

Beskrivning av delprogrammet- Missbildade embryon av vitmärla, *Monoporeia affinis* och *Pontoporeia femorata*

Embryonalutvecklingen hos vitmärla (sötvattensmärlan *Monoporeia affinis* och den marina släktingen *Pontoporeia femorata*) används för att på individnivå bestämma hälsotillståndet hos två av Östersjöns viktigaste makrofaunaarter med avseende på dels biomassa, produktion samt potentiell föda för fisk och andra större evertebrater. Båda arterna livnär sig på alger och bakterier i sedimentets ytskikt men *Pontoporeia* lever lite djupare ned i sedimentet.

Vitmärlans embryonalutveckling har visat sig mycket föroreningskänslig och andelen missbildade och membranskadade embryon speglar belastningen av föroreningar som metaller och organiska miljögifter. Vi har nyligen även funnit att PAHer och metaller kan ge upphov till outvecklade embryon. Vidare har andra embryostörningar än missbildade embryon, som döda ägg och äggkullar samt även utvecklade embryon visat en korrelation till sekundära eutrofieringseffekter som syrebrist och förhöjda temperaturer i vattenmassan. Delprogrammet skall i första hand följa förändringar i miljötillståndet med avseende på antropogena farliga ämnen men även till en viss grad kunna följa förändringar i syresituationen på bottenarna. Delprogrammet skapar tidsserier för vitmärlornas hälsotillstånd samt kemiska variabler i sediment och bottenvatten.

Delprogrammet omfattar ett antal stationer från norra Kvarken ned till Östergötlands skärgård: 16 stationer i Bottenhavet och 14 stationer i egentliga Östersjön, inkluderande dels mer kustnära stationer dels utsjöstationer. I möjligaste mån sammanfaller stationsvalet med bottenfaunaprogrammet vid Institutionen för ekologi, miljö och botanik (DEEP) och Umeå Marina Forskningscenter (UMF). Programmet reviderades 2012 för att få en bättre geografisk täckning. Under 2012 provtogs flera stationer ned till Hanöbukten men av ekonomiska skäl togs de sydligaste stationerna bort i det slutgiltiga programmet. Fartygskostnaderna som ökat kraftigt de senaste åren var orsaken till att det inte var möjligt att täcka upp hela kusten.

Provtagning sker en gång per år i egentliga Östersjön, och Bottenhavet (januari). I Bottenhavet och egentliga Östersjön sker registrering av vitmärlans embryonalutveckling samt organiskt kol i sediment. Resultaten används för att producera en årlig tillståndsbeskrivning över vitmärlornas hälsotillstånd med fokus på embryonala utvecklingsstörningar och över de sedimentrelaterade klimatvariabler som kan inverka. En översyn av programmets utformning och ingående variabler görs ca vart 5:e år på Naturvårdsverkets initiativ.

1.1 Mål och syfte

Syftet är att följa långsiktiga belastningsförändringar av främst metaller och organiska miljögifter genom att dokumentera biologiska effekter med hjälp av vitmärlans embryonalutveckling. Tillstånd och trender skall kunna redovisas för de 9 olika regioner (se karta) som ingår i programmet. Region 10 har bara provtagits under 2 år (2012 och 2016) på grund av bristande finansiering.

Delprogrammet skall alltså i första hand följa förändringar i miljötillstånd med avseende på antropogena föroreningar men även kunna följa förändringar i syresituationen och andra stressfaktorer som t.ex. föda på bottenarna för att skapa förutsättningar för ett hållbart nyttjande av havsresurserna och undersökningen kan kopplas till miljömålen *Giffri miljö, Ingen övergödning* och *Hav i balans samt levande kust och skärgård*.

Delprogrammets mål och syfte har formulerats av Naturvårdsverket med avsikt att följa tillståndet i havsmiljön i enlighet med miljö kvalitetsmålen (SNV 4999). Metodmässigt skall delprogrammet embryonalutveckling hos vitmärla följa Naturvårdsverkets Handbok för miljöövervakning samt instruktioner utarbetade av HELCOM/ICES.

1.2 Styrdokument

1.2.1 Undersökningar/undersökningstyper

| Undersökningar | Undersökningstyper | Status undersökningstyp |
|--|---|-------------------------|
| Embryonalutveckling hos vitmärla, trend och områdesövervakning | Embryonalutveckling hos <i>Monoporeia affinis</i> och <i>Pontoporeia femorata</i> | Uppdaterad 2021-03 |
| Sediment, basundersökning vitmärla | Org. C i sediment | Är under uppdatering |

1.3 Beställare, ansvarig utförare samt styrning och förankringsprocesser

Naturvårdsverkets miljöövervakningsenhet är beställare av delprogrammet. Ansvarig för delprogrammet är Elisabeth Nyberg på miljögiftsenheten, samhällsavdelningen.

Programområdesansvarig, Naturvårdsverket:

Elisabeth Nyberg

Miljögiftsenheten

Naturvårdsverket

106 48 Stockholm

E-post: elisabeth.nyberg@naturvardsverket.se

Tel: 010-698 17 68

Experter, ACES

Elena Gorokhova

Tel: 08-674 73 41

E-post: elena.gorokhova@aces.su.se

Brita Sundelin

Tel: 070-3136059.

E-post: brita.sundelin@aces.su.se

Karin Bergman

Tel: 08-674 74 72.

E-post: karin.bergman@aces.su.se

Institutionen för Miljövetenskap (ACES)

Stockholms universitet

106 91 Stockholm

1.4 Finansiering och kostnad

Delprogrammet finansieras till största delen inom ramen för Naturvårdsverkets miljöövervakningsanslag. Verksamheten finansieras dock till viss del från utförande institution i form av underhåll av dyrbar utrustning som stereomikroskop och bildanalysutrustning. Vidare är fartygstiden delvis subventionerad i egentliga Östersjön av Östersjöcentrum och av UMF i Bottenhavet.

Naturvårdsverkets anslag för delprogrammet 2021 är 1 217 000 kr.

1.5 Användare och användningsområden

Resultaten från programmet presenteras i en årlig rapport till Naturvårdsverket alternativt som en presentation på Vattenmiljöseminariet de år som det är aktuellt. Tidsserierna som tidigare presenterats i tidskriften Havet, som gavs ut av Hav och Vattenmyndigheten, Havsmiljöinstitutet och Naturvårdsverket, är dessutom värdefulla som bakgrundsinformation för länsstyrelser vid t.ex. recipientkontroll där vitmärlans embryonalutveckling använts vid ett flertal tillfällen.

Eftersom en del av stationerna sammanfaller med de som ingår i makrofaunaprogrammet kan tidsserierna användas för att öka förståelsen till registrerade förändringar i vitmärlans individtäthet och biomassa.

Genom att koppla samman information från olika delprogram, t.ex. produktionsdata i pelagialprogrammet och miljögifter, kan vi erhålla en mer sammansatt bild över miljösituationen samt få en ökad förståelse av orsakssammanhang och hur olika processer i ekosystemet styrs. Data som genereras från programmet utgör regelbundet underlag för vetenskapliga publikationer.

1.6 Uppföljning av syfte

Andelen missbildade embryon har i ett flertal studier på laboratoriet och i fält prövats som redskap för att detektera effekter av föroreningar som metaller och organiska miljögifter. Känsligheten har befunnits vara stor i jämförelse med andra variabler hos makrofaunan som används i toxicitetsstudier, t.ex. mortalitet, biomassa, kondition (vikt/längd), tillväxt, taxonomisk struktur hos meiofaunan, befruktningsfrekvens, fekunditet (ägg per hona). Parallellt med det nationella havsprogrammet används undersökningstypens variabler i laboratoriestudier och i recipienter för att ytterligare verifiera användbarheten. Se referenslista över variabelers vetenskapliga relevans. Metodiken har inom ICES uppdaterats till en rekommenderad övervakningsmetod för att detektera effekter av föroreningar och frekvens av missbildade embryon samt honor med missbildade embryon i populationen är även en supplementär indikator inom HELCOM och avsikten är att få den uppdaterad till att bli en godkänd s.k. core indikator. Idag är endast en biologisk metod godkänd core indikator (imposex).

Mätningarna har gjorts på 2 olika vitmärlearter i Östersjön, *Monoporeia affinis* och *Pontoporeia femorata*. Fram till 2012 skedde kvantitativa provtagningar i form av 5 Van Veen hugg per station. I Bottenhavet har en kraftig minskning skett av vitmärslans populationstäthet sedan år 2000. För att erhålla ett tillräckligt stort antal individer för den statistiska analysen har de kvantitativa proven kompletterats med ett bottenskrap per station i både Bottenhavet och Egentliga Östersjön sedan 2003. En viktning har sedan skett vid den statistiska analysen. Från 2012 då programmet reviderades tas istället för hugg 2-3 skrap per station för att få ett tillräckligt stort antal individer på kortast möjliga tid med tanke på de dyra fartygskostnaderna. Detta innebär att vi inte längre erhåller kvantitativa prov för att göra en bestämning av populationstätheten vid provtagning men den informationen kan erhållas från makrofaunaprogrammet då flertalet stationer sammanfaller.

En årlig kvalitetskontroll (se Kvalitetssäkring i Handboken) av analys säkerheten har gett 98% överensstämmelse i bedömningen av andelen avvikande ägg (missbildade, membranskadade, döda och odifferentierade ägg och embryon). Kolanalyser utförs av ackrediterat laboratorium vid Institutionen för Ekologi, Miljö och Botanik (DEEP), Stockholms universitet.

2 Information som erhålls inom delprogrammet

2.1 Design och Stationsnät

2.1 Stationsnät

Tabell 1. Stationer i egentliga Östersjön.

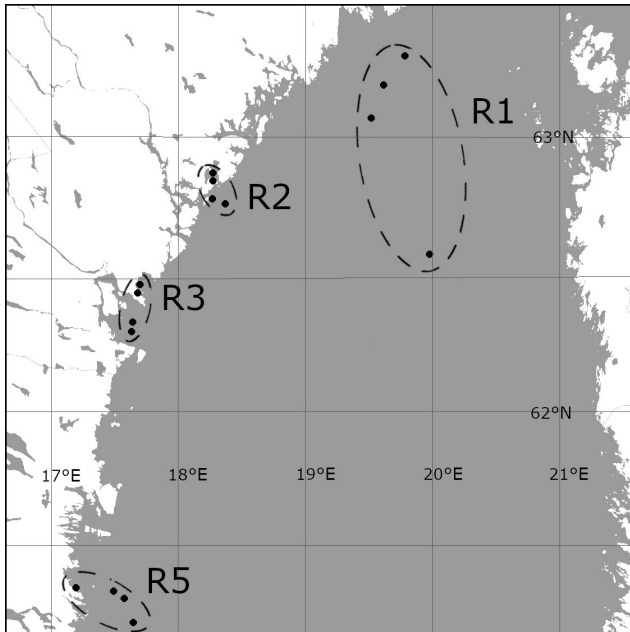
| Område | Station | Djup (m) | Latitud | Longitud | Kust/utsjö |
|--------|---------|----------|---------|----------|------------|
|--------|---------|----------|---------|----------|------------|

| | | | | | |
|------------------|----------------|----|------------|------------|------------|
| Svartlögafjärden | KUD 64 | 33 | N 59 34,60 | E 19 07,17 | Kust |
| Svartlögafjärden | SV3 | 60 | N 59 30,48 | E 19 00,26 | Kust |
| Kobbjärden | KO 2 | 37 | N 59 33,51 | E 19 22,15 | Kust |
| Svenska Björn | SB 8 | 62 | N 59 30,56 | E 19 49,32 | Kust/utsjö |
| Svenska Björn | 1003 | 58 | N 59 31,23 | E 19 50,17 | Kust/utsjö |
| Askö | 6020 | 36 | N 58 48,67 | E 17 36,59 | Kust |
| Askö | 6025 | 38 | N 58 47,47 | E 17 43,87 | Kust |
| Askö | 6004 | 42 | N 58 46,52 | E 17 41,50 | Kust |
| Askö | Grund Utsjö | 50 | N 58 45,14 | E 17 57,77 | Kust |
| Askö | 6022 | 46 | N 58 44,68 | E 17 48,75 | Kust |
| Askö | 6019 | 41 | N 58 44,32 | E 17 40,58 | Kust |
| Hävringe | HAE 3 | 43 | N 58 31,18 | E 17 18,96 | Kust |
| St Anna | St Anna 6 | 16 | N 58 22,18 | E 16 57,62 | Kust |
| Gryt | Gryt 1 | 25 | N 58 15,59 | E 16 54,47 | Kust |
| Gryt | Gryt 3 | 19 | N 58 10,77 | E 16 54,53 | Kust |

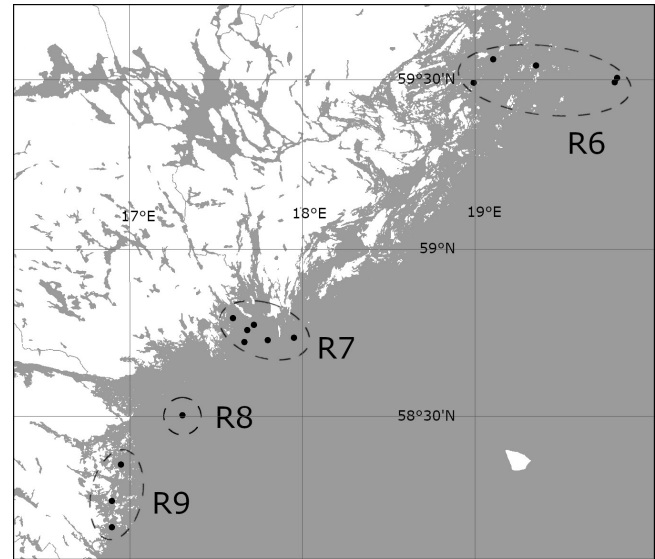
Tabell 2. Stationer i Bottenhavet.

| Område | Station | Djup (m) | Latitud | Longitud | Kust/utsjö |
|-----------------------|---------|-------------|------------|------------|------------|
| N. Bottenhavet utsjö | N 25 | 123 | N 63 18,70 | E 19 48,20 | Kust/utsjö |
| N. Bottenhavet utsjö | N 26 | 134 | N 63 12,50 | E 19 38,15 | Kust/utsjö |
| N. Bottenhavet utsjö | N 27 | 134 | N 63 05,42 | E 19 32,50 | Kust/utsjö |
| N. Bottenhavet utsjö | US5 | 137 | N 62 36,01 | E 20 00,00 | Utsjö |
| Gavik/Edsätterfjärden | G 10 | 53 | N 62 53,44 | E 18 17,33 | Kust |
| Gavik/Edsätterfjärden | G 11 | 75 | N 62 51,90 | E 18 17,50 | Kust |
| Höga Kusten | N 4-1 | 68 | N 62 47,98 | E 18 17,29 | Kust |

| | | | | | |
|-----------------------|--------|----|------------|------------|------|
| Höga Kusten | N 4-3 | 86 | N 62 46,97 | E 18 23,52 | Kust |
| Sundsvall/Åvikebukten | Åv 1 | 70 | N 62 29,26 | E 17 43,68 | Kust |
| Sundsvall/Åvikebukten | Åv 2 | 60 | N 62 27,71 | E 17 42,19 | Kust |
| Sundsvall | Su 4 | 80 | N 62 19,06 | E 17 39,04 | Kust |
| Sundsvall | Su 5 | 54 | N 62 20,91 | E 17 39,38 | Kust |
| N Söderhamn | R 2-13 | 24 | N 61 21,89 | E 17 12,84 | Kust |
| Söderhamn | N 2-4 | 62 | N 61 21,10 | E 17 30,79 | Kust |
| Söderhamn | N 2-3 | 60 | N 61 19,44 | E 17 35,59 | Kust |
| Söderhamn | SR 1A | 61 | N 61 14,00 | E 17 40,00 | Kust |



Figur 1. Karta över stationer och regioner i Bottenhavet.



Figur 2. Karta över stationer och regioner i egentliga Östersjön.

2.2 Variabler

Variabler som analyseras är fekunditet (ägg/per hona), parasitangrepp och somitskador (synliga skador på skal och extremiteter) hos honan, % missbildade, membranskadade, döda samt obefruktade/outvecklade (odifferentierade) embryon och % honor med en död äggsamling i äggkammaren (marsupiet). För detaljerad beskrivning se Handboken samt beskrivning för biologisk analys. i metodreferenser.

Tabell 3. Biologiska variabler som övervakas inom delprogrammet.

| Reproduktionsvariabler hos <i>M. affinis</i> och <i>P. femorata</i> | Beskrivning | Variabler |
|---|--|---|
| Fekunditet | Ägg per hona | |
| Utvecklingsstadium | Embryoutveckling indelad i en skala 1-9, där 1 representerar de första celledningarna och 9 den nykläckta juvenilen. | |
| Missbildade embryon | Embryon med förkortad eller oregelbunden midgut, förkortade ben eller oregelbundna kommaliknande komplexögon. | Procent honor med missbildade embryon i kullen Medianvärde för procent missbildade embryon i kullen. |
| Membranskadade embryon | Embryon med ett läckage av lipider mellan inre och yttre äggmembran, förstörade embryon (ödem) eller avvikande äggform. | Procent honor med membranskadade embryon i kullen. Medianvärde för procent membranskadade embryon. |
| Embryon med avstannad utveckling | Embryon där utvecklingen avstannat innan gastrulation. | Procent honor med avstannad utveckling (outvecklade eller odifferentierade embryon) hos embryon i kullen. Medianvärde för embryon med avstannad utveckling i kullen. |
| Död äggsamling | Döda ägg eller embryon där nedbrytningen medfört att individuella embryon ej kan identifieras utan förekommer som en mörk fettsamling i marsupiet. | Procent honor med död äggsamling |
| Partiell död äggsamling | Död äggsamling (se ovan) kombinerat med levande ägg eller embryon. | Procent honor med partiell död äggsamling |

2.3 Kringinformation som samlas in i delprogrammet

Koncentrationen sulfider, pH och redoxpotential samt syre i bottenvatten studerades vid programstarten. Sedan 1999 analyserades även syre i sedimenten. Tanken var att syremätningarna skulle ersätta sulfidanalyserna eftersom ingen korrelation mellan embryoskador och sulfider erhöles. Vidare har hormonhalter (skalömsningshormon, ecdysteroider) som är väsentliga både för tillväxt och reproduktion hos kräftdjur och

insekter, analyserats i vitmärlans olika åldersklasser under året för att bestämma den naturliga variationen i olika årsklasser under året. Avsikten var att variabeln skall kunna utgöra ett komplement till analysen för att möjliggöra detektion av hormonstörande kemikalier. I samband med revisionen av stationsnätet finns inte längre någon ekonomisk möjlighet att analysera syre i sediment då detta kräver en separat provtagning under hösten eller ecdysteroider i vitmärlan. CTD mätningar för att mäta syre i bottenvatten är inte heller möjliga att genomföra på grund av att det kräver ökad fartygstid. Syresituationen under januari är dessutom inte relevant för att förstå orsaken till döda äggsamlingar och döda ägg eftersom dessa variabler framför allt påverkas av syresituationen under hösten då vitmärlan gonader tillväxer.

2.4 Information som krävs från andra delprogram

Delprogrammet är utformat för att kunna korrelera de ingående variablerna med variabler i angränsande delprogram som makrofaunaprogrammet samt pelagialprogrammet i Östersjön och Bottenhavet. I möjligaste mån har stationer valts i diskussion med andra kontraktssinnehavare inom det marina övervakningsprogrammet för att underlätta dessa studier.

3 Organisation och kvalitetsrutiner

3.1 Ansvar för delprogrammets utformning samt administration och genomförande

Ansvar för delprogrammets utformning samt administration och genomförande görs i samverkan mellan ansvariga vid Naturvårdsverket och projektledare hos utföraren. Projektledaren är ansvarig för detaljplanering och genomförande av undersökningarna samt för kvalitetssäkring, och kvalitetskontroll, utvärdering och rapportering samt dataleverans till datavärd. För statistisk analys och utvärdering svarar projektledare Elena Gorokhova, laboratoriearbete samt biologiskt och kemiskt analysarbete utförs av Karin Bergman och projektledare. Brita Sundelin svarar för kvalitetssäkring och kvalitetskontroll. Karin Bergman som till 20 % täcks av lön från övervakningsprogrammet svarar också för lagring av data och inköp av förbrukningsmaterial medan projektledare svarar för apparatunderhåll samt inköp av utrustning. Som redare för fartygsresurser fungerar Kustbevakningen.

3.2 Kvalitetsrutiner

3.2.1 Provtagning och analys

Provtagning av sediment och märkräfter för biologisk analys (basundersökning vitmärla) sker enligt överenskommen baltisk standard och krav som anges av HELCOM/ICES. Provtagning för basundersökning, sediment (org. C) sker enligt överenskommen baltisk

standard. Analys av organisk kol genomförs vid ackrediterat laboratorium vid DEEP. Internationell vetenskaplig litteratur följs kontinuerligt för att bevaka utvecklingen av metodik och dess utveckling inom de olika ämnesområdena.

3.2.2 Utvärdering och resultatredovisning

Under 2003 utvärderades alla delprogram och som ett led i utvärderingen genomfördes beräkningar för att fastställa möjligheten att snabbt upptäcka en eventuell trend. En liknande utvärdering gjordes då programmet pågått i 4 år och visade då på relativt goda möjligheter att upptäcka trender och uppfyllde kvalitetskraven som ställts på ingående variabler. Missbildade embryon av *Monoporeia affinis* visade en förhållandevis låg spridning i de olika bassängerna och 5 replikat per station (7 st i egentliga Östersjön och 5 st i Bottenhavet) gav ett tillfredställande statistiskt underlag. Fyra års studier visar även att variabeln uppfyller kvalitetskraven. Mediantiden, på stationsnivå för att upptäcka en årlig 5-%-ig förändring med signifikansnivå $\alpha = 0.05$ är 8 år i Asköområdet och 7 år i Bottenhavet, och med en sannolikhet på 99 % (dvs. $\alpha = 0.01$) skulle en förändring upptäckas efter 13 respektive 11 år. Dessa prediktioner är erhållna genom datorsimuleringar av regressionsanalyser baserade på medelvärden och spridningsmått från 4 års miljöövervakning i egentliga Östersjön och Bottenhavet.

Missbildade embryon, som är en huvudvariabel i undersökningsprogrammet uppvisar en lägre variabilitet än övriga embryovariabler, troligtvis beroende på att sedimenthalter av miljögifter som ger upphov till missbildade embryon ej visar samma årliga fluktuationer som de klimatvariabler (temperatur och syrekonzentration) som ger upphov till döda äggsamlingar, samt döda och outvecklade (odifferentierade) ägg. Även om vi inte har samma möjlighet att snabbt kunna bestämma en ev. trend för dessa variabler som för missbildade embryon och fekunditet, har vi funnit ett starkt samband mellan döda äggsamlingar, döda och odifferentierade ägg och olika klimatvariabler, vilket innebär att vi har en relativt god uppfattning om hur olika skador uppkommer och vad som orsakar dem. Vi har även möjlighet att särskilja effekter av miljögifter från effekter som orsakas av andra klimatrelaterade omgivningsvariabler.

3.2.3 Datalagring

Data från delprogrammet rapporteras till nationell datavärd (SGU) och lagras även vid ACES. Målsättningen är att även rapportera till ICES men för närvarande saknas koder.

3.2.4 Kvalitetskontroller

För den biologiska analysen sker kvalitetssäkring kontinuerligt genom att olika utförare bestämmer ca 50 äggkullar för att kontrollera graden av felprocent, se metodreferenslista i Undersökningstypen. Under 2021 ska intern interkalibrering mellan experter som utför embryoanalys genomföras med hjälp av bildbiblioteket. Eftersom organiskt kol analyseras vid ackrediterat laboratorium sker ackreditering vid DEEP, SU.

4 Resultatredovisning

4.1 Åtkomst av grunddata

Analysdata för effekter av metaller och organiska miljögifter i vitmärta från den nationella miljöövervakningen lagras hos Sveriges geologiska undersökning, SGU som är den nationella datavärden för miljögifter i biota.

4.2 Rapporter/Produkter

Rapporterna från delprogrammet har publicerats i de Marina Centras årliga tillståndsbeskrivningar (Östersjö och Bottniska Viken) sedan 1994. Sedan 2007 publiceras alla miljöövervakningsrapporter om havet i Havet. Den gavs ut mellan 2011-2016 av Havsmiljöinstitutet på uppdrag av Naturvårdsverket och Havs- och vattenmyndigheten. Presentationen av resultat kommer huvudsakligen att rapporteras på liknande sätt men även i form av en årlig rapport till Naturvårdsverket som kompletteras med vetenskapliga artiklar där resultat och trender samt korrelationsstudier som bedöms ha ett vetenskapligt värde presenteras. Data genererade från delprogrammet har emellertid resulterat i ett antal specialundersökningar där samband mellan olika variabler har studerats under mer kontrollerade betingelser. Dessa studier har och bör kunna få en vetenskaplig status som erfordras för internationell publicering.

Vetenskapliga artiklar som bygger på data från övervakningen:

- Sundelin B., A-K. Eriksson (1998). Malformations in embryos of the deposit-feeding amphipod *Monoporeia affinis* in the Baltic Sea. Mar. Ecol. Prog. Ser. 171: 165-180.
- Eriksson-Wiklund A-K. B. Sundelin (2001). Impaired reproduction of the amphipods *Monoporeia affinis* and *Pontoporeia femorata* as a result of moderate hypoxia and increased temperature, Mar. Ecol. Prog. Ser. 171:165-180.
- Eriksson-Wiklund A-K., Wiklund S-J, J.Axelmann, B. Sundelin (2003). Dynamics and kinetics of PCBs in *Monoporeia affinis*, a seasonal study. Environ. Tox. Chem. 22 : 2499-2507.
- Eriksson Wiklund AK, Sundelin B (2004). Biomarker sensitivity to temperature and hypoxia- a seven year field study. Mar Ecol Prog Ser 274: 209.
- Shiedek D., Sundelin B., Readman J.W., McDonald R.W. (2007). Interactions between climate change and contaminants, a review. Mar Poll Bull 54: 845-856.
- Sundelin B., Rosa R., Eriksson Wiklund, A-K (2008). Reproduction disorders in a benthic amphipod, *Monoporeia affinis*, an effect of low food quality and availability. Aquatic Biology, 2:179-190
- Sundelin B., Eriksson Wiklund A-K, Ford A (2008). The use of embryo aberrations in amphipod crustaceans for measuring effects of environmental stressors. ICES Techniques in Marine Environmental Sciences no 41 (TIMES).
- Eriksson Wiklund, Sundelin B, Rosa R (2008). Population decline of the amphipod *Monoporeia affinis* in Northern Europe, consequence of food shortage and competition. J Exp Mar Biol Ecol, 367; 81-90.
- Eriksson Wiklund AK., Dahlgren K, Sundelin B, Andersson A. (2009). Effects on benthic production of climate induced alteration in the pelagic food web. Mar Ecol Prog Ser, 396: 13–25.
- Gorokhova E, Löf, M, Halldórsson H, Tjärnlund U, Lindström M, Elfving T, Sundelin B (2010). Single and combined effects of hypoxia and contaminated sediments on the amphipod *Monoporeia affinis* in laboratory toxicity bioassays based on multiple biomarkers. Aquatic Toxicology 99 (2010) 263–274
- Gorokhova E, Löf M, Reutgard M, Lindström M, Sundelin B (2013). Exposure to contaminants

- exacerbates oxidative stress in amphipod *Monoporeia affinis* subjected to fluctuating hypoxia. *Aquatic Toxicology* 127:46-53
- Lehtonen K, Sundelin B, Lang T, Strand J (2014). Development of tools for integrated monitoring and assessment of hazardous substances and their biological effects in the Baltic Sea. *Ambio* 43: 69-81.
 - Reutgard M, Eriksson Wiklund A-K, Breitholtz M, Sundelin B. (2014). Embryo development of the benthic amphipod *Monoporeia affinis* as a tool for monitoring and assessment of biological effects of contaminants in the field: A meta-analysis. *Ecological indicator* 36:483-490.
 - Guban P, Wennerström L, Elfving T, Sundelin B, Laikre L. (2015). Genetic diversity in *Monoporeia affinis* at polluted and reference sites of the Baltic Bothnian Bay. *Mar Poll. Bull* 93:245-249
 - Löf M, Sundelin B, Bandh C, Gorokhova E (2016), Embryo aberrations in the amphipod *Monoporeia affinis* as indicator of toxic pollutants in sediment, a field evaluation. *Ecol Indicator* 60:18-30.
 - Löf M, Sundelin B, Liewenborg B, Bandh C, Broeg K, Schatz S, Gorokhova E. (2016). Biomarker-enhanced assessment of reproductive disorders in *Monoporeia affinis* exposed to contaminated sediment in the Baltic Sea. *Ecol Indicator* 63:187-185
 - Gorokhova E, Martella G, Motwani NH, Tretyakova N, Sundelin B, Motwani H. (2020). DNA epigenic marks are linked to embryo aberrations in amphipods. *Scientific reports* 10:655 <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57465-1>

5 Bedömningsgrunder

Med tanke på användningen av vitmärlans reproduktion i det Nationella övervakningsprogrammet i Östersjön och förslaget att använda variabeln missbildade embryon som en core indikator i ett kommande övervakningsprogram inom HELCOM har vi arbetat vidare med att ta fram bedömningsgrunder för variabeln med avseende på deskriptor 8 (*koncentrationer av miljögifter har nivåer som inte ger upphov till förorenings effekter*) inom Havsmiljödirektivet (Marine Strategy Framework Directive 2008/56/EC).

Vid framtagandet av bedömningsgrunder för missbildade embryon av vitmärla har data från den nationella provtagningen (1994 fram till 2011 då programmet reviderades) använts som underlag. Urvalet innehåller 8622 honor med drygt 230 000 embryon.

Eftersom gränsvärdet baseras på en percentil har provstorleken en avgörande betydelse för var gränsvärdet hamnar. En högre provstorlek ger mindre varians till följd av slumpvisa fel och därför också en mindre osäkerhet. Eftersom provstorleken varierar stort från år till år och från station till station, har en upprepad slumpmässig provtagning använts s.k. *bootstrapping*, där provstorleken kan kontrolleras och hållas konstant mellan år och station. En provstorlek på 50 honor har använts (ca 1500 embryon) vilket är den rekommenderade provstorleken i det Nationella provtagningsprogrammet. Via bootstrapping, den slumpmässiga provtagningen av 50 honor i dataurvalet upprepades 100 000 gånger för att estimeras andelen missbildade embryon och andelen honor med minst 1 missbildade embryo i populationen.

Resultatet presenteras i tabell 4 som visar att gränsvärdet för andelen missbildade embryon är 6 % och gränsvärdet för andelen honor med minst 1 missbildat embryo är 30 % när den 90:e percentilen har använts i likhet med de flesta andra bedömningsgrunder för biologiska effekter (ICES Cooperative Research Report no 315).

Tabell 4. Gränsvärden för *Monoporeia affinis*. BAC (Background assessment criteria) och EAC (Environmental assessment criteria) beräkningar gjordes enligt Davies och Vethaak (2012).

| Bedömningskriterier | Mean | BAC | EAC | Gränsvärde |
|---|-------|--------|--------|------------|
| Andelen missbildade embryon | 0,041 | <0,059 | >0,059 | 0,059 |
| Andelen honor med minst 1 missbildat embryo | 0,23 | <0,3 | >0,3 | 0,3 |

6 Övrigt

7 Definitioner

Alla begrepp är definierade i Undersökningstypen.

8 Referenser

Se Undersökningstypen

Vetenskapligt underlag över variablers relevans

- Sundelin, B. (1983). Effects of cadmium on *Pontoporeia affinis* (Crustacea: Amphipoda) in laboratory soft-bottom microcosms. Mar. Biol. 74, 203-212.
- Sundelin, B. (1984). Single and combined effects of lead and cadmium on *Pontoporeia affinis* (Crustacea: Amphipoda) in laboratory soft-bottom microcosms. In: Ecotoxicological testing for the marine environment. G. Persoone, E. Jaspers, and C. Claus (Eds). State Univ. Ghent and Inst. Mar. Scient. Res., Bredene, Belgium. Vol. 2. 588 p.
- Sundelin, B. (1989). Ecological effect assessment of pollutants using Baltic benthic organisms. Thesis, Univ. of Stockholm, Dep. of Zoology 106 91 Stockholm
- Sundelin, B. (1992). Effect monitoring in pulp mill areas using benthic macro- and meiofauna. In: Environmental fate and effects of bleached pulp mill effluents. p. 371-380. SNV-rapport 4031
- Eriksson, A-K., Sundelin, B., Broman, D., Näf, C (1996). Effects on *Monoporeia affinis* of HPLC fractionated extracts of bottom sediments from a pulp mill recipient. In: Environmental fate and effects of pulp and paper mill effluents. Servos et al (eds) p 69-78, St Lucie Press Florida
- Sundelin, B., A-K. Eriksson (1998). Malformations in embryos of the deposit-feeding amphipod *Monoporeia affinis* in the Baltic Sea. Mar. Ecol. Prog. Ser. 171: 165-180.
- Eriksson-Wiklund, A-K. B. Sundelin (2001). Impaired reproduction of the amphipods

Monoporeia affinis and *Pontoporeia femorata* as a result of moderate hypoxia and increased temperature. Mar Ecol Prog Ser 171:165-180.

- Davey, K. G., Saleuddin, A. S. M., Steel, C. G. H., Webb, R. A. (1983). Methods for assessing the effects of chemicals on reproductive function, Invertebrates: Some principals and recommendations. In: Vouk, V. B., Sheehan, P. J. (eds.) Methods for assessing the effects of chemicals on reproductive functions. SCOPE 20, John Wiley & Sons, Ltd p. 483-497
- McCahon, C. P., Pascoe, D. (1988 b). Increased sensitivity to cadmium of the freshwater amphipod *Gammarus pulex* (L.) during the reproductive period. Aquat. Toxicol. 13: 183-194
- Dixon DR (1983) Methods for assessing the effects of chemicals on reproductive function in marine molluscs. In: Vouk VB, Sheehan PJ (eds) Methods for assessing the effects of chemicals on reproductive functions. SCOPE 20, John Wiley & Sons, Ltd, p 439-457
- Dixon DR, Pollard D (1985) Embryo abnormalities in the periwinkle, *Littorina saxatilis*, as indicators of stress in polluted marine environments. Mar Poll Bull 16(1): 29-33
- Lee RF, O'Malley K, Oshima Y (1996) Effects of toxicants on developing oocytes and embryos of the blue crab *Callinectes sapidus*. Mar Environ Res 42(1-4): 125-128
- Lee RF, O'Malley K, Oshima Y (1996) Effects of toxicants on developing oocytes and embryos of the blue crab *Callinectes sapidus*. Mar Environ Res 42(1-4): 125-128

Uppdateringar, versionshantering

- Version 2. 2021-03-22. Uppdatering av kontaktpersoner och stationsnät. Uppdatering avseende datavårdskap (byte av datavårdskap).

Bilaga 1.

| | | Embryonalutveckling hos vitmärla | |
|---|--|--|--------------------------|
| Mål | <ul style="list-style-type: none"> • Följa utvecklingen över tid för biologiska effekter av miljögifter • Miljömålsuppföljning. Att följa upp vidtagna åtgärder för minskade utsläpp av kända miljögifter för att se om dessa haft avsedd effekt. • Geografiska skillnader, geografiska trender • Referens till regionala och lokala undersökningar • Utveckling av bedömningsgrunder | | |
| Preciserat syfte | Det primära syftet är att påvisa långsiktiga belastningsförändringar av främst metaller och organiska miljögifter genom att dokumentera biologiska effekter med hjälp av vitmärlans embryonalutveckling. | | |
| Undersökningar | Missbildade embryon av <i>Monoporeia affinis</i> och <i>Pontoporeia femorata</i> | | |
| Stationsnät | Se tabell 1 och 2 | | |
| Variabler | Se tabell 3 | | |
| Styrdokument | Undersökningstyper | Missbildade embryon av <i>Monoporeia affinis</i> och <i>Pontoporeia femorata</i> | |
| | Kvalitetsdeklaration | Versionsnr: Version 2. 2021-03-22 | |
| | Övrigt | | |
| Utvärderingsverktyg | | | |
| Underlag till nationella indikatorer | Havsmiljödirektivet – Indikatorn störning i reproduktion hos vitmärla | | |
| Dataleveranser | Nationellt | Internationellt | |
| | SGU | ICES | |
| Rapporter/produkter | Årlig kortrapport samt vetenskapliga artiklar | | |
| Ansvarig utförare år 2021 | Organisation | Projektledare | Kvalitetsansvarig |
| | ACES, Stockholms Universitet | Elena Gorokhova | Brita Sundelin |