bengtsson B.-E. and U. Tjärnlund. 1994. Abnormalities of gill cover bone, the operculum, in the *Perca fluviatilis* from a pulp mill effluent area. Aquat.Toxicol. 28: 189-207.
- Magnusson, K., Ekelund, R., Dave, G., Granmo, Å., Förlin, L., Wennberg, L., Samuelsson, M.O., Berggren, M. and Brorström-Lundén, E., 1996. Contamination and correlation with toxicity of sediment samples from the Skagerrak and Kattegat. J. Sea Res. 35, 223-234.
- McKinney M.L., Schooch R. and Yonavjak L. 2007. Environmental Science: Systems and Solutions. Jones and Bartlett Publishers, Inc.
- Munkittrick, K.R., Van Der Kraak, G.J., McMaster, M.E., Portt, C.B. van den Heuvel, M.R. and Servos, M.R., 1994. Survey of receiving-water environmental impacts associated with discharges from pulp mills. 2. Gonad size, liver size, hepatic EROD activity and plasma sex steroid levels in white sucker. Environmental toxicology and chemistry 13(7):1089-1101.
- Munkittrick, K.R., Sandström, O., Larsson, Å., van der Kraak, G.J., Förlin, L., Lindesjö, E., McMaster, M.E. and Servos, M.R. 2003. Evolution of tools for ecological assessment of pulp mill effluent impacts 1982 through 1997: A reassessment of the original reviews of Norrundet and

Jackfish Bay studies (A backward look at risk assessment). In: Environmental Impact of Pulp and Paper Waste Streams (Stuthridge, T., van der Heuvel, M.R., Marvin, N.A., Slade, A.H., Gifford, J., eds.). SETAC Press, Rotorua, New Zealand. pp. 459-477.

Naturvårdsverket. 1988. Biologiska effekter av blekeriavlopp. Slutrapport från projektområdet Miljö/Cellulosa I. Naturvårdsverket Rapport 3498. 134 sid.

Olsson J., Lingman A., Jonsson AL, Förlin L., Hanson N., Larsson Å., Parkkonen J., Faxneld S. och Ljunghager F. 2016. Miljöövervakning i Hanöbukten – finns det ett samband mellan tillståndet för fisken, dess hälsa och belastning av miljöfarliga ämnen? (Delrapport) HaV rapport 2016:17

Olsson J., Lingman A., Jonsson AL, Förlin L., Larsson Å., Parkkonen J., Nyberg E. och Caroline Ek 2017. Miljön i Hanöbukten 2015-2017 – finns det ett samband mellan tillståndet för fisken, dess hälsa och belastningen av miljöfarliga ämnen? Manuscript.

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.

Nissling, A. and Dahlman, G. 2010. Fecundity of flounder, *Pleuronectes flesus*, in the Baltic Sea – reproductive strategies in two sympatric populations. *Journal of Sea Research* 64:190-198.

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., Karås, P. and Neuman, E., 1988. Effects of bleached pulp mill effluents on growth and gonad function in Baltic coastal fish. *Water Science and Technology* 20: 107-118.

Sandström, O. 1995. Incomplete recovery in a coastal fish community exposed to effluents from a modernized Swedish bleached kraft mill. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 51: 2195-2202.

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. och Abrahamsson, I. 2012. Uppföljande undersökning av tillväxt och fortplantning hos abborre i recipienten till Norrsundets Bruk 2011. SKUTAB Rapport 2012-03-01.

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 kvavarande miljöeffekter i skogsindustrins recipienter. Utvärdering av 50 års miljöundersökningar IVL-rapport B 2272

Servos, M.R., Carey, J., Ferguson, M.L., van der Kraak, G.J., Ferguson, H., Parrot, J., Gorman, K. and Cowling, R. 1992. Impact of a modern bleached kraft pulp mill with secondary treatment on white sucker. *Water Pollut. Res. J. Can.* 27: 423-437.

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.

Sturve J., Balk L., Liewenborg B., Adolfsson-Erici M., Förlin L. and Carney Almroth B. 2014. Effects of an oil spill in a harbor assessed using biomarkers of exposure in eelpout. *Environ Sci pollut Res*, 21, 13758-13768. DOI 10.1007/s11356-014-2890-z.

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 Kraak, G.J., Munkittrick, K.R., McMaster, M.E., Portt, C.B. and Chang, J.P. 1992. Exposure to bleached kraft mill effluent disrupts the pituitary-gonadal axis of white sucker at multiple sites. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 115: 224-233.

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.

Örn, S., Svenson, A., Viktor, T., Holbech, H. and Norrgren, L. 2006. Male-biased sex ratios and vitellogenin induction in zebrafish exposed to effluent water from a Swedish pulp mill. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 51: 445-451.