

Undersøkelser av imposex og intersex i marine snegler i Vikkilen ved Grimstad i perioden 2005-2012

Foto: Lise Tveiten, NIVA



Strandsnegl
(*Littorina littorea*)



Nettsnegl
(*Nassarius reticulatus*)



Purpursnegl
(*Nucella lapillus*)

RAPPORT

Hovedkontor

Gaustadalléen 21
0349 Oslo
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 22 18 52 00
Internett: www.niva.no

Sørlandsavdelingen

Jon Lilletuns vei 3
4879 Grimstad
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 37 04 45 13

Østlandsavdelingen

Sandvikaveien 59
2312 Ottestad
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 62 57 66 53

Vestlandsavdelingen

Thormøhlensgate 53 D
5006 Bergen
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 55 31 22 14

NIVA Midt-Norge

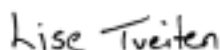
Pirsenteret, Havnegata 9
Postboks 1266
7462 Trondheim
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 73 54 63 87

Tittel Undersøkelser av imposex og intersex i marine snegler i Vikkilen ved Grimstad i perioden 2005-2012	Løpenr. (for bestilling) 6447-2012	Dato 15. desember 2012
	Prosjektnr. Undernr. 11402/11391	Sider Pris 30
Forfatter(e) Lise Tveiten, Merete Schøyen og Torgeir Bakke	Fagområde Marine miljøgifter	Distribusjon
	Geografisk område Aust-Agder	Trykket NIVA

Oppdragsgiver(e) NIVA og AS Nymo	Oppdragsreferanse
-------------------------------------	-------------------

<p>Sammendrag</p> <p>Tributyltinn (TBT) har vært brukt som begroingshindrende tilsetning i skipsmaling siden 1960-tallet. TBT er meget giftig overfor en rekke arter og kan forårsake hormonhermende effekter hos marine snegler i form av kjønnsforstyrrelser. Disse kalles imposex hos nettsnegl og purpurnegl og intersex hos strandsnegl. Sedimentene i Vikkilen ved Grimstad er forurenset med høye TBT-konsentrasjoner. Undersøkelser av intersex hos strandsnegl i 2005 viste klare hormonforstyrrende effekter. Her rapporteres oppfølgende undersøkelser som i tillegg inkluderer imposex hos nettsnegl og purpurnegl fram til 2012. Resultatene viser en entydig bedring av graden av kjønnsforstyrrelse hos både strandsnegl og nettsnegl i perioden 2005 til 2012. Undersøkelsen viste likevel en klart økende kjønnsforstyrrelse innover i kilen og høyest nærmest AS Nymo. Resultatene viser at strandsnegl, som lever på fjellbunn, har raskere forbedring enn nettsnegl, som lever i sedimentet. Det ble ikke funnet tegn til imposex hos purpurnegl i fjordområdet utenfor Vikkilen i 2011. Strandsnegl og nettsnegl bør overvåkes videre for å undersøke hvor mye lengre tid nettsnegl trenger på å bli friskmeldt i forhold til strandsnegl.</p>

<p>Fire norske emneord</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Tributyltinn 2. Imposex 3. Intersex 4. Snegl 	<p>Fire engelske emneord</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Tributyltin 2. Imposex 3. Intersex 4. Marine snails
---	--



Lise Tveiten
Prosjektleder



Mats Walday
Forskningsleder



Kristoffer Næs
Forskningsdirektør

**Undersøkelser av imposex og intersex i marine
snegler i Vikkilen ved Grimstad i perioden
2005-2012**

Forord

Denne undersøkelsen ble initiert og finansiert av NIVA for å følge utviklingen av intersex hos strandsnegl og imposex hos nettsnegl i perioden 2005-2012 i et TBT-forurensset område. I undersøkelsesperioden som omfattet målinger i 2005, 2008 og 2011 ble prosjektet også knyttet til og delfinansiert under AS Nymos miljøundersøkelser i Vikkilen ved Grimstad.

Prosjektleder for denne undersøkelsen har vært Lise Tveiten, som sammen med Merete Schøyen og Torgeir Bakke, har forfattet rapporten.

Feltarbeidet og analyser av imposex og intersex i marine snegler er gjort av Lise Tveiten og de kjemiske analysene av TBT-innholdet er utført av Eurofins.

Grimstad, 15. desember 2012

Lise Tveiten

Innhold

	1
Sammendrag	5
Summary	6
1. Innledning	7
1.1 Bakgrunn og formål	7
1.2 Tidligere undersøkelser	7
2. Materiale og metoder	9
2.1 Innsamling og håndtering av prøver	9
2.2 Analyse av snegl	10
2.2.1 Strandsnegl	10
2.2.2 Nettsnegl	13
2.2.3 Purpursnegl	14
2.3 Kvalitetskontroll	15
3. Resultater og diskusjon	16
3.1 Strandsnegl	16
3.2 Nettsnegl	17
3.3 Purpursnegl	19
3.4 Sediment	21
4. Konklusjon	22
5. Referanser	23
6. Vedlegg	25

Sammendrag

Tributyltinn (TBT) har vært brukt som begroingshindrende tilsetning i skipsmaling siden 1960-tallet. TBT er meget giftig overfor en rekke arter og har klare hormonhermende effekter på enkelte arter av snegl. Det er utviklet internasjonale metoder for tilstandsklassifisering av disse effektene og de kalles imposex og intersex. Strandsnegl (*Littorina littorea*) utvikler intersex mens nettsnegl (*Nassarius reticulatus*) og purpursnegl (*Nucella lapillus*) utvikler imposex.

TBT brytes svært langsomt ned og er fortsatt et alvorlig miljøproblem. Siden 1989 har det i Norge vært forbudt å bruke TBT-holdig bunnstoff på båter mindre enn 25 m. Fra 2003 ble det også forbudt for båter større enn 25 m og fra 2008 ble tilstedeværelse av slike bunnstoffer som ytterlag på skip forbudt.

I Vikkilen ved Grimstad har det vært drevet skipsbygging siden 1750-årene og området var landets viktigste skipsbyggingsområde i lang tid. AS Nymo ble etablert i 1946 og fikk flytende dokk i 1963 hvor sandblåsing og påføring av bunnstoff ble en viktig aktivitet. På grunn av TBT-holdig skipsmaling ble AS Nymo en kilde til TBT-forurensning i Vikkilen.

Sedimentene i Vikkilen er forurenset med høye TBT-konsentrasjoner. En sedimentundersøkelse i Vikkilen i 2005 (Næs mfl. 2005) viste at hele Vikkilen var meget sterkt forurenset av TBT. Det ble samtidig gjort intersex-bestemmelser av strandsnegl som viste klare hormonforstyrrende effekter. Siden 2005 er det blitt samlet inn strandsnegl, nettsnegl og purpursnegl fra stasjoner i Vikkilen og fjordområdet utenfor. De foreliggende resultatene fra Vikkilen viste en entydig bedring av tilstanden med hensyn til kjønnsforstyrrelse hos både strandsnegl og nettsnegl fra målingene startet i 2005 og frem til 2012. Undersøkelsene viste likevel fortsatt en klart høy kjønnsforstyrrelse innover i kilen og høyest nærmest AS Nymo. Ved undersøkelsen i 2005 var 99 % av strandsneglene helt inne ved AS Nymo sterile (Næs mfl. 2005). I 2012 var dette redusert til 20 %. Lenger unna, som ved båthavnen innerst i Vikkilen og ute ved Båttø (hhv 500 og 100 m fra AS Nymo), er alle nå nesten helt friske. Nettsnegl, som er langt mer følsom for TBT enn strandsnegl, viste også en positiv utvikling over tid. Ved kontrollstasjonen Håøya utenfor Vikkilen var purpursnegl i 2005 nesten sterile (imposex stadium 3-4). I 2011 ble det ikke funnet tegn til imposex hos purpursnegl ved Håøya.

Resultatene viste også at strandsnegl som lever på fjellbunn, har raskere forbedring enn nettsnegl, som lever i sedimentet. Dette er å forvente siden strandsnegl er mindre følsom for TBT og i dag bare eksponeres for TBT som lekker ut fra sedimentet, mens nettsnegl er en meget følsom art og samtidig eksponeres direkte fra sedimentet hvor den lever. Man må regne med at nettsnegl vil være påvirket av TBT i flere år selv om opprinnelig kilde til forurensning er borte.

Summary

Title: Investigations of imposex and intersex in marine snails in Vikkilen in Grimstad in the period 2005–2012.

Year: 2012.

Authors: Lise Tveiten, Merete Schøyen and Torgeir Bakke.

Source: Norwegian Institute for Water Research (NIVA), ISBN No.: 978-82-577-6182-0.

Tributyltin (TBT) is among the most toxic substances that have been introduced into the marine environment. It has been used in antifouling paint since the 1960s. It prevents the growth of algae, barnacles and other marine organisms on the ship's hull. TBT leak from the paint and enters the marine environment. TBT is highly toxic to many species and is also classified as toxic to humans.

Organotin is toxic at extremely low concentrations and has been shown to interfere with the biological processes in a diverse range of species. It has been found to bioaccumulate in whales and other sea mammals and disrupt the endocrine system of a range of invertebrates leading to sterility and death.

TBT produce endocrine disruption and international methods have been developed for the classification of endocrine condition of the snails. The biological effects are called imposex and intersex. The common periwinkle *Littorina littorea* develop intersex, while the mud snail *Nassarius reticulatus* and the dogwhelk *Nucella lapillus* develop imposex.

Norway has forbidden the use of TBT-containing antifouling on boats less than 25 m since 1989. From 2003 it became illegal to use TBT as antifouling on larger boats as well. After 2008, TBT antifouling was completely prohibited. This ban has shown a positive effect and led to a decline in cases of intersex and imposex along the Norwegian coast (Green *et al.* 2012).

Results from Vikkilen in Grimstad show a clear improvement from 2005 until 2012 in the imposex and intersex conditions of the snails.

1. Innledning

1.1 Bakgrunn og formål

Tributyltinn (TBT) har vært brukt som begroingshindrende tilsetning i skipsmaling siden 1960-tallet og er blant de giftigste stoffer som er introdusert til det marine miljøet. TBT er meget giftig overfor en rekke arter og er også klassifisert som giftig for mennesker. TBT påvirker immunforsvaret til fisk og sjøpattedyr. Eksempelvis får østers «immunrespons» med skallfortykning og andre muslinger får redusert vekst (Alzieu, 1991). Krepser får endret adferd (graving). Det er begrensede kunnskaper om TBT i fisk og lite kunnskap om eventuelle effekter på populasjoner.

TBT utvikler klare hormonhermende effekter hos enkelte arter av snegl og det er utviklet internasjonale metoder for tilstandsklassifisering av disse effektene (OSPAR 2004, 2009). De biologiske effektene kalles imposex og intersex. Strandsnegl (*Littorina littorea*) utvikler intersex mens nettsnegl (*Nassarius reticulatus*) og purpurnegl (*Nucella lapillus*) utvikler imposex.

TBT brytes svært langsomt ned og er fortsatt et alvorlig miljøproblem. Siden 1989 har det i Norge vært forbudt å bruke TBT-holdig bunnstoff på båter mindre enn 25 m. Fra 2003 ble det også forbudt for båter større enn 25 m og fra 2008 ble tilstedeværelse av slike bunnstoffer som ytterlag på skip forbudt. Forbudet har hatt en positiv virkning og viser en nedgang i tilfeller av imposex hos purpurnegl langs hele norskekysten (Green mfl. 2012).

I Vikkilen ved Grimstad har det vært drevet skipsbygging siden 1750-årene og området var landets viktigste skipsbyggingsområde i lang tid. AS Nymo ble etablert i 1946 og fikk flytende dokk i 1963 hvor sandblåsing og påføring av bunnstoff ble en viktig aktivitet. På grunn av TBT-holdig skipsmaling ble AS Nymo en kilde til TBT-forurensning i Vikkilen.

En sedimentundersøkelse i Vikkilen i 2005 (Næs mfl. 2005) viste at hele Vikkilen var meget sterkt forurenset av TBT og det ble samtidig gjort intersex-bestemmelser av strandsnegl som viste klare hormonforstyrrelser. Risikovurderinger av bunnsedimentene er utført i 2008 og 2011 (Bakke mfl. 2008 og 2012).

Hovedformålet med denne undersøkelsen har vært å få en oversikt over graden av skader som TBT har forårsaket og hvordan dette har utviklet seg over tid på de tre marine snegleartene strandsnegl (*Littorina littorea*), nettsnegl (*Nassarius reticulatus*, også tidligere kalt *Hinia reticulata*) og purpurnegl (*Nucella lapillus*) i Vikkilen ved Grimstad. I tillegg til å se på utvikling over tid, var det også interessant å se forskjeller mellom stasjoner i en gradient utover i Vikkilen. NIVA har derfor samlet inn snegl og sediment fra Vikkilen i perioden 2005-2012.

1.2 Tidligere undersøkelser

Tidligere undersøkelser fra NIVA (Berge mfl. 2006) har vist at hunner av nettsnegl som oppholdt seg på TBT-forurenset sediment utviklet hannlig kjønnskarakter (imposex) i løpet av en periode på 4 uker på grunn av den hormonforstyrrelsen som TBT gir. Nettsneglen lever delvis nede i sedimentet og eksponeres direkte for TBT i sediment og porevann. Det er vist at nettsnegl er langt mer følsom for TBT enn strandsnegl (Bauer mfl. 1997, Barroso mfl. 2000).

Strandsnegl er den vanligste marine sneglearten vi har, og den tåler høyere TBT-påvirkning enn de fleste andre snegl. Strandsnegl finnes i hele Vikkilen. Av alle stasjoner NIVA har undersøkt, er Vikkilen det eneste stedet som har hatt høye nok TBT-konsentrasjoner til å kunne inducere intersex-

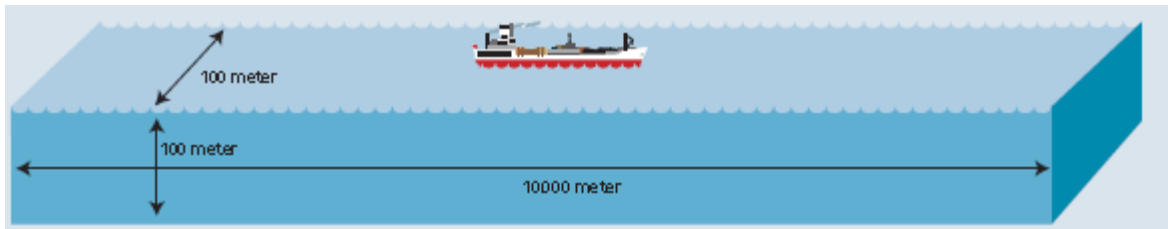
stadie 4 i strandsnegl (hunnsnegl med penis). Nest høyest er påvist fra en småbåthavn i indre Oslofjord i 1999 der det ble påvist snegl med intersex-stadier opp til 2,6 (Berge mfl. 1999).

Purpurnegl lever på svaberg i strandsonen i mer bølgeeksponerte områder og finnes derfor av naturlige grunner ikke inne i Vikkilen. Den ble tidligere brukt til produksjon av purpurfarge, derav sneglens navn. Purpurnegl tilhører en gruppe snegler (neogastropoder) som er spesielt ømfintlig for tinnorganiske forbindelser.

De undersøkte sneglene har forskjellig følsomhet overfor TBT. Purpurneglen er meget følsom og utvikler imposex ved konsentrasjoner ned til 1 ng/l (nanogram – en milliard-del gram) (Gibbs mfl. 1987). Nettsnegl tåler litt mer, (2-3 ng/l) (Laughlin og Linden 1987) mens strandsnegl er mye mer tolerant (10 ng/l) (Bauer mfl. 1997).

Det lever også kongsnegl (*Buccinum undatum*) i Vikkilen og noen få individer ble samlet inn og undersøkt i forbindelse med et lite forskningsprosjekt på NIVA i 2003 (prosjekt O-40177, upubl.). Kongsnegl lever som nettsnegl, på og i sedimentet, men på dypere vann og er derfor vanskeligere å samle inn. Kongsneglen ble undersøkt etter tilstandsklasser (Strand mfl. 2006, OSPAR 2009), og havnet i kategori IV (dårlig). Kongsnegl er ikke undersøkt senere.

Illustrasjonen (**Figur 1**) fra Danmarks Miljøundersøkelsers (DMU) temarapport fra 1999 viser et middelstort tankskip (100 m) med vannareal på ca. 5 000 m². Det frigis ca. 20 000 000 ng TBT pr m² pr dag fra bunnmalingen. 1 ng/l av TBT kan gi kjønnsendringer på purpurnegl. Det betyr at dette skipet kan forurense 100 000 000 000 liter sjøvann daglig med en konsentrasjon som påvirker snegl. Dette tilsvarer 100x100x10.000 m. Hvert år seiler det ca. 50 000 større skip i danske farvann. Den høye giftigheten kan også illustreres ved at 1 ng/l er så lite at 1,9 kg TBT ville gi effekter i de øverste 10 m av hele indre Oslofjord (192 km²).



Figur 1. Et middelstort tankskip (100 m) med TBT-holdig bunnstoff forurenser et vannvolum på 100.000 millioner liter vann. Kilde: DMU temarapp. (Foverskov mfl. 1999)

2. Materiale og metoder

2.1 Innsamling og håndtering av prøver

Det ble samlet inn strandsnegl (*Littorina littorea*), nettsnegl (*Nassarius reticulatus*) og purpursnegl (*Nucella lapillus*) (**Figur 2**) ved 6 stasjoner i en gradient på 6 km fra innerst i Vikkilen og ut til Håøya. Innsamling av strandsnegl ble utført i perioden 2005 til 2012, nettsnegl i perioden 2007 til 2012 og purpursnegl i 2011.

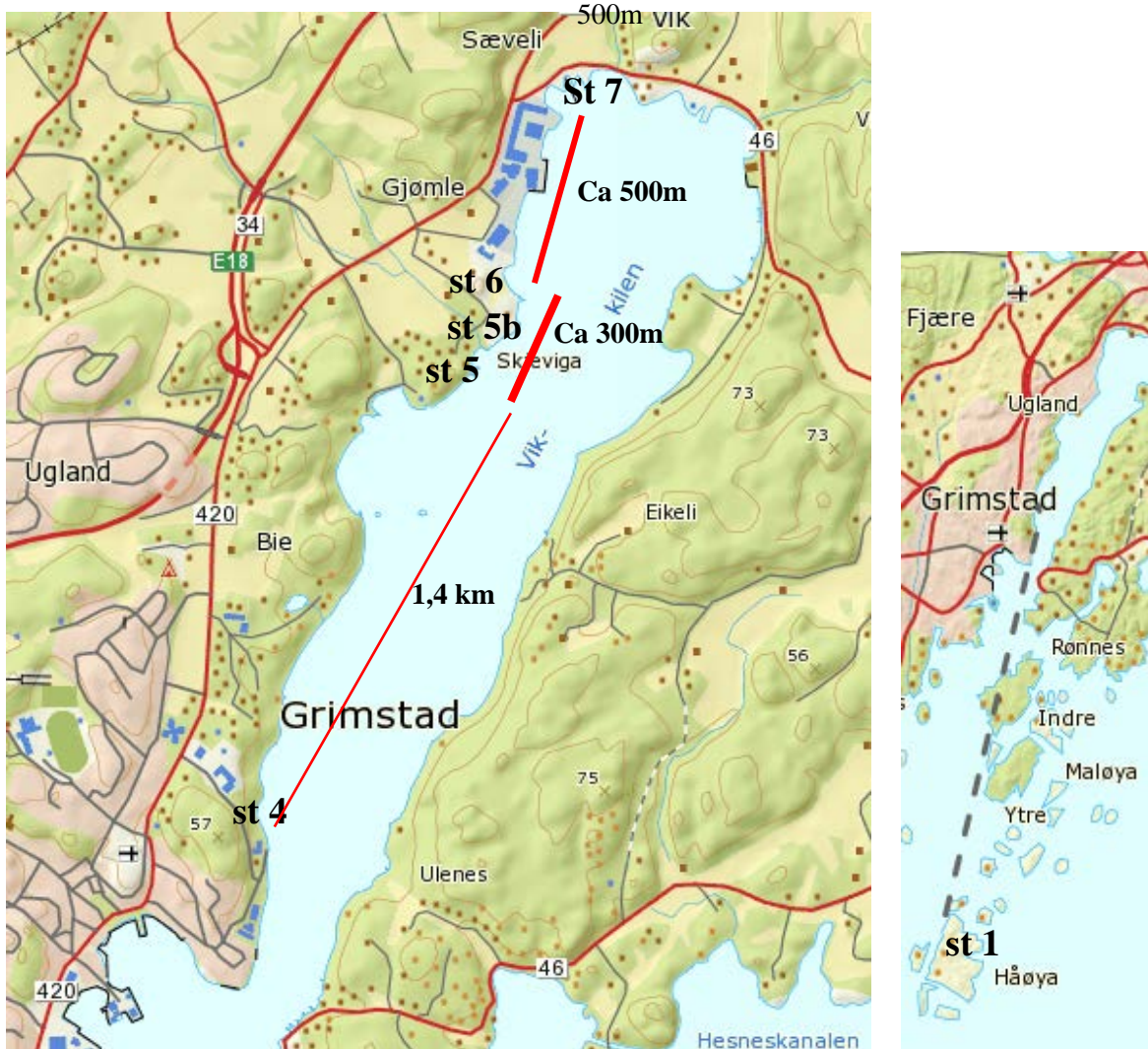


Figur 2. Strandsnegl (*Littorina littorea*), nettsnegl (*Nassarius reticulatus*) og purpursnegl (*Nucella lapillus*). Foto: NIVA.

Figur 3 viser stasjonsoversikt og avstand mellom stasjonene. St. 7 er innerst i Vikkilen (ved båthavnen) og avstanden til st. 6 (nær AS Nymo) er ca. 500 m. Fra denne stasjonen til st. 5b (Båtstø) er det ca. 100 m og fra denne stasjonen til st. 5 (Skjeviga) er det ca. 200 m. Fra st. 5 (Skjeviga) til neste st. 4 (Hasseldalen) er det ca. 1,4 km og derfra og videre til st. 1 (Håøya) er det 4,5 km. Fra innerste st. 6 (nær AS Nymo) til ytterste st. 1 (Håøya) er det ca. 6 km. Fra stasjonene 1 til 6 er det innsamlet blåskjell og strandsnegl tidligere (Næs mfl. 2005). St. 5b (Båtstø) og st. 7 (ved båthavnen) ble opprettet senere, da det ble viktig med flere stasjoner nærmere st. 6 (nær AS Nymo). Det ble samlet inn sediment samtidig med innsamling av nettsnegl i 2011.

Purpursnegl og strandsnegl lever på hardbunn i tidevannssonen til forskjell fra nettsnegl som lever på eller nede i sedimentet under tidevannssonen. Purpursnegl liker seg bare på bølgeeksponerte områder og man finner ikke purpursnegl inne i Vikkilen, kun ute ved st.1 (Håøya).

Det ble samlet inn 50 snegl av hver art fra hver stasjon for analyse av biologiske effekter (imposex og intersex) og konsentrasjoner av TBT i vev. Sneglene ble oppbevart levende i kjøleskap ved + 4 °C inntil analyser av imposex og intersex, som ble utført på laboratoriet under lupe så raskt som mulig etter innsamling. Før analysene bedøves strandsnegl og nettsnegl med en 7% MgCl₂-oppløsning for maksimal avslapning av muskler (OSPAR 2002).



Figur 3. Stasjonsoversikt for snegler i Vikkilen ved Grimstad i perioden 2005-2012.

2.2 Analyse av snegl

2.2.1 Strandsnegl

Strandsnegl er den vanligste sneglearten langs hele norskekysten. Den trives godt langt inne i fjorder, den er planteeter og lever av alger i strandkanten. Til forskjell fra purpursnegl og nettsnegl som legger egg, har strandsneglen et pelagisk larvestadie på ca. 2 uker. Det betyr at selv om en vesentlig del av populasjonen er steril så kan bestanden opprettholdes av larver fra andre mindre påvirkede områder. Strandsneglen tåler høyere TBT-påvirkning enn de fleste andre snegl før de utvikler intersex.

Det er viktig å samle inn strandsnegl på riktig tid av året, da hannen naturlig kvitter seg med penis om sommeren og utvikler en ny i løpet av 12 til 20 uker (Deutsch og Fioroni 1992). I dette tidsrommet er det vanskelig å skille hanner fra hunner.

Intersexstadier

Strandsnegl er særkjønnet og det er forskjell på hanner og hunner (Figur 4 a og c). Ved påvirkning av TBT utvikler strandsnegl intersex, dvs. at hunnens kjønnsorganer omdannes til å likne hannens.

Hunnene får utviklet irreversibel sædleder og penis. Intersex-stadiene deles inn i 5 hvorav stadie 0 er friske individer og stadie 4 er dårligste tilstand. Intersex blir bestemt etter ISI-indexen som er summen

av verdiene av intersex-stadiene til alle hunnene dividert på antall hunner innsamlet. Strandsnegl-hannene blir også påvirket av TBT ved at peniskjertlene blir markant redusert ved høye TBT-konsentrasjoner. Både hanner og hunner er analysert.

Intersex hos strandsnegl er en gradvis endring av hunnens palliale eggleder/ovidukt mot en omdannelse til en maskulin prostatakjertel samt utvikling av penis og sædleder. Utviklingen kan beskrives ved hjelp av **Figur 5**.

- Stadie 0 viser en frisk og normal kjønnsåpning.
- Stadie 1 illustrerer at kjønnsåpningen begynner ”å sprekke”.
- Stadie 2 viser at hele den palliale eggleder/ovidukt nå er splittet mer enn 2/3 på langs av en åpen renne.
- Stadie 3 illustrerer at hele den palliale eggleder/ovidukt nå er splittet eller at det er en begynnende til fullt utviklet prostatakjertel som synes best utenpå kappen, se **figur 4b**.
- Stadie 4 viser at sædleder og penis er utviklet.

Hunnene blir sterile i intersex-stadie 2-4 (Bauer mfl. 1997).

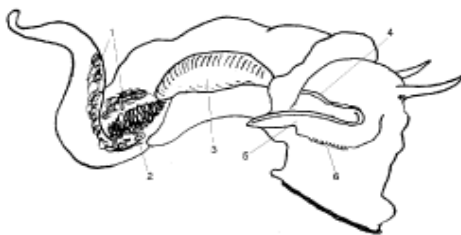
Figur 4. A) illustrerer en frisk hunnsnegl, B) viser eggkapselkjertel på en hunn, C) viser en hannsnegl og D) viser foto av strandsnegl sett ovenfra og nedenfra.



A: Hunnens beste kjennetegn er en lyserød til mørkerød eggstokk/ovarie som ligger langs fordøyelseskjertelen, samt en rett eggleder/ovidukt (ofte fylt med egg).
1=eggstokk/ovarie, 2=eggleder/ovidukt,
3=egghevitekjertel, 4=sædbeholder og
5=eggkapselkjertel. (Strand 2004).



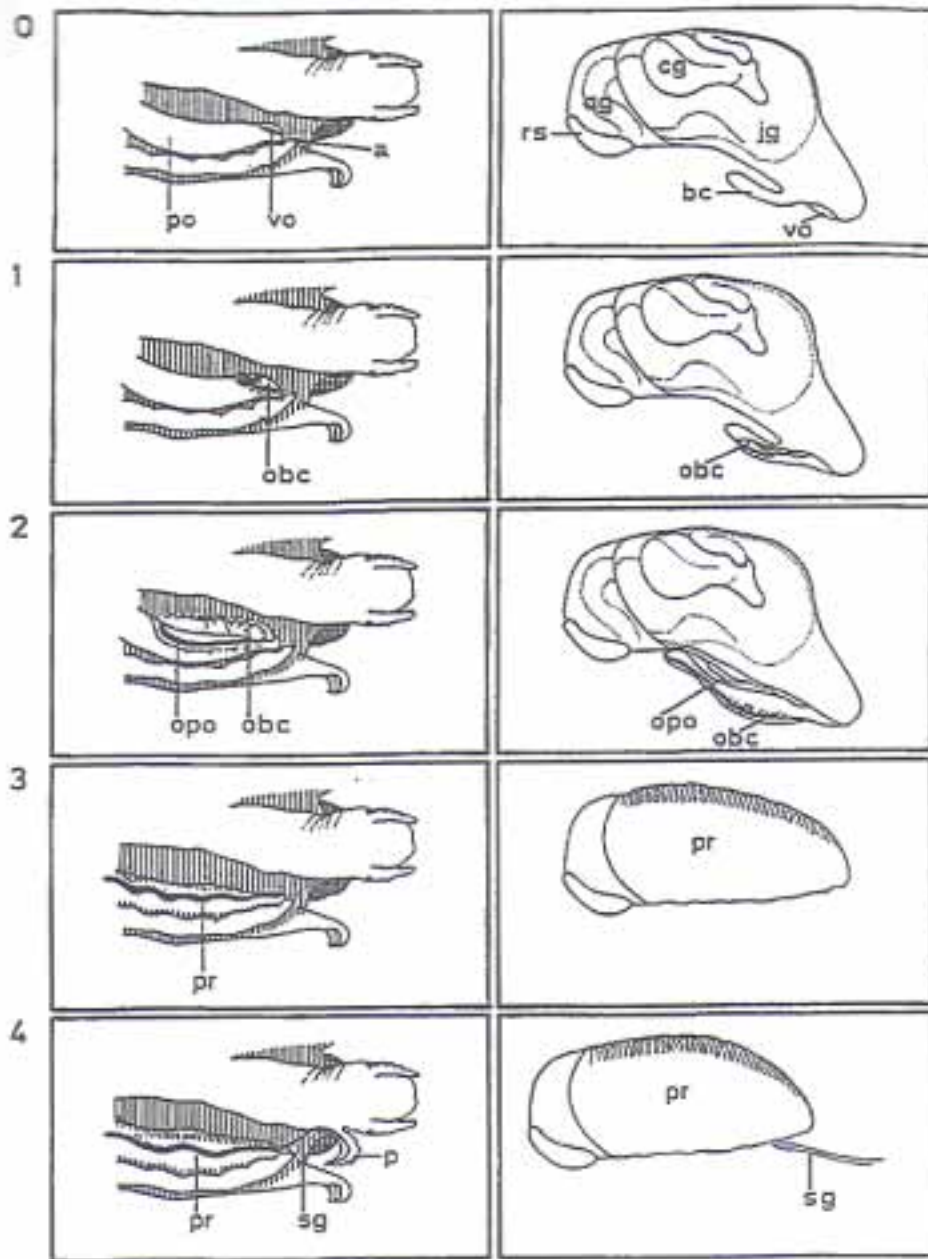
B: Eggkapselkjertelen (5) er formet som en slags ”w” som betyr at sneglen enten kan være frisk, i stadie 0 eller i stadiene 1-2.
Foto: NIVA



C: Hannens beste kjennetegn er en gul testis (1) som ligger sammen med fordøyelseskjertelen, samt den krøllete siminale vesikelen (2) som forbinder testis (1) til prostatakjertelen (3). 4=sædrenne, 5=penis og 6=penital kjertler på penis. Prostatakjertelen som ligger langs kappehulen er kløvet med en sædleder, som løper videre til penis. Penis er plassert like ved høyre tentakel. (Strand 2004).



D:Strandsnegl. Foto: NIVA.



Figur 5. Utvikling av intersex kan beskrives ut fra intersekestadiene 0-4 (Bauer mfl. 1997). Figuren viser en skjematisk utvikling av intersex hos alminnelig strandsnegl. A=anus, ag=eggehvitekjertel, bc=bursa copulatrix, cg=capsule kjertel/gland, jg=jelly kjertel/gland, obc= open bursa copulatrix, opo=åpen/open pallial eggleder/oviduct, p=penis, po=pallial eggleder/oviduct, pr=prostata kjertel, rs=receptaculum seminis, sg=sædleder og vo= vaginal åpning.

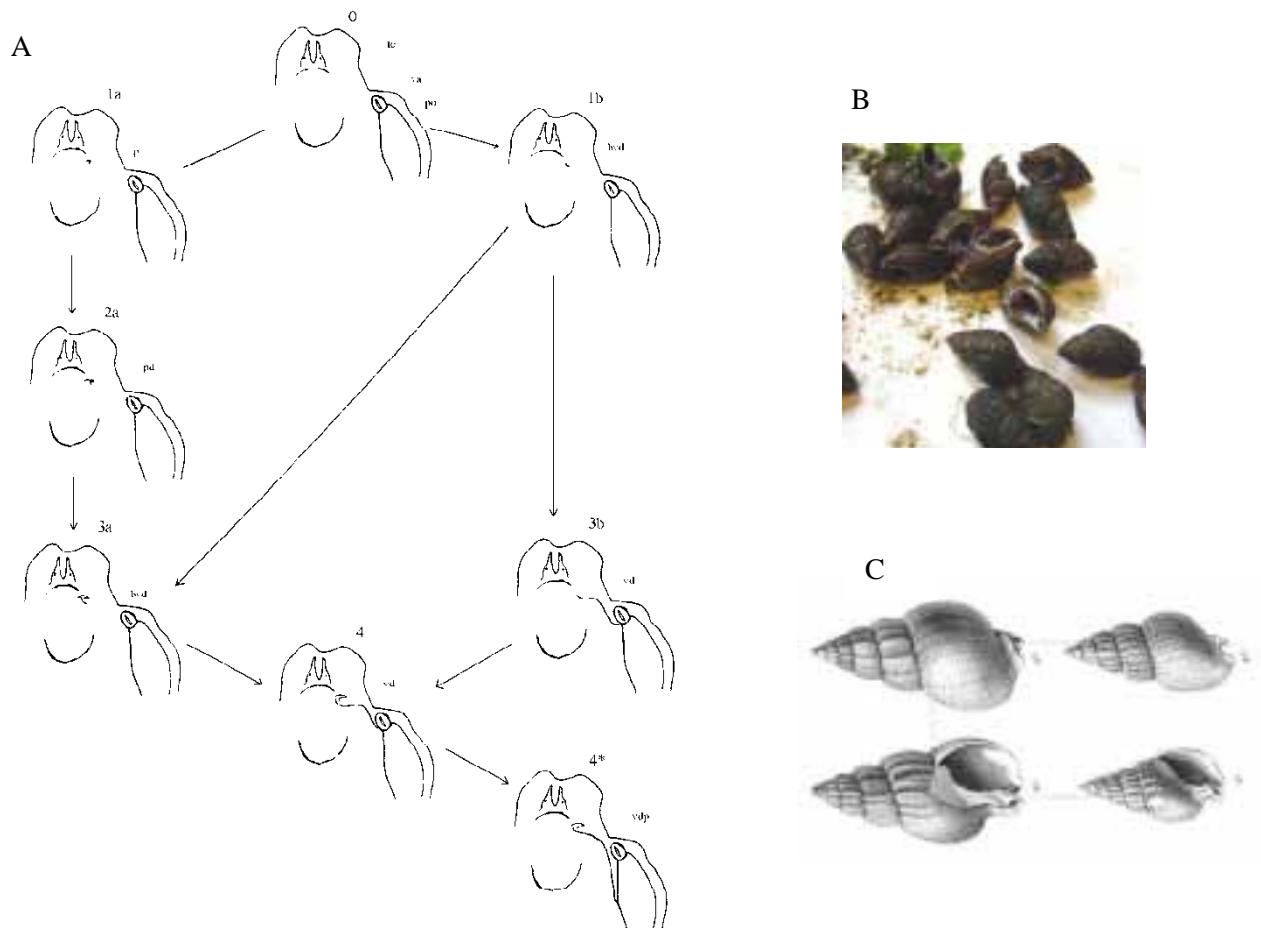
2.2.2 Nettsnegl

Nettsnegl er vanlig i strandsonen og finnes i sand/sediment på grunt vann i fjorder og utover mot åpen kyst. Nettsnegl er rovdyr, den lever nede i sedimentet og er mer utsatt for oppkonsentrering av TBT i sedimentene. Nettsnegl er mye mer følsom for TBT-påvirkning enn strandsnegl. Ved påvirkning av TBT utvikler hunnene imposex, dvs. hunnene utvikler sædleder og penis i tillegg til normale feminine kjønnskarakterer.

Imposex-stadier

Graden av imposex bestemmes ut fra en sædlederutvikling (Vas Deferens Sequence Index – VDSI=VDS/antall hunner). Imposex-stadiene for nettsnegl deles inn i 5 (Vas Deferens Stage/SequenceVDS) hvorav stadie 0 er friske individer og stadie 4 er den dårligste tilstanden (**Figur 6**). Metoden er beskrevet i Cuevas mfl. 2011.

- Stadie 0: Normal hunn.
- Stadie 1a: Hunn med liten penis (p), 1b. Hunn med del av sædleder, men ingen penis (bvd).
- Stadie 2a: Hunn med liten penis og kanal på penis (pd).
- Stadie 3a. Hunn med penis og kort sædleder. Stadie 3b: Hunn uten penis, men en lang sædleder frem til kjønnsåpning.
- Stadie 4: Hunn med fullt utviklet penis og sædleder som går frem til kjønnsåpning.
- Stadie 4+. Hunn med penis og sædleder går forbi kjønnsåpning og inn under eggleder/ovidukt.



Figur 6. (A) Figur fra «Teknisk anvisning for marin overvåkning, eds. Hanne Kaas & Stiig Markager 19. Miljøskadelige stoffer - Bestemmelse av imposex hos konksnegle. /18-11-98».

(B) viser foto av nettsnegl (Foto: NIVA) og (c) strektegning av nettsnegl (Linnaeus 1758).

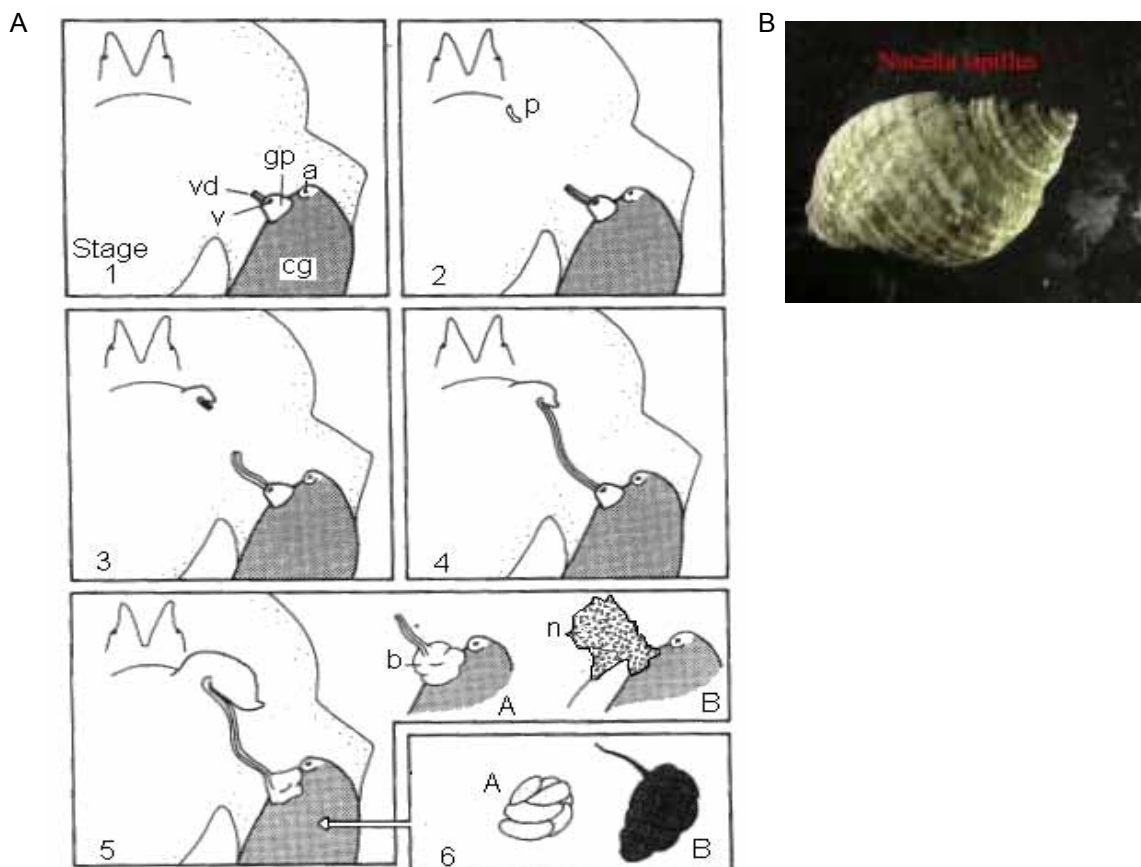
2.2.3 Purpursnegl

Purpursnegl lever på eksponerte steder i fjæra og er utbredt langs hele norskekysten. Purpursnegl er rovdyr og spiser rur og ulike snegler og muslinger. Fargen på skallet påvirkes av næringsorganismene, og skallet blir mørkt hvis føden i hovedsak består av blåskjell og lyst hvis føden domineres av rur. Den bruker raspetungen til å skrape runde hull i skallet på byttedyret, og ofte tar dette et par døgn. De er kjønnsmodne etter 3 år og veksten stopper da opp. Sneglene kan bli ca. 6 år gamle. Purpursnegl er meget følsom for TBT. TBT induserer utvikling av mannlige kjønnskarakterer hos hunner, og disse synlige biologiske effektene kalles imposex. Sædlederstadiene (VDS) rangeres fra stadie 0 (ingen effekt) til stadie 6 (max effekt) (Gibbs mfl. 1987). Imposex blir bestemt etter sædleder-index (Vas Deferens Sequence Index VDSI) analysert etter retningslinjene til OSPAR-CEMP (OSPAR 2004). VDSI er summen av verdiene for imposex-stadiene til alle hunnene som er innsamlet dividert på antall hunner innsamlet. Detaljert informasjon om kjemiske analyser av sneglene er gitt i Følsvik mfl. (1999).

Imposexstadier

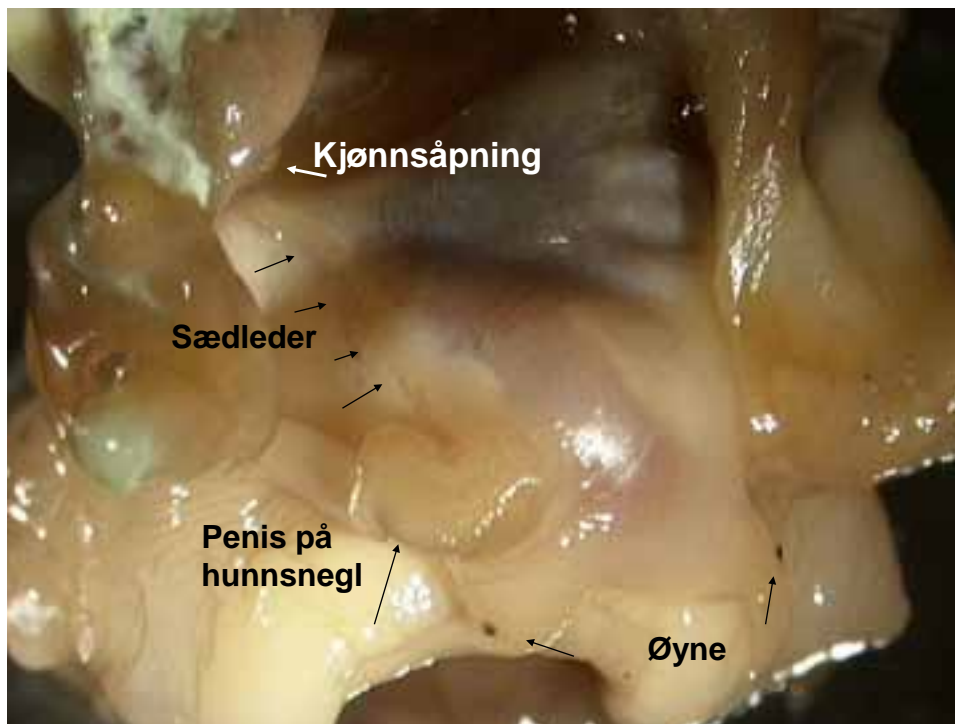
Metoden er beskrevet i Gibbs mfl. (1987) og vist i **Figur 7**.

- Stadie 1. Sædlæder/ vas deferens (vd) begynner å vokse fra kjønnsåpningen.
- Stadie 2. Penis (p) vises.
- Stadie 3. Sædleder vokser fra penis samtidig som penis vokser.
- Stadie 4. Sædlederne fra penis og kjønnsåpningen vokser sammen, se **Figur 8**.
- Stadie 5. Sædleder vokser over kjønnsåpningen, 5A, B.
- Stadie 6. Fullt utviklet penis og sædleder og en overgrodd kjønnsåpning hvor aborterte eggkapsler er illustrert.



Figur 7. A: Imposex-stadier (sædlederstadier/ vas deferens stages/sequence VSD). B: Foto av purpursnegl sett ovenfra (Foto: NIVA).

Ved VDS-verdi på 6 har sædleder grodd over hele kjønnsåpningen og den kan ha innkapslede aborterte egg og hunnen har ofte like stor penis som en hann.



Figur 8. Bilde av imposex-stadiene hos purpurnegl i stadie 4 hvor sædlederen fra kjønnsåpningen og penis er sammenhengende. (Foto: Lise Tveiten, NIVA).

Purpurnegl har vært innsamlet i det nasjonale overvåkingsprogrammet CEMP (Coordinated Environmental Monitoring Programme, tidligere Joint Assessment and Monitoring Programme JAMP) fra en rekke lokaliteter og analysert for imposex siden 1991 (Green mfl. 2012). Tidligere undersøkelser har vist sammenheng mellom konsentrasjoner av TBT og graden av biologisk effekt. Resultatene indikerte også sammenheng mellom avstand til potensielle TBT-kilder og graden av imposex hos purpurnegl (Walday mfl. 1997). Purpurnegl har vist en meget positiv utvikling langs hele norskekysten siden 2003 (**Figur 13**).

2.3 Kvalitetskontroll

NIVA har deltatt i alle internasjonale interkalibreringsøvelser arrangert av Quality Assurance of Information for Marine Environmental Monitoring in Europe (QUASIMEME) som er relevant for analyser av imposex og intersex. Forrige ringtest for intersex hos strandsnegl foregikk i 2008 og for imposex hos purpurnegl i juni 2012.

3. Resultater og diskusjon

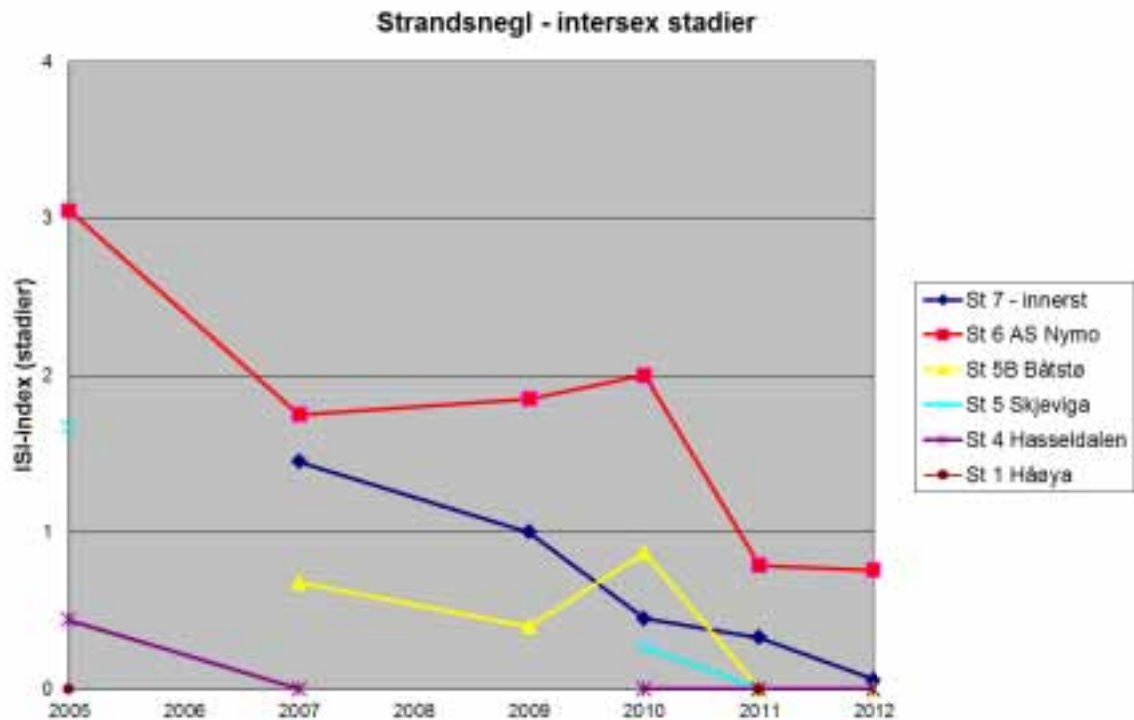
3.1 Strandsnegl

Analyseresultatene er i sin helhet presentert i **Vedleggstabell E**.

Strandsneglundersøkelsene i Vikkilen fra 2005 til 2012 viser en positiv utvikling i intersex-tilstand (reduert ISI-indeks, **Tabell 1**, **Figur 9** og **Figur 10**). Tabell 1 presenterer ISI-indeksen hos strandsnegl fra innerst i Vikkilen og ut til Håøya. Resultatene viser en nedadgående trend i indeksverdi over tid på alle stasjonene (**Figur 9**). ISI er som tidligere nevnt et gjennomsnitt av intersex-stadiene. Stadie 0 består av friske snegl og i stadier over 2 blir dyrene sterile og med tydelig synlige skader. Det ble også funnet hunnsnegl med penis med ISI-indeks på 3,05 på st. 6 i 2005.

Tabell 1. Intersex-stadier hos strandsnegl (*Littorina littorea*) i perioden 2005-2012 vist som ISI-indeks. Tilstandsklasser er gitt iht. Strand mfl. (2006) og OSPAR (2009), se **Vedleggstabell A og B**. Rød=svært dårlig, orange=dårlig og grønn=god. Blå farge viser friske snegl.

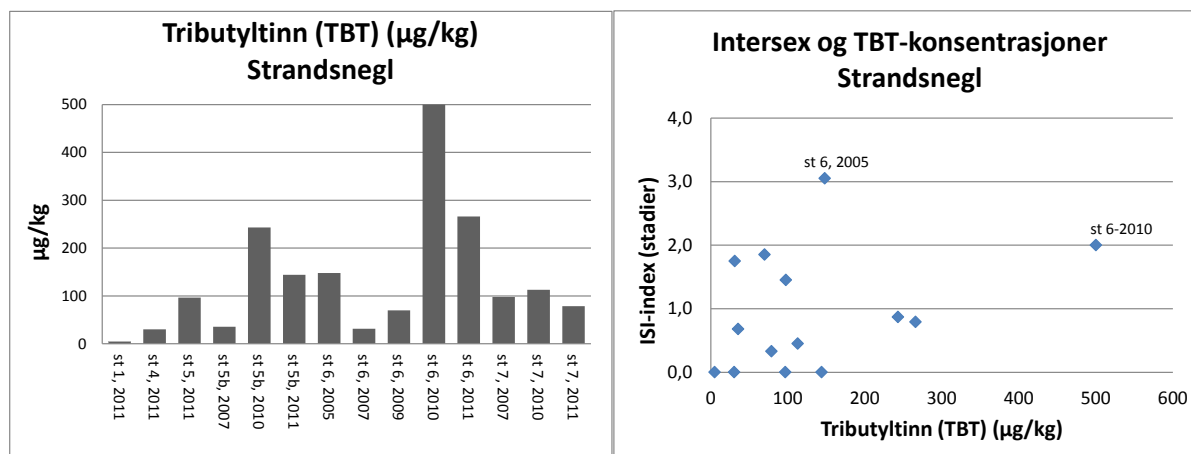
	2005	2007	2009	2010	2011	2012
St 7 - innerst		1,45	1	0,45	0,33	0,06
St 6 AS Nymo	3,05	1,75	1,85	2	0,79	0,76
St 5B Båtstø		0,68	0,4	0,87	0	0
St 5 Skjeviga	1,67			0,27	0	0
St 4 Hasseldalen	0,44	0		0	0	0
St 1 Håøya	0				0	



Figur 9. Intersex-stadier hos strandsnegl (*Littorina littorea*) i perioden 2005-2012.

St. 6 (AS Nymo) peker seg ut med de høyeste verdiene. I 2005 fant NIVA strandsnegl i stadie 4, noe man kun finner ved meget høye TBT-konsentrasjoner. Strandsnegl samlet på st. 6 i 2007 viste en klar bedring i forhold til 2005 (**Figur 9**). Tilsvarende bedring ble påvist fra 2010 til 2011 på st. 6 og på st.5b rett sør for Nymo. Utviklingen hos strandsnegl har vært klart positiv over hele tidsperioden.

I perioden 2007-2012 ble TBT-innholdet i snegl analysert fra stasjonene 5b, 6 og 7, som er de tre innerste stasjonene i Vikkilen, samt fra st. 1 og 5 i 2011. Det ble ikke funnet noen entydig sammenheng mellom innholdet av TBT og utvikling av intersex (**Figur 10**).



Figur 10. TBT-innhold i strandsnegl (*Littorina littorea*) i perioden 2005-2011. Det er ikke utført kjemiske analyser i 2012.

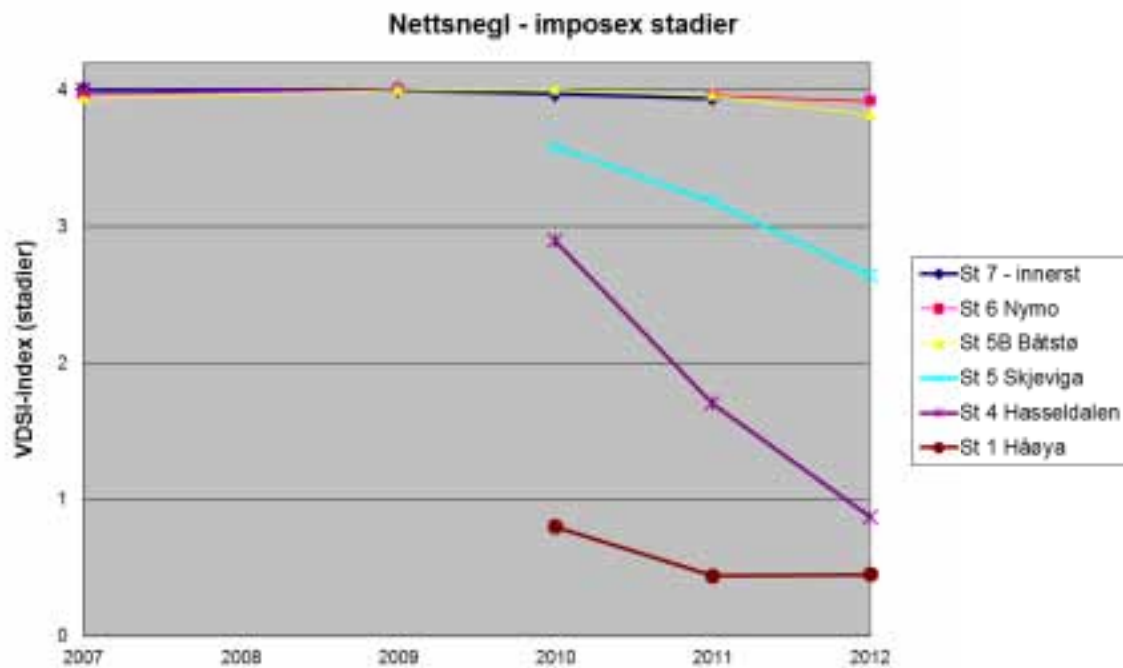
Strandsnegl er relativt lite følsom for TBT og det må høye konsentrasjoner til før synlige effekter vises. De fleste steder i Norge hvor strandsnegl er undersøkt, har man sett ingen eller lav påvirkning. Av alle stasjoner NIVA har undersøkt, er Vikkilen det eneste stedet som har hatt høye nok TBT-konsentrasjoner til å kunne indukere intersex-stadie 4 i strandsnegl (hunnsnegl med penis). Nest høyest ble påvist i en småbåthavn i indre Oslofjord i 1999 hvor det ble påvist snegl med intersex-stadier opp til 2,6 (Berge mfl. 1999).

3.2 Nettsnegl

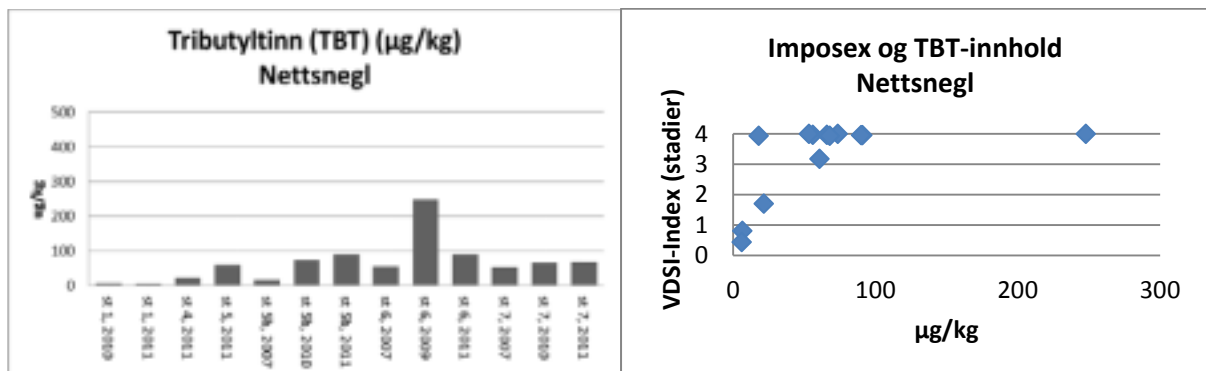
NIVA startet i 2007 med å undersøke imposex hos nettsnegl på stasjonene 5b, 6 og 7. Som vist i **Tabell 2** og **Figur 11** har det vært høy grad av imposex og liten forskjell mellom disse stasjonene i hele perioden fra 2007 til 2012. Stasjonene har vist liten utvikling i imposex over tid, men likevel med en svak bedring etter 2009. Fra 2010 ble nettsnegl også innsamlet fra st. 1, 4 og 5 lenger ute i Vikkilen. På disse stasjonene er det tydelig en nedadgående trend fra 2010. Det vises også i TBT-analysene på st. 6 fra 2009 til 2011 (**Figur 12**). Figuren indikerer at kjønnsforstyrrelsen begynner ved et vevsinnhold av TBT på ca. 10 µg/kg og at VDSI-indeksen når høyeste verdi før nivået er 100 µg/kg. Denne følsomheten samsvarer med det som er funnet i CEMP-programmet for purpurneggl (Green mfl. 2012). Bakke mfl. (2008) fant at TBT-innholdet i dyr i sedimentprøver (*Glycera*, børstemark) fra dypere vann utenfor AS Nymo (st. 6) og Hasseldalen (st. 4) i 2007 var på hele 3900 µg/kg og 1500 µg/kg hhv. Det er rimelig å anta ut fra disse høye verdier at nettsnegl ved Hasseldalen på den tiden ville vist en VDSI på 4. Målinger i nettsnegl fra 2010 viser en klar forbedring i snegl fra Hasseldalen (**Figur 11**).

Tabell 2. Imposex-stadier (vist som VDSI) hos nettsnegl (*Nassarius reticulatus*) 2007-2011. Tilstandsklasser er gitt iht. Strand mfl. (2006) og OSPAR (2009), se **Vedleggstabell A og B**. Rød=svært dårlig, orange=dårlig og gul=moderat tilstand.

	2005	2007	2009	2010	2011	2012
St 7 - innerst		4	4	3,97	3,94	
St 6 Nymo		3,97	4		3,96	3,92
St 5B Båtstø		3,94	4	4	3,96	3,82
St 5 Skjeviga				3,58	3,18	2,64
St 4 Hasseldalen		4		2,89	1,7	0,87
St 1 Håøya				0,8	0,44	0,45



Figur 11. VDSI-index i nettsnegl (*Nassarius reticulatus*) 2007-2012.



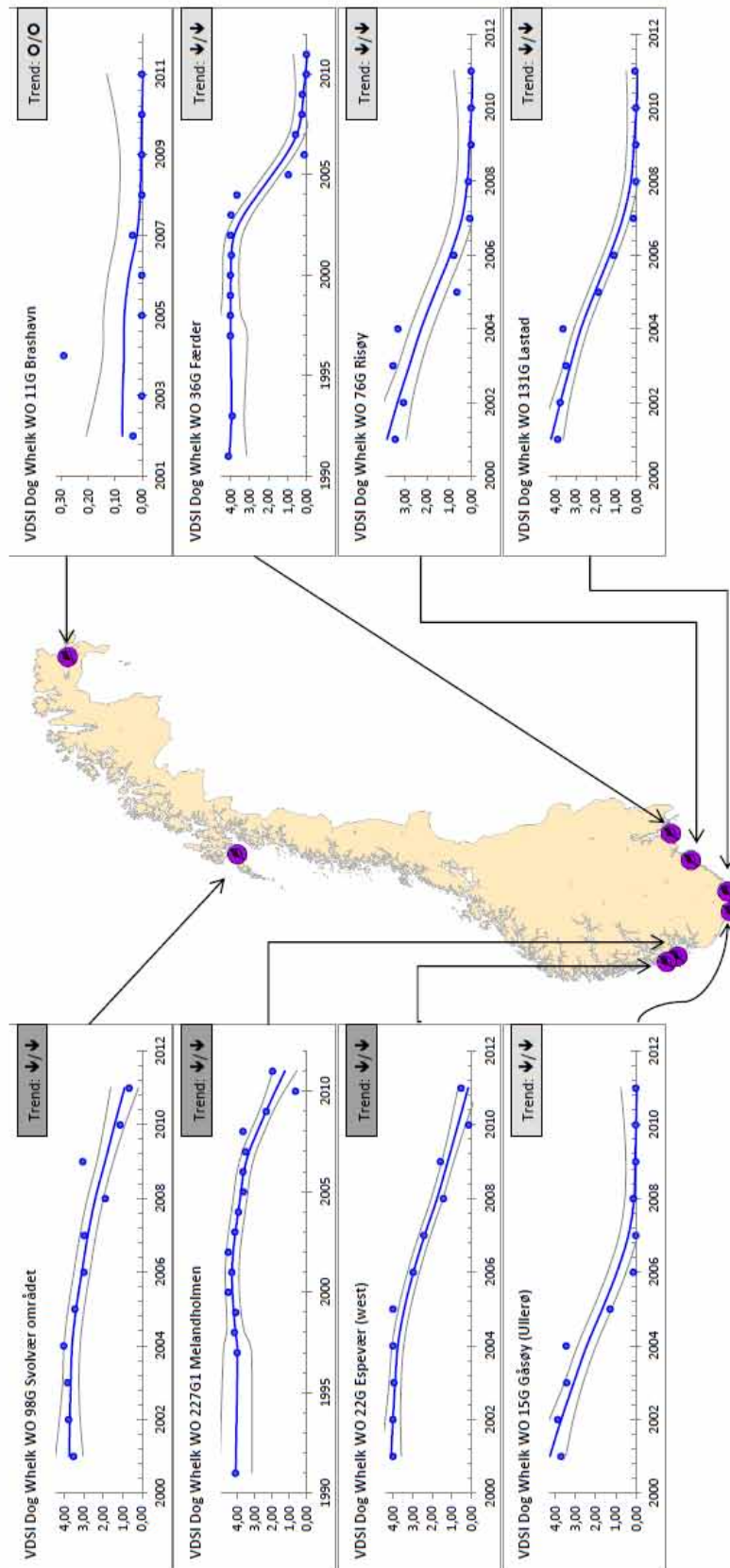
Figur 12. TBT-innhold i nettsnegl (*Nassarius reticulatus*) i perioden 2007-2011 (venstre) og sammenhengen mellom VDSI-indeks og TBT-innhold (høyre).

I et forsøk i 2005 ble friske hunner av nettsnegl eksponert for sediment fra Vikkilen. De utviklet imposex i løpet av en periode på 4 uker og det mest forurensede sedimentet forårsaket den største effekten (Berge mfl. 2006).

3.3 Purpursnegl

Purpursnegl finnes kun ytterst ved st.1 (Håøya) og gir derfor et bilde av den generelle TBT-belastningen i kystvannet. Da purpursneglen finnes på bølgeeksponerte områder, måtte den samles inn 100 m lenger ute enn stasjonen for strandsnegl, nettsnegl og sediment.

Purpursnegl ble undersøkt i 2005 og 2011. I 2005 var sneglene i VDSI-stadiet 3-4 (nesten sterile). I 2011 var alle friske (stadie 0). Denne positive utviklingen hos purpursnegl er også funnet flere steder langs norskekysten (**Figur 13**, Green mfl. 2012, Walday mfl. 1997).



Figur 13. Imposex-stadier (VDSI) for purpursnegl (*Nucella lapillus*) langs norskekysten i perioden 1991-2011. (Green mfl. 2012).

3.4 Sediment

Etter totalforbud mot TBT-holdig skipsmaling er forurenset sediment den primære kilden til hormonforstyrrelser hos snegl. Sedimentene i Vikkilen er forurenset med høye TBT-konsentrasjoner. En sedimentundersøkelse i Vikkilen i 2005 (Næs mfl. 2005) viste at hele Vikkilen var meget sterkt forurenset av TBT. Undersøkelser i 2008 viste overflatesedimenter med TBT-nivåer mellom 1 og 10 mg/kg tørrvekt, dvs. langt over grensen til Klifs klasse V som er 0,1 mg/kg tørrvekt (Bakke mfl. 2012).

I 2011 ble det derfor tatt sedimentprøver i tillegg til purpursnegl, strandsnegl og nettsnegl fra st. 1, st. 6 og st. 7 (øvre 0-2 cm). Resultatene viste lavt TBT-innhold i sedimentet fra st.1 (Klif klasse II, sterkt forurenset på st. 7 (Klasse IV) og meget sterkt forurenset på st. 6 (Klasse V, **Vedleggstabell C og D**).

Det vil ta lang tid før kysten og havneområder er fri for effekter av TBT, og man må forvente at forbedringen vil ta lengst tid i sedimentene. For Vikkilen beregnet Bakke mfl. (2008) at det ville ta anslagsvis 16-70 år før de øvre 10 cm av sedimentet vil være i Klifs tilstandsklasse II som Vannforskriften definerer som god miljøtilstand. Dette er det sjiktet der mesteparten av faunaen finnes. Resultatene fra 2011 indikerer en bedring sammenlignet med resultatene fra 2004-2008.

4. Konklusjon

- Tributyltinn (TBT) har vært brukt som begroingshindrende tilsetning i skipsmaling siden 1960-tallet og i Vikkilen ved Grimstad ble AS Nymo en kilde til TBT-forurensning på grunn av den TBT-holdige skipsmalingen. Bruk av TBT-holdig bunnstoff har vært totalforbudt siden 2008 på grunn av de skader som ble funnet på marine organismer, spesielt utvikling av imposex og intersex hos snegl.
- Det ble funnet klare TBT-effekter på strandsnegl i Vikkilen i 2005. Siden 2005 er det blitt samlet inn strandsnegl, nettsnegl og purpursnegl fra stasjoner i Vikkilen og fjordområdet utenfor.
- Resultatene viser klar positiv utvikling for strandsnegl i perioden 2005-2012. Undersøkelsen viste fortsatt en økende kjønnsforstyrrelse innover i kilen og høyest forstyrrelse nærmest AS Nymo. I 2012 var det bare de to innerste stasjonene som viste snegl med intersex-skader. Hvis man fremskriver hvordan ISI-verdiene har avtatt de siste årene kan det være sannsynlig at de kan komme i tilstandsklasse II (God) i løpet av et par år.
- Nettsnegl viser også en positiv utvikling, særlig fra 2010. Effektreduksjonen er større på stasjonene ved Skjeviga (st. 5) og Hasseldalen (st. 4) enn nærmere verftet. Når det gjelder st. 1 (Håøya) så er nesten alle dyrene friske i dag, bortsett fra noen få individer i imposex-stadie 2 og 3.
- Det er forventet at kjønnsforstyrrelsen hos nettsnegl vil vare lengre enn hos strandsnegl, fordi nettsneglen lever nede i det TBT-forurensede sedimentet, mens strandsneglen lever på bunnen og er i mindre kontakt med sedimentet. Resultatene viser at dette så langt er tilfelle (2012).
- I 2011 var alle purpursneglene fra st. 1 (Håøya) friske.
- Undersøkelsene av strandsnegl og nettsnegl bør følges videre i et overvåkingsprogram for å undersøke hvor mye lengre tid nettsnegl trenger på å bli friskmeldt i forhold til strandsnegl.
- En undersøkelse av kongsnegl bør gjøres fordi vi har lite kunnskap om tilstanden til denne arten og fordi den ofte lever litt dypere enn nettsneglen.

5. Referanser

- Alzieu, C. 1991. Environmental problems caused by TBT in France: assessment, regulations prospects. *Mar. Env. Res.* 32, 7-17
- Bakke, T., Breedveld, G., Källqvist, T., Oen, A., Ruus, A., Kibsgaard, A., Helland, A., Hylland, K., Eek, E. 2007. Veileder for klassifisering av miljøkvalitet i fjorder og kystfarvann – Revisjon av klassifisering av metaller og organiske miljøgifter i vann og sedimenter. SFT-rapp -2229. 12 s.
- Bakke, T., Håvardstun, J., Næs, K., Schaanning, M., Oug, E., Rygg B. 2008. Miljøtekniske undersøkelser ved Nymo as i Vikkilen. Supplerende undersøkelser, risiko og tiltaksvurdering. NIVA-rapport 5669. 80 s.
- Bakke, T., Håvardstun, J., Lillicrap, A., Macken, A., Allan, I., Næs, K.. 2012. Revidert risikovurdering og tiltaksplan for sjøsedimentene i Vikkilen, delområde B og C. NIVA- Rapport 6272, 32 s.
- Barroso, C.M., Moreira, M.H. Gibbs, P.E. 2000. Comparison of imposex and intersex development in four prosobranch species for TBT monitoring of a southern European estuarine system (Ria de Aveiro, NW Portugal). *Mar Ecol Prog Ser.* Vol 201:221-232.
- Bauer, B., Fioroni, P., Schulte-Oehlmann, U., Oehlmann, J., Kalbfus, W. 1997. The use of *Littorina littorea* for tributyltin (TBT) effect monitoring – Results from the German TBT survey 1994/1995 and laboratory experiments. *Environmental Pollution*, Vol 96, No 3, pp. 299-309.
- Berge, J.A. Amundsen, C.E., Eggen, T., Hylland, K., Bøe, E. 2006. Naturlig nedbrytning og biotilgjengelighet av tinnorganiske forbindelser i marine sedimenter. NIVA-rapport 4996, SFT rapp. TA-2091/2005, 72 s.
- Cuevas, N., Larreta, J., Rodríguez, J.G., Zorita, I. 2011. A visual guideline for the determination of imposex in *Nassarius reticulatus* and *Nassarius nitidus*. *Revista de Investigación marina*, 18/7 134-152.
- Deutsch U. og Fioroni P, 1992. “The shedding of the penis in *Littorina littorea*: Some new aspects”, *Proceedings of the third International Symposium on Littorinid Biology* s.309-311.
- Foverskov, S., Strand, J., Jacobsen, J.A. Riemann, B., Pritzl, G., Nielsen, P.Ø., Aagaard, A. 1999. Bundmaling til skibe – et miljøproblem. Miljø- og Energiministeriet, Danmarks Miljøundersøkelser temarapp 30/1999.
- Følsvik, N., Berge, J.A., Brevik, E.M., Walday, M. 1999. Quantification of organotin compounds and determination of Imposex in populations of dog whelk (*Nucella lapillus*) from Norway. *Chemosphere*. 38 (3): 681-691.
- Gibbs, P.E., Bryan, G.W., Pascoe P.L, Burt G.R. 1987. The use of the dog-whelk, *Nucella lapillus*, as an indicator of tributyltin (TBT) contamination. *J. mar. biol. Ass. U.K.* 67: 507-523.
- Green, N.W., Schøyen, M., Øxnevad, S., Ruus, A., Høgåsen, T., Beylich, B., Håvardstun, J., Rogne, Å.G., Tveiten, L. 2012. Coordinated environmental monitoring programme (CEMP). Hazardous substances in fjords and coastal waters – 2011. Levels, trends and effects. Long-term monitoring of environmental quality in Norwegian coastal waters. NIVA-rapport 6432, Klima- og forurensningsdirektoratet, Statlig program for forurensningsovervåking, SPFO rapportnr. 1132/2012, TA nr. 2974/2012, 264 s.
- Laughlin, R.B. og Linden, O. 1987. Tributyltin contemporary environmental issues. *Ambio* 16: 252-6.
- OSPAR 2002. Revised Technical Annex 3 of the OSPAR Guidelines for Contaminant-specific Biological Effects Monitoring (TBT-specific biological effects monitoring). ASMO 02/13/17-E, Annex 10.

- OSPAR 2004. Provisjonal JAMP Assessment Criteria for TBT - Specific Biological Effects, 2004-15-E.
- OSPAR 2009. CEMP assessment report: 2009/2009. Assessment of trends and concentrations of selected hazardous substances in sediments and biota. OSPAR publication number 390/2009. Monitoring and Assessment Series. ISBN 978-1-906840-30-3. 80 pp.
http://www.ospar.org/documents/dbase/publications/p00390_2009%20%20cemp%20assessment%20report.pdf
- Næs, K., Knutzen, J., Håvardstun, J., Kroglund, T., Lie, M.C., Knutsen, J.A., Wiborg M.L. 2000. Miljøgiftundersøkelse i havner på Agder 1997-98. PAH, PCB, tungmetaller og TBT i sedimenter og organismer. NIVA-rapport 4232. 139s.
- Næs, K., Tveiten, L., Håvardstun, J. 2005. Sedimentundersøkelser i Vikkilen knyttet til fylkesvis tiltaksplan. NIVA-rapport 5040. 60 s.
- SFT 1997. Klassifisering av miljøkvalitet i fjorder og kystfarvann. SFT Veiledning 97:03. SFT TA-1467/1997. 36 s.
- Strand, J. 1998. Teknisk anvisning for marin overvåging, eds. Hanne Kaas & Stiig Markager 19. Miljøskadelige stoffer - Bestemmelse af imposex hos konksnegle. /18-11-98
- Strand, J. 2004. Teknisk anvisning for marin overvåging, eds. Andersen, Markager & Ærtegjerg. 4.6. Biologisk effektmonitorering – imposex og intersex i havsnegle. 20-10-04.
- Strand, J., Larsen, M.M., Næs, K., Cato, I., Dahllöf, I. 2006. Tributyltin (TBT). Forekomst og effekter i Skagerrak. Rapport fra Forum Skagerrak II. Uddevalla, Sweden. 39 s.
- Walday, M., Berge, J.A., Følsvik, N. 1997. Imposex og nivåer av organotin hos populasjoner av purpursnegl i Norge. NIVA-rapport 3665. 28 s.

6. Vedlegg

Vedleggstabell A. OSPARs vurderingskriterier for TBT-spesifikke effekter på snegl fordelt på 6 kvalitetsklasser. (OSPAR 2009).

Denne tabellen viser grad av påvirkning på purpursnegl (*Nucella lapillus*), nettsnegl (*Nassarius reticulatus*), Kongsnegl (*Buccinum undatum*), stor havsnegl (*Neptunea antiqua*) og strandsnegl (*Littorina littorea*). OSPAR bruker kategori A til F. A = høy kvalitet, B = god kvalitet, C = moderat, D = dårlig, E = svært dårlig og F = ekstrem dårlig.

Assessment class	<i>Nucella</i> VDSI	<i>Nassarius</i> VDSI	<i>Buccinum</i> PCI	<i>Neptunea</i> VDSI	<i>Littorina</i> ISI
A	< 0.3			< 0.3	
B	0.3 - <2.0	< 0.3 ¹	< 0.3 ¹	0.3 - <2.0	< 0.3 ²
C	2.0 - < 4.0	0.3 - <2.0	0.3 - <2.0	2.0 - <4.0 ³	
D	4.0 - 5.0	2.0 - 3.5	2.0 - <4.0		0.3 - < 0.5
E	>5.0 ⁴	> 3.5 ⁴	4.0 ⁴		0.5 - 1.2
F					> 1.2

¹ This species cannot be used to distinguish between class A and class B. The assessment class is therefore by definition B.

² This species cannot be used to distinguish between classes A, B and C. The assessment class is therefore by definition C.

³ This species cannot be used to distinguish between class C and higher classes. If a VDSI of 4.0 is reached, additional observations are required to determine the assessment class e.g. by using another species. If a VDSI of 4.0 is observed, the assessment class is by definition F.

⁴ These species cannot be used to distinguish between classes E and F. Therefore, additional observations are required to determine the assessment class e.g. by using another species. If the VDSI (*Nassarius*) or the PCI (*Buccinum*) is >3.5, the assessment class is therefore by definition F.

Vedleggstabell B. Vurderingskriterier for TBT-spesifikke effekter på snegl fordelt på 5 kvalitetsklasser. Denne er basert på danske og utenlandske undersøkelser (Strand mfl. 2006). Rødkonk = vanlig havsnegl, Alm. konk = kongsnegl, Dværgkonk = nettsnegl (*Nassarius reticulatus*).

Kvalitetsklasse	I	II	III	IV	V
VDSI i purpursnegl	< 0,3	0,3 - < 2	2 - 4	> 4 - > 5	Forsvundet
ISI i alm. strandsnegl	< 0,3			0,3 - 1,2	> 1,2
VDSI i rødkonk	< 0,3	0,3 - < 2	2 - < 4	4 - 4+	
VDSI i alm. konk	< 0,3		0,3 - < 2	2 - < 4	4 - 4+
VDSI i dværgkonk	< 0,3		0,3 - < 2	2 - < 4	4 - 4+
Approx. TBT konc. (aq) (ng TBT/l)	"tæt på nul" (< 0,01)	0,01 - < 0,1	0,1 - < 1,5	1,5 - 15	> 15

Beskrivelse av de fem klassene for imposex for purpursneglen, som representant for den mest følsomme sneglearten (Strand mfl. 2006).

I	VDSI <0,3	Frekvensen af imposex er mindre end 30% i populationer af purpursnegl, der tilhører de mest følsomme arter af gastropoder. Koncentrationen af TBT og deraf følgende effekter vurderes "tæt på nul".
II	VDSI 0,3 - <2	Op til 100% imposex kan forekomme i de mest følsomme gastropod-populationer, men sterile hunner er ikke sandsynligt. Der vurderes at være en minimal risiko for alvorlige kroniske effekter i de mest følsomme arter i økosystemet forårsaget af langtidspåvirkninger, idet koncentrationen af TBT vurderes at være lavere end 0,1 ng/l, dvs. < EQS.
III	VDSI 2 - 4	Forekomst af sterile hunner i gastropod-populationer er mindre sandsynligt. Der vurderes at være risiko for alvorlige kroniske effekter i de mest følsomme arter, idet koncentrationen af TBT vurderes at være højere end 0,1 ng/l, dvs. > EQS. Derimod er risikoen minimal for akutte effekter, idet koncentrationen af TBT vurderes at være lavere end 1,5 ng/l, dvs. < MAC-QS.
IV	VDSI >4 - >5	Sterile hunner forekommer i de mere og eventuelt i de mindre følsomme gastropod-populationer. Der vurderes at være risiko for akutte effekter i de mest følsomme arter i økosystemet, idet koncentrationen af TBT vurderes (i gennemsnit) at være højere end 1,5 ng/l, dvs. < MAC-QS.
V	Forsvundet	De mest følsomme gastropod-populationer er forsvundet. Sterile hunner kan dominere i de mindre følsomme gastropod-populationer. Der er risiko for både kroniske og akutte effekter i en række arter i økosystemet.

Vedleggstabell C. Fra Klifs Klassifisering av miljøkvalitet i fjorder og kystfarvann (SFT TA-1467/1997, og Bakke mfl. 2007). Det er ingen egen TBT klassifisering på snegl, så blåskjell er det nærmeste man kan sammenligne med.

I	II	III	IV	V
Bakgrunn	God	Moderat	Dårlig	Svært dårlig
Bakgrunnsnivå	Ingen toksiske effekter	Kroniske effekter ved langtids-eksponering	Akutt toksiske effekter ved kort-tidseksponering	Omfattende akutt-toksiske effekter

Tabell 8. Klassifisering av tilstand ut fra organismers innhold av metaller, arsen og fluorid. * ved sentien i kl. I markerer forandring fra tidligere (justeringer i de øvrige klasser ikke avmerket). Ny parameter er merket **.

Arter/vev:	Parametre:	Tilstandsklasser:				
		I Ubetydelig- Lite forurenset	II Moderat forurenset	III Markert forurenset	IV Sterkt forurenset	V Meget sterkt forurenset
Blæretang og grisetang øvre 10 cm (tørrvektsbasis)	Arsen (mg/kg)	< 50	50 - 150	150 - 350	350 - 700	> 700
	Bly (mg/kg)	< 1*	1-3	3-10	10 - 30	> 30
	Fluorid (mg/kg)	< 15	15 - 50	50 - 100	100 - 300	> 300
	Kadmium (mg/kg)	< 1.5	1.5 - 5	5 - 20	20 - 40	> 40
	Kobber (mg/kg)	< 5*	5 - 15	15 - 50	50 - 150	> 150
	Krom (mg/kg)	< 1	1 - 5	5 - 15	15 - 50	> 50
	Kvikksølv (mg/kg)	< 0.05	0.05 - 0.15	0.15 - 0.5	0.5 - 1	> 1
	Nikkel (mg/kg)	< 5	5 - 25	25 - 50	50 - 100	> 100
	Sink (mg/kg)	< 150*	150 - 400	400 - 1000	1000 - 2500	> 2500
	Sølv (mg/kg)	< 0.5	0.5 - 1.5	1.5 - 5	5 - 10	> 10
Blåskjell blottdeler minus lukkemuskler (tørrvektsbasis)	Arsen (mg/kg)	< 10	10 - 30	30 - 100	100 - 200	> 200
	Bly (mg/kg)	< 3*	3 - 15	15 - 40	40 - 100	> 100
	Fluorid (mg/kg)	< 15	15 - 50	50 - 150	150 - 300	> 300
	Kadmium (mg/kg)	< 2	2 - 5	5 - 20	20 - 40	> 40
	Kobber ⁽¹⁾ (mg/kg)	< 10	10 - 30	30 - 100	100 - 200	> 200
	Krom (mg/kg)	< 3	3 - 10	10 - 30	30 - 60	> 60
	Kvikksølv (mg/kg)	< 0.2	0.2 - 0.5	0.5 - 1.5	1.5 - 4	> 4
	Nikkel (mg/kg)	< 5	5 - 20	20 - 50	50 - 100	> 100
	Sink ⁽¹⁾ (mg/kg)	< 200	200 - 400	400 - 1000	1000 - 2500	> 2500
	Sølv (mg/kg)	< 0.3	0.3 - 1	1 - 2	2 - 5	> 5
TBT ^{(2) **} (mg/kg)	< 0.1	0.1 - 0.5	0.5 - 2	2 - 5	> 5	
Vanlig strandsnegl blottdeler (tørrvektsbasis)	Arsen (mg/kg)	< 30	30 - 75	75 - 300	300 - 600	> 600
	Bly (mg/kg)	< 10	10 - 25	25 - 75	75 - 150	> 150
	Kadmium (mg/kg)	< 2	2 - 8	8 - 25	25 - 50	> 50
	Kobber (mg/kg)	< 150	150 - 300	300 - 750	750 - 1500	> 1500
	Krom (mg/kg)	< 3	3 - 10	10 - 30	30 - 60	> 60
	Kvikksølv (mg/kg)	< 0.5	0.5 - 2	2 - 5	5 - 10	> 10
	Nikkel (mg/kg)	< 10	10 - 30	30 - 100	100 - 200	> 200
	Sink (mg/kg)	< 100	100 - 300	300 - 1000	1000 - 2000	> 2000
	Sølv (mg/kg)	< 3	3 - 10	10 - 20	20 - 40	> 40
Torsk filet (friskvektsbasis)	Kvikksølv (mg/kg)	< 0.1	0.1 - 0.3	0.3 - 0.5	0.5 - 1	> 1

⁽¹⁾ Blåskjell har evne til å regulere opptak, særlig ved moderate konsentrasjoner. Tang er bedre som indikator.

⁽²⁾ Tributyltin. Grensen for kl. I er beregnet ut fra vannkvalitetskriterium på 1 ng/l (fr. Zabel et al, 1988, Moore et al, 1992) og et forhold mellom konsentrasjonene i blåskjell (våttvektsbasis) og vann på ca. 10000. Forholdet skjell : vann varierer fra ca. 5000 til over 50000, og øker med avtagende TBT-innhold i vannet (Knutzen et al.1995 m.ref.). Ved svak belastning (1 ng/l og mindre) kan det derfor antas at bruk av et forholdstall på 10000:1 gir en sikkerhetsmargin (0,1 mg/kg tørrvekt i blåskjell tilsvarende < 1 ng/l i vann).

Vedleggstabell D. Fra Klifs Klassifisering av tilstand ut fra innhold av metaller og organiske stoffer i sedimenter (Bakke mfl. 2007).

			I	II	III	IV	V
			Bakgrunn	God	Moderat	Dårlig	Svært dårlig
Metaller	Arsen	mg/kg	20	52	76	580	>580
	Bly	mg/kg	30	83	100	720	>720
	Kadmium	mg/kg	0,25	2,6	15	140	>140
	Kobber	mg/kg	35	51	55	220	>220
	Krom	mg/kg	70	560	5900	59000	>59000
	Kvikksølv	mg/kg	0,15	0,63	0,86	1,6	>1,6
	Nikkel	mg/kg	30	46	120	840	>840
	Sink	mg/kg	150	360	590	4500	>4500
PAH	Naftalen	µg/kg	2	290	1000	2000	>2000
	Acenaftylen	µg/kg	1,6	33	85	850	>850
	Acenaften	µg/kg	4,8	160	360	3600	>3600
	Fluoren	µg/kg	6,8	260	510	5100	>5100
	Fenantren	µg/kg	6,8	500	1200	2300	>2300
	Antracen	µg/kg	1,2	31	100	1000	>1000
	Fluoranthen	µg/kg	8	170	1300	2600	>2600
	Pyren	µg/kg	5,2	280	2800	5600	>5600
	Benzo[a]antracen	µg/kg	3,6	60	90	900	>900
	Chrysen	µg/kg	4,4	280	280	560	>560
	Benzo[b]fluoranten	µg/kg	46	240	490	4900	>4900
	Benzo[k]fluoranten	µg/kg		210	480	4800	>4800
	Benzo(a)pyren	µg/kg	6	420	830	4200	>4200
	Indeno[123cd]pyren	µg/kg	20	47	70	700	>700
	Dibenzo[ah]antracen	µg/kg	12	590	1200	12000	>12000
	Benzo[ghi]perylene	µg/kg	18	21	31	310	>310
PAH16 (1)	µg/kg	300	2000	6000	20000	> 20000	
Andre organiske	PCB7 (2)	µg/kg	5	17	190	1900	>1900
	PCDD/F (TEQ) (3)	µg/kg	0,01	0,03	0,1	0,5	>0,5
	ΣDDT (4)	µg/kg	0,5	20	490	4900	>4900
	Lindan	µg/kg		1,1	2,2	11	>11
	Heksaklorbenzen (HCB)	µg/kg	0,5	17	61	610	>610
	Pentaklorbenzen	µg/kg		400	800	4000	>4000
	Triklorbenzen	µg/kg		56	700	1400	>1400
	Hexaklorbutadien	µg/kg		49	66	660	>660
	SCCP (6)	µg/kg		1000	2800	5600	>5600
	MCCP (7)	µg/kg		4600	27000	54000	>54000
	Pentaklorfenol	µg/kg		12	34	68	>68
	Oktylfenol	µg/kg		3,3	7,3	36	>36
	Nonylfenol	µg/kg		18	110	220	>220
	Bisfenol A	µg/kg		11	79	790	>790
	TBBPA (8)	µg/kg		63	1100	11000	>11000
	PBDE (9)	µg/kg		62	7800	16000	>16000
	HBCDD (10)	µg/kg	0,3	86	310	610	>610
PFOS (11)	µg/kg	0,17	220	630	3100	>3100	
Diuron	µg/kg		0,71	6,4	13	>13	
Irgarol	µg/kg		0,08	0,5	2,5	>2,5	
TBT	TBT (12) Effektbasert	µg/kg	1,0	0,002	0,016	0,032	>0,032
	TBT (12) Forvaltningsbasert	µg/kg	1,0	5	20	100	>100

1) PAH: Polysykliske aromatiske hydrokarboner

2) PCB: Polyklorerte bifenyler

3) PCDD/F: Polyklorerte dibenzodioxiner/furaner

4) DDT : Diklordifenyltrikloretan. ΣDDT betenger sum av DDT og nedbrytningsproduktene DDE og DDD

5) HCB : Heksaklorbenzen

6) SCCP : Kortkjededede (C10-13) polyklorerte paraffiner

7) MCCP : Middelkjededede(C14-17) polyklorerte paraffiner

8) TBBPA : Tetra-brombisfenol A

9) PBDE : Pentabromdifenyleter

10) HBCDD : Heksabromsyklododekan

11) PFOS : Perfluorert oktylsulfonat

12) TBT : Tributyltinn

I Klifs klassifiseringssystem brukes to klassegrenser for TBT. Effektbasert er den klassegrensen som gir påvirkning på snegl. Klassifiseringsgrenser for TBT i sediment har vist seg å bli ekstremt lave og lite egnet som grunnlag for forvaltning. Disse brukes som et ønsket mål, men inntil videre opprettholdes de tidlige klassifiseringsgrensene.

Vedleggstabell E. TBT i snegl. Analyseresultater fra Eurofins, 22.11.2011.

			Tributytylenn (TBT) (µg/kg)	Dibutytylenn (DBT) (µg/kg)	Difenyltinn (DPHT) (µg/kg)	Dioktylenn (DOT) (µg/kg)	Monobutytylenn (MBT) (µg/kg)	Mono-fenyltinn (MPHT) (µg/kg)	Mono-oktylenn (MOT) (µg/kg)	Tetra-butyltinn (TetraBT) (µg/kg)	Trifenylylenn (TPHT) (µg/kg)	Trisykloheksyltinn (TCHT) (µg/kg)	Tørrestoff (%)
st 1, 2010	Hinia	2010	6,60	2,60	<0,3	<0,4	2,00	<0,3	<0,4	<0,3	<0,3	<0,3	70,60
1	Hinia	2011	6,00	2,20	<0,3	<0,4	1,50	<0,3	<0,4	<0,3	0,80	<0,3	70,10
4	Hinia	2011	21,50	12,50	<0,3	<0,4	6,10	<0,3	<0,4	<0,3	1,50	<0,3	67,30
5	Hinia	2011	60,80	43,60	0,40	<0,4	37,40	<0,3	<0,4	0,30	2,30	<0,3	67,20
5b	Hinia	2007	18,10	49,60	2,70	<0,4	60,00	1,00	<0,4	<0,3	14,40	<0,3	62,10
5b	Hinia	2010	73,60	45,70	<0,3	<0,4	37,00	<0,3	<0,4	<0,3	7,90	<0,3	66,40
5b	Hinia	2011	91,00	63,10	1,70	<0,4	47,30	1,20	<0,4	1,00	6,40	<0,3	67,00
6	Hinia	2007	56,10	144,00	4,50	<0,4	297,00	3,70	<0,4	<0,3	20,70	<0,3	60,60
6	Hinia	2009	248,00	219,00	6,40	<0,4	156,00	3,10	<0,4	0,90	13,30	<0,3	65,40
6	Hinia	2011	90,00	72,10	1,90	<0,4	56,20	1,80	<0,4	0,90	5,40	<0,3	65,60
7	Hinia	2007	53,40	127,00	5,00	<0,4	185,00	3,90	<0,4	<0,3	20,80	<0,3	64,60
7	Hinia	2010	65,90	47,00	1,60	<0,4	38,90	<0,3	<0,4	<0,3	7,50	<0,3	71,40
7	Hinia	2011	68,00	50,10	2,30	<0,4	37,80	1,00	<0,4	<0,3	3,60	<0,3	62,70
1	Littorina	2011	5,00	2,90	<0,3	<0,4	2,80	<0,3	<0,4	<0,3	<0,3	<0,3	68,90
4	Littorina	2011	30,40	19,20	<0,3	<0,4	15,20	<0,3	<0,4	<0,3	1,10	<0,3	71,00
5	Littorina	2011	96,70	58,70	<0,3	<0,4	41,30	<0,3	<0,4	<0,3	1,90	<0,3	72,70
5b	Littorina	2007	35,70	55,80	<0,3	<0,4	65,40	<0,3	<0,4	<0,3	4,60	<0,3	67,30
5b	Littorina	2010	243,00	94,90	0,80	<0,4	74,50	<0,3	<0,4	2,80	5,20	<0,3	66,30
5b	Littorina	2011	144,00	50,00	<0,3	<0,4	29,60	1,50	<0,4	1,00	1,40	<0,3	69,60
6	Littorina	2005	148,00	340,00	0,90	<0,4	560,00	<0,3	<0,4	3,50	10,90	<0,3	70,60
6	Littorina	2007	31,30	85,20	<0,3	<0,4	179,00	<0,3	<0,4	<0,3	9,90	<0,3	65,90
6	Littorina	2009	69,80	138,00	<0,3	<0,4	203,00	<0,3	<0,4	0,80	9,40	<0,3	73,00
6	Littorina	2010	500,00	285,00	2,50	<0,4	245,00	0,80	<0,4	7,60	12,70	<0,3	69,60
6	Littorina	2011	266,00	216,00	4,10	<0,4	270,00	1,30	<0,4	10,70	4,60	<0,3	74,50
7	Littorina	2007	97,70	135,00	0,60	<0,4	155,00	<0,3	<0,4	<0,3	10,80	<0,3	63,50
7	Littorina	2010	113,00	58,70	<0,3	<0,4	38,70	<0,3	<0,4	<0,3	4,70	<0,3	71,20
7	Littorina	2011	78,80	53,60	<0,3	<0,4	60,50	<0,3	<0,4	<0,3	1,40	<0,3	72,30
1	Nucella	2011	2,80	0,80	<0,3	<0,4	<0,3	<0,3	<0,4	<0,3	<0,3	<0,3	68,80

Vedleggstabell E forts. TBT i sediment. Analyseresultater fra Eurofins.

	Dibutyltinn (DBT) (µg/kg tv)	Dibutyltinn - Sn (µg/kg tv)	Dioktyltinn (DOT) (µg/kg tv)	Dioktyltinn - Sn (DOT-Sn) (µg/kg tv)	Monobutyltinn (MBT) (µg/kg tv)	Monobutyltinn (MBT) - Sn (µg/kg tv)	Monooktyltinn (MOT) (µg/kg tv)	Monooktyltinn (MOT) - Sn (µg/kg tv)	Tetrabutyltinn (TetraBT) (µg/kg tv)	Tetrabutyltinn - Sn (µg/kg tv)	Tributyltinn (TBT) (µg/kg tv)	Tributyltinn (TBT) - Sn (µg/kg tv)	Tributyltinn (TBT) - Sn (µg/kg tv)	Trifenyltinn (PhT) (µg/kg tv)	Trifenyltinn (PhT) - Sn (µg/kg tv)	Trisykloheksyltinn (TCHT) (µg/kg tv)	Trisykloheksyltinn (TCHT) - Sn (µg/kg tv)	Tørrestoff (%)
2650-01 st.7 2007 (4)	7,80	4,00	< 2	< 0,7	3,10	4,60	< 1	< 2	< 2	< 0,7	11,20	27,50	< 0,7	< 2	< 0,7	< 2,2	< 0,7	82,59
2650-02 st.6 2007 (4)	46,10	23,50	< 1,1	< 0,4	15,10	22,30	< 0,7	< 1,4	4,90	1,70	100,00	244,00	1,70	5,10	< 0,7	< 2,3	< 0,7	83,12
2650-03 st.5B 2007	< 2	< 1	< 2	< 0,7	< 1,4	< 2	< 1	< 2	< 2	< 0,7	< 1,3	< 3,1	< 0,7	< 2	< 0,7	< 2,2	< 0,7	80,87
2650-04 st.7 2011 (4)	10,60	5,40	< 2	< 0,7	4,30	6,40	< 1	< 2	< 2	< 0,7	18,50	45,30	< 0,7	< 2	< 0,7	< 2,2	< 0,7	79,78
2650-05 st.5b 2011	7,00	3,60	< 2	< 0,7	< 2,1	< 3,1	< 1	< 2	< 2	< 0,7	7,40	18,00	< 0,7	< 2	< 0,7	< 2,2	< 0,7	86,34
2650-06 st.6 2011 (4)	65,80	33,50	< 0,8	< 0,3	17,80	26,40	< 0,4	< 0,7	6,50	2,20	138,00	338,00	1,50	4,50	< 0,7	< 2	< 0,7	69,61
2650-07 st.1 2011 (4)	< 2	< 1	< 2	< 0,7	< 1,4	< 2	< 1	< 2	< 2	< 0,7	< 0,8	< 2	< 0,7	< 2	< 0,7	< 2,2	< 0,7	67,94

NIVA: Norges ledende kompetansesenter på vannmiljø

NIVA gir offentlig vannforvaltning, næringsliv og allmennheten grunnlag for god vannforvaltning gjennom oppdragsbasert forsknings-, utrednings- og utviklingsarbeid. NIVA kjennetegnes ved stor faglig bredde og godt kontaktnett til fagmiljøer i inn- og utland. Faglig tyngde, tverrfaglig arbeidsform og en helhetlig tilnæringsmåte er vårt grunnlag for å være en god rådgiver for forvaltning og samfunnsliv.



Norsk institutt for vannforskning

Gaustadalléen 21 • 0349 Oslo
Telefon: 02348 • Faks: 22 18 52 00
www.niva.no • post@niva.no