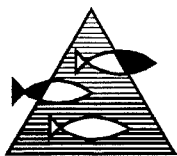


# PROSJEKTRAPPORT



ISSN 0071-5638

## HAVFORSKNINGSINSTITUTTET

MILJØ - RESSURS - HAVBRUK

Nordnesparken 2 Postboks 1870 5024 Bergen

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

Forskningsstasjonen

Flødevigen

4817 His

Tlf.: 37 01 05 80

Fax: 37 01 05 15

Austevoll

Havbruksstasjon

5392 Storebø

Tlf.: 56 18 03 42

Fax: 56 18 03 98

Matre

Havbruksstasjon

5198 Matredal

Tlf.: 56 36 60 40

Fax: 56 36 61 43

Distribusjon:

ÅPEN

HI-prosjektnr.:

10.06.1

Oppdragsgiver(e):

Norges Forskningsråd,  
Fiskeridepartementet (a)  
og Nærings- og energi-  
departementet (b)

Oppdragsgivers referanse:

T. Hansen (a) og  
J. A. Børresen (b)

Rapport:

FISKEN OG HAVET

NR. 3 - 1996

Tittel:

EFFEKTER AV LUFTKANONSKYTING PÅ EGG, LAR-  
VER OG YNGEL.  
UNDERSØKELSER VED HAVFORSKNINGSINSTITUTTET  
OG ZOOLOGISK LABORATORIUM, UIB.

Senter:

Marint Miljø

Seksjon: Fysisk oseanografi  
og akustikk

Forfatter(e):

Clelia Booman, John Dalen, Helge Leivestad,  
Arne Levsen, Terje van der Meeren og Kjell Toklum.

Antall sider, vedlegg inkl.:

88 ( vedlegg inkl.)

Dato:

22. desember 1995

Sammendrag:

I dette prosjektet har vi utført forsøk med egg, plommesekkklarver, larver, postlarver og yngel av fem arter i forbindelse med luftkanonskyting. Deretter har vi observert hvilke effekter dette måtte få for klekkesuksess av egg, for dødelighet, startfôrings-suksess, vekst, flyteevne, vevsskader og for atferd.

Grad og type av effekter varierte mellom artene og de ulike utviklingsstadier. Knyttes de observerte effekter til utsendt energi fra luftkanonene eller avstand mellom fisken og luftkanonene, kan effektene karakteriseres som næravstandshendelser. Høyest dødelighetsrate og hyppigst forekommende skader er observert for avstander ut til ca. 1,4 m. Lavere dødelighetsrater og mer sjeldent forekommende skader er observert ved opptil 5 m avstand.

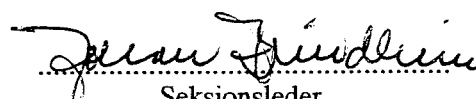
Emneord - norsk:

1. seismikk
2. luftkanon
3. fisk

Emneord - engelsk:

1. seismics
2. air gun
3. fish

  
Prosjektleder

  
Seksjonsleder

K 4300

## FORORD

Oljeletingen som tok til i Nordsjøen i 60-årene, var også starten på seismiske undersøkelser i norske farvann. Først ble det brukt sprengstoff og fra i 70-årene luftkanoner og noen andre seismiske kilder, og det ble tidlig reist spørsmål om skadevirkninger på fiskeriene og fiskeressursene fra seismiske aktiviteter. Dette demonstrerte tidlig at det var store behov for kunnskaper som kunne danne grunnlag for rådgivning og forvaltning av seismiske aktiviteter til havs i forhold til ressursbiologiske interesser og til fiskeriene.

Kunnskaper fra noen få amerikanske, kanadiske og russiske forsøk sammen med resultater fra et forskningsprosjekt som Havforskningsinstituttet utførte i 1984-85, hadde fram til 1991 dannet grunnlag for rådgivning og forvaltning. Som Havforskningsinstituttet har uttalt allerede fra 1986, burde dette grunnlaget styrkes.

I juli 1989 ble det drept betydelige mengder oppdrettstorsk og -laks med sprengstoff i noen anlegg i Altafjorden, og utover samme høst ble det stor oppmerksomhet omkring mulige skadevirkninger på fisk til havs fra seismiske undersøkelser. Etter flere møter i og mellom berørte departementer og videre aktiviteter i regi av Oljeindustriens Landsforening, sendte Norges Fiskeriforskningsråd i oktober 1990 ut invitasjoner til 12 aktuelle forskningsmiljøer om å sende inn prosjektsøknader til delprogrammet "Fysiske skader på fisk ved seismikk/sprengning".

Prosjektet "Effektar av luftkanonskyting på egg, larvar og yngel" som denne rapporten omhandler, var inntil mars 1993 en del av dette programmet. Fra 1993 måtte siste deler av prosjektarbeidet med fullføring av histologiske analyser og slutføring av denne rapporten avbrytes fordi det ikke ble stilt midler til rådighet for arbeidet. Arbeidet med sluttrapporten kom koordinert i gang igjen i andre halvår 95. Prosjektet er utført i et samarbeid mellom:

- Havforskningsinstituttet (HI): Prosjektansvarlig og ansvarlig for laboratorieoppsett, biologisk og fysiologisk arbeid og rapportering.
- Zoologisk Laboratorium, Universitetet i Bergen (ZL-UiB): Ansvarlig for fysiologisk, patologisk og histologisk arbeid og rapportering.

Videre har vi hatt samarbeid med GECO AS - Fjord Instruments som var ansvarlig for luftkanonoppsett og luftkanonoperering og NUTEC AS som var ansvarlig for opptak av akustiske signal, spesiell analyse av disse og delrapportering.

Prosjektet hadde en styringsgruppe bestående av: Helge Leivestad, ZL-UiB, Mons Midttun,

Norsk Hydro/Oljeindustriens Landsforening, Roald Sætre, HI og John Dalen, HI (prosjekt-kontakt). John Dalen, HI, har vært prosjektansvarlig.

I midten av april 1995, vel en måned etter at det var sendt søknad til Nærings- og Energi-departementet om midler til slutføring av prosjektet, men før tilsagn om midlene forelå, fikk vi melding om at Helge Leivestad var gått bort. Ved siden av at Helge var en god kollega og venn av oss, var han en av hovedplanleggerne av prosjektet og han fungerte som hovedansvarlig for prosjektdelen som ble utført ved ZL, UiB. Vi vil videre framheve Helges store innsats i prosjektet som faglig tilrettelegger, som pådriver og som organisator under feltarbeidet og på laboratoriet, samt som meget dyktig og skarp analytiker av forsøksdataene. Hans bortgang har bl.a. ført til at en del data fra forsøk som han hadde delvis rapporteringsansvar for, ikke lenger var tilgjengelig for videre bearbeiding.

Prosjektet har hatt ekstern finansiering i 1991-92 fra Oljeindustriens Landsforening, daværende Norges Fiskeriforskningsråd, GECO-PRAKLA AS og i 1995 fra Nærings- og Energidepartementet. Havforskningsinstituttet og Zoologisk Laboratorium, Universitetet i Bergen har stått for den interne finansieringen i hele perioden.

Bergen, 22. desember 1995

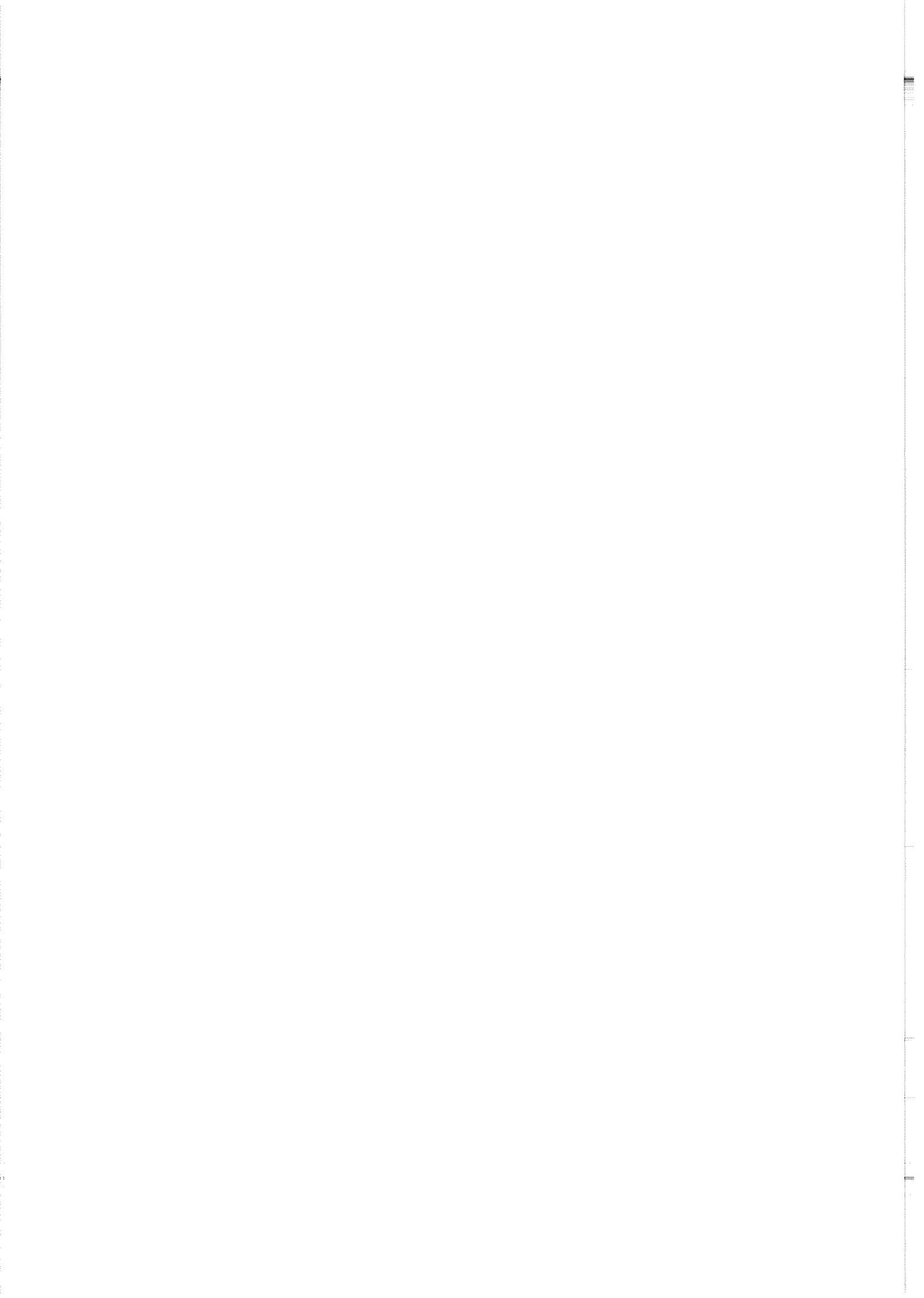


John Dalen  
prosjektleder

# INNHALDSFORTEGNELSE

FORORD .....	ii
INNHALDSFORTEGNELSE .....	iv
SAMMENDRAG .....	1
SUMMARY .....	5
1. INNLEDNING .....	9
1.1 Seismiske undersøkelser og virkninger på fisk i tidlige levestadier .....	9
1.2 Luftkanonoppsett i seismiske undersøkelser .....	12
2. MATERIALE OG METODER .....	15
2.1 Biologisk materiale .....	15
2.2 Luftkanonoppsett i forsøkene .....	16
2.3 Lydmålinger .....	21
2.4 Forsøksoppsett og undersøkelser .....	23
2.4.1 Egg .....	23
2.4.2 Plommesekkklarver .....	24
2.4.3 Larver .....	27
2.4.4 Postlarver .....	27
2.4.5 Yngel .....	29
2.5 Mikroskopiske analyser .....	30
2.6 Statistisk analyse og grafisk framstilling av dataene .....	30
3. RESULTATER .....	32
3.1 Lydmålinger .....	32
3.2 Egg .....	35
3.2.1 Torsk .....	36
3.2.2 Sei .....	37
3.3 Plommesekkklarver .....	38
3.3.1 Torsk .....	39
3.3.2 Sild .....	41
3.3.3 Piggvar .....	41

3.4 Larver .....	45
3.4.1 Torsk .....	45
3.4.2 Sei .....	48
3.5 Postlarver .....	48
3.5.1 Torsk .....	48
3.5.2 Sild .....	54
3.5.3 Piggvar .....	54
3.5.4 Rødspette .....	56
3.6 Yngel av torsk .....	57
3.6.1 Fiskeatferd og dødelighet under forsøkene .....	57
3.6.2 Makroskopiske funn .....	59
3.6.3 Effekter på det indre øre .....	59
4. DISKUSJON OG KONKLUSJONER .....	61
5. TAKK .....	68
6. LITTERATUR .....	69
VEDLEGG 1 .....	74
VEDLEGG 2 .....	77
VEDLEGG 3 .....	80



## SAMMENDRAG

Fisk i tidlige livsstadier som egg, larver og yngel er mest utsatt for skadelige effekter av seismiske undersøkelser. Dette fordi de er fysiologisk sårbare, og at de i motsetning til større fisk ikke er i stand til å forflytte seg fra skaderisikovolumet rundt luftkanonene.

Utgangspunktet for dette prosjektet var at tidligere utførte forsøk - inntil 1990 - ikke direkte belyste visse sider av de aktuelle norske problemstillingene. Fiskeartene som en hadde arbeidet med, var ikke representative for norske farvann, og at aktuelle størrelser av luftkanoner ikke var benyttet under tidligere norske forsøk. Videre var det behov for å trekke inn histologisk og patologisk kompetanse for å kunne verifisere ulike indre skader både ved momentan dødelighet av larver og yngel og ved ikke-direkte dødelig tilstand (subletale effekter). Hovedmålsetningen ble da å framskaffe nye og supplerende kunnskaper for på et bredere faglig grunnlag å kunne vurdere skadeeffekter på egg, larver og yngel fra seismisk arbeid med luftkanoner.

Feltforsøkene ble utført ved Havforskningsinstituttets Havbruksstasjon i Austevoll. Vi benyttet tre forsøksoppsett som simulerte påvirkninger fra reelle seismiske undersøkelser til havs. I løpet av feltsesongene 1991-92 ble det gjennomført et stort antall eksponeringer med luftkanoner på ulike utviklingsstadier av flere fiskearter. Prosjektarbeidet og foreløbige resultater til og med mars 93 er rapportert til daværende Norges Fiskeriforskningsråd i 1993.

Artene som ble brukt i prosjektet, skulle være representative for norske farvann og de skulle tilhøre fiskebestander av kommersiell interesse. Fiskeslagene skulle også ha ulik fysiologi som f.eks. arter med lukket og åpen svømmeblære og ulik grad av fysisk hardførhet. Vi brukte torsk og sei som representanter for arter med lukket svømmeblære og sild blant arter med åpen svømmeblære. Av flatfiskarter brukte vi både piggvar og rødspette fordi piggvar har midlertidig lukket svømmeblære gjennom larvestadiene mens rødspette ikke har svømmeblære og fordi de representerer flatfiskarter i henholdsvis Nordsjøen og i Barentshavet. Selv om flatfiskartene i voksen tilstand er knyttet til bunnen, forekommer de i øvre vannlag som larver og kan dermed bli utsatt for seismisk påvirkning.

De artene vi hadde tilstrekkelig stort nok materiale fra og at individene kondisjons- og atferdsmessig var representative, ble fulgt fra tidlig eggstadium, som plommesekkklarver, larver, post-larver og som yngel (0-gruppestadiet). Vi har observert og analysert materiale og data etter luftkanonskytingene for å se etter klekkesuksess av egg, momentan og langtidsdødelighet, startfôringssuksess, flyteevne, vekst, vevsskader og atferd straks etter skyting og over lengre tid.

Vi brukte to luftkanonoppsett som reflekterte typiske luftkanonoppsett brukt til havs, når det gjelder betydningsfulle parametre. Slike parametre har vi regnet til å være utsendt energi uttrykt som lydtrykknivå eller intensitetsnivå, stighetid av den utsendte lydimpulsen og antall skudd som organismene kan bli utsatt for når de er i nærområdene av luftkanonene. Vi utførte akustiske målinger av lydimpulsene og beregnet utsendt lydenergi fra luftkanonene. Avstandene mellom luftkanon eller senter av luftkanonklynge og fisk var i området 0,75 til 6,0 m. Dette tilsvarer lydtrykknivåer på mellom 242 og 220 dB // 1µPa.

I forsøkene på eggstadiet fant vi ingen statistisk signifikante forskjeller i dødelighet av egg mellom de eksponerte gruppene og kontrollgruppene. Imidlertid var det en markant tendens til høyere dødelighet for seiegg på et tidlig omvoksningsstadium for gruppen eksponert ved 0,75 m avstand og lydtrykknivå  $L_p = 242$  dB // 1µPa i forhold til de andre gruppene. Når det gjaldt startfôringsuksess, observerte vi ingen signifikant reduksjon for torskelarver som hadde vært eksponert på tidlig eggstadium.

På plommesekkstadiet observerte vi en liten, men ikke-signifikant dødelighetsøkning for torsk på kort eksponeringsavstand (0,75 m,  $L_p = 242$  dB // 1µPa) med midlere dødelighetsrate på 29 % i forhold til 16 % i kontrollgruppen. For piggvar observerte vi markant øket dødelighet ut til maksimal observasjonsavstand, 3 m, ( $L_p = 224$  dB // 1µPa). For sild kunne vi ikke påvise noen forskjell i dødelighet mellom de eksponerte gruppene og kontrollgruppene idet dødeligheten var svært høy i alle gruppene - mellom 70 og 80 %. For torsk eksponert to dager etter klekking, fant vi ingen forskjell mellom de eksponerte gruppene og kontrollgruppen ved testing av startfôringsuksess fire dager etter klekking. For sild observerte vi heller ikke noen effekt på startfôringsuksessen.

Ved lysmikroskopiske undersøkelser av plommesekkklarver av torsk ble det ikke påvist vevsforandringer. Våre resultater kunne ikke verifisere resultater fra russiske undersøkelser der det ble påvist sundrivninger i øynene - mellom nervelaget og epitelet i netthinnen. Hos plommesekkklarver av piggvar ble det påvist markant blæredannelse i hjerne, ryggmarg og øyne ved eksponeringsavstander ut til 1,6 m, og nerveceller med unormal stor volumøkning ved avstand 0,75 m. Karakteren av celleutvidingene tyder på at den er forårsaket av unormal sterk og rask trykkpåvirkning og må dette anses som en reell patologisk forandring. Siden disse alvorlige forandringene ble påvist i hjernen, kan dette ha innvirkning på normal utvikling av nervesystemet og dermed larvenes kondisjon og evne til å overleve. Inntil annen viten foreligger, må denne skaden regnes som indirekte dødelig.

Fiskens sidelinjesystem kan være sårbar for trykkskader, særlig hos larver der de såkalte frie



neuromaster i mange tilfeller representerer sidelinjen før denne er ferdigdannet. Undersøkelser av plommesekkclarver av piggvar viste skader på frie neuromaster i samtlige grupper. Fullstendig kutting av samtlige sansehår forekom bare i de eksponerte gruppene. Skadene på frie neuromaster hos piggvar kan ha betydning for deres evne til å overleve gjennom nedsatt evne til å unngå predatorer.

På larvestadiet ble det observert høy dødelighet både i de eksponerte gruppene og i kontrollgruppene idet fisken var svært sårbar for håndtering. Denne håndteringsdødeligheten gjorde at det ikke var mulig å framskaffe resultater for eventuelle effekter på sei. På dette stadiet observerte vi høyere total dødelighet for torsk i de eksponerte gruppene enn i kontrollgruppen for eksponeringsavstander 2-5 m fra kanonene. Dødeligheten var signifikant høyere i gruppen som var 5 m under kanonklyngen ( $L_p = 223 \text{ dB} // 1\mu\text{Pa}$ ) enn i kontrollgruppen.

På postlarvestadiet hos torsk ble det påvist en signifikant effekt ved 0,75 m avstand og en påvist, men ikke-signifikant effekt ut til 1,5 m fra luftkanonene ( $L_p = 235 \text{ dB} // 1\mu\text{Pa}$ ). I merd-forsøk der postlarvene var 1-1,5 m til siden og under luftkanonklyngen, ble det observert over dobbelt så høy dødelighet i forsøksgruppen som i kontrollgruppen. For andre arter som ble testet på dette stadiet, fant vi for sild en svakt øket, men ikke-signifikant dødelighet ut til 1,3 m avstand. For rødspette og piggvar observerte vi en svakt øket, men ikke-signifikant dødelighet ut til henholdsvis 1,6 og 2 m.

For torsk og piggvar observerte vi endringer i flyteevne og oppdrift umiddelbart etter eksponeringene. For begge artene ble det påvist overflotasjon for eksponerte grupper ut til 2 m avstand.

Undersøkelser av postlarver av torsk viste skader på neuromastene i samtlige grupper etter et ca. 2 ukers fôringsforsøk, men skadene var mer framtreddende i de eksponerte gruppene. Det var imidlertid god vekst av larvene i samtlige grupper.

For torskeyngel ble det registrert opptil 20 % dødelighet ved 0,9 m, opptil 3 % ved 1,3 m og ingen dødelighet ved 1,7 m fra luftkanonene og i kontrollgruppen. Hos den eksponerte yngelen fant vi skader på indre organer som sprukken svømmeblære, sammentrekt svømmeblære, gassbobler under svømmeblærehinnen, sprukken nyrehinne med blodutredning i nyrene og blodklumper i bukhulen og svømmeblæren. En del slike skader blir delvis leget over tid.

Blant fisk som ikke ble drept, observerte vi at flere fisk ble slått i svime og at de hadde unormal svømmeatferd. Noen av de svimeslåtte døde i løpet av det første døgnet etter skyting mens

andre med spesielle atferdstilstander vanligvis gikk over til normal atferd innen 0,5 til 1 time etter skyting. Slike atferdsendringer er betydningsfulle for alle stadium, men de lot seg først observere med video når individene var blitt over en viss størrelse.

Knytter vi type og grad av observerte effekter til utsendt energi eller avstand mellom fisk og luftkanoner, kan vi sammenfatte og konkludere med at forekommende dødelighet og skader er næravstandshendelser. Høyeste dødelighetsrater og hyppigst forekommende skader observerte vi ut til ca. 1,4 m avstand. Lav og ingen dødelighetsrate og mer sjeldent forekommende skader ble observert ut til ca. 5 m avstand.

Denne studien må følges opp av en annen som omhandler hvilke konsekvenser det totale omfanget av dødelighet og indre skader hos larver og yngel på grunn av luftkanonseismikk eventuelt kan ha på bestandsnivå.

## SUMMARY

Fish in their early life stages as eggs, larvae, and fry are in the most exposed positions for harmful impacts from seismic explorations. They are physiologically vulnerable, and unlike to larger fish, they are not able to move away from the volumes around the air guns.

The background for this project was that previously conducted experiments up to 1990 did not directly elucidate particular aspects of actual Norwegian problems. The fish species used were not fully representative of Norwegian waters, and all actual sizes of air guns were not applied during previous Norwegian experiments. Additionally one should apply histological and pathological competence to verify different internal injuries at both instantaneous mortality of larvae and fry and at sublethal conditions. The main goal of this study was thus to provide new and supplementary knowledge to describe and evaluate harmful effects on eggs, larvae, and fry from seismic surveys applying air guns in order to contribute to fishery management.

The field work was conducted at the Austevoll Aquaculture Station of the Institute of Marine Research. We applied three experimental set-ups to simulate the impact from offshore seismic explorations. During the field seasons 1991-92 a great number of exposures by air guns of several fish species at different development stages were carried out. The project activities and preliminary results by March 1993 were reported to the previous Norges Fiskeriforskningsråd (The Norwegian Fisheries Research Council) in 1993.

The species used in the project should be commercial important species and representative for Norwegian waters. They should further possess different physiology such as species having either closed or open swimbladders and being different physically robust. We used cod and saithe as species having closed swimbladder, and herring having open swimbladder. Among flatfish species we chose turbot and plaice because turbot have temporary closed swimbladder through the larval stages, while the plaice have no swimbladder at all, and that they represented flatfish species in the North Sea and the Barents Sea respectively. Although the flatfish species are related to the bottom as adults, they appear pelagic as larvae and are therefore available for seismic impacts.

Some of the species were followed from early egg stages, as yolk sac larvae, larvae, post-larvae, and fry (Norwegian notation of larval stages) while for others only specific stages were studied. We observed and analyzed materials and data after the air gun shooting to look for hatching success of eggs, instantaneous and long-term mortality rates, startfeeding success, buoyancy, growth, injuries of tissues, and behaviour prior to and after the air gun exposures.

We used two air gun set-ups which for characteristics like released energy, rise time of the transmitted sound pulses, and the number of shots that the organisms can be exposed to, reflected typical set-ups used offshore. We measured the acoustic output from the air guns and estimated the transmitted energy and rise times. The distances from the air gun or the center of the air gun cluster were in the range 0,75 m to 6,0 m, corresponding to sound pressure levels of 242 to 220 dB // 1  $\mu$ Pa.

From the experiments with eggs we found no statistically significant differences of the mortality rate of cod and saithe between the exposed groups and the control ones. However for saithe eggs at early gastrulation the group exposed at 0,75 m and sound pressure level  $L_p = 242$  dB // 1  $\mu$ Pa showed a pronounced trend of increased mortality rate compared to the other groups. We observed no significant difference of hatching of cod eggs between the exposed groups and the control ones. For the startfeeding success we observed no significant reduction for cod larvae exposed at early gastrulation.

At the yolk sac stage we observed a small, but not significant increase of the mortality rate for cod at short distance (0,75 m,  $L_p = 242$  dB // 1  $\mu$ Pa) with an average mortality rate of 29 % in relation to 16 % in the control group. For turbot we observed significantly increased mortality rate out to maximum distance of exposure, 3 m, ( $L_p = 224$  dB // 1  $\mu$ Pa). The average mortality rate was three times as high in the exposed groups as that of the control group. For herring we did not detect any difference of the mortality rate between the exposed groups and the control ones as the mortality rate was very high in all groups - between 70 and 80 %. For cod exposed two days after hatching we found no difference in the mortality rate between the exposed groups and the control one by testing for startfeeding success four days after hatching. For herring we did not detect any impact on the startfeeding success.

By microscopic investigations of cod yolk sac larvae no changes of any tissues were detected. Our results did not confirm Russian results demonstrating delaminations of the fish eyes. For turbot yolk sac larvae we demonstrated strong vacuolation in the brain, the spinal marrow, and the eyes at exposing distances out to 1,6 m. We detected abnormal great increase in volumes of the nerve cells at 0,75 m. The characteristics of the cell expansions implies that they are caused by strong and rapid pressure influence, and must be regarded as a real pathological alteration. As these serious alterations were proved in the brain, this may influence the normal growth of the nervous system and therefore the condition of the larvae and its ability to survive. Until further information is available, this injury must be regarded as a sublethal effect.

The lateral line system of fish may be vulnerable to pressure impacts, especially among larvae

where the free neuromasts in many cases are representing the lateral line prior to this being completely formed. Investigations of turbot yolk sac larvae demonstrated injuries of the free neuromasts in all groups. Completely cutting of all the sensory cilia of each neuromast was only apparent in the exposed groups. Injuries to the free neuromasts may affect larval survival through a reduced ability to avoid predators.

At the larval stage the mortality rates were high in both the exposed groups and the control ones as the organisms were rather sensitive to handling. The mortality caused by handling made it impossible to observe any effects on saithe. At this stage we observed higher mortality rates of cod in the exposed groups than in the control ones for exposure distances 2-5 m from the air guns. The mortality rate was significantly higher for the group being exposed 5 m below the gun cluster ( $L_p = 223 \text{ dB} // 1 \mu\text{Pa}$ ) compared to the control group.

At the post larval stage the cod showed significant mortality at 0,75 m, and slightly increased, but not statistical significant out to 1,5 m from the air guns ( $L_p = 235 \text{ dB} // 1 \mu\text{Pa}$ ). From experiments in a pen where the post larvae were 1-1,5 m to the side of and below the air gun cluster, the mortality rate in the exposed group were twice that of the control group. For herring we found slightly increased, but no significant mortality rate out to 1,3 m distance. For plaice and turbot we found slightly increased, but no significant mortality rate out to 1,6 and 2 m distance respectively.

For cod and turbot changes in their buoyancy were observed immediately after being exposed. Specimen from both species from groups being exposed at distances out to 2 m showed overfloatation.

Investigations of cod post larvae showed injuries of the neuromasts in all groups after a two week testing on feeding, the injuries were more pronounced within the exposed groups. Specimens of all groups showed good growth.

For cod fry we observed up to 20 % mortality rate at 0,9 m, up to 3 % at 1,3 m and no mortality at 1,7 m from the air guns, and in the control group respectively. We observed injuries of internal organs as broken swimbladders, contracted swimbladders, gas bubbles under the swimbladder membranes, broken kidney membranes with effusion of blood in the kidneys, and coagulated blood in the abdomens and the swimbladders. Some of these injuries healed over time.

Among fish not being killed, we observed many fishes getting stunned and some having

abnormal swimming behavior. Some of the fish which fainted died during the first day after the shooting, while others having special behaviour patterns usually recovered to normal behaviour 0,5 to 1 hour after shooting. Behaviour changes like this are severe for all stages, but they could only be observed when the specimen had become over a certain size.

Relating kind and extent of observed effects to transmitted power or distance between the fish and the air guns we can summarize and conclude that the existing mortality and injuries are near-distance incidents. Highest mortality rates and most frequent injuries were observed out to 1,4 m distance, while low and no mortality rate and more infrequent injuries were observed out to 5 m distance.

This study should be followed up by another one dealing with what effects the total mortality and internal injuries of larvae and fry from air gun seismics may have on the fish stock level.

# 1. INNLEDNING

## 1.1 Seismiske undersøkelser og virkninger på fisk i tidlige levestadier

For å kartlegge geologiske strukturer i jordskorpen brukes seismiske målinger. Utsendte lydbølger fra seismiske kilder blir reflekterte på grenseflatene mellom ulike bergarter og sedimenter. De reflekterte lydbølgene blir mottatt med spesiell instrumentering, bearbeides og tolkes via dataprogrammer og viser hvor disse grenseflatene ligger.

I løpet av de siste tiårene har det vært et varierende, men økende omfang av seismiske undersøkelser i Nordsjøen, langs Norskekysten og i Barentshavet. I tidlige faser brukte en mest sprengstoff til slike undersøkelser (LOVLIA et al. 1966, LAVERGNE 1970). Styrke og signalsignatur fra sprengstoff var ofte lite predikterbare og repeterbare. Dette sammen med at mye fisk ble drept (COKER and HOLLIS 1950, HUBBS and RECHNITZER 1952, JAKOSKY and JAKOSKY 1956, GASPIN 1978 og WILEY, GASPIN and GOERTNER 1981) og en betydelig operasjonell risiko, var bakgrunn for utvikling av flere nye energikilder som stempelvibrator, platevibrator, gassavbrenningskilder, høytrykksdampkilde, gnistutlader, luftkanon og vannkanon (KRAMER et al. 1968, FALK and LAWRENCE 1973, ANON 1974, 1981, 1989, NEWMAN 1978 og LUGG 1979). Til dypseismikkformål er i dag luftkanoner dominerende - også på verdensbasis (CHAMBERLAIN 1991).

Til visse tider, ofte etter brukskollisjoner og arealkonflikter mellom fiske og seismiske undersøkelser, har det vært fokusering - gjerne sterkt mediastøttet - på mulige skadeeffekter fra luftkanonseismikk. Fiskerorganisasjoner, forskere og andre har kommet med spørsmål og tildels sterke påstander om mulige og sannsynlige reduksjoner av fiskebestander på grunn av skader på fisk ved seismiske aktiviteter. Det finnes ikke vitenskapelig grunnlag for å hevde at slike dramatiske effekter kan inntreffe. Resultater fra ulike undersøkelser i USA, Russland og Norge viser derimot at en kan ha skadeeffekter på egg, larver og yngel, men i et avgrenset omfang. En kan imidlertid sannsynliggjøre at det kan oppstå uønskede effekter på bestandsnivå dersom seismiske undersøkelser foregår i gyteområde og -sesong for den aktuelle bestanden. Dette bygger på at en har påvist signifikante skremmeeffekter og atferdsendringer for voksen fisk i områder med seismiske aktiviteter (DALEN og RAKNES 1985, GREENE 1985, PEARSON et al. 1987, 1992, ENGÅS et al. 1993).

Det finnes en rekke dokumenterte arbeider om skadeeffekter fra sprengstoff på fisk av alle

stadier, men langt færre arbeider er utført for å belyse og kartlegge skadeeffekter fra luftkanoner, spesielt på fiskens tidlige stadier (KOSTYUCHENKO 1973, WEINHOLD and WEAVER 1972, CHELMINSKI 1974, KNUTSEN og DALEN 1985 og HOLLIDAY et al. 1987). Dette har tildels sammenheng med den lavere skaderisiko for luftkanoner sammenliknet med hva en har ved bruk av sprengstoff, men også at forsøk med egg, larver og yngel er langt mer krevende å utføre enn med større fisk.

Skader på fisk ved undervannsekspløsjoner er hovedsakelig forårsaket av en svært rask positive trykkøkning når lydimpulsen dannes, som følges av et raskt trykkfall ned til omgivelsestrykk. Vi får en overtrykkspuls med bratt forflanke og noe mindre bratt bakflanke. Ved detonasjon av store sprengstoffmengder kan en også få dannet en svak negativ trykkpuls - en undertrykkspuls - umiddelbart etter overtrykkspulsen (HILL 1978).

Ved avfiring av en luftkanon vil høykomprimert luft i kanonkammeret strømme raskt ut. En del av den lagrede energien vil bli omdannet til en lydbølge - primærpuls med en positiv trykkamplitude som umiddelbart etterfølges av en svakere negativ trykkamplitude. Resten av energien som blir omdannet, er knyttet til en svingende luftboble som er opphav til de sekundære lydbølgene kalt boblepulsene.

Fisk utsatt for en positiv trykkpuls vil få en sammentrykking av alle organer, mens ved en negativ trykkpuls vil disse organene utvides. Hvis trykkforskjellen blir stor og utvikles raskt nok, kan svømmeblæren sprenge og hjerte og blodåresystem, hørselsorganer, nyre, lever og milt sprenge eller sundrives og fisken kan dø (FALK and LAWRENCE 1973). Fiskens sidelinjesystem kan være sårbar for trykkskader, særlig hos larver der spesielle sanseorganer på kroppen, de såkalte frie neuromastene, i mange tilfeller representerer sidelinjen før denne er ferdigdannet og neuromastene er sunket inn (BLAXTER and FUIMAN 1989). De frie neuromastene har sannsynlig en viktig funksjon hos marine fiskelarver i tilknytning til deres skremmerrespons - en viktig fluktreaksjon med hensyn til evnen å overleve (EATON and DIDOMENICO 1986). Da svømmeblæren er svært følsom for trykkendringer, vil fisk med svømmeblære være mer utsatt for skader enn fisk uten - som makrell og de fleste flatfisker.

Med hensyn til skadeeffekter på fisk til havs fra luftkanoner er det å forvente, slik tidligere forskning har vist, at egg, larver og yngel vil være mest utsatt. Dette fordi de er fysiologisk forholdsvis sårbare, og fordi de ikke er i stand til å forflytte seg fra skaderisikovolumet rundt luftkanonene slik som større fisk. Larver og yngel som finner seg i volumet over luftkanonrekene, kan også bli ført mot overflaten sammen med de oppstigende luftboblene med stor fart. Denne raske oppstigningen kan føre til at svømmeblære og andre organ sprekker med mulig



dødelig utfall og de kan dessuten bli tilgjengelige som føde for fugl.

I juli 1989 ble det drept betydelige mengder oppdrettstorsk og -laks med sprengstoff i noen anlegg i Altafjorden, og utover samme høst ble det betydelig oppmerksomhet omkring mulige skadeeffekter på fisk til havs fra seismisk aktivitet. Allerede fra årsskiftet 89/90 ble det utarbeidet prosjektforslag ved flere institusjoner for å utføre ny forskning innenfor området med antydning finansiering fra oljeindustrien. Etter flere møter i og mellom berørte departementer og videre aktiviteter i regi av Oljeindustriens Landsforening (OLF) inntil september 90, sendte Norges Fiskeriforskningsråd (NFFR) i oktober 90 ut invitasjoner til 12 aktuelle forskningsmiljøer om å sende inn prosjektsøknader til delprogrammet "Fysiske skader på fisk ved seismikk/sprengning". Det foreliggende prosjektet "Effektar av luftkanonskyting på egg, larvar og yngel" var en del av dette programmet.

Utgangspunktet for prosjektet var at tidligere utførte forsøk - inntil 1990 - ikke direkte belyste visse sider av aktuelle norske problemstillinger: Fiskeartene som en hadde arbeidet med, var ikke representative for arter i norske farvann (KOSTYUCHENKO 1973 og HOLLIDAY et al. 1987), og at aktuelle størrrelser av luftkanoner ikke var benyttet under forsøkene (DALEN and KNUDSEN 1987). Videre var det behov for å trekke inn histologisk og patologisk kompetanse og ressurser for å kunne verifisere ulike indre skader både ved momentan dødelighet av larver og yngel ved luftkanoneksponering og ved ikke-direkte dødelig tilstand (subletale effekter).

Hovedmålsetningen ble da å framskaffe nye og supplerende kunnskaper omkring skadeeffekter på egg, larver og yngel fra seismisk arbeid med luftkanoner. I tillegg var det ønskelig å framskaffe et bredere faglig grunnlag omkring skaderisikoaspektet for å kunne styre oljeletingsaktivitetene i forhold til ressurs- og fiskeriforvaltning. Hovedmålsetningen ble spesifisert til følgende delmålsetninger:

- Utforme forsøksoppsett, velge arter, gjennomføre eksponeringer av artene med luftkanoner og analysere data for å supplere eksisterende viten og framskaffe nye kunnskaper om skadeeffekter fra luftkanonskyting på egg, larver og yngel.
- Arbeidet og resultatene skal rapporteres i en instituttrapport og presenteres i høvelige fora. Der det er aktuelt, bør resultatene gis slik at de kan danne basis for retningslinjer for forvaltningsmyndigheter innen "seismikk-fisk området".
- Ny viten om skadeeffekter, skal sammen med øvrige resultater presenteres nasjonalt og publiseres internasjonalt.

## 1.2 Luftkanonoppsett i seismiske undersøkelser

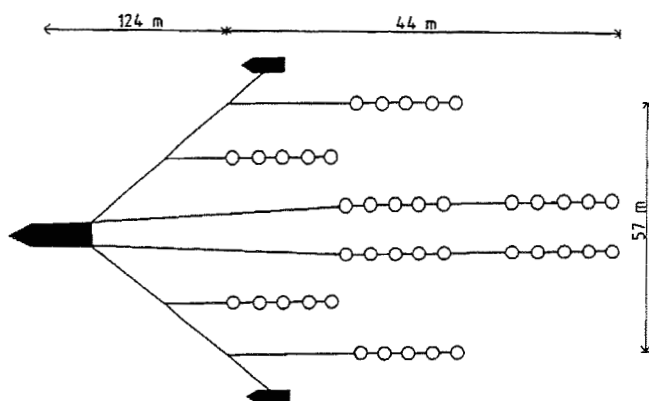
Et seismikkfartøy som utfører 3-dimensjonale (3D) undersøkelser, sleper etter seg en kilde - et luftkanonfelt (eng. "array"), bestående av mellom 20 og 60 luftkanoner av ulike størrelser hengende i flere luftkanonrekker (eng. "sub-array"), og en eller flere hydrofonkabler. Fartøyets kurslinjer kan ha en typisk avstand på 50 til 500 m, farten er 4-5 knop, og kanonene avfyres med tidsintervaller mellom 7 til 20 s. Ved 2-dimensjonale (2D) undersøkelser er kurslinjeavstandene større, mellom 0,5 og 10 km, mens de øvrige karakteristika kan være som for 3D-undersøkelser.

Siden slutten av 80-årene har vi også sett en utvikling mot såkalte dobbelkildeoppsett og fra 92 også trippelkildeoppsett til forskjell fra det ovenfornevnte enkelkildeoppsett. Flerkildeoppsettene består enten av:

Dobbelkilde: Et fartøy som har to luftkanonfelt; ett på hver side av fartøyets lengde-midtlinje, der disse avfyres vekselvis med samme tidsintervaller som nevnt ovenfor eller, to fartøyer som går parallelt med hvert sitt kanonfelt som avfyres vekselvis.

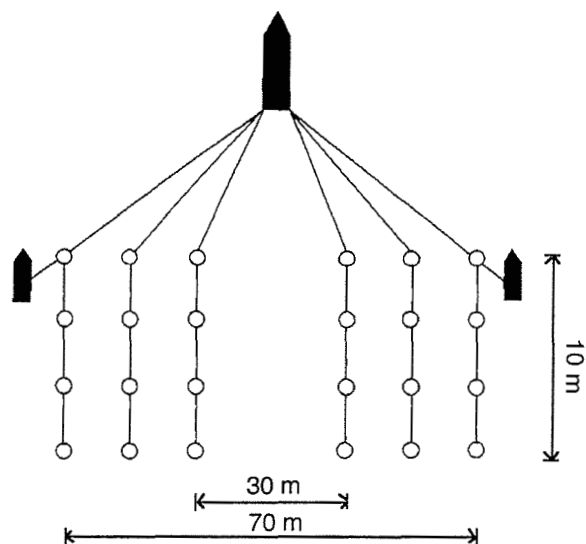
Trippelkilde: Et fartøy som har tre luftkanonfelt; ett langs fartøyets lengde-midtlinje og to luftkanonfelt; ett på hver side av lengde-midtlinjen. De tre kildene avfyres vekselvis.

I fig. 1.1-1.4 er vist eksempler på noen brukte luftkanonfelt. Merk at i figurene er dimensjon av luftkanonfelt og avstand mellom fartøy og luftkanonfelt noe fortegnat. Fig. 1.1 viser et GECO-

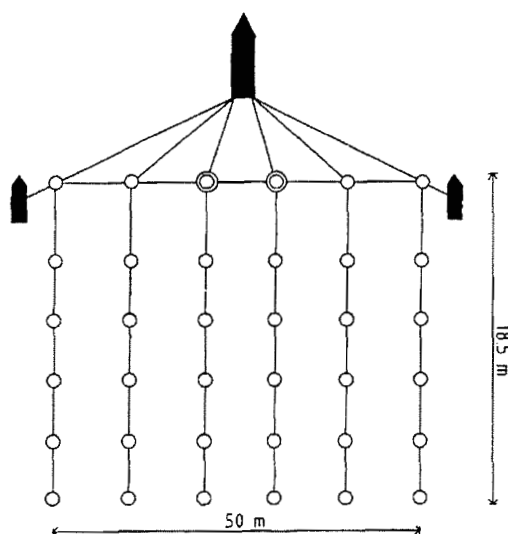


Figur 1.1. Seismisk fartøy og luftkanonfelt; GECO AS. Fylte symboler - fartøy og paravaner, o - luftkanon.  
(*Seismic vessel and air gun array; GECO AS. Filled in symbols - vessel and paravans, o - air gun*).

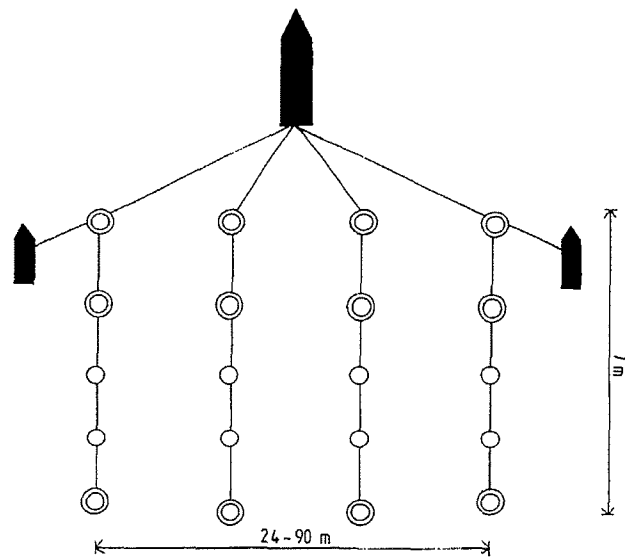
oppsett brukt fram til slutten av 80-årene, fig. 1.2 et nåværende Simon Horizon-oppsett, fig. 1.3 et nåværende GECO-PRAKLA-oppsett og fig. 1.4 viser et nåværende Master Seismic-oppsett.



Figur 1.2. Seismisk fartøy og luftkanonfelt - dobbelkildeoppsett; Simon Horizon AS. Symboler som i fig 1.1. (Seismic vessel and air gun array, Simon Horizon AS. Legends as in Fig. 1.1)



Figur 1.3. Seismisk fartøy og luftkanonfelt; GECO-PRAKLA AS. Dobbelring - luftkanonklynge, ellers symboler som i fig. 1.1 og 1.2. (Seismic vessel and air gun array; GECO-PRAKLA AS. Double ring - a i r gun cluster. Otherwise legends as in Fig. 1.1 and 1.2)



Figur 1.4. Seismisk fartøy og luftkanonfelt; Master Seismic AS. Symboler som i fig. 1.1-1.3. (*Seismic vessel and air gun array; Master Seismic AS. Legends as in Fig. 1.1 - 1.3*)

En gjennomgang av 56 ulike luftkanonfelt med informasjon om totale kammervolum gir følgende karakteristiske størrelser og grenseverdier som vist i tabell 1.1.

Tabell 1.1. Karakteristiske størrelser av kammervolum med grenseverdier for luftkanoner brukt i Nordsjøen til og med 1992. (*Characteristic chamber volumes of air guns applied in the North Sea up till 1992*).

	Kammervolum [liter, kubikktommer i parentes]		
	Min.	Maks.	Oftest forekommende
Enkle kanoner	0,16 (10)	8,2 (500)	1,5-4,9 og 8,2 (90-300 og 500)
Kanonklynger	3,28 (200)	9,59 (585)	4,9-9,6 (300-585)
Luftkanonfelt	13 (800)	167 (10204)	33-115 (2000-7000)

## 2. MATERIALE OG METODER

### 2.1 Biologisk materiale

Valg av arter ble foretatt ut fra både fysiologiske og anatomiske kriterier samt artenes utbredelse i havområder som har en høy frekvens av seismikkundersøkelser. Som representant for arter med lukket svømmeblære (physoclist) ble torsk og sei benyttet, mens sild ble valgt blant arter som har åpen forbindelse mellom svømmeblære, svelg og mage-tarmsystemet (physostom). Sild er dessuten karakterisert ved at sanseområdene i det indre øret står i forbindelse med både sidelinjen og svømmeblæren. Lodde var planlagt brukt som forsøksfisk, men vi lyktes ikke å drette disse fram pga. sykdomsutbrudd i klekkefasen. Av flatfisk ble piggvar valgt fordi den har en lukket svømmeblære gjennom larve- og postlarvestadiene, mens rødspette ble inkludert fordi den ikke har svømmeblære. Skyting med luftkanon ble foretatt på stadiene egg, larver, postlarver og yngel.

Austevoll Havbruksstasjon ble valgt som forsøkslokalitet på grunnlag av forsøksfasiliteter og personell med ønskede kunnskaper og som behersket metodikk for yngelproduksjon av marin fisk. Larver og yngel fra alle artene ble drettet opp i en rigg bestående av seks (1991) og åtte (1992) 5 m<sup>3</sup> plastikkposer plassert i et 20 000 m<sup>3</sup> sjøvannsbasseng. Oppdrettsmetoden er utførlig beskrevet av VAN DER MEEREN (1987, 1991a, 1991b). Naturlig forekommende zooplankton i bassenget ble benyttet som fôr. Bassenget ble gjødslet for å øke planktonproduksjonen (NAAS *et al.* 1991), og fôrorganismer ble samlet inn, fraksjonert og konsentrert opp ved hjelp av et hjulfilter. Det var kontinuerlig tilførsel av fôrorganismer og vann i bunnen av posene. Mellom 20 og 60 % av vannvolumet i posene ble skiftet ut pr. døgn, avhengig av biomassen av larver og yngel.

Egg av torsk og sei ble samlet inn fra naturlig gyting hos stamfisk ved Havbruksstasjonen og plassert i 70 l inkubatorer for klekking (HOLM og ANDERSEN 1991). I de ulike forsøkene ble mellom 5 000 og 30 000 plommesekkklarver av torsk satt ut i hver pose på dag 2 etter klekking. Vel 10 000 seilarver ble satt ut på dag 3 etter klekking. Yngel av torsk ble også hentet fra Havforskningsinstituttets feltlokalitet Parisvannet i Øygarden. Denne yngelen var produsert direkte i poll etter metoder beskrevet av KVENSETH og ØIESTAD (1984) og BLOM *et al.* (1991). Det ble utført skyteforsøk på egg, plommesekkklarver, larver, postlarver og yngel av torsk. På sei ble det utført skyteforsøk på egg og larver.

Sildeegg ble hentet på Orknøyene og i Skogsvågen på Sotra. Eggene ble befruktet og transpor-

tert fastklebet til glassplater. Glassplatene ble ved ankomst plassert direkte i posene for inkubering og klekking. Mellom 500 og 1 500 larver klekket i hver pose. En blanding av postlarver av sild og brisling ble i tillegg fanget inn i Skogsvågen på Sotra. Det ble utført skyteforsøk på plommeseckklarver og larver av sild, samt på en blandingen av postlarver av sild og brisling.

Det ble også foretatt skyting på plommeseckklarver og larver av piggvar. Disse ble kjøpt etter behov fra Tinfoss Aqua AS og Selvågfisk AS. Larvene var drettet opp på naturlig plankton etter samme metode som beskrevet for torsk og sild. I tillegg ble piggvarlarver med opprinnelse fra Selvågfisk AS drettet opp fra vel 5 000 plommeseckklarver som ble satt ut i to poser i Svartatjernet. Vel 5 000 egg av rødspette ble overført fra Zoologisk Laboratorium, Universitetet i Bergen, til en av posene i Svartatjernet. Rødspette ble satt i forsøk som postlarver.

## 2.2 Luftkanonoppsett i forsøkene

Fra tidligere forskning vet vi at skadetype og -omfang i hovedsak er et næravstandsfenomen. Dette fører til at det seismiske pådraget - total seismisk belastning, på organismene kan uttrykkes ved:

- utsendt energi eller indirekte totalt kammervolum av de nærliggende luftkanoner ev. totalt kammervolum av nærliggende luftkanonklynge (eng. "air gun cluster") som er to til fire luftkanoner montert sammen,
- avstandene fra organismene til de nærliggende luftkanonene,
- tilførselstrykk til kanonene, mest benyttet  $138 \text{ kg/cm}^3$  og
- antall skudd og derved integrert utsendt energi som organismene blir utsatt for.

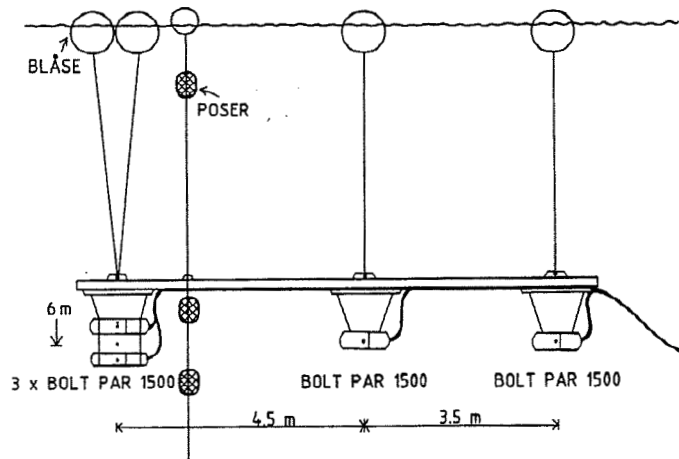
I utgangspunktet burde en ha et kanonoppsett og operere dette slik at en tilfredsstillende kravene om at organismene skulle eksponeres mest mulig likt til de energipåvirkningsmåter og energinivåer som de utsettes for under aktuelle seismiske undersøkelser. Dette skulle tilsi at energinivåene skulle øke trinnvis opp til et maksimumsnivå for deretter å reduseres trinnvis for å simulere et seismikkfartøy som nærmet seg, passerte og så fjernet seg fra området der larvene var. Innenfor aktuelle prosjektrammer var dette ikke mulig å realisere idet det ville ha krevet en større og mer kompleks luftkanonutrustning og større prosjektbemanning til kontinuerlig overvåking, registrering og analyse av akustiske data.

Utgangspunktet for det reduserte aktuelle luftkanonoppsettet og operasjon av dette var at det reflekterte reelle luftkanonoppsett brukt til havs når det gjelder betydningsfulle parametre. Slike

parametre har vi regnet til å være utsendt energi og antall eksponeringer (skudd) som organismene kan bli utsatt for når de er i nærrområdene av luftkanonene.

I forsøkene ble antall eksponeringer bestemt av største oppgitte lengde av luftkanonfeltene (lik 18,5 m for 3D-oppsett og 40 m for 2D-oppsett), minste tidsintervall mellom avfiringene (7 s) og minste brukte hastighet av seismikkfartøyet (4 knop = 2,1 m/s). Som standard eksponering brukte vi følgelig to avfiringer for de ulike forsøksgruppene. Ved noen få spesielle forsøk ble det brukt opp til fire avfiringer.

På basis av tilgjengelig informasjon om luftkanonfelt pr. januar 91 ble luftkanonoppsettet i fig. 2.1 konstruert og brukt i løpet av sommersesongen 91. Oppsettet, tabell 2.1, baserte seg på en del av en mye brukt GECO-PRAKLA-konfigurasjon (ref. Fjord Instruments AS) av en luftkanonrekke og måtte opereres fra et stort fartøy.



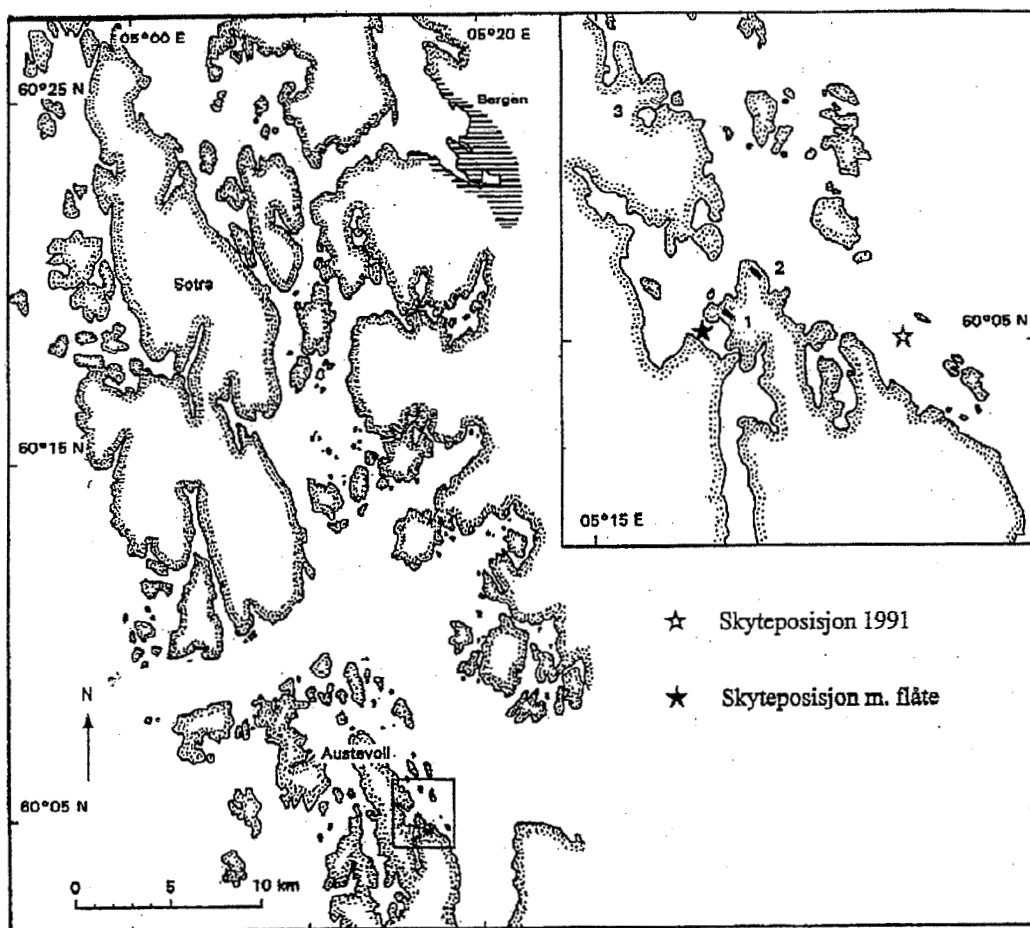
Figur 2.1. Luftkanonoppsett brukt sommersesongen 91. (Air gun set-up used during the summer season 1991).

Et underliggende moment for bruk av dette oppsettet var at vi i 91 primært ønsket å kartlegge og belyse ikke-direkte dødelige (subletale) effekter idet lite av dette var kjent fra før. Dette innebar at vi eksponerte organismene i avstander fra kanonene som dekket området fra "liten eller ingen dødelighet" til "ingen effekter i det hele tatt". Det vil si avstander fra 2 til 7 m. For å presentere en realistisk påvirkning på organismene måtte vi da sammen med luftkanonklyngen også ha med noen nærliggende kanoner. Ev. næravstandseksponeringer skulle være av supplerende art i forhold til tidligere framkommet viten (KOSTYUCHENKO 1973, KNUTSEN og DALEN 1985, HOLLIDAY et al. 1987). For å belyse om det dypet som organismene var på i forhold til luftkanonene, hadde noen betydning for eventuelle skade effekter, gjennomførte vi

flere eksponeringer med posene plassert over, på siden av og under kanonrekken.

Tabell 2.1. Luftkanonsammensetning for oppsettet brukt i sommersesongen 91 (*Air gun configuration applied during the summer season '91*).

Antall luftkanoner	Type luftkanoner	Kammervolum [liter, kubikktommer i parentes]
3 (klynge)	Bolt Par Air Gun 1500C	9,6 (585)
1	Bolt Par Air Gun 1500C	4,8 (290)
1	Bolt Par Air Gun 1500C	2,5 (155)

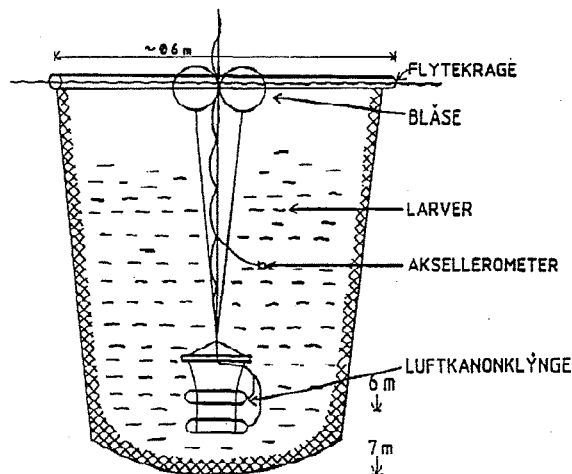


Figur 2.2. Kart over området i Austevoll hvor forsøkene ble utført. 1: Austevoll Havbrukstasjon. 2: Våtlaboratoriet Sauaneset. 3: Anlegg for larveproduksjon i Svartatjernet. (*Map over the area where the experiments were conducted. 1: Austevoll Aquaculture Station. 2: The wet laboratory at Sauaneset. 3: The larval production site at Svartatjernet*).



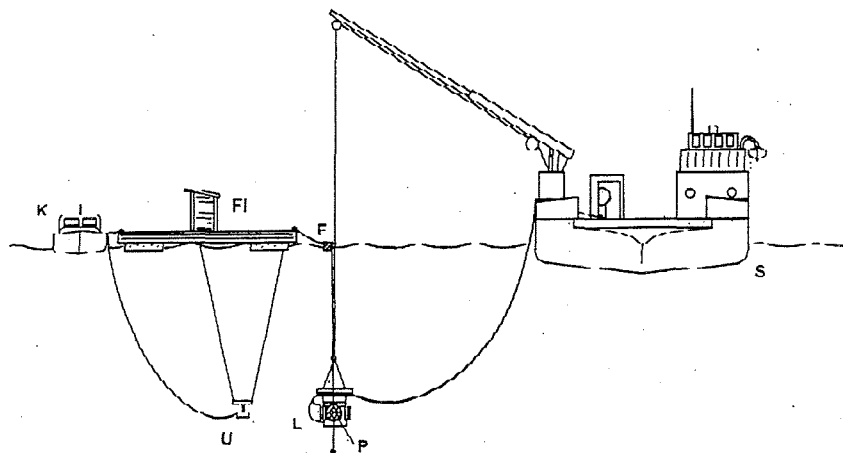
Vi fikk ofte betydelige problemer på grunn av vind og strøm med å kontrollere posisjonene av forsøksposene og hydrofonene i forhold til luftkanonene da vi måtte utføre eksperimentene under sommersesongen 91 i ganske åpent farvann. Årsaken til dette var at Havbruksstasjonen Austevoll ikke kunne tillate at forsøkene ble utført på den først utpekte lokaliteten (samme som ved tilsvarende prosjekt i 85). Etter noen spesielle atferdstester av laks under siste feltrunden i sommersesongen, ble det akseptert at de videre forsøkene kunne utføres på den originalt utpekte lokaliteten. Figur 2.2 viser et kart med avmerkede forsøkslokaliteter.

For å belyse hvilke effekter de frigitte og raskt oppstigende luftboblene fra luftkanonene kunne påføre larver som måtte være i volumet over kanonene, gjennomførte vi tre merdforsøk med postlarver av torsk og piggvar. Raske oppstigninger kan føre til at svømmeblære og andre organ sprekker slik at larvene dør og/eller blir tilgjengelige som føde for fugl. Oppsettet for forsøkene i merd er vist i fig. 2.3. Merden, som var utført i tynn notlin var fortøyd til skyte fartøyet som lå oppankret i åpent farvann øst for stasjonsområdet.

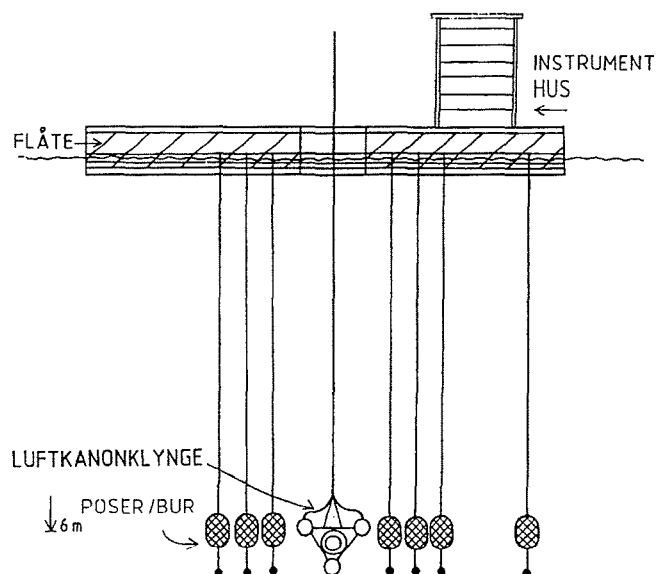


Figur 2.3. Småmasket merd med luftkanonklynge. (Smallmeshed pen with the air gun cluster).

Fra høsten 91 av og i hele 92 benyttet vi et flåtebasert oppsett som vist i fig. 2.4 og 2.5. Her benyttet vi bare en luftkanonklynge idet vi skulle belyse næravstandseffekter og da ville tilleggspådraget fra kanoner som var "flere" meter unna, ha mindre betydning i det totale pådraget. Luftkanonklyngen var identisk med den som ble brukt sommersesongen 91. Avstander mellom og bevegelser av kanonklyngen og forsøksposene ble overvåket med undervannsvideokamera og det ble gjort videoopptak for senere studier av fiskeatferd og til analyser av resultater.



Figur 2.4. Skisse over forsøksoppsett og utstyr brukt fra og med høsten 91. FL - flåte med arbeidsskur, K - kamerakontroll og monitor, L - luftkanonklynge, P - prøvebur med lodd, S - seismikkfartøy, F - flottør for prøveburene og U - undervannsvideokamera. (Sketch of the set-up and equipment used after the autumn '91. FL - raft with working shed, K - camera control and monitor, L - air gun cluster, P - test bags with weights. S - seismic vessel, F - floats for the test bags, and U - underwater video camera).



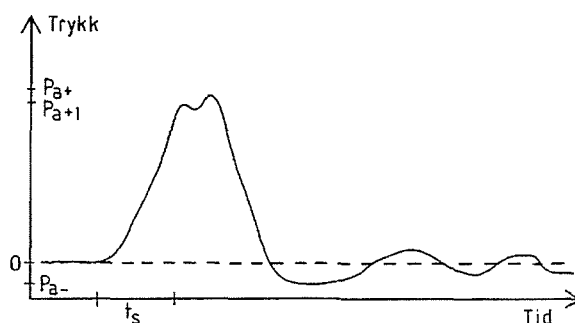
Figur 2.5. Detaljert opphengningsordning for poser og luftkanonklynge brukt fra og med høsten 91. (Detailed suspension arrangement for the bags and the air gun cluster used from the autumn '91).

## 2.3 Lydmålinger

Lydfeltet i nærheten av aktive luftkanoner er svært komplekst. Derfor måtte en plassere hydrofonene i eksakt de samme posisjoner som forsøksposene ble hengt opp i. Dette ble gjort med fire hydrofoner både ved det fartøybaserte oppsettet i 91 og ved det flåtebaserte oppsettet i 92. Signalene fra alle hydrofonene ble tatt opp parallelt på en instrumentbåndopptaker og lagret på bånd for senere analyser ved NUTEC (EKNES 1993).

Ved merdforsøkene monterte vi et nøytralt flytende enakset akselerometer i passende posisjon i merden for å et inntrykk av hvilken akselerasjon de luftfylte vannmassene med larver ble utsatt for. Det er ikke gitt at maksimal akselerasjon blir registrert da en ikke har kontroll med hvilken retning akselerometeraksen hadde.

Alle dataene ble behandlet med hensyn på å framskaffe tallverdier til parametre som kunne støtte sammenligninger og diskusjon av resultatene og for å kunne sammenligne verdiene med verdier fra tidligere og nye eksperimenter - dvs. standardiserte parametre.



Figur 2.6. Typisk trykkforløp av primærpulsen fra luftkanon.  $p_{a+}$  og  $p_{a-}$  - henholdsvis positiv trykkamplitude fra 0-nivå til største maksimumsverdi og negativ trykkamplitude fra 0-nivå til minste minimumsverdi tilhørende primærpulsen.  $p_{a+1}$  - trykkamplitude av første maksimumsverdi og stigetid,  $t_s$ , for primærpulsen. (Typical pressure signature of the primary pulse from an air gun.  $p_{a+}$  and  $p_{a-}$  - positive pressure amplitude from 0-level to the greatest maximum value, and negative pressure amplitude from 0-level to the lowest value of the primary pulse respectively.  $p_{a+1}$  - pressure amplitude of the 1st maximum value, and rise time,  $t_s$  of the primary pulse.)

Det akustiske signalet fra luftkanoner kan karakteriseres på flere måter. En kan bruke spiss-trykk eller maksimal trykk, lik  $p_{a+}$  i fig. 2.6, spiss-til-spissstrykk, lik  $p_{a+} + p_{a-}$ , intensitet (energiflux) og impuls. Følgende parametre ble avlest eller beregnet ut fra det målte trykkforløpet,  $p(t)$ , for hvert skudd:

$p_m$  - maksimum lydtrykk (kPa) lik  $p_{a+}$ ,

$L_p$  - lydtrykknivå [dB // 1  $\mu$ Pa] der  $p_0$  er referansetrykket 1  $\mu$ Pa,

$$L_p = 20 \log (p_m/p_0) \quad (1)$$

$E_r$  - relativ energifordeling mhp. tid (kPa<sup>2</sup>s),

$$E_r = \int_0^T p^2(t) dt \quad (2)$$

$I_1$  - intensitet (energiflux, W/m<sup>2</sup>) tilknyttet primærpulsens (tilsvarende både positiv og negativ trykkamplitude) tidsperiode,  $0 < T \leq T_{pp}$ , beregnet fra relativ energifordeling,

$I_2$  - energiflux (W/m<sup>2</sup>) tilknyttet boblepulsens og noen returpulsers (reflektert fra overflate og bunn) tidsperiode,  $T_{pp} \leq T \leq T_{bp}$ , definert ved en utdøingsverdi av returpulsenes trykkamplitude beregnet fra relativ energifordeling,

$$I = 1/T \int_0^T (p^2(t)/\rho c) dt \quad (3)$$

$\rho$  og  $c$  er henholdsvis spesifikk tetthet av sjøvann og lydhastighet, her satt til 1026 kg/m<sup>3</sup> og 1510 m/s.

$L_I$  - lydintensitetsnivå [dB //  $I_0$ ] der  $I_0$  er referanseintensitet i sjø for en plan lydbølge med trykk lik 1  $\mu$ Pa (rms) - satt til  $6,5 \cdot 10^{-19}$  W/m<sup>2</sup>.

$$L_I = 10 \log (I_n/I_0) \quad (4)$$

$t_s$  - stigetid (ms) definert som tiden fra primærpulsens starttidspunkt ("0-nivå") til tidspunktet for første maksimumspunkt,  $p_{a+1}$ . Normalt angis stigetid som tiden fra +10 % til +90 % av amplitudeverdien av en puls. Ved noenlunde regulære pulsformer, ville dette ha vært et entydig mål. Men da luftkanonene i klynga ofte ikke var helt synkrone, fikk vi ofte ganske irregulære pulsformer og det kunne være vanskelig å få

definert et entydig maksimumspunkt. Stigetiden ble derfor knyttet til største maksimumspunkt av trykket.

$t_p$  - tidsgradient av trykket (kPa/ms) for primærpulsens flanke,  $p_{a+1}/t_s$ . På bakgrunn av det som ble nevnt i forrige punkt, ble  $t_p$  avlest innenfor en tidsluke på 1 ms der en hadde maksimal trykkøkning. Dette kunne gjøres idet det meste av trykkøkningen foregikk innenfor 2 ms og at det innen 1 ms fantes et tilnærmet lineært forløp av flanken.

Impulsen som er et integral over tid av trykkpulsene, er ofte brukt for å kvantifisere monopolare trykksignaturer - bare positiv trykkpuls - som fra sprengstoffeksplosjoner. Fordi trykkforløpet fra luftkanoner kan inneholde betydelig energi i den negative trykkpulsene også, vil ikke impulsen være en egnet parameter for å karakterisere luftkanoner.

## 2.4 Forsøksoppsett og undersøkelser

Forsøksorganismene ble talt opp på oppdrettslokaliteten eller på våtlaboratoriet før transport tilbake til skytelokalitetene. Umiddelbart etter eksponering ble organismene fraktet til våtlaboratoriet for videre oppdrett som klekking og startfôring, samt ulike undersøkelser og observasjoner.

### 2.4.1 Egg

Egg av torsk og sei ble overført til plastposer fylt med 5 l sjøvann. Slike poser er ved lydtrykkmålinger inne i og utenfor posen funnet å være akustisk gjennomsluktige (PEARSON et al. 1994). Plastposene ble tømt for luft, gjort vann- og lufttette og transportert i bøtter til skytelokaliteten. Posene som skulle eksponeres, ble plassert i vidmaskede nylonsekker og festet til en flottør. Sekkene ble så firt ned til de respektive dybder og avstander i forhold til kanonoppsettet som vist i fig. 2.1 og 2.5.

Etter eksponering ble plastposene transportert til et klimarom med regulert temperatur på ca. 10° C. Eggene fra hver parallellpose ble forsiktig helt over i 2 l begre. Begrene ble plassert på hyller slik at de ble sikret best mulig overflateventilasjon. Dette oppsettet ble brukt for egg i 1992, mens i eggforsøket i 1991 brukte en samme system som for plommesekkklarver.

Egg på tidlige stadier ble observert med hensyn til dødelighet få timer etter skyting og deretter med jevne mellomrom fram til forsøksslutt, 16 dager senere. Døde egg ble jevnlig tatt ut mens samtlige levende egg ble fiksert i 4 % bufret formaldehydløsning ved forsøksslutt for senere telling. Egg med sprellende foster (embryo) ble fulgt fram til klekking. Klekkesuksess ble beregnet som prosent levende larver av antall eksponerte egg. I noen av forsøkene ble disse larvene fulgt til startfôringsfasen der det ble benyttet samme forsøksoppsett som skissert for plommesekklarver. Hensikten med fôringsforsøkene var å teste om luftkanonskyting påvirker utviklingen av nervesystemet, inkludert sansene, og muskulaturen. Disse organene må være normalutviklet for at larvene skal kunne greie å fange levende bytte for første gang. Tabell 2.2 viser en oppsummering av forsøksfaktorene for eksponering av egg.

Tabell 2.2. Forsøksfaktorer for eksponering av egg av torsk og sei i plastposer. K - kontrollgruppe. Antall parallellposer; tre pr. eksponerings- og kontrollgruppe. (*Experimental factors for exposing eggs from cod and saithe in plastic bags. K - control group. Number of parallel bags; three per exposed group and control group*).

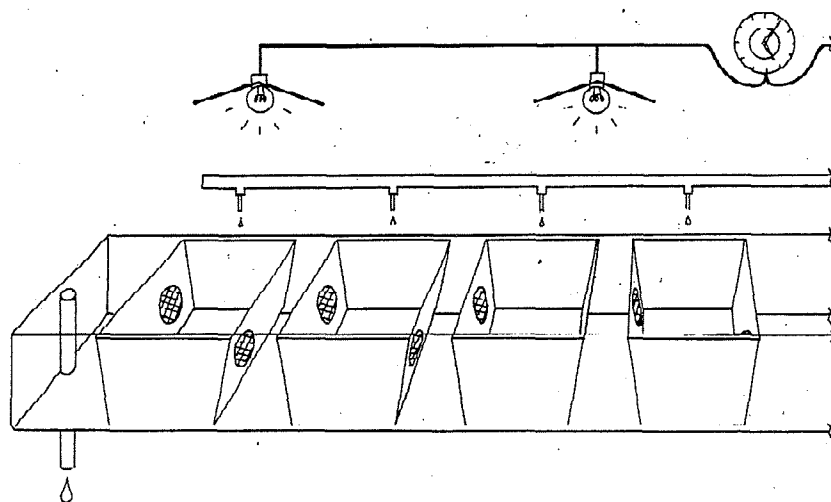
Art forsøksnr.	Stadium	Avstand fra klyngesentrum [m]					K	Antall pr. parallell	Tids- punkt
		0,75	1,05	1,35	2,0	5,0			
<u>Torsk</u>									
1	4 celler	*	*	*			*	100	mars 92
2	6 dgr.				*	*	*	100	april 91
3	60 dgr.	*	*	*			*	100	mars 92
<u>Sei</u>									
4	tidlig gastrula	*	*	*			*	100	mars 92
5	embryo ca. 180° rundt	*	*	*			*	100	mars 92

#### 2.4.2 Plommesekklarver

Plommesekklarver av torsk, sild og piggvar ble håndtert og eksponert som beskrevet for egg under pkt. 2.4.1.

Etter eksponering ble larvene transportert til våtlaboratoriet og overført fra plastposene til plast-

bakker. Det ble brukt ialt 48 stk. 8 l gjennomsiktige plastbakker som var utstyrt med to runde vinduer i hver langside, dekket med finmasket nettingduk som vist i fig. 2.7. Bakkene var plassert i klekkerenner med kontinuerlig tilførsel av sjøvann på ca. 8 - 12<sup>o</sup> C, avhengig av årstid. Døgnrytmen i laboratoriet ble styrt av et tidsur til 12 timer lys og 12 timer mørke.



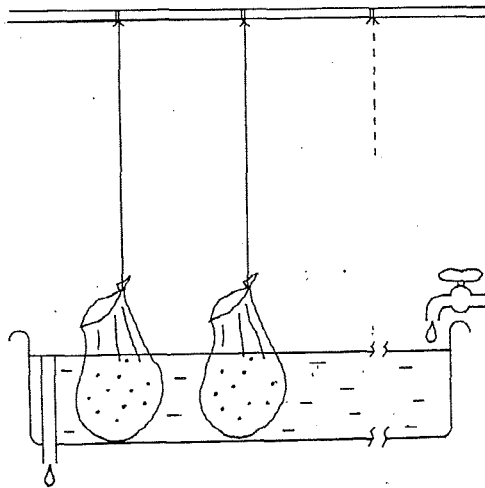
Figur 2.7. Skisse av oppsettet for å observere larvene. (*Sketch of the set-up to observe the larvae*).

Den ringe størrelsen av plommesekkklarvene, uansett art, gjorde det umulig å foreta direkte observasjoner av levende enkeltindivider. Dødeligheten etter skyting ble derfor registrert indirekte ved å telle antall overlevende larver i hver parallellgruppe ved slutten av hvert forsøk.

Det ble utført startfôringsforsøk med torsk og sild henholdsvis to og fem døgn etter skyting. Larvene ble overført til svarte 15 l bøtter med gunstig byttedyrtetthet (1 000 stk/l) og plassert i dagslys. Forsøkene ble avsluttet etter fem timer ved at larvene ble konsentrert opp og fiksert i formalin. Startfôringsuksessen ble beregnet som prosent av larvene med byttedyr i mage-tarmsystem. For å kunne påvise eventuelle forskjeller i tilvekst mellom ueksponerte og eksponerte individer, ble det tatt prøver av larvene like før eksponering og ved slutten av forsøkene. Etter lengdemålingen ble larvene skylt i destillert vann, tørket ved 60<sup>o</sup> C i 24 timer og veiet med mikrovækt med 1 µg nøyaktighet.

Det ble utført to separate forsøk med plommesekkklarver av piggvar. Larvene gikk i posene under hele observasjonsperioden. Posene var plassert i vannbad i klekkerennene som fig. 2.8 viser. Dette arrangementet minsket risikoen for håndteringsskader betydelig.

Plommesekkklarver av piggvar ble undersøkt med hensyn til korttidsdødelighet, og histologisk



Figur 2.8. Skisse av plasseringen av posene under observasjonene av plommesekkclarver av piggvar. (Sketch of how the bags were placed during the observations of the yolksack larvae of turbot).

for eventuelle subletale skader. Forsøkene ble avsluttet ett døgn etter skyting ved at larvene ble konsentrert opp og fiksert. Fra det ene forsøket ble 20 tilfeldig valgte larver fra hver avstandsgruppe og kontrollgruppen fiksert for lysmikroskopiske undersøkelser av semitynne lengdesnitt, samt skanning-elektronmikroskopi (SEM-undersøkelser) av frie neuromaster på

Tabell 2.3. Forsøksfaktorer for eksponering av plommesekkclarver av torsk, sild og piggvar i plastposer.

K - kontrollgruppe, v\*h - poser både til venstre og høyre for klyngen på angitt avstand. (Experimental factors for exposing yolksack larvae from cod, herring, and turbot in plastic bags. K - control group. v\*h - bags both on the left and right side of the air gun cluster at shown distance).

Art	Avstand fra klyngesentrum [m]								Antall K	Antall pr. paralleller	Tids-punkt	
	0,7	1,0	1,3	1,6	2,0	2,5	3,0	5,0				
<u>Torsk</u>												
6					*			*	*	3	150	april 91
7	*	*	*	*		*		*	*	4	200	april 92
<u>Sild</u>												
8					*			*	*	4	60	juni 91
<u>Piggvar</u>												
9	*	*	*	*				*	*	4	100	juni 92
10	v*h	*	*		*		*	*	*	3	100	okt. 92



kroppen. Fra det andre forsøket ble fem larver pr. avstandsgruppe og parallell, samt en nullprøve, preparert for transmisjons-elektronmikroskopi (TEM-undersøkelser). Dette ble gjort for sikrest mulig å kunne avgrense eventuelle fikseringsartifakter fra reelle vevsskader, særlig i nervesystemet og øyner. Siden plommesekkklarvene gikk i posene gjennom hele forsøket, hendte det at noen larver satt klistret fast til poseveggen under slutfikseringen. Disse larver måtte spyles ut med fikseringsvæske. Dette kan ha ført til ujevn inntrengning som igjen kan ha påvirket fikseringsresultatet. I tabell 2.3 er vist en oversikt av forsøksfaktorene for eksponering av plommesekkklarver.

### 2.4.3 Larver

Larver av torsk og sei ble eksponert for luftkanonskyting i plastposer som beskrevet ovenfor for egg og plommesekkklarver. Straks etter skyting ble larvene overført til bakkene i våtlaboratoriet for videre observasjon som vist i fig. 2.11. Registrering av eventuell dødelighet og unormal atferd ble foretatt like etter skyting og deretter minst en gang daglig fram til forsøksslutt. I tabell 2.4 er vist en oppsummering av forsøksfaktorene for eksponering av larver.

Tabell 2.4. Forsøksfaktorer for eksponering av larver av torsk og sei i plastposer. K - kontrollgruppe. (*Experimental factors for exposing larvae from cod and saithe in plastic bags. K - control group*).

Art	Middel- Forsøksnr. lengde [mm]	Avstand fra klyngesentrum [m]									Antall paralleller	Antall pr. parallell	Tids- punkt
		0,7	1,0	1,3	1,6	2,0	2,5	5,0	7,0	K			
<u>Torsk</u>													
11	11					*		*		*	3	100	april 91
12	14					*			*	*	3	40	mai 91
13	10	*	*	*	*			*		*	4	50	april 92
<u>Sei</u>													
14	10	*	*	*	*					*	1	40	april 92

### 2.4.4 Postlarver

Det ble utført forsøk med postlarver av torsk, sild, piggvar og rødspette der larvene var plassert i plastposer ved skyting. I tillegg til dette ble det foretatt forsøk der postlarver av piggvar og torsk svømte fritt i en merd med kanonklyngen oppi. I slike forsøk ble postlarvene straks etter opptelling i Svartatjernet fraktet til skytelokaliteten og overført til merden med kanonklyngen nedsenket til 6 m dybde som vist i fig. 2.3. Etter eksponeringen ble merden linet opp og

larvene fanget inn og brakt til våtlaboratoriet for videre observasjon.

Ti fem uker gamle postlarver av torsk fra hver av de eksponerte gruppene og kontrollgruppen i forsøk 19 ble fiksert etter observasjonen for histologiske og SEM-undersøkelser.

Sju uker gamle postlarver av torsk ble oppdrettet videre etter skyting for registrering av tilvekst i forsøk 20. Under dette forsøket gikk larvene i merkete svarte plastsekker hver på ca. 1 m<sup>3</sup>. Sekkene var plassert utendørs i et 7 m rundkar. Larvene ble fôret to ganger daglig med levende zooplankton. Forsøket ble avsluttet etter 12 døgn ved at larvene ble konsentrert opp og fiksert. Døde larver og svimere ble fiksert separat og larvene ble deretter veid.

Tabell 2.5. Forsøksfaktorer ved eksponering av postlarver av torsk, sild, piggvar og rødspette. K - kontrollgruppe. (*Experimental factors for exposing post larvae from cod, herring, turbot, and plaice. K - control group*).

Art	M. lengde Forsøksnr. [mm]	Avstand fra klyngesentrum [m]									Antall paralleller	Pose- type	Antall pr. parallell	Tid
		0,7	0,9	1,0	1,3	1,5	1,6	2	2,5	K				
<u>Torsk</u>														
15	47							*	*	*	3	plast	50	juni 91
16	53									*	1	notmerd	612	juni 91
17	55					*		*		*	3	plast	50	juli 91
18	55									*	1	notmerd	590	juli 91
19	19	*		*	*			*		*	3	plast	50	april 92
20	19	*		*				*		*	4	“	40	mai 92
<u>Sild</u>														
21	24		*		*			*		*	3	“	90	des. 91
<u>Piggvar</u>														
22	27									*	2	notmerd	70	juli 91
23	27					*		*		*	2-3	plast	50	juli 91
24	27	*		*	*			*		*	4	“	40	juni 92
<u>Rødspette</u>														
25	17	*		*	*			*		*	4	“	30	mai 92

I tabell 2.5 er vist en oversikt for forsøksfaktorene for eksponering av postlarver. Avstanden

mellom konsentrasjonene av postlarver i merden og luftkanonklyngen ble ved visuell obser-  
 vering i forsøk 16 og 18 anslått til 1,5-2 m til siden for og skrått under klyngen, mens i forsøk  
 22 ble den anslått til 1,5-4 m til siden for og over klyngen.

#### 2.4.5 Yngel

Torskeyngelen ble før skyting plassert i sylindriske bur av bomullsstoff med 3 mm masker og  
 28 % dekning. Det ble brukt seks bur à 40 fisk, tre på hver side av kanonklyngen. Vi  
 observerte fiskens atferd før, under og etter skyting og burenes bevegelser under skyting med  
 undervanns-videokamera. Etter skyting ble fisken plassert i 400 l kar (ett kar pr. bur) på  
 laboratoriet for observasjon av eventuelle langtidseffekter. Karene hadde kontinuerlig tilførsel  
 av sjøvann på ca. 8°C. Døgnrytmen ble regulert til 12 timer lys og 12 timer mørke. Det tok  
 cirka en halv time fra fisken ble heist opp til de var plassert i karene. Død og døende fisk ble  
 umiddelbart dissekert og undersøkt med stereomikroskop for å beskrive eventuelle indre  
 skader. En så etter tegn på blødning og makroskopiske skader, spesielt på svømmeblæren. Det  
 ble tatt fargebilder av samtlige funn. I tillegg ble det foretatt SEM-undersøkelser av det indre  
 øret fra flere fisk fra hver gruppe inkludert kontrollgruppen. Det ble tatt prøver av de over-  
 levende fiskene fra alle gruppene i inntil fem uker etter skyting for å utføre samme type  
 undersøkelser.

I forsøk 26 ble burene med fisk senket til 6 m ca. 30 timer før skyting på stedet hvor det skulle  
 skytes for å tilvenne fisken til forsøksdypet. Samtidig ble to bur med fisk som kontrollgruppe  
 senket ned på samme dyp ca. 500 m fra skytestedet. Fire skudd ble påført med noen få minutter  
 mellomrom. Etter skyting ble alle burene, inkludert de to i kontrollgruppen, heist opp trinnvis  
 over en periode på ca. 4,5 timer for ikke å påføre fisken ekstra trykkskader.

Tabell 2.6. Forsøksfaktorer for eksponering av yngel av torsk. K - kontrollgruppe, TT - trykktilvent og ITT -  
 ikke trykktilvent fisk. 40 fisk i hver parallellgruppe. (*Experimental factors for exposing cod fry. K -  
 control group, TT - pressure adapted fish, and ITT - not pressure adapted fish. 40 fish in each parallel  
 group*).

Forsøks nr.	Lengde [mm]	Avstand fra klyngesentrum [m]				Antall paralleller	Pose- type	Tid
		0,9	1,3	1,7	K			
26	100-150	*	*	*	*	2	notbur, TT	okt. 91
27	100-150	*	*	*	*	2	" , ITT	des. 91
28	140-180	*	*	*	*	1	notbur og plast	des. 91

I forsøk 27 ble fisken senket ned straks før skyting og heist opp rett etter skyting som betyr at fisken ikke ble trykktilvent. Forsøk 28 ble utført for å undersøke om effekten var større på fisk utsatt i notbur enn i plastposer (beskyttelse mot turbulens).

Tabell 2.6 viser en oppsummering av forsøksfaktorene for eksponering av yngel.

## 2.5 Mikroskopiske analyser

Bakgrunnen for histologiske undersøkelser i lysmikroskop og bruk av transmisjons-elektronmikroskopi (TEM-undersøkelser) baserer seg på hypotesen om at subletale skader vil vise seg som brister, rivninger og/eller blødninger i de ulike organer og vevstyper hos larver og yngel. Hjernevev hos tidlige larvestadier kan være spesielt utsatt for trykkskader siden dannelsen av bruskev rundt hjerneskillen enda er ufullstendig. I tillegg ser en ufullstendig differensiering og organisering av hjernevevet (gliaceller, neuroner) hos plommesekkklarver av piggvar. Lysmikroskopiske undersøkelser ble gjort med semitynne horisontal- og sagittalsnitt av hele larver innleiret i historesin og farget med toluidinblått. Det ble særlig lagt vekt på detaljundersøkelser av hjerne og øyner ved opptil 1250 X forstørrelse. Det ble dessuten utført skanning-elektronmikroskopi (SEM-undersøkelser) av frie neuromaster hos plommesekkklarver av piggvar og postlarver av torsk. Prepareringene til SEM- og TEM-undersøkelsene ble foretatt i henhold til FLOOD (1976).

## 2.6 Statistisk analyse og grafisk framstilling av dataene

I biostatistikk bruker en vanligvis et signifikansnivå på 5 % eller lavere som et kriterium for forkastelse av nullhypotesen,  $H_0$ . For eksempel når det gjelder dødelighet av organismene i vårt tilfelle, kan nullhypotesen bli:

$H_0$  = ingen forskjell i dødelighet mellom individer i eksponert gruppe og kontrollgruppen.

Dersom den statistiske testen gir som resultat at denne hypotesen ikke oppfylles, det vil si at den må forkastes, så betyr det at det er forskjell med hensyn på den testede effekt mellom individer i eksponert gruppe og kontrollgruppen. Dette kriteriumet er underforstått når vi videre snakker om "statistisk signifikant forskjell" eller "ikke-statistisk signifikant forskjell" mellom resultatene fra de eksponerte gruppene og kontrollgruppene. Vi har valgt å uttrykke resultatene

fra de statistiske analysene med forskjellige signifikansnivå, og anvendt følgende symboler i oppsummeringstabellene:

- i.s. - ikke statistisk signifikant;  $p \geq 0,1$ , der  $p$  er sannsynlighetsverdi.
- \* - statistisk signifikant, lavt signifikansnivå;  $0,05 \leq p < 0,1$ .
- \*\* - statistisk signifikant, middels høyt signifikansnivå;  $0,01 \leq p < 0,05$ . Denne sannsynlighet ansees vanligvis som liten nok til å konkludere at den observerte forskjell mellom eksponerte grupper og kontrollgruppen er reell.
- \*\*\* - statistisk signifikant, høyt signifikansnivå;  $p < 0,01$  der avtakende sannsynlighetsverdi,  $p$ , indikerer økende sannsynlighet for at det virkelig er en effekt.

De statistiske analysene ble utført med programmet "Statistica for the Mac 4.1". Der ikke annet er oppgitt, var  $p$ -verdien av hver F-test  $> 0,05$ , det vil si at det ikke var påvist ulik varians mellom gruppene. Vi brukte Student t-test, en-veis ANOVA (variens analyse) og diverse ikke-parametriske tester.

Noen forsøk var ikke mulig å få utført med parallellgrupper og dermed kan en ikke beregne konfidens- og signifikansnivå. I slike tilfeller uttrykkes resultatene som markant effekt, grad av øket effekt eller liten eller ingen effekt, enten som et absolutt tall, en prosentverdi eller som forhold mellom tall - alt sett i forhold til tilsvarende verdi fra kontrollgruppen.

I diagrammene som framstiller resultater fra eksponerte grupper og kontrollgrupper, er hver observert verdi for alle parallellgrupper representert med enten en åpen (o) eller fylt (•) sirkel.

### 3. RESULTATER

Resultatene som beskriver de ulike effekter og tilstander en observerte for klekkesuksess av egg, dødelighet, oppdrift og flyteevne, vekstpåvirkning, startfôringssuksess, atferdsendringer og vevsskader av larver og yngel, må forstås i sammenheng med noen viktige parametre. Disse er: Styrken av de akustiske eksponeringene, spesielle karakterer ved lydimpulsene og art og utviklingsstadium organismene befant seg på.

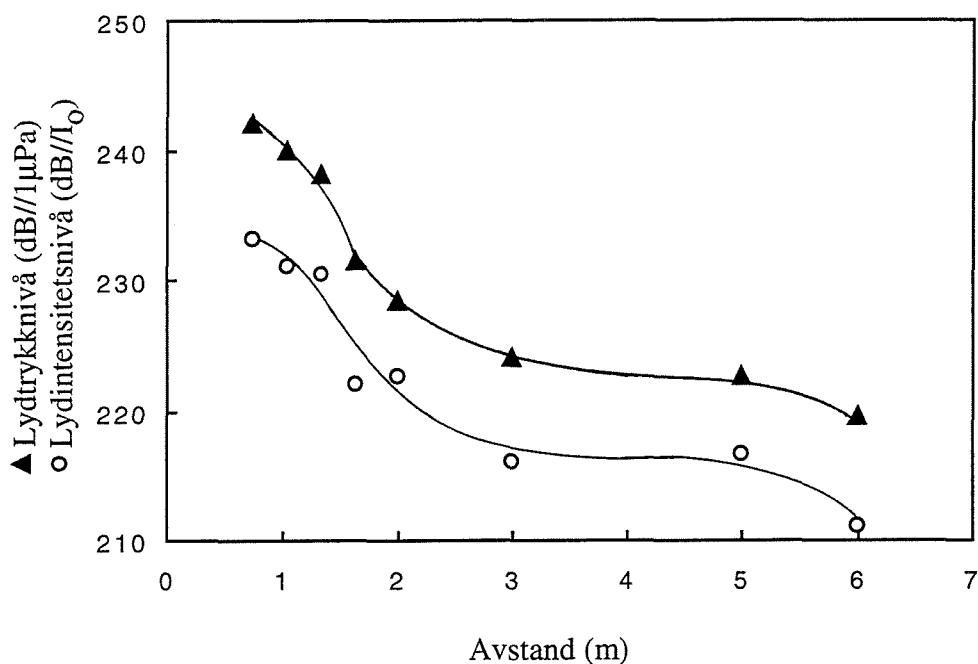
#### 3.1 Lydmålinger

For å kartlegge og beskrive de akustiske signalene som organismene ble utsatt for, ble det gjennomført lydtrykk- eller akselerasjonsmålinger i løpet av fem perioder - tre i 91 og to i 92. Måleprogrammet ble satt sammen slik at målingene skulle være representative for alle forsøksperiodene og de ulike forsøksoppsettene. Det ble gjort parallelle opptak med fire hydrofoner av i overkant av 75 skudd, eller tilsammen vel 300 registreringer. Av dette er det valgt ut og rapportert ca. 120 registreringer som er midlet til 30 sett av analyserte verdier. Videre ble det gjort opptak med et akselerometer av åtte skudd.

De analyserte og beregnede resultatene av lydmålingene er gitt i vedlegg 1, tabell I,1 og I,2 (EKNES 1993). I figur 3.1 er vist en sammenstilling av målte data som henholdsvis lydtryknivå for midlede maksimum trykkamplituder og totalt lydintensitetsnivå - som funksjon av avstand mellom senter av luftkanonklynge og måleposisjon.

Vi finner fra fig 3.1 at lydtryknivået ligger høyt på ca. 242 dB // 1 $\mu$ Pa og avtar med ca. 3 dB fra 0,75 m til 1,35 m. Deretter er det en større reduksjon på ca. 12,5 dB fra 1,35 til 2,5 m og videre en mindre reduksjon på ca. 2 dB ut til 5,0 m for så falle med ca. 3 dB mellom 5,0 og 6,0 m. For intensitetsnivået finner vi omtrent samme variasjoner som funksjon av avstand mellom luftkanonklynge og hydrofonene. Reelt sett varierer både lydtrykk- og lydintensitetsnivå som funksjon av avstand vesentlig mer enn hva kurvene i figuren viser. Årsaken til dette er at vi er i nærfeltet fra de tre kanonene i klyngen og omkringliggende kanoner (91-målingene) med sterkt varierende interferens i amplitude og fase mellom lydimpulsene.

I tabell 3.1 er vist stigetid og trykk-tidsgradient for primærpulsen og reduksjon i trykk-tidsgradient i forhold til maksimalverdi som funksjon av avstand. Trykk-tidsgradienten er ikke noen standard måleparameter for lydimpulser i sjøen, men den uttrykker klart endringer i hvor



Figur 3.1. Lydtrykknivå for midlede maksimum trykkamplituder for primærpulsen og lydintensitetsnivå som funksjon av avstand mellom luftkanonklynge og hydrofonene. (*Sound pressure level of averaged maximum pressure amplitudes of the primary pulse and sound intensity level versus distance between the air gun cluster and the hydrophones.*)

bratt forflanken av pulsen er. Observasjoner av effekter på fisk fra sprengstoffdetonasjoner uttrykker at sannsynligheten for skader stiger med stigende steilhet av pulsen for en gitt pulsamplitude. En regner at ved stigetider  $\leq 1$  ms for lydtrykknivå  $\geq 230$  dB // 1  $\mu$ Pa for en lydimpuls, er det stor sannsynlighet for å drepe fisk ved enkle detonasjoner (BAXTER 1985, LARSON 1985).

Tabell 3.1. Stigetid og trykk-tidsgradient av primærpulsen og reduksjon i trykk-tidsgradient i forhold til maksimalverdi - alt som funksjon av avstand mellom luftkanonklynge og hydrofonene. (*Rise time and pressure-time gradient of the primary pulse, and reduction of the pressure-time gradient in relation to its maximum value - all versus distance between the air gun cluster and the hydrophones.*)

	Avstand [m]							
	0,75	1,05	1,35	1,65	2,0	3,0	5,0	6,0
Stigetid, $t_s$ [ms]	1,4	1,3	1,5	1,9	1,6	2,1	3,1	1,9
Trykk-tidsgradient, $t_p$ [kPa/ms]	998	749	695	236	165	96	75	64
Reduksjon av $t_p$ fra maks. verdi [dB]	0,0	2,5	3,1	12,5	15,6	20,4	22,5	23,5

Vi ser at stigetiden viser et moderat varierende og svakt stigende forløp med økende avstand med unntak av verdien ved 5,0 m. Trykk-tidsgradienten viser omtrent tilsvarende reduksjon i desibel som funksjon av avstand som vi fant for lydtryknivået.

Helt i starten av forsøkene ble det utført analyse for å finne eventuelt innhold av høyfrekvent energi i primærpulsen. Analyse av lydsignalet mottatt på en hydrofon som hang 2 m fra luftkanonklyngen, viste et signifikant innhold av høye frekvenser i en 150  $\mu$ s periode i løpet av primærpulsens stighetid. Sammen med resultatet fra primærpulsens amplitude fikk vi:

Trykkamplitude - høyfrekvent puls:  $p_{hf} = \pm 30$  kPa (senterfrekvens ca. 17 kHz)

Trykkamplitude - primærpuls:  $p_m = 380$  kPa (lavfrekvent)

En mulig årsak til denne høyfrekvenspulsen kan være at stemplene i luftkanonene i klyngen treffer de mekaniske endeposisjonene og genererer en kort puls som forplanter seg ut i vannet.

Siden trykket i høyfrekvenspulsen var mye lavere enn i primærpulsen, ble det konkludert med at den høyfrekvente energien sannsynlig ikke bidrar til skadeeffekter på organismene.

I et innledende forsøk monterte vi et enakset akselerometer i passende posisjon i en merd for å måle hvilken akselerasjon,  $a_{1b}$ , de luftfylte vannmassene med larver ble utsatt for. Det ble videre forsøkt å integrere det målte resultatet for å belyse hvilke hastigheter,  $v_{1b}$ , vannmassene hadde. Akselerometeret har respons ned til DC og er derved også følsom for tyngdens akselerasjon. Når da akselerometeret beveger seg med vannet og endrer retning, vil tyngdekraften komme inn som et varierende feilsignal ved lave frekvenser. En viss forbedring ble oppnådd ved å høypassfiltrere ved 1 Hz, men fremdeles ble det stor spredning i resultatene avhengig av hvilken integrasjonskonstant som ble brukt. Resultatene for hastighetsamplituden fra integrasjonen bør derfor kun anses som et eksempel på hvilken størrelsesorden hastigheten kan ha. For akselerasjonen vil feilen fra tyngdekraften ha underordnet betydning, og resultatene får akseptable feilgrenser.

Akselerometeret ble hengt opp så nær luftkanonen som praktisk mulig. På grunn av vind og strøm og lav vekt av akselerometeret, begrenset dette seg til ca. 2 m under første avfiring. De store bevegelsene i vannmassene etter første skuddet førte akselerometeret med kabel bort fra luftkanonen. Avstanden økte derfor betydelig for de påfølgende skuddene. Det vil derfor kun være det første skuddet som kan gi representative verdier.



Akselerasjon (første skudd):	$a_{1b} = +/- 180 \text{ m/s}^2 = +/- 18,4 \text{ G}$
Maksimal mulig feil:	$\Delta a_{1b} = +/- 9.81 \text{ m/s}^2 = +/- 1 \text{ G}$
Maksimal hastighet ved 2 m avstand (første skudd):	$v_{1b} = 7 \text{ m/s}$

## 3.2 Egg

I tabell 3.2 er vist oppsummering av resultatene fra eksponeringene av egg.

Tabell 3.2. Oppsummering av resultatene fra forsøk med egg. i.s. - ikke statistisk signifikant effekt, (x) - høyere startfôringssuksess i de eksponerte gruppene og dgr. - døgngrader. (*Summarized results from the experiments on eggs. i.s. - no statistical significant effect, (x) - higher start feeding success within the exposed groups, and dgr. - degree-days*).

Art	Substadium	Forsøksnummer	Avstand [m]	Parametertype og tid etter eksponering	Effekt
<u>Torsk:</u>	4 celler	1	0,7-1,3	dødelighet, 24 timer	i.s.
	morula (6 dgr.)	2	2 under, 5 over 5 under	startfôringssuksess	(x) i.s.
	embryo (60 dgr.)	3	0,7-1,3	dødelighet, 24 timer	i.s.
<u>Sei:</u>	tidlig gastrula	4	0,7	dødelighet, 4 døgn	tendens, i.s.
			1,3		i.s.
	sen gastrula	5	0,7-1,3	dødelighet, 4 døgn klekkeprosent	i.s. i.s.

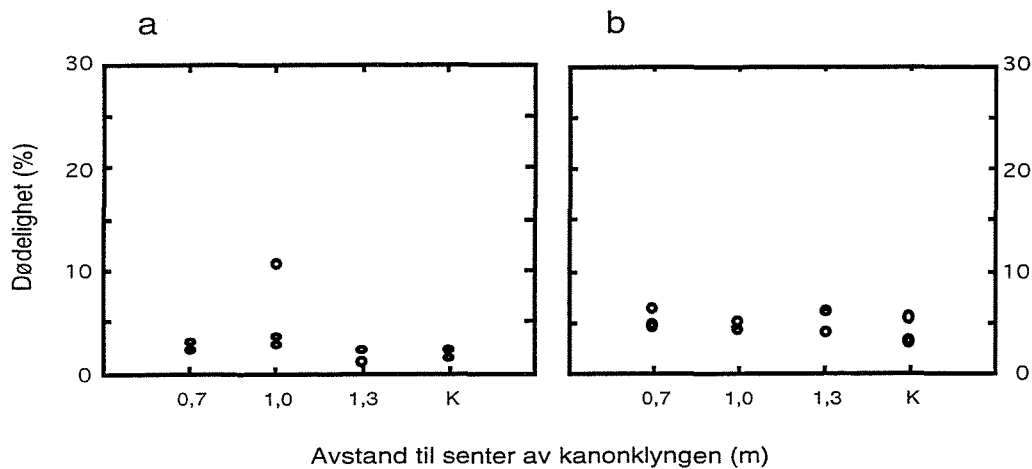
I forsøk 2 var posene plassert 2 og 5 m under, og 5 m over hovedkanonen. I forsøkene 1, 3, 4 og 5 var posene plassert til side for hovedkanonen.

Under forsøkene 1, 3, 4 og 5 med egg av torsk og sei i 1992 oppstod det problemer med reguleringen av lufttemperaturen etter ca. fem døgn. Dette førte til isdannelse på vannoverflaten i begerne som stod nærmest gulvet. Registreringen av klekkesuksessen i forsøkene 3 og 5 måtte derfor avsluttes før samtlige egg nådde klekkestadiet.

### 3.2.1 Torsk

#### Forsøk 1 og 3

Eksponering ved forsøk 1 ble utført med egg på 4 cellers stadium og ved forsøk 3 ved 60 døgngader, etter at fosteret (embryoet) var dannet og utviklingen av hjertet og andre organer hadde startet. I forsøk 3 begynte klekkingen etter tre døgn. Det ble ikke påvist noen signifikant forskjell i dødelighet i løpet av 24 timer etter skyting mellom de eksponerte og kontrollgruppene presentert i fig 3.2. (Forsøk 1:  $p > 0,05$ ; Kruskal-Wallis median test; fig. 3.2.a. Forsøk 3:  $p = 0,356$ ; 1-veis ANOVA; fig. 3.2.b).

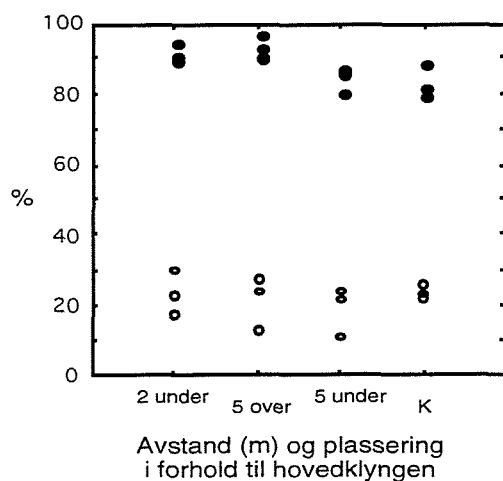


Figur 3.2. Dødelighet av torskkeegg en dag etter skyting. a: eksponert på et tidlig eggstadium (forsøk 1) og b: eksponert på sent eggstadium (forsøk 3). K - kontrollgruppe. (*Mortality rate of cod eggs one day after shooting. a: exposed in an early egg stage (experiment 1) and b: exposed in a late egg stage (experiment 3). K - control group.*)

#### Forsøk 2

Eksponering ble utført på egg ved 6 døgngader, i morulastadiet. Eggene ble inkubert videre på laboratoriet og klekkeprosenten var høy, ca. 90 % i samtlige grupper. Fem døgn etter klekking (16 dager etter skyting) hadde larvene nådd stadiet der de tar seg ekstern føde og det ble da utført et startfôringsforsøk. Undersøkelsen etter forsøket viste at andel larver med byttedyr i tarmsystemet var høy i alle grupper som vist i fig. 3.3. Gruppene som var plassert 2 m under og 5 m over kanonklyngen, hadde noe større startfôringsuksess enn kontrollgruppen mens det ikke var noen statistisk forskjell mellom gruppen plassert 5 m under kanonklyngen og kontrollgruppen ( $p =$  hhv. 0,086, 0,046 og 0,987; Tuckey HSD-test). Det ble ikke funnet noen signifikant forskjell i dødelighet under startfôringsperioden mellom de eksponerte og kontrollgruppen som fig. 3.3 viser ( $p = 0,68$ ; Tuckey HSD-test). Det ble heller ikke påvist

signifikante forskjeller i tørrvekt mellom gruppene. Resultatet fra forsøket indikerer at eksperimentell eksponering med luftkanoner ikke har noen målbar effekt på den tidlige utviklingsfasen hos torsk når fisken eksponeres på eggstadiet.



Figur 3.3. Startfôringsuksess (●) og dødelighet (○) hos torskelarver eksponert i eggfasen. (*Start feeding success (●) and mortality rate (○) of cod larvae exposed during the egg stage*).

### 3.2.2 Sei

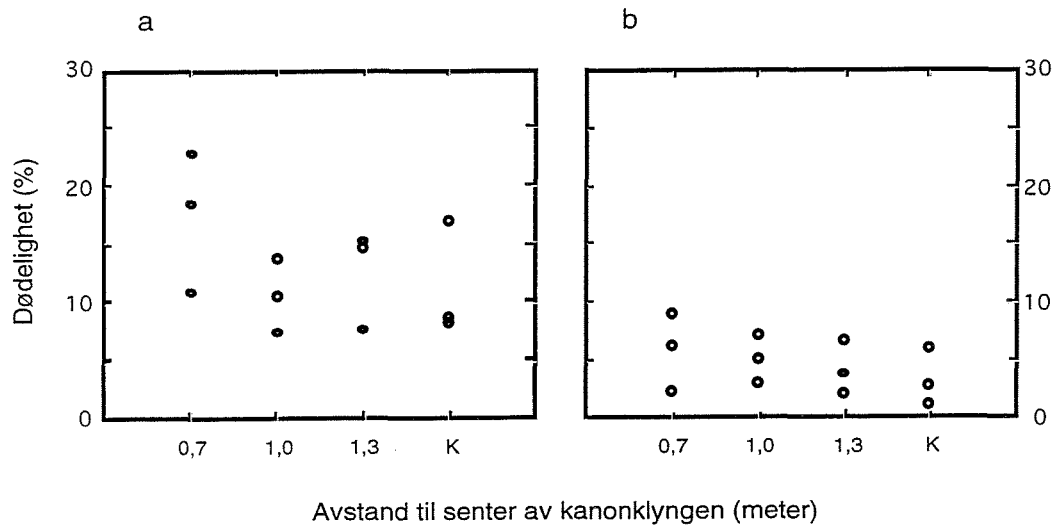
#### Forsøk 4

Eggene var på tidlig omvoksningsstadium (gastrulasjonsstadium). Det ble ikke påvist noen signifikant forskjell i den summerte dødeligheten fire dager etter skyting mellom de eksponerte og kontrollgruppen ( $p = 0,323$ ; 1-veis ANOVA; fig.3.4.a). En viss økning i dødeligheten for den eksponerte gruppen ved korteste avstand kan observeres fra fig.3.4.a med midlere verdi på ca. 17 % mot 11 % i kontrollgruppen.

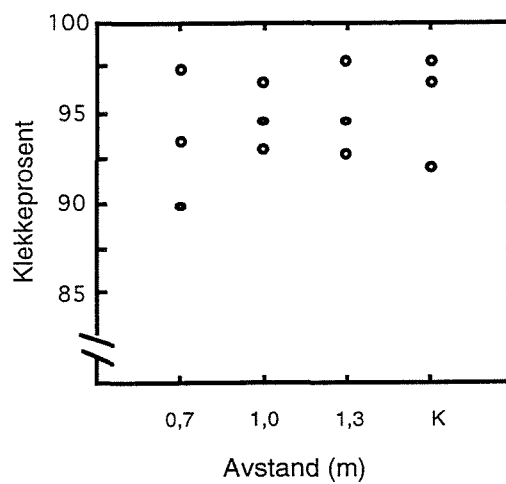
#### Forsøk 5

Ved skytetidspunktet var embryoet omvokst til ca. 180° og organutviklingen var påbegynt.. Det ble ikke påvist noen signifikant forskjell i den summerte dødeligheten som vist i fig.3.4.b, fire dager etter skyting mellom de eksponerte gruppene og kontrollgruppen ( $p = 0,677$ ; 1-veis ANOVA).

Det var heller ikke noen signifikant forskjell i klekkesuksess ved dag 4 mellom den eksponerte gruppene og kontrollgruppen i dette forsøk ( $p = 0,851$ ; 1-veis ANOVA; fig. 3.5).



Figur 3.4. Summert dødelighet av seiegg fire dager etter skyting. a - eksponert på et tidlig eggstadie (forsøk 4) og b - eksponert på et sent eggstadie (forsøk 5). K - kontrollgruppe. (Accumulated mortality rate of saithe eggs four days after the exposure. a - exposed at an early egg stage (experiment 4), and b - exposed at a late egg stage (experiment 5). K - control group).



Figur 3.5. Klekkesuksess hos seiegg eksponert i sent gastrulasjonstadie (forsøk 5). K - kontrollgruppe. (Hatching success of saithe eggs exposed during late gastrulation stage (experiment 5). K - control group).

### 3.3 Plommesekklarver

Tabell 3.3 viser en oppsummering av resultatene fra eksponering av plommesekklarver.

Tabell 3.3. Oppsummering av resultatene fra eksponering av plommesekkclarver. i.s. - ikke statistisk signifikant effekt, \* - statistisk signifikant effekt, lavt signifikansnivå ( $0,05 \leq p < 0,1$ ), \*\*\* - statistisk signifikant effekt, høyt signifikansnivå ( $p < 0,01$ ) og x - markant øket dødelighet. (*Summarized results from exposing the yolk sac larvae. i.s. - no statistical significant effect, \* - statistical significant effect, low level of significance ( $0,05 \leq p < 0,1$ ), \*\*\* - statistical significant effect, high level of significance ( $p < 0,01$ ), and x - pronounced increased mortality*).

Art	Forsøksnummer	Avstand [m]	Parametertype og tid etter eksponering	Effekt
<u>Torsk</u>	6	2,0 - 5,0	startfôringssuksess, 2d	i.s.
	7	0,7	dødelighet, 15 timer	tendens, i.s.
		1,0 - 2,5		i.s.
<u>Sild</u>	8	2,0	dødelighet, 5 døgn	i.s.
			startfôringssuksess	i.s.
<u>Piggvar:</u>	9	0,7	dødelighet, 1 døgn	***
		1,0		i.s.
		1,3		***
		1,6		***
	10	0,7 - 3,0	dødelighet, 20-24 timer	x

### 3.3.1 Torsk

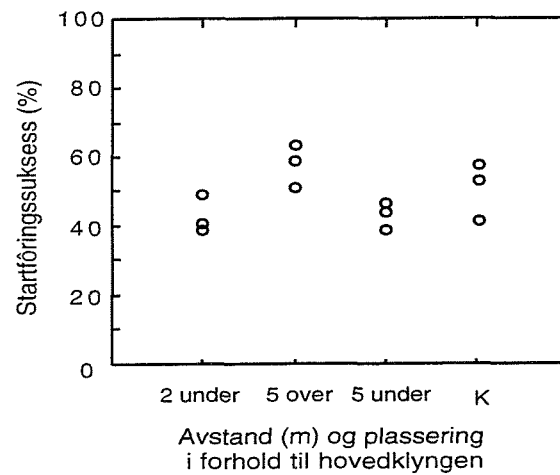
Det ble utført to forsøk med plommesekkclarver av torsk for å teste på henholdsvis startfôringssuksess og korttidsdødelighet.

#### Forsøk 6

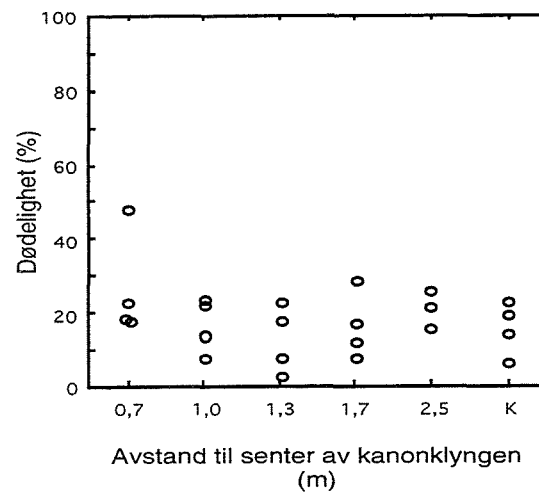
Startfôringen ble gjennomført på dag 2 etter skyting (fire døgn etter klekking). Det ble ikke påvist signifikante forskjeller i startfôringssuksess som vist i fig. 3.6 mellom larvene i de to avstandsgruppene og kontrollgruppen ( $p > 0,4$ ; Tuckey HSD-test). Det ble heller ikke funnet signifikante forskjeller mellom gruppene når det gjelder vektøkning etter startfôring.

#### Forsøk 7

Det var ikke noen signifikant forskjell i dødelighet 15 timer etter skyting mellom de eksponerte gruppene og kontrollgruppen ( $p = 0,373$ ). Imidlertid var dødeligheten markant høyere i en av parallellgruppene i nærmeste avstandsgruppe som fig. 3.7 viser, sammenlignet med de andre gruppene inkludert kontrollgruppen.



Figur 3.6. Startfôringssuksess hos plommesekkklarver av torsk to døgn etter eksponering. K - kontrollgruppe. (Start feeding success of yolk sac larvae of cod two days after the exposure. K - control group).



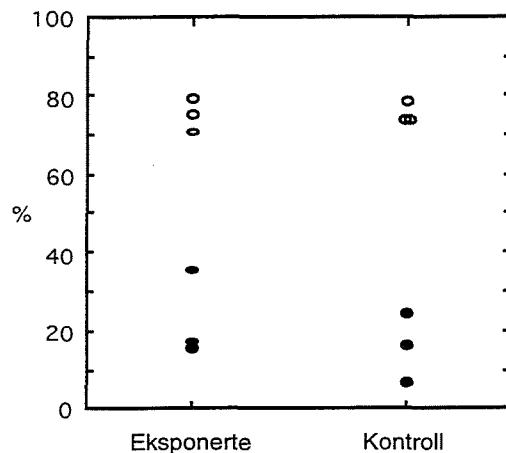
Figur 3.7. Dødelighet som funksjon av avstand hos plommesekkklarver av torsk, 15 timer etter eksponering. K - kontrollgruppe. (Mortality rate vs. distance of yolk sac larvae of cod 15 hours after the exposure. K - control group).

Histologi: Ved lysmikroskopiske undersøkelser av semitynne lengdesnitt av 10 - 15 larver pr. avstandsgruppe og kontrollgruppen ble det ikke påvist vevsforandringer. Snittene viste også at fikseringen av larvene var god, med tilsynelatende jevn penetrering av fikseringsvæsken i samtlige aktuelle organer og vevstyper.

### 3.3.2 Sild

#### Forsøk 8

Det var ikke noe signifikant forskjell i dødelighet hos plommeseckklarver av sild eksponert på 2 m avstand i forhold til kontrollgruppen observert fem døgn etter skyting. Det ble også utført en startfôringstest med levende dyreplankton. Etter startfôringen ble larvene bedøvet ved tilsetning av MS 222 i observasjonsbakkene like før innfangning og fiksering. Dette var for å unngå tømning av mage og tarmkanal som hos disse larvene er nesten rett og kunne lett bli tømt om de utsettes for stress under håndtering. Det var ingen signifikant forskjell verken i startfôrings-suksess ( $p = 0,43$ , t-test) eller i overlevelse under selve forsøket ( $p = 0,95$ , t-test) mellom de eksponerte larvene og kontrollgruppen som fig. 3.8 viser.

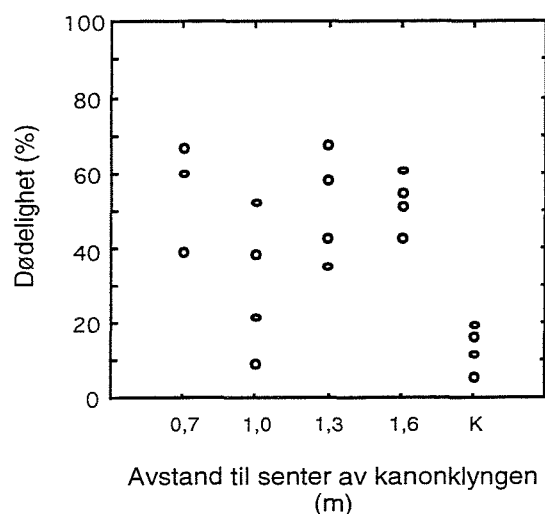


Figur 3.8. Startfôringsuksess (●) og overlevelse (o) hos sildelarver eksponert på 2 m avstand i forhold til kontrollgruppen. (*Start feeding success (●) and survival (o) of herring larvae exposed at 2 m distance in relation to the control group.*)

### 3.3.3 Piggvar

#### Forsøk 9

Med unntak for gruppen som befant seg på ca. 1 m avstand, var dødeligheten et døgn etter skyting signifikant høyere i de eksponerte gruppene. Her var midlere dødelighet mellom 51 og 55 % i forhold til kontrollgruppen med midlere dødelighet lik 14 % som fig. 3.9 viser ( $p = 0,007$ ,  $0,4$ ,  $0,009$  og  $0,007$  henholdsvis for avstandsgruppene 0,7, 1,0, 1,3 og 1,6 m; Tuckey HSD-test).



Figur 3.9. Dødelighet hos plommesekk larver av piggvar ett døgn etter belastning. K - kontrollgruppe.  
*(Mortality rate of turbot yolksack larvae one day after the exposure. K - control group).*

**Histologi:** Det ble utført lysmikroskopiske undersøkelser av flere semitynne lengdesnitt av fem til ti larver pr. eksponert gruppe og kontrollgruppen, samt fra en ubehandlet nullprøve. I snittene av larver fra samtlige eksponerte grupper ble det funnet blæredannelse (vakuolisering) i hjerne og ryggmarg, samt øyner (Vedlegg 2, fig. II b). Blæredannelsen framstod histologisk som klare, tilsynelatende tomme, områder som var spredt over store deler av hjernen og øynene. Blærene varierte i både form, kontur og størrelse. Hos larvene fra kontrollgruppen var blæredannelsen enten ikke tilstede eller forekom kun i meget svak grad (Vedlegg 2, fig. II a). I snittene av larver fra den ubehandlede nullprøven ble slike blærer ikke påvist. Det foreliggende materiale var ikke stort nok for dekkende statistiske analyser av fordeling av blæredannelsen pr. gruppe og avstand. Dette skyldes at snittmaterialet er for snevert og at ikke alle larver ble snittet i nøyaktig samme plan. Funnene viste noe varierende grad av blæredannelse, fra svak til sterk, i samtlige eksponerte grupper ved avstander fra 0,7 til 1,6 m. Undersøkelsen indikerte også at blærene var lokalisert mellom de enkelte hjernecellene (intercellulært). I tillegg ble det funnet tydelig forstørrede celler i hjernen og øynene i snitt av fire larver eksponert på nærmeste avstand og denne skaden anses som en reell patologisk forandring (Vedlegg 2, fig. II c).

Er det noen sannsynlighet for at hulromsdanningen kan skyldes ujevn fiksering av såvel hjerne og øyner, særlig sett i lys av problemene en møtte under slutfikseringen av larvene (jf. kap. 2.5.2)? Ved ujevn fiksering vil en kunne forvente å finne eventuelle artifakter i organets mer sentrale deler som fikseres sist. Hulrommene og forstørrede celler forekom imidlertid nokså



jevnt fordelt over hele hjernen inklusive de perifere deler. Hulrommene var markant tilstede i samtlige eksponerte grupper, enten ikke tilstede eller i meget svak grad i kontrollgruppen og ikke tilstede i den ubehandlede nullprøven. Forskjellen i påvirkning på de tre gruppetypene var at de ble utsatt for ulike grader av mekanisk påvirkning. For de eksponerte gruppene galdt dette trykkpåvirkning ved eksponering, trykkpåvirkning ved nedsenking og opphiving under forsøket og påvirkning ved transport. For kontrollgruppen galdt de samme påvirkningene forutenom trykkpåvirkningen ved eksponering, og for nullprøven bare påvirkningen ved transport. Samtlige grupper ble fiksert på samme måte. Konklusjonen blir da at trykkpåvirkningen fra luftkanoneksponeringen må ha ført til det store omfang av hulroms-danning i hjerne, øyne og ryggmarg.

Det er kjent at relativt hypertone fikseringsløsninger ofte frambringer artifakter som vises som innskrumpninger i vevet på grunn av enkelte kollapsete celler. Man kan imidlertid ikke se bort fra at dehydreringen kan ha ført til hel eller delvis utvasking av visse hjernebestanddeler, f.eks spesielt fettholdig vev eller celler, som kan ha etterlatt seg tomme hulrom. Den betydelige volumøkningen hos enkelte nerveceller tyder imidlertid på at hjerne og øyner har vært påvirket av trykk. For sikrest mulig å kunne avgrense eventuelle artifakter fra reelle vevsforandringer eller skader, ble det tatt sikte på å studere aktuelle vevspartier og celler i elektronmikroskop. Dette arbeidet lot seg imidlertid ikke fullføre innen prosjektets opprinnelige tidsramme (januar 1991-mars 93) på grunn av manglende sluttfinansiering (DALEN 1993).

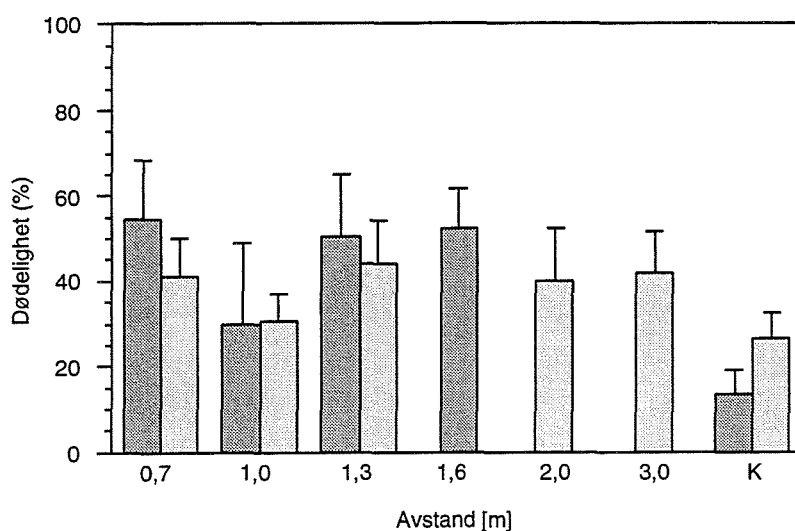
SEM-undersøkelser av frie neuromaster: Det er kjent at plommeseckklarver av piggvar som regel har fem frie neuromaster på bakkroppen (NEAVE 1986). Funksjonen av disse er nært knyttet til larvenes fluktreaksjon på direkte eller indirekte fysisk stimuli, såkalt "C-start behavior" (BLAXTER and FUIMAN 1989). Forsøk utført i 1991 på yngel av torsk tydet på at det oppstår skader på sansehårcellene i det indre øre etter eksponering for luftkanonskyting (jf. forsøk 26 og 27). I denne undersøkelsen ønsket vi å belyse om luftkanonskyting har effekt på de frie neuromaster som i bygning er svært lik sansecellene i øret hos marine fiskelarver. Av tids- og ressursmessige grunner var det nå ikke mulig å undersøke dette statistisk dekkende. Funnene gir således kun en pekepinn og må sees i sammenheng med allerede eksisterende viten om funksjonen av frie neuromaster hos marine fiskelarver.

Undersøkelsen omfattet fem plommeseckklarver fra avstandsgruppe 1 (0,75 m), kontrollgruppen og en ueksponert nullprøve. I samtlige grupper ble det observert neuromaster med tilsynelatende intakte hårceller, samt neuromaster som viste tydelige skader på sansehårene i varierende omfang. I avstandsgruppe 1 ble det funnet opptil tre skadete neuromaster pr. undersøkt larve. Skadene varierte fra lett barbering av enkelte sansehår i hårcellens periferie, til

fullstendig kutting av samtlige sansehår på hårcellen. Sistnevnte type skade ble ikke observert hverken i kontrollgruppen eller i den ueksponerte nullprøven. Disse funnene ble senere fulgt opp i forbindelse med langtidsforsøket med postlarver av torsk der en prøvde å få svar på om tap av sansehår på enkelte frie neuromaster kan ha innvirkning på larvenes næringssøk og tilvekst (forsøk 20).

### Forsøk 10

Formålet med forsøket var å undersøke dødeligheten over et større avstandsområde enn i forsøk 9, samt å følge opp de histologiske funn fra forsøk 9 ved hjelp av TEM-undersøkelser. Figur 3.10 viser markant høyere midlere dødelighet ca. 20 timer etter skyting i de eksponerte gruppene sammenlignet med kontrollgruppen (etter Helge Leivestads bortgang var data for dødelighet pr. parallellgruppe ikke tilgjengelig for analyse av statistisk signifikans - derfor også denne litt spesielle figur, se forord). Den gjennomsnittlige dødeligheten ett døgn etter skyting, var 31-55 % i de eksponerte gruppene og 13 % i kontrollgruppen. Den laveste dødeligheten blant de eksponerte, ca. 31 %, ble registrert ved 1,05 m avstand. Forskjellen mellom de eksponerte gruppene og kontrollgruppen er således ikke like entydig som i forsøk 9.



Figur 3.10. Gjennomsnittlig dødelighet som funksjon av avstand hos plommeseklarlarver av piggvar, ca. 20 timer etter skyting (lys skravering) og ett døgn etter skyting (mørk skravering). K - kontrollgruppe. (Averaged mortality rate vs. distance of turbot yolksac larvae, approx. 20 hrs. after the exposure (light hatching), and one day and night after the exposure (dark hatching). K - control group).

Elektronmikroskopiske undersøkelser: Dette arbeidet var en oppfølging av de histopatologiske funn i forsøk 9. På grunn av tidligere nevnte omstendigheter omkring slutføringen av prosjektet, kunne prepareringen til TEM-undersøkelsene først utføres to år etter at materialet ble fiksert. Det ble framstilt ultratynne lengdesnitt av hjernen fra fem larver pr. eksponeringsgruppe

1 og 3, kontrollgruppen, samt fra en ubehandlet nullprøve. Det viste seg at materialet var for gammelt til å oppnå god etterfiksering og at snittene tok opp farge i redusert grad. Dette resulterte igjen i begrenset kontrast i objektene under mikroskoperingen. Observasjonene ble således foretatt ved relativt lav forstørrelse og oppløsning (max. 12 000 X). To snitt fra eksponeringsgruppe 1 og ett snitt fra kontrollgruppen viste seg å være av god nok kvalitet til å identifisere enkelte celler og vevskomponenter. Det ble påvist kollapsede celler ("black cells") i samtlige snitt. Funnene viser at ujevn fiksering av enkelte hjernedeler har forekommet, men at dette i seg selv ikke kan ha forårsaket hulromsdanningen i vevet. Manglende kontrast førte imidlertid til at blærene ikke kunne identifiseres i TEM-preparatene. I begge snittene fra eksponeringsgruppe 1 ble det imidlertid funnet enkelte store nerveceller (neuroner) som virket sprengt og hadde svært tynne cellemembraner. Celleinnholdet var dominert av en sentral kjerne omgitt av en stort hulrom.

### 3.4 Larver

I tabell 3.4 er av resultatene av eksponeringene på larver mindre enn 15 mm oppsummert.

Tabell 3.4. Oppsummering av resultatene av eksponeringene på larver. i.s. - ikke statistisk signifikant effekt ( $p > 0,1$ ), \*\* - middels høy statistisk signifikant effekt ( $0,01 \leq p < 0,05$ ). (Summarized results from exposing larvae. i.s. - no statistical significant effect ( $p > 0,1$ ), \*\* - medium high statistical significant effect ( $0,01 \leq p < 0,05$ )).

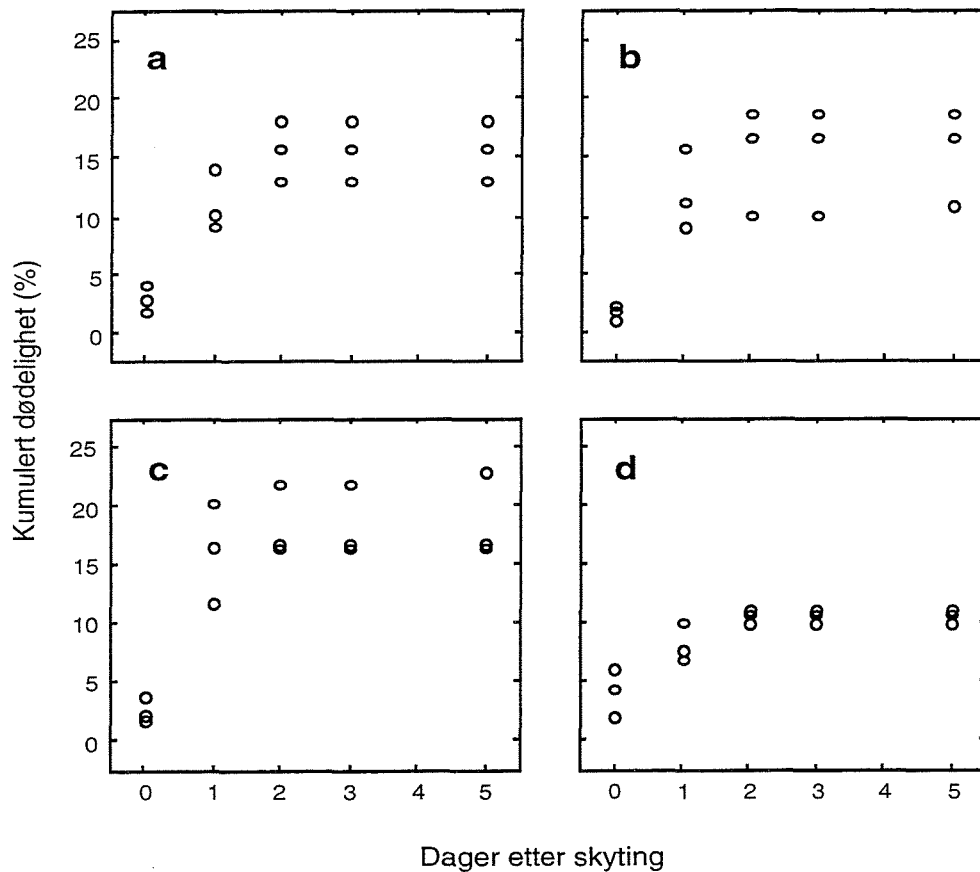
Art	Lengde (mm)	Forsøks- nr.	Avstand (m)	Parameter og tid etter eksponering	Effekt
<u>Torsk:</u>	11	11	2,0 under og 5,0 over 5,0 under	dødelighet, 5 døgn	i.s. **
	14	12	2,0 under, 5,0 over og 5,0 under	dødelighet, 6 døgn	i.s.
	10	13	1,05 - 2,5	uegnet til analyse	-
<u>Sei:</u>	10	14	0,75-1,65	uegnet til analyse	-

#### 3.4.1 Torsk

##### Forsøk 11

Registreringen av døde larver ble foretatt daglig i 11 dager. Fôringen med levende plankton var utilstrekkelig mot slutten av perioden og dødeligheten økte på i alle gruppene etter seks dager.

Den summerte dødeligheten fram til dag 5 etter belastning var høyere i de eksponerte gruppene enn i kontrollgruppen som fig.3.11 viser. Forskjellen var statistisk signifikant for gruppen som var plassert 5 m under kanonklyngen ( $p = 0,148$ ;  $0,197$  og  $0,031$  hhv. for 2 m under, 5 m over og 5 m under; Tuckey HSD test).



Figur 3.11. Summert dødelighet hos 11 mm torskelarver etter belastning. Gruppeplassering: a - 2 m under, b - 5 m over og c - 5 m under luftkanonklyngen. d - kontrollgruppen. (Accumulated mortality rate of 11 mm cod larvae after the exposure. Group localization: a - 2 m below, b - 5 m over, and c - 5 m below the air gun cluster respectively. d - the control group).

### Forsøk 12

I dette forsøket ble det også undersøkt med hensyn på eventuell innvirkning av håndtering og transport av larvene på videre overlevelse i laboratoriet. I tillegg til to kontrollgrupper som ble senket til de aktuelle dyp og forøvrig håndtert som de eksponerte grupper, ble det avsatt en kontrollgruppe hvor larvene var plassert i plastposer, men ikke transportert fra laboratoriet og til slutt en kontrollgruppe som ble beholdt urørt i den opprinnelige observasjonsbakkene.

Etter belastning ble torskelarvene overført til observasjonsbakkene og drettet videre opp med

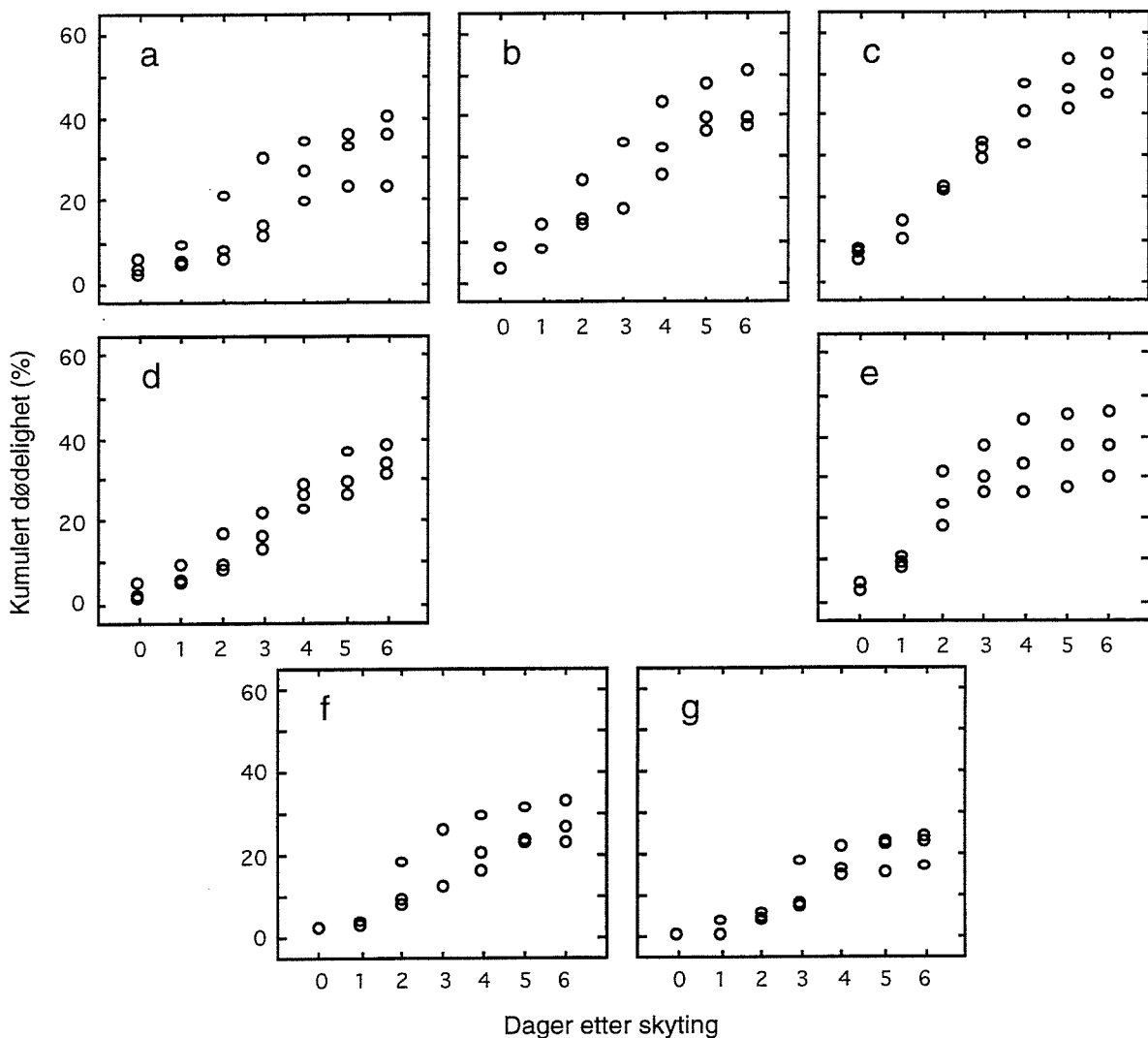


Fig. 3.12. Summert dødelighet hos torskelarver etter belastning. Gruppeplassering: a - 2m under, b - 5 m over og c - 5 m under under luftkanonklyngen. d - kontrollgruppe senket til samme dyp som a, e - kontrollgruppe senket til samme dyp som c, f - kontrollgruppe overført til plastposer, men ikke transportert og g - uhåndtert kontrollgruppe. (Accumulated mortality rate of cod larvae after the exposure. Group localization: a - 2 m below, b - 5 m over, and c - 5 m below the air gun cluster respectively. d - control group lowered to the same depth as a, e - control group lowered to the same depth as c, f - control group brought over to plastic bags, but not transported, and g - unhandled control group).

naturlig forekommende plankton. Dødeligheten økte sterkt fra dag 7 etter skyting og det ble senere påvist sykdommen vibriose. De statistiske analysene ble utført for summert dødelighet fram til dag 6. Det ble ikke påvist noen statistisk signifikant forskjell mellom de eksponerte grupper ved 2 og 5 m som vist i fig. 3.12 a, b og c og de transporterte kontrollgrupper vist i fig. 3.12 d og e ( $p > 0,1$  Tuckey HSD-test), men fra fig. 3.12 c ser vi at dødeligheten etter fem og seks dager er høyere enn tilsvarende i kontrollgruppen vist i fig. 3.12 e. Dødeligheten var

signifikant lavere i den urørte kontrollgruppen vist i fig. 3.12 g enn i de to eksponerte grupper vist i fig. 3.12 b og 3.12 c ( $p = 0,013$  og  $p = 0,001$ ). I kontrollgruppen vist i fig. 3.10 f som ble satt i plastposer, men ikke transportert, var dødeligheten signifikant lavere ( $p = 0,009$ ; Tuckey HSD-test) enn i den eksponerte gruppen vist i fig. 3.12 c. Den betydelige del av dødelighetstallene som kan kobles til håndtering av organismene på dette stadiet, kan ha maskert eventuelle mindre effekter av belastning med luftkanoner.

### Forsøk 13

Larvene viste seg å være svært følsomme overfor håndtering. Dette ble tydelig allerede under de innledende prosedyrene (innfangning, telling og posesetting) da det ble observert døde og døende larver i hver gruppe allerede før skyting. Under observasjonene, både 4-6 og 16-17 timer etter skyting, ble det registrert høyest dødelighet i kontrollgruppen. Resultatene var dermed uegnet for en nærmere bearbeidelse.

### **3.4.2 Sei**

### Forsøk 14

Også larver av sei viste høy dødelighet allerede før skyting. Forsøket ble derfor utført med kun en pose pr. avstand, dvs. uten parallellgrupper. Dødeligheten ett døgn etter skyting var da også høy, mellom 65 og 83 % i alle grupper, med nest høyeste registrering (78 %) i kontrollgruppen. Resultatene var uegnet for videre bearbeidelse.

## **3.5 Postlarver**

Oppsummering av resultatene fra eksponeringene av postlarver større enn 15 mm er vist i tabell 3.5.

### **3.5.1 Torsk**

### Forsøk 15

Det ble ikke registrert noen umiddelbar dødelighet, og dagen etter skyting var det én død fisk (i gruppen som var plassert 2 m under kanonen). Fiskene ble oppbevart videre i ni døgn i observasjonsbakkene. Fra dag 3 etter skyting ble det observert tegn til stress i samtlige grupper, inkludert kontrollene. Noe av yngelen fikk problemer med oppdriften, andre ble mørkere i huden og mens andre hoppet ut av bakkene. I tillegg ble det også observert noen tilfeller av kannibalisme slik at dødelighetstallene er derfor usikre og uegnet til en videre

analyse. Verdien av vekstdataene er i dette tilfelle også begrenset fordi noen få kannibaler kan påvirke størrelsesspredningen i stor grad. Kannibalene vokser raskere og fjerner fortrinnsvis de minste individene, slik at vekstraten dermed blir forhøyet.

Tabell 3.5. Oppsummering av resultatene fra eksponeringene av postlarver. i.s. - ikke statistisk signifikant forskjell ( $p>0,1$ ), \*\*\* - høy statistisk signifikant forskjell ( $p<0,01$ ) og 0 - ingen dødelighet. (Summarized results from the exposures of post larvae. i.s. - no statistical significant effect ( $p>0,1$ ), \*\*\* - high statistical significant effect ( $p<0,01$ ), and 0 - no mortality).

Art	Lengde [mm]	Forsøks-nr.	Avstand [m]	Parametertype og tid etter eksponering	Effekt
torsk	47	15	2,0 -2,5	dødelighet, 1 døgn	i.s.
	53	16	1-1,5 til side/under (merd)	dødelighet, 4 døgn	øket, ikke statistisk behandlet
	55	17	1,5 og 2,0	dødelighet	i.s.
				overflotering, umiddelbart	påvist, ikke kvantifisert
	55	18	1-1,5 til side/under (merd)	overflotering, umiddelbart	påvist, ikke kvantifisert
	19	19	0,7 1,0 - 2,5 0,7 - 2,5	dødelighet, 2 og 22 timer skader på øynene	*** i.s. ikke påvist
	19	20	0,7 - 1,6	tilvekst skader på hørselsorgan	i.s. påvist, ikke kvantifisert
sild	24	21	1,3 og 1,6	dødelighet	høyere ved 1,3 m, ikke statistisk behandlet
piggvar	27	22	ca. 1,5 over (merd)	dødelighet	i.s.
	27	23	1,5 og 2,0	overflotering, umiddelbart	påvist, ikke kvantifisert
				1 time stresssymptom, 1 time dødelighet, 6 døgn	i.s. i.s. øket, men ikke statistisk sign.
	27	24	0,7 1,0 1,3 1,6 2,5	dødelighet, 10 timer	antydning 0
rødspette	17	25	0,7	dødelighet, 4 timer	0
			1,0 - 1,6		antydning

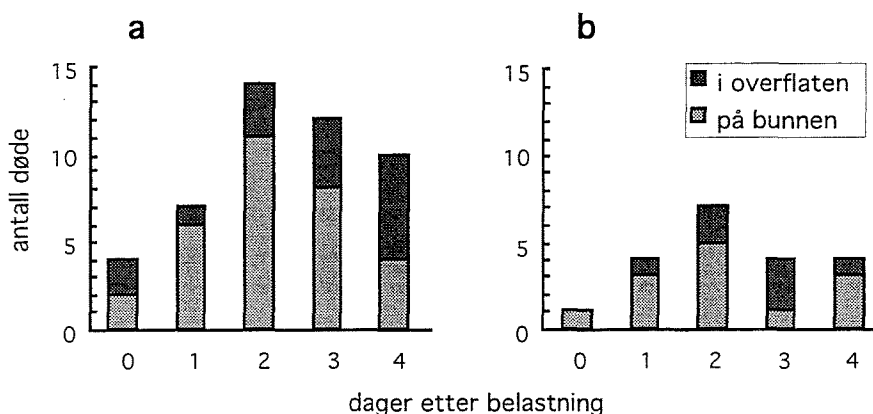
### Forsøk 16

Etter at fiskene var overført fra transportkaret til merden, søkte de til bunnen. Under selve skytingen befant de seg mest sannsynligvis til sides for og under kanonene, på 1-1,5 m avstand

fra kanonklyngen. De ble følgelig ikke utsatt for den raske oppstigningen og turbulensen av de stigende luftboblene som man ønsket å undersøke effekten av.

Sjøgang og strøm gjorde det umulig å utføre parallelle forsøk, og forsøket ble derfor utført med kun én eksponert gruppe og én kontrollgruppe. Kontrollgruppen ble satt ut i merden og samlet inn på samme måte som den eksponerte umiddelbart etter at fisken fra den eksponerte gruppen ble samlet inn. Fra gruppene var overført til laboratoriet og i fire dager fremover ble døde individer og fisk med unormal atferd plukket ut og oppbevart for videre analyse. I dødelighetsberegningene ble også de unormale tatt med, siden det ble antatt at det var bare et tidsspørsmål før de ville dø. Blant de unormale var oppdriftsproblemer mest framtrede - enten passiv synking eller overflotering.

Over en fire dagers periode døde totalt 47 og 20 fisk i henholdsvis den eksponerte gruppen og i kontrollgruppen som tilsvarer ca. 8 og 3 %. Det er ikke mulig å vurdere statistisk betydning av denne forskjellen siden forsøket ikke ble utført med parallellgrupper. Antall døde eller døende fisk som var overfloterte, var over dobbelt høyt i den eksponerte gruppen som i kontrollgruppen som vist i fig. 3.13. Antall døde eller døende fisk som lå på bunnen var ca. 2,5 ganger høyere i den eksponerte gruppen som i kontrollgruppen. Fiskens vekt og kondisjon i en prøve tatt fire døgn etter forsøkets avslutning, var nokså lik for begge grupper som vist i tabell 3.5.



Figur 3.13. Dødelighet hos postlarver av torsk etter belastning i merd (a) og i kontrollgruppen (b). (*Mortality rate of cod post larvae after the exposure in the pen (a), and in the control group (b)*).

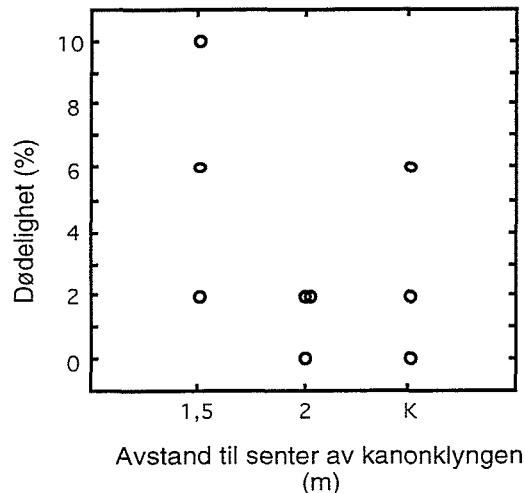


Tabell 3.5. Gjennomsnittsverdier for standardlengde, våtvekt og kondisjon hos 53 mm postlarver av torsk fire dager etter belastning i merd i forhold til kontrollgruppen. Tallene i parentes er verdier for standardavvik. 75 individer i hver gruppe. (*Averaged values of standard length, wet weight, and condition of 53 mm cod post larvae four days after the exposure in the pen in relation to the control group. The numbers in the brackets are standard deviation values. 75 specimen in each group*).

	Eksponeerte	Kontroll
Standardlengde [mm]	53,4 (7,53)	53,2 (7,26)
Våtvekt [g]	1199 (541)	1173 (531)
Kondisjon [ $\text{mg}/\text{mm}^3 \times 100$ ]	0,732 (0,0736)	0,727 (0,0695)

### Forsøk 17

Rett etter at posene var heist opp i båten, dvs. noen minutter etter eksponering, ble det observert fisk som var overflotert og som svømte aktivt ned fra posisjoner oppe i posene. Dette gjaldt de eksponerte gruppene på begge avstander, men ikke kontrollgruppene. I løpet av de fire første døgnene etter belastning døde ialt 15 ut av 450 fisk. Dødeligheten var høyest i gruppen som befant seg nærmest kanonklyngen ca. 7 % mot ca. 3 % i kontrollgruppen som vist fig. 3.14, men forskjellene var ikke statistisk signifikante ( $p > 0,22$ ; 1-veis ANOVA; fig. 3.14).



Figur 3.14. Summert dødelighet hos postlarver av torsk fire døgn etter belastning. K - kontrollgruppen. (*Accumulated mortality rate of cod post larvae four days after the exposure. K - the control group*).

### Forsøk 18

Straks etter skyting, før fisken ble samlet inn, ble det observert noen individer like ved overflaten som hadde flotasjonsproblemer. På grunn av værforholdene måtte forsøket avbrytes

så ble det ikke mulig å gjennomføre det med kontrollgruppe og parallellgrupper. Andre observasjoner ble dermed ikke utført.

### Forsøk 19

Dødeligheten i gruppen som var 0,75 m fra kanonklyngen var signifikant høyere enn hos alle de andre gruppene, både ca. 2 timer og 22 timer etter eksponering som vist i fig. 3.15 ( $p < 0,0003$ ; Tuckey HSD-test). Det ble ikke påvist noen signifikant forskjell i dødelighet mellom de resterende gruppene, inkludert kontrollgruppen ( $p > 0,3$ ; Tuckey HSD-test).

Framgangsmåten under telling og posesetting førte til at larvene i avstandsgruppe 1 gikk noe lengre i posene enn de andre gruppene. Dette kan ha medført større stressbelastning for larvene i denne gruppen enn i de andre.

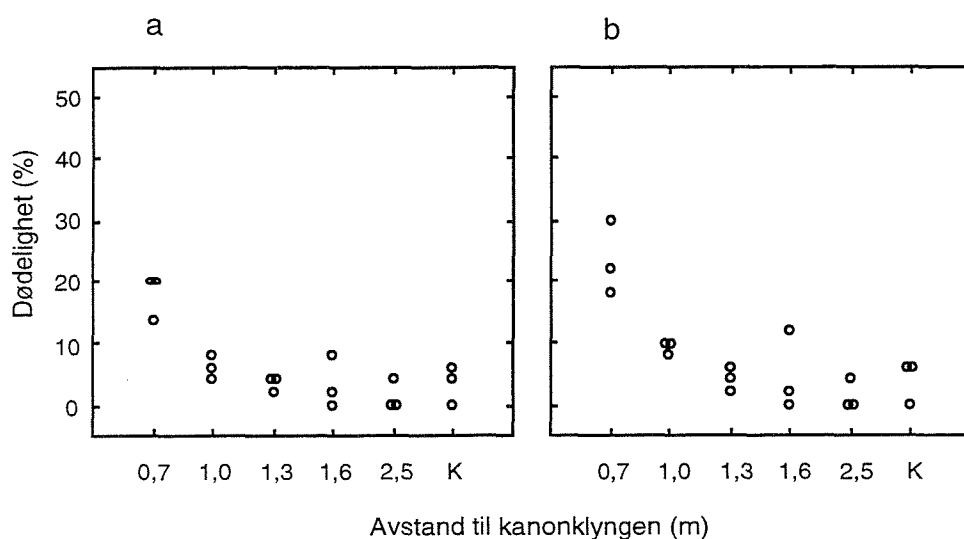


Fig. 3.15. Dødelighet av postlarver av torsk etter belastning. a - to timer etter skyting og b - ett døgn etter skyting. K - kontrollgrupper. (Mortality rate of cod post larvae after the exposure. a - two hours after the exposure, and b - one day after the exposure. K - the control group).

**Histologi:** Det ble utført lysmikroskopiske undersøkelser av semitynne lengdesnitt av ialt ti larver fra avstandsgruppe 1, fem larver fra kontrollgruppen og fem fra en ubehandlet nullprøve. Hos to av larvene fra den eksponerte gruppen ble det funnet brudd på øynenes årehinne (chorioidea) og retinas ytre og midtre lag. I begge tilfeller var retinas nerverlag med ganglioncellene og nervefibrene tilsynelatende intakt. Bruddkantene var nokså ujevne og frynsete. Siden øyne hos virveldyr er komplisert bygget, med en rekke ulike vevlag med svært forskjellig beskaffenhet og funksjon, vil fikseringshastigheten og dermed fikseringsresultatet kunne variere fra ytterst til innerst i øyet. Påfølgende snitting av ujevnt fiksert vev kan imidlertid

forårsake lignende brudd eller rivninger, gjerne i grenselaget mellom to ulike vevslag. Da tidsnød ikke tillot undersøkelser av individer fra de fire andre eksponerte gruppene, må vi ut fra disse resultatene konkludere med at forannevnte skade like sannsynlig kan ha vært en artifakt på grunn av ujevn fiksering av øyets ulike lag som en reell effekt.

#### Forsøk 20

En parallellgruppe fra samtlige grupper ble observert med hensyn til dødelighet i 15 timer etter skyting, og deretter fiksert for senere veiing. Larvene i de resterende parallellgrupper ble satt ut i rundkaret ved Svartatjern for videre oppdrett og langtidsobservasjon (se kap. 2.6.).

I førstnevnte parallellgruppe ble det registrert to døde fisk, samtlige i kontrollen, 15 timer etter skyting. Den totale dødeligheten under selve fôringsforsøket var lav, under 12 % i samtlige grupper inkludert kontrollen. Under forsøket ble det observert kannibalisme i noen av parallellgruppene i hver gruppe. Den påfølgende veiingen etter fôringsforsøket viste en noe høyere gjennomsnittlig tørrvekt i den avstandsgruppen som var lengst unna, 2,5 m kanon-klyngen. I denne gruppen det ble registrert høyest antall kannibaler, tilsammen 6 stk. Dette tatt i betraktning, ble det ikke påvist signifikante forskjeller i tilvekst mellom gruppene i løpet av fôringsforsøket.

SEM-undersøkelser av frie neuromaster: Undersøkelsen omfattet fem larver pr. avstandsgruppe 1 og kontrollgruppen, fiksert etter fôringsforsøket, samt fem larver fra en ueksponert nullprøve tatt før skyting. Funnene underbygget resultatene fra tilsvarende undersøkelser på piggvar. Det ble funnet både intakte og skadete hårceller på neuromaster hos larver fra alle tre gruppene. Skadene på enkelte neuromaster i avstandsgruppe 1 var langt mer tydelig enn i kontrollgruppen og nullprøven. Mens skadene i de to sistnevnte gruppene begrenset seg til kutting eller barbering av sansehår i hårcellens periferi (Vedlegg 2, fig. II d), ble det blant larvene fra avstandsgruppe 1 påvist enkelte neuromaster der samtlige sansehår var kuttet av like ved overflaten (fig. II e). Evnen til regenerasjon av sansehårene i både øret og på neuromastene, og tiden dette eventuelt måtte ta, er så vidt vites ikke undersøkt tidligere hos fisk. Våre funn indikerer at tiden for regenerering av sansehårene på frie neuromaster hos postlarver av torsk er lengre enn 12 døgn.

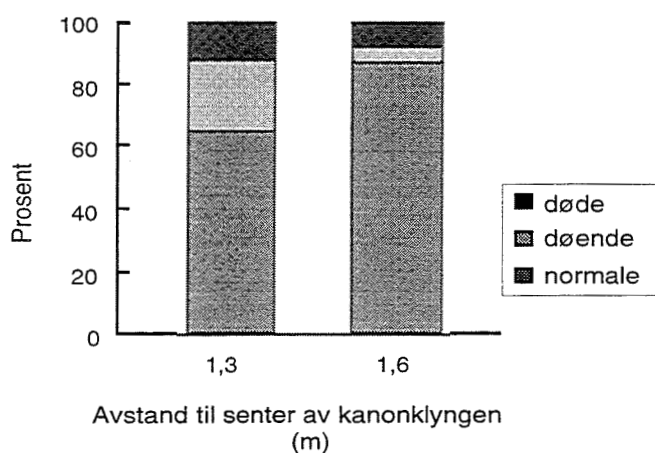
Den lave dødeligheten i dette forsøket, både umiddelbart etter skyting og etter fôringsforsøket, kombinert med konklusjonen fra SEM-undersøkelsen, tyder på at eksponering for luftkanonskyting på avstander fra 0,75 - 2,5 m fra klyngesentrum, ikke påvirker tilveksten og dermed fôringsatferd hos postlarver av torsk.

### 3.5.2 Sild

#### Forsøk 21

Kun få larver hadde nådd stadiet der svømmeblæren var fullstendig funksjonell. Posen med sildelarver som befant seg nærmest kanonen, ble slengt mot kanonen etter et skudd slik at det ble slått hull i posen og fisken gikk tapt. Materialet som ble undersøkt videre, tilsvarer avstandene 1,35 og 1,65 m.

Sildelarver på dette stadiet er særlig sårbar for håndtering, og dødeligheten var høy i begge grupper. Antall døde, døende og levende eller friske larver ble talt opp noen timer etter skyting og materialet ble fiksert for videre undersøkelse. En sammenligning av tallene for de to gruppene viser at den gruppen som befant seg nærmest kanonen (1,35 m), hadde en betydelig høyere andel døde og døende enn den andre gruppen (1,65 m) som vist i fig. 3.16. Ved mikroskopisk undersøkelse av de døde larvene var det ikke mulig å skille mellom de som døde naturlig eller av håndtering og de som eventuelt døde på grunn av selve skytingen.



Figur 3.16. Antall [i %] døde, døende og normale postlarver av sild etter eksponering. (Numbers [in %] of dead, dying, and normal herring post larvae after the exposure).

### 3.5.3 Piggvar

#### Forsøk 22

I løpet av en åtte dagers periode døde totalt én yngel i den eksponerte gruppen (ca. 1 %) syv dager etter skyting og tre i kontrollen (ca. 4 %) på selve eksponeringsdagen.

### Forsøk 23

Umiddelbart etter eksponering ble det observert endel fisk som fordelte seg øverst i posene hos de eksponerte gruppene sammenlignet med kontrollgruppen, hvor fisken var tilfeldig fordelt.

Etter overføring til observasjonsbakkene på laboratoriet, ble fordelingen av postlarvene i vannsøylen observert og kvantifisert en og to timer etter eksponering. Postlarvene på dette stadiet har påbegynt metamorfoseprosessen som for flatfisk innebærer en forandring fra en symmetrisk utseende fisk til en typisk flatfiskfasong. Samtidig begynner de å tilbringe mer tid på bunnen, bortsett fra ved føring eller under stress. Cirka en time etter eksponering befant ca. 89 % av individene eksponert ved 1,5 m, ca. 86 % eksponert ved 2,0 m og ca. 75 % i kontrollgruppen seg ved overflaten som vist i fig. 3.17. To timer etter eksponering svømte over 90 % av postlarvene i alle grupper jevnt fordelt i vannsøylen.

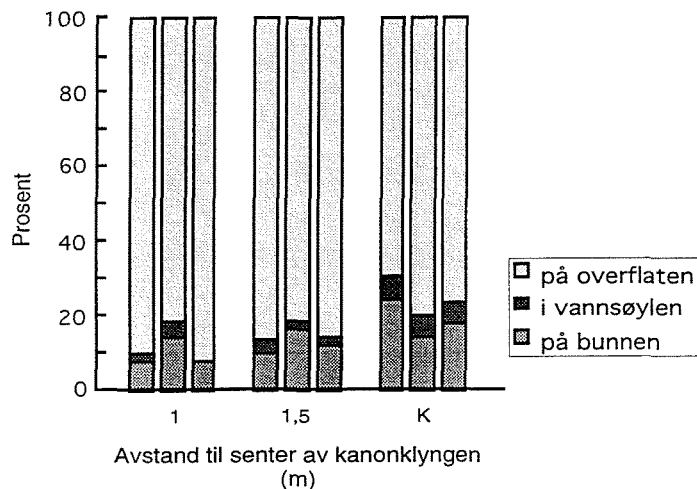
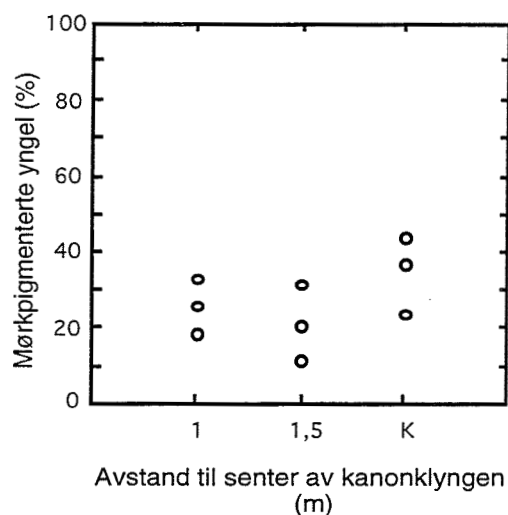


Fig. 3.17. Fordelingen av piggvaryngel ved overflaten, bunnen og i vannsøylen i observasjonsbakkene en time etter belastning. K - kontrollgruppen. (*The distribution of turbot fry at the surface, at the bottom, and in the water column one hour after the exposure. K - the control group.*)

En generell mørk pigmentering er betraktet som et tegn på stress. Etter overføring til laboratoriet ble antall mørke individer talt opp for hver gruppe. Det var ikke noen signifikant forskjell i antall individer med mørk pigmentering blant de belastede og kontrollgruppen som vist i fig. 3.18 ( $p > 0,25$ ; 1-veis ANOVA).

I hele observasjonsperioden døde totalt to av 450 fisk. Den ene døde på eksponeringsdagen og tilhørte gruppen som befant seg på 1,5 m avstand. Den andre døde seks dager etter eksponering og tilhørte 2-metergruppen. Ingen døde i kontrollgruppen over en åtte dagers observasjonsperiode.



Figur 3.18. Andel mørkpigmenterte postlarver av piggvar i to eksponerte grupper og i kontrollgruppen (K) ca. en time etter eksponering. (*Proportion of darkish pigmented turbot post larvae in two exposed groups and in the control group (K) approx. one hour after the exposure*).

#### Forsøk 24

Under første observasjonen, cirka seks timer etter skyting, ble det funnet en død fisk i gruppen eksponert på nærmeste avstand. Ved forsøksslutt, ti timer senere, ble det ikke påvist flere døde postlarver i noen av gruppene.

### 3.5.4 Rødspette

#### Forsøk 25

Det ble registrert dødelighet og atferdsendringer i én til fire timer etter skyting. Det ble funnet ialt ni døde fisk, med én død i gruppen eksponert ved 1,0 m avstand og fire døde i hver av gruppene eksponert på henholdsvis 1,3 og 1,6 m avstand. Det var ingen dødelighet i kontrollgruppen. Det ble ikke observert forskjeller i atferd blant rødspettene gjennom hele perioden. Ca. 30 % av larvene som inngikk i forsøket, hadde enda ikke fullført metamorfosen til typisk flatfiskfasong. Metamorfosen regnes som en kritisk fase i flatfiskens livshistorie på grunn av de forholdsvis omfattende fysiologiske påkjenninger denne forvandlingen medfører. Det er derfor tenkelig at flatfisk i denne fasen ville være særlig følsom overfor relativt sterke ytre påvirkninger som eksponering for luftkanonskyting. Dødelighetstallene og atferden etter eksponeringen tyder på at luftkanonskyting ikke medfører noen vesentlig negativ korttidseffekt på dette stadiet av rødspette.

### 3.6 Yngel av torsk

I tabell 3.6 er vist en oppsummering av resultatene av eksponeringene av torskeyngel større enn 100 mm. Det ble i tillegg observert markante atferdsendringer umiddelbart etter skyting på alle avstander.

Tabell 3.6. Oppsummering av resultatene fra eksponering av torskeyngel. (*Summarized results from the exposed of cod fry*).

Lengde [mm]	Forsøks- nummer	Avstand [m]	Parametertype og tid etter eksponering	Effekt
100-150	26	0,9	dødelighet, umiddelbart	markant
			indre skader	betydelige
		1,3 og 1,7	dødelighet, umiddelbart	ikke påvist
100-150	27	0,9 og 1,3	dødelighet, umiddelbart	markant
			indre skader	betydelige
		1,7	dødelighet, umiddelbart	ikke påvist
140-180	28	0,9 - 1,7	dødelighet, umiddelbart	ikke anvendbar

#### 3.6.1 Fiskeatferd og dødelighet under forsøkene

Fisken som på forhånd var tilvent dypet (forsøk 26), svømte rolig og jevnt fordelt i burene før skytingen startet. Umiddelbart etter skyting var det to-tre lite aktive fisk på bunnen av bur V1 (venstre side, nærmest kanonen) og mange viste unormal svømmeatferd idet de svømte vertikalt med hodene opp. I bur H1 var det tre døde på bunnen og én lite aktiv. I bur V2 lå det én lite aktiv fisk ved bunnen, men ca. 20 minutter etter skytingen frisknet den til igjen. Blant fisken som ikke var tilvent dypet (forsøk 27), var det før skyting tre-fem fisk som var lite aktive.

Fisk som var eksponert i plastposer (forsøk 28), oppførte seg annerledes allerede før første skudd. Dette var sannsynligvis forårsaket av oksygenmangel fordi luftkanoneksponeringene tok lengre tid en planlagt.

Det ble registrert fra 5 til 18 % dødelighet i gruppene eksponert på 0,9 m avstand, fra 0 til 3 %

ved 1,3 m, mens ingen døde ved 1,7 m. Tabell 3.7 viser dødelighet etter skyting, hos både trykktilvent og ikke trykktilvent yngel.

Tabell 3.7. Dødelighet av torskelyngel fra forsøk 26 (trykktilvente) og 27 (ikke trykktilvente). 40 individer i hver gruppe. K - kontrollgruppe. (*Mortality rate of cod fry from experiment 26 (pressure adapted fish), and 27 (not pressure adapted fish). 40 specimen in each group. K - the control group).*)

Avstand [m]	Trykktilvente venstre side	Trykktilvente høyre side	Ikke trykktilvente
0,9	2 (5 %)	4 (10 %)	7 (18 %)
1,3	0	0	1 (3 %)
1,7	0	0	0
K	0	0	0

Hos fisken eksponert i notbur som ikke var trykktilvent (forsøk 27), var det ingen døde på 1,7 m avstand. I buret ved 0,9 m var det seks døde og tre lite aktive som for det meste lå på siden. En av de tre som lå på siden kom seg etter en stund, mens det ble antatt at de to andre ville dø og de ble tatt med til undersøkelse. Ved å inkludere disse to ligger den totale dødeligheten i gruppen eksponert nærmest kanonen på 20 %. Dette tallet er høyere enn tilsvarende data fra forsøk 26.

Dødelighet i forsøk 28, for fisk eksponert i plastposer var 95, 5 og 25 % henholdsvis ved 0,9 m, 1,3 m, og 1,7 m avstand. På grunn av tekniske vansker med avfyring av kanonene tok dette forsøket lang tid. De døde fiskene viste typiske tegn på oksygenmangel som åpen munn og utspente gjellelokk. Det var derfor ikke mulig å trekke noen konklusjon om forskjeller i effekt mellom fisk eksponert i notbur og i plastposer. PEARSON *et al.* (1994) har senere dokumentert at plastposer er akustisk gjennomsliktige for utsendt energi fra luftkanoner.

Yngelen i alle gruppene, inkludert kontrollgruppene viste normale fryktreaksjoner de første timene på laboratoriet. De søkte bunnen og viste kjappe bevegelser når en nærmet seg karene. De tok ikke mat. Blant de trykktilvente fiskene eksponert på 0,9 meters avstand, var én fisk overflotert og lite aktiv og ville sannsynlig ikke ha overlevd. Den ble betraktet som død for dødelighetsberegningene og ble undersøkt for skader.

Noen timer etter overføring til laboratoriet begynte fisken i samtlige grupper å spise, og etter hvert viste de normal atferd uten påviselig forskjell mellom de eksponerte gruppene og kontrollgruppen.



### 3.6.2 Makroskopiske funn

#### Forsøk 26 og 27

14 døde fisk fra begge forsøkene ble undersøkt med stereomikroskop for indre skader. Det ble påvist skader hos 93 % av disse i svømmeblæren eller i organer i forbindelse med denne hos alle fiskene som var død eller døende etter skyting. Hos de fleste var det hull i svømmeblæren, vanligvis på ryggsiden, mot nyren og hovedblodårene. I noen tilfeller var også nyre og blodårene skadet. Dette medførte tildels store indre blødninger. I noen tilfeller var svømmeblæren full av størknede blodklumper (blodkoagler) som vist i vedlegg 2, fig. II i. Fiskene hadde samme type skader i begge forsøkene. Figur II h viser en yngel fra en kontrollgruppe med uskadd svømmeblære.

Tre fisker som lå i overflaten, tilhørte den trykktilvente gruppen (forsøk 26). En døende fisk hadde et hull på ca. 5 mm diameter på buksiden av svømmeblæren mens ingen hull kunne påvises ved undersøkelse under stereomikroskop hos de to døde individene.

De resterende fiskene i forsøk 26 hadde normal atferd og utseende. Fra dagen etter skyting og i 14 dager framover ble tilsammen 43 av disse, inkludert ni fra kontrollgruppene, tilfeldig plukket og undersøkt i henhold til prosedyren nevnt ovenfor. En detaljert beskrivelse av resultatene av denne undersøkelsen finnes i vedlegg 3, tabell III.1-2. I alt syv av 18 (39 %) fisker som ble undersøkt i løpet av tre dager etter skyting, hadde indre skader, mens én av 16 (6 %) som ble undersøkt 16 dager seinere, var skadet. Reduksjonen i andelen skadde individer, ingen dødelighet i perioden, samt at fiskene fortsatte å oppføre seg normalt, tydet på at skadene ble leget.

I forsøk 27 ble det særlig lagt vekt på å undersøke subletale langtidsskader som kunne påvirke fiskenes sanser eller motorikk og dermed redusere deres sjanser å skaffe seg føde eller å unngå predatorer.

### 3.6.3 Effekter på det indre øre

Bakgrunnen for denne delen av undersøkelsene er at lydenergien som blir frigjort under avfiring av luftkanoner, ligger i det mest følsomme frekvensområdet for fiskens hørsel. Det ble derfor undersøkt om påvirkning med høyt lydtrykk og partikkelutsving kunne skade deler av hørselsorganene. ENGER (1981) påviste skader hos torsk på hårcellene i det sanseområdet der de største ørestenene (sacculusotolittene) hviler i ørestenskamrene, når fisken ble utsatt for lyd-

trykknivåer opptil 180 dB re. 1  $\mu$ Pa i frekvensområdet 50-400 Hz over lengre tid, 1-5 timer. Hårcellene, sanseområdene og ørestenene har tilsammen viktige funksjoner i fiskens hørsel og balansesystem. Det refererte lydtrykknivået ligger betydelig lavere enn hva vi eksponerte fisken for.

Vi undersøkte de samme strukturer hos syv av de eksponerte fiskene og to i kontrollgruppene i forsøk 26. Det viste seg imidlertid at få preparater var gode nok for undersøkelser med elektronmikroskop. Det ble likevel påvist ødelagte hårceller hos noen fisk, men det var ikke mulig å trekke noen konklusjoner. Prosedyren ble forbedret ved SEM-undersøkelsen av fiskene i forsøk 27.

Sanseområdet for hårcellene av 52 fisk fra forsøk 27 ble undersøkt og i alt 62 preparater ble vurdert til å være av god nok kvalitet for å bestemme skader. Preparatene ble kodet for å skjule deres opprinnelse under observasjonen for å sikre objektivitet i analysen og beskrivelsen. Av samme grunn ble alle preparatene analysert minst to ganger. Noen av preparatene kunne ikke brukes til analysen fordi sanseområdene var delvis dekket med rester av geléen som befinner seg i otolittkammeret. I ca. 53 % av preparatene ble det påvist områder hvor hårene (ciliene) i hårcellene var borte. Noen celler, ofte i utkanten av disse områder hadde "uryddige" eller delvis ødelagte hår. Størrelsen av disse områdene med manglende eller ødelagte hår var opp til 20 % av sanseområdets overflate. Figurene II e og II f i vedlegg 2 viser henholdsvis intakte og barberte hårceller.

Det ble ikke påvist noen sammenheng mellom avstand til kanonen og andel preparater med ødelagte hårceller. Områder med barberte celler forekom både hos eksponerte fisk og i kontrollgruppen med en liten overhyppighet, 54 % mot 40 %, av forholdet "antall barberte hårceller"/"antall undersøkte preparater" hos de eksponerte fiskene i forhold til dem i kontrollgruppen. Både fisk som døde under skyting og fisk som ble tatt til analyse flere uker etter eksponering, hadde sanseområder med barberte celler. Det ble ikke funnet noen sammenheng mellom disse forekomstene og de makroskopiske observasjonene som ble foretatt ved disseksjon.

Konklusjonen blir at de undersøkte deler av hørselsorganene hos yngel kan skades når de utsettes for luftkanonskyting på korte avstander, men bare marginalt i forhold til andre mekaniske påvirkninger.

## 4. DISKUSJON OG KONKLUSJONER

I våre forsøk med eksponering med luftkanoner av fisk på tidlige utviklingsstadier observerte vi betydelige variasjoner i dødelighet, både mellom de ulike forsøk og mellom parallellgrupper i samme forsøk. Det er kjent at fisk i tidlig livsfase er ømfintlig for håndtering og at denne håndteringsdødeligheten er avhengig både av art og utviklingsstadium. Torsk er for eksempel relativt hardfør overfor ytre påkjenninger mens sild er meget ømfintlig. Fisken måtte overføres fra sitt oppdrettsmiljø til andre enheter for transport og eksponering og så videre til laboratoriene for oppfølgende undersøkelser. Fisken har blitt påført stress og sannsynligvis i noen situasjoner fysiske skader på grunn av selve håndteringen. De høye dødelighetstall for noen arter og stadium i både de eksponerte gruppene og i kontrollgruppene kan tyde på dette. I slike tilfeller kan håndteringseffekter ha maskert eventuelle effekter av luftkanonskyting. I tilfeller der dødelighetstallene for kontrollgruppene var akseptabelt lave, skal framkomne statistisk signifikante forskjeller mellom de eksponerte gruppene og kontrollgruppene være reelle effekter.

Det observerte skadeomfanget, fra ingen skader til lave og høyere skade- og dødelighetsrater, kan knyttes til den målte styrken av lydimpulsene og energinivåene og til steilheten av forflanken av primærpulsene som funksjon av avstand under skyting. Effektene var størst og hyppigst når lydtrykknivået,  $L_p$ , var høyt fra 242 dB //  $1\mu\text{Pa}$  ved 0,75 m til 238 dB //  $1\mu\text{Pa}$  ved 1,35 m, mindre og sjeldnere ned til 225 dB //  $1\mu\text{Pa}$  ved ca. 2,5 m og enda mindre og sjeldent forekommende for 223 dB //  $1\mu\text{Pa}$  ved ca. 5,0 m.

For forflanken av primærpulsene, gjelder at jo brattere forflanken er, jo større er sannsynligheten for skader. Steilheten er uttrykt enten som stigetiden og/eller som trykk-tidsgradienten av primærpulsene. Stigetiden er påvist til å være konstant, tilnærmet 1,4 ms, ut til 1,35 m. Deretter varierer den mellom 1,6 og 3,1 ms for avstandene mellom 1,65 og 5 m. Disse verdiene ligger betydelig over verdier som en regner som kritiske ( $\leq 1$  ms) med høy sannsynlighet for å drepe fisk (LARSON 1985). Trykk-tidsgradienten er sterkt avtakende som funksjon av avstand fra ca. 1,4 m og utover. Dette sammen med korresponderende lydtrykknivå uttrykker at sannsynligheten for dødelig utfall under eksponeringene avtar sterkt for avstander større enn 1,4 m ved de brukte luftkanonoppsett.

### Egg

I våre forsøk på sei- og torskeegg har vi påvist en redusert, men ikke statistisk signifikant overleving for seiegg på tidlig omvokningsstadium (gastrulasjonsstadium) ved 0,75 m avstand og lydtrykknivå  $L_p = 242$  dB //  $1\mu\text{Pa}$ , med en midlere dødelighet på 17 % i eksponeringsgruppen i

forhold til 7 % i kontrollgruppen. På sent gastrulasjonsstadium for sei observerte vi ingen forskjell i overleving mellom eksponerings- og kontrollgruppene. Det ble ikke observert signifikant forskjell i klekking for torskeegg mellom de eksponerte gruppene på to stadier og kontrollgruppene. Heller ikke når det gjaldt startfôringsuksess, fant vi signifikant effekt hos torskelarver eksponert på et tidlig utviklingsstadium som egg.

KOSTYUCHENKO (1973) påviste ved luftkanoneksponering betydelig skadeomfang på egg fra ansjos (*Engraulis encrasicolus ponticus*) og en makrellart (*Trachurus mediterraneus ponticus*) og markant redusert overleving av egg fra de samme artene med midlere overlevingsrater på henholdsvis 75 og 88 % ved avstander 0,5 og 5 m. I kontrollgruppen var tilsvarende overlevingsrate 92 %. Det er ikke oppgitt antall parallelle eksponeringsgrupper eller statistisk signifikans av forskjellene i overleving. HOLLIDAY *et al.* (1987) påviste signifikant reduksjon i overleving for ansjosegg (*Engraulis mordax*) ut til 3 m, lydtryknivå lik 222 dB // 1 $\mu$ Pa. KOSHELEVA (1992) observerte markant reduksjon i overleving av rødspetteegg ved 1 m avstand med midlere overleving på 20 % i forhold til 60 % i kontrollgruppen. I alle disse forsøkene ble det observert lavere overleving enn hva vi fant. Direkte sammenligning bør en dog være varsom med mellom ulike arter. En oppsummering av resultatene er gitt i tabell 4.1.

#### Plommesekkklarver

Forsøkene med larver på plommesekkstadiet viste tydelig at sårbarheten hos artene er forskjellige. Vi observerte en liten, men ikke-signifikant dødelighetsøkning for torsk på kort eksponeringsavstand, 0,75 m ( $L_p = 242$  dB // 1 $\mu$ Pa), med midlere dødelighetsnivå på 29 % i forhold til 16 % i kontrollgruppen. For piggvar observerte vi en signifikant øket dødelighet ut til maksimal observasjonsavstand, 3 m ( $L_p = 224$  dB // 1 $\mu$ Pa), med i middel cirka tre ganger så høy dødelighet i de eksponerte gruppene som i kontrollgruppen. Hadde tilgjengelige midler for prosjektet høsten 92 flere, skulle dette stadiet vært testet på større avstander enn 3 m for å kartlegge hvor dødeligheten avtok mot kontrollgruppenivå. For sild kunne vi ikke påvise noen forskjell i dødelighet mellom de eksponerte gruppene og kontrollgruppene idet dødeligheten var svært høy i alle gruppene - mellom 70 og 80 %.

For torsk eksponert to dager etter klekking, fant vi ingen forskjell ved testing av startfôringsuksess fire dager etter klekking mellom de eksponerte gruppene og kontrollgruppen. For sild observerte vi heller ikke noen effekt for startfôringsuksessen.

Fra andre forsøk på plommesekkklarver har HOLLIDAY *et al.* (1987) påvist signifikant dødelighet for ansjos ut til 3 m avstand ( $L_p = 222$  dB // 1 $\mu$ Pa) med opp til 35 % reduksjon i overleving for fire dager gamle larver. De påviste også signifikant reduksjon i fødeopptak i løpet av

ansjoslarvenes fem første levedager når de var eksponert som to dager gamle. En oppsummering av resultatene er gitt i tabell 4.1.

Ved lysmikroskopiske undersøkelser av plommesekkklarver av torsk ble det ikke påvist vevsforandringer. Ved russiske undersøkelser av plommesekkklarver av torsk som ble utsatt for luftkanonskyting på 1 m avstand, ble det påvist sundrivninger ("delamination") i øynene, nærmere bestemt mellom nervelaget og epitelet i netthinnen (retina) (MATISHOV 1992). Det ble konkludert med at larvene ikke kunne være levedyktige ("lack of vital capacity") selv om de virket tilsynelatende friske like etter eksponering. Det er ikke nevnt hvilket tallmaterialet undersøkelsen bygget på, eller hvilken fikseringsmetode som ble benyttet. Våre resultater kunne ikke verifisere disse resultatene.

Hos plommesekkklarver av piggvar ble det funnet blæredannelse i hjerne, ryggmarg og øyne, samt enkelte nerveceller med unormalt stort cellevolum. Førstnevnte skade forekom både i eksponerte grupper og i kontrollgruppen, men ikke i en ubehandlet nullprøve. Blæredannelsen var sterkere hos larvene i de eksponerte gruppene enn i kontrollgruppen. Nerveceller med unormal stor volumøkning (hypertrofi) ble påvist hos larver eksponert ved 0,75 m avstand. Denne skadens karakter observert med transmisjons-elektronmikroskopi tyder på at det dreier seg om en skade forårsaket av unormal sterk, rask trykkpåvirkning og må anses som en reell patologisk forandring. Siden disse forholdsvis alvorlige forandringene ble påvist i hjernen, kan dette ha innvirkning på normal utvikling av nervesystemet og dermed larvenes kondisjon og evne til å overleve. Inntil annen viten foreligger, må denne skaden regnes som indirekte dødelig.

Konklusjonen fra de histopatologiske undersøkelsene på plommesekkklarver av piggvar er at utsendt lydenergi fra luftkanoner har effekt på enkelte hjerneceller når larvene befinner seg ved avstander på opptil 1,6 m fra klyngesentrum. Det ble påvist unormal sterk volumøkning (hypertrofi) i de aktuelle cellene, opptil ett døgn etter at larvene ble eksponert for luftkanonskyting. Funnene kan ikke tilskrives ujevn fiksering og må således regnes som patologiske forandringer. Disse forandringene kan imidlertid ikke direkte knyttes til noen langtidseffekt siden det ikke ble foretatt separate atferdsobservasjoner eller føringsforsøk på dette stadiet. Funnene tyder imidlertid på at slike forholdsvis dramatiske celleforandringer kan påvirke larvenes evne til å overleve, som jo forutsetter normalutvikling av nervesystemet. Inntil eventuell nærmere avklaring rundt dette, må den observerte skaden regnes som indirekte dødelig.

Fiskens sidelinjesystem kan være sårbar for trykkskader, særlig hos larver der de såkalte frie neuromaster i mange tilfeller representerer sidelinjen før denne er ferdigdannet og neuromastene

er sunket inn. Den geléaktige hvelvingen (cupula) over de frie neuromaster og sannsynligvis også kanalneuromastene felles og dannes kontinuerlig. Neuromastene er ment å ha en betydningsfull funksjon hos mange fiskelarver for deres fluktrespons som er viktig for å kunne unngå predatorer (EATON and DIDOMENICO 1986, BLAXTER and FUIMAN 1989).

Undersøkelser med skanning-elektronmikroskop av plommesekkklarver av piggvar viste skader på frie neuromaster i samtlige grupper. Skadene blant larvene i de eksponerte gruppene var mer tydelig enn i kontrollgruppen og fullstendig kutting av samtlige sansehår forekom bare i de eksponerte gruppene. Vi konkluderer med at skadene på frie neuromaster hos piggvar kan ha betydning for deres evne til å overleve gjennom nedsatt evne til å unngå predatorer (P. Enger, pers. komm.).

#### Larver

Også på larvestadiet var organismene svært sårbare for håndtering. Dette gav seg utslag i høye dødelighetstall - spesielt for sei (opp i 80-85 %) med stor varians både i de eksponerte gruppene og i kontrollgruppene. Dermed var det ikke mulig å gjenfinne informasjonen om eller framskaffe entydige resultater for eventuell dødelighet for sei på grunn av luftkanonskytingen.

På dette stadiet observerte vi høyere total dødelighet for torsk i de eksponerte gruppene enn i kontrollgruppen for eksponeringsavstander 2-5 m fra kanonene. Dødeligheten var statistisk signifikant for gruppen som var 5 m under kanonklyngen, men ikke-signifikant for gruppene 2 m under og 5 m over kanonklyngen.

I andre forsøk har KOSHELEVA (1992) observert markant dødelighet for rødspettelarver ut til 2 m avstand fra kanonene. KNUTSEN og DALEN (1985) eksponerte egg, larver, postlarver og yngel av torsk for skyting med luftkanoner og vannkanon. De observerte en øket, men ikke-signifikant dødelighet hos torsk ved 1m avstand. Resultatene er oppsummert i tabell 4.1.

#### Postlarver

På postlarvestadiet for torsk ble det påvist signifikant effekt ved 0,75 m avstand og en ikke-signifikant øket dødelighet ut til 1,5 m fra luftkanonene (lydtryknivå  $L_p = 235$  dB //  $1\mu\text{Pa}$ ). I merdforsøkene der postlarvene var 1-1,5 m til siden og under luftkanonklyngen, ble det observert over dobbelt så høy dødelighet i forsøksgruppen som i kontrollgruppen (8 % i forhold til 3 %). Signifikansnivå kunne ikke beregnes idet forholdene ikke tillot forsøk med parallelle grupper. For de andre artene som ble testet på dette stadiet, fant vi for sild en svakt øket, men ikke-signifikant dødelighet ut til 1,3 m avstand. Piggvar viste en svakt øket, men ikke-signifikant dødelighet ut til 2 m, og rødspette viste det samme ut til 1,6 m.

På postlarvestadiet observerte KNUTSEN og DALEN (1985) en dødelighet på 5 % i forhold til ingen dødelighet i kontrollgruppen ved eksponering på 1 m avstand. Resultatene er i samsvar med hva vi har funnet her. Resultatene er oppsummert i tabell 4.1.

For postlarver av torsk og piggvar utførte vi observasjoner av endringer i flyteevne og oppdrift umiddelbart etter eksponeringene. For begge artene ble det påvist overflotasjon for grupper som var eksponert ut til 2 m avstand. På grunn av forholdene under transporten av postlarvene til laboratoriet var det ikke mulig å tallfeste effekten.

Ved de histologiske undersøkelsen ble det funnet øyeskader på to av 10 postlarver eksponert på 0,75 m. Individuer fra de fire andre eksponerte gruppene ble ikke analysert på grunn av tidsknapphet. Disse skadene var av lignende type som MATISJOV (1992) observerte for plommesekklarver. På grunn av skadenes beskaffenhet har vi i våre forsøk måttet konkludere med at de like sannsynlig kan ha sitt opphav i ujevn fiksering av øyets ulike lag som av eksponeringen.

For å kunne belyse en eventuell langtidseffekt når det galdt skader på de frie neuromastene, ble dette fulgt opp med undersøkelser med skanning-elektronmikroskop av postlarver av torsk etter et ca. 2 ukers fôringsforsøk. Det ble da påvist skader på neuromastene i samtlige grupper. Også her var skadene mer framtreddende i de eksponerte gruppene. Det var imidlertid god tilvekst hos larvene i samtlige grupper. Dette kan tyde på at de frie neuromaster ikke har en sentral funksjon hos torskpostlarvens evne til å finne mat. Siden larvene har gjennomgått metamorfosen fra typisk larve- til voksen form, er også de andre sansene utviklet og funksjonelle. Dette stadiet er således ikke sammenlignbart med plommesekklarver som jo ikke har begynt selvstendig næringsopptak.

En kan imidlertid ikke se bort fra at det finnes andre faktorer som også framkaller skader på frie neuromaster, særlig når fisken holdes under eksperimentelle forhold. Det er dessuten tenkelig at de mest tydelige skadene på sansehårene er irreversible, f.eks. av typen som vist i vedlegg 2, fig. II e. I løpet av utviklingen blir andre funksjoner knyttet til sidelinjen og de frie neuromaster mer framtreddende, som f.eks. å kunne unngå predatorer eller vise normal stimatferd. Skader på frie neuromaster hos stimfisk (f.eks. sildefisk), kan sannsynlig medføre nedsatt evne til normal stimatferd hos enkeltindividene (P. Enger pers. komm.).

### Yngel

I våre forsøk med torskeyngel var det i tillegg til å observere dødelighet også mulig å undersøke fisken innvendig umiddelbart etter skyting og å identifisere typiske skader for eksempel i svømmeblære og i hovedblodårene.

For yngel større enn 100 mm ble det registrert fra 5 til 20 % dødelighet ved 0,9 m, 0 til 3 % ved 1,3 m og ingen døde ved 1,7 m fra luftkanonene og i kontrollgruppen. I de eksponerte gruppene fant vi skader på indre organer som på svømmeblære, i nyreregionen, i hovedblodårer, i høreorganene og på øynene - også hos fisk som i første omgang overlevde. Inntil tre dager etter skyting fant vi en skadeforekomst på 39 %. Av skadetyper kan nevnes sprukken svømmeblære, sammentrekt svømmeblære, gassbobler under svømmeblærehinnen, sprukken nyrehinne med blodutredning i nyrene og blodklumper i bukhalen og svømmeblæren. Observasjoner etter 16 dager viste en skadefrekvens på 6 %. Dette kan tyde på at noen av skadene delvis blir læget. Dette er i samsvar med SVERDRUP *et al.* (1994) som rett etter sprengstoffeksponering av laks, fant at den interne membranen i hovedblodårene var mangelfullt dekket med endoteliske celler. Etter en uke var disse cellene tilsynelatende regenererte.

Fra andre forsøk har KOSHELEVA (1992) rapportert lignende skader på indre organer hos torskeyngel eksponert ved 0,5 m og for noen skadetyper også ved 1,0 m avstand fra luftkanonene. De hyppigst forekommende skader var i blodårene, gjellene, leveren, inn- og utløp av magesekken og endringer i stoffsammensetning av blodet. Sjeldnere forekommende skader på øynene ble observert. For voksen ansjos observerte HOLLIDAY *et al.* (1987) svømmeblæreskader på signifikant nivå for fisk eksponert på 3 m avstand.

Blant fisk som ikke ble drept, observerte vi med undervannsvideo at flere fisk ble slått i svime og også visuelt på laboratoriet at de hadde unormal svømmeatferd. Noen av de svimeslåtte døde i løpet av det første døgnet etter skyting mens de spesielle atferdstilstandene vanligvis gikk over til normal atferd innen 0,5-1 time etter skyting. Lignende atferdsendringer ble observert av KNUTSEN og DALEN (1985). Slike atferdsendringer ser vi som betydningsfulle for alle stadium, men de lot seg først observere med video når individene var blitt over en viss størrelse.

De indre skader som ble påvist i våre forsøk, er av samme type som KNUTSEN og DALEN (1985) beskrev for mindre torskeyngel som var eksponert for vannkanonskyting på 2 m avstand. Vi konstaterer at ved vannkanoneksponering der primærpulsen består av en dominant negativ trykkpuls som utsetter de indre organer for en utviding og en langt svakere positiv trykkpuls, gir samme type skader som ved noe mindre avstander ved luftkanoneksponering. Her består primærpulsen av en dominant positiv trykkpuls som utsetter de indre organer for en sammentrykning og en langt svakere negativ trykkpuls med mulig utviding av indre organer.



Tabell 4.1. Oppsummerte resultater av total dødelig effekt på ulike utviklingsstadium som funksjon av avstand mellom seismisk kilde og organismene. SD og ISD - statistisk signifikant og ikke-signifikant dødelighet, MD - markant øket dødelighet, LD - øket, men lav dødelighet, ELK - enkel luftkanon og LKK - luftkanonklynge. (Summarized results of total lethal effects on different phases of development vs. distance between the seismic source and the organisms. S and IS - statistical significant and not significant mortality, MD - pronounced increased mortality, LD - increased, but low mortality, ELK - single air gun and LKK - air gun cluster).

Stadium: Forfatter(e)	Avstand (m)					Art	Effekt	Kanonutrust- ning og volum
	0,5-1	1-2	2-3	3-5	>5			
<u>Egg:</u>								
Kostyuchenko (1973)	x			x		Ansjos	MD	ELK: 5,0 l
"					x	"	LD	"
Holliday et al. (1987)			x			Ansjos	SD	ELK: 5,0 l
Kosheleva (1992)	x					Rødspette	MD	ELK: 3,0 l
Booman et al. (1996)	x					Sei	LD	LLK: 9,6 l
<u>Plommesekkclarver:</u>								
Holliday et al. (1987)			x			Ansjos	SD	ELK: 2 - 5 l
Booman et al. (1996)	x					Torsk	LD	LKK: 9,6 l
"	x	x	x			Piggvar	SD, MD	LKK: 9,6 l
<u>Larver:</u>								
Kosheleva (1992)	x					Rødspette	MD	ELK: 3,0 l
"	x	x				"	MD	LKK: 5,0 l
Booman et al. (1996)				x		Torsk	SD	LKK: 9,6 l
<u>Postlarver:</u>								
Dalen og Knutsen (1987)	x					Torsk	LD	LKK: 9,6 l
Booman et al. (1996)	x					Torsk	SD	LKK: 9,6 l
"		x				"	LD	LKK: 9,6 l
"		x				Sild	LD	LKK: 9,6 l
"	x	x				Piggvar	LD	LKK: 9,6 l
"		x				Rødspette	LD	LKK: 9,6 l
<u>Yngel:</u>								
Booman et al. (1996)	x	x				Torsk	MD	LKK: 9,6 l

## **5. TAKK**

Vi vil takke Fjord Instruments AS for godt samarbeid under planlegging og gjennomføring av prosjektet - spesielt deres prosjektkontakt, Jostein Farstad. Det samme går til Erik Eknes, NUTEC AS for opptak, analyse og rapportering av de akustiske dataene. Videre vil vi takke Bjørn Serigstad, HI, for innsatsen ved planlegging og deltaking i løpet av det første året av prosjektet, våre medarbeidere ved Austevoll Havbruksstasjon; Skuli Gudbjarnarson, Torbjørn Lønøy og Ragnhild Aakre, og våre medarbeidere ved Zoologisk Laboratorium, UiB; Anne Marie Austerheim, Helge Salhus og Randi Sundfjord.

## 6. LITTERATUR

- ANON. 1974. BOLT PAR Air Gun. Manual. Bolt Associates, Inc. Norwalk Conn. USA.
- ANON. 1981. High Pressure Airgun. Manual. Western Geophysical , Houston, Texas, USA.
- ANON. 1989. Sleeve gun. Manual. Haliburton Geophysical Services, Inc. Houston, Texas, USA
- BAXTER, L. 1985. Mortality of fish subjected to explosive shock as applied to oil well severance on Georges Bank. I GREEN, G. D., ENGELHARDT, F. R. and PATERSON, R. J. red. *Effects of Explosives in the Marine Environment*. Workshop proceedings, Halifax, Canada.
- BLAXTER, J.H.S. and FUIMAN, L.A. 1989. Function of free neuromasts of marine teleost larvae. S. 481-499 i COOMBS, S. GÖRNER, P. and MÜNZ, H. red. *The Mechanosensory Lateral Line, Neurobiology and Evolution*, Springer-Verlag 1989.
- BLOM, G., OTTERÅ, H., SVÅSAND, T., KRISTIENSEN, T.S., and SERIGSTAD, B. 1991. The relationship between feeding conditions and production of cod fry (*Gadus morhua* L.) in a semi-enclosed marine ecosystem in western Norway, illustrated by use of a consumption model. *ICES mar. Sci. Symp.* 192: 176-198.
- CHELMINSKI, P. 1974. The effect of dynamite and PAR air guns on marine life. Leaflet from Bolt Associates, Inc., Connecticut, USA. 2 s.
- CHAMBERLAIN, D.W. 1991. Effects of Nonexplosive Seismic Energy Releases on Fish. S. 22-25 i BENNER, C.S. and MIDDLETON, R.W. red. *Fisheries and Oil Development on the Continental Shelf*. American Fisheries Society Symposium 11.
- COKER, C.M., and HOLLIS, E.H. 1950. Fish mortality caused by a series of heavy explosions in Chesapeake Bay. *Journal of Wildlife Management* 14 (4): 435-444.
- DALEN, J. 1993. Effektar av luftkanonskyting på egg, larvar og yngel. Sluttrapport NFFR prosjekt nr. 1701-701.353. Havforskningsinstituttet, rapp. SMM nr. 10-1993, Bergen. 17 s.

- DALEN, J., and KNUTSEN, G.M. 1987. Scaring effects in fish and harmful effects on eggs, larvae and fry by offshore seismic explorations. S.93-102 i MERKLINGER, H. M. red. *Progress in Underwater Acoustics..* Plenum Publishing Corporation.
- DALEN, J. og RAKNES, A. 1985. Skremmeeffektar på fisk frå 3-dimensjonale seismiske undersøkjingar. Havforskningsinstituttet, rapp. nr. FO 8504, Bergen. 22 s.
- EATON, R.C., and DIDOMENICO, R. 1986. Role of the Teleost Escape Response during Development. *Trans. Am. Fish. Soc.* 115: 128-142.
- EKNES, E. 1993. Lydtrykk i vann ved skyting med luftkanoner på fiskeegg, larver og yngel. NUTEC, rapp. nr. 38/92, Bergen. 55 s.
- ENGER, P. S. 1981. Frequency discrimination in teleosts. Central or peripheral? S. 243-253 i TAVOLGA, W. N., POPPER, A. N. and FAY, R. R. red. *Hearing and Sound Communication in Fishes.* New York. Springer-Verlag.
- ENGÅS, A., LØKKEBORG, S., ONA, E., and SOLDAL, A.V. 1993. Effects of seismic shooting on catch and catch-availability of cod and haddock. *Fisken og Havet* 9: 117 s.
- FALK, M. R., and LAWRENCE, M.J. 1973. Seismic Exploration: Its Nature and Effects on Fish. *Canadian Fisheries and Marine Service Technical Report* CEN/T-73-9: 51 s.
- FLOOD, P.R. 1976. Veileder i Elektronmikroskopisk Prepareringsteknikk for Biologer, 4. utgave. Anatomisk institutt, Universitetet i Bergen. 167 s.
- GASPIN, J. B. 1978. Naval Surface Weapons Center Experiments on Fish Damage by Underwater Explosions. NSWC/WOL/TR-77-36: 75-80.
- GREENE, C. R. 1985. A pilot study of possible effects of marine seismic airgun array operation on rockfish plumes. Prepared for the Seismic Steering Committee by Greeneridge Sciences, Inc., Santa Barbara, California, USA.
- HILL, S.H. 1978. A Guide to the effects of underwater shock waves on Arctic marine mammals and fish. Pacific Marine Science Report. Inst. of Ocean Sciences, Patricia Bay, Sidney, B.C., Canada, 50 s.

- HOLLIDAY, D. V., PIEPER, R. E., CLARKE, M. E., and GREENLAW, C.F. 1987. The effects of airgun energy releases on the eggs, larvae and adults of the Northern anchovy (*Engraulis mordax*). API Publication no. 4453, American Petroleum Institute, Washington, DC, USA. 108 s.
- HOLM, J.C. og ANDERSEN, E. 1991. Produksjon av egg og larver. S. 29-42 i HOLM, J.C., SVÅSAND T. og WENNEVIK, V. red. *Håndbok i torskeoppdrett -Stamfiskhold og yngelproduksjon..* Havforskningsinstituttet, Senter for havbruk, Bergen.
- HOLMSTRØM, S. 1993. Effekter av luftkanonseismikk på larver og yngel til havs - modellering og simulering. SINTEF Reguleringsteknikk, rapp. nr. STF48 A93007, Trondheim. 70 s.
- HUBBS, C. L., and A. B. RECHNITZER. 1952. Report on Experiments Designed to Determine Effects of Underwater Explosions on Fish Life. *California Fish and Game* 38: 333-365.
- JAKOSKY, J.J. and JAKOSKY, J. Jr. 1956. Characteristics of Explosives for Marine Seismic Exploration. *Geophysics* 21: 969-991.
- KNUTSEN, G. M. og DALEN, J. 1985. Skadeeffekter på egg, larver og yngel fra seismiske undersøkelser. Havforskningsinstituttet, rapp. nr. FO 8505, Bergen. 26 s.
- KOSHELEVA, V. 1992. The impact of air guns used in marine seismic explorations on organisms living in the Barents Sea. Contr. Petro Piscis II '92 F-5, Bergen, 6-8 April, 1992: 6 s.
- KOSTYUCHENKO, L. P. 1973. Effect of elastic waves generated in marine seismic prospecting of fish eggs in the Black Sea. *Hydrobiological Journal* 9 (5): 45-48.
- KRAMER, F.S., PETERSON, R.A. and WALTER, W.C. 1968. Seismic Energy Sources 1968 Handbook. United Geophysical Corp., Pasadena, USA.
- KVENSETH P.G., and ØIESTAD, V. 1984. Large-scale rearing of cod fry on the natural food production in an enclosed pond. *Flødevigen Rapportserie* 1: 645-655.

- LARSON, D. W. 1985. Marine seismic impact study - An annotated bibliography and literature review. I GREEN, G. D., ENGELHARDT, F. R. and PATERSON, R. J. red. *Effects of Explosives in the Marine Environment*. Workshop proceedings, Halifax, Canada.
- LAVERGNE, M. 1970. Emission by Underwater Explosions. *Geophysics* 35 (3):419-435.
- LOVLIA, S.A., KAPLAN, B.L., MAIDROV, V.V. and KOUPALOV-YAROPOLK, I.K. 1966. Explosives for Experimental Geophysics. Nedra, Moskva, Russland.
- LUGG, R. 1979. Marine Seismic Sources. I Fitch, A.A., red. *Developments in Geophysical Exploration Methods*. Applied Science Publishers Ltd., London, England. 311 s.
- MATISHOV, G. G. 1992. The reaction of bottom-fish larvae to airgun pulses in the context of the vulnerable Barents Sea ecosystem. Contr. Petro Piscis II '92 F-5, Bergen, 6-8 April, 1992. 2 s.
- NAAS, K.E., VAN DER MEEREN, T. and AKSNES, D.L. 1991. Plankton succession and responses to manipulations in a marine basin for larval rearing. *Marine Ecology Progress Series*. 74: 161-173.
- NEWMAN, P. 1978. Water gun fills marine seismic gap. *The Oil and Gas Journal*, Aug. 1978: 138-150.
- PEARSON, W.H., SKALSKI, J.R., and MALME, C.I. 1987. Effects of Sounds from a Geophysical Survey Device on Fishing Success. Battelle Memorial Institute, Ventura, California, USA. 293 s.
- PEARSON, W.H., SKALSKI, J.R., and MALME, C.I. 1992. Effects of Sounds from a Geophysical Survey Device on Behavior of Captive Rockfish (*Sebastes spp.*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 49: 1343-1356.
- PEARSON, W.H., SKALSKI, J.R., SULKIN, S.D., and MALME, C.I. 1994. Effects of Seismic Energy Releases on the Survival and Development of Zoal Larvae of Dungeness crab (*Cancer magister*). *Marine Environmental Research* 38 (2): 93-113.

- SVERDRUP, A., KJELLSBY, E., KRÜGER, P. G., FLØYSAND, R., KNUDSEN, F. R., ENGER, P. S., SERCKHANSEN, G., and HELLE, K.B. 1994. Effects of experimental seismic shock on vasoactivity of arteries, integrity of the vascular endothelium and on primary stress hormones of the Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology* 45 (6): 973-995.
- VAN DER MEEREN, T. 1987. Oppdrett av piggvar og tunge. Havforskningsinstituttet, Avdeling for Akvakultur, rapp. nr. Akva 8708, Bergen. 19 s.
- VAN DER MEEREN, T. 1991a. Prinsipper og strategier for drift av poser. S. 106-115 i HOLM, J.C., SVÅSAND T. og WENNEVIK, V. red. *Håndbok i torskeoppdrett - Stamfiskhold og yngelproduksjon..* Havforskningsinstituttet, Senter for havbruk, Bergen.
- VAN DER MEEREN, T. 1991b. Production of marine fish fry in Norway. *World Aquaculture* 22(2): 37-40.
- WEINHOLD, R. J., and WEAVER, R.R. 1972. Seismic air guns effect on immature coho salmon. Contr. 42th Meeting of the Society of Exploration Geophysicists, Anaheim, California, USA. 15 s.
- WILEY, M.L., GASPIN, J.B., and GOERTNER, J.F. 1981. Effects of underwater explosions on fish with a dynamical model to predict fishkill. *Ocean Science and Engineering* 6 (2): 223-284.

## VEDLEGG 1

### **Lydtrykkmålinger med avledede og beregnede størrelser ved skyting med luftkanoner.**

De analyserte og beregnede resultatene av lydmålingene i tabell I.1 og I.2 er fra EKNES (1993). Tabellene i de to tabellene er basert på de samme data. De skiller seg ved at i tabell I.1 har vi presentert relativ energifordeling mens i tabell I.2 er presentert intensitetsfordeling (energiflux) - alt innenfor 10 tidsintervaller hver på 3,2 ms. Deretter er disse summert innenfor tidsintervall 1-3 som dekker primærpulsens energiutstråling, og innenfor tidsintervall 4-7 som dekker boblepulsens og de reflekterte pulsenes utstråling. Øvrige detaljer om måleoppsett, måleutrustning og kalibrering av måleutstyr er presentert i EKNES (1993).



Tabell I.1. Relativ lydenergi og trykk-karakteristikker. Oversiktstabell for data fra luftkanonskyting, middelveier. (Relative sound energy and pressure characteristics. General view of data from the air gun shooting; mean values ).

Skudd	Total tidsakse er 320 ms Energifordeling pr. 32 ms i kPa <sup>2</sup> *s										Sum energi kPa <sup>2</sup> *s		Lydtrykk			Avst. i m
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1 3	4 7	Maks kPa	St.tid ms	Gradient kPa/ms	
	<u>09.04.91: Hydrofonrekke 1.5 m fra luftkanonåpning</u>															
DI-D4	94	14	4	12	4	2	1	1	2	1	112	18	215	3,0	80	5,0
C1-C4	342	98	46	73	43	182	89	48	74	92	486	387	371	1,7	244	2,1
B1-B4	547	151	55	155	89	35	14	26	25	23	753	293	420	1,6	319	2,0
A1-A4	108	42	6	33	10	6	1	3	3	2	156	50	173	1,8	106	5,0
<u>09.04.91: Hydrofonrekke heist opp 1 m i forhold til skudd 1-4</u>																
D11-D15	49	5	2	6	1	0	0	1	1	0	56	7	151	2,8	82	6,0
C11-C15	208	44	17	47	10	9	3	8	6	6	270	69	289	2,2	197	2,8
B11-B15	639	116	76	578	108	59	189	268	55	11	831	934	353	2,4	303	1,5
A11-A15	114	16	17	53	4	4	8	17	2	1	147	70	183	2,1	115	4,1
<u>10.04.91: Hydrofonrekke flyttet til 1.5 m foran midtre kanon</u>																
D17-D19	94	18	5	6	1	1	0	1	0	1	117	8	164	3,9	60	4,8
C17-C19	231	67	35	44	17	11	13	12	16	42	334	85	261	4,1	102	1,9
B17-B19																2,7
A17-A19	90	10	24								124		154	4,1	61	4,9
<u>10.04.91: Hydrofonrekke 1.5 m foran bakre kanon</u>																
D20-D23	27	7	3	6	0	1	1	0	1	0	38	8	89	2,4	39	4,8
C20-C23	113	36	20	24	12	81	24	19	8	5	169	141	183	3,2	72	1,9
B20-B23																2,7
A20-A23	42	9	21	21	3	1	3	1	1	1	72	28	101	2,2	43	4,9
<u>07.05.91: Hydrofonrekke 1.2 m fra luftkanoner</u>																
D31-D34	19	6	6	3	3	5	4	4	3	4	31	16	104	1,6	62	6,7
C31-C34	16	2	2	1	1	1	1	1	0	1	21	4	46	2,0	57	6,1
B31-B34	536	160	81	115	177	40	25	9	42	8	777	356	360	1,3	261	1,5
A31-A34	283	88	59	58	72	17	9	3	21	3	431	155	264	1,5	165	2,0
<u>07.05.91: Hydrofonrekke 0.9 m fra luftkanoner</u>																
D39-D42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	5,5	1	6,7
C39-C42	21	3	1	2	1	1	0	0	1	0	25	4	89	1,8	53	6,0
B39-B42	635	298	187	122	133	135	94	42	37	84	1120	484	341	1,1	295	1,3
A39-A42	304	110	65	59	56	29	15	6	10	10	479	158	245	2,5	182	1,8
<u>07.05.91: Hydrofonrekke 0.9 m fra luftkanoner, hevet 0.46 m i forhold til skudd 39-42</u>																
D47-D50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	6,0	0	7,2
C47-C50	15	3	1	1	1	1	1	0	0	1	19	3	90	1,2	81	6,5
B47-B50	911	242	129	416	496	90	56	115	137	29	1283	1057	438	1,0	412	1,0
A47-A50	439	137	67	155	138	25	9	23	37	6	643	327	289	1,3	244	1,5
<u>23.06. og 21.10.92. Hydrofonrekke vannrett ut fra luftkanon. 6 m dybde</u>																
A53-A56	4052	179	325								4556		1249	1,4	998	0,8
B53-B56	2837										2837		958	1,3	749	1,1
C53-C56	1836	369	315	83	330	104	458	180	57	76	2521	975	846	1,5	695	1,4
A60-A64	338	45	40	19	44	18	14				423	94	364	1,9	236	1,7
D70-D73	77	9	9	2	23	2	4	2	3	4	95	30	156	2,1	96	3,0

Tabell I.2. Lyditensitet (energiflux) og trykk-karakteristikker. Oversiktstabell for data fra luftkanonskyting, middelverdier. (Sound intensity (energy flux) and pressure characteristics. General view of data from the air gun shooting; mean values ).

Skudd	Total tidsakse er 320 ms Itensitetsfordeling pr. 32 ms i W/m <sup>2</sup>										Sum intensitet W/m <sup>2</sup>		Lydtrykk			Avst. i m
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1 3	4 7	Maks kPa	St.tid ms	Gradient kPa/ms	
	<u>09.04.91: Hydrofonrekke 1.5 m fra luftkanonåpning</u>															
D1-D4	1901	273	88	234	73	37	10	25	34	27	2263	363	215	3,0	80	5,0
C1-C4	6898	1982	927	1465	870	3671	1799	961	1489	1853	9806	7805	371	1,7	244	2,1
B1-B4	11028	3045	1112	3121	1795	714	283	519	514	466	15185	5913	420	1,6	319	2,0
A1-A4	2176	853	124	656	200	119	29	52	54	46	3153	1003	173	1,8	106	5,0
<u>09.04.91: Hydrofonrekke heist opp 1 m i forhold til skudd 1-4</u>																
D11-D15	993	110	30	112	19	6	9	28	16	6	1133	146	151	2,8	82	6,0
C11-C15	4203	894	341	943	207	178	69	156	116	114	5437	1396	289	2,2	197	2,8
B11-B15	12882	2346	1532	11660	2186	1189	3808	5401	1113	229	16760	18842	353	2,4	303	1,5
A11-A15	2299	332	336	1077	84	79	162	338	50	10	2968	1402	183	2,1	115	4,1
<u>10.04.91: Hydrofonrekke flyttet til 1.5 m foran midtre kanon</u>																
D17-D19	1896	358	104	128	22	13	5	12	8	16	2358	169	164	3,9	60	4,8
C17-C19	4666	1360	707	882	348	215	268	252	318	840	6734	1713	261	4,1	102	1,9
B17-B19																2,7
A17-A19	1823	200	480								2504		154	4,1	61	4,9
<u>10.04.91: Hydrofonrekke 1.5 m foran bakre kanon</u>																
D20-D23	565	141	64	117	7	13	18	5	10	5	771	155	89	2,4	39	4,8
C20-C23	2274	727	410	491	242	1626	482	375	169	101	3410	2840	183	3,2	72	1,9
B20-B23																2,7
A20-A23	855	180	416	416	68	12	59	23	27	27	1451	555	101	2,2	43	4,9
<u>07.05.91: Hydrofonrekke 1.2 m fra luftkanoner</u>																
D31-D34	386	120	129	69	70	93	88	86	65	79	635	320	104	1,6	62	6,7
C31-C34	331	43	47	24	17	22	17	14	10	10	422	81	46	2,0	57	6,1
B31-B34	10809	3229	1637	2320	3566	802	499	179	851	163	15674	7187	360	1,3	261	1,5
A31-A34	5717	1776	1199	1165	1445	340	173	63	414	67	8692	3123	264	1,5	165	2,0
<u>07.05.91: Hydrofonrekke 0.9 m fra luftkanoner</u>																
D39-D42	1	0	3	1	0	0	0	0	0	0	4	2	3	5,5	1	6,7
C39-C42	431	51	28	40	26	16	7	5	12	8	510	89	89	1,8	53	6,0
B39-B42	12807	6014	3769	2468	2688	2726	1892	837	755	1690	22590	9774	341	1,1	295	1,3
A39-A42	6131	2212	1310	1183	1120	584	299	121	209	209	9653	3186	245	2,5	182	1,8
<u>07.05.91: Hydrofonrekke 0.9 m fra luftkanoner, hevet 0.46 m i forhold til skudd 39 - 42</u>																
D47-D50	0	0	0	2	1	3	1	1	2	1	1	7	2	6,0	0	7,2
C47-C50	310	54	25	13	14	23	18	6	3	18	389	67	90	1,2	81	6,5
B47-B50	18381	4891	2612	8388	10009	1806	1122	2329	2759	585	25884	21325	438	1,0	412	1,0
A47-A50	8862	2757	1369	3133	2779	498	187	473	743	117	12978	6596	289	1,3	244	1,5
<u>23.06. og 21.10.92: Hydrofonrekke vannrett ut fra luftkanon</u>																
A53-A56	81741	3611	6562								91914		1249	1,4	998	0,8
B53-B56	57240										57240		958	1,3	749	1,1
C53-C56	37045	7449	6355	1674	6647	2103	9245	3631	1150	1523	50849	19670	846	1,5	695	1,4
A60-A64	6824	913	802	383	883	363	272				8539	1901	364	1,9	236	1,7
D70-D73	1548	187	187	35	459	35	76	35	50	76	1922	605	156	2,1	96	3,0

## VEDLEGG 2

Bilder fra makroskopiske og mikroskopiske undersøkelser av larver, postlarver og yngel.

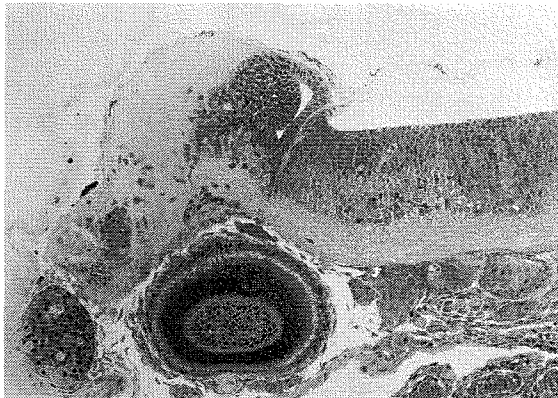


Fig. II a. Plommeseckklarve av piggvar fra kontrollgruppe. Lengdesnitt av hodet som viser hjernen, det ene øyet og gjelleregionen, forstørret ca. 300 x. (*Turbot yolk sac larvae from the control group. Lengthwise section of the head showing the brain, one of the eyes, and the gill region, magnified approx. 300 x).*

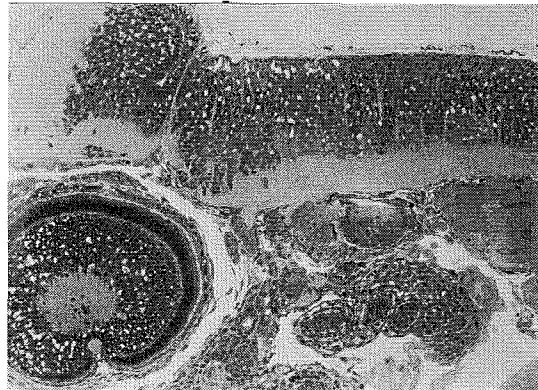


Fig. II b. Plommeseckklarve av piggvar eksponert på 1,3 m avstand fra kanonklyngen. Lengdesnitt av hodet som viser hjernen, det ene øyet og gjelleregionen, forstørret ca. 300 x. (*Turbot yolk sac larvae exposed on 1,3 m distance from the gun cluster. Lengthwise section of the head showing the brain, one of the eyes, and the gill region, magnified approx. 300 x).*

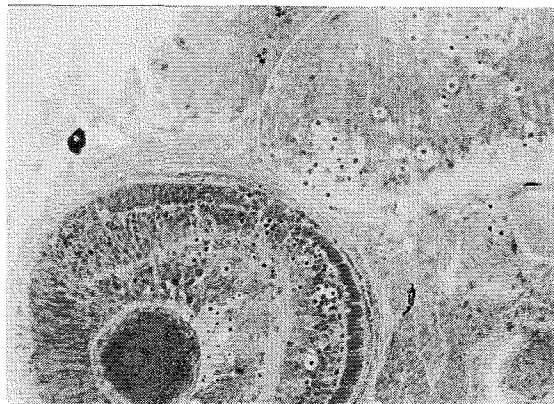


Fig. II c. Plommeseckklarve av piggvar eksponert på 0,7 m avstand fra kanonklyngen. Lengdesnitt av hodet som viser deler av hjernen, det ene øyet og fremre gjelleregion, forstørret ca. 500 x. (*Turbot yolk sac larvae exposed at 0,7 m distance from the gun cluster. Lengthwise section of the head showing the brain, one of the eyes, and the foremost gill region, magnified approx. 500 x).*

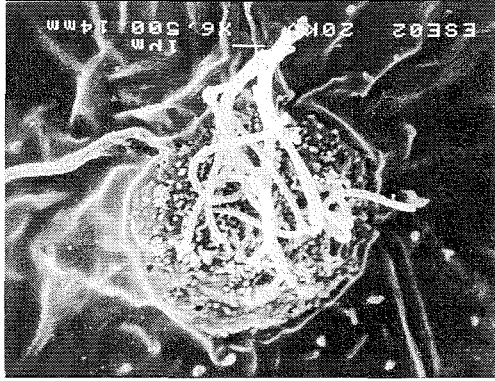


Fig. II d. Postlarve av torsk, ca. 19 mm, ubehandlet nullprøve. SEM-bilde av fri neuromast på bakkroppen, forstørret 6.500 x. Gelékappen (cupula) som vanligvis dekker neuromastenes sansehår, ble fjernet under prepareringen. (*Cod post larvae, approx. 19 mm, unhandled blank sample. SEM-picture of free neuromast at the hind part of the body, magnified 6.500 x. The gelatinous cupula usually covering the sensory hair cells of the neuromasts, was removed during the preparation.*)

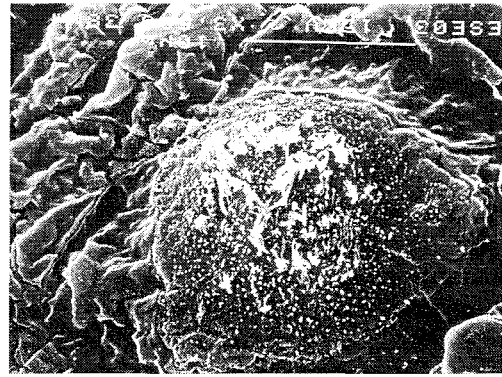


Fig. II e. Postlarve av torsk, ca. 19mm, eksponert på 0,7 m avstand fra kanonklyngen. SEM-bilde av fri neuromast på bakkroppen med deler av sansehårene "barbert", forstørret 3.500 x. Gelékappen (cupula) som vanligvis dekker neuromastenes sansehår ble fjernet under prepareringen. (*Cod post larvae, approx. 19 mm, exposed at 0,7 m distance from the gun cluster. SEM-picture of free neuromast at the hind part of the body, with parts of the sensory hair cells "shaved off", magnified 3.500 x. The gelatinous cupula usually covering the sensory hair cells of the neuromasts, was removed during the preparation.*)

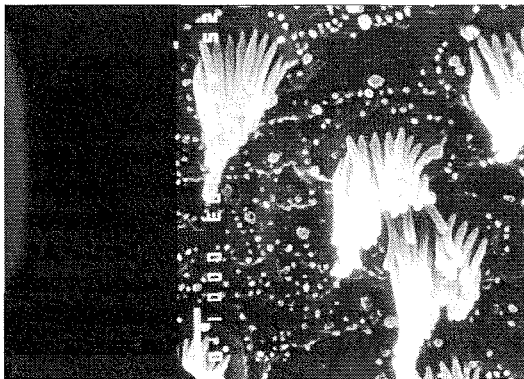


Fig. II f. Yngel av torsk fra kontrollgruppen. SEM-bilde som viser enkelte intakte sanseceller i et av sanseområdene (macula sacculi) i det indre øret, forstørret ca. 9400 x. Cupula ble fjernet under preparering. (*Cod fry from the control group. SEM-picture showing some intact sensory cells in one of the maculae (macula sacculi) of the inner ear, magnified approx. 9.400 x. The cupula was removed during the preparation.*)

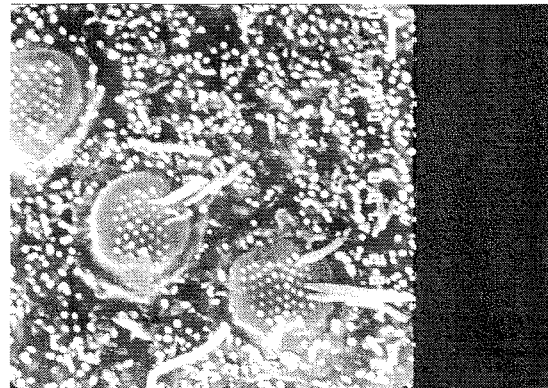


Fig. II g. Yngel av torsk eksponert på 0,9 m avstand fra kanonklyngen. SEM-bilde som viser enkelte "barberte" sanseceller i et av sanseområdene (macula sacculi) i det indre øret, forstørret 7.800 x. Cupula ble fjernet under preparering. (*Cod fry exposed at 0,9 m distance from the gun cluster. SEM-picture showing some "shaved" sensory cells in one of the maculae (macula sacculi) of the inner ear, magnified 7.800 x. The cupula was removed during the preparation.*)

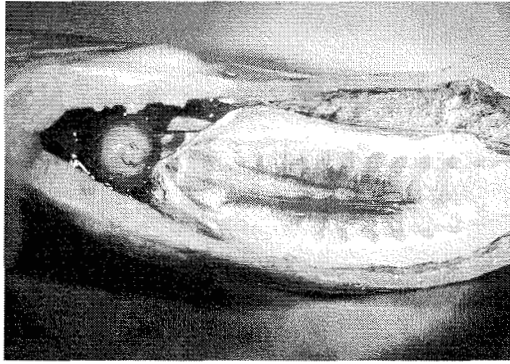


Fig. II h. Yngel av torsk fra kontrollgruppen.  
 Fotografi av åpnet bukhole med deler av de indre organer fjernet. Svømmeblæren er skåret opp på langs og viser ovalen, et organ som tilbakefører gass fra svømmeblæren til blodet. (*Cod fry from the control group. Picture of opened abdomen with parts of inner organs removed. The swimbladder is cut longitudinally showing the oval, an organ feeding back gas from the swimbladder to the blood.*)

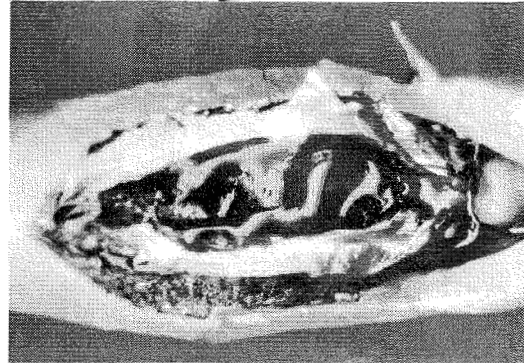


Fig. II i. Yngel av torsk eksponert på 0,9 m avstand fra kanonklyngen. Fotografi av åpnet bukhole med deler av de indre organer fjernet. Svømmeblæren er skåret opp på langs og viser blodkoagel langs blærens ryggside som grenser mot nyrene og hovedblodårene. (*Cod fry exposed at 0,9 m distance from the gun cluster. Picture of opened abdomen with parts of the inner organs removed. The swimbladder is cut longitudinally showing coagulated blood along the back side of the bladder up against the kidneys and the main veins.*)

## VEDLEGG 3

Oppsummering av individuelle observasjoner av torskeyngel.

Tabell III.1. Forsøksfaktorer og resultater av disseksjonen av torskeyngel fra forsøk 26 (trykktilvent fisk) og forsøk 27 (ikke trykktilvent fisk). K - kontrollgruppe og SB - svømmeblære. (*Experimental factors and result from the dissections of cod fry from experiment 26 (pressure adapted fish) and experiment 27 (not pressure adapted fish). K - control group, and SB - swimbladder.*)

Avstand [m]	Behandling	Dager etter skyting	Tilstand	Fiske-lengde [mm]	Hull i SB	Boble v/siden av SB, under peritoneum	Koagler eller blødninger
0,9	trykktilv.	0	død, overflotert	115	nei	nei	nei
0,9	"	0	" "	135	"	"	noe i buken
0,9	"	0	døende, overflotert	150	ja	"	i buken og i SB
0,9	"	0	død, ved bunnen	140	nei	"	i SB
0,9	"	0	" " "	115	"	ja	noe i SB
0,9	"	0	" " "	145	"	nei	mye i SB
0,9	ikke trykktilv.	0	" " "	130	ja	"	i SB
0,9	" "	0	" " "	140	nei	"	mye i SB
0,9	" "	0	" " "	110	"	"	noe i SB
0,9	" "	0	" " "	130	"	"	mye i SB
0,9	" "	0	" " "	140	"	"	i SB
0,9	" "	0	" " "	120	"	"	"
0,9	" "	0	" " "	145	"	"	"
1,3	" "	0	" " "	100	"	"	noe i SB
K	trykktilv.	1	levende, normal	135	"	"	nei
K	"	1	" " "	140	"	"	"
0,9	"	1	" " "	130	"	"	noe i SB
0,9	"	1	" " "	150	"	"	"
K	"	2	" " "	130	"	"	nei
K	"	2	" " "	120	"	"	"
K	"	2	" " "	150	"	"	"
0,9	"	2	" " "	120	"	ja	"
0,9	"	2	" " "	130	ja	nei	"
0,9	"	2	" " "	130	"	"	"
0,9	"	2	" " "	140	"	"	"
0,9	"	2	" " "	140	nei	"	"
0,9	"	2	" " "	140	"	"	"
1,3	"	2	" " "	140	"	"	"
1,3	"	2	" " "	120	"	ja	"
1,7	"	2	" " "	140	"	nei	"
1,7	"	2	" " "	140	"	"	"
K	"	3	" " "	150	"	"	"
K	"	3	" " "	125	"	"	"
0,9	"	3	" " "	130	"	ja	"
0,9	"	3	" " "	120	ja	nei	"
1,3	"	3	" " "	145	nei	"	ved nyrene
1,3	"	3	" " "	115	"	ja	nei
1,7	"	3	" " "	130	"	nei	"
1,7	"	3	" " "	130	"	"	"
0,9	"	15	" " "	155	ja	"	"
0,9	"	15	" " "	145	"	"	ja
0,9	"	15	" " "	145	"	"	nei
0,9	"	15	" " "	150	"	"	"

Tabell III.1, fortsettelse.

Avstand [m]	Behandling	Dager etter skyting	Tilstand	Fiske- lengde [mm]	Hull i SB	Boble v/siden av SB, under peritoneum	Koagler eller blødninger
0,9	trykktilv.	15	levende, normal	130	krympet	nei	nei
0,9	"	15	" " "	155	ja	"	"
0,9	"	15	" " "	130	"	"	"
0,9	"	15	" " "	110	nei	"	"
0,9	"	15	" " "	125	"	"	"
1,3	"	15	" " "	150	ja	"	"
K	"	15	" " "	135	"	"	"
K	"	15	" " "	140	nei	"	"
0,9	"	16	" " "	135	"	"	"
0,9	"	16	" " "	130	"	"	"
0,9	"	16	" " "	135	"	"	"
0,9	"	16	" " "	130	"	"	"
0,9	"	16	" " "	115	"	"	"
0,9	"	16	" " "	115	"	"	"

Tabell III.2. Forsøksfaktorer og resultater av disseksjonen og av undersøkelsen på hørselsorganstrukturer av torskøyngel fra forsøk 27. K - kontrollgruppe og SB - svømmeblære. "3 av 4" betyr at det ble funnet "barberte" hårceller i tre av fire preparater som ble undersøkt. (*Experimental factors and results from the dissections and from the investigations of the hearing organ structures of cod fry from experiment 27. K - control group, and SB - swimbladder. "3 av (out of) 4" means that it was found "shaved" hair cells in three out of four preparations being investigated*).

Avstand [m]	Dager etter skyting	Tilstand	Hull i SB	Boble v/siden av SB, under peritoneum	Koagler eller blødninger	Andre observasjoner	"Barberte" hårceller
0,9	0	død	nei	nei	noe bak i SB		
0,9	0	"	"	ja	fylt i SB		2 av 2
0,9	0	"	ja	"	i og vsa. SB og i leveren	brudd i ryggspylen	
0,9	0	"	nei	nei	i SB		
0,9	0	"	ja	"	i buken, SB og i øyet	ribbebrudd	0 av 0
0,9	0	lite aktiv	nei	nei	i l. analfinnen	sannsynl. vibriose	
0,9	0	død	"	"	noe i buken, fylt i SB		1 av 4
0,9	0	neg.flyt.	"	"	i nyret og i SB	mørk i halen	1 av 2
K	1	normal	"	"	nei		
K	1	"	"	"	"		1 av 1
0,9	1	"	"	ja	"	boblen følger pulsen	
0,9	1	"	ja	nei	"		2 av 4
1,3	1	"	nei	"	i nyreområdet		
1,3	1	"	"	"	nei		1 av 2
1,7	1	"	"	"	"		
1,7	1	"	"	"	"		2 av 4
0,9	1	"	"	"	noe i øyet	noe mørkere i kroppen	1 av 2
0,9	1	"	"	ja	nei		
0,9	1	"	"	nei	"		3 av 4
0,9	1	"	"	"	i SB		
0,9	14	"	"	"	nei	mørk, boble i øyet	0 av 0
0,9	14	"	"	"	"		
0,9	14	"	"	"	noe under endotelium	noe mørkere i kroppen	2 av 3
0,9	14	"	"	"	"		
1,7	14	"	"	"	nei	nei	0 av 2
1,7	14	"	"	"	"		
1,7	14	"	"	"	"		
1,7	14	"	"	"	"		0 av 3
K	14	"	"	"	"		
K	14	"	"	"	"		0 av 1
K	14	"	"	"	"		
0,9	14	"	"	"	"		
0,9	14	"	"	"	"		2 av 4
0,9	14	"	"	"	"		
0,9	36	"	"	"	"		
0,9	36	"	"	"	"		4 av 6
0,9	36	"	"	"	"		
0,9	36	"	"	"	"		
0,9	36	"	"	"	"		7 av 7
0,9	36	"	"	"	"		
1,3	36	"	"	"	"		2 av 2
1,7	36	"	"	"	"		
1,7	36	"	"	"	"		
1,7	36	"	"	"	"		2 av 4
1,7	36	"	"	"	"		
1,7	36	"	"	"	"	exoftalmia, tom SB	0 av 2



Avstand [m]	Dager etter skyting	Tilstand	Hull i SB	Boble v/siden av SB, under peritoneum	Koagler eller blødninger	Andre observasjoner	“Barberte” hårceller
K	36	normal	nei	nei	nei	nei	
K	36	“	“	“	“	sår i halen	1 av 3
K	36	“	“	“	“	nei	
K	36	“	“	“	“	“	