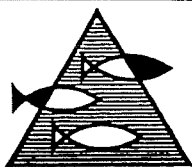


PROSJEKTRAPPORT



ISSN 0071-5638

HAVFORSKNINGSINSTITUTTET

MILJØ - RESSURS - HAVBRUK

Nordnesparken 2 Postboks 1870 5024 Bergen

Tlf.: 55 23 85 00 Fax: 55 23 85 31

Forskningsstasjonen

Austevoll

Matre

Flødevigen

Havbruksstasjon

Havbruksstasjon

4817 His

5392 Storebø

5198 Matredal

Tlf.: 37 01 05 80

Tlf.: 56 18 03 42

Tlf.: 56 36 60 40

Fax: 37 01 05 15

Fax: 56 18 03 98

Fax: 56 36 61 43

Distribusjon:

ÅPEN

HI-prosjektnr.:

11.03.1

Oppdragsgiver(e):

Nærings- og
energidepartementet

Oppdragsgivers referanse:

AKUP 741

Rapport:

FISKEN OG HAVET

NR. 9 - 1995

Tittel:

**EFFEKTER AV OLJE PÅ MARINE
ORGANISMER - SÆRLIG PÅ
FISKELARVENS FØRSTE NÆRINGSOPPTAK**

Senter:

Marint miljø

Seksjon:

Kjemisk oseanografi

Forfatter(e):

Clelia Booman, Frank Midtøy,
Anita Therese Smith, Kjell Westrheim og Lars Føyn

Antall sider, vedlegg inkl.:

142

Dato:

27.03.1995

Sammendrag:

Det rapporteres eksperimentelle data om effekter av vannløselige komponenter av råolje (WSF) på organismer fra Norskehavet og Barentshavet: voksen polartorsk, egg og larver av torsk, hoppekreps, krill og arktiske krepsdyr av slekten *Pharathemisto*. Rapporten inkluderer resultater fra akuttgiftighets-tester ved forholdsvis høye konsentrasjoner og subletale effekter (som ikke fører til øyeblikkelig død) ved så lave konsentrasjoner som det er realistisk å finne ved et oljeuhell.

Emneord - norsk:

1. Forurensning
2. Dyreplankton
3. Subletale effekter

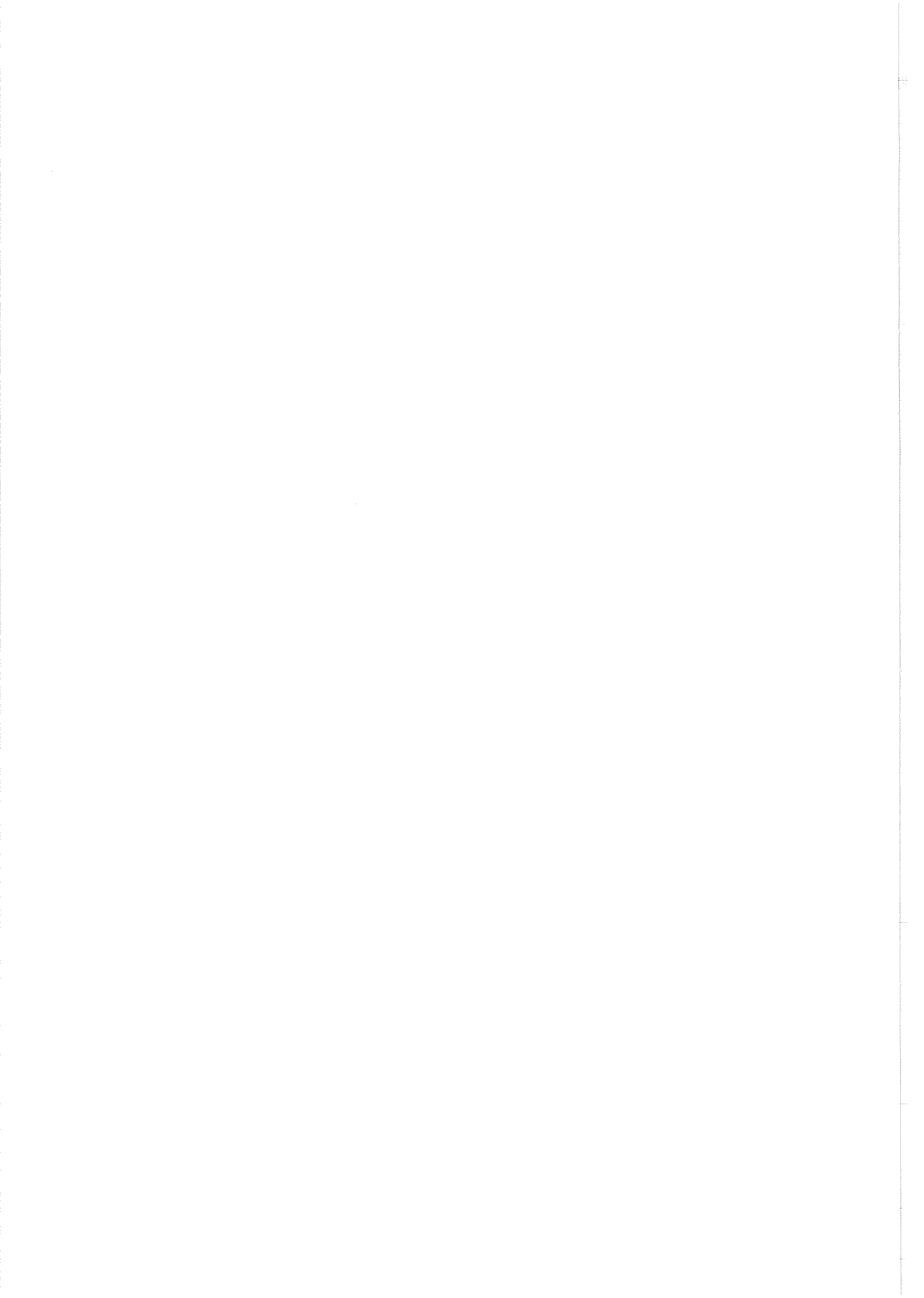
Emneord - engelsk:

1. Pollution
2. Zooplankton
3. Sublethal effects

Prosjektleder

Seksjonsleder

K 3431

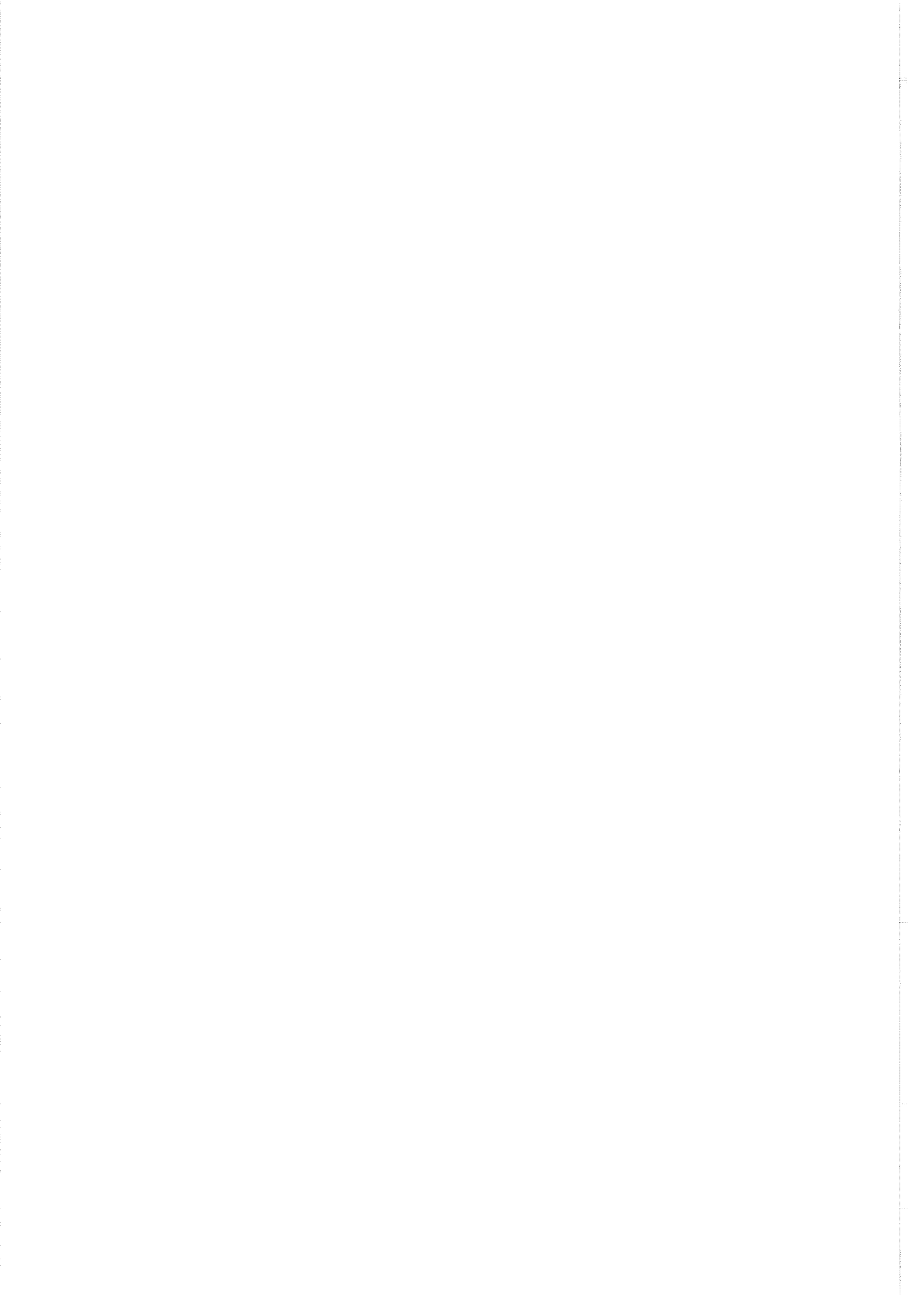


EFFEKTER AV OLJE PÅ MARINE ORGANISMER -
SÆRLIG PÅ FISKELARVENS FØRSTE NÆRINGSOPPTAK

*EFFECTS OF OIL ON MARINE ORGANISMS
WITH PARTICULAR REFERENCE TO FIRST FEEDING OF FISH LARVAE*

Av

Clelia Booman, Frank Midtøy, Anita Therese Smith,
Kjell Westrheim og Lars Føyn



FORORD

Petroleumsloven § 7 forutsetter at det skal gjennomføres konsekvensvurderinger før et område åpnes for oljeleting. Det daværende Olje- og energidepartement, nå Nærings- og energidepartementet, etablerte i 1985 en interdepartemental rådgivningsgruppe, AKUP (Arbeidsgruppen for KonsekvensUtredninger av Petroleumsvirksomheten), som initierte en rekke forskningsprosjekter for å bringe klarhet i spørsmål om blant annet oljens virkning i det marine miljø.

I forbindelse med spørsmål omkring oljens virkning spesielt på fiskeressursene ble det av Havforskningsinstituttet i første fase formulert et prosjekt med formål å gi svar på følgende spørsmål: Hvor stor må en fiskelarve være for å kunne unnvike en oljeforurensning og vil den gjøre det? Med betydelig støtte gjennom AKUP ble det etablert et biotestanlegg og igangsatt eksperimenter ved HI for å svare på disse spørsmålene. Resultatene fra de første undersøkelsene ble blant annet nyttet som grunnlag i arbeidet med den første konsekvensvurderingen som ble gjennomført i h.h. til Petroleumsloven i forbindelse med åpningen av Barentshavet Syd, Troms II, Troms III og sydlig del av Finnmark Vest. Med utgangspunkt i våre undersøkelser på egg og larver av torsk samt kunnskap om fordelingen av torskelarver i havet, ble det mulig å skissere en nordlig og østlig grense i Barentshavet hvorfra det ble antatt at en oljeforurensning ikke lengre ville skape muligheter for påvirkning på torskeyngelen.

De videreførte eksperimentene i AKUP - regi ved Havforskningsinstituttet har gått ut på å kunne definere kritiske arter, kritiske stadier (og dermed tidsrom for når et eventuelt oljesøl kan forventes å skade fiskeressursene), kritiske temperaturer og kritiske oljekonsentrasjoner. Våre forsøk har vist at torsk og sei er de av de viktigste fiskeartene som er mest ømfintlige for oljepåvirkning. Når vi nytter torsk i våre eksperimenter er dette fordi vi har gode kunnskaper i å holde egg, larver og voksen fisk i våre forsøkskar, men også fordi vi med god sannsynlighet kan nytte resultatene fra forsøkene med torsk til å tilkjenne de nedre grenser for påvirkning.

En viktig forutsetning for å kunne nytte resultatene fra laboratorie-eksperimentene i en naturlig sammenheng er at eksperimentene i størst mulig grad gjennomføres mest mulig realistisk, dvs. at konsentrasjoner, organismer og betingelser som temperatur og saltholdighet tilsvarer det som kan forventes å forekomme i naturen. Etter mange modifikasjoner på vårt biotest-anlegg mener vi at vi nå har et anlegg som tilfredsstillende oppfyller kravene til realistiske forsøksbetingelser.

Det vil imidlertid være nødvendig for en del forsøk med spesielle arter å gjennomføre undersøkelser i felten, dvs. slik at organismene blir testet rett etter fangst. Slike forsøk kan allikevel ikke erstatte forsøk under kontrollerte betingelser i laboratoriet, hvor spesielt kontrollen av de kjemiske komponentene det skal testes for virkningen av, er en forutsetning for et vellykket resultat.

Den foreliggende rapporten anser vi som avsluttende når det gjelder nødvendige vurderinger av råoljes effekter på våre viktigste fiskeressurser. Som det vil framgå av denne rapportens gjennomgang av tidligere arbeider og våre rapporterte eksperimenter utført gjennom de siste tre år i AKUP sammenheng, mener vi nå å ha tilstrekkelig grunnlag for å kunne vurdere et ukontrollert oljeutslipps virkninger, gitt at vi også har kunnskap om tilstedeværelsen av aktuelle arter og stadier i influensområdet.

Vi vil gjerne takke Torunn Eide og Bjørn Serigstad for innføring i driften av biotestanlegget og i forsøksoppsettet brukt på HI og Bjørn Serigstad også for faglige diskusjoner og lesing av manuskriptet . Arne Hassel, Berit Endresen og Signe Johannessen for hjelp med identifikasjon av dyreplankton og Arild Folkvord for hjelp med de statistiske analysene. Asbjørn Svardal for lesing av første manuskriptet. Fridtjof Mehlum og Polarinstituttet for deltakelse på toktene i Barentshavet og besetningen på "Lance" for et godt samarbeid om bord. Seksjon Teknisk Drift på HI for uvurderlig hjelp ved oppbygging og vedlikehold av biotestanlegget og til personalet på biblioteket ved HI for svært god hjelp med å skaffe til veie faglitteratur.

INNHOOLD

SAMMENDRAG	10
<i>SUMMARY</i>	12
1. INNLEDNING	14
2. MATERIALE OG METODER	17
2.1 Oljekomponenter og konsentrasjoner testet	17
2.1.1 Den vannløselige fraksjonen av råolje i biotestanlegget	18
2.1.2 Den vannløselige fraksjonen av råolje i lukket system	18
2.1.3 Kjemiske analyser og andre komponenter testet	20
2.2 Oversikt over forsøkene utført i 1993-1994	21
2.3 Parametere testet	23
2.3.1 Akutt toksisitetstester	23
2.3.2 Subletale effekter	24
2.3.2.1 Oksygenforbruk	24
2.3.2.2 Startfôringsuksess	26
2.3.2.3 Tilvekst	26
2.4 Forsøksorganismer og -oppsett	27
2.4.1 Polar torsk	28
2.4.2 Torsk	29
2.4.2.1 Oksygenforbruk	30
2.4.2.2 Startfôringsuksess	31
2.4.2.3 Tilvekst	31
2.4.3 Hoppekreps (Copepoda)	33
2.4.3.1 Akutt toksisitetstester	34
2.4.3.2 Oksygenforbruk	35
2.4.4 Krill (Euphausiacea)	36
2.4.5 Andre krepsdyr	37
2.5 Statistiske analyser og grafisk fremstilling	38

3. RESULTATER FRA FORSØK UTFØRT I 1992-1994	39
3.1 Polar torsk	39
3.2 Torsk	40
3.2.1 Oksygenforbruk	40
3.2.2 Startfôringsuksess	46
3.2.3 Tilvekst	47
3.3 Hoppekreps	49
3.3.1 Akutt toksisitetstester	49
3.3.2 Oksygenforbruk	51
3.4 Krill	62
3.5 Andre krepsdyr	66
4. FELTFORSØK UTFØRT I SAMARBEID MED STATOIL	68
4.1 Åter	70
4.1.1 Oksygenforbruk	70
4.1.2 Dødelighet	73
4.1.3 Manglende fluktrespons	77
4.2 Krill	78
4.2.1 Oksygenforbruk	78
4.2.2 Dødelighet	79
4.3 Andre krepsdyr	81
4.3.1 Oksygenforbruk	81
4.3.2 Dødelighet	84
5. TIDLIGERE UNDERSØKELSER PÅ HI	86
6. DISKUSJON OG KONKLUSJONER	93
6.1 Voksen fisk	93
6.2 Fiskeegg og -larver	94
6.2.1 Den vannløselige fraksjonen av råolje	94
6.2.2 Fenoler	96
6.2.3 om opptak av oljekomponenter i vevene	97
6.3 Hoppekreps (Copepoda)	98
6.4 Krill	99
6.5 Andre krepsdyr	100
6.6 Generelt	100
6.6.1 Om oljetyper testet	100
6.6.2 Om konsentrasjoner av oljekomponenter i sjøen	101
6.6.3 Om utvalg av organismegrupper og parametere	103

7. LITTERATUR 105

VEDLEGG A. OVERSIKT OVER FORSØKENE UTFØRT I 1993-1994

- A.1 Laboratorieforsøk utført i 1993
- A.2 Laboratorieforsøk utført i 1994
- A.3 Feltforsøk utført i 1993
- A.4 Feltforsøk utført i 1994
- A.5 Feltforsøk utført i 1993 i samarbeid med Statoil

VEDLEGG B. BESKRIVELSE AV BIOTESTANLEGGET

SAMMENDRAG

Denne rapporten presenterer resultatene fra felt- og laboratorieforsøk med eksponering av flere marine organismegrupper til den vannløselige fraksjonen av råolje der effektene av eksponeringen på forskjellige parametre er undersøkt. Konsentrasjonene av BTX-komponentene i testvannet ble bestemt vha. gasskromatografi (BTX betegner benzen, toluen, xylen og etylbensen, og utgjør ca. 80% av den vannløselige fraksjonen av råoljen).

Hovedvekten ble lagt på å gjennomføre laboratorieforsøk med egg og plommesecklarver av torsk i biotestanlegget. Organismene ble eksponert ved 10-70 ppb-BTX i opp til 24 timer. Dette er konsentrasjoner og eksponeringstid som ville være realistiske i en utslipp/uhell situasjon. Forsøkene var knyttet til studier av subletale effekter som avvik i oksygenforbruk ved plommeseckstadiet, samt til startfôringsuksess og tilvekst senere i larveutviklingen.

Det er noe variasjon i de kritiske konsentrasjonsverdiene mellom forsøk, og det tyder på at det er andre faktorer involvert. Når det dreier seg om subletale konsentrasjoner er det derfor mer hensiktsmessig å etablere kritiske konsentrasjonsområder istedenfor å forsøke å definere nøyaktige terskelkonsentrasjoner. Terskelen for effekt på oksygenforbruket hos plommesecklarver av torsk ligger i et konsentrasjonsområde fra 20 til 80 ppb-BTX av WSF ved ett døgns eksponering. Det kritiske konsentrasjonsområdet for effekt på larvenes første fødeopptak ville være noe høyere. Fenoler (500 ppb) ser ut til å gi effekt på larvenes oksygenforbruk kun ved eksponering i mer enn to døgn.

Voksen polartorsk reagerer på konsentrasjoner mellom 10 og 25 ppb-BTX ved å øke aktiviteten og oksygenforbruket. Voksen fisk ville dermed kunne detektere og forsøke å unngå områder allerede ved lave konsentrasjoner av vannløselige oljekomponenter.

Det ble utført flere forsøk med krepsdyrsarter som er viktige fôrorganismer for fisk, sjøfugler og sjøpattedyr. De fleste av disse forsøk ble utført som feltforsøk ved to tokt i Barentshavet. Det ble testet for effekter av konsentrasjoner opptil 7 ppm-BTX av WSF på organismenes oksygenforbruk, aktivitet og overlevelse.

Hoppekrepsene *Calanus finmarchicus*, *C. glacialis* og *C. hyperboreus* er forholdsvis resistente for oljeforurensning. Akutt-toksisitets tester med de to første artene viste at de tåler konsentrasjoner som er minst 6 ganger høyere enn tidligere rapporterte verdier for fiskeegg og -larver. 24 timer LC₅₀ er ca. 6 ppm-BTX av WSF for disse artene mot 0,1-1 ppm WSF for fiskelarver). Terskelen for effekt på oksygenforbruk ved eksponering i 24 timer er også høyere enn hos torskelarver (0,5 til 1 ppm for *C. finmarchicus* og *C. glacialis* mot 20 til 80 ppb for torseklarver).

Det kritiske konsentrasjonsområdet for krill og større krepsdyr av slekten *Parathemisto* (Amphipoda) ligger mellom de for hoppekrepsene og plommesekkklarver av torsk.

Hovedkonklusjonen er at selv om effekten av eksponering for den vannløselige fraksjonen av råoljen varierer med art, stadie og temperatur, ville denne effekten være marginal ved de konsentrasjoner som er målt etter flere oljeuhell. Fiskeegg og -larver kunne imidlertid bli utsatt for skadelige doser av disse komponenter i polare områder pga. den lavere fordampningsraten eller når dispergeringsmidler blir brukt. Vi må også ta forbehold i at en vet lite om langtidseffekter (fra over 3 uker og inntil flere år eller generasjoner) av oljeeksponering på disse organismer.

Våre resultater bekrefter at de tidlige stadier av marin fisk er blant de organismer som er mest sårbare for oljeforurensning. Sannsynligvis gjelder det også i møte med andre kjemikalier og vi anser bruken av fiskelarver som testorganismer å gi et bedre beslutningsgrunnlag enn de mer utbredte toksisitets tester som utføres med hardføre laboratorieorganismer som hoppekrepsen *Acartia tonsa* eller mikroalgen *Skeletonema costatum*.

SUMMARY

This report presents results from field and laboratory experiments on exposure of different groups of marine organisms to the water soluble fraction of crude oil. The effects of exposure on different parameters were investigated. BTX concentrations in the test water were determined by gas chromatography (BTX stands for benzene, toluene, xylene and ethylbenzene, which constitutes approx. 80% of the water soluble fraction of crude oil).

Experiments with egg and yolk-sac larvae of cod were conducted in a bioassay laboratory, where the organisms were exposed to 10-70 ppb-BTX during up to 24 hours. These are concentrations and exposure periods that would be realistic in an oil spill situation. The experiments were designed to reveal eventual sublethal effects such as deviations in oxygen consumption in the yolk-sac stage as well as start feeding success and growth later on in the larval development.

There is some variation in the critical concentration values among experiments, and there are probably other factors involved. When dealing with sublethal concentrations it is thus more appropriate to establish critical concentration ranges rather than trying to define accurate threshold concentrations. The threshold for effect on oxygen consumption of yolk-sac larvae of cod lies within a concentration range from 20 to 80 ppb-BTX of WSF for a one-day exposure period. The critical concentration range for effect on larval first feeding would be somewhat higher. Phenols at a concentration of 500 ppb seem to affect larval oxygen consumption only after an exposure period longer than two days.

Adult arctic cod react to concentrations between 10 and 25 ppb-BTX with an increase in activity and oxygen consumption. Adult fish would thus be able to detect and try to avoid areas already at low concentrations of water soluble components.

Several experiments were performed with crustacean species that are important prey for fish, and for marine birds and mammals. Most of these experiments were performed as field experiments in the Barents Sea. The effects of concentrations up to 7 ppm-BTX of WSF on the oxygen consumption, activity and survival of the organisms were tested.

The copepods *Calanus finmarchicus*, *C. glacialis* and *C. hyperboreus* are relatively resistant to oil pollution. Acute toxicity tests with the first two species showed that they tolerate concentrations at least 6 times higher than earlier reported values for fish eggs and larvae. 24 hour LC₅₀ is approximately 6 ppm-BTX of WSF for these two species vs. 0.1-1 ppm WSF for fish larvae). The critical concentration range for effect of a 24 hour exposure period on oxygen consumption is also higher than for cod larvae (0.5 to 1 ppm vs. 20 to 80 ppb BTX of WSF).

The critical concentration ranges for krill and larger crustaceans of genus *Parathemisto* (Amphipoda) lie between those for copepods and yolk-sac larvae of cod.

The main conclusion is that even though the effects of exposure to the water soluble fraction of crude oil vary with the species, developmental stage and temperature, those effects would be negligible within the concentration ranges determined after several accidental oil spills. Fish eggs and larvae could however be exposed to harmful doses of these components in polar areas because of the low evaporation rate or as a consequence of the use of dispersants. Little is known however on eventual long time effects (from over 3 weeks and up to several years or generations) of oil exposure on these organisms.

Our results confirm that the early stages of marine fish are among the organisms that are most vulnerable to oil pollution. This is probably true also for other chemicals and we consider the use of fish larvae as test organisms to provide a better tool in decision making than the more common toxicity tests that are performed with rather hardwired laboratory organisms such as the copepod *Acartia tonsa* or the microalga *Skeletonema costatum*.

1. INNLEDNING

Råolje er en blanding av flere tusen organiske komponenter, hovedsakelig hydrokarboner, men sammensetningen kan variere mye fra felt til felt. Egenvekten er vanligvis lavere enn 1,0 og vannløseligheten er forskjellig for de forskjellige komponentene i råoljen (GESAMP 1993). Dvs. at når en råolje blir utløst ved havoverflaten, vil en fraksjon løses ut i vannet. Denne fraksjonen vil ha en annen sammensetning enn den opprinnelige råoljen. Den vil være anrikt med de mer vannløselige lavmolekylære alifatiske og aromatiske komponentene (SHIU et al. 1990). Selv om mengdene olje som løses i vannet vanligvis er små i forhold til hele oljemassen, er denne fraksjonen ansvarlig for en viktig del av oljens giftighet ovenfor akvatiske organismer (SHIU et al. 1990). Konsentrasjonen av dispergert olje i utslipp av produsert vann i offshore installasjoner reduseres vha. oljeseparatorer slik at den ikke overstiger den pålagte maksimumsverdien (40 mg/liter). Imidlertid blir produsert vann ikke rensset for oppløste komponenter (ANON. 1993a).

I våre forsøk brukte vi hovedsakelig den vannløselige fraksjonen av råolje (water soluble fraction, WSF). Mesteparten av forsøkene ble utført med Veslefrikk råolje (WSF-V). Tidligere forsøk tydet på at denne er giftigere enn f. eks. Gullfaks råolje ved samme konsentrasjon av BTX-komponentene (benzen, toluen og xylener), og at det derfor måtte være andre komponenter enn de nevnte som spilte en rolle i den totale giftigheten (SERIGSTAD 1991). Akutte toksisitetstester med bakterier (Microtox -tester) har vist at toksisiteten i et kunstig laget produksjonsvann hovedsakelig skyldes den aromatiske fraksjonen og fenolinnholdet (JOHNSEN et al. 1994). Vi har derfor foretatt endel tester med torskelarver og hoppekreps i biotestanlegget med forskjellige konsentrasjoner fenoler i tillegg til WSF-V og kontroll- (ikke eksponerte) grupper.

Torskeegg og -larver er fortsatt nyttet som modellorganisme i våre biotestforsøk. Begrunnelsen for dette er både den viktige rollen torsk spiller i Norges fiskeri, og fordi tidligere forsøk med andre arter har vist at torsk er blant de fiskeartene som er mest ømfintlige for oljeforurensning (SERIGSTAD 1988, 1991). I tillegg har vi på HI god erfaring og rutine med behandling av torskeegg og -larver.

I løpet av 1993 ble det også gjennomført flere laboratorieforsøk med raudåte, *Calanus finmarchicus*. Raudåten er et viktig ledd i den marine næringskjede i Nordsjøen, Norskehavet og i Barentshavet. I alle disse områder, er raudåta en av de viktigste fôrorganismer både for yngel- og voksenstadier av økonomisk viktige fiskeslag. Også for endel andre organismer i økosystemet har raudåten i forskjellige utviklingsstadier en helt sentral betydning.

I 1994 ble det utført laboratorieforsøk med "storkrill", *Meganyctiphanes norvegica*. Krill er også en viktig fôrorganisme for fisk, og representerer et vesentlig bindeledd i den marine næringskjede mellom de små plankton artene og større organismer som fisk og sjøpattedyr.

I tillegg til kontrollerte forsøk med torskeegg og -larver, raudåte og krill i biotestanlegget ved HI, ble det foretatt en rekke feltforsøk gjennom deltakelse på to av Polarinstituttets tokt i Barentshavet henholdsvis i juli-august 1993 og i april-mai 1994. Vi testet tre hoppekreps (copepod) -arter, *Calanus finmarchicus*, *C. hyperboreus* og *C. glacialis*, samt krill (*Thysanoessa inermis* og *Meganyctiphanes norvegica*), *Parathemisto abyssorum* og *P. libellula* (Amphipoda, Hyperiidia) og organismer av gruppen Gammaridea (Amphipoda). Undersøkelsene ble gjennomført i samarbeid med NFR-stipendiat Anita Smith (Statoil), som også testet kombinasjoner av andre oljekomponenter.

I disse feltforsøkene har vi hovedsakelig målt avvik i organismenes oksygenforbruk. Forandringer i organismens oksygenforbruk er en konsekvens av forandringer enten i cellemetabolisme eller i organismens aktivitetsnivå. SERIGSTAD (1986) påviste en nedsettelse i oksygenforbruk hos plommeseckklarver av torsk eksponert til 50-280 ppb WSF. Med bakgrunn i forsøk utført i mørke og under narkose viste han at denne nedsettelsen i oksygenforbruk hovedsakelig skyldes en reduksjon i den muskulære aktiviteten.

I de første dagene etter klekking, får fiskelarvene næring fra plommesekken. Før plommemassen blir oppbrukt må larvene begynne å skaffe seg ekstern føde i form av levende byttedyr som de må fange aktivt. Diverse miljøfaktorer kan påvirke svømmeaktiviteten av plommeseckklarver (FRANK & LEGGETT 1982). En nedsettelse i svømmeevne i denne fasen kan resultere i nedsatt fødeopptak og dermed nedsatt vekst og/eller død (LAURENCE 1972, ROSENTHAL & HEMPEL 1970). I tillegg kan dødelighet også oppstå indirekte fordi sultende larver kan bli utsatt for økt predasjonspress (BOOMAN et al.1991).

I de siste 20 år er flere forskjellige parametre undersøkt som indikasjon på oljepåvirkning. Blant flere fysiologiske og anatomiske parametre (FYHN & TILSETH 1986) har oksygenforbruk vist seg å være en følsom metode som gir konsekvente resultater. Med denne metoden er det også mulig å måle et tilstrekkelig antall individer for slik å kunne skaffe grunnlag for en vurdering av skadevirkninger på populasjonsnivå. Redusert oksygenforbruk betyr mindre aktivitet hos den aktuelle organisme, og for fiskelarvenes første kritiske fase idet plommesekken er i ferd med å bli brukt opp, er det viktig at larven har aktivitet stor nok til å kunne fange tilstrekkelig med byttedyr for å kunne overleve og vokse.

Vi har i tillegg undersøkt startfôringsuksess hos torsk, dvs. torskelarvenes evne til å begynne å skaffe seg ekstern føde, samt vekst og overlevelse over en lengre periode. Vi gjennomførte også akutt toksisitetstester på copepodnauplier (første larvestadie) og -voksne. Copepodnauplier er fiskelarvenes viktigste føde i den kritiske fasen når plommemassen blir oppbrukt og larven må begynne å skaffe seg ekstern næring.

2. MATERIALE OG METODER

2.1 Oljekomponenter og konsentrasjoner testet

2.2 Oversikt over forsøkene utført i 1993-1994

2.3 Parametre testet

2.4 Forsøksorganismer og -oppsett

2.5 Statistiske analyser og grafisk fremstilling

2.1 Oljekomponenter og konsentrasjoner testet

Som i tidligere år har vi arbeidet hovedsakelig med den vannløselige fraksjonen av råoljen (WSF). Benzen, toluen og xylen (BTX-komponenter) utgjør vanligvis 80-90% av de totale hydrokarboner i WSF (WESTRHEIM & PALMORK 1986). Vi oppgir konsentrasjonene av våre løsninger til ppb ($\mu\text{g/liter}$) eller ppm (mg/liter) av BTX, selv om det også kan være andre komponenter f.eks. fenoler tilstede.

Fig. 2.1 viser det relative forholdet mellom BTX-komponentene i Veslefrikk- og Gullfaksråoljer. Generelt regner man at råolje inneholder 0,5- 2 % BTX. Tidligere forsøk har antydnet at WSF av Veslefrikkråoljen (WSF-V) var giftigere enn WSF av Gullfaksråoljen ved tilsvarende konsentrasjoner av BTX (SERIGSTAD 1991). I perioden 1992-1994 ble derfor mesteparten av forsøkene utført med WSF-Veslefrikk.

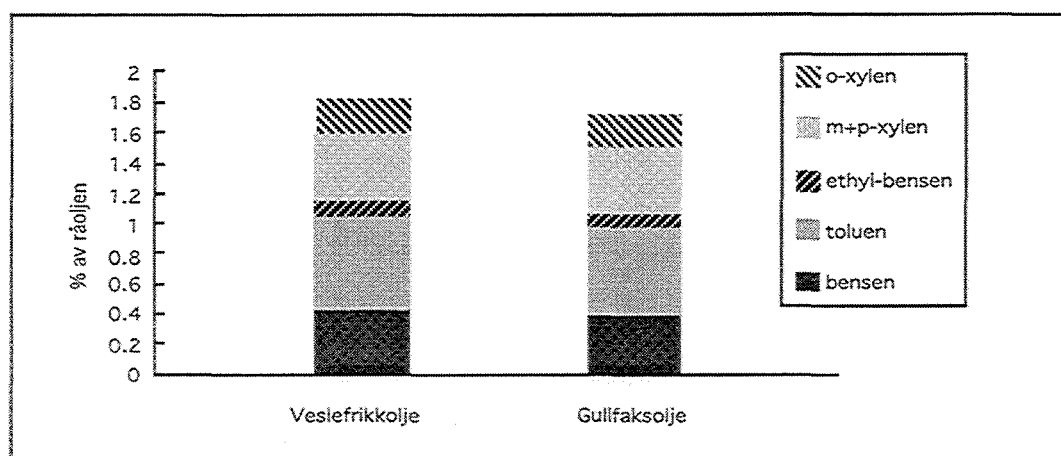


Fig. 2.1. Relativt innhold av BTX-komponenter i Veslefrikk- og i Gullfaks- råoljene.
(Relative contents of BTX (benzene, toluene and xylene) in Veslefrikk and Gullfaks crude oils)

2.1.1 Den vannløselige fraksjonen av råolje i biotestanlegget

Filtrert sjøvann blir pumpet inn i stamløsningstanken med en hastighet på 60-70 ml/min. Råoljen (1-2 ml/min) blir dosert inn i stamløsningstanken 15 cm under vannoverflaten. Vha. et røreverk blandes råoljen inn i vannet uten å dispergere. Et overløp sikrer at øjefilmen på toppen fornyes kontinuerlig. Stamløsningen pumpes ut og tynnes videre ut med sjøvann i et blandekammer. Disse test- eller arbeidsløsningene tempereres før de renner kontinuerlig inn i testakvariene. For en grundigere beskrivelse av innblandingsekvensen henvises det til vedlegg B (underkapittel 5 og figurene 6, 8 og 9).

2.1.2 Den vannløselige fraksjonen av råolje i lukket system

I feltforsøkene utført om bord på "Lance" i Barentshavet i 1993 laget vi stamløsninger av WSF av Veslefrikk råolje ut fra teoretiske innblandingsforhold. Analysene utført seinere på land viste at testkonsentrasjonene i disse feltforsøkene var endel høyere enn ønsket. I 1994 utførte vi derfor et innblandingsforsøk i lukket system for å relatere BTX-konsentrasjonene til faktorer som forholdet råolje:sjøvann og innrørings tid. På grunnlag av resultatene fra dette forsøket standardiserte vi en prosedyre for tillaging av stamløsning om bord på forskningsfartøy.

Det ble utført et forsøk med innblanding av to forskjellige råolje:sjøvann forhold og med to forskjellige innrørings tider. Innblandingen foregikk ved romtemperatur, og temperaturen i stamløsningen økte under innrøringen fra 10 til 17°C (fig. 2.2.).

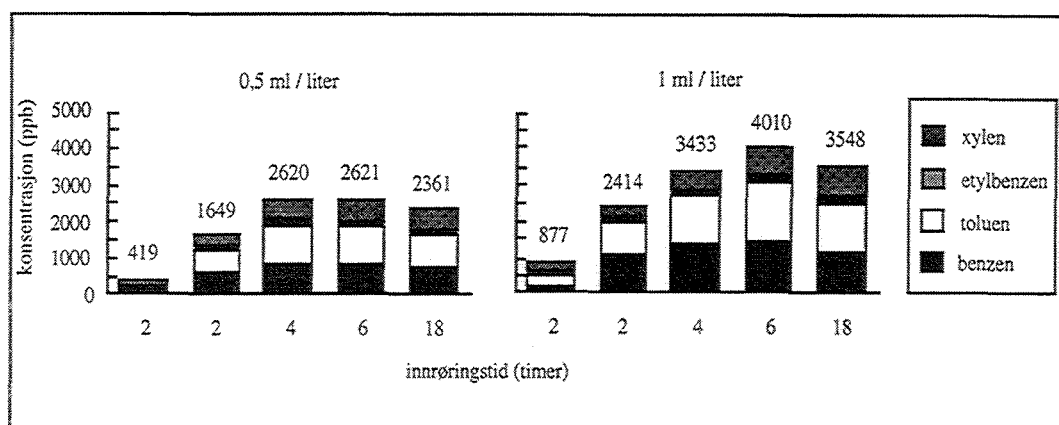


Fig. 2.2. Konsentrasjoner av BTX-komponenter i stamløsninger tillaget med Veslefrikk råolje i lukket system, uten temperaturregulering og med to forskjellige råolje:sjøvann forhold (0,5 og 1 ml råolje per liter sjøvann) ved forskjellige innrørings tider. (BTX-concentrations in stock solutions prepared with Veslefrikk crude oil in a closed system without temperature regulation at two different crude oil:seawater proportions (0.5 and 1 ml crude oil per liter seawater. x-axis indicates extent of the different mixing periods).

Fordi temperaturen er en viktig faktor i innblanding av olje i sjøvann, utførte vi et forsøk med innblanding under kontrollerte temperaturforhold ($10,7 \pm 0,5^\circ\text{C}$). Dette var omtrent samme temperature vi hadde i laboratoriet om bord på "Lance" (fig.2.3.).

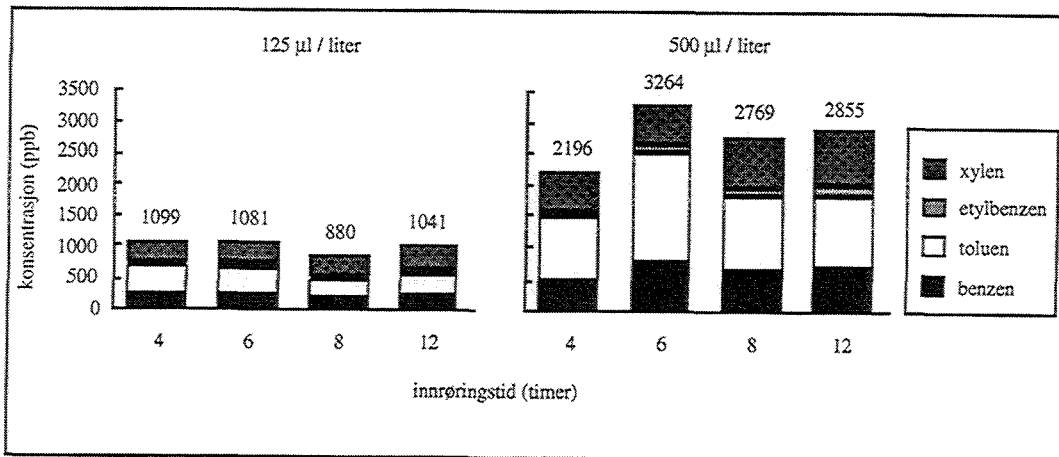


Fig. 2.3. Konsentrasjoner av BTX-komponenter i stamløsninger tillaget med Veslefrikk råolje i lukket system ved 10°C og med to forskjellige råolje:sjøvann forhold (125 og 500 µl råolje per liter sjøvann) ved forskjellige innrøringsstider.
(BTX-concentrations in stock solutions prepared with Veslefrikk crude oil in a closed system at 10°C with two different crude oil:seawater proportions (125 and 500 µl crude oil per liter seawater. x-axis indicates extension of the different mixing periods).

På bakgrunn av denne siste serien standardiserte vi en prosedyre for tillaging av stamløsning i lukket system. Prosedyren som ble anvendt i feltforsøkene i 1994 er følgende:

Fire liter filtrert sjøvann fylles i et 5 liters begerglass med 17 cm diameter. Deretter legges en magnet med glasskapsel oppi og begeret plasseres på en magnetrører. To milliliter råolje tilsettes forsiktig ved overflaten og begeret dekkes med Parafilm. Magnetrøreren startes på minimum hastighet og økes forsiktig slik at spissen på virvelen når ned til ca. 17 cm fra bunnen (ca. 2,5 cm fra den opprinnelige overflaten) og slik at det ikke kommer noen oljedråper ned i vannsøylen. Etter ca. 6 timer slås magnetrøreren av og ca. 10 min. senere kan vi ta ut stamløsning til analyse. Til uttak brukes et dobbelt rørsystem for å minimalisere kontakten med oljen på overflaten.

Som en del av standardiseringen av forsøkene, er det vesentlig å unngå emulsjondannelse, dvs. at det kommer dråper med ikke vannløselige komponenter inn i testvannet. Dette gjelder også for laboratorieforsøkene, og en eventuell tilstedeværelse av en slik emulsjon ville vises i gasskromatogrammene.

2.1.3 Kjemiske analyser og andre komponenter testet

Analysene av BTX-innhold i prøver av stamløsningene og testvannet med WSF-råolje ble foretatt på HI på gasskromatograf etter ekstraksjon med diklorometan. Prøvetaking, ekstraksjon og analyser er beskrevet av WESTRHEIM & PALMORK (1986). Denne metode ble modifisert ved at kvantifiseringen av BTX komponentene ble relatert til intern-standard n-propyllbenzen, som ble tilsatt prøvene før ekstraksjon. Det ble laget en flerpunkts kalibreringskurve basert på fortynnings serie av benzen, toluen, enthylbenzen og xylener. Det ble tilsatt lik mengde intern standard i fortynningsserien og prøvene.

Analysen av komponenter som kromatograferes etter xylener, referert til som "analytisk vindu" av WESTRHEIM & PALMORK (1986), fra orthoxylen til n-C₂₂-alkan, ble ikke utført. De dominerende komponenter her er C₃- og C₄-benzener, naftalen, C₁- til C₃-naftalener og fenoler. Disse kan utgjøre fra 10-20% av totalt diklorometan ekstraherbare oljehydrokarboner, TWSF (WESTRHEIM & PALMORK 1986).

Det ble også utført flere forsøk med fenol (tab.2.1.), naftalen, alifat og med blandinger av disse i forskjellige forhold (vedlegg A1 og A5). Prøver av testvannet med disse enkelte oljekomponenter ble analysert ved Statoil's forskningslaboratorium i Trondheim. Analysene av fenolinnholdet i testvannet viste ca. halvparten av de teoretiske konsentrasjonene. Dette bekrefter at det er vanskelig å utføre slike analyser på en tilfredstillende måte, og det forklarer hvorfor det er få tilgjengelige data om fenolkonsentrasjoner i felten.

Tabell 2.1. Komposisjon av fenolblandingen brukt i forsøkene.
(Composition of the phenol blend used in the experiments)

komponent	andel (%)
fenol	45
o-,p- og m-cresol	35
2,5 dimetylfenol	5
m- og p-etylfenol	10
o-isopropylfenol	1,5
o-n- og p-n- propylfenol	2
2,3,5 trimetylfenol	1

2.2 Oversikt over forsøkene utført i 1993-1994

Hovedparten av forsøkene ble foretatt som kontrollerte laboratorieforsøk i biotestanlegget på Havforskningsinstituttet. Anlegget er spesialbygd og sikrer stabile og kontrollerbare forhold m.h.t. vanntilførsel, temperatur og oljedosering (kontinuerlig tilførsel av oljeforurenset vann med ønsket konsentrasjon). Anlegget og dets drift er beskrevet i detalj som tillegg til denne rapporten, vedlegg B.

Hovedtrekkene i laboratorieforsøkene (LF) er sammenfattet i vedleggene A.1. og A.2. Forsøkene er nummerert kronologisk etter betegnelsen for forsøkstype og -år (feks. LF 93- 1).

Det var forutsatt i prosjektet at endel zooplanktonarter som er typiske fra Barentshavet skulle testes, men vi anså det meget vanskelig å frakte organismene til biotestanlegget på instituttet uten å forstyrre deres fysiologi dramatisk (forandringer i temperatur og lysforhold, vannkvalitet, sult). Etter invitasjon fra Polarinstituttet deltok vi på tokt i Barentshavet med M/S "Lance" i juli 1993 og i april-mai 1994. Toktene dekket et område sør og øst for Svalbard, ved Bjørnøya, ved Hopen og mot grensen til Russland ved 34°E.

Levende krepsdyr ble samlet ved hjelp av tre forskjellige redskapstyper: WP2, Isaac Kidd Midwater Trawl (IKMT) og Gulf III. WP2 (fig.2.4) er et planktonhov som trekkes vertikalt, og vi brukte den til å fange hovedsakelig hoppekreps. IKMT (fig. 2.6.) er en mindre trål med nettåpning på 4 x 3 meter som brukes til å fange bl.a. fiskelarver. Gulf III (fig. 2.5.) er et høyhastighetsredskap som vi brukte kun i 1994 . IKMT og Gulf III trekkes horisontalt og vi brukte dem til å fange hovedsakelig krill og amfipoder.

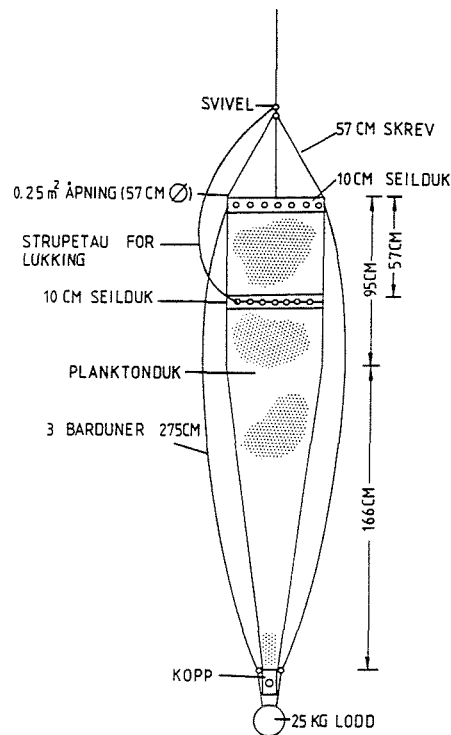
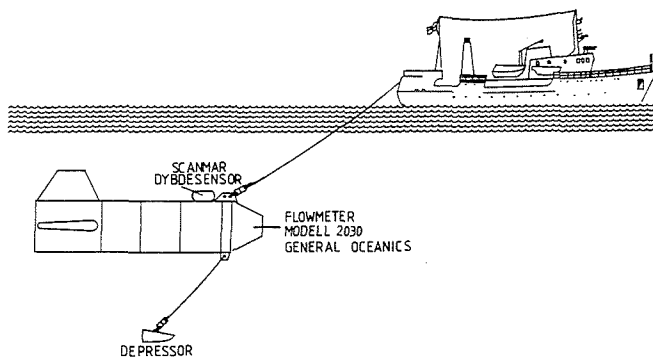


Fig. 2.4. Skisse over planktonhåvet av type WP2.
(Schematic view of the WP2 plankton net)



Etter fangsten og en viss akklimeringsperiode ble krepsdyrene oljeeksponert på laboratoriet om bord. Det ble tatt prøver av det oljeforurensede vannet som ble brukt i forsøkene for senere analyse.

Fig. 2.5. Skisse over riggingen av Gulf III
(Schematic view over the Gulf III set up)

Forsøksforholdene om bord var mindre stabile enn på biotestanlegget ved HI med hensyn til temperatur og vannkvalitet. I tillegg var det ikke en kontinuerlig tilførsel av nylaget oljeløsning, men nye arbeidsløsninger ble tillaget daglig. Forsøkene utført om bord blir i denne rapporten kalt feltforsøk (FF) i motsetning til laboratorieforsøkene (LF) som ble utført på biotestanlegget ved Havforskningsinstituttet.

Hovedtrekkene i feltforsøkene er sammenfattet i vedleggene A.3 og A.4.

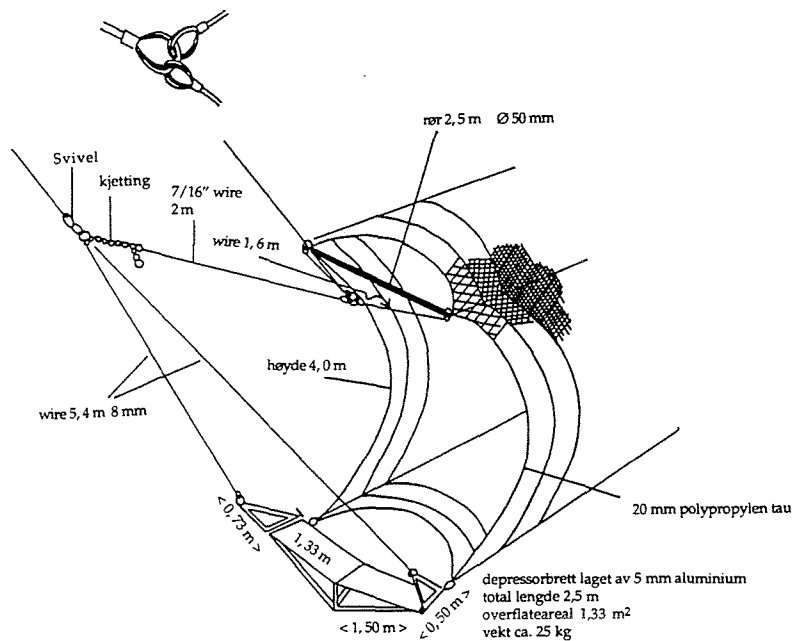


Fig. 2.6. Skisse over fremredelen av Isaac Kid Midwater Trawl.
Schematic view of the front part of the Isaac Kid Midwater Trawl.

2.3 Parametere testet

Organismer som blir eksponert for fremmede substanser kan bli påvirket på forskjellige måter og i forskjellig grad. De mest utbredte toksisitets tester fastsetter dødeligheten som påføres av en bestemt substans på en bestemt organismetype og under bestemte forhold (dose, eksponeringstid og -form, temperatur, o.s.v.). Disse akutt-toksisitets (LC_{50}) tester er noenlunde standardiserte og de fastsetter den konsentrasjon som gir 50% dødelighet etter en bestemt tid med kontinuerlig eksponering, vanligvis 24; 48 eller 96 timer. De lidelsene som ikke umiddelbart medfører død kalles subletale, og det er disse effektene vi har undersøkt på fiskeegg og -larver. Den akutte toksisiteten av flere av de komponenter vi har undersøkt er allerede fastsatt for forskjellige fiskearter og stadier, men det finnes mindre informasjon om deres effekter på f.eks. dyreplankton.

Vi har brukt følgende typer tester:

Akutt toksisitets tester	LC_{50}
---------------------------------	-----------------------------

Subletale effekter	Oksygenforbruk
	Startfôringsuksess
	Tilvekst

2.3.1 Akutt toksisitets tester

Når en skal undersøke subletale effekter er det viktig å vite i hvilket konsentrasjonsområde den akutte toksisiteten inntreffer. Vi har utført akutt toksisitets tester med noen dyreplanktonarter.

I hovedtrekkene fulgte vi utkastet av en internasjonal standard (ANON.1993 b) for å bestemme LC_{50} verdiene. Det brukes ofte standardiserte betegnelser som f.eks. "24 h - $LC(I)_{50}$ =" etterfulgt av en konsentrasjonsverdi som i dette eksempelet angir konsentrasjonen (Lethal Concentration) ved starten av testen (I), som forårsaker 50% dødelighet etter 24 timers eksponering.

I LC₅₀ testene benyttes stagnerende system, dvs. uten fornying av testvannet. I slike systemer kan sluttkonsentrasjonene av test-stoffene være lavere enn i starten fordi organismene kan ta opp og metabolisere flere komponenter og i tillegg kan det oppstå kjemiske reaksjoner. Dermed ville LC₅₀ undervurdere stoffets giftighet.

2.3.2 Subletale effekter

Forekomsten av såkalte subletale effekter kan tyde på at det vil oppstå sentidseffekter som kan øke dødeligheten enten direkte eller på en indirekte måte. I forsøkene våre har vi hovedsakelig arbeidet med konsentrasjoner som er godt under de letale, og vi har målt forskjellige parametre for å påvise eventuelle subletale effekter. Målet er å kunne fastsette effektterskler som kan benyttes til å angi et integrert konsentrasjonsområde omkring et utslipp/uhell, hvor organismene vil få skadelige effekter ved en oppholdstid på x antall timer.

2.3.2.1 Oksygenforbruk

DAVENPORT et al. (1979) påviste forandringer i oksygenforbruk av torskeegg og -larver eksponert for råoljeekstrakt som inneholdt høye konsentrasjoner av både aromatiske og alifatiske komponenter. ELDRIDGE et al. (1977) fant også at benzen kunne forårsake enten forhøyelse eller nedsettelse av oksygenforbruk hos stillehavs sildeegg og -larver. Av flere anatomiske og fysiologiske parametre undersøkt for torskeegg og -larver under "Shell prosjektet" (FHYN & TILSETH 1986; SERIGSTAD 1986) var avvik i oksygenforbruket den parameter som både var mest følsom og ga de mest konsekvente resultater. Siden da har denne metoden vært benyttet systematisk ved Havforskningsinstituttet for å kartlegge kritiske konsentrasjoner av den vannløselige fraksjonen av råolje for forskjellige livstadier av flere marine fiskearter (se kap.5 i denne rapporten). I forsøkene beskrevet i denne rapporten har vi også hovedsakelig brukt denne metoden for å kunne sammenligne resultatene.

Voksen polartorsk ble testet vha. åpen respirometri, hvor oksygenforbruket ble registrert kontinuerlig før og under eksponeringen. Alle de andre organismene ble testet ved lukket respirometri (SERIGSTAD 1987): Organismene ble satt i lukkede respirasjonskamre som var 10 ml- gasstette glassprøyter og videre inkubert over en tidsperiode (vanligvis ca. 24 timer). Deretter ble oksygeninnholdet i vannet bestemt vha. en Strathkelvin 781b oksygenmåler utstyrt med Strathkelvin 1302 eller Radiometer E5046 elektrode. Elektroden var montert i en Strathkelvin MC100 microcell koblet til et kjølebad som holdt temperaturen på elektroden og på prøven konstant. For å korrigere for eventuelle faktorer som bakteriell eller fotosyntetisk aktivitet eller oksydasjon i testvannet, ble det tatt fire blankprøver pr. vanntype/konsentrasjon.

I laboratorieforsøkene med lange eksponeringstider (24 timer og lengre) og i feltforsøkene, ble organismene overført til respirasjonskamrene med testvann. I laboratorieforsøkene med kortere eksponeringstider derimot, ble organismene eksponert i oljeforurenset vann i angitte tidsperioder og deretter skylt og overført til respirasjonskamrene med rent sjøvann. D.v.s. at i testene med korte eksponeringstider har vi målt oksygenopptaket i løpet av en eventuell "recovery"-periode i rent sjøvann. Unntaket er LF-94-2, test 3, hvor oksygenforbruket ble registrert for den 4 timers eksponeringsperioden.

Hver måling av oksygenforbruket hos torskelarver i våre forsøk er gjennomsnittsverdier for flere individer (for det meste tre), dvs. at hver parallell eller respirasjonskammer inneholdt tre individer. Dette ble gjort for å redusere variansen mellom parallellene, og for å få større utslag på oksygenmåleren. Larvene var av samme alder og størrelse og oksygenforbruket skulle derfor i prinsippet være likt. Det var vanligvis fire paralleller pr. behandling.

Målingene av oksygenforbruk som ble foretatt på raudåte og andre krepsdyr var individuelle, dvs. at det var en organisme pr. parallell fordi størrelsesforskjellene var betydelige. Det var seks til ti paralleller pr. behandling. I laboratorieforsøkene og i feltforsøkene utført i 1994 ble zooplanktonorganismene identifisert i lupe umiddelbart etter forsøkets avslutning og satt i individuelle, merkede konvolutter i tørkeskap i 24 timer. Organismene ble videre tørket i to timer rett før veiing i en Cahn 29 Automatic Electrobalance på HI. I feltforsøkene utført i 1993 ble organismene satt i kryorør og frosset ned i flytende nitrogen rett etter forsøkets avslutning. Senere på land ble organismene opptint, og videre identifisert, tørket og veiet som beskrevet over. I noen tilfeller hadde det oppstått fettlekkasje o.l. slik at det er større feil på vektdataene fra FF-93. I tillegg, var flere organismer i noen tilfeller frosset ned i felles kryorør, og det var da ikke mulig å fastslå forholdet oksygenforbruk pr. vektenhet.

2.3.2.2 Startfôringsuksess

En nedsettelse i oksygenopptak som konsekvens av en reduksjon i aktivitet kunne føre til at fiskelarvene ikke blir i stand til å begynne å fange byttedyr (zooplankton) ved slutten av plommesekkfasen. Dette er en spesielt kritisk periode for en fiskelarve, som ville dø om den ikke fikk tilstrekkelig ekstern føde innen noen få dager. For å fastslå om dette kan være tilfellet ved lave konsentrasjoner og en avgrenset eksponeringstid, har vi utført et startfôringsforsøk. I dette forsøket eksponerte vi torskelarver til WSF-V i et konsentrasjonsområde som hadde forårsaket en nedsettelse i oksygenforbruk i tidligere forsøk. Etter at eksponering var avsluttet, ble larvene overført til enheter som inneholdt byttedyr i tilstrekkelige og like konsentrasjoner. Startfôringsuksessen ble definert som andel larver som hadde spist og det ble bestemt ved å undersøke larvenes mageinnhold etter forsøkets slutt.

2.3.2.3 Tilvekst

Vi ville også undersøke om oljeeksponering på egg- eller plommesekkstadiet ved realistiske konsentrasjoner og eksponeringstid ville gi noen negative langtidseffekter. Vi har derfor føret larvene videre opp og estimert deres tilvekst og overlevelse etter 2-3 uker.

2.4 Forsøksorganismer og -oppsett

I denne seksjonen beskrives forsøksoppsettet individuelt for hvert enkelt forsøk, uten å gjenta det generelle som er fremstilt i seksjon 2.3. Det kan være nødvendig å bla tilbake i denne seksjonen når leseren gjennomgår resultatkapittelet, men for det meste vil det være tilstrekkelig å bruke oversiktstabellene i vedlegg A. For de forsøk som ikke er spesielt omtalt i denne seksjonen henvises det direkte til vedlegg A.

Denne seksjonen har samme struktur som resultatkapittelet. Forsøkene er organisert etter art, og innenfor hver art, etter parameter testet, i kronologisk rekkefølge etter følgende oppsett:

2.4.1 Polar torsk	Oksygenforbruk
--------------------------	-----------------------

2.4.2 Torsk	Oksygenforbruk
	Startfôringsuksess
	Tilvekst

2.4.3 Hoppekreps	Akutt toksisitets tester
	Oksygenforbruk

2.4.4 Krill	Oksygenforbruk
--------------------	-----------------------

2.4.5 Andre krepsdyr	Oksygenforbruk
-----------------------------	-----------------------

2.4.1 Polar torsk

LF 93-1

Polartorsk, *Boreogadus saida*, (fig. 2.7.) er utbredt i arktiske strøk rundt hele Nordkalotten, og den gyter, beiter og vokser opp i vann med temperatur ned mot og under 0°C. I Barentshavet har polartorsken vært en viktig kommersiell art, men fra tidlig i 1970-årene har det vært forholdsvis lite fiske. Polartorsken er spesielt viktig som føde for større fisk, sjøpattedyr og fugl. Den lever både i de frie vannmassene og nær bunnen og kan også være en viktig komponent av isfaunaen (SAKSHAUG et al. 1994).

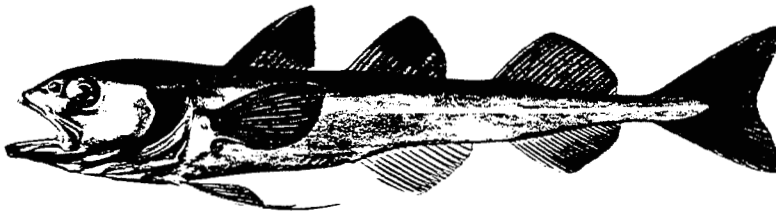


Fig. 2.7. Polartorsken
(The Arctic cod)

Om høsten er polartorsken utbredt over store deler av det sentrale og østlige Barentshavet og langs kysten på begge sider av Svalbard. Egg kan observeres fra januar til juni over store deler av det østlige Barentshavet. Yngelen finnes over store deler av det nordlige og østlige Barentshavet om høsten, særlig i de øverste 50 m, ved temperaturer mellom 0 og 4°C. Polartorsken blir kjønnsmoden når den er omtrent fire år gammel og 20 cm lang (SAKSHAUG et al. 1994).

Noe over 100 eksemplarer av voksen polartorsk ble skaffet til veie fra tokt med instituttets fartøy i Barentshavet. Hensikten var å foreta kunstig befruktning i gytesesongen 1993 og kjøre forsøk på egg og larvestadiene, men dette viste seg vanskelig å gjennomføre. Modningsprosessen forløp "normalt" til noen uker før gyting, deretter stoppet modningen opp og vi fikk ingen gyting. Den normale modningssyklusen ble antakelig forstyrret da fisken ble flyttet fra Barentshavet til Bergen, hvor både temperatur- og lysforhold er forskjellige. Vi gjennomførte imidlertid tester på de voksne polartorskene og registrerte oksygenforbruket kontinuerlig før, under og etter tilsetning av WSF-V. På Fiskerihøgskolen ved Universitetet i Tromsø lyktes det for første gang i 1994 å produsere noen larver av polartorsk. Vi forsøkte å anskaffe noen av disse larvene, men lykkedes ikke fordi antallet var begrenset og de inngikk i andre prosjekter.

Det ble imidlertid utført laboratorieforsøk med voksen polartorsk (20-80 gram) i laboratoriet på HI, hvor oksygenforbruket ble registrert kontinuerlig ved åpen respirometri som beskrevet av SERIGSTAD (1987) for voksen torsk. Fiskene ble sultet i ett døgn før de ble overført til respirasjonskammeret som var plassert i et 130 liters termostatert kar. Fiskene ble testet individuelt.

Eksponeringen ble utført ved å tilføre fem liter ren WSF-V stamløsning til karet. Oljetilførselen tok ca. 10 minutter og d.v.s. at fiskene ble eksponert til gradvis økende konsentrasjoner. Sluttkonsentrasjonene i bassenget lå mellom 10 og 70 ppb-BTX i de forskjellige tester eller delforsøk. Det individuelle oksygenforbruket ble registrert kontinuerlig vha. åpen respirometri (SERIGSTAD 1987) fra dagen før oljetilførselen og videre i ett døgn. Inntaksvannet på HI har en temperatur på ca. 8°C og fiskene hadde vært akklimatisert til denne temperaturen i flere måneder. Fem av testene ble derfor gjennomført ved 8°C. Det ble utført en test ved 5°C etter tre døgn akklimatisering til den nye temperaturen.

2.4.2 Torsk

Torsk er Norges viktigste fiskeressurs og samtidig en av de fiskearter som er mest ømfintlige for oljeforurensning (SERIGSTAD 1988, 1991). Torskeeggene er ca. 1,4 mm i diameter og de er planktoniske, dvs. at de flyter i vannmassen. Eggene klekker etter ca. 17 dager ved 5°C. De nyklekte larvene er ca. 4 mm lange og de får ernæring av plommemassen inntil de begynner å fange byttedyr ca. 4 dager senere (fig 2.8.).

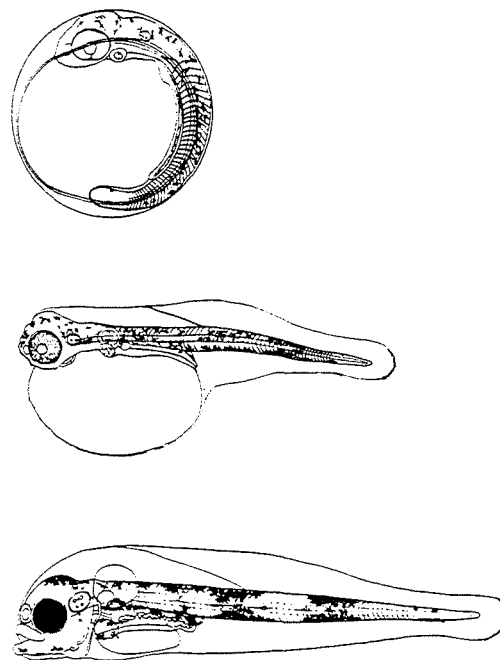


Fig. 2.8. Tidlige stadier av torsk: egg (a), nykleket larve (b), larve i startfôringsfasen (c) (fra Fridgeirsson 1978).

(Early life stages of cod: egg (a), newly hatched larva (b), larva at the onset of feeding (c).

2.4.2.1 Oksygenforbruk

I **LF 93-2** og **-3** ble det brukt skreilarver fra Lofoten. Eggene ble strøket fra en enkel hunn, kunstig befruktet, og seinere fraktet til laboratoriet og overført til biotestanlegget. Eksponeringen til WSF-V og til fenoler begynte dagen etter klekking. Oksygenforbruket i forhold til kontrollgruppene ble målt fra 2 timer etter eksponering og inntil 7 døgn.

I **LF 93-5** og **-6** ble det brukt en blandet gruppe av skreilarver. Eggene var naturlig gytt og befruktet i en gytemær på Lofilab. Eggene hadde samme alder, men de stammet fra forskjellige mødre, og var sannsynligvis mindre homogene i størrelse enn de gruppene som stammet fra en enkel hunn. Dette medførte stor spredning i oksygenforbruket i disse forsøkene og resultatene blir ikke rapportert.

LF 94-2. Eggene som ble brukt i dette forsøket stammet fra naturlig gyting av et enkelt par skrei på HI. Fiskene var opprinnelig fanget ved Bjørnøya. Testene 1 og 2 i dette forsøket ble utført som i 1993, d.v.s. at larvene ble eksponert i akvariene med gjennomstrømning av testvann i 4 timer og deretter plassert i respirasjonskamrene med rent vann i 24 timer, à 3 larver per kammer. D.v.s. at hvert datapunkt er gjennomsnittsverdien av oksygenforbruket for 3 larver i 24 timer etter avsluttet eksponering. I test 3 ble larvene derimot eksponert i 4 timer i selve respirasjonskammeret. For at forbruket skulle være målbart etter kun 4 timer, ble larvene plassert i grupper à 15 larver. Hver data representerer da gjennomsnitts-forbruket av 15 larver i 4 timer under eksponering i testvann uten gjennomstrømning.

2.4.2.2 Startfôringsuksess

LF 93-4 ble utført med nordnorsk kysttorsk som var naturlig gytt og befruktet i en gytemær på Fiskerihøgskolen i Tromsø. Larvene ble eksponert i 24 timer fra 2 dager etter klekking. Vi testet startfôringsuksess fem dager etter klekking, på det tidspunkt da larvene var på vei til å bruke opp plommemassen og var klare til å begynne å fange byttedyr. Eksponerte og kontrollarver ble overført til svarte polyethen bøtter (4 paralleller av hver) med 6 liter sjøvann og plassert i vannbad i et basseng ute i skyggen for å sikre et naturlig lysforhold. Sjøvannet inneholdt larver i naupliestadiet av copepoden *Acartia tonsa* fra monokultur (Terra Prosjektutvikling A/S, Bergen). Byttedyrtettheten var ca. 230 nauplier per liter og det var ca. 80 torskelarver per bøtte. Forsøket ble avsluttet 6 timer seinere da larvene ble konsentrert og fiksert for videre analyse. Under opparbeidelsen kunne vi også identifisere de larvene som var døde før forsøkets avslutning. Andelen av slike larver har vi kalt "håndterings dødelighet". De larver som var levende ved forsøkets avslutning ble senere dissekert individuelt for å undersøke mage/tarm innhold. Startfôringsuksessen er antall larver som hadde minst én nauplius i magen uttrykt som prosent av de levende.

2.4.2.3 Tilvekst

LF 93-7

Målet med dette forsøket var å undersøke om oljeeksponering på eggstadiet ville gi noe utslag på vekst og overlevelse senere i utviklingen. Larvene ble overført fra biotestanlegget til fôringsenhetene ved startfôringsstadiet. Fôringsenhetene var 150 liters svarte polyethen sekker. For å sikre en stabil temperatur ble disse vha. flyteringer plassert i et basseng ute. Siden temperaturen i bassenget var 8°C, og ikke kunne forandres, måtte larvene tempereres gradvis fra temperaturen i biotestanlegget (5°C) til temperaturen i bassenget. Det oppstod flere tekniske vansker, særlig under fôringsfasen, og forsøket måtte avsluttes og forkastes.

LF 93-8

Eggene som ble brukt i dette forsøket kom fra stamfisk på Fiskerihøgskolen i Tromsø som var lysmanipulert for å kunne gi egg sent i sesongen. Eggene var naturlig gytt og befruktet i gytemær. Forsøket var av samme type som LF 93-7, men det ble gjort flere tekniske forbedringer. Torsken var eksponert på eggstadiet og overført til fôringsenhetene rett før klekking. Organismene gikk hele tiden i 8°C vann, også i biotestanlegget, for å unngå ytterlig stress i en akklimatiseringsprosess. Fôringsenhetene i dette forsøk var 75 liters svarte polyethen dunker som fløt i bassenget ute v.h.a. flyteringer. Det ble satt ut 4 paralleller av eksponerte og 4 av kontrollarver à 300 egg hver. Plassering av parallellene i bassenget var randomisert. Tre av parallellene ble avsatt til beregning av overlevelsesprosenters mens den fjerde ble brukt til prøvetaking av larver to ganger i uken for å beregne vekst. Larvene ble føret med levende naturlig plankton oppsamlet fra Byfjorden v.h.a. et UNIK filter. Planktontetthetene i fôringsenhetene ble både sjekket og justert daglig for å sikre at fôringsforholdene var like i alle enhetene.

LF 94-3

I dette forsøket ble det brukt egg fra tidlig gyting av en lysmanipulert stamfiskgruppe ved Norges Fiskerihøgskole på universitetet i Tromsø. Eggene var naturlig gytt i pose om kvelden 23.5.94. Påfølgende morgen ble de sendt til HI med flyfrakt. Her ble eggene fordelt i to 33 liters testakvarier i biotestanlegget ved 8°C. Elleve dager etter utsetting i testakvariene var 50% av eggene klekket (50% klekking = dag 0).

På dag 2 ble 8 grupper med 250 larver talt opp individuelt og overført til kopper av planktonduk, som var plassert i et testakvarie med rent sjøvann. Larvene ble eksponert ved 23 ppb-BTX av WSF-Veslefrikk i 24 timer. Eksponeringen startet på dag 3, da 4 av koppene ble overført til et testakvarie med kontinuerlig tilførsel av WSF-vann og de andre 4 ble overført til et annet testakvarie med rent sjøvann.

Etter eksponeringen ble hver av de 8 gruppene overført til separate 75 liters oppdrettsenheter som ble plassert i biotestanlegget. Oppdrettsenhetene var de samme som vi brukte i LF 93-8, men denne gangen ble de plassert innendørs, inne i selve biotestanlegget. Der var temperaturen mye mer stabil (8°C ± 0,3°C) men der manglet naturlig belysning. Vi installerte en lyspære over hver oppdrettsenhet som ga en belysning på ca. 200 lux ved overflaten. Lyset var automatisk avkoblet i 5 timer om natten. Larvene ble føret med naturlig zooplankton som beskrevet for LF 93-8.

To ganger i uken ble det tatt prøver á 10 larver fra én og samme parallel fra både eksponert- og kontrollgruppen for vekstberegninger. De resterende 3 paralleller forble urørt for beregning av overlevelse ved forsøkets avslutning.

2.4.3 Hoppekreps (Copepoda)

Raudåten, *Calanus finmarchicus*, er 3-4 mm lang og er hovednæringen for viktige fiskearter og -yngel. Larvestadiene av raudåten er også hovednæringen for fiskelarvene. Denne arten har vid utbredelse og er ofte dominerende i dyreplanktonsamfunnet. Den er vanlig i hele Nord-Atlanteren og i atlanterhavsvann i Barentshavet, hvor den er den dominerende hoppekrepsen.

Ishavsåten, *Calanus glacialis*, er større enn raudåten og holder til i arktisk vann lengst i nord. I Polarfronten i Barentshavet finner man begge artene. Den største *Calanus* -arten, *C. hyperboreus*, er vanlig helt opp til overflaten ved iskanten i Barentshavet, men finnes også på dypere vann langs Norskekysten (SAKSHAUG et al. 1994). Fig. 2.9. viser disse tre artene og de relative størrelsene av de respektive voksenstadier.

Larveutvikling hos *Calanus* -artene foregår ved skallskifter gjennom seks naupliestadier og seks copepodittstadier, hvorav det siste består av de voksne (kjønnete) individene. Raudåten har bare én generasjon pr år i Barentshavet.

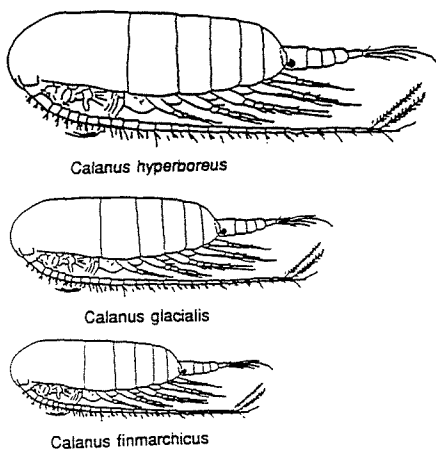


Fig. 2.9. De tre *Calanus* artene brukt i forsøkene og deres relative størrelse. (The three *Calanus* species used in the experiments and their relative size).

Om høsten og tidlig på vinteren er raudåten som regel på dypt vann, i Barentshavet vil det si 200-300 m dyp. Her overlever den hovedsakelig som copepodittstadium IV og V inntil våren, da den modner og gyter (CVI) nærmere overflaten. En ny generasjon oppstår i løpet av våren og sommeren. I tillegg til den årlige migrasjonen utfører raudåten vertikale døgnvandring og om dagen står den noe dypere i sjøen enn om natten. I Barentshavet er døgnvandringene mest utpreget om våren og høsten når forskjellen mellom natt og dag er størst (SAKSHAUG et al, 1994).

2.4.3.1 Akutt toksisitets tester

FF 94 -1; -3 og -12

Det ble utført tre LC₅₀ forsøk med voksne- og siste yngelstadiet (CVI og CV) av *Calanus finmarchicus* og *C. glacialis* ved konsentrasjoner mellom under 0,01 ppm og opp til 7 ppm-BTX. I hvert forsøk ble det brukt ren stamløsning for den høyeste testkonsentrasjonen. Testløsningene med lavere konsentrasjon ble tillaget ved å tynne ut stamløsning. Det ble tatt oljeprøve kun fra stamløsning og verdiene på arbeidsløsningen er beregnet ut i fra disse.

To 120 ml BOD-glass (med gasstett lokk) ble fylt med hver testkonsentrasjon. Deretter ble 5 organismer tilført glassene vha. et glassrør for å minimalisere både håndtering og videre fortynning av testløsningene.

Glassene ble plassert i vannbad på laboratoriet om bord i M/S "Lance" ved 4°C. Etter 24 timer ble ett glass for hver konsentrasjon tømt og organismene identifisert og talt i lupen, og så det samme med hvert andre glass etter 48 timer.

FF 94 -5; -6 og -8

I ett tilfelle oppstod det spontant gyting av *Calanus sp* på laboratoriet om bord. En kunne ikke artsbestemme naupliene, men ut ifra artssammensetningen av kjønnsmodne *Calanus* i oppbevaringskaret, var de enten *C. glacialis*, *C. finmarchicus* eller en sammensetning av begge.

Det ble utført 3 forsøk ved konsentrasjoner mellom 0,3 og 5,6 ppm-BTX. Det ble brukt samme type glass og forsøkene ble utført på samme måte som forsøkene med voksne *Calanus*, bortsett for at organismene ble talt i ettetid. Det var mellom 40 og 130 individer i hvert glass.

2.4.3.2 Oksygenforbruk

Calanus finmarchicus

LF 93-9

Raudåten, *Calanus finmarchicus*, som ble brukt i dette forsøk ble fanget i Raunefjorden sør for Bergen. Vi brukte planktonhov av type WP, operert fra forskningsfartøyet "Hans Brattström" fra Universitetet i Bergen. Planktonfangsten ble overført til biotestanlegget og fordi de inneholdt forskjellige arter og stadier måtte vi sortere raudåtene individuelt. Eksponeringene startet alltid minst ett døgn etter sorteringen for å minimalisere eventuelle håndteringseffekter. Raudåten ble eksponert til to forskjellige konsentrasjoner av fenoler (100 og 1000 ppb) og til WSF-V i flere BTX-konsentrasjoner (ca. 10 til 600 ppb). Det ble registrert oksygenforbruk og overlevelse av de eksponerte- og kontrollgruppene. Oksygenforbruk ble målt etter 1, 2 og 5 døgn kontinuerlig eksponering. Etter oksygenmålingene ble organismene undersøkt med stereomikroskop for å bestemme livstadiet og seinere tørket og veiet for å kunne relatere oksygenforbruk til individuell vekt. Hovedparten av raudåtene var i stadiet copepodit 5 (CV), som er det stadiet som vandrer ned i vannmassene for å overvintre. Noen av individene var kjønnsmodne (CVI, hanner og hunner) og ville antagelig dø før vinteren.

FF 93-3 og FF 93-4

I disse forsøkene ble *C. finmarchicus* (CV) eksponert henholdsvis til WSF-V ved 900 og 1800 ppb-BTX og til WSF-G ved 700 og 1300 ppb-BTX i 24 timer. Oksygenforbruket ble ikke relatert til kroppsvekten og det var ikke noen klare tendenser i det totale oksygenforbruket per organisme.

2.4.4 Krill (Euphausiacea)

Det finnes flere arter krill i Norskehavet og i Barentshavet. Av de to artene vi testet, er *Meganyctiphanes norvegica* (storkrill) fremtredende i sørlige strøk (fig. 2.10.a), mens *Thysanoessa inermis* (småkrill) er en arktisk-boreal art og er den dominerende krillarten i Barentshavet (fig. 2.10.b).

Voksen krill foretar daglige vertikale vandring. De står på dypt vann, ofte nær bunnen, om dagen og kommer opp til overflaten om natten. Den daglige vertikale vandring på 100-300 m er vanlig og kan tilbakelegges på 2-3 timer. I november-desember holder krillen seg stort sett dypere enn 100 m døgnet rundt.

Krillen er en viktig del av føden til ungfisk av mange fiskeslag i Barentshavet. Krillen hadde også stor betydning for voksne torsk i de årene loddebestanden var på sitt minste. Krill spises også av sjøfugl, sel og hval (SAKSHAUG et al. 1994).

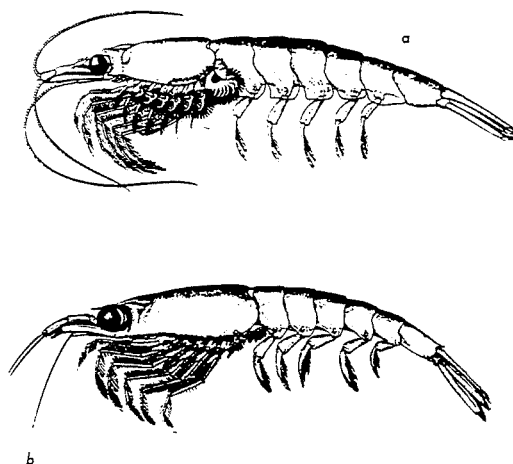


Fig. 2.10. Krill-artene brukt i forsøkene: *Meganyctiphanes norvegica* (a) og *Thysanoessa inermis* (b) (fra Sars 1890).
(The krill species used in the experiments: *Meganyctiphanes norvegica* (a) og *Thysanoessa inermis* (b).

Meganyctiphanes norvegica

LF 94-1

I dette forsøk brukte vi krill av arten *Meganyctiphanes norvegica*, fanget den 4.3.94 i Raunefjorden. Vi foretok fangsten om natten, når krillen befinner seg nærmest overflaten, vha. en trål av type mini Isaac Kid ombord i F/F "Hans Bratström". Krillen ble sammen med resten av planktonfangsten umiddelbart overført til akvarier på laboratoriet ved 5°C. Akvariene hadde kontinuerlig tilførsel av sjøvann med oppkonsentrert plankton i fraksjonen 80-180 µm som førsupplering.

I dette tilfellet brukte vi 120 ml BOD-flasker (gasstette glassflasker) som respirasjonskammer. Eksponeringen ble foretatt i selve respirasjonskammerne i 18 timer.

Det ene delforsøket startet 4 dager etter fangsten med eksponering til 135 ppb-BTX av WSF-V mens det andre startet 6 dager etter fangsten med eksponering til 46 og 84 ppb av de samme komponentene.

Thysanoessa inermis

Denne arten ble testet i feltforsøkene i Barentshavet i 1993 og i 1994 (se vedlegg A3 og A4).

2.4.5 Andre krepsdyr

I feltforsøkene ble det også brukt andre arter krepsdyr som forekom i forholdsvis store kvanta i planktontrekkene på toktene med M/S "Lance" i Barentshavet. *Parathemisto abyssorum* (fig. 2.11.) og *P. libellula* (Amphipoda, Hyperiidea) er henholdsvis opptil 20 og 40 mm lange (SARS 1890). Hyperiidene tilhører sub-isfaunaen, dvs. at de er pelagiske, men knyttet til isen som de kan utnytte som beiteområde. Samtidig er de byttedyr for dykkende sjøfugl, grønlandssel, ringsel og polartorsk (SAKSHAUG et al. 1994).

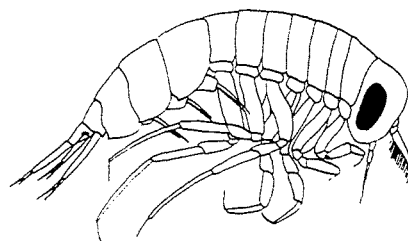


Fig. 2.11. Amfipoden *Parathemisto abyssorum*
(The amphipod *Parathemisto abyssorum*)

Det ble også testet andre Amphipoda, av orden Gammaridea, som ikke ble artsbestemt. Gammaridene tilhører den ekte isfaunaen: De lever på undersiden av isen, eller i vannfylte hulrom eller kanaler i isen og svømmer bare i korte perioder og over korte avstander (SAKSHAUG et al. 1994).

For hovedtrekkene i forsøksoppsettet henvises det til tabellene i vedlegg A3 og A4.

2.5 Statistiske analyser og grafisk fremstilling

Der ikke annet er oppgitt var p verdien av F-test $>0,05$, dvs. det ikke var påvist ulik varians mellom grupper.

Vi brukte en-veis ANOVA (variens analyse) eller t-test i forsøkene med oksygenforbruk hos torskelarver og i noen av forsøkene med dyreplankton. Figurene fra disse forsøk viser gjennomsnittsverdiene (Mean) \pm standardfeilen av gjennomsnittet (SE) og \pm standardavvik (SD). Datagruppene hvor variansen ikke var homogen ble analysert med den non parametriske Mann-Whitney U -test.

I de fleste forsøk med oksygenforbruk hos dyreplankton brukte vi ANCOVA (covarians analyse) på log-transformerte y -data. Regresjonslinjene som er tegnet i figurene fra disse forsøkene er log-tilpasset.

Vi brukte statistikkpakken "Statistica for the Mac 4.1" fra StatSoft med unntak for ANCOVA-analysene som vi måtte utføre på "Statistica for Windows 4.5".

3. RESULTATER FRA FORSØK UTFØRT I 1992-1994

3.1 Polar torsk	Oksygenforbruk
3.2 Torsk	3.2.1 Oksygenforbruk
	3.2.2 Startfôringsuksess
	3.2.3 Tilvekst
3.3 Hoppekreps	3.3.1 Akutt toksisitets tester
	3.3.2 Oksygenforbruk
3.4 Krill	Oksygenforbruk
3.5 Andre krepsdyr	Oksygenforbruk

3.1 Polar torsk

LF 93-1

Det ble registrert en økning i oksygenforbruk fra 3-5 minutter etter påbegynt oljetilførsel, d.v.s. før full konsentrasjonen var oppnådd. Etter ca. 15-20 minutter falt oksygenforbruket tilbake til det opprinnelige nivået. Dette reaksjonsmønsteret oppstod i testene utført med sluttkonsentrasjoner mellom 23 og 69 ppb-BTX ved 8°C. Det ble ikke registrert noen reaksjon ved eksponering for 11 ppb-BTX ved samme temperatur.

Det ble heller ikke påvist noen reaksjon i fisken fra testen som ble utført med 58 ppb-BTX ved 5°C.

3.2 Torsk

3.2.1 Oksygenforbruk

LF 93-2

Det ble ikke påvist noen signifikant forskjell i individuelt oksygenforbruk mellom torskelarver i plommesekkstadiet eksponert til 85 ppb-BTX av WSF-V i 2 døgn ved 5°C og kontrollgruppen ($p > 0,05$ 1-veis ANOVA; fig 3.1.).

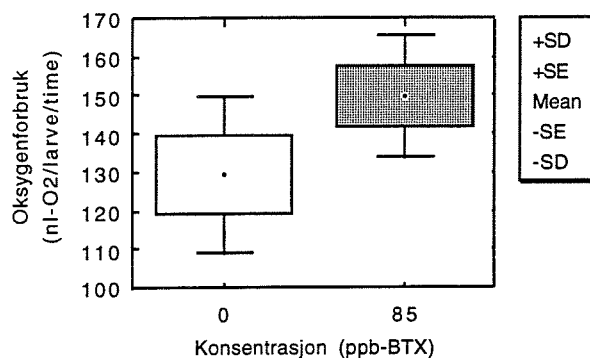


Fig. 3.1. Oksygenforbruk av torsk plommesekkklarver eksponert til 85 ppb-BTX av WSF-V i 2 døgn (skravert boks) i forhold til kontrollgruppen (hvit boks). Temperatur: 5°C.
(*Oxygen consumption of Atlantic cod yolk-sac larvae exposed to 85 ppb- of WSF-V during 2 days (shaded box) compared to the control group (empty box). Temperature: 5°C).*)

Det ble heller ikke påvist noen forskjell mellom gruppen eksponert til 85 ppb-BTX (± 10 ppb) i 5 døgn og kontrollgruppen ($p > 0,05$ 1-veis ANOVA; fig. 3.2.).

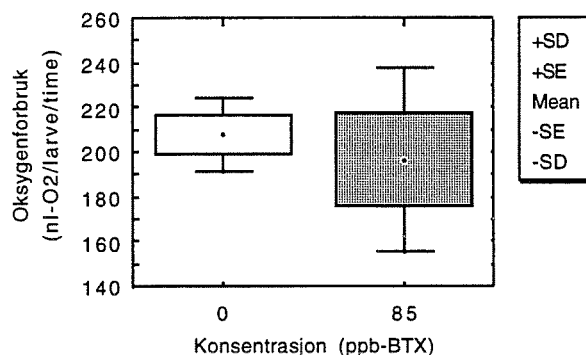


Fig. 3.2. Oksygenforbruk av torsk plommesekkklarver eksponert til 85±10 ppb-BTX av WSF-V i 5 døgn (skravert boks) i forhold til kontrollgruppen (hvit boks). Temperatur: 5°C.
(*Oxygen consumption of Atlantic cod yolk-sac larvae exposed to 85±10 ppb- of WSF-V during 5 days (shaded box) compared to the control group (empty box). Temperature: 5°C).*)

Det ble ikke påvist noen forskjell mellom gruppene eksponert til 25, 100 og 500 ppb-fenoler i 2 døgn i forhold til kontrollgruppen ($p > 0,05$ 1-veis ANOVA; fig. 3.3.).

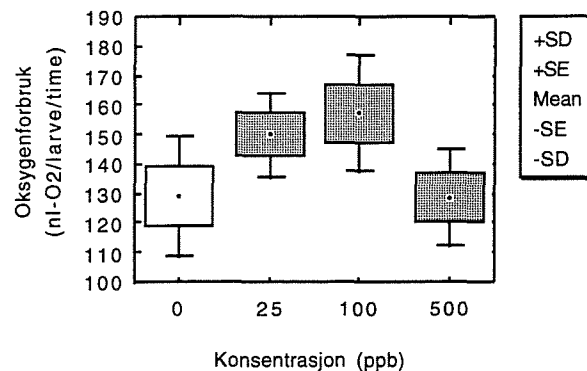


Fig. 3.3. Oksygenforbruk av torsk plommesecklarver eksponert til forskjellige konsentrasjoner av fenoler i 2 døgn (skraverte bokser) i forhold til kontrollgruppen (hvit boks). Temperatur: 5°C.
(*Oxygen consumption of Atlantic cod yolk-sac larvae exposed to different concentrations of phenol during 2 days (shaded boxes) compared to the control group (empty box). Temperature: 5°C.*)

Det ble påvist en reduksjon i oksygenforbruk i gruppene eksponert til henholdsvis 25 og 100 ppb-fenoler i 5 døgn i forhold til kontrollgruppen ($p < 0,05$; Tukey HSD-test), mens det ikke ble påvist noen forskjell mellom gruppen som ble eksponert til 500 ppb-fenoler og kontrollgruppen ($p > 0,05$; Tukey HSD-test; fig 3.4.). Disse resultatene er tilsynelatende motstridende, men det er mulig at det er andre fysiologiske mekanismer som utløser en økning i oksygenforbruk ved 500 ppb i forhold til 100 ppb. Noen av disse mekanismer kan være initiering av detoksifiseringsprosessen med høyere metabolske krav eller økning i aktivitet som fluktrespons.

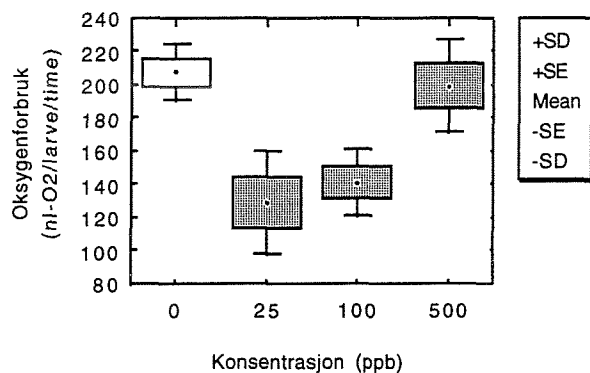


Fig. 3.4. Oksygenforbruk av torsk plommeseckklarver eksponert til forskjellige konsentrasjoner av fenoler i 5 døgn (skraverte bokser) i forhold til kontrollgruppen (hvit boks). Temperatur: 5°C.
(Oxygen consumption of Atlantic cod yolk-sac larvae exposed to different concentrations of phenol during 5 days (shaded boxes) compared to the control group (empty box). Temperature: 5°C).

LF 93-3

Det ble ikke påvist noen signifikant forskjell i oksygenforbruk mellom gruppen eksponert til 10 ppb-BTX av WSF-V i 4 timer og kontrollgruppen, mens gruppen eksponert til 30 ppb viste en reduksjon i samme parameter ($p < 0,05$; Tukey HSD-test; fig. 3.5.).

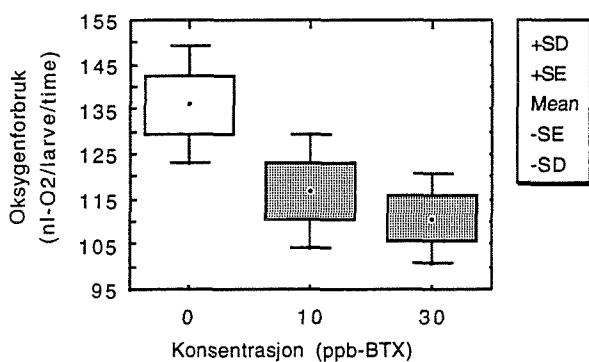


Fig. 3.5. Oksygenforbruk av torsk plommeseckklarver eksponert til 10 og 30 ppb-BTX av WSF-V i 4 timer (skraverte bokser) i forhold til kontrollgruppen (hvit boks). Temperatur: 5°C.
(Oxygen consumption of Atlantic cod yolk-sac larvae exposed to 10 and 30 ppb-BTX of WSF-V during 4 hours (shaded boxes) compared to the control group (empty box). Temperature: 5°C).

Det ble ikke påvist noen signifikant forskjell i oksygenforbruk mellom gruppene eksponert til 10 ppb-BTX av WSF-V i 2; 4 og 24 timer ($p > 0,05$; Tukey HSD-test) i forhold til kontrollgruppen, men gruppen eksponert i 24 timer hadde et høyere oksygenforbruk enn 4-timers gruppen ($p < 0,05$; Tukey HSD-test; fig. 3.6.).

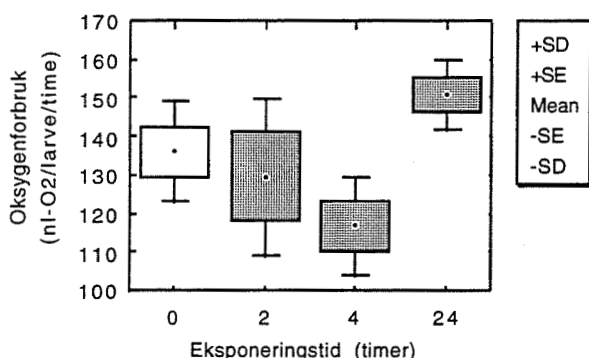


Fig. 3.6. Oksygenforbruk av torsk plommesekkklarver eksponert til 10 ppb-BTX av WSF-V i 2; 4 og 24 timer (skraverte bokser) i forhold til kontrollgruppen (hvit boks). Temperatur: 5°C.

(Oxygen consumption of Atlantic cod yolk-sac larvae exposed to 10 ppb-BTX of WSF-V during 2; 4 and 24 hours (shaded boxes) compared to the control group (empty box). Temperature: 5°C).

Det ble ikke påvist noen signifikant forskjell i oksygenforbruk mellom gruppene eksponert til 500 ppb fenoler i 2 og 4 timer i forhold til kontrollgruppen ($p > 0,05$; 1-veis ANOVA; fig. 3.7.).

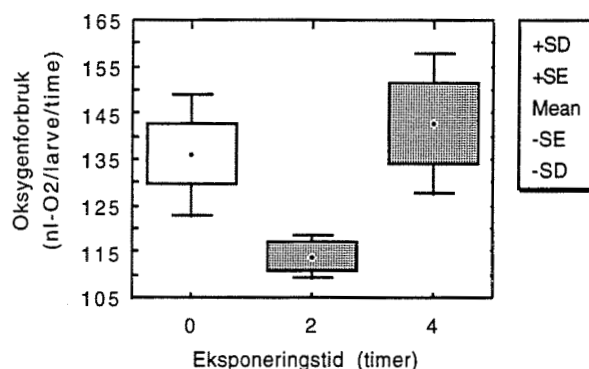


Fig. 3.7. Oksygenforbruk av torsk plommesekkklarver eksponert til 500 ppb fenoler i 2 og 4 timer (skraverte bokser) i forhold til kontrollgruppen (hvit boks). Temperatur: 5°C.

(Oxygen consumption of Atlantic cod yolk-sac larvae exposed to 500 ppb phenol during 2 and 4 hours (shaded boxes) compared to the control group (empty box). Temperature: 5°C).

LF 94-2

Test 1

Det var ikke noen signifikant forskjell i oksygenforbruk mellom gruppen eksponert til 25 ppb-BTX av WSF-V i 4 timer i forhold til kontrollgruppen ($p > 0,05$; Mann-Whitney U-test; fig. 3.8.).

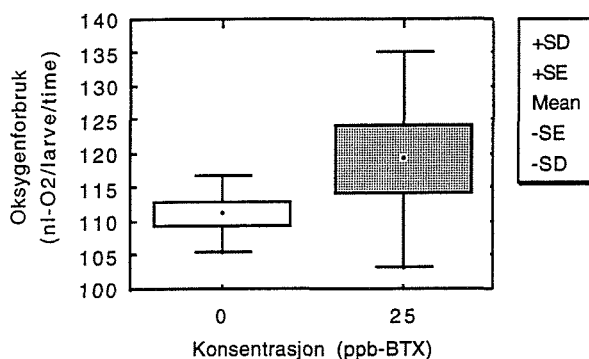


Fig. 3.8. Oksygenforbruk av torsk plommeseckklarlarve eksponert til 25 ppb-BTX av WSF-V i 4 timer (skravert boks) i forhold til kontrollgruppen (hvit boks). Temperatur: 5°C.
(*Oxygen consumption of Atlantic cod yolk-sac larvae exposed to 25 ppb-BTX of WSF-V during 4 hours (shaded box) compared to the control group (empty box). Temperature: 5°C.*)

Test 2.

Det ble ikke påvist noen signifikant forskjell mellom gruppen eksponert til 36 ppb-BTX av WSF-V i 4 timer i forhold til kontrollgruppen ($p > 0,05$; 1-veis ANOVA; fig. 3.9.).

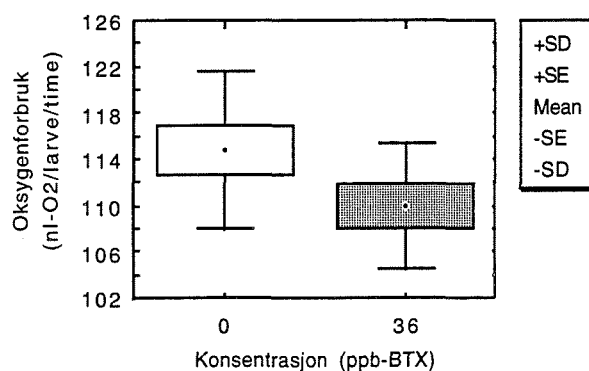


Fig. 3.9. Oksygenforbruk av torsk plommeseckklarlarve eksponert til 36 ppb-BTX av WSF-V i 4 timer (skravert boks) i forhold til kontrollgruppen (hvit boks). Temperatur: 5°C.
(*Oxygen consumption of Atlantic cod yolk-sac larvae exposed to 36 ppb-BTX of WSF-V during 4 hours (shaded box) compared to the control group (empty box). Temperature: 5°C.*)

Test 3.

Det ble registrert en reduksjon i oksygenforbruk i gruppen eksponert til 52 ppb i 4 timer i forhold til kontrollgruppen ($p < 0,05$; Tukey HSD-test; fig. 3.10).

Testene 1 og 2 (fig. 3.8 og 3.9) ble utført som i 1992, d.v.s. at larvene ble eksponert i akvariene med gjennomstrømning av testvann i 4 timer og deretter plassert i respirasjonskamrene med rent vann i 24 timer, à 3 larver per kammer. D.v.s. at hvert datapunkt er gjennomsnittsverdien av oksygenforbruket for 3 larver i 24 timer etter avsluttet eksponering. I test 3 ble larvene derimot eksponert i 4 timer i selve respirasjonskammeret. For at forbruket skulle være målbart etter kun 4 timer, ble larvene plassert i grupper à 15 larver. Hver data representerer da gjennomsnitt-forbruket av 15 larver i 4 timer under eksponering i testvann uten gjennomstrømning.

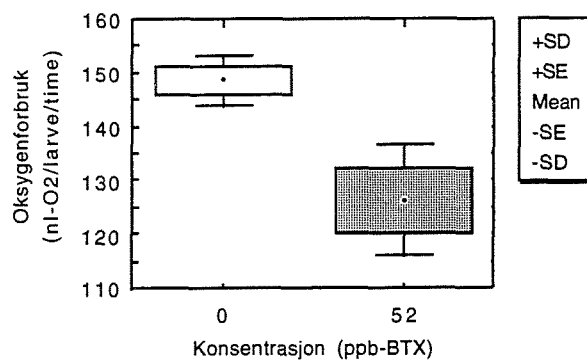


Fig. 3.10. Oksygenforbruk hos torsk plommeseckklarver eksponert til 52 ppb-BTX av WSF-V i 4 timer (skravert boks) i forhold til kontrollgruppen (hvit boks). Temperatur: 5°C.
(Oxygen consumption of Atlantic cod yolk-sac larvae exposed to 52 ppb-BTX of WSF-V during 4 hours (shaded box) compared to the control group (empty box). Temperature: 5°C).

3.2.2 Startfôringsuksess

LF 93-4

I dette forsøket ble larvene eksponert til 60 ppb-BTX av WSF-V i 24 timer som 2-3 dager gamle larver. På dag 5 etter klekking hadde larvene utviklet seg til stadiet der de begynner å fange byttedyr. Larvene ble da plassert i fôringsenheter med byttedyr og forsøket ble avsluttet 6 timer senere.

Det var ingen signifikant forskjell i startfôringsuksess (andel med mageinnhold) mellom eksponerte og kontrollarver ($p > 0,05$; t-test). Håndteringsdødeligheten var imidlertid lavere hos de eksponerte enn hos kontrollarvene ($p < 0,05$; t-test; fig. 3.11.).

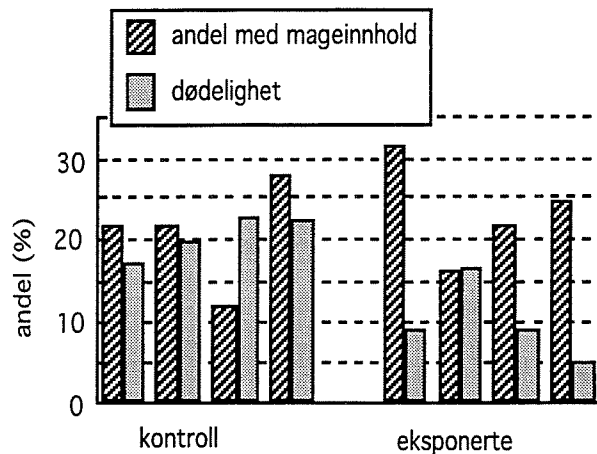


Fig. 3.11. Startfôringsuksess og dødelighet for torskelarver eksponert til 60 ppb-BTX av WSF-V i 24 timer fra dag 2 etter klekking. Fôring forløp i 6 timer på dag 5. Dødeligheten ble beregnet for fôringsperioden og antas å skyldes hovedsakelig håndtering. Temperatur: 5°C ved eksponering og 8°C ved startfôring. $n = \text{ca. } 80$ for hver parallell.

(First feeding succes and mortality of Atlantic cod yolk sac larvae exposed at 60 ppb-BTX of WSF-V during 24 hours since day 2 after hatch. Feeding occurred during 6 hours at day 5. Mortality was accounted for the feeding period and is probably mainly due to handling. Temperature: 5°C during the exposure period and 8°C during the feeding phase. $n = \text{aprox. } 80$ for each parallel.

3.2.3 Tilvekst

LF 93-8

I dette forsøket ble torskkeegg eksponert til 84 ppb-BTX av WSF-V i 24 timer og oppbevart på biotestanlegget til de klekket og fram til startfôringsstadiet. På dette tidspunkt ble de overført til større kar ute hvor de ble fôret med naturlig zooplankton (4 paralleller á 300 egg for hver gruppe). To ganger i uken ble det tatt prøver av én parallell både av eksponerte og av kontrollarver for å beregne vekst ($n=10$). For siste punkt i fig. 3.12 er $n = 58$ og 92 henholdsvis for de eksponerte- og kontrollarvene.

Det ble ikke påvist noen signifikant forskjell i vekst mellom den eksponerte og kontrollgruppen ($p > 0,05$; ANCOVA; fig. 3.12.). Kun de siste 4 punktene i figuren, etter at den positive veksten hadde startet, er tatt med i analysen.

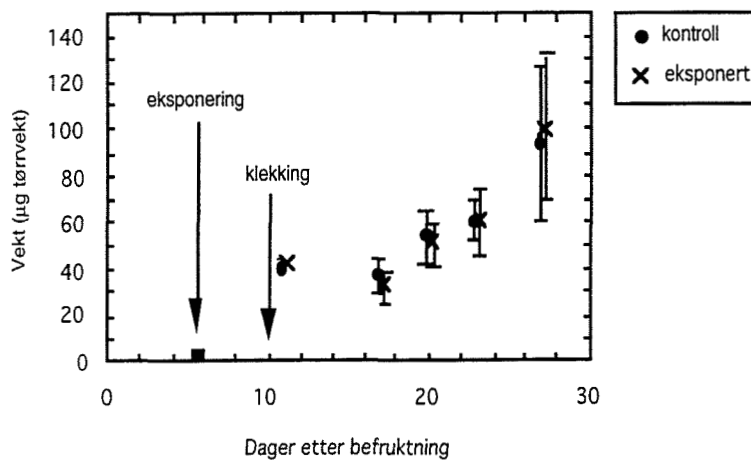


Fig. 3.12. Vekst hos torskelarver eksponert til 84 ppb-BTX av WSF-V i 24 timer i forhold til kontrollgruppen (\pm standardavvik). Organismene ble eksponert på eggstadiet, 5 dager før klekking. Temperatur: 8°C under eksponering og $9-10^{\circ}\text{C}$ i fôringsperioden. Prøvene fra eksponert- og kontrollgruppene ble tatt på samme tidspunkt, men de er blitt forskjøvet i grafikken.

(Growth of cod larvae exposed to 84 ppb-BTX of WSF-V during 24 hours compared to the control group (\pm SD). Exposure took place 5 days before hatching. Temperature: 8°C during exposure and $9-10^{\circ}\text{C}$ during the feeding period.)

Det ble ikke tatt larveprøver underveis av de resterende tre paralleller i hver gruppe. Overlevelsen i prosent ved forsøkets avslutt var 5,3; 7,3; og 9,0 for kontrollgruppen og 5,0; 5,0 og 6,0 i den eksponerte gruppen. Overlevelsen i den eksponerte gruppen var tilsynelatende lavere enn i kontrollgruppen, men denne forskjellen var ikke statistisk signifikant ($p > 0,05$; 1-veis ANOVA)

LF 94 - 3

I hovedtrekkene var dette forsøket utført som LF 93-8, men organismene ble eksponert på det mer sårbare plommesekkstadiet (3 dager etter klekking) og til en lavere konsentrasjon. Det var 4 paralleller á 250 larver i hver gruppe.

Veksten av torskelarver eksponert som plommesekkelarver til 23 ppb-BTX av WSF-V i 24 timer var signifikant forskjellig fra larvene i kontrollgruppen ($p < 0,05$; ANCOVA; fig. 3.13.). I motsetning til det en kunne forvente, vokste de eksponerte larvene mer og dette resultatet bør tolkes med forsiktighet. Dataene fra første prøven er ikke tatt med i analysen. For dag 7-13 er $n = 10$ for hver prøve, mens for dag 17 er $n = 44$ og 54 henholdsvis for kontroll- og den eksponerte gruppen.

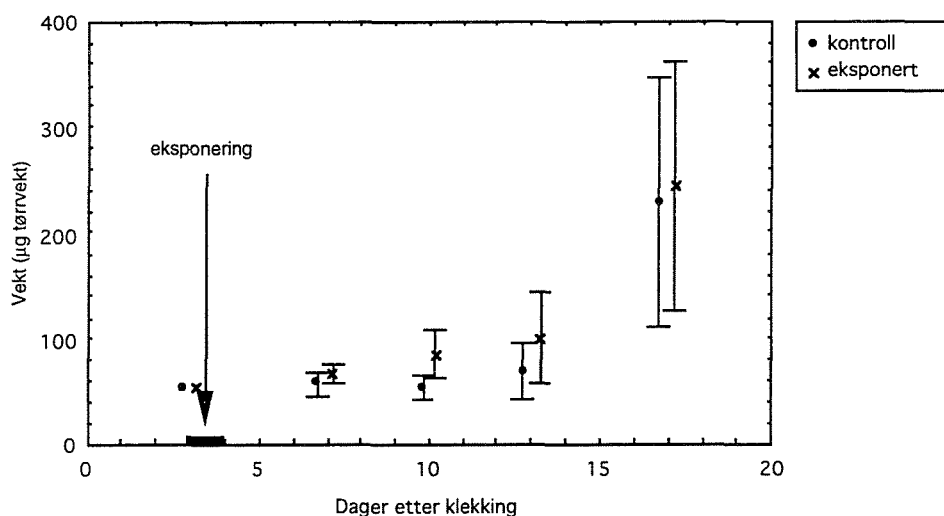


Fig. 3.13. Vekt hos torskelarver eksponert til 23 ppb-BTX av WSF-V i 24 timer i forhold til kontrollgruppen (gjennomsnitt±standardavvik). Temperatur: 8°C under hele forsøksperioden. Prøvene fra eksponert- og kontrollgruppene ble tatt på samme tidspunkt, men de er blitt forskjøvet i grafikken.
(*Dry weight of cod larvae exposed to 23 ppb-BTX of WSF-V during 24 hours compared to the control group (mean±SD). Temperature: 8°C during the whole experimental period.*)

Det ble ikke tatt larveprøver underveis av de resterende tre paralleller i hver gruppe. Det var ikke noe statistisk signifikant forskjell i overlevelse ved forsøkets slutt mellom den eksponerte- og kontrollgruppen ($p > 0,05$; 1-veis ANOVA). Overlevelsen i prosent i disse parallellene var 3,2; 4,4; og 8,8 for kontrollgruppen og 4,8; 7,2 og 6,0 i den eksponerte gruppen.

3.3 Hoppekreps

3.3.1 Akutt toksisitets tester

Calanus spp. -voksne

FF 94 -1; -3 og -12

Alle tre forsøk er behandlet under ett og dataene er plottet i samme figur (fig. 3.14).

I gruppene som ble avsluttet etter 24 timer var det ingen dødelighet inntil 6,1 ppm-BTX mens det oppstod 100% dødelighet ved 7,2 ppm. Det ble beregnet at 7 ppm ville forårsake 50 % dødelighet etter 24 timers eksponering (24 h - LC 50 = 7 ppm).

Etter eksponering i 48 timer er den kritiske konsentrasjonen rundt 6 ppm, men vi kan ikke beregne LC₅₀ ut i fra disse dataene. Dødeligheten ved ca. 0,5 ppm som er plottet i fig. 3.14 skyldes ett dødt individ.

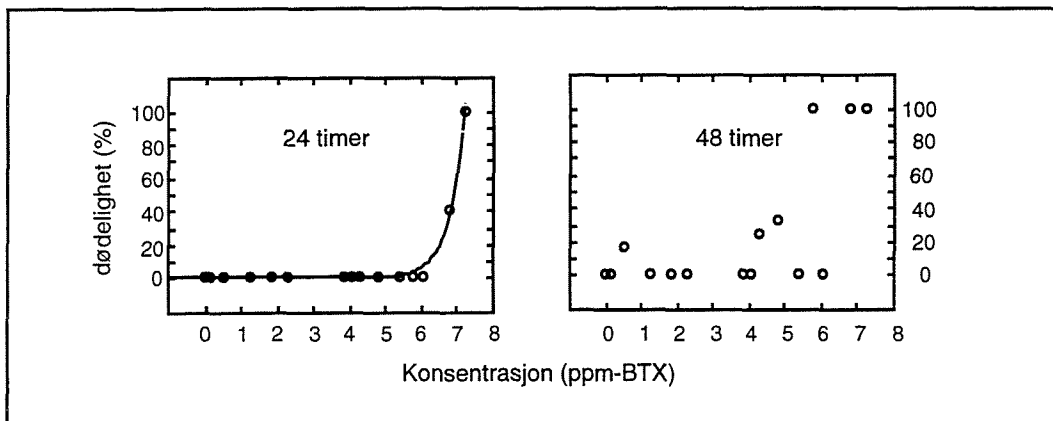


Fig. 3.14. Dødelighet av voksne *Calanus spp.* i LC₅₀ forsøkene etter 24 og 48 timer eksponering. Data fra 3 forskjellige forsøk. n = 5 for hvert punkt. Temperatur: 4°C.
(Mortality of adult *Calanus spp.* in the LC₅₀ experiments after 24 and 48 hours exposure. Data from 3 different experiments. n=5 for each data point. Temperature: 4°C.)

Calanus spp. -nauplier

FF 94 -5; -6 og -8

Alle tre forsøk er behandlet under ett og dataene er plottet i samme figur (fig. 3.15.). I to av forsøkene oppstod det opp til 4 % dødelighet i kontrollgruppen, og dataene som er plottet i figuren er korrigert for dette.

I alle forsøk var dødeligheten under 50%, selv ved de høyeste konsentrasjoner, både etter 24 og 48 timers eksponering. I motsetning til forsøkene utført med voksne *Calanus*, ble naupliene ikke eksponert til konsentrasjoner høyere enn 5,6 ppm. Vi kan ikke ekstrapolere for å bestemme LC₅₀-konsentrasjonen i dette tilfelle, men dataene tyder på at den kritiske konsentrasjonen vil ligge rundt 6-7 ppm (24 h - LC₅₀ = 6-7 ppm).

Dødelighetsdataene tyder på at naupliene ikke er noe særlig mer følsomme enn de voksne, men det ble observert en tydelig reduksjon i aktivitetsnivå hos naupliene ved de høyeste konsentrasjonene.

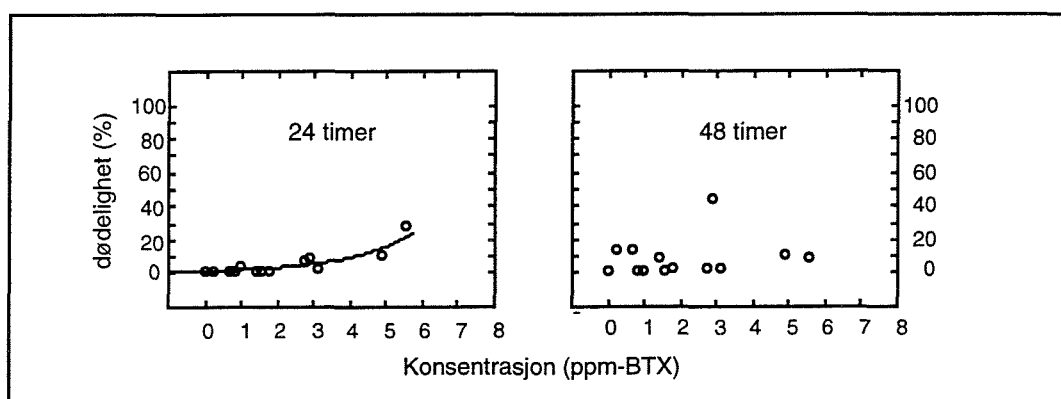


Fig. 3.15. Dødelighet av *Calanus spp.* -nauplier i LC₅₀ forsøkene etter 24 og 48 timer eksponering til WSF-V. Data fra 3 forskjellige forsøk. n = 40-130 for hvert punkt. Temperatur: 4°C.

(Mortality of *Calanus spp.* nauplii in the LC₅₀ experiments after 24 and 48 hours of exposure to WSF-V. Data from 3 different experiments. n = 40 for each data point. Temperature: 4°C.)

Som i LC₅₀ forsøkene med voksen *Calanus* er dataene fra 48 timers-eksponeringen mye mer "støyete" enn 24 timers-dataene. Grunnen til den høye variansen er sannsynligvis at eksponeringen fant sted i lukkede glass, uten fornying av testvann. Organismene tar opp oljekomponenter under eksponering og akkumulerer eller metabloliserer dem og derved reduseres den initielle konsentrasjonen av disse oljekomponentene i testvannet. Dette viser at disse standardiserte testmetodene i lukket system er lite egnet til å bestemme toksisiten av BTX-komponentene i perioder lengre enn 24 timer.

3.3.2 Oksygenforbruk

Calanus finmarchicus

LF 93-9

Dette forsøket ble utført med raudåten *Calanus finmarchicus* i biotestanlegget. Etter måling av endelig oksygenkonsentrasjon ble utviklingsstadiene identifisert. I figurene og i de statistiske analysene er kun organismer i yngelstadiet copepoditter fem (CV) tatt med.

Test 1: 6 dager etter fangstdato

Det ble ikke påvist noen signifikant forskjell mellom gruppen eksponert til 290 ppb-BTX i 24 timer og kontrollgruppen ($p > 0,05$; ANCOVA). I gruppen eksponert til 610 ppb var det 2 døde individer ved eksponeringsavslutning og det var kun 4 individer i stadiet V i live. Det ble derfor ikke utført noen statistisk analyse for disse 4 punkter. (fig 3.16).

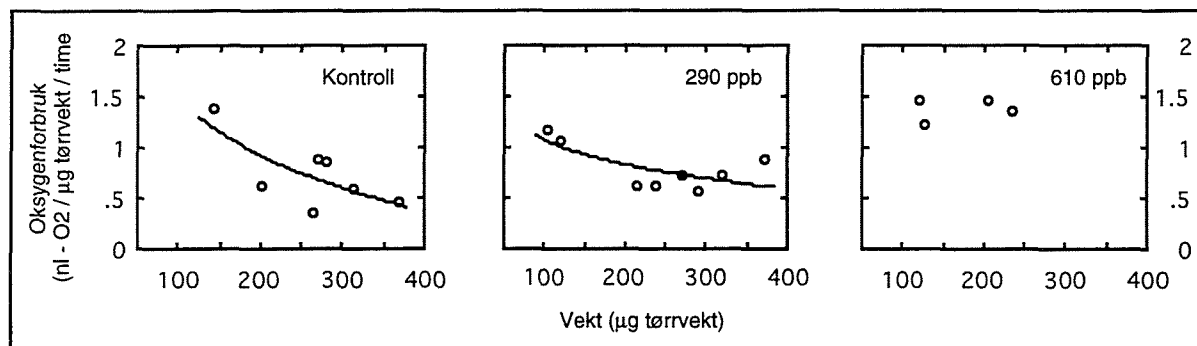


Fig. 3.16. Oksygenforbruk av raudåten, *Calanus finmarchicus*, eksponert til 290 og 610 ppb-BTX av WSF-V i 24 timer i forhold til kontrollgruppen. Temperatur: 8°C.

(Oxygen consumption of the copepode *Calanus finmarchicus* exposed to 290 and 610 ppb-BTX of WSF-V during 24 hours compared to the control group. Temperature: 8°C.)

Test 2: 8 dager etter fangstdato (fig. 3.19).

Det ble ikke påvist noen forskjell i oksygenforbruk mellom gruppene eksponert til 1000 ppb-fenol og 30 ppb-BTX i 24 timer ($p > 0,05$; ANCOVA; fig. 3.17). Kontrollgruppen er ikke tatt med fordi der var det få inidvider i stadiet V.

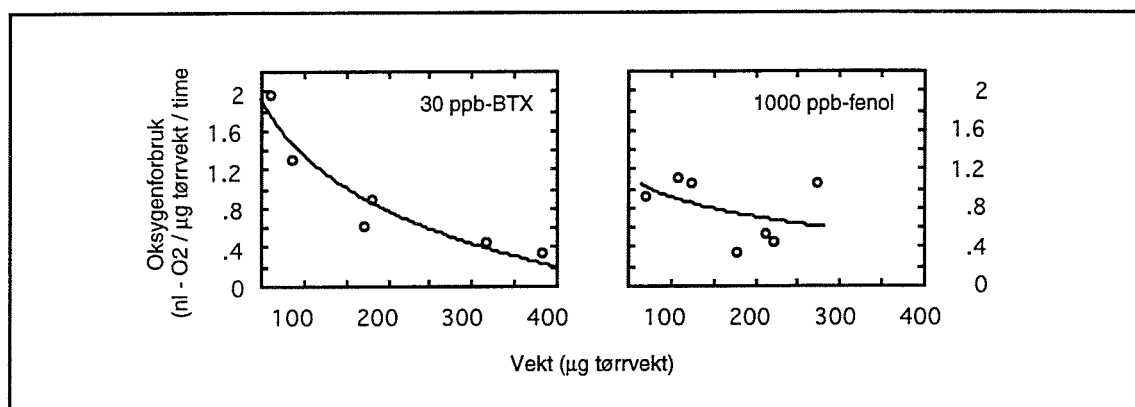


Fig. 3.17. Oksygenforbruk av raudåten, *Calanus finmarchicus*, eksponert til 30 ppb-BTX av WSF-V og til 1000 ppb-fenol, begge eksponert i 24 timer. Temperatur: 8°C.
(Oxygen consumption of the copepode *Calanus finmarchicus* exposed to 30 ppb-BTX og WSF-V and to 1000 ppb phenole, both exposed during 24 hours. Temperature: 8°C.)

Test 3: 12 dager etter fangstdato

Det ble ikke påvist noen forskjell i oksygenforbruk mellom kontrollgruppen og gruppene som hadde vært eksponert i 5 døgn til konsentrasjoner lavere enn 10 ppb-BTX; 310 ppb-BTX og 100 og 1000 ppb-fenol ($p > 0,05$; ANCOVA; fig. 3.18.). Det er heller ikke noen signifikant forskjell hvis vi samler <10 ppb og kontrollgruppen i én.

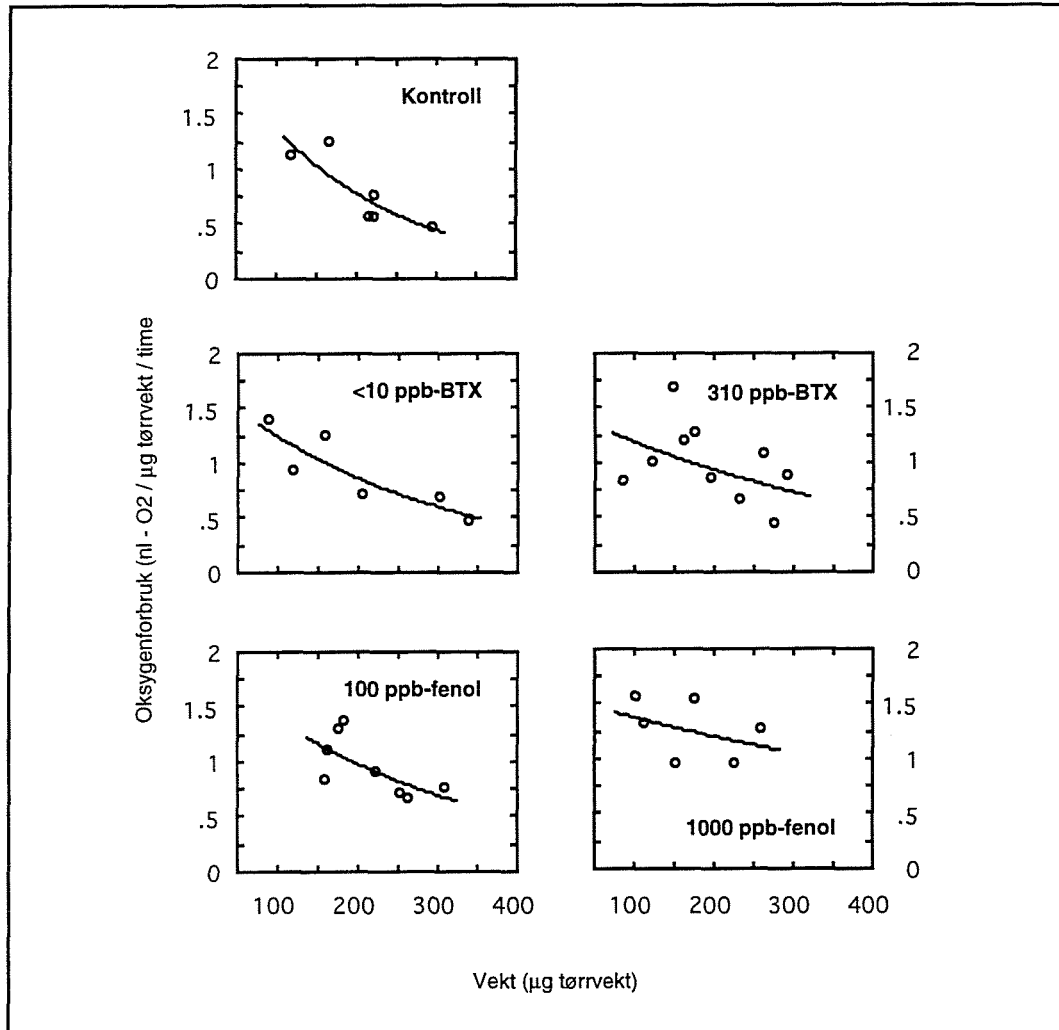


Fig. 3.18. Oksygenforbruk av raudåten, *Calanus finmarchicus*, eksponert til WSF-V og til fenol i 5 døgn i forhold til kontrollgruppen. Temperatur: 8°C.
(Oxygen consumption of the copepode *Calanus finmarchicus* exposed to WSF-V and to phenole during 5 days compared to the control group. Temperature: 8°C.)

Test nr. 4 ble foretatt 14 dager etter fangst dato med eksponering til 10 og 150 ppb-BTX av WSF-V i 24 timer. Der var det påvist en økning i oksygenforbruk både ved 10 og 150 ppb i forhold til kontrollgruppen ($p < 0,05$; ANCOVA). Der var imidlertid ikke påvist noen forskjell mellom de to eksponerte gruppene ($p > 0,05$; ANCOVA; fig 3.19).

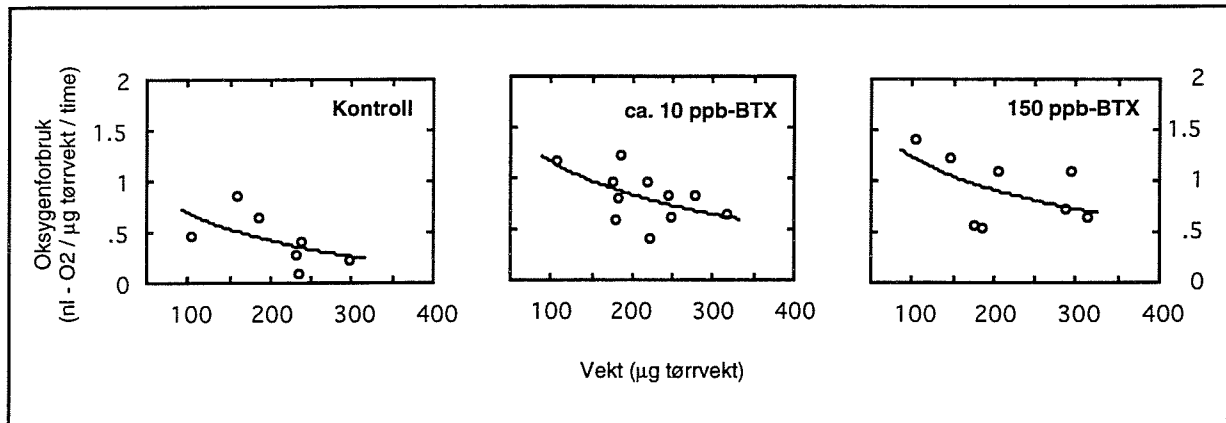


Fig. 3.19. Oksygenforbruk av raudåten, *Calanus finmarchicus*, eksponert til ca. 10 og 150 ppb-BTX av WSF-V i 24 timer i forhold til kontrollgruppen. Temperatur: 8°C.
(Oxygen consumption of the copepode *Calanus finmarchicus* exposed to approx. 10 and 150 ppb-BTX of WSF-V during 24 hours compared to the control group. Temperature: 8°C.)

FF 93-9

I dette forsøket ble en blanding av *Calanus finmarchicus* og *C. glacialis* eksponert til WSF-G ved 600; 3000 og 6000 ppb-BTX i 24 timer. Oksygenforbruket i dette forsøket ble ikke relatert til kroppsvekten og det var ikke noen klare tendenser i det totale oksygenforbruket per organisme. Ved slutten av eksponeringsperioden ble det imidlertid observert at ved de to høyeste konsentrasjonene var organismene mindre aktive og at noen var døde ved 6000 ppb.

Calanus glacialis

FF 93-1

Det ble ikke påvist noen signifikant forskjell i oksygenforbruket mellom gruppen eksponert til 200 ppb-BTX av WSF av Gullfaksråolje i 12 timer og i kontrollgruppen ($p > 0,05$; ANCOVA). Oksygenforbruket i gruppen eksponert til 1000 ppb av samme komponenter var lavere enn i kontrollgruppen ($p < 0,05$; ANCOVA; fig. 3.20.).

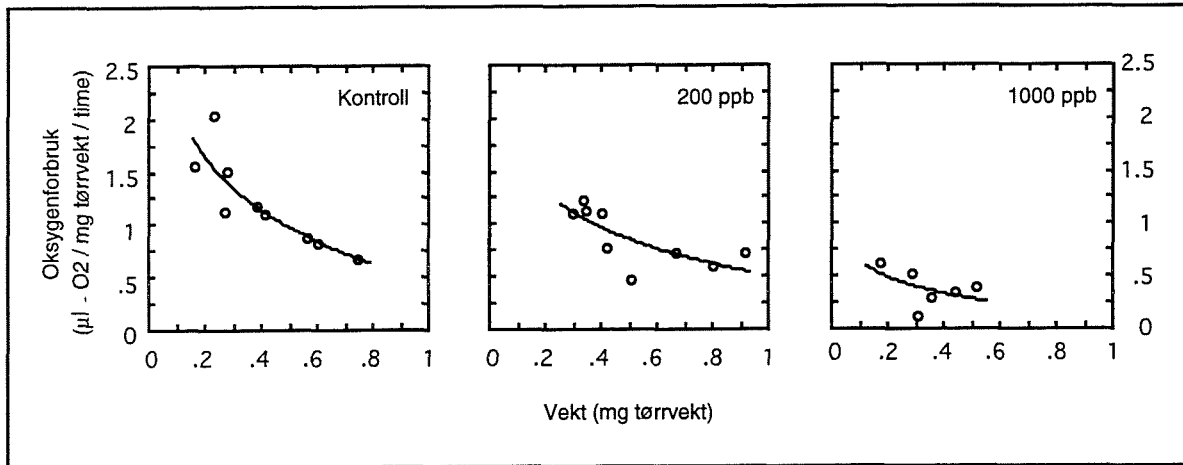


Fig. 3.20. Oksygenforbruk av hoppekrepsen *Calanus glacialis*, eksponert til 200 og 1000 ppb-BTX av WSF av Gullfaksråolje i 12 timer i forhold til kontrollgruppen. Temperatur: 3°C.
(Oxygen consumption of the copepode *Calanus glacialis* exposed to a200 and 1000 ppb-BTX of WSF from Gullfaks crude oil during 12 hours compared to the control group. Temperature: 3°C.)

FF 93-7

Oksygenforbruket av *C. glacialis* (CV) i dette forsøket ble ikke relatert til egen kroppsvekt. Det var ikke noe signifikant forskjell i oksygenforbruk pr. organisme mellom gruppene eksponert til WSF av Gullfaksråolje (700 til 2600 ppb-BTX) og kontrollgruppen ($p > 0,05$; ANOVA; fig. 3.21). Imidlertid ble det observert at noen individer ved de to høyeste konsentrasjoner var mindre aktive, eller hadde et aktivitetsmønster som var forskjellig fra organismene i kontrollgruppen ved slutten av forsøket.

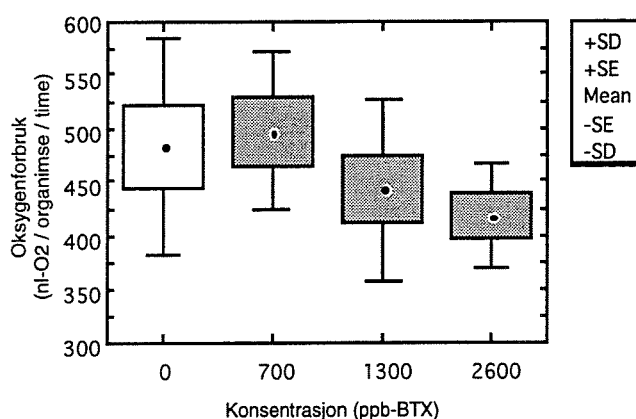


Fig. 3.21. Oksygenforbruk av hoppekrepsen *Calanus glacialis* eksponert til 700; 1300 og 2600 ppb-BTX av WSF-G i 24 timer (skraverte bokser) i forhold til kontrollgruppen (hvit boks). Temperatur: 4°C.

(Oxygen consumption of the copepod *Calanus glacialis* ppb-BTX of WSF-G during 24 hours (shaded boxes) compared to the control group (empty box). Temperature: 4°C).

FF 93-10

I dette forsøket ble en blanding av *C. glacialis* og *C. finmarchicus* eksponert til WSF-V ved 700; 3700 og 7300 ppb-BTX i 24 timer. Oksygenforbruket i dette forsøket ble ikke relatert til kroppsvekten og det var ikke noen klare tendenser i det totale oksygenforbruket pr. organisme. Ved slutten av eksponeringsperioden ble det imidlertid observert at organismene som var eksponert til 3700 ppb var lite aktive, mens 7 av de 8 organismer som var eksponert til 7300 ppb var døde.

FF 94-2

Det ble ikke påvist noen statistisk signifikant forskjell mellom gruppen eksponert til 130 ppb-BTX i 24 timer ved 4°C og kontrollgruppen ($p > 0,05$; ANCOVA). Når vi ser på dataplottet (fig. 3.22), ser vi imidlertid at den eksponerte gruppen ikke følger det vanlige mønsteret hvor mindre individer har høyere oksygenforbruk pr. vektenhet. Det er mulig at mindre/ynge organismer er mer følsomme.

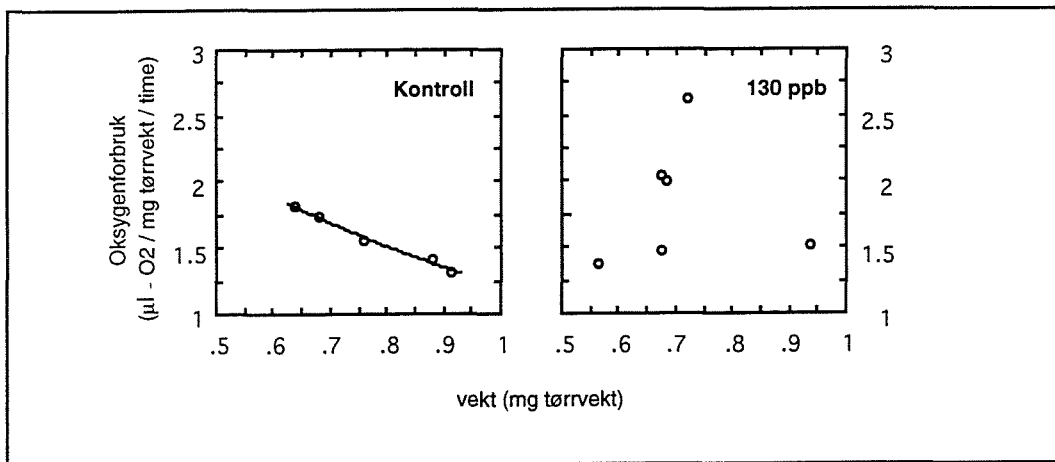


Fig. 3.22. Oksygenforbruk av hoppekrepsen *Calanus glacialis* eksponert til 130 ppb-BTX av WSF-V i 24 timer i forhold til kontrollgruppen. Temperatur: 4°C.
(Oxygen consumption of the copepode *Calanus glacialis* exposed to 130 ppb-BTX of WSF-V during 24 hours compared to the control group. Temperature: 4°C.)

FF 94-4

Det var ikke noen signifikant forskjell i oksygenforbruk mellom *C. glacialis* gruppen eksponert til 360 ppb-BTX og kontrollgruppen ($p > 0,05$; ANCOVA). Der var kun 4 individer i stadiet V i gruppen som ble eksponert til 70 ppb, og de ble derfor ikke analysert statistisk (fig. 3.23.)

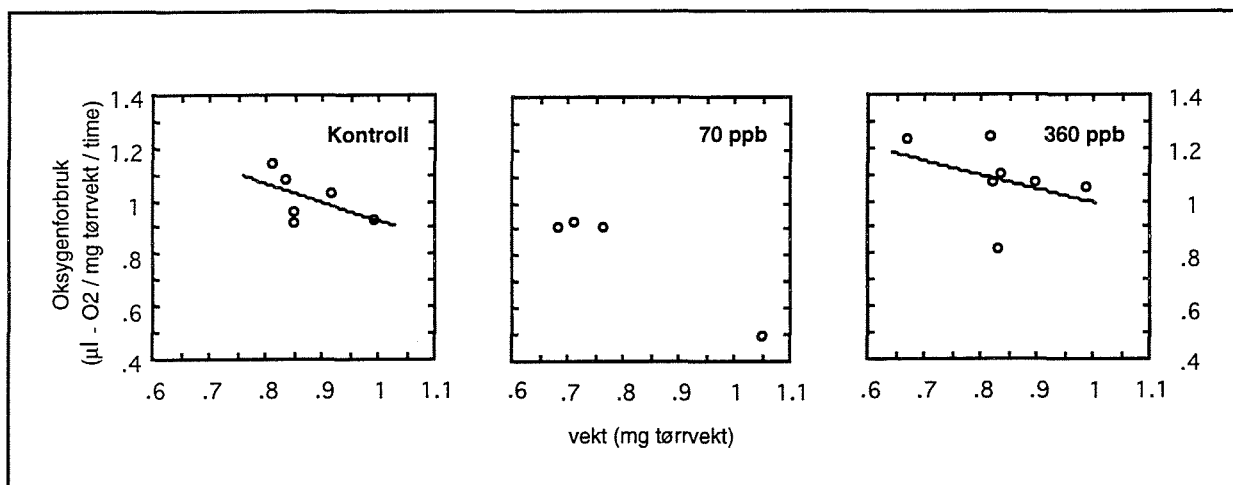


Fig. 3.23. Oksygenforbruk av hoppekrepsen *Calanus glacialis* eksponert til 70 og 360 ppb-BTX av WSF-V i 24 timer i forhold til kontrollgruppen. Temperatur: 4°C.

(Oxygen consumption of the copepode *Calanus glacialis* exposed to 70 and 360 ppb-BTX of WSF-V during 24 hours compared to the control group. Temperature: 4°C.)

FF 94-11

Det var ikke noe statistisk forskjell i oksygenforbruk mellom *C. glacialis* gruppene eksponert til 60; 120; 250 og 500 ppb-BTX av WSF-V i 24 timer i forhold til kontrollgruppen ($p > 0,05$; ANCOVA; fig. 24).

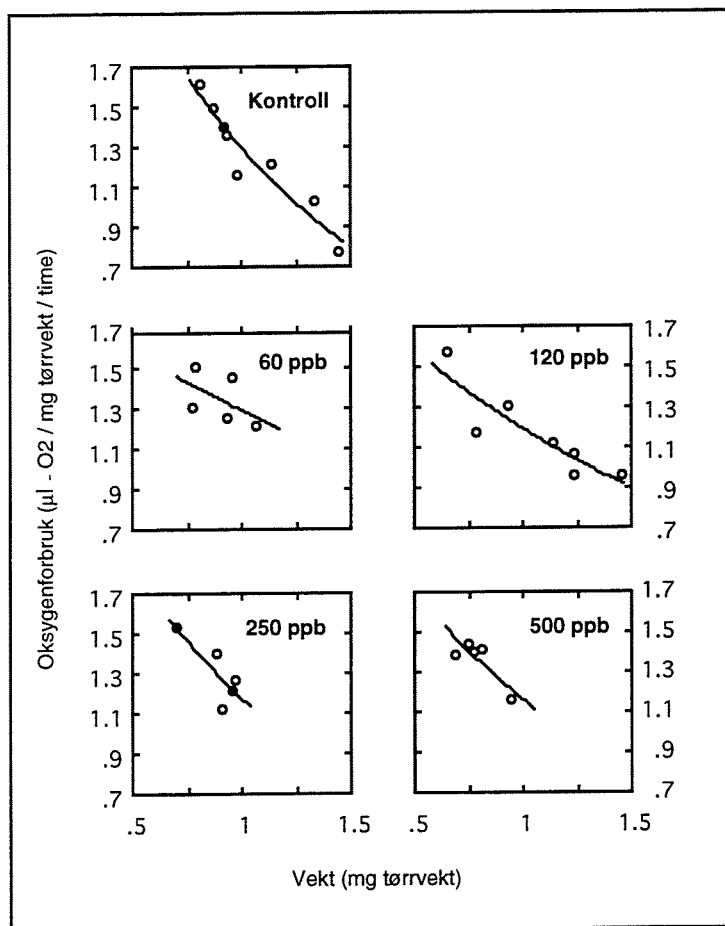


Fig. 3.24. Oksygenforbruk av hoppekrepsen *Calanus glacialis* eksponert til 60; 120; 250 og 500 ppb-BTX av WSF-V i 24 timer i forhold til kontrollgruppen. Temperatur: 4°C.
(Oxygen consumption of the copepod *Calanus glacialis* exposed to 60; 120; 250 and 500 ppb-BTX of WSF-V during 24 hours compared to the control group. Temperature: 4°C.)

FF 94-15

Det ble ikke påvist noen forskjell i oksygenforbruk hos *Calanus glacialis* eksponert til 70, 150 og 580 ppb-BTX av WSF-V i 12 timer i forhold til kontrollgruppen ($p > 0,05$; ANCOVA).

I fig. 3.25. ser vi imidlertid at individene eksponert til 580 ppb alle var under 1 mg tørrvekt og at samtlige lå lavere i oksygenforbruk enn kontrollindividene i tilsvarende størrelsesområde. Som påpekt for forsøk FF 94-2, er det mulig at mindre organismer er mer følsomme for olje.

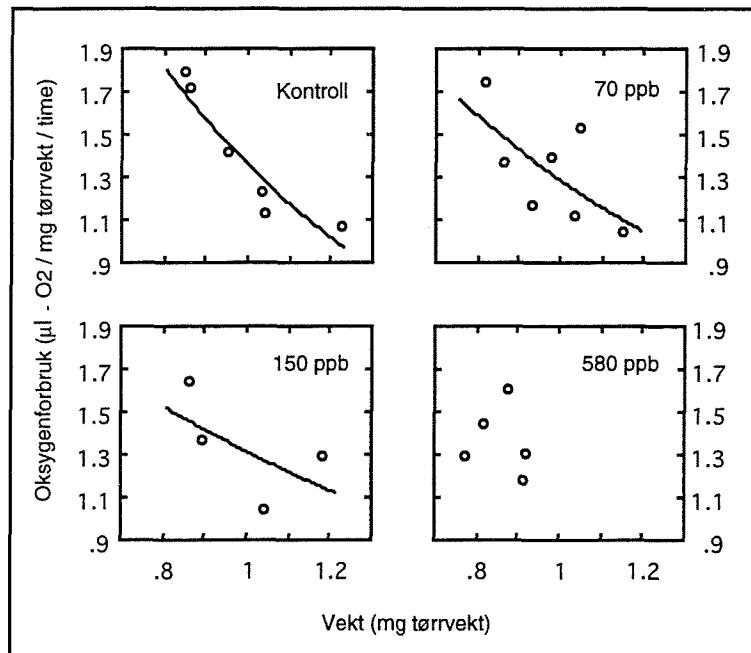


Fig. 3.25. Oksygenforbruk av hoppekrepsen *Calanus glacialis*, eksponert til 70; 150 og 580 ppb-BTX av WSF-V i 12 timer i forhold til kontrollgruppen. Temperatur: 4°C.
(Oxygen consumption of the copepode *Calanus glacialis* exposed to 70; 150 and 580 ppb-BTX of WSF-V during 12 hours compared to the control group. Temperature: 4°C.)

Calanus hyperboreus

FF 94-10

Det var ikke noen signifikant forskjell mellom gruppene eksponert for 20 til 170 ppb-BTX av WSF-V i 12 timer og kontrollgruppen ($p > 0,05$; ANCOVA; fig. 3.26).

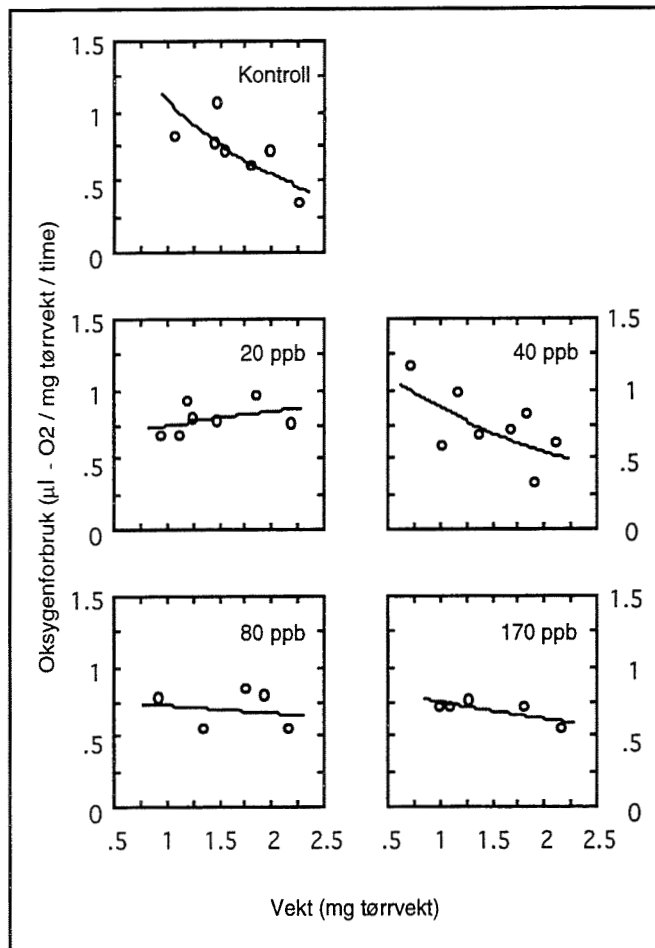


Fig. 3.26. Oksygenforbruk av hoppekrepsen *Calanus hyperboreus* eksponert til 20; 40; 80 og 170 ppb-BTX av WSF-V i 12 timer i forhold til kontrollgruppen. Temperatur: 4°C.
(Oxygen consumption of the copepode *Calanus hyperboreus* exposed to 20;40; 80 and 170 ppb-BTX of WSF-V during 12 hours compared to the control group. Temperature: 4°C.)

3.4 Krill

Meganyctiphanes norvegica

LF 94-1

Storkrill ble eksponert til 135 ppb-BTX av WSF-V i biotestanlegget. Fig. 3.27. viser det forventede mønsteret i kontrollgruppen, hvor mindre organismer har større oksygenforbruk i forhold til kroppsvekten enn større organismer, mens en ikke ser samme tendens hos de eksponerte. Imidlertid ble det ikke påvist noen statistisk signifikant forskjell i oksygenforbruk mellom gruppene ($p > 0,05$; ANCOVA).

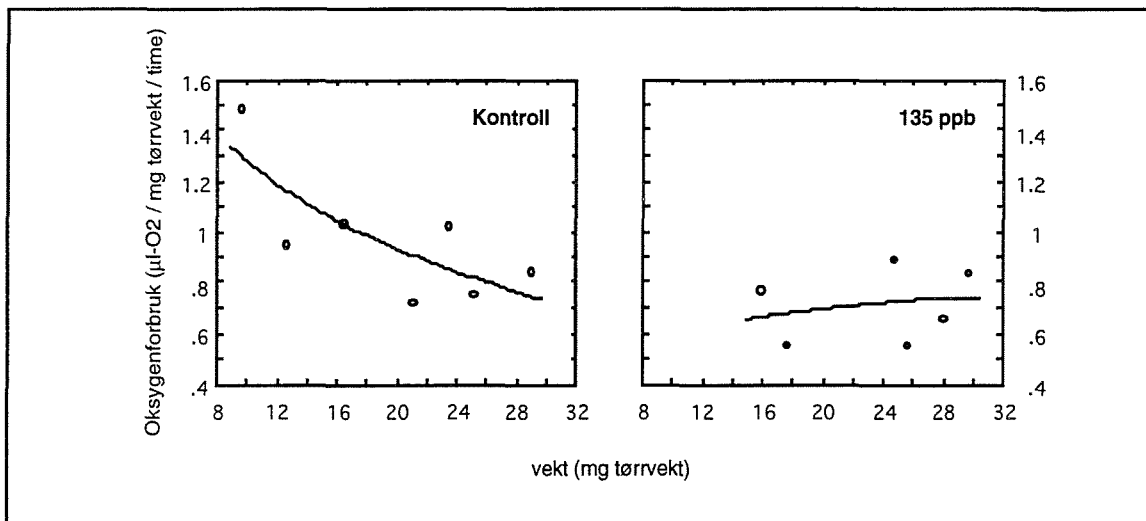


Fig. 3.27. Oksygenforbruk av krill, *Meganyctiphanes norvegica*, eksponert til 135 ppb-BTX av WSF-V i 18 timer i forhold til kontrollgruppen. Temperatur: 5°C.
(Oxygen consumption of krill, *Meganyctiphanes norvegica*, exposed to 135 ppb-BTX of WSF-V during 18 hours compared to the control group. Temperature: 5°C.)

Det ble ikke observert noen signifikant statistisk forskjell mellom stor krill eksponert til 50 og 80 ppb-BTX av WSF-V i 18 timer ($p > 0,05$; ANCOVA). Imidlertid framgår det av dataplottet (fig.3.28) at 80 ppb -gruppen skiller seg ut fra de andre to, idet de minste individene har et veldig lavt oksygenforbruk i forhold til kroppsvekten.

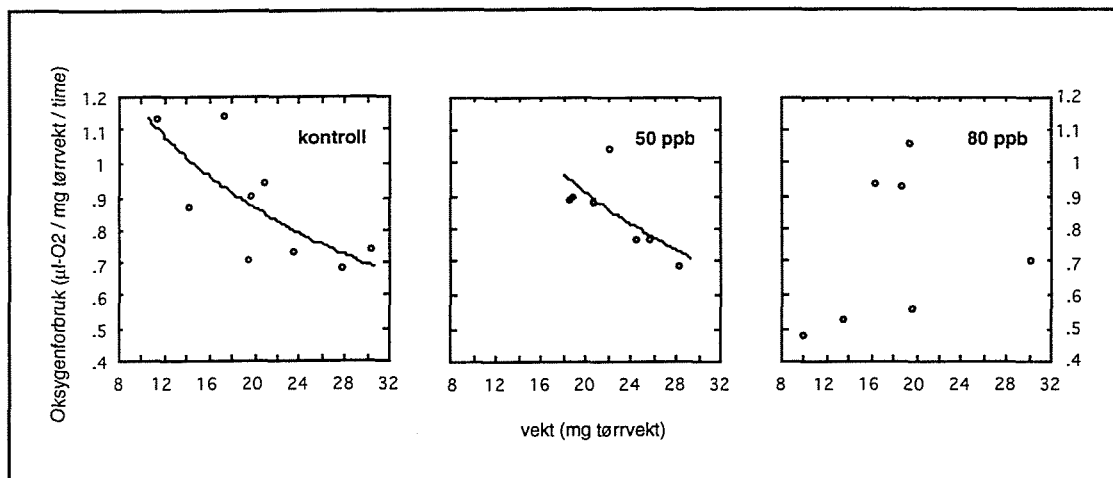


Fig. 3.28. Oksygenforbruk av krill, *Meganyctiphanes norvegica*, eksponert til 50 og 80 ppb-BTX av WSF-V i 18 timer, i forhold til kontrollgruppen. Temperatur: 5°C.
(Oxygen consumption of krill, *Meganyctiphanes norvegica*, exposed to 50 and 80 ppb-BTX-WSF-V compared to the control group. Temperature: 5°C.)

Thysanoessa inermis

FF 94-13

I dette forsøket viste ikke kontrollgruppen den forventede kurven hvor det relative oksygenforbruket avtar med kroppsvekten.

FF 94-14

Det ble ikke funnet noen signifikant forskjell mellom gruppene av småkrill eksponert til 100; 250 og 500 ppb-BTX av WSF-V i 24 timer i forhold til kontrollgruppen ($p > 0,05$; ANCOVA; fig. 3.29).

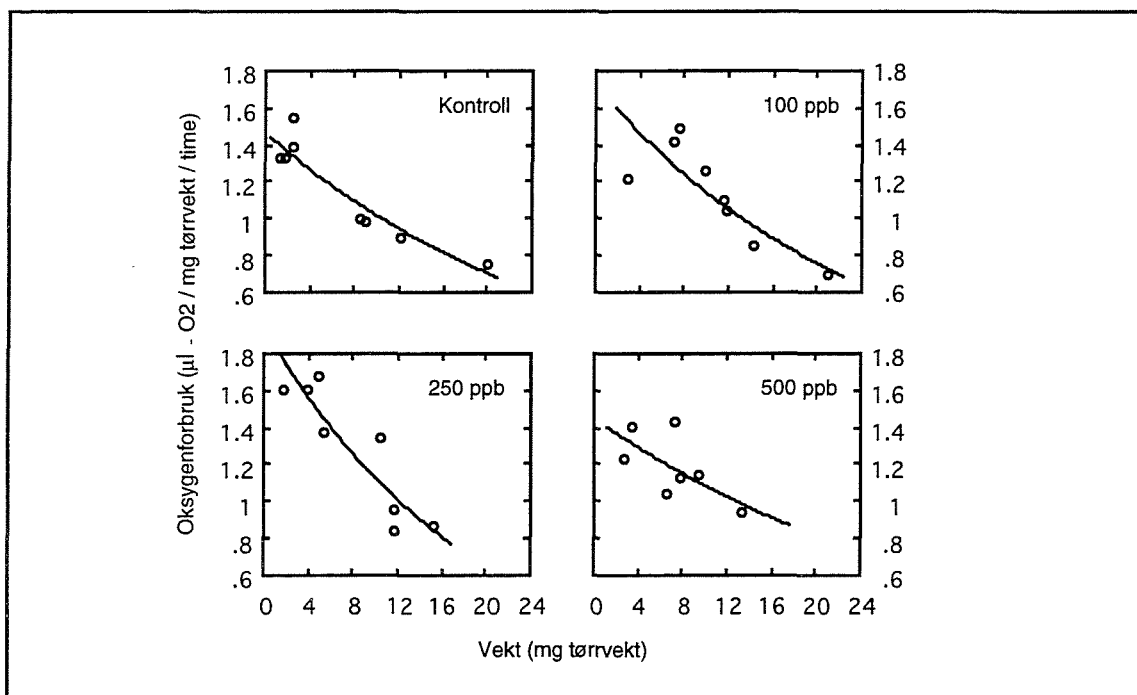


Fig. 3.29. Oksygenforbruk av krill, *Tyssanoessa inermis*, eksponert til 100; 250 og 500 ppb-BTX av WSF-V i 24 timer i forhold til kontrollgruppen. Temperatur: 4°C.
(Oxygen consumption of krill, *Tyssanoessa inermis*, exposed to 100; 250 and 500 ppb-BTX of WSF-V curing 24 hours compared to the control group. Temperature: 4°C.)

Som i de andre forsøkene utført med krill, spilte størrelseskomponenten en mindre rolle i det relative oksygenforbruket enn i f.eks. fiskelarver eller hoppekreps. Kontrollgruppen viste forøvrig ingen størrelsesavhengighet. Resultatene ble derfor analysert med ANOVA, og det ble ikke funnet noen signifikant forskjell mellom de 4 gruppene ($p > .05$; fig. 3.30).

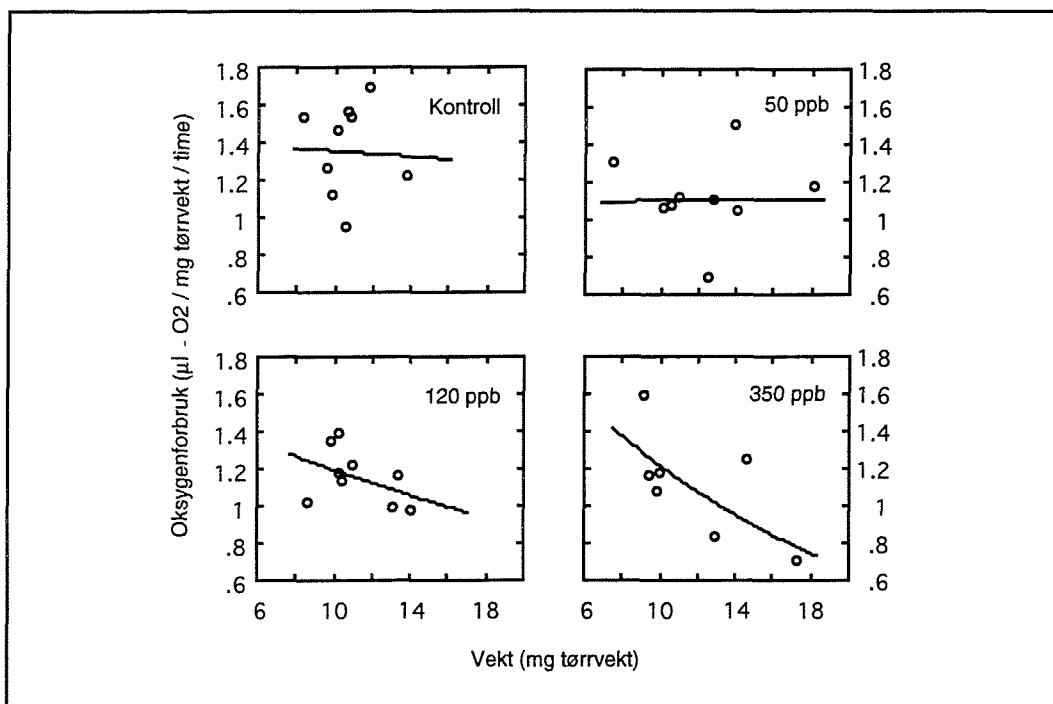


Fig. 3.30. Oksygenforbruk av krill, *Tyssanoessa inermis*, eksponert til 50; 120 og 350 ppb-BTX av WSF-V i 18 timer i forhold til kontrollgruppen. Temperatur: 4°C.
 (Oxygen consumption of krill, *Tyssanoessa inermis*, exposed to 50; 120 and 350 ppb BTX of WSF-V during 18 hours compared to the control group. Temperatur: 4°C).

3.5 Andre krepsdyr

Parathemisto abyssorum

FF 93-2

Regresjonene av relativt oksygenforbruk mot kroppsvekten av gruppene eksponert for henholdsvis 1200 ppb-BTX av WSF-Veslefrikk og 1400 ppb-BTX av WSF-Gullfaks er signifikant forskjellige fra regresjonen for kontrollgruppen ($p < 0,05$; ANCOVA; fig. 3.31).

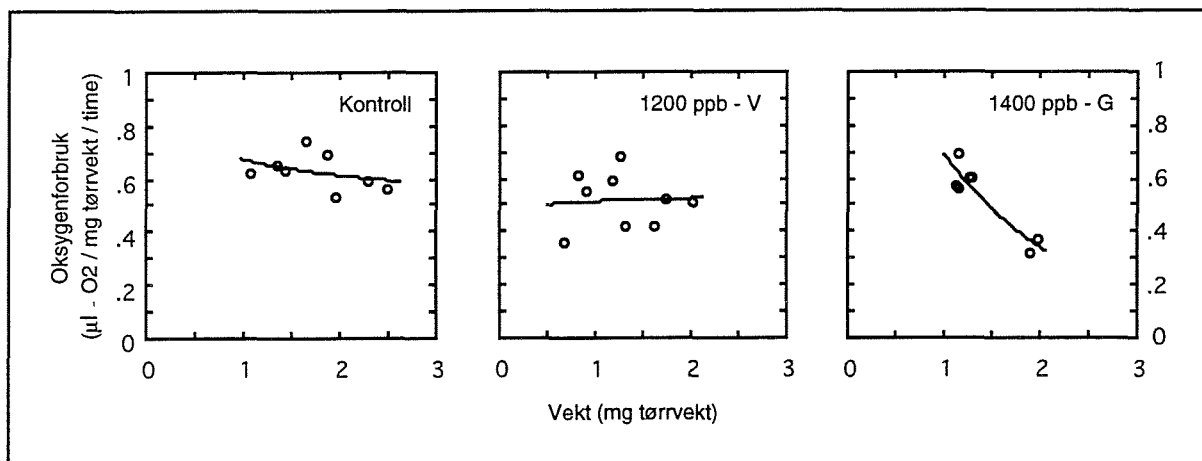


Fig. 3.31. Oksygenforbruk av amfipoden *Parathemisto abyssorum* eksponert til 1200 ppb-BTX av WSF-V og til 1400 ppb-BTX av WSF av Gullfaksråolje i 12 timer i forhold til kontrollgruppen. Temperatur: 4°C.

(Oxygen consumption of the amphipod *Parathemisto abyssorum* exposed to 1200 ppb BTX of WSF-V and to 1400 ppb BTX of WSF from Gullfaks crude oil during 12 hours compared to the control group. Temperature: 4°C.)

FF 94-18

Det ble påvist en signifikant forskjell i oksygenforbruk mellom individer av arten *Parathemisto abyssorum* eksponert til 70 og 140 ppb-BTX av WSF-V i forhold til kontrollgruppen ($p < 0,05$; ANCOVA, test of parallelism; fig. 3.32). I motsetning til tendensen observert i noen av forsøkene med copepoder og krill, ser det ut som om det er de største organismene som får nedsatt oksygenforbruk ved eksponering.

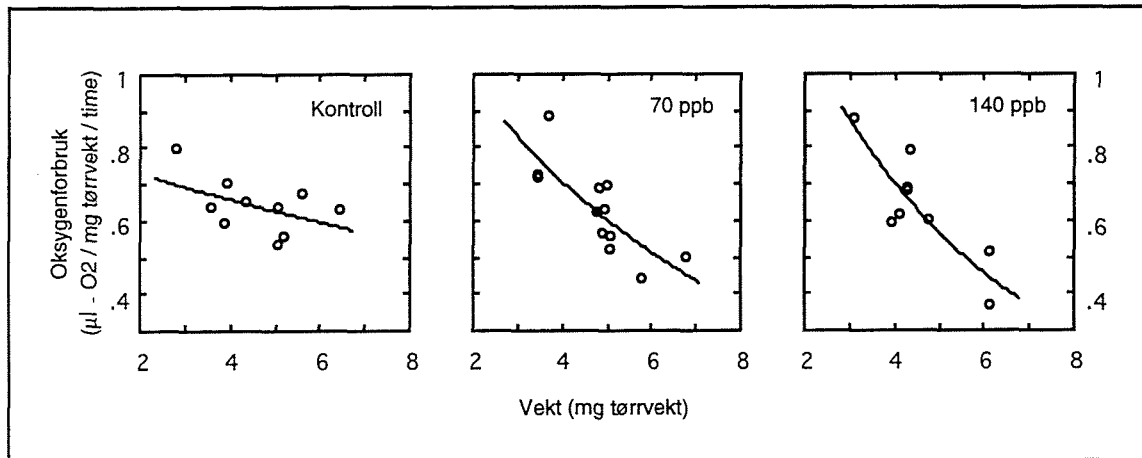


Fig. 3.32. Oksygenforbruk av amfipoden *Parathemisto abyssorum* eksponert til 70 og 140 ppb-BTX av WSF-V i 12 timer i forhold til kontrollgruppen. Temperatur: 4°C.
(Oxygen consumption of the amphipod *Parathemisto abyssorum* exposed to 70 and 140 ppb BTX of WSF-V during 12 hours compared to the control group. Temperature: 4°C.)

Parathemisto libellula

FF 93-5

Etter 24 timers eksponering ved 1300 ppb-BTX av WSF-V var de fleste organismene enten døde (40%) eller lite aktive (40%; n=22). I en annen gruppe som ble eksponert til 10 ppm av en ren BTX -blanding var alle organismene døde etter 24 timer.

Gammaridea

FF 93-8

Gammaridene ble eksponert til 500; 900 og 1800 ppb-BTX av WSF-V i 24 timer. Det var stor variasjon i oksygenforbruk mellom individer innen hver behandling. Eksponering til 1800 ppb resulterte i total dødelighet.

4. FELTFORSØK UTFØRT I SAMARBEID MED STATOIL FORSKNINGSSENTER

ved Anita Th. Smith

I dette kapitlet presenteres resultatene av effektstudier på åter, krill og andre krepsdyr fanget i Barentshavet i juli/aug. 1993 og april/mai 1994. Eksperimenter ble utført med relativt høye konsentrasjoner av vannløselig fraksjon av Gullfaks og Veslefrikk olje, rene benzen-, toluen og xylenkomponenter, naftalener, fenoler og en alifatisk baseolje (Nydrill). Variansanalyser (1-veis ANOVA) er foretatt på resultatene ($P=0.05$). Presentasjonen er organisert i henhold til tabellboksene nedenfor.

4.1 Åter	4.1.1 Oksygenforbruk
	4.1.2 Dødelighet
	4.1.3 Manglende fluktrespons

4.2 Krill	4.2.1 Oksygenforbruk
	4.2.2 Dødelighet

4.3 Andre krepsdyr	4.3.1 Oksygenforbruk
	4.3.2 Dødelighet

Sammendrag

Ulike arter av krepsdyr ble fanget i Barentshavet sør for Spitsbergen (73 til 77°N og 16 til 30°Ø) ved bruk av WP2 vertikalhåv og Isaac Kid Midwater Trawl. Fem arter av kopepoder, amfipoder og eufausider ble eksponert for vannløselig fraksjon (WSF) av råolje fra Gullfaks og Veslefrikk (konsentrasjon uttrykt etter BTX-innhold målt i vannfasen). I tillegg ble det gjort eksperimenter med rene komponenter og blandinger av benzen, toluen og xylen (0-30.0 mg/l; relativt forhold 1:1:1), naftalener (totalt 0-5.0 mg/l; 53% metylnaftalen, 25% 2-metylnaftalen, 1% 1,5-dimetylnaftalen og 4% 1,2,4-trimetylnaftalen), fenoler (totalt 0-5.0 mg/l; 45% fenol, 35% o-, p- og m-cresol (1:1:1), 10% m- og p-etylphenol (1:1), 5% 2,5-dimetylphenol, 1.5% o-isopropylphenol, 2% o-n- og p-n-propylphenol (1:1) og 1% trimetylphenol) og alifatisk baseolje (0-10.0 mg/l; Nydrill). Eksperimentene ble utført i lukkede statiske eksponeringsbeholdere av inert materiale.

Respirasjonsrater hos kopepoden *Calanus finmarchicus* og hos amfipoden *Parathemisto abyssorum* ble påvirket av høye konsentrasjoner (fra 2.0 til 10.0 mg/l) WSF, BTX, naftalener, fenoler og baseolje. Den samme effekten ble observert for krillen *Meganyctiphanes norvegica* eksponert for WSF ved 735 µg-BTX/l. *Meganyctiphanes norvegica* var mer sensitiv for WSF (24-t LC(50) ved omlag 700 µg-BTX/l) enn de andre krepsdyrartene som ble testet (der 24-t LC(50) lå i området 4000-5500 µg-BTX/l). Initielle konsentrasjoner av ren BTX, naftalener, alifater og fenoler så høye som hhv. 3.0, 0.5, 10.0 og 5.0 mg/l forårsaket narkoselignende kondisjon, men ikke forhøyet dødelighetsfrekvens hos kopepoden *Calanus glacialis* etter 24 timers eksponering. BTX ved initiell konsentrasjon på 30.0 mg/l gav i overkant av 80% dødelighet på åter, mens det i samme eksperiment ble observert 100% dødelighet i gruppene som ble eksponert for WSF i en konsentrasjon på 7.5 mg-BTX/l. Resultatene indikerer derfor at BTX-innholdet i WSF av råoljene ikke kan være eneansvarlig for den observerte dødeligheten på krepsdyr.

4.1 Åter

Det ble gjort eksponeringsforsøk med Veslefrikk- og Gullfaks-WSF samt rene BTX-, naftalen-, alifat- og fenolfraksjoner på åtene *Calanus finmarchicus* og *Calanus glacialis*. Det ble registrert effekter på dyrenes oksygenforbruk, overlevelse og aktivitet.

4.1.1 Oksygenforbruk

FF 93-11

Raudåten *Calanus finmarchicus* ble eksponert for den vannløselige fraksjonen av Gullfaks råolje i 24 timer ved 4°C. Det totale oksygenforbruket ble målt i forhold til blankprøver. Resultatene av oksygenmålingene gir en gjennomsnittsverdi per time over ett helt døgn. Oksygenforbruket er ikke relatert til organismenes egenvekt da dyrene ble eksponert gruppevis (totalt 45 dyr pr. konsentrasjon fordelt på tre paralleller à 15 dyr) i 120mL BOD-flasker. Resultatene i fig. 4.1.1 viser gjennomsnittlig oksygenforbruk pr. organisme med tilhørende standardavvik for gruppene. Eksponering til 600 ppb-BTX ga ikke signifikant effekt på oksygenforbruket. Oksygenforbruket avtar ved de to høyeste konsentrasjonene på 2980 og 5960 ppb-BTX. Samtlige dyr var levende ved registrering av oksygenforbruket, men ved den høyeste konsentrasjonen var en stor andel av dyrene merkbart svakere enn i kontrollgruppene. Disse dyrene gjorde ingen frivillige bevegelser, men responderte svakt ved berøring.

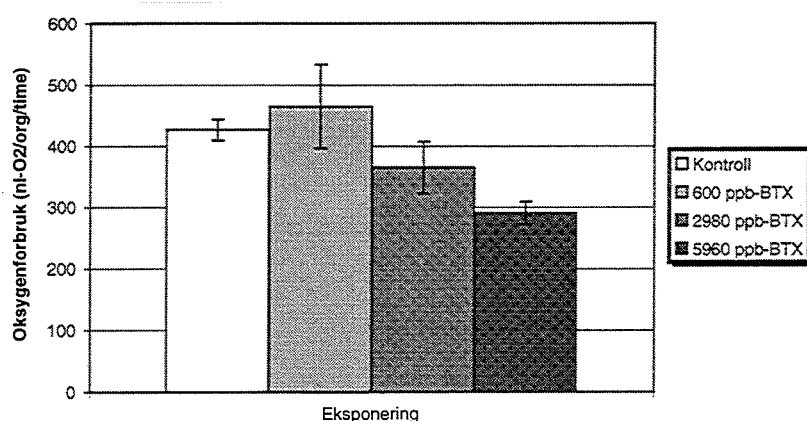


Fig. 4.1.1 Oksygenforbruk hos åten *Calanus finmarchicus* eksponert for Gullfaks-WSF i 24 timer ved 4°C.

(Oxygen consumption of the copepod *Calanus finmarchicus* exposed to WSF of Gullfaks crude oil during 24 hours at 4°C).

FF 93-12

Raudåten *Calanus finmarchicus* ble eksponert for den vannløselige fraksjonen av Veslefrikk råolje i 24 timer ved 4°C. Det totale oksygenforbruket ble målt i forhold til blankprøver. Resultatene av oksygenmålingene gir en gjennomsnittsverdi pr. time over ett helt døgn. Oksygenforbruket er ikke relatert til organismenes egenvekt da dyrene ble eksponert gruppevis (totalt 45 dyr pr. kons. fordelt på tre paralleller à 15 dyr) i 120mL BOD-flasker. Resultatene i fig. 4.1.2 viser gjennomsnittlig oksygenforbruk pr. organisme med tilhørende standardavvik for gruppene. Eksponering til 735 ppb-BTX ga ikke signifikant effekt på oksygenforbruket. Oksygenforbruket avtar ved de to høyeste konsentrasjonene på 3675 og 7350 ppb-BTX. Samtlige dyr var levende ved registrering av oksygenforbruket, men ved den høyeste konsentrasjonen var en stor andel av dyrene merkbart svakere enn i kontrollgruppene. Disse dyrene gjorde ingen frivillige bevegelser, men responderte svakt ved berøring.

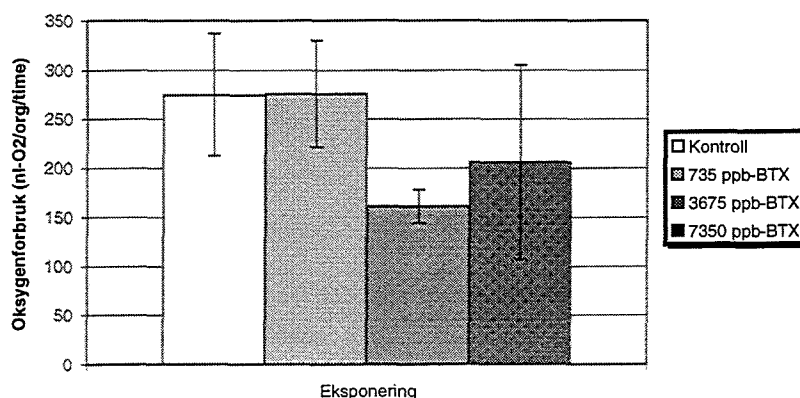


Fig. 4.1.2 Oksygenforbruk hos åten *Calanus finmarchicus* eksponert for Veslefrikk-WSF i 24 timer ved 4°C.

(Oxygen consumption of the copepod *Calanus finmarchicus* exposed to WSF of Veslefrikk crude oil during 24 hours at 4°C).

FF 93-13

Raudåten *Calanus finmarchicus* ble eksponert for høye konsentrasjoner av rene BTX-, naftalen-, alifat- og fenolfraksjoner i 12 timer ved 4°C. Det totale oksygenforbruket ble målt i forhold til blankprøver. Oksygenforbruket er relatert til den respektive organismens tørrvekt. Som kjent har mindre individer et høyere oksygenforbruk per vekt enhet enn større individer. Denne vektavhengigheten for oksygenforbruket kommer også klart frem av samtlige kurver i fig. 4.1.3. Alle eksponerte dyr viser et klart forhøyet oksygenforbruk i forhold til kontrollgruppen.

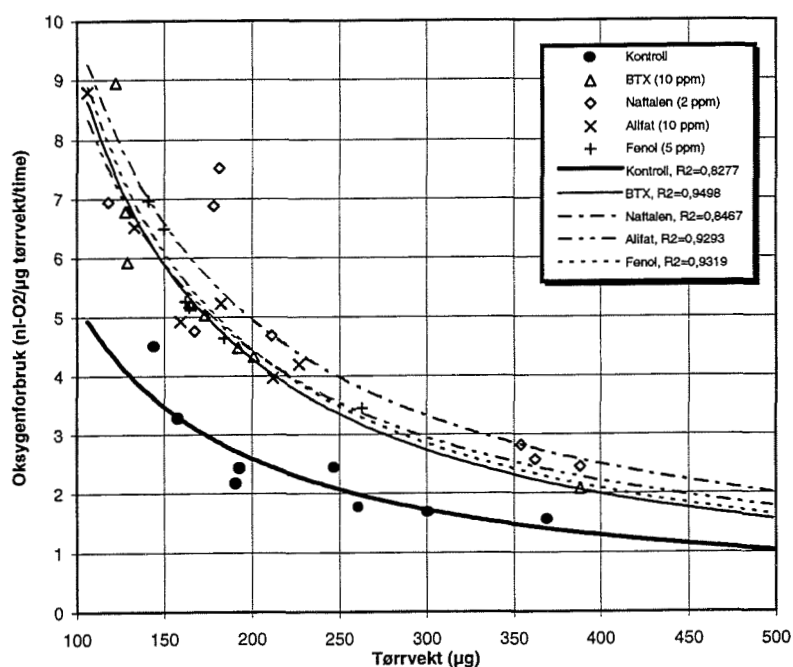


Fig. 4.1.3 Oksygenforbruk hos åten *Calanus finmarchicus* eksponert for rene BTX-, naftalen-, alifat-, og fenolfraksjoner i 12 timer ved 4°C.
(Oxygen consumption of the copepod *Calanus finmarchicus* exposed to pure BTX, naphthalenic, aliphatic and phenolic fractions during 12 hours at 4°C).

4.1.2 Dødelighet

FF 93-11

Raudåten *Calanus finmarchicus* ble eksponert for Gullfaks-WSF i 48 timer ved 4°C. Dyrene ble eksponert gruppevis (totalt 45 dyr pr. konsentrasjon fordelt på tre paralleller à 15 dyr) i 120mL BOD-flasker. Dødeligheten er eksponentielt økende med konsentrasjonen av BTX. Samtlige dyr var døde i den høyeste konsentrasjonen. I dette forsøket er det sannsynlig å finne LC(50) (den konsentrasjonen som gir 50% død i testgruppen) et sted i intervallet 4500-5000 ppb-BTX.

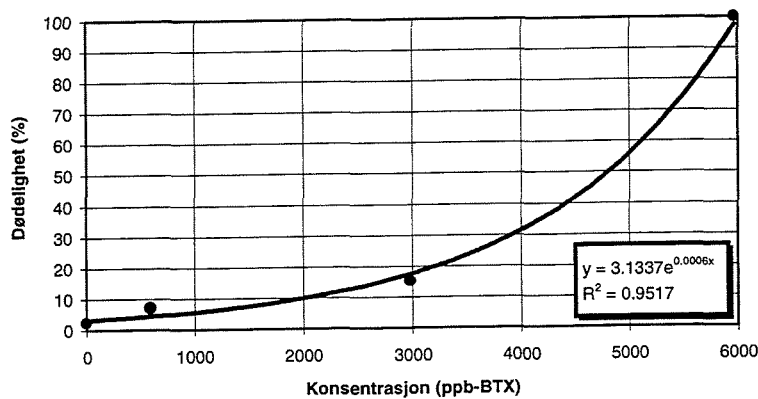


Fig. 4.1.4 Dødelighet hos raudåten *Calanus finmarchicus* eksponert for Gullfaks-WSF i 48 timer ved 4°C.
(Mortality of the copepod *Calanus finmarchicus* exposed to WSF of Gullfaks crude oil during 48 hours at 4°C).

FF 93-12

Raudåten *Calanus finmarchicus* ble eksponert for Veslefrikk-WSF i 48 timer ved 4°C. Dyrene ble eksponert gruppevis (totalt 45 dyr pr. konsentrasjon fordelt på tre paralleller à 15 dyr) i 120mL BOD-flasker. Dødeligheten er eksponentielt økende med konsentrasjonen av BTX. I dette forsøket var nærmere 20% av dyrene i kontrollgruppen døde etter to døgn. Samtlige dyr var døde i den høyeste konsentrasjonen.

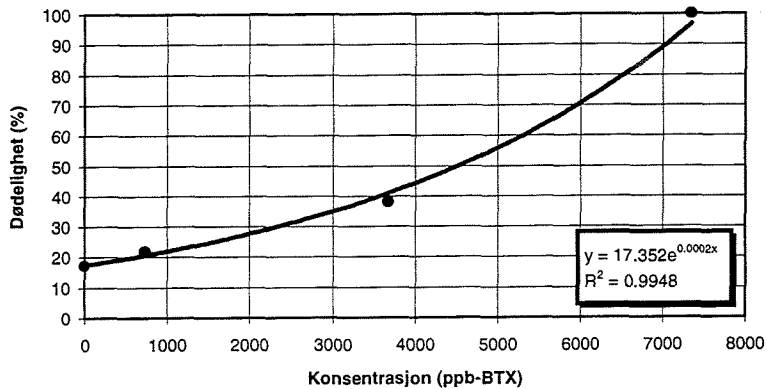


Fig. 4.1.5. Dødelighet hos raudåten *Calanus finmarchicus* eksponert for Veslefrikk-WSF i 48 timer ved 4°C.
 (Mortality of the copepod *Calanus finmarchicus* exposed to WSF of Veslefrikk crude oil during 48 hours at 4°C).

FF 94-7

Voksne individer av *Calanus sp.* ble eksponert for Veslefrikk-WSF og -råolje i 24 og 48 timer ved 4°C. Hver av de fire testgruppene besto av totalt ti dyr. To grupper ble eksponert utelukkende for WSF, mens to grupper i tillegg fikk tilsatt råolje på toppen (1.3mL råolje per liter sjøvann, 1×10^{-3} mL råolje per cm^2 overflate). Effekten på overlevelse så ikke ut til å påvirkes av eksponeringstiden. Ingen av åtene som gikk i WSF med oljelokk bar synlige tegn på å ha vært i direkte kontakt med råoljen. Resultatene tyder på at høyere dødelighet i disse gruppene ble forårsaket av gradvis utvasking av vannløselige komponenter i råoljen under eksponeringstiden.

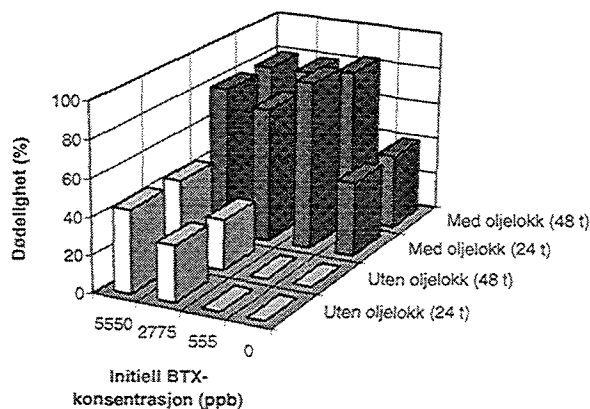


Fig. 4.1.6. Dødelighet hos voksne individer av *Calanus sp.* eksponert for Veslefrikk-WSF med og uten oljelokk i 24 og 48 timer ved 4°C.
 (Mortality of adult copepods (*Calanus sp.*) exposed to WSF of Veslefrikk crude oil with and without oil film during 24 and 48 hours at 4°C).

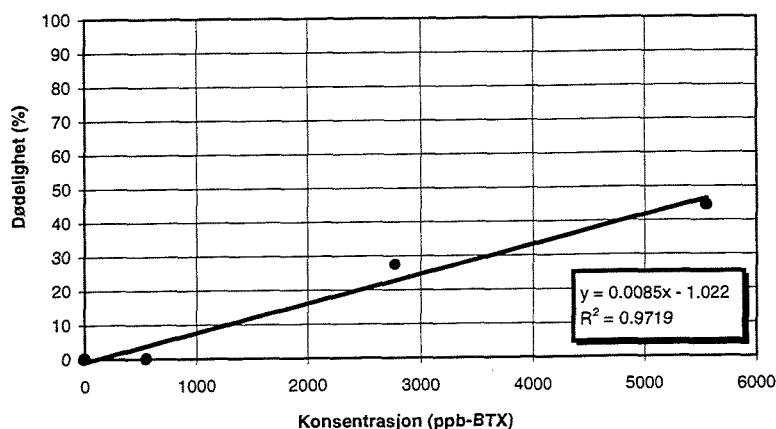


Fig. 4.1.7. Dødelighet hos voksne individer av *Calanus sp.* eksponert for Veslefrikk-WSF i 48 timer ved 4°C.
 (Mortality of adult copepods (*Calanus sp.*) exposed to WSF of Veslefrikk crude oil during 48 hours at 4°C).

FF 94-9

Voksne individer av *Calanus sp.* ble eksponert for 2.6 mL Veslefrikk råolje pr. liter sjøvann (2×10^{-3} mL råolje per cm^2 overflate) i 24 timer ved 4°C. Kontroll- og eksponertgruppene besto begge av 30 dyr fordelt på tre paralleller à ti dyr. Det var ingen døde dyr i kontrollgruppene. I eksponertgruppen var 97% (alle unntatt ett) av dyrene døde. Individene i eksponert gruppen bar ikke synlige tegn på å ha vært i direkte kontakt med oljen, og den høye dødeligheten antas å være forårsaket av gradvis innblanding av vannløselige komponenter fra råoljen.

FF 93-14

Ishavsåten *Calanus glacialis* ble eksponert for rene BTX-, naftalen-, alifat- og fenolfraksjoner i 24 timer ved 4°C. Kontrollgruppen besto av 60 dyr fordelt på seks paralleller à ti dyr. Hver eksponert gruppe besto av 30 dyr fordelt på tre paralleller à ti dyr. Fig. 4.1.8 viser gjennom gjennomsnittlig dødelighet med tilhørende standardavvik. Gullfaks- og Veslefrikk-WSF ved konsentrasjonene 0.1 og 1.3 ppm ga ingen signifikant økt dødelighet i forhold til kontroll gruppene. Det gjorde heller ikke 3.0 ppm BTX, 0.5 ppm naftalen og 0.5 ppm fenol. Grupper eksponert for 1.0 ppm og 10 ppm alifat samt 5.0 ppm fenol viste muligens en svakt forhøyet dødelighetsfrekvens. Signifikant forhøyet dødelighet ble registrert i gruppene utsatt for 5.0 ppm naftalen og 30 ppm BTX.

De høye BTX-konsentrasjonene forårsaket en andel på 84% døde dyr i testgruppen. Dette er overraskende i forhold til resultatene fra forsøkene foran som viser full dødelighet på *Calanus finmarchicus* eksponert for WSF allerede ved omkring 6-7.5 ppm-BTX. Ettersom forsøkene ellers er kjørt ved like betingelser kan dette enten bety at ishavsåten er betydelig mer tolerant for BTX enn raudåten, eller at det finnes uidentifiserte tilleggskomponenter i WSF i store nok konsentrasjoner til å innvirke på overlevelse hos åtene. Dersom vi sammenligner dette eksperimentet med resultatene i FF 13-93 der 10 ppm ren BTX ikke ga noen dødelighet på raudåte etter 12 timers eksponering ved 4°C, virker den sistnevnte forklaringen på observasjonene mest sannsynlig.

I fig. 4.1.8 ligger standardavvikene på $<\pm 5\%$ for alle forsøkene med de laveste konsentrasjonene, $< \pm 10\%$ for forsøkene med 30 ppm BTX, og $\pm 20\%$ for forsøkene med 5.0 ppm naftalen.

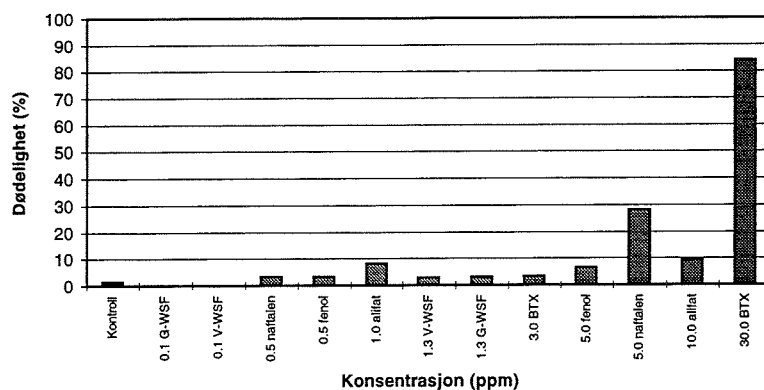


Fig. 4.1.8. Dødelighet hos ishavsåten *Calanus glacialis* eksponert for rene BTX-, naftalen-, alifat- og fenolfraksjoner i 24 timer ved 4°C.
(Mortality of copepods (Calanus glacialis) exposed to pure BTX, naphthalenic, aliphatic and phenolic fractions during 24 hours at 4°C).

I fig. 4.1.9 er resultatene av eksponering for naftalen og BTX vist med gjennomsnittlig dødelighet som funksjon av eksponeringskonsentrasjoner. Hvis en ekstrapolerer ser LC(50) (den konsentrasjonen som forårsaker 50% død i testgruppen) for BTX ut til å være nærmere fem ganger LC(50)-verdien for naftalen.

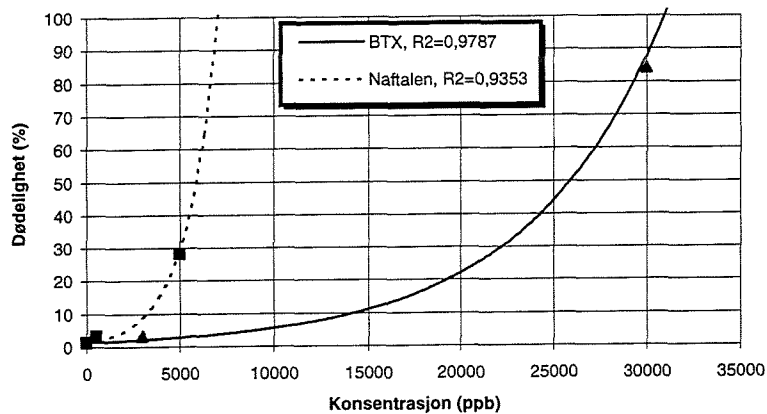


Fig. 4.1.9. Dødelighet som funksjon av testkonsentrasjon hos ishavsåten *Calanus glacialis* eksponert for rene BTX og naftalenfraksjoner i 24 timer ved 4°C.
 (Mortality as a function of test concentration of copepods (*Calanus glacialis*) exposed to pure BTX and naphthalenic fractions during 24 hours at 4°C).

4.1.3 Manglende fluktrespons

FF 93-14

Ishavsåten *Calanus glacialis* ble eksponert for rene BTX-, naftalen-, alifat- og fenolfraksjoner i 24 timer ved 4°C. Kontrollgruppen besto av 60 dyr fordelt på seks paralleller à ti dyr. Hver eksponert gruppe besto av 30 dyr fordelt på tre paralleller à ti dyr. Det å registrere død som endepunkt er som kjent et lite følsomt mål på akutte effekter. Svært mange kjemikalie-eksponerte individer var så medtatte at de ikke foretok noen frivillige bevegelser. Andre foretok svært tilfeldige og kaotiske bevegelser. Svært ofte var det nødvendig å pirke borti dyrene for å bestemme om de var i live. Dyrene ble plukket individuelt med pipette for nedfrysing. Det viste seg å være meget stor forskjell på responsen til dyr i kontrollgruppene og dyr i eksponertgruppene ved fanging. Fig. 4.1.10 viser %-andel dyr uten fluktrespons ved fanging med tilhørende standardavvik (døde dyr er også registrert uten fluktrespons). Denne type observasjon er selvsagt meget subjektiv og er derfor bare tatt med som et supplement til dødelighetsregistreringen. Merk at hver søyle i figuren er basert på fanging av 3x10 individer (6x10 individer i kontrollgruppen), og at gruppene ble samlet i tilfeldig rekkefølge.

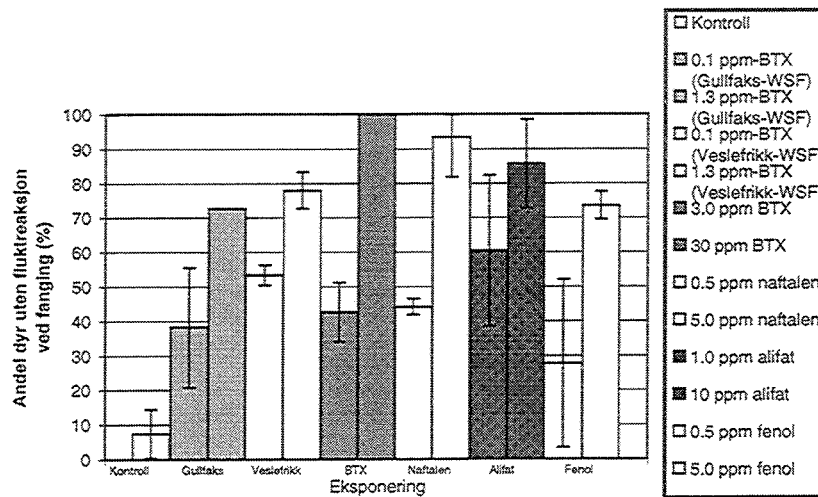


Fig. 4.1.10. Manglende fluktrespons hos *Calanus glacialis* eksponert for rene BTX-, naftalen-, alifat og fenolfraksjoner i 24 timer ved 4°C.
(Missing escape response of copepods (*Calanus glacialis*) exposed to pure BTX, naphthalenic, aliphatic and phenolic fractions during 24 hours at 4°C).

4.2 Krill

Det ble gjort eksponeringsforsøk med Veslefrikk-WSF på to krillararter, *Meganyctiphanes norvegica* og *Thysanoessa inermis*. Det ble registrert effekter på dyrenes oksygenforbruk og overlevelse.

4.2.1 Oksygenforbruk

FF 93-15

Krillen *Meganyctiphanes norvegica* ble eksponert for den vannløselige fraksjonen av Veslefrikk råolje i 24 timer ved 4°C. Det totale oksygenforbruket ble målt i forhold til blankprøver. Resultatene av oksygenmålingene gir en gjennomsnittsverdi pr. time over ett i helt døgn. Oksygenforbruket er ikke relatert til organismenes egenvekt. Resultatene er basert på åtte organsimer pr. konsentrasjon. Fig. 4.2.1 viser gjennomsnittlig oksygenforbruk pr. organisme med tilhørende standardavvik. Eksponering til 735 ppb-BTX ga økt oksygen forbruk. Halvparten av organismene var døde ved måletidspunktet. Oksygenforbruket var tilnærmet likt i flasker med døde og levende dyr. Det tyder på at de døde individene bare har vært døde i kort tid. Alle organismer i den høyeste konsentrasjonen var døde ved måletidspunktet. Det lave oksygenforbruket indikerer at dyrene døde tidlig i eksponerings forløpet. Størrelsen på standardvirket tyder på at døden intruffa nær i tid hos samtlige dyr.

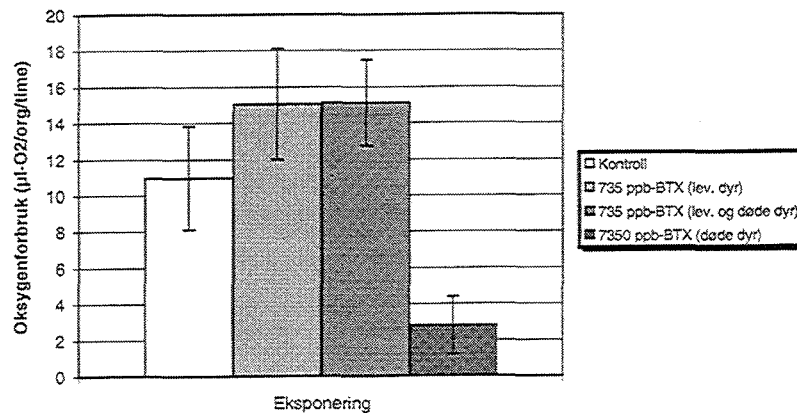


Fig. 4.2.1 Oksygenforbruk hos krill *Meganyctiphanes norvegica* eksponert for Veslefrikk-WSF i 24 timer ved 4°C.

(*Oxygen consumption of krill, Meganyctiphanes norvegica, exposed to WSF of Veslefrikk crude oil during 24 hours at 4°C*).

4.2.2 Dødelighet

FF 93-15

Krillen *Meganyctiphanes norvegica* ble eksponert for den vannløselige fraksjonen av Veslefrikk råolje i 24 timer ved 4°C. Resultatene er basert på åtte organismer per testkonsentrasjon. Fig. 4.2.2 viser at 57% av dyrene som var eksponert for 735 ppb-BTX var døde. Samtlige individer som var utsatt for 7350 ppb-BTX var døde. Disse dyrene var hvite og ugjennomsiktige, hvilket sammen med det lave oksygenforbruket (Fig. 4.2.1) er et tegn på at de har vært døde en god stund. Forsøket gir ikke nok informasjon til å tegne dose-responskurve. Den kraftige effekten allerede ved 735 ppb-BTX tyder på en bratt dose-responskurve, og LC(50)-verdien ser ut til å ligge i området rundt 700g/l. Krillen *Meganyctiphanes norvegica* ser ut til å være mer følsom for Veslefrikk-WSF enn åter og andre testede krepsdyr (*Parathemisto sp.*).

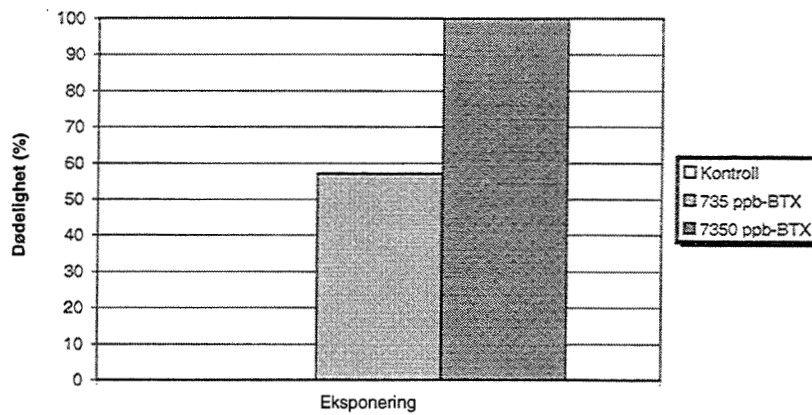


Fig. 4.2.2 Dødelighet hos krill *Meganyctiphanes norvegica* eksponert for Veslefrikk-WSF i 24 timer ved 4°C.

(Mortality of krill, *Meganyctiphanes norvegica*, exposed to WSF of Veslefrikk crude oil during 24 hours at 4°C).

FF 94-21

Krillen *Thysanoessa inermis* ble eksponert for Veslefrikk-WSF med og uten råoljelokk i 24 timer ved 4°C. Hver testgruppe besto av 14 dyr fordelt på to paralleller à sju dyr. Fig. 4.2.3 viser at 93% av dyrene som var eksponert for 4980 ppb-BTX var døde. Fig. 4.2.4 viser dose-respons-kurven for *Thysanoessa inermis* eksponert for Veslefrikk-WSF. Figuren er basert på et minimum antall punkter, men indikerer likevel at denne krillarten er i størrelsesorden dobbelt så følsom for WSF som åten *Calanus finmarchicus*.

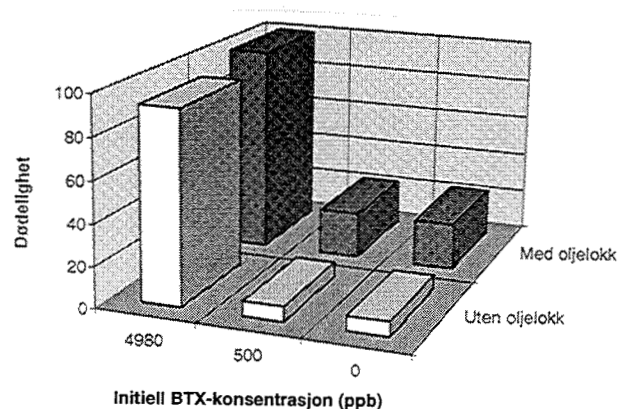


Fig. 4.2.3 Dødelighet hos krill *Thysanoessa inermis* eksponert for Veslefrikk-WSF med og uten oljelokk i 24 timer ved 4°C.

(Mortality of krill, *Thysanoessa inermis*, exposed to WSF of Veslefrikk crude oil with and without oil film during 24 hours at 4°C).

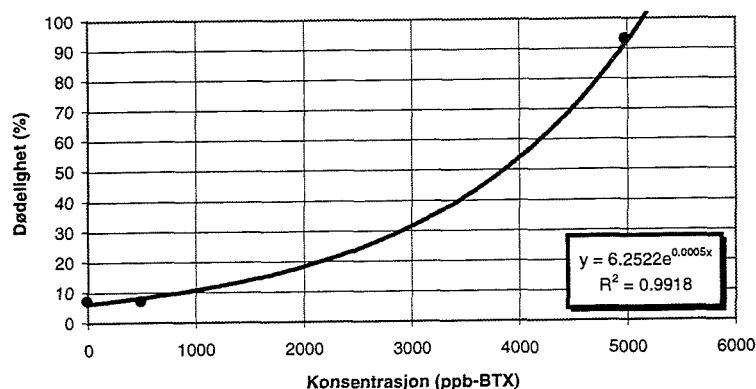


Fig. 4.2.4 Dødelighet hos krill *Thysanoessa inermis* eksponert for Veslefrikk-WSF i 24 timer ved 4°C.
(Mortality of krill, *Thysanoessa inermis*, exposed to WSF of Veslefrikk crude oil during 24 hours at 4°C).

4.3 Andre krepsdyr

Det ble gjort eksponeringsforsøk med Veslefrikk- og Gullfaks-WSF samt rene BTX-, naftalen-, alifat- og fenolfraksjoner på amfipoden *Parathemisto abyssorum*. Det ble registrert effekter på dyrenes oksygenforbruk og overlevelse.

4.3.1 Oksygenforbruk

FF 93-16

Amfipoden *Parathemisto abyssorum* ble eksponert for den vannløselige fraksjonen av Gullfaks råolje i 24 timer ved 6-8°C. Det totale oksygenforbruket ble målt i forhold til blankprøver. Resultatene av oksygenmålingene gir en gjennomsnittsverdi pr. time over ett helt døgn. Oksygenforbruket er ikke relatert til organismenes egenvekt da dyrene ble eksponert gruppevis (totalt 20 dyr av mest mulig lik størrelse per konsentrasjon fordelt på fire paralleller à 5 dyr) i 120mL BOD-flasker. Resultatene i fig. 4.3.1 viser gjennomsnittlig oksygenforbruk per organisme med tilhørende standardavvik for gruppene. Eksponering til 270 ppb-BTX ga ikke signifikant effekt på oksygenforbruket. Oksygenforbruket øker med 28% i gruppene eksponert for den høyeste konsentrasjonen på 1350 ppb-BTX. Samtlige dyr var levende ved registrering av oksygenforbruket.

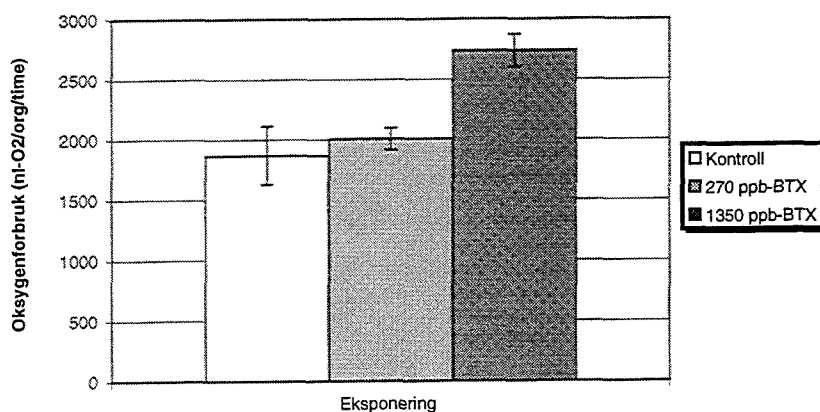


Fig. 4.3.1 Oksygenforbruk hos amfipoden *Parathemisto abyssorum* eksponert for Gullfaks-WSF i 24 timer ved 6-8°C.
 (Oxygen consumption of the amphipod *Parathemisto abyssorum* exposed to WSF of Gullfaks crude oil during 24 hours at 6-8°C).

FF 93-17

Amfipoden *Parathemisto abyssorum* ble eksponert for den vannløselige fraksjonen av Veslefrikk råolje i 24 timer ved 2-4°C. Det totale oksygenforbruket ble målt i forhold til blankprøver. Resultatene av oksygenmålingene gir en gjennomsnittsverdi pr. time over ett helt døgn. Oksygenforbruket er ikke relatert til organismenes egenvekt da dyrene ble eksponert gruppevis (totalt 20 dyr av mest mulig lik størrelse pr. konsentrasjon fordelt på fire paralleller à 5 dyr) i 120mL BOD-flasker. Resultatene i fig. 4.3.2 viser gjennomsnittlig oksygenforbruk pr. organisme med tilhørende standardavvik for gruppene. Samtlige dyr var levende ved registrering av oksygenforbruket. Eksponering til 240 ppb-BTX ga ikke signifikant effekt på oksygenforbruket, mens oksygenforbruket økte med 22% i gruppene eksponert for den høyeste konsentrasjonen på 1220 ppb-BTX. Merk den store forskjellen i totalt oksygenforbruk mellom organismegruppene holdt ved 6-8°C (FF 16-93) og 2-4°C (dette forsøket). De to forsøkene ble kjørt helt parallelt med individer fanget i samme tråltrekk.

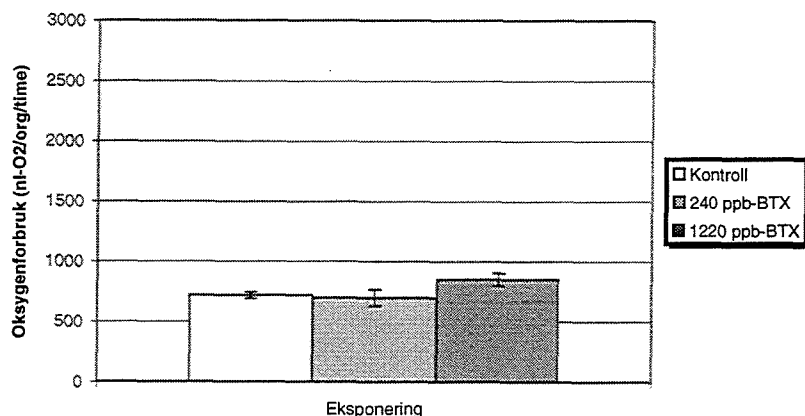


Fig. 4.3.2 Oksygenforbruk hos amfipoden *Parathemisto abyssorum* eksponert for Gullfaks-WSF i 24 timer ved 2-4°C.

(*Oxygen consumption of the amphipod Parathemisto abyssorum exposed to WSF of Gullfaks crude oil during 24 hours at 2-4°C*).

FF 93-18

Amfipoden *Parathemisto abyssorum* ble eksponert for rene BTX-, naftalen-, alifat- og fenolfraksjoner i 12 timer ved 4°C. Det totale oksygenforbruket ble målt i forhold til blankprøver. Resultatene av oksygenmålingene gir en gjennomsnittsverdi pr. time over ett halvt døgn. Oksygenforbruket er ikke relatert til organismenes egenvekt. Resultatene i fig. 4.3.3 viser gjennomsnittlig oksygenforbruk pr. organisme med tilhørende standardavvik. Eksposering til 10 ppm alifat så ikke ut til å gi signifikant effekt på oksygenforbruket. Det er en tendens til økt oksygenforbruk hos individer eksponert for 10 ppm BTX, 2 ppm naftalen og 5 ppm fenol. Materialet i dette forsøket er relativt spinkelt, likevel ser vi at det økte oksygenforbruket ved eksposering til høye konsentrasjoner av disse fraksjonene er i samsvar med observasjonene gjort på åten *Calanus finmarchicus* (FF 13-93) med unntak for den alifatiske fraksjonen. Blant de amfipodene som ble eksponert for naftalen var to av de fem dyrene døde etter 12 timers eksposering.

o

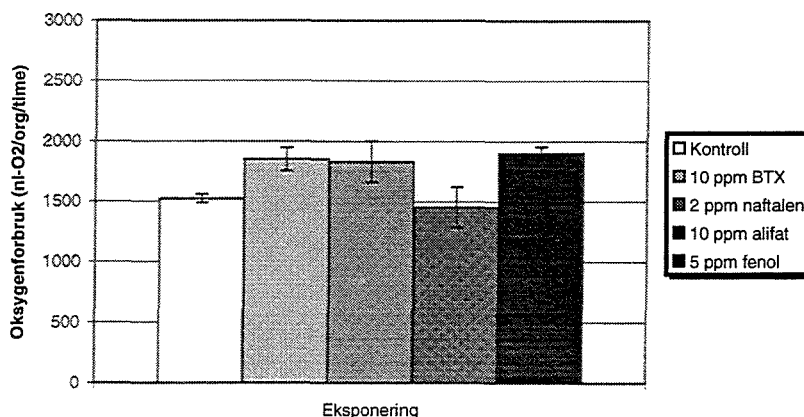


Fig. 4.3.3 Oksygenforbruk hos amfipoden *Parathemisto abyssorum* eksponert for rene BTX-, naftalen, alifat- og fenolfraksjoner.
(Oxygen consumption of the amphipod *Parathemisto abyssorum* exposed to pure BTX, naphthalenic, aliphatic and phenolic fractions).

4.3.2 Dødelighet

FF 93-16

Amfipoden *Parathemisto abyssorum* ble eksponert for den vannløselige fraksjonen av Gullfaks råolje i 48 timer ved 6-8°C. Forsøket ble kjørt med totalt 20 dyr pr. konsentrasjon fordelt på fire paralleller à fem individer. Fig. 4.3.4 viser gjennomsnittlig dødelighet med tilhørende standardavvik for gruppene. Det var relativt stor dødelighet i kontrollgruppen i dette forsøket. Likevel er det en signifikant økning i dødelighet i begge gruppene som ble eksponert for hhv. 270 og 1350 ppb-BTX.

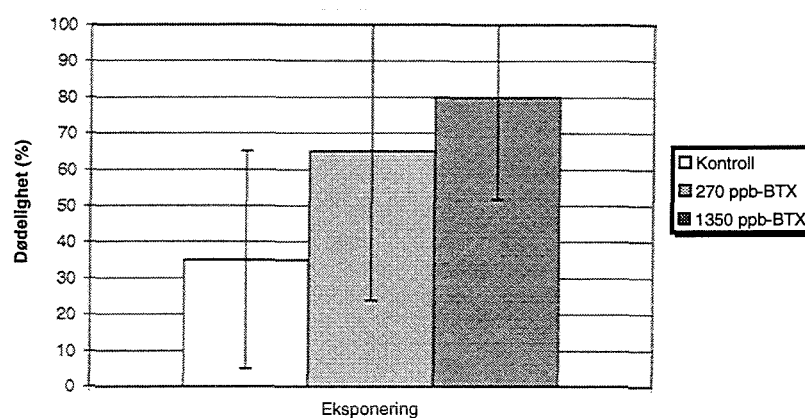


Fig. 4.3.4 Dødelighet hos amfipoden *Parathemisto abyssorum* eksponert for Gullfaks-WSF i 48 timer ved 6-8°C.
(Oxygen consumption of the amphipod *Parathemisto abyssorum* exposed to WSF of Gullfaks crude oil during 48 hours at 6-8°C).

FF 93-17

Amfipoden *Parathemisto abyssorum* ble eksponert for den vannløselige fraksjonen av Veslefrikk råolje i 48 timer ved 2-4°C. Forsøket ble kjørt parallelt med FF 16-93 med totalt 20 dyr pr. konsentrasjon fordelt på fire paralleller à fem individer. Fig. 4.3.5 viser gjennomsnittlig dødelighet med tilhørende standardavvik for gruppene. Det var lavere dødelighet både i kontrollgruppen og i eksponerte grupper i dette forsøket som ble kjørt ved lavere temperatur enn i FF 16-93. Selv om det etter 24 timers eksponering så ut til å være et økt oksygenforbruk i gruppene som ble eksponert for 1220 ppb-BTX, er det ingen signifikant økning i dødelighet i noen av gruppene som ble eksponert for hhv. 270 og 1350 ppb-BTX etter 48 timers eksponering.

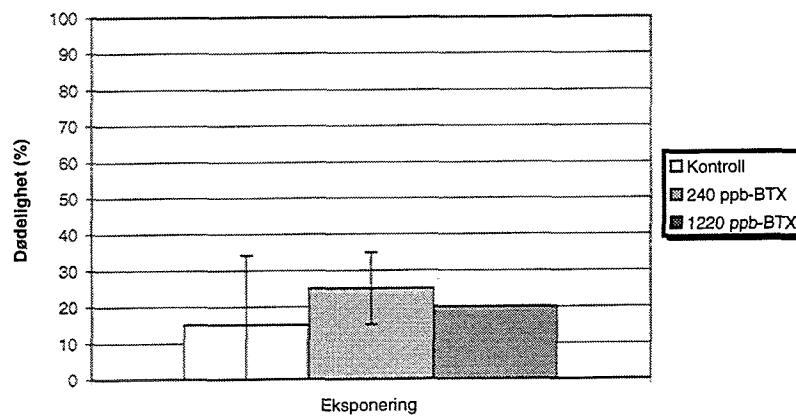


Fig. 4.3.5 Dødelighet hos amfipoden *Parathemisto abyssorum* eksponert for Veslefrikk-WSF i 48 timer ved 2-4°C.

(*Oxygen consumption of the amphipod *Parathemisto abyssorum* exposed to WSF of Veslefrikk crude oil during 48 hours at 2-4°C).*)

FF 94-20

Amfipoden *Parathemisto abyssorum* ble eksponert for den vannløselige fraksjonen av Veslefrikk råolje i 24 timer ved 4°C. Forsøket ble kjørt med totalt 16 dyr pr. konsentrasjon fordelt på to paralleller à åtte individer. En konsentrasjon på 2360 ppb-BTX ga 50% dødelighet i testgruppene.

5. TIDLIGERE UNDERSØKELSER PÅ HI

Forskningsprogram om Havforurensninger, FOH, ble etablert ved Kgl. res. av 5 mars 1976 og underlagt Miljøverndepartementet. FOH initierte en betydelig forskningsaktivitet omkring oljens oppførsel og virkning i havet. Ved HI ble det med midler fra FOH satt igang forsøk med formål å studere effekter av olje på torskelarver.

SOLBERG et al. (1982) eksponerte torsk fra eggstadiet og inntil to uker etter klekking for 50-60 og 100-200 ppb av WSF-Ekofisk råolje. Larvelengden ved klekking hos begge de eksponerte gruppene var lavere enn hos kontrollgruppen. Både fôringsevnen og oksygenforbruk til gruppen eksponert for de høyeste konsentrasjonene var redusert. De fant ikke noe effekt på hjertefrekvens eller i osmolalitet og ion sammensetning av plommemassen. Oksygenforbruket ble registrert ved 5°C og vi antar at oljeeksponeringen ble foretatt ved samme temperatur.

TILSETH et al. (1984) eksponerte torskeegg og -larver kontinuerlig fra eggstadiet for 50 og 250 ppb-WSF av Ekofisk råolje. De observerte kjevedeformiteter i nyklekte larver eksponert til 250 ppb fra eggstadiet. Oljeeksponerte larver fikk også lavere spesifikk vekt fra dag 5 etter klekking.

Larvene ble fôret med levende zooplankton. Blant larvene eksponert til 250 ppb var det færre som hadde mageinnhold, og det var lavere antall byttedyr per larve enn hos kontrollgruppen og hos de som var eksponert for 50 ppb.

Effekt av høye doser og korte eksponeringstider på larvenes fôroptak ble også studert og ga følgende resultat: Det ble ikke påvist noen effekt av eksponering til 600 ppb i en time under fôringen. Redusert fôroptak ved 4 ppm under ellers samme oppsett. Eksponering til 600 ppb i en time hadde heller ikke noen effekt på fôroptaket 24 timer senere. Larver eksponert til 4,5 ppm i en time spiste ikke da de ble overført til rent sjøvann med byttedyr. Larver eksponert for 4,1 ppm eller høyere konsentrasjoner klarte ikke å gjenoppta fôringen selv etter 24 timer i rent sjøvann.

Svømmeaktiviteten på 5-6 dager gamle larver ble observert etter eksponering til 4,5 ppm og 0.92 ppm-WSF i forholdsvis 1 time og 30 min. Både svømmehastigheten og svømmeindex (avstand svømt etter en rykning) var redusert for begge eksponerte grupper i forhold til kontrollgruppen.

Arbeidet som ble startet på HI under FOH -programmet ble fulgt opp gjennom et samarbeidsprosjekt mellom HI og Zoologisk Laboratorium, UiB, støttet av A/S Norske Shell (FYHN & TILSETH 1986). Prosjektet innbefattet både grunnforsknings- og anvendtforskningsområder. Innen grunnforskning hadde prosjektet som mål å forbedre forståelsen av utviklingsprosessen i fiskembryonen. Innen anvendtforskning skulle en identifisere eventuelle effekter av oljeeksponering på de anatomiske og fysiologiske parametre undersøkt i grunnforskningsdelen. Hovedresultatene fra dette arbeid kan summeres som følger:

Torsk fra eggstadiet og inntil 10-12 dager etter klekking ble eksponert for WSF-Statfjordolje ved ca. 50 ppb (30-150) og ca. 200 ppb (70-280) ved 5°C. Det ble ikke påvist noen effekt av konsentrasjoner opp til 280 ppb på følgende parametre: anatomi, klekkesid, klekkeprosent, osmoregulering og buoyancy (eggets flyteevne) og innhold av frie aminosyrer.

Det var redusert innhold av noen frie aminosyrer rett før klekking ved eksponering til 60-280 ppb i noen av testene, men disse resultatene er noe usikre p.g.a. temperaturvariasjoner som oppstod under forsøket. Det ble påvist en reduksjon i oksygenforbruket ved 50-280 ppb, spesielt mot slutten av plommesekkfasen. Det ble påvist effekt t.o.m. ved den laveste konsentrasjonen (50 ± 20 ppb) og den korteste eksponeringstid (24 timer) testet. Det ble også påvist redusert oksygenforbruk i "recovery" forsøk (eksponering til 230 ± 110 ppb i 10 dager før klekking + opphold av larvene i rent sjøvann i opptil 6 dager). Det ble også påvist en effekt av oljeeksponering på oksygenforbruk av små torsk (500 g) ved 100 ppb og 10°C. Der oppstod det en økning i oksygenforbruk umiddelbart etter oljetilsetning etterfulgt av en reduksjon i oksygenforbruket i ca. 5 timer før det normale nivået ble gjenopprettet (SERIGSTAD 1986).

Ved midler tilført fra daværende Olje- og energidepartementet gjennom AKUP startet et betydelig biotestprogram ved HI. SERIGSTAD (1987) brukte oksygenforbruk, hjertefrekvens og forskjellige blodparametre for å påvise effekter av oljeeksponering på torsk. Han eksponerte egg, plommesekkklarver og yngel av torsk for 50 til 264 ppb-WSF av Nordsjøråolje ved 5°C.

Hjertefrekvensen av plommesekkklarver ble ikke påvirket av oljeeksponering (230 ± 110 ppb-WSF). Blodanalyser av voksen torsk eksponert for 100 ± 20 ppb-WSF i 7 dager viste forhøyet klorid konsentrasjon i blodplasmaen og lavere hematokrit -verdier. Eksponering til opp til 260 ppb-WSF ga ikke noe utslag på oksygenforbruket hos torskeeggene. Plommesekkklarvene i kontrollgruppen viste en topp i oksygenforbruk ($150 \text{ nl O}_2 \text{ larve}^{-1} \text{ time}^{-1}$) ved slutten av plommesekkfasen (dag 6-8 etter klekking). Larver som hadde vært oljeeksponert (50-264 ppb-WSF) fra eggstadiet viste ikke en slik topp, og oksygenforbruket var redusert i forhold til kontrollen (fig 5.1).

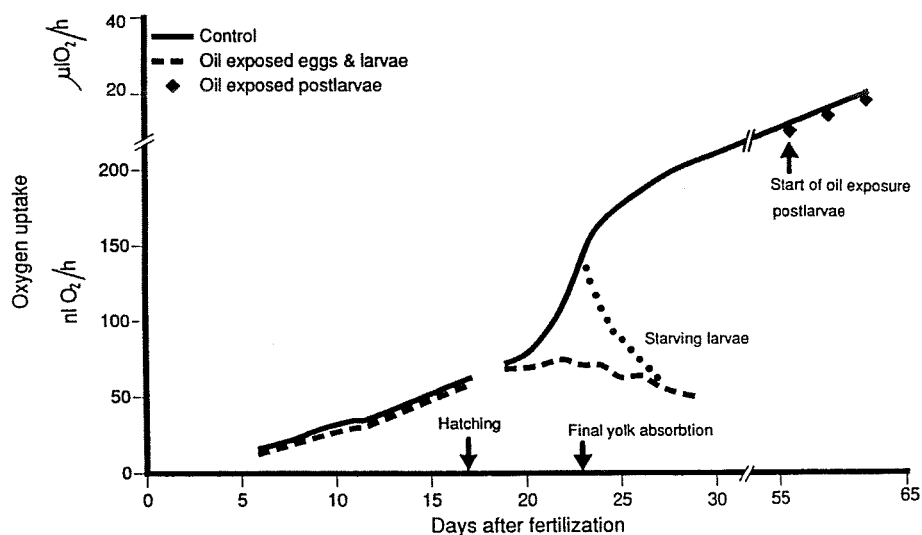


Fig. 5.1 Effekten av den vannløselige fraksjonen av råolje på oksygenforbruket hos torsk ved forskjellige livstadier ved 5°C (presentert av Serigstad et al.1991).
(Effects of the water soluble fraction of crude oil on oxygen consumption of cod at different life stages at 5°C)

Larver eksponert for 50 ppb-WSF i 24 timer viste samme reduksjon i oksygenforbruk som de som hadde vært eksponert fra eggstadiet. Slike larver viste ingen "recovery" (de kom seg ikke) selv etter 6 dager i rent sjøvann.

Oksygenforbruket av ikke eksponerte plommesekkklarver målt i mørket var på samme nivå som de oljeeksponerte. Oksygenforbruket av larver som var bedøvet (MS 222) var ca. 10% lavere, men på samme nivå for oljeeksponerte og ikke eksponerte larver.

Postlaver og yngel av torsk (5-200 mg våtvekt) som hadde vært sultet i 3 døgn og deretter eksponert for 50±20 ppb-WSF i 3-6 døgn gjennomgikk ikke noen signifikant forandring i oksygenopptak, men noen individer ble mørke.

SERIGSTAD et al. (1988) undersøkte effekter av eksponering for WSF og for boreslam på oksygenforbruket av forskjellige fiskearter. Forsøkene med fisk ble utført ved 5°C, mens i dyreplankton- og krillforsøkene var temperaturen 3-7°C.

Det ble ikke påvist noen effekt på 0-gruppe torsk (yngel under ett år gamle), 20-65 gram våtvekt, etter eksponering til 100 ppb-WSF i 7 uker ved ca. 10°C.

Det ble heller ikke påvist noen effekt på oksygenopptak eller på proteininnhold i sildelarver som hadde vært eksponert for opp til 150 ppb-WSF fra eggstadiet til 3-4 uker etter klekking ved 5°C.

Loddelarver som hadde vært eksponert for 70 ppb-WSF fra eggstadiet viste et nedsatt oksygenforbruk, mens det ikke ble påvist noen effekt under selve eggstadiet.

SERIGSTAD et al. (1988) viste videre at hoppekreps, *Calanus finmarchicus*, *C. glacialis* og *C. hyperboreus* og krill, *Thysanoessa inermis* fikk nedsatt oksygenforbruk etter eksponering for 3-5 ppm-WSF i 12 timer. Det oppstod dødelighet blant *Calanus* nauplier eksponert under samme forhold. Raudåte hunner, *Calanus finmarchicus*, eksponert for 100 ppb-WSF i 14 dager viste ingen effekt på oksygenopptak.

Forsøk med boreslam:

Testvannet inneholdt 1.33 g boreslam per liter sjøvann. Hydrokarboninnhold i testvannet var på ca. 400 ppb, derav 5% var BTX-komponenter, mens resten bestod av tyngre komponenter.

Det ble tilsatt en engangsdose med boreslam i akvariene hvor loddeeggene var plassert. Klekking i den eksponerte gruppen var noe høyere. De eksponerte larvene lå nedgravd i slammet, og svømte bare opp når de ble forstyrret, mens kontrollarvene svømte rundt i testakvariet.

Sildeegg ble befruktet i en blanding av sjøvann og boreslam, og de fikk deretter en kontinuerlig tilførsel av sjøvann/boreslamblanding i 14 dager. Det ble ikke påvist noen effekt på oksygenopptak, hverken på egg eller larver.

SERIGSTAD et al. (1990) utførte oljeeksponering på egg og larver av sei ved 5°C. Eksponering til 30 ppb-WSF fra tidlig på eggstadiet resulterte i 100 % dødelighet av larvene 2 dager etter klekking. I tillegg utsatte de seilarver for sjøvann som var hentet like under et oljeflak i området hvor "Merkantil Marica" gikk ned utenfor Haugesund. Alle disse larvene døde.

SERIGSTAD (1991) utførte forsøk med kontinuerlig eksponering av egg og larver av forskjellige marine fiskearter til den vannløselige fraksjonen av råolje. Vi har oppsummert oppsettet og resultatene av disse forsøkene i tabell 5.1.

Tabell 5.1. Effekt av kontinuerlig oljeeksponering på oksygenforbruk hos tidlige stadier av forskjellige marine fiskearter. Oppsummering av resultatene fra SERIGSTAD (1991). G og V er hhv. Gullfaks- og Veslefrikkråolje; K= kvitolje eller baseolje; o = ingen effekt påvist på oksygenforbruk; * - = påvist reduksjon i oksygenforbruk; * + = påvist økning i oksygenforbruk.

*Effect of continuous oil exposure on the oxygen consumption of the early life stages of different marine fish species. Summary of results from SERTIGSTAD (1991). G and V are Gullfaks and Veslefrikk crude oil respectively; K = base oil; o = no effect on oxygen consumption; *- = reduction in oxygen consumption; *+ = increase in oxygen consumption.*

art	temp°C	BTX (ppb)	oksygenforbruk målt i stadiet	oljetype	effekt
sild, vår	5	15±25	egg, larver	G	o
sild, høst	5	50±31	"	G	o
"	10	39±27	"	G	"marginal"
"	15	44±18	"	G	* -
"	5	230±71	"	V	o(?)
"	10	219±69	"	V	* -
"	15	209±86	"	V	* -
makrell	15	33±33	"	G	o
"	7	ca. 350	"	V	egg:o;larv:* -
"	10	ca. 350	larver	V	* - (?)
"	7	<1	egg, larver	K	o (?)
"	10	<1	larver	K	o
sei	5	75±38	egg, larver	G	o
"	8	79±43	"	G	o (?)
"	11	85±21	egg	G	o
"	5	365±214	egg, larver	V	egg:o;larv:* -
"	8	440±206	"	V	egg:o;larv:* -
"	11	296±225	"	V	o
lodde	5 (1,7)	26±24	larver	V	* + (?)
"	5 (1,7)	<1	"	K	o

I tillegg ble det utført korttids forsøk med seilarver ved 5°C. Det ble ikke påvist noen effekt på oksygenforbruk av eksponering for 470 ppb-BTX av WSF-V i 18 timer.

ELLINGSEN ET AL. (1992) utførte flere forsøk med eksponering av egg og plommeseklarver av torsk for den vannløselige fraksjonen av Gullfaks og Veslefrikk råoljene ved 5°C. De sammenlignet oksygenforbruket av oljeeksponerte vs. kontrollgrupper, og i motsetning til tidligere forsøk hvor eksponering ble utført kontinuerlig i flere døgn, fokuserte de på eksponering i opptil 24 timer.

I tabell 5.2 har vi oppsummert resultatene av disse forsøkene. Det framgår at oljeeksponering på eggstadiet ved opp til 70 ppb-BTX ikke medførte noen nedsettelse i oksygenforbruk på larvestadiet 4-15 dager senere. Det ble ikke påvist noen effekt av eksponering av larver til 10 ppb-BTX i opptil 24 timer, mens eksponering til 20 ppb i 24 timer forårsaket en nedsettelse i oksygenforbruk.

Tabell 5.2. Oppsummering av resultatene fra ELLINGSEN ET AL. (1992). Effekt av korttidseksponering til den vannløselige fraksjonen av råolje på egg og plommeseklarver av torsk. G; V og K er den vannløselige fraksjonen av forholdsvis Gullfaksråolje, Veslefrikkråolje og kvitolje eller baseolje. o = ingen effekt påvist på oksygenforbruk; * = påvist effekt på oksygenforbruk. Befr. = befruktning. Klekk. = klekking. E = eksponert på eggstadiet. L = eksponert på larvestadiet.
(Summary of results from ELLINGSEN ET AL. (1992). Effects of short time exposure to the water soluble fraction of crude oil on egg and yolk-sac larvae of cod. G; V and K are the water soluble fractions of Gullfaks crude oil, Veslefrikk crude oil and base oil respectively. o = no effect on oxygen consumption; * effect on oxygen consumption. Befr. = fertilization. Klekk. = hatching. E = exposed during the egg stage. L = exposed during the larval stage.

test gruppe	eksp.dager etter befr.	målt dager		ppb-BTX		eksponert i timer						
		befr.	klekk	V	G	0,5	1	2	4	6	12	24
T1	15 E	17	1	90			o			o		
T1	15 E	22	6	90			o			o		
T1	17 L	18	2	85		o	o	o	o	*		*
RT-T2	20 L	21	6	50								*
RT-T2	21 L	22	7	20 og 50								*
RT-T2	23 L	24	9	20 og 50								*
RT-T2	24 L	25	10	20 og 50								*
T2	18 L	19	4	10								o
T2	18 L	19	4	50								*
T2	22 L	23	8	10								o
T2	22 L	23	8	50								*
T3	6 E	17	1	40						o	o	o
T3	6 E	21	5	40						o		o
T3	6 E	17	1		50					o	o	o
T3	6 E	21	5		50					o	o	o
T3	13 E	17	1	40							o	o
T3	13 E	21	5	40						o	o	o
T3	13 E	17	1		70					o	o	o
T3	13 E	21	5		70					o	o	o
T3	17 L	18	2	10			o	o	o			
T3	18 L	19	3		70		*	*	o	o		o
T3 (X)	19 L	20	4	30			*	*	*	o		*
T3	21 L	22	6		ca. 60		*	o	*	o		o
T3	22 L	23	7	30			o	o	o	o		*

(X): dette er forsøk nr. LF 92-8 omtalt i seksjon 6.1.2

VIGRESTAD (1993) fant ikke noen effekt av kontinuerlig eksponering til 50-80 ppb-BTX ved 5; 8 og 11°C hverken på aminosyre-innhold eller på protein-innhold av torskeegg. Kontinuerlig eksponering til 50 ppb-BTX fra eggstadiet resulterte imidlertid i en reduksjon i oxygenforbruk hos plommeseckklarver ved de samme temperaturer. Han fant ikke noen effekt på plommeseckklarver ved 2 eller 4 timers eksponering til 50 ppb-BTX ved 5°C, mens oxygenforbruket var signifikant lavere både ved 6 og ved 24 timer eksponering til samme konsentrasjon. I disse forsøkene ble larvene plassert i inkubasjonskamrene med rent sjøvann i 24 timer etter avsluttet eksponering. Eksponering til 20 ppb i 24 timer ga noe usikre resultater, mens eksponering for 10 ppb ikke ga noen effekt på oxygenforbruket. Han utførte også "recovery" -forsøk hvor egg og nyklekkete larver ble eksponert for 50 ppb-BTX i 24 timer og deretter plassert i rent sjøvann. Det var fortsatt redusert oxygenforbruk 12 dager etter avsluttet eksponering i forhold til ikke eksponerte larver.

6. DISKUSJON OG KONKLUSJONER

6.1 Voksen fisk

Oksygenforbruket av voksen polartorsk økte kort tid etter oljetilsetning og falt tilbake til det opprinnelige nivået ca. 20 minutter senere. Den kritiske konsentrasjonen ser ut til å ligge mellom 11 og 23 ppb-BTX ved 8°C. SERIGSTAD (1986) registrerte en tilsvarende økning i oksygenforbruket hos torsk med en vekt på 500 gram eksponert til 100 ppb-WSF ved 10°C. Denne økningen var imidlertid etterfulgt av en reduksjon i oksygenforbruket som varte ca. 5 timer før det normale nivået ble gjenopprettet. Denne reduksjonen i forhold til det opprinnelige nivået uteble i våre forsøk med polartorsk, som ble utført ved konsentrasjoner inntil 70 ppb-BTX. Vi kan ikke av dette si noe om hvorvidt polartorsk er mer eller mindre følsom i forhold til torsk fordi vi ikke vet i hvilket konsentrasjonsområde den kritiske terskelen ligger.

Økningen i oksygenforbruket var tilknyttet en økning i aktivitet som ble visuelt observert. Det som skjer er sannsynligvis at fisken detekterer oljen i vannet og prøver å komme seg vekk, men vi vet ikke om noen metabolske prosesser er påvirket. BØHLE (1986) utførte atferdsforsøk med voksen torsk ved eksponering til Ekofisk diesel olje. Resultatene er noe variable, men han konkluderte med at voksen torsk unngår vann som inneholder ned til 50-100 ppb olje-hydrokarboner. HELLSTRØM & DØVIG (1983) observerte at voksen torsk kan detektere og reagere med "snapping action of the jaws", "hosting" og/eller økt svømmeaktivitet ved konsentrasjoner av Ekofisk diesel oil under 1ppb. I begge disse studier inneholdt testløsningene emulsjonert olje i tillegg til WSF.

Ved eksponering for høyere konsentrasjoner er effektene mer dramatiske. Atferdstudier på "sand goby" (*Pomatoschistus minutus*) viste en effekt av 0,8-1,0 ppm-WSF av Ekofisk råolje på fiskens svømmeaktivitet etter 1-2 dager eksponering. Dødelighet oppstod etter 3 dager eksponering og nådde 50% etter 6 dager. Det vanlige aktivitetsmønsteret hos fisken som overlevde ble gjenopprettet etter 1-2 dager i rent vann, selv om noen fisk fortsatt døde (BERGE et al. 1983).

6.2 Fiskeegg og -larver

6.2.1. Den vannløselige fraksjonen av råolje

I våre forsøk har vi stort sett ikke funnet noen effekt av oljeeksponering på larvenes oksygenforbruk, i motsetning til det tidligere forsøk ved tilsvarende lave BTX-konsentrasjoner har vist. Hovedgrunnen kan være at vi i vår forsøksoppsett har forsøkt å definere nøyaktige kritiske konsentrasjonsverdier og eksponeringstider. I ettertid kan det synes å være mer hensiktsmessig å snakke om kritiske konsentrasjonsområder fordi andre faktorer også spiller en rolle. Vi har for eksempel brukt skrei (nordnorsk vandrende torsk) mens det tidligere er brukt torsk fra Vestlandskysten. SERIGSTAD (1991) påviste at temperaturen også påvirker effekten av oljeeksponering registrert som avvik i oksygenforbruk.

Ved tidligere forsøk med torskeegg har det skjeldent vært påvist noen forskjell i oksygenopptak mellom de eksponerte og kontrollgruppene. Det viser seg at eggeskallene i en laboratorie- eller oppdrettsituasjon ofte er substrat for bakterier, spesielt *Leucothrix*, som kan danne lange kjeder og forbruke mye oksygen. Dette kan være en viktig feilkilde i måling av oksygenforbruk hos marine fiskeegg og bruk av denne metoden kan derfor ikke utelukke negative effekter av oljeeksponering på eggstadiet. TILSETH et al.(1984) observerte lavere vekt på larver som hadde vært kontinuerlig eksponert til 50 og 250 ppb-WSF fra eggstadiet. Ved eksponering av torskeegg til 80 ppb-BTX i en kortere og mer realistisk periode ved et tilfeldig oljeutslipp (24 timer), fant vi ikke noen effekt på vekst og overlevelse senere i larvefasen.

SERIGSTAD (1987) mente at avvik i oksygenopptak hos fiskelarver kunne ha en negativ effekt på larvenes senere utvikling og overlevelse. Vi ville teste denne hypotesen med våre startfôrings- og tilvekstforsøk. Disse forsøkene viste imidlertid ingen slike negative effekter ved de lave konsentrasjoner vi brukte.

Resultatet fra startfôringsforsøket (LF 93-4) er tilsynelatende ikke i samsvar med resultatet fra et forsøk med oksygenforbruk hvor eksponeringen ble utført ved samme vilkår (LF 92-8; ELLINGSEN et al. 1992). I begge forsøkene ble larvene eksponert i 24 timer ved tilsvarende utviklingsstadiet (dag 2-3 etter klekking), på samme temperatur (5°C) og for samme type råolje (Veslefrikk). En konsentrasjon av 65 ppb-BTX ga ikke utslag på startfôringsuksess (LF 93-4) mens 30 ppb-BTX ga utslag på oksygenforbruk (LF 92-8).

I tilvekstforsøket fra 1994 (LF 94-3) ble eksponeringen utført under samme vilkår, men oljekonsentrasjonen var noe lavere enn i forsøket som ga utslag på oksygenforbruk (23 mot 30 ppb-BTX). I dette tilvekstforsøket vokste de eksponerte larvene noe bedre enn de ikke eksponerte. Den lave konsentrasjonen kan ha påvirket bakteriefloraen i testakvariene, slik at larvene fikk bedre vekstvilkår senere i fôringsenhetene. I oppdrettsnæringen og i noen laboratorier behandler man fiskeeggene med bakterie- og soppdrepende midler rutinemessig. Behandling av kveiteegg med 400 ppm glutardialdehyd i 10 minutter resulterte i høyere vekst og overlevelse hos larvene i startfôringsfasen sammenlignet med en kontrollgruppe (HARBOE et al. 1994).

Vi kunne konkludere at en reduksjon i oksygenforbruk hos plommeseekklarver eksponert for olje ved de angitte vilkår, ikke nødvendigvis vil føre til nedsatt evne til å fange byttedyr senere i startfôringsfasen. Vi må ta forbehold om at forsøkene ble utført på forskjellige grupper og i forskjellige år og at resultatene av oksygenforbruksmålinger kan bli mindre konsekvente ved så lave konsentrasjoner. På den andre siden, i startfôringsfasen av marine fiskelarver opererer vi generelt med lave overlevelser, både i naturen og på laboratoriene, og det kan oppstå tildels store variasjoner blant forskjellige enheter i samme oppdrettsystemet.

Alle forsøk ble utført med Veslefrikk-råolje, men det kan ha oppstått forskjeller i sammensetning, slik at larvene i LF 93-4 ble eksponert til lavere konsentrasjoner av en eller flere giftige komponenter som kan finnes i WSF i lave konsentrasjoner og som vi ikke har analyser for. Ved å sammenligne BTX-sammensetningen i de to forsøkene ser vi at konsentrasjonen av hver av BTX-komponentene var høyere i startfôrings- enn i oksygenforbruksforsøket (fig. 6.1a). Samtidig ser vi at den relative sammensetningen var annerledes og at andelen benzen var større i oksygenforsøket (fig. 6.1b). Over tid kan det oppstå variasjoner i sammensetning av råolje som stammer fra samme brønn, men lagringstiden av råoljen kan også ha en effekt. Råoljen som ble brukt i 1994 var nylig ankommet, og der ser vi at både det relative og det absolutt xyleninnholdet var høyest i LF 94-3. Volumforholdet sjøvann : råolje ved tillaging av stamløsning spiller også en rolle for den relative sammensetningen (SHIU et al. 1990).

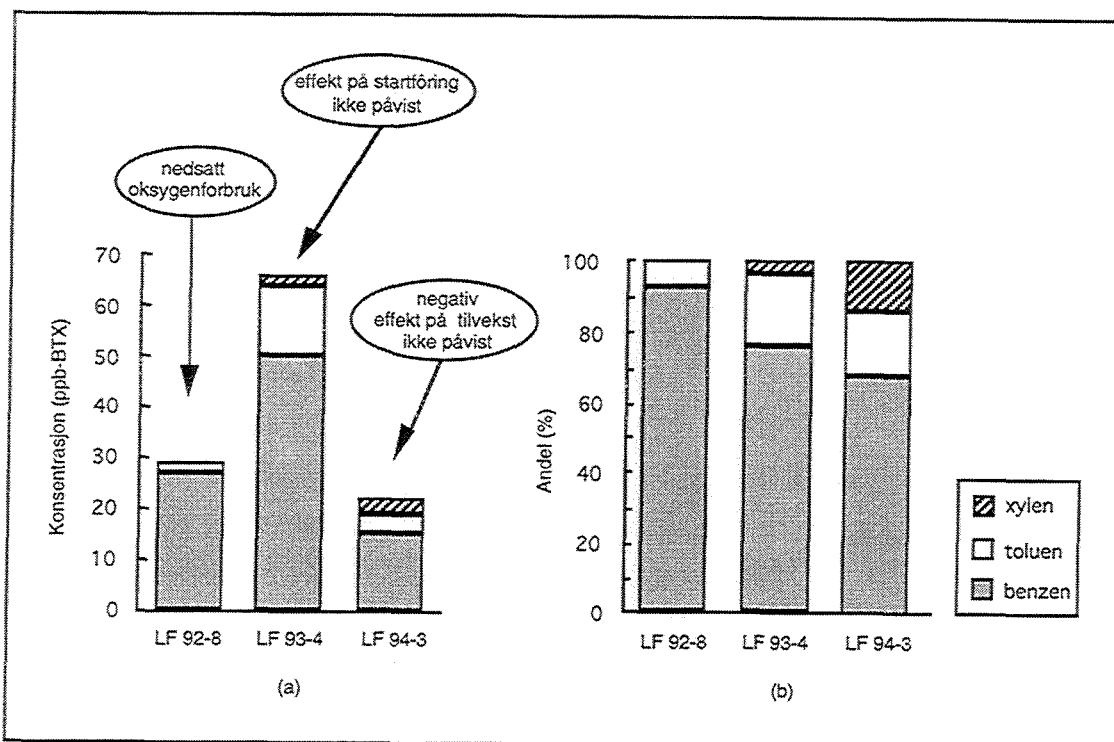


Fig. 6.1. BTX-konsentrasjoner (a) og -relativ sammensetning (b) av oljeløsningene brukt i tre utvalgte forsøk utført med torskelarver i 1992 (LF 92-8), 1993 (LF 93-4) og i 1994 (LF 94-3). Eksponering for WSF-V i 24 timer ved dag 2-3 etter klekking ved 5°C.

Alle disse momentene tilsier at vi helst bør forholde oss til kritiske konsentrasjonsområder istedenfor å forsøke å definere en eksakt terskel -konsentrasjonsverdi. Basert på våre og tidligere forsøk kan vi si at det kritiske konsentrasjonsområdet for plommesekkklarver av torsk, ved en realistisk eksponeringsperiode på et døgn, er fra 20 til 90 ppb-BTX.

6.2.2 Fenoler

I tillegg til BTX-komponenter inneholder råolje bl.a. små mengder fenoler, vanligvis under 0,1 % i vekt, mens konsentrasjonene vil være høyere i den vannløselige fraksjonen (WESTRHEIM & PALMORK 1986). Fenolene fordampes raskt og deres konsentrasjon vil avta raskt i situasjoner der oljeflaket på vannoverflaten mangler og fordampingen derved kan skje uhindret. Vannet som slippes ut kontinuerlig ved oljeplattformene i produksjonsfasen inneholder også fenoler. Analysene av produsert vann som var simulert med reservoarvann fra Njord feltet på Haltenbanken viste fenolkonsentrasjoner på 500 ppb (ANON. 1991 referert av ANON. 1995).

Det er vist at konsentrasjonen av fenoler i WSF av to forskjellige råoljer (Prudhoe Bay og Cook Inlet) varierte mellom 40 og 70 ppb ved henholdsvis 3 og 96 timer etter tillaging, og tilsvarte 1-5% av de totale aromatiske hydrokarbonene (KORN et al.1985). WESTRHEIM & PALMORK (1986) rapporterte høyere fenolkonsentrasjoner i stamløsninger laget med Statfjord råolje (opptil 400 ppb), noe som utgjorde fra 1 til 9 % av den totale vannløselige fraksjonen. Disse stamløsningene ble brukt i forsøkene rapportert i FYHN & TILSETH (1986) og i SERIGSTAD (1986) omtalt i kapittel 5.

I våre forsøk ble det påvist en effekt på oksygenforbruket hos plommeseckklarver av torsk ved kontinuerlig eksponering i 5 døgn ved konsentrasjoner ned til 25 ppb-fenoler. Eksponering i inntil 2 døgn derimot påvirket ikke oksygenforbruket ved konsentrasjoner av opptil 500 ppb-fenoler.

Fotoksydasjon av oljekomponenter nær havoverflaten kan produsere fenoler i tillegg til peroxyder og andre toksiske komponenter (LARSON et al. 1977). Fenoler kan også dannes ved mikrobiologisk nedbrytning av aromatiske hydrokarboner.

6.2.3 om opptak av oljekomponenter i vevene

I toksikologi av ikke akvatiske organismer snakker man om doser inhalert eller spist. I akvatisk toksikologi har vi organismer som blir eksponert til en toksisk substans løst i vann i en viss konsentrasjon og i en viss tid. Opptaket av den toksiske substansen kan variere mye avhengig av art, stadie, substansen, tilstedeværelse av andre substanser, temperatur, osv. I litteraturen er det sjeldent det refereres til konsentrasjonene i organismenes vev. Et unntak er CARLS & RICE (1988), som eksponerte egg og larver av walleye pollock (samme familie som torsk) for WSF av Cook Inlet råolje. De fant at larvene bioakkumulerte mer toluen og naftalen enn embryoene inne i eggene, dvs. at larvene får i seg større doser enn eggene under samme konsentrasjon.

SOLBAKKEN et al. (1984) studerte opptaket og utskylling av 3 aromatiske hydrokarboner hos egg og plommeseckklarver av torsk og fant at akkumulerings- og utskyllingsratene varierer med komponentens molekylærvækt og dens vann- og fettløselighet. Ved korttidseksponering av egg akkumuleres disse komponenter i plommemassen og blir overført til larvene etter klekking. Opptaksraten var høyere hos plommeseckklarvene enn hos egg, og større larver som hadde brukt opp plommemassen både akkumulerte og skylte ut raskere enn plommeseckklarver.

6.3 Hoppekreps (Copepoda)

Våre akutt -toksisitets tester viste at 24 timers LC_{50} verdien for *Calanus finmarchicus* er 7 ppm-BTX av WSF-V ved 4°C og at de første larvestadiene ikke er mye mer sårbare (24 timers $LC_{50} > 5,6$ ppm) her ser vider bort fra observasjonene som tilkjenner nedsatt aktivitet. Disse konsentrasjonene er vesentlig høyere enn det letale konsentrasjonsområdet av vannløselige hydrokarboner for fisekegg og -larver (0,1 til 1 ppm; CRADDOCK 1977).

Noen av forsøkene rapportert i seksjon 4 indikerer enda høyere LC_{50} -verdier for rene BTX -blandinger. Dette tyder på at det kan finnes komponenter i WSF-V bortsett fra benzen, toluen, xylen og etylbenzen som er ansvarlige for den differansen i toksisitet. Vi må imidlertid ta forbehold for mulige metodologiske eller analytiske forskjeller mellom forsøkene.

Resultatene fra våre forsøk med oksygenforbruk hos copepodene *Calanus finmarchicus*, *C. glacialis* og *C. hyperboreus* er ikke helt konsekvente, men de viser også høyere terskelverdier enn hos fiskelarver. I de aller fleste forsøk har vi relatert oksygenforbruket per vektenhet til kroppsvekten, dersom større organismer forbruker mindre oksygen per vektenhet sammenlignet med mindre individer. Vi antar at det må være andre faktorer som har stor innflytelse på oksygenforbruket hos disse organismer. Fettreservene kan utgjøre en stor og veldig variabel andel av kroppsvekten. Å utelukke fettandelen når en forholder oksygenforbruk til kroppsvekten ville muligens gi bedre korrelerte data.

Vi fant ikke noen konsekvente effekter av konsentrasjoner opp til 300 ppb-BTX av WSF-V og 1000 ppb fenoler på oksygenforbruket av *C. finmarchicus*, men det ble observert nedsatt aktivitet ved eksponering til 3000 ppb-BTX av WSF-G. Buttino (1994) observerte en reduksjon i eggproduksjon hos den calanoide copepoden *Acartia clausi* etter eksponering til 500 ppb - fenoler i 10 dager.

Hos *C. glacialis* var det en reduksjon i oksygenforbruk ved eksponering til 1000 ppb-BTX i 12 timer, men ikke ved 200 ppb i 12 timer eller ved 500 ppb i 24 timer. Imidlertid så vi i to av forsøkene en tendens til lavere oksygenforbruk hos endel av de minste individene som var eksponert til 130 og 580 ppb-BTX. I tillegg ble det observert nedsatt aktivitet ved 1300 og 2600 ppb og ca. 90 % dødelighet ved 7300 ppb. Den siste observasjonen stemmer med våre LC_{50} data for *C. finmarchicus*.

Våre data tyder på at *C. finmarchicus* og *C. glacialis* ligger omtrent på samme nivå når det gjelder følsomhet for olje (oksygenforbruk) og bekreftet sårbarhet (dødelighet). Vi kan ikke uttale oss om *C. hyperboreus* fordi de ble eksponert ved lavere konsentrasjoner uten at det oppstod noen effekt på disse parametre (opp til 170 ppb).

VARGO (1981) studerte effektene av lave konsentrasjoner av "oil-in-water dispersion of No. 2 fuel oil" på respirasjons- og ekskresjonsrater av zooplankton i MERL -mikrokosmos forsøkene (Marine Ecosystems Research Laboratory i Rhode Island). De mest tallrike zooplankton artene i disse systemer var copepodartene *Acartia clausi* og *A. tonsa*.. Respirasjons- og ekskresjonsratene var "irreversible" påvirket ved 180 ppb men ikke ved 90 ppb. Ratene var høyere og lavere enn i kontrollgruppen ved henholdsvis den høye og den lave konsentrasjonen. Disse to artene var mer tolerante for olje enn andre arter i dette systemet, og de ble mer tallrike i de eksponerte- enn i kontrollgruppene som følge av økningen i planteplanktonproduksjon som oppstod etter oljetilsetningene.

6.4 Krill

Vi fant ikke noe statistisk signifikant effekt av oljeeksponering på oksygenforbruk av småkrill, *Thysanoessa inermis*, ved konsentrasjoner på opp til 500 ppb-BTX av WSF. Konsentrasjonen for 24 timers LC₅₀ ligger rundt 5 ppm, men denne siste verdien er basert på et enkelt forsøk med få konsentrasjoner.

LC₅₀ verdien for storkrillen, *Meganyctiphanes norvegica*, (også basert på få punkter i et enkelt forsøk) er mye lavere, rundt 700 ppb. Det var ikke noe statistisk signifikant effekt på oksygenforbruk ved konsentrasjoner opp til 135 ppb, men det var en tendens til nedsatt oksygenforbruk blant de minste individer eksponert til 80 og 135 ppb. Denne tendensen har vi også merket i noen av forsøkene med copepoder.

Resultatene fra disse forsøk sett under ett tyder på at den kritiske terskelen for krill, både for følsomhet (basert på oksygenforbruk) og sårbarhet (basert på dødelighet), ligger ved lavere BTX-konsentrasjoner enn hos copepoder, men noe høyere enn hos fiskelarver. Disse resultater korreleres positivt med vår erfaring i håndtering av disse organismene i laboratorium, hvor krillen har vært noe lettere å håndtere enn fiskelarver, men mindre hardføre enn copepodene.

6.5 Andre krepsdyr

Våre resultater viser at både *Parathemisto abyssorum* og *P. libellula* er mer sårbare for oljeforurensning enn *Calanus* -artene og at de kan sammenlignes med krill. Oksygenforbruket av *P. abyssorum* ble påvirket ved konsentrasjoner ned til 70 ppb-BTX av WSF-V og enkelte dødelighetsdata tyder på at *P. libellula* er mer sårbar. Det var ingen dødelighet hos *P. abyssorum* etter eksponering til 1,4 ppm-BTX av WSF i 24 timer, mens det var 40 % dødelighet blant *P. libellula* ved 1,3 ppm.

Det ser ut til å være store forskjeller i sårbarhet mellom forskjellige arter av gruppen Gammaridea. I vårt forsøk med gammarider var det 100% dødelighet ved eksponering til 1,8 ppm BTX-WSF i 24 timer, mens 96 timers LC_{50} verdien for *Gammarus oceanicus*, også en arktisk gammarid, var på ca. 20 ppm-WSF (beregnet fra data i AUNAAS et al. 1990).

6.6 Generelt

6.6.1 Om oljetyper testet

Ved HI-UiB i over en tiårsperiode har en testet råoljer fra Ekofisk, Gullfaks, Statfjord og Veslefrikk feltene i Nordsjøen. Sammensetningen av Statfjordolje kan variere i stor grad siden den er en sammensetning av flere mindre brønner i området, bl.a. Veslefrikk (Bjørn Kåre Viken, Statoil, pers.com.). Alle disse er av den såkalte gruppe 2, "lette oljer" som raskt kan danne emulsjon i sjøvann som blir spredd og nedblandet i vannmassene i løpet av tre-fire dager. Mange av oljene i gruppe 2 vil ved lave temperaturer (ned mot 5°C) oppføre seg som gruppe 4, dvs. "tunge oljer" og dermed vil de fordampe sakte og knapt danne vann-og-olje emulsjon (ITOPF 1987 referert av BØRRESEN 1993).

6.6.2 Om konsentrasjoner av oljekomponenter i sjøen

Det finnes stor variasjon blant konsentrasjonsverdiene av vannløselige oljekomponenter som er rapportert etter forskjellige oljeutslipp. HOWARTH (1989) påpekte at mesteparten av dataene om konsentrasjoner av oljehydrokarboner i sjøen stammer fra fluoresensmålinger og at de er utilstrekkelige for å kvantifisere aromatiske hydrokarboner. Forøvrig er informasjonen om konsentrasjonene ved oljuhull sparsom pga. forskjellige operasjonelle årsaker. En stor andel av den vannløselige fraksjonen fordampes raskt, mens prøvetaking i de berørte områdene har ofte startet flere dager etter at oljeutslippet var avsluttet. Kontaminering av prøvetakingsutstyret idet det trenger gjennom oljeflaket er ofte årsak til at vannprøven også blir kontaminert når den tas ut, og slike data blir forkastet.

HOWARTH (1989) refererer til rapporterte konsentrasjonsverdier mellom 0,35 og 88 ppb av utløste aromatiske hydrokarboner for Nordsjøen siden starten av oljeproduksjonen, med gjennomsnittsverdier på ca 5 ppb og høyere konsentrasjoner i nærheten av oljeplattformer. Disse verdiene er veldig høye sammenlignet med data fra andre rapporter, og det tyder på at det kan dreie seg om betydelige metodologiske forskjeller.

Seks dager etter Exxon Valdez-ulykken ble det funnet BTX-konsentrasjoner opp til 2 ppb (referert av BØRRESEN 1993). I forbindelse med "Braer" forliset ved Shetland i januar 1993 ble det utført endel analyser ved HI. WESTRHEIM & FONN (1993) fant ingen spor av BTX-komponenter ved gasskromatografi i prøver tatt i de øvre 50 meter i havariområdet 13-18 dager etter forliset. Imidlertid ble det målt forhøyede verdier av aromatiske hydrokarboner opp til 5 måneder etter Argo Merchant forliset på Georges Bank i 1976, hvor det også ble rapportert om økt dødelighet av egg av torsk og pollock i samme område (HOWARTH 1989).

Etter et eksperimentelt utslipp av Statfjord råolje på Haltenbanken i 1982 ble det målt opp til 90 og 20 ppb hydrokarboner på 1 meter dyp, henholdsvis 10 og 170 timer etter utslippet (ANON. 1984), mens konsentrasjonene av aromatiske hydrokarboner var under 2 ppb. Disse målingene ble ikke tatt direkte under oljeflaket, men i områder hvor oljeflaket hadde passert (KLUNGSØYR et al. 1983).

Under Ekofisk Bravo utblåsningen i 1977 ble det målt opp til 300 ppb totale ekstraherbare hydrokarboner derav opp til 8 ppb aromatiske forbindelser (GRAHL-NIELSEN, WESTRHEIM & WILHELMSSEN 1977). JOHANSEN 1982 (referert av BØRRESEN et al. 1988) rapporterte 100 ppb nedblandet olje ved 5 m dyp og 300 ppb rett under oljeflaket av nylig utløst Ekofisk råolje.

Konsentrasjonen av de lette aromatiske hydrokarboner i vannsøylen kan bli forhøyet ved bruk av oljedispergeringsmidler. I et eksperimentelt oljeutslipp utført i arktiske farvann fant man 75 ppb-BTX ved 10 m dyp 6 timer etter utslipp av dispergert råolje, mens det ikke ble funnet noen hydrokarboner under 1 m dyp etter en tilsvarende utslipp av ren råolje (HUMPHREY et al. 1987).

I isfylte vann vil isflakene virke som en barriere og begrense spredningen av et oljesøl. Den reduserte spredningen ville øke tykkelsen på oljefilmen i forhold til en situasjon på åpent vann og dermed redusere fordampningen. Fordampningsgraden 3-4 dager etter to forskjellige eksperimentelle oljeutslipp var ca. 20 % i en situasjon med høy isdekningsgrad mot ca. 40 % i åpent vann (henholdsvis MIZ-93 utslippet mellom Bjørnøya og Hopen, og Haltenbanken-89; SØRSTRØM et al. 1994).

De kritiske konsentrasjonsverdier av den vannløselige fraksjonen av råolje for flere pelagiske organismer og stadier er nå fastsatt og det finnes også tilstrekkelig informasjon om disse organismenes fordeling i tid og sted. For å kunne modellere skadeeffekter på disse organismer på populationsnivå ved potensielle oljeutslipp ville det trenge et nøyere kartlegging av reelle konsentrasjoner av disse komponenter i feltet. En bedre standardisering av metoder og prosedyrer fra prøvetaking til analyse kunne gjennomføres for eksempel ved eksperimentelle oljeutslipp i de aktuelle områder.

De fleste av de ovenfor rapporterte konsentrasjonsverdier av vannløselige komponenter ved oljeutslipp er lavere enn de konsentrasjoner som er kritiske for dyreplankton og for fiskeegg og -larver. Disse organismer kunne imidlertid bli utsatt for skadelige doser av disse komponenter enten ved en økning i konsentrasjonene eller ved en økning i eksponeringstiden. En økning i konsentrasjonen av de vannløselige komponenter kan forekomme over korttid ved bruk av dispergeringsmidler, mens eksponeringstiden ville øke i polare områder pga. den lavere fordampningsraten.

Produsert vann representerer et kontinuerlig utslipp av bl.a. vannløselige komponenter av råolje, men med dagens teknologi er det ikke mulig å rense for disse komponentene i vannet som slippes ut (ANON. 1993a). Konsentrasjonene av disse komponentene i produsert vann ved utslippstedet kan variere mye fra felt til felt. Analysene av simulert produsert vann fra Njord feltet viste et innhold på i overkant av 100 ppm BTX (ANON. 1991 referert av ANON. 1995).

6.6.3 Om utvalg av organismegrupper og parametere

I en gradering av sårbarheten av forskjellige grupper av marine organismer for vannløselige hydrokarboner er det fiskeegg og -larver som stiller høyest med et dødelig konsentrasjonsområde på 0,1-1 ppm. De er etterfulgt av pelagiske og bentiske krepsdyr (1-10 ppm), voksen fisk (5-50 ppm) og snegler og skjell (5-500 ppm; CRADDOCK 1977).

Våre resultater er i overensstemmelse med denne skalaen og viser at *Calanus* -artene vi undersøkte er mer hardføre enn fiskelarver i møte med oljeforurensning. For øvrig er vår erfaring at disse hoppekrepsartene tåler mekanisk belastning mye bedre enn marine fiskelarver. For eksempel er de levedyktige etter innfangning med vanlige plantkonredskaper, mens fiskelarver i samme størrelse skjeldent ville overleve.

Vi stiller oss derfor kritiske til bruket av den calanoide copepodarten *Acartia tonsa*, som er enda mer hardføre enn våre *Calanus* -arter, i testing av substanser som er potensielt toksiske for det marine miljøet. En annen art som ofte er brukt i toksisitetstester er den planktoniske mikroalgen *Skeletonema costatum*. Veksten av denne diatomeen stoppet ved eksponering til 7 ppm-WSF først etter 4 dager (ØSTGAARD et al. 1984). Vi kan betrakte denne arten som relativt resistent mot oljepåvirkning når vi sammenligner med effekter av olje på fiskelarver.

LC₅₀ har vært den mest brukte tilnærming for å beregne effektene av oljeforurensningen i havet. I U.S.A. (Minerals Management Service) bruker man en tidobbel "sikkerhets faktor" for 96h LC₅₀ verdiene (DEPARTMENT OF INTERIOR 1985, sitert av HOWARTH 1989), og dermed forutsetter en at oljekonsentrasjoner som er 1/10 av LC₅₀ verdiene ikke vil forårsake økologisk skade. Subletale effekter av forurensning med olje og oljehydrokarboner på marine organismer omfatter forandringer i atferd, i veksthastighet og i forplantningsevne, noe som kan forekomme ved konsentrasjoner på 1/1000 av de typisk rapporterte LC₅₀ verdiene (HOWARTH, 1989). Det er derfor behov for å undersøke disse subletale effekter og det er ønskelig å utvikle metoder som er både sensitive og som lar seg gjennomføre rutinemessig.

Oljeeksponeringen kan påvirke flere av organismenes fysiologiske prosesser som bl.a. kan medføre forandringer i oksygenforbruk. I litteraturen er det rapportert både om økning og om reduksjon i oksygenforbruk som resultat av oljepåvirkning. Dette kan virke noe forvirrende, men SERIGSTAD (1986) påviste ved kontinuerlig registrering av oksygenforbruket at begge reaksjoner kan oppstå hos en og samme organisme (små torsk) på forskjellige tidspunkter under oljeeksponering. De fleste data om oksygenforbruk av marine organismer ved oljeeksponering er gjennomsnittsverdier over en tidsperiode, ofte opp til 24 timer. Dette gjøres fordi det ville være teknisk meget vanskelig å registrere oksygenforbruket kontinuerlig eller å utføre gjentatte målinger på små organismer under selve eksponeringen. Disse målingene kan maskere effekter som f.eks. en økning i oksygenforbruk etterfulgt av en reduksjon i forhold til det normale nivået. Dette kan også forklare at oljeeksponering kan resultere i redusert oksygenforbruk ved en konsentrasjon, og økt forbruk ved en høyere konsentrasjon, alltid i forhold til kontrollgruppen og i samme organismegruppe.

Resultatene fra våre forsøk med krepsdyr, hvor vi brukte oksygenforbruk -metoden, var ikke alltid konsekvente. Det kan forekomme variasjoner i basemetabolisme hos disse gruppene f.eks. ved forskjellige ernæringstilstander, ved skallskifte eller rundt vinterdvalen. Disse kan forårsake betydelige variasjoner i oksygenforbruk, noe som kunne maskere eventuelle effekter av oljeeksponering på oksygenforbruket.

Med fiskelarver kan vi derimot sikre mer homogene testgrupper, ved kunstig befruktning av egg fra en enkel hunnfisk og videre dyrkning under like betingelser. Oksygenforbruk -metoden har generelt gitt konsekvente resultater med slike grupper, mens det har vært mer "støy" i forsøk med larvegrupper som stammer fra naturlig gyting av flere hunnfisk.

Vi mener at måling av avvik i oksygenforbruk er en brukbar metode for å bestemme følsomheten til marine fiskelarver for olje, fordi metoden har vist seg å være både sensitiv og tidseffektiv. Den ville sannsynligvis også være egnet til å teste for toksisiteten av andre substanser. I tillegg er det vesentlig å undersøke parametre av påvist økologisk betydning for de første livstadiene av marine fiskearter (som f.eks. startfôringsuksess og overleving). Tolkningen av resultatene av forsøk med disse parametre krever færre forutsetninger enn de som er basert på rene anatomiske eller fysiologiske parametre. Slike forsøk er ressurskrevende og burde brukes mest til validering av andre metoder som kan anvendes rutinemessig, som f.eks. avvik i oksygenforbruk.

7. LITTERATUR

- ANON. 1984. Eksperimentel oljeutslipp Haltenbanken 1982. *Forskningsprogram om Havforurensninger*. Miljøverndepartementet. Oslo.
- ANON. 1991. *Njord resevoir formation water analysis*. D.B. Robinson Research Ltd.
- ANON. 1993 a. *OLF Miljøprogram. Fase II. Sammendragsrapport*. Oljeindustriens Landsforening.
- ANON. 1993 b. *Water quality -Determination of the inhibition of the mobility of Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea)- Acute toxicity test*. International Organization for Standardization.
- ANON. 1995. *Njord. Konsekvensutredning*. Norsk Hydro. Oslo. 66 pp.
- AUNAAS, T., OLSEN, A. & ZACHARIASSEN, K.E. 1991. The effects of oil and oil dispersants on the amphipod *Gammarus oceanicus* from Arctic waters. P. 619-630 in SAKSHAUG, E. HOPKINS, C.C.E. & ØRITSLAND, N.A. ed. *Proceedings of the Pro Mare Symposium on Polar Marine Ecology*, Trondheim, 12-16 May 1990. *Polar Research* 10 (2).
- BERGE, J. A., JOHANNESSEN, K. I. and L. REIERSEN. 1983. Effects of the water soluble fraction of north sea crude oil on the swimming activity of the sand goby, *Pomatoschistus minutus* (Pallas). *J. Exp. Biol. Ecol.* 68: 159-167.
- BOOMAN, C., FOLKVORD, A. and HUNTER, J. R. 1991. Responsiveness of starved Northern anchovy *Engraulis mordax* larvae to predatory attacks by adult anchovy. *Fish. Bull., U.S.* 89: 707-711.
- BØHLE, B. 1986. Avoidance of petroleum hydrocarbons by the cod (*Gadus morhua*). *FiskDir. Skr. Ser. HavUnders.* 18:97-112.

- BØRRESEN, J. A., CHRISTIE, H. and AASERØD, M. I. 1988. Åpning av Barentshavet Syd, Troms II, Troms III og sydlig del av Finnmark Vest for petroleumsvirksomhet. Konsekvensutredning. *Olje- og Energidepartementet*. Oslo.
- BØRRESEN, J. A. 1993. *Olje på havet..* Ad Notam Gyldendal AS, Norway.
- BUTTINO, I. 1994. The effect of low concentrations of phenol and ammonia on egg production rates, fecal pellet production and egg viability of the calanoid copepod *Acartia clausi*. *Marine Biology* 119: 629-634.
- CARLS, M. G., and RICE, S. D. 1988. Sensitivity differences between eggs and larvae of walleye pollack (*Theragra chalcogramma*) to Hydrocarbons. *Marine Environmental Research* 26: 285-297.
- CRADDOCK, D. R. 1977. Acute toxic effects of petroleum on arctic and subarctic marine organisms. P. 1-93 in MALIN, D. C. ed. *Effects of Petroleum on Arctic and Subarctic Marine Environments and Organisms*. 321 pp. Academic Press, New York.
- DEPARTMENT OF INTERIOR. 1985. Final Environmental Impact Statement, North Aleutian Basin Lease #92. *Bureau of Land Management*, U.S.
- ELLINGSEN, T., VIGRESTAD, A. and FØYN, F. 1992. Veslefrikk og Gullfaks råoljer. Effekter på torskeegg og -larver ved kort eksponeringstid til lave konsentrasjoner av vannløselig fraksjon. *Havforskningsinstituttet, senter for marint miljø (HSMM), seksjon Kjemisk oseanografi*. 14: 26 pp.
- FRANK, K. T., and LEGGETT, W.C. 1982. Environmental regulation of growth rate, efficiency, and swimming performance in larval capelin (*Mallotus villosus*), and its application to the match/mismatch hypothesis. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 39: 691-699.
- FRIDGEIRSSON, E. 1978. Embryonic development of five species of gadoid fishes in Icelandic waters. *RIT Fiskideildar* (Reykjavik) 5, 6: 68 pp.
- FYHN, H. J., and TILSETH, S. 1986. *Fish Larval Physiology and Anatomy - Basic Research and Effects of Oil*. A cooperative research project between University of Bergen and Institute of Marine Research, supported by A.S. Norske Shell.: University of Bergen. 328 pp.

- GESAMP (IMO/FAO/UNESCO/WMO/IAEA/UN/UNEP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution). 1993. *Impact of oil and related chemicals on the marine environment*. IMO, London.
- GRAHL-NIELSEN, O., WESTRHEIM, K. & WILHELMSSEN, S. 1977. Determination of petroleum hydrocarbons in the water. P. 3.1-3.13 in *The Ekofisk Bravo blow out . Compiled Norwegian Contributions*. ICES C.M. 1977 / E:55
- HELLSTRØM, T. & DØVING, K.B. 1983. Perception of diesel oil by cod (*Gadus morhua* L.). *Aquatic Toxicology* 4: 303-315.
- HARBOE, T. , HUSE, I. and ØIE, G. 1994. Effects of egg disinfection on yolk sac and first feeding stages of halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae. *Aquaculture* 119: 157-165.
- HOWARTH, R. W. 1989. Determining the Ecological Effects of Oil Pollution in Marine Ecosystems. P. 69-97 in LEVIN, S.A., HARWELL, M.A., KELLY, J.R. and KIMBALL, K.D. eds. *Ecotoxicology: Problems and Approaches*. 547 pp. Springer-Verlag, New York.
- HUMPHREY, B., GREEN, D.R., FOWLER, B.R., HOPE, D. and BOEHM, P.D. .1987. The fate of oil in the water column following experimental oil spills in the Arctic marine nearshore. *Arctic* 4 (Supp. 1): 124-132.
- ITOPF (THE INTERNATIONAL TANKERS OWNERS POLLUTION FEDERATION). 1987. *Response to marine oil spills*. Witherby & Co Ltd, London.
- JOHANSEN, Ø. 1982. Drift of submerged oil at sea. *Institutt for Kontinentalsokkelundersøkelser*. Trondheim.
- JOHNSON, S.A., SMITH, A.T., BRENDEHAUG, J., RIKSHEIM, H. and GJØSE, A.L. 1994. Identification of sources of acute toxicity in produced water. *Second International Conference on Health, Safety & Environment in Oil & Gas Exploration & Production*: paper no. SPE 27138. Jakarta, Indonesia 25-27 Jan. 1994.

- KLUNGSØYR, J., and SERIGSTAD, B. 1992. Giftighetstesting av utslippsvann fra Ekofisktanken. Effektstudier på silde-egg og larver. *Havforskningsinstituttet, Senter for marint miljø (HSM) 4*:
- KLUNGSØYR, J., WESTRHEIM, K. and WILHELMSEN, S. 1983. Eksperimentelt oljeutslipp på Haltenbanken juli-august 1982. Kjemisk analyse av olje i vannsøylen, delprosjekt 1b. *Havforskningsinstituttet rapport BKO 8307*.
- KORN, S., RICE, S. D., CHEATHAM, D. L. and BROWN, D. W. 1985. Contribution of phenol and p-cresol to the toxicity of crude oil to pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) fry and kelp shrimp (*Eualus suckleyi*). P. 447-458 in VERNBERG, F.G., THURBERG, G.P., CALABRESE, A. and VERNBERG, W.B. ed. *Marine pollution and physiology: recent advances*. Belle W. Baruch Libr. Mar. Sci. 13.
- LARSON, R. A., HUNT, L. L. and BLANKENSHIP, D. W. 1977. Formation of toxic products from a #2 fuel oil by photo-oxidation. *Env. Sci. Tech.* 11: 492-496.
- LAURENCE, G. C. 1972. Comparative swimming abilities of fed and starved larval largemouth bass (*Micropterus balmoides*). *J. Fish. Biol.* 4: 73-78.
- ROSENTHAL, H., and HEMPEL, G. 1970. Experimental studies in feeding and food requirements of herring larvae (*Clupea harengus* L.). P. 344-364 in STEELE, J.H. ed. *Marine Food Chains*. Oliver and Boyd. Edinburgh.
- SAMUELSEN, T.J. 1989. The water system at the Bergen Aquarium - Long term experience. *Bulletin de l'institut océanographique*, no. spécial 5: 93-99. Monaco.
- SARS, G.O. 1890. An account of the Crustacea of Norway. Alb. Cammermeyer. Kristiania (Oslo).
- SERIGSTAD, B. 1986. The effect of oil exposure on the oxygen uptake of eggs and larvae of the cod (*Gadus morhua* L.). P. 203-252 in FYHN, H.J. and TILSETH, S. ed. *Fish Larval Physiology and Anatomy. Basic Research and the Effects of Oil*. 328 pp. University of Bergen.

- SERIGSTAD, B. 1987. Respiratory studies on cod (*Gadus morhua* L.) with special reference to effects of oil exposure on eggs and larvae. *Dr. scient. thesis in Environmental Physiology*. University of Bergen.
- SERIGSTAD, B. 1991. Effekter på fiskeegg og larver av Gullfaks og Veslefrikk råoljer. *Havforskningsinstituttet, senter for marint miljø (HSM) 15: 52 pp.*
- SERIGSTAD, B., ELLINGSEN, T. & FØYN, L. 1991. Marine organisms susceptibility to pollution. Effect studies in an ecological context. Presentert i *Clean Seas 91*. Valetta, Malta, 19-22 Nov. 1991.
- SERIGSTAD, B., ELLINGSEN, T., MIDTØY, F., HASSEL, A., AUSTGULEN, L., WILHELMSSEN, S. and FØYN, L. 1990. Marine organisms følsomhet for olje som funksjon av alder. *Havforskningsinstituttet, senter for marint miljø. AKUP-rapport BKO (9008): 21 pp.*
- SERIGSTAD, B., SVÆREN, I., ELLINGSEN, T. and FØYN, L. 1988. Marine organisms følsomhet for olje som funksjon av alder. *Havforskningsinstituttet BKO 8806: 37 pp.*
- SERIGSTAD, B., SVÆREN, I. and FØYN, L. 1988. The effects of oil-base drilling mud and crude oil on demersal fish eggs. *International Council for the Exploration of the Sea. Council Meeting. E (19): 17 pp.*
- SHIU, W. Y., BOBRA, M., BOBRA, A.M., MAIJANEN, A., SUNTIO, L. and MACKAY, D. 1990. The water solubility of crude oils and petroleum products. *Oil Chem. Pollut. 7: 57-84.*
- SOLBAKKEN, J.E., TILSETH, S. & PALMORK, K.H. 1984. Uptake and elimination of aromatic hydrocarbons and a chlorinated biphenyl in eggs and larvae of cod *Gadus morhua*. *Marine Ecology - Progress Series 16: 297-301.*
- SOLBERG, T. 1982. Effects of illuminated Ekofisk crude oil on yolksac larvae of cod. *ICES CM (E): 58.*
- SOLBERG, T., TILSETH, S., MANGOR-JENSEN, A., SERIGSTAD, B. and WESTRHEIM, K. 1982. Effects of low levels of Ekofisk crude oil on eggs and larvae of cod (*Gadus morhua* L.). *ICES, C.M. E 60. 18 pp.*

- SOLBERG, T., TILSETH, S., SERIGSTAD, B. and WESTRHEIM, K. 1982. Effects of low levels of a heavy fraction of Ekofisk crude oil on eggs and yolksac larvae of cod (*Gadus morhua* L.). *International Council for the Exploration of the seas. Council Meeting E (59)*: 13 pp.
- SØRSTRØM, S.E., BRANDVIK, P.J., SINGSAAS, I., VEFSNMO, S., JENSEN, H. LØVÅS, S.M., MATHIESEN, M. LØSET, S., JOHANNESSEN, B.O., JOHANSEN, Ø., SVEUM, P. and GUÈNETTE, C. 1994. Eksperimentelt oljeutslipp i den marginale issonen, april 1993 (MIZ-93). Sluttrapport. Norsk Oljevernforening For Operatørselskap. 50 pp og vedlegg.
- TILSETH, S., SOLBERG, T. and WESTRHEIM, K. 1984. Sublethal Effects of the Water-Soluble Fraction of Ekofisk Crude Oil on the Early Larval Stages of Cod (*Gadus morhua* L.). *Marine Environmental Research* 11: 1-16.
- VARGO, S. L. 1981. The effects of chronic low concentrations of No. 2 Fuel oil on the physiology of a temperate estuarine zooplankton community in the MERL microcosms. P. 295-322 in VERNBERG, F.J., CALABRESE, A. THURBERG, F.P. AND VERNBERG, W.B. ed. *Biological Monitoring of Marine Pollutants*. Academic Press, New York.
- VIGRESTAD, A. 1993. Effect of oil exposure on the metabolic rate of embryonic Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) at different temperatures. Master's thesis in Environmental Physiology, University of Bergen.
- WESTRHEIM, K. and FONN, M. 1993. "Braer" forliset ved Shetland januar 1993. *Havforskningsinstituttet*. (draft).
- WESTRHEIM, K. and PALMORK, K.H. 1986. Chemical analyses performed under project contract no. 83-524: "Effect of oil on the physiology and development of fish larvae" 1983-1985. P. 289-328 in FYHN, H.J. and TILSETH, S. ed. *Fish Larval Physiology and Anatomy. Basic Research and the Effects of Oil*. 328 pp. University of Bergen.

Vedlegg A.1. Oversikt over laboratorieforsøkene utført i 1993
 (Overview over the laboratory experiments conducted in 1993)

forsøk nr.	organisme type	eksponert i stadie	parameter målt	dato forsøk	dato klekking	dato begynt eksp.	komponenter testet	konsentrasjoner (ppb)	eksp. tid	temp. °C
LF 93 - 1	polar torsk	voksne	O ₂ -forbruk	flere indiv. testet april-mai	-	-	WSF-V	70-11	observert i 24 timer	5,0 og 8,0
LF 93 - 2	torsk	plommesekk-larver	O ₂ -forbruk	22.4-27.4	21.4	22.4	WSF-V fenoler	70 -> 95 500-100-50	1 til 7 døgn	5,0-6,0
LF 93 - 3	torsk	plommesekk-larver	O ₂ -forbruk	26.4-28.4	21.4	26.4 - 27.4	WSF-V	30 -> 10	2; 4 og 24 timer	5,0
LF 93 - 4	torsk	plommesekk-larver (dag 2)	startfôring-suksess overlevelse	28.4-10.5	5.5	7.5	WSF-V	60	24 timer	eksp: 5,0 startf: 8
LF 93 - 5	torsk	plommesekk-larver	O ₂ -forbruk	6.5-8.5	4.5	6.5	WSF-V	66-31	2; 4; 6 og 24 timer	4,7-4,9
LF 93 - 6	torsk	plommesekk-larver	O ₂ -forbruk	7.5-14.5	4.5	7.5	WSF-V fenoler	60, avtagende til 40 100-25-5	2 til 7 døgn	4,7-5,4
LF 93 - 7	torsk	egg (avbrudt forsøk)	overlevelse vekst	13.5-10.6	27.5	13.5 - 14.5	WSF-V	33	24 timer	eksp: 5,0 rett før startf: 8
LF 93 - 8	torsk	egg stadie 27	overlevelse vekst	25.6-22.7	5.7	30.6	WSF-V	84	24 timer	eksp:8,0 fôring:9-10
LF 93 - 9	<i>Calanus finmarchicus</i> (raudåte)	CV (overvintrende) og CVI (kjønnsmodne)	O ₂ -forbruk overlevelse	28.9-7.10	-	30.9	WSF-V fenoler	600-30 1000-100	1 til 5 døgn	8,0-8,3

WSF-V = den vannløselige fraksjonen av råolje fra Veslefrikkfeltet.
 ppb-BTX = µg benzen-toluen-xylener per liter sjøvann

Vedlegg A.2. Oversikt over laboratorieforsøkene utført i 1994
 (Overview over the laboratory experiments conducted in 1994)

forsøk nr.	art	eksponert i stadie	parameter målt	dato forsøk	dato klekking	dato begynt eksp.	konsentrasjoner testet (ppb-BTX)	eksp. tid (timer)	temp °C
LF 94 - 1	<i>Meganyctiphanes norvegica</i> (krill)	voksen	O ₂ -forbruk	10-11.3	-	10.3	135-84-46-0	18	5
LF 94 - 2	torsk	plommesekk-larver	O ₂ -forbruk	4-18.3	15.3	16.3	52-36-25-0	4	5
LF 94 - 3	torsk	plommesekk-larver	tilvekst	24.5-21.6	4.6	6.6	23-0	24	8

Vedlegg A.3. Oversikt over feltforsøkene utført med krepsdyr i Barentshavet i 1993
 (Overview over the field experiments conducted with crustaceans in the Barents Sea in 1993)

forsøk nr.	art	stadie	vektområde (mg tørrvekt)	dato	komponenter testet	konsentrasjoner (ppb)	eksp. tid (timer)	temp. °C
FF 93 - 1	<i>Calanus glacialis</i>	V	0,1-0,9	13.7	WSF-G	1000-200	12	1,5-4,1
FF 93 - 2	<i>Parathemisto abyssorum</i>	voksne hunner	0,8-3,1	14.7	WSF-V WSF-G	1200 1400	12	4,1
FF 93 - 3	<i>Calanus finmarchicus</i>	V	0,10-0,16	15.7	WSF-V	1800-900	24	4,1
FF 93 - 4	<i>C. finmarchicus</i>	V	0,08-0,17	17.7	WSF-G	1300-700	24	0,1-4,1
FF 93 - 5	<i>Parathemisto libellula</i>	voksne	5,7-8,9	19.7	WSF-V BTX	1300 10000	24	3,0-4,0
FF 93 - 6	<i>Thysanoessa inermis</i>	yngel	0,1-0,6	21.7	WSF-G	1300-700	12	4,4
FF 93 - 7	<i>C. glacialis</i>	V	0,28-0,45	22.7	WSF-V	2600-1300-700	24	3,9
FF 93 - 8	Gamarider			24.7	WSF-V	1800-900-500	24	4,0
FF 93 - 9	<i>C. finmarchicus</i> og <i>C. glacialis</i>	V	0,06-0,33	26.7	WSF-G	6000-3000-600	24	3,8-4,2
FF 93 - 10	<i>C. glacialis</i> og <i>C. finmarchicus</i>	V	0,10-0,28	29.7	WSF-V	7300-3700-700	24	4,1

Parameteret målt er oksygenforbruk.

Organismene ble eksponert til den vannløselige fraksjonen av råolje fra Veslefrikk- (WSF-V) og Gullfakfeltene (WSF-G).

Konsentrasjonene er uttrykt i ppb-BTX (µg benzen-toluen-xylener per liter sjøvann)

Vedlegg A.4. Oversikt over feltforsøkene utført med kreppsdyr i Barentshavet i 1994
 (Overview over the field experiments conducted with crustaceans in the Barents Sea in 1994).

forsøk nr.	forsøkstype	dato		art	konsentrasjoner testet (ppb-BTX)	eksp. tid (timer)
		begynt	avsluttet			
FF 94 - 1	LC-50	20.4	22.4	<i>Calanus finmarchicus</i> og <i>C. glacialis</i>	2-6-18-60-185-580-1850-5780	24 og 48
FF 94 - 2	O ₂ -forbruk	20.4	21.4	<i>C. glacialis</i>	130-260	24
FF 94 - 3	LC-50	21.4	23.4	<i>C. glacialis</i> og <i>C. finmarchicus</i>	1300-2320-4060-7240	24 og 48
FF 94 - 4	O ₂ -forbruk	22.4	23.4	<i>C. glacialis</i>	70-360	24
FF 94 - 5	LC-50	22.4	24.4	<i>Calanus spp.</i> -nauplier	290-730-1450-2900	24 og 48
FF 94 - 6	LC-50	24.4	26.4	<i>Calanus spp.</i> -nauplier	1000-1800-3110-5550	24 og 48
FF 94 - 7	LC-50 m/olje	24.4	26.4	<i>Calanus spp.</i>	555-2775-5550	24 og 48
FF 94 - 8	LC-50	25.4	27.4	<i>Calanus spp.</i> -nauplier	880-1560-2700-4900	24 og 48
FF 94 - 9	LC-50 m/olje	25.4	27.4	<i>Calanus spp.</i>	0 (+ ukjent fra oljeflaket)	24 og 48
FF 94 - 10	O ₂ -forbruk	26.4	27.4	<i>C. hyperboreus</i>	20-40-80-170	12
FF 94 - 11	O ₂ -forbruk	27.4	28.4	<i>C. glacialis</i>	60-120-250-500	24
FF 94 - 12	LC-50	27.4	29.4	<i>C. glacialis</i>	3840-4320-4860-5410-6100-6850	24 og 48
FF 94 - 13	O ₂ -forbruk	28.4	29.4	<i>Thyssanoessa inermis</i>	130-270-540	24
FF 94 - 14	O ₂ -forbruk	30.4	1.5	<i>T. inermis</i>	100-250-500	24
FF 94 - 15	O ₂ -forbruk	1.5	2.5	<i>C. glacialis</i>	70-150-580	12
FF 94 - 16	O ₂ -forbruk	3.5	4.5	<i>T. inermis</i>	forsøket går ut	
FF 94 - 17	O ₂ -forbruk	4.5	5.5	<i>T. inermis</i>	50-120-360	18
FF 94 - 18	O ₂ -forbruk	4.5	5.5	<i>Parathemisto abyssorum</i>	70-140	12
FF 94 - 19	LC-50 m/olje	28.4	29.4	<i>T. inermis</i>	500-4980	24
FF 94 - 20	LC-50 m/olje	4.5	5.5	<i>P. abyssorum</i>	2360	24

Alle disse forsøk ble gjennomført ved 4°C.

Vedlegg A.5. Oversikt over feltforsøkene med krepsdyr i Barentshavet i 1993 (utført i samarbeid med Statoil Forskningscenter v/Anita Th. Smith)
 Overview of the field experiments with crustaceans in the Barents Sea in 1993 (in co-operation with Statoil Research Centre)

Forsøk nr.	Art	Stadie	Komponenter testet	Konsentrasjoner (µg/l)	Eksp. tid (h)	Temp. (°C)
FF 93-11	<i>Calanus finmarchicus</i>	V	WSF-G	600-2980-5960	24 og 48	4
FF 93-12	<i>Calanus finmarchicus</i>	V	WSF-V	735-3675-7350	24 og 48	4
FF 93-13	<i>Calanus finmarchicus</i>	V	BTX, naftalen, fenol, alifat	hhv. 10 000, 2000, 5000 og 10 000	12	4
FF 93-14	<i>Calanus glacialis</i>	V	WSF-G, WSF-V, BTX, naftalen, fenol, alifat	hhv. 100-1300, 100-1300, 3000-30 000, 500-5000, 500-5000 og 1000-10 000	24	4
FF 93-15	<i>Meganyctiphanes norvegica</i>		WSF-V	735-7350	24	4
FF 93-16	<i>Parathemisto abyssorum</i>	Voksne	WSF-G	270-1350	24 og 48	6-8
FF 93-17	<i>Parathemisto abyssorum</i>	Voksne	WSF-V	240-1220	24 og 48	2-4
FF 93-18	<i>Parathemisto abyssorum</i>	Voksne	BTX, naftalen, fenol, alifat	hhv. 10 000, 2000, 5000 og 10 000	12	4

Parametrene målt er oksygenforbruk og dødelighet.

Organismene ble eksponert for den vannløselige fraksjonen av råolje fra Veslefrikk- (WSF-V) og Gullfaksfeltene (WSF-G).

Konsentrasjonene av WSF er uttrykt i ppb-BTX.

FF 93-13, FF 93-14 og FF 93-18 er i tillegg utført med eksponering for BTX, naftalener, fenoler og alifater (av analytisk grad/kvalitet).

VEDLEGG B

**BESKRIVELSE AV BIOTESTANLEGGET VED
HAVFORSKNINGSINSTITUTTET**

Av
Frank Midtøy

INNHold

1 Innledning	4
2 Vanntilførsel	4
2.1 Sjøvanntilførsel til laboratoriet	4
2.2 Ferskvanntilførsel til laboratoriet	5
2.3 Rutiner for sikring av vanntilførsel	6
2.4 Sjøvanntilførsel til biotestanlegget	6
2.5 Sjøvanntilførsel til stamløsningstankene	8
2.6 Sjøvanntilførsel til testkarene	9
2.7 Ferskvanntilførsel til det termostaterte vannbadet	9
3 Termostatert vannbad	10
3.1 Innredning av det termostaterte vannbadet	10
4 Temperaturstyring	11
4.1 Temperaturstyring av det termostaterte vannbadet	11
4.2 Temperaturstyring av sjøvanntilførselen til testakvariene	13
4.3 Temperaturlogging	14
5 Dosering av testkjemikalier	14
5.1 Dosering av testkjemikalier	14
5.2 Balanse i oljedoseringssystemet	16
5.3 Kjemiske analyser	17
5.4 Oljekonsentrasjoner	18
6 Avløp fra biotestanlegget	19
6.1 Avløp fra det termostaterte vannbadet	19
6.2 Avløp fra reservoartanken	19
6.3 Avløp fra stamløsningstankene	19
6.4 Avløp fra oljeutskilleren	20
6.5 Avløp fra testakvariene	21
6.6 Magnetventil mellom kjøletankene og reservoartanken	21

7 Korrosjonsforebygging	21
7.1 Korrosjonsbestandige materialer	21
7.2 Ekstra korrosjonsbeskyttelse i det termostaterte vannbadet	22
7.3 Korrosjonsforebyggende tiltak	22
8 Planktonoppsamling og foringsopplegg	22
8.1 "UNIK" rotasjonsfilter	22
8.2 Startfóring i utendørsbasseng	23
9 Skjematiske oversikter over biotestanlegget	24
9.1 Tilførsel av sjøvann og olje i biotestanlegget	24
9.2 Dosering av sjøvann og olje i biotestanlegget	25

1 Innledning

Biotestanlegget er bygget opp på grunnlag av erfaringer som er høstet under tidligere biotestarbeid ved Havforskningsinstituttet. Det er bygget med tanke på fleksibilitet, både når det gjelder innredning og hvilke temperaturer og kjemikaliekonsentrasjoner det er mulig å benytte i anlegget. Biotestanlegget er bygget opp slik at det kan kjøres med kontinuerlig gjennomstrømning. På denne måten kan vi hele tiden få tilførsel av friskt, rent vann og nye kjemikalier med de ønskede temperaturer.

Følgende beskrivelse tar for seg anlegget slik det er innredet i dag for å utføre forsøk i forbindelse med AKUP-prosjektet "Marine organismers følsomhet for olje" Slik det fungerer i dag, er anlegget først og fremst egnet for forsøk med fiskeegg og larver og dyreplankton. Det er mulig med enkle midler å bygge det om slik at det kan benyttes til helt andre typer forsøk.

Vi kommer også litt inn på dosering av testkjemikalier, oljekonsentrasjoner og kjemiske analyser. Dette gjøres for å lette forståelsen av anleggets oppbygning og virkemåte.

I beskrivelsene av de ulike enkeltkomponentene i biotestanlegget vil det bli henvist til symbolmerking på figurer som er gjengitt i dette dokumentet. Tilsvarende merking finnes også på de ulike komponentene i laboratoriet. For oversikt over de ulike komponentenes typebetegnelse og tekniske data henvises det til instrumentdatablad og dokumentasjon for utstyr på det økotoksikologiske laboratoriet.

2 Vanntilførsel

2.1 Sjøvanntilførsel til laboratoriet

Havforskningsinstituttet og Akvariet i Bergen har felles vannforsyningsanlegg. Byfjorden har dybder ned til 400 meter. Sjøvannet som blir brukt på Akvariet i Bergen og på laboratoriene på Havforskningsinstituttet blir pumpet fra 48 til 135 meters dybde. Det vil si at vannet blir hentet under sprangsjiktet som varierer fra 30-40 meter under havoverflaten.

Dypvannet er stabilt hele året. Temperaturen er ca. 6 til 7°C, saltholdigheten 33,5 til 34,5‰ og oksygentensjonen varierer fra 85 til 90 % metning (Samuelsen 1989).

Vannsystemet er laget for åpen sirkulasjon av vannet. Sjøvanninntaket på hvert rør blir holdt oppe fra bunnen ved hjelp av en ringanordning der inntaksrøret er montert i sentrum slik at inntaket er ca. 1 meter over bunnen. Dette er gjort for å hindre at pumpen suger inn bunnsedimenter o.l. Fra sjøvanninntaket til pumpene går vannet i polyetylenrør. Pumpene står i et pumpehus som er plassert under havflatens nivå, og går døgnet rundt. Pumpene er i syrefast stål. Vannet blir pumpet gjennom PVC-rør fra pumpene til 4 reservoartanker. Reservoartankene er støpt i betong og malt innvendig med epoxy resin. Reservoartankene står i kjelleren til instituttet og her blandes alt sjøvannet.

Høydeforskjellen fra pumpene til reservoartankene er ca. 16 m. For å sikre at reservoartankene alltid er fulle er det et lite overløp fra reservoartankene tilbake til sjøen.

Vannet blir ikke filtrert, men reservoarene i kjelleren har 3 kamre hvor partikler bunnfelles. Fra reservoarene blir vannet pumpet opp ca. 12 m til høytankloftet, enten direkte eller gjennom kulde og varmevekslere til glassfibertanker på toppen av akvariet. På høytankloftet er det totalt 120.000 liter vann fordelt på 15 tanker. Alle tankene på høytankloftet er støpt i glassfiber og malt med topcoat. For å sikre at høyetankene holdes fulle, er det et lite overløp tilbake til reservoartankene. I høyetankene luftes vannet og her holder vannet henholdsvis 10°C og 20°C. Ved tyngdekraftens hjelp renner det så under lavt trykk ned i akvariene og til laboratoriene. Dette gir en best mulig fysisk vannkvalitet. Returvannet fra akvariet renner ut i overflaten, og blandes ikke med inntaksvannet.

Vi har innlagt 3 uttak for sjøvann på laboratoriet. To av uttakene er på ca. 10°C og et er på ca. 20°C.

For mer detaljert gjennomgang henvises det til: SAMUELSEN 1989 og "VVS-VA installasjonstegninger for Havforskningsinstituttet".

2.2 Ferskvanntilførsel til laboratoriet

Ferskvannet tas fra det kommunale vannverket (Svartediksvannet). Vannet blir først filtrert i et sandfilter før det i likhet med sjøvannet blir pumpet opp på høytankloftet. Sandfilteret blir tilbakespylt ved økt trykkfall ved pumpene. Intervallene mellom hver tilbakespyling varierer fra

en uke til en måned, avhengig av vannkvaliteten inn til filteret. Det er også montert en doseringspumpe, på ferskvannsystemet, som tilfører vannet Caustic soda ved for lav Ph-verdi. Ph-verdien vil da være ca. 6,7 når vannet kommer til høytankene. På vei til høytankloftet blir vannet temperert på samme måte som sjøvannet. I tankene blir vannet luftet før det med tyngdekraftens hjelp renner ned til Akvariet og laboratoriene.

Vi har innlagt 2 vannuttak på laboratoriet på henholdsvis 10 og 20 °C.

2.3 Rutiner for sikring av vanntilførsel

Akvariet har døgnvakt, med røktere og nattevakt. I tillegg har Seksjon Teknisk Drift telefonbemanning, bakvakt, som kan tilkalles utenom vanlig arbeidstid dersom det oppstår mer alvorlige problemer som røkter/nattevakt ved akvariet ikke selv kan takle. Bakvakten skal være ved Havforskningsinstituttet senest 30 min. etter telefonen ringer. Dersom strømmen skulle gå er det nok vann i høytankene til minimum 60 min. forbruk.

Instituttet har et nødaggregat som bakvakten starter opp når han ankommer instituttet. Dette aggregatet er koblet opp til det økotoksikologiske laboratoriet, slik at anlegget vil gå som normalt etter maximum 30 min. Bakvaktene har også mulighet for å tilkalle autorisert hjelp utenfra.

Alle pumpene er utstyrt med alarmer som varsler røkter/nattevakt ved stans i en av pumpene. Det er videre montert alarmanlegg som varsler ved for lavt nivå i reservoarene og variasjoner i temperatur.

2.4 Sjøvanntilførsel til biotestanlegget

Biotestanlegget er bygget for drift med kontinuerlig vanngjennomstrømning. For tiden bruker vi sjøvann fra inntaket merket med 10°C.

Sjøvannet blir filtrert gjennom to viskosefiltre (**F1** og **F2**) på henholdsvis 30 og 10 µm. Deretter blir sjøvannet UV-desinfisert (**UV1**) før det renner over i kjøletankene (**KT1** og **KT2**) For tiden bruker vi bare den ene kjøletanken (**KT1**). I kjøletankene blir sjøvannet kjølt ned til ønsket temperatur. (**Fig.1**)

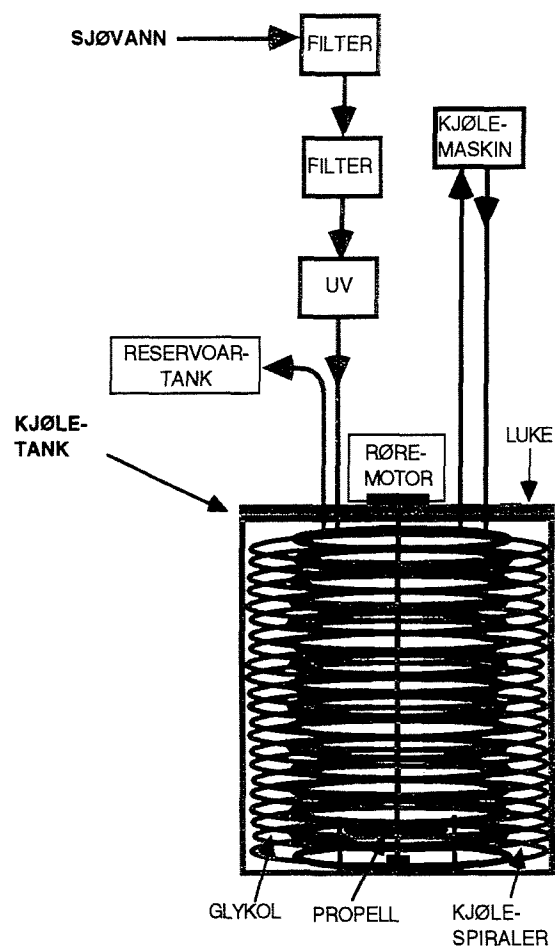


Fig.1. Filter, UV-desinfiseringsaggregat og kjøletank.
(The water filter, the UV disinfection unity and the cooling tank.)

Nedkjølt vann renner over i reservoartanken som er delt i 3 likestore adskilte rom (**RT1**, **RT2** og **RT3**).

For tiden bruker vi bare det ene rommet i reservoartanken (**RT3**). Vi bare bruker en temperatur i testakvariene. All vanntilførsel til biotestanleggets ulike deler skjer fra reservoartanken, og vannet bli fraktet videre ved hjelp av doseringspumper (**P1**, **P2** og **P11-15**).

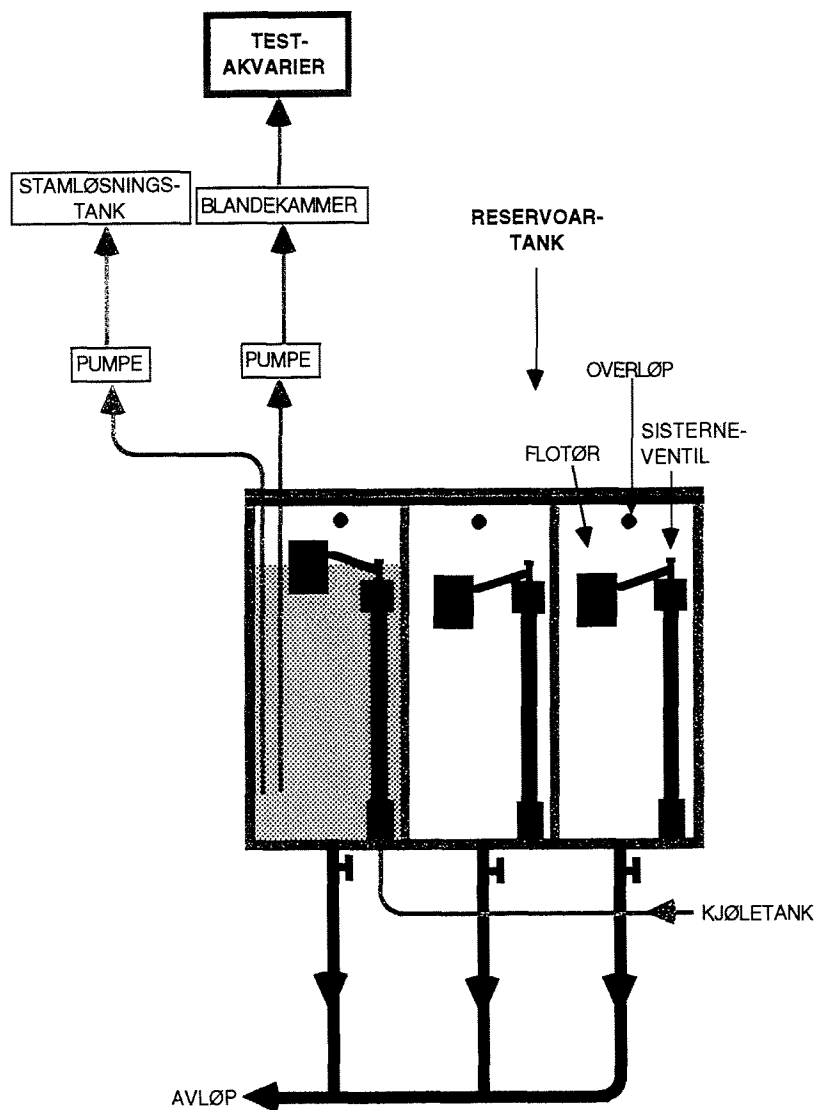


Fig.2. Reservoartank.
(The water reservoir.)

2.5 Sjøvanntilførsel til stamløsningstankene

Fra reservoartanken (RT3) blir rent sjøvann pumpet til stamløsningstankene (P1 til ST1 og P2 til ST2).

2.6 Sjøvanntilførsel til testkarene

Fra reservoartank (**RT3**) blir rent sjøvann pumpet til blandekamrene (**P11** til **BK1**, **P12** til **BK2**, **P13** til **BK3**, **P14** til **BK4** og **P15** til **BK5**). Blandekamrene er plassert med inntak ca. 110 cm over testkarenes vannflate.

Hvert blandekammer har to inntak for vann. I blandekamrene som brukes til å dosere rent sjøvann til testakvariene brukes bare det ene inntaket. I blandekamrene som brukes til å dosere kjemikalier til testakvariene brukes det ene inntaket til rent sjøvann og det andre til stamløsning. På blandekamrene er det montert en mottrykksventil som åpner ved 0,5 bar trykk. Denne er montert for å få en mest mulig lik strøm av vann inn til blandekammeret.

Vannet renner fra blandekamrene til testakvariet gjennom en 3 m lang doseringslange med en påmontert 3 m lang kjølespiral. Kjølespiralen er montert ca. 80 cm under vannflaten til testakvariene i det termostaterte kjølebadet. På den enden av doseringslangen som ender i testakvariet er det montert en kanyle med diameter 1,5 mm. Dette er gjort for å sikre en mest mulig jevn flow. Flow blir regulert ved innstilling av pumpene (**P11-P15**).

2.7 Ferskvanntilførsel til det termostaterte vannbadet

Når biotestanlegget skal startes, fylles det termostaterte vannbadet opp med ferskvann. Vi har innlagt to kraner med temperert ferskvann på laboratoriet merket med henholdsvis 10°C og 20°C. Når vi fyller opp vannbadet bruker vi den temperaturen som ligger nærmest den temperaturen vi skal ha i vannbadet.

Dersom anlegget er i gang i lengre tidsrom av gangen, må det etterfylles med ferskvann på grunn av fordamping og eventuelle små lekkasjer. Vi fyller da på litt vann om gangen med omtrent samme temperatur som det allerede er i vannbadet. (Det er bedre å fylle på lite ofte enn mye sjelden.)

3 Termostatert vannbad

3.1 Innredning av det termostaterte vannbadet

Man har adgang til et utall av innredninger med hensyn til testakvariens størrelse og utforming i det termostaterte vannbadet. Fra 48 femliters akvarier til tre tusenliters akvarier. Vi kan også ta bort de to skilleveggene som deler anlegget opp i tre separate seksjoner og sette opp tre fire meters klekkerenner for lakseeegg. Biotestanlegget er nå oppsatt med 27 testakvarier .

Vi bruker nå testakvarier av glass med tre forskjellige størrelser. (**Fig.3**) Testakvariene på 11 liter (**A1- A6, A11- A16 og A21- A26**), brukes hovedsakelig til levende organismer . Testakvariene på 7 liter (**A 8, A 18 og A28**) brukes hovedsakelig til å temperere respirasjonskamre og annet utstyr i forbindelse med forsøk. Testakvariene på 33 liter (**A 7, A 9, A17, A19, A27 og A29**) brukes hovedsakelig til respirasjonskarusellene eller til oppbevaring av forsøksorganismene før eksponering.

Testakvariene er plassert i biotestanlegget som vist i **fig.3**. De er festet i to stativ av syrefast stål. Stativene er igjen festet i en sort polyetylenplate med vingemuttere i polyetylen, slik at en med letthet kan justere høyden testakvariet skal ha over vannflaten i det termostaterte vannbadet.

Hele det termostaterte kjølebadet er sort innvendig. Dette er gjort for å hemme algeveksten i vannbadet og sikre et best mulig naturlig lysforhold for forsøksorganismene. Polyetylenplaten holdes oppe av et nettverk av fastmonterte og løse syrefaste vinkeljern.

Det termostaterte kjølebadet er bygd opp slik at en med letthet kan ta opp testakvarier uten å måtte bruke verktøy. Det er også mulig å ominnrede det termostaterte kjølebadet i løpet av noen timer. Dette bør helst gjøres når kjølebadet ikke er i drift, men det kan til nød også gjøres når anlegget er i bruk. Avløpslangen til testakvariet er festet med en "Gardena" hurtigkobling.

Testkarene har lokk av plexiglass for å skjerme organismene fra omgivelsene og er sattet slik at testorganismene får et dempet lysforhold.

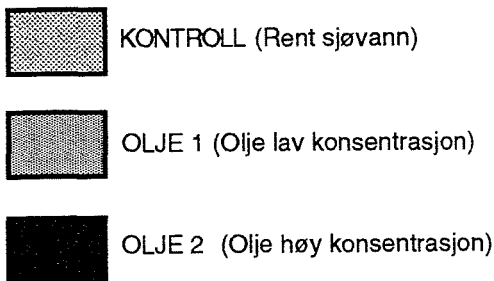
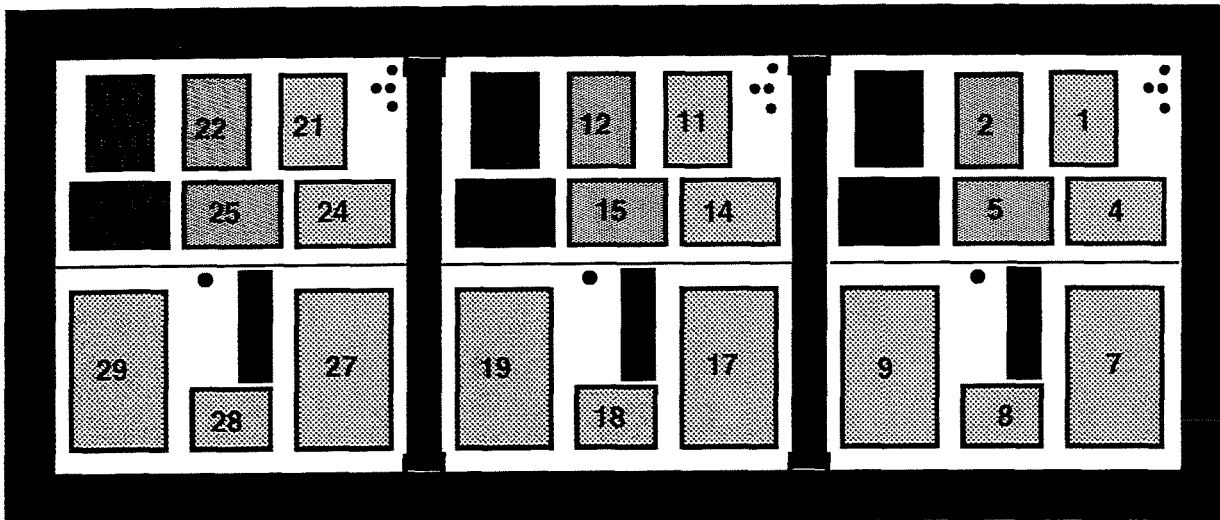


Fig. 3. Testakvariernes plassering i det termostaterede vannbadet.
(Distribution of the test akvaria in the temperature regulated water bath.)

4 Temperaturstyring

4.1 Temperaturstyring av det termostaterede vannbadet

Temperaturen i biotestanlegget blir regulert ved kombinasjon av kjøling og varming av vannet som vist på **fig. 4**.

Alle testkarene er plassert i et termostatert vannbad som er delt i 3 like store rom med løse skillevegger (**BT1**, **BT2** og **BT3**). I hvert av disse atskilte rommene kan temperaturen reguleres, slik at det er mulig å holde konstant 3 forskjellige temperaturer i biotestanlegget på samme tid. Skilleveggene kan med letthet fjernes. Temperaturen kan stilles fra 0 til 30°C med en temperaturstyring på $\pm 0,1^\circ\text{C}$.

De 3 atskilte rommene er fylt med ferskvann, som er under konstant sakte omrøring ved hjelp av røreverk (R1 i BT1, R2 i BT2 og R3 i BT3).

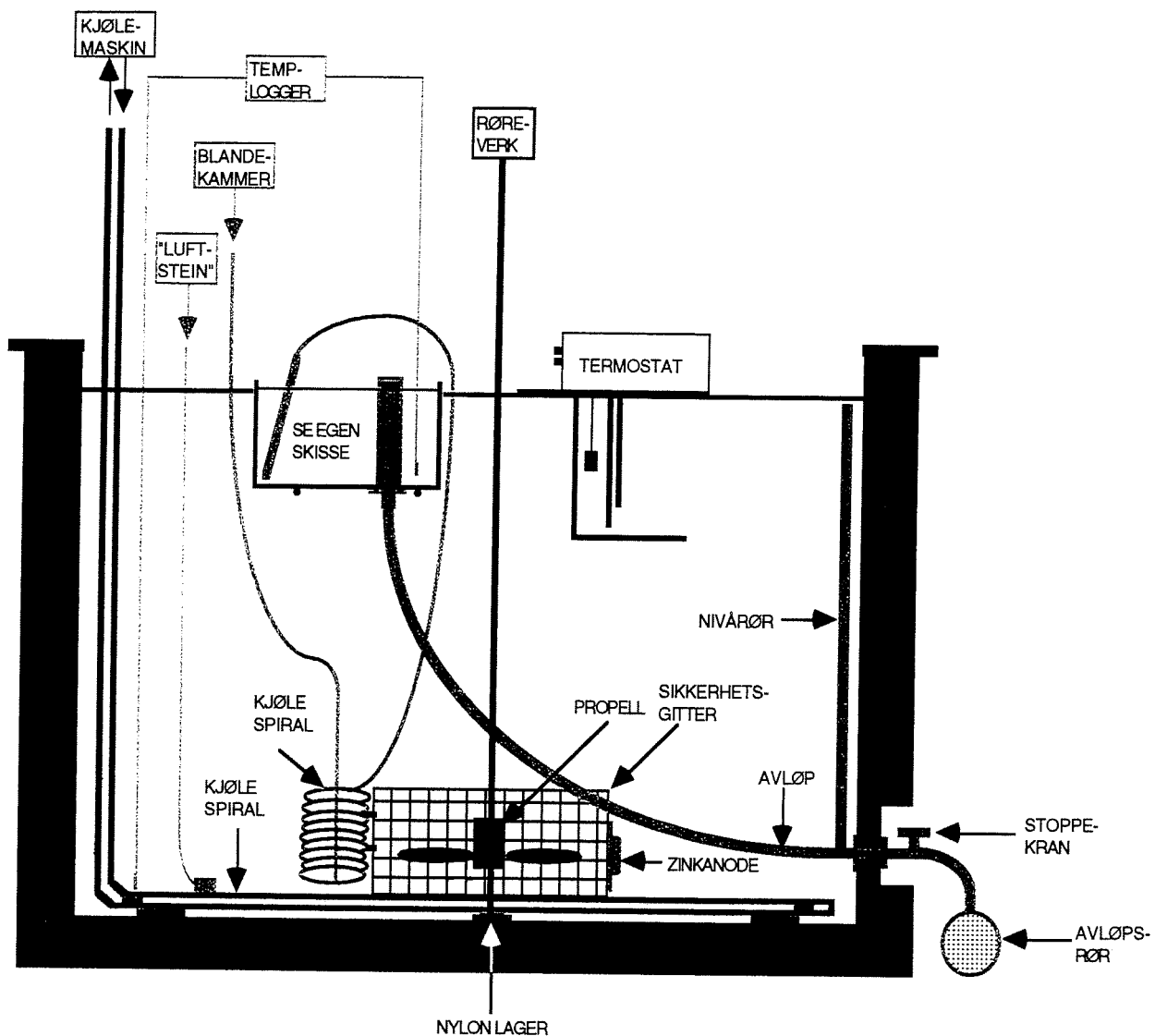


Fig. 4. Tverrsnitt av en seksjon i det termostaterte vannbadet.
Schematic view of one of the sections in the temperature regulated water bath.

I bunnen av hvert rom er det lagt ned en 30 meters lang kjølespiral av syrefast stål(**KS1** i **BT1**, **KS2** i **BT2** og **KS3** i **BT3**). Disse er fylt med kjølemedium og koblet til kjølemaskinene(**KM1** til **BT1**, **KM2** til **BT2** og **KM3** til **BT3**). Vannet i kjølebadet blir kjølt ned ved hjelp av disse kjølemaskinene. I tillegg er det i hvert av de 3 atskilte rommene plassert en Heto termostat som varmer opp vannet til ønsket temperatur (**T1** i **BT1**, **T2** i **BT2** og **T3** i **BT3**). Heto termostaten brukes til å finjustere temperaturen med 0,1°C nøyaktighet.

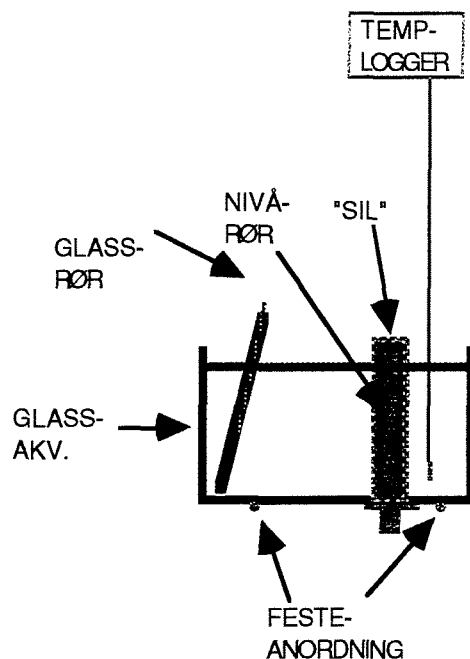


Fig.5. Skisse over akvarie i det termostaterte vannbadet.
(Schematic view of one of the aquaria in the temperature regulated water bath.)

4.2 Temperaturstyring av sjøvanntilførselen til testakvariene

Alt sjøvann som benyttes i biotestanlegget blir filtrert og UV-sterilisert før det kjøles igjennom kjøletankene (**KT1** og **KT2**). Vi har to kjøletanker på 200 liter som er laget i glassfiber, malt med topcoat og støpt inn med 4 cm isolasjonsmateriale. Kjøletankene er koblet til kjølemaskinene (**KM4** til **KT1** og **KM 5** til **KT2**). Kjøletankene er fylt med kjølevæske og tåler temperaturer ned mot -20-30°C. De er parallell koblet, og for tiden bruker vi bare den ene (**KT1**).

Kjøletankene kan seriekobles når vi har stort vannforbruk av sjøvann av samme temperatur i biotestanlegget. Bruker vi 2 eller 3 forskjellige temperaturer samtidig, kobler vi kjøletankene parallellt.

Nedkjølt vann renner deretter over i reservoartanken (**RT3**), for så å bli pumpet videre i systemet til stamløsningstanker og blandekammer. Alle slangene med temperert vann er isolert. Etter at vannet har passert blandekamrene, blir det fordelt gjennom ca. 3 m tynne doseringslanger. Hver slange er koblet til en ca. 3 m lang syrefast kjølespiral (**KS11-KS41**) som er festet ca. 20 cm over bunnen i kjølebadet. På denne måten blir sjøvannet temperert til nøyaktig samme temperatur som det er i kjølebadet, før det kommer opp i testakvariet.

4.3 Temperaturlogging

Temperaturen blir logget inn på en datamaskin ved hjelp av en squirrel meter/logger. Vi har per i dag syv temperatur følere til loggeren. Temperatur følerene er ikke fastmontert i akvariene men kan med letthet flyttes fra et akvarie til et annet akvarie. Syv av de akvariene som er i bruk kan på denne måten ha konstant temperatur logging.

5 Dosering av testkjemikalier

5.1 Dosering av testkjemikalier.

Biotestanlegget er i dag brukt til eksponering av biologisk materiale til den vannløselige fraksjonen (WSF) av ulike oljetyper, men det er godt egnet for dosering av andre testkjemikalier.

En stamløsning av råolje og sjøvann blir laget i en 240 liters stamløsningstank. Vi har for tiden montert 2 stamløsningstanker (**ST1** og **ST2**). Vi har også en komplett stamløsningstank (**ST3**), med pumpene (**P6-P9**) og røreverk (**R9**), i reserve. Denne tanken kan vi sette inn ved behov. I den videre beskrivelsen blir det bare referert til de to fastmonterte stamløsningstankene.

Sjøvann som er filtrert, UV-sterilisert og temperert blir pumpet fra reservoartanken (**RT3**) til

stamløsningstankene (**P1** til **ST1** og **P2** til **ST2**). Utløpet av slangene som leverer sjøvann til stamløsningstankene ligger ca. 12 cm under vannoverflaten i stamløsningstankene. Råolje blir pumpet til stamløsningstankene (**P6** til **ST1** og **P5** til **ST2**) der den blir dosert gjennom en kanyle nær sentrum og ca 15 cm under vannoverflaten. Råoljen danner dråper som flyter opp til vannoverflaten, hvor de sprekker og flyter utover overflaten. Etter en tid vil oljen danne en tynn film på overflaten. Mesteparten av hydrokarbonene som løses i vannet blir løst fra denne filmen, men noe vil også løses fra oljedråpen idet den flyter opp.

Tilførselpumpene for sjøvann er innstilt slik at det er et lite overløp fra stamløsningstanken. Gjennom overløpet forsvinner den gamle lite vannløselige oljefilmen som ligger på vannoverflaten i tanken sammen med litt sjøvann som hjelper til å skylle oljen vekk.

For å løse oljen i sjøvannet, er det kontinuerlig sakte omrøring vha. røreverk(**R4** i **ST1** og **R5** i **ST2**). Omrøringen er så sakte, og plassert i forhold til oljetilførselen slik at vi unngår å få dispergert oljedråper ned i vannet.

Fra stamløsningstankene renner oljeforurensset sjøvann (stamløsning) over i doseringstankene (**DT1** og **DT2**) gjennom et rør som er plassert slik at det henter stamløsning ca 1/3 fra bunnen og 1/3 fra veggen i tanken. Fra doseringstankene blir stamløsning pumpet til blandekamerene (**P3** fra **DT1** til **BK4** og **P4** fra **DT2** til **BK3**), hvor det blir blandet med rent sjøvann. Konsentrasjonen av vannløselige komponenter i testkarene blir bestemt av forholdet mellom olje og vann i stamløsningstanken og mellom stamløsning og rent sjøvann i blandekamrene. Dette blir bestemt ved hjelp av innstilling av de forskjellige pumpene.

Alle slangene som er brukt til å føre oljeforurensset vann er laget av polyetylen.

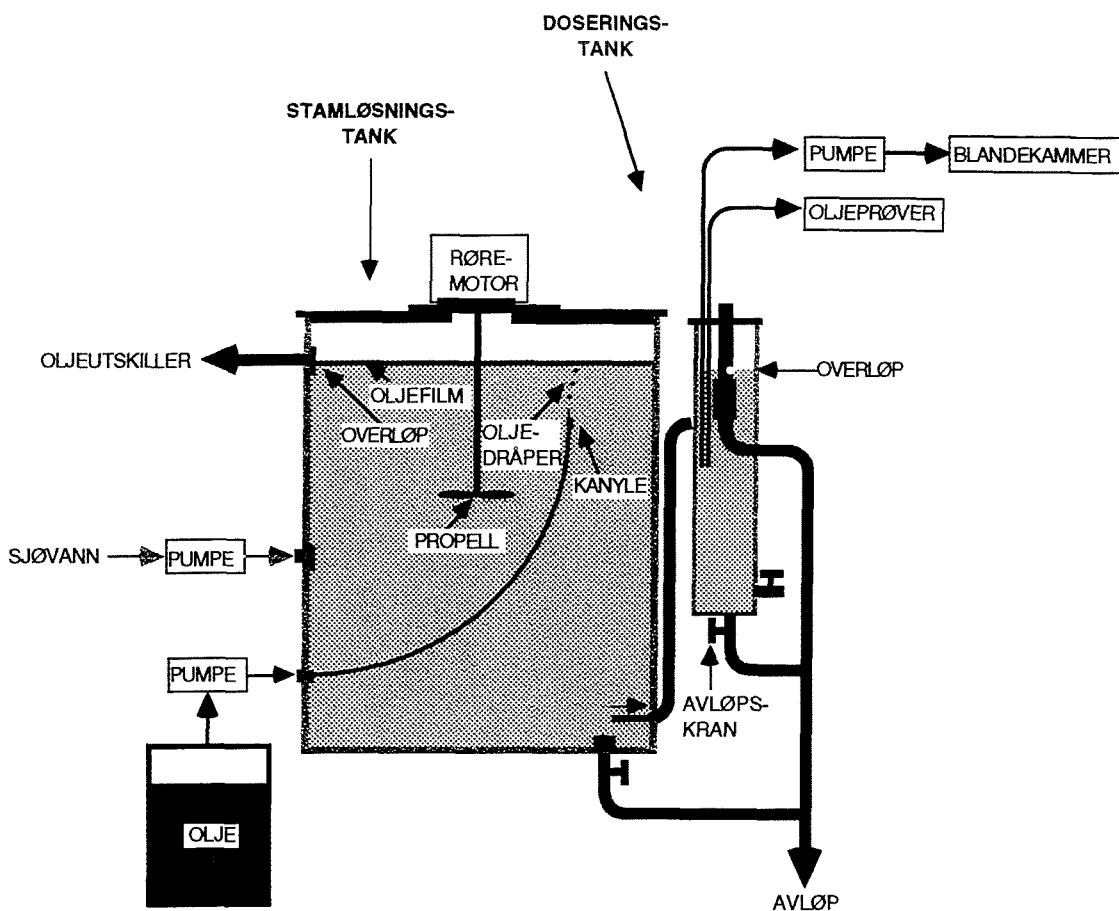


Fig. 6. Stamløsningstank med doseringstank.
(The stock solution reservoir and the dosing tank.)

5.2 Balanse i oljedoseringsystemet

Når stamløsningstanken har vært i drift en stund vil det dannes et oljeflak på vannoverflaten og overløp i tanken sørger for at den "gamle" oljen blir fjernet etterhvert. Ellers ville de tyngre oljekomponentene bli liggende igjen og de nye oljedråpene som kommer fra kanylen ville flyte opp og legge seg på toppen av oljeflaket. Den vannløselige fraksjonen av oljen ville da heller fordampe enn å løses ned i vannet. Dette fører til at innblandingen av olje i vannet blir dårligere jo tykkere og eldre oljeflaket er, ved kontinuerlig tapping fra denne stamløsningen vil oljekonsentrasjonen gradvis avta.

Oppblomstring av oljespisende bakterier i stamløsningstanken kan også føre til lavere oljekonsentrasjon og problemer med nedblandingen av olje i vannet.

5.3 Kjemiske analyser

I vårt arbeid med økotoksikologiske tester er vi helt avhengig av et kjemilaboratorium for analyse av de stoffer som skal testes, og til kjemiske og biokjemiske analyser av det biologiske materialet som testes.

Når det gjelder testing av oljeeffekter på marine organismer blir det utført et stort antall oljeanalyser slik at vi hele tiden kan referere en effekt på organismene til en bestemt oljekonsentrasjon, og til organismens tidligere oljeeksponeringshistorie. Når vi kjører forsøk med to oljetyper og tre forskjellige temperaturer utgjør oljeanalysene en arbeidsinnsats tilsvarende 1 person i full stilling dersom de skal kjøres daglig.

Råoljen som benyttes i forsøkene våre består av en rekke forskjellige stoffer med forskjellige fysiske og kjemiske egenskaper. De fleste stoffene er upolare og lite vannløselige. En del stoffer, slik som fenoler, finnes i oljen (Statfjordolje) i konsentrasjoner opp til ca. 1%. Disse stoffene er upolare og delvis vannløselige, men de er vanskelig å analysere. Analyser av fenoler i stamløsningen viser at disse kan utgjøre ca. 5% av totalmengden av oljekomponenter som blandes ned i vannet. Hvis vi tar en vannprøve under et "ferskt" oljeflak og ekstraherer denne med diklormetan (CH_2Cl_2) ser vi at det er de lavaromatiske stoffene Benzen, Toluen og Xylener (BTX-komponenter) som dominerer. I vårt biotestanlegg utgjør disse stoffene 80-90% av diklormetan ekstraherbare komponentene. Disse stoffene utgjør til sammenligning bare 1-2% av totalinholdet av hydrokarboner i råoljen. Årsaken til anrikningen av visse oljekomponenter skyldes den høye vannløseligheten av disse i forhold til de øvrige komponentene i oljen.

I tillegg til BTX-komponentene finnes det hovedsaklig C3-C4 Benzener, Naftalener, C1-C4 Naftalener og fenoler. Konsentrasjonen av BTX komponentene blir bestemt på HIS kjemilaboratorie ved gaskromatografi. (Westheim et al. 1986). Hvis stamløsningen som vi bruker i våre biotester inneholder dispergert olje vil vi med en gang se dette på gaskromatogrammet. Da vil de tyngre oljekomponentene, de som nesten ikke finnes i den vannløselige fraksjonen, fullstendig dominere.

5.4 Oljekonsentrasjoner

Vi har valgt å arbeide kun med den vannløselige fraksjonen av oljen. Det er denne fraksjonen vi mener kan ha uforutsigbare effekter på fiskeegg, larver og zooplankton ut fra den kunnskap vi i dag innehar. Dersom fiskeegg eller larver fanges i et oljeflak vet vi uten å kjøre kostbare forsøk at disse ikke vil overleve.

Sammensetningen av oljekomponenter i stamløsningen vi bruker vil svare til sammensetningen av vannløselige komponenter i sjøen under et flak av "fersk" olje. Når olje har ligget på sjøen en stund, har mesteparten av de lette komponentene (BTX-komponentene) dampet av eller blitt løst ut i sjøen. Oljen tar opp vann, og nedbrytningsprosesser av forskjellige slag er i gang. Gjennom hele denne prosessen vil konsentrasjonen av BTX-komponenter avta raskere enn fallet i konsentrasjonen av de fleste andre tyngre stoffene. I utgangspunktet under fersk olje har vi ca. 90% BTX-komponenter og 10% andre tyngre stoffer. Etter en stund kan vi tenke oss at bildet er forandret slik at vi feks. har 10% BTX- komponenter og 90% andre stoffer, men da har også konsentrasjonen av total WSF falt til 10-15% av utgangskonsentrasjonen. Tidsforløpet her vil være avhengig av vær, vind og strømmforhold. Vi får altså ikke noen vesentlig økning i konsentrasjonen av de tyngre stoffene over tid, men vi kan få en kraftig økning i konsentrasjonen av polare nedbrytningsprodukter av oljen.

Med identisk innblanding i stamløsningstanken, med tanke på oljetilførsel, vanngjennomstrømning og andre innblandingsforhold, kan vi få konsentrasjoner av BTX-komponenter som er mange ganger høyere for en oljetype i forhold til en annen. Dette skjer selv om innholdet av BTX-komponenter i råoljen var nesten lik. Dette illustrerer at det er mange forhold som spiller inn når det gjelder å anta en oljekonsentrasjon i vannet ut fra den mengden som slippes ut, og hvor viktig det er for oss å ta regelmessige prøver av stamløsningen for kjemiske analyser slik at vi til enhver tid vet hvilken konsentrasjon stamløsningen har. Vi kan med letthet forandre konsentrasjonen i stamløsningstanken ved å regulere doseringspumpene.

I likhet med de marine organismene er også oljekjemien meget temperaturavhengig. Oljekonsentrasjonene reduseres ved høyere temperatur. Denne reduksjonen skyldes nok i første rekke fordamping av de lette BTX- komponentene, men vi vil også få en raskere nedbrytning av oljen ved høyere temperatur.

6 Avløp fra biotestanlegget

6.1 Avløp fra det termostaterte vannbadet

For å sikre at det ikke skal bli for høy vannstand i det termostaterte vannbadet (**BT1**, **BT2** og **BT3**) er det overløp fra hvert av de 3 atskilte kamrene gjennom rørene merket **Av1**, **Av2** og **Av3**. For tømning av tanken åpnes alle kranene. Det vil alltid ligge noe vann igjen i vannbadet etter at det er tømt ved hjelp av kranene da disse er plassert 20 cm over bunnen av karet. Resten av vannet fjernes med en av pumpene (**P11-P15**). Til slutt vaskes og tørkes karet godt slik at det er klart til neste oppstart.

6.2 Avløp fra reservoartanken

I hver av reservoartankens 3 (**RT1-RT3**) kammer er det montert en cisternekran som sikrer konstant vannstand. Cisternekranen har en flottør som stenger når det er nok vann i tanken, og åpner når vannstanden synker. Vi kan justere vannstanden med en vingeskrue på toppen av cisternekranen. I tillegg er det også et overløp på hvert av kamrene i reservoartanken, i tilfelle cisternekranen slutter å fungere som den skal.

I tillegg er det mulig å tappe ned reservoartanken gjennom slanger som er koblet på i bunnen av reservoartanken, med kran på den enkelte slange.

6.3 Avløp fra stamløsningstankene

Avløpet i stamløsningstankene skjer med overløp, slik at en blanding av olje og vann renner over i en oljeutskiller.

Det er også bunnuttak med kraner på stamløsningstanken og doseringstanken for tømning av tanken i forbindelse med rengjøring ol.

6.4 Avløp fra oljeutskilleren

I oljeutskilleren (OS1) blir spilloljen skilt fra vannet før det renner ut i avløpet. Vi utnytter her at oljen er lettere enn sjøvannet og legger seg dermed som et lag på toppen av oljeutskilleren.

Avløpsvannet fra stamløsningstankene munner ut ca. 2/3 over bunnen på oljeutskilleren og dermed under oljeflaket (fig.7.) Dette vannet presser oljen opp og ut overløpet. Dermed renner oljen over i et 200 liters spilloljefat. Sjøvannet renner ut igjennom et overløp som tar vann ca. fra midten av oljeutskilleren.

Det er en god balanse i oljeutskilleren som sørger for å skille oljen ut fra avløpsvannet før vi lar det gå ut i avløpet. Den brukte oljen blir levert som spesialavfall.

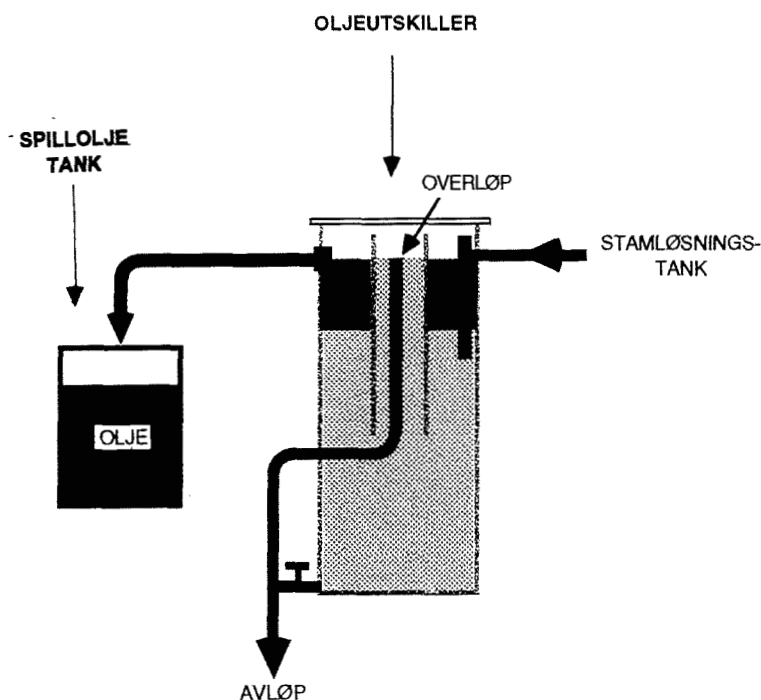


Fig. 7. Oljeutskiller.
(The oil separator.)

6.5 Avløp fra testakvariene

Avløp fra hvert enkelt testakvarie skjer ved overløp og i separate slanger med kran. Kranene er merket med tilsvarende nummer som testkarene. Alle slangene samles i et felles avløpsrør. Når testakvariene skal tømmes helt for rengjøring el. tar vi ut avløpsrøret som er festet til bunnen av akvariet.

6.6 Magnetventil mellom kjøletankene og reservoartanken

Mellom hver av kjøletankene og reservoartanken er det montert en magnetventil (**M1** mellom **K1** og **RT3**, og **M2** mellom **K2** og **RT1**).

Magnetventilene er montert som en sikkerhetsanordning i tilfelle strømbrudd.

Når strømmen går slutter pumpene å gå, noe som igjen fører til at vannsirkulasjonen i anlegget stopper. Dette kan føre til at vannet som står i kjøletanken kan fryse og ødelegge rørene det går i. Derfor har vi montert magnetventiler etter kjøletanken, slik at ved strømbrudd renner vannet ut gjennom magnetventilene og ut i avløpet. Når strømmen kommer på igjen lukker magnetventilene, og vanngjennomstrømningen går som normalt igjen. Det er ytterst sjelden det er strømstans på Havforskningsinstituttet, og da bare i inntil 30 min av gangen.

7 Korrosjonsforebygging

7.1 Korrosjonsbestandige materialer

Den delen av biotestanlegget som er i kontakt med vann når anlegget er i drift, er bygd opp av materialer som er meget korrosjonsbestandige. De materialer som er brukt er: syrefast stål, PVC, polyetylen, glassfiber malt med topcoat, epoxy belagt glassfiber og glass.

7.2 Ekstra korrosjonsbeskyttelse i det termostaterte vannbadet

For å forebygge korrodering som følge av oksygenmangel i vannet, blir vannbadet luftet.

Vi har montert 2 luftsteiner i hver av avdelingene i det termostaterte vannbadet, det vil si tilsammen 6 luftsteiner (**L1-L6**).

Vi har også montert en zinkanode i hver av avdelingene i det termostaterte vannbadet, det vil si tilsammen 3 zinkanoder (**Z1-Z3**). Dette ble gjort for å forebygge eventuelle galvaniske strømmer.

7.3 Korrosjonsforebyggende tiltak

Når vi stanser biotestanlegget kobler vi ferskvann til inntaket av sjøvann slik at hele sjøvannsystemet blir skylt med ferskvann. Vi lar biotestanlegget gå min 24 timer (ikke kjølemaskiner) med ferskvann før vi stopper det helt. Dette gjøres for å løse opp og skylle ut salt og annet belegg som kan ligge i systemet. Etter at anlegget er stoppet helt, blir alle hurtigkoblinger koblet ifra og vi blåser gjennom anlegget med trykkluft for å få ut mesteparten av vannet. Trykkluft er lagt opp med 2 uttak på laboratoriet. Anlegget blir så vasket, og deretter satt til lufting inntil neste gang det skal startes opp.

8 Planktonoppsamling og foringsopplegg

8.1 “UNIK” rotasjonsfilter

I tilknytning til biotestlaboratoriet har vi et rotasjonsfilter av typen “UNIK” som brukes til å oppkonsentrere planktonorganismer fra sjøvannet. Det oppkonsentrerte, levende dyreplanktonet brukes som naturlig fôr til fiskelarver og andre organismer som krill som vi tester i laboratoriet.

Filteret har en vanntilførsel på ca 1200 liter/minutt. Vi kan hente vannet fra 5 til 10 meters dyp ved Nordnespynten. Dybden på inntaket stiller vi ved hjelp av en tau/ talje anordning slik at vi kan hente vann fra det dypet det er høyest forekomst av plankton. På inntaket er det montert et perforert rør på 1 meter med 10 mm store hull.

Sjøvannet blir fraktet opp til filteret ved hjelp av en pumpe. Høydeforskjellen mellom pumpen og filteret er ca. 20 meter. Rørene fra pumpen til filteret er i PVC og er meget godt isolert slik at sjøvannet holder tilnærmet samme temperatur som i sjøen når det ankommer filteret.

I tidsrommet fra mars til november inneholder dette vannet tilstrekkelige mengder dyreplankton til å føre opp de fiskelarvene og eventuelle andre planktonspisende organismer som krill vi tester i laboratoriet. På denne måten er vi i stand til å gjøre tester på alle de tidlige stadier i fiskens liv.

Når filteret ikke er i bruk blir det perforerte røret dekket til med en plastsekk. Dette gjøres av en dykker (Akvariet). Vi dekker til røret for å hindre at det gror til med skjell og lignende.

8.2 Startføring i utendørsbasseng

I tillegg til laboratoriet disponerer vi, avhengig av ledig plass, også et utendørsbasseng på ca. 30 m². Bassenget har kontinuerlig gjennomstrømning av sjøvann og holder en temperatur på ca. 8°C. I dette bassenget gjorde vi sommeren 93 startforingsforsøk med torskelarver. Vi prøvde to forskjellige typer testenheter, 75 liters søppeldunker og 250 liters søppelposer. Søppeldunker av polyetylen var de testenheterne vi hadde best erfaring med. Søppeldunkene blir holdt loddrett i bassenget ved hjelp av to pølseformede båtfendere som er festet til håndtakene på dunken.

Disse dunkene ligger stabilt i vannet. De er små nok til at vi kan plassere og kjøre flere paralleller i bassenget. De er enkle å rømte og holde oversikt over. På den annen side er de store nok til at de kan romme et tilstrekkelig antall med testorganismer på en gunstig tetthet og et passende foringsforhold kan beholdes. Det største problemet vi har hatt med disse dunkene er at de blir oppvarmet en del ved direkte sollys. Dette unngår vi ved å lage skygge der de er plassert.

9 Skjematiske oversikter over biotestanlegget

9.1 Tilførsel av sjøvann og olje i biotestanlegget

Fig. 8. viser hvordan sjøvann og olje blir fordelt ut til testakvariene.

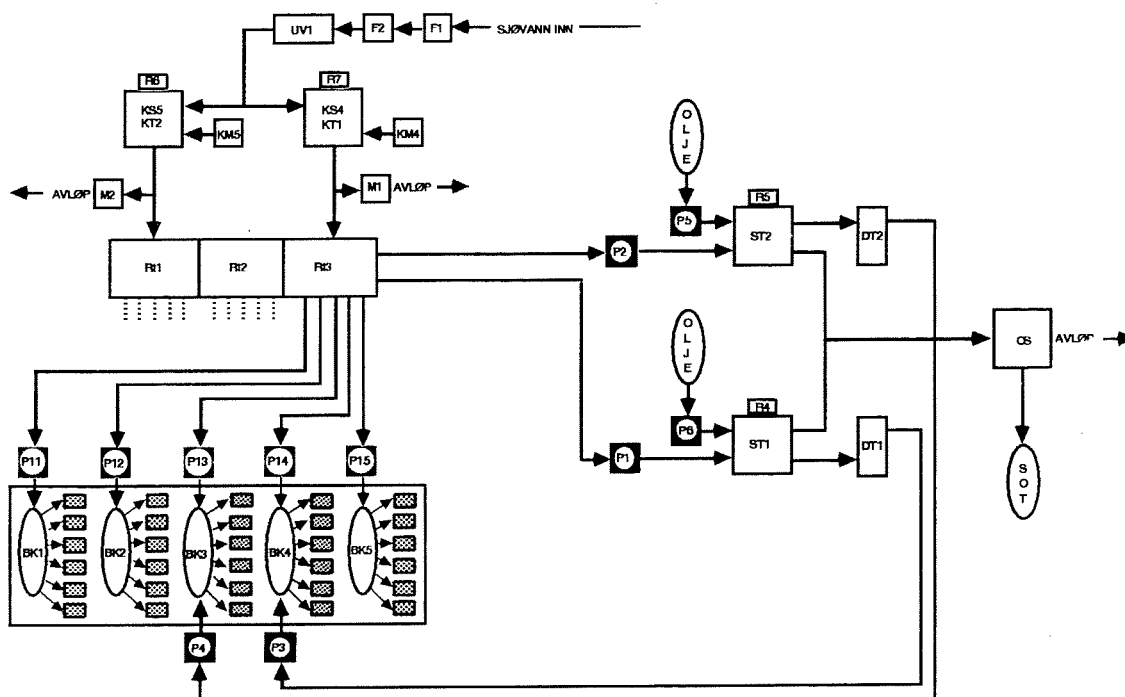


Fig. 8. Skjematisk oversikt over tilførsel av sjøvann og olje i biotestanlegget
(Schematic overview of the seawater and oil inlets to the biotest facility)

F1 - F2	:	Filter
UV1	:	UV-desinfiseringsaggregat
R4 - R7	:	Røreverk
KT1 - KT2	:	Kjøletank
KS4 - KS5	:	Kjølespiral
KM4 - KM5	:	Kjølemaskin
M1 - M2	:	Magnetventil
Rt1 - Rt3	:	Reservoartank
P1 - P15	:	Pumpe
ST1 - ST2	:	Stamløsningsstank
DT1 - DT2	:	Doseringsstank
SOT	:	Spilloljetank
OS	:	Oljeutskiller
BK1 - BK5	:	Blandekammer

9.2 Dosering av sjøvann og olje i biotestanlegget

Figuren under viser hvordan sjøvann og olje blir dosert i biotestanlegget. Den tar utgangspunkt i at anlegget blir brukt til dosering av en konsentrasjon olje og at anlegget blir kjørt med en temperatur.

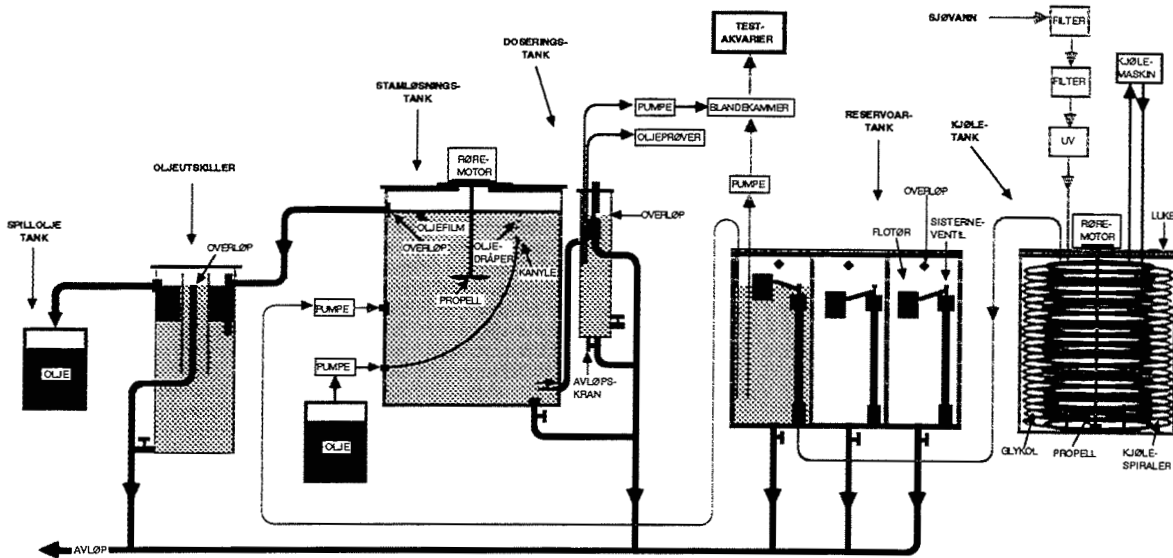


Fig. 9. Dosering av sjøvann og olje i biotestanlegget
Dosing of sea water and oil in the biotest facility)