

Programområde:

Kust och Hav

Undersökningstyp:

Hälsotillstånd hos fisk

***-biokemiska och fysiologiska
biomarkörer i abborre och
tånglake***

Syfte och bakgrund

Syftet med denna undersökningstyp är att genom användning av väl beprövade och känsliga metoder påvisa och bedöma betydelsen av effekter av en storskalig påverkan av antropogena substanser i ett kustområde. Olika hälsovariabler i fisk har tidigare tillämpats bl.a. i samband med utsläpp från metall- och skogsindustrier. Metodernas känslighet är väl dokumenterade och har en av sina främsta fördelar i att de ger ett snabbt svar på en antropogen påverkan. Förutom fiskens lämplighet som indikatororganism för dessa typer av effektstudier, är den generella kunskapen om hälsan hos fiskpopulationer av stor vikt p.g.a. fiskens ekonomiska och ekologiska betydelse.

Under de senaste 25 åren har biokemiska och fysiologiska metoder använts vid svenska laboratorier för att påvisa biologiska störningar hos fisk som exponerats för olika antropogena ämnen, framför allt miljögifter och komplexa industriutsläpp. Under 70-talet utvecklades och tillämpades metoderna först i laboratorieförsök där fiskar under kontrollerade betingelser exponerades för aktuella miljögifter. Med hjälp av dessa biokemiska/fysiologiska metoder kunde allvarliga hälsoeffekter av exempelvis pentaklorfenol, PCB, DDT, klorerade paraffiner, kadmium, och bly påvisas vid låga exponeringsnivåer. Biokemiska och fysiologiska metoder visades här vara mycket användbara som instrument för att spåra tidiga hälsoeffekter på miljögiftsexponerade fiskar.

I slutet av 70-talet och början av 80-talet skedde ett omfattande forsknings- och utvecklingsarbete, framför allt inom Naturvårdsverkets Fisk/Metall-projekt, för att anpassa metodiken till fältförhållanden, dvs att tillämpa samma metoder på vildlevande fisk. Resultaten av denna prövning visade att biokemisk och fysiologisk teknik var mycket känslig för att påvisa allvarliga hälsoeffekter i samband med metallbelastning. En god överensstämmelse erhöles även mellan fält- och laboratorieresultat och symptom bilden hos påverkad fisk visade sig vara densamma som hos metallförgiftade däggdjur (Larsson et al. 1985, Förlin et al. 1986).

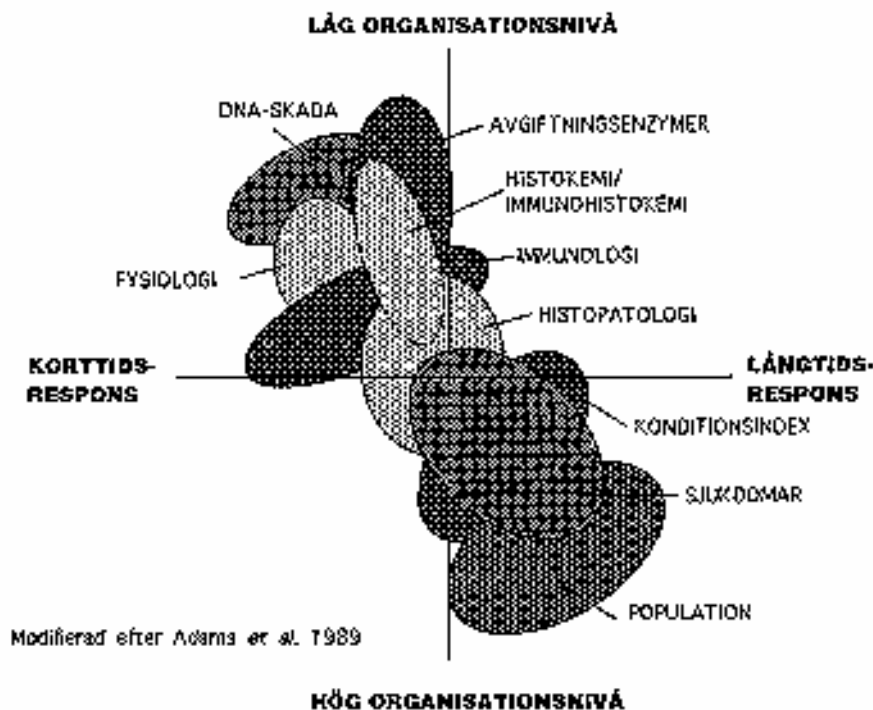
1983 började biokemiska och fysiologiska metoder att tillämpas för undersökningar av effekter av skogsindustriutsläpp, i laborativa studier såväl som i fältstudier. Allvarliga fysiologiska och biokemiska störningar kunde påvisas som t.ex. hämmad tillväxt av gonader, förstörd lever, induktion av avgiftningensymer i levern och påverkat immunförsvar

(Andersson et al. 1988). Flertalet av dessa effekter uppvisade ett tydligt dos/responsförhållande utmed en föroreningsgradient i en typisk skogsindustrirecipient. En uppföljning av dessa undersökningar har kunnat visa på ett tydligt förbättring av hälsotillståndet hos fisken i recipienten som kan tolkas som en effekt av minskade utsläpp och förbättrad processteknik vid fabriken (Södergren 1989, 1993; Larsson et al. 1995).

Strategi

Föreliggande program ingår som en integrerad del i den s.k. Integrerade fiskövervakningen tillsammans med programmen: *Övervakning av kustfisk* samt *Metaller och miljögifter i abborre och tånglake*. Integreringen avser studier på två gemensamma indikatorarter, från tre gemensamma provtagningsområden. En central målsättning för den integrerade fiskövervakningen är att skapa en förklaringsmodell för hur en antropogen belastning påverkar känsliga och tidigt inducerade centrala viktiga biologiska funktioner på en s.k. låg organisationsnivå som i sin tur kan ge störningar på ekosystemnivå (hög organisationsnivå) (se fig. Bioindikatorer). Programmet består av årliga provtagningar och analyser som äger rum vid samma tidpunkt varje år, på två speciellt utvalda stationära fiskarter, vid samma och relativt opåverkade kuststationer, och med användande av standardiserad metodik och kvalificerad personal. Härigenom erhålls långa mätserier med representativa och kvalitetssäkrade data som möjliggör en god beskrivning av eventuella förändringar av tillståndet i miljön avseende effekter av antropogena ämnen.

Bioindikatorer



Fisk är en komplex organism och har flertalet centrala och viktiga biologiska processer gemensamt med högre stående organismer som t.ex. däggdjur och människa. Det stora antalet framtagna och väl vetenskapligt beprövade analytiska och kliniska metoder för mätning av hälsotillståndet hos dessa organismer är därför även tillämpliga på fisk.

Hälsan hos fisk mäts med biokemisk, fysiologisk och histologisk teknik. Dessa variabler benämns biomarkörer (Huggett et al. 1989). I föreliggande program ingår f.n. endast biokemiska och fysiologiska variabler. Den primära gifteffekten, som sker först på molekylär nivå i form av en biokemisk förändring, är mycket känslig och snabbt inducerbar i organismen. Dessa effekter kan utvecklas vidare till störningar på högre biologiska organisationsnivåer i organismen, t.ex. fysiologiska och histologiska förändringar i celler och organ vilka i sin tur kan leda till vitala störningar av fortplantning, tillväxt och överlevnad. Hälsoundersökningarna ger därför i första hand information om vilka tidiga subletala förändringar som orsakas av giftexponering. Vid samtolkning med övriga integrerade program kan biomarkörerna sedan korreleras till giftbelastning och känsliga ekologiska variabler t.ex. reproduktionsframgång.

- Strategiska mål -

- Beskriva tillståndet i miljön avseende effekter av antropogena ämnen
- Följa trender av biokemiska och fysiologiska hälsovariabler
- Tillhandahålla referensmaterial för lokalt påverkade områden
- Bedöma hotbilder
- Ge underlag för åtgärder
- Följa effekter av åtgärder
- Integrera undersökningarna med kustfisk och miljögifter som stöd för en förklaringsmodell för effekter på ekosystemnivå

Med avseende på fiskens betydelse för ekosystemet samt för dess ekonomiska värde har undersökningarna relevans även för följande miljömål antagna för den marina miljön.

- Naturligt förekommande fiskarter skall hållas livskraftiga
- Fisk ska utan risk för hälsan kunna utnyttjas som föda både för människor och djur
- Fiske skall kunna bedrivas uthålligt
- Miljöföroreningar ska inte begränsa utnyttjandet av fisk och fiske för rekreation

Att tänka på

Genom att välja två indikatorarter av fisk som både är allmänt förekommande året runt och har ett stationärt levnadssätt, erhålls en god tillgång av ett, för undersökningsområdena, relevant undersökningsmaterial. Motivet för val av indikatorarter se undersökningstyp 'Övervakning av kustfisk'. En av de valda arterna (tånglaken) är dessutom speciellt väl lämpad för studier av det känsligaste stadiet under organismens livscykel dvs. det embryonala stadiet. Då denna art är spridd utmed hela den svenska kuststräckan såväl som runt Nordeuropas kustområden ända ned till Frankrike är den också väl lämpad för studier av geografiska skillnader.

För att undvika att årstidsfluktuationer och könsmodningsgrad skall medföra stor spridning i resultaten för olika undersökningsvariabler skall den årliga provtagningen ske vid en och samma tidpunkt då fisken har låg sexuell aktivitet och då det råder goda förutsättningar för att få tillräckligt fiskmaterial. Dessutom används bara köns mogna honor inom ett bestämt storleksintervall för att minimera köns- och storleksberoende variationer. Väl beprövade variabler som analyseras på ett standardiserat sätt ökar ytterligare säkerheten i framtagna data.

Inom det nationella programmet har både undersökningsområden och arter för studierna av hälsotillstånd hos kustfisk valts så att de är gemensamma med de övriga två undersökningstyperna, *Övervakning av kustfisk* samt *Metaller och miljögifter i abborre och tånglake*, inom den s.k. Integrerade fiskövervakningen. Därigenom möjliggörs en sammanvägd tolkning av erhållna resultat.

- Sammanfattande förutsättningar för undersökningsplanering -

- Tillgång på väl beprövade analytiska och kliniska metoder för hälsobedömning
- God tillgång på undersökningsmaterial
- Tillgång på stationära arter som är representativa för resp. undersökningsområde
- Stort utbredningsområde för den studerade arten som möjliggör geografiska jämförelser
- Goda möjligheter till reproduktionsstudier
- Fångst-, provtagnings- och analysmetoderna samt fiskmaterialet skall vara optimerade och standardiserade för att minimera spridningen av analysdata
- Möjligheter till samordning med angränsande undersökningstyper

Statistiska aspekter

Undersökningsmaterialet är alltid påverkat av en rad olika naturliga faktorer utöver en antropogen belastning som t.ex. klimat, hydrografi, syre och salinitet (abiotiska faktorer), ålder, storlek, könsstatus, näringsstatus, parasitism (biotiska faktorer) m.fl. Urvalet av undersökningsmaterial skall därför ske på ett så strikt och statistiskt acceptabelt sätt samtidigt som hänsyn tas till yttre abiotiska faktorer. Insamlingsförfarandet av undersökningsmaterialet och provtagningen skall även ske under väl kontrollerade och standardiserade förhållanden för att minimera eventuella felkällor under dessa moment. Se vidare provtagningsmetodik.

-Förutsättningar för resultattillförlitlighet -

- kontroll över "naturliga" variabelpåverkande faktorer
- stratifierat urval av undersökningsmaterialet som minimerar resultatspridning orsakade av naturliga faktorer
- enhetlig och optimal provtagningsperiod
- standardiserade metoder för fångst och provtagning
- uppfyllande av statistiska krav
- goda provtagningsförhållanden i fält

Mätprogram

Variabler

Nedan följer en beskrivning av de använda variablerna.

EROD-aktivitet i lever

Utsöndringen av fettlösliga organiska gifter från fisk och andra ryggradsdjur påskyndas av olika enzymssystem som omvandlar ämnena till vattenlösliga produkter. Dessa kan sedan utsöndras via galla eller urin. Den första omvandlingen i denna avgiftning är ofta katalyserad av enzymssystem som kallas cytokrom P450 monooxygenaser (äldre namn är mixed function oxidas, MFO). Cytokrom P450 finns i flera former. En av dessa former som återfinns i fisklever kallas cytokrom P450 1A och har egenskapen att den induceras när fisken exponeras för ämnen såsom TCDD, plana PCB och polyaromatiska kolväten. Det vanligaste sättet att mäta detta enzym och därmed enzyminduktion är att mäta EROD-aktiviteten. EROD-aktiviteten har använts som en känslig biomarkör för t.ex. oljeförorening eller utsläpp från skogsindustrier. I fallet skogsindustrier har man kunnat mäta en påverkan på upp till 40 km från utsläppskällan, vilket tyder på en storskalig och/eller regional påverkan.

Vita blodceller

Hos fisk finns flera typer av vita blodceller. De som är av störst intresse är lymfocyter, neutrofila granulocyter och trombocyter. Lymfocyter är engagerade i immunförsvaret genom att de är organismens bildare och bärare av antikroppar. Bakteriella infektioner och andra främmande kroppar i organismen aktiverar neutrofila granulocyter som oskadliggör dessa infektioner och övriga kroppsfrämmande ämnen. Trombocyterna spelar en viktig roll i blodets koaguleringsprocess.

Studier av vita blodceller hos fisk genom räkning av celler på blodutstryk är en relativt enkel metodik för att avslöja en förändring i fisken immunförsvaret. Olika faktorer som t.ex. exponering för vissa miljögifter kan sätta ned försvaret mot infektioner. Även stress medför ett nedsatt immunförsvaret genom en markant minskning av cirkulerande lymfocyter. I både experimentella- och fältstudier har tydliga förändringar av den vita blodcellsbilden konstaterats hos fisk exponerad för utsläpp från skogs- och metallindustrier.

Kolhydratmetabolism

Den mest studerade stress-effekten hos fisk är den typiska ökningen av blodglukos (blodsocker) och blodlaktat (mjölksyra) samt minskningen av glykogendepåer i lever och muskel. Dessa är sekundära effekter och resultat av en ökad utsöndring av hormoner från körtlar (hypofysen, binjurevävnad) och en ökad nervös aktivitet. Detta är en naturlig respons för att snabbt frisätta energi t.ex. för att attackera en rival, för att fånga ett byte eller för att fly undan predatorer. Många miljögifter kan påverka metabolismen av kolhydrater på annat sätt än via sekundär stress. Nedan beskrivs effekter på glykogenhalt i lever och muskel och laktathalt i blod.

A. Glykogenhalt i lever och muskel. Tydliga öknings av glykogennivåer i muskel och lever har konstaterats hos fiskar som exponerats för utsläpp från pappersmassaindustrier. Många klorerade ämnen (ex. pentaklorfenol, PCB och DDT) ger upphov till förändrad kolhydratomsättning. Även kadmium och bly har i akvarieförsök och fältundersökningar visats ge störd kolhydratomsättning hos fisk. Glykogenhalten mäts enzymatiskt och är relativt enkel men tidskrävande.

Arbetsmaterial : 1997-06-30

B. Laktat i blod. Laktat i blod är den mest provtagningskänsliga variabeln. Mätning av blodlaktat inkluderas därför ofta i provtagningar för att få en kontroll på eventuell provtagningsstress.

Koncentrationer av joner i blodplasma

Benfiskar har välutvecklade mekanismer för osmo- och jonreglering och kan därför hålla halten av oorganiska joner inom mycket snäva ramar. Natrium och klorid är de dominerande jonerna i blodplasma och spelar en mycket viktig roll när det gäller att bibehålla det osmotiska trycket. Även andra joner som kalium, kalcium och fosfat står under strikt reglering hos fisk. En störd jonreglering torde allvarligt reducera fiskens förmåga att upprätthålla normala livsfunktioner.

Ett flertal miljögifter, som metaller och klorerade kolväten, påverkar jonkoncentrationen i blodplasma hos fisk. Halten av kalciumjoner minskar t.ex. när fiskar exponeras för kadmium. Exponering av fisk för avloppsvatten från skogsindustrier kan leda till minskning av främst kloridjonkoncentrationen.

GSI och LSI

A. GSI (gonadosomatiskt index) är gonadvikten uttryckt som procent av den somatiska kroppsvikten. Den normala utvecklingen av reproduktionsorganen i fisk beror på cellulära och molekylära processer som regleras av hormon och andra faktorer. Denna reglering kan påverkas av onormala förhållanden (t.ex. olika typer av föroreningar) i fiskars omgivning. Detta kan i sin tur innebära störningar av fiskarnas normala reproduktion.

En grov, men tillförlitlig, indikation på störningar av fiskarnas normala reproduktion är storleksförändringar av gonaderna. Gonadstorleken har t.ex. konstaterats vara mindre hos fiskar som levt nära skogsindustrier och hos fisk som i akvarieförsök exponerats för PCB och DDT.

B. LSI (leversomatiskt index) är levervikten uttryckt som procent av den somatiska kroppsvikten. Ofta observeras förstoring av levern hos fiskar som lever i vattenområden förorenade av stabila organiska substanser, t.ex. hos fiskar fångade i skogsindustrirecipienter, och hos fiskar som i laboratorieförsök exponerats för klororganiska föroreningar. Denna förstoring kan vara resultatet av ökad fett- och/eller glykogenupplagring och/eller stimulerad proteinsyntes i levercellerna. Det är inte klarlagt vilka faktorer som orsakar detta, men det är troligen en följd av föroreningsinducerade metaboliska störningar och/eller ökad aktivitet av xenobiotika-transformerade enzym.

Variabellista

Determinand	Företeelse	Enhet	Prioritet	Frekvens och tidpunkt	Referens till provtagnings- och analysmetod
total längd	abborre/ tånglake	mm	1	årligen sept./okt.	2, 13
total vikt	abborre/ tånglake	g	1	årligen sept./okt.	2, 13
somatisk vikt	abborre/ tånglake	g (tot. v.-gonadv.)	1	årligen sept./okt.	2, 13
somatisk konditionsfaktor	abborre/ tånglake	g/mm (som. v./tot. l.)	1	årligen sept./okt.	2, 13

Determinand	Företeelse	Enhet	Prioritet	Frekvens och tidpunkt	Referens till provtagnings- och analysmetod
gonadosomatiskt index (GSI)	abborre/ tånglake	(gonadv./som. v.)x100	1	årligen sept./okt.	2, 13
leversomatiskt index (LSI)	abborre/ tånglake	(leverv./som. v.)x100	1	årligen sept./okt.	2, 13
levertotalvikt index (LTI)	abborre/ tånglake	(leverv./tot.v.)x100	1	årligen sept./okt.	2, 13
ålder	abborre/gäl- lock, tång- lake/otolit	år	1	årligen sept./okt.	14
hematokrit	abborre/ tånglake- helblod	%	1		7
blodglukos	abborre/ tånglake	mM per liter helblod	1	årligen sept./okt.	4, 5
hemoglobin	abborre/ tånglake	g per liter helblod	1	årligen sept./okt.	20
blodlaktat	abborre/ tånglake- blodplasma	mg per 100ml lösning	1	årligen sept./okt.	2, 7
leverglykogen	abborre/ tånglake -lever	mg/100 mg vävnad	2	årligen sept./okt.	2, 7
muskelglykogen	abborre/ tånglake -muskel	mg per 100 mg vävnad	2	årligen sept./okt.	2, 7
cytokrom P-450- halt	abborre/ Tånglake -lever	nmol per mg protein	2	årligen sept./okt.	17
EROD (etoxyresoru- fin-O-deetylase)	abborre/ tånglake -lever	nmol per min. mg prot.	1	årligen sept./okt.	2, 6, 8
protein	abborre/ tånglake -lever	mg protein per ml	2	årligen sept./okt.	16
kloridjoner	abborre/ tånglake -blodplasma	mM	1	årligen sept./okt.	2, 10
Differential- räkning av vita blodceller	abborre/ tånglake -helblod	%	1	årligen sept./okt.	2, 15, 18

Variabler och tidsperioder

I det nationella programmet har provtagningsområdena förlagts till s.k. bakgrundsområden som är relativt opåverkade av antropogena ämnen. Provtagning sker en gång per år. Avsikten med denna strategi är att studera eventuella långsiktiga trender av storskaliga

Arbetsmaterial : 1997-06-30

miljöförändringar. Syftet uppnås genom att skapa långa mätserier. Flera mätningar per år tillför ingen ny information av värde för denna undersöknings huvudsyfte.

Då det nationella mätprogrammet startade år 1988 gjordes ett urval av variabler som huvudsakligen grundade sig på följande kriterier: hög känslighet för de effekter som avsågs att studeras, väl dokumenterade metoder med god tillgång till jämförelsedata från tidigare studier, samt kostnadseffektiva metoder (för beskrivning av variabler, se ovan). En utvärdering efter 10 års mätningar planeras som skall kunna svara på om delar av programmet skall modifieras och kompletteras med nya variabler. En kontinuerlig utveckling sker genom framtagandet av nya och känsligare variabler som kan vara av värde att föra in i programmet. Vidare är det en viktig målsättning att få en ökad integrering med övriga program för fisk. En sådan integrerad fiskövervakning kräver att variablerna i de olika programmen knyts tillsammans på ett mer optimalt sätt. Genom detta angreppssätt erhålls möjligheten att kunna göra mekanistiska kopplingar mellan de olika organisationsnivåerna. Gapet mellan de känsliga biokemiska/fysiologiska variablerna och reproduktions-/ekologiska mått är dock idag för stort för att kunna göra denna koppling. Variabellistan bör därför kompletteras med intermediära markörer, t.ex. histokemiska och histopatologiska markörer samt reproduktionsfysiologiska variabler för att överbrygga ytterligheterna i det integrerade programmet (se fig. Bioindikatorer). Det bör dock här poängteras att den långsiktiga strategin med hela programmet bygger på långa mätserier vilket innebär att en komplettering av programmet med nya variabler bör ske främst genom en utökning eller efter en noggrann utvärdering och utbyte av vissa av de befintliga variablerna.

Metoder, stationsval och provtagningsmetodik

Provtagnings- och analysmetoderna följer huvudsakligen de som utvecklats och prövats under flerårig forskningsverksamhet vid Laboratoriet för akvatisk ekotoxikologi, SU, och Zoofysiologiska avdelningen, GU. Utarbetandet av dessa metoder har även skett i samråd med internationella forskare aktiva inom detta område.

Stationsvalet skall ske i enlighet med huvudkraven: minimal påverkan av antropogen belastning och god tillgång på undersökningsmaterial.

För både abborre och tånglake analyseras 25 honor, med ett storleksintervall på 20-30 cm, från varje provtagningsstation. Antalet fiskar uppfyller nödvändiga krav för att statistiskt kunna säkerställa eventuella skillnader mellan olika stationer för de valda variablerna. Provtagningen sker med nät under september för abborre och med ryssja under oktober för tånglake. Perioden har valts för att undvika tidsmässiga och könsmognadsberoende variationer. För att undvika stresspåverkan av fisken, i samband med nätfångst, sumpas fisken tre dygn innan provtagning. Fisken bedövas omedelbart efter hämtning från sump och provtagningen sker därefter i direkt anslutning till sumpningsplatsen (max. 100 m) i lämplig provtagningslokal med tillgång till elektricitet (ex.vis ett mobilt laboratorium. Den totala tiden för hela provtagningsförfarandet från hävning av fisken ur sumpen till dess att samtliga prover omhändertagits och djupfrysts får ej överstiga 6-7 minuter per fisk.

Samtliga provtagnings- och analysförfaranden är detaljerat beskrivna i Allmänna råd 1994 samt i Metodmanual för biokemisk/fysiologisk hälsoundersökning på abborre (1997).

Tillvaratagande av prov

Proverna upparbetas omgående efter insamling. För de flesta biokemiska/fysiologiska variablerna finns idag begränsade resurser för att tillförlitligt kunna förvara prover under

*Handbok för miljöövervakning
Undersökningstyp*

tidsperioder av decennier i en provbank. För histologiska analyser kan prover förvaras i en bank till låg kostnad.

Databehandling

Rådata från varje individuell analys läggs in i Excel kalkylprogram.

Bakgrundsinformation

I det nationella programmet utvärderas erhållna data om hälsotillstånd hos kustfisk tillsammans med insamlade data från programmen *Metaller och miljögifter i abborre och tånglake* och *Övervakning av kustfisk*, samt tillsammans med tillgängliga meteorologiska och hydrografiska basdata från respektive område.

Utvärdering

Medelvärden, spridningsmått och 95 % konfidensintervall räknas ut med hjälp av Systat statistikprogram. Då data är lätt tillgängliga i kalkylformat kan ett flertal statistiska tester användas som t.ex. parametriska ANOVA-test eller icke parametriska Mann-Whitney. Data jämförs sedan med tidigare år för att tolka eventuella skillnader i tid eller rum. Dessutom används dessa data som referensdata för jämförelser med data i andra undersökningar från mer exponerade områden.

Kvalitetssäkring

Resultaten som tas fram inom delprogrammet skall, liksom för övriga delar av det svenska miljöövervakningssystemet, vara kvalitetssäkrade och kännetecknas av *relevans*, *tillförlitlighet* och *tillgänglighet*. Av största vikt är att fångst, provtagningsprocedurer och analyser sker på ett standardiserat sätt och följer utarbetade metodanvisningar (Se: Metodmanual för biokemisk/fysiologisk hälsoundersökning på abborre inom marin miljöövervakning; 1997). Detta kräver tillgång till väl kvalificerad och erfaren personal i varje led i provtagnings- och analyskedjan. För vissa variabler sker en internkontroll av reproducerbarheten mellan olika provtagningsår genom extra kontrollanalyser på djupfrysta delprover från föregående års analyser.

Rapportering

Erhållna primärdata levereras till datavärd (se nedan). Det är av stor vikt att data redovisas i vetenskapliga tidskrifter, vid vetenskapliga möten och vid möten med avnämare som miljömyndigheter eller industriföreträdare. Därigenom möjliggörs en kritisk granskning av erhållna resultat och gjorda tolkningar.

Datavärd

Fiskeriverket är datavärd för fisk i inlands- och kustvatten. Kustlaboratoriet i Öregrund fullgör den del av datavärdskapet som omfattar föreliggande undersökningstyp samt Övervakning av kustfisk.

Kostnadsuppskattning

Den årliga kostnaden (1997) för att utföra det nationella programmet redovisas nedan. Det nationella programmet är idag uppdelat på två hälften. Den ena programdelen (Östersjön) utförs av Laboratoriet för akvatisk ekotoxikologi, Stockholms Universitet och den andra (Skagerrak) utförs av Zoofysiologiska avdelningen, Göteborgs Universitet.

Insamling/provtagning: 225 kkr

Analys: 160 kkr

Bearbetning/utvärdering: 180 kkr

Lagring/arkivering: 45 kkr

Distribution av resultat/presentation: 60.000

Totalt: 670 kkr

Referenser

1. Adams, S. M., Shepard, K. L., Greeley Jr, M. S., Jimenez, B. D., Ryon, M. G., Shugart, L. R., and McCarthy, J. F. 1989. The use of bioindicators for assessing the effects of pollutant stress on fish. *Mar. Environ. Res.* 28:459-464.
2. Allmänna råd. 1994. Vattenrecipientkontroll vid skogsindustrier. Allmänna råd 94:2, Naturvårdsverket.
3. 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. Aquat. Sci.* 45:1525-1536.
4. Banauch, von D., Brummer, W., Ebeling, W., Metz, H., Rindfrey, H., Lang, K., Leybold, K. and Rick, W. 1975. Eine Glucose-Dehydrogenase für die Glucose-Bestimmung in Körperflüssigkeiten. *Zeitschrift für Klinische Chemie und Linische Biochemie.* 13:101-107.
5. Bergmeyer 1974. In *Methods of Enzymatic Analysis*, 1. Weinheim: Chemie Publishers.
6. Burke, M. D., and Mayer, R. T. 1974. Ethoxyresorufin: Direct fluorometric assay of microsomal dealkylation which is preferentially inducible by 3-methylcholanthrene. *Drug Metab. Disp.* 2:583-588.
7. Dave, G., Johansson-Sjöbeck, M.-L., Larsson, Å., Lewander, K., Lidman, U. 1975. Metabolic and hematological effects of starvation in the European eel, (*Anguilla anguilla* L.) I. Carbohydrate, lipid protein and inorganic ion metabolism. *Comp. Biochem. Physiol.* 52A:423-430.
8. Förlin, L., and Haux, C. 1985. Increased excretion in the bile of H-estradiol-17 β derived radioactivity in rainbow trout treated with β -naphthoflavone. *Aquat. Toxicol.* 6:197-208.

9. Förlin, L., Andersson, T., Haux, C., Olsson, P.-E., and Larsson, Å. 1986. Physiological methods in fish toxicology: Laboratory and field studies. In *Fish physiology: Recent advances*. (Eds. Nilsson and Holmgren) Croom Helm Ltd. Pp 158-169.
10. Haux, C., Larsson, Å. 1979. Effects of DDT on blood plasma electrolytes in the flounder (*Platichthys flesus* L.), in hypotonic brackish water. *Ambio*. 8:171-173.
11. Huggett, R., Kimerle, R. A., Mehrle Jr., P. M., and Bergman, H. L. (Eds.) 1989. *Biomarkers -Biochemical, Physiological, and histological markers of anthropogenic stress*. SETAC Special publication series, Lewis Publishers.
12. 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.
13. *Metodmanual - Biokemisk/fysiologisk hälsoundersökning på abborre inom marin miljöövervakning (Delprojekt: Integrerad fiskmonitoring)*. (i manuskript 1997)
14. Le Cren, E. D. 1947. The determination of the age and growth of the perch *Perca fluviatilis* from the opercular bone. *J. Anim. Ecol.* 16:188-204.
15. Lehman, J., and Sturenberg, F. J. 1975. *Haematologische-serologische substratuntersuchungen an der regenbogenforellen (Salmo gairdneri Richardson). Gewässer und Abwässer. Eine Limnologische Schriftenreihe. Heft 55/56*.
16. Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J. 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275.
17. Omura and Sato. 1964.
18. Sandoz 1973. *Atlas of Haematology*, Basle: Sandoz
19. Södergren, A. 1989. *Biological effects of bleached pulp mill effluents. Final report from the Environment/Cellulose I*, Editor A. Södergren. National Swedish Environmental Protection Board, Report 3558.
20. Södergren, A. 1993. *Bleached pulp mill effluents -Composition, fate and effects in the Baltic Sea. Final report from Environment/Cellulose II*, Editor A. Södergren. National Swedish Environmental Protection Board, Report 4047.
21. Vanzetti, G. An azide-methemoglobin method for hemoglobin determination in blood. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 67:116-126.
22. Larsson, Å., Förlin, L., Balk, L., and Andersson, T. 1995. *Effects of modified bleaching process on the health status in fish living in coastal water polluted with bleached pulp mill effluents. Final report for the research project Biochemical and Physiological Effects of Pulp Mill Effluents in fish*. Swedish Environmental Protection Agency. 10pp.