

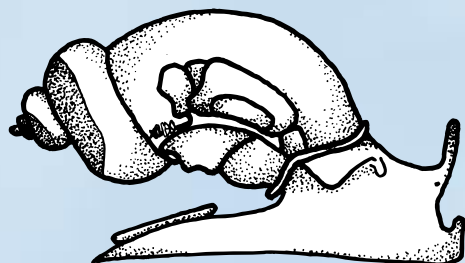


Miljø- og Energiministeriet
Danmarks Miljøundersøgelser

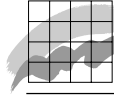
Interkalibrering omkring bestemmelse af imposex- og intersexstadier i marine snegle

Resultat af workshop afholdt den 30. - 31. marts 1999
af Det Marine Fagdatacenter

Faglig rapport fra DMU, nr. 305



[Tom side]



Miljø- og Energiministeriet
Danmarks Miljøundersøgelser

Interkalibrering omkring bestemmelse af imposex- og intersexstadier i marine snegle

Resultat af workshop afholdt den 30. - 31. marts 1999
af Det Marine Fagdatacenter

*Faglig rapport fra DMU, nr. 305
2001*

*Jakob Strand
Karsten Dahl
Afdeling for Havmiljø*

Datablad

Titel:	Interkalibrering omkring bestemmelse af imposex- og intersextadier i marine snegle
Undertitel:	Resultat af workshop afholdt den 30. - 31. marts 1999 af Det Marine Fagdatacenter
Forfattere: Afdelinger:	Jakob Strand og Karsten Dahl Afdeling for Havmiljø
Serietitel og nummer:	Faglig rapport fra DMU nr. 305
Udgiver:	Miljø- og Energiministeriet Danmarks Miljøundersøgelser©
URL:	http://www.dmu.dk
Udgivelsestidspunkt:	Marts 2001
Faglig kommentering: Layout:	Signe Foverskov Anne van Acker
Bedes citeret:	Strand, J. & Dahl, K. (2001): Interkalibrering omkring bestemmelse af imposex- og intersextadier i marine snegle. Resultat af workshop afholdt den 30. - 31. marts 1999 af det Marine Fagdatacenter. Danmarks Miljøundersøgelser. 18 s. - Faglig rapport fra DMU nr. 305 (elektronisk). Tilgængelig: http://faglige-rapporter.dmu.dk . Gengivelse tilladt med tydelig kildeangivelse.
Frie emneord:	Intersex, imposex, interkalibrering, <i>Littorina</i> , <i>Hinia reticulata</i>
ISBN: ISSN (elektronisk):	87-7772-518-2 1600-0048
Sideantal:	18
Internet-version:	Rapporten findes kun som PDF-fil på DMU's hjemmeside: http://faglige-rapporter.dmu.dk

Indhold

Forord 5

1 Indledning 5

2 Interkalibreringsøvelser 7

2.1 Metode 7

2.2 Resultater og diskussion 7

2.2.1 Imposex hos dværgkonk 7

2.2.2 Intersex hos almindelig strandsnegl 12

3 Konklusion 15

3.1 Bemærkninger 15

4 Referencer 16

Danmarks Miljøundersøgelser 17

Faglige rapporter fra DMU/NERI Technical Reports 18

[Tom side]

Forord

Denne rapport er udarbejdet af Danmarks Miljøundersøgelser som led i kvalitetskontrollen af den landsdækkende overvågning af marine snegles udvikling af imposex/intersex som følge af påvirkning af tributyltin (TBT).

1 Indledning

I forbindelse med det marine overvågningsprogram NOVA 2003 er bestemmelsen af imposex og intersex i havsnegle indført som mål for tributyltin (TBT) effekter. TBT er et toksisk stof, der anvendes i bundmalinger til skibe. Hos nogle sneglearter påvirker TBT de hunlige snegle, så de synligt udvikler forskellige stadier af hanlige kønsorganer, kaldet imposex eller intersex afhængigt af måden de hanlige karaktertræk kommer til udtryk på.

I den forbindelse fandt Det Marine Fagdatacenter hos Danmarks Miljøundersøgelser (DMU) det relevant at gennemføre en workshop, der bl.a. indeholdt fællesøvelser med henblik på en interkalibrering mellem de folk, der i NOVA-regi og på universiteterne beskæftiger sig med bestemmelser af disse fænomener i havsnegle. Med hensyn til bestemmelsen af imposex og intersex blev hhv. dværgkonk (*Hinia reticulata*) og almindelig strandsnegl (*Littorina littorea*) anvendt.

Udgangspunktet for bestemmelserne var den tekniske anvisning omkring bestemmelse af imposex og intersex i marine snegle (Kaas & Markager 1998), der er udgivet af Det Marine Fagdatacenter, og som er tilgængelig på DMU's hjemmeside (http://www.dmu.dk/1_Om_DMU/2_tvaer-funk/3_fdc_mar/tekanv/).

Workshopen blev afholdt over to dage, hvor begge dage startede med faglige indlæg omkring bestemmelse af imposex og intersex, en gennemgang af den tekniske anvisning, samt hvordan data skal indrapporteres til Fagdatacentret. Derudover blev der præsenteret forskellige resultater fra udvalgte områder. Resten af tiden blev brugt på praktiske øvelser. Først fik de enkelte deltagere mulighed for at gennemgå forskellige snegle under vejledning af en instruktør. Derpå blev der lagt op til en interkalibreringsøvelse, hvor deltagerne hver for sig skulle undersøge 20 snegle. Første dag var forbeholdt imposex, og anden dag var afsat til intersex.

Dværgkonkerne var indsamlet i Svanemøllebugten ud for Københavns havn i et område, hvor imposex er til stede i de fleste snegle og i flere forskellige stadier. Strandsneglene var indsamlet hhv. ved Langelinie i Københavns havn, Kerteminde marina på Fyn og i Svanemøllebugten. I de to første områder er intersex til stede i alle snegle og ofte i særdeles fremskredne stadier, hvorimod intersex kun er til stede i Svanemøllebugten i begyndende stadier, hvis overhovedet til stede.

I workshoppen deltog i alt 15 personer inkl. referencepersoner. Deltagerne repræsenterede 3 amter, 4 universiteter, 3 konsulentfirmaer og DMU.

Som referenceperson for dværgkonk var udpeget Jakob Strand og for almindelig strandsnegl Jakob Strand og Pernille Sterling. Jakob Strand har i 1998 deltaget i en international ringtest i bestemmelse af såvel imposex og intersex med fuldt tilfredsstillende resultater (Quasimeme 1998). Pernille Sterling har igennem sit specialestudie opnået stor erfaring omkring bestemmelse af intersex. Referencepersonernes bestemmelser af imposex og intersex bliver, som sammenligningsgrundlag i den videre databehandling, sat til referenceværdier.

Deltagerne havde et meget forskelligt erfaringsgrundlag med hensyn til bestemmelse af imposex og intersex i havsnegle. Nogle deltagere havde kun set på imposex, andre kun på intersex, mens emnet for nogle var et helt nyt område (*Tabel 1*).

Tabel 1. Deltagernes inkl. referencepersonernes rutine før denne workshop i at bestemme hhv. imposex og intersex i havsnegle. Rutinen er fastsat ud fra antallet af undersøgte snegle. <10 er bedømt til lav, fra 10 til 50 er sat til middel og >50 snegle er vurderet til høj.

	Rutine		
	Lav	Middel	Høj
Imposex	6	4	5
Intersex	7	3	5

Denne interkalibreringsøvelse adskiller sig fra en international interkalibreringsøvelse, der i 1998 blev gennemført i Quasimeme-regi (Quasimeme 1998). I Quasimeme-kalibreringen fik hver deltager tilsendt snegle fra den samme population, hvorfor man i den statistiske behandling måtte tage højde for de naturlige variationer, der kunne forventes med den givne prøvestørrelse på 40 snegle. Det var derfor kun de samlede parameterværdier for hele gruppen af snegle, der kunne sammenlignes. En afvigelse på 0,2 fra referenceværdien på bestemmelsen af såvel Vas Deferens Sekvens Indeks (VDSI) som Inter-Sex Indeks (ISI) blev fundet som tilfredsstillende.

Denne workshop i NOVA-regi var udformet således, at man udover at sammenligne de enkelte deltageres samlede parameterværdier også kunne sammenligne de enkelte deltageres bestemmelser af imposex- og intersexstadier på individniveau. En ulempe ved at alle deltagere kiggede på de samme snegle var dog, at de sidste deltagere kiggede på nogle snegle, der ikke var i lige så god stand som til at begynde med. Generelt var de fleste snegle dog i en rimelig stand ved øvelsernes afslutning, så deltagernes bestemmelser af imposex og intersex burde ikke i væsentlig grad være påvirket af dette.

Med hensyn til bestemmelserne af de enkelte imposex- og intersexstadier på individniveau blev maksimalt 2 fejl anset som værende tilfredsstillende for det aktuelle prøvemateriale.

2 Interkalibreringsøvelser

2.1 Metode

Der blev foretaget to separate øvelser, hvor henholdsvis 20 dværgkonker og 20 strandsnegle blev nummereret. Samtlige 15 deltagere skulle herefter undersøge de samme 40 snegle. Dværgkonkerne havde været nedfrosset og blev tøet op til lejligheden. Egentlig skulle de have været levende og ligesom strandsneglene bedøvet i 7% MgCl₂-opløsning, kort før de blev undersøgt. Skallerne blev knækket og bløddelene blev lagt på nummererede petriskåle og overhældt med en 7% MgCl₂-opløsning for at opnå en fortsat bedøvelse for strandsneglenes vedkommende og for at undgå indtørring. Sneglene blev undersøgt under en stereolup. Bestemmelserne af imposex og intersex tog sit udgangspunkt i den tekniske anvisning fra det Marine Fagdatacenter (Kaas & Markager 1998).

I begge øvelser skulle deltagerne undersøge sneglene over 2 omgange. Ved dværgkonk skulle der først bestemmes køn på sneglene og afgøres, hvorvidt sneglene var synligt inficeret med digene ikter (parasitter). Derpå blev sneglene lagt således, at den øvre del af foden blev blotlagt, og det kunne derpå bestemmes, i hvilket omfang de enkelte snegle udviste imposex karakteriseret ved penislængde, Vas Deferens Sekvens (VDS)- og Mensink Sekvens (MS)-stadier. Bestemmelsen af MS-stadier er udviklet til at beskrive imposex hos almindelig konk (*Buccinum undatum*), men er alligevel medtaget i denne interkalibrering for øvelsens skyld.

Ved strandsneglene skulle der først bestemmes køn på sneglene, herefter afgøres om sneglene var synligt inficeret med digene ikter, samt om hunnerne eventuelt havde udviklet prostatakirtel. Var prostatakirtlen udviklet, skulle længden af denne måles. Derpå blev kappehulen klippet op og sneglene lagt således, at den palliale ovidukt umiddelbart kunne undersøges fra denne side. Derved kunne intersex (ISI)-stadier bestemmes på samtlige af hunnerne.

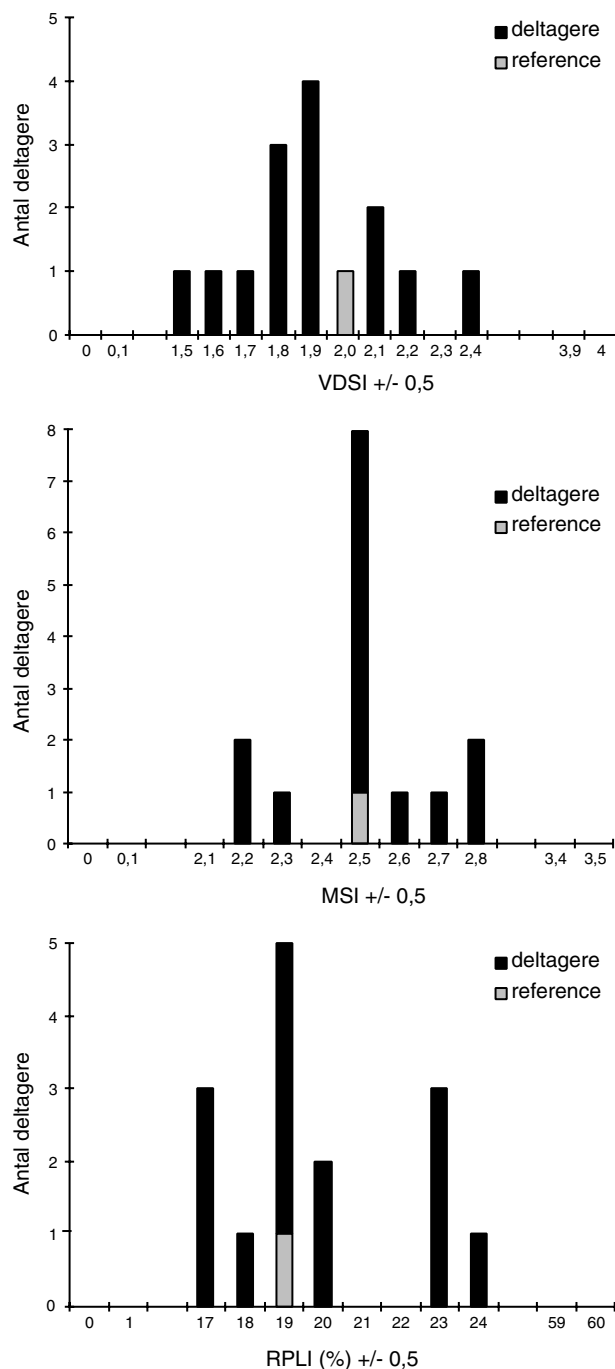
2.2 Resultater og diskussion

2.2.1 Imposex hos dværgkonk

Alle deltagere foretog en korrekt kønsbestemmelse med hhv. 13 hunner og 7 hanner (Tabel 2), men kun én person foruden referencepersonen fandt snegl (nr. 5) inficeret med trematoder (Tabel 2), hvilket under normale omstændigheder betyder, at sneglen skal kasseres. I dette materiale har vi dog valgt at medtage bestemmelser og mål for den pågældende snegl af hensyn til prøvestørrelsen.

12 ud af 13 hunner havde udviklet imposex. Sneglen uden imposex (nr. 12) blev korrekt indrapporteret af alle deltagere med en enkelt undtagelse. Derudover indrapporterede 4 deltagere, at snegl nr. 17 ikke havde udviklet imposex, hvilket dog var tilfældet.

De fleste af deltagernes bestemmelser af Vas Deferens Sekvens Indeks (VDSI) lå pænt fordelt omkring referenceværdien på 2,0 (Figur 1). 11 ud af 14 deltagere havde en maksimal afvigelse på 10% fra referenceværdien.



Figur 1. Fordelingen af deltagernes bestemmelser af imposex i dværgkonk ved hhv. Vas Deferens Sekvens Indeks (VDSI), Mensink Sekvens Indeks (MSI) og Relativ Penislængde Indeks (RPLI) set i forhold til referencepersonen.

Med hensyn til bestemmelserne af de enkelte snegles VDS-stadier havde kun én deltager mindre end 3 fejl set i forhold til referencepersonen (Tabel 2). Dette viser, at der var utilfredsstillende stor usikkerhed i bestemmelserne af stadiéværdierne. Især bestemmelserne af VDS-stadierne 1 og 2 gav problemer, hvilket specielt kom til udtryk ved snegl nr. 3, 7 og 10. Derudover var snegl nr. 1 iøjnefaldende, idet referencepersonen som den eneste angav stadie 3. Der var hos denne snegl en begyndende udvikling af Vas Deferens ved basis af penis.

5 deltagere havde observationer for en eller flere snegle, som faldt mere end et stadium forkert i forhold til referencepersonen.

Tabel 2. Bestemmelse af Vas Deferens Sekvens (VDS)-stadier hos hunner af dværgkonk og derfra udregnede VDSI-værdier.

Snegl nr.	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12	D13	D14	Ref. A	Middel	STD
1	2	2	1	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	3	1,9	0,5
2																	
3	2	3	1	1	2	1	2	1	1	1	3	2	3	2	1	1,7	0,8
4																	
5													☆		☆		
6	2	3	2	1	2	2	3	2	2	2	2	2	2	3	2	2,1	0,5
7	2	4	1	1	2	1	3	2	3	3	3	2	2	2	2	2,2	0,9
8	2	2	1	1	2	2	2	2	2	1	1	1	2	2	2	1,7	0,5
9	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3,0	0,0
10	2	1	1	1	1	1	2	2	1	2	1	1	1	2	2	1,4	0,5
11	3	3	3	2	3	2	3	3	4	3	3	3	3	3	3	2,9	0,5
12	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0,1	0,3
13																	
14	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	2	2	2,1	0,3
15	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	3	2,9	0,5
16																	
17	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0,7	0,5
18																	
19																	
20	2	4	2	2	2	3	2	2	*	*	*	2	2	2	2	2,3	0,6
ⁿ hun	13	13	13	13	13	13	13	13	12	12	12	13	13	13	13		
ⁿ fejl	3	6	4	6	3	5	4	1	7	4	6	4	4	3	0		
VDSI	1,9	2,4	1,6	1,5	1,9	1,7	2,2	1,9	1,8	1,8	1,9	1,8	2,1	2,1	2,0	1,9	0,2

Kønsbestemmelse: Hunsnegle hvor imposex-stadier (0 - 4) er angivet; ☆: Snegle inficeret med trematoder; *: Snegle ikke indrapporteret; Ref.: Referenceperson; ⁿhun: Antal hun; ⁿfejl: Antal fejlbestemmelser af VDS-stadier i forhold til referencepersonen; STD: Standardafvigelse.

Bestemmelserne af Mensink Sekvens Indeks (MSI) lå pænt fordelt omkring referenceværdien på 2,5 for de fleste deltagere (Figur 1). 11 ud af 14 deltagere havde en maksimal afvigelse på 10% fra referenceværdien.

Når der fokuseres på deltagernes bestemmelser af MS-stadier på de enkelte snegle er overensstemmelsen ringe i forhold til referencepersonens karakteriseringer af MS-stadier (Tabel 3). Alle deltagere havde imellem 4 og 8 fejlbestemmelser. Især snegl nr. 1, 3, 7, 8 og 17 voldte problemer. 2 personer havde observationer, som faldt 2 stadier forkert i forhold til referencen. Dette var ikke tilfredsstillende.

Det skal i denne sammenhæng nævnes, at MS-stadier er udviklet specielt til at karakterisere imposex i almindelig konk og ikke i dværgkonk. Da penisfaconen er forskellig hos dværgkonk og almindelig konk, foreslås det, at MS-stadier ikke fremover anvendes til karakterisering af imposex i dværgkonk.

Tabel 3. Bestemmelse af Mensink Sekvens (MS)-stadier hos hunner af dværgkonk og derfra udregnede MSI-værdier.

Snegl nr.	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12	D13	D14	Ref.	Middel	STD
1	3	2	3	2	3	3	2	3	3	2	2	2	3	3	2,5	2,6	0,5
2																	
3	3	3,5	3	3	2	2	2	2	1	0	2,5	2	3,5	3	2	2,3	0,9
4																	
5																	
6	3	3,5	3	3	3	3	3,5	3	3	3	3	2	3	3,5	3	3,0	0,4
7	3	3,5	3	3	3	2	2,5	3	2,5	2,5	2,5	2	3	3	2	2,8	0,5
8	3	2	1	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	2	2,7	0,6
9	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	0,0
10	3	0,5	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	3	2	1,9	0,7
11	3,5	3,5	3,5	3	3,5	3	3,5	3,5	3	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,4	0,2
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0,0	0,1
13																	
14	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3,5	3	3	3,0	0,3
15	3,5	3	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,4	0,2
16																	
17	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	2	2	2	0,9	0,7
18																	
19																	
20	3	3,5	3	3	3	3,5	3	3	*	*	*	3	3	3	3	3,1	0,2
n_{hun}	13	13	13	13	13	13	13	13	12	12	12	13	13	13	13		
n_{fejl}	6	8	5	7	5	5	5	4	7	4	4	4	5	6	0		
MSI	2,7	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,6	2,3	2,2	2,5	2,2	2,8	2,8	2,5	2,5	0,2

MSI: Mensink Sekvens Indeks, Kønsbestemmelse: Hunsnegle hvor imposex-stadier (0 - 3,5) er angivet; * Snegle ikke indrapporteret; Ref.: Referenceperson; n_{hun} : Antal hun; n_{fejl} : Antal fejlbestemmelser af MS-stadier i forhold til referencepersonen; STD: Standardafvigelse.

Bestemmelserne af Relativ Penislængde Indeks (RPLI) fordelte sig pænt omkring referenceværdien på 18,9 (Figur 1). 10 ud af 14 deltagere fandt RPLI-værdier med en afvigelse på mindre end 10% i forhold til referencepersonen.

En usikkerhed på 20% i forhold til referencepersonens længdeangivelser for hver enkelt snegl anses som acceptabelt. Alle deltagere havde afvigelser på mere end 20% på flere af sneglene - fra 3 til 12 målinger (Tabel 4). I enkelte tilfælde var der mere end 100% afvigelse

i forhold til referencepersonen. Generelt set er dette utilfredsstillende. Dels var usikkerheden især stor på målinger af små peniser med en længde <1,0 mm, dels fremkom der systematiske fejl, hvor enkelte deltagere ofte angav for stor en penislængde.

Deltagernes bestemmelser af penislængden blev enten gjort med et måleokular eller en skydelære. Umiddelbart var variationen den samme, hvad enten deltagerne brugte skydelære eller måleokular, men måleokular anbefales, fordi det burde medføre en bedre præcision.

Table 4. Bestemmelse af penislængde (mm) hos både hunner og hanner af dværgkonk og derfra udregnede RPLI-værdier (i %).

Snegl nr.	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12	D13	D14	Ref. A	Middel	STD
1	0,8	2	1,2	0,6	0,6	0,9	0,9	0,8	0,2	0,5	1,5	0,8	0,7	0,8	0,6	0,9	0,4
2	9,2	9	9	8,5	7,2	8,3	10	8,7	10,2	10,5	10,5	8,7	9	8,3	8,6	9,0	0,9
3	0,4	1	1,5	0,6	0,4	0,8	0,9	0,6	0,1	0,1	0,6	0,7	0,8	0,5	0,6	0,6	0,4
4	8,1	8,1	9,5	7,8	8,4	7,9	9	9,2	8,3	8,3	8,3	8,2	8,3	8,2	7,8	8,4	0,5
5	5,3	5,1	5,8	6	4,8	5,4	11,5	5,7	6,7	6,5	6,5	5,1	6,4	5,2	4,9	6,1	1,6
6	1,7	1,9	2,6	1,4	1,6	2,5	2,5	5,8	1,7	1,5	1,5	1,3	1,8	2,6	1,4	2,1	1,1
7	1,0	1,4	1,5	0,9	1,2	0,8	2	0,9	1,3	1,2	1,2	2,0	0,8	1,4	0,8	1,2	0,4
8	1,3	1,8	0,2	1,0	1,0	1,0	1,5	1,5	1,1	1,1	1	0,8	1,6	1,8	0,9	1,2	0,4
9	2,1	2,5	3,0	2,1	2,4	2,8	2,1	2,4	2,6	2	2,2	2,2	2,5	2,1	2,6	2,4	0,3
10	0,3	0	0,2	0,2	0,1	0,5	0,9	0,3	0,1	0,2	0,2	0,5	0,4	0,8	0,6	0,4	0,3
11	2,4	2,1	1,7	2,4	2	2,8	1,9	1,2	2,5	2,5	2,5	2,4	2,1	2,2	2,2	2,2	0,4
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
13	7,8	7,8	8,0	7,0	8,0	7,9	8,2	8,6	12	12	12	6,9	7,9	7,9	7,4	8,6	1,8
14	2,8	2,7	3,0	2,4	2,4	2,3	2,1	5	6	5	5	2,4	2,4	2,7	2,4	3,2	1,3
15	4,4	4,9	4,2	4	4,4	4,6	5	5,2	5,1	5,1	5	4,2	4,6	4,8	4,2	4,6	0,4
16	9,3	10,7	11	9,5	10	10	11	12	10	12	12	10,1	10,4	10,3	10,1	10,6	0,9
17	0	1	0	0,1	0,1	0,2	0,1	0	0	0	0	0,5	0,1	0,3	0,3	0,2	0,3
18	6,4	7,5	11,5	6,6	6,8	7,5	8	7,5	*	*	*	7,0	7,1	6,5	7,0	7,5	1,4
19	8,3	8,6	13	7,0	8,0	7,5	9	8,5	12	10	10	8,4	8,3	8,1	7,8	9,0	1,7
20	2,9	3,2	2,5	2,8	2,1	2,9	2,8	2,8	*	*	*	2,7	3	3,1	3,0	2,8	0,3
FPL	1,6	1,9	1,6	1,4	1,4	1,8	1,7	2,1	2,1	1,5	1,7	1,5	1,6	1,8	1,4	1,6	0,2
MPL	7,8	8,1	9,7	7,5	7,6	7,8	9,5	8,6	8,6	8,5	8,5	7,8	8,2	7,8	7,7	8,2	0,7
n _{fejl}	5	7	12	3	4	4	8	7	9	10	9	3	4	4	0		
RPLI	20,3	23,3	16,7	19,3	18,1	23,0	17,4	24,1	18,7	17,4	19,5	19,1	20,1	22,7	18,9	20,0	2,4
Mål	Sk.	Sk.	Sk.	Ok.	Ok.	Ok.	Sk.	Ok.	Sk.	Ok.	Ok.	Sk.	Ok.	Sk.	Ok.		

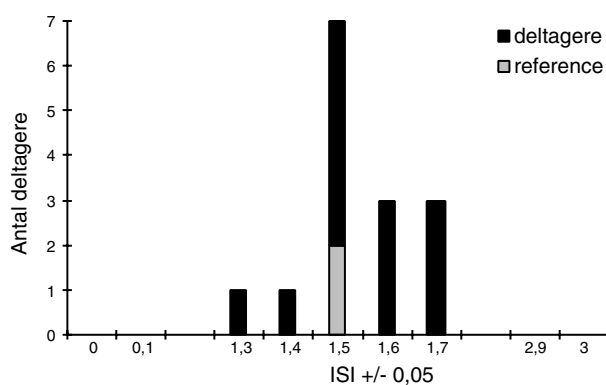
RPLI: Relativ Penislængde Indeks; FPL og MPL er middel penislængden hos hhv. hunner og hanner; *: snegle ikke indrapporteret; Ref.: Referenceperson; STD: Standardafvigelse; n_{fejl}: antal målinger af penislængde, der afviger mere end 20% i forhold til referencepersonen; Anvendt målemetode: Sk.: skydelære, Ok.: måleokular i stereolup.

2.2.2 Intersex hos almindelig strandsnegl

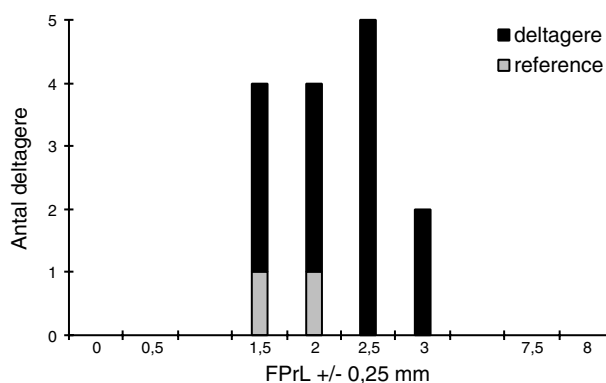
Alle deltagere foretog en korrekt kønsbestemmelse med hhv. 15 hunner og 5 hanner (Tabel 5). Den ene referenceperson fandt 3 snegle inficeret med parasitter (nr. 1, 2, 17), mens den anden referenceperson kun fandt 1 (nr. 17). Hovedparten af de øvrige deltagere fandt parasitter i nr. 2 og 17. Én deltager fandt parasitter i yderligere 2 snegle (nr. 7 og 8) (Tabel 5). På trods af at snegle inficeret med trematoder normalt skal kasseres, har vi valgt at medtage dem i intersexbestemmelserne af hensyn til prøvestørrelsen.

9 ud af de 15 hunner hos strandsneglene havde udviklet intersex. Deraf havde 7 hunner udviklet en prostatakirtel.

Bestemmelserne af ISI-værdien for de 15 hunsnegle lå flot omkring referencepersonernes værdi på 1,5, idet 9 ud af de 13 deltagere havde en maksimal afvigelse på 10% (Figur 2 og Tabel 5).



Figur 2. Fordelingen af deltagernes bestemmelser af hhv. ISI (Intersex Indeks) og FPrL (middellængde af prostatakirtel hos hunner) set i forhold til de to referencepersoner.



Med hensyn til de enkelte bestemmelser af ISI-stadier havde 7 deltagere maksimalt 2 fejlbestemmelser sammenlignet med referencepersonerne. 3 deltagere havde observationer, som faldt mere end en stadielværdi forkert i forhold til referencerne. (Tabel 5). De to referencepersoner var indbyrdes enige med en enkelt undtagelse (snegl nr. 4), og her accepteres begge stadielværdier.

Det viste sig, at det især voldte deltagerne problemer at skelne imellem ISI-stadierne 0 og 1. Derudover også i de tilfælde hvor prostatakirtlen hos hunnerne var mindre udviklet, som det var tilfældet hos snegl nr. 13 og 20.

Tabel 5. Bestemmelse af intersex (ISI)-stadier hos hunner af almindelig strandsnegl og derfra udregnede ISI-værdier.

Snegl nr.	D1	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12	D13	D14	Ref. B	Ref. A	Middel	STD
1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0*	0	0,2	0,4
2	*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*			
3																	
4	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0,8	0,4
5	3	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3,3	0,5
6																	
7						*											
8	0	0	0	0	0	0*	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0,1	0,3
9	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3,0	0,0
10	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3,0	0,0
11	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3,0	0,0
12	1	1	0	0	0	3	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0,5	0,8
13	2	3	2	2	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2,7	0,5
14	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0,4	0,5
15																	
16	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	0	0	0	0	0,4	1,1
17	0*	0*	0*	0*	0*	0*	0*	0*	0*	0	0*	0*	0*	0*	0*	0,0	0,0
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
19	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3,0	0,0
20	2	3	2	2	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	2,7	0,5
n _{hun}	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15		
n _{fejl}	3	1	5	5	3	2	2	1	2	1	4	3	2	0	0		
ISI	1,4	1,6	1,5	1,5	1,6	1,7	1,3	1,5	1,7	1,7	1,5	1,6	1,5	1,5	1,5	1,5	0,1

ISI: Intersex indeks; Kønsbestemmelse: Hunsnegle hvor intersex-stadier (0-4) er angivet; *: Snegle inficeret med trematoder; Ref.: Referenceperson; STD: Standardafvigelse; n_{hun}: antal hun; n_{fejl}: antal fejlbestemmelser af ISI-stadier i forhold til referencepersonen.

Bestemmelsen af længden af prostatakirtel blev gjort med enten måleokular eller skydelære. Der var ingen større forskel mellem de to målemetoder, men variationen inden for de samme snegle var i flere tilfælde betydelig, selv imellem de to referencepersoner (Tabel 6). Reference A målte generelt en kortere prostatakirtel end reference B. Dette er utilfredsstillende.

Umiddelbart kan en afvigelse på 20% i forhold referencepersonernes længdeangivelse anses som acceptabelt, men i flere tilfælde var afvigelserne på mere end 100% selv imellem de to referencepersoner. Derfor er resultaterne langt fra tilfredsstillende. Der fremkom generelt systematiske fejl, hvilket kan skyldes, at der var en vis uenighed om, hvordan længden af prostatakirtlen måles (hvorfra og hvortil), eller at deltagernes måleudstyr ikke var lige nøjagtigt.

Det anbefales at anvende måleokular, da det med en vis øvelse bør medføre en bedre præcision.

Tabel 6. Bestemmelse af længde af prostatakirtel (mm) hos hunner og derfra udregnede FPrL-værdier.

Snegl nr.	D1	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12	D13	D14	Ref. B	Ref. A	Middel	STD
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
2																	
3																	
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
5	4,7	6	4,8	4,5	4,8	5,5	7,2	7	7	7	4,1	5,0	4,6	4,4	4,1	5,4	1,1
6																	
7																	
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
9	4,4	4	3,7	4	4,2	3,1	3,5	5	5	5	3,9	3,8	4,9	4,8	3,6	4,2	0,6
10	5,6	11,5	4,6	5	3,8	5	5,2	8	8	7	3,8	6,1	6,1	5,2	4,2	5,9	2,0
11	4,5	5	4,1	4	3,7	4	7,8	5	5	5	3	4,3	4,9	4,3	3,6	4,5	1,1
12	0	0	0	0	0	6,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,4	1,7
13	0	2	0	0	2,2	5	4	1,5	1,5	1,5	0	5,4	2,5	3,4	1,2	2,0	1,8
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
15																	
16	0	0	0	0	0	0	0	0	2,5	2,5	0	0	0	0	0	0,3	0,9
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
19	4,3	5	3,2	3	3,1	5	3,4	3	4	4	3,3	4,3	4	4,1	3,2	3,8	0,7
20	0	2	0	0	2,3	3,5	0	2	2	2	3,9	6	3,7	4,6	1,2	2,2	1,8
FPrL	2,0	2,8	1,7	1,7	1,8	2,8	2,6	2,5	2,7	2,7	1,5	2,4	2,2	2,2	1,7	2,2	0,5
Mål	Sk.	Sk.	Ok.	Ok.	Ok.	Sk.	Ok.	Ok.	Ok.	Ok.	Sk.	Sk.	Sk.	Sk.	Ok.		

FPrL: Middellængde af prostatakirtel hos hhv. hunner; Ref.: Referenceperson; STD: Standardafvigelse; Anvendt målemetode: Sk.: skydelære, Ok.: måleokular i stereolup.

3 Konklusion

I øvelsen, hvor deltagerne bestemte imposex i dværgkonk, blev de tilfælde, hvor imposex var til stede, bemærket af samtlige deltagere med en enkelt undtagelse. Deltagerne havde dog generelt mange fejlbestemmelser af de enkelte VDS- og MS-stadier på individniveau samt en markant usikkerhed på målingerne af penislængder. Imidlertid syntes de samlede parameterverdier (VDSI, MSI og RPLI) at have en vis robusthed overfor dette, idet 9-11 ud af de 14 deltagere gennemgående afleverede acceptable værdier med en maksimal afvigelse på 10% i forhold til referenceværdierne. Det tyder således ikke på, at fejlbestemmelserne af de enkelte snegles stadieværdier systematisk er for høje eller for lave.

Vedrørende bestemmelsen af intersex i almindelig strandsnegl var stadiebestemmelserne generelt gode for de fleste deltagere. 7 ud af 13 deltagere havde maksimalt 2 fejlbestemmelser. 9 ud af 13 deltagere afleverede acceptable ISI-værdier set i forhold til referenceværdien med en maksimal afvigelse på 10%.

Til gengæld var længdemålingerne af prostatakirtler behæftet med en markant usikkerhed. Selv de to referencepersoner var i flere tilfælde langt fra enige. Der kan gøres forskellige tiltag for at minimere de usikkerhedsmomenter, der er blevet belyst i denne workshop:

- Bedre illustrationer især af VDS-stadierne 1a og 2a og af ISI-stadierne 0 og 1.
- Illustrationer af hvordan længden af penis og prostatakirtel måles (hvorfra og hvortil). Disse længdemål bør foretages med måleokular.
- En årligt tilbagevendende workshop anbefales, hvis de betydelige variationer imellem deltagernes bestemmelser skal reduceres.
- Eventuelt kan man lægge bestemmelserne i NOVA-regi over på få rutinerede personer.

3.1 Bemærkninger

Det foreslås på baggrund af Pernille Sterlings specialestudie omkring TBT-effekter på strandsnegle (Sterling 2000), at en ny effektparameter indføres i den tekniske anvisning, idet det tyder på, at antallet af penialkirtler på penis hos hanner af strandsnegle ligesom intersex i strandsnegle kan relateres til TBT-belastede områder. Hannerne har generelt færre penialkirtler i belastede områder. Der er visse tegn på, at dette er en reversibel effekt i modsætning til intersex-/imposex-fænomenerne, der er irreversible. Derved vil antallet af penialkirtler bedre kunne afspejle en mere nutidig TBT-belastning i forhold til imposex/intersex, der afspejler et TBT-niveau med års forsinkelse. Det vil tage 1-3 minutter ekstra tid pr. hansnegl at tælle antallet af penialkirtler.

4 Referencer

Quasimeme (1998): International Laboratory Performance Studies round 12, BE-1 Imposex and Intersex in Marine Snails, exercise 359.

Kaas H. & Markager S. (eds.) (1998): Teknisk anvisning for marin overvågning, NOVA. Kap. 19, Bestemmelse af imposex hos konksnegle (<http://www.dmu.dk/MarineEcologyAndMicrobiology/fagdata/tekanv/>).

Sterling P. (2000): Effekter af tributyltin (TBT) på køns karakterer hos strandsneglen, *Littorina littorea*. Specialrapport fra Syddansk Universitet, Biologisk Institut, Odense.

Danmarks Miljøundersøgelser

Danmarks Miljøundersøgelser - DMU - er en forskningsinstitution i Miljø- og Energiministeriet. DMU's opgaver omfatter forskning, overvågning og faglig rådgivning indenfor natur og miljø.

Henvendelser kan rettes til:

URL: <http://www.dmu.dk>

Danmarks Miljøundersøgelser
Frederiksborgvej 399
Postboks 358
4000 Roskilde
Tlf.: 46 30 12 00
Fax: 46 30 11 14

Direktion og Sekretariat
Forsknings- og Udviklingssektion
Afd. for Atmosfærisk Miljø
Afd. for Havmiljø
Afd. for Mikrobiel Økologi og Bioteknologi
Afd. for Miljøkemi
Afd. for Systemanalyse
Afd. for Arktisk Miljø

Danmarks Miljøundersøgelser
Vejlsøvej 25
Postboks 314
8600 Silkeborg
Tlf.: 89 20 14 00
Fax: 89 20 14 14

Overvågningssektionen
Afd. for Sø- og Fjordøkologi
Afd. for Terrestrisk Økologi
Afd. for Vandløbsøkologi

Danmarks Miljøundersøgelser
Grenåvej 12-14, Kalø
8410 Rønde
Tlf.: 89 20 17 00
Fax: 89 20 15 15

Afd. for Landskabsøkologi
Afd. for Kystzoneøkologi

Publikationer:

DMU udgiver faglige rapporter, tekniske anvisninger, temarapporter, samt årsberetninger. Et katalog over DMU's aktuelle forsknings- og udviklingsprojekter er tilgængeligt via World Wide Web.

Faglige rapporter fra DMU/NERI Technical Reports

2000

- Nr. 321: The DMU-ATMI THOR Air Pollution Forecast System. System Description. By Brandt, J., Christensen, J.H., Frohn, L.M., Berkowicz, R., Kemp, K. & Palmgren, F. 60 pp., 80,00 DKK.
- Nr. 322: Bevaringsstatus for naturtyper og arter omfattet af EF-habitatdirektivet. Af Pihl, S., Søgaard, B., Ejrnæs, R., Aude, E., Nielsen, K.E., Dahl, K. & Laursen, J.S. 219 s., 120,00 kr.
- Nr. 323: Tests af metoder til marine vegetationsundersøgelser. Af Krause-Jensen, D., Laursen, J.S., Middelboe, A.L., Dahl, K., Hansen, J. Larsen, S.E. 120 s., 140,00 kr.
- Nr. 324: Vingeindsamling fra jagtsæsonen 1999/2000 i Danmark. Wing Survey from the Huntig Season 1999/2000 in Denmark. Af Clausager, I. 50 s., 45,00 kr.
- Nr. 325: Safety-Factors in Pesticide Risk Assessment. Differences in Species Sensitivity and Acute-Chronic Relations. By Elmegaard, N. & Jagers op Akkerhuis, G.A.J.M. 57 pp., 50,00 DKK.
- Nr. 326: Integrering af landbrugsdata og pesticidmiljømodeller. Integrerede MiljøinformationsSystemer (IMIS). Af Schou, J.S., Andersen, J.M. & Sørensen, P.B. 61 s., 75,00 kr.
- Nr. 327: Konsekvenser af ny beregningsmetode for skorstenshøjder ved lugtemission. Af Løfstrøm, L. (Findes kun i elektronisk udgave)
- Nr. 328: Control of Pesticides 1999. Chemical Substances and Chemical Preparations. By Krongaard, T., Petersen, K.K. & Christoffersen, C. 28 pp., 50,00 DKK.
- Nr. 329: Interkalibrering af metode til undersøgelser af bundvegetation i marine områder. Krause-Jensen, D., Laursen, J.S. & Larsen, S.E. - (elektronisk) <http://faglige-rapporter.dmu.dk>
- Nr. 330: Digitale kort og administrative registre. Integration mellem administrative registre og miljø-/naturdata. Energi- og Miljøministeriets Areal Informations System. Af Hansen, H.S. & Skov-Petersen, H. 103 s., 100,00 kr.
- Nr. 331: Tungmetalledfald i Danmark 1999. Af Hovmand, M.F. Kemp, K. 30 s., 50,00 kr.
- Nr. 332: Atmosfærisk deposition 1999. NOVA 2003. Af Ellermann, T., Hertel, O. & Skjødt, C.A. 125 s., 125,00 kr.
- Nr. 333: Marine områder – Status over miljøtilstanden i 1999. NOVA 2003. Hansen, J.L.S. et al. 230 s., 240,00 kr.
- Nr. 334: Landovervågningsoplande 1999. NOVA 2003. Af Grant, R. et al. 150 s., 150,00 kr.
- Nr. 335: Søer 1999. NOVA 2003. Af Jensen, J.P. et al. 108 s., 125,00 kr.
- Nr. 336: Vandløb og kilder 1999. NOVA 2003. Af Bøgestrand J. (red.) 126 s., 150,00 kr.
- Nr. 337: Vandmiljø 2000. Tilstand og udvikling. Faglig sammenfatning. Af Svendsen, L.M. et al. 64 s., 75,00 kr.
- Nr. 338: NEXT I 1998-2003 Halogenerede Hydrocarboner. Samlet rapport over 3 præstationsprøvningsrunder . Af Nyeland, B. & Kvamm, B.L. 87 s., 150,00 kr.
- Nr. 339: Phthalates and Nonylphenols in Roskilde Fjord. A Field Study and Mathematical Modelling of Transport and Fate in Water and Sediment. The Aquatic Environment. By Vikelsøe, J., Fauser, P., Sørensen, P.B. & Carlsen, L. (in press)
- Nr. 440: Afstrømningsforhold i danske vandløb. Af Ovesen, N.B. et al. 238 s., 225,00 kr.
- Nr. 341: The Background Air Quality in Denmark 1978-1997. By Heidam, N.Z. 190 pp., 190,00 DKK.
- Nr. 342: Methyl t-Buthylether (MTBE) i spildevand. Metodeafprøvning. Af Nyeland, B. & Kvamm, B.L. 45 s., 75,00 kr.
- Nr. 343: Vildtudbyttet i Danmark i jagtsæsonen 1999/2000. Af Asferg, T. 31 s., 40,00 kr.

2001

- Nr. 344: En model for godstransportens udvikling. Af Kveiborg, O. (i trykken)
- Nr. 345: Important summer concentrations of seaducks in West Greenland. An input to oil spill sensitivity mapping. By Boertmann, D. & Mosbech, A. (in press)
- Nr. 346: The Greenland Ramsar sites. A status report. By Egevang, C. & Boertmann, D. (in press)
- Nr. 347: Nationale og internationale miljøindikatorssystemer. Metodeovervejelser. Af Christensen, N. & Møller, F. (i trykken)
- Nr. 348: Adfærdsmodel for persontrafik. Modelkoncept. ALTRANS. Af Rich, J.H. & Christensen, L. (i trykken)
- Nr. 349: Flora and fauna in Roundup tolerant fodder beet fields. By Elmegaard, N. & Bruus Pedersen, M. (in press)
- Nr. 350: Overvågning af fugle, sæler og planter 1999-2000 med resultater fra feltstationerne. Af Larusen, K. (red.) (i trykken)