



HÁSKÓLI ÍSLANDS

**BS ritgerð
í Lífefnafræði**

**Áhrif mengandi efna á krækling (*Mytilus edulis*) í
höfnum á Suðurnesjum skoðuð með notkun
lífmerkja**

Sandra Dögg Georgsdóttir

Leiðbeinendur:
Halldór Pálmar Halldórsson
Hermann Dreki Guls
Júní 2022

RAUNVÍSINDAEILD

Áhrif mengandi efna á krækling (*Mytilus edulis*) í höfnum á Suðurnesjum skoðuð með notkun lífmerkja

Sandra Dögg Georgsdóttir

Lokaverkefni til *Baccalaureus Scientiarum* prófs í lífefnafræði

Leiðbeinendur:

Halldór Pálmar Halldórsson (forstöðumaður Rannsóknaseturs H.Í. á
Suðurnesjum)

Hermann Dreki Guls (sérfræðingur Rannsóknaseturs H.Í. á Suðurnesjum)

Raunvísindadeild

Verkfræði- og náttúruvísindasvið

Háskóla Íslands

Júní 2022

Áhrif mengandi efna á krækling (*Mytilus edulis*) í höfnum á Suðurnesjum skoðuð með notkun lífmerkja

Ritgerð þessi er 15 eininga lokaverkefni til Baccalaureus Scientiarum prófs við Raunvísindadeild á Verkfræði- og náttúruvísindasvið Háskóla Íslands

© 2022 Sandra Dögg Georgsdóttir

Ritgerðina má ekki afrita nema með leyfi höfundar

Útdráttur

Mengandi efni svo sem fjölhringa kolvatnsefni (e. polycyclic aromatic hydrocarbons, PAH), fjölkloruð tvífenýl efni (e. polychlorinated phenyls, PCB), lífræn tinsambönd og málmar finnast víða um heiminn og eru helstu uppsprettur þeirra vegna athafna mannsins. Hafnir eru sérstaklega útsettar fyrir mengun og eru hafnarsvæði oft helsta mengunaruppsprettan í sjó hér á landi. Kræklingur (*Mytilus* spp.) er algeng vöktunarlífvera fyrir mengun víða um heim, þ.á.m. á Íslandi. Áhrif mengunarefna á lífverur eru oft metin með lífmerkjum (e. biomarkers) og eru ýmis lífmerki til. Í þessari rannsókn var notast við lífmerkin, „Stress-on-Stress“ (SoS), asetylkólinesterasa (AChE), glútaþíón S-transferasa (GST), glútaþíón peroxídasa (GPx) og katalasa (CAT) í tálknunum og meltingarkirtli í kræklingi til að kanna mengunarálag í höfnum á Suðurnesjum. Kræklingi var safnað í Sandgerðishöfn, Grindavíkurhöfn og Njarðvíkurhöfn, og til viðmiðunar í Hvassahrauni. Markmið verkefnisins var að nota lífmerki ásamt efnagreiningum til að meta möguleg líffræðileg áhrif mengunar í höfnunum og jafnframt að skoða notagildi lífmerkja og mögulega fylgni milli efnainnihalds og mældra lífmerkja. SoS gaf til kynna að kræklingar á öllum stöðvum væru tiltölulega heilbrigðir. Virkni GST, GPx og CAT var hærri í kræklingum frá Sandgerði, Njarðvík og Grindavík, miðað við Hvassahraun sem bendir til mengunarálags í höfnunum. Ekki fannst marktækur munur á virkni AChE milli hafnanna og Hvassahrauns. Efnagreiningar sýndu ekki fram á mikla hættu á áhrifum vegna mengunar en þó var styrkur sumra efna yfir umhverfismörkum og jafnvel yfir áhrifagildum. Niðurstöðurnar sýna að hægt er að nota þau lífmerki sem hér voru mæld til að meta mengun í höfnum hér á landi. Mengun mun að öllum líkindum halda áfram að aukast með aukinni skipaumferð og er því nauðsynlegt að fylgjast með framvindu mengunar og áhrifum hennar á lífríki sjávar.

Abstract

Pollutants such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls PCBs, organotin compounds, and metals are found all over the world and their main source is human activities. Harbors are particularly exposed to pollution and are often the main source of pollution in the marine environment in Iceland. Mussels (*Mytilus* spp.) are common sentinel organisms for pollution in many areas of the world, including Iceland. The effects of pollutants on organisms are often assessed using biomarkers and various biomarkers exist. This study used the biomarkers, Stress-on-Stress (SoS), acetylcholinesterase (AChE), glutathione S-transferase (GST), glutathione peroxidase (GPx), and catalase (CAT) in the gills and digestive glands in mussels from harbors in Suðurnes. Mussels were collected in Sandgerðishöfn, Grindavíkurhöfn, and Njarðvíkurhöfn, and for reference, in Hvassahraun. The aim of the project was to use biomarkers together with chemical contents in the mussels to assess possible biological effects of pollution in the harbors and also to examine the usefulness of the biomarkers and the possible correlation between chemical content and measured biomarkers. SoS indicated that the mussels at all stations were relatively healthy. The activity of GST, GPx, and CAT was higher in mussels from Sandgerði, Njarðvík, and Grindavík, compared to Hvassahraun, which indicates stress due to pollution in the harbors. No significant difference in AChE activity was found between the harbors and Hvassahraun. Chemical analyses did not show a high risk of effects due to pollution, but the concentration of some substances was above the environmental limit and even above the effect values. The results show that the biomarkers that were measured in this study can be used to assess pollution in harbors in Iceland. Pollution will most likely continue to increase with increased maritime activity, and it is, therefore, necessary to monitor the development of pollution and its impact on marine biota.

Efnisyfirlit

Útdráttur	iii
Myndir	vii
Töflur	ix
Þakkir	xi
1 Inngangur	1
1.1 Oxunarálag	4
1.2 Lífmerki (e. biomarkers)	6
1.2.1 Stress-on-Stress (SoS).....	6
1.2.2 Örkjarnar (e. micronucleus).....	7
1.2.3 Asetýlkólínesterasi (AChE)	8
1.2.4 Glútaþíón S-transferasi (GST).....	8
1.2.5 Glútaþíón peroxídasi (GPx).....	9
1.2.6 Katalasi (CAT).....	9
1.3 Markmið rannsóknar	9
2 Aðferðir	10
2.1 Söfnun kræklinga.....	10
2.2 Efnagreiningar	10
2.3 Stress-on-Stress (SoS)	11
2.4 Örkjarnapróf (Micronucleus assay).....	11
2.5 Ensímvirknimælingar	12
2.5.1 Undirbúningur sýna	12
2.5.2 AChE.....	13
2.5.3 GST	14
2.5.4 GPx	15
2.5.5 CAT.....	16
2.5.6 Greining á próteinmagni	16
2.6 Tölfræðigreining.....	17
3 Niðurstöður.....	18
3.1 Mælingar á kræklingum	18
3.2 SoS.....	18
3.3 Virknimælingar ensíma og greining próteinmagns	20
3.3.1 AChE.....	20
3.3.2 GST.....	21
3.3.3 GPx	22
3.3.4 CAT.....	24
3.3.5 Próteinmagn	25
3.4 Efnagreiningar	27

4 Umræða og ályktanir	30
4.1 SoS	30
4.2 AChE.....	31
4.3 GST	31
4.4 GPx.....	32
4.5 CAT.....	33
4.6 Próteinmagn	34
4.7 Efnainnihald í kræklingi.....	34
4.8 Ályktanir	35
Heimildir	37
Viðaukar.....	44
1 Viðmiðunargildi	44
2 Blöndun buffera.....	45
3 Lausnir fyrir ensím virknimælingar.....	46
3.1 AChE	46
3.2 GST.....	47
3.3 GPx	48
3.4 CAT	50

Myndir

Mynd 1:	Efnahvarf asetylkólnesterasa. Mynd teiknuð í ChemDraw 19.1.....	13
Mynd 2:	Efnahvarf glútaþíón S-transferasa. Mynd teiknuð í ChemDraw 19.1.....	14
Mynd 3:	Efnahvarf glútaþíón peroxídasa (seleníumháðan). Efnahvarf seleníumóháða glútaþíón peroxídasa yrði það sama nema notast væri við kúmen peroxíð (CHP) í stað vetnisperoxíðs (H ₂ O ₂). Mynd teiknuð í ChemDraw 19.1.....	15
Mynd 4:	Efnahvarf katalasa. Mynd teiknuð í ChemDraw 19.1.....	16
Mynd 5:	„Stress-on-Stress“ lifunarferlar stöðvanna ásamt línu við LT ₅₀ , þ.e. þegar 50% kræklinga eru dauðir (svarta línan). Lifunarferlar sýna prósentu þeirra lifandi kræklinga á móti tíma (dagar). LT ₅₀ var hæst í Sandgerði (22 dagar) en lægst í Hvassahrauni (17 dagar). Kræklingum safnað úr höfnum og í Hvassahrauni 21. og 22. október 2021 og SoS komið af stað samdægurs.....	19
Mynd 6:	„Stress-on-Stress“ lifunarferlar kræklinga allra stöðva ásamt 95% öryggismörkum.....	19
Mynd 7:	Virgni asetylkólnesterasa í tálknum fjörukræklinga frá mismunandi stöðvum. Meðalvirgni AChE var hæst í Sandgerði (28,4 ± 8,2 nmól/mín/mg prótein) og lægst í Njarðvík (18,4 ± 7,4 nmól/mín/mg prótein). Kræklingi var safnað úr höfnum og í Hvassahrauni 21. og 22. október 2021.....	20
Mynd 8:	Virgni glútaþíón S-transferasa í tálknum fjörukræklinga frá mismunandi stöðvum. Meðalvirgni GST var hæst í Sandgerði (98,2 ± 31,8 nmól/mín/mg prótein) og lægst í Hvassahrauni (26,5 ± 8,0 nmól/mín/mg prótein). Kræklingi var safnað úr höfnum og í Hvassahrauni 21. og 22. október 2021.....	21
Mynd 9:	Virgni seleníumháða glútaþíón peroxídasa í tálknum fjörukræklinga frá mismunandi stöðvum. Meðalvirgni SeGPx var hæst í Grindavík (6,7 ± 2,9 nmól/mín/mg prótein) og lægst í Sandgerði (4,3 ± 1,7 nmól/mín/mg prótein). Kræklingi var safnað úr höfnum og í Hvassahrauni 21. og 22. október 2021.....	22
Mynd 10:	Virgni seleníumóháða glútaþíón peroxídasa í tálknum fjörukræklinga frá mismunandi stöðvum. Meðalvirgni TGPx var hæst í Sandgerði (7,5 ± 2,1 nmól/mín/mg prótein) og lægst í Hvassahrauni (4,8 ± 1,8 nmól/mín/mg prótein). Kræklingi var safnað úr höfnum og í Hvassahrauni 21. og 22. október 2021.....	23
Mynd 11:	Virgni katalasa í meltingarkirtli fjörukræklinga frá mismunandi stöðvum. Meðalvirgni CAT var hæst í Grindavík (12,7 ± 2,6 μmól/mín/mg prótein) en lægst í Sandgerði (10,1 ± 2,6 μmól/mín/mg prótein). Kræklingi var safnað úr höfnum og í Hvassahrauni 21. og 22. október 2021.....	24

- Mynd 12: Próteinmagn í tálknum fjörukræklings frá mismunandi stöðvum. Meðalmagn próteina var hæst í Sandgerði ($3,4 \pm 0,3$ mg/mL) en lægst í Njarðvík ($3,1 \pm 0,2$ mg/mL). Kræklingi var safnað úr höfnum og í Hvassahrauni 21. og 22. október 2021. 25
- Mynd 13: Próteinmagn í meltingarkirtli fjörukræklings frá mismunandi stöðvum. Meðalmagn próteina var hæst í Sandgerði ($26,7 \pm 2,2$ mg/mL) en lægst í Hvassahrauni ($21,9 \pm 2,2$ mg/mL). Kræklingi var safnað úr höfnum og í Hvassahrauni 21. og 22. október 2021. 26

Töflur

Tafla 1:	Mælingar sem gerðar voru á kræklingum (n=15, meðaltöl ± staðalfrávik) sem safnað var úr höfnum á Suðurnesjum og í Hvassahrauni dagana 21. og 22. október 2021.	18
Tafla 2:	Styrkur ólífrænna snefilefna í kræklingi úr höfnum Suðurnesja frá Halldórsson o.fl. (2021) og í Hvassahrauni frá Desnica o.fl. (2022).....	27
Tafla 3:	Styrkur sextán fjölhringa kolvatnsefna (PAH efna) í kræklingi úr höfnum Suðurnesja frá Halldórsson o.fl. (2021) og í Hvassahrauni Desnica o.fl. (2022).....	28
Tafla 4:	Styrkur lífrænna tinsambanda í kræklingi úr höfnum Suðurnesja frá Halldórsson o.fl. (2021). Ekki eru til gildi fyrir lífræn tinsambönd í kræklingi frá Hvassahrauni.....	29
Tafla 5:	Styrkur sjö klórlífrænna þrávirkra efna (PCB efna) í kræklingi safnað í þessari rannsókn úr höfnum Suðurnesja og í Hvassahrauni.	29
Tafla 6:	Norsk viðmiðunarmörk efna í kræklingi (Molvær o.fl., 1997).....	44
Tafla 7:	50 mM K-fosfat buffer (pH 7,5) ásamt 2 mM EDTA sem notaður var í kafla 2.5.1 við gerð einsleitu lausna fyrir ensímvirkni mælingar (GST, GPx (SeGPx og TGPx) og CAT).....	45
Tafla 8:	0,02 M fosfat buffer (pH 7) ásamt 0,1% Triton X-100 sem notaður var í kafla 2.5.1 við gerð einsleitu lausnar fyrir ensímvirkni mælingar á AChE.....	45
Tafla 9:	0,1 M K-fosfat buffer (pH 6,5) sem notaður var við virkni mælingar á GST, GPx (SeGPx og TGPx), CAT (2.5.3-2.5.5) og einnig við þynningu próteinsýna (2.5.1).....	45
Tafla 10:	0,02 M fosfat buffer (pH 7,0) sem notaður var við virkni mælingar á AChE (2.5.2).....	46
Tafla 11:	0,1 M TRIS buffer sem notaður var í blöndun DTNB fyrir virknimælingar á AChE (2.5.2).....	46
Tafla 12:	Blöndun 0,01 M DTNB lausnar fyrir AChE virknimælingar.....	46
Tafla 13:	Blöndun 0,1 M ACTC lausnar fyrir AChE virknimælingar.....	46
Tafla 14:	Blöndun hvarflausnar fyrir AChE virknimælingar ásamt blöndun viðmiðunarlausnar.	47
Tafla 15:	Blöndun 10 mM GSH fyrir GST virknimælingar.	47
Tafla 16:	Blöndun 60 mM CDNB fyrir GST virknimælingar.	47

Tafla 17:	Blöndun hvarflausnar fyrir GST virknimælingar ásamt blöndun viðmiðunarlausnar.....	47
Tafla 18:	Blöndun 40 mM GSH fyrir SeGPx og TGPx virknimælingar.....	48
Tafla 19:	Blöndun 20mM NaN ₃ fyrir SeGPx virknimælingar.....	48
Tafla 20:	Blöndun 2,4 mM NADPH fyrir SeGPx og TGPx virknimælingar.....	48
Tafla 21:	Blöndun 40 U/mL GR fyrir SeGPx og TGPx virknimælingar.....	48
Tafla 22:	Blöndun 20 mM H ₂ O ₂ fyrir SeGPx virknimælingar.....	48
Tafla 23:	Blöndun 40 mM CHP fyrir TGPx virknimælingar.....	49
Tafla 24:	Blöndun hvarflausnar fyrir SeGPx virknimælingar ásamt blöndun bakgrunnslaunsar (BLANK) og viðmiðunarlausnar.....	49
Tafla 25:	Blöndun hvarflausnar fyrir TGPx virknimælingar ásamt blöndun bakgrunnslaunsar (BLANK) og viðmiðunarlausnar.....	50
Tafla 26:	Blöndun 60 mM H ₂ O ₂ fyrir CAT virknimælingar.....	50
Tafla 27:	Blöndun hvarflausnar fyrir CAT virknimælingar ásamt blöndun viðmiðunarlausnar.....	50

Þakkir

Mig langar að byrja á því að þakka leiðbeinendum mínum, Halldóri og Dreka, fyrir alla hjálpina, stöðugan stuðning og fyrir að veita endalaust stuð í gegnum þetta verkefni. Mig langar að þakka foreldrum mínum, systur og dýrmætu vinkonum mínum fyrir ómetanlegan stuðning. Að lokum vil ég þakka Samúel fyrir endalausan stuðning og hvatningu í gegnum þetta verkefni.

1 Inngangur

Mengun sjávar og loftslagsbreytingar af mannavöldum eru helstu ógnir heimshafa okkar tíma. Þættir eins og hækkandi hitastig, súrnun sjávar og öfgakenndara veðurfar eru að breyta virkni og flæði mengunarefna í umhverfinu og breyta þ.a.l. efnafræði sjávar sem hefur svo áhrif á lífeðlisfræði og heilsu sjávarlífvera, sem í kjölfarið getur einnig haft áhrif á heilsu fólks (Alava o.fl., 2017). Oft finnst mikið magn af lífrænum og ólífrænum efnunum í árósa- og strandvistkerfum sjávar af náttúrulegum völdum og vegna áhrifa mannsins. Mengandi starfsemi manna hefur líklega aldrei verið jafn mikil og undanfarin ár og hefur magn náttúrulega efna, svo sem málma hækkað gríðarlega mikið í sjó víða um heim (Neff, 2002). Ýmiss konar iðnaðar- og landbúnaðarstarfsemi er helsta uppspretta tilbúinna lífrænna efna í sjó (Neff, 2002) og fjöldi og fjölbreytileiki þeirra heldur áfram að aukast þar sem tækniþróun og iðnaður eykur kröfur á framleiðslu nýrra efna (Livingstone, 1993; Rocha o.fl., 2018). Sum þessara efna komast inn í vistkerfi sjávar í magni sem getur skaðað sjávarlífverur og vistkerfið sjálft, og jafnvel neytendur sjávarfangs. Til þess að efni hafi einhver eiturrhrif þarf það að vera á lífaðgengilegu formi. Efni er talið lífaðgengilegt ef það getur flætt í gegnum eða bundist við yfirborð lífverunnar (t.d. húð eða tálkn) og fengið fram líffræðilegt viðbragð. Lífaðgengileg efni geta safnast fyrir í lífverum í mjög miklu magni ef þau hafa meiri sækni í ákveðinn vef eða vefi lífverunnar miðað við umhverfi hennar (Neff, 2002).

Skipaumferð, bæði skipaflutningar og önnur siglingastarfsemi, hefur aukist gríðarlega mikið seinustu árin og þá ekki síst á norðurslóðum í kjölfar opunar siglingaleiða (Svavarsson o.fl., 2021). Því má búast við auknu mengunarálagi í sjó af völdum t.d. gróðurhindrandi efna, fjölhringa kolvatnsefna og annarra efna frá bruna jarðefnaeldsneytis (Svavarsson o.fl., 2021). Hafnarsvæði eru oft undir miklum áhrifum vegna mengunar af mannavöldum (Bebiano o.fl., 2015) og eru þau ein helsta mengunaruppsprettan í sjó hér á landi og hafa margskonar áhrif á lífríki íslenskra hafna komið í ljós, svo sem áhrif á erfðaefni kræklinga og fiska (Stephensen o.fl., 2000; Halldórsson o.fl., 2004; Skarphéðinsdóttir o.fl., 2007), aukin ensímvirgni marhnúta (Stephensen o.fl., 2000) og minnkað vaxtarrými kræklinga (Halldórsson o.fl., 2005). Fjölbreytta starfsemi ásamt meðfylgjandi álagi er þar að finna svo sem mikla skipaumferð, vöruflutninga, skipaviðgerðir og málun, útskipun, tilviljunarkennda olíuleka og ýmiss konar frárennsli frá landi (Bocchetti o.fl., 2008; Bebianno o.fl., 2015).

Hafnir hafa yfirleitt takmarkað straumflæði, léleg vatnsgæði og líffjölbreytileikinn er oft lágur (Bebiano o.fl., 2015). Mengandi efni sem fylgja hafnarstarfsemi geta auðveldlega safnast fyrir á þessum svæðum (Bocchetti o.fl., 2008).

Upptaka mengunarefna, málma og ýmissa lífrænna utanaðkomandi efna getur átt sér stað frá seti, úr sjó og fæðu og magnast með auknu lífaðgengi, fitusækni/vatnsfælni og styrk þessarra efna í umhverfinu (Livingstone, 1993). Uppsöfnun mengunarefna getur verið misjöfn milli lífvera og fer eftir jafnvægi milli hraða upptöku og efnaskipta sem sjá um afeitrunarferlið og eyða eða losa lífveruna við efnin. Upptaka efna er aðallega óvirkt (e. passive) ferli ákvarðað af lögmálum eðlisefnafræðinnar en ensím taka þátt í efnaskiptum og eru áhrifin því háð hæfni lífverunnar til afeitrunar (Livingstone, 1993). Mengunarefni geta ýmist verið umbreytanleg eins og fjölhringa kolvatnsefni (e. polycyclic aromatic hydrocarbons, PAH) sem geta safnast upp í miklu magni neðst í fæðukeðjunni, t.d. í hryggleysingjum, þar sem hraði upptöku er mun meiri en efnaskiptahraðinn og getan til að brjóta efnin niður. PAH efni virðast samt sem áður ekki magnast upp í gegnum fæðukeðjuna þar sem þau eru lífumynduð í lífverum (Wan o.fl., 2007). PAH efni er stór hópur efna sem einkennast af tveimur eða fleiri arómatískum hringjum sem liggja í sama plani. Þessi vatnsfælnu sambönd finnast víða í umhverfinu og er helsta uppstretta þeirra ýmiss konar starfsemi manna en þessi efni finnast þó einnig í náttúrunni. Náttúruleg PAH efni finnast m.a. í olíu og myndast vegna skógarelda, eldgosa og tillífun örvera og plantna en þau myndast aðallega við ófullkominn bruna lífrænna efna (e. pyrogenic), losun málmvinnslu, myndun kreósóts (e. creosote) og olíuleka (e. petrogenic) (Wan o.fl., 2007; Balmer o.fl., 2019). PAH efni sem myndast við bruna einkennast aðallega af stærri PAH efnum (fjórir til sjö arómatískir hringir) en olíuborin og PAH efni sem myndast ekki við bruna eru aðallega minni PAH efni (tveir til þrjú arómatískir hringir) (Neff, 2002; Halldórsson, 2008). Áhrif PAH efna fara eftir stærð og byggingu þeirra. Minni PAH efni geta haft bráð eituráhrif á sjávarlífverur en stærri PAH efnin hafa frekar krabbameinsvaldandi áhrif (Neff, 2002; Halldórsson, 2008; Svavarsson o.fl., 2021). Ummyndun PAH efna og niðurbrotsefni þeirra í sjávarlífverum hafa mestu áhrifin þó að óummynduð PAH efni geta einnig reynst skaðleg og geta safnast fyrir í vefjum sjávarlífvera (Neff, 2002; Halldórsson, 2008; Svavarsson o.fl., 2021). Virk myndefni geta bundist ýmsum próteinum og DNA sem veldur lífefnafræðilegum truflunum sem og frumskemmdum sem síðan getur valdið stökkbreytingum, æxlum og krabbameinum (Halldórsson, 2008; Svavarsson o.fl., 2021). Sum efni brotna afar hægt niður eins og ýmsir

pláguedyðar og fjöklóruð tvífenýl efni (e. polychlorinated biphenyls, PCB) og safnast upp í gegnum fæðukeðjuna og ná hæstum styrk í lífverum í efsta þrepi fæðukeðjunnar (Livingstone, 1993). PCB efni eru klórlífræn þrávirk efni (e. persistent organic pollutants) sem eru langvarandi, safnast fyrir í lífverum og eru skaðleg lífríkinu. Sýnt hefur verið fram á að PCB efni geta valdið ónæmiseiturhrifum, innkirtlatruflunum og æxlunartruflunum vegna ýmissa breytinga á frumu- og sameindastigi í sjávarspendýrum sem eru í efsta þrepi fæðukeðjunnar (Alava o.fl., 2017). Mengunarefni berast upp fæðukeðjuna og geta meðal annars ferðir lífvera valdið mikilli dreifingu þessara efna og jafnvel langt frá upprunastað mengunarinnar (Livingstone, 1993). Helsta uppspretta PCB efna er einnig vegna athafna manna og þá helst skipastarfsemi, úrgangslausun og iðjuver (Svavarsson o.fl., 2021) og geta jafnframt borist til norðurslóða með lofti frá suðlægari breiddargráðum (Wania og Mackay, 1996).

Lífræn tinsambönd einkennast af hóp lífrænna efna sem hafa tin (Sn) atóm tengt við einn eða fleiri lífræna hópa með samgildum tengjum (Halldórsson, 2008). Þessi efni og þá helst trífútyltin (TBT) og trífényltin (TPhT) eru eða hafa verið notuð sem gróðurhindrandi efni, viðarvarnarefni eða sem pláguedyðar (Hoch, 2001). Gróðurhindrandi málning er mikilvægur partur til að koma í veg fyrir vöxt lífvera á skipum og hafa lífræn tinsambönd verið mikið notuð í þeim tilgangi (Halldórsson, 2008; Svavarsson o.fl., 2021). En þessi efni eru með þeim eitruðustu sem losuð hafa verið í vistkerfi sjávar (Gibbs og Bryan, 1986). Sem dæmi geta lífræn tinsambönd hindrað ljóstillífur og vöxt kísilþörunga, haft áhrif á vöxt kræklinga og velgengni æxlunar hjá fiskum með því að minnka fjölda sæðisfruma og gæði eggja. Lífræn tinsambönd hafi einnig verið þekkt fyrir að valda falskyni (e. imposex) hjá nákuðungum (Matthiessen og Gibbs, 1998; Halldórsson, 2008; Svavarsson o.fl., 2021) og hefur það sést m.a. hér á landi (Guðmundsdóttir o.fl., 2011). Alþjóðasiglingamálastofnunin hefur bannað notkun TBT í málningu síðan 2003 og setti fram algjört bann árið 2008. Hérlandis tók bann við notkun TBT botnmálningar gildi árið 1990 en áframhaldandi rannsóknir á TBT og áhrifum þess eru þó nauðsynlegar vegna eituráhrifa og uppsöfnunar sem enn má sjá í lífríkinu hér við land (Halldórsson, 2008).

Málmar finnast alls staðar og geta verið af náttúrulegum uppruna eða þá vegna athafna mannsins. Náttúrulegur málmstyrkur í sjó getur verið mjög hár vegna eldvirkni og bergrofs. Skipastarfsemi, iðnaðar- og innanlandsútrennsli, landbúnaðarafrennsli, urðunarstaðir og dýpkunarframkvæmdir eru helstu uppsprettur málma af mannavöldum (AMAP, 2002).

Málum er oft skipt niður í snefilefni eða þungmálmar. Snefilefni (t.d. Fe, Mg, Ca og Cr) eru nauðsynleg fyrir lífverur og þjóna efnaskiptalegum tilgangi en geta hins vegar valdið eitúráhrifum ef þau safnast fyrir í miklu magni í lífverum (Rainbow, 2007). Þungmálmar (t.d. Cd, Cu, Pb, Hg og Zn) geta verið eittraðir í lágum styrk og margir þeirra eru ekki niðurbryótanlegir (AMAP, 2002). Málmar verða að vera í eðlisefnafræðilegu ástandi til þess að komast í gegnum frumuhimnur til þess að verða teknir upp eða þá vera lífaðgengilegir (leysanlegar jónir, agnir eða ólífrænir/lífrænir flókar) til þess að hafa einhver áhrif (Wang og Rainbow, 2005). Sýnt hefur verið fram á að málmar geta haft áhrif á heilleika DNA, stöguðleika leysikorna og aukningu málmpíónín próteina (e. metallothionein) og einnig lífeðlisfræðilegt ástand lífvera (Wang og Rainbow, 2005).

Kræklingur (*Mytilus* spp.) er víða um heiminn og er mikið notaður sem vöktunarlífvera fyrir mengun af mannavöldum í strandsjó (Beyer o.fl., 2017), meðal annars hér á landi. Kræklingar voru meðal fyrstu dýra sem notuð voru til að meta umhverfisgæði sjávar. Líffræði- og vistfræðilegir eiginleikar kræklings eru ástæðan fyrir vinsældum hans sem vöktunarlífvera (Beyer o.fl., 2017). Kræklingurinn er staðbundinn og gefur okkur því nákvæmar upplýsingar um ákveðinn stað, það er tiltölulega auðvelt að safna þeim þar sem þeir mynda oft kræklingabreiður í fjörum og á grunnsævi. Kræklingar eru harðgerðar lífverur sem gerir það að verkum að það er auðvelt að rækta þá sem þ.a.l. opnar möguleika á eiturefnavistfræðilegum rannsóknum á rannsóknarstofum (Beyer o.fl., 2017). Kræklingar eru öflugir síarar og nærast aðallega á svifþörungum, sem veldur því að mengandi efni geta safnast fyrir í þeim en þeir hafa takmarkaða getu til að brjóta efni niður (Halldórsson, 2008; Larsen o.fl., 2016). Einnig eru kræklingar meðal þeirra dýra sem eru neðarlega í fæðukeðjunni og uppsöfnun mengunarefna í kræklingum getur því borist upp hærri þrep fæðukeðjunnar (Larsen o.fl., 2016).

1.1 Oxunarálag

Virk súrefnissambönd (e. reactive oxygen species, ROS) er óvelkominn partur af lífinu. Þetta eru efni sem samanstanda af ýmsum súrefnisafleiðum bæði á stakeinda formi (súperoxíð anjón, hýdroxýl stakeind, peroxýl stakeind, alkoxýl stakeind og hýdróperoxýl stakeind) og ekki (vetnisperoxíð, undirklórsýra og peroxýnítít) (Livingstone, 2001). Stöðugt ástand þeirra hvað varðar styrk er jafnvægi milli myndunar og eyðingar þeirra. ROS verða oft til

sem aukaafurðir í efnaskiptum súrefnis þar sem súrefni er yfirleitt notað í rafeindaflutningskeðjunni (Lushchak, 2011). Aukinn styrkur virkra súrefnissambanda getur valdið mikilli truflun á efnaskiptum frumna og stjórnun þeirra, og skaðar í raun alla frumuna og kallast þá oxunarálag (Lushchak, 2011). Enn frekar eru eituráhrif þessara efna fjölmörg; lípíð peroxun, skemmdir kjarnsýra, hindruð ensímvirkni, niðurbrot próteina og bein og/eða óbein áhrif á myndun adenósín þrífosfats (ATP) (Livingstone, 1992). Það er því mikilvægt að stjórna styrk þessara sambanda. Andoxunarkerfi sjávarlífvera inniheldur efnisþætti með litla sameindabygnd og andoxunarensím sem verka á nákvæman hátt (Regoli og Giuliani, 2014). Lífverur hafa ýmsar varnir gegn oxunarálagi sem geta verið náttúruleg andoxunarefni eins og glútaþíón, askorbínsýra (vítamín C), karótenóíð, retinól (vítamín A) eða andoxunarensím eins og súperoxíð dismútasi, katalasi, seleníumháður glútaþíón peroxídasi, glútaþíón S-transferasi og glútaþíón redúktasi (Livingstone, 2001; Lushchak, 2011).

Afeitrunarferli þessara mengandi efna má skipta í þrjá fasa. Fasar I og II fela í sér umbreytingu fitusækinna og óskautaðra efna í vatnsleysanlegri efni sem þ.a.l. eru minna eitruð. Fasi II sér um að fjarlægja þessi ný umbreyttu vatnsleysanlegu efni út úr frumunni. Ensím í fasa II hvata eins og áður var nefnt umbreytingu mengandi efna í vatnsleysanlegri efni með notkun hjálparþátta eins og glútaþíón. Glútaþíón S-transferasi er eitt af þeim ensímum í fasa II sem notar glútaþíón sem hjálparþátt (Sheehan o.fl., 2001).

Önnur andoxunarensím eins og glútaþíón peroxídasi og katalasi sjá um að eyða vetnisperoxíði (Pamplona og Costantini, 2011). Glútaþíón peroxíðasar nota einnig glútaþíón sem hjálparþátt til að umbreyta vetnisperoxíði (og öðrum lífrænum peroxíðum) í vatn (Regoli, 1998). Katalasi hvatar einnig niðurbrot vetnisperoxíðs í vatn og súrefni (Aebi, 1974). Katalasi umbreytir vetnisperoxíði hratt en hefur litla sækni í peroxíðið. Glútaþíón peroxíðasar á seleníumháðu og seleníumóháðu formi hvata niðurbrot peroxíðs hægt en hafa mikla sækni (Pamplona og Costantini, 2011).

Það er ýmislegt í náttúrunni sem raskar jafnvægi myndunar og eyðingar ROS, svo sem hitastig, súrefnisstig og selta (Lushchak, 2011). Umhverfismengunarefni geta einnig raskað þessu jafnvægi gegnum náskylda hvarfganga, óbein sambönd og keðjaverkun (Regoli og Giuliani, 2014). Mengunarefni eru einnig þekkt fyrir að auka styrk virkra súrefnissambanda eins og t.d. PAH efni, PCB efni og ýmsir málmar (ál, arsen, kadmín, króm, kvikasilfur, nikkell og vanadíum) (Livingstone, 2001).

1.2 Lífmerki (e. biomarkers)

Nauðsyn þess að geta greint og metið styrk og áhrif mengunar á umhverfið hefur leitt til rannsókna og þróunar líffræðilegra mælikvarða á áhrifum mengunarefna á lífverur sem við köllum lífmerki (e. biomarkers) (Livingstone, 1993). Slíkar greiningar gefa möguleika á sérhæfni, næmni og notkun fyrir ýmsar lífverur. Lífmerki eru meðal annars mælingar á sameinda-, lífefna- eða frumustigi í lífverum sem sýna að lífveran hefur verið útsett fyrir mengunarefnum og viðbragð hennar við þeim (McCarthy og Shugart, 1990). Með greiningu á efnainnihaldi lífvera er yfirleitt einungis brot af þeim mengunarefnum mæld sem eru í lífverunni og sýna engar aukaverkanir eða skaðleg áhrif vegna efnanna. Lífmerki geta sýnt áhrif og afleiðingar þessarra efna (Livingstone, 1993). Sjávarlífverur, sérstaklega samlokur, sýna fjölda breytinga á virkni andoxunarensíma sem vörn eftir útsetningu fyrir mengunarefnum sem nota má sem lífmerki. Meðal þeirra eru þekkt lífmerki, t.d. glútaþíón peróxídasi, katalasi og glútaþíón S-transferasi (Vidal-Liñán og Bellas, 2013) en ótalmörg önnur lífmerki eru til.

Notkun lífmerkja er hinsvegar ekki fullkomin. Breytingar í líffræðilegum viðbrögðum eru ekki bara tengdar mengandi efnum heldur einnig ýmsum náttúrulegum þáttum svo sem hitastigi, seltu, fæðuvali, súrefnisstyrk og æxlunarferli (Widdows, 1978). Þessir þættir hafa áhrif á venjuleg efnaskipti svo sem myndun virkra súrefnissambanda og andoxunarferla (Sheehan og Power, 1999; Vidal-Liñán og Bellas, 2013). Það er því mikilvægt að taka tillit til þessara þátta við notkun lífmerkja til þess að átta sig á því hvort að þessi viðbrögð sem lífveran sýnir eru vegna mengandi efna eða náttúrulega þátta. Einnig er mikilvægt að velja réttu vefina fyrir hvert lífmerki fyrir sig til að tryggja nægilegt viðbragð til magngreiningar (Vidal-Liñán og Bellas, 2013).

Í þessari rannsókn var notast við eftirfarandi lífmerki: „Stress-on-stress“, greining örkjarna, virknimælingar á asetylkólínesterasa, glútaþíón S-transferasa, glútaþíón peroxídasa og katalasa.

1.2.1 Stress-on-Stress (SoS)

Sýnt hefur verið fram á að mengandi efni geta breytt lífeðlisfræðilegu ástandi lífvera þannig að þau verða viðkvæmari gagnvart náttúrulegum sveiflum og breytingum í öðrum umhverfisþáttum (Thain o.fl, 2019). Kræklingar geta þolað að vera upp úr sjó í marga daga

og hæfni þeirra til að halda sér lokuðum fer eftir því magni af ATP sem fer í að knýja samdráttarvöðva sem halda skeljunum lokuðum. Mengaðir kræklingar nýta ATP í afeitrunarferli frekar en fyrir önnur lífeðlisfræðileg hlutverk og hafa því minna þol þegar þeim er haldið upp úr sjó (Thain o.fl., 2019). „Stress-on-Stress“ lífmerkið (SoS) gefur vísbendingu um áhrif mengandi efna á lífveruna í heild og því viðvörunarmerki um álag vegna mengunarefna. Kræklingar sem hafa komist í snertingu við mengandi efni hafa meiri efnaskiptahraða og er því búist við að mengaðir kræklingar lifi skemur án öndunar í sjó. Þegar kræklingar sem eru aðlagðir að lífi í sjó komast skyndilega í snertingu við loft og er haldið þannig loka þeir sér og súrefni verður þeim óaðgengilegt (Eertman o.fl., 1993). Við slíkar aðstæður til lengri tíma fara efnaskiptin fram loftfirrt. Við loftfirrtar aðstæður eru kolvetni, og þá sérstaklega glýkógen, aðal orkuuppspretta kræklingsins (De Zwaan og Wijzman, 1976). Gerjun glýkógens við loftfirrtar aðstæður er mun afkastaminni heldur en við loftháðar aðstæður. Kræklingar nota hinsvegar annan feril í stað hefðabundna Embden-Mayerhof-Parnas ferilsins sem er afkastameiri glýkógen gerjun, sem síðan leiðir til myndunar á súksínat og própíónat. Þessi ferill nær að ríflega tvöfalda magn ATP sem myndast loftfirrt og því ná kræklingar að lifa í lofti í nokkra daga (Eertman o.fl., 1993).

Aðrar rannsóknir hafa sýnt fram á að ýmis efni hafa áhrif á þol kræklings til þess að lifa upp úr sjó og efni eins og þungmálmar (t.d. kadmín (Cd)), lífræn málmambönd, PCB efni (Thain o.fl., 2019) og PAH efni (Viarengo o.fl., 1995) geta stýtt tímum sem kræklingurinn lifir við þannig aðstæður. Skammtaháð svörunarkúrfa fæst með þessu lífmerki þar sem mælingar miðast við 50% dánartíðni kræklings yfir tíma (Thain o.fl., 2019).

1.2.2 Örkjarnar (e. micronucleus)

Örkjarnar eru eins og nafnið gefur til kynna, litlir kjarnar sem eru aðskildir frá aðalkjarna frumunnar. Þeir innihalda litningabúta eða heila litninga sem urðu ekki hluti af dótturkjarna í anafasa frumuskiptingunni. Örkjarnar verða til vegna atvika sem valda mislitnun eða litningabrenslun. Tíðni þessara örkjarna í lífverum er oft hærri á menguðum svæðum (t.d. á olíu- og gasiðnaðarsvæðum) (Baršienė og Lyons, 2011).

Örkjarnapróf (e. micronucleus assay) er því eitt mest notaða lífmerkið til að kanna áhrif af völdum mengandi efna á erfðaefni sjávarlífvera. Þetta lífmerki gefur til kynna DNA skemmdir sem verða vegna litningarofs eða aðskilnaðar litninga (e. chromosome mis-segregation) í mítósu frumuskiptingu (Bolognesi og Fenech, 2012). Í örkjarnaprófinu er bæði

hægt að nota blóðfrumur og tálknafrumur kræklinga. Kræklingar nota tálknin til öndunar og fæðuöflunar og eru þau með fyrstu líffærum sem komast í snertingu við möguleg mengunarefni og því mikið notuð í lífvöktun. Sýnt hefur verið fram á að tálknafrumur í fjölgunarfasa gefa næmara viðbragð en blóðfrumur gagnvart efnum sem geta haft áhrif á erfðaeefnið. Takmörkun þess að notast við tálknafrumur er að aðferðafræðin hefur ekki verið stöðluð á fullnægjandi hátt (Bolognesi og Hayashi, 2011).

PAH efni, PCB efni, þungmálmar og lífræn klórsambönd geta aukið tíðni örkJarna í bæði blóð- og tálknafrumum kræklinga (Bolognesi og Hayashi, 2011). Það er afar mikilvægt að fylgjast með þessum skemmdum þar sem þær hafa ekki bara áhrif á einstaklinginn heldur geta þessar skemmdir haft áhrif á næstu kynslóðir (Bolognesi og Hayashi, 2011).

1.2.3 Asetýlkólínesterasi (AChE)

Asetýlkólínesterasi (AChE) spilar lykilhlutverk í flutningi taugaboða og hvatar vatnsrof á taugaboðefninu asetýlkólín í kólín og ediksýru. AChE er staðsettur í frumuhimnum við taugaenda hryggdýra og hryggleysingja (Sarkar o.fl., 2006). AChE er hindraður af mengandi efnum líkt og lífrænu fosfati og karbamat skordýraeitri sem veldur verulegri hættu á heilsutjóni (Vidal-Liñán og Bellas, 2013). Aðskotaefnin keppast um bindingu í hvarfstöð við asetýlkólín (Bocquené og Galgani, 1998) og bindast hvarfstöð ensímsins afturkræft eða óafturkræft (Sarkar o.fl., 2006). Lífrænt fosfat er talið hindra kólínesterasa óafturkræft en karbamat hefur hæg hindrandi en afturkræft áhrif á ensímið. Þegar AChE er hindraður þá hækkar styrkur asetýlkólíns sem veldur stanslausri örvun vöðva og taugaþráða sem svo áfram getur valdið krampa, lömum og loks dauða (Bocquené og Galgani, 1998). Sýnt hefur verið fram á að efni eins og kadmín, kvikasilfur, blý, kopar og PAH efni geta haft hindrandi áhrif á asetýlkólínesterasa (Livingstone, 1993; Sarkar o.fl., 2006).

1.2.4 Glútaþíón S-transferasi (GST)

Glútaþíón S-transferasar (GST) eru með mikilvægustu fasa II afeitrunar ensímum (Fitzpatrick o.fl., 1997). Ensímin hvata tengingu glútaþíóns (í gegnum -SH hóp þess) við ýmis innan- eða utanaðkomandi rafsækin efni (Habig o.fl., 1974; Townsend og Tew, 2003) svo sem alkýlerandi efni og hlutleysa því rafsæknu svæði efnanna og gera þau vatnsleysanleg (Habig o.fl., 1974). Það er mikilvægt fyrir lífverur að ná að vinna úr rafsækjum þar sem þeir geta hvarfast við stórsameindir sem stjórna frumuvexti, svo sem DNA, RNA og ýmis

prótein. Næstum öll krabbameinsvaldandi efni eru rafsækin efni. Því spilar GST lykilhlotverk við að afeitra rafsækin efni sem hafa eitrunar-, stökkbreytingar- og krabbameinsvaldandi eiginleika (Lee o.fl., 1988). GST virkni hefur því oft á tíðum verið notuð sem lífmerki þegar kræklingar eru útsettir fyrir PAH efnum, PCB efnum og snefilefnum (Vidal-Liñán og Bellas, 2013).

1.2.5 Glútaþíón peroxídasi (GPx)

Glútaþíón peroxídasi (GPx) finnst í umfrymi og hvatberum fruma (Vidal-Liñán og Bellas, 2013) og tekur þátt í að vernda frumuna gegn skaðlegum áhrifum stakeinda (e. oxyradical) með því að viðhalda styrk þeirra tiltölulega lágum þar sem þessi efni eru mjög hvarfgjörn (Vidal-Liñán o.fl., 2010). Eins og nefnt var áður er glútaþíón peroxídasi lykilsím sem hvatar niðurbrot vetnisperoxíðs og annarra lífrænna peroxíða og notar glútaþíón sem hjálparþátt (Regoli, 1998). Nánar tiltekið hvata þeir afoxun vetnisperoxíða í vatn (seleníumháðir glútaþíón peroxíðasar, SeGPx) eða önnur lífræn peroxíð í samsvarandi alkahól (seleníumóháðir glútaþíón peroxíðasar, TGPx) með því að oxa afoxað glútaþíón (GSH) í oxaða form þess (GSSG) (Vidal-Liñán o.fl., 2010).

1.2.6 Katalasi (CAT)

Katalasi (CAT) finnst í oxunarkornum fruma (Vidal-Liñán og Bellas, 2013) og tekur þátt í að vernda frumuna gegn virkum súrefnissamböndum og oxunarálagi (Vidal-Liñán o.fl., 2010). Ensímið hvatar niðurbrot vetnisperoxíða í vatn og súrefni sem hefur verið búið til með hefðbundnum loftháðum efnaskiptum eða vegna aukinnar myndunar stakeinda sem hefur orðið vegna mengunarálags (Vidal-Liñán o.fl., 2010).

Bæði GPx og CAT hafa því verið notaðir sem vísar á oxunarálag í sjávarlífverum vegna megnandi efna (Vidal-Liñán o.fl., 2010).

1.3 Markmið rannsókna

Meginmarkmið rannsóknarinnar var að nota lífmerki ásamt greiningum á efnainnihaldi í kræklingi til að meta möguleg líffræðileg áhrif fjölbreytilegs mengunarálags í höfnum á Suðurnesjum. Jafnframt að skoða mögulega fylgni milli efnainnihalds og lífmerkja sem mæld voru í kræklingunum og í kjölfarið leggja mat á notagildi lífmerkjanna við

mengunarrannsóknir og vöktun í íslenskum höfnum. Þrjár hafnir á Suðurnesjum voru valdar; í Grindavík, Njarðvík og Sandgerði, og fjórða stöðin, Hvassahraun, var notuð sem viðmið.

2 Aðferðir

2.1 Söfnun kræklinga

Dagana 21. og 22. október 2021 var kræklingi safnað neðst í fjöru á fjórum svæðum á Reykjanesi, þ.e. í Sandgerðishöfn, Njarðvíkurhöfn, Grindavíkurhöfn og í Hvassahrauni á milli Voga og Hafnarfjarðar. Hvassahraun hefur áður verið notað sem viðmiðunarstöð í öðrum rannsóknum (Halldórsson o.fl., 2008) þar sem lítil mengun hefur mælst þar. Teknir voru tæplega 100 kræklingar á hverri stöð á stærðarbilinu 50–55 mm. Kræklingarnir voru fluttir í Sandgerði á Rannsóknasetur Háskóla Íslands á Suðurnesjum þar sem allar mælingar á lífmerkjum fóru fram. Fimmtán kræklingar frá hverri stöð voru lengdarmældir, vigtaðir og krufðir og notaðir í lífmerkjamælingar.

Tálkn og meltingarkirtlar voru settir í aðskildar túpur eftir stöð og snöggfryst í köfnunarefni áður en þeim var komið fyrir í frysti við -80°C . Túpur voru merktar eftir stöð, númeri og vef; tálkn eða meltingarkirtil.

2.2 Efnagreiningar

Þrjátíu kræklingar frá hverri stöð af stærð 50–55 mm voru mældir, vigtaðir og krufðir og hold (mjúkvafur) þeirra sett í sýrubvegnar krukkur merktar hverri stöð. Kræklingarnir voru svo sendir til ALS Scandinavia AB í Svíþjóð til efnagreininga. Eingöngu PCB efni voru greind, en niðurstöður efnagreininga frá 2020 fyrir sambærilegan krækling safnað að hausti frá sömu stöðum, þ.e. Grindavík, Njarðvík og Sandgerði (Halldórsson o.fl., 2021) og 2021 fyrir Hvassahraun (Desnica o.fl., 2022), voru notaðar fyrir PAH efni, ólífræn snefilefni og lífræn tinsambönd í þessari rannsókn.

2.3 Stress-on-Stress (SoS)

Dagana 21. og 22. október 2021, þegar kræklingunum var safnað, var SoS sett upp og komið af stað samkvæmt aðferðalýsingu Thain o.fl. (2019) en þó við annað hitastig þar sem aðferðalýsingin miðaði við 18°C lofthita. Í rannsókninni voru kræklingarnir hafðir í blautrými þar sem hitastiginu yfir allan tímann var haldið um $7,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ eða sambærilegu sjávarhita stöðvanna á rannsóknatímanum ($7,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$; Hafrannsóknastofnun, 2022). Alls voru 40 lifandi kræklingar frá hverri stöð settir í hreinan sjó til að leyfa þeim að opna sig og fyllast af sjó. Fjórir merktir frauðplastkassar fyrir hverja stöð voru undirbúnir með því að setja rakan pappír neðst og kræklingunum svo raðað þar ofan á í kassana. Fylgst var með þeim daglega þar til allir kræklingarnir voru dauðir. Kræklingur er talinn dauður þegar lokur eru opnar og ekkert áreiti (samdráttarvöðvar snertir) vekur viðbragð (Thain o.fl., 2019). Dauðir kræklingar voru fjarlægðir jafnóðum, þeir mældir, vigtaðir og krufðir til að fá stærð og holdþyngd hvers einstaklings.

2.4 Örkjarnapróf (Micronucleus assay)

Fylgt var aðferðalýsingum Bolognesi og Fenech (2012) og Baršienė og féлага (2010) með smávægilegum breytingum:

1. Tálknabútur af stærð 0,10–0,15 g var klipptur niður í u.þ.b. 30 sek í 300 μL Sorensen buffer.
2. Lausnin með klipptum tálknum var síuð með 40 μm filter pappír þar til lokarúmmál náði u.þ.b. 1,5 mL.
3. Síaða lausnin var sett í skilvindu við 270 x g í 10 mín.
4. Flot var fjarlægt og botnfall leyst upp í 50 μL af etanól:ediksýru lausn (3:1).
5. 50 μL (botnfall lausnin) settir á smásjágler og leyft að þorna.
6. Frumur voru láttnar festast (fixerast) við glerið með metanóli í 1 mín.
7. Smásjáglerin með sýnunum voru svo lituð með 10% Giemsa í 10 mín og þrifu í kjölfarið með hreinsunarlausn (e. washing solution) sem innihélt 2% Sorensen buffer í vatn 2x í 5 mín.

Prufukeysrsla var gerð með krækling úr Reykjavíkurhöfn sem fengnir voru 2. febrúar 2022. Nothæf sýni fengust þar sem notaður var ferskur kræklingur en ekki reyndist hægt að nota

frosin sýni. Þar sem öll sýni úr höfnunum þremur (Sandgerði, Njarðvík og Grindavík) og frá Hvassahrauni voru frosin var ekki hægt að nota þessa aðferð til þess að greina örkJarna. Ekki gafst lengri tími til þess að vinna áfram með þessa aðferð og því var örkJarnagreining ekki framkvæmd í þessari rannsókn.

2.5 Ensímvirknimælingar

2.5.1 Undirbúningur sýna

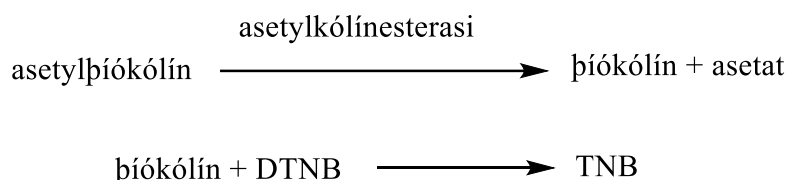
Eins og kom fram áður þá er mikilvægt að velja rétt vefjasýni fyrir hvert lífmerki og fyrri rannsóknir (Vidal-Liñán og Bellas, 2013) hafa sýnt fram á að virkni glútaþíón S-transferasa, glútaþíón peróxíðasa og asetylklínesterasa hefur verið hæst í tálknum en virkni katalasa hæst í meltingarkirtli og tekið var mið af því í þessari rannsókn.

Tálkn- og meltingarkirtilsýni voru gerð einsleit með Potter-Elvehjem homogenizer með 50 mM K-fosfat buffer (pH 7,5) sem innihélt 2 mM EDTA í hlutföllum 1:6 (fyrir tálkn) og 1:2 (fyrir meltingarkirtil) skv. Vidal-Liñán og Bellas (2013). Einsleitar lausnir voru settar í skilvindu við 15000 x g í 15 mín við 4°C. S9 hluta sem fékkst eftir skilvindu var skipt niður í merktar túpur eftir lífmerki; GST (glútaþíón S-transferasi), SeGPx (seleníumháður glútaþíón peroxíðasi), TGPx (seleníumóháður glútaþíón peroxíðasi), CAT (katalasi) og PROT (prótein). Prótein sýnin voru þynnt fyrirfram, 10x fyrir tálkn og 50x fyrir meltingarkirtil í 0,1M K-fosfat buffer (pH 6,5). Sýnin voru svo snöggfryst í köfnunarefni og geymd í frysti við -80°C fram að mælingum.

Tekið var 0,1 g af tálknum og sett í túpu fyrir AChE (asetylklínesterasa) þar sem AChE sýni voru gerð einsleit í hlutföllum 1:4 með öðrum böffer, 0,02 M fosfat buffer (pH 7) sem innihélt 0,1% Triton X-100 skv. Vidal-Liñán og Bellas (2013) og Bocquené og Galgani (1998). Einsleita AChE lausnin var sett í skilvindu við 10000 x g í 10 mín við 4°C. S9 sýni sem fékkst eftir skilvindu var sett í túpu merktri AChE, snöggfryst í köfnunarefni og geymd í frysti við -80°C. Nánari lýsingar á hvernig bufferar voru blandaðir má sjá í viðauka 2.

2.5.2 AChE

Fylgt var aðferðalýsingu Bocquené og Galgani (1998) og Ellman og féлага (1961), þar sem fylgst er með hækkun gleypni við 412 nm þar sem asetylkólín (ACTC) og 5,5'-díþíóbis-2-dínítróbensóík sýra (DTNB) eru hvarfefni. Asetýlkólínesterasi umbreytir asetylkólín í þíókólín og DTNB hvarfast við þíólhóp þíókólíns og myndar TNB. Virkni ensímsins getur því verið mæld með kúplun eftirfarandi tveggja hvarfa (Mynd 1):



Mynd 1: Efnahvarf asetylkólínesterasa. Mynd teiknuð í ChemDraw 19.1.

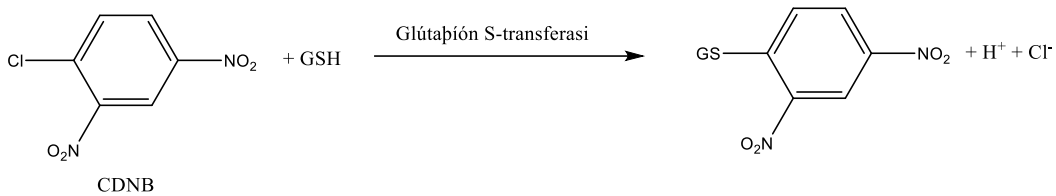
þar sem TNB gleypir við 412 nm og gefur frá sér gulan lit. Sýni voru afþýdd á ís og 0,01 M DTNB og 0,1 M asetylþíókólín lausnir voru útbúnar. Nánari lýsing á hvernig hvarfefnalausnir og viðmiðunarlausnir voru blandaðar má sjá í viðauka 3.1. Notast var við 0,02 M fosfat buffer (pH 7) og hann settur í túpu ásamt DTNB og sýni og því leyft að inkúberast við herbergishita í 5 mínútur. Hvarfi var komið af stað með viðbættu ACTC og sýni keyrt í 2 mín við 412 nm þar sem gleypnin var mæld á 10 sekúndna fresti. Virkni asetylkólínesterasa er gefin í nmól/mín/mg af próteinum og hún fundin með eftirfarandi jöfnu (Bocquené og Galgani, 1998):

$$AChE \text{ virkni} = \frac{\Delta A_{412} \times Vol_T \times 1000}{(1,36 \times 10^4) \times lengd \text{ kúvettu} \times Vol_S \times [Prótein]} \times 1000 \quad (1)$$

þar sem ΔA_{412} er gleypnismunurinn, Vol_T er heildarrúmmálið í mL, $1,36 \times 10^4$ er eðlisgleypni TNB, Vol_S er rúmmál sýnis í mL og $[Prótein]$ er styrkur próteins í mg/mL.

2.5.3 GST

Fylgt var aðferðalýsingu Habig og féлага (1974) og Vidal-Liñán og Bellas (2013) þar sem fylgst er með hækkun gleypni við 340 nm. Glútaþíón S-transferasi hvarfar afoxað glútaþíón (GSH) við 1-klóro-2,4-dínítróbensen (CDNB) og myndar myndefni sem gleypir við 340 nm (Mynd 2):



Mynd 2: Efnahvarf glútaþíón S-transferasa. Mynd teiknuð í ChemDraw 19.1.

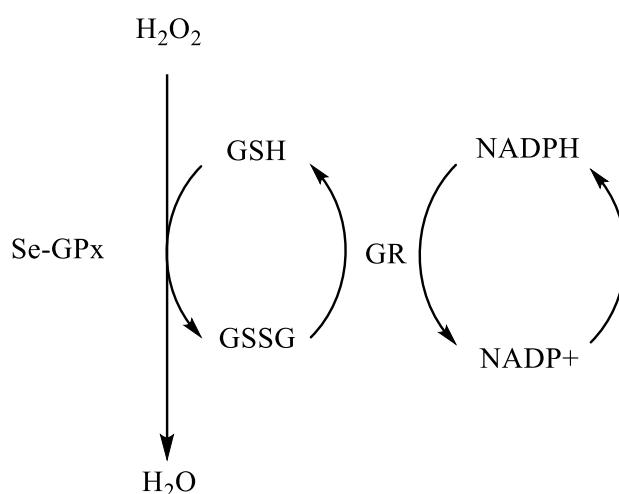
Sýnin voru afþýdd á ís og 60 mM CDNB og 10 mM GSH lausnir voru útbúnar. Þar sem CDNB er ljósnæmt var mikilvægt að halda því frá ljósi og við herbergishita en GSH var geymt á ís. Nánari lýsing á hvernig hvarfefnalausnir og viðmiðunarlausnir voru blandaðar má sjá í viðauka 3.2. Notast var við 0,1 M fosfat buffer (pH 6,5) og hann settur í túpu ásamt CDNB og GSH. Hvarfi var svo komið af stað með viðbættu sýnis. Sýni voru keyrð í 2 mínútur við 340 nm þar sem gleypnin var mæld á 15 sekúndna fresti. Mólstyrkur var ákvarðaður skv. lögmáli Beer's þar sem eðlisgleypni CDNB er 9,6 mM⁻¹ cm⁻¹:

$$A = \varepsilon \times b \times C \quad (2)$$

þar sem A er gleypnin, ε er eðlisgleypnin, b er lengd ljósgeisla og C er styrkur. Virkni glútaþíón S-transferasa er gefin í nmól/mín/mg af próteinum.

2.5.4 GPx

Fylgt var aðlagðri aðferðalýsingu Vidal-Liñán og Bellas (2013) þar sem fylgst er með lökkun gleypni við 340 nm og notast er við samtengingu annars ensíms (e. enzyme coupled system). NADPH gleypir við 340 nm og glútaþíón redúktasi (GR) nýtir sér það til að afoxa oxaða form glútaþíóns (GSSG) yfir í afoxaða form þess (GSH). Eins og nefnt var áður þá nota seleníumháðir glútaþíón peroxíðasar (SeGPx) afoxað glútaþíón til að umbreyta vetnisperoxíði í vatn og því er hægt að mæla virkni GPx með þessari aðferð (Mynd 3):



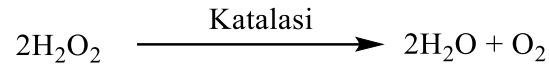
Mynd 3: Efnahvarf glútaþíón peroxíðasa (seleníumháðan). Efnahvarf seleníumóháða glútaþíón peroxíðasa yrði það sama nema notast væri við kúmen peroxíð (CHP) í stað vetnisperoxíðs (H_2O_2). Mynd teiknuð í ChemDraw 19.1.

Sýnin voru afþýdd á ís og 40 mM GSH, 20 mM NaN_3 , 2,4 mM NADPH, 20 mM H_2O_2 og 40 U/mL GR lausnir voru búnar til. NaN_3 er notað til þess að hindra katalasa þar sem H_2O_2 er einnig hvarfefni hans. Nánari lýsing á hvernig hvarfefnalausnir og viðmiðunarlausnir voru blandaðar má sjá í viðauka 3.3. Notast var við 0,1 M fosfat buffer (pH 6,5) og hann settur í túpu ásamt GSH, GR, NaN_3 , NADPH og sýni og þeirri blöndu leyft að inkúberast við herbergishita í 10 mín. Hvarfi var komið af stað með viðbættu H_2O_2 . Sýni voru keyrð í 2 mínútur við 340 nm og gleypnin mæld á 15 sekúndna fresti.

Virkni mælingar fyrir seleníumóháða glútaþíón peroxíðasa (TGPx) voru gerðar á sama hátt nema ekki var notast við vetnisperoxíð eða NaN_3 . Kúmen peroxíð (CHP) var notað sem hvarfefni fyrir TGPx. Mólstyrkur var ákvarðaður á sama hátt og áður skv. lögmáli Beer's (jafna 2) þar sem notast er við eðlisgleypni NADPH ($6,22 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Virkni glútaþíón peroxíðasa (SeGPx og TGPx) er gefin í nmól/mín/mg af próteinum.

2.5.5 CAT

Fylgt var umbreyttri aðferðalýsingu Aebi (1974) þar sem fylgst er með lækkun gleypni við 240 nm vegna niðurbrots vetnisperoxíðs sem katalasi hvatar (Mynd 4):



Mynd 4: Efnahvarf katalasa. Mynd teiknuð í ChemDraw 19.1.

Sýnin voru afþýdd á ís og 60 mM H₂O₂ lausn var útbúin. Nánari lýsing á hvernig hvarfefnalausnir og viðmiðunarlausnir voru blandaðar má sjá í viðauka 3.4. Notast var við 0,1 M fosfat buffer (pH 6,5) og hann settur í kúvettu ásamt H₂O₂ og sýni. Sýnin voru keyrð í 1 mínútu við 240 nm og gleypnin mæld á 10 sekúndna fresti. Mólstyrkur var ákvarðaður á sama hátt og áður skv. lögmáli Beer's (jafna 2) þar sem eðlisgleypni H₂O₂ er 43,6 M⁻¹ cm⁻¹. Virkni katalasa er gefin í μmol/mín/mg af próteinum.

Í öllum ensím virknimælingum var gleypnin leiðrétt fyrir bakgrunnsvirkni (e. blank) sem og viðmiðunarvirkni (e. control).

2.5.6 Greining á próteinmagni

Magn próteina var ákvarðað með Pierce™ Modified Lowry Protein Assay Kit frá Thermo Scientific™ sem fylgir aðferðum Lowry o.fl. (1951) til að staðla niðurstöður á virknimælingum ensíma. Aðferð Lowry byggist á hvarfi milli koparjóna við nitur atóm í peptíðkeðjum og Folin-Ciocalteu hvarfefnið hvarfast einnig við arómatískar hliðarkeðjur sem þ.a.l. myndar blágrænan lit sem hægt er að nema við 600-700 nm til að ákvarða próteinstyrk (Lowry o.fl., 1951).

Búin var til staðalkúrfa með notkun BSA (bovine serum albumin) þar sem styrkur próteina er þekktur og gleypnin mæld við 750 nm. Staðalkúrfan var sett fram sem gleypni við 750 nm á móti styrk BSA próteina. Gleypnin var leiðrétt fyrir viðmiðunarvirkni.

Sýnin voru fyrirfram þynnt niður (sjá kafla 2.5.1.: Undirbúningar sýna) og afþýdd á ís. Þegar sýnin voru afþýdd var 1,0 mL af Modified Lowry hvarfefni sett í hverja túpu á 15 sekúndna fresti og leyft að inkúbera í 10 mínútur við herbergishita. Eftir 10 mínútur voru settir 100 μL af 1X Folin-Ciocalteu hvarfefni, sem búið var til, einnig á 15 sekúndna fresti. Þessu var svo leyft að inkúbera í myrkri í 30 mínútur við herbergishita. Eftir það var gleypnin mæld við

750 nm. Próteinstyrkur sýnanna var loks fundin út frá jöfnu sem fékkst frá staðalkúrfu og hann fenginn sem $\mu\text{g/mL}$ en umbreyttur í mg/mL og leiðrétt fyrir þynningu.

2.6 Tölfræðigreining

Normaldreifing gagna var könnuð með Shapiro-Wilk normaldreifingar prófi fyrir niðurstöður virkni ensíma og Bartlett próf framkvæmt til að kanna einsdreifni gagnanna á milli stöðva. Einþátta fervikagreining (e. one-way ANOVA) var framkvæmt til að kanna hvort marktækur munur væri á milli stöðva og TukeyHSD próf framkvæmt í kjölfar ANOVA til að kanna hvar munurinn liggur. Fyrir SoS lífmerkið var notast við Kaplan-Meier próf til að ákvarða miðgildi lifunartíma (LT_{50}) og lifunarferlar bornir saman með margþátta samanburðarprófi (e. multivariate comparison test). Fylgnin var könnuð milli lífmerkja og efnainnihalds með Pearson fylgniprófi. Öll tölfræðipróf voru framkvæmd í R, RStudio 4.2.0. Öll gildi eru sýnd sem meðalgildi ásamt staðalfrávikum.

3 Niðurstöður

3.1 Mælingar á kræklingum

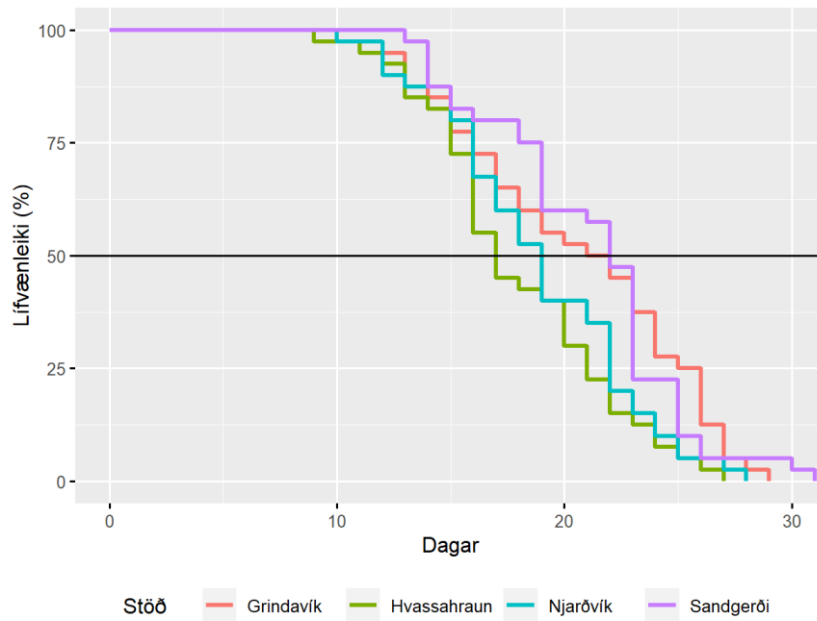
Mælingar á kræklingum sem voru lengdarmældir, vigtaðir og krufðir fyrir mælingar á lífmerkjum má sjá í töflu 1. Kræklingar voru í aðalatriðum svipaðir milli stöðva en þó var meltingarkirtill marktækt léttari í kræklingi frá Hvassahrauni miðað við hafnirnar ($F_{3,56} = 6,72$; $p < 0,001$), þyngd mjúkvefs lægri í Hvassahrauni miðað við Njarðvík ($p < 0,01$) og þyngd tómra skelja lægri í Hvassahrauni miðað við Sandgerði ($p < 0,05$).

Tafla 1: Mælingar sem gerðar voru á kræklingum ($n=15$, meðaltöl \pm staðalfrávik) sem safnað var úr höfnum á Suðurnesjum og í Hvassahrauni dagana 21. og 22. október 2021.

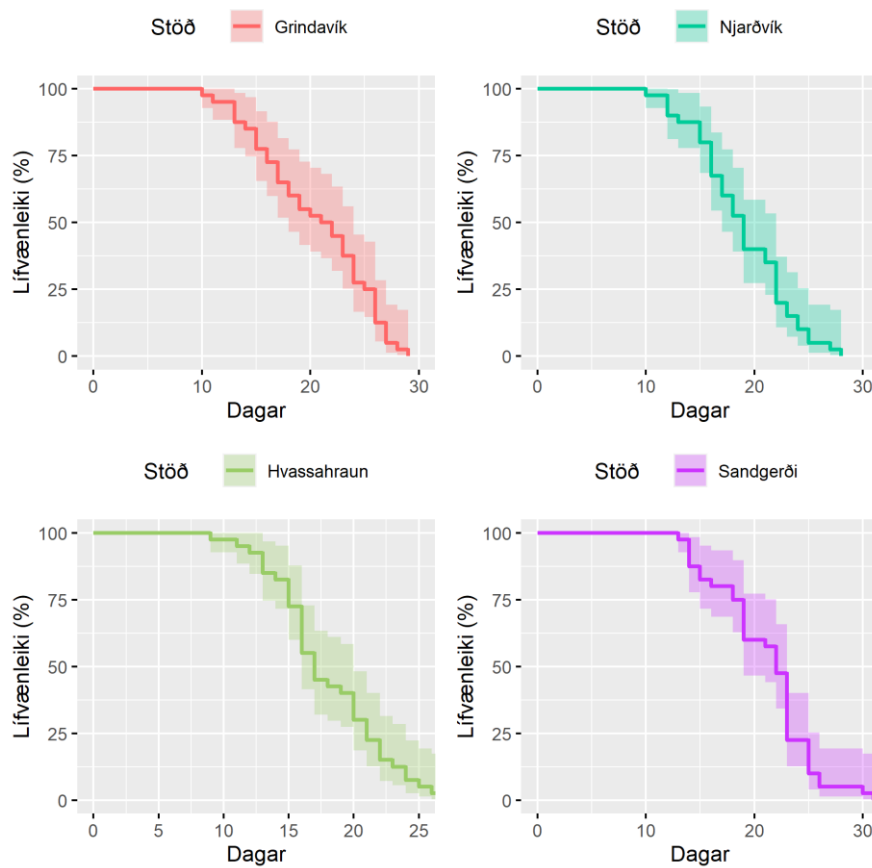
	Sandgerði	Njarðvík	Grindavík	Hvassahraun
Lengd (mm)	52,8 \pm 2,3	51,5 \pm 1,7	52,3 \pm 1,8	52,2 \pm 1,8
Heildarþyngd (g)	16,3 \pm 3,7	16,2 \pm 3,1	15,0 \pm 1,7	13,8 \pm 1,4
Þyngd mjúkvefs (g)	6,4 \pm 1,4	7,3 \pm 1,3	6,1 \pm 0,7	5,9 \pm 0,9
Þyngd tálkna (g)	0,5 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1
Þyngd meltingarkirtils (g)	0,4 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1
Þyngd tómra skelja (g)	9,8 \pm 2,4	8,9 \pm 2,0	8,9 \pm 1,2	7,9 \pm 1,0

3.2 SoS

Lifunarferlar kræklinga frá stöðvunum fjórum eru sýndir á mynd 5 og hver lifunarferill fyrir sig sýndur á mynd 6. Marktækur munur fannst á milli lifunarferla í Grindavík og Hvassahraun ($p < 0,05$) og einnig í Sandgerði og Hvassahraun ($p < 0,05$). Dánartíðni náði 50% á degi 17 fyrir kræklinga úr Hvassahrauni, degi 19 fyrir kræklinga úr Njarðvík en náði degi 21 fyrir kræklinga úr Grindavík og degi 22 fyrir kræklinga úr Sandgerði.



Mynd 5: „Stress-on-Stress“ lifunarferlar stöðvanna ásamt línu við LT_{50} , þ.e. þegar 50% kræklinga eru dauðir (svarta línan). Lifunarferlar sýna prósentu þeirra lifandi kræklinga á móti tíma (dagar). LT_{50} var hæst í Sandgerði (22 dagar) en lægst í Hvassahrauni (17 dagar). Kræklingum safnað úr höfnum og í Hvassahrauni 21. og 22. október 2021 og SoS komið af stað samdægurs.

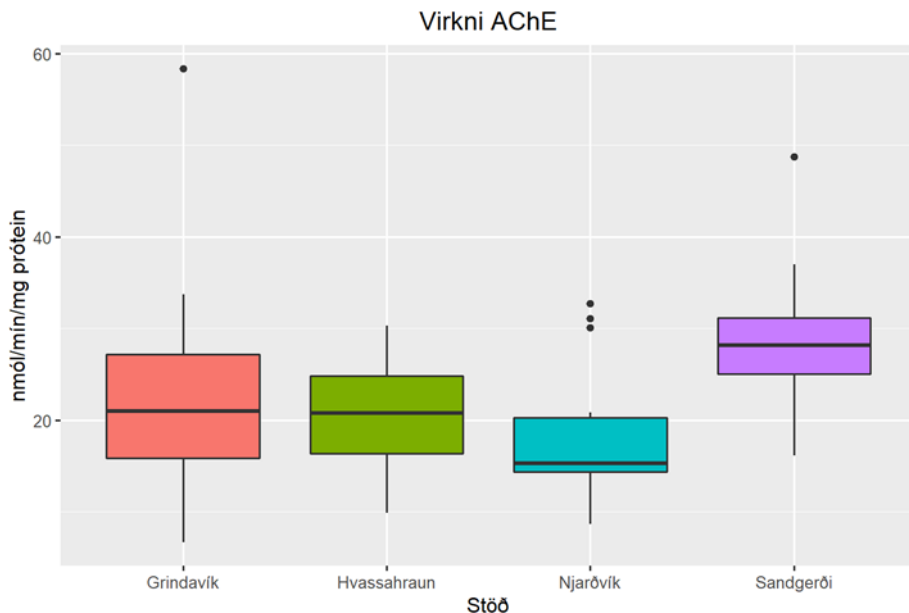


Mynd 6: „Stress-on-Stress“ lifunarferlar kræklinga allra stöðva ásamt 95% öryggismörkum.

3.3 Virknimælingar ensíma og greining próteinmagns

3.3.1 AChE

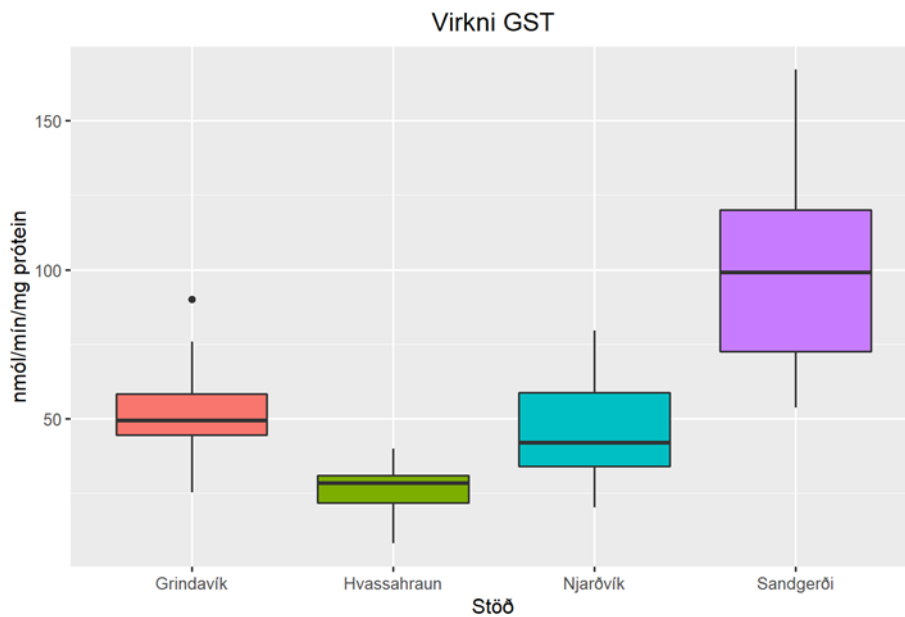
Marktækur munur fannst á virkni asetylkólnesterasa (AChE) á milli stöðva ($F_{3,56} = 3,59$; $p < 0,05$) þar sem TukeyHSD próf sýndi fram á mun á milli Sandgerði og Njarðvíkur ($p < 0,05$) þar sem meðalvirkni AChE var hærri í Sandgerði. Meðalvirkni AChE í Sandgerði var $28,4 \pm 8,2$ nmól/mín/mg prótein en $18,4 \pm 7,4$ nmól/mín/mg prótein í Njarðvík (Mynd 7), en hæsta meðalvirknin var í Sandgerði og sú lægsta í Njarðvík. Enginn marktækur munur fannst á milli Grindavíkur og Hvassahrauns en meðalvirknin var $23,4 \pm 12,2$ nmól/mín/mg prótein í Grindavík og $20,4 \pm 6,8$ nmól/mín/mg prótein í Hvassahrauni.



Mynd 7: Virkni asetylkólnesterasa í tálknum fjörukræklings frá mismunandi stöðvum. Meðalvirkni AChE var hæst í Sandgerði ($28,4 \pm 8,2$ nmól/mín/mg prótein) og lægst í Njarðvík ($18,4 \pm 7,4$ nmól/mín/mg prótein). Kræklingi var safnað úr höfnum og í Hvassahrauni 21. og 22. október 2021.

3.3.2 GST

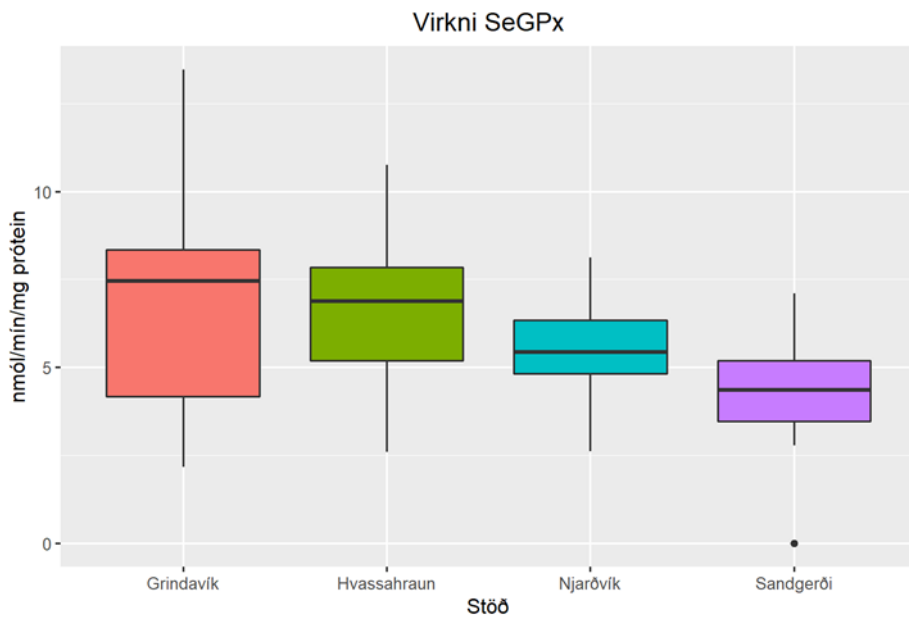
Marktækur munur reyndist á virkni glútaþíón S-transferasa á milli stöðva ($F_{3,56} = 37,19$; $p < 0,001$) en TukeyHSD próf sýndi fram á marktækan mun á milli allra stöðva ($p < 0,01$) nema milli Njarðvíkur og Grindavíkur ($p = 0,785$). Meðalvirkni GST í Grindavík var $51,8 \pm 16,3$ nmól/mín/mg prótein og í Njarðvík var hún $46,3 \pm 17,3$ nmól/mín/mg prótein. Meðalvirknin var hins vegar áberandi hæst í Sandgerði og var hún $98,2 \pm 31,8$ nmól/mín/mg prótein og lægst í Hvassahrauni eða $26,5 \pm 8,0$ nmól/mín/mg prótein enda fannst mikill munur á milli þessarar tveggja stöðva ($p < 0,001$) (Mynd 8).



Mynd 8: Virkni glútaþíón S-transferasa í tálknum fjörukræklings frá mismunandi stöðvum. Meðalvirkni GST var hæst í Sandgerði ($98,2 \pm 31,8$ nmól/mín/mg prótein) og lægst í Hvassahrauni ($26,5 \pm 8,0$ nmól/mín/mg prótein). Kræklingi var safnað úr höfnum og í Hvassahrauni 21. og 22. október 2021.

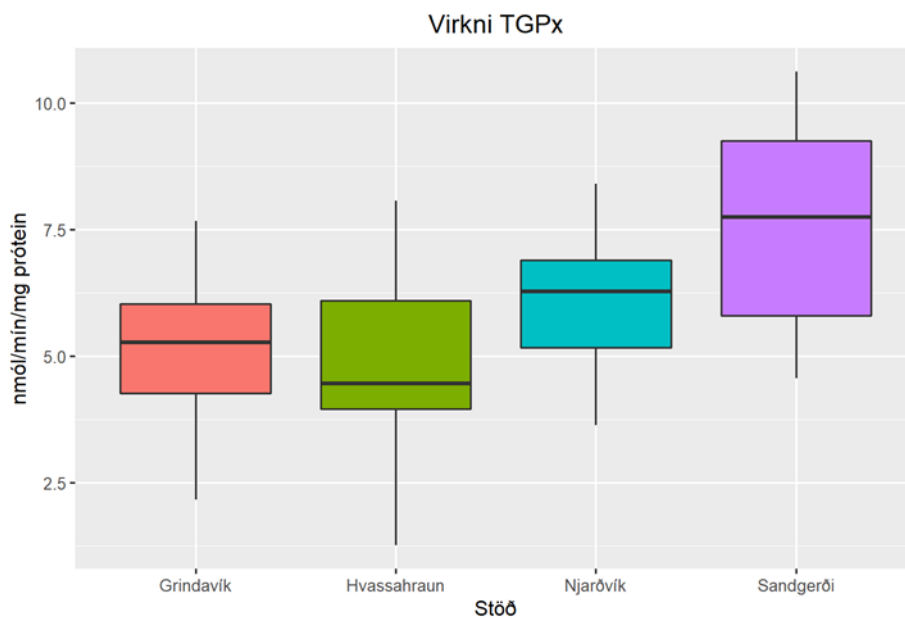
3.3.3 GPx

Marktækur munur fannst á virkni seleníumháða glútaþíón peroxídasa (SeGPx) á milli stöðva ($F_{3,56} = 4,36; p < 0,01$). TukeyHSD próf sýndi fram á mun á milli Sandgerðis og Grindavíkur ($p < 0,05$) þar sem meðalvirknin var hærrí í Grindavík. Einnig var munur á milli Sandgerðis og Hvassahrauns ($p < 0,05$) þar sem virkinn var hærrí í Hvassahrauni. Meðalvirkni SeGPx var hæst í Grindavík þar sem hún var $6,7 \pm 2,9$ nmól/mín/mg prótein og lægst í Sandgerði eða $4,3 \pm 1,7$ nmól/mín/mg prótein. Í Njarðvík var meðalvirkni SeGPx $5,5 \pm 1,5$ nmól/mín/mg prótein og $6,6 \pm 2,0$ nmól/mín/mg prótein í Hvassahrauni (Mynd 9).



Mynd 9: Virkni seleníumháða glútaþíón peroxídasa í tálknum fjörukraeklings frá mismunandi stöðvum. Meðalvirkni SeGPx var hæst í Grindavík ($6,7 \pm 2,9$ nmól/mín/mg prótein) og lægst í Sandgerði ($4,3 \pm 1,7$ nmól/mín/mg prótein). Kraeklingi var safnað úr höfnum og í Hvassahrauni 21. og 22. október 2021.

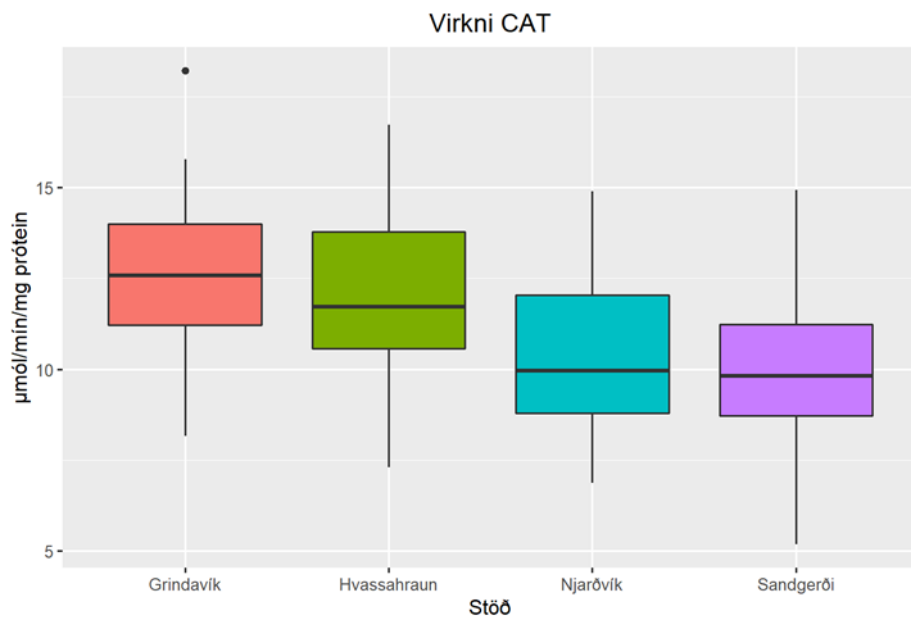
Marktækur munur var á virkni seleníumóháða glútaþíón peroxídasa (TGPx) á milli stöðva ($F_{3,56} = 7,67$; $p < 0,001$) og reyndist marktækur munur á milli Sandgerðis og Grindavíkur ($p < 0,01$) og milli Sandgerðis og Hvassahrauns ($p < 0,001$) líkt og fyrir virkni SeGPx. Meðalvirkni TGPx var hærrí Sandgerði miðað við Grindavík og Hvassahraun ólíkt því sem sást með SeGPx. Meðalvirkni TGPx var hæst í Sandgerði þar sem hún var $7,5 \pm 2,1$ nmól/mín/mg prótein og lægst í Hvassahrauni eða $4,8 \pm 1,8$ nmól/mín/mg prótein. Meðalvirkni TGPx var $5,1 \pm 1,6$ nmól/mín/mg prótein í Grindavík og $6,1 \pm 1,3$ nmól/mín/mg prótein í Njarðvík (Mynd 10).



Mynd 10: Virkni seleníumóháða glútaþíón peroxídasa í tálknum fjörukraeklings frá mismunandi stöðvum. Meðalvirkni TGPx var hæst í Sandgerði ($7,5 \pm 2,1$ nmól/mín/mg prótein) og lægst í Hvassahrauni ($4,8 \pm 1,8$ nmól/mín/mg prótein). Kraeklingi var safnað úr höfnum og í Hvassahrauni 21. og 22. október 2021.

3.3.4 CAT

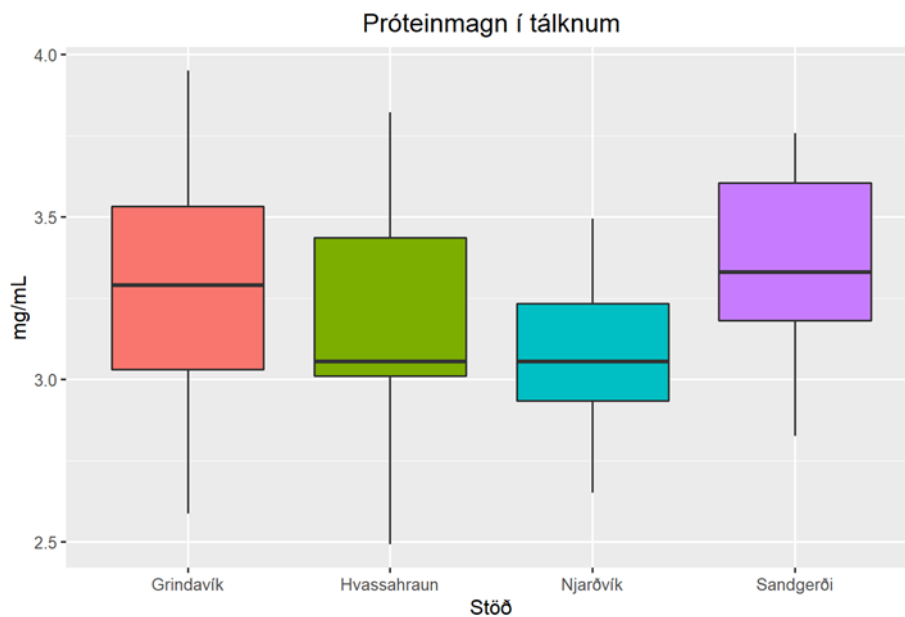
Marktækur munur fannst á virkni katalasa á milli stöðva ($F_{3,56} = 3,19$; $p < 0,05$) og fannst munurinn á milli Sandgerðis og Grindavíkur ($p < 0,05$) þar sem virkni CAT var hærri í Grindavík. Meðalvirkni CAT var hæst í Grindavík og var $12,7 \pm 2,6 \mu\text{mól/mín/mg}$ prótein en lægst í Sandgerði þar sem hún var $10,1 \pm 2,6 \mu\text{mól/mín/mg}$ prótein. Meðalvirknin í Njarðvík var $10,6 \pm 2,5 \mu\text{mól/mín/mg}$ prótein og $11,9 \pm 2,6 \mu\text{mól/mín/mg}$ prótein í Hvassahrauni (Mynd 11).



Mynd 11: Virkni katalasa í meltingarkirtli fjörukræklings frá mismunandi stöðvum. Meðalvirkni CAT var hæst í Grindavík ($12,7 \pm 2,6 \mu\text{mól/mín/mg}$ prótein) en lægst í Sandgerði ($10,1 \pm 2,6 \mu\text{mól/mín/mg}$ prótein). Kræklingi var safnað úr höfnum og í Hvassahrauni 21. og 22. október 2021.

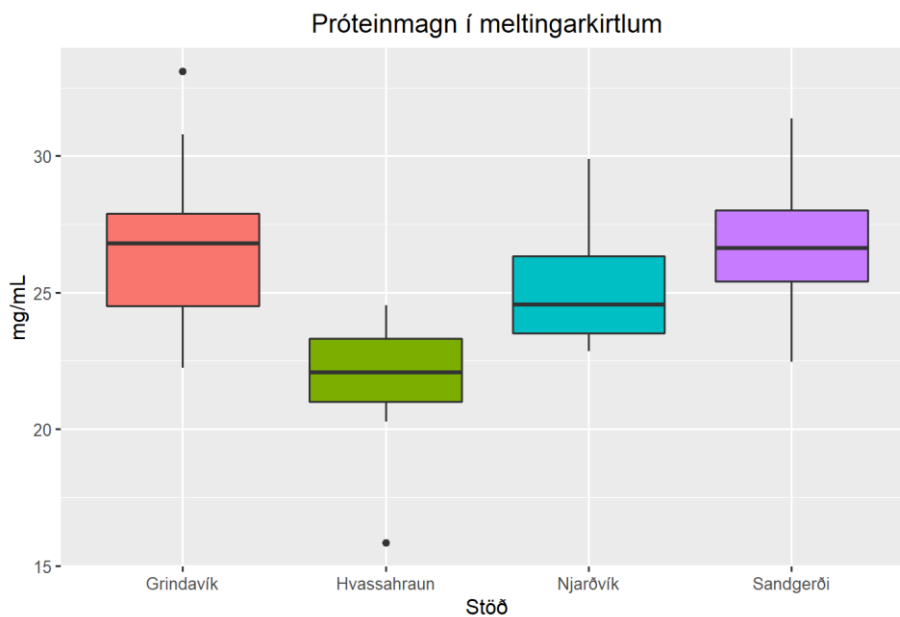
3.3.5 Próteinmagn

Ekki reyndist marktækur munur á próteinmagni í tálknum á milli stöðva í ANOVA prófi ($F_{3,56} = 2,72$; $p = 0,053$) en TukeyHSD próf sýndi þó fram á örlítinn mun á milli Sandgerðis og Njarðvíkur ($p = 0,041$) þar sem meðalpróteinmagn í tálknum kræklings úr Sandgerði var örlítið hærra. Meðalmagn próteina í Sandgerði var $3,4 \pm 0,3$ mg/mL en $3,1 \pm 0,2$ mg/mL í Njarðvík. Meðalmagn próteina í Grindavík var svo $3,3 \pm 0,4$ mg/mL og í Hvassahrauni var meðal próteinmagn í tálknum kræklings $3,2 \pm 0,4$ mg/mL (Mynd 12).



Mynd 12: Próteinmagn í tálknum fjörukræklings frá mismunandi stöðvum. Meðalmagn próteina var hæst í Sandgerði ($3,4 \pm 0,3$ mg/mL) en lægst í Njarðvík ($3,1 \pm 0,2$ mg/mL). Kræklingi var safnað úr höfnum og í Hvassahrauni 21. og 22. október 2021.

Marktækur munur fannst hins vegar á próteinmagni í meltingarkirtlum á milli stöðva ($F_{3,56} = 12,85$; $p < 0,001$). Marktækur munur sást á milli Hvassahrauns og Grindavíkur ($p < 0,0001$), Hvassahrauns og Njarðvíkur ($p < 0,01$) og einnig Hvassahrauns og Sandgerðis ($p < 0,0001$) þar sem meðalpróteinmagn var lægst í Hvassahrauni samanborið við aðrar stöðvar. Meðalmagn próteina í meltingarkirtlum í Grindavík var $26,5 \pm 3,0$ mg/mL, í Njarðvík var meðalmagnið $25,1 \pm 2,1$ mg/mL og $26,7 \pm 2,2$ mg/mL í Sandgerði en meðalmagn próteina í meltingarkirtlum í Hvassahrauni var talsvert lægra eða $21,9 \pm 2,2$ mg/mL (Mynd 13).



Mynd 13: Próteinmagn í meltingarkirtli fjörukræklings frá mismunandi stöðvum. Meðalmagn próteina var hæst í Sandgerði ($26,7 \pm 2,2$ mg/mL) en lægst í Hvassahrauni ($21,9 \pm 2,2$ mg/mL). Kræklingi var safnað úr höfnum og í Hvassahrauni 21. og 22. október 2021.

3.4 Efnagreiningar

Niðurstöður efnagreininga voru fengnar frá Halldórsson o.fl. (2021) fyrir ólífræn snefilefni, PAH efni og lífræn tinsambönd í kræklingi úr Njarðvíkurhöfn, Sandgerðishöfn og Grindavíkurhöfn og Desnica o.fl. (2022) fyrir styrk þessara efna í kræklingi frá Hvassahrauni. Styrkir PCB efna í kræklingi safnað í þessu verkefni úr Njarðvík, Sandgerði, Grindavík og Hvassahrauni voru greindir af ALS Scandinavia í Svíþjóð.

Styrk ólífrænna snefilefna í kræklingi má sjá í töflu 2.

Tafla 2: Styrkur ólífrænna snefilefna í kræklingi úr höfnum Suðurnesja frá Halldórsson o.fl. (2021) og í Hvassahrauni frá Desnica o.fl. (2022).

Efni (mg/kg þurrvigti)	Njarðvík	Sandgerði	Grindavík	Hvassahraun
<i>Arsen (As)</i>	17,9	24,0	44,8	22,6
<i>Kadmín (Cd)</i>	1,17	1,16	1,20	1,94
<i>Kóbalt (Co)</i>	0,44	0,62	0,72	-
<i>Krómi (Cr)</i>	1,06	2,07	2,14	-
<i>Kopar (Cu)</i>	12,0	12,9	13,0	7,66
<i>Kvikasilfur (Hg)</i>	0,11	0,14	0,24	0,06
<i>Mangan (Mn)</i>	4,74	9,40	6,07	-
<i>Nikkel (Ni)</i>	1,01	1,48	1,73	-
<i>Blý (Pb)</i>	2,56	0,81	0,69	<0.05
<i>Sink (Zn)</i>	309	267	244	188
<i>Seleníum (Se)</i>	-	-	-	3,69

Styrk fjölhringa kolvatnsefna í kræklingi má sjá í töflu 3.

Tafla 3: Styrkur sextán fjölhringa kolvatnsefna (PAH efna) í kræklingi úr höfnum Suðurnesja frá Halldórsson o.fl. (2021) og í Hvassahrauni Desnica o.fl. (2022).

Efni (µg/kg votvig)	Njarðvík	Sandgerði	Grindavík	Hvassahraun
<i>Naftalen</i>	<5	<5	<5	<1
<i>Asenaftýlen</i>	<1	<1	<1	<1
<i>Asenaften</i>	<5	<1	<1	<1
<i>Flúoren</i>	<8	<4	<1	<1
<i>Fenantren</i>	46	11	<1	<1
<i>Antrasen</i>	7	2,3	1,5	<1
<i>Flúoranten</i>	18	6,2	1,2	0,54
<i>Pýren</i>	35	13	1,5	2
<i>Bensó(a)antrasen</i>	4,2	1,3	<1	<1
<i>Krýsen</i>	11	2	<1	0,07
<i>Bensó(b)flúoranten</i>	2,3	<1	<1	0,14
<i>Bensó(k)flúoranten</i>	1	<1	<1	<1
<i>Bensó(a)pýren</i>	<3	<1	<1	<1
<i>Díbensó(a,h)antrasen</i>	<1	<1	<1	<1
<i>Bensó(g,h,i)perýlen</i>	1,3	<1	<1	0,1
<i>Indeno(1,2,3-cd)pýren</i>	<1	<1	3,8	<1
<u>Summa 16 EPA-PAH</u>	110	36	8	2,8
<i>Krabbameinsvaldandi PAH efni (4-7 hringir)</i>	19	3,3	3,8	0,21
<i>Ekki krabbameinsvaldandi PAH efni (2-3 hringir)</i>	89	33	4,2	2,6

Styrk lífrænna tinsambanda í kræklingi má sjá í töflu 4.

Tafla 4: Styrkur lífrænna tinsambanda í kræklingi úr höfnum Suðurnesja frá Halldórsson o.fl. (2021). Ekki eru til gildi fyrir lífræn tinsambönd í kræklingi frá Hvassahrauni.

Efni ($\mu\text{g}/\text{kg}$ þurrvig)	Njarðvík	Sandgerði	Grindavík	Hvassahraun
<i>Mónóbútýltin (MBT)</i>	115	<1	<1	-
<i>Díbútýltin (DBT)</i>	276	14	<1	-
<i>Tríbútýltin (TBT)</i>	897	57	27	-
<i>Tetrabútýltin (TeBT)</i>	<1	<1	<1	-
<i>Mónóoktýltin (MOT)</i>	<1	<1	<1	-
<i>Díoktýltin (DOT)</i>	<1	<1	<1	-
<i>Trísýklohexýltin (TCHT)</i>	<1	<1	<1	-
<i>Mónófenýltin (MPHT)</i>	<1	<1	<1	-
<i>Dífenýltin (DPhT)</i>	<1	<1	<1	-
<i>Trífenýltin (TPhT)</i>	122	<1	13	-

Styrkur klórlífrænna þrávirkra efna í kræklingi má sjá í töflu 5.

Tafla 5: Styrkur sjö klórlífrænna þrávirkra efna (PCB efna) í kræklingi safnað í þessari rannsókn úr höfnum Suðurnesja og í Hvassahrauni.

Efni ($\mu\text{g}/\text{kg}$ votvig)	Njarðvík	Sandgerði	Grindavík	Hvassahraun
<i>PCB 28</i>	<1	<1	<1	<1
<i>PCB 52</i>	1,1	0,35	0,25	<1
<i>PCB 101</i>	6,9	1,7	0,93	<1
<i>PCB 118</i>	9,6	1,2	0,94	<1
<i>PCB 138</i>	16	2,5	1,4	<1
<i>PCB 153</i>	12	3	2,1	<1
<i>PCB 180</i>	0,74	0,37	<1	<1
Summa 7 PCB efna	46	9,1	5,6	-

4 Umræða og ályktanir

4.1 SoS

Marktækur munur reyndist á milli lifunarferla kræklinga frá höfnunum þremur og frá Hvassahrauni. Kræklingar úr Grindavík og Sandgerði virtust lifa lengur en þeir úr Njarðvík og Hvassahrauni (mynd 5). Notast er við bakgrunnsviðmið (e. background assessment criteria, BAC) og viðmið um möguleg líffræðileg áhrif (e. environmental assessment criteria, EAC) (Martínez-Gómez, o.fl., 2017; Thain o.fl., 2019) til að greina hvort lífvera sé undir álagi vegna mengunar. LT_{50} gildi undir EAC gefur í skyn að lífveran sé undir miklu álagi, LT_{50} gildi á milli BAC og EAC bendir til að lífveran sé undir álagi en LT_{50} gildi hærra en BAC sýnir að lífveran sé heilbrigð og í góðu ástandi. Í öllum tilfellum voru LT_{50} gildin sem fengust úr þessari rannsókn hærra en BAC sem gefur í skyn að kræklingarnir úr höfnunum (og í Hvassahrauni) hafa verið tiltölulega heilbrigðir.

Aðrir náttúrulegir þættir svo sem árstíðasveiflur og hitastig hafa einnig áhrif á þol kræklinga gagnvart því að vera upp úr sjó. Sýnt hefur verið fram á að hærra sjávarhitastig minnkar þol lífvera (Thain o.fl., 2019). Hitastigið sem notað var í þessari rannsókn var frábrugðið því sem Thain o.fl. (2019) leggja til. Hitastigið var lægra í þessari rannsókn og gæti það mögulega verið ástæðan fyrir því að kræklingarnir lifðu almennt lengur en t.d. kræklingar í rannsókn Martínez-Gómez o.fl. (2017) úr Hvassahrauni og Bjarnarhöfn þar sem LT_{50} gildið var 8 í Hvassahrauni og aðeins 5,5 í Bjarnarhöfn. Hvassahraun er talin hrein stöð og er yfirleitt notuð sem viðmiðstöð en þó mikill munur á LT_{50} tölum frá Martínez-Gómez o.fl. (2017) og þessari rannsókn og gæti sá munur verið vegna hitastigs sem notað var fyrir SoS þar sem Martínez-Gómez o.fl. (2017) notuðu 18°C en í þessari rannsókn var notast við um $7,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$ jafnvel þótt sjávarhitinn hafi verið svipaður í Hvassahrauni árið 2017 þegar sú rannsókn fór fram og þessarrar rannsóknar ($7,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$).

Stærð kræklinga getur einnig haft áhrif á þol hans í SoS þar sem minni kræklingar eru taldir hafa meira þol miðað við stærri kræklinga (Thain o.fl., 2019). Hins vegar voru kræklingar í þessari rannsókn af sambærilegri lengd en þó mismunandi ástand á þeim. Kræklingar úr Hvassahrauni höfðu til að mynda minni kynvef og höfðu marktækt léttari meltingarkirtil en kræklingar frá höfnum Sandgerðis, Njarðvíkur og Grindavíkur sem gæti endurspeglað

mismunandi staðbundnar aðstæður í umhverfi þeirra svo sem í fæðuframboði, skjóli/brimasemi og seltu.

4.2 AChE

Hæsta meðalvirkni AChE sást í Sandgerði ($28,4 \pm 8,2$ nmól/mín/mg prótein) og sú lægsta í Njarðvík ($18,4 \pm 7,4$ nmól/mín/mg prótein). Eins og komið hefur fram áður geta efni eins og kadmín, kvikasilfur, blý, kopar og PAH efni haft hindrandi áhrif á asetylkólínesterasa. Til eru bakgrunnviðmið (BAC) og viðmið um möguleg líffræðileg áhvirf (EAC) fyrir virkni AChE líkt og fyrir SoS (OSPAR Commission, 2012). BAC viðmið fyrir AChE virkni er 30 nmól/mín/mg prótein og EAC viðmiðið er 21 nmól/mín/mg prótein. Ef kræklingurinn hefur virkni lægri en EAC gildið er hann talinn undir verulega miklu álagi vegna mengunar. Eins og nefnt var áður þá var lægsta AChE virknin í Njarðvík og sú virkni er undir EAC gildinu. Það gæti verið vegna mikils álags vegna mengunar af völdum blýs og PAH efna en styrkur þessara efna var hæstur í Njarðvík. Meðalvirkni AChE hjá kræklingi úr Hvassahrauni var einnig undir EAC gildum en þó ekki langt fyrir neðan ($20,4 \pm 6,8$ nmól/mín/mg prótein). Hinsvegar var styrkur Cd hæstur í Hvassahrauni og gæti það mögulega verið skýringin á tiltölulega lágri AChE virkni í kræklingi frá Hvassahrauni.

Til samanburðar við sambærilegar rannsóknir þá eru gildin sem hér fengust í samræmi við fyrri rannsóknir hjá Vidal-Liñán og Bellas (2013) sem gerð var á náskyldri tegund kræklinga, *Mytilus galloprovincialis*, sem var safnað í septembermánuði við norðurströnd Spánar. Meðalvirkni AChE við $13,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ var þar $25,3 \pm 8,9$ nmól/mín/mg prótein. Vidal-Liñán og Bellas (2013) tala um hvernig hitastig getur haft áhrif á virkni AChE og að hindrun AChE hafa sést við 19°C borið saman við lægra hitastig. Sjávarhiti á tímum þessarar rannsóknar var $7,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ og gæti það mögulega spilað inn í virkni AChE. Pfeifer o.fl. (2005) sýndu fram á að AChE virkni fylgir ákveðnum árstíðarhring þar sem hæsta virknin finnst á sumrin og lægsta virknin á veturna.

4.3 GST

Langhæsta meðalvirkni GST mældist í kræklingi frá Sandgerðishöfn ($98,2 \pm 31,8$ nmól/mín/mg prótein) og lægsta í Hvassahrauni ($26,5 \pm 8,0$ nmól/mín/mg prótein). Aukinn

GST virkni er talin tengjast mengun vegna t.d. snefilefna, PAH efna og PCB efna. Styrkur Mn var hæstur í Sandgerði og fylgnipróf sýndu einnig jákvæða fylgni á milli Mn og GST virkni og gæti það mögulega skýrt þessa háu virkni sem sást í Sandgerði. Sýnt hefur verið fram á að aukinn styrkur Mn getur valdið aukinni GST virkni í skeldýrum (Cabral o.fl., 2022). Fylgnipróf sýndu einnig neikvæða fylgni GST og Cd og Se og var hæsti styrkur Cd í Hvassahrauni. Styrkur Co, Cr, Cu og Ni var hæstur í Grindavík og Sandgerði þar sem báðar þessar hafnir sýndu hærri GST virkni í samanburði við hinar stöðvarnar. Styrkur PCB efna var yfir umhverfismörkum í Sandgerði og gæti hærri GST virkni mögulega stafað af auknum styrk PCB efna þó lítil mengun er talin vera af þeim styrk PCB efna sem fannst þar. Meðalvirkni GST er aðeins hærri en mældist hjá Vidal-Liñán og Bellas (2013) í *M. galloprovincialis* á Spáni en meðalvirknin þar var $28,1 \pm 10,7$ nmól/mín/mg prótein við $13,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Gildin sem fengust úr þessari rannsókn eru einnig töluvert hærri en þau sem fengust í sambærilegri rannsókn á kræklingum úr Sandgerðishöfn í marsmánuði (Sverrisdóttir, 2020). Í þeirri rannsókn var meðalgildi GST aðeins $2,4 \pm 0,5$ nmól/mín/mg prótein og gæti skýringin legið í árstíðarsveiflum í t.d. hitastigi, fæðuframboði og líkamlegu ástandi kræklingsins. Fæðuframboðið er töluvert minna í mars heldur en seint um haust/snemma veturs en kræklingurinn er jafnframt í stöðugra lífeðlisfræðilegu ástandi að vori þar sem virkni hans er mun minni en að hausti (Vidal-Liñán og Bellas, 2013; Sverrisdóttir, 2020). Sýnt hefur verið fram á að virkni GST getur hækkað á sumrin og lækkað á veturna í heitari sjó sunnar í Atlantshafinu (Kaaya o.fl., 1999) en Manduzio o.fl. (2004) sýndu hinsvegar fram á með rannsókn í Frakklandi að virkni GST í tálknum væri hæst seint á haustin og um veturinn.

4.4 GPx

Meðalvirkni SeGPx reyndist hæst í kræklingi frá Grindavík ($6,7 \pm 2,9$ nmól/mín/mg prótein) en lægst í Sandgerði ($4,3 \pm 1,7$ nmól/mín/mg prótein). Aukin virkni glútaþíón peroxídasa getur verið vísbending um aukið oxunarálag vegna mengunar af völdum ýmissa efna svo sem PAH efni, PCB efni og snefilefni. Styrkir ýmissa snefilefna (As, Cr, Cu, Hg og Ni) voru hæstir í Grindavík sem gæti skýrt hærri virkni SeGPx. Virknin er í góðu samræmi við rannsókn Vidal-Liñán og Bellas (2013) þar sem meðalvirkni SeGPx var þar $5,9 \pm 0,9$

nmól/mín/mg prótein við $13,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Einnig er hægt að bera niðurstöðurnar saman við niðurstöður frá Nahrgang, o.fl. (2013) sem skoðuðu SeGPx virkni í kræklingi í Barentshafi og áhrif árstíðasveiflna á virknina en þar fékkst marktækt hærri virkni í mars miðað við september. Manduzio o.fl. (2004) sýndu hins vegar fram á að virkni GPx fylgir sjaldnast árstíðarsveiflum.

Meðalvirknin snýst hins vegar við fyrir TGPx þar sem meðalvirkni TGPx var hæst í Sandgerði ($7,5 \pm 2,1$ nmól/mín/mg prótein) og lægst í Hvassahrauni ($4,8 \pm 1,8$ nmól/mín/mg prótein). Styrkur Mn var hæstur í Sandgerði en einnig var styrkur PAH efna, PCB efna, tríbútýltin (TBT) og díbútýltin (DBT) efna hár í Sandgerði sem gæti skýrt aukna TGPx virkni.

4.5 CAT

Meðalvirkni CAT var hæst í Grindavík ($12,7 \pm 2,6$ $\mu\text{mól/mín/mg}$ prótein) en lægst í Sandgerði ($10,1 \pm 2,6$ $\mu\text{mól/mín/mg}$ prótein). Katalasi er lykilensím sem verndar lífverur gegn oxunarálagi og aukin virkni þess er vísbending um aukið oxunarálag. Líkt og fyrir glútaþíón peroxídasa (SeGPx) fannst hæsta virknin í Grindavík og lægsta í Sandgerði og gæti það verið vegna hærri styrks snefilefna sem mældist í kræklingnum frá Grindavík. Einnig gæti styrkur PCB efna skýrt hærri CAT virkni í Grindavík. Virkni CAT í þessari rannsókn er töluvert lægri en meðalvirknin sem fékkst hjá Vidal-Liñán og Bellas (2013) þar sem hún var $25,3 \pm 5,3$ $\mu\text{mól/mín/mg}$ prótein við $13,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Vidal-Liñán og Bellas (2013) tala um hvernig hitastig hefur áhrif á virkni CAT og sýndu fram á að hærri virkni fékkst við $18,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ($31,1 \pm 4,7$ $\mu\text{mól/mín/mg}$ prótein) í samanburði við $13,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ en virknin lækkaði þó aftur við $23,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ($24,6 \pm 5,6$ $\mu\text{mól/mín/mg}$ prótein). Mögulega gæti ástæðan fyrir þessum mun á milli rannsókna verið sjávarhitinn þar sem hann var mun lægri í þessari rannsókn ($7,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$) en einnig voru Vidal-Liñán og Bellas (2013) með aðra kræklingategund (*M. galloprovincialis*) sem gæti útskýrt muninn þrátt fyrir að þessar tegundir séu náskyldar.

Meðalvirkni CAT var örlítið hærri en í rannsókn Sunnu Hrundar Sverrisdóttur (2020) en þar var meðalvirkni CAT í kræklingi úr Sandgerðishöfn $8,9$ $\mu\text{mól/prot/mín}$ og $7,4$ $\mu\text{mól/prot/mín}$ í Hvassahrauni en þeim kræklingi var safnað á öðrum árstíma eða í mars 2020. Þessi munur er þó óverulegur og bendir til að árstíðir hafi lítil áhrif á þetta lífmerki í kræklingi hér á landi.

4.6 Próteinmagn

Ekki var marktækur munur á próteinmagni í tálknum kræklinga frá höfnunum jafnvel þótt munur hafi verið á ensímvirkni milli stöðva. Það skýrist líklegast af því að þeir kræklingar sem sýna lægri virkni eru þó að mynda prótein og önnur ensím sem þjóna öðrum tilgangi en að halda niðri t.d. oxunarálagi eða hafa afeitrunartilgang.

Hins vegar fannst marktækur munur á próteinmagni í meltingarkirtli kræklinganna og fannst lægsta próteinmagnið í Hvassahrauni sem er viðmiðunarstöðin og mengunarálag er þar lítið. Líklegasta skýringin á lægra próteinmagni er sú að öðruvísi ástand var á kræklingum í Hvassahrauni eins og nefnt var áður. Þyngd meltingarkirtils í Hvassahrauni samanborið við hafnirnar var mun minni og jafnframt var minni mjúkvæfur í þeim kræklingum. Einnig getur skýringin verið misjafnt fæðuframboð þar sem próteinframleiðsla fer mikið eftir aðgengi fæðu. Minna fæðuframboð í Hvassahrauni miðað við Sandgerði, Njarðvík og Grindavík gæti því útskýrt minna próteinmagn í meltingarkirtli kræklinga frá Hvassahrauni.

4.7 Efnainnihald í kræklingi

Viðmiðunarmörk fengin hjá Molvær o.fl. (1997) má sjá í viðauka 1 en ekki eru til gildi fyrir öll efni. Þar er að finna norsk umhverfisviðmið þar sem styrkur efna undir þeim gildum er náttúrulegur en styrkur yfir þeim gildum er talinn sá styrkur sem gæti valdið áhrifum. Ekki eru til íslensk viðmiðunarmörk og er því algengast að notast við norsk eða kanadísk viðmiðunarmörk hér á landi. Áhrifagildum er skipt niður eftir því hversu mikil mengun er til staðar og þeim áhrifum sem má búast við af ákveðnum styrkjum efna. Þegar allar stöðvar eru skoðaðar sést að styrkur flestra efna er undir eða rétt við umhverfisviðmiðin en þó reyndust einhver efni yfir mörkum í kræklingi frá öllum stöðvum. Kopar mældist yfir umhverfisviðmiðum í hafnarkræklingum og mældist hann hæstur í Grindavík og er sá styrkur talinn valda lítilli mengun og því lítil hætta á áhrifum. Arsen mældist hins vegar tiltölulega hátt og sérstaklega í Grindavík og því má búast við að sjávarlífverur finni fyrir mengunarálagi þar vegna arsens. Kvikasilfur mældist einnig hæst í Grindavík og rétt yfir umhverfisviðmiðum en þó undir þeim gildum sem talin eru skaðleg lífríkinu. Blý mældist langhæst í Njarðvík en þó rétt undir umhverfisviðmiðum. Benda skal á að styrkir kvikasilfurs í Grindavík og blýs í Njarðvík eru mun hærri en jafnan mælist í kræklingi frá lítt menguðum svæðum við Ísland þar sem styrkur kvikasilfurs var 5x hærri og styrkur blýs um 17x hærri

en meðalstyrkir hér á landi (Sturludóttir o.fl., 2013). Styrkur kadmíns mældist einnig undir umhverfisviðmiðum en mældist þó nálægt þeim í Hvassahrauni. Styrkur PAH efna mældist hæstur og yfir umhverfisviðmiðum í Njarðvík og lífræn tinsambönd reyndust einnig í áberandi hæstum styrk í Njarðvíkurhöfn. Styrkur TBT var sérstaklega hár og ekki aðeins yfir viðmiðunargildum heldur einnig yfir mörkum sem sýna einhverja hættu á áhrifum efnanna. TBT er skaðlegasta lífræna tinsambandið og hár styrkur þess sem og hár styrkur PAH efna sýnir talsvert mengunarálag í Njarðvík. Styrkur PCB efna mældist hæstur í Njarðvík og telst sá styrkur sem mikil mengun og áhrifa að vænta á lífríkið (sjá viðauka 1) sem staðfestir enn frekar mengunarálag í Njarðvíkurhöfn. Styrkur PCB efna í Sandgerði og Grindavík mældist yfir umhverfisviðmiði en þó telst það vera lítil mengun og því lítil hættu á áhrifum vegna PCB efna.

4.8 Ályktanir

Eins og nefnt hefur verið áður þá eru kræklingar sýrar og eru sífellt að sía sjóinn til öndunar og fæðuöflunar. Kræklingar á hafnarsvæðum eru jafnan umkringdir mengunarefnum frá skipaumferð og hafnarstarfsemi og upplifa því meira álag vegna mengunar en víðast annarsstaðar. Munur sást á ástandi kræklinga milli Hvassahrauns og hafnakræklinga þar sem kræklingar í höfnum Sandgerðis, Njarðvíkur og Grindavíkur eru undir meira álagi vegna mengandi efna. Kræklingur frá Hvassahrauni var ívið léttari og það var minni mjúkvetur í honum og þá helst kynvetur miðað við hafnirnar. Því þyrfti mögulega að endurhugsa viðmiðunarstöðina og skoða nánar þennan ástandsmun. Kræklingar í höfnunum sýndu meiri viðbrögð samkvæmt lífmerkjum. Meiri virkni mældist í glútaþíón S-transferasa, glútaþíón peroxídasa og katalasa í kræklingum frá hafnasvæðunum og má því álykta að það sé vegna mengunarálags í Sandgerði, Njarðvík og Grindavík. SoS sýndi þó fram á að kræklingarnir væru tiltölulega heilbrigðir og í góðu ástandi og efnagreiningar sýndu að ekki er mikil hættu vegna mengunar þó hún sé til staðar og sum efni voru yfir umhverfisviðmiðum.

Lítill fylgni fannst hins vegar á milli lífmerkja og efnainnihalds og gæti það mögulega verið vegna þess að nýttar voru eldri efnagreiningar fyrir Sandgerði, Njarðvík og Grindavík. Einn olíuleki í höfnunum gæti gjörbreytt efnasamsetningunni í höfnunum og þ.a.l. haft áhrif á viðbrögð kræklinganna og því erfitt að finna sterka fylgni á milli stakra efna og lífmerkja í þessari rannsókn. Það þarf einnig alltaf að hafa í huga að samlegðaráhrif mismunandi efna

geta verið mikil og magnað upp líffræðileg viðbrögð lífvera, sem þá flækir túlkun á niðurstöðum lífmerkja.

Náttúrulegir þættir, svo sem árstími, fæðuframboð, sjávarhiti og æxlunartími, geta haft mikil áhrif á greiningu lífmerkja þar sem þeir hafa áhrif á almennt lífeðlisfræðilegt ástand kræklinganna. Það er því oft erfitt að greina á milli hvort viðbrögð lífverunnar eru vegna mengandi efna eða náttúrulega þátta. Niðurstöður mælinga á lífmerkjum og fylgni þeirra við mengandi efni getur því reynst erfið líkt og samanburður milli rannsókna.

Sjávarmengun mun að öllum líkindum halda áfram að aukast og því er mikilvægt að fylgjast með framvindu þessara mála og rannsaka og vakta áhrifin sem mengunin getur haft á sjávarlífverur sem og okkur menn þar sem við erum neytendur sjávarfangs. Notkun lífmerkja hefur hjálpað gríðarlega mikið og er því stór hluti af mengunarvöktunum um allan heim og hefur aukist hér á landi á undanförunum árum. Niðurstöður þessarrar rannsóknar benda til þess að hægt sé að nota lífmerki til mengunarrannsókna og vöktunar á íslenskum höfnum. Þó er vöntun á stöðlun þessara lífmerkja þar sem tekið er tillit til náttúrulegra þátta og stefnir framtíð notkunar á lífmerkjum í þá átt.

Heimildir

- Aebi, H. (1974). Catalase. *Methods of Enzymatic Analysis*, 673–684. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-091302-2.50032-3>
- Alava, J. J., Cheung, W. W. L., Ross, P. S., og Sumaila, U. R. (2017). Climate Change–Contaminant Interactions in Marine Food Webs: Toward a Conceptual Framework. *Global Change Biology*, 23(10), 3984–4001. <https://doi.org/10.1111/gcb.13667>
- AMAP. (2002). Arctic Pollution 2002. Arctic Monitoring and Assessment Programme (AMAP), Oslo, Norway; 2002. Vii+112 bls.
- Balmer, J. E., Hung, H., Yu, Y., Letcher, R. J., og Muir, D. C. G. (2019). Sources and Environmental Fate of Pyrogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in the Arctic. *Emerging Contaminants*, 5, 128–142. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2019.04.002>
- Baršienė, J., Andreikėnaitė, L., og Bjornstad, A. (2010). Induction of Micronuclei and Other Nuclear Abnormalities in Blue Mussels *Mytilus edulis* after 1-, 2-, 4- and 8-day Treatment with Crude Oil From the North Sea. *Ekologija*, 56(3), 124–131. <https://doi.org/10.2478/v10055-010-0018-4>
- Baršienė, J. og Lyons, B. (2011). Background Document: Micronucleus Assay as a Tool for Assessing Cytogenetic/DNA Damage in Marine Organisms. *ICES/OSPAR SGIMC REPORT 2011*. Report of the Study Group on Integrated Monitoring of Contaminants and Biological Effects, bls 88-109. <https://www.researchgate.net/publication/272793228>
- Bebianno, M. J., Pereira, C. G., Rey, F., Cravo, A., Duarte, D., D'Errico, G., og Regoli, F. (2015). Integrated Approach to Assess Ecosystem Health in Harbor Areas. *The Science of the Total Environment*, 514, 92–107. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2015.01.050>
- Beyer, J., Green, N. W., Brooks, S., Allan, I. J., Ruus, A., Gomes, T., Bråte, I. L. N., og Schøyen, M. (2017). Blue mussels (*Mytilus edulis* spp.) as Sentinel Organisms in Coastal Pollution Monitoring: A review. *Marine Environmental Research*, 130, 338–365. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2017.07.024>
- Bocchetti, R., Fattorini, D., Pisanelli, B., Macchia, S., Oliviero, L., Pilato, F., Pellegrini, D., og Regoli, F. (2008). Contaminant Accumulation and Biomarker Responses in Caged Mussels, *Mytilus galloprovincialis*, to Evaluate Bioavailability and Toxicological Effects of Remobilized Chemicals During Dredging and Disposal Operations in Harbour Areas. *Aquatic Toxicology*, 89(4), 257–266. <https://doi.org/10.1016/J.AQUATOX.2008.07.011>

- Bocquene, G., og Galgani, F. (1998). Biological Effects of Contaminants: Cholinesterase Inhibition by Organophosphate and Carbamate Compounds. *ICES Techniques in Marine Environmental Sciences*, 22. <https://doi.org/10.17895/ices.pub.5048>
- Bolognesi, C., og Fenech, M. (2012). Mussel Micronucleus Cytome Assay. *Nature Protocols*, 7(6), 1125–1137. <https://doi.org/10.1038/nprot.2012.043>
- Bolognesi, C., og Hayashi, M. (2011). Micronucleus Assay in Aquatic Animals. *Mutagenesis*, 26(1), 205–213. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq073>
- Cabral, D. S., Campos Medeiros, L. C., Barbosa Alves, B. V., Passos, L. S., Pereira, T. M., Merçon, J., Casthologe, V. D., og Chippari-Gomes, A. R. (2022). Do Iron and Manganese Affect the Health of the Estuarine Oyster *Crassostrea rhizophorae*? *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 268, 107800. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2022.107800>
- De Zwaan, A., og Wijsman, T. C. M. (1976). Anaerobic Metabolism in Bivalvia (Mollusca) Characteristics of Anaerobic Metabolism. *Biochemistry and Physiology*, 75, 313–324. Pergamon Press.
- Desnica, N., Borojevic, B. og Igersdóttir, J. (2022). Snefilefni og PAH efni í AMSUM-sýnum/Trace metals and PAH compounds in AMSUM samples. Matís skýrsla, mars 2022. 19 bls.
- Eertman, R. H. M., Wagenvoort, A. J., Hummel, H., og Smaalb, A. C. (1993). “Survival in Air” of the Blue Mussel *Mytilus edulis* L. as a Sensitive Response to Pollution-induced Environments Stress. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 170, 179-195.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., og Featherstone, R. M. (1961). A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. *Biochemical Pharmacology*, 7, 88–95. Pergamon Press Ltd.
- Fitzpatrick, P. J., O'halloran, J., Sheehan, D., og Walsh, A. R. (1997). Assessment of a Glutathione S-Transferase and Related Proteins in the Gill and Digestive Gland of *Mytilus edulis* (L.), as Potential Organic Pollution Biomarkers. *Biomarkers*, 2(1), 51-56. <https://doi.org/10.1080/135475097231977>
- Gibbs, P. E. og Bryan, G. W. (1986). Reproductive Failure in Populations of the Dog-Whelk, *Nucella lapillus*, Caused by Imposex Induced by Tributyltin from Antifouling Paints. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 66(4), 767-777. <https://doi.org/10.1017/S0025315400048414>
- Guðmundsdóttir, L. Ó., Ho, K. K. Y., Lam, J. C. W., Svavarsson, J., og Leung, K. M. Y. (2011). Long-Term Temporal Trends (1992-2008) of Imposex Status Associated with Organotin

- Dontamination in the Dogwhelk *Nucella lapillus* Along the Icelandic Coast. *Marine Pollution Bulletin*, 63(5–12), 500–507. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.02.012>
- Habig, W. H., Pabst, M. J. og Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-Transferases: The First Enzymatic Step in Mercapturic Acid Formation. *The Journal of Biological Chemistry* 249(22), 7130-7139. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)42083-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)42083-8)
- Hafrannsóknastofnun. (2022). Hiti við strönd. Sótt af <https://sjora.hafro.is/>
- Halldórsson, H.P. (2008). Cellular and Physiological Biomarker Responses to Pollutants in Native and Transplanted Mussels (*Mytilus edulis* L.) in Iceland. Doktorsritgerð, Líf- og umhverfisvísindadeild, Háskóli Íslands, 31 bls.
- Halldórsson, H. P., de Pirro, M., Romano, C., Svavarsson, J., og Sarà, G. (2008). Immediate Biomarker Responses to benzo[a]pyrene in Polluted and Unpolluted Populations of the Blue Mussel (*Mytilus edulis* L.) at high-latitudes. *Environment International*, 34(4), 483–489. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2007.11.002>
- Halldórsson, H.P., Ericson, G. og Svavarsson, J. (2004). DNA Strand Breakage in Mussels (*Mytilus edulis* L.) Deployed in Intertidal and Subtidal Zone in Reykjavík Harbour. *Marine Environmental Research*, 58, 763–767. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2004.03.092>
- Halldórsson, H. P., Guls, H. D., Micael, J. og Gíslason, S. (2021). Styrkur ólífrænna snefilefna, PAH efna og lífrænna tinsambanda í kræklingi í höfnum á Suðurnesjum haustið 2020. Verkefni unnið af Rannsóknasetri Háskóla Íslands á Suðurnesjum og Náttúrustofu Suðurvestralands með styrk frá Uppbyggingarsjóði Suðurnesja og Umhverfisstofnun, maí 2021. 13 bls.
- Halldórsson, H.P., Svavarsson, J. og Granmo, A. (2005). The Effect of Pollution on Scope for Growth of the Mussel (*Mytilus edulis* L.) in Iceland. *Marine Environmental Research*, 59, 47–64. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2004.02.001>
- Hoch, M. (2001). Organotin Compounds in the Environment - an Overview. *Applied Geochemistry*, 16(7-8), 719-743. [https://doi.org/10.1016/S0883-2927\(00\)00067-6](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(00)00067-6)
- Kaaya, A., Najimi, S., Ribera, D., Narbonne, J. F., og Moukrim, A. (1999). Characterization of Glutathione S-Transferases (GST) Activities in *Perna perna* and *Mytilus galloprovincialis* Used as a Biomarker of Pollution in the Agadir Marine Bay (South of Morocco). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 62, 623–629. <https://doi.org/10.1007/s001289900920>
- Larsen, L. H., Sagerup, K., og Ramsvatn, S. (2016). The Mussel Path - Using the Contaminant Tracer, Ecotracer, in Ecopath to Model the Spread of Pollutants in an Arctic Marine Food

<https://doi.org/10.1016/J.ECOLMODEL.2015.10.011>

- Lee, R. F., Keeran, W. S., og Pickwell, G. V. (1988). Marine Invertebrate Glutathione-S-transferases: Purification, Characterization, and Induction. *Marine Environmental Research*, 24(1–4), 97–100. [https://doi.org/10.1016/0141-1136\(88\)90262-0](https://doi.org/10.1016/0141-1136(88)90262-0)
- Livingstone, D. R. (1993). Review Biotechnology and Pollution Monitoring : Use of Molecular Biomarkers in the Aquatic Environment. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 57, 195 - 211.
- Livingstone, D. R. (2001). Contaminant-Stimulated Reactive Oxygen Species Production and Oxidative Damage in Aquatic Organisms. *Marine Pollution Bulletin*, 42(8), 656–666. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(01\)00060-1](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(01)00060-1)
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., og Randall, R. J. (1951). Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *The Journal of biological chemistry*, 193(1), 265–275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
- Lushchak, V. I. (2011). Environmentally Induced Oxidative Stress in Aquatic Animals. *Aquatic Toxicology*, 101(1), 13–30. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.10.006>
- Manduzio, H., Monsinjon, T., Galap, C., Leboulenger, F., og Rocher, B. (2004). Seasonal Variations in Antioxidant Defences in Blue Mussels *Mytilus edulis* Collected from a Polluted Area: Major Contributions in Gills of an Inducible Isoform of Cu/Zn-Superoxide Dismutase and of Glutathione S-Transferase. *Aquatic Toxicology*, 70(1), 83–93. <https://doi.org/10.1016/J.AQUATOX.2004.07.003>
- Martínez-Gómez, C., Robinson, C. D., Burgeot, T., Gubbins, M., Halldorsson, H. P., Albentosa, M., Bignell, J. P., Hylland, K., og Vethaak, A. D. (2017). Biomarkers of General Stress in Mussels as Common Indicators for Marine Biomonitoring Programmes in Europe: The ICON experience. *Marine Environmental Research*, 124, 70–80. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.10.012>
- Matthiessen, P., og Gibbs, P. E. (1998). Annual Review Critical Appraisal of the Evidence for Tributyltin-Mediated Endocrine Disruption in Mollusks. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(1), 37 - 43 . <https://doi.org/10.1002/etc.5620170106>
- McCarthy, J. F. og Shugart, L. R. (1990). *Biomarkers of Environmental Contamination*. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida.

- Molvær, J., Knutzen, J., Magnusson, J., Rygg, B., Skei, J. og Sørensen, J. (1997). Klassifisering av Miljøkvalitet I Fjorder og Kyst Farvann. [Classification of Environmental Quality in Fjords and Coastal Waters.] *Veiledning. SFT-veiledning*, 97(03), TA-1467/1997. 36 bls.
- Nahrgang, J., Brooks, S. J., Evenset, A., Camus, L., Jonsson, M., Smith, T. J., Lukina, J., Frantzen, M., Giarratano, E., og Renaud, P. E. (2013). Seasonal Variation in Biomarkers in Blue Mussel (*Mytilus edulis*), Icelandic scallop (*Chlamys islandica*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*) - Implications for Environmental Monitoring in the Barents Sea. *Aquatic Toxicology*, 127, 21–35. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.01.009>
- Neff, J. M. (2002). *Bioaccumulation in Marine Organisms: Effect of Contaminants from Oil Well Produced Water*. Elsevier Science Publisher, Amsterdam, 452 bls.
- OSPAR Commission. (2012). JAMP Guidelines for the Integrated Monitoring and Assessment of Contaminants and their effects. September, 2012.
- Pamplona, R., og Costantini, D. (2011). Molecular and Structural Antioxidant Defenses Against Oxidative Stress in Animals. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 301, 843–863. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00034.2011>
- Pfeifer, S., Schiedek, D., og Dippner, J. W. (2005). Effect of Temperature and Salinity on Acetylcholinesterase Activity, a Common Pollution Biomarker, in *Mytilus* sp. from the south-western Baltic Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 320(1), 93–103. <https://doi.org/10.1016/J.JEMBE.2004.12.020>
- Rainbow, P. S. (2007). Trace Metal Bioaccumulation: Models, Metabolic Availability and Toxicity. *Environment International*, 33(4), 576–582. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.05.007>
- Regoli, F. (1998). Trace Metals and Antioxidant Enzymes in Gills and Digestive Gland of the Mediterranean Mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 34(1), 48–63. <https://doi.org/10.1007/S002449900285>
- Regoli, F., og Giuliani, M. E. (2014). Oxidative Pathways of Chemical Toxicity and Oxidative Stress Biomarkers in Marine Organisms. *Marine Environmental Research*, 93, 106–117. <https://doi.org/10.1016/J.MARENVRES.2013.07.006>
- Rocha, A. C., Camacho, C., Eljarrat, E., Peris, A., Aminot, Y., Readman, J. W., Boti, V., Nannou, C., Marques, A., Nunes, M. L., og Almeida, C. M. (2018). Bioaccumulation of Persistent and Emerging Pollutants in Wild Sea Urchin *Paracentrotus lividus*. *Environmental Research*, 161, 354–363. <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2017.11.029>

- Sarkar, A., Ray, D., Shrivastava, A. N., og Sarker, S. (2006). Molecular Biomarkers: Their Significance and Application in Marine Pollution Monitoring. *Ecotoxicology*, 15(4), 333–340. <https://doi.org/10.1007/s10646-006-0069-1>
- Sheehan, D., Meade, G., Foley, V. M., og Dowd, C. A. (2001). Structure, Function, and Evolution of Glutathione Transferases: Implications for Classification of Non-Mammalian Members of an Ancient Enzyme Superfamily. *The Biochemical Journal*, 360(1), 1–16. <https://doi.org/10.1042/0264-6021:3600001>
- Sheehan, D., og Power, A. (1999). Effects of Seasonality on Xenobiotic and Antioxidant Defence Mechanisms of Bivalve Molluscs. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Pharmacology Toxicology and Endocrinology*, 123(3), 193–199. [https://doi.org/10.1016/S0742-8413\(99\)00033-X](https://doi.org/10.1016/S0742-8413(99)00033-X)
- Skarphéðinsdóttir H, Ericson G, Svavarsson J, og Næs K. (2007). DNA Adducts and Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Tissue Levels in Blue Mussels (*Mytilus* spp.) from Nordic Coastal Sites. *Marine Environmental Research*, 64, 479–491. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2007.03.007>
- Stephensen, E., Svavarsson, J., Sturve, J., Ericson, G., Adolfsson-Erici, M. og Förlin, L. (2000). Biochemical Indicators of Pollution Exposure in Shorthorn Sculpin (*Myoxocephalus scorpius*), Caught in Four Harbours in the Southwest Coast of Iceland. *Aquatic Toxicology*, 48, 431–442. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(99\)00062-4](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(99)00062-4)
- Sturludóttir, E., Gunnlaugsdóttir, H., Jorundsdóttir, H. O., Magnúsdóttir, E. V., Ólafsdóttir, K., og Stefánsson, G. (2013). Spatial and Temporal Trends of Contaminants in Mussel Sampled round the Icelandic Coastline. *Science of the Total Environment*, 454–455, 500–509. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.03.042>
- Svavarsson, J., Guls, H. D., Sham, R. C., Leung, K. M. Y., og Halldórsson, H. P. (2021). Pollutants From Shipping - New Environmental Challenges in the Subarctic and the Arctic Ocean. *Marine Pollution Bulletin*, 164, 112004. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112004>
- Sverrisdóttir, S. H. (2020). *Virgni andoxunarensíma og lípíð peroxun í meltingarkirtli kræklinga (Mytilus edulis) við mismunandi mengunarálag* [B.Sc. ritgerð, Háskóli Íslands]. Skemman. <http://hdl.handle.net/1946/35812>
- Thain, J., Fernández, B., og Martínez-Gómez, C. (2019). Biological Effects of Contaminants: Stress on Stress (SoS) Response in Mussels. *ICES Techniques in Marine Environmental Sciences* 11(59). <http://doi.org/10.17895/ices.pub.4702>

- Townsend, D. M., og Tew, K. D. (2003). The Role of Glutathione-S-Transferase in Anti-Cancer Drug Resistance. *Oncogene*, 22(47), 7369–7375. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206940>
- Viarengo, A., Canesi, L., Pertica, M., Mancinelli, G., Accomando, R., Smaal, A. C., og Orunesu, M. (1995). Stress on Stress Response: A Simple Monitoring Tool in the Assessment of a General Stress Syndrome in Mussels. *Marine Environmental Research*, 39, 245–248. [https://doi.org/10.1016/0141-1136\(94\)00075-Z](https://doi.org/10.1016/0141-1136(94)00075-Z)
- Vidal-Liñán, L., Bellas, J., Campillo, J. A., og Beiras, R. (2010). Integrated use of Antioxidant Enzymes in Mussels, *Mytilus galloprovincialis*, for Monitoring Pollution in Highly Productive Coastal Areas of Galicia (NW Spain). *Chemosphere*, 78(3), 265–272. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2009.10.060>
- Vidal-Liñán, L., og Bellas, J. (2013). Practical Procedures for Selected Biomarkers in Mussels, *Mytilus galloprovincialis* - Implications for Marine Pollution Monitoring. *Science of the Total Environment*, 461–462, 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.079>
- Wan, Y., Jin, X., Hu, J., og Jin, F. (2007). Trophic Dilution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in a Marine Food Web from Bohai Bay, North China. *Environmental Science and Technology*, 41(9), 3109–3114. <https://doi.org/10.1021/es062594x>
- Wang, W. X., og Rainbow, P. S. (2005). Influence of Metal Exposure History on Trace Metal Uptake and Accumulation by Marine Invertebrates. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 61(2), 145–159. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.01.008>
- Wania, F. og Mackay, D. (1996). Tracking the Distribution of Persistent Organic Pollutants. *Environmental Science and Technology*, 30(9), 390A–396A. <https://doi.org/10.1021/es962399q>
- Widdows, J. (1978). Combined Effects of Body Size, Food Concentration and Season on the Physiology of *Mytilus edulis*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 58(1), 109–124. <https://doi.org/10.1017/S0025315400024449>

Viðaukar

1 Viðmiðunargildi

Tafla 6: Norsk viðmiðunarmörk efna í kræklingi (Molvær o.fl., 1997).

Tegund	Efni	I Umhverfis- viðmið (bakgrunns- gildi): Lítill eða engin hætta á áhrifum	II Lítill mengun (moderate): Lítill hætta á áhrifum	III Nokkur mengun (markert): Áhrifa að vænta á viðkvæmt lífriki	IV Mikil mengun (sterkt): Áhrifa að vænta	V Mjög mikil mengun (meget sterkt): Ávallt áhrif – ófullnægjandi ástand
Kræklingur (þurrvig)	Arsen (As) (mg/kg dr.w)	< 10	10 – 30	30 – 100	100 – 200	> 200
-	Blý (Pb)	< 3	3 – 15	15 – 40	40 – 100	> 100
-	Flúór (F)	< 15	15 – 50	50 – 150	150 – 300	> 300
-	Kadmín (Cd)	< 2	2 – 5	5 – 20	20 – 40	> 40
-	Kopar (Cu)	< 10	10 – 30	30 – 100	100 – 200	> 200
-	Króm (Cr)	< 3	3 – 10	10 – 30	30 – 60	> 60
-	Kvikasilfur (Hg)	< 0,2	0,2 – 0,5	0,5 – 1,5	1,5 – 4	> 4
-	Nikkel (Ni)	< 5	5 – 20	20 – 50	50 – 100	> 100
-	Sink (Zi)	< 200	200 – 400	400 – 1000	1000 – 2500	> 2500
-	Silfur (Ag)	< 0,3	0,3 – 1	1 – 2	2 – 5	> 5
-	TBT	< 0,1	0,1 – 0,5	0,5 – 2	2 – 5	> 5
Kræklingur (votvig)	Summa 16 PAHs (µg/kg votvig)	< 50	50 – 200	200 – 2000	2000 – 5000	> 5000
	Krabbameinsval- dandi PAH efni	< 10	10 – 30	30 – 100	100 – 300	> 300
	Bensó(a)pyren	< 1	1 – 3	3 – 10	10 – 30	> 30
	Summa 7 PCB efna	< 4	4 – 15	15 – 40	40 – 100	> 100

2 Blöndun buffera

Tafla 7: 50 mM K-fosfat buffer (pH 7,5) ásamt 2 mM EDTA sem notaður var í kafla 2.5.1 við gerð einsleitu lausna fyrir ensímvirkni mælingar (GST, GPx (SeGPx og TGPx) og CAT).

Efni	Magn
K₂HPO₄	1,922 g
KH₂PO₄	0,5397 g
dH₂O	300 mL
EDTA (0,5 M)	1,2 mL

Tafla 8: 0,02 M fosfat buffer (pH 7) ásamt 0,1% Triton X-100 sem notaður var í kafla 2.5.1 við gerð einsleitu lausnar fyrir ensímvirkni mælingar á AChE.

Efni	Magn
Na₂HPO₄ · 7 H₂O	0,092925 g
NaH₂PO₄ · H₂O	0,03496 g
dH₂O	30 mL
Triton X-100	30 µL

Tafla 9: 0,1 M K-fosfat buffer (pH 6,5) sem notaður var við virkni mælingar á GST, GPx (SeGPx og TGPx), CAT (2.5.3-2.5.5) og einnig við þynningu próteinsýna (2.5.1)

Efni	Magn
K₂HPO₄	2,937 g
KH₂PO₄	4,51 g
dH₂O	500 mL

Tafla 10: 0,02 M fosfat buffer (pH 7,0) sem notaður var við virkni mælingar á AChE (2.5.2).

Efni	Magn
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,30975 g
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,1165 g
dH ₂ O	100 mL

Tafla 11: 0,1 M TRIS buffer sem notaður var í blöndun DTNB fyrir virknimælingar á AChE (2.5.2).

Efni	Magn
TRIZMA BASE	1,211 g
dH ₂ O	100 mL

3 Lausnir fyrir ensím virknimælingar

3.1 AChE

Tafla 12: Blöndun 0,01 M DTNB lausnar fyrir AChE virknimælingar.

Efni	Magn
DTNB (5,5'-díþíóbis-2-dínítróbensóík sýra)	0,0198 g
0,1M TRIS buffer (pH 8,0)	5 mL

Tafla 13: Blöndun 0,1 M ACTC lausnar fyrir AChE virknimælingar.

Efni	Magn
ACTC (asetýlþiókólín jóðið)	0,0087 g
dH ₂ O	300 µL

Tafla 14: Blöndun hvarflausnar fyrir AChE virknimælingar ásamt blöndun viðmiðunarlausnar.

EFNI	HVARFLAUSN (µL)	VIÐMIÐUNARLAUSN (µL)
0,02 M fosfat buffer (pH 7,0)	1000	1030
DTNB	60	60
Sýni	30	-
Inkúbering við herbergishita í 5 mín		
ACTC	30	30
Heildarrúmmál:	1120	1120

3.2 GST

Tafla 15: Blöndun 10 mM GSH fyrir GST virknimælingar.

Efni	Magn
GSH (afoxað glútaþíón)	0,0062 g
dH₂O	2 mL

Tafla 16: Blöndun 60 mM CDNB fyrir GST virknimælingar.

Efni	Magn
CDNB (1-klóro-2,4-dínítróbensen)	0,061 g
EtOH (etanól)	5 mL

Tafla 17: Blöndun hvarflausnar fyrir GST virknimælingar ásamt blöndun viðmiðunarlausnar.

EFNI	HVARFLAUSN (µL)	VIÐMIÐUNARLAUSN (µL)
0,1 M K-fosfat buffer (pH 6,5)	1850	1900
CDNB	50	50
GSH	50	50
Sýni	50	-
Heildarrúmmál:	2000	2000

3.3 GPx

Tafla 18: Blöndun 40 mM GSH fyrir SeGPx og TGPx virknimælingar.

Efni	Magn
GSH (afoxað glútaþíón)	0,043 g
dH ₂ O	3,5 mL

Tafla 19: Blöndun 20mM NaN₃ fyrir SeGPx virknimælingar.

Efni	Magn
NaN ₃	0,0064 g
0,1 M K-fosfat buffer (pH 6,5)	5 mL

Tafla 20: Blöndun 2,4 mM NADPH fyrir SeGPx og TGPx virknimælingar.

Efni	Magn
NADPH	0,007 g
0,1 M K-fosfat buffer (pH 6,5)	3,5 mL

Tafla 21: Blöndun 40 U/mL GR fyrir SeGPx og TGPx virknimælingar.

Efni	Magn
GR (glútaþíón redúktasi)	26,7 µL
0,1 M K-fosfat buffer (pH 6,5)	823,3 µL

Tafla 22: Blöndun 20 mM H₂O₂ fyrir SeGPx virknimælingar.

Efni	Magn
H ₂ O ₂	10,2 µL
0,1 M K-fosfat buffer (pH 6,5)	5 mL

Tafla 23: Blöndun 40 mM CHP fyrir TGPx virknimælingar.

Efni	Magn
CHP (kúmen peroxíð)	30 µL
0,1 M K-fosfat buffer (pH 6,5)	4 mL

Tafla 24: Blöndun hvarflausnar fyrir SeGPx virknimælingar ásamt blöndun bakgrunnslausar (BLANK) og viðmiðunarlausnar.

EFNI	HVARFLAUSN (µL)	BLANK (µL)	VIÐMIÐUNARLAUSN (µL)
0,1 M K-fosfat buffer (pH 6,5)	400	1000	700
GSH	50	-	50
GR	50	-	50
NaN₃	50	-	50
NADPH	50	-	50
Sýni	300	-	-
Inkúbering í 10 mín			
H₂O₂	100	-	100
Heildarrúmmál:	1000	1000	1000

Tafla 25: Blöndun hvarflausnar fyrir TGPx virknimælingar ásamt blöndun bakgrunnslausnar (BLANK) og viðmiðunarlausnar.

EFNI	HVARFLAUSN (µL)	BLANK (µL)	VIÐMIÐUNARLAUSN (µL)
0,1 M K-fosfat buffer (pH 6,5)	450	1000	750
GSH	50	-	50
GR	50	-	50
NADPH	50	-	50
Sýni	300	-	-
Inkúbering í 10 mín			
CHP	100	-	100
Heildarrúmmál	1000	1000	1000

3.4 CAT

Tafla 26: Blöndun 60 mM H₂O₂ fyrir CAT virknimælingar.

Efni	Magn
H₂O₂	104 µL
0,1 M K-fosfat buffer (pH 6,5)	17 mL

Tafla 27: Blöndun hvarflausnar fyrir CAT virknimælingar ásamt blöndun viðmiðunarlausnar.

EFNI	HVARFLAUSN (µL)	VIÐMIÐUNARLAUSN (µL)
BioK-phos buffer (0,1 M)	1950	3000
H₂O₂	1000	-
Sýni	50	-
Heildarrúmmál:	3000	3000