



Programområde: **Kust och hav**

Undersökningstyp: **Metaller och organiska miljögifter i ägg av sillgrissla**

**Författare:** Se avsnittet ”Författare och övriga kontaktpersoner”.

## **Bakgrund och syfte med undersökningstypen**

Syftet är att följa hur halterna av metaller och organiska miljögifter varierar med tiden vid lokalerna i Egentliga Östersjön och Bottniska Viken.

Sillgrisslan kan med fördel användas vid övervakning av miljögifter i marin miljö eftersom den äter fisk, övervintrar i Östersjön och har dess ägg har en hög och stabil fetthalt. Resultaten från miljögiftsanalyser uppvisar låg slumpmässig variation mellan olika år, vilket ger en hög statistisk styrka vid tidsseriestudier.

Undersökningstypen kan användas för att följa utveckling och status hos den marina miljön i förhållande till EU:s havsmiljödirektiv samt miljömålen *Giftfri miljö* och *Hav i balans samt levande kust och skärgård* och kan utgöra grund för åtgärdsförslag och uppföljning av utförda åtgärder.

## **Samordning**

Miljöövervakningen enligt denna undersökningstyp bör i tillämpliga fall samordnas med beståndsuppskattningar.

Överväg om det är lämpligt att samordna med övervakning enligt undersökningstyperna ”Metaller och organiska miljögifter i fisk” och ”Metaller och organiska miljögifter i blåmussla”.

## **Strategi**

Tidsserieövervakning används för att visa förändringar med tiden. Detta kan innebära att beskriva belastningsstatus och detektera förändringar i belastning och effekter av åtgärder. Vid tidsserieövervakning regleras kravet på precision av ambitionen att inom rimlig tid kunna

påvisa signifikanta förändringar. Tidsserierna är också viktiga för att beskriva naturlig variation.

## **Statistiska aspekter**

För att välja lämplig statistisk bearbetning eller metoder rekommenderas den handledning i Dataanalys och hypotesprövning för statistikanvändare, som finns på Naturvårdsverkets webbplats (se Stöd i miljöarbetet/Miljöövervakning/Handledning/Utformning av program och statistik) samt webbplatsen: [www.miljostatistik.se](http://www.miljostatistik.se).

Se också kapitel 7 i referens [1] samt referens [2].

### **Tidsserieövervakning**

Utvärdering av tidsserier diskuteras bl.a. i referens [1]. Då studien utformas är det viktigt att syftet är klart fastställt och att man bestämmer med vilken säkerhet och hur snabbt en förändring över tid ska kunna detekteras. Detta avgör hur många prover som ska analyseras och hur ofta provtagning ska utföras.

Inledningsvis ska provtagning alltid utföras varje år. Är det stora variationer i uppmätta halter måste provtagningen även fortsättningsvis ske årligen.

Om man strävar efter en statistisk styrka på 80 % och vill kunna upptäcka en genomsnittlig årlig förändring ned till 5 % krävs ofta en övervakningsperiod på mellan 10 och 15 år. Periodens längd varierar dock med mätvariabel, provtagningsmatris och station. Känslighet (minsta detekterbara trend vid 80 % styrka efter 10 års övervakning) och beräknad övervakningsperiod (vid en minsta detekterbar trend av 5 %, vid 80 % statistisk styrka) finns redovisad i referens [1] kapitel 8.

Valet av matris har betydelse för hur tidigt förändringar kan beläggas statistiskt [3]. Provtagningsfrekvensen påverkar i hög grad den statistiska styrkan [5] men bestäms också av hur snabba förlopp som ska beskrivas. Innan man gör avsteg från årlig provtagning måste man ha kunskap om naturlig mellanårsvariation. Eventuella avsteg måste särskilt motiveras.

I det nationella övervakningsprogrammet för Kust och hav analyseras i sillgrissleägg metaller, PCB och klorerade pesticider, polybromerade difenyletrar och HBCD i individuella prov (10 individuella prov per år och lokal). Dioxiner och perfluorerade ämnen analyseras i homogenat med 10 ägg i varje. Fördelar och nackdelar med individuella respektive poolade prov finns i viss mån redovisade i referens [4] men har under 2008 varit föremål för en grundligare utredning initierad av Naturvårdsverket. Valet mellan poolade prov eller individuella prov är beroende av syftet med undersökningen samt tidigare kunskap om variation i matrisen som undersöks [19, 20].

### **Rumslig övervakning**

Typiska mål vid geografiska undersökningar kan vara att påvisa skillnader mellan exempelvis belastade områden och referensområden, påvisa geografiska gradienter, upptäcka ”hot spots” eller att statusklassificera områden. När syfte och kvantitativt uppställda mål har preciserats kan man beräkna hur många prov som behövs.

Rumslig övervakning med hjälp av sillgrissleägg är inte att rekommendera då de endast finns på ett fåtal lokaler i Östersjön.

**Antal prover**

Antalet individer (ägg) som bör samlas in vid ett och samma tillfälle från en lokal, är beroende av den naturliga variationen i populationen och tillgången på ägg. För att erhålla ett någotsånär tillförlitligt medelvärde krävs som regel minst 10 individuellt analyserade prover. Detta ska endast ses som ett vägledande förslag. Det är förhållandena i de enskilda fallen som är styrande för var gränsen går för statistiskt säkerställda data.

Om det är möjligt bör minst 10 ägg samlas in per lokal och år.

**Mätprogram****Variabler****Tabell 1.** Översiktstabell med variabler och tidsperioder, m.m.

Område	Företeelse (Matris)	Mätvariabel	Enhet / klassade värden	Prioritet	Frekvens och tidpunkter	Referens till provtagningsmetodik	Referens till analysmetod
Lokal	Ungar	Antal			Ärligen		
		Ägg (alt. Ägg, okläckta)	Antal				
	Ägg	Läggningsföljd					
		Vikt	g			Bilaga 1, ref. 4	
		Längd	mm				
		Bredd	mm				
	Äggskal	Vikt	g				
		Tjocklek					
		Skalindex*	g/cm <sup>2</sup>				
	Ägg-innehåll	Färg					
		Lukt					
		Fetthalt			Obl. för organiska miljögifter	Bestäms i samband med analys	
		Vattenhalt				Bestäms i samband med analys	

**Tabell 2.** Översiktstabell av miljögifter

Område	Företeelse (Matris)	Mätvariabel	Enhet / klassade värden	Statistisk värdetyp	Priorite	Frekvens och tidpunkter	Referens till provtagningsmetodik	Referens till analysmetod
	Ägginnehåll resp. Embryo	Halter av Metaller (Pb, Cd, Ni, Cr, Cu, Zn, As, Ag, Sn, Se)	µg/g torrsvikt					
		Hg	ng/g färsksvikt					[9]
		Halter av Klorerade ämnen (PCB-28, -52, -101, -118, -138, -153, -180, DDT, DDE, DDD, α-, β-, γ-HCH, HCB)	µg/g fettsvikt					

	Halter av Polybromerade flamskyddsmedel (BDE-47, -99, -100, 153,154, HBCDD)	ng/g fettvikt					[12]
	Halter av Dioxiner (dioxiner, dibensofuraner, dioxinlika-PCB:er )	pg/g färskvikt	Medelvärde (Samling sprov)				[6]
	Halter av Perfluorerade föreningar (perfluorerade karboxylater (PFCAs) och perfluorerade sulfonater (PFSs),	ng/g färskvikt	Medelvärde (Samling sprov)				[11, 21]

### Frekvens och tidpunkter

Provtagningsfrekvensen är beroende av hur snabba förlopp som skall beskrivas. Ändrade utsläpp eller insatta åtgärder kan göra att halterna i organismer förändras på mycket kort sikt. För att detektera förändringarna krävs med största sannolikhet årlig provtagning. Vill man trots det göra avsteg från årlig provtagning måste detta särskilt motiveras.

### Observations/provtagningsmetodik

Undersökningstypen följer huvudsakligen de riktlinjer för miljöövervakning som rekommenderas av HELCOM [16] och OSPAR [17] samt Naturhistoriska Riksmuseets riktlinjer för insamling, provberedning och lagring av fågelägg [22].

För beskrivning av provtagningsmetoder hänvisas till referens [10] och [1] samt till bilaga 1.

### Tillvaratagande av prov, analysmetodik

De analysmetoder som rekommenderas finns beskrivna i referens [1, 6]. De PCB-kongener som mäts i det nationella övervakningsprogrammet är CB-28, CB-52, CB-101, CB-118, CB-138, CB-153 samt CB-180, vilka rekommenderas av ICES. Halterna av dessa är i de flesta fall mätbara. Metoden beskriver även analys av DDT och dess nedbrytningsprodukter DDD och DDE, samt HCB och tre hexaklorocykloalkaner. Koncentrationen av dessa ämnen samt fetthalt fås ur samma analys. Den första delen, d.v.s. extraktion och upprening är samma för PCB och pesticider som för BDEer och HBCDD, men analysen är olika. För PCB och pesticider använder man GC-ECD och för BDEer och HBCDD använder man GC-MS med negativ kemisk jonisation [12]. Analys av dioxiner och plana PCB följer i stort sett samma provbearbetning men kräver några ytterligare steg av upprening följt av masspektrometrisk analys beskriven i referens [1].

Metaller som analyseras inom det nationella övervakningsprogrammet är Hg, Pb, Cd, Ni, Cr, Cu, Zn, As, Sn, Se och Ag.

Den rekommenderade analysmetoden för kvicksilver finns i referens [8] och [9] och metoden för andra metaller i referens [7].

Det kan vara av stort värde att insamlat material sparas i Naturhistoriska riksmuseets miljöprovbanks. Diskutera gärna med någon av författarna som listas i slutet av dokumentet.

Följande åtgärder bör vidtagas om äggen ska sparas i provbanken:

- Proverna förpackas individuellt i uppmärkta plastpåsar av fryskvalité
- Så snart som möjligt efter insamling skall dessa förvaras i kyla för att förhindra förruttning och ägginnehållet djupfrysas (20-30 minusgrader) efter urblåsning

- För transport och förvaring se bilaga 1 och 2.

**Fältprotokoll**

Lokalbeskrivning:	lokalnamn position med koordinater län kommun
Insamling:	information om redskapstyp fångstdatum art antal övrig information
Insamlare, kontaktperson:	namn adress telefon ev. fax, ev. e-post

**Bakgrundsinformation**

Vid provberedning upprättas ett protokoll med stödvariabler enligt nedan:

Lokalbeskrivning:	plats län kommun fångstbeskrivning (metod, dödsdatum, ankomstdatum till lab)
Insamlare:	namn adress telefon ev. e-post
Dissektör:	namn
Provberedning:	accessionsnummer (unikt nr för ett objekt som förs till en samling) analysnummer (nr på ett prov som tas vid ett tillfälle för ett ändamål) art totalvikt längd bredd skalvikt skaltjocklek skalindex fosterlängd färg lukt

## konditionsstatus

Analyslaboratorium:       namn  
                                  adress  
                                  telefon  
                                  analysdatum  
                                  förvaring fram till analys

Stödvariabler från provberedningen (se ovan) samt parametrar från analys såsom fetthalt och torrhalt utgör viktig information för tolkning av resultat.

Information från annan miljöövervakning från samma undersökningsområde kan utgöra värdefulla komplement i samband med tolkningen av de egna resultaten.

## Kvalitetssäkring

Provinsamling, hantering, transport, preparering, provberedning och analysverksamhet ska genomföras enligt utvecklade och dokumenterade rutiner för kvalitetssäkring [1, 10, 22]. Det krävs att inblandade laboratorier är ackrediterade och regelbundet deltar i provningsjämförelser. Uppgifter om analysmetoder och modifieringar av dessa registreras tillsammans med mätdata. Övriga praktiska instruktioner framgår av provtagningsmetodiken i bilaga 2.

## Databehandling, datavärd

Halten av organiska miljögifter relateras till fettinnehållet. Värderna lagras uttryckta på färskvikts- eller fettviktsbasis i databasen (se tabell 2). För alla organiska ämnen anges även provets fetthalt (med undantag för perfluorerade ämnen). För Hg lagras data uttryckt i färskvikt medan data för övriga metaller lagras som torrsvikt. Utöver uppgifter som framgår av tabellen anges använda analysmetoder (exempelvis SIS-standarder) och eventuella modifieringar av dessa metoder. Dessutom ska det tydligt framgå om mindre-än-värden (<) avser detektionsgräns eller kvantifieringsgräns.

Kvalitetssäkrade data bör rapporteras till nationell datavärd som är IVL Svenska Miljöinstitutet AB.

En förteckning över datavärdar finns att hitta på Naturvårdsverkets webbplats på

<http://www.naturvardsverket.se/Stod-i-miljoarbetet/Vagledning/Miljoovervakning/Miljodata/>

## Rapportering, utvärdering

Resultat bör redovisas årligen. Referens [1] visar ett exempel på en årsrapport från det nationella miljöövervakningsprogrammet. I görligaste mån ska också resultaten jämföras med och utvärderas tillsammans med resultat från andra undersökningar i området.

Resultaten kan användas för uppföljning av EU:s havsmiljödirektiv samt miljömålen *Giftfri miljö* och *Hav i balans samt levande kust och skärgård*.

## Kostnadsuppskattning

### **Fasta kostnader**

Kostnaden för insamling av ägg från en provtagningslokal varierar stort mellan olika lokaler. Kostnaderna påverkas i stor utsträckning av tillgängligheten av undersökningsområdet och om utomstående provtagare måste tas in. Kostnaden av insamling av ägg från en lokal uppskattas till mellan 10 000 och 15 000 kr.

Kostnader för provberedning inklusive accessionsföring i provbank beräknas till 450/prov.

### **Analyskostnader**

Ofta analyseras liknande ämnen tillsammans och de priser som presenteras nedan är paketpriser från år 2014, de ämnen som vanligtvis ingår står skrivna inom parentes.

<i>Analys av</i>	<i>kr/prov</i>
Metaller (Pb, Cd, Ni, Cr, Cu, Zn, Hg, As, Ag, Sn, Se)	1 600
Klorerade ämnen (PCB (7 kongener), DDE, DDD, DDT, $\alpha$ -, $\beta$ -, $\gamma$ -HCH och HCB)	3 100 – 4 200
Bromerade ämnen (PBDE (4-6 brom) samt HBCD)	3 600 - 4 700
Dioxiner (dioxiner, dibensofuraner, dioxinlika PCB:er (dioxinlika PCB saknar kloratomer i de fyra positionerna närmast bindningen mellan bensenringarna och är lika dioxiner i sin struktur)	10 000
PFAS (perfluorerade karboxylater (PFCAs) och perfluorerade sulfonater (PFSAs),	4 000

## Författare och övriga kontaktpersoner

*Programområdesansvarig* vid Naturvårdsverket:

Tove Lundeberg

Avdelningen för analys och forskning

Enheten för farliga ämnen och avfall

Naturvårdsverket

106 48 Stockholm

Tel: 010-698 16 11

E-post: [tove.lundeberg@naturvardsverket.se](mailto:tove.lundeberg@naturvardsverket.se)

*Författare:*

Elisabeth Nyberg

Enheten för miljöforskning och övervakning

Naturhistoriska Riksmuseet

*Handledning för miljöövervakning  
Undersökningstyp*

Box 500 07  
114 18 Stockholm  
Tel: 08-519 542 83  
E-post: elisabeth.nyberg@nrm.se

Anders Bignert  
Enheten för miljöforskning och övervakning  
Naturhistoriska Riksmuseet  
Box 500 07  
104 05 Stockholm  
Tel: 08-519 541 15  
E-post: anders.bignert@nrm.se

Sara Danielsson  
Enheten för miljöforskning och övervakning  
Naturhistoriska Riksmuseet  
Box 500 07  
104 05 Stockholm  
Tel: 08-519 540 23  
E-post: sara.danielsson@nrm.se

#### *Övriga kontaktpersoner:*

ITM (analys av PCB, OCP (samlingsnamn för klorerade pesticider), PBDE, och HBCD)  
Cynthia de Wit  
Tel 08-674 71 80  
E-post: cynthia.de.wit@itm.su.se

ITM (analys av PFC)  
Tomas Alsberg  
Tel. 08- 674 71 70  
E-post: tomas.alsberg@itm.su.se

Inst för Miljökemi, Umeå Universitet (analys av dioxiner och dioxinlika PCB:er)  
Peter Haglund  
Tel: 090 786 66 67  
E-post: peter.haglund@chem.umu.se

ITM (analys av metaller)  
Hans Borg  
Tel. 08-674 72 50  
E-post: hans.borg@itm.su.se

## **Referenser**

### **Metodreferenslista**

1. Bignert A., Dahlgren H., Danielsson S., Faxneld S., Kylberg E., Nyberg E., Vasileiou M., Öhlund Stavely J., 2014. Comments concerning the National Swedish Contaminant



- Monitoring Program in Marine Biota, 2014. Sakrapport till Naturvårdsverket nr 1:2013, 267 pp.
2. Bignert, A. 2002. The power of ICES contaminant trend monitoring. *ICES Marine Science Symposia*, 215: 195-201.
  3. Bignert, A., Göthberg, A., Jensen, S., Litzén, K., Odsjö, T., Olsson, M. och Reutergårdh, L. 1993. The need for adequate biological sampling in ecotoxicological investigations: a retrospective study of twenty years pollution monitoring. *The science of the total environment* 128 (1993) 121-139.
  4. Bignert, A., Riget, F, Braune, B., Outridge, P., Wilson, S. 2004. Recent temporal trend monitoring of mercury in Arctic biota – how powerful are the existing datasets? *J. Environ. Monit*, 6, 351 – 355.
  5. Eriksson, U., Häggberg, L., Kärsrud A-S., Litzén, K., Asplund L. 2003: Analytical method for determination of chlorinated organic contaminants in biological matrices. Department of Environmental Science, Stockholm University. ITM rapport 59.
  6. Borg, H., Edin, A., Holm, K., Sköld, E. 1981. Determination of metals in fish livers by flameless atomic absorption spectroscopy. *Water research* Vol.15. pp.1291-1295.
  7. May, K. and Stoepler, M. 1984. Pretreatment studies with biological and environmental materials. *Fresenius J. Anal. Chem* 317:248-251.
  8. Lindsted, G. and Skare, I. 1971. Microdetermination of mercury in biological samples. *Analyst*, Vol.96, pp. 223-229.
  9. Nordic environmental specimen banking : methods in use in ESB : manual for the Nordic countries. TemaNord 1995:543. Copenhagen : Nordiska Ministerrådet.
  10. Powley CR., Buck RC. 2005. Matrix-effect free analytical methods for determination of perfluorinated carboxylic acids in biological samples. Poster presented at the Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC), 15th Annual Meeting of SETAC Europe, Lille, France, May 22–26, 2005.
  11. Sellström, U., Bignert, A., Kirkegaard, A., Häggberg, L., de Wit, C.A., Olsson, M., Jansson, B. 2003. Temporal Trend Studies on Tetra- and Pentabrominated Diphenyl Ethers and Hexabromocyclododecane in Guillemot Egg from the Baltic Sea. *Environmental Science and Technology* 37. pp. 5496-5501.

### **Rekommenderad litteratur**

12. Bignert, A., Nyberg, E., Asplund, L., Berger, U., Eriksson, U., Holmström, K., Wilander, A., Haglund, P. 2007. Miljögifter– klassgränser att diskutera. *i: Havet : om miljötilståndet i svenska havsområden*, 2007. Stockholm, Naturvårdsverket 2007, s. 72-76.
13. Bignert, A., Nyberg, E. 2006. Underlag för dimensionering av nationell miljögiftsövervakning i kust och hav : sakrapport. Naturhistoriska riksmuseet. 14 pp. <http://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:658088/FULLTEXT01.pdf>
14. Bignert, A., Olsson, M., Persson, W., Jensen, S., Zakrisson, S., Litzén, K., Eriksson, U., Häggberg, L. and Alsberg, T. 1998. Temporal trends of organochlorines in Northern

- Europe, 1967-1995. Relation to global fractionation, leakage from sediments and international measures. *Environmental Pollution* 99:177-198.
15. HELCOM, 2001. Manual for marine monitoring in the Combine Programme of HELCOM. Updated 2014.  
<http://helcom.fi/Lists/Publications/Manual%20for%20Marine%20Monitoring%20in%20the%20COMBINE%20Programme%20of%20HELCOM.pdf>
  16. OSPAR Commission 1999. JAMP guidelines for monitoring contaminants in biota. OSPAR Commission. Monitoring guidelines 1999-2.  
[http://www.ospar.org/content/content.asp?menu=00900301400135\\_000000\\_000000](http://www.ospar.org/content/content.asp?menu=00900301400135_000000_000000).
  17. Sandström, O., Larsson, Å., Andersson, J., Appelberg, M., Bignert, A., Ek, H., Förlin, L., Olsson, M. 2005. Integrated fish monitoring in Sweden. *Water Quality Research Journal of Canada*. Volume 40, No. 3.
  18. Bignert, A. 2008. Some consequences using pooled samples versus individual samples and pooled samples with various relation between sampling error and uncertainty due to chemical analysis. Swedish Museum of Natural History. <http://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:657968/FULLTEXT01.pdf>
  19. Bignert A., U. Eriksson, E. Nyberg, A. Miller, and S. Danielsson. 2014. Consequences of using pooled versus individual samples for designing environmental monitoring sampling strategies. *Chemosphere* 94, 177-182.
  20. van Leeuwen S., Kärrman A., Zammit A., van Bavel B., van der Veen I., Kwadijk C., de Boer J. Lindstöm, G. 2005. 1st worldwide interlaboratory study on perfluorinated compounds in human and environmental matrices. Report August 11, 2005. Netherlands Institute for Fisheries Research (ASG-RIVO), IJmuiden, The Netherlands, 2005.
  21. SMNH (Swedish Museum of Natural History). 2012. Manual for collection, preparation and storage of fish. Available at:  
<http://www.nrm.se/download/18.9ff3752132fdaeccb6800029077/1367705573979/Fiskhandbok+1.0.pdf>
  - 22.

## Uppdateringar, versionshantering

Version 1:0, 2009-03-31. Ny undersökningstyp.

Version 1:1, 2014-09-15. Uppdatering referenser samt text.

## Bilaga 1. Provtagningsmetodik

### Ägg av sillgrissla

För övervakning av miljögifter i Egentliga Östersjön har ägg av sillgrissla visat sig vara en mycket användbar matris. Sillgrisslan hämtar sin föda bestående av fisk i det öppna havet och integrerar på ett ändamålsenligt sätt föroreningsbilderna i det område den representerar.

**Insamlingsområden:** Insamling av ägg av sillgrissla kan endast ske i de områden där sillgrisslan häckar i tillräckligt stora kolonier för att tåla insamling. Insamling av sillgrissleägg i Östersjön är förlagd till Stora Karlsö utanför Gotland och till Bonden i Norra Kvarken i Bottenhavet. Vid Bonden samlas endast rötägg in de år det finns tillgång.

**Insamlingstillfälle:** Ägg insamlas årligen. Äggen insamlas så snart som möjligt efter att läggningen är avslutad och ej senare än 14 dagar efter det att första äggen lagts i kolonien. Ett ägg per bo insamlas (sillgrisslan lägger vanligtvis bara ett ägg per häckning)

**Insamlade prover:** Inom den nationella miljöövervakningen insamlas normalt 20 ägg för kemisk analys och för förvaring av prover i miljöprovbänk. Det är viktigt att iakttagelser och noteringar om äggläggning sker i tid så att inte eventuella ägg som lagts som ersättning (omläggningssägg) till förlorat ägg insamlas.

**Insamlingsteknik:** Insamlingen skall ske med iakttagande av följande punkter:

- äggen skall utväljas så att läggningsdatum är känt;
- äggens identifieringsnummer skall noteras på en blankett där även namn på arten, insamlingsplats, insamlingsdatum, samt insamlarens namn och adress anges;
- äggen skall efter insamlingen placeras i kylskåp så snart möjligt och förvaras där tills de transporteras till laboratorium;

**Tillstånd:** Tillstånd att insamla ägg måste inhämtas från Naturvårdsverket.

**Transport:** Äggen skall före transport förpackas omsorgsfullt så att de inte skadas under transporten. Varje ägg skall läggas separat i en sluten plastpåse av polyetylen för att samla upp eventuellt utrunnet ägginnehåll. Därefter placeras äggen i en stötsäker låda av trä eller plast, väl åtskilda från varandra med mjukt, stötuppfångande material. Äggen får inte ligga så tätt intill varandra att de kan stöta sönder varandra om lådan utsätts för kraftiga stötar. Det rekommenderas att speciallådor tillverkas för ändamålet. Äggen skall ej frysas före eller under transport då risken är stor att skalorna spricker.

## Bilaga 2. Tillvaratagande av prov

### Ägg av sillgrissla:

Då det insamlade äggmaterialet anländer till laboratoriet vidtas en första inspektion av samtliga ägg för att kontrollera att skalene inte är skadade samt att äggen är riktigt artbestämda i fält.

**Registrering:** I samband med inspektion registreras varje ägg och ges ett individuellt accessionsnummer. På accessionsblanketten antecknas även:

- art;
- insamlingsplats (namn, latitud, longitud);
- koordinater alternativt stationsnamn eller områdesnamn om platsen är registrerat i stationsregister;
- insamlingsdatum;
- antal ägg i provomgången från insamlingsplatsen;
- oregelbundenheter och onormala tillstånd;
- insamlarens namn, adress och ev. institutionstillhörighet;
- biologiska parametrar (enligt nedan och under *Variabler*).

**Preparering:** Om nödvändigt rengörs äggskalet i ljummet vatten för prepareringen. Helst skall destillerat eller avjoniserat vatten användas för att inte skada skalets mikrostruktur. Längd och bredd mäts med skjutmått. Ägget vägs med innehåll. Samtliga data noteras på accessions-blanketten.

Ett hål (diameter ca 3 mm) borrar på skalets ekvator. Därefter införs ett tunt blåsrör i hålet och ägginnehållet blåses ur ägget ner i en specialdiskad glasbägare. Blåsrören tillverkas av glaspipetter som över en gaslåga böjs i 90° vinkel i den tunna änden. Vid urblåsningen hålls ägget med hålet nedåt över bägaren varvid det flytande ägginnehållet rinner ner i bägaren när luft blåses in i skalet. Ägginnehållet vägs och homogeniseras därefter i glasbägaren med hjälp av en elektrisk homogenisator (Ultra Turrax). Om ägget eventuellt innehåller ett embryo sågas en minimal fyrkantig öppning i skalet varefter embryot tas ut med pincett. Embryot vägs och längden mäts ("crown-tail"). Eventuellt embryo och flytande ägginnehåll förvaras åtskilt. En avpassad mängd prov tas ut för analys, varefter resten omedelbart fryses för vidare lagring i provbank. Embryot förpackas i aluminium/polyetylenlaminat, som försluts lufttätt kring embryot. Det flytande, homogeniserade ägginnehållet hålls på specialdiskade glasburkar. Burköppningen täcks med aluminiumfolie och burken försluts med lock av polyetylen. Proverna märks med accessionsnummer, fryses snarast och förvaras frysta i provbank för kommande ändamål.

Det urblåsta äggskalet sköljs invändigt med vatten tills det är fritt från rester av innehållet och märks med accessionsnummer. Därefter lämnas skalet att torka i rumstemperatur tills skalvikten visar sig vara konstant. Äggskalets konstanta vikt noteras i protokollet. Äggskalstjockleken inklusive skalhinnorna mäts runt blåsningshålet med hjälp av en för ändamålet speciellt konstruerad mikrometer.

## **Förvaring**

### **Ägg av sillgrissla:**

Homogenat av ägginnehållet (gula och vita) hålls i specialdiskade glasburkar, som försluts med aluminiumfolie och plastlock och förvaras etiketterade med accessionsnummer för identifiering i frysbox vid  $-20\text{ °C}$ . Eventuellt embryo förvaras separat och etiketterat med accessionsnummer, inpackat i difussionstät laminat av aluminium/polyetylen.

Homogenat av sillgrissleägg ( $10 \times 40\text{ g}$  per år) ompackas individuellt i laboratoriet i glasburkar, märks individuellt med innehåll och accessionsnummer och överförs till lågtemperaturfrys ( $-80\text{ °C}$ ).

### **Variabler**

Ägg: Totalvikt, längd, bredd, skalvikt, skaltjocklek, skalindex, fosterlängd, fostervikt, färg, lukt, konditionsstatus