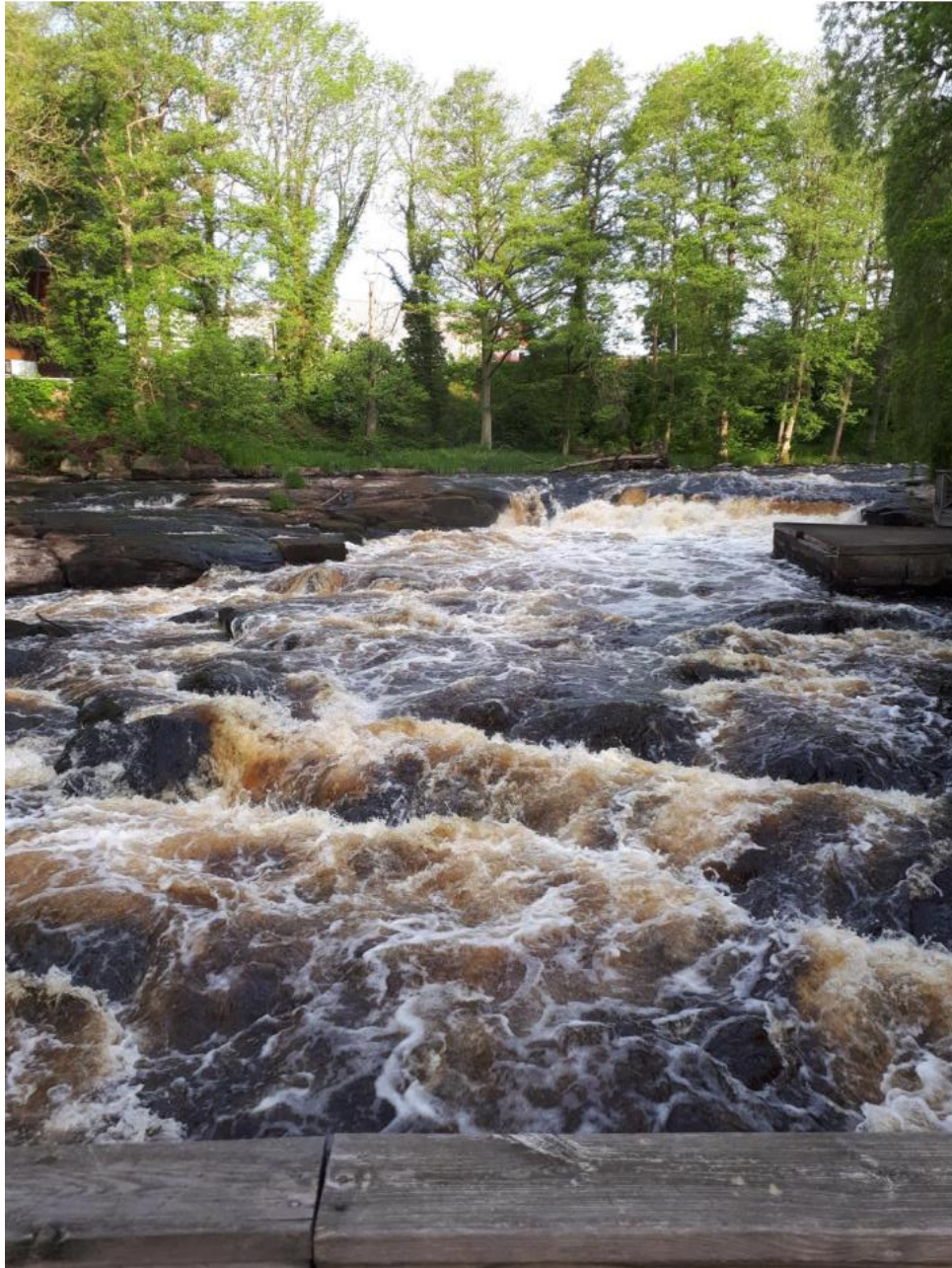


RAPPORT
2019-03-15

Dnr 2018/171

Sofia Brockmark, Håkan Carlstrand
Avd. för fiskförvaltning
Havs- och vattenmyndigheten
Box 11 930
404 39 GÖTEBORG
sofia.brockmark@havochovatten.se;
hakan.carlstrand@havochovatten.se

FORTSATT UNDERSÖKNINGAR AV LAXSJUKLIGHET UNDER 2018



Rapport till Havs- och vattenmyndigheten 2019-03-15

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Fortsatta undersökningar av laxsjuklighet under 2018	2
Bakgrund.....	5
Metoder	5
Val av lokaler och antal fiskar	6
Genomförande, fångstmetoder och förvaring av fisk	6
Obduktion och provtagning	7
Histopatologi	7
Virus	8
Svamp	8
Blodparametrar	8
Enzymatisk aktivitet och övriga biomarkörer i vävnad	9
Vitamin- och antioxidantanalyser	9
Metabolomik	10
Bankning av provmaterial	10
Utvärdering av vandringsframgång hos tiaminbehandlad vuxen lax i Umeälvens nedre del	11
Statistik	12
Resultat.....	12
Situationen i de provtagna älvarna 2018	12
Provtagningar	17
Histopatologi	18
Virus och svamp	20
Blodparametrar	20
Enzymatisk aktivitet och övriga biomarkörer i vävnad	21
Vitamin- och antioxidantanalyser	22
Metabolomik	25
Utvärdering av vandringsframgång hos tiaminbehandlad vuxen lax i Umeälvens nedre del	26
Diskussion	27
Situationen i vattendragen	27
Provtagningar	28
Histopatologi	29
Svamp	30
Biomarkörer	30

Vitamin- och antioxidanthalter	31
Utvärdering av vandringsframgång hos tiaminbehandlad vuxen lax i Umeälvens nedre del	32
Slutsats och fortsättning	33
Deltagare	34
Referenser	35
Bilaga 1. Metoder använda av GU för att analysera parametrar i blod och vävnader	37
Analyser i blod/plasma	37
Bilaga 2. Metodbeskrivningar för vitaminanalyser utförda vid Ruokavirasto	40
Bilaga 3. Tabell över morfometriska data för laxar provtagna i Mörrumsån, Torneälven, Umeälven, Indalsälven och Lagan 2018.	42

BAKGRUND

Under 2016 undersökte Statens veterinärmedicinska anstalt (SVA) på uppdrag av Havs- och vattenmyndigheten (HaV) hälsosituationen på nystigen laxfisk i Mörrumsån, Torneälven och Umeälven (Statens veterinärmedicinska anstalt, 2017). Under hösten undersöktes även svampproblematiken i Mörrumsån, Ljungan och Stockholms ström. Bakgrunden till uppdraget var omfattande sjuklighet och dödlighet på nystigen laxfisk under två på varandra följande år samt kraftiga svampangrepp under höstsäsongen sedan tre år. Totalt provtogs 112 fiskar. I Mörrumsån och Umeälven sågs UDN-liknande förändringar och hudblödningar med påföljande svampangrepp. I Torneälven var läget relativt gott och det vanligaste fyndet var mekaniskt orsakade skador. Rutinanalyser avseende patogener gav inget entydigt svar. Helgenomsekvensering indikerade att svårodslade virus kan finnas i populationen, men fynden behöver undersökas vidare för att säkerställa närvaro av virus samt klargöra virulens och prevalens. Algsvampen *Saprolegnia* påvisades endast i 2 av 26 prover, trots att infektionerna liknade saprolegnios/vattenmögel. Sjukligheten och dödligheten på nystigen fisk fortsatte under 2017 och därför skapades under hösten en arbetsgrupp bestående av HaV, Naturvårdsverket, Länsstyrelsernas Fiskeutredningsgrupp (FUG), SVA, Vattenfall AB, Fortum, Göteborgs universitet (GU), Sveriges Lantbruksuniversitet (SLU) Aqua (Drottningholm) och Vilt, fisk, miljö (Umeå), samt Stockholms universitet (SU) för att diskutera hur man skulle gå vidare. Under vårvintern 2018 fick SVA medel från HaV för att tillsammans med GU utreda laxdödligheten i Mörrumsån och Umeälven ytterligare. SVA avsatte en del av medlen för ett fall-kontrollförsök med tiaminbehandling av återvändande Vindelälvslox, utfört av SLU i Umeå. Medlen kompletterades med bidrag från forskningsfonden utgående från det svensk-finska gemensamma fiskekortet för Torneälven, samt bidrag från Naturvårdsverket.

METODER

Undersökningarna 2018 inriktades på att definiera laxarnas fysiologiska status, det vill säga hur väl fungerande deras livsfunktioner är. Ett batteri av biologiska parametrar, så kallade biomarkörer, analyserades därför i de provtagna laxarna (**Tabell 1**). De utvalda biomarkörerna är optimerade för kustnära miljöövervakning och fokuserar framförallt på effekter av miljögifter.

För att få en mer komplett bild undersöktes ytterligare parametrar för att få en integration mellan biomarkörer, patologi och kemi: sjukdomssymptom som yttre och inre synliga sjukliga förändringar noterades och histologi av ytterligare organ utöver lever genomfördes. Dessutom gjordes analyser avseende tiamin och antioxidanter (vitamin E/ α -tokoferol, karotenoider totalt samt specifikt karotenoiderna astaxantin, vitamin A (total och retinol)).

Tabell 1. Centrala livsfunktioner/rubbningar i centrala livsfunktioner och biomarkörer som använts för att mäta dessa funktioner.

Funktion/parameter	Variabel / biomarkör
Energi Tillväxt Kondition	Total kroppsvikt, somatisk vikt, längd, ålder, konditionsfaktor
Reproduktion	Gonadosomatisk index (GSI)
Endokrina störningar	Halt av sköldkörtelhormon (T3 o T4) i plasma samt ratio T3/T4
Leverfunktion Avgiftningsfunktioner oxidativ stress	Lever somatiskt index (LSI), leverhistologi, EROD-aktivitet, glutationreduktas, glutation S-transferas, katalas.
Genotoxicitet	Mikronuklei i röda blodkroppar
Kolhydratmetabolism Stress	Blodglukos
Syretransport	Hematokrit, hemoglobinhalt, omogna röda blodkroppar
Immunförsvar	Antal vita blodceller, lymfocyter, neutrofiler, monocyter/makrofager, trombocyter, komplementfaktorer
Saltbalans cellskador	Jonhalter (klorid, natrium, kalium och kalcium) i plasma

Val av lokaler och antal fiskar

Mörrumsån och Umeälven valdes som primära lokaler då de haft sinsemellan liknande problematik under föregående år och i undersökningarna 2016. Torneälven valdes som jämförelselokal då undersökningarna 2016 visade på en annorlunda problematik än i ovanstående vattendrag. Även Indalsälven lades till som jämförelselokal då det vid 2017 års stamfiskintag noterats en hög andel fenskadador och UDN-liknande förändringar. För att få ett västkustvattendrag att jämföra med lades även Lagan till på hösten. Planen var att ta 30 fiskar i Mörrumsån respektive Umeälven och 20 fiskar vardera i Torneälven, Indalsälven och Lagan.

Genomförande, fångstmetoder och förvaring av fisk

Provtagningarna genomfördes gemensamt av personal från SVA och GU, med hjälp av personal från Sveaskog/Mörrums kronolaxfiske, Vattenfalls kompensationsodlingar (Umeälven, Indalsälven), Statkrafts kompensationsodling (Lagan) samt lokalbefolkningen i Hedenäset/Risudden i Tornedalen.

Fångstmetod varierade, då förutsättningarna skiftade beroende på vattendrag. I Mörrumsån användes spö (pool 1 - 4), fälla i Kungsforsen, håvning i Kungsforsen samt tömning av trappan i Marieberg för att fånga fisk. I Torneälven fångades fisken genom drivnätsfiske vid Risudden. I Umeälven fångades fisk i laxtrappan. I Indalsälven användes stamfiskfällan och i Lagan användes elfiske.

Eftersom flertalet analyser kräver att fisken är helt nydöd vid provtagning sumpades all fisk som inte kunde provtas direkt i samband med fångst.

Obduktion och provtagning

Fisken bedövades med ett slag i huvudet och avlivades genom avblodning. Obduktion och provtagning genomfördes därefter omgående. Eventuella utvändigt och invändigt synliga förändringar samt parasitbörda noterades. Längd, vikt, levervikt och gonadvikt registrerades för beräkning av konditionsfaktor (CF) enligt Fulton (somatisk vikt (g) \times 100/längd (cm)³), leversomatiskt index (LSI) och gonadosomatiskt index (GSI) (lever- resp gonadvikt (g)/somatisk vikt (g) \times 100). Blod och organ togs ut för analys enligt nedanstående.

Histopatologi

Bitar av lever, njure och mjälte och skars ut för histopatologisk bedömning och placerades i 4 % formalin för fixering. Från enstaka fiskar togs hudbitar från områden med UDN-liknande nekroser. Efter 2 – 3 dagars fixering bäddades organbitarna in i paraffin, snittades, lades på objektsglas och färgades med Hematoxylin-Eosin (HE). Glasen kodades för att blinda bedömaren för fiskarnas identitet. Histopatologisk bedömning gjordes därefter genom mikroskopering av vävnadssnitt från lever, njure, mjälte och hjärta.

I hjärtat bedömdes inflammatoriskt och degenerativt/regenerativt status på förmak, kammare och bulbus arteriosus i alla lager (hjärthinnan, hjärtmuskulatur (elastisk bindväv i bulbus) samt endokardiet (det inre cellagret mot kärl och kammare)).

I mjälten kontrollerades förekomst av makrofagcentra, vävnadsdöd, förekomst av parasiter, tecken på inflammation samt bindvävsinväxt.

Lever bedömdes avseende vakuolisering (näringssupplagring), parasitförekomst, inflammation och degenerativa/regenerativa förändringar. Inflammation bedömdes utifrån förekomst av 1) makrofagcentra 2) inflammationshärdar utan bindvävsinväxt 3) granulom (kroniska inflammationshärdar med bindvävsinväxt). Degenerativa förändringar inkluderade en bedömning av cellsvullnad, celldegeneration (reversibelt stadium av tillbakabildning) och nekros (vävnadsdöd).

Njure bedömdes avseende inflammatoriskt och degenerativt/regenerativt status på dels nefron (filtrerande enheter, inkluderande glomeruli och tubuli), dels blodbildande vävnad (interstitium).

Blodutstryk gjordes för cytologisk bedömning (röda och vita blodkroppar). Utstryken fixerades och färgades med May Grünwald Giemsa (MGG) och avkodades med samma nummer som de histologiska snitten. Bedömning gjordes vid 650 - 1000 X förstoring. Fördelningen av olika vita blodkroppar per totalt 100 st registrerades med hjälp av en diffräknare, Andelen lymfocyter, neutrofiler, monocytter/makrofager och trombocyter noterades. Avseende röda blodkroppar screenades varje blodutstryk cirka 5 min och blodkropparna bedömdes avseende form på kärnan, förekomst av mikronuklei eller andra inklusioner i cytoplasman samt förekomsten av omogna stadier (erytroblastar och proerythrocyter) per fem synfält.

Bedömningarna för njure och lever fördes in i en databas för att få ut sjuklighetsindex. Förekomst av erythroblaster och proerythrocyter i blodutstryken samt andelen neutrofiler och monocyter/makrofager per 100 vita blodkroppar lades till och kategoriserade variabler för normal eller för hög förekomst av neutrofiler (s.k. neutrofil) respektive monocyter/makrofager (s.k. monocytos) skapades. Neutrofiler ska normalt utgöra max 10 % och monocyter/makrofager max 2 % av de cirkulerande vita blodkropparna (Mumford, S. et al, 2007), men cut-off för onormalt hög förekomst sattes vid 15 % respektive 5 % för att tillåta en felmarginal.

När alla parametrar var införda erhöles avkodningslistan så att även laxarnas rätta identitet kunde föras in och data användas för statistisk beräkning.

Virus

Virusodling gjordes på enstaka fiskar som visade symptom förenliga med virusinfektion. Virusodling gjordes enligt EU:s riktlinjer ([Kommissionens genomförandebeslut \(EU\) 2015/1554](#)). Kortfattat användes två cellinjer (BF-2 och FHM), som inokulerades med provmaterial och inkuberades vid 15°C under en vecka, varefter passage till nya celler gjorde. Totalt inkuberades proverna två veckor.

Svamp

Svamp odlades genom att skrapa svamphyfer från infekterad hud på provtagna fiskar med svamp. Hyferna placerades i rör med PG1-agar och rören inkuberades vid 20°C under 3 – 4 dagar. De svampisolat som växte i rören renodlades och preliminär bedömning avseende vattenlevande algsvampar (*Saprolegnia* spp. eller inte) gjordes genom mikroskopering av hyfer från växande kolonier.

Den PCR-metod avseende svamp som sattes upp vid laxundersökningarna 2016 (Thoen et al., 2015) hade problem att identifiera *Saprolegnia* (vattenmögel) och ett antal misstänkta isolat kunde aldrig artbestämmas. Därför sattes en realtids-/qPCR specifikt för *Saprolegnia* spp., och *Saprolegnia parasitica* (Rocchi et al., 2017) upp. Metoden kompletterades med en egendesignad qPCR för *Saprolegnia diclina*-gruppen. För validering av qPCR-metoden köptes referensisolat från Westerdijk referensstamskollektion i Nederländerna. Utöver de isolat som samlades in under 2018, användes alla svampisolat från laxundersökningarna 2016 (Statens veterinärmedicinska anstalt och Evira, 2017) för att slutligen försöka karakterisera dessa ordentligt.

Blodparametrar

Hematokrit (HAEMATOKRIT 200, Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Germany), hemoglobinkoncentration (HemoCue® Hb 201+ System, HemoCue AB, Ängelholm, Sweden), och blodglukos (HemoCue® Glucose 201+ System, HemoCue AB, Ängelholm, Sweden) mättes omgående efter att blodprov tagits ut. Resterande blod överfördes till flera eppendorfrör och centrifugerades vid 5 000 x g 2 min. Plasma och röda blodkroppar separerades till olika rör och lades på torris. Rören förvarades vid -80°C tills analys genomfördes.

Plasmajoner (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} och Cl^-) och pH mättes med en elektrolytmätare baserad på jonselektiv elektrod-teknologi (Convergys® ISE comfort Electrolyte Analyzer, Convergent Technologies, Cölbe, Germany).

Vidare bestämdes blodets hemolysgrad, komplementaktivitet samt halter av hormonerna trijodtyronin (T_3) och tyroxin (T_4). Sammanfattande metodbeskrivningar för dessa analyser finns i **Bilaga 1, punkterna 1 - 2**.

Enzymatisk aktivitet och övriga biomarkörer i vävnad

Uttag av och förvaring av prover

Muskel och hjärna togs ut för analys av enzymet acetylkolinesteras (AChE). Lever togs ut för analys av enzymerna glutationreduktas (GR), glutation S-transferas (GST) och katalas (CAT) samt mätning av 7-etoxyresorufin-O-deetylas (EROD)-aktivitet. Organbitarna frystes i samband med provtagningen i flytande kväve för transport till laboratoriet.

Inför analys homogeniserades muskel och hjärna (3x3 glas/teflon) i 0,1 M natriumfosfatbuffert med tillsats av 0,1 % Triton X-100 och centrifugerades vid 10 000 x g, 20 min och 4°C. Portioner av supernatanten (S10) frystes omedelbart vid -80°C tills analys genomfördes.

Lever homogeniserades (3x3 glas/teflon) i en standardiserad homogeniseringsbuffert (0,1 M natrium/kaliumfosfat (pH 7,4) och 0,15 M kaliumklorid). Efter centrifugeringssteget (10 000 x g, 20 min och 4°C) ultracentrifugerades supernatanten vid 100 000 x g, 60 min och 4°C). Portioner av de cytosoliska fraktionerna (S100) frystes omedelbart vid -80°C, medan mikrosomfraktionen resuspenderades med standardiserad homogeniseringsbuffert med tillsats av 20 % glycerol. Portioner av lösningen frystes vid -80°C tills analys genomfördes.

Analysmetoder

Sammanfattande metodbeskrivningar och referenser finns i **Bilaga 1, punkterna 3 - 8**. Spektrofotometri användes för mätning av AChE, CAT, GR, GST och proteinhalt. För mätning av EROD-aktivitet användes spektrofluorometri.

Vitamin- och antioxidantanalyser

Analyser avseende tiamin (vitamin B1), α -tokoferol (vitamin E), total mängd karotenoider, samt specifikt för karotenoiderna astaxantin och vitamin A (totalhalt och retinol) utfördes vid finska Livsmedelsverket Ruokavirasto (tidigare Evira). Tiamin i lever och karotenoider mättes hos alla fiskar, medan astaxantin, vitamin A och E mättes hos 40 fiskar, där Ruokavirasto själva gjorde ett urval 10 honor per lokal utom Mörrum som exkluderades från den utökade analysen. Tiaminanalys gjordes också i rom, men all rom kunde inte analyseras utan rom från alla honor i Umeälven, Indalsälven och Lagan analyserades.

Uttag av och förvaring av prover

För tiamin-analys togs en leverbit på 5 g samt 2 ml rom. För karotenoider, astaxantin, vitamin A och vitamin E togs ca 100 g ryggmuskel mellan huvudet och ryggen på fiskens vänstra sida. Alla prover frystes omedelbart på torris,

utom rommen som frystes i flytande kväve, och hölls frysta vid -80°C i väntan på analys. Vid transporten till Ruokavirasto användes torris för att bibehålla temperaturen på -80°C .

Analysmetoder

Den totala karotenoidkoncentrationen mättes med spektrofotometri enligt Pettersson och Lignell (1999) med mindre modifieringar. Övriga analysmetoder gjordes med så kallad high-performance liquid chromatography (HPLC), astaxantin analyserades enligt Schierle et al. (2014), med mindre modifieringar, vitamin A och E analyserades enligt [Kommissionens förordning \(EG\) nr 152/2009 Bilaga IV](#) med mindre modifieringar och tiamin analyserades enligt Vuorinen et al. (2002).

Mycket kortfattat vägdes vävnaderna in - 0,5 g muskel för karotenoidanalys, 4 g muskel för astaxantinanalys, 15 g muskel för vitamin A- och E-analys och 0,5 g lever eller rom för tiaminanalys och homogeniserades. Därefter extraherades respektive ämne i en flerstegsprocess innan analys med spektrofotometri eller HPLC genomfördes. En mer omfattande metodbeskrivning för respektive analysmetod finns i **Bilaga 2**.

Metabolomik

Som komplement till biomarköranalyserna påbörjades även en metabolomstudie med hjälp av Nuclear magnetic resonance (NMR) på NMR centrum vid Göteborgs Universitet. Metabolomik är en hypotesgenererande teknik som kan leda till upptäckten av nya okända effekter eller sjukdomstillstånd. Med tekniken identifieras samt kvantifieras alla metaboliter i ett biologiskt prov som till exempel plasma.

Bankning av provmaterial

Muskel, lever och 2 x 1,5 ml plasma samt 2 x 1,5 ml blodkroppar tillvaratogs och frystes på torris för att sedan hållas frysta vid -20°C för SU:s räkning. Medel för SU:s verksamhet rymdes inte inom detta projekt men analys av hydroxylerade polybromerade difenyletrar kommer att kunna göras inom ramen för ett annat projekt (finansierat av Formas) och kommer att påbörjas under 2019. Dessutom får SLU Aqua, sötvattenslaboratoriet, finansiering från Foma-Giftfri miljö och planerar att studera M74 kopplat till miljögifter, algtoxiner och diet på material som samlats in. Material som blir över efter SU:s och SLU:s analyser kommer lagras i Miljöprovbanken på Naturhistoriska riksmuseet.

För Danmarks tekniska universitets räkning tog material ut för undersökning av piscint reovirus (PRV). Hjärta preparerades för histopatologisk undersökning, en liten bit mjälte och hjärta lades i ett 1,5 ml-rör med RNAlater och ett annat 1,5 ml-rör fylldes med hackad mjälte. Röret med mjälte frystes omedelbart på torris. Röret med RNAlater frystes vid hemkomst och båda rören sparades vid -80°C .

Fjällprov togs från alla fiskar och lämnades till SLU för arkivering och eventuell senare genetisk analys.

Utvärdering av vandringsframgång hos tiaminbehandlad vuxen lax i Umeälvens nedre del

Fångst, märkning och tiaminbehandling

Laxarna fångades i laxryssja vid Långhalsudden i Obbola, Umeälvens mynning. Fångst och märkning omfattade fler laxar än de tiaminbehandlade som en del av ett annat projekt för utvärdering av vandringsframgång till följd av vandringsförbättrande åtgärder i Baggböleområdet i den gamla älvfåran, samt effekter av klimatförändringar på laxvandring. De obehandlade laxarna från det projektet och som märktes parallellt med de tiaminbehandlade utgjorde kontrollgrupp. Tiaminbehandlingarna genomfördes under perioden 2 juli till 13 juli. Totalt märktes 116 laxar under perioden, varav hälften fick tiaminbehandling.

För utvärdering av vandringsframgång märktes laxarna med PIT-tags (passiva transpondermärken, Biomark, FDX 12 mm). I fisktrappan i Norrfors ca 30 km uppströms Umeälvens mynning registrerar 14 läsare passerande PIT-tagmärkta fiskar. Laxarna överfördes en i taget från ryssjan till en vattenfylld ränna i båten (**Figur 1**) varefter kön, längd och eventuella skador noterades. Ett fenprov togs för genetikanalys för att få veta laxens stamtillhörighet. Därefter injicerades en PIT-tag uppifrån vid sidan av ryggraden med hjälp av en PIT-pistol (MK-25 Rapid Implant Gun) enligt återförsäljarens instruktion. De laxar som inte fick tiaminbehandling var därmed klara för återutsättning vid sidan av båten.

Tiaminbehandling gjordes direkt efter den ovan beskrivna märkproceduren. De laxar som fick tiaminbehandling vändes då med buken uppåt i rännan för injektion av tiaminlösningen (**Figur 1**). Den stamlösning som användes utgjordes av 50 g tiaminhydroklorid/l redestillerat vatten (rekommendation enl. Lennart Balk, Stockholms universitet), och varje lax injicerades med 1 ml av denna lösning. Laxarnas vikt lästes av i en längd-vikt tabell. Efter injektion återutsattes laxen försiktigt. Försöken gjordes under djurförsöksetiskt tillstånd A20-18.

Figur 1. Injektion av tiamin i bukhålan (vänster bild) och märket efter behandlingen som det såg ut på lax som återfångades några dagar senare (höger bild).



Foto Annika Holmgren.

Statistik

Data avseende provtagningsplats, kön, somatiska data, obduktionsfynd, histopatologiska förändringar i lever och njure, blodbild, fysiologiska parametrar och vitaminhalter lades in i en gemensam databas.

Data bearbetades statistiskt i SPSS (IBM, version 25). Shapiro-Wilks test användes för att undersöka normalfördelning, Brown-Forsythe's test för homogenitet av variansen och individuella tester för skillnader mellan vattensystemen. Utifrån resultaten valdes vidare testmetoder enligt **Tabell 2**.

Tabell 2. Statistiska metoder som användes för bearbetning av data, valda utifrån fördelning och varians.

Normalfördelade data	Varians	Statistiskt test	Post hoc-analys
Ja	Homogen	ANOVA	Tukey-Kramer
	Heterogen	Welch-ANOVA	Games-Howell
Nej	Homogen	Kruskal-Wallis	Dunn-Bonferroni
	Heterogen	ej genomfört	ej genomfört

Avseende tiaminbehandling kördes bootstrap-analys. Grupperna med respektive utan tiaminbehandling testades med hjälp av resampling med återläggning från varje grupp. Antal observationer som drogs från varje grupp motsvarade gruppens storlek. Gruppernas medelvärden beräknades och jämfördes för varje par och 10 000 beräkningar gjordes med varje parvis jämförelse av grupperna. Ensidiga test valdes med $\alpha=0,05$.

RESULTAT

Situationen i de provtagna älvarna 2018

Mörrumsån

Sedan den automatiska fiskräknaren med kamera installerades vid trappan i Marieberg inför säsongen 2010 har 221 st (2010) – 1395 st (2013) laxar passerat räknaren årligen. Under 2018 passerade dock endast 143 laxar, varav 62 (43 %) honor, 53 (37 %) hanar och 28 (20 %) av okänt kön. Det var även bottennotering för öring (92 st jämfört med 186 – 800 st 2010 – 2017) och för laxing (4 st jämfört med 19 – 55 st 2010 – 2017). Ytterligare 67 laxfiskar av obestämd art (lax, öring eller laxing) passerade trappan under 2018.

Redan i maj var det varmt i vattnet (uppåt 20°C) och steget gick trögt. Vattenföringen var mycket låg. Den sista maj hade åtta laxar passerat trappan i Marieberg mot normalt ca 30 – 150 st. De slöa sjuka, döende och döda laxar som varit en vanlig syn längs ån under april-maj sedan 2014 förekom inte under våren 2018. Däremot förekom senare under sommaren sjuk och död lax i lugnvatten (personlig kommunikation, Mörrums Kronolaxfiske).

Vid provtagningarna i maj och juni noterades att fisk slog relativt frekvent i pool 1 – 4 nedströms Kronolaxfiskets lokaler, men ingen vandring uppåt genom Kungsforsen verkade förekomma.

Svampangrepp under hösten har varit vanligt förekommande sedan 2013. Svampen angriper fisken redan innan lek och har lett till att mycket lekfisk, både lax och öring, har dött innan leken börjat. Även 2018 var svampangrepp vanliga. Svampangripna fiskar började noteras i slutet av fiskesäsongen (september) och en stor andel av de laxfiskar som gick genom räknaren därefter var svampangripna (personlig kommunikation, Mörrums Kronolaxfiske).

Tre laxar har rapporterats i SVA:s rapportportal (**Figur 2D**), en i mitten av maj (sår vid analöppning) och två döda i mitten av juli. Detta är en kraftig minskning gentemot 2016 och 2017 då 66 respektive 15 rapporter om sjuka eller döda laxfiskar, ofta inkluderande mer än en fisk, inkom från Mörrumsån.

Torneälven

Torneälven är en av världens viktigaste vattensystem för reproduktion av atlantlax ([Luke 1](#)). Enligt uppföljningsdata från finska naturresursinstitutet ([Luke 2](#)) passerade 47 028 laxar räknaren i Kattilakoski från mitten av maj till mitten av september. Steget 2018 är jämförbart med tidigare år sedan 2012, då ca 40 000 – 60 000 laxar passerat räknaren med undantag för rekordåren 2014 och 2016 då ca 100 000 laxar passerade Kattilakoski.

Under 2018 rapporterades totalt 44 sjuka eller döda laxfiskar från Torneälvssystemet och mynningsområdet/Haparanda skärgård (**Figur 2B**). Av dessa var 39 st laxar, 4 öringar och 1 harr. Tre laxar rapporterades från Muonioälven (rinner samman med Torneälven strax nedströms Kengis), 31 laxar, 3 öringar och 1 harr från Torneälven, 4 laxar och 1 öring från mynningen (ön Tirro) samt 1 lax från Seskarö. Rapporterna kom in mellan 28 juni och 19 augusti, varav 31 st i juli. Åtta fiskar observerades svaga/döende och 33 hittades döda. Endast två rapporterades som skadade vid fångst på spö, och en var fångad i fälla. Merparten av både döda och döende fiskar rapporterades ha svamp. Laxen som fångats i fälla hade omfattande fjällförluster. De två spöfångade laxarna hade sårskador, en på stjärtfenan och en på kinden. Två döende och tre döda fiskar rapporterades också ha sårskador. Sårskador på två av de döda fiskarna har inte dokumenterats med foto eller beskrivits, varför det är svårt att avgöra om de uppkommit före eller efter döden. Likaså är det svårt att avgöra hur omfattande svampangrepp varit vid dödsögonblicket om inte fisken är nydöd. Merparten av de fiskar som hittats döda beskrevs eller kunde via fotodokumentation konstateras som ruttna. En lax och en öring som hittats döda hade kraftiga UDN-liknande förändringar på huvudet.

Antalet inkomna rapporter under 2018 ökade gentemot 2017 (26 st) men var färre än 2016 (70 st).

Ume-/Vindelälven

I älven finns både naturligt reproducerande Vindelälvslox och kompensationsodlad lax. Totalt passerade 12 877 laxar räknaren i Norrfors. Av dessa var 11 586 Vindelälvsloxar och 1 291 hade ursprung i kompensationsodlingen. Könsfördelningen var skev, med 700 (6 %) honor, 10 698 (92 %) hanar (varav ca 90 % grils) och 188 (2 %) av okänt kön bland Vindelälvsloxarna samt 142 (11 %) honor, 1 135 (88 %) hanar och 14 (1 %) av okänt kön bland de odlade laxarna.

Vårfloden 2018 var tidig och högre än de senaste åren. Mycket drivgods och spill följde med genom utskoven. Från andra veckan i juli var vattentemperaturen några grader över den som noterats de närmast föregående åren. Mellan 15 juli och 12 augusti låg vattentemperaturen över 20°C, med en toppnotering på 24,3°C den 3 augusti. Redan tidigt under steget sågs svag och svampangripen fisk vid trappan i Norrfors. De laxar som passerade trappan under hösten såg förhållandevis friska ut. Försök gjordes att tillvarata avelsfisk under sommaren men liksom tidigare år dog de redan efter några dagar i bassängen. Grils som tillvaratagits för annat ändamål klarade sig däremot bra. Avelsfisket återupptogs i september (personlig kommunikation Åke Forssén, Vattenfall AB).

Totalt inkom 35 rapporter, varav 6 från Vindelälven och övriga från Umeälven, till SVA avseende sjuk eller död laxfisk under 2018 (**Figur 2E**). Tjugonio rapporter gällde laxar, en gällde en öring och i fem rapporter hade art inte angetts och kunde inte heller avgöras utifrån eventuella bifogade bilder. Rapporterna kom in från 1 juli till 15 oktober, merparten (86 %) i juli. Merparten av fiskarna hade observerats döda och svampangripna. För fem fiskar fanns inte symptom angivet och en död fisk hade inga symptom utan misstänktes ha dött efter catch and release (C&R). Antalet rapporter ökade kraftigt gentemot 2017 (7 st) men var i paritet med rapporteringen 2016 (42 st).

Indalsälven

I Indalsälven finns ingen naturligt reproducerande lax då vandrigen stoppas av kraftverket vid Bergforsen. Avelsfisket avseende lax till kompensationsodlingen var rekordartat 2018, det var lätt att fånga avelsfisk och den var i fin form. Däremot har det varit mycket ont om havsöring för avel de senaste 3 – 4 åren. Inga hälsoproblem förekom i anläggningen (personlig kommunikation Börje Sahlin, Vattenfall AB).

Det kom inte heller rapporter via rapportportalen om sjuk fisk i Indalsälven under 2018. Däremot kom tre rapporter från Ljustorpsån, som mynnar i Indalsälven vid deltat, en från kusten nära mynningen och fem rapporter från närliggande älven Ljungan (**Figur 2C**). Rapporterna gällde laxar, två laxfiskar av okänd art (Ljustorpsån, kusten), en öring och en sik (båda från Ljungan). Alla rapporter inkom under oktober och november och gällde döende eller död fisk med svampangrepp. Under 2017 kom 10 rapporter från kompensationsodlingen i Indalsälven, och dessa rörde mer än en fisk per rapport. Från Ljungan kom sju rapporter 2017 och tre rapporter 2016.

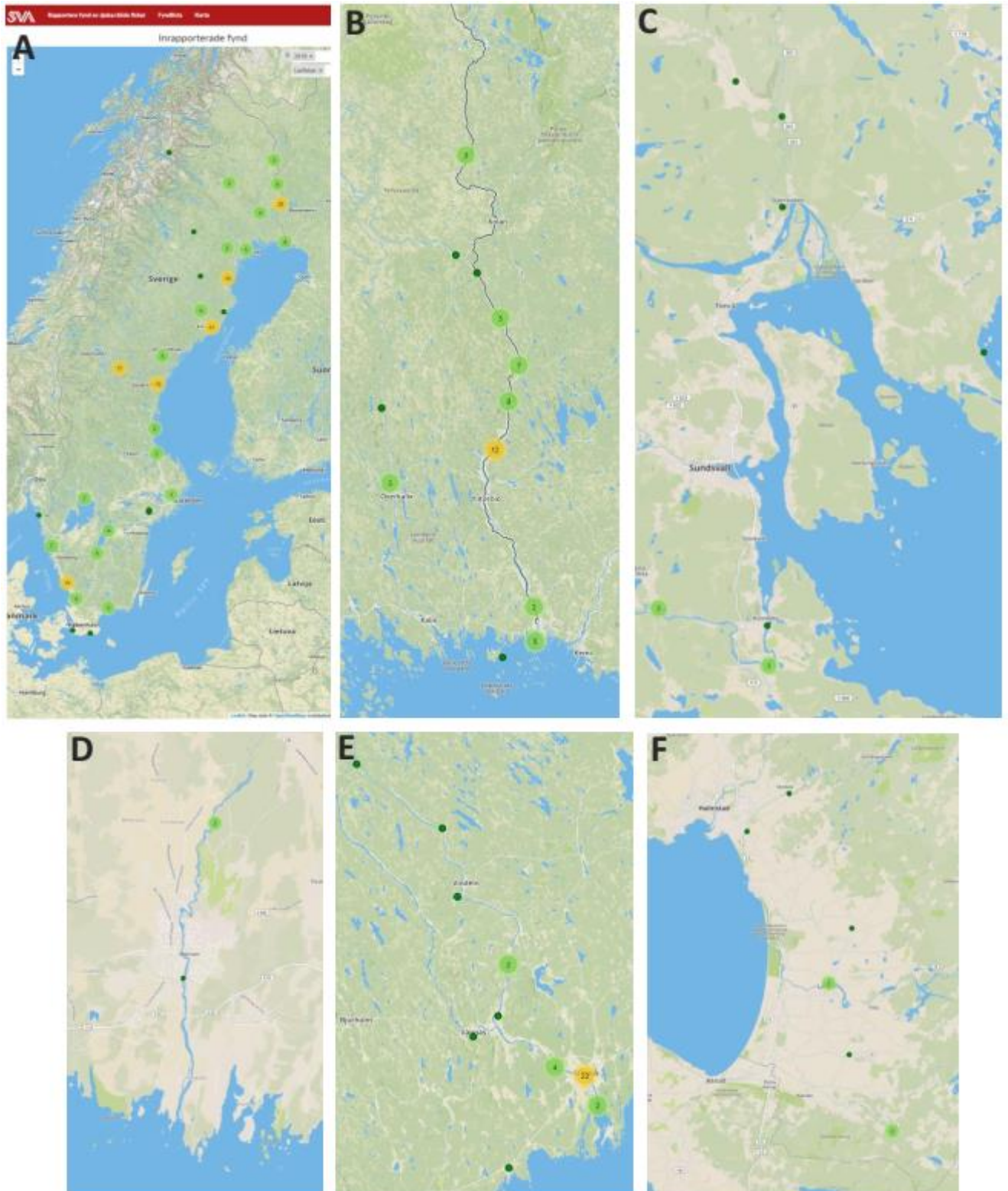
Lagan

I Lagans vattensystem sker naturlig reproduktion av lax enbart i biflödet Smedjeån, nedströms Laholm där kraftverket hindrar vidare vandring. I Laholm finns därför kompensationsodling av lax. Vattentemperaturen var hög under sommaren 2018, runt 23°C, och flödena var låga under sommaren. Steget under sommaren var lågt, men kom igång på hösten när temperaturerna sjönk och den totala återvandringen bedömdes som normal men med en stor andel grils. Under oktober togs 139 honor och 168 hanar in till kompensationsodlingen i Laholm. Andelen stor fisk var lägre än normalt, beroende på att 67 % av hanarna var grils mot normalt 40 – 60 %. Bland honorna var 13 % grils. Ingen onormal

frekvens av sjuklighet i form av sårskador eller slöhet/vinglighet noterades vid infångandet, däremot hade 21 % av avelsfisken lindriga UDN-liknande angrepp eller enstaka svampfläckar. Svampangrepp har varit vanligt förekommande på avelsfisken under oktober-november sedan 2015. Odlingen upplevde även att det fanns en hög andel svampangripen lax i ån under november (personlig kommunikation Daniel Axelsson, Statkraft).

Under 2018 kom två rapporter om sjuk lax i Lagan (**Figur 2F**). Båda observationerna gjordes i början av november, men den ena rapportören påpekar att han sett svamp sedan 15 maj och nu i november är det mycket svampangripen svag och död fisk. Under november kom även två rapporter från Stensån respektive Fylleån och en vardera från Smedjeån och Vessingeån. Alla rörde svampangripen fisk.

Figur 2. A) Antal rapporter om laxfiskar i SVA:s rapportportal 2018 samt närbilder på den geografiska lokaliseringen av rapporter från B) Torne- och Muonioälven, C) Området kring Indalsälvens nedre lopp, D) Mörrumsån, E) Ume-/Vindelälven och F) Lagan och övriga vattendrag som mynnar i Laholmsbukten.



Provtagningar

Provtagningsdatum, fångstmetoder, antal provtagna laxar per lokal anges i **Tabell 3**. Totalt provtogs 87 laxar, varav 66 honor och 21 hanar. I Umeälven hade 29 av 30 fiskar intakt fettfena och bedömdes därför vara av vilt (Vindelälvs-) ursprung. I Indalsälven var alla laxar, inte oväntat, fettfeneklippta. I Lagan hade två av 13 laxar kvar fettfenan. Det är oklart om dessa var kompensationsodlade och hade missats vid märkning, eller om laxarna simmat fel och egentligen härstammade från något närliggande vattendrag, t. ex biflödet Smedjeån. Medelvärden \pm standard error (SE) av morfometriska data för provtagna honlaxar finns i **Tabell 4**. Fullständiga morfometriska data för alla provtagna fiskar finns i **Bilaga 3**.

Tabell 3: Provtagningsdatum, fångstmetoder, sumpning och antal planerade respektive provtagna fiskar i de olika vattensystemen.

Vattensystem	Provtagningsdatum	Fångstmetod	Sumpning	Antal planerade laxar	Antal fångade laxar (honor/hanar)
Mörrumsån	21 - 22 maj	Spö	Nej	30	4 (4/0)
	4 - 5 juni	Fälla	-		
		Håv	-		
		Trappa	Tre		
Torneälven	16 - 17 juni	Drivnät	Alla	20	20 (14/6)
Umeälven	1 - 2 juli	Trappa	Alla	30	30 (22/8)
Indalsälven	3 - 4 sept	Fälla	Alla	20	20 (13/7)
Lagan	22 okt	Elfiske	Alla	20	13 (13/0)

Tabell 4. Medelvärden \pm SE av morfometriska parameterar för honlaxar i de olika vattensystemen.

Vattensystem (Antal fiskar)	Längd (cm)	Vikt (g)	Gonadvikt (g)	Somatisk vikt (g)	Levertvikt (g)	CF ^a	GSI (%) ^b	LSI (%) ^c
Mörrumsån (4)	94,0 \pm 3,3	10 242,5 \pm 1 283,1	146,88 \pm 37,94	10 095,6 \pm 1 247,7	114,08 \pm 15,15	1,19 \pm 0,14 ^{α,γ}	1,37 \pm 0,49 ^{α}	1,13 \pm 0,09 ^{α,β}
Torneälven (14)	90,7 \pm 3,1	8 645,0 \pm 958,9	218,67 \pm 36,59	8 426,3 \pm 926,3	125,94 \pm 14,37 ^d	1,07 \pm 0,07 ^{α,γ}	2,45 \pm 0,79 ^{α,γ}	1,44 \pm 0,16 ^{e,α,γ}
Umeälven (22)	85,2 \pm 1,0	7 221,4 \pm 296,1	153,58 \pm 13,80	7 067,8 \pm 285,6	84,84 \pm 3,75	1,13 \pm 0,08 ^{γ}	2,13 \pm 0,58 ^{α}	1,20 \pm 0,14 ^{β}
Indalsälven (13)	82,4 \pm 1,8	6 182,3 \pm 465,8	512,00 \pm 71,58	5 670,3 \pm 405,8	86,27 \pm 6,59	1,00 \pm 0,07 ^{α,β}	8,75 \pm 3,19 ^{β,γ}	1,52 \pm 0,18 ^{γ}
Lagan (13)	83,1 \pm 0,7	5 176,9 \pm 164,9	1119,15 \pm 56,40	4 057,8 \pm 128,3	59,51 \pm 5,03 ^d	0,71 \pm 0,06 ^{β}	27,63 \pm 4,39 ^{γ}	1,46 \pm 0,35 ^{e,α,γ}

^a CF = Konditionsfaktor: (g \times 100/längd (cm))³; ^b GSI=Gonadosomatiskt index: gonadvikt (g)/somatisk vikt (g) \times 100; ^c LSI= Leversomatiskt index: levertvikt (g)/somatisk vikt (g) \times 100; ^d levertvikt saknas för en honlax; ^e LSI saknas för en honlax; ^{α,β,γ} Vattensystem med samma bokstav för samma analys skiljer sig **inte** signifikant från varandra, Kruskal-Wallis med Dunn-Bonferroni post-hoc analys (CF, GSI), ANOVA med Tukey-Kramer post hoc-analys (LSI). GSI-värdena logaritmerades innan analys.

En sammanställning av fynd i respektive vattendrag finns i **Tabell 5**. Svampangrepp noterades i stor omfattning i Umeälven (67 % av laxarna) och i Lagan (54 % av laxarna). I övriga vattendrag noterades ingen svamp. UDN-liknande förändringar på nosen och huvudet observerades i alla lokaler utom Torneälven. Hudblödningar sågs i Mörrumsån, Umeälven och Indalsälven. Inga grava inre symptom som kopplades till sjukligheten noterades. Lindriga leverblödningar noterades hos en del individer och var det främsta patologiska symptomet. Färgen på levern varierade från relativt mörkt brun till gulaktig. Mjälten var oregelbundet stasad (bubblig) hos enstaka individer, och något torr och skrovlig hos andra. Mörkpigmentering (melanisering) av tarmfettet sågs hos några individer i Torneälven, Umeälven och Indalsälven. Då pigmenteringen fanns i området för bukspottskörtelvävnad togs virusprov från individen i

Torneälven för att utesluta infektion med infektiöst pankreasnekrosvirus (IPN). Hos alla individer i Mörrumsån, Torneälven, Umeälven och Indalsälven noterades förekomst av bandmask i olika omfattning i tarmen. Tarmen öppnades inte på individerna som provtogs i Lagan, och därför har parasitbördan inte bedömts. Därutöver noterades en del parasitcystor i mjälte och hjärtvägg, parasiter och granulom (sannolikt parasitorsakade) på levern och i Lagan noterades förekomst av Anisakis på de inre organen.

Tabell 5. Yttre och inre fynd vid provtagning av lax 2018

Vattensystem (Antal fiskar)	Grad av förändring	Yttre förändringar						Fenskador	Svamp	Bandmask i tarm	Inre fynd Organ- förändringar
		Hudblödning	"UDN"	Huderosion/ Sår ^a	Annan hudskada ^b						
Mörrum (4)	Ingen	1	1	1	3	1	4	-	Leverblödning: 2 Stasad mjälte: 1 Långrevskrok i magsäcken: 1		
	Lindrig	2	1	1	-	3	-	2			
	Måttlig	1	2	2	1 (avläkt)	-	-	-			
	Kraftig	-	-	-	-	-	-	2			
Torneälven (20)	Ingen	20	20	19	17	-	20	-	Parasitcysta i mjälte: 2 Leverblödning: 1 Hyperemi simblåsa: 1 Pigment i tarmfett: 1		
	Lindrig	-	-	-	2 (1 avläkt)	-	-	-			
	Måttlig	-	-	1 (avläkt)	1 (avläkt)	2 (1 avläkt)	-	4			
	Kraftig	-	-	-	-	-	-	16 ^c			
Umeälven (30)	Ingen	19	14	-	27	24	10	-	Leverblödning: 10 Pigment i tarmfett: 4 Vätska i simblåsan: 3 Hyperemi simblåsan: 2 Skrovlig mjälte: 2 Hyperemi i tarmvägg: 1 Sammanväxningar i buk: 1 Cysta på hjärta: 1 Granulom lever: 4		
	Lindrig	9	10	8	-	3 (1 avläkt)	9	5			
	Måttlig	2	4	18	1	2	6	12			
	Kraftig	-	2	4	2 (1 avläkt)	1	5	13 ^d			
Indalsälven (20)	Ingen	19	19	-	18	13	20	-	Parasitcysta mjälte: 3 Pigment i tarmfett: 3 Leverblödning: 1 Skrovlig mjälte: 2 Nematod på lever: 2		
	Lindrig	1	1	15	-	3	-	16			
	Måttlig	-	-	5	1 ^e	3	-	-			
	Kraftig	-	-	-	1 ^f	1	-	4			
Lagan (13)	Ingen	13	10	5	12	-	6	Ej under- sökt	Anisakiasis: 6 Sammanväxningar i buk: 2 Blödning i bukvägg: 1		
	Lindrig	-	1	7	1 (avläkt)	2	4				
	Måttlig	-	1	1	-	11	2				
	Kraftig	-	1	-	-	-	1				

^a Inklusivt ev. mekaniskt orsakade, djupa skrapskador; ^b Bit/-rivsår, mekanisk skada orsakad av våld (ex stängning); ^c varav sju mycket kraftig; ^d varav två mycket kraftig; ^e mekanisk skada överkäke; ^f omfattande fraktur i överkäken

Histopatologi

Lever kunde bedömas på 85 laxar (Tabell 6). Vakuoliseringsgraden i lever varierade från noll till mycket kraftig med tecken på begynnande förfettning. I Mörrumsån, Indalsälven och Lagan var vakuoliseringsgraden låg, medan den varierade över hela skalan i Torneälven och Umeälven. Enstaka parasiter noterades hos några individer. Inflammationsgraden varierade från ingen inflammation (8 st) till måttlig inflammation (12 st). Däremellan fanns 31 laxar med mycket lindrig inflammation och 34 laxar med lindrig inflammation. Sex leverbitar var helt utan degenerativa förändringar, medan 11 hade lindriga degenerativa förändringar och 68 laxar hade områden med vävnadsdöd. Dessa områden var dock sällan omfattande i vare sig storlek eller utbredning, och bedömdes som mycket lindrig till måttlig skada (Tabell 6).

Tabell 6. Bedömning av några histopatologiska leverparametrar hos 85 laxar

Vattensystem (Antal fiskar)	Grad av levervakuolisering					Inflammation			Degeneration			
	1	2	3	4	5	1	2	3	1	2	3	4
Mörrumsån (4)	3	1	-	-	-	2	2	-	-	3	1	-
Torneälven (20)	6	7	2	4	1	13	6	1	5	10	5	-
Umeälven (29)^a	7	12	0	8	2	15	12	2	7	18	3	1
Indalsälven (19)^a	19	0	0	0	0	5	7	7	1	14	4	-
Lagan (13)	13	0	0	0	0	4	7	2	4	6	3	-
Totalt	48	20	2	12	3	39	34	12	17	51	16	1

^a Leverbit för histologisk bedömning saknades; Vakuoliseringsgrad/inflammation: 1=Ingen/obetydlig, 2=Låg, 3=Måttlig, 4=Kraftig, 5=Mycket kraftig; Degeneration: 1=obetydlig, 2=mycket lindrig, 3=lindrig, 4=måttlig

Andelen skadade glomeruli varierade från 0 till 50 % på individnivå (**Tabell 7**). Intressant nog sågs få glomeruliförändringar i Umeälven, där svampangrepp var vanliga. Det var inte heller alarmerande mycket cellulärt debris i tubuli hos de fiskarna. Skadade glomeruli var generellt lindrigt till måttligt degenererade och det fanns ingen koppling mellan en hög andel degeneration och måttlig-kraftig regeneration av nefron. Interstitiet bedömdes generellt vara i gott skick. Två fiskar hade enstaka parasitgranulom och en hade ett par granulom som bedömdes som icke parasitorsakade.

Tabell 7. Bedömning av några histopatologiska njurparametrar hos 87 laxar

Vattensystem (Antal fiskar)	Andel skadade glomeruli (%) median (min max)	Cellulärt debris i tubuli		Regeneration av nefron			
		nej	ja	enstaka	lindrig	måttlig	kraftig
Mörrumsån (4)	16 (4 – 45)	3	1	1	2	1	-
Torneälven (20)	10 (0 – 20)	17	3	7	13	-	-
Umeälven (30)	6 (0 – 21)	19	11	5	22	3	-
Indalsälven (20)	11 (2 – 26)	13	7	6	12	1	1
Lagan (13)	22 (10 – 50)	8	5	4	9	0	-
Totalt	9 (0 – 50)	60	27	23	58	5	1

I mjälte noterades inga större variationer utöver blodfyllnadsgrad och inte heller sjukliga förändringar i form av inflammation eller vävnadsdöd eller parasiter.

Omogna röda blodkroppar observerades främst i form av proerythrocyter, det sista stadiet innan full mognad. Totalt noterades proerythrocyter hos 37 (43 %) och erythroblaster noterades hos 4 (5 %) av laxarna. Andelen laxar med förekomst av omogna blodkroppar var 0 % i Lagan, 20 % i Indalsälven, 37 % i Umeälven, 75 % i Mörrumsån och 95 % i Torneälven. Enstaka proerythrocyter noterades hos fem laxar. Lindrig förekomst (1 – 4 proerythrocyter/5 synfält) noterades hos 13 laxar, måttlig förekomst (5 – 9 erythrocyter/5 synfält) hos 7 laxar, riklig förekomst (10 – 19 proerythrocyter/5 synfält) hos 9 laxar och mycket riklig

förekomst (≥ 20 proerythrocyter/5 synfält) hos tre laxar. Maxnoteringen var 112 proerythrocyter/5 synfält och den laxen hade även rikligt med erytroblastar (13/5 synfält). I övrigt noterades bara någon enstaka erytroblast hos en fisk och 1 erytroblast/5 synfält hos två laxar. Alla laxar med mycket riklig, åtta av de nio laxarna med riklig förekomst av proerythrocyter samt tre av fyra laxar med erytroblastar var provtagna i Torneälven. Den nionde laxen med riklig förekomst av erytroblastar provtogs i Mörrumsån.

Avseende fördelningen av vita blodkroppar var medianvärdet för andel neutrofiler 11 % av totalantalet vita (min 0 %; max 40 %) och 30 laxar (34 %) bedömdes ha neutrofil (≥ 15 % av totalantalet vita). Flest fiskar med neutrofil fanns i Umeälven (17 av 30, 57 %), följt av Indalsälven (9 av 20, 45 %) och Lagan (4 av 13, 31 %). I Mörrumsån och Torneälven noterades ingen neutrofil. För monocyter/makrofager var medianvärdet 19,5 % (min 0 %; max 63 %) och 80 laxar (92 %) bedömdes ha förhöjd förekomst (≥ 5 % av totalantalet vita). Laxar utan förhöjda nivåer av monocyter/makrofager kom från Torneälven (fyra st), Indalsälven (två st) och Lagan (en st).

Virus och svamp

Virus odlades enbart från en lax (Torneälven). Provet var negativt, dvs. inget virus växte på cellkulturen.

Svamp odlades från fem laxar provtagna i Umeälven. I samtliga prover växte potentiella *Saprolegnia*-kolonier. Inga svampprover togs vid provtagningen i Lagan. Utöver de fem isolaten från Umeälven inkluderades 36 isolat från lax och öring som drabbats av svamp på olika lokaler under 2018 och 42 solat från laxprojektet 2016.

qPCR:erna för *Saprolegnia* sattes upp och isolaten från 2016 och 2018 hann analyseras innan referensstammarna anlät. Resultaten såg först lovande ut med identifiering av både *S. parasitica* och *S. diclina*-gruppen, men när referensstammarna anlände gick de inte att artbestämma enligt förväntan.

Vi vet i dagsläget inte om det är de sekvenser som används av Rocchi et al. (2017) eller de inköpta referensstammarna som inte blivit korrekt artbestämda. Därför rapporteras inte några resultat från qPCR-körningarna.

Blodparametrar

Medelvärden samt standardavvikelser för hematokrit, hemoglobin och glukos hos honlaxarna i de olika vattensystemen finns i **Tabell 8**. Hematokriten varierade mellan 33 – 45 %, hemoglobinvärdet mellan 77 – 172 g/l och blodglukos mellan 2 – 20,3 mmol/l. Hematokriten var signifikant lägre hos honor i Lagan än hos honor i Torneälven och Umeälven. Hemoglobinvärdet var signifikant lägre hos honor i Lagan än hos honor i Umeälven. Honorna i Umeälven hade signifikant högre blodglukos än honorna i övriga vattensystem.

Tabell 8. Medelvärden \pm SE för blodparametrar i honlaxar från de olika vattensystemen.

Vattensystem (Antal fiskar)	Hematokrit/Htk (%)	Hemoglobin/Hb (g/l)	Glukos (mmol/l)
Mörrumsån (4)	39,75 \pm 3,45 ^{α,β}	98,25 \pm 11,59 ^{α,β}	5,80 \pm 0,99 ^{α}
Torneälven (14)	43,36 \pm 0,89 ^{α}	110,93 \pm 4,32 ^{α,β}	4,59 \pm 0,22 ^{α}
Umeälven (22)	45,50 \pm 0,98 ^{α}	126,05 \pm 3,48 ^{α}	12,37 \pm 0,95 ^{β}
Indalsälven (13)	n.a.	n.a.	n.a.
Lagan (13)	39,06 \pm 0,89 ^{β}	109,62 \pm 2,80 ^{β}	6,54 \pm 0,77 ^{α}

^{α,β,γ} Vattensystem med samma bokstav för samma analys skiljer sig **inte** signifikant från varandra, Kruskal-Wallis med Dunn-Bonferroni post-hoc analys (Hb), ANOVA med Tukey-Kramer post hoc-analys (Htk, Glukos). Hb- och Glukos-värdena logaritmerades innan analys.

Medelvärden och standardavvikelse för plasmalektolyter samt pH i plasma för honlaxar i de olika vattensystemen finns i **Tabell 9**.

Tabell 9. Medelvärden \pm SE för koncentrationer av plasmalektolyter samt plasma-pH i honlaxar från de olika vattensystemen.

Vattensystem (Antal fiskar)	K ⁺ (mmol/l)	Na ⁺ (mmol/l)	Cl ⁻ (mmol/l)	Ca ²⁺ (mmol/l)	pH
Mörrumsån (4)	4,13 \pm 0,68 ^{α}	190,73 \pm 6,56 ^{α,β}	152,75 \pm 12,39 ^{α,β,γ}	1,41 \pm 0,08 ^{α}	7,10 \pm 0,04 ^{α}
Torneälven (14)	4,70 \pm 0,33 ^{α}	193,97 \pm 3,14 ^{α}	166,57 \pm 4,26 ^{γ}	1,22 \pm 0,03 ^{γ}	7,16 \pm 0,01 ^{α}
Umeälven (22)	4,83 \pm 0,24 ^{α}	162,06 \pm 3,98 ^{β}	107,68 \pm 5,08 ^{β}	1,06 \pm 0,02 ^{β}	7,24 \pm 0,02 ^{β,γ}
Indalsälven (13)	4,17 \pm 0,17 ^{α}	181,41 \pm 4,17 ^{α,γ}	145,27 \pm 2,89 ^{α}	0,98 \pm 0,01 ^{β}	7,21 \pm 0,01 ^{α,γ}
Lagan (13)	3,98 \pm 0,26 ^{α}	170,79 \pm 4,22 ^{β,γ}	149,01 \pm 2,71 ^{α}	1,04 \pm 0,02 ^{β}	7,31 \pm 0,02 ^{β}

^{α,β,γ} Vattensystem med samma bokstav för samma analys skiljer sig **inte** signifikant från varandra, Kruskal-Wallis med Dunn-Bonferroni post-hoc analys (Na⁺), ANOVA med Tukey-Kramer post hoc-analys (K⁺, Ca²⁺), Welch-ANOVA med Games-Howell post hoc-analys (Cl⁻).

Enzymatisk aktivitet och övriga biomarkörer i vävnad

Överlag uppmättes små skillnader mellan de studerade stationerna. Aktiviteten av avgiftningensenzymet CYP1a, som visar EROD-aktivitet, var mycket högre i honlaxar från Torneälven (**Tabell 10**). EROD-aktiviteten hos fiskarna från Indalsälven och Lagan var mycket lägre jämfört med de övriga stationerna. EROD-aktivitet används som en exponeringsmarkör för miljögifter som PAH:er och PCB:er. Fiskar från Indalsälven uppvisade lägre aktivitet av antioxidantenzymet katalas.

Initiala analyser inom metabolomik visar också att vissa biomarkörer i studien korrelerar med laxarnas sjukdomstillstånd. Till exempel har svampinfekterade fiskar från Umeå förändrade koncentrationer av plasmajoner jämfört med friska fiskar från samma station (data redovisas ej här).

Tabell 10. Medelvärden \pm SE för enzymatiska biomarkörer analyserade i honlaxar från de olika vattensystemen.

Vattensystem (Antal fiskar)	AChE nmol/(min \times mg)		EROD pmol/(min \times mg)	GR nmol/(min \times mg)	GST nmol/(min \times mg)	CAT μ mol/(min \times mg)
	muskel	hjärna				
Mörrumsån (4)	6,61 \pm 0,19 ^a	39,09 \pm 4,66 ^{a;α}	21,81 \pm 16,83 ^a	6,26 \pm 0,33 ^a	185,23 \pm 11,17 ^{a,β}	123,06 \pm 14,15 ^a
Torneälven (14)	7,39 \pm 0,36 ^a	46,20 \pm 3,52 ^{a;α}	82,69 \pm 8,79 ^β	7,76 \pm 0,57 ^a	187,02 \pm 10,39 ^β	106,76 \pm 8,78 ^a
Umeälven (22)	7,06 \pm 0,42 ^a	40,69 \pm 2,00 ^{a;α}	16,42 \pm 3,38 ^{b;α}	7,41 \pm 0,39 ^a	177,78 \pm 7,70 ^β	93,33 \pm 6,87 ^{a,β}
Indalsälven (13)	10,22 \pm 0,72 ^β	39,88 \pm 2,32 ^{a;α}	4,02 \pm 0,50 ^γ	6,29 \pm 0,46 ^a	185,88 \pm 6,64 ^β	65,95 \pm 6,34 ^{β,γ}
Lagan (13)	17,93 \pm 0,96 ^γ	37,09 \pm 2,95 ^a	2,82 \pm 0,81 ^γ	7,76 \pm 0,64 ^a	130,25 \pm 7,69 ^a	92,90 \pm 5,85 ^{a,γ}

^a data saknas för en hona; ^b data saknas för två honor; ^{α,β,γ} Vattensystem med samma bokstav för samma analys skiljer sig **inte** signifikant från varandra, Kruskal-Wallis med Dunn-Bonferroni post-hoc analys (AChE i hjärna, GR, GST, CAT), ANOVA med Tukey-Kramer post hoc-analys (AChE i muskel), Welch-ANOVA och Games-Howell post hoc-analys. AChE- och EROD-värden logaritmerades innan analys. EROD-data var varken normalfördelade eller hade homogen varians men analyserades ändå, och Mörrumsån exkluderades ur de parvisa jämförelserna.

Mätningarna av tyroideahormoner i plasma visade på halt av både fritt och totalt T3 i Torneälven samt hög halt av både fritt och totalt T4 i Umeälven (**Tabell 11**). Höga halter totalt T3 noterades även i fiskar från Torneälven.

Tabell 11. Medelvärden \pm SE för sköldkörtelhormonerna T3 och T4 samt ration för T3/T4 i honlaxar från de olika vattensystemen.

Vattensystem (Antal fiskar)	T3 fritt (pmol/l)	T3 totalt (nmol/l)	T4 fritt (pmol/l)	T4 totalt (nmol/l)	T3/T4 fritt	T3/T4 totalt
Mörrumsån (4)	20,5 \pm 10,1 ^a	3,9 \pm 2,1 ^a	16,3 \pm 3,9 ^{a,β}	29,6 \pm 6,5 ^{a,β}	1,6 \pm 0,8 ^{β,γ}	0,17 \pm 0,09 ^a
Torneälven (14)	49,4 \pm 0,3 ^β	10 \pm 0 ^β	24,1 \pm 2,8 ^{a,β}	44,1 \pm 6,6 ^{a,β}	2,4 \pm 0,2 ^{β,γ}	0,28 \pm 0,03 ^a
Umeälven (22)	20,4 \pm 3,2 ^a	5,2 \pm 0,7 ^a	31,0 \pm 5,2 ^β	49,0 \pm 7,7 ^β	1,4 \pm 0,3 ^{β,γ}	0,20 \pm 0,04 ^a
Indalsälven (13)	29,0 \pm 3,5 ^a	4,9 \pm 0,6 ^a	10,3 \pm 1,2 ^a	17,2 \pm 1,8 ^a	3,0 \pm 0,3 ^β	0,30 \pm 0,03 ^a
Lagan (13)	14,4 \pm 3,3 ^a	3,3 \pm 0,8 ^a	12,0 \pm 1,7 ^a	20,2 \pm 2,3 ^{a,β}	1,3 \pm 0,3 ^a	0,18 \pm 0,05 ^a

^{α,β,γ} Vattensystem med samma bokstav för samma analys skiljer sig **inte** signifikant från varandra, Kruskal-Wallis med Dunn-Bonferroni post-hoc analys.

Vitamin- och antioxidantanalyser

Medianvärden och spann (min – max) avseende de mätta parametrarna, totalt för alla provtagna fiskar och fördelat per lokal, finns i **Tabell 12** (Karotenoider, astaxantin, vitamin A och E) och **Tabell 13** (Tiamin och dess metaboliter, även rom). Karotinhalterna var relativt normalfördelade (**Figur 3A**). Det fanns inga signifikanta skillnader i halterna av karotenoider och astaxantin mellan lokalerna. Vitamin A- och retinolhalterna var lägre i Lagan än i Torneälven och Umeälven. Halten av α -tokoferol var signifikant lägre i Lagan än i övriga vattensystem. Tiamin mättes i lever från laxar på alla lokaler utom Indalsälven. Den totala tiaminhalten i lever hos laxarna i Lagan var signifikant lägre än på övriga lokaler. Alla hamnade under 15 nmol/g och enbart två andra laxar från andra lokaler (Torneälven, Umeälven) hamnade under det strecket. Laganlaxarna bidrog till en bimodal fördelning av tiaminvärdena (**Figur 3B**). Om dessa laxar exkluderades uppvisade tiaminvärdena en mer normalfördelad kurva. Hos laxarna i Umeälven var totalhalten av tiamin samt tiaminderivatet tiaminmonofosfat och tiamindifosfat i paritet med Mörrumsån och Torneälven, men halten fritt tiamin var signifikant lägre jämfört med alla lokaler.

Tiaminhalter i rom mättes i tre lokaler (**Tabell 13**). I SLU:s övervakningsdata är det tydligt att halter på <1 nmol/g fritt tiamin i rom leder till M74 (personligt meddelande Elin Dahlgren, SLU), men den lägsta fria tiaminhalten som uppmättes i rom i det här projektet var 2 nmol/g från en hona i Mörrum. Alla övriga romprover hade halter fritt tiamin >4 nmol/g. Balk et al. (2016) anger tröskelvärde för dödlighet hos avkomman till 3,9 nmol/g totaltiamin, tröskelvärde för 20 % reducerad tillväxt till 8,3 nmol/g och 11,7 ($\pm 2,3$) nmol/g som tröskelvärde för påverkan på enzymet transketolas, ett av de enzym som är beroende av tiamin som co-enzym. Avseende total tiaminhalt i rom (**Figur 3C**) var den lägsta halten 6,0 nmol/g, 2,1 nmol över gränsvärdet för dödlighet, men 14 prover låg under 8,3 nmol/g och 30 prover låg under 11,7 nmol/g. Ytterligare tre hamnade i gränssonen (11,7 – 14 nmol/g). De sex som hamnade över 13,9 nmol/g kom från Mörrum (3 st), Umeälven (2 st) och Indalsälven (1 st).

Tabell 12. Medianvärden (min-max) avseende karotenoider i alla provtagna laxar samt astaxantin, vitamin A och vitamin E/ α -tokoferol i 40 honor.

Vattensystem	Antal laxar (honor/hanar)	Karotenoider ($\mu\text{g/g}$)			Antal honor	Astaxantin ($\mu\text{g/g}$)	Vitamin A		α -tokoferol (mg/kg)
		Alla	honor	hanar			Totalhalt (IU/kg)	Retinol ($\mu\text{g/kg}$)	
Alla	87 (66/21)	1,17 (0,32 – 2,68)	1,15 (0,32 – 2,68)	1,27 (0,66 – 2,63)	40	0,83 (0,43 – 2,24)	132,8 (32,7 – 572,1)	39,8 (9,8 – 171,6)	16,7 (1,6 – 30,9)
Mörnum	4 (4/0)	1,55 (0,93 – 2,68) ^a	1,55 (0,93 – 2,68) ^a	-	-	-	-	-	-
Torneälven	20 (14/6)	1,15 (0,76 – 2,63) ^a	1,13 (0,76 – 2,35) ^a	1,27 (0,86 – 2,63) ^a	10	0,98 (0,59 – 1,96) ^a	155,5 (70,4 – 572,1) ^b	46,6 (21,1 – 171,6) ^b	15,2 (11,3 – 19,9) ^a
Umeälven	30 (22/8)	1,26 (0,85 – 2,51) ^a	1,26 (0,85 – 2,51) ^a	1,25 (0,86 – 1,91) ^a	10	0,72 (0,48 – 2,24) ^a	249,0 (120,6 – 360,6) ^b	74,7 (36,2 – 108,2) ^b	18,0 (12,9 – 27,0) ^a
Indalsälven	20 (13/7)	1,02 (0,32 – 1,60) ^a	0,82 (0,32 – 1,60) ^a	1,31 (0,66 – 1,54) ^a	10	0,94 (0,66 – 1,90) ^a	120,9 (87,8 – 170,6) ^{a,b}	36,3 (26,3 – 51,2) ^{a,b}	20,1 (12,6 – 30,9) ^a
Lagan	13 (13/0)	0,92 (0,38 – 2,05) ^a	0,92 (0,38 – 2,05) ^a	-	10	0,98 (0,43 – 1,54) ^a	48,0 (32,7 – 164,4) ^a	14,4 (9,8 – 49,3) ^a	3,1 (1,6 – 9,3) ^b

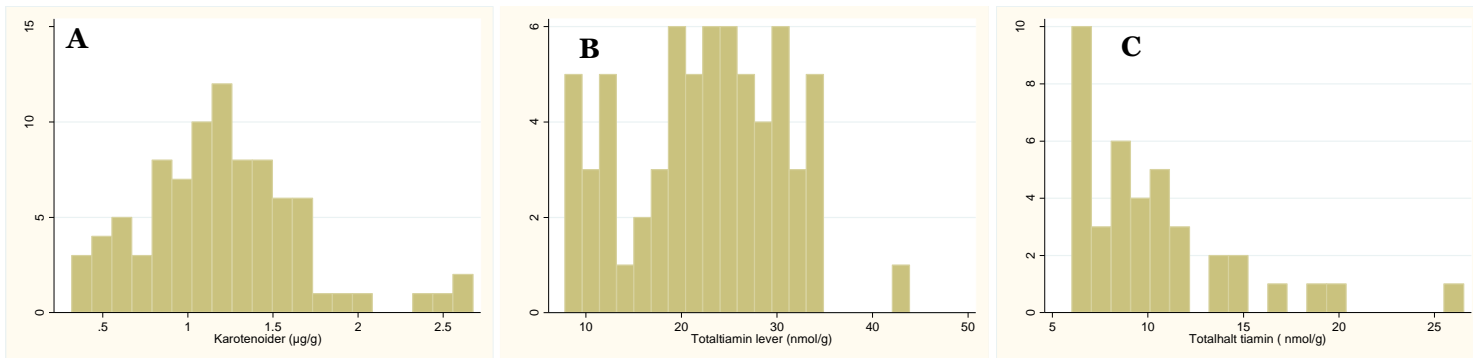
^{a,b,\gamma} Vattensystem med samma bokstav för samma analys skiljer sig **inte** signifikant från varandra, Kruskal-Wallis test med Dunn-Bonferroni post-hoc analys.

Tabell 13. Medianvärden (min-max) avseende totalhalten tiamin, fritt tiamin, tiaminmonofosfat (TMP) och tiamindifosfat (TDP) i lever (alla vattensystem utom Indalsälven) samt rom (39 honor).

Vattensystem (Antal laxar)	Tiamin och tiaminmetaboliter i lever (nmol/g)				Antal honor	Tiamin och tiaminmetaboliter i rom (nmol/g)			
	Totalhalt	fritt Tiamin	Tiaminmonofosfat	Tiamindifosfat		Totalhalt	fritt Tiamin	Tiaminmonofosfat	Tiamindifosfat
Alla (66)	23,0 (7,8 – 43,9)	0,80 (0,09 – 3,23)	4,88 (2,04 – 15,18)	17,4 (1,9 – 26,7)	39	9,2 (6,0 – 26,5)	6,76 (2,00 – 22,17)	0,53 (0,32 – 0,93)	1,92 (1,01 – 4,99)
Mörnum (4)	25,5 (16,4 – 33,1) ^a	1,38 (0,55 – 2,67) ^a	5,88 (3,62 – 7,39) ^{a,\gamma}	18,5 (11,7 – 23,0) ^{a,\gamma}	4	15,3 (6,6 – 26,5) ^{a,\gamma}	11,03 (2,00 – 22,17) ^a	0,76 (0,42 – 0,93) ^a	3,70 (2,27 – 4,99) ^a
Torneälven (20)	25,9 (8,2 – 33,8) ^a	1,28 (0,55 – 3,23) ^a	5,70 (3,80 – 7,71) ^a	19,3 (1,9 – 25,9) ^a	-	-	-	-	-
Umeälven (30)	24,4 (13,2 – 43,9) ^a	0,31 (0,09 – 2,01) ^b	5,46 (3,04 – 15,18) ^a	18,0 (10,0 – 26,7) ^a	22	10,1 (6,8 – 19,6) ^{b,\gamma}	7,28 (4,26 – 16,87) ^a	0,61 (0,36 – 0,78) ^a	1,99 (1,48 – 3,12) ^a
Indalsälven	-	-	-	-	13	6,6 (6,0 – 18,7) ^a	4,72 (4,13 – 16,17) ^a	0,44 (0,32 – 0,59) ^b	1,37 (1,01 – 1,92) ^b
Lagan (12)*	11,2 (7,8 – 13,5) ^b	0,90 (0,23 – 2,41) ^a	2,95 (2,04 – 4,29) ^{b,\gamma}	6,6 (4,92 – 8,02) ^{b,\gamma}	-	-	-	-	-

*Levertiamin-värden saknas för en hona; ^{a,b,\gamma} Vattensystem med samma bokstav skiljer sig **inte** signifikant från varandra, Kruskal-Wallis test med Dunn-Bonferroni post-hoc analys.

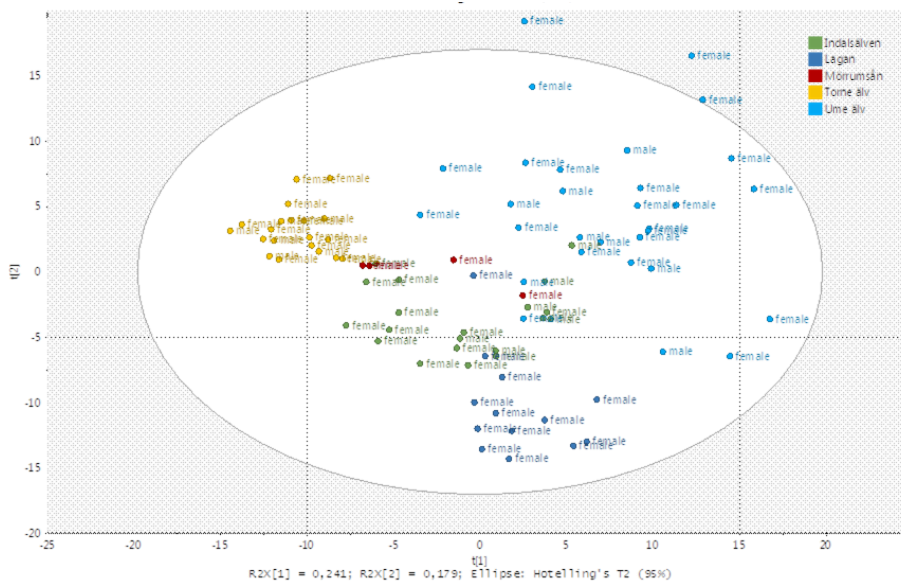
Figur 3. Histogram över A) karotinvärden ($\mu\text{g/g}$) i muskel från alla 87 laxar, B) totaltiamin (nmol l/g) i lever hos 66 laxar och C) totaltiamin (nmol/g) i 39 romprover



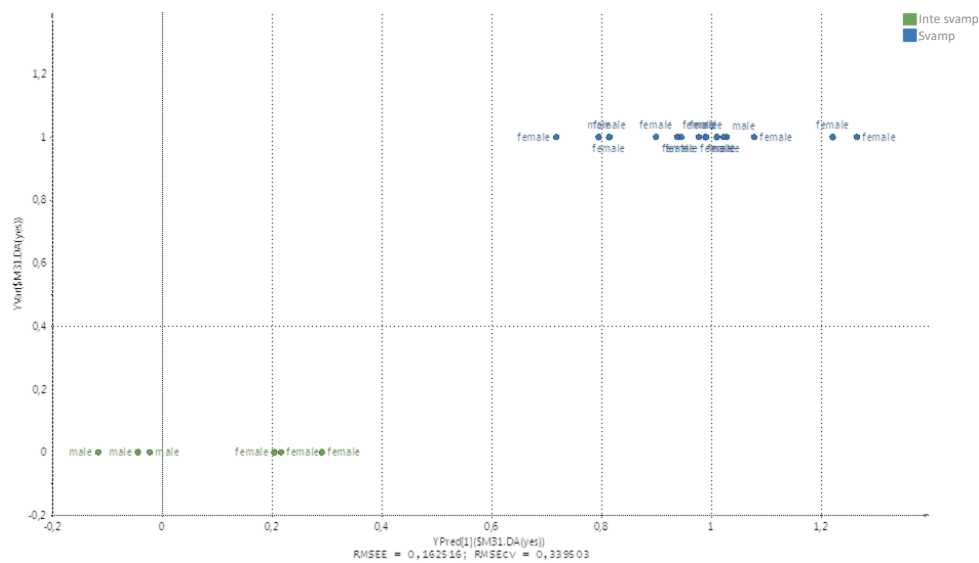
Metabolomik

De initiala analyserna visar att metabolomet i laxarna från de olika vattensystemen skiljer sig markant åt samt att populationerna är olika väl samlade i sina metabolom (**Figur 4**). Till exempel är laxarna i Torne älv lika varandra medan metabolomen hos laxarna i Umeälven spretar kraftigt. De initiala analyserna visade också att metabolomet påverkas av sjukdomstillstånd som svampangrepp (**Figur 5**). Vilka metaboliter som orsakar skillnaderna mellan vattensystemen och mellan friska och sjuka individer är ännu inte utrett.

Figur 4. Principalkomponentanalys (PCA) av metabolomdata från alla laxar provtagna i de fem vattensystemen under 2018. PCA:n visar separationen med avseende på vattensystem (illustreras med olika färger).



Figur 5. PCA av metabolomdata från laxar provtagna i Umeälven 2018. PCA:n visar separation med avseende på förekomst av svampinfektion. Gröna punkter representerar laxar utan svamp, blå punkter representerar laxar med svamp.



Utvärdering av vandringsframgång hos tiaminbehandlad vuxen lax i Umeälvens nedre del

Totalt märktes 116 Vindelälvsloxar, varav 48 honor och 68 hanar.

Försöksgruppen bestod av 62 grils och 54 MSW-laxar (Multiple Sea Winters=minst två havsvintrar). Genetikanalyserna visade att cirka 20 % av de laxar som märktes hade annat ursprung än Vindelälven, och dessa har uteslutits i resultatredovisningen. Laxarna som hanterades i samband med märkningen tycktes vara i god kondition och ingen individ uppvisade symptom på utmattning (vinglare). Däremot hade ca 15 % av laxarna rodnade fenor/fenbaser, vilket kan vara ett tecken på begynnande hudinfektion.

Tiaminbehandlingen hade signifikant positiv effekt vid test av samtliga individer oberoende av kön och kategori (**Tabell 14**). Uppdelat på kön hade tiaminbehandlingen en positiv effekt på honorna, men inte på hanarna. Signifikant fler tiaminbehandlade grils registrerades i fisktrappan jämfört med obehandlad grils, men bland MSW lax gav behandlingen ingen effekt. Den positiva effekten av behandling för honor gäller således endast för grils eftersom inte en enda MSW-hona med tiaminbehandling vandrade hela vägen till fisktrappan. Båda gruppernas vandringstider sträckte sig från 21 dygn till 49 dygn och medel var 38 dygn i kontrollgruppen och 35 dygn i tiamingruppen.

Tabell 14. Tiaminbehandlingen hade signifikant effekt på de små honornas vandringsframgång, medan de större flervintriga laxarna (MSW) inte gynnades av behandlingen. Vandringsframgången räknades som den andel av de märkta som registrerades i fisktrappan i Norrfors, ca 30 km uppströms Umeälvens mynningen.

Grupp	Utan tiaminbehandling					Med tiaminbehandling					P
	Antal märkta	Upp ^a	Andel upp ^b	Längd (cm)	s.d. ^c (längd)	Antal märkta	Upp ^a	Andel upp ^b	Längd (cm)	s.d. ^c (längd)	
Alla	58	5	9%	77	15.4	58	11	19%	70	12.5	<0.05
Honor	25	2	8%	81	13.2	23	6	26%	75	13.2	<0.05
Hanar	33	3	9%	74	16.6	35	5	14%	66	11.0	n.s. ^d
Grills (<70 cm)	24	3	13%	61	4.1	38	11	29%	61	3.2	0.05
MSW (≥70 cm)	34	2	6%	88	8.7	20	0	0%	86	4.9	n.s. ^d

^a Upp=passerat Norrfors; ^b Andel upp=vandringsframgång, andel märkta i respektive grupp som passerat Norrfors; ^c s.d.=standardavvikelse; ^d n.s.=inte signifikant

DISKUSSION

Situationen i vattendragen

Generellt var juli 2018 mycket varm och torr, vilket påverkade många fiskpopulationer, inte bara laxarna. I Mörrumsån var vattenföringen mycket låg under 2018 och det var generellt lite laxfisk i ån. Det är möjligt att situationen upplevdes som värre än den var på grund av de låga vattenflödena, då sjuk/död lax var mer synlig än vid normal vattenföring. Men det kan också vara så att det var en stor andel av det fåtal laxar som kom upp som insjuknat och dött. Sjukdomsläget under 2018 är därför svår att relatera till tidigare år. I Umeälven sågs som föregående år en hög sjuklighet och dödlighet, som började innan vattentemperaturerna stigit till onormala nivåer. Antalet rapporter som kom från Umeälven och Torneälven ökade 2018 men det är svårt att relatera detta till sjukdomssituationen då synligheten av död fisk påverkar mängden rapporter som kommer in. Samma sak gäller för Mörrumsån där en drastisk sänkning av antalet rapporter skedde 2018, men det är oklart om det är relaterat till sjuklighet, extremt lite fisk eller ett ökat ointresse att rapportera. För att rapportportalen ska vara ett effektivt verktyg inom övervakningen av fiskhälsoläget behövs hjälp med informationsspridning på bred front. Ett exempel på spridning är via den Sverigegemensamma laxportal som med hjälp av medel från HaV planeras och utvecklas som ett stöd för svensk laxförvaltning.

En av laxarna som rapporterades via portalen misstänktes ha dött av utmattning efter C & R. Det bör påpekas att C & R som utförs på ett varsamt sätt (till exempel hantera fisken i vattnet istället för att ta upp den på land för avkrokning och fotografering) ger fisken goda möjligheter att återhämta sig om miljön fisken lever i är bra. Rapporten kom in i den varmaste perioden, och när vattentemperaturerna är höga är fisken naturligt stressad av temperaturen och av minskade syrehalter i vattnet. Även en varsam C & R-fiskare kan då påverka fisken så negativt att den inte överlever. Flera vattendrag valde att stänga sitt fiske under den varmaste perioden under 2018 för att skona fisken.

Provtagningar

Förutom att det var så dåligt med fisk i Mörrumsån att provtagningskvoten inte kunde uppfyllas, noterades inte något markant avseende Mörrumlaxarna. De fyra laxar som kunde provtas var i mycket bättre skick än de som provtogs 2016. I Torneälven var laxarna enligt förväntan i bra skick och i Umeälven enligt förväntan i dåligt skick. Laxarna i Umeälven var till och med så dåliga att när trappan tömdes för att de skulle simma ner till lägsta nivån där de skulle fångas hände ingenting, utan en person fick gå uppifrån och ner och slussa ner fisken. Flera fiskar hann dö i det syresatta förvaringskaret innan provtagning kunde genomföras och de fick ersättas med nya fiskar. Indalsälven hade inga problem utan blev en sent provtagen referenslokal. I Lagan, som skulle agera referenslokal för Västkuststammarna, förekom liksom de senaste åren svamp på fisken under hösten och en del av de provtagna fiskarna var därför infekterade.

Utöver observationerna av svamp, hudblödningar och UDN-liknande hudnekroser i Umeälven var det få sjukliga förändringar som bedömdes som allvarliga och framför allt orsakade av sjukdom och inte trauma. I Indalsälven noterades en del huderosioner som sannolikt var mekaniskt orsakade. En fisk hade stångat mot något och hade en allvarlig fraktur i överkäken. Denna skulle möjligen ha kunnat leda till sekundär sjukdom och dödlighet, men var inte relevant i våra undersökningar.

Få inre fynd bedömdes som relevanta för projektet. Synliga blödningar i levern var det som bedömdes som mest relevant. Förändringar som noterades på mjälte (oregelbunden stasning så det stod upp "bubblor" från ytan samt skrovlig och torr yta) kunde avfärdas som bifynd efter histopatologisk bedömning. I Laganlaxarna noterades en del förekomst av parasiten *Anisakis simplex* på mage-tarm och lever. Laxen kan agera mellanvärd för parasiten (huvudvärden är tumlare) och infektionen kan även yttra sig som Red vent syndrome (RVS), där analöppningen rodnar och svullnar upp. Ett flertal rapporter avseende RVS har kommit in från västkustvattendrag till rapportportalen de senaste två åren. *Anisakis simplex* är dock bara ett bifynd i laxen. Mer intressant är den börda av bandmask (*Eubotrium* sp.) som fiskarna bar på. Bandmasken lever i tarmen och tar via sin kroppsvägg upp näring från tarminnehållet. En stor börda av bandmask kan därför påverka fiskens näringsupptag av till exempel olika vitaminer, och det blir intressant att se om metabolomiken kan koppla graden av bandmaskbörda till förhöjda eller sänkta värden av några metabola parametrar. Det är oklart om förekomsten av bandmask i laxar har ökat på senare år och även om den har gjort det är det sannolikt inte en av de sjukdomsorsakande faktorer vi letar efter. Däremot kan bandmasken antagligen bidra till en minskad motståndskraft hos fisken eftersom den påverkar näringsupptaget.

Då både honor och hanar provtogs, samt lax på de olika lokalerna var i olika mognadsfaser avseende lek, drogs gonadvikt av från den totala vikten innan beräkningar gjordes. Histopatologi och många övriga analyser gjordes på alla fiskar, men eftersom flera av de biomarkörer som använts är könsspecifika och vi inte fick ett komplett material av hanar har vi valt att endast presentera biomarkörsresultaten från de provtagna honorna i rapporten.

Histopatologi

Levervakuolisering ger ett mått på näringsupplagring, då levern lagrar fetter och glykogen i vakuoler i levercellernas cytoplasma. Förekomst av vakuoler är därför normalt och både avsaknad av vakuoler och extremt kraftig vakuolisering kan vara sjuklig. Graden av vakuolisering styrs bland annat av säsong (födottillgång) och reproduktionsstatus. Att fiskarna i Indalsälven och Lagan hade en mycket låg grad av vakuolisering är inget konstigt, då de inte ätit sedan tidig vår och dessutom (honorna) hunnit utnyttja mycket av sina näringslager till att producera rom. Mer bekymrande är de laxar som trots relativt tidig säsong uppvisade dålig näringsupplagring. Ingen lax uppvisade fettlever även om tendenser till förfettning sågs hos vissa laxar. Graden av inflammation var inte allvarlig och likaså bedömdes inte degenerativa förändringar som allvarliga.

Fiskar har förmågan att bilda nya nefron även som vuxna. En hög andel nybildade nefron tyder på att njuren varit utsatt för någon skada som påverkat befintliga nefron. Andelen skadade/degenererade glomeruli kunde inte relateras till grad av regeneration. Njuren har en stor överkapacitet och graden av degeneration var ofta lindrig till måttlig. Därmed kanske inte njurfunktionen avtagit så mycket att en kraftig nybildning av nefron behövdes.

Neutrofiler och monocyter/makrofager ingår i det medfödda immunförsvaret och "städar" genom att äta upp främmande föremål som bakterier och skräp som kommer ut i blodet eller i vävnaden. Monocyter/makrofager kan också presentera antigener för lymfocyter för att stimulera antikroppsproduktion. Neutrofiler kan öka akut i blodet vid stress, eller vid till exempel en akut bakterieinfektion men en ökad mängd neutrofiler (neutrofil) kan också vara ett specifikt tecken på inflammation. Monocytos (ökad mängd monocyter/makrofager) ses vid kroniska inflammationstillstånd. Merparten av de provtagna laxarna hade en relativ monocytos (dvs. andelen monocyter/makrofager av vita blodkroppar var högre än normalt) men då inte buffy coat (det lager som innehåller vita blodkroppar efter centrifugering av blodprov) mätts går det inte att avgöra huruvida absolut monocytos förelåg. Eftersom andelen monocyter/makrofager var förhöjd kan vi dock misstänka att någon långdragen inflammatorisk process pågår i laxarna. Fyra individer bedömdes ha minskat antal vita blodkroppar, då det tog minst 3 – 4 gånger så lång tid att räkna till 100 st som i de övriga blodutstryken.

Intressant nog förekom en synbar vattensystemsbunden regeneration av röda blodkroppar, då sådana observerades hos alla utom en av Torneälvsaxarna. Regeneration av röda blodkroppar förekommer ständigt, då de har en kort livstid, men under normala förhållanden ska inte mer än enstaka omogna stadier observeras i blodet. En naturlig ökning av nybildning sker till exempel efter större blödningar och vid tillstånd där röda blodkroppar förstörs i onormal mängd (till exempel förgiftningar, vissa virusinfektioner). Laxarna visade inga tecken på allvarligt trauma eller infektion, och orsaken till den ökade nybildningen är oklar. Vid en tillbakablick på data från undersökningarna 2016 konstaterades att även då förekom en ökad grad av regeneration av röda blodkroppar hos laxar i området (41,7 % av laxarna provtagna i Torneälven och 67 % av fiskarna provtagna ute vid Seskarö i Haparanda skärgård).

Svamp

Det var en stor missräkning att svampisolaten inte slutgiltigt kunde artbestämmas. Att deponerade referensstammar inte alltid är korrekt artidentifierade finns väl beskrivet (Sandoval-Sierra et al., 2013). Det har inte funnits tid och medel för att inom projektet gå vidare och identifiera om det är de inköpta referens-stammarna eller de sekvenser som används av Rocchi et al. (2017) som är rätt karakteriserade. Vi behöver därför gå vidare med dels ITS-sekvensering enligt Thoen et al., 2015, dels med COI barcoding-metoder (enligt BOLD <http://boldsystems.org/>), för att säkert artbestämma de inköpta referensstammarna. Först därefter kan våra egna resultat utvärderas.

Biomarkörer

Det är i dagsläget svårt att klargöra varför EROD-aktiviteten i laxarna från Torneälven är höga i jämförelse med de andra vattensystemen. Fiskarna från Indalsälven och Lagan, som provtogs närmare könsmognad, visade tvärtom mycket låga EROD-aktiviteter. Det är känt att östrogen, som ökar i halt i vid honlig könsmognad, har en negativ effekt på genuttrycket av CYP1a, vilket leder till lägre EROD-aktiviteter (Navas & Segner, 2001). Skillnaderna i könsmognadsstadium hos dessa laxar är även tydligt genom det högre GSI som ses hos framför allt Lagan-laxarna (**Tabell 4**).

Analys av fritt och totalt sköldkörtelhormon, både T₃ o T₄, visar att fiskarna provtagna i Torneälven har mycket högre koncentration T₃, både fritt och totalt. Högre koncentrationer av fritt och totalt T₄ uppmättes i fiskarna från Umeå (**Tabell 11**). T₄ är den huvudsakliga formen av sköldkörtelhormon som utsöndras från sköldkörteln. T₄ som är den inaktiva formen metaboliseras därefter till den aktiva formen T₃ ute i vävnaden. Metabolismen sköts av en rad olika deiodinaser, enzymer vars genuttryck kan påverkas av olika miljögifter. Förändringar i sköldkörtelhormonbalans kan bero på en rad olika faktorer som kan vara kopplade till sjukdomsbild eller miljöpåverkan. För att vidare studera orsaken till skillnader i sköldkörtelhormonhalter bör man studera genuttrycket av T₃- och T₄-metaboliserande proteiner som till exempel deiodinas 1, 2 och 3.

De blodparametrar som analyserats visar att laxarna från Umeälven var mer stressade med högre andel röda blodkroppar (högre Htk) med motsvarande ökning av hemoglobinnehåll (**Tabell 8**). I Umeå uppvisade fiskarna även högre koncentrationer glukos i plasman. Detta kan tyda på en störd blodsockerbalans vilket kan bero på störd insulin-/glukagon-reglering. Tidigare studier har visat att glukoshalter är högre i fiskar som lever i förorenade vatten, tex sjöar med höga PFAS halter (opublicerat material). För att vidare studera orsaken till rubbade blodsockerbalanser bör man analysera hormonsystem som upprätthåller en korrekt blodsockerbalans i fisken, dvs insulin och glukagon. Detta kommer att göras så fort lämplig metodologi har hittats.

Antioxidantenzymerna GR, GST och CAT mättes för att utvärdera om oxidativ stress, på grund av ökad produktion av reaktiva syresorter (ROS), var en bakomliggande orsak till de observerade sjukdomstillstånden. Inga större skillnader observerades i antioxidantaktivitet t, förutom lägre katalasaktivitet i fiskarna från Indalsälven, mellan de studerade stationerna vilket indikerar att oxidativ stress inte är ett större problem (**Tabell 10**). En organisms försvar mot ROS är dock också beroende på halten av molekylära antioxidanter i

organismen. Astaxantin är en de mest kraftfulla naturliga antioxidanterna man känner till och den ligger något lågt (dock ej signifikant) hos laxarna i Umeälven, som däremot har höga retinol/vitamin A-värden jämfört med övriga lokaler. En låg exponering av ROS kan leda till oxidativa skador i en organism utan att signifikant påverka det enzymatiska antioxidantförsvaret. Oxidativa skador som protein- och fettoxidation kommer att mätas under våren. Även halten och balansen av antioxidanten glutation kommer att analyseras. Det kommer förhoppningsvis ge information om betydelsen av oxidativ stress i de sjuka fiskarna.

Acetylkolinesteras (AChE) är ett enzym inblandat i nervsignalering genom att den bryter ner neurotransmittorn acetylkolin. En inhibition av enzymet leder till ökad nervsignalering med överstimulering av nerver som följd. Ett flertal insekticider kan binda till enzymet och inhibera det och AChE-inhibition är en väletablerad biomarkör för neurotoxicitet. AChE aktivitet mättes i både muskel och hjärnvävnad men inga större förändringar detekterades, förutom en högre ACh-aktivitet i muskel från laxarna i Lagan, på den svenska västkusten.

Biomarkörsanalyserna visade inte på stora skillnader mellan stationerna. Eftersom skillnader i plasmajoner sågs mellan svampinfekterade och icke svampinfekterade laxar kommer fördjupade korrelationer att göras för att se om fler biomarkörer korrelerar med sjukdomsbild. Fördjupade korrelationer kommer även att göras mellan sjukdomstillstånd och fiskarnas plasmametabolom. En förändring i plasmajonhalter är att förvänta när laxarna blir svampinfekterade, då svampen förstör den barriär som huden utgör mot vattnet. Eftersom fisken är saltare än vattnet kommer vatten att börja läcka in i fisken (osmos). Fisken hinner inte göra sig av med vattnet utan kroppsvätskorna späds ut och så småningom leder det till döden.

Metabolomikstudier ingick inte i projektplanen men dessa analyser utfördes ändå som ett resultat av ett påbörjat samarbete mellan forskare på GU och personal på NMR-centrum GU. Det ansågs värdefullt att inkludera en bred hypotesgenererande analys eftersom de bakomliggande orsakerna till sjukdomstillstånden med all sannorlikhet är komplexa. Arbetet med metabolom-data kommer fortsätta under våren och förhoppningsvis kommer intressanta metaboliter att identifieras och ge ytterligare ledtrådar till varför laxarna blir sjuka.

Vitamin- och antioxidanthalter

Inga referensvärden har hittats för vad som kan anses vara normala/tillräckliga halter av karotenoider, astaxantin, vitamin A, retinol och α -tokoferol i laxmuskulatur för att individen ska fungera normalt. Laxen i Östersjön är blek i köttet jämfört med Atlantlax från västkusten/Norge och eftersom astaxantin är det färgämne som ger köttet sin röda färg har Östersjöaxarna uppenbart en brist jämfört med sina västliga artfränder. I en studie där man undersökte dynamiken hos karotenoider fann man en muskelmättnad på 5 - 6 $\mu\text{g/g}$ astaxantin (Rajasingh et al., 2006) vilket är 6 - 7 gånger så höga halter som i denna undersökning. Astaxantin är en av de kraftigaste antioxidanterna man känner till och spelar en viktig roll i utvecklingen av M74 (Pettersson & Lignell, 1999). Även låga halter av α -tokoferol har kopplats till utvecklingen av M74 och oxidativ stress bedöms kunna vara en orsak till utveckling av syndromet (Vuori

& Nikinmaa, 2007). Eftersom laxarna under lekmognad överför karotenoider till hud och gonader borde muskelvärdena på fiskar provtagna sent under säsongen (Lagan, men även Indalsälven där all lax var färgad) vara lägre än hos laxarna provtagna under sommaren. En klart minskad halt av vitamin A, retinol och α -tokoferol sågs hos honorna från Lagan, medan halterna av astaxantin och karotenoider totalt inte var påverkade. Astaxantinvärdena är dock svåra att utvärdera, då dessa honor sannolikt haft tillgång till mer astaxantin genom födan, och därmed borde ligga högre i värde jämfört med de andra provtagna vattensystemen givet att alla provtagningar skedde vid ungefär samma tidpunkt i lekmognaden. För rom finns referensvärden avseende astaxantin, men tyvärr har inte rommen kunnat analyseras.

Amcoff et al. (1999) rapporterar värden på 6,2 – 12 nmol/g tiamin i lever på normala vuxna vilda laxar och 4,2 – 4,7 nmol/g tiamin i vinglare. Det är oklart om värdena gäller total eller fritt tiamin. Alla laxar provtagna inom detta projekt låg över det nedre ”normala” värdet (6,2 nmol/g), med ett minsta mätvärde på 7,8 nmol/g. Det är inte någon garanti för att halterna är tillräckliga för att individen ska fungera normalt (extrapolerat minimivärde för totaltiamin finns för muskel men inte för lever i Balk et al., 2016). De lägsta tiaminvärdena i lever uppmättes hos honorna i Lagan, vilket är naturligt då de fört över mycket av sina resurser till rommen. Tyvärr mättes inte tiamin i rom från dessa honor. Den låga halten av fritt tiamin i lever hos laxarna från Umeälven skulle kunna bero på att de är sjuka och förbrukar tiamin i högre grad än normalt. Halten av TDP, det tiaminderivat som agerar som co-enzym i kroppen var i nivå med mätningarna från övriga vattensystem. Eftersom totalhalten av tiamin inte var lägre hos laxarna i Umeälven än hos laxarna i Mörrumsån och Torneälven tyder det på att tiaminbrist inte är den drivande faktorn till sjukligheten. Då borde övriga vattendrag vara drabbade i lika stor grad. Möjligen kan miljöfaktorer som hydroxylerade polybromerade difenyletrar, som kan blockera tiamin i kroppens celler, vara inblandat. Då får individen en relativ tiaminbrist eftersom tiaminet inte kan utnyttjas. Materialet kommer att undersökas för dessa substanser under 2019.

Tiaminhalten i rom var över tröskelvärdet för yngeldödlighet, men flertalet prover hade suboptimala halter med avseende på yngelutveckling. Det bör dock noteras att alla prover som analyserats tagits från icke lekmogna honor. Även om honorna i Indalsälven närmade sig lek hade de fortfarande 1,5 – 2 månader på sig att föra över tiamin och andra näringsämnen till rommen.

Utvärdering av vandringsframgång hos tiaminbehandlad vuxen lax i Umeälvens nedre del

Bortsett från hälsoproblemen var förutsättningarna mycket goda för att kunna nå hög vandringsframgång 2018 eftersom andelen vatten som passerade genom kraftverket var mycket lågt denna sommar. Det enda hindret för frisk fisk torde varit det varma vattnet under juli månad, men från och med början på augusti sjönk temperaturen och vandrigen tog fart på nytt. Grilsen vandrade dock aktivt hela sommaren, trots den höga värmen.

Vandringstiden från mynningen till fisktrappan i Norrfors skulle också kunna ge en indikation på hälsostatusen, men det fåtal individer som tog sig till fisktrappan gör en sådan jämförelse osäker. Under tidigare år med uppföljning

av vandringsframgång har vandrigen tagit 30 – 40 dagar, vilket är i paritet med den genomsnittliga vandrings tiden hos de fåtal märkta laxar som tog sig till Norrfors. De åtgärder som gjorts i den gamla älvfåran (vid Baggböle) för att underlätta laxvandringen de senaste 10 åren och nu senast 2016 borde dock ge vandrings tider kring max två – tre veckor för frisk fisk och vid normala vattentemperaturer. Som jämförelse var vandringsframgången i denna studie en sjättedel av den som uppmättes 2013 (Leonardsson et al., 2013) med samma metodik. Tiaminbehandlingarna förbättrade uppvandringen något men vandringsframgången 2013 var ändå tre gånger så hög jämfört med vandringsframgången för de laxar som tiaminbehandlades 2018. Sammantaget visar detta att laxarnas kondition inte är vad den skulle kunna vara och frånvaron av tydligt resultat av tiaminbehandlingarna antyder att det inte enbart är tiaminbrist som laxarna lider av. Även den mycket låga vandringsframgången (2 %) som uppmättes för lax i början av säsongen 2014 antyder att det är något annat än tiaminbrist som spökar eftersom avkomman i odlingen påföljande år uppvisade 0 % M74.

SLUTSATS OCH FORTSÄTTNING

Sammantaget visar resultaten från biomarkörstudierna att laxarna troligtvis inte har varit påverkade av miljögifter i någon större stor utsträckning. Ett undantag är de höga EROD-värdena och nybildningen av röda blodkroppar i fiskarna från Torneälven, vilket bör undersökas vidare. Dessutom visar resultaten att det kan finnas en påverkan på endokrina system med förhöjda glukosvärden i laxarna från Umeälven samt förändrade halter av sköldkörtelhormoner i laxarna från Torneälven och Umeälven. Utöver de parametrar som redan analyserats kommer markörer för oxidativa skador att analyseras under våren och genuttrycket av flera enzymer involverade i T3- o T4-metabolismen att mätas. Parallellt med det kommer biomarkördatabaser att korreleras med de sjukdomsindex som tagits fram samt metabolomdata med syfte att studera vilka fysiologiska system som är påverkade i sjuka laxar.

Tiaminförsöken och tiamindata som är lika mellan de olika vattendragen tyder på att tiaminbrist inte kan vara ensam orsak till problemen. SU kommer att genomföra analyser avseende hydroxylerade polybromerade difenyletrar under 2019, vilket kan ge svaret på om dessa substanser blockerar laxarnas möjlighet att utnyttja tiamin som finns i cellerna. Även SLU kommer att påbörja ytterligare analyser med inriktning på olika miljöfaktorer utifrån det material som har bankats inom projektet.

Med den informationen som genereras genom dessa analyser kan vi komma ett eller flera steg närmare att förstå varför laxarna i Östersjön, och även på västkusten, uppvisar de beskrivna sjukdomstillstånden.

SVA har inom ICES WGPDMO (working group on pathogens and diseases of marine organisms) ansvar för en treårig arbetscykel avseende Östersjö laxens hälsoläge kommer innan utgången av mars lämna in en rapport om vad som är känt om laxens hälsoläge.

GU ska lämna in en liknande rapport som den som ska till ICES till HaV i mitten av april.

SVA avser att fortsätta med rapportportalen och vill utveckla en generell övervakning av vildfisk i Sverige. Här är laxhälsan en viktig del.

Fabian Weichert kommer i juni 2019 presentera sitt examensarbete i ekotoxikologi där fördjupade korrelationer mellan sjukdomstillstånd och biomarkörer kommer ingå. Dessutom presenteras en utökad metabolom analys.

DELTAGARE

I planering, provtagningar och analyser har deltagit: Charlotte Axén, Johan Lundgren och Sara Johansson, SVA; Lars Förllin, Jari Parkkonen, Joachim Sturve och Fabian Weichert, GU. I tiaminförsöket har deltagit: Linda Vikström, Annika Holmgren, och Sam Shry, SLU vilt, fisk, miljö Umeå.

Rapporten har sammanställts av Charlotte Axén, SVA; Joachim Sturve och Fabian Weichert, GU; Kjell Leonardsson, Gustav Hellström och Anders Alanära, SLU vilt, fisk, miljö.

Författarna vill rikta ett stort tack till dem som hjälpt till med logistik kring provtagningar och försök: personal på Sveaskog/Mörrums kronolaxfiske, Vattenfall AB i Umeå och Bergforsen, Statkraft i Lagan, lokalbefolkningen vid Hedenäset/Risudden i Tornedalen som ordnat det så bra innan och under provtagningarna i Torneälven samt yrkesfiskarna Nils-Erik Sjöström och Olle Bäckström från Obbola, som deltog i laxmärkning och tiaminförsök. Ett extra varmt tack till Nils-Erik Sjöström vars laxryssja, båtar och laxfångst vi fick tillgång för laxmärkningen. Dessutom ett stort tack till personalen på Roukavirasto och Skånes universitetssjukhus, som varit behjälpliga med analyser.

REFERENSER

- Aebi, H. (1974). Catalase. I: Methods of Enzymatic Analysis, vol 2. Andra utgåvan, Bergmeyer, H. (red), Academic Press, Inc. New York and London. DOI: 10.1016/B978-0-12-091302-2.50032-3.
- Amcoff, P., Börjesson, H., Landergren, P., Vallin, L., Norrgren, L. (1999). Thiamine (Vitamin B1) concentrations in salmon (*Salmo salar*), Bown trout (*Salmo trutta*) and Cod (*Gadus morhua*) from the Baltic sea. *Ambio* 28(1), 48-54.
- Balk, L., Hägerroth, P.Å., Gustavsson, H., Sigg, L., Åkerman, G., Ruiz Muñoz, Y., Honeyfield, D.C., Tjärnlund, U., Oliveira, K., Ström, K., McCormick, S.D., Karlsson, S., Ström, M., van Manen, M., Berg, A.L., Halldórsson, H.P., Strömquist, J., Collier, T.K., Börjeson, H., Mörner, T., Hansson, T. (2016). Widespread episodic thiamine deficiency in Northern Hemisphere wildlife. *Scientific reports* 6:3882
- Cribb, A.E., Leeder, J.S., Spielberg, S.P. (1989). Use of a microplate reader in an assay of glutathione reductase using 5, 5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid). *Analyt Biochem* 183(1), 195-196.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres Jr, V., Featherstone, R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 7(2), 88-95.
- Förlin, L., Goksøyr, A., Husøy, A. (1994). Cytochrome P450 monooxygenase as indicator of PCB/dioxin like compounds in fish. I: Biomonitoring of Coastal Waters and Estuaries. Kramer, K. (red.), CRC, Boca Raton, FL, USA.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B. (1974). Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 249(22), 7130-7139.
- Kommissionens förordning (EG) nr 152/2009 av den 27 januari 2009 om provtagnings- och analysmetoder för offentlig kontroll av foder, *BILAGA IV* Analysmetoder för kontroll av halten godkända fodertillsatser, A. Bestämning av vitamin A, B. Bestämning av vitamin E. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SV/TXT/PDF/?uri=CELEX:02009R0152-20140717&from=HU>
- Leonardsson, K., Karlsson, R., Nilsson, J. & H. Lundqvist. 2013. Uppströmsvandring i den restaurerade gamla älvfåran samt funktionskontroll av ny fisktrappa i Norrfors (Umeälven) under laxens vandringsäsong 2012-2013. Sveriges Lantbruksuniversitet, Institutionen för vilt, fisk och miljö, Umeå, Rapport 7.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193(1), 265-275.
- Luke 1, Finska naturresursinstitutet: <https://www.luke.fi/sv/om-naturresurser/fiskar-och-fiskerinarig/fiskresurserna/lax/laxen-i-torne-alv/>
- Luke 2, Finska naturresursinstitutet: <https://www.luke.fi/sv/om-naturresurser/fiskar-och-fiskerinarig/fiskresurserna/lax/uppfoljning-av-vandringslax-i-torne-och-simo-alvar/>
- Mumford, S., Heidel, J., Smith, C., Morrison, J., MacConnell, B., Blazer, V. (2007). Fish Histology and Histopathology Manual. U.S. Fish & Wildlife Service, National Conservation Training Centre. https://nctc.fws.gov/resources/course-resources/fish-histology/Fish_Histology_Manual_v4.pdf

- Navas J.M., Segner H. Estrogen-mediated suppression of cytochrome P4501A (CYP1A) expression in rainbow trout hepatocytes: role of estrogen receptor. *Chem Biol Interact* 2001 138(3), 285-98.
- Pettersson, A., Lignell, Å. (1999). Astaxanthin deficiency in eggs and fry of Baltic salmon (*Salmo salar*) with the M74 syndrome. *Ambio* 28:43-47
- Rajasingh, H., Øyehaug, L., Våge, D.I., Omholt, S.W. (2006). Carotenoid dynamics in Atlantic salmon. *BMC Biol* 4: 10.
- Rocchi, S., Tisserant, M., Valot, B., Laboissière, A., Frossard, V., Reboux, G. (2017). Quantification of *Saprolegnia parasitica* in river water using real-time quantitative PCR: from massive fish mortality to tap drinking water. *Int J Environ Health Res* 27(1),1-10.
- Sandoval-Sierra, J.V., Martín, M.P., Diéguez-Uribeondo, J. (2014). Species identification in the genus *Saprolegnia* (Oomycetes): Defining DNA-based molecular operational taxonomic units. *Fungal Biol* 1118, 559-578
- Schierle, J., Frey, C., Riegert, V. (2014). Determination of CAROPHYLL® Pink Astaxanthin in Dilutions, Premixes and Fish Feeds, Version 1.8 (21.05.2014), DSM Nutritional Products.
- Smith, I.K., Vierheller, T.L., Thorne, C.A. (1988). Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5, 5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid). *Analyt Biochem* 175(2), 408-413.
- Statens veterinärmedicinska anstalt, 2017. Sjuklighet och dödlighet i svenska laxälvar under 2014 – 2016.
https://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/om_sva/publikationer/rapport-laxdoden-2016.pdf
- Statens veterinärmedicinska anstalt och Evira, 2017. Laxdöden i Torneälven 2014 – 2016.
https://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/om_sva/publikationer/laxdoden-tornealv-2014-2016.pdf
- Stephensen, E., Sturve, J., Förlin, L. (2002). Effects of redox cycling compounds on glutathione content and activity of glutathione-related enzymes in rainbow trout liver. *Comp Biochem Physiol Part C: Toxicol Pharmacol* 13(3), 435-442.
- Thoen, E., Vrålstad, T., Rolén, E., Kristensen, R., Evensen, Ø., Skaar, I. (2015). *Saprolegnia* species in Norwegian salmon hatcheries: field survey identifies *S. diclina* sub-clade IIIB as the dominating taxon. *Dis Aquat Org* 114(3), 189-198.
- Vuori, K.A.M, Nikinmaa, M. (2007). M74 syndrome in Baltic salmon and the possible role of oxidative stresses in its development: present knowledge and perspectives for future studies. *Ambio* 36(2-3), 168-172.
- Vuorinen, P.J., Parmanne, R., Vartiainen, T., Keinänen, M., Kiviranta, H., Kotovuori, O., Halling, F. (2002). PCDD, PCDF, PCB and thiamine in Baltic herring (*Clupea harengus* L.) and sprat [*Sprattus sprattus* (L.)] as a background to the M74 syndrome of Baltic salmon (*Salmo salar* L.). *ICES J Mar Sci* 59 (3), 480-496.

BILAGA 1. METODER ANVÄNDA AV GU FÖR ATT ANALYSERA PARAMETRAR I BLOD OCH VÄVNADER

Analyser i blod/plasma

1. Hemolysgrad

För att bestämma hemolysgraden i plasmaproverna skapades en standardkurva för korrelationen mellan procent lyserade röda blodkroppar och det resulterande innehållet av hemoglobin. Detta gjordes för att normalisera plasmaproverna inför metabolomik-analysen. Standardkurvan skapades med hjälp av blodprover (helblod) från laxarna provtagna i Lagan. Blodet förvarades vid 2 – 4°C tills analys genomfördes fem dagar senare. Blodet centrifugerades under samma förhållande som blodproverna som centrifugerades i samband med provtagning (5 000 x g, 2 min). Plasman och de röda blodkropparna poolades separat och röda blodkroppar lyserades med en ultraljuds-homogenisator (Digital Sonifier 450 Ultrasonic Cell Disruptor/Homogenizer with model 102C Sonicator, Branson Ultrasonics Corporation, Danbury, CT, USA). Därefter delades plasman upp i fem injektionsflaskor och lyserade röda blodkroppar tillsattes för att skapa en spädningsserie på 0,0; 2,5; 5,0; 7,5 och 10 % röda blodkroppar i plasma. Varje spädningsslag delades i triplikat och hemoglobinhalten mättes med en spektrofotometer (NanoDrop™2000c, Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA) vid våglängden 541 nm.

2. Tyroideahormoner

Trijodtyronin (T3) och tyroxin (T4) i plasma mättes av avdelningen för klinisk kemi vid Skånes universitetssjukhus, Malmö, med metodologi tillhandahållen av cobas® systems, Roche (F. Hoffmann-La Roche AG, Basel, Switzerland). Vid GU tinades portioner av plasma på is, överfördes till plasmaseparationsrör och frystes om på torris för transport till Malmö. Före analys tinades proverna och centrifugerades vid 2000 x g, 10 min. Alla hormoner bestämdes med en elektrokemiluminescens-immunoassay (ECLIA), baserad på elektrokemiluminescensen hos rutenium-derivat.

2.1 Trijodtyronin (T3)

Plasmaproverna inkuberades med rutenium-inmärkt T3-specifika monoklonala antikroppar. Därefter tillsattes biotin-inmärkt T3 och streptavidin-täckta mikropartiklar. I en kompetitiv reaktion bands biotin-inmärkt T3 till fria bindingsställen på de rutenium-inmärkt antikropparna. Antikroppskomplexen (med biotin-inmärkt T3) bands till de streptavidintäckta mikropartiklarna för att skapa elektrokemiluminescens mätt med en realtids-elektrod. Luminiscensens intensitet är inverterat proportionell mot den fria T3-koncentrationen i provet.

Totalhalt T3 bestämdes med samma metodologi som för mätning av fritt T3, med skillnaden att 1) proven behandlades med 8-anilinaftalen-1-sulfonsyra för att frisätta bundet T3 från de proteiner de är bundna till, och 2) de rutenium-inmärkt T3-specifika antikropparna var polyklonala.

2.2 Tyroxin (T4)

Total och fritt T4 mättes med samma metodologi som T3, med skillnaden att polyklonala T4-specifika rutenium-inmärkt antikroppar användes för mätning av både total och fritt T4.

3. *Acetylkolinesteras*

Aktivitet av acetylkolinesteras (AChE) bestämdes i S10-fraktionerna för muskel och hjärna enligt en modifierad version av Ellman et al. (1961). Kortfattat inkuberades triplikat av fraktionerna i 0,58 mM 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoesyra) (DTNB)-lösning 5 min i en 96-hålsplatta. Därefter tillsattes 25 mM acetylthiocholine-jodlösning och absorbansen mättes var 11 sekund under totalt tre minuter vid våglängden 415 nm (SpectraMax® 190 Microplate Reader, Molecular Devices, San José, CA, USA). AChE-aktiviteten beräknades med en absorptionskoefficient $\epsilon = 14\ 150\ \text{M}^{-1}\ \text{cm}^{-1}$ för TNB och normaliserades mot vardera provs proteinkoncentration.

4. *Katalas*

För att bedöma leverns katalasaktivitet späddes S100-fraktionen (1:20) i en 0,08 M kaliumfosfatbuffert. Triplikat inkuberades med i 1,5 mM väteperoxidlösning i en 96-hålsplatta. Absorbansen mättes var 12 sekund under totalt en minut vid våglängden 240 nm (SpectraMax® 190 Microplate Reader, Molecular Devices, San José, CA, USA). Katalasaktiviteten beräknades med en absorptionskoefficient $\epsilon = 40\ \text{M}^{-1}\ \text{cm}^{-1}$ för väteperoxid och normaliserades mot vardera provs proteinkoncentration. Proceduren baseras på en metod beskriven av Aebi (1974).

5. *Glutationreduktas*

Glutationreduktas (GR)-aktivitet i levern mättes i S100-fraktioner med en modifierad metod från Smith et al. (1998) och Cribb et al. (1989). Fraktionen späddes 1:10 i standardiserad homogeniseringsbuffert och triplikat av lösningen sattes på 96-hålsplattor. Efter tillsats av en 94 μM DTNB-lösning innehållande 550 μM reducerad nikotinamid-adenin-dinukleotidfosfat (NADPH) substrat, tillsattes en 4 mM oxiderad L-glutation-lösning för att initiera en enzymatisk reaktion. Absorbansen mättes var 11 sekund under tre minuter vid våglängden 415 nm (SpectraMax® 190 Microplate Reader, Molecular Devices, San José, CA, USA). GR-aktiviteten beräknades med en absorptionskoefficient $\epsilon = 14\ 150\ \text{M}^{-1}\ \text{cm}^{-1}$ för TNB och normaliserades mot vardera provs proteinkoncentration.

6. *Glutation S-transferas*

Leverns glutations S-transferas (GST)-aktivitet mättes enligt en metod beskriven av Stephensen et al. (2002), och som har anpassats enligt Habig et al. (1974). Kortfattat tillsattes en substratlösning innehållande 0,98 mM reducerad L-glutation (GSH) och 2mM 1-Kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) till spädda (1:10) S100-fraktioner i en 96-hålsplatta. Absorbansen mättes var 11 sekund under två minuter vid våglängden 350 nm (SpectraMax® 190 Microplate Reader, Molecular Devices, San José, CA, USA). GST-aktiviteten beräknades med en absorptionskoefficient $\epsilon = 9\ 600\ \text{M}^{-1}\ \text{cm}^{-1}$ för CDNB och normaliserades mot vardera provs proteinkoncentration.

7. *7-ethoxyresorufin-O-deetylas (EROD)*

Aktiviten hos biomarkören 7-ethoxyresorufin-O-deetylas (EROD) mättes fluorometriskt Förlin et al. (1994). Den mikrosomala fraktionen från leverprover blandades med EROD-buffert (0,1 M natriumfosfat, pH = 7,6, innehållande 0,5 μM 7-ethoxyresorufin) i en kyvett. Den enzymatiska reaktionen initierades genom tillsats av NADPH och fluorescensen ($\lambda_{\text{excitation}} = 530\ \text{nm}$, $\lambda_{\text{emission}} = 585$

nm) över tid mättes med en fluorescensspektrofotometer (C-60 Lifetime, PTI Inc., Birmingham, NJ, USA). EROD-aktiviteten beräknades gentemot en rhodamine B-standard och vardera provs proteinhalt. Aktiviteten uttrycks i hur mycket resorufin som bildas ($X \text{ pmol resorufin}/(\text{min} \times \text{mg protein})$).

8. Bestämning av proteinkoncentration

Proteinkoncentration bestämdes enligt Lowrys proteinanalysmetod (Lowry et al., 1951). Kortfattat överfördes triplikat av spädda prover till 96-hålsplattor. S10-fraktionen samt mikrosomfraktionen späddes 80 gånger medan cytosolfraktionen späddes 40 gånger. Efter inkubering med reagens (Na_2CO_3 , NaOH , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ and $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 10 min vid rumstemperatur tillsattes Folin–Ciocalteu-reagens för att initiera färgreaktionen. Efter 30 – 45 min inkubation mättes absorbansen mättes vid våglängden 750 nm (SpectraMax® 190 Microplate Reader, Molecular Devices, San José, CA, USA). Värdena korrelerades mot en standardkurva skapad med hjälp av en spädningsserie från en standardlösning av bovint protein (Sigma-Aldrich Sweden AB, Stockholm, PO834).

BILAGA 2. METODBESKRIVNINGAR FÖR VITAMINANALYSER UTFÖRDA VID RUOKAVIRASTO

Tiamin-analyser

Tiamin analyserades med så kallad high-performance liquid chromatography (HPLC) enligt Vuorinen et al. (2002). Kortfattat vägdes ca 0,5 g lever eller rom in och 2,1 mL 2 % trikarboxylsyra (TCA) tillsattes, varefter provet homogeniserades (IKA Euro-Eurostar). Homogeniseringen upprepades med 1,5 mL 10 % TCA och provet inkuberades vid 100°C i 10 min. Efter kylning centrifugerades provet vid 14 000 x g, 15 min och 4°C (Beckman Avanti J-30 I). Supernatanten tvättades fyra gånger med en lika stor volym etylacetat:hexane (3:2) för att få bort orenheter. För att konvertera tiaminkomponenterna (fritt tiamin, TMP och TPP) till motsvarande tiokromer, togs 850 µL supernatant ut och 150 µL 0,1 % kaliumhexacyanoferrat i 1,2 M natriumhydroxid tillsattes. Provet filtrerades (Spartan 13/0.45 RC, S&S) innan HPLC-körningen. Kalibreringsstandarder tillverkades genom att ta 850 µL standardlösning (Sigma-Aldrich, Finland) och tillsätta 150 µL 0,1 % kaliumhexacyanoferrat i 1,5 M natriumhydroxid. Injektionsvolymen var 20 µL och analys tiden 13 minuter med ett linjärt gradientflöde av elueringsmedel. Elueringsmedel A bestod av 0,5 % metanol och 99,5 % 35 mM fosfatbuffert med pH 8,4. Elueringsmedel B bestod av 55 % metanol och 45 % 35 mM fosfatbuffert med pH 8,4. Alla reagenter var av minst analytisk klass. HPLC-apparaten var en Waters Alliance 2690 kopplad till en Waters 2475 fluorescensdetektor.

Karotenoid-analys

Den totala karotenoidkoncentrationen mättes med spektrofotometri enligt Pettersson och Lignell (1999) med mindre modifieringar. Cirka 0,5 g muskel vägdes in, 2 mL aceton tillsattes och provet homogeniserades (IKA Eurostar). Homogeniseringsröret sköljdes därefter med 1 mL aceton, som sedan tillsattes till homogenatet. Tre mL cyklohexan och 1,5 mL destillerat vatten tillsattes och provet mixades grundligt. Blandningen centrifugerades vid 1500 x g, 15 min och 10°C (Beckman Avanti J-30 I). Cyklohexanfasen separerades och absorbansen mättes vid 474 nm (Shimadzu UV-240). Uträkningar baserades på absorptionskoefficienten $\epsilon = 195 \text{ cm}^{-2} \text{ mg}^{-1}$ (Pettersson and Lignell 1999).

A- och E-vitamin-analyser

A- och E-vitaminer analyserades med HPLC enligt [Kommissionens förordning \(EG\) nr 152/2009 Bilaga IV](#) med mindre modifieringar. Cirka 15 g homogeniserad muskulatur vägdes in i en graderad kolv och 60 mL etanol, 100 mg hydrokinon, 100 mg Butylhydroxitoluen (BHT), 2 mL 20 % askorbinsyra och 20 mL 50 % kaliumhydroxid tillsattes. Blandningen värmdes under reflux (uppfångande av ångor, avkylning och returnering av vätskan till kolven) i 100°C vattenbad 30 minuter, avsvalnades till rumstemperatur och flyttades till en skak-cylinder. Därefter tillsattes 50 mL petroleumeter och blandningen skakades (Edmund Büchler SM25) 5 min, varefter lagren separerades och det övre lagret tillvaratogs. Steget upprepades fyra gånger. Den uppsamlade (hydrofoba) vätskan tvättades med vatten för att få bort orenheter, torkades i natriumsulfat (Na_2SO_4) och filtrerades genom filterpapper (Whatman 589/1, Black Ribbon) till en indunstningskolv. Vätskan dunstades in helt vid 40°C i en Büchi Rotavapor R-114, löstes i 5 mL metanol och filtrerades (Pall 0,2 µm GHP

Agrodisc 13) innan HPLC-körning på en Agilent 1100 med UV-detektor (325 nm för vitamin A och 292 nm för vitamin E) och separation på en C₁₈ reverserad faskolumn med isokrat metod. Den mobila fasen var 1 000 mL metanol och 20 mL vatten, flödet 1 mL/min. Injektions-volymen var 10 µL.

Astaxanthin-analys

Astaxanthin analyserades med HPLC-metodik enligt Schierle et al. (2014), med mindre modifieringar. Cirka 4 g homogeniserad muskel vägdes in i en graderad kolv varefter 500 µL Multifect PR 6L enzyme, 100 mg BHT och 6 mL vatten tillsattes. Kolven placerades i ett 50°C varmt ultraljuds-vattenbad 30 min. Därefter tillsattes 40 mL etanol och kolven skakades, 50 mL diklormetan tillsattes och kolven skakades igen och lämnades i mörker två timmar. Diklormetan fylldes sedan på så att den totala volymen av provet blev 100 mL. För rening av provet fylldes den trattformade SPE-kolumnen med 1,5 g Silicagel 60 och fuktades med 2 – 3 ml hexan:dietyleter (50:50) och 10 mL av provet tillsattes. Karotenoiderna löstes ut från kolonnen med 25 mL hexan:dietyleter (50:50) och indunstades i en Büchi Rotavapor R-114 vid 40°C. Provet löstes därefter i 2 mL heptan:acetone (88:12), filtrerades på en Pall 0,2 µm GHP Agrodisc 13 och analyserades på en HPLC Agilent 1100 med en normal fas-kolumn och isokrat flöde på 470 nm med en VW-detektor. Den mobila fasen var heptan:acetone (88:12), flödet 1,3 mL/min och injektionsvolymen 20 µL.

BILAGA 3. TABELL ÖVER MORFOMETRISKA DATA FÖR LAXAR PROVTAGNA I MÖRRUMSÅN, TORNEÄLVEN, UMEÄLVEN, INDALSÄLVEN OCH LAGAN 2018.

Fisk	Lokal	Kön	Längd (cm)	Vikt (g)	Gonadvikt (g)	Somatisk vikt (g)	Levervikt (g)	CF ^a	GSI (%) ^b	LSI (%) ^c
L1	Mörrumsån	hona	94	11 590	156,6	11 433,4	114,3	1,38	1,37	1,00
L2	Mörrumsån	hona	101	12 140	234,5	11 905,5	144	1,16	1,97	1,21
L3	Mörrumsån	hona	96	10 750	147,0	10 603,0	125,5	1,20	1,39	1,18
L4	Mörrumsån	hona	85	6 490	49,4	6 440,6	72,5	1,05	0,77	1,13
L5	Torneälven	hane	87	6 430	51,0	6 379,0	67	0,97	0,80	1,05
L6	Torneälven	hona	80	5 460	131,9	5 328,1	71,2	1,04	2,48	1,34
L7	Torneälven	hona	77,5	4 640	120,7	4 519,3	-	0,97	2,67	
L8	Torneälven	hona	97	10 450	349,1	10 100,9	176,5	1,11	3,46	1,75
L9	Torneälven	hona	107	14 170	338,1	13 831,9	173,7	1,13	2,44	1,26
L10	Torneälven	hane	89	7 000	140,1	6 859,9	87,9	0,97	2,04	1,28
L11	Torneälven	hona	83	5 860	117,6	5 742,4	74,9	1,00	2,05	1,30
L12	Torneälven	hona	81	5 420	81,0	5 339,0	69,5	1,00	1,52	1,30
L13	Torneälven	hona	103	13 270	338,5	12 931,5	186,1	1,18	2,62	1,44
L14	Torneälven	hona	87	8 270	125,3	8 144,7	114,7	1,24	1,54	1,41
L15	Torneälven	hona	73,5	4 140	79,6	4 060,4	70,5	1,02	1,96	1,74
L16	Torneälven	hane	90	7 960	22,9	7 937,1	88,7	1,09	0,29	1,12
L17	Torneälven	hane	93	7 920	44,8	7 875,2	101,7	0,98	0,57	1,29
L18	Torneälven	hane	111	15 150	63,8	15 086,2	169,2	1,10	0,42	1,12
L19	Torneälven	hona	106	12 490	332,3	12 157,7	188,2	1,02	2,73	1,55
L20	Torneälven	hane	81	5 200	26,2	5 173,8	55,3	0,97	0,51	1,07
L21	Torneälven	hona	82,5	6 010	92,1	5 917,9	76,3	1,05	1,56	1,29
L22	Torneälven	hona	92	8 360	296,6	8 063,4	112,6	1,04	3,68	1,40
L23	Torneälven	hona	107	13 700	508,5	13 191,5	198,4	1,08	3,85	1,50
L24	Torneälven	hona	93	8 790	150,1	8 639,9	124,6	1,07	1,74	1,44
L25	Umeälven	hane	93	9 520	61,0	9 459,0	124,98	1,18	0,64	1,32
L26	Umeälven	hona	91	8 800	153,9	8 646,1	126,62	1,15	1,78	1,46
L27	Umeälven	hona	76	4 950	46,9	4 903,1	72,69	1,12	0,96	1,48
L28	Umeälven	hona	85	8 800	132,5	8 667,5	108,9	1,41	1,53	1,26
L29	Umeälven	hona	86	7 300	127,4	7 172,6	77,47	1,13	1,78	1,08
L30	Umeälven	hane	90	8 680	63,0	8 617,0	96,98	1,18	0,73	1,13
L31	Umeälven	hona	89	8 240	142,2	8 097,8	88	1,15	1,76	1,09
L32	Umeälven	hane	99	10 980	31,8	10 948,2	117,35	1,13	0,29	1,07
L33	Umeälven	hane	95	10 670	28,0	10 642,0	121,12	1,24	0,26	1,14
L34	Umeälven	hona	81	6 070	123,5	5 946,5	62,98	1,12	2,08	1,06
L35	Umeälven	hona	85,5	7 620	126,5	7 493,6	103,44	1,20	1,69	1,38
L36	Umeälven	hona	94	9 460	206,7	9 253,3	101,9	1,11	2,23	1,10
L37	Umeälven	hona	82	6 180	108,6	6 071,4	76,96	1,10	1,79	1,27
L38	Umeälven	hona	96	10 050	356,7	9 693,4	107,14	1,10	3,68	1,11
L39	Umeälven	hona	85	7 680	194,5	7 485,5	84,15	1,22	2,60	1,12
L40	Umeälven	hane	102	11 470	27,5	11 442,5	105,19	1,08	0,24	0,92
L41	Umeälven	hane	85	6 890	18,1	6 871,9	75,44	1,12	0,26	1,10
L42	Umeälven	hona	86	7 290	137,6	7 152,5	100,13	1,12	1,92	1,40

BILAGA 3. TABELL ÖVER MORFOMETRISKA DATA; FORTSÄTTNING

Fisk	Lokal	Kön	Längd (cm)	Vikt (g)	Gonadvikt (g)	Somatisk vikt (g)	Levervikt (g)	CF ^a	GSI (%) ^b	LSI (%) ^c
L43	Umeälven	hona	84	7 090	161,8	6 928,2	88,2	1,17	2,34	1,27
L44	Umeälven	hona	85	7 200	168,5	7 031,5	85,51	1,14	2,40	1,22
L45	Umeälven	hona	80	5 120	120,0	5 000,0	52,87	0,98	2,40	1,06
L46	Umeälven	hona	83,5	6 730	126,7	6 603,3	79,67	1,13	1,92	1,21
L47	Umeälven	hona	85	6 490	130,7	6 359,3	82,5	1,04	2,05	1,30
L48	Umeälven	hane	96	9 530	15,5	9 514,5	98,83	1,08	0,16	1,04
L49	Umeälven	hona	84	6 770	143,7	6 626,3	70,65	1,12	2,17	1,07
L50	Umeälven	hona	84	6 560	171,2	6 388,8	71,08	1,08	2,68	1,11
L51	Umeälven	hona	83	5 930	104,2	5 825,8	77,41	1,02	1,79	1,33
L52	Umeälven	hona	78	5 540	107,5	5 432,5	61,35	1,14	1,98	1,13
L53	Umeälven	hane	88,5	7 340	24,1	7 315,9	66,02	1,06	0,33	0,90
L54	Umeälven	hona	92	9 000	287,8	8 712,2	86,88	1,12	3,30	1,00
L55	Indalsälven	hane	92	7 770	223,4	7 546,6	72,2	0,97	2,96	0,96
L56	Indalsälven	hona	84	7 060	680,2	6 379,8	103,32	1,08	10,66	1,62
L57	Indalsälven	hane	86	6 020	88,4	5 931,6	63,35	0,93	1,49	1,07
L58	Indalsälven	hane	92	7 660	271,3	7 388,7	73,38	0,95	3,67	0,99
L59	Indalsälven	hona	79	4 870	60,2	4 809,8	60,16	0,98	1,25	1,25
L60	Indalsälven	hane	87,5	8 190	394,1	7 795,9	71,95	1,16	5,06	0,92
L61	Indalsälven	hane	97	9 650	307,6	9 342,4	82,44	1,02	3,29	0,88
L62	Indalsälven	hane	91	7 840	155,8	7 684,2	76,84	1,02	2,03	1,00
L63	Indalsälven	hona	82	5 920	308,3	5 611,7	80,4	1,02	5,49	1,43
L64	Indalsälven	hona	84	6 970	568,1	6 401,9	118,39	1,08	8,87	1,85
L65	Indalsälven	hona	86	6 630	472,5	6 157,5	91,63	0,97	7,67	1,49
L66	Indalsälven	hona	83	5 950	694,5	5 255,5	95,87	0,92	13,21	1,82
L67	Indalsälven	hona	78	5 470	411,8	5 058,2	64,09	1,07	8,14	1,27
L68	Indalsälven	hona	82	5 690	561,4	5 128,6	77,48	0,93	10,95	1,51
L69	Indalsälven	hona	71	4 140	237,5	3 902,5	58,31	1,09	6,09	1,49
L70	Indalsälven	hane	82	5 900	212,8	5 687,2	46,4	1,03	3,74	0,82
L71	Indalsälven	hona	87	6 820	703,3	6 116,8	90,86	0,93	11,50	1,49
L72	Indalsälven	hona	98	10 840	1 086,0	9 754,0	138,85	1,04	11,13	1,42
L73	Indalsälven	hona	82	5 560	541,1	5 018,9	73,42	0,91	10,78	1,46
L74	Indalsälven	hona	75	4 450	331,3	4 118,7	68,76	0,98	8,04	1,67
L75	Lagan	hona	85	5 500	1 401,0	4 099,0	58,91	0,67	34,18	1,44
L76	Lagan	hona	83	4 400	797,0	3 603,0	44,52	0,63	22,12	1,24
L77	Lagan	hona	86	6 300	1 371,0	4 929,0	79,55	0,77	27,81	1,61
L78	Lagan	hona	80	4 800	931,0	3 869,0	47,81	0,76	24,06	1,24
L79	Lagan	hona	84	5 400	1 220,0	4 180,0	60,12	0,71	29,19	1,44
L80	Lagan	hona	81	4 800	753,0	4 047,0	46,89	0,76	18,61	1,16
L81	Lagan	hona	87	5 800	1 189,0	4 611,0	70,62	0,70	25,79	1,53
L82	Lagan	hona	84	5 100	1 231,0	3 869,0	40,37	0,65	31,82	1,04
L83	Lagan	hona	83	5 800	1 145,0	4 655,0	99,07	0,81	24,60	2,13
L84	Lagan	hona	79,5	4 600	1 052,0	3 548,0	50,82	0,71	29,65	1,43
L85	Lagan	hona	80	4 300	982,0	3 318,0	69,49	0,65	29,60	2,09
L86	Lagan	hona	83,5	5 400	1 247,0	4 153,0	-	0,71	30,03	-
L87	Lagan	hona	84	5 100	1 230,0	3 870,0	45,97	0,65	31,78	1,19

^a CF = Konditionsfaktor: (g) x 100/längd (cm)³; ^b GSI=Gonadosomatiskt index: gonadvikt (g)/somatisk vikt (g) x 100; ^c LSI=Leversomatiskt index: levervikt (g)/somatisk vikt (g) x 100