

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 skall 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 det 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 skall analys av 40 individer vara tillräckligt för att det interpolerade värdet av 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 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 och 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 på västkusten och havssalladssnäcken *Hydrobia ulvae* utmed östkusten upp till Stockholmsområdet.

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 havssalladssnäcken *Hydrobia 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 *H. 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 tex 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.

En annan variabel som kan mätas hos *Nassarius nitidus* och *Hydrobia 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>Hydrobia ulvae</i>	Aggkapslar, Förekomst	ja/nej					
			Parasitangrepp	%					
		<i>Nassarius nitidus</i>	Skal, höjd	mm		1	1 ggr/år i sept-okt för <i>N.nitidus</i> och juli-aug för <i>H.ulvae</i>	Denna undersökningstyp, bilaga 1, bilaga 2 och bilaga 3.	<i>Nassarius nitidus</i> : Stroben <i>et al.</i> 1992 <i>Hydrobia ulvae</i> : Schulte-Oehlmann, <i>et al.</i> , 1997
			alternativt	Kön	hane/hona				
		<i>Hydrobia ulvae</i>	VDS ¹ -stadium	Fem klasser (0-4) för <i>N. nitidus</i> och 10 klasser (0-9) för <i>H.ulvae</i>		1			
			Penis, längd	mm		1			
			Vas deferens, längd	mm		2			
			Skal, höjd	mm		1			
			VDSI ² (medelvärdet av honornas VDS-stadiier)			1			
			Honor, Penislängd	mm	Medelvärdet	1			
			Hanar, Penislängd	mm		1			
			Vas deferens, Längd	mm		2			
		RPLI ³							
		<i>Nassarius nitidus</i>	TBT-halt ⁴	µg/kg		1	1 ggr/år i sept-okt för <i>N.nitidus</i> och juli-aug för <i>H.ulvae</i> . För <i>Hydrobia ulvae</i> se kommentar ⁵	Tesfalidet 2004 (ref 5).	
			alternativt	DBT-halt	µg/kg				1
	<i>Hydrobia ulvae</i>	MBT-halt	µg/kg	Samlingsprov	1				
		TPhT-halt	µg/kg		1				
		DphT-halt	µg/kg		1				
		MPhT-halt	µg/kg		1				

¹ Vas deferens sequence

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

³ RPLI = (medelvärde av honornas penislängd) / (medelvärde av hanarnas penislängd)

⁴ Halterna av de organiska tennföreningarna anges som halterna av respektive katjon ($(C_4H_9)_3Sn^+$ o.s.v.)

⁵ 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 *Hydrobia ulvae* för en kemisk analys, upp åt ett tusental. Eftersom livslängden på *Hydrobia 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 *Hydrobia 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 skall 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 skall 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 skall 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. Ta inte hem alla snäckor utan gör ett urval på ca 60-70 jämnstora individer på plats och släng tillbaka övriga vid respektive fångstplats. Det kan också vara en bra idé att notera tidsåtgång vid varje station för nästkommande års planering.

*Fältnoment *Hydrobia ulvae**

Insamlingen av *Hydrobia 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 100 djur 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 skall 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 (ca 15-25 mm för *Nassarius nitidus* och ca 4-5 mm för *Hydrobia ulvae*. För att uppnå muskelrelaxering (avslappning) hos nätsnäckorna sövs de i 7 % lösning av magnesiumklorid ($MgCl_2$) i ca 20-30 minuter före analys (*Hydrobia ulvae* 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 *Hydrobia ulvae*. Analys av imposex hos nätsnäckor utförs enligt Stroben et al. 1992 och för *Hydrobia 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 skall 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. Om möjligt bör proverna frystorkas i ca 48 timmar innan de skickas till analys. De frystorkade snäckorna mals till ett fint mjöl. Därefter sker extraktion med Br och tropolon i diklormetan för att möjliggöra analys med GC-ICP-MS (Tesfalidet, 2004). Som internstandard används trietyltenn och haltbestämning görs med hjälp av en extern standardkalibreringskurva. För att kvalitetssäkra analyserna användes ett certifierat referensmaterial, till exempel BCR 710 (ostronvävnad).

Olika kemiska analysmetoder används vid olika laboratorier och resultaten kan skilja sig en hel del. För att resultaten från år till år skall vara jämförbara är det av stor vikt att om möjligt använda sig av samma metodik och laboratorium. Vid byte av laboratorium bör det eftersträvas att samma 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 skall 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.

För att även kvalitén på de kemiska analyserna skall vara hög skall laboratoriet som utför de kemiska analyserna delta kontinuerligt i interkalibreringsövningar som numera sker inom ramen för QUASIMEME. Olika kemiska analysmetoder används vid olika laboratorier och resultaten kan skilja sig en hel del. För att resultaten från år till år skall 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 datavärd. En förteckning över datavärddar finns att hitta på Naturvårdsverkets webbplats under adressen <http://www.naturvardsverket.se/tillstandet-i-miljon/miljoovervakning/miljoovervakningsdata/>. Vid oklarheter kan datavärdsansvarig på Naturvårdsverket kontaktas: datavardsansvarig@naturvardsverket.se

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 framförallt medelvärden, och hur stor procent av honorna som är påverkade. Dessa siffror redovisas för varje enskild station och används för att beräkna indexen VDSI och RPLI. Data redovisas dels i tabellform för varje station och provtagningstillfälle dels 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. Argumentationen om resultatens tillförlitlighet inkluderar kringinformation om sådan finns och kan styrka slutsatserna. Om kopplingar till miljökvalitetsmål, miljökvalitetsnormer, kritiska belastningsgränser, bedömningsgrunder etc. kan göras skall dessa ingå i redovisningen.

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, övernattninng samt hyra av båt och eventuellt bil.

Analyskostnader

Kostnaden för vävnadsanalys av tributyltenn (TBT) och trifenylyltenn (TPhT) samt deras nedbrytningsprodukter dibutyltenn (DBT), monobutyltenn (MBT), difenylyltenn (DPhT) och monofenylyltenn (MPhT) per prov vid kommersiella laboratorier är ca 3000-4000 kr. Inom det nationella övervakningsprogrammet anlitas institutionen för Analytisk kemi vid Umeå universitet. Priset per prov uppgick år 2007 till 2300 kr/prov.

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 *Hydrobia 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. Vidare är det också viktigt att använda sig av personal med erfarenhet av denna typ av analys.

Författare och övriga kontaktpersoner

Programområdesansvarig, Naturvårdsverket:

Tove Lundeberg
Miljöövervakningsenheten
Naturvårdsverket
106 48 Stockholm
Tel: 08-698 16 11
E-post: tove.lundeberg@naturvardsverket.se

Författare och expert:

Marina Magnusson
Marine Monitoring vid Kristineberg AB
Kristineberg 566
450 34 Fiskebäckskil
Tel: 0523-185 60
E-post: marina@marine-monitoring.se

Expert:

Docent Åke Granmo
Institutionen för marin ekologi
Göteborgs universitet
Kristineberg 566
450 34 Fiskebäckskil
Tel: 0523-185 34
E-post: ake.granmo@marecol.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. Tesfalidet, S., 2004, Screening of organotin compounds in the Swedish environment. http://www.naturvardsverket.se/upload/02_tillstandet_i_miljon/Miljoovervakning/rapporter/miljogift/organotenn.pdf

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., 2003 a: Organiska tennföreningar i svenska havssediment – ett förbiset miljöproblem. *Havsmiljön 2003*, 12-13.
10. 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.
11. Cato, I., 2005: Organiska tennföreningar – ett miljöproblem i svenska kust- och havsområden. SGU-rapport 2005:7, 5-7.
12. 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.
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. SGU-rapport 2005:25, 28 pp.

14. 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.
15. 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.
16. Cato, I., Gönczi, M., Jonsson, P. & Sandkvist, Å. 2002: Sedimentundersökningar i Muskö- och Horssfjärdsområdet. SGU-rapport 2002:16, 67 p.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. Granmo, Å., R. Ekelund, J-A. Snelli, 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
21. 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.
22. Joosse, J. & Geraerts, W. P. M. 1983. *Endocrinology in: The Mollusca. Vol. 4, Physiology*, P. 1. New York, Academic Press, pp 317-406.
23. 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 dolphin (*Tursiops truncatus*) found stranded along the U.S. Atlantic and Gulf coasts. *Environ Sci. Technol.*, 31, 296- 301.
24. 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
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. Magnusson, M & Granmo, Å., 2003. Investigation of Imposex on the Swedish west coast using *Nassarius reticulatus* as a bioindicator species. Kristineberg Marine Research Station
http://www.naturvardsverket.se/upload/02_tillstandet_i_miljon/Miljoovervakning/rapporter/hav/2004.Imposex.pdf
27. Magnusson, M., Borgegren, A., & Granmo, Å., 2005 Investigation of Imposex on the Swedish west coast using *Nassarius nitidus* as a bioindicator species. Kristinebergs Marina Forskningsstation.
http://www.naturvardsverket.se/upload/02_tillstandet_i_miljon/Miljoovervakning/rapporter/hav/2005.tennforeningar_i_natsnackan_2004_alt.pdf
28. Magnusson, M., Borgegren, A., Granmo, Å., & Cato, I., 2005. Eventuellt samband mellan halten tennföreningar i vävnaden hos nätsnäckan *Nassarius nitidus* och halten tennföreningar i sedimentet. Kristinebergs Marina Forskningsstation.
http://www.naturvardsverket.se/upload/02_tillstandet_i_miljon/Miljoovervakning/rapporter/hav/2005.tennforeningar_i_natsnackan_2004_alt.pdf
29. Matthiessen P and Gibbs, P. 1998. Critical appraisal of the evidence for tributyltin mediated endocrine disruption in molluscs. *Environ Toxicol Chem*, 17, 37-43.
30. 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.
31. 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..
32. OSPAR Commission 2003, Technical Annex. 3. TBT-specific biological effects monitoring. *in: JAMP Guidelines for contaminant-specific biological effects monitoring* .OSPAR Commission, Ref No 2003-10, pp. 25-32
<http://www.ospar.org/asp/ospar/download.asp?ftp=%5C%5Cserver%5Corg%5Cdbase%5Cdecrecs%5Cagreements%5C03%2D10e%7E1%2Edoc&function=4>
33. OSPAR Commission 2004 Provisional JAMP Assessment Criteria for TBT – Specific Biological Effects, Ref No: 2004-15-E
34. 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
35. STF 1997 Miljøsmål for vannforekomstene: Nyttevurdering av å opprettholde eller forbedre miljøkvalitet. SFT 1997 - 196 s. – SFT-Rapport 97:36 - Bestillingsnr.: TA-1503.
36. 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
37. 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.

38. 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.
39. 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.
40. Van, D. N., S. R. K. Muppala, W. Frech and S. Tesfalidet Preparation, preservation and application of pure isotope-enriched phenyltin species. Analytical and Bioanalytical Chemistry: 2006 386:1505-1513
41. 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

Ersatt 2015

Bilaga 1: Utrustningslista

Fältnoment 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 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 äggkaplar
Övrigt

Ersatt 2015

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	