

Föroreningar försämrar vitmärlans chans att klara syrebrist

MARIE LÖF, ELENA GOROKHOVA & BRITA SUNDELIN, STOCKHOLMS UNIVERSITET

Östersjön är ett av världens mest förorenade hav. Livet i Östersjön är också starkt påverkat av syrebrist. Experiment visar att vitmärlor klarar variationer i syrebrist sämre om de samtidigt utsätts för förorenat sediment.

■ Djur som lever i havsmiljöer där syrebrist förekommer naturligt är ofta anpassade till att klara perioder av sämre syreförhållanden. Vitmärlan kan sannolikt anpassa sig till syrebrist under begränsad tid. Men hur klarar märkräftorna syrebrist om de samtidigt stressas av förorenat sediment?

Vitmärlorna viktiga i ekosystemet

Vitmärlorna är små kräftdjur som lever i Östersjöns mjuka botten. De är viktiga

för ekosystemet genom att de gräver i sedimentet och äter det som faller ner på botten. På så sätt hjälper de till både med att syresätta det översta sedimentlagret och att recirkulera näring, genom att de är viktig föda för andra större kräftdjur och olika fiskarter. För att para sig och hitta botten med bättre tillgång på mat eller bättre syreförhållanden måste vitmärlorna simma. När de rör sig mellan sediment och vatten på olika djup kan de utsättas för hastiga förändringar av syrehalter.

Syreförhållandena på grunda botten kan också ändras vid omblandning av vattenmassan. Djupa botten påverkas av inflöden av nytt vatten till Östersjön, som kan förbättra syresituationen. Inflöden kan paradoxalt nog också leda till sämre syreförhållanden längre upp i havsbassänger-

na, om dåligt syresatt bottenvatten pressas framför inflödets tunga salta vatten. Sådana förändringar i syrehalter kan leda till att vitmärlorna drabbas av oxidativ stress.

Anpassningar till syrebrist

För vattenlevande djur kan förändringar i vattnets syrehalt alltså ge upphov till oxidativ stress. Det kan låta konstigt men störst risk för oxidativ stress uppstår faktiskt då syrebristen upphör och miljön blir bättre syresatt. Vid syrebrist drar många vattenlevande djur ner på sin ämnesomsättning, precis som däggdjur när de går i ide. När miljön blir syresatt igen ökar ämnesomsättningen och cellerna hinner inte ta hand om alla syreradikaler som produceras och den oxidativa stressen är ett faktum.

Därför har många arter som lever i miljöer med återkommande syrebrist en beredskap för att klara stressen som syresättningen medför. Under perioder med syrebrist ökar de sin försvarsberedskap genom större tillverkning av enzymer som skyddar mot syreradikaler. Då kan de upprätthålla en balans mellan oxidativt försvar och attack och därigenom undvika skador. Men ett sådant försvar kostar energi. Vad händer när djur redan lever under stress, till exempel när de är utsatta för miljögifter? Kan vitmärlor som lever i förorenat sediment klara att skydda sig mot oxidativ stress? Detta undersöktes i experiment utförda av författarna i samarbete med Martin Reutgard, Stockholms universitet och Magnus Lindström, Tvärminne zoologiska station i Finland.

Försvaret aktiveras i förväg

När vitmärlorna utsattes för sjunkande syrehalter i ett relativt rent sediment visa-



De fettrika vitmärlorna lagrar effektivt in organiska miljögifter. Halterna i kräftdjuren är många gånger högre än i sedimentet.

Foto: Niklas Wikmark/Azote

VITMÄRLORNAS STRESS UNDERSÖKT I EXPERIMENT

Vitmärslor samlades in vid Askö i Östersjön och utsattes för varierande syrehalter under 11 dagar i akvarier med genomrinnande brackvatten. I akvarierna hade vitmärlorna antingen ett relativt rent sediment eller ett kraftigt förorenat sediment med höga halter av kvicksilver, kadmium, koppar, bly och zink, samt organiska miljögifter som PAH:er, PCB:er, HCB, alifater och mono-, di- och tributyltenn. Båda sedimenten kom från Östersjön.

I vitmärlorna analyserades bland annat:

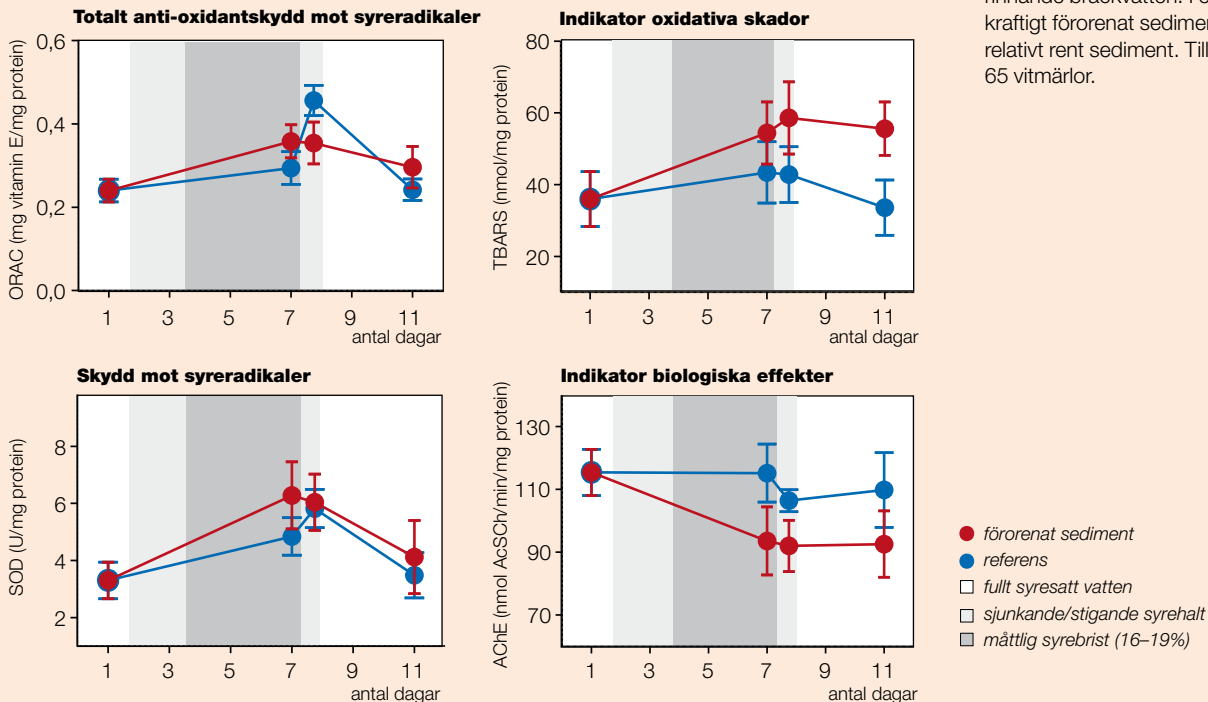
- den totala kapaciteten för absorptions av syreradikaler (ORAC, oxygen radical absorbance capacity), det vill säga förmågan att skydda sig mot oxidativ stress
- enzymet superoxid-dismutas (SOD) som skyddar mot syreradikaler
- enzymet acetylcholinesteras (AChE), ett viktigt enzym för nervsignaler som påverkas av flera typer av miljögifter
- lipid-peroxidering (koncentration TBARS, thiobarbituric acid reactive substances), det vill säga oxidativa skador på fetter.



Foto: Marie Löf

➤ Experimentuppställning med två akvarier uppdelade i vardera 15 sektioner med genomrinnande brackvatten. I ena akvariet fanns ett kraftigt förorenat sediment och i det andra ett relativt rent sediment. Till varje sektion tillsattes 65 vitmärlor.

REAKTION PÅ FÖRORENINGAR OCH SYREHALTER



➤ Vitmärlorna utsattes för experiment med varierande syrehalter i ett relativt rent respektive kraftigt förorenat sediment. Både vitmärlor och sediment hämtades från Östersjön. Gråskalan visar syremättnaden i vattnet; fullt syresatt vatten (vit), stigande respektive sjunkande syrehalter (ljusgrå), måttlig syrebrist med 16–19 procent syremättnad (mörkgrå). Punkterna visar när vitmärlor togs för analyser av enzymer och andra biomarkörer (fem replikat per tidpunkt och sedimenttyp med 65 juvenila vitmärlor i varje).

Vitmärlornas försvar mot oxidativ stress innebär att i ett relativt rent sediment (blå punkter) leder syrebrist till en ökad aktivitet i enzymet SOD som skyddar mot fria syreradikaler. Den totala kapaciteten för absorptions av syreradikaler (ORAC) ökar också. Både SOD och ORAC ökar ytterligare i kräftdjuren när vattnet syresätts igen. Totalt ökade SOD och ORAC med cirka 65 procent. Försvaret skyddar vitmärlorna mot oxidativa skador och syresättningen leder inte till någon ökning av skadade lipider. Enbart syrebrist påverkar inte enzymet AChE.

När vitmärlorna däremot utsattes för den kombinerade stressen av varierande syrehalt och ett förorenat sediment (röda punkter) med höga halter av tungmetaller och organiska miljögifter, räckte inte det antioxidativa försvaret till. Initialt leder den kombinerade stressen till en större ökning i SOD och ORAC än i det renare sedimentet. Men syresättningen av vattnet leder inte till någon fortsatt ökning av SOD och ORAC och 40 procent av lipiderna skadas. Aktiviteten hos det viktiga enzymet AChE minskar hos vitmärlorna i det förorenade sedimentet.

Noter: U står för units, en enhet som möter specifik aktivitet hos enzymer. AcSch är ett substrat som används för att mäta aktiviteten hos enzymet AChE.

Statistik: Behandlingseffekter testades för varje variabel i envägs- och tvåvägs-ANOVA med syrehalt, sedimenttyp och tid som fixa faktorer samt i Tukeys HSD post-hoc test. Alla skillnader som diskuteras är signifikanta ($p < 0,05$) om inget annat anges. Ökningen i ORAC vid syrebrist i referenssedimentet var nära signifikant ($p = 0,056$).

de det sig att de verkligen hade ett försvar mot den oxidativa stress som en framtida syresättning kan innebära. Under perioden med måttlig syrebrist ökade aktiviteten hos enzymet SOD som oskadliggör fria syreradikaler med 40 procent. Även den totala kapaciteten för absorptions av syreradikaler (ORAC) ökade med 22 procent.

När syrenivåerna sedan hastigt höjdes till fullt syresatt vatten, det vill säga då större mängder syreradikaler uppstår, reagerade vitmärlorna med ytterligare ökad aktivitet i SOD och en nu signifikant ökning av ORAC. Den här försvarsberedskapen skyddade dem, ingen oxidativ stress inträffade som skadade lipiderna: TBARS (oxiderade lipider) hade samma nivåer under hela försöket. Aktiviteten hos enzymet AChE påverkades inte av förändringar i syrenivå i det renare sedimentet. Efter några dagar i fullt syresatt vatten återgick aktiviteten hos SOD och ORAC till samma nivåer som vid försökets start, vilket tyder på att vitmärlorna återhämtat sig.

Föroreningar gör vitmärlan sårbar

Men hur gick det när vitmärlorna utsattes för syrebrist i ett kraftigt förorenat sediment? Inte lika bra tyvärr, med tanke på miljösituationen i Östersjön. Även här sattes vitmärlornas försvarsberedskap igång med en ökad aktivitet i SOD och ORAC under perioden med måttlig syrebrist. Responsen var kraftigare än i det renare sedimentet, vilket är ett resultat av den kombinerade stressen som vitmärlorna utsattes för. Men syresättningen av vattnet ledde inte till någon ytterligare ökning i SOD och ORAC hos dessa kräftdjur, som den gjorde i det renare sedimentet.

När försvaret verkligen behövdes då syret återvände klarade inte vitmärlorna i det förorenade sedimentet av att öka sin kapacitet att oskadliggöra syreradikaler. Den här obalansen mellan oxidativt försvar och attack ledde till oxidativ stress som visade sig i form av en 40-procentig ökning av skadade lipider. Nivåerna hos ORAC och TBARS kom heller inte ner till startvärdena efter några dagar i fullt syresatt vatten. Detta visar att vitmärlorna inte mår lika bra som i det renare sedimentet och ännu inte hunnit återhämta sig. Det kan tyckas vara en liten skillnad, men att producera skyddande substanser mot oxidativ stress, eller reparera skadade molekyler är kostsamt. All energi är värdefull och ska helst använ-

FAKTA

Oxidativ stress

Samtidigt som syre är livsnödvändigt kan det vara skadligt för celler och vävnader. Fria syreradikaler bildas som en sidoprodukt från cellernas ämnesomsättning och bidrar till cellens kommunikation. Men de fria syreradikalerna kan också skada cellen, eftersom de har oparade elektroner och därför har en stark drivkraft att hitta andra molekyler att slå sig ihop med eller ta elektroner ifrån.

För det mesta kan organismen ta hand om och oskadliggöra de aggressiva syreradikalerna. Cellerna har nämligen flera olika försvar mot syreradikaler, så kallade antioxidanter: vitaminer, pigment och olika enzymer som cellen producerar. Oxidativ stress är det som sker när cellens försvar inte räcker till för att ta hand om syreradikalerna, alltså vid en obalans mellan attack och försvar. Då skadar syreradikalerna viktiga molekyler i cellerna, som DNA, proteiner och lipider. En skadad lipid, en fett-molekyl, förändras och kan i sin tur "smitta" andra lipider så det uppstår en kedjereaktion. Därför kan det bli stora skador av oxidativ stress. Många oxidativa skador kan inte repareras och om skadorna är allvarliga dör cellen. Oxidativ stress kan leda till olika sjukdomar hos människan, som Alzheimers, Parkinsons, hjärt-kärlsjukdomar och cancer.

Fria syreradikaler kan även bildas när cellerna utsätts för miljögifter, radioaktiv strålning eller UV-strålning. Många miljögifter är giftiga just genom att de orsakar oxidativ stress när cellerna försöker förändra giftets kemiska struktur för att underlätta utsöndringen. I Östersjön finns en mängd olika miljögifter som vitmärlorna tar upp genom födan och via vattnet. På grund av vitmärlornas höga fetthalt blir koncentrationerna av fettlösliga miljögifter ofta mycket högre i deras kroppar än i omgivande vatten eller sediment.

das till tillväxt och förökning. En vitmärla som mår sämre efter en period med syrebrist kan löpa större risk att ätas upp eller får mindre avkommor.

Enzymet AChE, som är en förutsättning för fungerande nervsignaler, används också som en biomarkör som visar att djur har blivit utsatta för miljögifter. Oftast orsakar miljögifter en minskad aktivitet i AChE. I det förorenade sedimentet sjönk mycket riktigt vitmärlornas aktivitet av AChE och de visade ingen återhämtning efter perioden med full syresättning. Det kan också leda till sämre chanser att överleva.

Östersjön kräver speciell hänsyn

Östersjön är med sitt bräckta vatten en unik miljö. Få arter trivs i en miljö där vattnet varken är sött eller salt och de arter som finns i Östersjön har i många fall speciella anpassningar för att klara sig där. Vitmärlan är en av få arter som finns från Bottenviken ner till södra Östersjön. Det här experimentet visar att vitmärlan har sämre förutsättningar att klara ökande syrehalter efter måttlig syrebrist och den oxidativa stress det kan medföra, om märkräftorna samtidigt utsätts för föroreningar. Syrebrist och belastningen av miljögifter räknas ofta som de två allvarligaste miljöproblemen som Östersjön brottas med och som är svåra att åtgärda. Att även måttlig syrebrist i kombination med miljögifter har en negativ

påverkan på bottenlevande kräftdjur visar behovet av fler studier som undersöker vad som händer när havets organismer utsätts för flera miljöproblem samtidigt.

Tills vi har bättre kunskaper om vad den sammanlagda belastningen av miljögifter och andra stressfaktorer faktiskt innebär är det extra viktigt att vi tar med denna osäkerhet i bedömningen när vi bestämmer vilka regler som ska gälla för Östersjöns unika miljö.

LÄSTIPS:

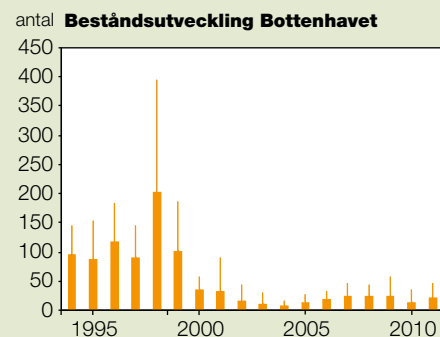
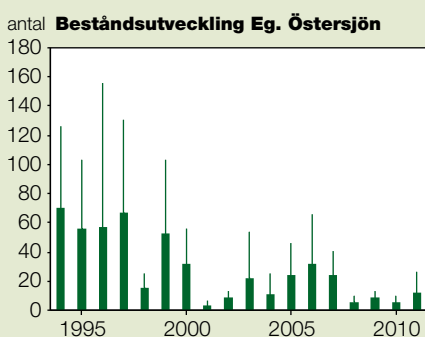
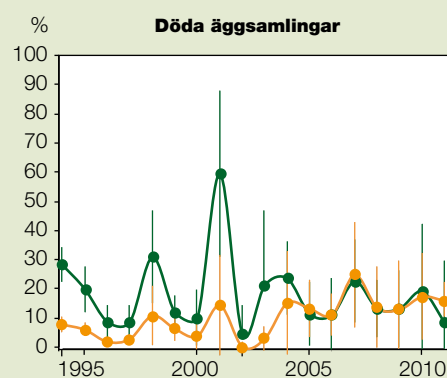
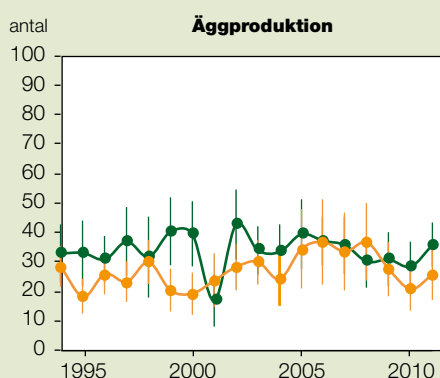
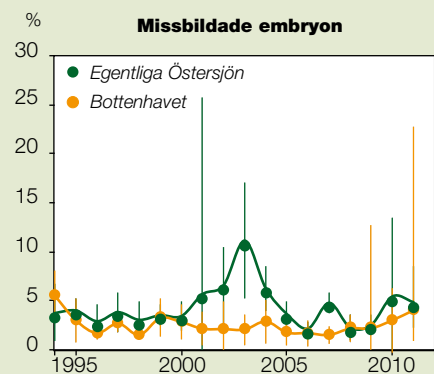
Gorokhova, E., Löf, M., Halldorsson, H. P., Tjarnlund, U., Lindström, M., Elfving, T., Sundelin, B. *Single and combined effects of hypoxia and contaminated sediments on the amphipod *Monoporeia affinis* in laboratory toxicity bioassays based on multiple biomarkers*. *Aquat. Toxicol.* (2010), doi:10.1016/j.aquatox.2010.05.005

Gorokhova, E., Löf, M., Reutgard, M., Lindström, M., Sundelin, B. *Exposure to contaminants exacerbates oxidative stress in amphipod *Monoporeia affinis* subjected to fluctuating hypoxia*. *Aquat. Toxicol.* (2012), doi:10.1016/j.aquatox.2012.01.022

Embryonalutveckling hos vitmärsla

Marie Ljöf & Brita Sundelin, Stockholms universitet

VITMÄRSLA



Antalet gravida vitmärslor har sjunkit under den undersökta perioden i båda områdena. Data baserar sig på fem bottenhugg från varje station, med 5 stationer i Bottenhavet och 7–8 stationer i Egentliga Östersjön, där en utsjöstation tillkom 2002. Vertikala staplar anger 95-procentigt konfidensintervall. Minskningen i antalet gravida honor i Egentliga Östersjön under åren 1998 och 2001 kan kopplas till förhöjd andel honor med död äggsamling under dessa år. Motsvarande koppling kan inte göras för de senaste fyra åren.

Data visar medelvärden med 95-procentiga konfidensintervall från fem bottenhugg samt ett bottenhugg. Ett förslag till bedömningsgrunder för missbildade embryon hos vitmärsla har tagits fram, utifrån detta råder god ekologisk status i de undersökta områdena i båda havsbassängerna. Båda områdena kan klassas som bakgrundsområden, utan känd tillförsel av miljögifter från punktkällor.

Den förhöjda andelen missbildade embryon i Egentliga Östersjön under perioden 2001–2004 speglar en ovanligt hög förekomst av embryon med skadade cellmembran där lipider läcker ut ur cellerna. Sådana skador återkommer så gott som varje år, men orsaken till de höga förekomsterna under åren 2001–2004 är fortfarande oklar.

Färre vitmärslor

Embryonalutveckling hos vitmärsla används som indikator för sammanlagd påverkan av flera miljögifter. Den undersöks årligen i ett område i Egentliga Östersjön och ett i norra Bottenhavet. Vitmärslornas fortplantning påverkas eftersom deras embryon skadas av tungmetaller och organiska miljögifter. Studier av missbildade embryon hos vitmärsla visar att det i båda områdena råder god ekologisk status under 2011. Bedömningen baseras på ett förslag till bedömningsgrunder för ekologisk status. De senaste fyra åren finns inga signifikanta skillnader mellan havsbassängerna i andel missbildade embryon.

Ett oroande faktum är att antalet insam-

lade vitmärslor sjunker i Egentliga Östersjön. Vitmärslan har inte heller återhämtat sig i norra Bottenhavet efter populationskraschen i början av 2000-talet. Det speglas i den statistiska variationen av andelen missbildade embryon som har ökat under de tre senaste åren. Till exempel berodde det ökade konfidensintervallet år 2011 för embryomissbildningar i Bottenhavet på att vitmärslorna nästan helt försvunnit från två av fem undersökta stationer. Även i Egentliga Östersjön utgick två av åtta stationer ur analysen på grund av för få gravida honor.

Dessutom sjunker antalet insamlade vitmärslor även på de kvarvarande stationerna, trots att lika många bottenhugg och skrap tas som tidigare. Det minskade

antalet vitmärslor verkar bero på annat än miljögifter eftersom andelen missbildade embryon indikerar god status.

Vitmärslans drastiska populationsnedgång i norra Bottenhavet under 2000-talet beror sannolikt på födobrist och undernäring, orsakad av några år med kraftigt ökad tillrinning, försämrat siktdjup i havsvattnet och minskad algblomning. Vitmärslornas känslighet för miljögifter och parasitinfektioner ökar också om de är i dålig kondition.

De senaste årens minskning i antal gravida vitmärslor i Egentliga Östersjön kan däremot inte kopplas till någon motsvarande kraftigt ökad tillrinning.



Foto (samtliga): Marie Löf



Provtagning av vitmärlor sker under ofta bistra förhållanden i januari månad, med hjälp av isbrytare. Tidpunkten är vald utifrån att de gravida honorna har embryon i ett lämpligt stadium för analys av skador. Här bilder från 2011 på fartyget Fyrbyggaren.

Inga stora skillnader i äggproduktion

Det finns inga signifikanta skillnader i vitmärlans äggproduktion mellan havsbassängerna. När miljöövervakningsprogrammet för vitmärla började 1994 var äggproduktionen oftast högre i Egentliga Östersjön. Men efter den kraftiga nedgången av populationerna i Bottenhavet ökade antalet ägg per hona under 2000-talet, vilket kan bero på minskad konkurrens om födan. Nedgången hos vitmärlor i Egentliga Östersjön, som medfört att antalet insamlade gravida honor nästa halverats under de senaste fyra åren, har inte lett till någon ökad äggproduktion per hona i det undersökta området.

Fortplantningen känslig

Om den gravida honan utsätts för syrebrost dör hela eller delar av äggsamlingen. Efter som vitmärlan bara fortplantar sig en gång i livet innebär det förlorade möjligheter att föra sina gener vidare. Dåligt syresatt bottenvatten som flödar in över ett område kan därför leda till att vitmärlorna lokalt dör ut.

Variationen i andelen döda ägg speglar syreförhållandena i bottenvattnet under sensommar och höst. Syresituationen har tidigare varit bättre i Bottenhavet än i Egentliga Östersjön. Bottenhavet har därför haft en lägre andel honor med döda äggsamlingar än Egentliga Östersjön. Men skillnaderna har jämnats ut sedan början av 2000-talet, då andelen honor med döda

äggsamlingar har ökat i Bottenhavet, till följd av en signifikant minskning av syret i vattnet.

Förbättrad geografisk täckning

Från och med 2012 har utformningen av programmet "Embryonalutveckling hos vitmärla" ändrats. Vitmärlor samlas in med flera bottenskrap som ger ett större antal gravida honor per station. Det utökade programmet omfattar också en betydligt större del av den svenska Östersjöskusten än tidigare, från norra Bottenhavet till södra Östersjön. Dessa data är också värdefulla som referensvärden för regional miljöövervakning och recipientkontroll.