

Programområde:

**Kust och hav**

Undersökningstyp:

**Biologisk  
effektövervakning av  
organiska tennföreningar**

### **Bakgrund och syfte med undersökningstypen**

Enligt OSPAR-kommissionen, som hanterar Konventionen för skydd av den marina miljön i Nordostatlanten (OSPAR-konventionen), och Helsingforskommissionen (HELCOM), som hanterar Konventionen om skydd av Östersjöområdet marina miljö, tillhör organiska tennföreningar de grupper av ämnen som ska prioriteras i miljöövervakningen. Tributyltenn (TBT) och andra organiska tennföreningar har länge använts som tillsats i båtbottnfärger. Ämnena är giftiga redan i mycket låga koncentrationer, och kan ge upphov till allvarliga skador på den marina livet. TBT ändrar och stör produktionen av de hormoner som styr utvecklingen, tillväxten och fortplantningen hos djur. Ämnet blockerar bl.a. det enzym som svarar för omvandlingen av det hanliga könshormonet testosteron till det honliga könshormonet östrogen. Detta resulterar i att testosteron kan lagras upp till abnormt höga nivåer. Hittills har främst framgälade snäckor, exempelvis nätsnäcka, *Nassarius nitidus* och purpursnäcka, *Nucella lapillus*, undersökts. Hos nätsnäckan har honorna parallellt med sina egna könsorgan utvecklat hanliga könskaraktärer såsom pseudopenis och sädesledare (s.k. imposex) vilket kan leda till minskad reproduktionskapacitet.

Som ett resultat av dessa mycket allvarliga effekter har många länder sedan mitten av 80-talet infört restriktioner mot användandet av TBT-baserade färger på båtar mindre än 25 meter och från och med 2008 kommer det att finnas ett globalt totalförbud även för båtar över 25 meter. Detta innebär ändå inte att föreningarna inom överskådlig tid försvinner ur den marina miljön eftersom organiska tennföreningar binds starkt till partiklar i vattenmassan och till sedimenten. Inte minst utgör underhållsmuddringar i hamnar och marinor ett stort problem till följd av kraftigt TBT-förorenade sediment. Fysisk omröring av sedimenten ökar spridningen markant.

Syftet med denna undersökningstyp är att påvisa långsiktiga förändringar i den marina miljön som en effekt av organiska tennföreningar. Resultaten ger underlag för uppföljning av främst miljömålet *Giftfri miljö* men även för miljömålet *Hav i balans samt levande kust och skärgård*.

### **Samordning**

Samordning med andra undersökningstyper är inte en nödvändighet eftersom meningsfulla utvärderingar kan göras av endast resultaten från undersökningar som utförs enligt denna undersökningstyp. Samordning av stationsnät med andra undersökningar (enligt andra

undersökningstyper eller undersökningar med fokus på organiska tennföreningar) kan dock med fördel göras för att man ska få en bredare kunskap om undersökningsplatsen, eller för att spara tid och resurser. En bredare kunskap bidrar till möjligheten att göra en övergripande analys av miljötillståndet eftersom enskilda variabler inte ensamma kan svara för miljötillståndet i sin helhet.

Organiska tennföreningar binder hårt till sedimentpartiklar och kan finnas kvar i sedimentet under en lång tid efter att utsläppet har skett. Längs västkusten utför *Bohuskustens vattenvårdsförbund* (BVVF) undersökningar där organiska tennföreningar är i fokus genom övervakning av blåmusslor. *Sveriges geologiska undersökning* (SGU) utför sedimentundersökningar utmed Sveriges kust då bland annat halten av organiska tennföreningar analyseras.

## **Strategi**

Undersökningen ger underlag för att bedöma långsiktiga förändringar i den marina miljön som en effekt av organiska tennföreningar. Miljöövervakning av organiska tennföreningar är prioriterade inom OSPAR och HELCOM. Resultaten visar om påverkan av organiska tennföreningar orsakat biologiska effekter hos individer av marina snäckor och om påverkan beror på pågående eller gammal exponering.

## **Statistiska aspekter**

Enligt den här undersökningstypen analyseras 50 snäckor från varje lokal med avseende på imposex. Enligt OSPAR:s riktlinjer för motsvarande övervakning ska analys av 40 individer vara tillräckligt för att det interpolerade värdet av Vas Deferens Sequence Index (VDSI) med 90 % sannolikhet ska vara inom 0,5 enheter från det sanna värdet.

Lokalernas placering väljs utifrån avstånd till punktkälla och förekomst av snäckor. Referensområdena placeras i representativa och så långt som möjligt i opåverkade områden med liknande omvärldsfaktorer som i punktkällans recipient.

Vid val av stickproven används två kriterier; storlek och skalskick. Detta för att få ett urval av snäckor som är av samma ålderskategori. Från dessa väljs slumpmässigt 60-70 individer av vilka 50 individer slutligen analyseras på imposex.

### ***Plats/stationsval***

Snäckor samlas in i kustområden och stationerna ska identifieras tydligt för att möjliggöra återkommande provtagning. Inom det nationella övervakningsprogrammet fördelas stationerna på tre typer: punktkällor, referensområden och så kallade naturhamnar och samtliga stationer placeras i grunda områden (ca 0-5 meter).

Stationer vid punktkällor (vanligtvis hamnar) placeras fördelade på båda sidor om farleden i en gradient från hamnen. Referensområdena placeras i representativa och så långt som möjligt opåverkade områden med liknande omvärldsfaktorer som i punktkällans recipient.

## Mätprogram

### Variabler

Valet av indikatorart bestäms naturligtvis ytterst av vilka snäckor som finns på undersökningsplatsen och av vilka snäckor det går att mäta imposex på. Inom det nationella övervakningsprogrammet används nätsnäcken *Nassarius nitidus* som indikatorart längs den bohuslänska samt halländska kusten. Längs skånekusten och vidare upp mot Stockholmsområdet används stor tusensnäcka *Peringia ulvae* (tidigare *Hydrobia ulvae*).

Från varje station analyseras 50 djur med avseende på skalhöjd, VDS-stadium (VDS = vas deferens sequence) hos hona, penislängd hos både hona och hane samt halt av organiska tennföreningar i vävnaden (Tabell 1). Dessa variabler används sedan för att beräkna jämförande mått såsom Vas Deferens Sequence Index (VDSI), Relative Penis Length Index (RPLI), samt procentuella mått över fördelningen av andelen påverkade nätsnäckor i de olika områdena.

VDSI innebär ett medelvärde för imposexstadiet hos en grupp snäckor och beräknas som summan av imposexstadiet hos alla insamlade honor dividerat med antalet undersökta honor. Hos nätsnäcken *Nassarius nitidus* och stor tusensnäcka *Peringia ulvae* kan VDSI variera mellan 0 och 4 respektive mellan 0 och 9. Vid analys av imposex sker en klassificering av utvecklingen av penis och sädesledare, där 0 är en normal hona och 4 är en hona med fullt utvecklad penis och sädesledare. Hos *P. ulvae* finns ytterligare stadier (5-9) vilka innebär att honans könsöppning är igenväxt. Således indikerar ett högt VDSI ett område som är kraftigt påverkat av organiska tennföreningar.

RPLI är ett jämförande mått på penislängden hos hanar och honor och fås genom att honornas medelpenislängd divideras med hanarnas medelpenislängd. Användandet av detta mått bör dock ske med viss försiktighet då studier av t.ex. nätsnäckor har visat att storleken på hanens penis kan variera under olika årstider.

Att analysera imposex är en relativt enkel metod för biologisk effektövervakning av organiska tennföreningar. Dessvärre är inte de effekter som ses hos snäckorna reversibla varför det är av vikt att genom kemisk analys av vävnad bekräfta huruvida imposexeffekterna i huvudsak är till följd av en pågående exponering eller om exponeringen är av ett äldre datum. Den kemiska analysen har större betydelse om indikatorarten är en art som lever i många år. Förutom de biologiska variablerna mäts även ett antal kemiska variabler i vävnaden: tributyltenn (TBT) och trifenyltenn (TPhT) samt deras nedbrytningsprodukter dibutyltenn (DBT), monobutyltenn (MBT), difenyltenn (DPhT) och monofenyltenn (MPhT). Med hjälp av dessa variabler kan förhållanden mellan organiska tennföreningar (TBT och TPhT) och dess nedbrytningsprodukter beräknas, vilket ger en indikation på om området är utsatt för en pågående exponering av TBT och TPhT eller om exponeringen är av ett äldre datum. Sedan 2010 analyseras även tetrabutyltenn (TeBT), monoktyltenn (MOT), dioktyltenn (DOT) samt tricyklohexyltenn (TCHxT).

En annan variabel som kan mätas hos *Nassarius nitidus* och *Peringia ulvae* men som inte är obligatorisk är längden på vas deferens (sädesledaren) hos honor. Genom att mäta denna får man en uppfattning om de olika imposexstadierna 1b, 3b och 4.

Tabell 1. Översiktstabell med variabler, tidsperioder m.m.

Område	Företeelse	Determinand (Mätvariabel och beräknad variabel)	Enhet / klassade värden	Statistisk värdetyp	Prio- ritet	Frekvens & tidpunkter	Referens till provtagnings- eller observations- metodik	Referens till analysmetod	
Lokal		Provtagnings- djup	m						
	Bottensubstrat	Substrattyp	Se klassificering i undersökningstypen <i>Sediment – basundersökning</i>						
	<i>Nassarius nitidus</i>	Andel juvenila	%						
	alternativt	Andel adulta	%						
	<i>Peringia ulvae</i>	Aggkapslar, Förekomst	ja/nej						
		Parasitangrepp	%						
	<i>Nassarius nitidus</i> alternativt <i>Peringia ulvae</i>	Skal, höjd	mm			1	1 ggr/år i sept-okt för <i>N. nitidus</i> och juli-aug för <i>P. ulvae</i>	Denna undersökningstyp, bilaga 1, bilaga2 och bilaga 3.	<i>Nassarius nitidus</i> : Stroben <i>et al.</i> 1992 <i>Peringia ulvae</i> : Schulte-Oehlmann, <i>et al.</i> , 1997
		Kön	hane/hona			1			
		VDS <sup>1</sup> -stadium	Fem klasser (0-4) för <i>N. nitidus</i> och 10 klasser (0-9) för <i>P. ulvae</i>			1			
		Penis, längd	mm			1			
		Vas deferens, längd	mm			2			
		Skal, höjd	mm	Medel- värde		1			
		VDSI <sup>2</sup> (medelvärdet av honornas VDS-stadier)			1				
		Honor, Penislängd	mm		1				
		Hanar, Penislängd	mm		1				
		Vas deferens, Längd	mm		2				
	RPLI <sup>3</sup>								
	<i>Nassarius nitidus</i> alternativt <i>Peringia ulvae</i>	TBT, DBT & MBT-halt	µg/kg	Samlingsprov		1	1 ggr/år i sept-okt för <i>N. nitidus</i> och juli-aug för <i>P. ulvae</i> . För <i>Peringia ulvae</i> se kommentar <sup>4</sup>	Analys sker enligt §64 LFGB L 10.00-9.	
		TPhT, DphT & MphT-halt	µg/kg		1				
		TeBT-halt	µg/kg		1				
MOT & DOT-halt		µg/kg	1						
TCHxT-halt		µg/kg	1						

<sup>1</sup> Vas deferens sequence

<sup>2</sup> VDSI = (summan av VDS-stadierna hos samtliga undersökta honor / (antalet undersökta honor)

<sup>3</sup> RPLI = (medelvärde av honornas penislängd) / (medelvärde av hanarnas penislängd)

<sup>4</sup> Syftet med den kemiska analysen är delvis att verifiera om snäckorna nyligen har varit exponerade för TBT, men också för att fastställa att effekterna beror på påverkan av organiska tennföreningar. Det krävs ett stort antal individer av *Peringia ulvae* för en kemisk analys, upp åt ett tusental. Eftersom livslängden på *Peringia ulvae* bara är ungefär 2 år (Schulte-Oehlmann *et al.* 1997) speglar förekomst av imposex en exponering som skett tidigast för två år sedan. Kemiska analysen av vävnadshalt i *Peringia ulvae* kan förslagsvis utföras med lägre frekvens än en gång per år.

### **Frekvens och tidpunkter**

Provtagningen bör planeras utifrån årstid och väder. Provtagning sker en gång om året, förslagsvis på sommaren när vädret är gynnsamt. Det är viktigt att provtagningen sker vid ungefär samma tidpunkt varje år eftersom penislängden hos snäckorna kan variera med tiden på reproduktionssäsongen vilket kan medföra att RPLI för olika år inte blir jämförbart.

### **Observations/provtagningsmetodik**

#### *Allmänt*

Eftersom snäckorna ska analyseras inom 7 dagar från fångst får insamlingen inte ske i sin helhet vid ett tillfälle, utan fältarbete bör varvas med analys av imposex på labb. Inom Naturvårdsverkets nationella övervakningsprogram samlas vanligtvis djur in från 1-2 områden för att sedan analyseras med avseende på imposex innan nästa fältprovtagning har ägt rum.

Djuren bör så snart som möjligt läggas i rinnande havsvatten alternativt ges syretillförsel. Observera att om snäckorna hålls i små plastbehållare under längre tid vid fältmomentet bör vattnet bytas ut dagligen och snäckorna hållas svalt. Det kan också vara praktiskt att ta med en del vatten från fångstlokalen för att sedan kunna byta vatten på snäckorna efter hemkomst till laboratoriet. Observera att snäckorna ska analyseras inom 2-7 dagar efter fångst, varför insamling av alla lokalerna på en gång inte är att rekommendera.

#### *Fältsmoment *Nassarius nitidus**

Fångst av nätsnäckor sker med hjälp av fällor betade med fisk. För att kunna effektivisera provtagningen behövs ca 20-tal fällor. Vid varje lokal placeras 3-4 fällor direkt på lerbotten gärna i närheten av ålgräs om detta finns på lokalen, det är dock viktigt att fällan ligger rättvänd med betet uppåt och direkt på botten då snäckorna ska kunna krypa in i fällan. Fällorna får sedan ligga i mellan ½ timme och ett par timmar beroende på snäcktillgång på lokalen. För att kontrollera om det är dags att ta upp fällorna använd vattenkikare eller ”provdrag” en fälla. Kontrollera fångsten och gör en notering om eventuella äggkapslar samt uppskatta andelen juvenila respektive andelen adulta individer. Observera att storleken varierar något mellan olika lokaler.

Tänk på återväxten dvs. ta inte hem alla snäckor utan gör ett



urval på ca 60-70 jämnstora individer på plats och återför övriga vid respektive fångstplats. Det kan också vara en bra idé att notera tidsåtgång vid varje station för nästkommande års planering.

#### *Fältnoment *Peringia ulvae**

Insamlingen av *Peringia ulvae* sker genom att en håv med finmaskigt nät dras för hand längs botten för att håva upp olika typer av substrat såsom grus, lera och vegetation. Provet rensas för hand i fält och för att förenkla detta används ett vitt underlag och pincett. Det kan vara bra att lägga lite fintrådiga alger i kärlet snäckorna förvaras i. Gör ett urval på ca 60-70 jämnstora individer som tas med till labb. Om artbestämning inte kan ske i fält sparas alla snäckor för att senare kunna bestämmas korrekt under lupp.

#### Utrustningslista

Se bilaga 1.

#### **Tillvaratagande av prov, analysmetodik**

Innan snäckorna analyseras på imposex bör dessa förvaras i rinnande havsvatten ett dygn för att tarmen ska vara relativt tömd eftersom tarminnehållet kan påverka resultaten av vävnadsanalysen. Femtio vuxna individer väljs utifrån storlek och skalskick per station. En jämn och stor storleksklass där skalet inte är för slitet eftersträvas för att få en bra åldersklass dvs. ca 15-25 mm för *Nassarius nitidus* och ca 4-5 mm för *Peringia ulvae*. För att uppnå muskelrelaxering (avslappning) hos nätsnäckorna sövs de i 7 % lösning av magnesiumklorid ( $MgCl_2$ ) i ca 20-30 minuter före analys, motsvarande tid för stor tusensnäcka är ca 15-20 minuter. Detta underlättar mätproceduren och ger data som är mer reproducerbara och tillförlitliga. Det är dock viktigt att inte söva alla djur på en gång eftersom analysen kan försvåras om de ligger i  $MgCl_2$  för länge. (En 7 % magnesiumkloridlösning erhålls om 150 g  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  löses och späds med 854 ml destillerat vatten).

För mätning av skalhöjd används ett digitalt skjutmått medan penislängd och imposexstadium analyseras under en stereolupp med mätokular. Innan imposexanalys och mätning av penis kan genomföras knäcks skalet med hjälp av ett skruvstäd och snäckans mjukvävnad plockas ut med en pincett. Alla längdparametrar mäts med en noggrannhet av 0,01 mm hos *Nassarius nitidus* och 0,1 mm hos *Peringia ulvae*. Analys av imposex hos nätsnäckor utförs enligt Stroben et al. 1992 och för *Peringia ulvae* enligt Schulte-Oehlmann et al., 1997.

Observera att det är mycket viktigt att kunna säkerställa könet på snäckan, d.v.s. den vaginala öppningen ska ses, detta för att undvika att juvenila hanar analyseras som honor. Snäckor där kön inte kan bestämmas till 100 % kasseras och analyseras ej utan ersätts av nya djur. Även snäckor som är drabbade av parasiter kasseras.

För att verifiera om snäckorna nyligen har varit exponerade för TBT analyseras även deras vävnad med avseende på halten organiska tennföreningar. Efter analys av imposex görs ett samlingsprov från varje station av alla analyserade honor, vilket fryses för att senare skickas på vävnadsanalys. Den kemiska analysen av nätsnäckor utförs för närvarande av det ackrediterade laboratoriet ALS Scandinavia ABs tyska samarbetspartner GBA och bestämning av tennorganiska föreningar sker enligt §64 LFGB L 10.00-9. För vävnadsanalys används alla honor vilka har analyserats med avseende på imposex, dessa poolas till ett vävnadsprov från varje lokal.

Olika kemiska analysmetoder används vid olika laboratorier och resultaten kan skilja sig en

hel del. För att resultaten från år till år ska vara jämförbara är det av stor vikt att om möjligt använda sig av samma metodik och laboratorium. Vid byte av laboratorium bör låga detektionsgränser eftersträvas samt att samma extraktions- och analysmetoder används.

### **Fältprotokoll**

Se bilaga 2

### **Bakgrundsinformation**

Data från andra övervakningsprogram där innehållet av organiska tennföreningar analyseras i sediment eller biota är av intresse. Dock krävs ingen annan information ifrån andra delprogram, utan meningsfulla utvärderingar kan göras av materialet med hjälp av de variabler som mäts inom delprogrammet. Viktigt är dock att personal som tolkar analysresultaten bör ha kännedom om snäckornas ekologi, områdets föroreningshistoria, samt stationernas lokalisering i förhållande till förorenande verksamhet såsom varv, hamnar, farleder etc.

### **Kvalitetssäkring**

Det är extremt viktigt att alla provtagningsbehållare märks upp väl för att undvika att prover blandas ihop. Likaså är det viktigt att fällorna töms ordentligt på djur innan de används vid nästa station. Det kan vara svårt att få ut alla snäckorna då de kan krypa långt in i betet och därmed vara svåra att se, en praktisk åtgärd är att mellan provtagningarna förvara fällorna i fryst tillstånd.

Kvalitetssäkringsarbetet vid analys av imposex bedrivs genom att strikt följa givna riktlinjer. Det är viktigt att könet på snäckan fastställs till hundra procent för att undvika att juvenila hanar blir analyserade som påverkade honor. Djur vars kön inte med säkerhet kan säkerställas analyseras inte utan byts ut mot en ny individ. Om flera personer utför analys av imposex måste de vara väl kalibrerade med varandra. För att kompetensen hos analyspersonal ska kunna utvecklas och denna typ av analyser utföras med en fortsatt hög kvalitet, bör ansvarig personal delta i workshops och kalibreringsträffar när tillfällen till sådana ges. Årlig erfarenhet av imposexanalys av båda arterna är av mycket stor vikt för att säkerställa analysresultatet samt erhåll en kvalitativ utvärdering.

För att även kvalitén på de kemiska analyserna ska vara hög ska laboratoriet som utför de kemiska analyserna vara ackrediterat alternativt delta kontinuerligt i interkalibreringsövningar. Olika kemiska analysmetoder används vid olika laboratorier och resultaten kan skilja sig en hel del. För att resultaten från år till år ska vara jämförbara är det av stor vikt att om möjligt använda sig samma metodik och laboratorium. Vid byte av laboratorium bör det eftersträvas att samma analysmetoder används.

### **Databehandling, datavärd**

Data levereras till datavärden IVL ([www.ivl.se](http://www.ivl.se)). Vid oklarheter kan ansvarig handläggare på Naturvårdsverket kontaktas. Kvalitetssäkrade data och index levereras till datavärden enligt dennes leveransmall. Det ska tydligt framgå om eventuella mindre-än-värden (<) avser detektionsgräns eller kvantifieringsgräns.

Datavärden gör sedan olika rimlighetskontroller och kontaktar utföraren om något verkar fel eller orimligt.

Resultaten från undersökningen ingår som svenskt bidrag till OSPAR *Coordinated Environmental Monitoring Programme*. Den nationella datavärden ansvarar för att data vidareberapporteras till OSPAR:s datavärd ICES.

## **Rapportering, utvärdering**

Vid utvärdering och redovisning av resultaten beräknas för varje enskild station VDSI ± konfidensintervall, samt hur stor procent av honorna som är påverkade. Dessutom beräknas RPLI för varje station men detta index bör användas med försiktighet då snäckornas penislängd kan variera med tid på året. Data redovisas beroende på sammanhang i tabellform för varje station och provtagningstillfälle eller i diagramform för alla stationer och år för att redovisa tidsutvecklingen.

Vid diskussion om data är det framför allt jämförelser mellan VDSI och halten TBT i vävnaden samt kvoten mellan TBT och dess nedbrytningsprodukter DBT och MBT som är i fokus för nätsnäckor. För stor tusensnäcka är det även av intresse att studera den procentuella påverkan per lokal då denna snäcka oftast uppvisar påverkan av de lägre stadierna, trots att det kan vara en kraftigt förorenad lokal. Argumentationen om resultatens tillförlitlighet inkluderar kringinformation om sådan finns och kan styrka slutsatserna.



## Kostnadsuppskattning

Kostnaderna kan påverkas av att fältmomentet är beroende av relativt bra väder vid provtagning.

### **Fasta kostnader**

Fasta kostnader omfattar förbrukningsmaterial i mindre omfattning exempelvis behållare,  $MgCl_2$ , motorbränsle och bete samt kostnader för tillverkning av fällor, inköp av vattenkikare, håvar, avskrivning av ekolod och undervattensvideokamera etc. Vidare tillkommer kostnader för vistelse i fält såsom traktamenten, övernattning samt hyra av båt och bil.

### **Analyskostnader**

Kostnaden för vävnadsanalys av de organiska tennföreningarna tributyltenn (TBT), dibutyltenn (DBT), monobutyltenn (MBT), trifenyltenn (TPhT), difenyltenn (DPhT), monofenyltenn (MPhT), tetrabutyltenn (TeBT), monoktyltenn (MOT), dioktyltenn (DOT) samt tricyklohexyltenn (TCHxT) uppgår per prov vid kommersiella laboratorier till ca 3000-4000 kr beroende på detektionsgräns.

### **Tidsåtgång**

Tidsåtgång för fältprovtagning är beroende av tillgång på snäckor och var stationen är lokaliserad. Väl på plats vid en station med god tillgång på snäckor tar insamlingen av djur ca 1-2 timmar.

Imposexanalysen av *Peringia ulvae* bedöms ta ca en dag per station för en person.

Imposexanalysen av *Nassarius nitidus* bedöms ta ca 5-6 timmar per station för en person.

Till detta kommer tid för utvärdering och rapportering samt utförarmöten.

## Övrigt

Vad som är viktigt att komma ihåg är att inte samla in djur från alla stationer på en gång eftersom dessa måste analyseras senast 7 dagar efter fångst. För att behålla god kvalitet på imposexanalyser samt utvärdering av resultat är det viktigt att utföraren av analyserna kontinuerligt jobbar med analyser hos såväl *Nassarius nitidus* som *Peringia ulvae*.

## **Författare och övriga kontaktpersoner**

*Kontaktperson, Naturvårdsverket:*

Maria Linderöth  
Enheten för farliga ämnen och avfall  
Naturvårdsverket  
106 48 Stockholm  
Tel: 08-698 15 30  
E-post: maria.linderöth@naturvardsverket.se

*Författare och expert:*

Marina Magnusson  
Marine Monitoring vid Kristineberg AB  
Strandvägen 9  
453 30 Lysekil  
Tel: 0523-101 82  
E-post: marina@marine-monitoring.se

*Expert:*

Docent Åke Granmo  
Institutionen för marin ekologi  
Göteborgs universitet  
Kristineberg 566  
450 34 Fiskebäckskil  
Tel: 0523-10182  
E-post: ake.granmo@bioenv.gu.se

## Referenser

### Metodreferenslista

En metodreferenslista, nödvändig litteratur för att utföra själva undersökningen.

1. Stroben, E., Oehlmann, J. and Fioroni, P., 1992. The morphological expression of imposex in *Hinia reticulata* (Gastropoda: Buccinidae): a potential indicator of tributyltin pollution. *Mar. Biol.* 113: 625-636.
2. Schulte-Oehlmann, U., Oehlmann, J., Fioroni, P., and Bauer, B. 1997 "Imposex and reproductive failure in *Hydrobia ulvae* (Gastropoda: Prosobranchia)". *Marine Biology* (1997) 128: 257-266.
3. Utförandet av den kemiska analysen görs av ALS Scandinavia ABs tyska samarbetspartner GBA och bestämning av tennorganiska föreningar sker enligt §64 LFGB L 10.00-9.

### Rekommenderad litteratur för fördjupning i ämnet

4. Bellas, J., Ekelund, R., Halldórsson, H., Berggren, M., Granmo, Å. Monitoring of organic compounds and trace metals during a dredging episode in the Göta Älv Estuary (SW Sweden) using caged mussels. *Water Air Soil Pollut.* 181, 265-279.
5. Björklund, I. "Skeppsbottenfärgernas miljöeffekter", Rapport från Kemikalieinspektionen 7/87, 1987, 16 pp.
6. Björklund, I. "Miljöeffekter av tennbaserade skeppsbottenfärger", Rapport från Kemikalieinspektionen 6/88, 1988, 38 pp.
7. Blanck H., Dahl, B., 1996. Pollution-induced community tolerance (PICT) in marine periphyton in a gradient of tri-n-butyltin (TBT) contamination. *Aquatic Toxicology*, 35, 59-77.
8. Blanck H., Dahl, B., 1998. Recovery of marine periphyton communities around a Swedish marina after the ban of TBT use in antifouling paint. *Marine Pollution Bulletin*, 36, 437-442.
9. Cato, I., Magnusson, M., Borgegren, A., & Granmo, Å., Organiska tennföreningar- ett hot mot livet i våra hav, Temaartikel i rapporten Havet 2007, ISBN 978-91-620-1262-5
10. Cato, I., 2003 a: Organiska tennföreningar i svenska havssediment – ett förbisett miljöproblem. *Havsmiljön* 2003, 12-13.
11. Cato, I., 2003 b: Organotin compounds in Swedish sediments – an overlooked environmental problem. In FoU-seminarium vid SGU 11-12 mars 2003, Dokumentation. Geological Survey of Sweden, SGU-rapport 2003:4, 6-8.
12. Cato, I., 2005: Organiska tennföreningar – ett miljöproblem i svenska kust- och havsområden. SGU-rapport 2005:7, 5-7.
13. Cato, I., 2005: The National Swedish Status and Trend Monitoring Programme based on Chemical Contamination in Offshore Sediment – An overview of the results from 2003. HELCOM MONAS 8/2005, 17 pp.
14. Cato, I., 2005: The National Swedish Status and Trend Monitoring Programme based

on Chemical Contamination in Offshore Sediment – An overview of the results from 2003. SGU-rapport 2005:25, 28 pp.

15. Cato, I., 2006: Miljö kvalitet och trender i sediment och biota utmed Bohuskusten 2000/2001 – en rapport från sju kontrollprogram = Environmental quality and trends in sediment and biota along the Bohus Coast in 2000/2001 – a report from seven trend monitoring programmes. Geological Survey of Sweden, Rapp & Medd no. 122, 490 pp.
16. Cato, I. (in prep). Unpublished data from an investigation of TBT levels in sediments around the Swedish coast, that took place during year 2003/2004.
17. Cato, I., Gönczi, M., Jonsson, P. & Sandkvist, Å. 2002: Sedimentundersökningar i Muskö- och Horsfjärdsområdet. SGU-rapport 2002:16, 67 p.
18. Duft, M., Schulte-Oehlmann, U., Weltje, L., Tillmann, M., Oehlmann, J., 2003 “Stimulated embryo production as a parameter of estrogenic exposure via sediments in the freshwater mudsnail *Potamopyrgus antipodarum*”, *Aquatic Toxicology* 64 (2003) 437-449.
19. Granmo, Å. 1997. Tributyltin (TBT) in antifouling paints - an environmental hazard. Proceedings of the seventh workshop on marine mollusc programme in Semarang, Jakarta, Bogor, Indonesia, November 1996. Phuket mar. biol. Cent. Spec. Publ. No. 17 pp. 121-127.
20. Granmo, Å. 2000. Effects of organotin on marine bivalves. Proceedings of the Tenth International congress & workshop of the Tropical Marine Mollusc Programme (TMMP), Hanoi & Haipong/Cat Ba, Vietnam, October 1999. Phuket mar. biol. Cent. Spec. Publ. 21, pp. 127-133.
21. Granmo, Å., R. Ekelund, J-A. Sneli, M. Berggren, J. Svavarsson. 2002. Effects of antifouling paint components (TBTO, copper and triazine) on the early development of embryos in cod (*Gadus morhua* L.). *Mar.Poll.Bull.* 44, 1142-1148
22. Jacobsen, J.A., Jacob Strand, Britta Pedersen and Åke Granmo 2003.: Distribution of butyltin compounds in biota in the busy shipping straits between Sweden and Denmark. *Environ. Pollut.* 124. pp. 7-15.
23. Joosse, J. & Geraerts, W. P. M. 1983. *Endocrinology in: The Mollusca. Vol. 4, Physiology*, P. 1. New York, Academic Press, pp 317-406.
24. Kannan, K., Senthilkumar, B., Longanthan, S., Takahashi, D.K. Odell, D.K. & Tanabe, S., 1997: Elevated accumulation of tributyltin and its breakdown products in bottlenose dolphine (*Tursiops truncatus*) found stranded along the U.S. Atlantic and Gulf coasts. *Environ Sci. Technol.*, 31, 296- 301.
25. Kumar, S. J., S. Tesfalidet, J. Snell and W. Frech A simple method for synthesis of organotin species to investigate extraction procedures in sediments by isotope dilution gas chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry - Part 1. Butyltin species. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*: 2003 18:714-719
26. Kumar, S. J., S. Tesfalidet, J. P. Snell, D. N. Van and W. Frech A simple method for synthesis of organotin species to investigate extraction procedures in sediments by isotope dilution-gas chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry - Part 2. Phenyltin species. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*: 2004 19:368-372.
27. Larsson, Å., Förlin, L., Hanson, N., Reutgard, M., Sundelin, B., Eriksson-Wiklund, A-

Version 1:1, 2015-04-23

- K., Magnusson, M., Granmo, Å., 2009: Effektstudier- olika program med gemensamt mål. Havet 2009 s. 77-80. Naturvårdsverket. ISSN 1654-6741, ISBN 978-91-620-1277-9.
28. Magnusson, M., Hilvarsson, A., Andersson, S. & Granmo, Å., 2012: Biologiska effekter av organiska tennföreningar. Havet 2012 s. 93-94. Naturvårdsverket. ISBN 978-91-87025-12-9
29. Magnusson, M. & Samuelsson, P-O., TBT-forskning ger bättre hantering av förorenade sediment Havet 2012 s. 89-92. Naturvårdsverket. ISBN 978-91-87025-12-9.
30. Magnusson, M., Cato, I. & Granmo, Å., 2012: Sekundär spridning och effekter av organiska tennföreningar från småbåtshamnar. Marine Monitoring AB, Rapport 2012:1, 26 sid. Lysekil. ISBN 978-91-86461-29-4
31. Magnusson, M., Borgegren, A., Andersson, S. & Granmo, Å., 2011: Biologiska effekter av organiska tennföreningar. Havet 2011 s. 85-86. Naturvårdsverket. ISBN 978-91-620-1288-5.
32. Magnusson, M., Granmo, Å., Löf, M., Reutgard, M., Sundelin, B., & Cato, I., 2011: Känslig fortplantning varslar om miljögifter. Havet 2011 s. 81-84. Naturvårdsverket. ISBN 978-91-620-1288-5.
33. Magnusson, M., Borgegren, A., Andersson, S. & Granmo, Å., 2010: Biologiska effekter av organiska tennföreningar. Havet 2010 s. 81-82. Naturvårdsverket. ISSN 1654-6741, ISBN 978-91-620-1281-6
34. Magnusson, M., Borgegren, A., Andersson, S. & Granmo, Å., 2009: Biologiska effekter av organiska tennföreningar. Havet 2009 s. 82-83. Naturvårdsverket. ISSN 1654-6741, ISBN 978-91-620-1277-9
35. Magnusson, M., Borgegren, A., & Granmo, Å., Biologisk effektövervakning av organiska tennföreningar på västkusten, Artikel i rapporten Havet 2008, ISBN 978-91-620-1262-5
36. Magnusson, M., Borgegren, A. and Granmo, Å., 2004 "Investigation of Imposex on the Swedish west coast using *Nassarius nitidus* as a bioindicator species 2004" Swedish Environmental Protection Agency, Contract no 2120423.
37. Magnusson, M. and Granmo, Å., 2003."Investigation of Imposex on the Swedish west coast using *Nassarius reticulatus* as a bioindicator species" Swedish Environmental Protection Agency, Contract no 2120328.
38. Magnusson, M., Borgegren, A. and Granmo, Å., 2005. "Investigation of Imposex on the Swedish west coast using *Nassarius nitidus* as a bioindicator species 2005" Swedish Environmental Protection Agency, Contract no 212 0519.
39. Magnusson, M., Borgegren, A., Granmo, Å. och Cato, I., 2004. "Eventuellt samband mellan halten tennföreningar i vävnaden hos nätsnäckan *Nassarius nitidus* och halten tennföreningar i sedimentet." Naturvårdsverket kontrakt nr 2120429.
40. Matthiessen P and Gibbs, P. 1998. Critical appraisal of the evidence for tributyltin mediated endocrine disruption in molluscs. Environ Toxicol Chem, 17, 37-43.
41. Müller, M.D., Renberg, L. & Rippen, G., 1989: Tributyltin in the environment – sources, fate and determination: an assessment of present status and research needs.

Chemosphere 18, 2015-2042.

42. Oehlmann et al., J. O., E. Stroben, C. Bettin and P. Fioroni. 1993. Hormonal disorders and tributyltin-induced imposex in marine snails. Quantified phenotypic responses in morphology and physiology. In: Proceedings of the 27th European Marine Biology Symposium, Dublin, 301-305..
43. OSPAR 2008-9, "Guidelines for contaminant-specific biological effects monitoring (TBT-specific biological effects monitoring)". OSPAR Commission, Ref No 2008-9, Technical Annex 3.
44. OSPAR Commission, 2008: 2007/2008 CEMP Assessment - Trends and concentrations of selected hazardous substances in the marine environment, ISBN 978-1-906840-19-8, Publication Number 378/2008
45. Reutgard, M., Sundelin, B., Magnusson, M., Granmo, Å., Larsson, Å., Förlin, L., Hanson, N., & Parkkonen, J., 2010: Biologiska effekter bedömningsgrunder under utveckling. Havet 2010 s. 77-80. Naturvårdsverket. ISSN 1654-6741, ISBN 978-91-620-1281-6.
46. Schmitt, C., Duft, M., Brandelik, C., Schulte-Oehlmann, U., & Oehlmann, J., "SOP FOR TESTING OF CHEMICALS- Reproduction Test with the Prosobranch Snail *Potamopyrgus antipodarum* for Testing Endocrine Active Chemicals Content of SOP", Version: 2006-02-08
47. STF 1997 Miljømål for vannforekomstene: Nyttevurdering av å opprettholde eller forbedre miljøkvalitet. SFT 1997 - 196 s. – SFT-Rapport 97:36 - Bestillingsnr.: TA-1503.
48. Strand, J., 2003 "Coupling marine monitoring and risk assessment by integrating exposure, bioaccumulation and effect studies A case study using the contamination of organotin compounds in the Danish marine environment" Ph.D. thesis
49. Stewart, C., de Mora, S.J., Jones, M.R.L. & Miller, M.C., 1992: Imposex in New Zealand neogastropods. Mar. Pollut. Bull. 4, 204-209.
50. Svavarsson, J., Å. Granmo and R. Ekelund. 2001: Occurrence and effects of tributyltin (TBT) on adult common whelk (*Buccinum undatum*) (Mollusca, Gastropoda) in harbours and in a simulated dredging situation. Mar. Poll. Bull. Vol 42/5, pp 370-376.
51. Viglino Liza, Emilien Pelletier, and Richard St.-Louis: Highly persistent butyltins in northern marine sediments: A longterm threat for the Saguenay fjord (Canada). Environ. Toxicol. Chem. Vol. 23, No. 11, pp. 2673–2681, 2004.
52. Vos, P., Meelis, E. och Ter Keurs, W. J. 2000. "Framework for the design of ecological monitoring programs as a tool for environmental and nature management." Environmental Monitoring and Assessment 61: 317-344.

## Uppdateringar, versionshantering

Version 1:0, 2008-04-04. Ny undersökningstyp

Version 1:1, 2015-04-23. Uppdaterad undersökningstyp.

## Bilaga 1: Utrustningslista

### *Fältsmoment Västkusten*

- Båt som klarar relativt grunda områden
- GPS, Sjökort
- Vattenkikare
- Fällor betade med fisk (endast på västkusten)
- Båtshake
- Plastbehållare (ca 3-4 liters volym) för förvaring av snäckor
- Fältdagbok/Fältprotokoll
- Matsäck

### *För Östkusten tillkommer även:*

- Håv med finmaskigt nät
- Snorkelutrustning
- Pincetter för att sortera ut djuren på plats
- Ett vitt underlag för att förenkla sorteringen i fält
- Ekolod och undervattensvideokamera (endast för att hitta nya lokaler)

### *I laboratoriet*

- Stereolupp med mätokular
- Mikroskop
- Skjutmått (gärna digitalt)
- Metodbeskrivningar
- Dissektionsutrustning
- Skruvstäd
- $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . En 7-procentig lösning av  $\text{MgCl}_2$  erhålls om 150 g löses i 854 ml destillerat vatten
- Förvaringspåsar
- Analysprotokoll
- Frystork

**Bilaga 2: Fältprotokoll**

Station
Datum
Djup
Typ av bottensubstrat
Tid för iläggning av fällor
Tid för upptag av fällor
Andel Juvenila
Andel Adulta
Observation av äggkapslar
Övrigt



### Bilaga 3: Analysprotokoll

Station:			Position:			Insamlingsdatum:	
Art:			Djup:			Analysdatum:	
Djur nr.	Skalhöjd (mm)	Kön	VDS stadium	Penislängd (mm)	Vas deferens (mm)	Parasiter	Övrigt
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24							
25							
26							
27							
28							
29							
30							
31							
32							
33							
34							
35							
36							
37							
38							
39							
40							
41							
42							
43							
44							
45							
46							
47							
48							
49							
50							
Station		% Imposex	Antal honor/antal hanar	RPLI	VDSI	Skalhöjd (mm) medel	

