

Föroreningar i akvatiska ekosystem

En litteraturstudie av tungmetallers påverkan på amfibier

LISETTE AHLBERG 2023

**MVEK12 EXAMENSARBETE FÖR MILJÖVETENSKAPLIG KANDIDATEXAMEN
15 HP**





LUNDS
UNIVERSITET

WWW.CEC.LU.SE
WWW.LU.SE

Lunds universitet

Miljövetenskaplig utbildning
Centrum för miljö- och
klimatforskning
Ekologihuset
223 62 Lund

Föroreningar i akvatiska ekosystem

En litteraturstudie av tungmetallers påverkan på amfibier

Lisette Ahlberg

2023



LUNDS
UNIVERSITET

Lisette Ahlberg

MVEK12 Examensarbete för kandidatexamen 15 hp, Lunds universitet

Huvudhandledare: Maria Hansson, Centrum för miljö- och klimatvetenskap, Lunds universitet

CEC - Centrum för miljö- och klimatvetenskap

Lunds universitet

Lund 2023

Abstract

This literature study aims to investigate prior knowledge of the effects of heavy metals on amphibians in freshwater environments. The methodological approach for the study is based on extensive searches in the database called *Web of Science*. These searches then gets narrowed down with the help of with strategic search words for the subject at spotlight. The final combination of searched words, topics and exclusions gave eleven review articles that was deemed relevant for the subject study's specific topic.

The results showed a scarcity of reviewed articles focusing on amphibian and heavy metal compared to other organisms such as fish. However, several studies claims that an anthropogenic influence in nature has caused or contributed to the decline of amphibian population in freshwater environments.

In this study I show that how amphibians are affected by heavy metals in their freshwater habitats is a field that need further attention. There is a gap of knowledge that could affect and further harm already endangered species. Furthermore, the studied articles often apply a narrow perspective that might runs the risk of providing an oversimplified and inaccurate representation of the actual damages of the ecosystem. Such a representation makes it hard for legislature to better combat the pollutions at hand.

Lastly, this study also airs the topic of comparability. The results of the studied articles have a varying methodological approach which makes them hard to compare. In an ideal setting all the studied articles would run over a long timespan and be based on field studies rather than laboratory. Furthermore, the studies would focus on multiple metals rather than just one at a time.

Populärvetenskaplig sammanfattning

Att bevara den biologiska mångfalden och därigenom stödja våra ekosystem som tillgodogör oss med livsviktiga ekosystemtjänster är av största vikt. En stor rik mångfald av arter ger ekosystemen egen resiliens och livskraft samtidigt som det har en positiv påverkan på andra ekosystem när de interagerar med varandra.

Flera av världens ekosystem och dess arter är under hot av att utrotas. Detta i sin tur skulle resultera i fler negativa kedjereaktioner i andra hittills opåverkade ekosystem världen över. Otaliga ekosystemtjänster försvinner eller försvagas, och vissa av dessa är inte ens kända förrän de har försvunnit och saknas.

Amfibier är en av de djurarter som under de senaste 30 åren haft negativa trender i dess population, det vill säga blivit allt färre. Av alla de 8600 idag kända arter är flera utrotningshotade och beståndet är kraftigt försvagat. Anledningarna tros vara många men återkommande leder källorna spåret tillbaka till människans påverkan på dess omgivning. Det är i detta ämne, det vill säga människans påverkan på amfibiers levnadsmiljöer och hur de påverkas som denna studie tar sitt avstamp.

Amfibier är en av de djurarter som under sin livscykel ändrar sin levnadsmiljö från att vara helt akvatisk till att även delvis vara på land. Detta gör amfibier extra utsatta då de exponeras för både vatten- och landbaserade, så kallade akvatiska och terrestra, miljöpåfrestningar.

En av alla miljöpåfrestningar som amfibier tåmpas med är utsläpp av tungmetaller. Dessa härstammar från såväl trafik och industrier som från läckage ur gruvor och avfall. Den mänskliga faktorn utpekas återkommande som grunden till den största delen av onormalt höga nivåer av tungmetaller i miljöer där amfibier befinner sig, vare sig ifall dessa är på land eller i vatten.

Studier på temat tungmetaller och amfibier har visats vara få, vilket den här litteraturstudien efter granskning av litteraturunderlaget kan konstatera. Flertalet studier poängterar att det fortsatt finns flera kunskapsluckor att fylla vad gäller amfibiers negativa populationstrend, inte minst vad gäller amfibiers påverkan av föroreningar orsakade av människan. Denna studie vill därför söka svar på vad litteraturen säger om amfibiers påverkan av tungmetaller, om forskningen är representerande för artvariationer och olika känslighet för olika metaller, samt hur kunskapsläget vad gällande andra parametrar som påverkar hur känsliga amfibier är för metaller ser ut.

Resultatet från studien påvisade flertalet olika negativa konsekvenser för amfibiers tillvaro. Från dödlighet till andra subletala effekter som påverkade amfibiers

liv både fysiskt och beteendemässigt. I stort kan konsekvenserna på individnivå även påverka en hel population och vidare påverka ett helt ekosystem. Att amfibier redan är hotade på flertalet platser gör de därför väldigt känsliga för ytterligare påfrestningar från föroreningar. För att kunna sätta in åtgärder och skydda artrikedomen av amfibier och därigenom hela ekosystem är det därför av största vikt att forskningen fyller de kunskapsluckor kring amfibier och påverkan från tungmetaller och övriga föroreningar som finns idag. Detta för att undvika att förlora världens värdefulla ekosystem och dess tjänster både för oss människor, natur och djur samt för att klimatet ska vara stabilt även i framtiden.

Innehållsförteckning

Abstract 3

Populärvetenskaplig sammanfattning 5

Innehållsförteckning 8

Inledning 11

Föroreningskällor tungmetaller 11

Amfibier 12

Risikobedömningar och relevans av studie 13

Syfte 14

Metod 16

Resultat 19

Representation av organismgruppen amfibier och artvariation 20

Tungmetallers påverkan 20

Cocktaileffekt och miljöparametrar 23

Påverkan på ekosystem 24

Diskussion 27

Tungmetallers påverkan 28

Jämförbarhet av studier 29

Cocktaileffekt och miljöparametrar 30

Kommentar på metod samt vidare forskning 30

Slutsats 33

Tack 36

Referenser 38

Inledning

Utsläpp från människan påverkar inte bara hälsan utan också den omgivande miljön och dess beståndsdelar (Marek & Michal, 2016; Peters et al., 2013). Metaller och pesticider är återkommande bland de vanligaste miljögifterna som nämns i samband med mänsklig förorening i akvatiska system (Fleeger et al., 2003; Marek & Michal, 2016; Peters et al., 2013). Tungmetaller påverkar akvatiska ekosystem både genom halter i vattnet samt halter i bottensediment (Marek & Michal, 2016). Den främsta ursprungskällan för tungmetaller anges vara läckage, utsläpp och avfall från industrier (Häder et al., 2020; Marek & Michal, 2016; Peters et al., 2013) samt läckage från gruvor (Peters et al., 2013).

Både top-down och bottom-up effekter kan komma att påverka det akvatiska ekosystemet om det påverkas av miljögifter i form av tungmetaller (Fleeger et al., 2003). Både direkta och indirekta konsekvenser går att härleda till förekomster av miljögifter i akvatiska miljöer (Fleeger et al., 2003).

Föroreningskällor tungmetaller

Tungmetaller är metaller som har en högre densitet än andra metaller. De är grundämnen som är naturligt förekommande i marken och en del av tungmetallerna är essentiella för levande organismer i mindre halter. Dock är flertalet av tungmetallerna toxiska samtidigt som flera av de essentiella övergår till att bli skadliga för levande organismer i en relativt låg dos. Dess toxicitet är sedan länge känd och beror dels på att tungmetaller är beständiga i miljön och bryts inte ned (Xin et al., 2015), samt att de kan vara giftiga redan i låg dos och påverka organismer både kroniskt och akuttoxiskt (Xin et al., 2015).

Tungmetaller är en gammal benämning som vanligtvis egentligen syftar till att vara *särskilt miljöfarlig metall*. Detta med förklaringen att även metaller med mindre densitet kan vara skadliga för miljön. Fortsättningsvis i studien syftar begreppet tungmetaller därför på definitionen *särskilt miljöfarliga metaller*. Dock används det gamla uttrycket då uppsatsens metod och litteraturstudier använt begreppet tungmetaller. Bly, kvicksilver och kadmium är benämnda som några av de giftigaste metallerna och har varit mycket uppmärksammade i miljöföroreningsfrågor (Nationalencyklopedin, n.d.).

Direkta effekter från föroreningar på akvatiska organismer beror till stor del på halt och exponeringstid, vilket ofta förutspås i laboratoriestudier (Fleeger et al., 2003). För indirekta konsekvenser som påverkar populationer, beteende och ekosystemet i stort krävs studier i fält eller mesocosmstudier (studier i naturlig miljö under kontrollerade förhållanden) (Fleeger et al., 2003).

Gruvindustrin har setts som en av de främsta utsläppskällorna vad beträffar tungmetaller (Zhao & Marriott, 2013). Spridningen till miljön kan ske till exempel genom läckage från surt dräneringsvatten innehållande metaller som sen är mer eller mindre biotillgängliga (Betrie et al., 2016). Påverkan på akvatiska organismer i form av habitatförluster, minskad födotillgång, bioackumulering, etc. (Betrie et al., 2016).

Trafik och utbyggnad av vägar är ytterligare en faktor som medför utsläpp av tungmetaller i akvatiska ekosystem (Gunawardena et al., 2015). Ytterligare källor som förknippas med tungmetaller är industriens avloppsvatten, läckage från avfall samt ytavrinning från jordbruket (Xin et al., 2015).

Amfibier

Groddjur är både vatten och landlevande djur som trivs i flera olika livsmiljöer världen över (SLU Artdatabanken, n.d.-a). Groddjur återfinns inte i marina miljöer då de ej klarar att upprätthålla rätt osmotisk balans i saltvatten dock finns vissa arter som anpassat sig efter att leva i bräckt vatten (SLU Artdatabanken, n.d.-a). Generellt börjar livscykeln för amfibier i vatten under deras larvstadier för att sedan leva mestadels av sin livstid i terrestra miljöer. Dock finns undantag av arter som under hela sina livscyklar lever i antingen vatten eller på land (SLU Artdatabanken, n.d.-a).

Den vanligaste födan för vuxna amfibier är insekter, sniglar och småkryp. Större arter äter också andra ryggradsdjur och ett fåtal andra arter har utvecklats till att äta frukt och annan vegetation (SLU Artdatabanken, n.d.-a).

I Sverige finns 13 inhemska arter, varav alla är fridlysta och fem är hotade enligt den Svenska rödlistan 2020 (SLU Artdatabanken, n.d.-b).

Flertalet studier pekar på en global populationsnedgång av amfibier (Hamlin & Guillette, 2010; Mushet et al., 2014; Rodrigues et al., 2010). Hamlin och Guillette (2010) beskriver hur populationsminskningen dels kan bero på naturliga faktorer så som UV-strålning och parasiter men att det finns flertalet studier som visar på att mänsklig påverkan är en betydande faktor. Exponeringsvägen av föroreningar för amfibier är dels via dess permeabla hud, direkt från det akvatiska mediumet, eller via dess föda (Hamlin & Guillette, 2010).

Amfibiers roll i ekosystem är allsidig och påverkar både akvatiska och terrestra miljöer (Mushet et al., 2014). Dess närvaro påverkar allt från algutbredning, invertebrater till predatorer och näringskretslopp (Mushet et al., 2014). Andra

ekosystemtjänster är förflyttning av näringsämnen från akvatiska till terrestra miljöer (Mushet et al., 2014).

Globalt i världen finns ca 8600 arter definierade idag år 2023 (Frost, 2023). Redan 1989 noterades en global populationsnedgång för amfibier världen över (Collins & Storfer, 2003; Kiesecker, 2011). Collins och Strofer (2003) skriver att populationsnedgången även var påvisad hos amfibipopulationer vars habitat var inom ett naturskyddat område. Vad den negativa trenden beror på tros vara bland annat patogena infektioner, habitatförlust (Rodrigues et al., 2010), miljö/klimatförändringar, pesticider och föroreningar (Collins & Storfer, 2003; Kiesecker, 2011).

Groddjur är känsliga för föroreningar på flera exponeringsvägar, permeabel hud samt intag av vatten och mat (Kiesecker, 2011). Samtidigt gör deras speciella levandscykel dem utsatta för både akvatisk- och terrestral miljöpåverkan (Kiesecker, 2011).

Riskbedömningar och relevans av studie

För att kunna redogöra för hur en utsläppt förorening påverkar miljön och ekosystem etableras vanligtvis en riskanalys. Riskanalyser finns både för att bedöma risker för människors hälsa och risken för miljö och ekosystem.

Amfibier har länge varit underrepresenterade i riskanalyser för akvatiska och terrestra miljöer som påverkats av föroreningar (Johnson et al., 2017). Awkerman et al. (2020) beskriver hur amfibiers akvatiska larvstadier vanligtvis har representerats av småfisk i riskanalyser. Samt att småfåglar burkar användas som representanter för amfibiers livsstadie på land. Awkerman et al. (2020) fortsätter med att poängtera problemet med att använda så kallade surrogatorganismer för amfibier då deras speciella livscykel och speciellt metamorfosen gör att det skiljer sig för mycket från surrogatarterna. I studier med surrogatarter är det därför svårt att dra slutsatser om amfibiernas känslighet för föroreningar och dess exponering över längre tid som stämmer överens med verkligheten. Awkerman et al. (2020) menar att riskanalyser för amfibier som upprättats av data från surrogater kan ge en viss bild av amfibiers känslighet men om mer precisa åtgärder ska baseras på riskbedömningar bör vidare forskning och underlag beaktas.

Exempel på några riskbedömningar är det generella ramverk för upprättande av riskanalyser för metaller från United States Environmental Protection Agency som beskriver hur en riskanalys som gäller metaller bör vara framtagen och vilka frågor som bör ställas i upprättandet av bedömningen (US EPA, 2007). Ytterligare en övergripande riskbedömning om kadmium och dess påverkan på miljön beskrivs slutsatsen vara att mer forskningsunderlag för riskbedömningar krävs för olika miljöparametrar i korrelation till metallen. Detta för att förstå påverkan från

föroreningen på miljö och ekosystem i verkliga scenarion (European Union, 2007). Vid sökning efter riskanalyser på specifikt amfibier och dess påverkan av föroreningar kommer det främst upp artiklar om pesticider. Det tillsammans med påståendet från Awkerman et al. och Johnson et al. (2020; 2017) om att amfibier ter sig vara en underrepresenterad grupp samt historiskt vara riskbedömda med bakgrund av surrogatarters påverkan från föroreningar ger en indikation till kunskapslucka på området. Att därför undersöka vad forskningen säger om amfibiers artkänslighet och uppmärksamma den underrepresentation som verkar finnas i riskanalyser och forskning ger en samhällsrelevans för kandidatuppsatsen i fråga. Kandidatuppsatsen är inriktad mot att uppmärksamma beslutsfattare på den eventuella kunskapsluckan som finns kring amfibiers påverkan från tungmetaller.

Syfte

Syftet med studien är att sammanställa kunskapsläget kring tungmetallers påverkan på amfibier. För att sätta studien i ett helhetsperspektiv diskuteras även den indirekta påverkan på ekosystemet. Vilket innebär de direkta effekterna som följd av tungmetallsexponeringen för amfibier på individnivå som i sin tur påverkar populationen och därigenom indirekt påverkar hela ekosystemet.

Studien riktar sig till att kartlägga kunskap som i förlängningen kan användas för att betona relevansen av vidare forskning för mer precisa och användbara riskanalyser. Relevansen av mer precisa och grundliga riskanalyser är nödvändig för att motverka den negativa populationstrend amfibier idag hotas av och i längden indirekt hotet mot biologisk mångfald. För att följa och tydliggöra studiens syfte har följande frågeställningar tagits fram:

- Hur är artkänslighet representerad inom forskningsfältet tungmetaller och amfibier?
- På vilket sätt påverkas amfibier av tungmetaller?
- I hur stor grad inkluderas miljöparametrar i bedömningen av amfibiers påverkan av tungmetaller?
- Hur påverkas ekosystemet indirekt genom amfibiers direkta påverkan av tungmetaller?

Metod

Då studien syftar till att få en överblick av kunskapsläget utfördes granskningen med review artiklar som redan kartlagt kunskapslägen i olika aspekter. Litteraturstudien består av tre sök på artiklar genom Web of science: all databases, filter Review article som utfördes i april 2023. Tabell 1 redovisar samtliga använda sökord. Den markerade kolumnen är uppdelad i 3 sök vilket utgjorde de tre variationerna på söken (kolumnen längst till vänster i tabell 1). De olika kolumnerna avgränsades med AND förutom den sista som avgränsades med NOT.

Val av sökord gjordes för att få en större bild av kunskapsläget. Således var ej specificerat att artiklarna skulle innehålla dokumentation av övriga miljöparametrar och indirekt påverkan på ekosystemet. Ett medvetet val för att inte missa artiklar som endast fokuserat på individeffekter och laborationsstudier. Sökorden var utvalda för att granska kunskapsläget för metallers påverkan på amfibier. Övriga frågeställningar är relaterade till sökorden som ett försök att identifiera vilka kunskapsluckor som fanns i relation till frågeställningen om tungmetallers påverkan på amfibier i ett större perspektiv. Sökning för specifika metaller (Hg, Pb och Cd) valdes efter omnämning som speciellt uppmärksammande i miljöföroreningsfrågor (Nationalencyklopedin, n.d.).

Tabell 1 – Sökord

Filter: Review Article					
Topic	Topic	Topic	Topic	Topic	Topic (NOT)
"Heavy metal*" OR Mercury OR Hg	aquatic OR freshwater OR lake* OR river* OR spring OR pond	amphibian* OR "Bombina bombina" OR "Pelobates fuscus" OR "Hyla arborea" OR "Bufo bufo" OR "Epidalea calamita" OR "Bufotes viridis" OR "Rana dalmatina" OR "Rana temporaria" OR "Rana arvalis" OR "Pelophylax esculentus" OR "Pelophylax lessonae"	pollut* OR contamin* OR poison* OR toxic*	effect OR affect* OR consequence OR impact*	*Remediation OR purification OR "human health" OR marine OR "livestock health"
"Heavy metal*" OR lead OR Pb					
"Heavy metal*" OR Cd OR Cadmium					

Tabell 2 redovisar sökningarnas utfall. Samtliga sökning baserades på orden i tabell 1 med de tre varierande föroreningssökningarna. Antalet träffar initialt samt urval 1 och 2 redovisas i tabell 2. Urval 1 utgick från titel och abstract och granskande om nyckelord så som amphibian* eller ”Heavy metal*” eller de specificerade metallerna ingick eller inte. Urval 2 utgjordes av full genomläsning från artiklarna i urval 1 samt att dubletter är identifierade och uteslutna för de senare två sökningarna. Vilket leder till totalt 11 review artiklar för rapporten.

Tabell 2 – Sökord del 2 samt urval.

Web of science	Utbytt sökord	Sökträffar	Urval 1	Urval 2
2023/04 Filter: Review	”Heavy metal*” OR mercury OR Hg	14	11	10
2023/04 Filter: Review	” Heavy metal*” OR lead OR Pb	35	8 (7)	0
2023/04 Filter: Review	“Heavy metal*” OR Cd OR Cadmium	14	8 (7)	1
Total antal artiklar inkluderade efter utsortering av dubletter = 11 Dubletter i parentes () och exkluderade från urval 2.				

Avgränsningar för rapporten utgjordes av fokus på konsekvenser av tungmetaller i den använda litteraturen. Då flertalet artiklar ej specificerar vilken metall som ger vilken konsekvens är det en avgränsning som sträcker sig över ett relativt brett område. Då många artiklar fokuserar på flertalet föroreningar utöver metaller är det en avgränsning som gjorts för att få tillräckligt med artiklar till studien. De tre sökningarna var till för att underlätta grupperingen av artiklar där tanken var att endast kolla på de tre utvalda metallerna Hg, Pb och Cd. Avgränsningen fick emellertid slopas efter genomläsning av alla artiklar då underlaget blev otillräckligt för rapporten och därför inkluderades fler tungmetaller som omnämndes. Det var även flertalet artiklar som inte specificerade vilken tungmetall som gav vilken påföljd, därav kommer även befintlig rapport göra detsamma.

Avgränsningen att fokusera på och filtrera efter review artiklar gav en bredare bild av kunskapsläget och resulterade i flertalet artiklar som annars inte kunnat inkluderas på grund av tidsbrist kunde nu vara med.

Studien ämnar ge en översiktligt bild av kunskapsläget genom att fokusera på review artiklar. Dessa har gett en samlad bild av publicerade artiklar och således skänkt en bra helhetsbild av kunskapsläget. Det har i sin tur utgjort ett fullgott underlag för en studie som utförs under tidsramen för den här kandidatuppsatsen. Emellertid medföljer en risk i att dubletter av primärkällor kan förekomma då de insamlade review artiklarna i viss utsträckning kan ha granskat samma källor.

Resultat

Resultat från metodsökningen gav flertalet review artiklar på ämnet tungmetallers påverkan på amfibier. Majoriteten av artiklarna var brett baserade och innehållande fler organismer och fler föroreningar än vad denna studie ämnar undersöka. Tabell 3 beskriver hur många av review artiklarnas undersökta artiklar som fokuserade på tungmetaller och amfibier. Ytterligare redovisas artikelns inriktning för studierna samt antalet olika undersökta arter som återges i forskningen.

Tabell 3 – Övergripande översikt av litteratur i litteraturstudien.

Antal primära artiklar om amfibier påverkade av tungmetaller	Antal olika undersökta arter	Studiens specificering och bredd	Källa
9	4	CCR* resters påverkan på akvatiska miljöer	(Rowe, 2014)
7	10	CCR* resters påverkan på akvatiska miljöer	(Rowe et al., 2002)
1	1	Vägars påverkan på akvatiska miljöer	(Dixon et al., 2022)
5	6	Gruvaktivitets påverkan på semi-terrestra och terrestra organismer.	(Gil-Jiménez et al., 2021)
13	Okänt	Mikrokärntest i grodyngel.	(Benvindo-Souza et al., 2020)
63	28	Metallers påverkan på metamorfosen av grodor.	(Hill et al., 2022)
Okänt	6	Påverkan på amfibier av metaller i sur miljö	(Freda, 1991)
3	Okänt	Effekter på akvatiska organismer av föroreningar	(Beeson, 2004)
2	2	Effekter på akvatiska organismer av föroreningar	(Beeson et al., 1999)
61	31	Cu-känslighet hos amfibier	(Azizishirazi et al., 2021)
1	1	Kvicksilvers påverkan på fler organismgrupper.	(De Flora et al., 1994)

*Coal combustion residual

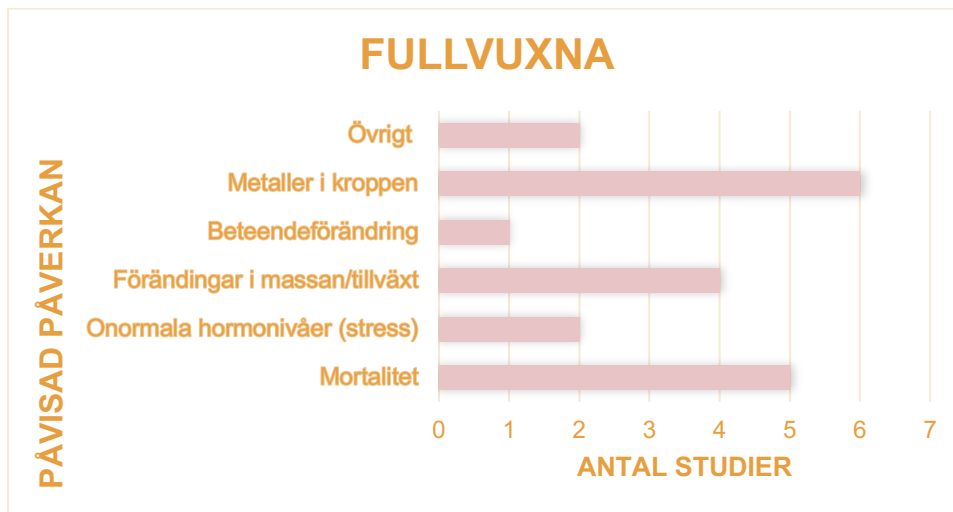
Representation av organismgruppen amfibier och artvariation

Flertalet av de granskade studierna nämner problemet med den globalt nedåtgående populationstrenden av amfibier (Azizishirazi et al., 2021; Benvindo-Souza et al., 2020; Gil-Jiménez et al., 2021; Hill et al., 2022). Fortsättningsvis konstateras det i Gil-Jiménez et al. (2021) att amfibier är en av de minst studerade organismgrupper vad gäller gruvindustrins påverkan på terrestra och semi-terrestra vertebrater. Dixon et al. (2022) skriver att den grupp som är mest representerad i forskningen om trafik och vägars påverkan på akvatiska miljöer är amfibier. Av alla 172 artiklar som Dixon et al. (2022) granskar är det 42.1% som handlar om amfibier, dock handlar majoriteten av de om stressfaktorer så som habitatfragmentering och vägsalt och inte tungmetaller. Vilket stöds av sammanställningen av inriktning samt antal primärartiklar som ingick i review artiklarna.

Gil-Jiménez et al. (2021) beskriver behovet av mer forskning som är inriktad på hur artspecifika egenskaper och känsligheter påverkas av föroreningar. Även om indikatorarter kan ge en viss uppfattning av hur biotillgänglig en förorening är så skiljer sig konsekvensen av dess närvaro signifikant från art till art och än mer mellan organismgrupper (Gil-Jiménez et al., 2021). Vilket också stöds av påståendet om problemet med att använda surrogatarter i riskbedömningar som ej ger en verklighets baserad bild av känsligheten för amfibier och dess population (Awkerman et al., 2020). Även Rowe et al. (2002) skriver om hur den artspecifika känsligheten är speciellt viktig att ta hänsyn till om dödlighet är att anta som den slutliga punkten för föroreningars påverkan toxikologiskt på biologiska system. Freda (1991) nämner även att från art till art är det olika känsligheter som ska vägas in men även vilket livsstadier arten befinner sig i.

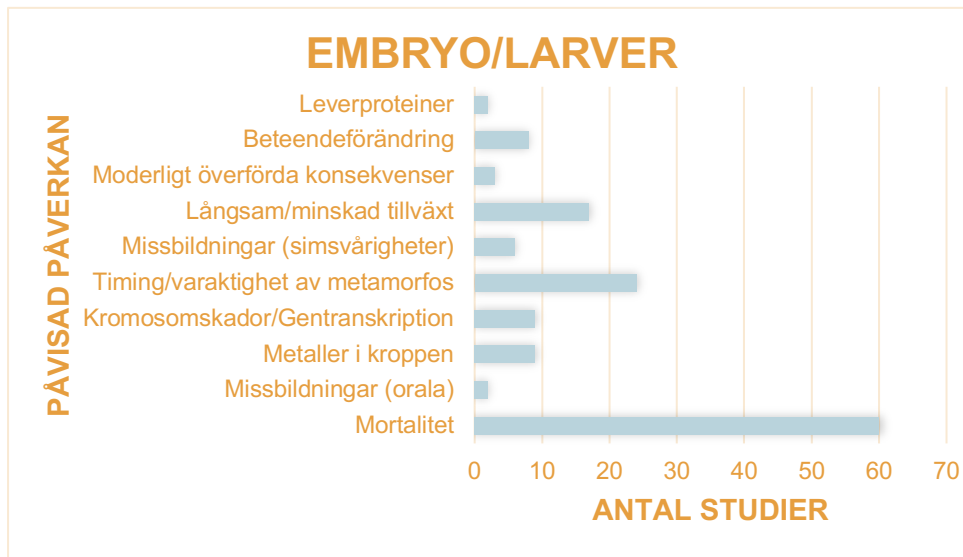
Tungmetallers påverkan

I figur 1 går att utläsa förenklat resultat av de granskade artiklarnas påvisade påverkan från tungmetaller för amfibier efter metamorfos/fullvuxna. Sammanställningen är baserad på litteraturstudierna och är en förenklad, till viss del gruppering och utan specifik dosredovisning, av alla de biologiska konsekvenser av tungmetaller som beskrev påvisad effekt i litteraturen. De flesta artiklarna nämnde ej specifika metaller därav är konsekvenserna i figur 1 ej specificerat vilken metall de förekommer ifrån. Det är heller inte specificerat om konsekvensen är beroende av en metall eller multi exponering.



Figur 1 – Konsekvenser av tungmetaller för amfibier efter metamorfos/fullvuxen. Övrigt innebär minskad respiratorisk förmåga efter träning samt lägre lipidhalt. Antalet studier fokuserade på fullvuxna är 22 st.

Figur 2 innehåller även den påvisade påverkan av tungmetaller för amfibier men i stadiet embryo/larver/under metamorfos. Det är tydligt att fler studier undersökt embryo/grodyngel snarare än fullvuxna grodor.



Figur 2 – Konsekvenser av tungmetaller för amfibier i stadiet embryo/larv/under metamorfos. Antal studier som fokuserade på embryo/larver var 91 st.

En av de vanligaste nämnda effekterna var mortalitet för både fullvuxna grodor samt embryo/larver, se figur 1–2. Av de studier som beskrev subletala effekter på amfibier är en av de vanligaste omnämnda långsam/minskad tillväxt för både vuxna och för embryo/larver. I en studie som återfanns i den granskade litteraturen beskrevs även att snabbare metabolism är starkt korrelerat till minskad tillväxt (Rowe et al., 2002), vilket därför inkluderades i samma kategori i figur 1. Konsekvensen orala missbildningar återfanns även det i litteraturen vara korrelerat till svårigheter för matintag och i förlängningen minskad tillväxt (Rowe et al., 2002).

Onormala hormonnivåer var även det en subletal effekt påvisad av tungmetaller (Rowe et al., 2002). Detta var starkt kopplat till ökat stresspåslag och därför räknades även konsekvensen stress in i den parametern i figur 1 (Beeson, 2004).

Beteendeförändringar som nämns är sämre förmåga att undkomma predatorer (Azizishirazi et al., 2021). Att ha sämre förmåga att kunna undvika predatorer är också en konsekvens av att ha simsvårigheter, detta tillsammans med att ha svårare att kunna få tag i föda (Rowe et al., 2002).

Konsekvenser som påverkar metamorfosen och dess timing /duration kan enligt Hill et al. (2022) ge konsekvenser på hur populationsstorleken i framtiden ser ut.

Påvisad halt i kroppen av metaller var en konsekvens som återkom hos både vuxna och larver/embryo. Gil-Jiménez et al. (2021) påtalar visserligen att det ger en indikation på att metallerna är biotillgängliga men det ger ingen vidare information av konsekvenserna för individen eller ekosystemet i stort. Dock påpekar Gil-Jiménez et al. (2021) att det inte ger tillräcklig information för att införa rätt åtgärder då information om hur individen, populationen och i förlängningen påverkas av metallerna.

I studier som kollade på metaller i kroppen innan och efter metamorfos var det flertalet metaller som minskade i koncentration efter metamorfosen (Hill et al., 2022). Undantaget för detta påvisades vara för Hg, Se och Sr som behöll eller ökade sin koncentration i amfibien efter metamorfos (Hill et al., 2022). Emellertid påpekade Hill et al. (2022) att fler studier som påpekade en reducerad halt av metallerna efter metamorfos inte undersökt vidare konsekvenser kopplat till detta utan endast påpekat haltförhållandena. Vidare förklaras att exponeringsvägen kan vara en faktor för om metallen bibehåller/ökar eller minskar/försvinner under metamorfosen (Hill et al., 2022). Detta då ett grodyngel under metamorfosen omdistribuerar sina vävnader så pass mycket i vissa delar av kroppen och mindre i andra. Därför spelar exponeringsvägen roll då detta medför olika ackumulation i olika organ i grodynglet (Hill et al., 2022).

Exponering av metaller för en dräktig amfibie gav konsekvenser på sin avkomma så som svårighet vid kläckningsprocessen, minskad livskraft och simsvårigheter är några konsekvenser som kunde kopplas till att modern blivit exponerad för metaller (Rowe, 2014).

Cocktaileffekt och miljöparametrar

I litteraturunderlaget nämndes vissa korrelationer till huruvida metaller ackumulerar i kroppen och påverkar amfibier. Dixon et al. (2022) konstaterade korrelation med vägsalt och att spridningen av metaller från trafik enkelt transporterades med vägdamm och -salt.

Hill et al. (2022) konstaterade att utav deras studier var majoriteten utförd i laboratorier och att majoriteten av dessa var utförda med endast en metalls påverkan. Gil-Jiménez et al. (2021) skriver att om hur toxiciteten för en metall eller förorening går att utläsa från laboratoriestudier bör det poängteras att det då vanligtvis inte speglar verklighetens naturliga variationer i ekosystemen och dess konsekvenser. Detta tillsammans med att det oftast är en undersökt metall och dess halt inte påverkar en organism på samma sätt som om det var exponering av fler metaller samtidigt. För att därför få en översiktlig och mer verklighetsenlig bild över platsen och ekosystemets välbefinnande bör fältstudier komplettera laborationsstudierna (Gil-Jiménez et al., 2021). Fortsatt diskuterar de att det var vanligast bland deras studier att det bara redovisades en exponeringsväg och inte flera samtidigt, vilket är vanligare i verkliga situationer (Hill et al., 2022). Den vanligaste studerade exponeringsvägen i laborationsstudier är via vattnet skriver Hill et al. (2022). Dock finns det forskningsunderlag som tyder på att metaller är mer biotillgängliga för amfibier via föda eller sediment och Hill et al. (2022) poängterar en kunskapslucka för hur olika metaller är olika biotillgängliga på olika exponeringsvägar.

Hill et al. (2022) visade i laborationsstudier att amfibier som blev exponerade av en metall som var under kriteriet¹ för vattenkvalitet för just den metallen inte påvisade någon konsekvens av timing eller tillväxt efter metamorfosen. Vad som sedan är anmärkningsvärt är när amfibier i fältstudier exponerades för flertalet metaller där samtliga var under vattenkvalitetsvärdet för enskilda metaller så påvisades det en signifikant effekt på timing och tillväxt efter metamorfosen (Hill et al., 2022)

Parametrar som pH, alkalinitet, vattnets hårdhet och temperatur var ej fullständigt dokumenterade i granskade artiklar (Freda, 1991). Freda (1991) beskriver att detta borde vara med i åtanke vid användning av resultatet och doserna. Detta då påverkan från parametrarna kan ha stort inflytande på graden av konsekvenserna (Freda, 1991). Freda (1991) konstaterar nämligen i sin studie att flertalet av den litteratur han granskat exponerade amfibier för en halt vid olika pH och kunde konstatera en skillnad i hur grova konsekvenserna blev utifrån detta. Lägre pH verkade öka amfibiernas känslighet för metallerna, detta stöddes också av att metallhalten i vattendrag med surt vatten från gruvor var högre än i vattendrag som inte hade lika lågt pH (Freda, 1991).

¹ United States Environmental Protection Agency chronic water criteria och National Oceanic and Atmospheric Administration sediment guidelines (Hill et al., 2022).

Påverkan på ekosystem

Förutom påverkan från tungmetaller på individnivå beskriver några studier även de indirekta effekterna på ekosystemen som kommer med amfibiers exponering av tungmetaller. Rowe et al. (2002) skriver om hur metallackumuleringen i organismer kan leda till att föroreningen sprids till trofiska nivåer högre upp. Exempel som tas upp i artikeln är en orm som ätit fisk och amfibier från området som är CCR förorenat. Metallerna som återfanns i amfibierna och fiskarna kunde sedan detekteras i ormen och höga nivåer av bland annat Se återfanns i ormens lever (Rowe et al., 2002).

Ytterligare påpekar Rowe et al. och Hill et al. (2022; 2002) att subletala effekter som påverkar individers fitness kan ge effekter på populationsstorlek och vidare ha negativa effekter på ekosystemet i stort.

För att kunna bedöma läget korrekt i riskanalyser och sätta in givande åtgärder av amfibier och ekosystem kommenterar Gil-Jiménez et al. (2021) att långtidsstudier är essentiella för att lyckas göra korrekt bedömning.

Diskussion

Från litteraturstudien går det att dra slutsats om att forskningsläget på området amfibier är ett fortsatt viktigt forskningsområde. Av alla de 8600 kända arterna (Frost, 2023) är endast en liten del representerad i forskningen om vilka konsekvenser tungmetaller har på amfibier och dess population. En av de vanligaste effekterna som nämndes var mortalitet och minskad/långsam tillväxt. Nämnda effekter i ett större perspektiv kan ge stor påverkan på hela ekosystemet och dess resiliens. Vilket i sig kan ge ytterligare förklaring till de neråtgående populationstrenderna som amfibier världen över tåmpas med (Azizishirazi et al., 2021; Benvindo-Souza et al., 2020; Gil-Jiménez et al., 2021; Hamlin & Guillette, 2010; Hill et al., 2022; Rodrigues et al., 2010).

I flera av review artiklarna som ingick i litteraturstudien undersöktes flera olika föroreningar och organismgrupper samtidigt. Endast fyra av elva review artiklar var helt fokuserade på amfibier. Utöver det var endast fyra som fokuserade på metaller, varav tre hade fokus på amfibier samtidigt. Det var olika huruvida det framkom klarhet i vilken metall som var orsak till konsekvenserna och generellt var det främst presenterat som tungmetall.

Då tungmetaller längre varit en känd toxisk förorening i akvatiska miljöer fanns otaliga mängder forskning från långt tillbaka i tiden på ämnet. Studien valde att specificerat söka enkelt och avgränsningen må innebära förluster i flertalet studier som utförts på temat. För att få med så mycket som möjligt av den tidigare forskningen under kandidatuppsatsens korta tidsspann är litteraturunderlaget i den här rapporten review artiklar som hjälpt till med att redan sammanställa stora delar av forskningen så att ett bredare bild går att få in på denna korta tid.

Resultatet från litteraturundersökningen samt bakgrundsökning visade tydligt på att andra organismgrupper är mer representerade än amfibier i forskning på dess effekter av tungmetaller. Vilket understöds av till exempel Gil-Jiménez et al. (2021) som konstaterar att amfibier är en av de minst studerade organismgruppen terrest/semiterrest påverkade av gruvområden. Samt användandet av surrogatarter som underlag för riskbedömningar i brist på tillfredställande data om amfibier (Awkerman et al., 2020). Ytterligare var det även tydligt att de artiklar som studerade fler föroreningar/stressorer samtidigt hade större underlag från andra ämnen/stressorer än från tungmetaller.

Utöver hur många artiklar som studerades med fokus på amfibier och tungmetaller står det också klart att de flesta studier som ingick i den här litteraturstudien har studerat samma arter och att det därför finns en brist på studier

med mer artspecifika konsekvenser och känslighet. Enligt resultatet från tabell 3 är även de studier som endast studerat amfibier som taxa till exempel Hill et al. (2022) endast 28 olika arter av deras 63 artiklar. Detta till bakgrundsfakta om de 8600 arter som finns världen över (Frost, 2023) ger ytterligare en indikation på att flertalet arters artspecifika känslighet ej är dokumenterad.

Då amfibier har en lång livscykel som vanligtvis innefattar ett embryo och larvstadium i endast akvatisk miljö för att övergå till att leva både på land och akvatiskt (SLU Artdatabanken, n.d.-a) är exponeringsrisken för både akvatiska och terrestra föroreningar stor. Tabell 3 tillsammans med stöd från review artiklarna går det att konstatera att forskningsunderlaget som finns på amfibier och metaller idag inte är representativt för världens samtliga arter då känsligheten är beroende av artspecifika parametrar (Gil-Jiménez et al., 2021; Rowe et al., 2002) samt vilket livsstadium som amfibien befinner sig i (Freda, 1991). Att flertalet amfibiers nischer och fysiologiska känsligheter är okända hur de påverkas av tungmetaller ger därför inte representativ bild av hur amfibier påverkas i stort eller hur det i förlängningen påverkar ekosystemet.

Tungmetallers påverkan

Resultatet från figur 1 och 2 ger en förenklad bild av vilka slutpunkter som litteraturen har nämnt samt hur frekvensen av detta i litteraturen är fördelad. Vilket ger en bild av vilka sorters studier som är gjorda på tungmetaller och amfibier. Den mest återkommande konsekvensen var mortalitet, både för vuxna och embryo/grodyngel.

Minskad/långsam tillväxt var en av de vanligare subletala konsekvenserna. Dels i korrelation till orala missbildningar och dels i korrelation till snabbare metabolisk förmåga som i förlängningen väntades leda till minskad tillväxt (Rowe et al., 2002). Minskad eller långsam tillväxt kan leda till ytterligare effekter både på individnivå men även påverkan på populationer, detta då det kan utebli vissa nischer födomässigt samt att det då blir konkurrens som andra nischer (Rowe et al., 2002). Detta tillsammans med svårigheter till att kunna undkomma predatorer på grund av sämre simsvårigheter (Rowe et al., 2002) eller beteendeförändringar (Azizishirazi et al., 2021) ger ytterligare förlängd konsekvens av att på ett större plan påverkan på hela ekosystemet och dess sammansättning samt uteblivna ekosystemtjänster går att spåra tillbaka till närvaro av höga halter tungmetaller.

För embryo/larver var en av den vanligaste konsekvensen även timing och duration av metamorfos. Studier som påpekade detta poängterade också problemet med en försenad fullständig metamorfos särskilt för arter som deras första levnadsperiod befinner sig i vattendrag som torkar ut under varmare perioder av året (Azizishirazi et al., 2021). En försenad metamorfos kan då leda till att färre klarar sig igenom en fullständig metamorfos för att kunna leva terresteralt. Hill et al. (2022) konstaterar att försening av metamorfosen kan ha påverkan på populationens

överlevnad på platsen. Övrig konsekvens av försenad metamorfos för individen kan tänkas vara mindre konkurrenskraftighet vad gäller födotillgång och senare vid parningstid (Hill et al., 2022). Vilket i stort även det påverkar ekosystemets sammansättning.

En del studier nämnde ingen effekt från tungmetallerna i kroppen utan bara konstaterade att det förekom halter i groddjuren (Gil-Jiménez et al., 2021; Hill et al., 2022). Att endast mäta påvisad bioackumulering av metaller i amfibier är ett bra sätt att se vilka metaller som släppts ut på området som är biotillgängliga (Gil-Jiménez et al., 2021). Att endast mäta exponeringen av metallerna fungerar bra som förstudie för att konstatera ett föroreningsproblem på området men oftast skulle mer grundligt underlag vara mer givande för att eventuella åtgärder ska kunna appliceras.

Jämförbarhet av studier

Samtliga konsekvenser varierade i hur de beskrevs, de förenklade figurena i resultatet ger bara därför en översiktlig bild i vilka konsekvenser som omnämndes och hur ofta. Exempelvis var det flertalet studier som redovisade mortalitet som minskad överlevnad, i procent eller genom LC50. Ytterligare varierade det om halter av metallen(er) redovisades eller inte samt varaktighet av studien eller om det utfördes i labb, in-situ eller i fält. Vidare genomgång av metoderna som litteraturens underlagslitteratur baserades på är ej granskat för befintlig rapport. Vilket gör resultatsammanställningen mer osäker och ej representerande som mått på hur känsliga amfibier är för tungmetaller. Sammanställningen och svårigheterna i att jämföra olika sorters studier diskuteras även i en del av litteraturen som konstaterar svårigheter i att jämföra studier med olika underlagsförutsättningar med varandra.

Som Hill et al. och Gil-Jiménez et al. (2021; 2022) skriver är det, utöver att de flesta studier är utförda i laborationsmiljö, också flertalet studier som endast kollat på konsekvenser av exponering av en metall åt gången. Det gör det ytterligare svårare att jämföra studierna emellan och att applicera det på verkliga miljöer.

Ytterligare är det fler faktorer som spelar in på hur representativt ett resultat är för verkligheten. Freda (1991) beskriver vikten av och om hur dennes granskade litteratur inte specifikt hade klarlagt hur vattenförhållandena var på platsen som studierna utfördes i. Vikten av att dokumentera pH, alkalinitet, temperatur etcetera vid konstaterande av resultat för att kunna jämföra med andra studier är därför av största vikt. Samt att förståelse om detta kan ge ytterligare information om hur amfibier i vissa miljöer påverkas mer än andra jämfört med amfibier i andra vattenkvaliteter.

Cocktaileffekt och miljöparametrar

Utöver påverkan på endast metaller så kommer andra parametrar att påverka dels hur amfibien tar upp metaller och hur biotillgänglig den är, dels hur starkt påverkad individen blir av den halten som finns. Miljöparametrarna som ovan nämnt är bland annat, pH, temperaturer, alkalinitet och hårdhet på vattnet (Freda, 1991), utöver detta kan vilket sediment hur området i stort ser ut och hur nära punktkällan platsen är.

Att miljöparametrar och en blandning av flertalet metaller är av betydelse för hur påverkade amfibier blir är påpekat i studier som Hill et al. (2022) studerade. Exemplet redovisat i resultatet om hur amfibier inte påverkades av exponering under vattenkvalitetshalten² för enskilda metaller men att samma halt av de enskilda metallerna i en cocktaileffekt gav både subletala och letala konsekvenser (Hill et al., 2022). En indikator på att miljöparametrar och cocktaileffekten är betydelsefull vid åtgärder och anstiftan av vattenkvalitetsparametrar. Samt att vattenkvalitetshalter av föroreningar bör ta hänsyn till multiexponering av fler föroreningar.

I litteraturen från Hill et al. (2022) skrivs det om att deras litteraturunderlag främst hade utgjort sig för att studera effekter på amfibier som vars exponeringsväg var via vattnet. Amfibier och deras speciella livscykel ger dem fler exponeringsrisker än många andra djur då de under sin livstid lever både helt akvatiskt och landbaserat (Beeson et al., 1999; Hill et al., 2022). Att deras upptagsvägar är både genom vatten, genom hud och genom födointag gör det därför viktigt att forskning tar hänsyn till flertalet exponeringsvägar vid undersökning av hur föroreningar påverkar amfibierna.

Som det beskrivs i Rowe et al. (2002), spridningen till andra trofiska nivåer som i sin tur påverkar ekosystemet i sin helhet gör att även om föroreningen inte är direkt påverkande för en viss typ av organism så kan det sprida sig långväga till andra ekosystem eller andra organismer då det indirekt kan komma att ackumuleras i organismer högre upp i näringskedjan.

Kommentar på metod samt vidare forskning

Det finns en brist i rapportens resultat i figur 1 och 2, detta på grund av att det kan innehålla en viss del dubletter i den studerade litteraturens underlagslitteratur.

² United States Environmental Protection Agency chronic water criteria och National Oceanic and Atmospheric Administration sediment guidelines (Hill et al., 2022).

Poängen med att kvantifiera hur många artiklar som påvisade vissa typer av slutpunkter var ett försök att förenkla resultatet och visa på att en av de vanligaste konsekvenserna som undersökts är mortalitet. En förenkling som med eventuella dubletter inte är representerande för verkligheten.

Dock tyder dubletter än mer på att det är skralt med forskning på området amfibier och tungmetaller då det redan är väldigt få studier insamlade från samtliga litteraturstudier. Vilket ger ytterligare en indikation på att ämnet bör studeras vidare, samtidigt som amfibiers påverkan från metaller och att de artspecifika samt miljöparametrar som spelar in bör inräknas i de studierna.

Den miljömässiga relevansen för studien grundar sig i bevarandet av den biologiska mångfalden för att upprätthålla alla de ekosystemtjänster som behövs för att klimatet och miljön ska vara i stabilt och välfungerande tillstånd. Det är därför av största vikt att mer studier fokuserar på amfibier och dess överlevnad, då de spelar en essentiell roll i ekosystem och världen i stort.

Det etiska perspektivet är inte relevant för litteraturstudien då inget ansvar tas för de metoder som litteraturunderlaget grundar sig på. Frågor om de etiska aspekterna för litteraturunderlagets metoder och forskning hänvisas därför tillbaka till primärkällorna.

Slutsats

Mot bakgrunden av att det fortfarande syns en tydlig nedåtgående trend i populationer av amfibier globalt (Azizishirazi et al., 2021; Benvindo-Souza et al., 2020; Gil-Jiménez et al., 2021; Hamlin & Guillette, 2010; Hill et al., 2022; Rodrigues et al., 2010) går det tillsammans med den studerade litteraturens resultat i tabell 3 av hur många som fokuserade på metaller och amfibier samt litteraturens slutsatser att dra en slutsats om att det fortfarande krävs fortsatt forskning på temat. Att flertalet studier (Gil-Jiménez et al., 2021; Hill et al., 2022) påpekar detta är ytterligare en indikator på att det inte bara genom den här studiens sökresultat visar sig vara få artiklar i stort med sådant fokus.

Forskningsläget ger studier som hittat flertalet olika konsekvenser från tungmetaller på amfibier. Vilket leder till slutsatsen att både mortalitet och subletala effekter som konstateras på individnivå kan i större skala påverka hela populationen och även ekosystemet negativt. Amfibiers känslighet och underrepresentation i forskningen gör att det går att konstatera att mer forskning behövs för att kunna sätta in effektiva åtgärder och skydd för att bevara artrikedomen av amfibier och dess levnadsmiljö.

I sammanställningen av resultatet till rapporten kunde det konstateras att forskning idag är svårt att sammanställa till en jämförbar enlighet. Dels beroende av olika påverkande parametrar och utebliven redovisning av dessa, dels om en studie är utförd i laboratorium, in-situ eller i fält. Fältstudier som äger rum över lång tid är att föredra då de ger en mer verklighetsbaserad bild av hur situationen ser ut vilket även stöds av litteraturen (Freda, 1991; Gil-Jiménez et al., 2021).

Slutsatsen att flertalet arter står utan representation i studierna är också ett för framtiden viktigt konstaterande. Av alla den ca 8600 arter i världen (Frost, 2023) verkar inte ens hälften vara representerade i studier om påverkan från tungmetaller. Även understött av användandet av surrogatarter i brist på data från amfibier i riskanalyser ger indikation på ej tillfredställande underlag av forskning på amfibiers känslighet mot föroreningar (Awkerman et al., 2020).

Ytterligare slutsats om att miljöparametrar och multiexponering av föroreningar ej är dokumenterade på ett tillfredställande vis baserat på de granskade artiklarna. Det är därför essentiella att ta med i vidare forskning för att kunna göra korrekta riskanalyser och sedan införa åtgärder för att skydda amfibier från ytterligare populationsnedgång.

Sammanfattningsvis går det att konstatera att artvariationen av känslighet för amfibier ej är representerad i befintlig forskning. Tungmetallers påvisade effekter på amfibier är både mortalitet och subletala på individnivå som indirekt även kan påverka ekosystemet och dess välmående. Miljöparametrar och multiexponering av föroreningar är delvis representerad i forskning men kräver ytterligare uppmärksamhet för att kunna skapa verklighetsbaserade riskbedömningar i framtiden.

Tack

Tack till min handledare Maria Hansson som hjälpt genom hela processen. Tack till Anja Zimmerman för sökordshjälpen initialt i processen. Slutligen tack till gruppen som gav stöttning inför varje nytt kapitelmoment.

Referenser

- Awkerman, J., Raimondo, S., Schmolke, A., Galic, N., Rueda-Cediel, P., Kapo, K., Accolla, C., Vaugeois, M., & Forbes, V. (2020). Guidance for Developing Amphibian Population Models for Ecological Risk Assessment. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 16(2), 223–233. <https://doi.org/10.1002/ieam.4215>
- Azizishirazi, A., Klemish, J. L., & Pyle, G. G. (2021). Sensitivity of Amphibians to Copper. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 40(7), 1808–1819. <https://doi.org/10.1002/etc.5049>
- Beeson, D. R. (2004). Effects of Pollutants on Freshwater Organisms. *Water Environment Research*, 76(6), 2399–2442.
- Beeson, D. R., Powell, J. M., & Lewis, M. C. (1999). Effects of Pollution on Freshwater Organisms. *Water Environment Research*, 71(5), 1092–1100.
- Benvindo-Souza, M., Santos Oliveira, E. A., Assis, R. A., Araujo Santos, C. G., Borges, R. E., de Melo E Silva, D., & de Souza Santos, L. R. (2020). Micronucleus test in tadpole erythrocytes: Trends in studies and new paths. *Chemosphere*, 240, 124910. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124910>
- Betrie, G. D., Sadiq, R., Nichol, C., Morin, K. A., & Tesfamariam, S. (2016). Environmental risk assessment of acid rock drainage under uncertainty: The probability bounds and PHREEQC approach. *Journal of Hazardous Materials*, 301, 187–196. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.07.022>
- Collins, J. P., & Storfer, A. (2003). Global Amphibian Declines: Sorting the Hypotheses. *Diversity and Distributions*, 9(2), 89–98.
- De Flora, S., Bennicelli, C., & Bagnasco, M. (1994). Genotoxicity of mercury compounds. A review. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 317(1), 57–79. [https://doi.org/10.1016/0165-1110\(94\)90012-4](https://doi.org/10.1016/0165-1110(94)90012-4)
- Dixon, H. J., Elmarsafy, M., Hannan, N., Gao, V., Wright, C., Khan, L., & Gray, D. K. (2022). The effects of roadways on lakes and ponds: A systematic review and assessment of knowledge gaps. *Environmental Reviews*, 30(4), 501–523. <https://doi.org/10.1139/er-2022-0022>
- European Union. (2007). *European Union Risk Assessment Report Cadmium*. EUR 22919 ENV. <https://echa.europa.eu/documents/10162/4ea8883d-bd43-45fb-86a3->

14fa6fa9e6f3

Fleeger, J. W., Carman, K. R., & Nisbet, R. M. (2003). Indirect effects of contaminants in aquatic ecosystems. *Science of The Total Environment*, 317(1), 207–233. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(03\)00141-4](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(03)00141-4)

Freda, J. (1991). The effects of aluminum and other metals on amphibians. *Environmental Pollution*, 71(2), 305–328. [https://doi.org/10.1016/0269-7491\(91\)90035-U](https://doi.org/10.1016/0269-7491(91)90035-U)

Frost, D. R. (2023). *Amphibian Species of the World: An Online Reference. Version 6.1* [Data set]. <https://doi.org/doi.org/10.5531/db.vz.0001>

Gil-Jiménez, E., de Lucas, M., & Ferrer, M. (2021). Metalliferous Mining Pollution and Its Impact on Terrestrial and Semi-terrestrial Vertebrates: A Review. In P. de Voogt (Ed.), *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 256* (pp. 1–69). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/398_2021_65

Gunawardena, J., Ziyath, A. M., Egodawatta, P., Ayoko, G. A., & Goonetilleke, A. (2015). Sources and transport pathways of common heavy metals to urban road surfaces. *Ecological Engineering*, 77, 98–102. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.01.023>

Häder, D.-P., Banaszak, A. T., Villafañe, V. E., Narvarte, M. A., González, R. A., & Helbling, E. W. (2020). Anthropogenic pollution of aquatic ecosystems: Emerging problems with global implications. *Science of The Total Environment*, 713, 136586. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136586>

Hamlin, H. J., & Guillette, L. J. (2010). Birth Defects in Wildlife: The Role of Environmental Contaminants as Inducers of Reproductive and Developmental Dysfunction. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 56(2), 113–121. <https://doi.org/10.3109/19396360903244598>

Hill, D., Cresswell, T., Bennett, W., & Lanctôt, C. (2022). Fate and sublethal effects of metals during amphibian metamorphosis: A systematic review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 52(23), 4266–4283. <https://doi.org/10.1080/10643389.2021.2002117>

Johnson, M. S., Aubee, C., Salice, C. J., Leigh, K. B., Liu, E., Pott, U., & Pillard, D. (2017). A review of ecological risk assessment methods for amphibians: Comparative assessment of testing methodologies and available data. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 13(4), 601–613. <https://doi.org/10.1002/ieam.1881>

Kiesecker, J. (2011). Global stressors and the global decline of amphibians: Tipping the stress immunocompetency axis. *Ecological Research*, 26(5), 897–908. <https://doi.org/10.1007/s11284-010-0702-6>

Marek, W., & Michal, R. (2016). Characteristics of selected bioaccumulative

- substances and their impact on fish health. *Journal of Veterinary Research*, 60(4), 473–480. <https://doi.org/10.1515/jvetres-2016-0070>
- Mushet, D. M., Neau, J. L., & Euliss, N. H. (2014). Modeling effects of conservation grassland losses on amphibian habitat. *Biological Conservation*, 174, 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.04.001>
- Nationalencyklopedin. (n.d.). *Tungmetall*. Retrieved 10 June 2023, from <https://www-ne-se.ludwig.lub.lu.se/uppslagsverk/encyklopedi/l%C3%A5ng/tungmetall>
- Peters, K., Bundschuh, M., & Schäfer, R. B. (2013). Review on the effects of toxicants on freshwater ecosystem functions. *Environmental Pollution*, 180, 324–329. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.05.025>
- Rodrigues, A. S. L., Gray, C. L., Crowter, B. J., Ewers, R. M., Stuart, S. N., Whitten, T., & Manica, A. (2010). A Global Assessment of Amphibian Taxonomic Effort and Expertise. *BioScience*, 60(10), 798–806. <https://doi.org/10.1525/bio.2010.60.10.6>
- Rowe, C. L. (2014). Bioaccumulation and effects of metals and trace elements from aquatic disposal of coal combustion residues: Recent advances and recommendations for further study. *Science of The Total Environment*, 485–486, 490–496. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.03.119>
- Rowe, C. L., Hopkins, W. A., & Congdon, J. D. (2002). Ecotoxicological Implications of Aquatic Disposal of Coal Combustion Residues In the United States: A Review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 80(3), 207–276. <https://doi.org/10.1023/A:1021127120575>
- SLU Artdatabanken. (n.d.-a). *Groddjur—Naturvård från SLU Artdatabanken*. Retrieved 1 May 2023, from <https://artfakta.se/>
- SLU Artdatabanken. (n.d.-b). *Övervaka svenska groddjur | SLU Artdatabanken*. SLU.SE. Retrieved 1 May 2023, from <https://www.artdatabanken.se/hjalpa-till/faunavakteri/groddjur/>
- US EPA. (2007). *Framework for Metals Risk Assessment*. EPA 120/R-07/001. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2013-09/documents/metals-risk-assessment-final.pdf>
- Xin, Z., Wenchao, Z., Zhenguang, Y., Yiguo, H., Zhengtao, L., Xianliang, Y., Xiaonan, W., Tingting, L., & Liming, Z. (2015). Species sensitivity analysis of heavy metals to freshwater organisms. *Ecotoxicology*, 24(7), 1621–1631. <https://doi.org/10.1007/s10646-015-1500-2>
- Zhao, Y., & Marriott, S. B. (2013). Dispersion and Remobilisation of Heavy Metals in the River Severn System, UK. *Procedia Environmental Sciences*, 18, 167–173. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2013.04.022>

