



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2025 60 stp

Fakultet for miljøvitenskap og naturforvaltning

Vurdering av fysiologisk tilstand hos Atlantisk torsk (*Gadus morhua*) i Oslofjorden

Assessment of physiological condition of Atlantic cod
(*Gadus morhua*) in Oslofjord

Martine Maria Storvestre Granly

Forord

Arbeidet med denne masteroppgaven har vært både lærerikt, utfordrende og givende. Det hadde ikke vært mulig å gjennomføre uten støtten og hjelpen jeg har fått fra mange flotte mennesker underveis, og for det er jeg veldig takknemlig.

Først og fremst ønsker jeg å takke Thrond for god veiledning, faglig oppfølging og verdifull hjelp med statistiske analyser. Jeg vil også takke Ane Mathilde Runge for godt samarbeid, fine samtaler og for hyggelig selskap under feltarbeidet. Samtidig går en stor takk til alle de på Ostøya som bisto med båtskyss slik at vi fikk utført feltarbeidet vårt. En særlig takk går til Daniela Dulgheriu for hennes grundige arbeid med analyser av skjell og slim.

Jeg er også utrolig takknemlig for støtten og vennskapet til mine medstudenter Thea Aurland Storholt og Helene Arrestad. Masterstudiene ved NMBU hadde ikke vært de samme uten dere. Takk for at dere har bidratt med både motivasjon, glede og latter i hverdagen.

Videre ønsker jeg å rette en varm takk til familien min og til min kjære ektemann, som har heiet på meg hele veien. Deres støtte og oppmuntring har betydd mye gjennom hele mastergraden min. Til slutt vil jeg rette den mest spesielle takken til mitt kommende barn, Alva. Du har vært med meg gjennom hele skriveingen, og sparkene dine har distraherert meg på den beste mulig måten. Jeg gleder meg masse til å møte deg!

Sammendrag

Denne masteroppgaven undersøkte hvordan miljøstress påvirket den fysiologiske tilstanden til torsk (*Gadus morhua*) i Oslofjorden, med særlig fokus på hvorvidt det forelå en miljørelatert stressgradient. Fysiologiske indikatorer som kondisjonsfaktor og lever-somatisk indeks (LSI), samt hormonelle stressmarkører målt i skjell og slim (kortisol, kortison og forholdet mellom kortison og kortisol), ble analysert fra fire soner i Oslofjorden (Bærumsbassenget, Ytre Ostøya, Ildjernet og Drøbak). Tromsø ble inkludert som referansesone for å representere en torskepopulasjon utenfor påvirkningen fra Oslofjordens miljøbelastning. Målet var å vurdere om det fantes en gradient i miljøstress gjennom fjorden ved å kombinere målinger av fysiologiske variabler med konsentrasjoner av stresshormoner hos 28 torsk. Resultatene viste ingen statistisk signifikante forskjeller i LSI eller kondisjonsfaktor mellom sonene. Torsk fra de indre fjordområdene hadde imidlertid lavere verdier av kortisol og kortison i skjell og slim, lavere kondisjonsfaktor, høyere LSI og høyere forhold mellom kortison og kortisol, samt en yngre aldersstruktur enn individer fra Drøbak. En negativ sammenheng mellom kortisolnivå i skjell og kondisjonsfaktor ble observert, men var kun nær statistisk signifikant.

Studien viste at en kombinasjon av hormonelle og fysiologiske markører ga et nyttig rammeverk for å vurdere både miljøpåvirkning og fysiologisk tilstand hos torsk i Oslofjorden. Det ble funnet indikasjoner på en stressgradient gjennom fjorden, der forholdet mellom kortison og kortisol fremstod som en lovende indikator for påvisning av ulike stressresponser. Analysene av LSI viste en positiv trend med nivåene av total organisk karbon (TOC) i sedimentene, noe som antydte at variasjoner i fysiologisk tilstand kunne være påvirket av lokale miljøforhold.

Abstract

This master's thesis investigated how environmental stress affected the physiological condition of Atlantic cod (*Gadus morhua*) in the Oslofjord, with a particular focus on whether an environmentally driven stress gradient was present. Physiological indicators such as condition factor and liver somatic index (LSI), as well as hormonal stress markers measured in scales and mucus (cortisol, cortisone, and the cortisone/cortisol ratio), were analyzed from four zones in the Oslofjord (Bærumsbassenget, Ytre Ostøya, Ildjernet, and Drøbak). Tromsø was included as a reference site, representing a cod population outside the influence of environmental stressors in the Oslofjord. The aim was to assess whether a gradient of environmental stress existed along the fjord by combining measurements of physiological variables with concentrations of stress hormones in 28 cod. The results showed no statistically significant differences in LSI or condition factor between zones. However, cod from the inner fjord areas exhibited lower cortisol and cortisone levels in both scales and mucus, lower condition factor, higher LSI, a higher cortisone/cortisol ratio, and a younger age structure compared to individuals from Drøbak. A negative association between cortisol levels in scales and condition factor was observed, although it was only near statistical significance.

The study showed that a combination of hormonal and physiological markers provided a useful framework for assessing both environmental impact and physiological condition in Atlantic cod from the Oslofjord. Indications of a stress gradient were identified along the fjord, with the cortisone-to-cortisol ratio emerging as a promising indicator for detecting various stress responses. Analyses of the liver somatic index (LSI) showed a positive trend with levels of total organic carbon (TOC) in the sediments, suggesting that variations in physiological condition may have been influenced by local environmental factors.

Innholdsfortegnelse

1. Introduksjon.....	1
1.1. Torsk i et historisk perspektiv.....	1
1.2. Økosystemkonsekvenser ved redusert torskebestand	2
1.3. Stress.....	2
1.4. Fysiologiske variabler	5
1.5. Miljøgradienter i Oslofjorden	6
1.6. Hypotese	7
2. Materiale & metode.....	8
2.1. Studieart.....	8
2.2. Studieområde	9
2.3. Innsamlingsmetode.....	13
2.4. Prøvetakning.....	14
2.5. Kildebruk	16
2.6. Dataprosessering og statistiske metoder	17
3. Resultat.....	19
3.1. Aldersstruktur	19
3.2. Kondisjonsfaktor (K-faktor)	21
3.3. Lengde - vekt forhold.....	22
3.4. Lever-somatisk indeks (LSI)	25
3.5. Skjell - Kortisol og kortison.....	28
3.6. Slim - Kortisol og kortison.....	32
3.7. Kortison/kortisol-forhold.....	34
4. Diskusjon.....	38
4.1. Hormonelle stressresponser langs miljøgradienten i Oslofjorden.....	38
4.2. Geografisk gradient i miljø og fysiologisk tilstand.....	42
4.3. Sammenheng mellom stresshormoner og fysiologisk tilstand.....	46
4.4. Metodiske refleksjoner	49
4.5. Fremtidige studier	51
4.6. Konklusjon	52
5. Litteratur.....	53
6. Vedlegg	61

1. Introduksjon

1.1. Torsk i et historisk perspektiv

Skagerrak-regionen og Oslofjorden var tidligere kjent for et rikt biologisk mangfold med blomstrende torskebestander (*Gadus morhua*) på 1970- og 1980-tallet (Nedreaas et al., 2008). Torskebestanden har imidlertid blitt drastisk redusert de siste tiårene (Asgeir Aglen et al., 2020; Bryhn et al., 2022; Cook et al., 1997; Nedreaas et al., 2008; Pethon, 2021). Denne nedgangen er drevet av flere sammensatte faktorer som spenner fra klimaendringer, habitatødeleggelser og til andre menneskelige aktiviteter som overfiske og forurensing (Bryhn et al., 2022; Sodeland et al., 2022). I Oslofjorden har nedgangen i torskebestanden vært alarmerende. Årsakene til dette kan være mange, men overfiske fra kommersielt fiske og fritidsfiske har skilt seg ut som en primær årsak bak kollapsen (Asgeir Aglen et al., 2020; Myers et al., 1996; Myers et al., 1997). I 2019 innførte Norges fiskeridirektorat sterke regulerings tiltak, men det har derimot ikke sett ut til å ha noe tydelig effekt (Haugen et al., 2024; Haugen et al., 2022).

Videre har avrenning av næringsstoffer fra landbaserte kilder også negativ innvirkning på torskebestandene (Moland et al., 2021). Overflødig nitrogen og fosfor fra landbruksavrenning, kloakkutslipp og industrielle prosesser kan føre til algeoppblomstringer og dannelsen av områder med lavt oksygeninnivå i vannet, kjent som hypoksiske soner (Diaz & Rosenberg, 2008). Hypoksiske områder kan ha katastrofale konsekvenser for marint liv (Breitburg et al., 2018), inkludert torsken, som er avhengig av godt oksygenert vann for å optimal vekst og foropptak (Thorarensen et al., 2017). Hypoksi kan føre til at torsken mister tilgang til mat og gyteområder, noe som vil resultere i redusert overlevelse (Brander, 2020; Hinrichsen et al., 2016). Samtidig gir den økte næringstilgangen fordeler til kortlevde, trådformet alger som blir kalt lurv (Frigstad et al., 2024). Lurven konkurrerer ut makroalger og ålegress i kystnære områder (Infantes et al., 2016; Moksnes et al., 2008). Når disse hurtigvoksende algene overtar, gror de ned habitater der tang, tare og ålegras tidligere dominerte, noe som fører til tap av viktige oppvekstområder for torskeyngel. Uten tilgang til skjul i vegetasjon blir yngelen mer sårbar for predasjon (Linehan et al., 2001) og rekrutteringen til bestanden svekkes. Å begrense næringsstoffavrenning er derfor avgjørende ikke bare for å forhindre hypoksi, men også for å opprettholde funksjonelle leveområder for tidlige livsstadier av torsk (Moland et al., 2021).

1.2. Økosystemkonsekvenser ved redusert torskebestand

Torsken er en nøkkelart som spiller en avgjørende rolle i å opprettholde økosystemstabilitet (Sodeland et al., 2022). Som en primært bunnlevende predator regulerer torsken marine økosystemer, og dens gytevaner og næringspreferanser er nært knyttet til tilgjengeligheten av egnede habitater og matressurser. Reduksjonen av torskebestanden i Oslofjorden har ført til betydelige endringer i økosystemet, der arter som ulke (*Myoxocephalus scorpius*) har økt i antall og overtatt rollen som toppredator (Jakobsen, 2024; Synnes et al., 2023). Ulken, som spiser både tanglopper, snegler og torskefiskegg, har derfor en direkte negativ effekt på torskens mulighet til å rekruttere. Reduksjon av snegler og tanglopper fører også til overvekst av alger, herunder den nevnte lurven, og redusert forekomst av viktige habitater som ålegressenger. Slike endringer svekker både vannkvaliteten og biodiversiteten i fjorden (Infantes et al., 2016; Moksnes et al., 2008).

1.3. Stress

Fisk kan oppleve kronisk stress grunnet forurensset vann, dårlig ernæring, sykdom og miljøendringer (Hontela, 1997). Disse faktorene kan føre til negative fysiologiske og adferdsmessige endringer (Vindas et al., 2017). Når fisk og andre virveldyr utsettes for slike stressfaktorer, vil de produsere stresshormonene kortisol og kortison (Barcellos et al., 2007; Boonstra et al., 1998; Canosa & Bertucci, 2023). Disse hormonene bidrar til fiskens tilpasningsevne og ansees som en adaptiv metode for å håndtere stressorer i miljøet (Schreck & Tort, 2016). Hvis miljøet derimot blir uhåndterbart over lengre tid, vil disse hormonene være aktivert lenge og kunne føre til kronisk stress. Dette oppstår når normale fysiologiske tilpasningsmekanismer ikke lenger er tilstrekkelige, noe som har negative konsekvenser for vekst, immunforsvar og overlevelse (Barton, 2002; Virtanen et al., 2023). Langvarig eksponering til stress kjennetegnes også av nevrobiologiske endringer som redusert nevralt plastisitet, metabolsk ubalanse og strukturelle endringer i hjerneområder som er knyttet til læring og hukommelse (Huang et al., 2019; Øverli et al., 2007).

Hos virveldyr aktiveres kroppens hormonelle stressrespons gjennom et system kjent som HPA-aksen (hypothalamus–hypofyse–binyre-aksen) (Guilliams & Edwards, 2010). I denne prosessen skilles CRH (kortikotropin-frigjørende hormon) ut fra hypothalamus og stimulerer hypofysen til

å produsere ACTH (adrenokortikotropt hormon). ACTH virker videre på binyrebarken og utløser produksjon og frigjøring av kortisol. Dette hormonet er et glukokortikoid som bidrar til å regulere energimetabolisme, immunrespons og andre viktige fysiologiske prosesser i møte med stress (Guilliams & Edwards, 2010). Hos fisk foregår en tilsvarende prosess, men med en viktig anatomisk forskjell. Fisk mangler ekte binyrer og benytter i stedet en tilpasset stressakse kjent som HPI-aksen (hypothalamus–hypofyse–interrenal-aksen) (Nardocci et al., 2014). I dette systemet utløser ACTH kortisolproduksjon i interrenalceller lokalisert i hodenyren, et organ som ligger tett på nyrevevet og har en tilsvarende funksjon som binyrene hos pattedyr (Mommensen et al., 1999). Denne tilpasningen gjør HPI-aksen til fiskens primære system for regulering av kortisol i møte med både akutt og langvarig stress (Schreck & Tort, 2016).

En viktig mekanisme for regulering av stresshormonet kortisol, er enzymatisk omdanning mellom aktiv (kortisol) og inaktiv (kortison) form (Alderman & Vijayan, 2012). Denne reguleringen skjer gjennom enzymene 11 β -hydroksysteroid dehydrogenase type 1 og 2 (11 β -HSD1 og 11 β -HSD2). 11 β -HSD1 omdanner kortison til kortisol og bidrar dermed til å opprettholde glukokortikoidaktiviteten i vev (Seckl & Walker, 2001). 11 β -HSD2 har motsatt funksjon av 11 β -HSD1 og inaktiverer kortisol ved å omdanne det til kortison (Alderman & Vijayan, 2012; Baker, 2010; Chapman et al., 2013; Seckl & Walker, 2001).

Ettersom kroniske stressfaktorer ikke nødvendigvis gjenspeiles i kortisollnivå alene (Cyr & Romero, 2009; Schreck & Tort, 2016), er kortisollmålinger i seg selv ikke alltid tilstrekkelige for å vurdere stressnivået hos fisk. I tillegg kan nivåene påvirkes av en rekke andre faktorer, som kjønn, modningsstadium, tidspunkt på døgnet, matinntak og sesong (Pankhurst, 2011). Dette understreker behovet for komplementære markører. Selv om det foreløpig ikke finnes studier som direkte benytter forholdet mellom kortisol og kortison som en etablert biomarkør, finnes det eksisterende forskning som fremhever dette som en mulig lovende indikator for kronisk stress (Kennedy & Janz, 2022; Mazzi et al., 2023; Patiño et al., 1987).

Fiskeskjell er forkalkede strukturer i fiskehuden som fungerer som et beskyttende lag under slimlaget. Skjellene kan akkumulere stresshormoner som kortisol og kortison over tid. Dette gjør kortisol målinger i skjell til en lovende indikator på kronisk stress hos fisk (Arumairasa, 2022;

Carbajal et al., 2019; Laberge et al., 2019). I motsetning til blodplasma, der kortisolnivåene varierer raskt, synker kortisolnivåer i skjell langsomt etter en stresshendelse og kan påvises i flere uker i ettertid (Kennedy & Janz, 2023b). Det antas derfor at hormonene bindes og lagres i skjellenes forkalkede struktur (Laberge et al., 2019), noe som gjør skjell til en verdifull metode for å studere langtidseksponering for blant annet miljøstress som forurensning, predasjon og næringsmangel. Det er funnet at temperatur, kjønn og fôringsregime påvirker kortisolnivåer i skjell hos regnbueørret, med særlig høye nivåer ved 10,5 °C og hos kontinuerlig fôrede hunner (O'Toole et al., 2023). En to ukers faste ser også ut til å øke kortisolnivåene ved denne temperaturen, noe som tyder på en temperaturspesifikk fysiologisk stressrespons ved sult (O'Toole et al., 2023)

Fiskeslim kan brukes til å påvise stresshormoner som kortisol og kortison, og representerer en mindre inngripende metode enn blodprøver. Slim produseres kontinuerlig av huden og fungerer som en første forsvarslinje mot infeksjoner og miljøpåvirkning (Guardiola et al., 2022). På grunn av sin korte turnover-tid reflekterer kortisolnivåer i slim hovedsakelig akutt stress (Carbajal et al., 2019; Ellis et al., 2013). Dette er fordi slimproduksjonen antas å være konstant, og har en kortere turnover-tid enn skjell. Derfor er slim mer egnet til å måle en kortvarig stressrespons (Ellis et al., 2013). Sammenlignet med skjell er slim derfor bedre egnet til å fange opp kortvarige stressrespons. Måling av stresshormoner i slim og skjell gir derfor et nyttig grunnlag for å overvåke miljøpåvirkning på fisk over tid (Ellis et al., 2013; Kennedy & Janz, 2023a).

1.4. Fysiologiske variabler

Torskens lever fungerer som en viktig energireserve der fett lagres og mobiliseres avhengig av næringstilgang (Y. Lambert & J.-D. Dutil, 1997). Under perioder med sult eller fôrrestriksjon vil leveren reduseres i størrelse fordi energireservene brukes, men leveren vil derimot raskt øke i størrelse igjen når fisken får tilstrekkelig næringstilførsel, slik det ble dokumentert i en NIVA-studie (Haugen et al., 2009). Størrelsen på leveren beregnes ved å bruke lever-somatiske indeks (LSI), der levervekt sees i forhold til somatisk vekt. LSI brukes mest for vurdering av fiskens ernæringsstatus og helse. Studien gjort på villtorsk av NIVA viste at leveren hos sultet torsk kan halveres i størrelse i løpet av en periode uten tilgang på føde, men fylles betydelig opp igjen innen fire uker etter normal næringstilførsel. Selv om torsk har en god evne til restitusjon etter fôrrestriksjon, tyder forskning på at fravær av mat over tid likevel skaper visse fysiologiske stressresponser, inkludert endringer i plasma-ioner og blodsukknivå. Disse forskjellene er imidlertid små og gjenopprettes raskt etter gjenopptatt fôring, uten at det fører til en langvarig økning i stresshormoner som kortisol (Haugen et al., 2009).

Kondisjonsfaktor som beregnes ut fra fiskens vekt i forhold til lengde, er sterkt påvirket av næringstilgang og miljøforhold (Foster et al., 1993). Denne variabelen er derfor en viktig indikator på fiskens helse. Torsk som utsettes for langvarig fôrrestriksjon har ofte en signifikant lavere kondisjonsfaktor enn individer med jevn næringstilgang, noe som vises i form av redusert muskelmasse og fettreserver (Lapointe et al., 2006). Likevel viser forskning at torsk er i stand til å tåle opptil 16 uker uten mat ved 8–10 °C, uten at det medfører økt dødelighet eller langvarig svekkelse i restitusjonsevne (Haugen et al., 2009). Avvik fra forventede vekstmønstre kan derimot også være et resultat av miljøstress eller høyt energibruk grunnet eksempelvis økt metabolsk belastning fra stresshormoner (Schreck et al., 2016).

1.5. Miljøgradienter i Oslofjorden

I lys av de mange menneskeskapte belastningene som påvirker torskens levesteder i Oslofjorden, er det særlig relevant å se nærmere på de geografiske variasjonene i miljøforholdene (Rinde et al., 2009). Oslofjorden har en kompleks fjordtopografi, der indre og ytre deler skiller seg betydelig fra hverandre med hensyn til vannutskiftning, forurensning og sediment forhold (Oslofjord, 2023; Ramon et al., 2025). Det er også betydelige forskjeller i artssammensetningen av mikrobiota, bunndyr og andre bentiske samfunn gjennom fjorden (Andersen, 2024; Frigstad et al., 2024; Rinde et al., 2021; Walday et al., 2005). Disse variasjonene henger nært sammen med vannkvalitet og grad av menneskelig påvirkning. Habitatkvaliteten vurderes generelt som høyere i de ytre delene av fjorden (Rinde et al., 2021; Rinde et al., 2009), der vannutskiftningen er bedre og påvirkningen fra lokale utslipp er mindre sammenlignet med indre fjordområder.

Bærumsbassenget som er ett av de mest innelukkede områdene i indre fjord, mottar trolig avrenning fra elver og bekker som blant annet Sandvikselva (Alve et al., 2009; Johansen & Samdal, 1995). Dette fører til opphopning av organisk materiale og slam. Som følge av lav vannutskiftning og fjordens topografi, akkumuleres det organiske materialet i sedimentene, noe som gjenspeiles i høye nivåer av total organisk karbon (TOC), dårlig vannkvalitet og lavt oksygeninnhold i dypere vannlag (Andersen, 2024; Ramon et al., 2025). Noe lengre ut i fjorden, ved Ostøya og Ildjernet er forholdene litt bedre, noe som i hovedsak skyldes bedre vannutskiftning og større avstand til utslippskilder. Dette gjør disse mellomsonene til viktige overgangsområder der både fysisk vannkvalitet og kjemisk påvirkning gradvis endres (Ramon et al., 2025). Ved Drøbaksterskelen, der fjorden møter vannmassene fra Skagerrak, gir den grunne terskelen (ca. 20 m) effektiv tidevannsutskifting og høy vanngjennomstrømning (Frigstad et al., 2024; Gade, 1968). Dette bidrar til gode oksygenforhold i bunnvannet, og Drøbak vurderes derfor som det minst belastede området i denne oppgaven.

1.6. Hypotese

For å undersøke hvordan miljøstress påvirker helsetilstanden til torsk i Oslofjorden, tar denne oppgaven utgangspunkt i en forventet miljøgradient fra indre til ytre deler av fjorden. Jeg skal sammenligne torsk fra flere lokaliteter med varierende miljøkvalitet, med søkelys på hormonelle stressmarkører og fysiologiske indikatorer. Tromsø brukes som referanseområde grunnet mindre forurensede og mer stabile miljøforhold. Det formuleres følgende hypoteser:

- Miljøgradienten påvirker den hormonelle stressresponsen hos torsk: Jeg forventer at torsken fanget i de mest belastede områdene av indre Oslofjord vil ha høyere nivåer av stresshormonene kortisol og kortison enn torsk fra mindre påvirkede soner som Drøbak og overgangssonene. Videre forventer jeg at forholdet mellom kortison og kortisol vil være høyest hos fisk fra indre fjord, da langvarig eksponering for miljøbelastning kan føre til økt enzymatisk omdanning av kortisol til kortison.
- Miljøforhold reflekteres i geografiske helseforskjeller: Jeg forventer at torsk fanget ved Drøbak har bedre fysiologisk helse (høyere leverindeks og kondisjonsfaktor), sammenlignet med torsk fra indre fjord. Torsk fra Tromsøområdet antas å ha de beste verdiene, ettersom dette er det mest stabile og oksygenrike området i studien.
- Kombinasjonen av hormonelle og fysiologiske markører kan vise effekter av langvarig miljøstress: Jeg forventer at torsk fra områder med høy miljøbelastning vil vise forhøyede nivåer av stresshormoner og tegn til redusert fysiologisk helse.

Ved å undersøke disse sammenhengene er målet å få en dypere forståelse av hvordan miljøstress påvirker torskens helse og overlevelse i Oslofjorden. Denne kunnskapen vil kunne bidra til å identifisere viktige faktorer som kan påvirke gjenoppbyggingen av bestanden og gi et bedre grunnlag for bevaringsstrategier.

2. Materiale & metode

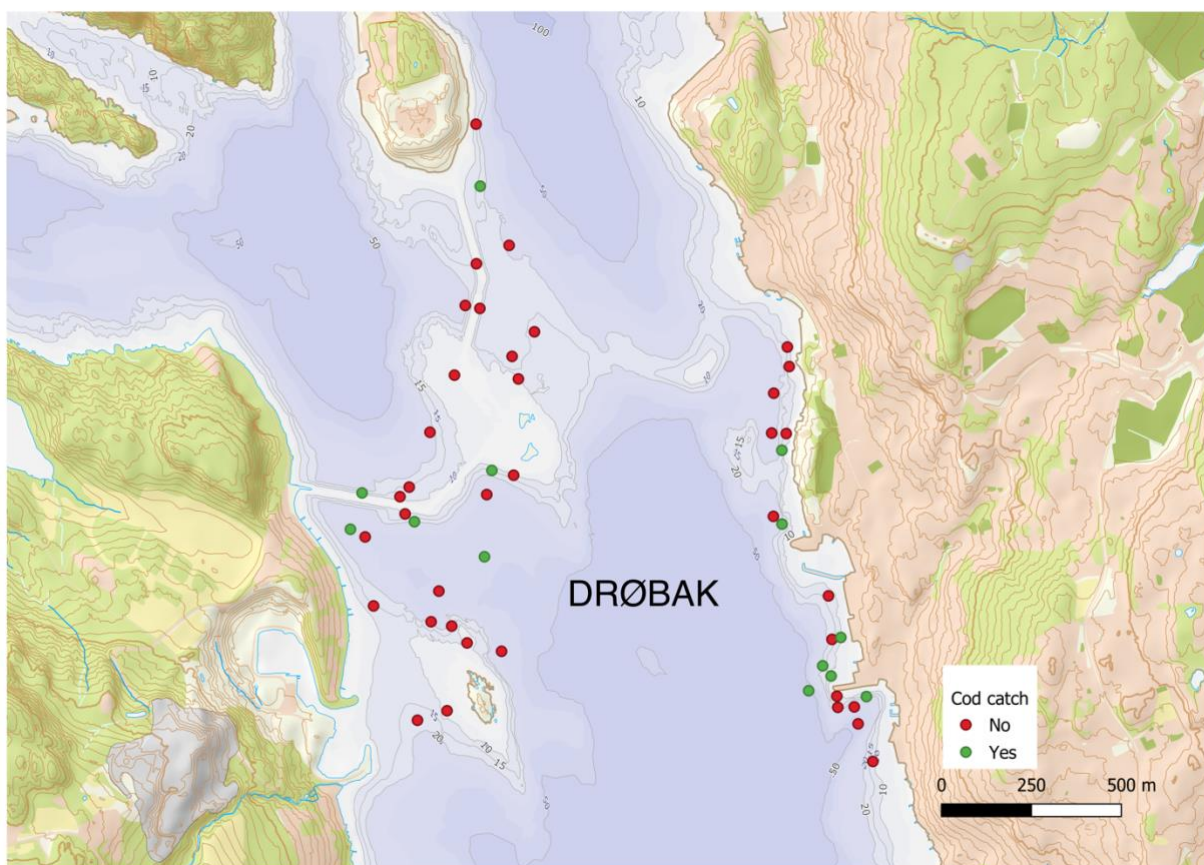
2.1. Studieart

Atlantisk torsk tilhører torskefamilien (*Gadinae*) og er utbredt over store deler av Nord-Atlanteren (Service, 1999). I norske farvann deles arten inn i fire hovedbestander: nordøstarktisk torsk, kysttorsk nord for 62°N, nordsjøtorsk og kysttorsk sør for 62°N (Asgeir Aglen et al., 2020; Hesthagen T, 2021). Bestandene har ulike livshistoriestrategier, med variasjoner i vekst, dødelighet, alder og tidspunkt for kjønnsmodning (Asgeir Aglen et al., 2020). Forskjellene er et resultat av lokale tilpasninger til de spesifikke miljøforholdene hver populasjon lever under (Salvanes et al., 2004). Atlantisk torsk deles inn i to hovedtyper: vandrende oseanisk torsk og stasjonær kysttorsk. Langs Skagerrakkysten er kysttorsken ytterligere differensiert i separate kyst- og fjordbestander (Aglen et al., 2016; Synnes et al., 2021). I Oslofjorden regnes bestanden som fjordtorsk, en subpopulasjon av kysttorsk sør for 62°N. Denne gruppen lever hovedsakelig i grunne vannområder som bunnfisk og har en svært stasjonær livsstil (Ilestad et al., 2012). Eggene som gytes, forblir dermed i fjorden, noe som bidrar til lokale tilpasninger og minimal genflyt mellom populasjoner (Ciannelli et al., 2010; Lorentzen, 2018). Det er også observert ulik adferd hos torskepopulasjonene i Oslofjorden (Bøe, 2014), noe som kan ha oppstått som følge av lokale tilpasninger.

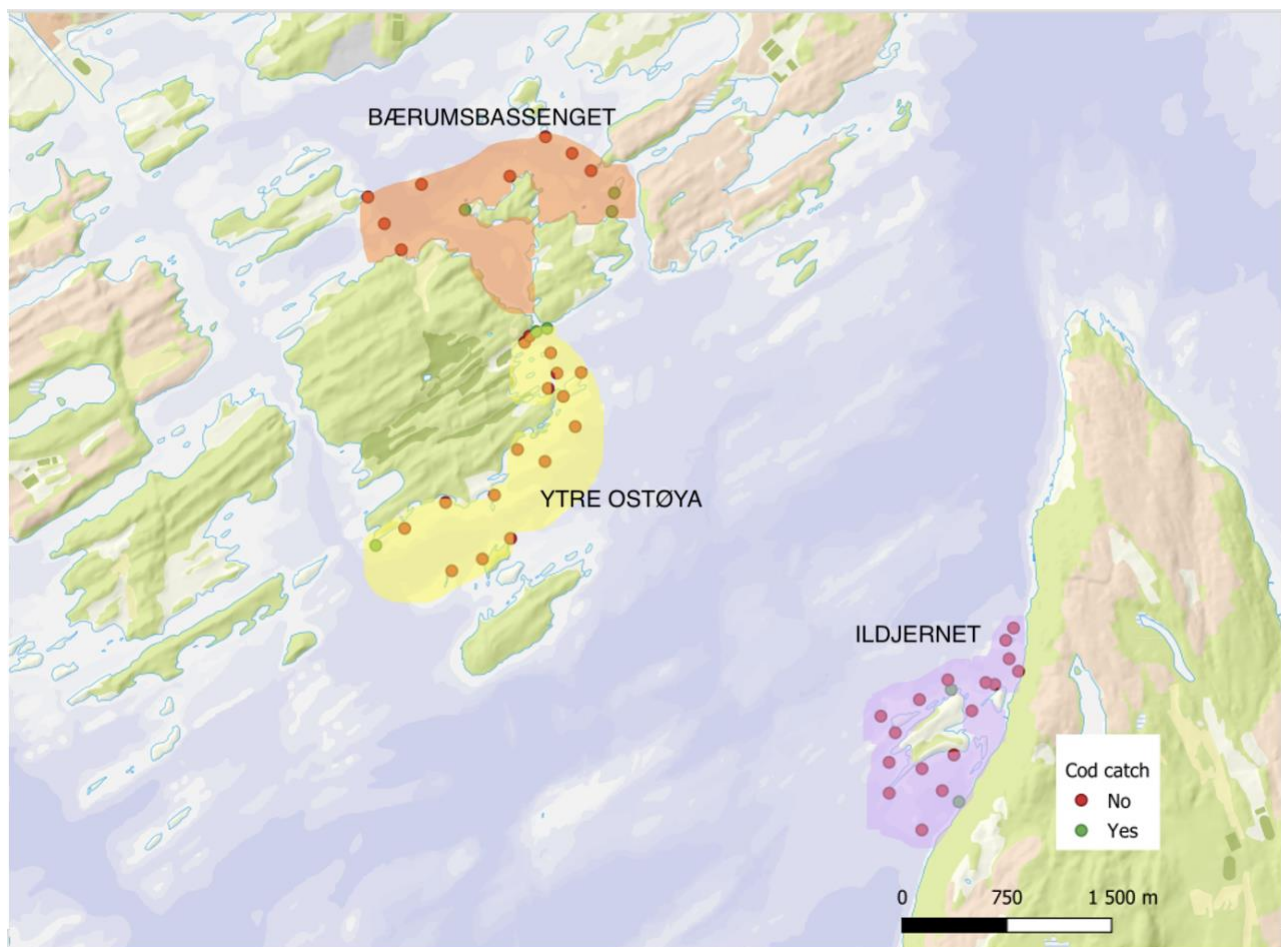
Under optimale forhold kan torsk bli opptil 1,8 meter lang og veie 55,6 kg, men kyst- og fjordtorsk oppnår sjelden en lengde over 80 cm og har lavere maksimal vekst og vekt enn de mer migrerende bestandene som skrei (Asgeir Aglen et al., 2020; Pethon, 2021). I Oslofjorden ble det i 2024 registrert at torsk sjelden oversteg 40 cm (Haugen et al., 2023).. Arten forekommer ned til 600 meters dyp og maksimumsalderen på atlantisk torsk kan variere mye mellom populasjoner, men har en maksimal alder på 15–20 år (Service, 1999). Kyst- og fjordtorsk lever ofte kortere enn skrei, noe som gjerne skyldes høyere fiskeripress og begrensede ressurser i små habitater. Kysttorsk er en viktig toppredator med et variert kosthold som inkluderer zooplankton, krepsdyr, skjell og fisk. Unge individer utsettes for predasjon både fra eldre torsk gjennom kannibalisme og fra arter som sei, sel, hval og sjøfugl (Pethon, 2021). Kjønnsmodning styres både av genetiske faktorer og miljøforhold som temperatur og mattilgang, og skjer hos kyst- og fjordtorsk i norske farvann vanligvis i alderen 2–6 år (Godø & Moksness, 1987).

2.2. Studieområde

Til tross for fiskeforbudet på torsk i Oslofjorden, ble det for denne oppgaven innvilget dispensasjon fra Fiskeridirektoratet for å gjennomføre prøvefiske (referanse: 24/14167 av 12.11.2024). Dispensasjonen inkluderte tillatelse til prøvefiske og avlivning av inntil 30 torsk for forskningsformål. Innsamling av data er derfor utført i samsvar med gjeldende lover og forskrifter. Prøvefisket ble gjennomført i fire soner i Oslofjorden som ble valgt for å representere en miljøgradient fra indre til ytre fjord. De utvalgte sonene er Ildjernet, Ostøya, Bærumsbassenget og Drøbak (Figur 1 & 2), som hver gir et bilde av fjordens miljømessige variasjoner. Denne gradienten fra Bærumsbassenget til Drøbak reflekterer variasjoner i hydrografi, bunnforhold (TOC) og oksygenivåer (Figur 3).

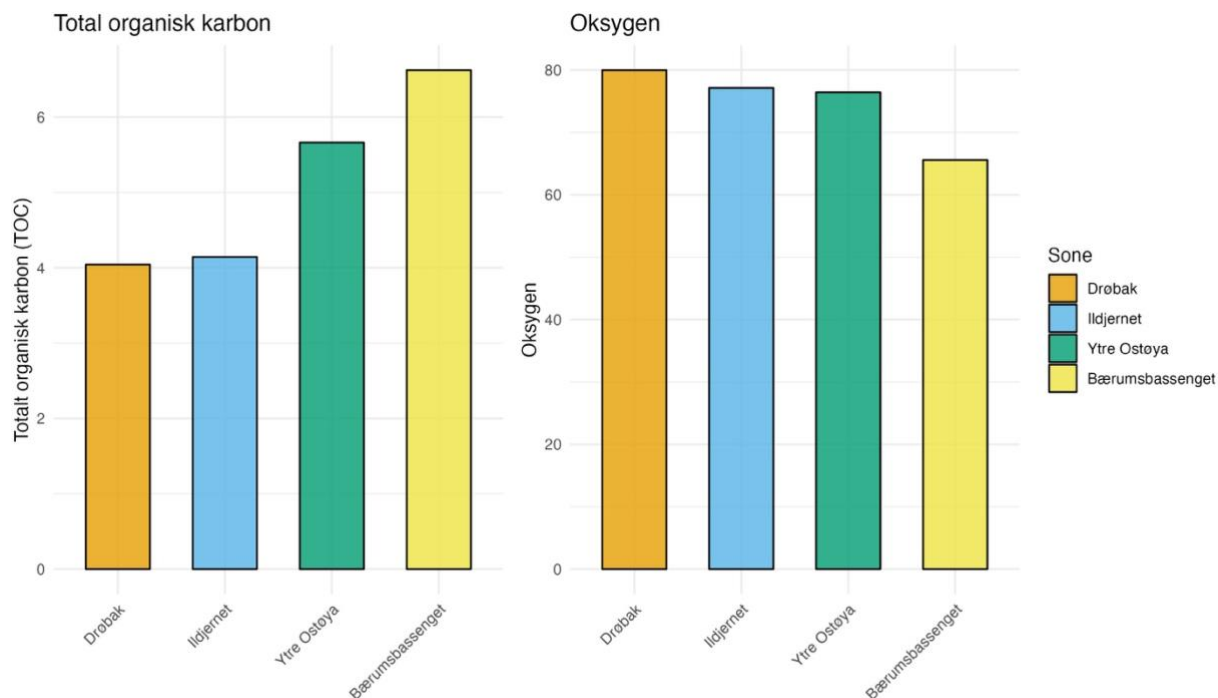


Figur 1. Kart som viser innsamlingsområdene og de tilknyttede posisjonene til teinene (prikker) som ble benyttet under prøvefiske av hummer i desember 2024. De røde punktene viser teiner uten torskefangst, mens grønne prikker viser teiner med.



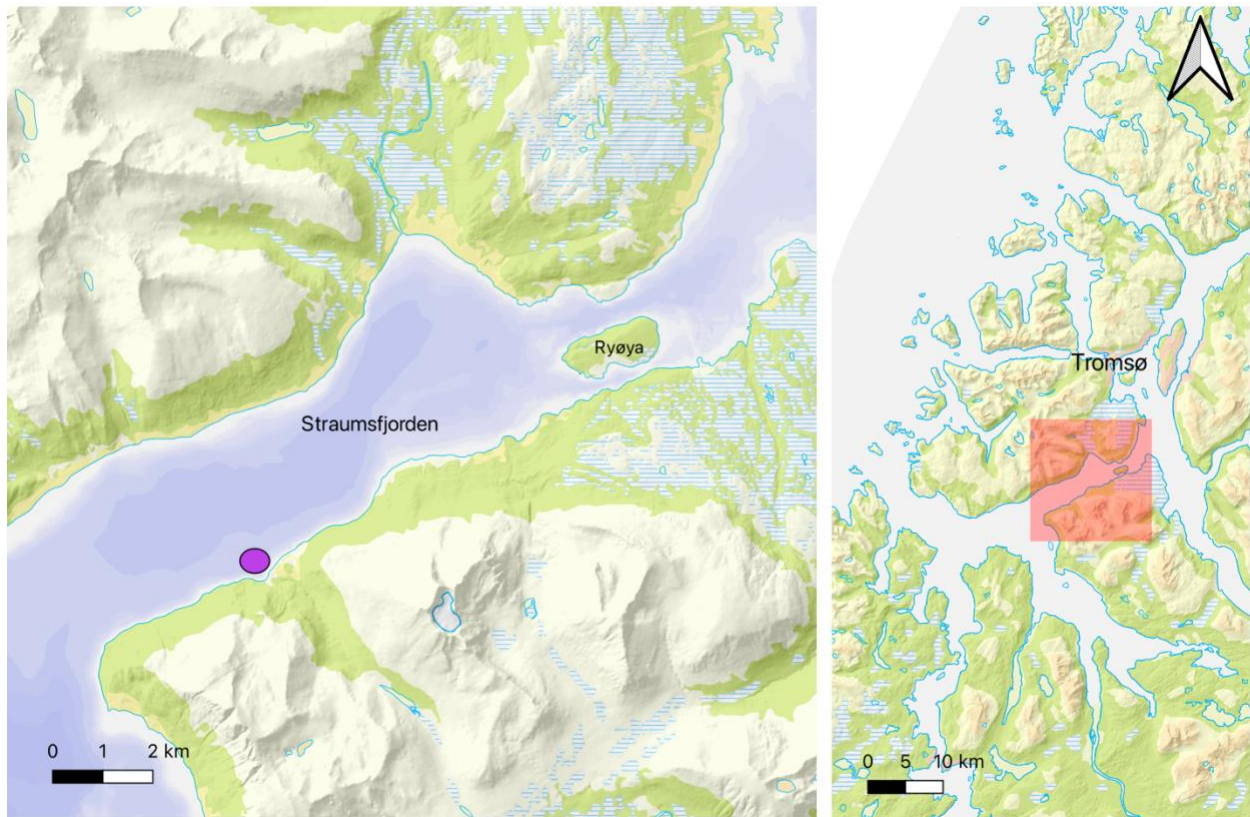
Figur 2. Kart som viser innsamlingsområdene i indre Oslofjord og de tilknyttede posisjonene til rusene (prikker) som ble benyttet under prøvfiske av hummer i november og desember 2024. De røde prikkene viser ruser uten torskefangst, mens de grønne prikkene viser teiner med.

Bærumsbassenget er et skjermet område med lite vanngjennomstrømning, noe som resulterer i opphopning av bunnslam og lite oksygen (Figur 3). Ostøya ligger i et mer åpent område av fjorden, hvor økt vanngjennomstrømning fører til bedre utskiftning av vannmasser og generelt høyere oksygennivåer. Ildjernet har enda mer åpne vannmasser og økt vanngjennomstrømning sammenlignet med Ostøya, og representerer en overgang mellom de indre og ytre delene av fjorden. Drøbak, som ligger i ytre Oslofjord, er preget av betydelig vanngjennomstrømning og utskiftning av vann fra havet. Dette området har derfor de mest oksygenrike forholdene i denne studien.



Figur 3. Målte verdier av totalt organisk karbon (g/kg) (TOC) i sediment og gjennomsnittlig oksygenmetning (ODO, %) ved bunnen (målt med EXO-3 sonde) i ulike soner av Oslofjorden. TOC (venstre) representerer mengden organisk karbon i bunnen, mens ODO (høyre) viser oksygennivået i de samme sonene. Disse målingene ble gjort i november og desember 2024.

For å kunne vurdere hvordan miljøforholdene i Oslofjorden påvirker torskens fysiologi, ble det også hentet torsk fra Tromsø (Figur 4). Dette området er kjent for stabile, kalde og oksygenrike forhold, og fiskene herfra gir et godt sammenligningsgrunnlag for målingene fra Oslofjorden.



Figur 4. Kart som viser fangstområdet i Tromsø (lilla sirkel) som ble benyttet til å innhente Torsk i februar 2025.

2.3. Innsamlingsmetode

Torsken ble fanget i Oslofjorden ved bruk av torskeruser og teiner i november og desember, med en forutsetning om at vanntemperaturen måtte være 15 °C eller lavere for å sikre minst mulig temperaturstress for fisken. Innsamlingsoppsettet baserte seg på NMBUs forskningsprosjekt som kartlegger populasjonsresponser til vernetiltak hos torsk og hummer i indre Oslofjord (Haugen et al., 2024). Her brukes torskeruser og hummerteiner for å muliggjøre merking og gjenfangst samt at disse gir et bredt utvalg av torsk på tvers av ulike størrelses- og aldersklasser.

Totalt 20 torskeruser ble plassert ut, etter et stratifisert og randomisert design, i de tre ulike torskerusesonene i indre fjord: Ostøya, Ildjernet og Bærumsbassenget. I Drøbak ble det plassert ut hummerteiner, også her etter et stratifisert og randomisert design, i tre ulike soner, hvor torsk som ble benyttet i denne studien ble fanget som bifangst. Rusene ble plassert ut i hver sone i en uke av gangen, og ble tømt annenhver dag for å redusere unødvendig stress på fisken. Etter fangst ble flere av fiskene oppbevart midlertidig i keepnett i vannet for å sikre levende oppbevaring fram til de ble avlivet og dissekert. Keepnett gir fisken mulighet til å opprettholde normale fysiologiske funksjoner før videre håndtering, i tillegg ble varigheten i keepnett begrenset til 48 timer for å minimere stress og belastning for torsken.

Som referansegruppe ble det også hentet torsk fra Tromsø ved hjelp av Guttorm Christensen. 10 individer ble samlet inn med formål om å etablere sammenlignbare referanseverdier for torskene i Oslofjorden. Prøvetaking av slim ble gjennomført umiddelbart ved oppfanging, for å sikre mest mulig ferskt biologisk materiale. Etter prøvetaking ble fiskene fryst ned og transportert til NMBU i Ås i frossen tilstand. Ved innsamling ble det utført lengdemålinger og vektregistrering på hver enkelt torsk for å samle inn grunnleggende biologiske data. Basert på lengde- og vektdata ble det beregnet kondisjonsfaktorer med Fultons K formel (F1). Det ble også beregnet lever-somatisk indeks (LSI) (F2).

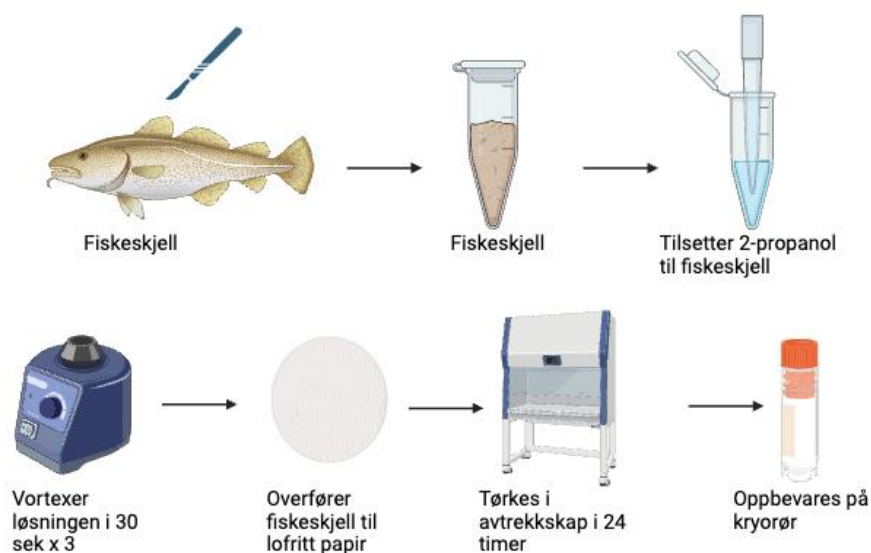
$$F1: K = \frac{100 * Vekt}{Lengde^3} \qquad F2: LSI = \frac{Levervekt}{Kroppsvekt} * 100$$

2.4. Prøvetakning

Fiskeskjell

Fiskeskjell ble skrapet fra hele overflaten av torsken, fra gjellene til halefinnen (Figur 5). De innsamlede skjellene ble fordelt på 5 mL Eppendorfrør. For å rense skjellene ble 2,5 mL 2-propanol (Carbajal et al., 2018) tilsatt til hvert rør, før prøvene ble plassert i en ristemaskin (vortex) og ristet i 30 sekunder. Etter risting bunnfalt skjellene, og 2-propanolen ble forsiktig fjernet med en pipette for å unngå tap av materiale. Denne renseprosedyren ble gjentatt tre ganger, med tilsetning av ny 2-propanol for hver runde. Etter rensing ble skjellene overført til lofritt papir på en petriskål og tørket i 24 timer ved romtemperatur i et avtrekkskap. De ferdigbehandlede skjellene ble til slutt oppbevart i en ultrafryser ved -80°C for å bevare dem inntil videre analyse.

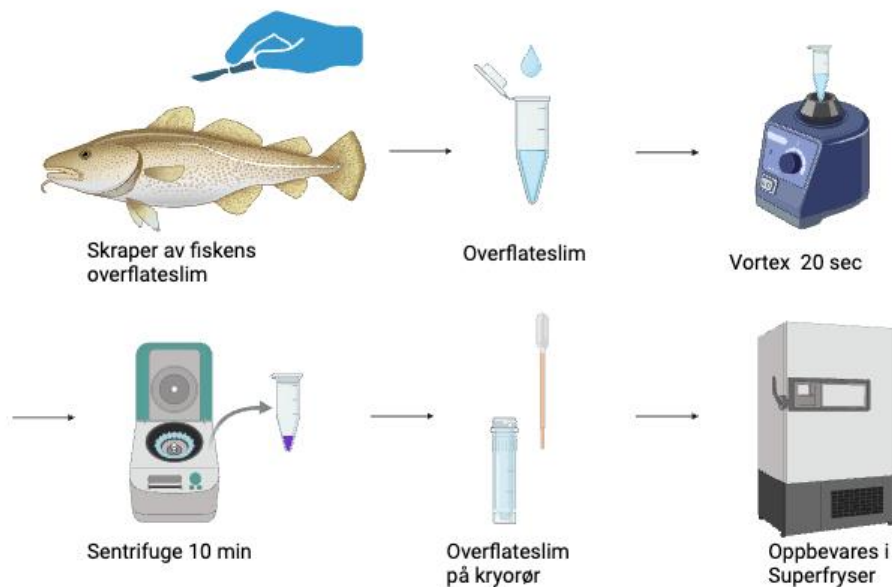
Fiskeskjellene ble preparert innen 72 timer, hvor de ble oppbevart i fryser frem til de ble behandlet. Unntaket er skjellprøvene fra torskene i Bærumsbassenget, som ble oppbevart i kjøleskap ved 4°C frem til de ble preparert innen 72 timer. Skjellprøvene ble så analysert på veterinærinstituttet. Analysene ble gjort ved bruk LC-MS/MS i henhold til protokoll laget av Daniela Dulgheriu (Vedlegg 1).



Figur 5. Illustrert prosedyre til prøvetakning av fiskeskjell. Laget i BioRender

Overflateslim

For slimprøvene ble overflateslimet skrapet forsiktig av torsken langs den laterale siden, fra hodet til halefinnen, ved hjelp av baksiden på en skalpell (Figur 6). Slimet ble deretter overført til 1,5 mL Eppendorfrør og homogenisert ved bruk av en ristemaskin i 20 sekunder. De homogeniserte prøvene ble deretter sentrifugert i 10 minutter. Etter sentrifugeringen ble overflateslimet fordelt i kryorør og oppbevart i en ultrafryser ved -80°C inntil videre analyse. Slimprøvene fra torskene i Bærumsbassenget var ikke tilstrekkelig for å kunne brukes til analyse av hormoner da de ble oppbevart i for store beholdere og ble oppbevart i kjøleskap i 2 dager. De resterende slimprøvene fra torsk i de andre sonene ble behandlet samme dag som prøvene ble tatt. Slimprøvene ble så analysert på Veterinærinstituttet. Analysene ble gjort ved bruk LC-MS/MS i henhold til protokoll laget av Daniela Dulgheriu (Vedlegg 1).



Created in BioRender.com 

Figur 6. Prosedyren til prøvetakning av fiskeslim illustrert. Laget i BioRender

Prøvetakning av andre biologiske prøver

En rekke andre biologiske prøver ble samlet inn fra torskene for å muliggjøre ulike analyser knyttet til miljøpåvirkning, helsestatus og fysiologiske parametere. Finneklipp ble samlet inn for DNA-analyser. Gjelleprøver ble samlet inn til både histologiske undersøkelser og biokjemiske analyser. Gonader, hjerte, milt og galleblære ble også samlet inn. Leverprøver ble innsamlet til fremtidig undersøkelse av miljøgifter (PFAS, POPer, metaller), oksidativt stress, enzymaktivitet og histologi. Magesekk ble bevart for å kunne gjøre senere diettundersøkelser. Nyreprøver ble innsamlet til histologiske undersøkelser. Muskelprøver ble tatt for å analysere for stabile isotoper, kvikksølv (Hg), og miljøgifter (POPer). Otolitter ble ekstrahert for å kunne aldersbestemme fisken, og hjerneprøver ble tatt for å kunne gjøre analyser av enzymaktivitet og vitamininnhold. Til slutt ble det tatt prøver fra ryggraden for å kunne analysere tungmetaller (særlig Pb) og andre relevante biokjemiske variabler. Alle prøvene ble oppbevart i vanlig fryser, utenom hjerne, blod, slim og skjellprøver. Disse ble oppbevart i superfryser i -80 °C. Hos torsk fra Tromsø ble det kun samlet inn skjell, DNA (finneklipp), lever, muskel og otolitt.

Aldersbestemmelse med otolitter

For aldersbestemmelse ble otolitter hentet ut fra hver torsk og rensert for vevsrester. Deretter ble de delt i to gjennom sentrum med en skalpell, og den ene halvdel ble forsiktig oppvarmet over en flamme til den fikk en nøttebrun farge. Oppvarmingen tydeliggjorde vintersonene, som deretter ble telt manuelt under en lupe for å fastsette fiskens alder (Vedlegg 2).

2.5. Kildebruk

Kunstig intelligens-verktøyet ChatGPT (OpenAI, 2025) er benyttet som støtte i arbeidet med denne masteroppgaven. Verktøyet har blitt brukt til språkvask og forbedring av faglig språkføring. Det er også brukt til teknisk bistand for å gi kode til utforming av figurer og gjennomføring av statistiske analyser i RStudio. Deler av innledningen er fra eget arbeid utarbeidet i forbindelse med emnet MINA310.

2.6. Dataprosessering og statistiske metoder

All analyse er gjennomført i R programvare (Versjon: 4.2.1 (2022-06-23)). Analysene er så utført i RStudio og inkluderer bruk av tidyverse, ggplot2, AICcmodavg, dplyr, car, og stats.

Kilde og forarbeid til miljødata

Data for miljøvariablene TOC (Total Organic Carbon), ODO (oksygenmetning), PFOA og PFOS er utarbeidet og analysert av Ane Mathilde Runge Christansen som del av et tilknyttet mastergradsprosjekt ved NMBU (Christansen, 2025). Beregningene, prøvehåndtering og leveranalyser ble gjennomført av henne underveis av denne oppgaven, og resultatene er gjort tilgjengelig for bruk her etter avtale.

Datasammenstilling og opprydding

Datainnsamlingen har resultert i flere separate datasett: biologiske målinger (bl.a. lengde, vekt, K-faktor, LSI, otolittalder), miljøvariabler per stasjon (bl.a. TOC i sediment og oksygenverdier i bunnvann), samt hormonmålinger (kortisol og kortison) fra både skjell og slim. For å gjøre dataene sammenlignbare ble alle datasettene slått sammen til et felles datasett i R. Koblingen mellom datasettene ble gjort via felles identifikatorer som individnummer og sone. Biologiske målinger og hormonprøver ble slått sammen på individnivå, mens miljødata ble knyttet til fisk basert på fangstlokalitet, ved å bruke gjennomsnittsverdier av TOC og gjennomsnittet av oksygen i bunnvann per lokalitet. Videre ble det utført transformasjoner og beregninger av nye variabler. Det ble også beregnet en ny variabel basert på forholdet mellom kortison og kortisol i både skjell og slim. Enkelte feil og avvik (f.eks. urealistiske verdier eller manglende data) ble fjernet etter visuell inspeksjon og filtrering.

Hypotesetesting og gruppesammenligninger

For å vurdere om det eksisterer statistisk signifikante forskjeller i biologiske eller hormonelle variabler mellom de ulike sonene, ble det brukt enveis variansanalyse (ANOVA) for kontinuerlige variabler som kortisol, kortison, kortison/kortisol-ratio, K-faktor og LSI. Ved signifikante ANOVA-resultater ble det gjennomført post-hoc-analyser med Tukey's HSD for å identifisere hvilke soner som skilte seg signifikant fra hverandre.

Modellering og variabelutvelgelse

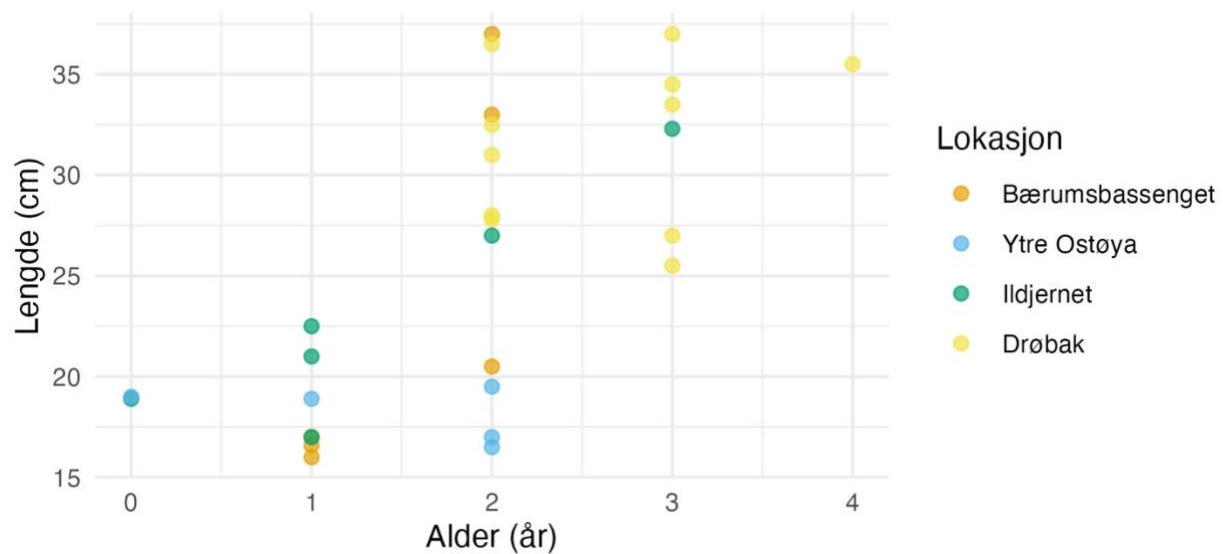
Som en del av målsettingen om å undersøke hvordan miljøstress og fysiologiske faktorer påvirker torskens helsetilstand, ble det benyttet lineær regresjonsmodellering. Målet var å identifisere hvilke variabler som forklarer mest av variasjonen av biologiske og hormonelle verdier. Spesielt ønsket jeg å avdekke hvilke faktorer som er assosiert med økte nivåer av kortisol og kortison, samt vurdere hva som driver variasjonen i fysiologiske indikatorer som leverstørrelse og kondisjonsfaktor. Modelleringen støtter dermed opp under problemstillingen, som handler om å kartlegge geografiske helseforskjeller og miljøbelastning hos torsk i Oslofjorden.

For å unngå overtilpasning og samtidig identifisere de mest forklarende variablene, ble modellene sammenlignet ved hjelp av AICc (Akaike's Information Criterion, korrigert for små utvalg). Dette tillot en systematisk vurdering av konkurrerende modeller, som inkluderte ulike kombinasjoner av forklaringsvariabler: fangstlokalitet (sone), TOC (total organisk karbon), alder, K-faktor, LSI, PFOS og PFAS, samt enkelte interaksjonseffekter. Modellen med lavest AICc ble vurdert som best støttet av data. Valget av AICc som utvalgskriterium er særlig hensiktsmessig i økologiske studier med relativt små utvalg, der kompleksitet må balanseres mot generaliserbarhet (Burnham et al., 1998; Symonds & Moussalli, 2011). For alle lineære modeller ble forutsetningene testet ved å inspisere residualplott for å sikre at antakelser om linearitet, normalfordeling og homoskedastisitet var tilfredsstillende oppfylt. Forutsetningene for linearitet ble vurdert ved inspeksjon av residualplott og Q–Q-plott. Den opprinnelige modellen for kortisol, kortison og kortison/kortisol forhold i skjell og slim viste noe heteroskedastisitet og avvik fra normalfordeling. Etter log-transformasjon ble residualfordelingen forbedret, med tilnærmet konstant varians og normalfordelte residualer. De log transformerte modellene ble derfor brukt i videre AIC-baserte modellutvalg.

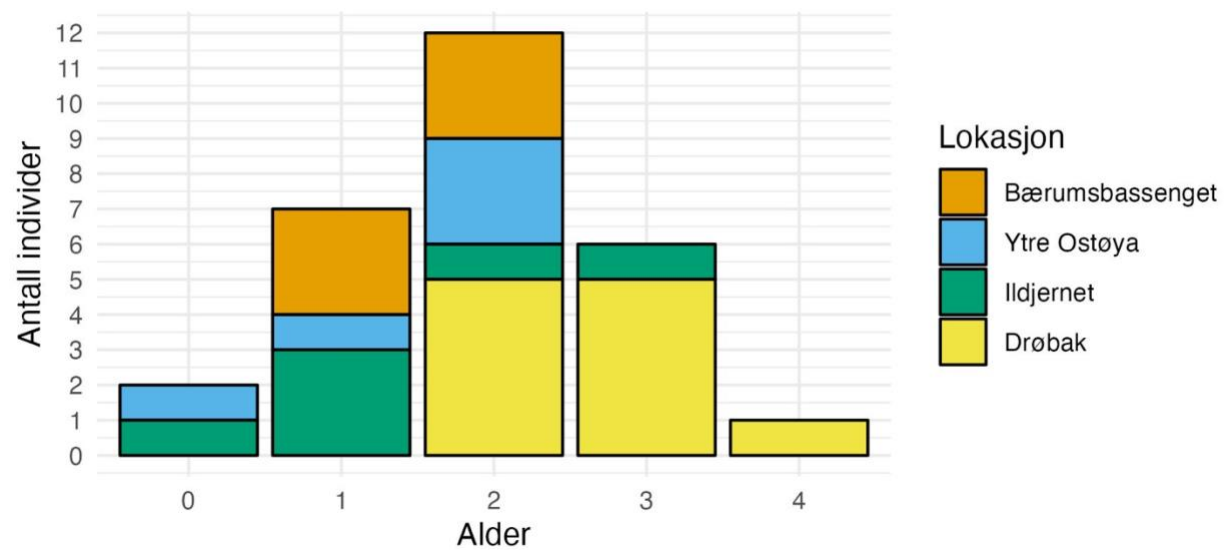
3. Resultat

3.1. Aldersstruktur

Torsken viste en forventet økning i lengde med alder, men aldersfordelingen varierte mellom lokasjonene (Figur 7 og 8). Eldre individer (2–4 år) dominerte i Drøbak og hadde høyere lengde enn jevnaldrende fra indre lokaliteter. I aldersgruppen 2 år oversteg mange individer fra Drøbak og enkelte fra Bærumsbassenget 30 cm, mens fisk fra Ytre Ostøya hovedsakelig lå under 22 cm. Yngre fisk (0–1 år) viste mindre lengdevariasjon og ble i hovedsak registrert i de indre områdene, som hadde en overvekt av unge individer (Tabell 1).



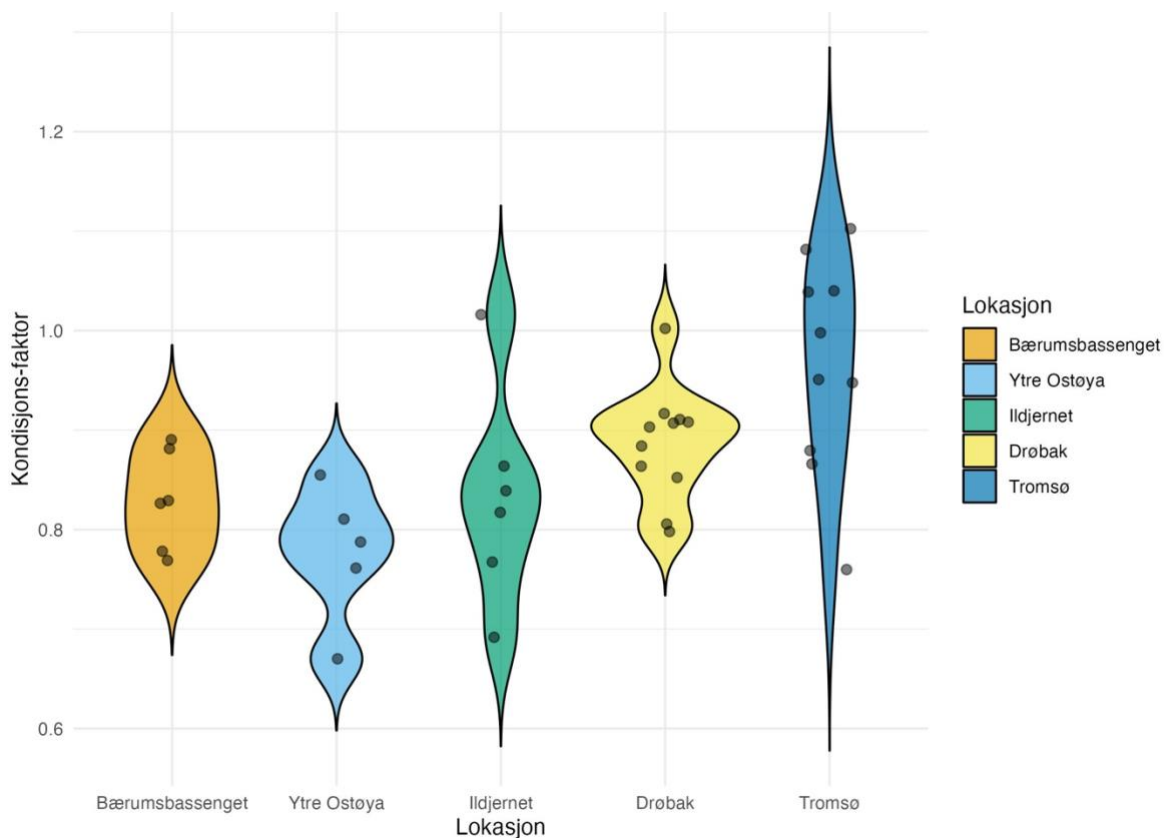
Figur 7. lengde ved gitt alder hos torsk fanget i ulike soner i Oslofjorden høst 2024. Hver prikk representerer et individ, fargekoden viser hvilken lokasjon fisken er hentet fra.



Figur 8. Aldersfordeling hos torsk (målt ved avlesning av otolitt) fordelt på fire soner fanget i Oslofjorden høst 2024. Hver søyle viser totalt antall individer i hver aldersgruppe (0–4 år), hvor farger representerer de ulike fangstsonene.

3.2. Kondisjonsfaktor (K-faktor)

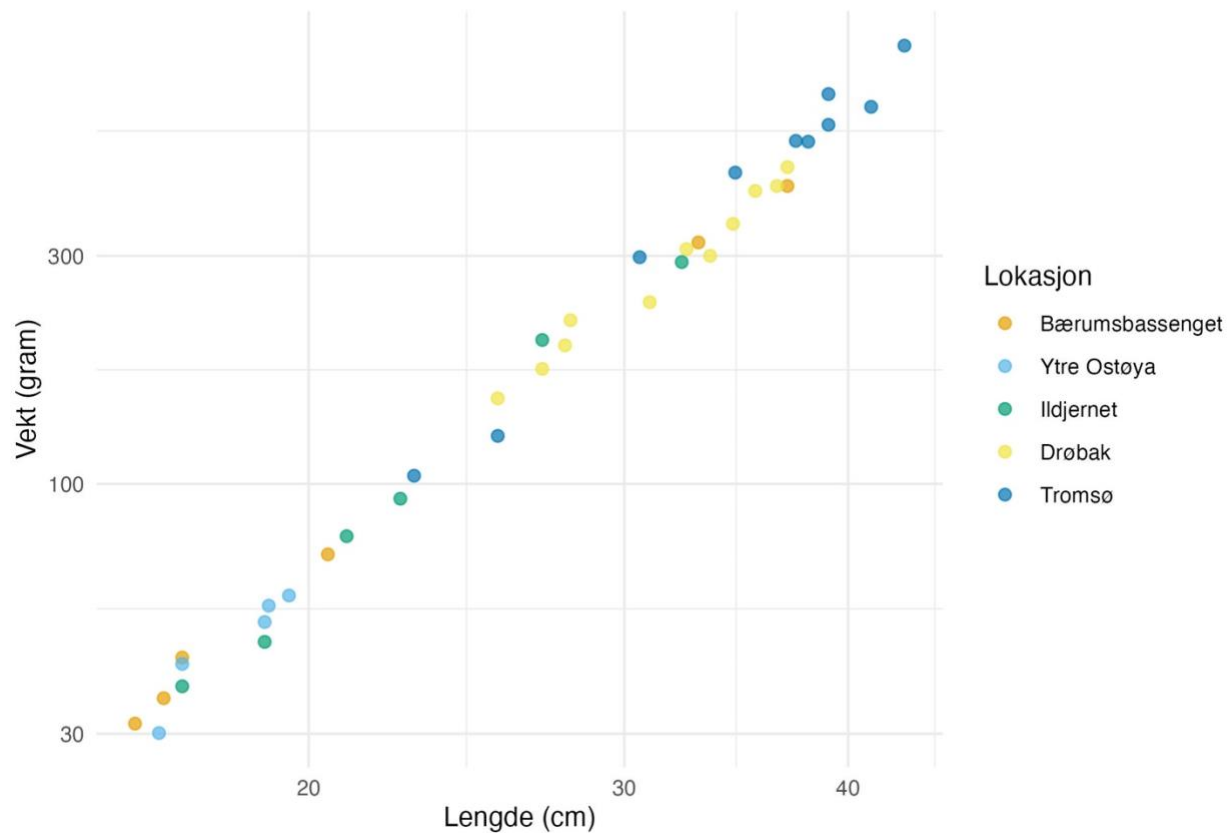
Torsk fra Tromsø hadde en gjennomgående høyere kondisjonsfaktor (Tabell 1, vedlegg) ($MD = 1,00$) enn fisk fra Oslofjorden, og stor spredning (Figur 9; Tabell 1). Drøbak og Ildjernet hadde også relativt høye medianverdier (0,90) og (0,83), mens Ytre Ostøya og Bærumsbassenget lå lavest, rundt (0,80), med minst spredning i sistnevnte. Tukey's post-hoc test (Tabell 2, vedlegg) viste at Tromsø-fisk hadde signifikant høyere kondisjonsfaktor enn fisk fra Bærumsbassenget, Ytre Ostøya og Ildjernet ($p < 0,05$). Øvrige sammenligninger var ikke signifikante, men en mulig trend mellom Ytre Ostøya og Drøbak ble indikert ($p = 0,12$).



Figur 9. Fordeling av kondisjonsfaktor (Fultons K) hos torsk fanget i ulike lokaliteter i Oslofjorden. Tromsø er brukt som referanseområdet. Hver prikk representerer et individ, mens fiolindigrammet viser fordelingen av verdier innen hver lokalitet der tjukkere fiolindeler viser hvor det er flest observasjoner

3.3. Lengde - vekt forhold

Det ble det observert en tydelig positiv sammenheng mellom torskens lengde og vekt (Figur 10). Dette innebærer at vekten økte i takt med lengden.



Figur 10. Lengde (cm) ved vekt (gram) i log10 skala hos torsk i ulike soner i Oslofjorden høsten 2024 og Tromsø februar 2025. Hver farge representerer en sone i Oslofjordgradienten fra Ytre (Drøbak) til indre fjord (Bærumsbassenget) og referansesone (Tromsø). Aksene er på logaritmisk skala.

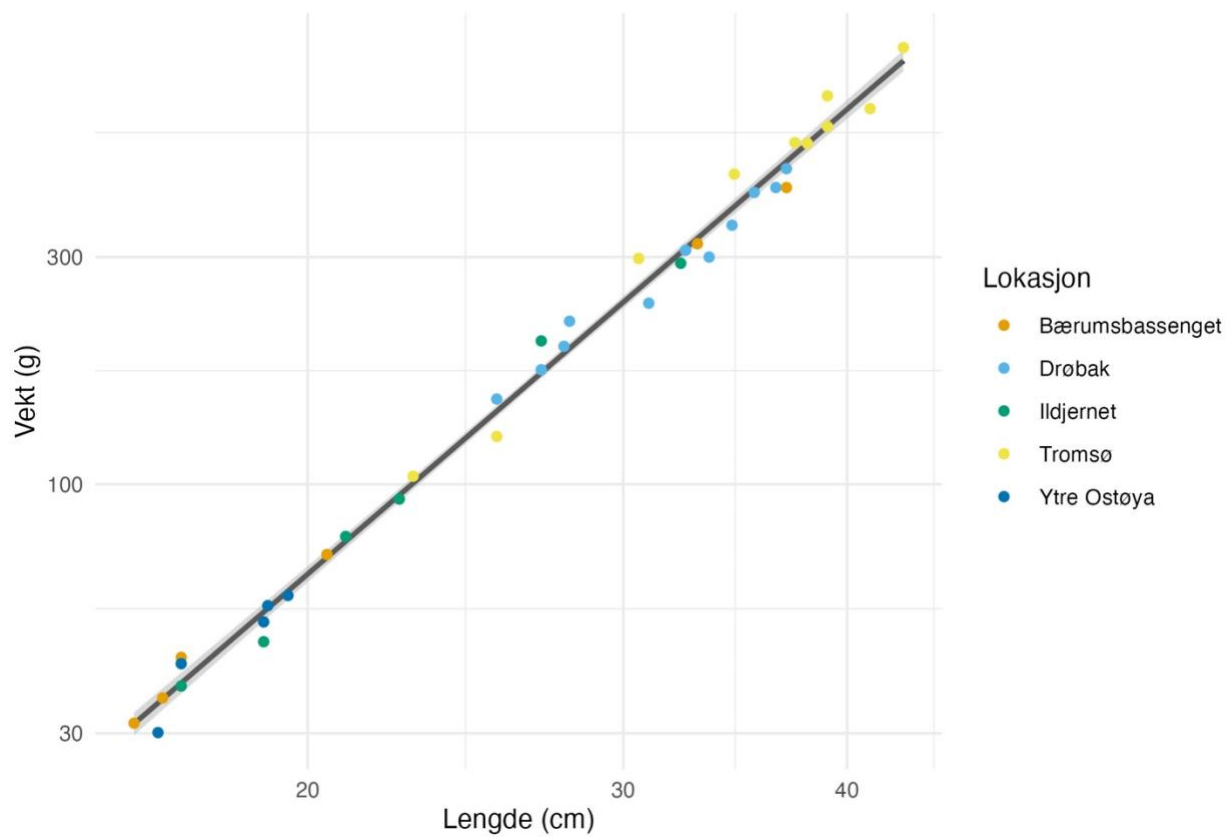
Modellseleksjonen (Tabell 3) viste at modellen som kun inkluderte lengde, hadde størst støtte for å forklare variasjonen i vekt hos torsk. ($AIC_c = -57,26$; $AIC_cWt = 0,59$). Modeller som også inkluderer TOC og bunnvannsoksygen (ODO) hadde noe høyere AIC_c -verdier, men liten støtte.

Tabell 3. Modellseleksjon (AICc) for å forklare log-transformert vekt hos torsk fanget i Oslofjorden høst 2024. Modellene inkluderer ulike kombinasjoner av forklaringsvariablene log-transformert lengde (log(Lengde_cm)), sone, TOC og bunnvannsoksygen (ODO). Modellene er rangert etter Akaike's Information Criterion korrigert for små utvalg (AICc).

Modell	K	AICc	Δ AICc	AICcWt	LL
log(Lengde)	3	-57,26	0,00	0,59	32,13
log(Lengde)+TOC	4	-54,64	2,63	0,16	32,19
log(Lengde)+ODO	4	-54,53	2,73	0,15	32,14
log(Lengde)*TOC	5	-52,32	4,94	0,05	32,52
log(Lengde)*ODO	5	-51,92	5,34	0,04	32,33
log(Lengde)+Sone	6	-49,66	7,60	0,01	32,83
log(Lengde)*Sone	9	-44,62	12,64	0,00	36,31
Sone	5	67,20	124,47	0,00	-27,24
Snitt	2	80,18	137,45	0,00	-37,85

Resultatene fra regresjonsanalysen, basert på modellen med størst støtte (Tabell 3), viste en sterk, positiv og signifikant sammenheng mellom log-transformert vekt og log-transformert lengde hos torsk (Tabell 4, vedlegg). Regresjonsmodellen forklarte en svært høy andel av variasjonen i log(vekt), med en justert R^2 -verdi på 0,993. Tilhørende estimat for koeffisienten til log(lengde) var 3,17. Resultatene fra ANOVA viste at modellen var statistisk signifikant ($SS = 24,31$; $F = 3828$; $p < 0,001$).

Det smale konfidensintervallet langs regresjonslinjen (Figur 11) indikerte høy presisjon i prediksjonen, noe som også ble underbygget av at de fleste datapunktene lå tett rundt linjen.



Figur 11. Prediksjonsplott mellom lengde og vekt hos torsk fra Oslofjord høst 2024 og Tromsø februar 2025, fremstilt i log10 skala. Den svarte linjen viser predikert vekt basert på log transformert lengde, med grått bånd som illustrerer 95 % konfidensintervall. Punktfargene representerer de ulike lokasjonene der fiskene ble samlet inn. Prediksjonene ble utført ved å bruke den utvalgte lengde-vekt-modellen fra Tabell 3.

3.4. Lever-somatisk indeks (LSI)

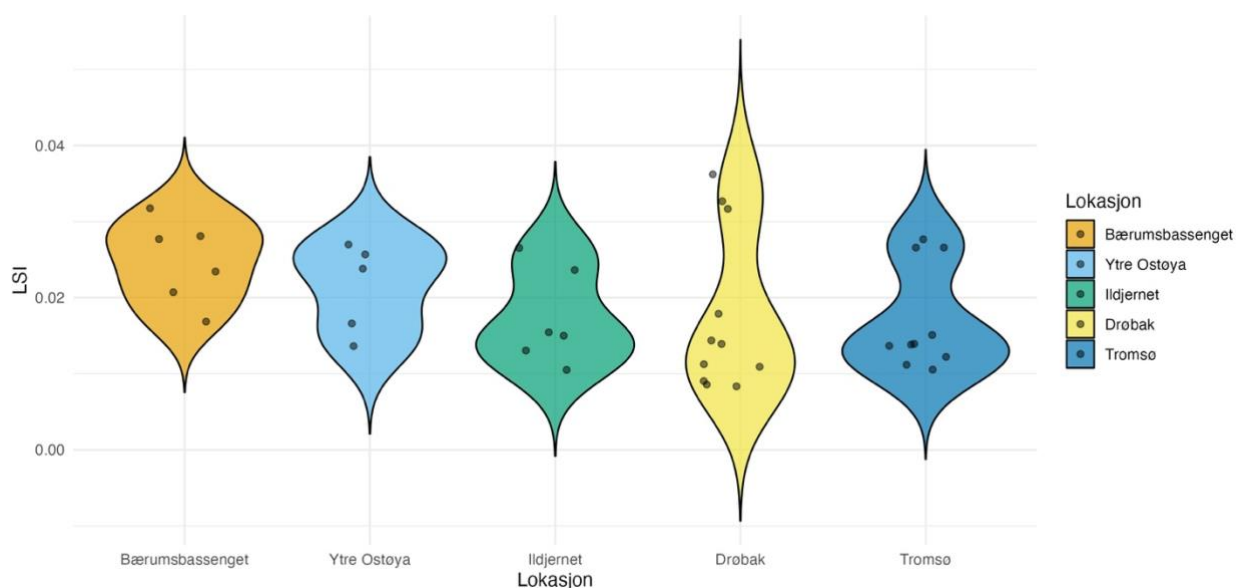
LSI viste litt variasjon mellom de fem undersøkte lokasjonene (Tabell 5, vedlegg; Figur 12).

Gjennomsnittet varierte mellom 1,7 % og 2,5 %, med standardavvik fra 0,5 % til 1,1 %.

Bærumsbassenget hadde høyest medianverdi (2,6 %), etterfulgt av Ytre Ostøya (2,4 %) og Ildjernet (1,5 %), mens Drøbak og Tromsø lå lavest (1,4 %).

Bærumsbassenget og Ytre Ostøya hadde noe bredere variasjon og høyere konsentrasjon av LSI-verdier i det øvre området av skalaen, mens Drøbak og Tromsø viste en smalere fordeling rundt de lavere verdiene. I Ildjernet og Drøbak var fordelingen mer skjev mot de laveste verdiene.

Enveis ANOVA (Tabell 6, vedlegg) viste ingen signifikante forskjeller i LSI mellom lokalitetene ($F(4, 33) = 1,197, p = 0,33$).



Figur 12. Fiolinplott viser LSI for torsk fanget i Oslofjorden høsten 2024 og Tromsø februar 2025. Hver prikk representerer et individ, mens fiolindiagrammet viser fordelingen og tettheten av verdier innen hver lokalitet.

Blant de testede modellene (Tabell 7), fikk modellen med TOC som eneste forklaringsvariabel mest støtte (AICc = -186,91; AICcWt = 0,29). Modeller som også inkluderer bunnvannsoksygen (ODO), snitt og lengde hadde også lave AICc-verdier, men liten støtte.

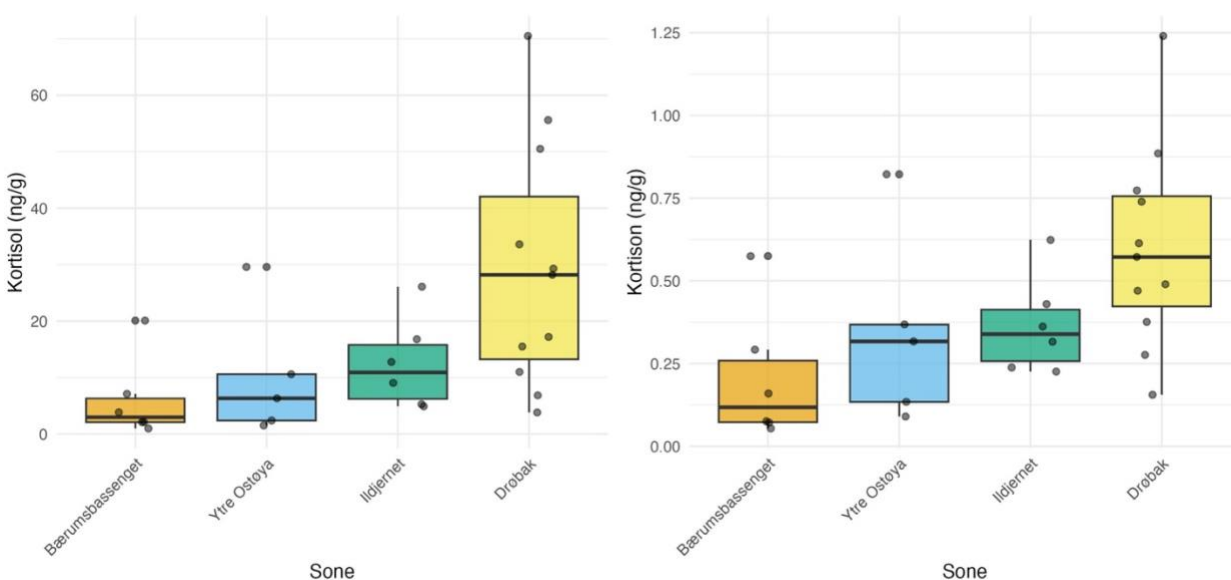
Tabell 7. Modellseleksjon (AICc) for å forklare variasjon i LSI hos torsk i Oslofjorden fanget høst 2024. Modellene inkluderer ulike kombinasjoner av forklaringsvariablene lengde, sone, TOC og oksygeninnivå (ODO), Kortisol_skjell, Kortison_skjell, Kortison/Kortisol ratio i skjell. Modellene er rangert etter Akaike's Information Criterion korrigert for små utvalg (AICc).

Model	K	AICc	$\Delta AICc$	AICcWt	LL
TOC	3	-186,91	0,00	0,29	96,95
ODO	3	-185,68	1,23	0,16	96,34
Snitt	2	-185,54	1,37	0,15	95,01
Lengde	3	-185,21	1,70	0,12	96,11
Kortison_Kortisol_ratio_skjell	3	-183,59	3,32	0,06	95,29
Alder	3	-183,51	3,40	0,05	95,25
Kortisol.skjell	3	-183,13	3,78	0,04	95,06
Kortison.skjell	3	-183,04	3,87	0,04	95,02
Sone	5	-181,24	5,67	0,02	96,98
Sone + TOC	5	-181,24	5,67	0,02	96,98
Sone + ODO	5	-181,24	5,67	0,02	96,98
Sone + TOC + ODO	5	-181,24	5,67	0,02	96,98
Sone * TOC	5	-181,24	5,67	0,02	96,98

Resultatene fra regresjonsanalysen basert på modellen med mest støtte (Tabell 7) viste en positiv sammenheng mellom total organisk karbon (TOC) og leverstørrelse hos torsk (Tabell 8, vedlegg). Høyere TOC-nivåer var assosiert med økt LSI (Est= 0,003; SE = 0,001). Modellen var nær statistisk signifikant ($F = 3,870$, $p = 0,06$), og forklarte en begrenset andel av variasjonen i LSI (justert $R^2 = 0,096$). Prediksjonsplottet (Figur 13) illustrer høyere nivåer av total organisk karbon (TOC) assosiert med økt predikert leverstørrelse.

3.5. Skjell - Kortisol og kortison

Resultatene fra målingene av kortisol og kortison i fiskeskjell utgjorde en tydelig gradient i hormonverdier fra indre til ytre del av fjorden (Figur 14; Tabell 9). Gjennomsnittlig kortisolnivå var høyest i Drøbak (29,3 ng/g), etterfulgt av Ildjernet (12,5 ng/g), Ytre Ostøya (10,1 ng/g), og lavest i Bærumsbassenget (6,0 ng/g). Medianverdiene fulgte tilnærmet samme mønster. For kortison, var gjennomsnittsnivået også høyest i Drøbak (0,60 ng/g), etterfulgt av Ildjernet (0,37 ng/g), Ytre Ostøya (0,35 ng/g), og lavest i Bærumsbassenget (0,21 ng/g). Resultatene fra enveis ANOVA (Tabell 10, vedlegg) viste at forskjellene mellom sonene var statistisk signifikante for både log transformert kortisol ($F_{3,24} = 5,10$; $p = 0,007$) og log transformert kortison ($F_{3,24} = 4,90$; $p = 0,009$).



Figur 14. Viser fordeling av kortisol (venstre panel) og kortison (høyre panel) målt i fiskeskjell fra torsk fanget i fire ulike soner i Oslofjorden (Fra indre til ytre del). Hver prikk representerer et individ, og boksplottet viser median og variasjonsområde for hver sone.

Tabell 9. Statistikk for kortisol og kortison i fiskeskjell, som viser Antall fisk (N), gjennomsnittlig kondisjonsfaktor (Gj.snitt), standardavvik (SD) og median (MD) for hver sone.

SONE	KORTISOL				KORTISON			
	N	GJ.SNITT	SD	MD	N	GJ.SNITT	SD	MD
BÆRUMSBASSENGET	6	6,05	7,21	2,98	6	0,20	0,20	0,12
YTRE OSTØYA	5	10,09	11,48	6,33	5	0,35	0,29	0,32
ILDJERNET	6	12,49	8,06	10,91	6	0,37	0,15	0,34
DRØBAK	11	29,28	21,64	28,2	11	0,59	0,30	0,57

Modellseleksjonen (Tabell 11) viste at modellen med både sone og kondisjonsfaktor hadde mest støtte for å forklare variasjonen i log-transformert kortisol i skjell hos torsk (AICc = 84,28; AICcWt = 0,35), tett fulgt av modellen med kun sone (AICc = 85,03; AICcWt = 0,24). Øvrige modeller hadde vesentlig lavere støtte og ble vurdert som mindre forklaringsdyktige.

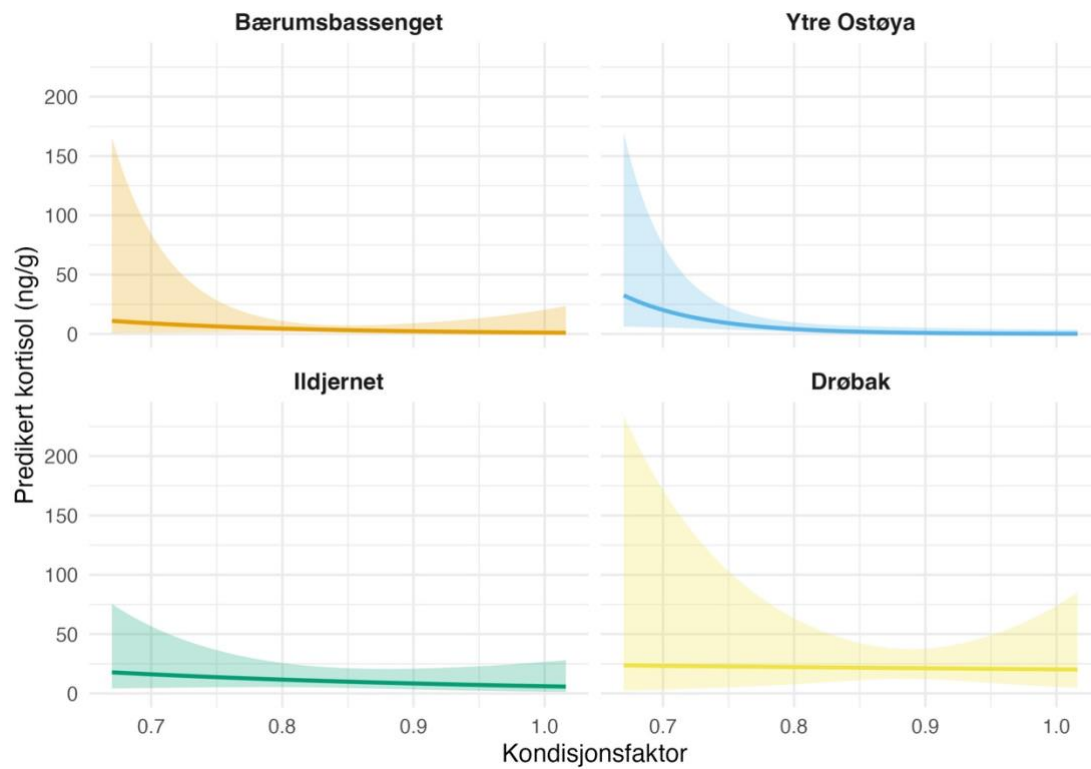
Tabell 11. Modellseleksjon (AICc) for å forklare variasjon i log transformert kortisolnivå i skjell hos torsk fanget i Oslofjorden høsten 2024. Modellene inkluderer kombinasjoner av biologiske og miljømessige forklaringsvariabler som sone (lokasjon), PFOA, PFOS, Alder og LSI

Modell	K	AICc	$\Delta AICc$	AICcWt	LL
Sone + K_faktor	6	84,28	0,00	0,35	-34,14
Sone	5	85,03	0,76	0,24	-36,15
Sone + PFOA	6	85,19	0,91	0,22	-34,59
Sone + PFOS	6	87,17	2,89	0,08	-35,59
PFOS + PFOA + Sone	7	88,60	4,32	0,04	-34,50
Snitt	2	90,54	6,26	0,02	-43,03
Alder	3	91,85	7,58	0,01	-42,43
PFOA	3	91,99	7,71	0,01	-42,49
PFOS	3	92,00	7,72	0,01	-42,50
PFOS + PFOA	4	92,31	8,04	0,01	-41,29
LSI	3	92,57	8,30	0,01	-42,79
K_faktor	3	93,06	8,78	0,00	-43,03
Alder + LSI	4	94,27	9,99	0,00	-42,27
K_faktor * LSI	5	97,63	13,35	0,00	-42,45

Resultatene fra regresjonsanalysen basert på modellen med mest støtte (Tabell 11) viste at både sone og kondisjonsfaktor bidrar til å forklare variasjonen i kortisolnivå i skjell hos torsk (Tabell 12, vedlegg). Torsken fra Drøbak hadde et estimat på 2,04, noe som tilsier et høyere kortisolnivå sammenlignet med Bærumsbassenget. Estimaten for Ildjernet (1,06) og Ytre Ostøya (0,22) indikerer en svakere, men fortsatt positiv økning i kortisolnivå i disse områdene sammenlignet med Bærumsbassenget. Videre viste analysen en negativ sammenheng mellom kondisjonsfaktor og kortisolnivå, med et estimat på -4,87. Dette innebærer at individer med lavere kondisjonsfaktor hadde tendens til høyere nivåer av kortisol. ANOVA-resultatene viste at sone forklarte en større andel av variasjonen i kortisolnivå ($SS = 13,75$; $F = 5,61$) enn kondisjonsfaktor ($SS = 2,91$; $F = 3,56$). P-verdien for kondisjonsfaktor var 0,07, noe som ikke er statistisk signifikant, men ligger nær det konvensjonelle signifikansnivået. Modellen hadde en justert R^2 -verdi på 0,38, noe som betyr at omtrent 38 % av variasjonen i kortisolnivå kunne forklares av kombinasjonen av sone og kondisjonsfaktor.

Det ble funnet signifikante forskjeller i både log-transformerte kortisol- og kortisonnivåer i torskeskjell mellom sonene i Oslofjorden (Tabell 13, vedlegg). Tukey's post-hoc-test viste at nivåene i Drøbak var signifikant høyere enn i Bærumsbassenget for både kortisol ($p = 0,01$) og kortison ($p = 0,01$). I tillegg nærmet forskjellen mellom Drøbak og Ytre Ostøya seg signifikans for kortisol ($p = 0,08$). Ingen andre sammenligninger viste seg å være statistisk signifikante.

Kortisolnivået i skjell viste en tydelig negativ sammenheng med kondisjonsfaktor i Bærumsbassenget og Ytre Ostøya, mens denne sammenhengen var svakere i Ildjernet og fraværende i Drøbak (Figur 15). Dette viser at torsk med lavere kondisjon i enkelte deler av fjorden hadde høyere predikert kortisolnivå. Den bratteste nedgangen ble observert i Ytre Ostøya, hvor kortisolnivået falt markant med økende kondisjonsfaktor. I Drøbak var trenden i nedgangen ikke like bratt, mens kortisolnivået i Ildjernet holdt seg relativt konstant uavhengig av kondisjonsfaktor.

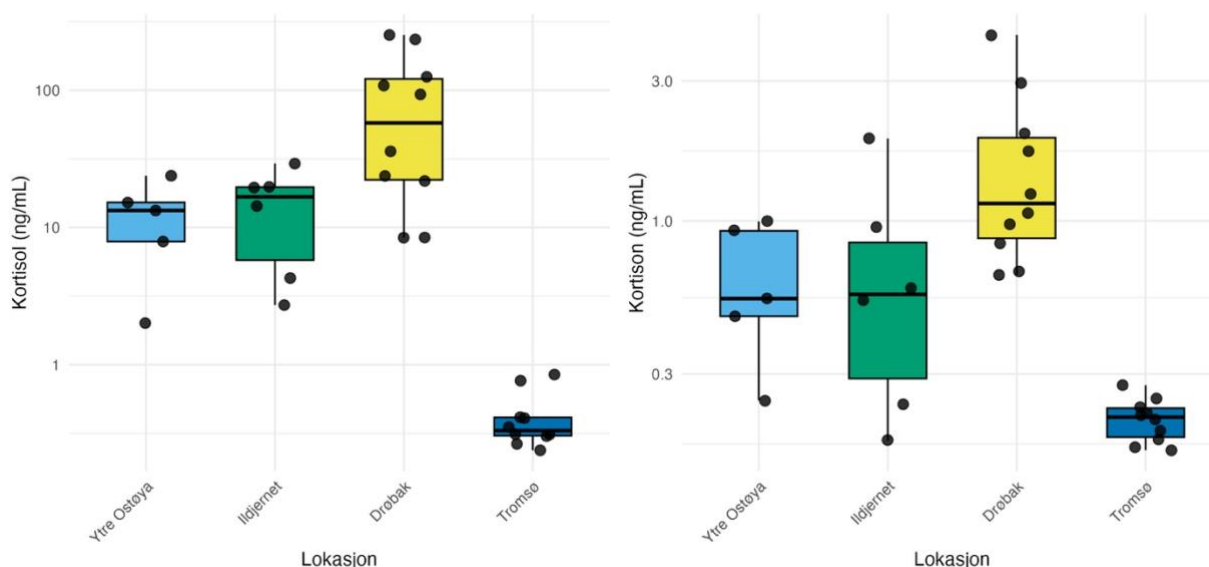


Figur 15. Predikert log-transformert kortisolnivå (ng/g) i fiskeskjell hos torsk fanget i ulike soner i Oslofjorden høst 2024, som en funksjon av kondisjonsfaktor. Plottet viser predikert log-kortisol basert på en lineær regresjonsmodell med interaksjon mellom sone og kondisjonsfaktor (k_faktor), inkludert 95 % konfidensintervaller (skyggelagte områder).

3.6. Slim - Kortisol og kortison

Målinger av kortisol i torskeslim viste tydelige og statistisk signifikante forskjeller mellom sonene (Figur 15; Tabell 14). Gjennomsnittlig kortisolnivå var høyest i Drøbak (91,0 ng/mL), etterfulgt av Ildjernet (14,9 ng/mL) og Ytre Ostøya (12,4 ng/mL), mens Tromsø hadde det laveste nivået (0,42 ng/mL). Spredningen var også betydelig større i Drøbak (SD = 90,6). Medianen i Drøbak (64,5 ng/mL) lå vesentlig høyere enn i de andre sonene, hvor verdiene varierte fra 13,3 til 0,33 ng/mL. En enveis ANOVA på log-transformerte verdier (Tabell 15, vedlegg) bekreftet at forskjellen i slimkortisol mellom sonene var statistisk signifikant ($F_{3,27} = 45,81$; $p < 0,0001$)

Nivåene av kortison i slim fulgte et lignende mønster som kortisol (Figur 16; Tabell 14). Drøbak hadde det høyeste gjennomsnittet (1,64 ng/mL) og medianverdien (1,15 ng/mL), etterfulgt av Ildjernet og Ytre Ostøya, med verdier rundt 0,7 ng/mL. Tromsø hadde det laveste kortisonnivået med både gjennomsnitt og median på 0,21 ng/mL. En enveis ANOVA av log-transformerte kortison verdier (Tabell 15, vedlegg) viste også en signifikant forskjell mellom sonene ($F_{3,27} = 17,58$; $p < 0,0001$).



Figur 16. Viser fordeling av kortisol (venstre panel) og kortison (høyre panel) på log10 skala målt i fiskeslim fra torsk fanget i tre ulike soner i Oslofjorden (Fra indre til ytre del) og Tromsø. Hver prikk representerer et individ, og boksplottet viser median og variasjonsområde for hver sone.

Tabell 14. Statistikk for kortisol og kortison i torskeslim, som viser antall fisk (N), gjennomsnittlig kondisjonsfaktor (Gj.snitt), standardavvik (SD) og median (MD) for hver sone.

SONE	KORTISOL				KORTSION			
	N	Gj.Snitt	SD	MD	N	Gj.Snitt	SD	MD
YTRE OSTØYA	5	12,44	8,17	13,3	5	0,64	0,317	0,54
ILDJERNET	6	14,95	10,1	16,9	6	0,73	0,640	0,56
DRØBAK	10	91,03	90,57	64,5	10	1,64	1,177	1,15
TROMSØ	10	0,42	0,21	0,33	10	0,21	0,035	0,21

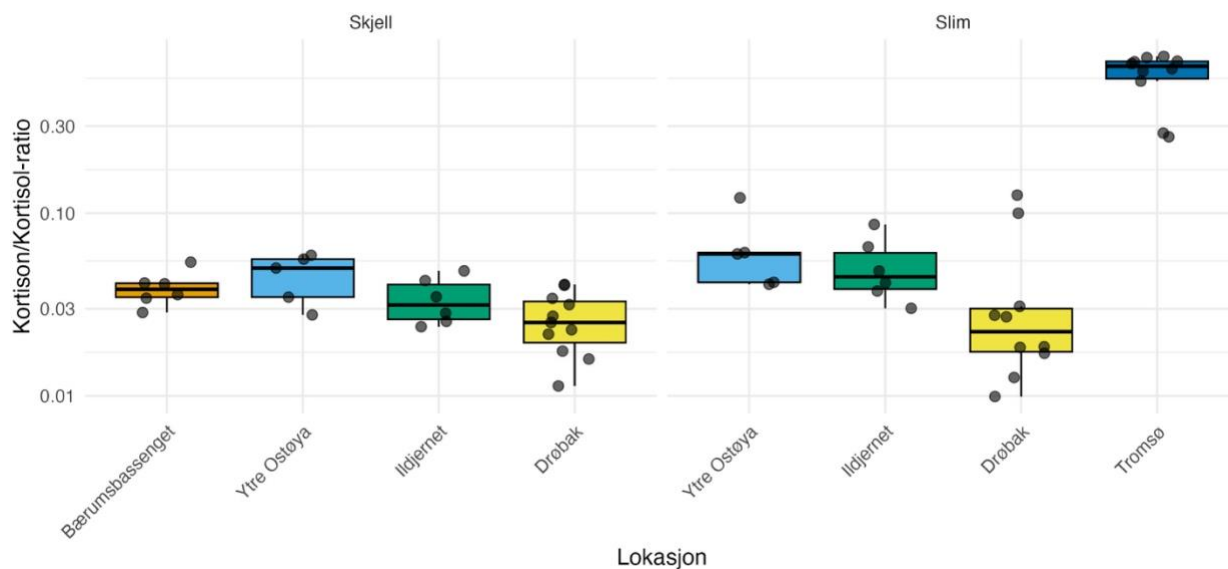
Tukey's HSD post-hoc-test (Tabell 16, vedlegg) viste at Tromsø hadde signifikant lavere kortisol sammenlignet med alle andre soner ($p < 0,05$). I tillegg var det signifikante forskjeller mellom Drøbak og både Ytre Ostøya ($p = 0,02$) og Ildjernet ($p = 0,02$). Forskjellen mellom Ildjernet og Ytre Ostøya var ikke signifikant ($p = 0,99$).

For kortisonnivåer i slim ble det funnet signifikant lavere verdier i Tromsø sammenlignet med de øvrige lokalitetene i Oslofjorden ($p < 0,05$). Signifikante forskjeller ble også funnet mellom Drøbak og Ytre Ostøya, og mellom Drøbak og Ildjernet ($p < 0,05$). Derimot var forskjellen mellom Ildjernet og Ytre Ostøya ikke signifikant ($p = 1,00$).

3.7. Kortison/kortisol-forhold

Kortison/kortisol-forholdet varierte mellom ulike soner i Oslofjorden, og var påvirket av vevstypen som ble analysert (Figur 17; Tabell 17). I skjell var forholdet høyest i Ytre Ostøya (gj.snitt = 0,045), etterfulgt av Bærumsbassenget (0,039), Ildjernet (0,034) og lavest i Drøbak (0,026). Medianverdiene fulgte samme mønster. En enveis ANOVA (Tabell 20, vedlegg) av kortison/kortisol-forhold i skjell viste en signifikant forskjell mellom sonene ($F_{3,27} = 4,66$; $p = 0,011$).

I slimprøvene var det et lignende mønster, men her manglet det slimprøver fra Bærumsbassenget. Gjennomsnittlig kortison/kortisol-forhold var høyest i Tromsø (0,572), som også har den høyeste medianverdien (0,638). Blant Oslofjord-sonene var den gjennomsnittlige slim-ratioen høyest i Ytre Ostøya (0,065) tett etterfulgt av Ildjernet (0,052), mens Drøbak har de laveste verdiene (0,039). En enveis ANOVA (Tabell 20, vedlegg) av log-transformert kortison/kortisol-forhold i slim viste en tydelig signifikant forskjell mellom sonene ($F_{3,27} = 49,76$; $p < 0,0001$).



Figur 17. Kortison/kortisol-forhold i log10 skala fra torsk i ulike soner i Oslofjorden og Tromsø, målt i to ulike vevstyper: skjell (venstre panel) og slim (høyre panel). Hver boks viser median, interkvartilområde og spredning i ratioen for hver lokalitet. Hver prikk representerer et individ.

Tabell 17. Statistikk for kortison/kortisol-forhold i fiskeslim og skjell, som viser Antall fisk (N), gjennomsnitt (Gj.snitt), standardavvik (SD) og median (MD) for hver sone.

SONE	SKJELL				SLIM			
	N	Gj.snitt	SD	MD	N	Gj.snitt	SD	MD
BÆRUMSBASSENGET	6	0.039	0.009	0.038				
DRØBAK	11	0.026	0.01	0.025	11	0.039	0.04	0.023
ILDJERNET	6	0.034	0.01	0.032	6	0.052	0.021	0.045
YTRE OSTØYA	5	0.045	0.014	0.05	5	0.065	0.033	0.06
TROMSØ					10	0.572	0.17	0.638

Modellseleksjonen (Tabell 18) viste at modellen med sone hadde mest støtte for å forklare variasjonen i kortison/kortisol-forholdet i skjell ($AICc = -169,42$; $AICcWt = 0,20$). Variabler som alder, LSI og kondisjonsfaktor alene førte til modeller med høyere $AICc$ -verdier og ble derfor vurdert som mindre egnet. Modellene som inkluderte miljøgifter som PFOA og PFOS, både alene og i kombinasjon med sone, oppnådde heller ikke tilstrekkelig med støtte.

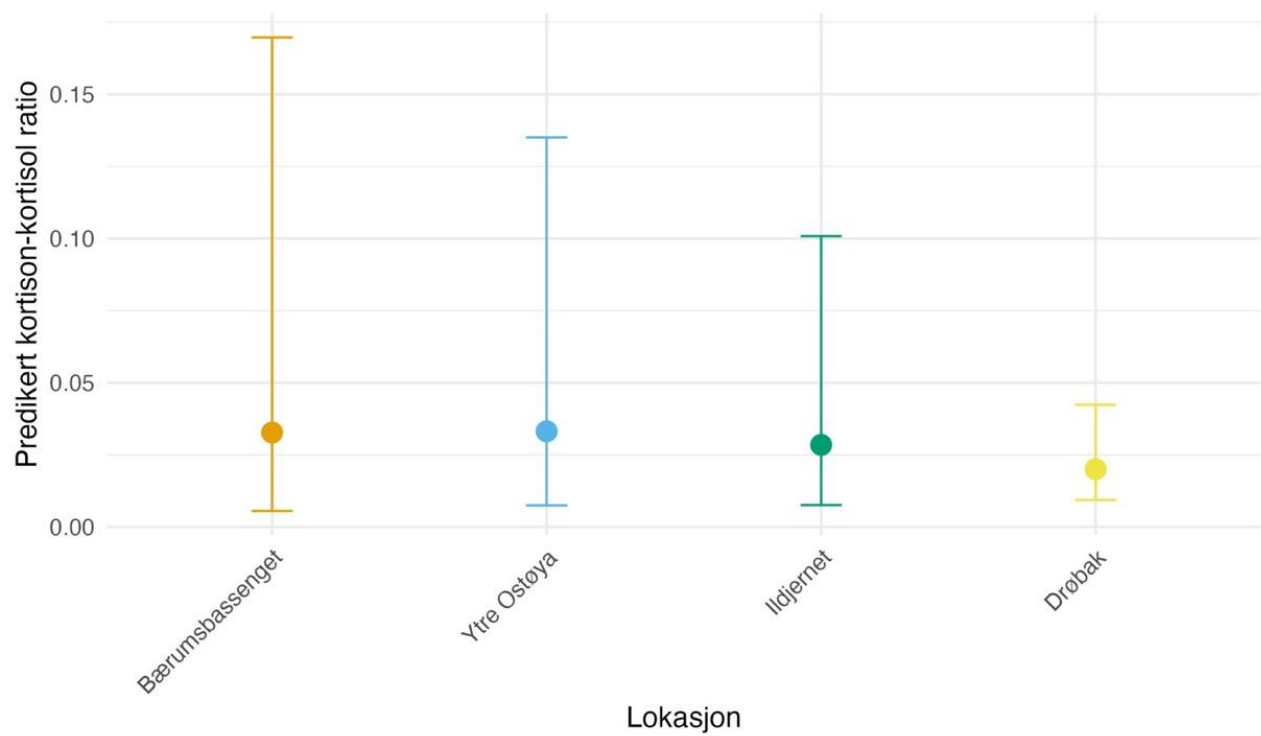
Tabell 18. Modellseleksjon ($AICc$) for å forklare variasjon i kortison/kortisol forhold i skjell hos torsk fanget i Oslofjorden høsten 2024. Modellene inkluderer kombinasjoner av biologiske og miljømessige forklaringsvariabler som sone (lokasjon), PFOA, PFOS, alder, LSI, kondisjonsfaktor og oksygen i bunnvannet (ODO)

Modell	K	$AICc$	Δ_AICc	$AICcWt$	LL
Sone	5	-168.42	0	0.32	90.57
Sone + K_faktor	6	-167.73	0.69	0.23	91.87
PFOA + Sone	6	-166.79	1.63	0.14	91.4
PFOS + Sone	6	-165.75	2.68	0.08	90.87
ODO	3	-164.94	3.48	0.06	85.97
Snitt	2	-163.82	4.6	0.03	84.15
Lengde	3	-163.55	4.87	0.03	85.28
Alder	3	-163.47	4.95	0.03	85.24
PFOS	3	-162.59	5.83	0.02	84.8
ODO + K_faktor	4	-162.23	6.19	0.01	85.98
PFOA	3	-162.23	6.19	0.01	84.61
LSI	3	-161.87	6.55	0.01	84.44
K_faktor	3	-161.61	6.82	0.01	84.3
Alder + K_faktor	4	-160.76	7.66	0.01	85.25
K_faktor + LSI	4	-159.34	9.08	0	84.54
K_faktor * LSI	5	-156.84	11.58	0	84.78

Resultatene fra regresjonsanalysen (Tabell 19, vedlegg) basert på modellen med mest støtte (Tabell 18) viste at sone forklarte en signifikant andel ($F = 4,657$; $p = 0,01$) av variasjonen i kortison/kortisol-forholdet i skjell hos torsk, med et justert forklaringsnivå på $R^2 = 0,289$. Estimaten viste at torsken fra Drøbak hadde et lavere forhold mellom kortison og kortisol sammenlignet med Bærumsbassenget ($Est = -0,012$), det samme gjelder Ildjernet ($Est = -0,005$), mens Ytre Ostøya hadde et noe høyere forhold ($Est = 0,006$).

For kortison/kortisol-forhold i skjell viste Tukey's HSD post-hoc-test (Tabell 21, vedlegg) signifikant forskjell mellom Drøbak og Ytre Ostøya ($p = 0,01$). I tillegg ble det observert en nær signifikant forskjell mellom Drøbak og Bærumsbassenget ($p = 0,09$). Øvrige sammenligninger var ikke signifikante ($p > 0,05$). For kortison/kortisol forholdet i slim viste Tukey's HSD post-hoc-test (Tabell 22, vedlegg) at Tromsø skilte seg signifikant fra alle Oslofjord-sonene ($p < 0,001$). I tillegg var forskjellen mellom Drøbak og Ytre Ostøya nær signifikans ($p = 0,08$). Øvrige sammenligninger var ikke signifikante ($p > 0,05$).

Det predikerte forholdet mellom kortison og kortisol i skjell var høyest i Bærumsbassenget og lavest i Drøbak (Figur 18). Ytre Ostøya og Ildjernet viste verdier imellom, med relativt like prediksjoner.



Figur 18. Predikert forhold mellom kortison og kortisol i skjell hos torsk fanget ved ulike lokasjoner i Oslofjorden høst 2024. Prediksjonene er basert på en generalisert lineær modell (GLM) med binomialfordeling og logit-link, hvor sone ble brukt som forklaringsvariabel. Punktestimatene representerer predikert gjennomsnittlig kortison/kortisol-forhold for hver sone, og vertikale linjer viser 95 % konfidensintervall. Prediksjonene ble utført ved å bruke den utvalgte modellen fra Tabell 18.

4. Diskusjon

4.1. Hormonelle stressresponser langs miljøgradienten i Oslofjorden

Resultatene fra både skjell- og slimprøver viste at torsk fanget i Drøbak hadde høyere nivåer av både kortisol og kortison enn individer fra de indre delene av Oslofjorden. Det ble dermed observert en økende trend i hormonnivåer fra indre mot ytre fjord. Selv om denne trenden er tydelig i rådataene, var ikke alle forskjellene mellom sonene statistisk signifikante. I skjell var kun forskjellen mellom Drøbak og Bærumsbassenget signifikant for både kortisol og kortison, mens forholdet mellom dem var signifikant lavere i Drøbak enn ved Ytre Ostøya. I slim var forskjellene i kortison/kortisol-forholdet tydeligere, med signifikant høyere verdier i Tromsø sammenlignet med alle Oslofjord-sonene. For kortison og kortisol i slim var det også signifikante forskjeller mellom Tromsø og alle andre lokaliteter, samt mellom Drøbak og både Ytre Ostøya og Ildjernet.

De lave nivåene av kortisol og kortison som ble målt i torsk fra de indre delene av Oslofjorden kan virke motstridende med hypotesen om forhøyet hormonelt stress i områder med kjent miljøbelastning. En naturlig antakelse er at lave nivåer av stresshormoner indikerer at disse fiskene ikke opplever stress. Denne tolkningen er imidlertid ikke entydig. Madaro et al. (2015) rapporterte at atlantisk laks (*Salmo salar*) utsatt for uforutsigbart stress utviklet en gradvis reduksjon i kortisollnivåer og en dempet respons på nye stressorer. Dette ble fulgt av økt uttrykk av enzymet 11 β -HSD2 i hypofysen, som er involvert i inaktivering av kortisol. Et lignende mønster ble rapportert av Vanhomwegen et al. (2023) som i tillegg viste at atlantisk laks eksponert for kronisk stress hadde 29 % lavere kortisollnivå i skjell og 25 % lavere i blod, sammenlignet med kontrollgruppen. Ifølge Cyr & Romero (2009) finnes det flere mulige årsaker til en redusert intensitet av den fysiologiske responsen til stressorer hos dyr. Redusert hormonrespons kan skyldes (1) naturlige sesong- eller livshistorieendringer, (2) tilvenning til en ufarlig stimulus, (3) fysiologisk desensitivisering uten læring, eller (4) utmattelse av stressresponsen etter langvarig eksponering (Cyr & Romero, 2009).

I tråd med årsak (1) kan man ikke utelukke at forskjeller i alder og kjønnsmodning mellom sonene har påvirket nivåene av stresshormoner. I de indre fjordområdene ble det fanget flere

unge individer (under 2 år), og nesten ingen av disse var kjønnsmodne. I ytre fjord var det derimot flere eldre fisk (2 år eller eldre), og noen av disse var også kjønnsmodne. Slike biologiske forskjeller kan påvirke hormonproduksjonen, uavhengig av miljøstress. Det er derfor viktig å ta dette i betraktning ved tolkning av resultatene. Selv om slike biologiske forskjeller kan påvirke hormonverdiene, er det usannsynlig at de alene forklarer de lave nivåene av stresshormoner som ble funnet i områder med kjent miljøstress. Med tanke på punkt (2) virker tilvenning lite sannsynlig som forklaring. De miljømessige belastningene i indre fjord er ikke tilfeldige eller ufarlige stimuli som fisken kan lære å overse. Tvert imot er disse miljøfaktorene, som redusert vannkvalitet, forurensning og lavt oksygeninnhold, både vedvarende og er stressfaktorer med dokumentert effekt på fiskehelse (Hontela, 1997; Thorarensen et al., 2017).

En mer sannsynlig forklaring er derfor at de lave hormonverdiene reflekterer enten en fysiologisk desensitivisering uten læring (3) eller en reell utmattelse av stresssystemet (4). Ved desensitivisering reduseres kroppens hormonelle respons etter gjentatt eksponering, uten at fisken nødvendigvis slutter å oppfatte miljøbelastningen som skadelig. Dette kan skyldes endringer i følsomheten eller reguleringen av HPI-aksen, og resulterer i lavere målbare nivåer av stresshormoner, selv om stressopplevelsen vedvarer (Barton, 2002). Alternativt kan langvarig eksponering ha ført til en utmattelse av det fysiologiske stresssystemet, der produksjonen av kortisol svikter fordi systemet er overbelastet (Madaro et al., 2015). I motsetning til desensitivisering, innebærer dette et faktisk sammenbrudd i hormonresponsen og ikke en tilpasning. Begge prosessene er biologisk mulige og kan stemme overens med de lave verdiene som ble målt i områder med kjent miljøstress.

I en studie av Kennedy og Janz (2022) ble forholdet mellom kortison og kortisol undersøkt som en potensiell biomarkør i skjell og blod for kronisk stress hos gullfisk (*Carassius auratus*). Studien rapporterte ingen signifikante forskjeller i kortison/kortisol-forholdet mellom den stressede og kontrollgruppen. Den understreket imidlertid at et forhøyet forhold teoretisk sett kan indikere en nedregulert eller beskyttende hormonrespons ved langvarig stressbelastning. Forfatterne påpekte samtidig at tolkningen av dette forholdet er kompleks og må vurderes i lys av artsspesifikke forskjeller, vevstype samt stressorens varighet og intensitet. I en oppfølgende og metodisk videreutviklet studie av Kennedy og Janz (2023b) ble disse sammenhengene

ytterligere utforsket, denne gang med fokus på regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*). Her ble det funnet signifikant forhøyede nivåer i skjellene hos stressede individer sammenlignet med kontrollgruppen. Dette funnet fremhever potensialet for bruk av forholdet mellom kortison og kortisol i skjell som en vurdering av stressbelastning over tid. Studiet illustrerer også hvordan arten og vevstypen kan påvirke både oppdagelse og tolkning av hormonelle biomarkører, noe som er viktig å ta i betraktning ved sammenligning på tvers av studier.

Både Madaro et al. (2015) og Vanhomwegen et al. (2023) viste at langvarig stress hos atlantisk laks førte til økt uttrykk av enzymet 11 β -HSD2 i hypofysen. På bakgrunn av dette kan et forhøyet forhold mellom kortison og kortisol tolkes som et resultat av økt enzymatisk omdanning av kortisol til kortison. Dette er også forenlig med en dempet hormonrespons ved kronisk stress (Barton, 2002; Hontela, 1997; Madaro et al., 2015; Vanhomwegen et al., 2023). Et lavt forhold mellom kortison og kortisol kan på den andre siden indikere at organismen er i en fase der det er behov for økt tilgjengelighet av aktivt kortisol, slik man ser ved akutt stress (Barton, 2002).

Tatt i betraktning de mulige mekanismene diskutert over, kan det lave kortisollnivået i kombinasjon med et forhøyet kortison/kortisol-forhold hos torsk fra indre Oslofjord tolkes som et uttrykk for en langvarig, kronisk belastning av det hormonelle stresssystemet. Dette kan tyde på at aktiv kortisol i større grad blir inaktivert over tid for å begrense den fysiologiske belastningen på organismen eller grunnet utmattelse av HPI-aksen (Cyr & Romero, 2009; Hontela, 1997; Pottinger & Moran, 1993). Langvarig eksponering for stressrelaterte påkjenninger kan også medføre at kun de mest robuste stresstolerante individene overlever og reproducerer, mens mer sårbare fisk selekteres bort. Det kan derfor være relevant å ta i betraktning en mulig naturlig seleksjon for individer med dempet hormonrespons, og som i mindre grad aktivt skiller ut kortisol ved nye stressorer (Øverli et al., 2005).

En mulig forklaring på de forhøyede kortisol- og kortisonnivåene i skjell og slim hos torsken i Drøbak, er at de reflekterer en hormonell respons på miljøgifteksponering (Hontela, 1997). Ifølge funn fra Christansen (2025) hadde torsk fra Drøbak de høyeste nivåene av PFOS (perfluoroktylsulfonat) i leveren sammenlignet med de andre sonene i Oslofjorden. PFOS er kjent for å kunne forstyrre det endokrine systemet og påvirke hormonproduksjon og metabolisme

(Gaillard et al., 2025; Lemos et al., 2023; Ma et al., 2023; Shi et al., 2009). Studier har vist at eksponering for PFOS kan føre til aktivering av HPI-aksen og økt kortisolutskillelse i blod og skjell hos fisk (Mortensen et al., 2011; Schumann et al., 2024). Dette gjør det biologisk mulig at høye PFOS-nivåer i Drøbak har bidratt til den observerte økte hormonelle stressresponsen.

Når dette ses i forhold til at torsk fra Drøbak også hadde det laveste forholdet mellom kortison og kortisol i skjell, tyder dette på at fisken i denne sonen mulig står i en mer akutt og aktivert stressrespons. Et lavt forhold mellom kortison og kortisol kan indikere at lite kortisol blir inaktivert, noe som kan være uttrykk for et økt behov for aktivt kortisol i møte med en belastning som fortsatt pågår (Barton, 2002). I tillegg ble det observert stor variasjon i forholdet mellom kortison og kortisol i denne sonen, noe som kan indikere at individene har ulik stresshistorikk. En mulig forklaring er tilstedeværelsen av migrerende torsk, som tidligere er dokumentert i området (Synnes et al., 2021). De migrerende torskene kan dermed ha vært eksponert for ulike miljøforhold før prøvetaking.

Torsken fra Tromsø hadde gjennomgående lavere nivåer av både kortisol og kortison i slim sammenlignet med torsken fra Oslofjorden. Dette er i tråd med forventningene for en referansepopulasjon med lav miljøpåvirkning. Samtidig hadde denne gruppen det høyeste forholdet mellom kortison og kortisol i slim. Et slikt forhold kan indikere enten økt inaktivering av kortisol i vevet, eller redusert behov for aktiv kortisol under akutt stress. Det må imidlertid tas høyde for at skjell fra Tromsø ikke ble analysert i denne oppgaven, og dermed mangler det informasjon om langtidseksponering for stress hos denne gruppen.

Selv om det ble forventet at de indre områdene, som Bærumsbassenget og Ytre Ostøya, skulle ha de høyeste nivåene av stresshormoner grunnet kjent miljøbelastning og redusert vannkvalitet, viste resultatene noen av de laveste kortisol- og kortisonverdiene i disse områdene. Dette var uventet, og antyder at den opprinnelige hypotesen om høyest hormonelt stress i indre fjord kun delvis støttes. Samtidig har tidligere studier vist at kronisk stress kan føre til lavere kortisollnivåer, slik det er dokumentert hos laks (Madaro et al., 2015; Vanhomwegen et al., 2023). På bakgrunn av dette kan de lave kortisol og kortisonnivåene hos torsk i indre fjord tolkes som en dempet hormonrespons forårsaket av kronisk stress, i motsetning til fravær av stress. Selv

om denne responsen i utgangspunktet ikke følger det forventede mønsteret, kan den likevel være forenlig med hypotesen om at torsk i de indre områdene er utsatt for høyere hormonelt stress.

4.2. Geografisk gradient i miljø og fysiologisk tilstand

De studerte sonene i Oslofjorden ga et godt grunnlag for å undersøke hvordan fysiologisk helsetilstand hos torsk varierer langs en miljøgradient fra indre til ytre fjord. Det ble ikke funnet statistisk signifikante forskjeller i kondisjonsfaktor mellom sonene, men rådataene viste en tydelig tendens til høyere kondisjonsfaktor hos torsk fanget i Drøbak, sammenlignet med individer fra Bærumsbassenget og Ytre Ostøya. I tillegg viste torsk fra Drøbak jevnt over bedre vekst ved alder og en større andel eldre individer, noe som kan indikere bedre vekstbetingelser og høyere overlevelse i denne delen av fjorden. For lever-somatisk indeks ble det heller ikke funnet signifikante forskjeller, men det ble observert en visuell tendens til høyere LSI i de indre lokalitetene. Referansesonen Tromsø hadde signifikant høyere kondisjonsfaktor enn Bærumsbassenget, Ildjernet og Ytre Ostøya, mens LSI-nivået lå omtrent på samme nivå som i Drøbak.

Kondisjonsfaktor gir verdifull innsikt i torskens energireserver (Dutil & Lambert, 2000; Y. Lambert & J.-D. Dutil, 1997). I denne studien ble K-faktor brukt som et overordnet mål på kroppskondisjon for å sammenligne helsetilstanden hos torsk mellom de ulike lokalitetene. For å undersøke mer subtile forskjeller i vekstmønster innen Oslofjorden ble det derimot benyttet en log-transformert regresjon mellom vekt og lengde. Resultatene fra denne analysen viste at torsk fra ulike soner i fjorden fulgte en svært lik vekstkurve, noe som tyder på at til tross ulike miljøbetingelser langs fjordgradienten, utviklet fisken seg etter samme grunnleggende mønster. Den allometriske koeffisienten på 3,17 hos torsk i Oslofjorden samsvarer med verdier rapportert for en hardt belastet bestand ved sørkysten av Newfoundland (Cadigan et al., 2022), noe som kan tyde på lignende økologiske stressfaktorer. Verdien tilsvarer likevel en positiv allometrisk vekst (Froese, 2006). Til sammenligning viste Árnason et al (2009) en høyere vekstkoeffisient på 3,25 hos torsk som ble føret til metthet under kontrollerte og optimale forhold. Dette understreker at torsk i Oslofjorden trolig ikke lever under optimale vekstbetingelser, til tross for at de følger et konsistent vekstmønster på tvers av sonene. Det er derimot ikke mange andre referanseverdier på

torskebestander, men Cadigan et al (2022) påpeker at variasjon i den allometriske koeffisienten kan gjenspeile fysiologiske og økologiske forhold (som mattilgang, temperatur, modningsgrad osv.), og bør tas hensyn til ved vurdering og forvaltning av torskebestander.

Selv om de gjennomsnittlige K-faktor verdiene i Oslofjorden lå noe under det som regnes som god kondisjon ($<1,1$), var de godt over nivået som er forbundet med økt dødelighet ($<0,6$) (Dutil & Lambert, 2000), noe som antyder at fisken ikke er i akutt fare for redusert overlevelse. Det er også viktig å bemerke seg at kondisjonsfaktoren har sesongmessige svingninger grunnet endret næringstilgang og gyteforhold (Dutil et al., 1995). Tidligere studier har vist at flere populasjoner av Atlantisk torsk har høyest kondisjon og LSI om høsten, spesielt fra september til desember, før den avtar mot våren i forbindelse med gyting (Y. Lambert & J. D. Dutil, 1997; Rätz & Lloret, 2003). Dersom dette mønsteret også gjelder for torsken i Oslofjorden, er det sannsynlig at individene i denne oppgaven ble fanget i en periode der kondisjonen var nær sitt sesongmessige toppunkt. Til tross for at torsken ble fanget i en periode hvor kondisjonsfaktoren normalt er på sitt høyeste, ble det målt verdier som ligger lavere enn det som vanligvis forbindes med god helse. Dette kan understøtte antakelsen om at miljøforholdene i Oslofjorden ikke er optimale for torskens vekst og ernæringstilstand.

Tromsø ble inkludert som et referanseområde med lav forventet miljøpåvirkning. Fisken herfra hadde signifikant høyere kondisjonsfaktor sammenlignet med de indre sonene i Oslofjorden og lå tett opp mot 1. Dette regnes ikke som god kondisjon for torsk, men verdiene ligger derimot svært nærme 1,1 som defineres som god. Man kan dermed fortsatt konkludere med bedre generell helsetilstand i Tromsø sammenlignet med indre Oslofjord. Selv om variasjoner i fangsttidspunkt og genetiske forskjeller mellom populasjoner kan ha påvirket resultatene, antas bruken av torsk fra Tromsø som referanse å være relevant.

Når det gjelder lever-somatisk indeks, ble det ikke funnet signifikante geografiske forskjeller mellom sonene i denne studien. Det ble derimot observert en mulig trend av større til mindre LSI fra indre til ytre del av fjorden. Variasjonen av LSI lå i gjennomsnitt på mellom 2,5 % til 1,4 %. I Bærumsbassenget og Ytre Ostøya lå gjennomsnittet på over 2%, noe som er innenfor den forventede lever-somatiske indeksen på mellom 2 og 6 for torsk (Jobling, 1988). I Ildjernet,

Drøbak og Tromsø lå derimot LSI på under 2 %, noe som er mindre enn det som er forventet ved god helse. LSI hos torsk påvirkes i stor grad av næringstilgang, kjønnsmodenhet og næringstype (Jobling, 1988; Marshall et al., 1999; Pardoe et al., 2009). Studier av torsk viser at pelagisk diett gir bedre kondisjon, LSI og gyteevne enn bentisk diett, og at sesong på året også kan påvirke (Mello & Rose, 2005; Sherwood et al., 2007). Fordi torsken i Oslofjorden ble fanget i desember, og næringstilgangen i Drøbak antas å være bedre enn indre fjord, er disse resultatene noe overraskende. Det er derfor lite sannsynlig at den observerte lave LSI i Drøbak og Tromsø har oppstått grunnet forrestriksjon/sult, dette kan også sees i sammenheng med kondisjonsfaktoren, som var høyest i disse områdene. Videre var det svært få av individene som var kjønnsmodne, men de få som var det, befant seg hovedsakelig i Drøbak og Tromsø. Utviklingen av gonader i forkant av gyting krever betydelige energireserver, noe som kan gå på bekostning av energilagring i leveren (Dahle et al., 2003). Dette kan dermed potensielt forklare hvorfor torsken i ytre Oslofjord hadde lavere LSI enn forventet.

Tidligere undersøkelser av torsk i Oslofjorden har derimot vist et annerledes LSI-mønster enn det som er funnet i denne oppgaven. Bergland (2012) fant i sin masteroppgave at torsk i indre Oslofjord hadde lavere LSI enn torsk i ytre deler av fjorden. Samtidig viste biomarkørmålinger at torsken i de indre områdene hadde høyere eksponering for miljøgifter. Det er imidlertid viktig å merke seg at studien til Bergland (2012) ikke målte eksponering for PFAS-stoffer, slik som ble påvist i torskenes lever fra Drøbak (Christansen, 2025). I lys av dette blir funnene i min oppgave særlig interessante ettersom nivået av organisk karbon (TOC) i sedimentet hadde en nær signifikant effekt på LSI, tross lavt antall torsk i studien. Den utvalgte modellen (Tabell 8) estimerte at høyere nivåer av organisk karbon i sedimentet var svakt positivt assosiert med økt leverstørrelse. Sammenhengen kan reflektere økt næringstilgang, men bør også vurderes i lys av potensiell miljøbelastning fra forurensning bundet til organisk karbon.

Områder som Bærumsbassenget har gjennom lengre tid mottatt store mengder organisk materiale, særlig fra elver, avløp, kloakk og jordbruksavrenning (Frigstad et al., 2024; Johansen & Samdal, 1995), noe som fører til akkumulering av TOC i sedimentene (Hale et al., 2016; Hinojosa et al., 2014). Når slikt materiale brytes ned av mikroorganismer, forbrukes oksygen i sediment og bunnvann. Dette resulterer i redusert redokspotensial og kan føre til periodisk

oksygenmangel samt dannelse av toksiske forbindelser som hydrogensulfid (H_2S) (Caswell et al., 2018; Hinojosa et al., 2014), som er kjent for å kunne påføre fysiologisk stress hos fisk (Smith, 1976). Økt TOC-nivå indikerer derfor høy organisk belastning som kan fungere som et reservoar for miljøgifter (Johansen & Samdal, 1995). Disse miljøgiftene kan så akkumuleres i bunnmiljøet og utgjøre en toksisk trussel for bunnlevende arter (Camacho-Jiménez et al., 2023; Wenning & Martello, 2014). Flere studier har vist at eksponering for slike miljøgifter kan føre til økt leverstørrelse hos fisk, reflektert som høyere LSI (Blazer et al., 2018; Long et al., 2020; Morado et al., 2017; Topić Popović et al., 2023). Dette skyldes at leveren må arbeide mer intensivt med avgiftning og metabolisme, noe som utløser økt metabolsk aktivitet i levervevet og som ofte resulterer i at leveren både vokser i størrelse og får flere leverceller (Topić Popović et al., 2023). Denne fysiologiske tilpasningen gjør at fisken kan håndtere en større belastning av skadelige stoffer. Til sammen bidrar dette til å underbygge antakelsen om at miljøforholdene i indre Oslofjord påvirker torskens helse og fysiologi.

Resultatene gir delvis støtte til hypotesen om at torsk fra Drøbak skulle ha bedre fysiologisk helsetilstand enn individer fra de indre fjordområdene. Tendensen til høyere kondisjonsfaktor og bedre vekst ved alder hos torsk fra Drøbak samsvarer med forventningene og peker mot gunstigere forhold i ytre del av fjorden. Samtidig viste LSI en motsatt trend, med noe høyere verdier i de indre lokalitetene, som mulig er grunnet økt behov for avgiftning. Dette nyanserer tolkningen av helsetilstanden og antyder at ulike fysiologiske indikatorer kan påvirkes av forskjellige faktorer. Hypotesen støttes derfor i hovedsak av kondisjonsrelaterte data, mens LSI-resultatene trekker i en annen retning.

4.3. Sammenheng mellom stresshormoner og fysiologisk tilstand

Resultatene viste flere interessante, men sammensatte sammenhenger mellom stresshormoner og fysiologiske helseindikatorer hos torsk. En av observasjonene var den negative trenden mellom kortisolnivå i skjell og kondisjonsfaktor, hvor individer med høyere kortisol hadde tendens til å ha lavere kondisjon. Dette er i tråd med tidligere forskning som antyder at kronisk stress kan bidra til redusert energibalanse og fysiologisk svekkelse (Barton, 2002; Øverli et al., 2007; Van Weerd & Komen, 1998; Vanhomwegen et al., 2023). Samtidig bør det understrekes at denne sammenhengen kun var nær statistisk signifikant ($p = 0,07$), noe som tilsier at effekten er indikativ, men ikke statistisk sikker. Dette antyder at lokale miljøforhold og individuelle tilpasninger kan påvirke hormon og helsestatus på ulike nivåer, og at sammenhengen mellom stress og kondisjon ikke nødvendigvis er lineær når man ser på populasjonsnivå.

Funnene i denne oppgaven ble vurdert opp mot hypotesen om at områder med høy miljøbelastning ville preges av både fysiologisk svekkelse og forhøyede nivåer av stresshormoner. Resultatene ga delvis støtte til denne antakelsen. Torsk fra indre fjord hadde lavere kondisjonsfaktor, men høyere LSI. Samtidig var nivåene av kortisol og kortison lavere i disse områdene enn forventet, mens forholdet mellom kortison og kortisol var høyere. I kontrast ble det i Drøbak observert høye nivåer av både kortisol og kortison, samtidig som torskene der hadde høyere kondisjonsfaktor, lavere LSI sammenlignet med indre fjord, bedre vekst ved alder og et større innslag av eldre individer. Dette gir et mer komplekst bilde, der god næringstilgang og gunstige vekstforhold kan eksistere parallelt med høyere hormonelt stress. Samlet sett viste den kombinerte bruken av fysiologiske og hormonelle markører at torsk har ulike stress responser langs fjorden.

Kortisol er kjent for å påvirke energistyring i kroppen ved å mobilisere reserver under stress, noe som over tid kan gå på bekostning av både vekst og immunforsvar (Barton, 2002; Øverli et al., 2005). Selv om statistiske koblinger mellom kortisol og LSI ikke ble dokumentert i denne oppgaven, peker litteratur likevel mot en mulig sammenheng med fysiologisk kostnad ved økt stress. En reduksjon i LSI hos individer i Drøbak, kan mulig tolkes som resultat av økt energiforbruk eller ved at energien i større grad omfordes til funksjoner som er kritisk for overlevelse grunnet økte nivåer av kortisol og kortison i slim og skjell (Van Weerd & Komen,

1998). Det er imidlertid viktig å presisere at dette er en mulig tolkning basert på generelle stressmekanismer slik de er beskrevet av Van Weerd & Komen (1998), og ikke en direkte dokumentert sammenheng.

Bærumsbassenget er preget av lav vanngjennomstrømning og høy organisk belastning. Individene her hadde lav kondisjonsfaktor og høye LSI-verdier. Sammen kan disse funnene tyde på redusert helsetilstand kombinert med økt fettlagring i leveren, noe som kan være relatert til eksponering for miljøgifter. Analysene av stresshormoner viste de laveste nivåene av kortisol og kortison i både skjell og slim, kombinert med høyt forhold mellom kortison og kortisol i skjell. Dette kan tyde på en nedregulert hormonell respons (Barton, 2002; Madaro et al., 2015; Vanhomwegen et al., 2023) som mulig er forbundet med kronisk eksponering for miljøstress. Samtidig ble det hovedsakelig fanget unge individer i dette området, noe som kan indikere lav overlevelse blant eldre individer. Helhetsbildet tyder på en mulig langvarig miljøbelastning og mulig nedregulert stressrespons som konsekvens av kronisk stress, uten tegn på akutt hormonell aktivering.

Ytre Ostøya er en sone med noe bedre vanngjennomstrømning enn Bærumsbassenget, men den er fortsatt påvirket av indre fjords miljøforhold. I denne sonen ble det registrert den laveste kondisjonsfaktoren blant alle lokasjonene, og LSI var også relativt høy sammenlignet med Drøbak. Kortisol og kortisonnivåene i skjell og slim lå noe høyere enn i Bærumsbassenget, men fortsatt betydelig lavere enn i Drøbak. Forholdet mellom kortison og kortisol var høyt, på nivå med Bærumsbassenget, noe som kan støtte en tolkning av en vedvarende nedregulert stressrespons som respons på kronisk stress i denne sonen også (Barton, 2002; Madaro et al., 2015; Vanhomwegen et al., 2023). Alderssammensetningen viste hovedsakelig yngre individer, med mindre vekst innen aldersklassene sammenlignet med Ildjernet. Kombinasjonen av lav kondisjonsfaktor, høy LSI og hormonprofilen peker mot et lignende bilde som i Bærumsbassenget.

Ildjernet lå geografisk og miljømessig i overgangssonen mellom indre og ytre fjord, og hadde også mellomnivåer av de fleste fysiologiske indikatorene. Kortisol- og kortisonnivåene i skjell, slim og forholdet mellom kortison og kortisol lå mellom de som ble målt i Ytre Ostøya og Drøbak. Alderssammensetningen var bred, med både unge og eldre individer, men vekst ved gitt

alder var lavere enn i Drøbak. Det kan tyde på at dette området gir noe bedre overlevelsesmuligheter enn indre fjord, men at vekstforholdene fortsatt ikke er optimale. Hormonprofilen kan mulig støtte en tolkning av middels miljøstress med delvis regulert hormonrespons. Dette kan antyde at fiskene i Ildjernet har blitt utsatt for ulike typer og nivåer av stress over tid, og at dette området derfor kan fungere som en viktig overgangssone i fjorden.

Drøbak skilte seg ut med de høyeste nivåene av både kortisol og kortison i skjell og slim, noe som tyder på en tydelig hormonell stressrespons, mulig grunnet eksponering for PFOA. I tillegg hadde individer fra denne sonen det laveste forholdet mellom kortison og kortisol, noe som mulig kan indikere en mer akutt eller uregulert stressrespons sammenlignet med de andre lokalitetene. Samtidig hadde torsken fra Drøbak lavest LSI i hele fjorden, noe som kan tyde på redusert energilagring som en mulig fysiologisk kostnad ved det høye stressnivået eller utvikling av gonader (Dahle et al., 2003; Van Weerd & Komen, 1998). På den andre siden viste torsk fra Drøbak høyere kondisjonsfaktor enn fisk fra de indre sonene, bedre vekst ved gitt alder og et høyere innslag av eldre individer. Dette peker på at vekstforholdene og overlevelsesbetingelsene i området kan være gunstige, selv om den hormonelle statusen og LSI antyder at fisken samtidig utsettes for stressfaktorer. Samlet sett kan dette tyde på at god vekst og overlevelse ikke nødvendigvis sammenfaller med lavt fysiologisk stress, og at forholdene i Drøbak kan innebære en kombinasjon av høy ressursutnyttelse og høy belastning fra miljøgifter eller andre faktorer.

Samlet sett viste funnene at både fysiologisk helsetilstand og hormonprofil må tolkes i lys av de spesifikke miljøforholdene som preger hvert område i fjorden. Selv om enkelte av sammenhengene i datamaterialet ikke oppnådde statistisk signifikans, danner resultatene et mønster som delvis støtter hypotesen om at miljøstress kan påvirke både hormonelle og fysiologiske markører hos torsk. Likevel er det viktig å være bevisst på begrensningene ved enkelte tolkninger, særlig når det gjelder hormonparametere som fremdeles er under utvikling som verktøy i miljøovervåking. Et eksempel på dette er kortison/kortisol forholdet, som i denne studien er brukt som en mulig indikator på kronisk stress. Tolkningen bygger på et begrenset forskningsgrunnlag, og det finnes ingen etablerte referanseverdier for hva som regnes som normale eller avvikende nivåer hos torsk. Selv om tidligere studier antyder at en høyere omdanning av kortisol til kortison kan reflektere en regulert og langvarig stressrespons, er det

utfordrende å trekke klare konklusjoner uten å noe sammenligningsgrunnlag. Det er derfor avgjørende å understreke at denne parameteren alene ikke gir et tilstrekkelig grunnlag for å fastslå varighet eller alvorlighetsgrad av stressresponsen hos torsken. I tillegg viste enkelte funn i denne studien en kompleksitet som vanskelig lar seg forklare av enkle sammenhenger. For eksempel hadde torsk fra Drøbak både høye nivåer av kortisol og kortison i skjell og slim, samtidig som de viste høy kondisjonsfaktor og lav LSI. Dette bryter med forventningen om at forhøyet stress skal samsvare med dårligere fysiologisk tilstand, og tyder på at andre faktorer, som sesongvariasjon, reprodutiv status, næringstilgang eller individuelle forskjeller kan spille en betydelig rolle. Slike motsigelser understreker kompleksiteten i biologiske systemer og behovet for forsiktighet i tolkningene. Til sammen viste dette at hormonelle biomarkører, som forholdet mellom kortison og kortisol, har et potensial som indikatorer, men at de må tolkes i kontekst og suppleres med andre fysiologiske og miljømessige data for å kunne gi en troverdig vurdering.

4.4. Metodiske refleksjoner

Et mulig metodisk forbehold i denne studien er knyttet til lagring av skjellprøver før analyse. Skjellene fra Bærumsbassenget ble oppbevart i kjøleskap i opptil 48 timer før videre håndtering, og det kunne tenkes at dette kan ha påvirket hormoninnholdet og dermed resultert i lavere kortisolverdier. Imidlertid tyder nyere forskning på at kortisol i skjell er relativt stabil over tid og ved ulike lagringsforhold. En studie (O'Toole et al., 2024) testet stabiliteten av kortisol i skjell fra atlantisk laks som blant annet hadde vært lagret i romtemperatur i over 30 år. I forsøket ble skjell også oppbevart ved forhøyet temperatur (50 °C) i opptil 12 uker for å simulere flere års lagring. Verken lagringstid eller temperatur viste noen signifikant effekt på målt kortisolkonsentrasjon (O'Toole et al., 2024). På bakgrunn av dette er det lite som tyder på at 48 timers oppbevaring av skjell i kjøleskap har hatt noen praktisk betydning for analysene i denne studien.

Det er også metodiske forhold knyttet til håndtering og oppbevaring av fiskene som bør vurderes. Torskene fra Oslofjorden ble holdt i keepnett frem til de ble avlivet, noe som potensielt kan ha forårsaket økt akutt stress og dermed forhøyede kortisolvåer i slim. I kontrast ble torskene fra Tromsø ikke holdt i keepnett før avlivning, men avlivet så fort de kom opp fra havet.

Slimprøvene fra Tromsø fiskene ble transport fra superfryser til laboratoriet hvor de ble videre analysert, de ble under transport oppbevart ca 20 minutter i romtemperatur. Dette kan ha ført til en delvis nedbrytning av hormonene og dermed lavere målte verdier.

Metodiske hensyn er også avgjørende når det gjelder vurdering av fysiologiske indekser som K-faktor og LSI. I litteraturen finnes det ulike fremgangsmåter, hvor enkelte studier velger å fjerne gonader og magesekk før veiing (Dutil et al., 1995), mens andre inkluderer disse organene (Froese, 2006). Begrunnelsen for å beholde dem er at kondisjonsfaktorens hensikt tradisjonelt har vært å gjenspeile fiskens naturlige tilstand slik den forekommer i naturen, inkludert sesongvariasjoner knyttet til gonadeutvikling og ernæringsstatus. I denne studien ble kroppsvekten målt med både gonader og magesekk intakt. Dette gir et mer helhetlig bilde av individets fysiologiske tilstand, men kan samtidig gjøre det vanskeligere å sammenligne med studier som har fjernet gonade og magesekk før beregning av LSI og K-faktor (Blazer et al., 2018; Dutil et al., 1995).

Ved vurdering av resultatene er det viktig å ta høyde for studiens begrensninger knyttet til utvalgsstørrelse. Antallet torsk som inngikk i analysene per sone var lave (5-11). Et begrenset utvalg reduserer den statistiske styrken og øker usikkerheten knyttet til estimatene (Nakagawa et al., 2024). Dette gjør det usikkert hvorvidt tendensen som ble avdekket i denne studien utgjør reelle forskjeller i helsestatus eller fysiologisk respons mellom lokalitetene i Oslofjorden, eller om de kun representerer tilfeldigheter ved utvalget av individer. Det er viktig å merke seg at innsamlingsregimet som ble brukt i studien er basert på randomiserte og stratifisert plasseringer av ruser (Haugen et al., 2024), noe som skal gi de beste forutsetninger for at utvalget som ble samlet inn er representative for de respektive sonene (Williams et al., 2019).

4.5. Fremtidige studier

Forvaltningen av torskebestanden i Oslofjorden krever en helhetlig forståelse av hvordan miljøstress påvirker fiskens fysiologiske tilstand. Fremtidige studier bør derfor ha som mål å styrke grunnlaget for økosystembasert forvaltning gjennom tilnærminger som kombinerer hormondata, fysiologiske helse og miljøparametere. Et særlig viktig tiltak er utviklingen av referanseverdier for kortisol og kortison i både slim og skjell hos torsk, differensiert etter kjønn, alder og sesong. Slike referanseverdier vil gjøre det mulig å skille mellom normal fysiologisk variasjon og hormonelle responser som skyldes miljømessig belastning. Det vil også være relevant å se på uttrykket av enzymet 11β -hsd2 i sammenheng med kortisol og kortison. Telemetristudier vil også være relevant for å kartlegge torskens habitatbruk og eksponeringshistorikk, og kan bidra til å identifisere habitater med særlig høy eller lav miljøpåvirkning. Dersom slike områder også knyttes til for eksempel gyte eller oppvekstområder, vil det gi økt innsikt i hvilke livsfaser som er mest sårbare for stresspåvirkning.

Kombinasjonsstudier der hormonelle, biologiske og miljømessige faktorer kobles sammen, vil være avgjørende for å identifisere årsakene til de observerte variasjonene i stressnivå og helsetilstand hos torsk mellom de ulike sonene i Oslofjorden. En viktig videreføring av dette arbeidet vil være å gjennomføre et eksperimentelt design for å kunne teste årsakssammenhenger. For eksempel kan sammenhengen mellom organisk belastning i sedimentet og LSI undersøkes i kontrollerte forsøk. Sediment fra ulike lokasjoner i Oslofjorden kan hentes inn og brukes i kontrollerte eksponeringsforsøk. Ved å utsette torsk med kjent og lik fysiologisk bakgrunn for disse sedimentene, kan man undersøke effektene av miljøpåvirkning under standardiserte forhold. Et slikt forsøk vil kunne kontrollere for andre påvirkningsfaktorer som alder, kjønn, ernæringsstatus og temperatur, og dermed isolere effekten av sedimentets sammensetning (som TOC eller miljøgifter) på leverens utvikling.

Til slutt vil videre langsiktige overvåkingsprogrammer, som følger populasjonsstruktur, rekruttering og helsetilstand over tid, kunne belyse i hvor stor grad miljøbelastning påvirker torskens overlevelse og bestandsutvikling. Slike studier vil bidra til å støtte utviklingen av

effektive tiltak for å beskytte en hardt presset torskebestand i en av Norges mest befolkede og påvirkede fjorder.

4.6. Konklusjon

Denne studien undersøkte hvordan miljøforhold i Oslofjorden påvirker den fysiologiske tilstanden til torsk gjennom målinger av K-faktor, LSI og hormonelle stressmarkører i skjell og slim. Data ble samlet inn fra fire soner i fjorden og sammenlignet med en referansegruppe fra Tromsø. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller i K-faktor eller LSI mellom sonene, men torsk fra indre fjordområder hadde gjennomgående lavere K-faktor og høyere LSI enn individer fra ytre områder. I tillegg ble det funnet en nær signifikant positiv sammenheng mellom LSI og total organisk karbon i sedimentene, noe som kan tyde på at leverens utvikling påvirkes av organisk belastning i miljøet eller miljøgifter bundet til det.

De tydeligste funnene kom fra analysene av stresshormoner. Torsk fra Drøbak hadde signifikant høyere nivåer av kortisol og kortison i både skjell og slim sammenlignet med de innerste sonene i Oslofjorden. Samtidig var forholdet mellom kortison og kortisol signifikant høyere i de indre områdene, noe som kan indikere ulik type eller varighet av stress mellom sonene. Det ble også observert en nær signifikant, negativ sammenheng mellom kortisolnivå i skjell og K-faktor.

Sammen tyder funnene på at torsk i Oslofjorden utsettes for miljørelatert stress, men at påvirkningen varierer geografisk mellom sonene. Samspillet mellom fysiologiske og hormonelle responser er komplekst, og enkelte sammenhenger var bare nær signifikante, noe som understreker behovet for videre forskning med større utvalg og flere variabler.

Kombinasjonen av fysiologiske indikatorer og hormonprofiler peker seg ut som et nyttig verktøy for miljøovervåking, og særlig forholdet mellom kortison og kortisol fremstår som en lovende markør for påvisning av ulike stressresponser.

5. Litteratur

- Aglen, A., Nedreaas, K., Moland, E., Knutsen, H., Kleiven, A. R., Johannessen, T., Wehde, H., Jørgensen, T., Espeland, S. H., Olsen, E. M., & Knutsen, J. A. (2016). *Oppdatert kunnskapsstatus om kystnær torsk i Sør Norge*.
- Alderman, S. L., & Vijayan, M. M. (2012). 11-Hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in zebrafish brain: a functional role in hypothalamus-pituitary-interrenal axis regulation. *Journal of endocrinology*, 215(3), 393.
- Alve, E., Helland, A., & Magnusson, J. (2009). *Bærumsbassenget et naturlig anoksisk basseng?*
- Andersen, A. S. V. D. G. (2024). *Gradient i torskens (Gadus Morhua) kondisjonsfaktor, miljøvariable og mikrobiota (med fokus på slektene Nitrosopumilus og Sulfurovum) i indre Oslofjord samt effekt av miljøvariable og mikrobiota på lengdejustert torskevekt* [Norwegian University of Life Sciences].
- Árnason, T., Björnsson, B., & Steinarsson, A. (2009). Allometric growth and condition factor of Atlantic cod (*Gadus morhua*) fed to satiation: effects of temperature and body weight. *Journal of applied ichthyology*, 25(4), 401-406. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2009.01259.x>
- Arumairasa, I. M. (2022). *Kvantitativ analyse av kortisol og kortison ved LC-HRMS i Atlantisk laks (Salmo salar), og sammenlikning av analysedata mellom LC-HRMS og ELISA* [Norwegian University of Life Sciences, Ås].
- Asgeir Aglen, Kjell Nedreaas, & Huse, G. (2020). *Kysttorsk nord for 62-grader nord: Vurdering av status og forslag til forvaltningstiltak og ny gjenoppbyggingsplan* (Fisken og havet Nr. 2020-2). <https://www.hi.no/resources/rapport-fh-2020-2.pdf>
- Baker, M. E. (2010). Evolution of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-type 1 and 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-type 3. *FEBS letters*, 584(11), 2279-2284. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.03.036>
- Barcellos, L. J. G., Ritter, F., Kreutz, L. C., Quevedo, R. M., da Silva, L. B., Bedin, A. C., Finco, J., & Cericato, L. (2007). Whole-body cortisol increases after direct and visual contact with a predator in zebrafish, *Danio rerio*. *Aquaculture*, 272(1-4), 774-778. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.09.002>
- Barton, B. A. (2002). Stress in Fishes: A Diversity of Responses with Particular Reference to Changes in Circulating Corticosteroids. *Integr. Comp. Biol.*, 42(3), 517-525. <https://doi.org/10.1093/icb/42.3.517>
- Bergland, K. G. (2012). *Effekter av miljøgifter på torsk (Gadus morhua) fra indre Oslofjord*
- Blazer, V. S., Walsh, H. L., Braham, R. P., & Smith, C. (2018). Necropsy-based Wild Fish Health Assessment. *J Vis Exp*(139). <https://doi.org/10.3791/57946>
- Bøe, K. (2014). *You are what you get caught with: inter-individual variation in coastal Atlantic cod behaviour* [Norwegian University of Life Sciences, Ås].
- Boonstra, R., Hik, D., Singleton, G. R., & Tinnikov, A. (1998). The Impact of Predator-Induced Stress on the Snowshoe Hare Cycle. *Ecological monographs*, 68(3), 371-394. [https://doi.org/10.1890/0012-9615\(1998\)068\[0371:tiopis\]2.0.com](https://doi.org/10.1890/0012-9615(1998)068[0371:tiopis]2.0.com)
- Brander, K. (2020). Reduced growth in Baltic Sea cod may be due to mild hypoxia. *ICES journal of marine science*, 77(5), 2003-2005. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsaa041>
- Breitburg, D., Levin, L. A., Oschlies, A., Grégoire, M., Chavez, F. P., Conley, D. J., Garçon, V., Gilbert, D., Gutiérrez, D., & Isensee, K. (2018). Declining oxygen in the global ocean and coastal waters. *Science*, 359(6371), eaam7240.

- Bryhn, A. C., Bergek, S., Bergström, U., Casini, M., Dahlgren, E., Ek, C., Hjelm, J., Königson, S., Ljungberg, P., & Lundström, K. (2022). Which factors can affect the productivity and dynamics of cod stocks in the Baltic Sea, Kattegat and Skagerrak? *Ocean & Coastal Management*, 223, 106154.
- Burnham, K. P., Anderson, D. R., Burnham, K. P., & Anderson, D. R. (1998). *Practical use of the information-theoretic approach*. Springer.
- Cadigan, N., Robertson, M. D., Nirmalkanna, K., & Zheng, N. (2022). The complex relationship between weight and length of Atlantic cod off the south coast of Newfoundland. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 79(11), 1798-1819. <https://doi.org/10.1139/cjfas-2021-0325>
- Camacho-Jiménez, L., González-Ruiz, R., & Yepiz-Plascencia, G. (2023). Persistent organic pollutants (POPs) in marine crustaceans: Bioaccumulation, physiological and cellular responses. *Mar Environ Res*, 192, 106184-106184. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2023.106184>
- Canosa, L. F., & Bertucci, J. I. (2023). The effect of environmental stressors on growth in fish and its endocrine control. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 14, 1109461-1109461. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1109461>
- Carbajal, A., Monclús, L., Tallo-Parra, O., Sabes-Alsina, M., Vinyoles, D., & Lopez-Bejar, M. (2018). Cortisol detection in fish scales by enzyme immunoassay: Biochemical and methodological validation. *Journal of applied ichthyology*, 34(4), 967-970. <https://doi.org/10.1111/jai.13674>
- Carbajal, A., Reyes-López, F. E., Tallo-Parra, O., Lopez-Bejar, M., & Tort, L. (2019). Comparative assessment of cortisol in plasma, skin mucus and scales as a measure of the hypothalamic-pituitary-interrenal axis activity in fish. *Aquaculture*, 506, 410-416.
- Caswell, B. A., Paine, M., & Frid, C. L. J. (2018). Seafloor ecological functioning over two decades of organic enrichment. *Mar Pollut Bull*, 136, 212-229. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.08.041>
- Chapman, K., Holmes, M., & Seckl, J. (2013). 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases: intracellular gate-keepers of tissue glucocorticoid action. *Physiological reviews*, 93(3), 1139-1206.
- Christansen, A. M. R. (2025). *PFAS belastning på torskepopulasjonen i indre Oslofjord: Romlige variasjon, sett i sammenheng med miljøeksponering, og fysiologiske stressresponser* [Norwegian University of Life Sciences].
- Ciannelli, L., Knutsen, H., Olsen, E. M., Espeland, S. H., Asplin, L., Jelmert, A., Knutsen, J. A., & Stenseth, N. C. (2010). Small-scale genetic structure in a marine population in relation to water circulation and egg characteristics. *Ecology*, 91(10), 2918-2930.
- Cook, R., Sinclair, A., & Stefansson, G. (1997). Potential collapse of North Sea cod stocks. *Nature*, 385(6616), 521-522.
- Cyr, N. E., & Romero, L. M. (2009). Identifying hormonal habituation in field studies of stress. *Gen Comp Endocrinol*, 161(3), 295-303. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.02.001>
- Dahle, R., Taranger, G. L., Karlsen, Ø., Kjesbu, O. S., & Norberg, B. (2003). Gonadal development and associated changes in liver size and sexual steroids during the reproductive cycle of captive male and female Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 136(3), 641-653. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(03\)00215-0](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(03)00215-0)
- Diaz, R. J., & Rosenberg, R. (2008). Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *science*, 321(5891), 926-929.

- Dutil, J.-D., & Lambert, Y. (2000). Natural mortality from poor condition in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 57(4), 826-836.
<https://doi.org/10.1139/f00-023>
- Dutil, J.-D., Lambert, Y., Chouinard, G., & Fréchet, A. (1995). *Fish condition: What should we measure in cod (Gadus morhua)?* Fisheries and Oceans.
- Ellis, T., Sanders, M., & Scott, A. (2013). Non-invasive monitoring of steroids in fishes. *Vet. Med. Austria*, 100, 255-269.
- Foster, A., Houlihan, D., & Hall, S. (1993). Effects of nutritional regime on correlates of growth rate in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*): comparison of morphological and biochemical measurements. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50(3), 502-512.
- Frigstad, H., Ramon, P., Borgersen, G., Engesmo, A., Staalstrøm, A., Naustvoll, L. J., Lerch, S. J., Schøyen, M., Ruus, A., Strohmeier, T., Falkenhaug, T., Freitas, C., Moland, E., Haugen, T. O., Hoff, S. N. K., Jentoft, S., Mo, T. A., Rinde, E., Hanssen, S. A., . . . Walday, M. G. (2024). *Tilstandsrapport for Oslofjorden*.
- Froese, R. (2006). Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations. *Journal of applied ichthyology*, 22(4), 241-253.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2006.00805.x>
- Gade, H. G. (1968). Horizontal and vertical exchanges and diffusion in the water masses of the oslo fjord. *Helgoländer Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen*, 17(1-4), 462-475.
<https://doi.org/10.1007/BF01611247>
- Gaillard, L., Barouki, R., Blanc, E., Coumoul, X., & Andréau, K. (2025). Per- and polyfluoroalkyl substances as persistent pollutants with metabolic and endocrine-disrupting impacts. *Trends Endocrinol Metab*, 36(3), 249-261.
<https://doi.org/10.1016/j.tem.2024.07.021>
- Godø, O. R., & Moksness, E. (1987). Growth and maturation of Norwegian coastal cod and Northeast Arctic cod under different conditions. *Fisheries research*, 5(2-3), 235-242.
- Guardiola, F. A., Cuesta, A., & Esteban, M. Á. (2022). Mucosal immunology in fish. In *Cellular and Molecular Approaches in Fish Biology* (pp. 251-284). Elsevier.
- Guilliams, T. G., & Edwards, L. (2010). Chronic stress and the HPA axis. *The standard*, 9(2), 1-12.
- Hale, S. S., Cicchetti, G., & Deacutis, C. F. (2016). Eutrophication and Hypoxia Diminish Ecosystem Functions of Benthic Communities in a New England Estuary. *Frontiers in Marine Science*, 3. <https://doi.org/10.3389/fmars.2016.00249>
- Haugen, T., Knight, C., Rosten, T., Karlsson, A., & Kristensen, T. (2009). Velferdsmessige aspekter av fôrrestriksjon for villfanget torsk.
- Haugen, T. O., Colman, J. E., Chavarie, L., Hove, K., Lemmens, L., & Moe, S. R. (2024). Torsk og hummer i indre Oslofjord: Effekter av vernetiltak pr 2023.
- Haugen, T. O., Colman, J. E., & Moe, S. R. (2022). Torsk og hummer i indre Oslofjord: Effekter av vernetiltak.
- Haugen, T. O., Colman, J. E., & Moe, S. R. (2023). Torsk og hummer i indre Oslofjord: Effekter av vernetiltak.
- Hesthagen T, W. R., Bjelland O, Byrkjedal I, Fiske P, Lynghammar A, Nedreaas K og Straube N. (2021, 24.11). *Fisker: Vurdering av torsk Gadus morhua for Norge. Rødlista for arter 2021*. Artsdatabanken. <http://www.artsdatabanken.no/lister/rodlisterforarter/2021/29760>.

- Hinojosa, J. L., Moy, C. M., Stirling, C. H., Wilson, G. S., & Eglinton, T. I. (2014). Carbon cycling and burial in New Zealand's fjords. *Geochem. Geophys. Geosyst.*, 15(10), 4047-4063. <https://doi.org/10.1002/2014GC005433>
- Hinrichsen, H. H., von Dewitz, B., Dierking, J., Haslob, H., Makarchouk, A., Petereit, C., & Voss, R. (2016). Oxygen depletion in coastal seas and the effective spawning stock biomass of an exploited fish species. *R Soc Open Sci.*, 3(1), 150338-150338. <https://doi.org/10.1098/rsos.150338>
- Hontela, A. (1997). Endocrine and physiological responses of fish to xenobiotics: Role of glucocorticosteroid hormones. *Reviews in Toxicology*, 1(2), 123–152. <https://people.uleth.ca/~alice.hontela/pdfs/Hontela1997.pdf>
- Huang, V., Butler, A. A., & Lubin, F. D. (2019). Telencephalon transcriptome analysis of chronically stressed adult zebrafish. *Sci Rep.*, 9(1), 1379-1379. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37761-7>
- Ilestad, A., Haugen, T., & Colman, J. (2012). Differential habitat use between adult European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and North Atlantic cod (*Gadus morhua*) in the inner Oslo fjord: Influence of abiotic environmental variables. *McKenzie J, Parsons B, Seitz A, Kopf RK, Mesa M, Phelps Q, eds. Advances in Fish Tagging and Marking Techniques, American Fisheries Society*, 265-288.
- Infantes, E., Crouzy, C., & Moksnes, P.-O. (2016). Seed predation by the shore crab *Carcinus maenas*: a positive feedback preventing eelgrass recovery? *PloS one*, 11(12), e0168128.
- Jakobsen, A. (2024). *Hele økosystemet kan bli påvirket når de største fiskene forsvinner fra fjordene*. Havforskningsinstituttet. Retrieved 10.01 from <https://www.hi.no/hi/nyheter/2024/oktober/hele-okosystemet-kan-bli-pavirket-nar-de-storste-fiskene-forsvinner-fra-fjordene>
- Jobling, M. (1988). A review of the physiological and nutritional energetics of cod, *Gadus morhua* L., with particular reference to growth under farmed conditions. In (Vol. 70, pp. 1-19). Amsterdam: Amsterdam: Elsevier B.V.
- Johansen, S., & Samdal, J. (1995). *Miljøgifter i indre Oslofjord. Delrapport 5. Kartlegging av kilder*.
- Kennedy, E. K., & Janz, D. M. (2023a). Can scale cortisol concentration be quantified non-lethally in wild fish species? *Conservation physiology*, 11(1), coac081.
- Kennedy, E. K., & Janz, D. M. (2023b). Chronic stress causes cortisol, cortisone and DHEA elevations in scales but not serum in rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 276, 111352.
- Kennedy, E. K. C., & Janz, D. M. (2022). First Look into the Use of Fish Scales as a Medium for Multi-Hormone Stress Analyses. *Fishes*, 7(4), 145. <https://doi.org/10.3390/fishes7040145>
- Laberge, F., Yin-Liao, I., & Bernier, N. J. (2019). Temporal profiles of cortisol accumulation and clearance support scale cortisol content as an indicator of chronic stress in fish. *Conservation physiology*, 7(1), cozo52.
- Lambert, Y., & Dutil, J.-D. (1997). Can simple condition indices be used to monitor and quantify seasonal changes in the energy reserves of cod (*Gadus morhua*)? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54(S1), 104-112.
- Lambert, Y., & Dutil, J. D. (1997). Condition and energy reserves of Atlantic cod (*Gadus morhua*) during the collapse of the northern Gulf of St. Lawrence stock. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54(10), 2388-2400. <https://doi.org/10.1139/f97-145>

- Lapointe, D., Guderley, H., & Dutil, J. D. (2006). Changes in the Condition Factor Have an Impact on Metabolic Rate and Swimming Performance Relationships in Atlantic Cod (*Gadus morhua* L.). *Physiol Biochem Zool*, 79(1), 109-119. <https://doi.org/10.1086/498290>
- Lemos, L. S., Angarica, L. M., Hauser-Davis, R. A., & Quinete, N. (2023). Cortisol as a stress indicator in fish: sampling methods, analytical techniques, and organic pollutant exposure assessments. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(13), 6237.
- Linehan, J. E., Gregory, R. S., & Schneider, D. C. (2001). Predation risk of age-0 cod (*Gadus*) relative to depth and substrate in coastal waters. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 263(1), 25-44.
- Long, S. M., Tull, D. L., De Souza, D. P., Kouremenos, K. A., Dayalan, S., McConville, M. J., Hassell, K. L., Pettigrove, V. J., & Gagnon, M. M. (2020). Metabolomics Provide Sensitive Insights into the Impacts of Low Level Environmental Contamination on Fish Health—A Pilot Study. *Metabolites*, 10(1), 24. <https://doi.org/10.3390/metabo10010024>
- Lorentzen, E. A. (2018). *Her er dei norske torskane*. Havforskningsinstituttet. Retrieved 10.01 from https://www.forskning.no/havforskning-havforskningsinstituttet-partner/her-er-dei-norske-torskane/264061?utm_source=chatgpt.com
- Ma, T., Wu, P., Wang, L., Li, Q., Li, X., & Luo, Y. (2023). Toxicity of per- and polyfluoroalkyl substances to aquatic vertebrates. *Frontiers in environmental science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2023.1101100>
- Madaro, A., Olsen, R. E., Kristiansen, T. S., Ebbesson, L. O., Nilsen, T. O., Flik, G., & Gorissen, M. (2015). Stress in Atlantic salmon: response to unpredictable chronic stress. *The Journal of experimental biology*, 218(16), 2538-2550.
- Marshall, C. T., Yaragina, N. A., Lambert, Y., & Kjesbu, O. S. (1999). Total lipid energy as a proxy for total egg production by fish stocks. *Nature (London)*, 402(6759), 288-290. <https://doi.org/10.1038/46272>
- Mazzi, G., Feltracco, M., Altavilla, L., Alterio, A., Barbaro, E., Bortolini, M., Malavasi, S., & Gambaro, A. (2023). Cortisol, cortisone and DHEAS in epidermis and scales of fish *Aphanius fasciatus*: HPLC-MS/MS measurement of stress indicators as proxies for natural and human-induced factors. *The Science of the total environment*, 904, 166900-166900. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166900>
- Mello, L. G. S., & Rose, G. A. (2005). Seasonal cycles in weight and condition in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) in relation to fisheries. *ICES journal of marine science*, 62(5), 1006-1015. <https://doi.org/10.1016/j.icesjms.2005.03.008>
- Moksnes, P. O., Gullström, M., Tryman, K., & Baden, S. (2008). Trophic cascades in a temperate seagrass community. *Oikos*, 117(5), 763-777.
- Moland, E., Synnes, A.-E., Naustvoll, L. J., Freitas, C., Norderhaug, K. M., Thormar, J., Biuw, M., Jorde, P. E., Knutsen, H., & Dahle, G. (2021). Krafttak for kysttorsk-Kunnskap for stedstilpasset gjenoppbygging av bestander, naturtyper og økosystem i Færder-og Ytre Hvaler nasjonalparker. *Rapport fra havforskningen*.
- Mommsen, T. P., Vijayan, M. M., & Moon, T. W. (1999). Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in fish biology and fisheries*, 9, 211-268.
- Morado, C. N., Araújo, F. G., & Gomes, I. D. (2017). The use of biomarkers for assessing effects of pollutant stress on fish species from a tropical river in Southeastern Brazil. *Acta*

- scientiarum. Biological sciences*, 39(4), 431.
<https://doi.org/10.4025/actasciobiolsci.v39i4.34293>
- Mortensen, A. S., Letcher, R. J., Cangialosi, M. V., Chu, S., & Arukwe, A. (2011). Tissue bioaccumulation patterns, xenobiotic biotransformation and steroid hormone levels in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed a diet containing perfluoroactane sulfonic or perfluorooctane carboxylic acids. *Chemosphere*, 83(8), 1035-1044.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.01.067>
- Myers, R. A., Hutchings, J. A., & Barrowman, N. (1996). Hypotheses for the decline of cod in the North Atlantic. *Marine Ecology Progress Series*, 138, 293-308.
<https://doi.org/10.3354/meps138293>
- Myers, R. A., Hutchings, J. A., & Barrowman, N. J. (1997). Why do fish stocks collapse? The example of cod in Atlantic Canada. *Ecological applications*, 7(1), 91-106.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1890/1051-0761\(1997\)007\[0091:WDFSCCT\]2.0.CO;2](https://doi.org/https://doi.org/10.1890/1051-0761(1997)007[0091:WDFSCCT]2.0.CO;2)
- Nakagawa, S., Lagisz, M., Yang, Y., & Drobniak, S. M. (2024). Finding the right power balance: Better study design and collaboration can reduce dependence on statistical power. *PLoS Biol*, 22(1), e3002423-e3002423. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3002423>
- Nardocci, G., Navarro, C., Cortés, P. P., Imarai, M., Montoya, M., Valenzuela, B., Jara, P., Acuña-Castillo, C., & Fernández, R. (2014). Neuroendocrine mechanisms for immune system regulation during stress in fish. *Fish & shellfish immunology*, 40(2), 531-538.
- Nedreaas, K., Aglen, A., Gjøsæter, J., Jorstad, K., Knutsen, H., Smedstad, O., Svasand, T., & Agotnes, P. (2008). Management of cod in western Norway and on the Skagerrak coast-stock status and possible management measures. *Fisken og havet*, 5, 1-106.
- O'Toole, C., White, P., Graham, C. T., Conroy, C., & Brophy, D. (2024). Cortisol in fish scales remains stable during extended periods of storage. *Conserv Physiol*, 12(1), coae065.
<https://doi.org/10.1093/conphys/coae065>
- O'Toole, C., White, P., Thomas, K., O'Maoiléidigh, N., Fjellidal, P. G., Hansen, T. J., Graham, C. T., & Brophy, D. (2023). Effects of temperature and feeding regime on cortisol concentrations in scales of Atlantic salmon post-smolts. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 569, 151955.
- OpenAI. (2025). *ChatGPT (v.4.0)*. <https://chat.openai.com/>
- Oslofjord, F. f. v.-o. a. s. i. i. (2023). *Årsberetning 2023, Fagråde for vann & avløpsteknisk samarbeid i indre Oslofjord*. [http://www.indre-oslofjord.no/uploads/rsberetning_2023_\(1\).pdf](http://www.indre-oslofjord.no/uploads/rsberetning_2023_(1).pdf)
- Øverli, Ø., Sørensen, C., Pulman, K. G., Pottinger, T. G., Korzan, W., Summers, C. H., & Nilsson, G. E. (2007). Evolutionary background for stress-coping styles: relationships between physiological, behavioral, and cognitive traits in non-mammalian vertebrates. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 31(3), 396-412.
- Øverli, Ø., Winberg, S., & Pottinger, T. G. (2005). Behavioral and Neuroendocrine Correlates of Selection for Stress Responsiveness in Rainbow Trout—a Review. *Integr. Comp. Biol*, 45(3), 463-474. <https://doi.org/10.1093/icb/45.3.463>
- Pankhurst, N. W. (2011). The endocrinology of stress in fish: An environmental perspective. *Gen Comp Endocrinol*, 170(2), 265-275. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2010.07.017>
- Pardoe, H., Vainikka, A., Thórdarson, G., Marteinsdóttir, G., & Heino, M. (2009). Temporal trends in probabilistic maturation reaction norms and growth of Atlantic cod (*Gadus morhua*) on the Icelandic shelf. *Journal canadien des sciences halieutiques et aquatiques*, 66(10), 1719-1733. <https://doi.org/10.1139/F09-132>

- Patiño, R., Redding, J. M., & Schreck, C. B. (1987). Interrenal secretion of corticosteroids and plasma cortisol and cortisone concentrations after acute stress and during seawater acclimation in juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *General and comparative endocrinology*, 68(3), 431-439.
- Pethon, P. (2021). *Aschehougs store fiskebok* (2. ed.). Aschehoug.
- Pottinger, T., & Moran, T. (1993). Differences in plasma cortisol and cortisone dynamics during stress in two strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of fish biology*, 43(1), 121-130.
- Ramon, P., Andersen, J. H., Murray, C. J., & Frigstad, H. (2025). Temporal and spatial trends in eutrophication status in the Oslofjord, Norway. *Sci Total Environ*, 978, 179462. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2025.179462>
- Rätz, H.-J., & Lloret, J. (2003). Variation in fish condition between Atlantic cod (*Gadus morhua*) stocks, the effect on their productivity and management implications. *Fisheries research*, 60(2), 369-380. [https://doi.org/10.1016/S0165-7836\(02\)00132-7](https://doi.org/10.1016/S0165-7836(02)00132-7)
- Rinde, E., Bekkby, T., Kvile, K. Ø., Andersen, G. S., Brkljacic, M. S., Anglès d'Auriac, M., Christie, H. C., Fredriksen, S., Moy, S. R., & Staalstrøm, A. (2021). *Kartlegging av et utvalg marine naturtyper i Oslofjorden* (8257773417). (NIVA-rapport, Issue.
- Rinde, E., Bøe, R., Fleddum, A., Lepland, A., Walday, M., & Staalstrøm, A. (2009). Kartlegging av marine habitater i indre Oslofjord. Utvikling av detaljerte habitatkart basert på dyp, substrattyppe og energinivå.
- Salvanes, A. G. V., Skjæraasen, J. E., & Nilsen, T. (2004). Sub-populations of coastal cod with different behaviour and life-history strategies. *Marine Ecology Progress Series*, 267, 241-251.
- Schreck, C. B., & Tort, L. (2016). The concept of stress in fish. In *Fish physiology* (Vol. 35, pp. 1-34). Elsevier.
- Schreck, C. B., Tort, L., Farrell, A., & Brauner, C. (2016). *Biology of stress in fish* (Vol. 35). Academic Press.
- Schumann, S., Negrato, E., Piva, E., Pietropoli, E., Bonato, M., Irato, P., Marion, A., Santovito, G., & Bertotto, D. (2024). Cortisol levels reveal species-specific stress condition in fish from PFAS polluted rivers. *Chemosphere*, 363, 142925.
- Seckl, J. R., & Walker, B. R. (2001). Minireview: 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1—a tissue-specific amplifier of glucocorticoid action. *Endocrinology*, 142(4), 1371-1376.
- Service, N. M. F. (1999). *Atlantic cod, Gadus morhua: Life history and habitat characteristics* (NOAA Technical Memorandum NMFS-NE-124). https://repository.library.noaa.gov/view/noaa/3099/noaa_3099_DS1.pdf
- Sherwood, G. D., Rideout, R. M., Fudge, S. B., & Rose, G. A. (2007). Influence of diet on growth, condition and reproductive capacity in Newfoundland and Labrador cod (*Gadus morhua*): Insights from stable carbon isotopes ($\delta^{13}\text{C}$). *Deep-sea research. Part II, Topical studies in oceanography*, 54(23), 2794-2809. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2007.08.007>
- Shi, X., Liu, C., Wu, G., & Zhou, B. (2009). Waterborne exposure to PFOS causes disruption of the hypothalamus–pituitary–thyroid axis in zebrafish larvae. *Chemosphere*, 77(7), 1010-1018.
- Smith, L. L. (1976). *Effect of Hydrogen Sulfide on Fish and Invertebrates: Acute and chronic toxicity studies*. US Environmental Protection Agency, Office of Research and Development

- Sodeland, M., Jentoft, S., Jorde, P. E., Mattingsdal, M., Albretsen, J., Kleiven, A. R., Synnes, A.-E., Espeland, S. H., Olsen, E. M., André, C., Stenseth, N. C., & Knutsen, H. (2022). Stabilizing selection on Atlantic cod supergenes through a millennium of extensive exploitation. *Proceedings of the National Academy of Sciences - PNAS*.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2114904119>
- Symonds, M. R., & Moussalli, A. (2011). A brief guide to model selection, multimodel inference and model averaging in behavioural ecology using Akaike's information criterion. *Behavioral ecology and sociobiology*, 65, 13-21.
- Synnes, A.-E. W., Huserbråten, M., Knutsen, H., Jorde, P. E., Sodeland, M., & Moland, E. (2021). Local recruitment of Atlantic cod and putative source spawning areas in a coastal seascape. *ICES journal of marine science*, 78(10), 3767-3779.
<https://doi.org/10.1093/icesjms/fsab226>
- Synnes, A. E. W., Olsen, E. M., Jorde, P. E., Knutsen, H., & Moland, E. (2023). Contrasting management regimes indicative of mesopredator release in temperate coastal fish assemblages. *Ecology and Evolution*, 13(12), e10745.
- Thorarensen, H., Gústavsson, A., Gunnarsson, S., Arnason, J., Steinarsson, A., Björnsdóttir, R., & Imsland, A. K. D. (2017). The effect of oxygen saturation on the growth and feed conversion of juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture*, 475, 24-28.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.04.002>
- Topić Popović, N., Čizmek, L., Babić, S., Strunjak-Perović, I., & Čož-Rakovac, R. (2023). Fish liver damage related to the wastewater treatment plant effluents. *Environ Sci Pollut Res Int*, 30(17), 48739-48768. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-26187-y>
- Van Weerd, J. H., & Komen, J. (1998). The effects of chronic stress on growth in fish: a critical appraisal. In (Vol. 120, pp. 107-112): Elsevier Inc.
- Vanhomwegen, M., De Boeck, G., & Aerts, J. (2023). Long-term stress induced cortisol downregulation, growth reduction and cardiac remodeling in Atlantic salmon. *Journal of Experimental Biology*, 226(22).
- Vindas, M. A., Gorissen, M., Höglund, E., Flik, G., Tronci, V., Damsgård, B., Thörnqvist, P.-O., Nilsen, T. O., Winberg, S., & Øverli, Ø. (2017). How do individuals cope with stress? Behavioural, physiological and neuronal differences between proactive and reactive coping styles in fish. *Journal of Experimental Biology*, 220(8), 1524-1532.
- Virtanen, M. I., Brinchmann, M. F., Patel, D. M., & Iversen, M. H. (2023). Chronic stress negatively impacts wound healing, welfare, and stress regulation in internally tagged Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Front Physiol*, 14, 1147235-1147235.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1147235>
- Walday, M., Fleddum, A., & Lepland, A. (2005). Kartlegging av marint biologisk mangfold i indre Oslofjord-Forprosjekt.
- Wenning, R. J., & Martello, L. (2014). POPs in marine and freshwater environments. In *Environmental forensics for persistent organic pollutants* (pp. 357-390). Elsevier.
- Williams, B. K., Brown, E. D., & McCrea, R. (2019). Sampling and analysis frameworks for inference in ecology. *Methods in ecology and evolution*, 10(11), 1832-1842.
<https://doi.org/10.1111/2041-210X.13279>

6. Vedlegg

Tabell 1. Statistikk for kondisjonsfaktor som viser antall fisk (N), gjennomsnittlig kondisjonsfaktor (Gj.snitt), standardavvik (SD) og median (MD) for hver sone.

SONE	N	GJ.SNITT	SD	MD
BÆRUMSBASSENGET	6	0,83	0,05	0,83
YTRE OSTØYA.	5	0,78	0,07	0,79
ILDJERNET	6	0,83	0,11	0,83
DRØBAK	11	0,89	0,06	0,90
TROMSØ	10	0,97	0,11	0,97

Tabell 2. Resultater fra Tukey post-hoc test for parvise sammenligninger av kondisjonsfaktor mellom soner i oslofjorden. Tabellen viser forskjell i gjennomsnitt (diff), nedre og øvre konfidensintervall (lwr og upr) og justert p-verdi (p adj).

Soner	diff	lwr	upr	p adj
Ytre Ostøya-Bærumsbassenget	-0,052	-0,197	0,093	0,835
Ildjernet-Bærumsbassenget	0,003	-0,135	0,142	1
Drøbak-Bærumsbassenget	0,057	-0,064	0,179	0,655
Tromsø-Bærumsbassenget	0,137	0,014	0,261	0,023
Ildjernet-Ytre Ostøya	0,056	-0,089	0,201	0,801
Drøbak-Ytre Ostøya	0,11	-0,019	0,239	0,128
Tromsø-Ytre Ostøya	0,19	0,058	0,321	0,002
Drøbak-Ildjernet	0,054	-0,068	0,175	0,704
Tromsø-Ildjernet	0,134	0,01	0,257	0,028
Tromsø-Drøbak	0,08	-0,025	0,185	0,203

Tabell 4. ANOVA og parameterestimer for utvalgte regresjonsmodell (tabell 3) som forklarer log-transformert vekt (g) basert på log-transformert lengde (cm) hos torsk. Forkortelser: torsk lengde (log(Lengde_cm)), variabel (Var), estimat (Est), standardfeil (SE), frihetsgrader (Df), kvadratsum (SS), F-statistikk (F) og p-verdi (p). F = 3828 , R² (Adjusted) = 0,993 , R² (Multiple R squared) = 0,9933

ESTIMATER			ANOVA				
VAR	Est	SE	Effekt	Df	SS	F	P
INTERCEPT	-5,34	0,16	log(Lengde_cm)	1	24,31	3828	2,2E-16
LOG(LENGDE_CM)	3,17	0,05					

Tabell 5. LSI i ulike lokaliteter (deler av Oslofjorden og et referanseområde i Tromsø). Tabellen viser antall individer (N), gjennomsnittlig leverandel (GJ.SNITT), standardavvik (SD) og medianverdi (MD) for hver lokalitet.

SONE	N	GJ.SNITT (%)	SD (%)	MD (%)
BÆRUMSBASSET	6	2,5	0,5	2,6
YTRE OSTØYA	5	2,1	0,6	2,4
ILDJERNET	6	1,7	0,6	1,5
DRØBAK	11	1,8	1,1	1,4
TROMSØ	10	1,7	0,7	1,4

Tabell 6, Resultater fra en enveis ANOVA som undersøker forskjeller i LSI hos torsk fra fem ulike lokasjoner (4 i Oslofjorden og Tromsø). Tabellen viser frihetsgrader (Df), sum av kvadrater (Sum Sq), gjennomsnittlig kvadrat (Mean Sq), F-verdi og tilhørende p-verdi (Pr(>F)).

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Sone	4	0,0002958	7,394e-05	1,197	0,33
Residuals	33	0,0020378	6,175e-05		

Tabell 8. ANOVA og parameterestimer for utvalgte regresjonsmodell (tabell 7) som forklarer som forklarer LSI basert på Total organisk karbon (TOC) målt i 4 ulike soner i Oslofjorden. Forkortelser: variabel (Var), estimat (Est), standardfeil (SE), frihetsgrader (Df), kvadratsum (SS), F-statistikk (F) og p-verdi (p). $F = 3,873$, R^2 (Adjusted) = 0,09616, R^2 (Multiple R squared) = 0,1296

ESTIMATER			ANOVA				
VAR	Est	SE	Effekt	Df	SS	F	P
INTERCEPT	0,006	0,007	TOC	1	0,0002	3,87	0,06
TOC	0,003	0,001					

Tabell 10. Resultater fra en enveis ANOVA som undersøker forskjeller i log transformert kortisol og kortison i fiskeskjell mellom ulike lokasjoner i Oslofjorden. Tabellen viser frihetsgrader (Df), sum av kvadrater (Sum Sq), gjennomsnittlig kvadrat (Mean Sq), F-verdi og tilhørende p-verdi (Pr(>F)).

KORTISOL						KORTISON				
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Sone	3	14	4,6	5,1	0.007	3	7	2,32	4,9	0,009
Residuals	24	22	0,9			24	11	0,47		

Tabell 12. ANOVA og parameterestimer for utvalgte regresjonsmodell (tabell 11) som forklarer kortisollnivå basert på sone og K_faktor. Forkortelser: variabel (Var), estimat (Est), standardfeil (SE), frihetsgrader (Df), kvadratsum (SS), F-statistikk (F) og p-verdi (p). Modellstatistikk: $F = 5,1$; R^2 (Adjusted) = 0,3779, R^2 (Multiple R squared) = 0.4701

ESTIMATER			ANOVA				
VAR	Est	SE	Effekt	Df	SS	F	P
INTERCEPT	5,33	2,17	SONE	3	13,75	5,61	<2e-16
SONE DRØBAK	2,04	0,48	K_FAKTOR	1	2,91	3,56	0,07
SONE ILDJERNET	1,06	0,52					
SONE YTRE	0,22	0,56					
OSTØYA							
K_FAKTOR	-4,87	2,58					

Tabell 13. Resultater fra Tukey's HSD post-hoc test for log transformert kortisol (ng/mL) og kortison (ng/mL) i skjell mellom ulike soner i Oslofjorden. Kolonnen DIFF viser estimert forskjell i gjennomsnittlig kortisolnivå mellom soner, mens LWR og UPR viser henholdsvis nedre og øvre grense for det 95 % konfidensintervallet. P ADJ viser justerte p-verdier for multipl sammenligning.

Sone	KORTISOL				KORTISON			
	diff	lwr	upr	p adj	diff	lwr	upr	p adj
Drøbak-Bærumsbassenget	1,76	0,43	3,09	0,01	1,31	0,35	2,28	0,01
Ildjernet-Bærumsbassenget	1,05	-0,47	2,56	0,25	0,89	-0,21	1,99	0,14
Ytre Ostøya-Bærumsbassenget	0,48	-1,11	2,07	0,84	0,61	-0,54	1,76	0,48
Ildjernet-Drøbak	-0,71	-2,04	0,62	0,47	-0,42	-1,39	0,54	0,63
Ytre Ostøya-Drøbak	-1,28	2,70	0,13	0,08	-0,71	-1,73	0,32	0,25
Ytre Ostøya-Ildjernet	-0,57	-2,16	1,02	0,76	-0,28	-1,44	0,87	0,90

Tabell 15. Resultater fra en enveis ANOVA som undersøker forskjeller i log-transformert slimkortisol og kortison mellom ulike soner i Oslofjorden og Tromsø.. Tabellen viser frihetsgrader (Df), sum av kvadrater (Sum Sq), gjennomsnittlig kvadrat (Mean Sq), F-verdi og tilhørende p-verdi (Pr(>F)).

	KORTISOL					KORTISON				
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Sone	3	123,7	41,23	45,81	1e-10	3	17,523	5,84	17,58	1,57e-06
Residuals	27	24,3	0,9			27	8,969	0,332		

Tabell 16. Resultater fra Tukey's HSD post-hoc test for log transformert kortisol (ng/mL) og -kortison (ng/mL) i torskeslim mellom ulike soner i Oslofjorden og Tromsø. Kolonnen DIFF viser estimert forskjell i gjennomsnittlig kortisolnivå mellom soner, mens LWR og UPR viser henholdsvis nedre og øvre grense for det 95 % konfidensintervallet. P ADJ viser justerte p-verdier.

	KORTISOL				KORTISON			
	diff	lwr	upr	p adj	diff	lwr	upr	p adj
ILDJERNET-YTRE OSTØYA	0,16	-1,41	1,73	0,99	-0,05	-1,01	0,9	1
DRØBAK-YTRE OSTØYA	1,66	0,24	3,09	0,02	0,87	0,01	1,74	0,05
TROMSØ-YTRE OSTØYA	-3,2	-4,63	-1,78	0	-1	-1,86	-0,13	0,02
DRØBAK-ILDJERNET	1,51	0,16	2,85	0,02	0,92	0,11	1,74	0,02
TROMSØ-ILDJERNET	-3,36	-4,7	-2,02	0	-0,95	-1,76	-0,13	0,02
TROMSØ-DRØBAK	-4,87	-6,03	-3,71	0	-1,87	-2,58	-1,17	0

Tabell 19. ANOVA og parameterestimer for utvalgte regresjonsmodell (tabell 17) som forklarer forklares kortison/kortisol forhold basert på sone. Forkortelser: variabel (Var), estimat (Est), standardfeil (SE), frihetsgrader (Df), kvadratsum (SS), F-statistikk (F) og p-verdi (p). Intercept er Bærumsbassenget. Modellstatistikk: $F=4,657$; R^2 (Adjusted) = 0,2889; R^2 (Multiple R squared) = 0.3679

ESTIMATER			ANOVA				
VAR	Est	SE	Effekt	Df	SS	F	P
INTERCEPT	0.039	0.004	SONE	3	0.001	4.657	0.01
SONE DRØBAK	-0.012	0.005					
SONE ILDJERNET	-0.005	0.006					
SONE YTRE OSTØYA	0.006	0.006					

Tabell 20. Resultater fra en enveis ANOVA som undersøker forskjeller i kortison/kortisol-ratio i skjell og log-transformert kortison/kortisol ratio i mellom ulike soner i Oslofjorden og Tromsø.. Tabellen viser frihetsgrader (Df), sum av kvadrater (Sum Sq), gjennomsnittlig kvadrat (Mean Sq), F-verdi og tilhørende p-verdi ($Pr(>F)$).

SKJELL						SLIM				
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	$Pr(>F)$	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	$Pr(>F)$
Sone	3	0,001	0	4,657	0,011	3	49,769	16,59	49,756	2,2e-16
Residuals	27	0,003	0			27	9,002	0,333		

Tabell 21. Resultater fra Tukey's HSD post-hoc test for kortison/kortisol ratio i skjell mellom ulike soner i Oslofjorden. Kolonnen DIFF viser estimert forskjell i gjennomsnittlig kortisolnivå mellom soner, mens LWR og UPR viser henholdsvis nedre og øvre grense for det 95 % konfidensintervallet. P ADJ viser justerte p-verdier for multipel sammenligning.

	SKEJLL			
Sone	diff	lwr	upr	p adj
Drøbak-Bærumsbassenget	-0,01	-0,03	0,00	0,09
Ildjernet-Bærumsbassenget	-0,01	-0,02	0,01	0,82
Ytre Ostøya-Bærumsbassenget	0,01	-0,01	0,02	0,75
Drøbak - Ildjernet	-0,01	-0,02	0,01	0,47
Drøbak - Ytre Ostøya	-0,02	-0,03	0,00	0,01
Ildjernet - Ytre Ostøya	-0,01	-0,03	0,01	0,28

Tabell 22. Resultater fra Tukey's HSD post-hoc test for log transformert kortison/kortisol ratio i slim mellom ulike soner i Oslofjorden og Tromsø. Kolonnen DIFF viser estimert forskjell i gjennomsnittlig kortisolnivå mellom soner, mens LWR og UPR viser henholdsvis nedre og øvre grense for det 95 % konfidensintervallet. P ADJ viser justerte p-verdier for multippel sammenligning.

Sone	SLIM			
	diff	lwr	upr	p adj
Ildjernet-Ytre Ostøya	-0,21	-1,17	0,75	0,93
Drøbak-Ytre Ostøya	-0,79	-1,65	0,08	0,08
Tromsø-Ytre Ostøya	2,21	1,34	3,07	0,00
Drøbak - Ildjernet	-0,58	-1,40	0,24	0,23
Tromsø-Ildjernet	2,41	1,6	3,23	0,00
Tromsø-Drøbak	3,00	2,29	3,70	0,00

Vedlegg 1: Prosedyre for analyse av skjell og slim



Institutt for Parakliniske Fag, Farmakologi

Dato: 15.02.2025DD
Ikke
akkreditert
M-FT 36

M-FT 36. Analyse av kortisol og kortison i fiskeskjell og fiskeslim ved bruk av høytrykksvæskerkromatografi-tandem massespektrometri (LC-MS/MS)

LC-MS/MS analysemetode

1. ANALYSEPRINSIPP

Fiskeskjell/ fiskeslim prøvene homogeniseres med homogeniseringsmaskin med små kuler.
Fiskeskjell: analyttene ekstraheres med blanding av acetonitril og metanol, deretter renses ekstraktene opp med SPE -HLB kolonner.
Fiskeslim: analyttene ekstraheres med blanding av etylacetat og heksan gjennom SLE opprenningskolonner.
Ekstraktet dampes til tørr, løses i 50% metanol(v/v) og analyseres med LC-MS/MS.

2. UTSTYR

2.1. Glass og engangsutstyr

- 2.1.1. 15mL sterile PP (polypropylen) sentrifugerør med safe lock (VWR)
- 2.1.2. Spin-X (1.5mL sentrifugefiltre) (Merck)
- 2.1.3. HPLC-vials (2mL med inserts) (Agilent, Matriks AS)
- 2.1.4. Pasteur pipetter 150 mm (WVR)
- 2.1.5. Målekolber, analytisk grad type A(VWR)
- 2.1.6. 2mL homogeniseringsrør (VWR)
- 2.1.7. 1mL Supel Swift HLB SPE (solid phase extraction) kolonner (Supelco, Merck)
- 2.1.8. 1mL Novum SLE (solid liquid extraction) kolonner (Phenomenex)

2.2. Instrumenter

- 2.2.1. Analytisk vekt (FT 20) (Mettler)
- 2.2.2. Sentrifuge (FT 103) (Beckman Coulter)
- 2.2.3. Mikrosentrifuge med kjøling (Heraeus Fresco 21, Thermo Scientific)
- 2.2.4. Vortex mikser (FT 100) (VWR)
- 2.2.5. Automatpipetter (P1, P3-P4, P29) (Thermo Scientific)

TEST 137, Parafag

Dokument ID: M-FT 36
Revidert av: DD
Godkjent: TEH

Gyldig
fra: 15.02.2025
Erstatter: ingen
Side 1 av 12



**M-FT 36. Analyse av kortisol og kortison i
fiskeskjell og fiskeslim ved bruk av
høytrykksvæskeskromatografi-tandem
massespektrometri (LC-MS/MS)**

- 2.2.6. LC-MS/MS API 4000 (FT 39- FT 118-FT 125) (Agilent-Sciex)
- 2.2.7. Precellys 24 homogenisering maskin (Bertin Technologies)
- 2.2.8. Vakuum manifold (Supelco, Merck)
- 2.2.9. Ultralydbad (VWR)
- 2.2.10. Reacti-Vap Inndamper (Thermo Scientific)

3. KJEMIKALIER OG REAGENSER

3.1. Rene kjemikalier

- 3.1.1. Metanol- HPLC grad (MeOH)(VWR)
- 3.1.2. Etylacetat (Merck)
- 3.1.3. Maursyre (VWR)
- 3.1.4. Acetonitril -HPLC grad (AcN)(VWR)
- 3.1.5. Heksan (VWR)
- 3.1.6. Isopropanol (IPA, VWR)
- 3.1.7. Elga vann (18.2 mΩ, TOC<1) (Elga Ultrapure Laboratory)

3.2. Løsninger

- 3.2.1. Sluttløsemiddel: 50%MeOH(v/v); gyldig i en måned.
- 3.2.2. Ekstraksjonsblanding: AcN/MeOH 9:1 med 0.2% HCOOH(v/v). lages ny til hver analyse.
- 3.2.3. Elueringsmiddel: Etylacetat/Heksan 75:25(v/v). Gyldig i en uke.
- 3.2.4. Nålvaske: 0.2% HCOOH i AcN: MeOH: IPA: H₂O: 1:1:1:1(v/v)
- 3.2.5. Mobilfase A: 0.1% HCOOH i H₂O
- 3.2.6. Mobilfase B: 0.1% HCOOH i AcN



M-FT 36. Analyse av kortisol og kortison i fiskeskjell og fiskeslim ved bruk av høytrykksvæskeskromatografi-tandem massespektrometri (LC-MS/MS)

3.3. Standarder

- 3.3.1. Cortisol (Merck, Sigma)
- 3.3.2. Cortisol-13C3 (Cerilliant, Merck)
- 3.3.3. Cortisone (Merck, Sigma)
- 3.3.4. Cortisone-d8 (Merck, Sigma)

3.4. Standardløsninger

- 3.4.1. 1 mg/mL stamløsning lages ved å løse stoffet i metanol.
- 3.4.2. 10 µg/mL standardløsning/internstandardløsning lages ved å fortynne 100 µL hver av 1 mg/mL stamløsningene (3.4.1) til 10 mL med metanol i én 10 mL målekolbe.
- 3.4.3. 100 ng/mL standardblanding/internstandardløsning lages ved å fortynne 100 µL av 10 µg/mL standardblanding (3.4.2) til 10 mL med metanol i én 10 mL målekolbe.
- 3.4.4. 10 ng/mL standardblanding/internstandardløsning lages ved å fortynne 1000 µL av 100 ng/mL standardblanding (3.4.3) til 10 mL med sluttløsemiddel (metanol) i en 10 mL målekolbe.
- 3.4.5. 50 ng/mL standardblanding/internstandardløsning lages ved å fortynne 50 µL av 10 µg/mL standardblanding (3.4.2) til 10 mL med metanol i en 10 mL målekolbe.

*Alle standarder oppbevares på frys (-20°C). Sett i kjøleskap rett før bruk

*Til spiking av prøver/tillaging av kontrollprøver brukes fortynninger i metanol



**M-FT 36. Analyse av kortisol og kortison i
fiskeskjell og fiskeslim ved bruk av
høytrykksvæskeskromatografi-tandem
massespektrometri (LC-MS/MS)**

3.5. Mottak /Oppbevaring av prøve: mottatte prøver settes på -80°C til henholdsvis analyse

4. PRØVEOPPARBEIDELSE

4.1. Fiskeskjell:

- 4.1.1. Ferdig renset skjell tines på is (4°C), deretter veies i 2mL mikrorør (2.1.6).
- 4.1.2. Tilsett 1x6 mm zirkonium oksid kule og en spatel med sandmatriks A i hver.
- 4.1.3. Tilsett 1000µL nylaget 0.2% maursyre i 9+1 AcN /MeOH (3.2.2)
- 4.1.4. Tilsett 30µL IS (intern standard) mix 10/50ng/mL (kortison-D8/13C3-kortisol) i metanol til 30mg skjell eller tilsvarende for mer eller mindre mengde prøve.
- 4.1.5. Tilsett 1000µL nylaget 0.2% maursyre i 9+1 AcN /MeOH (3.2.2)
- 4.1.6. Vorteks i 30s.
- 4.1.7. Prøvene homogeniseres 3xHard program ved hjelp av Precellys 24 homogenisering maskin (2.2.6).
- 4.1.8. Sett prøvene på vannbad med blanding av is og vann (4°C) i 15 minutter.
- 4.1.9. Sentrifuger prøvene i 30min ved 20.000g, 4°C. (2.2.3)
- 4.1.10. Rens opp supernatanten med 1mL Supel Swift HLB SPE kolonne ved bruk av vakuum manifold og 15mL PP sentrifugerør.
- 4.1.11. Damp inn ekstraktet til tørr under nitrogen ved 37°C. (2.2.9)
- 4.1.12. Løs i 100µL sluttløsemiddel (3.2.1).
- 4.1.13. Sentrifuger i 2 min ved 3500rpm (2.2.2).
- 4.1.14. Filtrer med Spin -X sentrifugefiltre i 1min ved 10.000 rpm.
- 4.1.15. Overfør til HPLC-vial med inserts.

4.2. Fiskeslim:



M-FT 36. Analyse av kortisol og kortison i fiskeskjell og fiskeslim ved bruk av høytrykksvæskeskromatografi-tandem massespektrometri (LC-MS/MS)

- 4.2.1. Slimprøvene tines på is (4°C).
- 4.2.2. 20 µL (eller mindre) pipetteres i 2 mL homogeniseringsrør ved 4°C (på is).
- 4.2.3. Tilsett en spatel med 1.4 mm zirkonium oksid kuler (ca 20 stk).
- 4.2.4. Fortynn prøvene med 200 µL vann.
- 4.2.5. Tilsett 20 µL IS mix 10/50 ng/mL (kortison-D8/13C3-kortisol) til 20 µL slim prøve.
- 4.2.6. Vorteks i 30 sek.
- 4.2.7. Homogeniser prøvene 3x Work program ved bruk av Precellys 24 (2.2.6).
- 4.2.8. Sett på ultralydbad i 15 minutter ved 4°C.
- 4.2.9. Sentrifuger kort for å samle volumet i den nedre delen av røret.
- 4.2.10. Sett prøven på 1 mL SLE Novum opprensing kolonne ved 5 Hg vacuum i 10 s.
- 4.2.11. La det stå i 5 minutter ved gravitasjon.
- 4.2.12. Eluer med 2x600 µL Etylacetat/Heksan 75:25 (3.2.3)
- 4.2.13. Ekstraktet dampes til tørr under N₂ ved 37°C.
- 4.2.14. Løs i 100 µL sluttløsemiddel (3.2.1)
- 4.2.15. Vorteks i 30 sekunder.
- 4.2.16. Sentrifuger i 2 min ved 3500 rpm (2.2.2)
- 4.2.17. Filtrer prøvene med Spin-X sentrifugefiltre i 1 min ved 10.000 rpm.
- 4.2.18. Overfør til HPLC-vials med inserts.

4.3 Kalibreringsskurve

Til utregning av konsentrasjoner i prøver benyttes en ekstern kalibreringskurve (med standard og internstandard) beregnet ut ifra matrikseffekter og oppnådd konsentrasjon etter prøveoppbeidelsen. (1)

Eksempel for konsentrasjonsberegning av kortisol beregnet for 30 mg fiskeskjell:



Institutt for Parakliniske Fag, Farmakologi

Dato: 15.02.2025 DD
Ikke
akkreditert
M-FT 36

**M-FT 36. Analyse av kortisol og kortison i
fiskeskjell og fiskeslim ved bruk av
høytrykksvæskeskromatografi-tandem
massespektrometri (LC-MS/MS)**

Konsentrasjon Kortisol (ng/g)	0	2.5	5	10	25	50	100
Beregnet Konsentrasjon etter prøveopparbeidelse (ng/mL):	0	0.33	0.66	13.2	3.3	6.6	13.2
Konsentrasjon intern standard (13C3- Cortisol) (ng/g)	50	50	50	50	50	50	50
Beregnet intern standard Konsentrasjon etter prøveopparbeidelse (ng/mL):	6.6	6.6	6.6	6.6	6.6	6.6	6.6

NB:

Minst en kontroll prøve tas med til hver analyse. (1)

Kalibrator standarder lages i sluttløsemiddel. (3.2.1)

TEST 137, Parafag

Dokument ID: M-FT 36
Revidert av: DD
Godkjent: TEH

Gyldig
fra: 15.02.2025
Erstatter: ingen
Side 6 av 12



Institutt for Parakliniske Fag, Farmakologi

Dato: 15.02.2025DD
Ikke
akkreditert
M-FT 36

**M-FT 36. Analyse av kortisol og kortison i
fiskeskjell og fiskeslim ved bruk av
høytrykksvæskeskromatografi-tandem
massespektrometri (LC-MS/MS)**

5. ANALYSEBETINGELSER

5.1 LC-betingelser (Agilent 1100 HPLC oppsett)

Kolonne: Kinetex-F5 100 x 2,1 mm i.d., 2.7µm (Phenomenex)

Mobilfase A: 0.1% HCOOH i H₂O

Mobilfase B: 0.1% HCOOH i AcN

Injeksjon volum: 20µL

Autosampler temp: 5°C

Kolonneovn temp: 35°C

Analysetid: 20min

Nålvask: 0.2% HCOOH i AcN: MeOH: IPA: H₂O: 1:1:1:1 (v/v)

5.1.1 Pumpeprogram LC (Agilent 1100)

Tid Min	Flow µL/min	Mobilfase A %	Mobilfase B %
0	250	85	15
2.3	250	85	15
9.7	250	15	85
10	250	10	85
10.5	250	5	95
11	250	5	95
12	250	2	98
12.2	250	0	100
15	250	0	100
15.1	250	85	15
20	250	85	15

TEST 137, Parafag

Dokument ID: M-FT 36
Revidert av: DD
Godkjent: TEH

Gyldig
fra: 15.02.2025
Erstatter: ingen
Side 7 av 12



Institutt for Parakliniske Fag, Farmakologi

Dato: 15.02.2025 DD
Ikke
akkreditert
M-FT 36

**M-FT 36. Analyse av kortisol og kortison i
fiskeskjell og fiskeslim ved bruk av
høytrykksvæskeskromatografi-tandem
massespektrometri (LC-MS/MS)**

5.2 MS/MS-betingelser (API 4000 Q-Trap, Sciex)

Komponent	Retensjonstid Min	Precursor m/z	Produkt m/z	Polarity
Cortisol	8.52	407.4	331 297	Negative
Cortisol-13C3	8.52	410.2	334 300	Negative
Cortisone	8.8	405.5	329 301	Negative
Cortisone-d8	8.8	411.4	337 309	Negative
Scan type:	MRM			
Polarity:	negative			
CAD (Collision gas N2):	7 psi			
CUR (Curtain gas N2):	25psi			

TEST 137, Parafag

Dokument ID: M-FT 36
Revidert av: DD
Godkjent: TEH

Gyldig
fra: 15.02.2025
Erstatter: ingen
Side 8 av 12



Institutt for Parakliniske Fag, Farmakologi

Dato: 15.02.2025DD
Ikke
akkreditert
M-FT 36

M-FT 36. Analyse av kortisol og kortison i fiskeskjell og fiskeslim ved bruk av høytrykksvæskeskromatografi-tandem massespektrometri (LC-MS/MS)

GS1 (Nebulizer gas N2):	50 psi
GS2 (Turbo gas N2):	60 psi
IS (IonSpray Voltage):	-4400V
TEM:	500°C

6 ANALYSEKVALITET OG BEHANDLING AV DATA

6.1. Aksept av analyseserie

- 6.1.1. Før analyseserien startes injiseres en MS-standard minst to ganger for å sjekke følsomheten på instrumentoppsettet.
- 6.1.2. Hvis regresjonskoeffisienten til en eller flere av kalibreringskurvene er dårligere enn 0,99 (linear regresjon) blir prøveserien forkastet. (1)

6.2. Kvantifisering

Resultatbehandling og kvantifisering blir utført ved bruk av programvaren Analyst 1.7.0

Kvantifiseringsmetoden som benyttes skal være i henhold til gjeldene SOP.
Ion overgangene med høyest signal ble brukt til kvantifisering.

For kvantifisering av analyseresultatene benyttes en ekstern kalibreringskurve (4.2).
Konsentrasjonen plottes mot forholdet mellom topparealet til analytten og topparealet til internstandard.

Den resulterende kalibreringskurven brukes til å regne ut konsentrasjonen av analytten i prøvene.



**M-FT 36. Analyse av kortisol og kortison i
fiskeskjell og fiskeslim ved bruk av
høytrykksvæskeskromatografi-tandem
massespektrometri (LC-MS/MS)**

BIDRAG TIL USIKKERHET

Handling	Bidrag til usikkerhet
Innveiging /Pipettering	***
Tilsetting av standard /intern standard	***
Homogenisering, ekstraksjon, opprensing og sentrifugering	**
Overføring av supernatant	**
Tilsetting av sluttløsemiddel	***
Spin-X og overføring til HPLC-glass	*
Ekvilibrering av HPLC-kolonne og ionekilde	*
Dødvolum i HPLC-oppsatt	***

- * = lite bidrag til usikkerhet
** = middels bidrag til usikkerhet
*** = stort bidrag til usikkerhet

7. REFERANSER

Egenutviklet metode.

**1. Commission Implementing Regulation EU 2021/808 of 22 March 2021 on the
performance of analytical methods and the interpretation of the results (2002/657/EC)**



Institutt for Parakliniske Fag, Farmakologi

Dato: 15.02.2025 DD
Ikke
akkreditert
M-FT 36

**M-FT 36. Analyse av kortisol og kortison i
fiskeskjell og fiskeslim ved bruk av
høytrykksvæskeskromatografi-tandem
massespektrometri (LC-MS/MS)**



Institutt for Parakliniske Fag, Farmakologi

Dato: 15.02.2025DD
Ikke
akkreditert
M-FT 36

**M-FT 36. Analyse av kortisol og kortison i
fiskeskjell og fiskeslim ved bruk av
høytrykksvæskeskromatografi-tandem
massespektrometri (LC-MS/MS)**

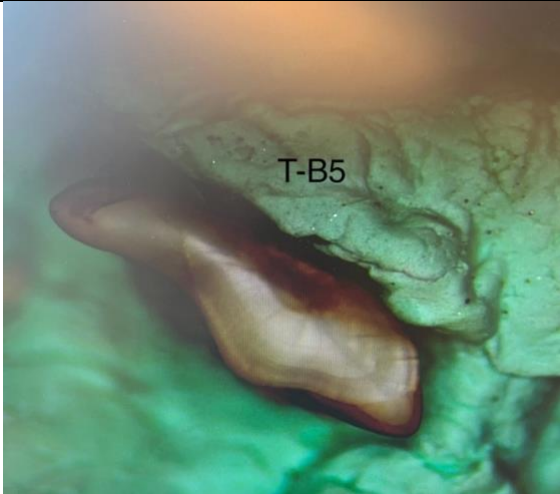
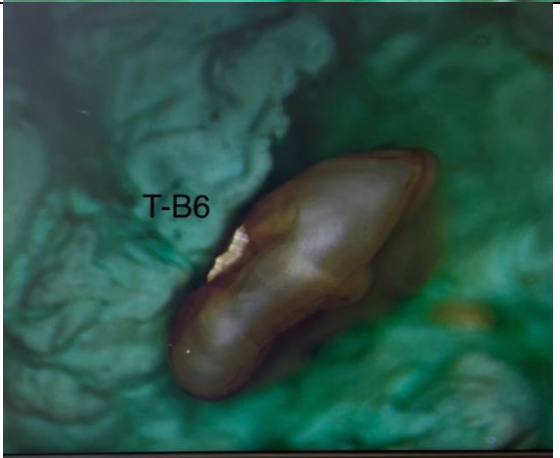
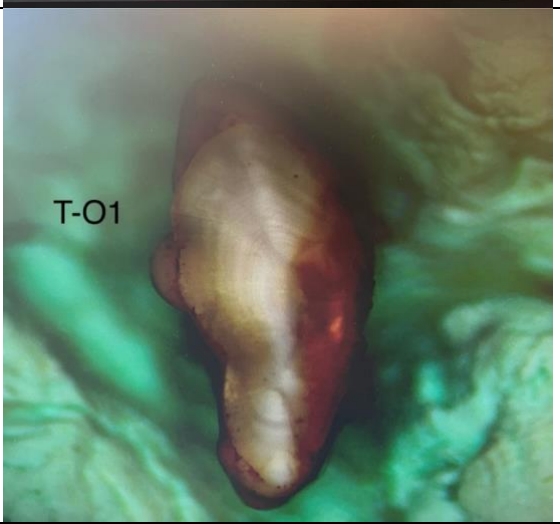
TEST 137, Parafag

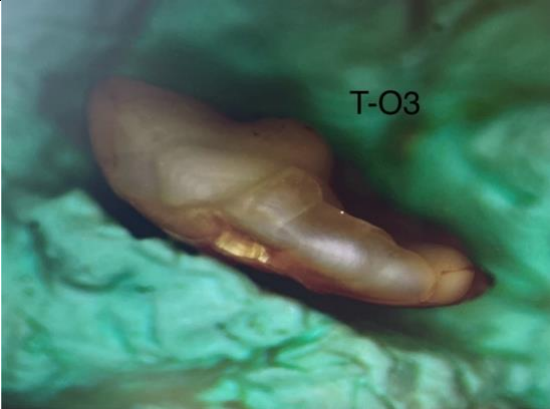
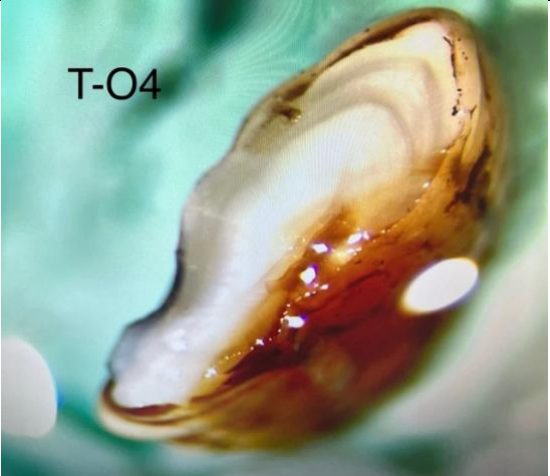
Dokument ID: M-FT 36
Revidert av: DD
Godkjent: TEH

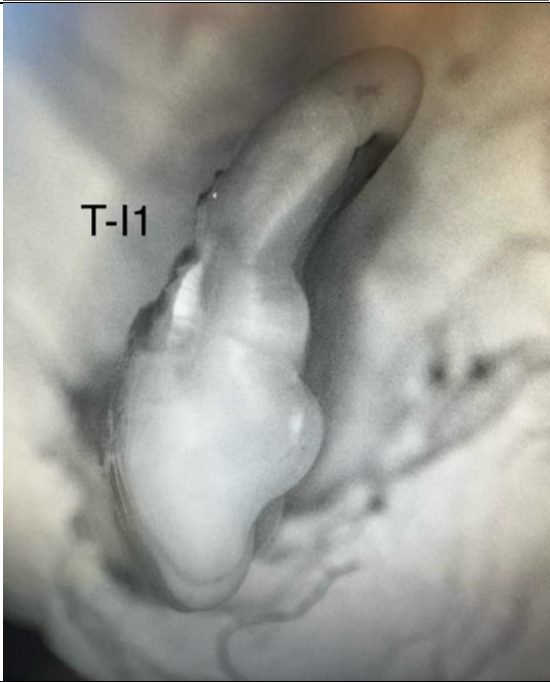
Gyldig
fra: 15.02.2025
Erstatter: ingen
Side 12 av 12

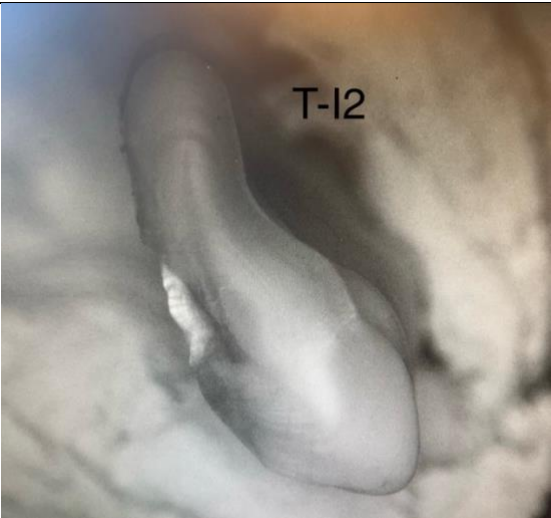
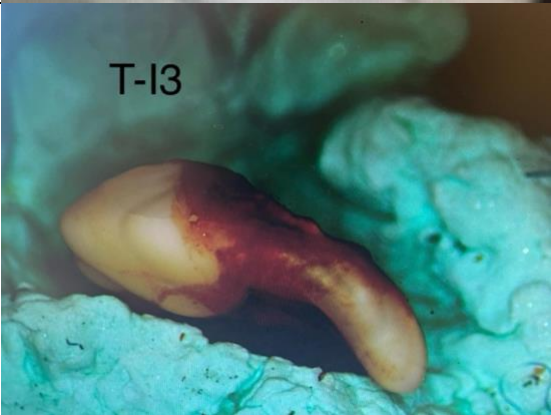
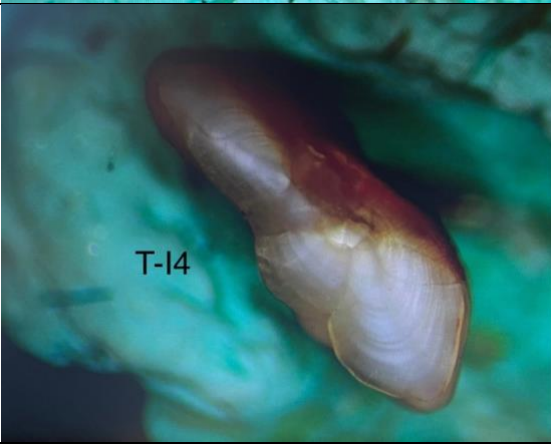
Vedlegg 2: Aldersbestemmelse av otolitter

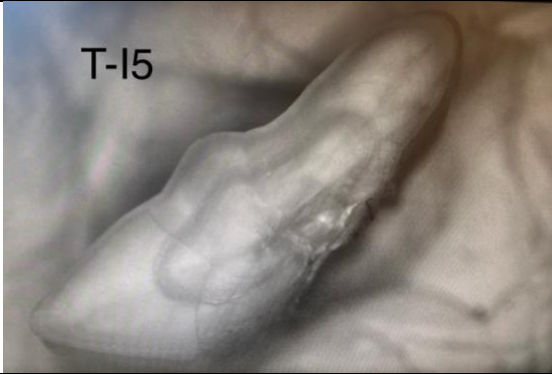
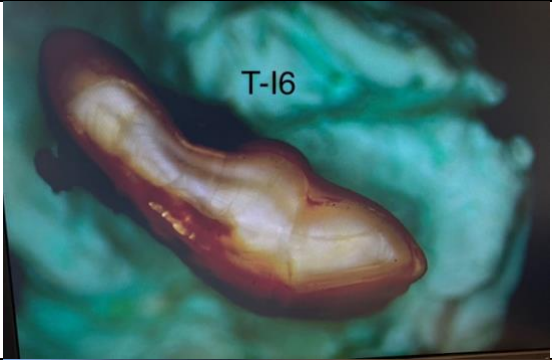
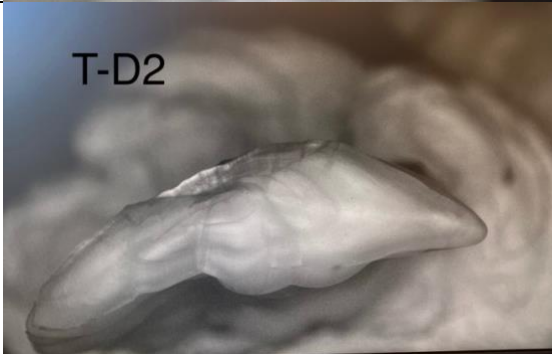
Fisk ID	Alder	Otolitt
T-B1	2	 A photograph of an otolith labeled T-B1. It is a small, elongated, light brown structure with a darker, more translucent tip, resting on a green, textured surface.
T-B2	2	 A photograph of an otolith labeled T-B2. It is a small, elongated, light brown structure with a darker, more translucent tip, resting on a green, textured surface.
T-B3	2	 A photograph of an otolith labeled T-B3. It is a small, elongated, light brown structure with a darker, more translucent tip, resting on a green, textured surface.
T-B4	1	 A photograph of an otolith labeled T-B4. It is a small, elongated, light brown structure with a darker, more translucent tip, resting on a green, textured surface.

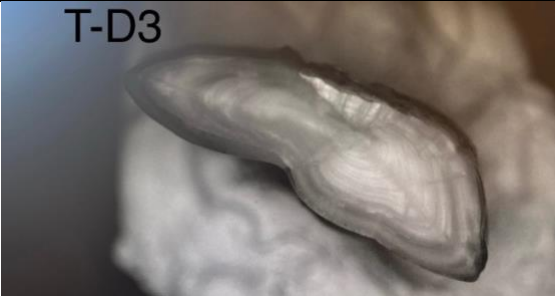
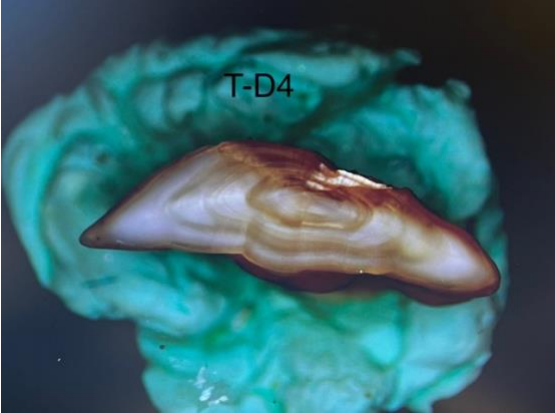
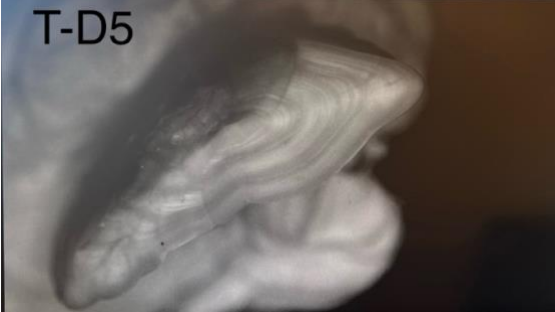
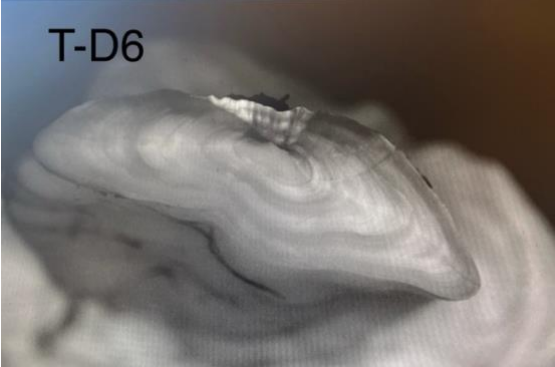
T-B5	1	
T-B6	1	
T-O1	2	

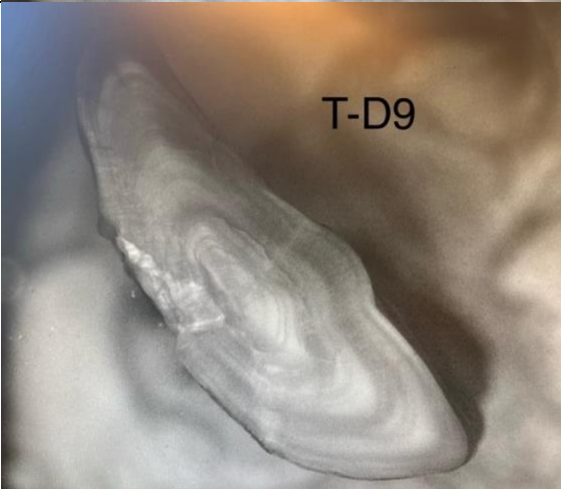
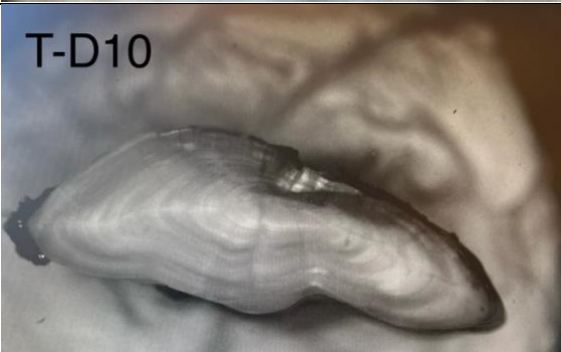
T-O2	0	
T-O3	1 eller 2	
T-O4	2	

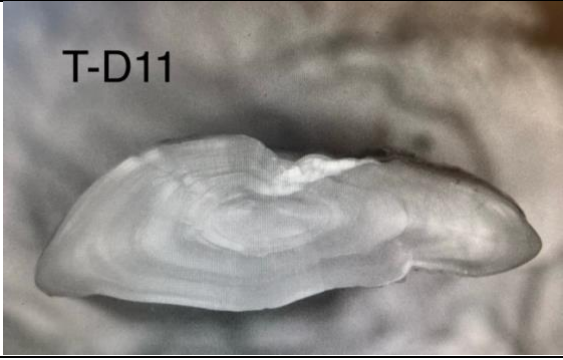
T-O5	2	
T-I1	1	

T-I2	1	
T-I3	1	
T-I4	0	

T-I5	2	 A photograph of a light-colored, elongated, and somewhat curved biological specimen, possibly a seed or fruit, resting on a textured, light-colored surface. The specimen has a pointed tip and a slightly wider base.
T-I6	3	 A photograph of a specimen with a reddish-brown, elongated, and curved shape, set against a bright green, textured background. The specimen has a pointed tip and a slightly wider base.
T-D1	2	 A photograph of a light-colored, elongated, and curved biological specimen, similar to T-I5, resting on a textured, light-colored surface. The specimen has a pointed tip and a slightly wider base.
T-D2	3	 A photograph of a light-colored, elongated, and curved biological specimen, similar to T-I5, resting on a textured, light-colored surface. The specimen has a pointed tip and a slightly wider base.

T-D3	2	
T-D4	4	
T-D5	3	
T-D6	3	

T-D7	2	
T-D8	2	
T-D9	3	
T-D10	2	

T-D11	3	
-------	---	---



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet
Noregs miljø- og biovitenskapelege universitet
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway