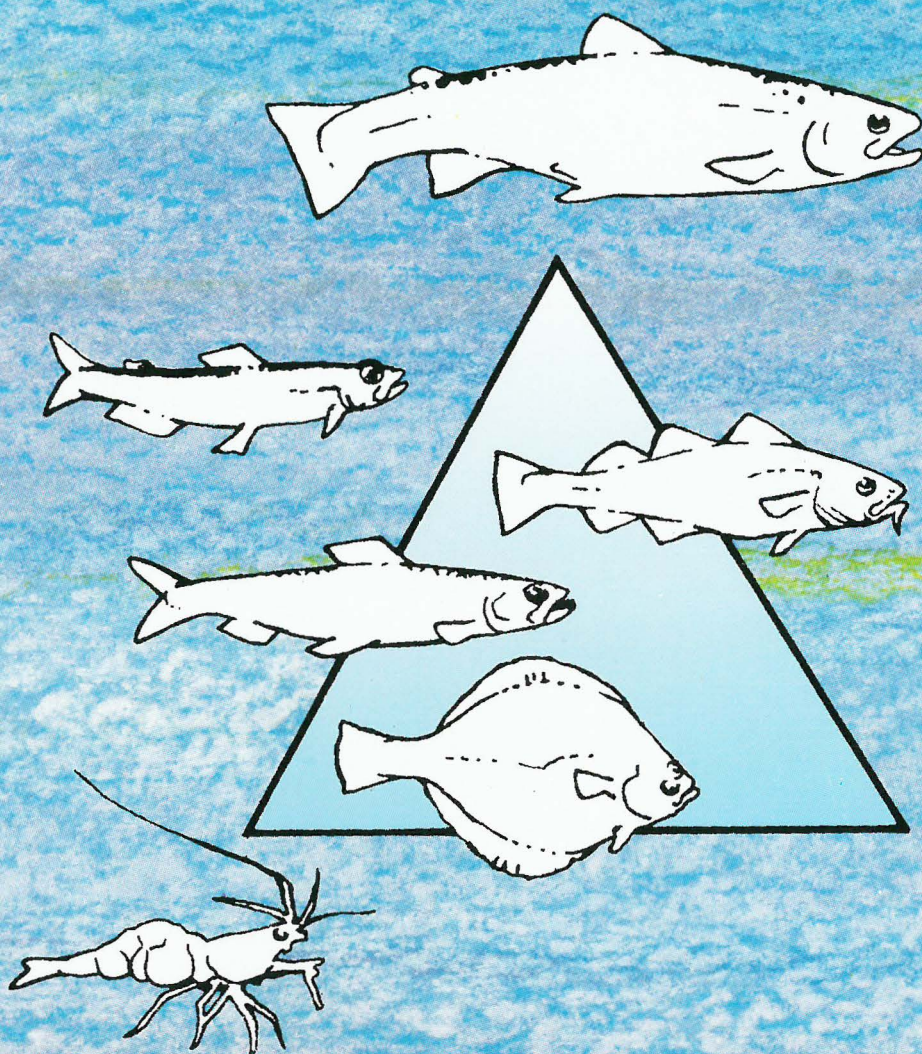

NR. 14/1992/HSMM

VESLEFRIKK OG GULLFAKS RÅOLJER

Effekter på torskeegg og -larver ved kort eksponeringstid til lave konsentrasjoner av vannløslig fraksjon

av

Torunn Ellingsen, Alf Vigrestad, Lars Føyn



HAVFORSKNINGSINSTITUTTET

SENTER FOR MARINT MILJØ

Seksjon Kjemisk oseanografi

Torunn Ellingsen, Alf Vigrestad og Lars Føyn

VESLEFRIKK OG GULLFAKS RÅOLJER
Effekter på torskeegg og -larver ved kort
eksponeringstid til lave konsentrasjoner av
vannløslige fraksjoner

Oppdragsgiver:

Statoil

Kontrakt nr. :

T - 122.384

Prosjektmedarbeidere:

Ivan Kåre Kjøbstad

Kjell Westrheim

Sammendrag:

Det er utført korttids eksponering av torskeegg og -larver til den vannløslige fraksjonen, WSF, av Gullfaks og Veslefrikk råolje. Torskeeggene ble eksponert på forskjellige utviklingsstadier, i forskjellige oljekonsentrasjoner og med forskjellig eksponeringstid. Eggene ble deretter overført til rent sjøvann hvor de fikk utvikle seg videre til etter klekking, og så ble oksygenforbruket målt. Forsøkene viste ingen reduksjon i oksygenforbruket hos torskelarvene som var oljeeksponert på eggstadiet.

Torskelarvene ble eksponert på tilsvarende måte. Her fant vi vi redusert oksygenforbruk hos larver eksponert til 20 og 50 ppb WSF Veslefrikkolje, men ikke til de larvene som var eksponert til 10 ppb WSF Veslefrikkolje.

Eksponering i 24 timer til 20 - 30 ppb WSF Veslefrikkolje ga reduksjon i oksygenforbruket, mens eksponering til 60 - 70 ppb WSF Gullfaksolje ikke ga slike effekter.

HAVFORSKNINGSINSTITUTTET

SENTER FOR MARINT MILJØ

Seksjon Kjemisk oseanografi

INNHOOLD

FORORD	2
INNLEDNING	3
OVERSIKT OVER TESTEDE SERIER.....	4
BIOTESTLABORATORIET.....	6
OLJEDOSERING OG KJEMISKE ANALYSER.....	7
MÅLING AV METABOLISME.....	9
RESULTATER.....	10
Testgrupper torskeegg.....	11
Testgrupper torskeelarver.....	15
DISKUSJON.....	24
KONKLUSJON.....	25
REFERANSER.....	26

FORORD

Denne rapporten er utarbeidet i henhold til en samarbeidsavtale med Statoil. I forbindelse med eventuelle utslipp fra oljeinstallasjoner til havs vil en mulig påvirkning på sårbare marine organismer, som fiskeegg og -larver, i de fleste tilfeller bli av kortvarig karakter. Dette kan beskrives som at fiskeegg og -larver driver relativt raskt gjennom utslippet eller det kontaminerte vannet. Forsøk med korttidseksposering av fiskeegg og -larver kan derfor gi indikasjoner på hvilke mulige skader vi kan forvente dersom det skjer et oljeutslipp i det tidsrom hvor fiskeegg og -larver finnes ved utslippet. Spesielt er det viktig å få undersøkt hvor lenge fiskeegg kan utsettes for en oljepåvirkning uten at dette skal få følge for den senere utvikling etter klekking.

Forsøkene er gjennomført som tillegg til de biotestene vi gjør for myndighetene i forbindelse med konsekvensvurderinger i henhold til petroleumslovens §7 om åpning av nye områder for oljevirkosomhet, AKUP. Arbeidet har kunnet gjennomføres ved at ekstra personell er blitt engasjert til dette. I denne forbindelse har Alf Vigrestad vært knyttet til prosjektet gjennom det arbeidet han har utført ved biotestlaboratoriet, og som har vært en del av hans hovedfagsarbeide ved Zoologisk Laboratorium ved Universitetet i Bergen.

Havforskningsinstituttet er først og fremst rådgiver for myndighetene i marine miljø- og ressursproblemer. Spørsmål om oljevirkosomhetens innvirkning på det marine miljø er sentrale i instituttets rådgivningsoppgaver. Resultatene som presenteres i denne rapporten vil inngå i instituttets kunnskapsbase samtidig som oppdragsgiver, Statoil, blir tilført kunnskap av betydning for selskapets håndtering av marine miljøproblemer.

Lars Føyn

Seksjonsleder
Seksjon for Kjemisk Oseanografi

INNLEDNING

Betingelsen for at en forurensning, i dette tilfellet olje, skal få virkninger på fiskeegg og fiskelarver, er at forurensningen eller forurensningskomponenten finnes innblandet i det vannet hvor organismene finnes.

Begrunnelsen for å bruke fiskeegg og -larver i laboratorieforsøkene er følgende:

- a) Fiskeegg og -larver driver mer eller mindre passivt i vannet og har ingen mulighet til å svømme bort fra en forurenset vannmasse. De representerer de sårbare stadiene i en fisks liv. Ved en viss størrelse vil fiskelarven (yngelen) ha stor nok egenbevegelse til å kunne unngå en forurenset vannmasse i åpent farvann. De første utviklingsstadiene i en organisme er også mer følsomme for påvirkninger enn voksne individer.
- b) Ved å overføre resultatene fra biotestene, der effekten av olje på fiskeegg og -larver er vurdert, til våre observasjoner av egg- og larveforekomst i havet, kan ressurskader beregnes når en kjenner hydrografien og kan simulere oljedrift og innblanding i det aktuelle området. Vi kan få et mål på et antatt tap eller reduksjon i en utsatt fiskebestand.

Våre tidligere forsøk basert på kontinuerlig oljeeksponering gjennom hele egg- og plommesekkstadiet har vist at vannløselig fraksjon (WSF) av råolje gir effekter på metabolismen hos plommesekklarver (Serigstad 1987, 1991). I naturen vil kontakten mellom den oppløste oljen og de sårbare organismene ofte være av kort varighet, og på dette grunnlaget har vi i årets forsøk valgt å satse på korttidseksponering og eksponering til lave oljekonsentrasjoner. I WSF utgjør BTX-komponentene (Benzen, toluen og xylener) ca. 90%. Disse har vist seg å ha stor betydning for den observerte akutteffekt på oksygenopptak og aktivitet i våre tidligere forsøk.

De høyeste konsentrasjonene av de vannløselige komponentene som er funnet i naturen i forbindelse med ukontrollerte utslipp er ca. 300 ppb like under oljeflaket. Ved fallende oljekonsentrasjon øker influensområdet. Det er derfor viktig å fastslå "terskelverdier" for oljeeffekt, som kan gi grunnlag for modellering av influensområde, og beregning av effekter på bestandsnivå.

Det er tidligere gjort forsøk med en rekke forskjellige arter, og det er store variasjoner i følsomhet for oljeforurensning fra art til art. Torsklarver har vist seg å være spesielt sårbare for oljepåvirkning (Serigstad 1987, Serigstad *et. al.* 1991). Torsk er også en spesielt viktig art i ressursammenheng. Ved å nytte torsk kan vi med god sikkerhet operere innenfor "verst tenkelig" begrepet. I tillegg har vi gode kunnskaper i behandling av torskeegg og -larver.

OVERSIKT OVER TESTEDE SERIER

Tabell 1 gir en oversikt over testede egg- og larvegrupper, dag for oljeeksponering, oljetype testet og konsentrasjonene av olje i testakvariene.

Naturlig gytt egg fra én hunn, befruktet med melke fra én hann, ble benyttet i hver av de 3 forsøksseriene T1, T2 og RT-T2. Eggene til hver av seriene var fra samme gyteporsjon, og derved befruktet på samme tid. For å kunne sammenligne kontrollgrupper og oljeeksponerte grupper direkte, er vi avhengig av at det biologiske materialet er behandlet likt og befinner seg på samme utviklingstrinn.

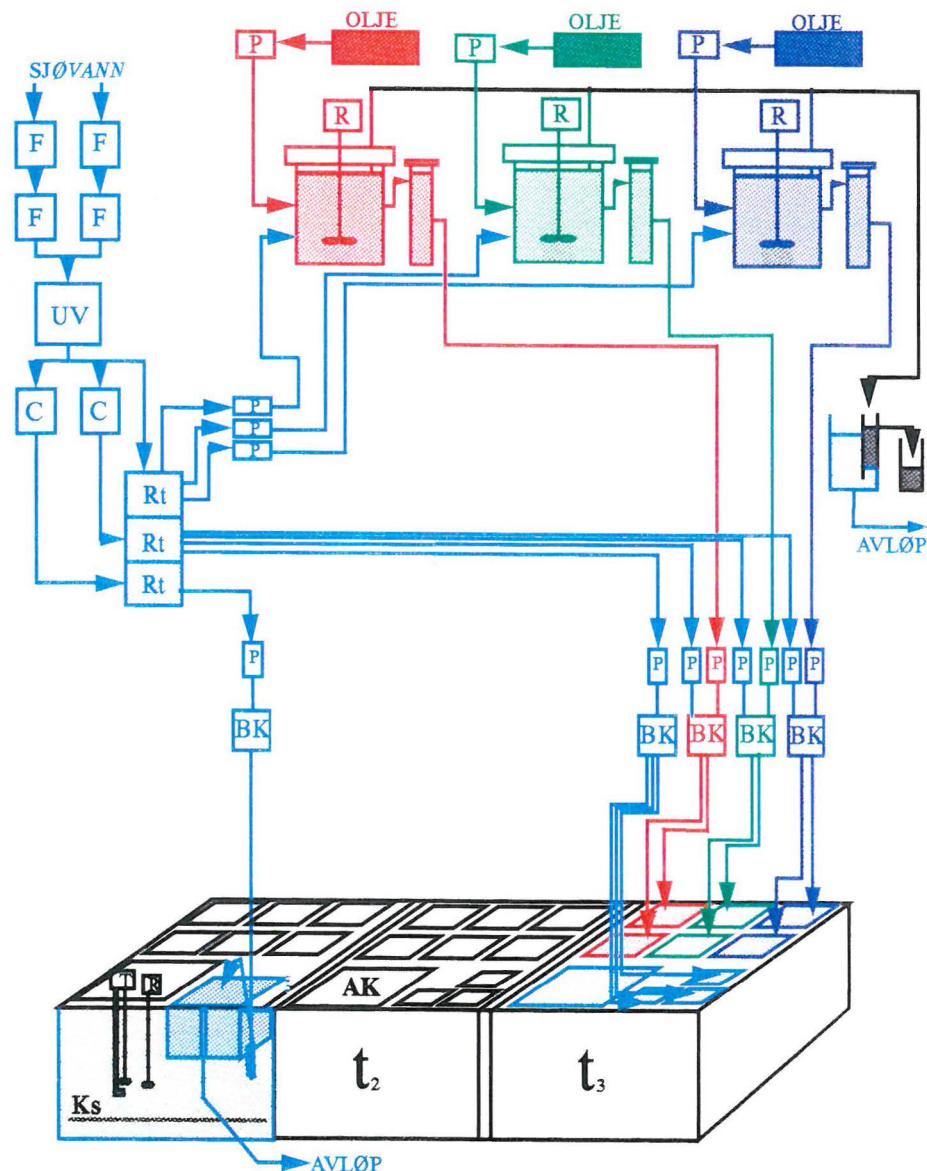
Egg til forsøksserie T3 ble strøket og befruktet ved Austevoll Havbruksstasjon etter prosedyre beskrevet av Tilseth et. al. (1984). Eggene ble skylt i reint sjøvann og transportert til laboratoriet i Bergen pakket i plastposer fylt med ca. 2/3 sjøvann og 1/3 luft, i termisk isolerte beholdere. Eggene ble inkubert i biotestanlegget ca. 11 timer etter befruktning.

Tabell 1. Oversikt over testede grupper av fiskeegg og -larver, dag for oljeeksponering, oljetype og konsentrasjon av BTX i testakvariene (avrundede verdier). (e=egg, l=larver)

Testgrupper	Befr. Dato	50% klekking, dager etter befruktning	Oljeeksp. dager etter befruktning	Kons. BTX, ppb Veslefrikk	Kons. BTX, ppb Gullfaks
T1-92	21.01.92	16	15 (e)	90	
			17 (l)	85	
RT-T2-92	01.02.92	15	20 (l)	50	
			21 (l)	50 og 20	
			23 (l)	50 og 20	
			24 (l)	50 og 20	
T2-92	20.02.92	15	18 (l)	50 og 10	
			22 (l)	50 og 10	
T3-92	19.02.92	16	6 (e)	40	50
			13 (e)	40	70
			18 (l)	10	
			19 (l)		70
			20 (l)	30	
			22 (l)		ca. 60
			23 (l)	30	

BIOTESTLABORATORIET

Biotestlaboratoriet er konstruert med sikte på å måle effekter av oljeforurensning eller andre forurensningskomponenter på marine organismer - hovedsaklig fiskeegg, fiskelarver og større fisk (Serigstad 1991). (fig. 1).



Figur 1. Figuren viser en skjematisk oversikt over biotestanlegget. F:filter 30µm og 10µm, UV:UV-sterilisator, c:kjølemaskiner for forkjøling av vannet, Rt:reservoartanker for vann med forskjellige temperatur (lufting), P:vannpumpe, BK:blandekammer for vann og stoff som skal testes, T:termostat, R:røreverk, Ak:testakvarium, Ks: kjølespiral, t1-t3:seksjoner med innbyrdes valgfri temperatur (0-30°C). Fra de enkelte blandekammerene (BK) doseres oljevannet ut i akvarier ved 3 forskjellige temperaturer.

OLJEDOSERING OG KJEMISKE ANALYSER

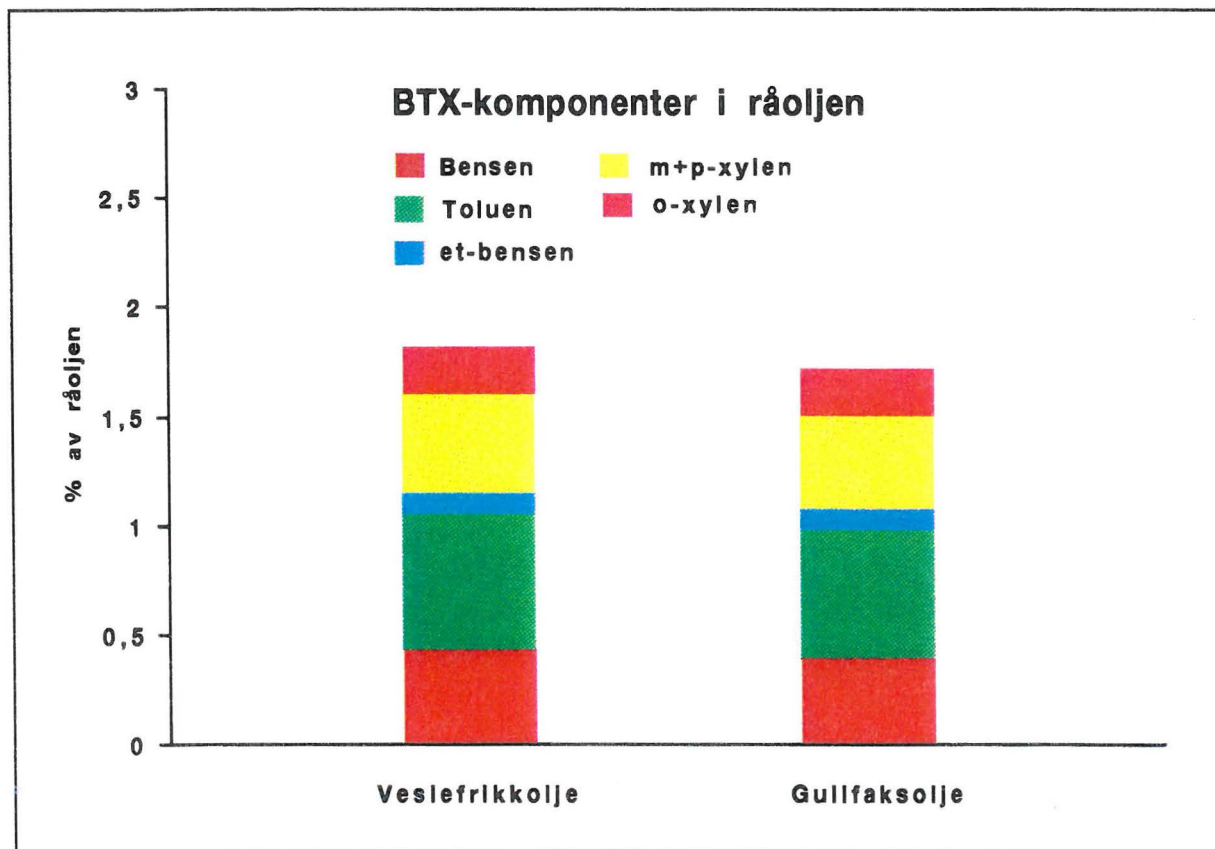
Det er brukt råolje fra Gullfaksfeltet og Veslefrikkfeltet i effekt-testene. Oljen ble levert fra Statoil ved forsøkernes start.

For å påvise sikre sammenhenger mellom oljeeksponering og biologiske effekter ble det utført detaljerte analyser av konsentrasjon og sammensetning av komponentene organismene utsettes for. I tillegg til en kontinuerlig oversikt over oljekonsentrasjon i biotestanlegget gjennom hele forsøket ble det lagt spesielt vekt på oljeanalyser i forbindelse med korttidseksponeringsforsøkene. De kjemiske analysene av oljen er utført ved vårt kjemilaboratorium.

Gasskromatografi (GC) ble benyttet for analyse av benzen, toluen, etylbenzen, orto-, meta- og paraxylene (BTX) i stamløsning og akvarier (Westrheim et al. 1986). Disse forbindelsene utgjør ca. 90% av den vannløselige fraksjonen av råoljen (WSF). En vesentlig del av de resterende 10% i WSF består av C1-C3 naftalener og fenoler. Gjennom forsøkene ble det tatt ut 1 liters prøver fra akvarier og stamløsning ca. 2 ganger pr. uke for analyse av BTX. I tillegg ble det tatt ut prøver for oljeanalyser de dagene det ble utført korttidseksponering.

Oljekonsentrasjonene oppgitt i tabell 1 er konsentrasjon av BTX-komponentene i testakvariene ved eksponering av egg og larver.

Det er også utført analyser av råoljene som ble benyttet for å se på den relative sammensetningen av de vannløselige komponentene i de ulike oljetyperne. Resultatet av disse analysene er oppsummert i fig. 2.



Figur 2. Figuren viser prosentvis innhold av BTX-komponenter i Veslefrikkoljen og Gullfaksoljen benyttet i biotestene.

MÅLING AV METABOLISME

Metabolisme uttrykt ved oksygenopptak har vist seg å være et enkelt og godt mål for effekter av oljeforurensing på fiskeegg og fiskelarver (Serigstad 1987).

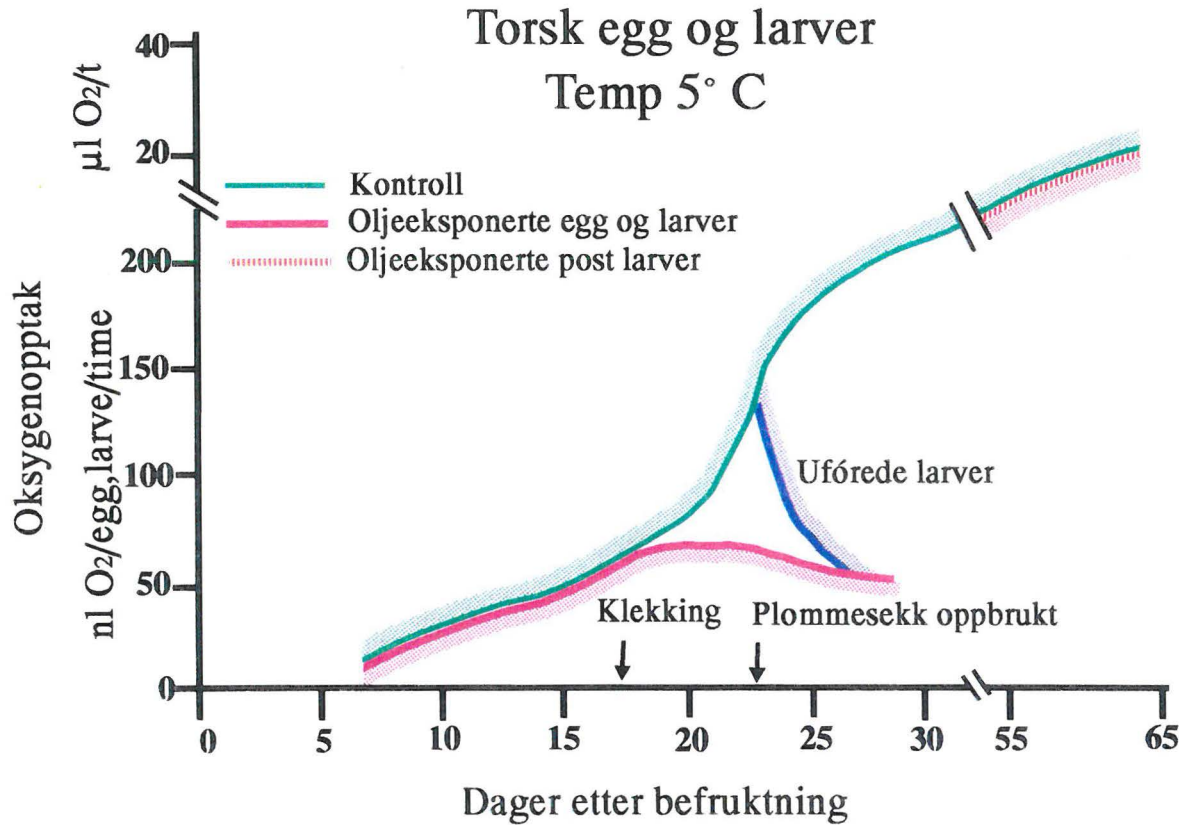
I forsøkene beskrevet i denne rapporten er prinsippet for lukket respirometri brukt til måling av oksygenopptaket på fiskeegg og -larver. Som respirasjonskammer er det brukt gasstette glassprøyter. Det er brukt likt antall blank og eksperimentelle prøver, og forbruket er beregnet på grunnlag av differansen mellom disse etter formelen

$$\dot{V}O_2 = \frac{\Delta pO_2 \times \alpha O_2 \times V_k}{N \times T}$$

- der
- VO₂ = Oksygenforbruket hos enkeltindivider
 - ΔpO₂ = differansen i partialtrykket av oksygen i blankprøve og prøve
 - αO₂ = løselighetskoeffesienten av oksygen i sjøvann ved de gitte betingelser
 - V_k = volum av respirasjonskammer
 - N = antall individer i respirasjonskammeret
 - T = tiden dyrene oppholder seg i resp.kammeret.

RESULTATER

Vi vet fra tidligere undersøkelser at oksygenforbruket endres i løpet av eggets og larvens utvikling. Gjennom en serie forsøk har vi fått god kjennskap til denne utviklingen hos torsk (Serigstad 1987). Våre tidligere forsøk har ikke vist forskjell i oksygenopptak hos kontroll- og oljeeksponerte grupper på eggstadiet. Først når eksponeringen fortsetter etter klekking finner vi effekter. Oljeeksponerte postlarver viser ingen effekt på oksygenopptaket i forhold til kontroll.



Figur 3. Figuren viser en oversikt over oksygenopptak hos kontroll-grupper og oljeeksponerte grupper (100 ppb WSF, Staffjord råolje) av torsk under utvikling fra egg til postlarver v/ 5°C.

I årets forsøk har vi eksponert egg til forskjellige oljekonsentrasjoner og forskjellig eksponeringstid. Deretter har vi overført dem til rent sjøvann, og målt oksygenopptak etter klekking.

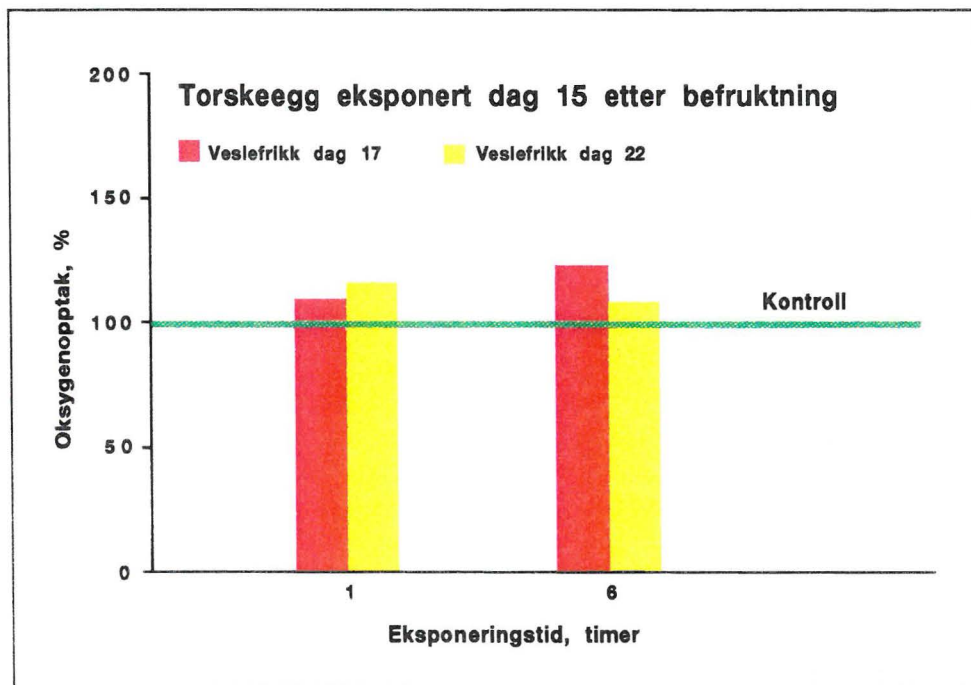
Vi har funnet det hensiktsmessig å presentere resultatene fra de enkelte eksperimenter grafisk som % oksygenopptak hos oljeeksponerte grupper i forhold til kontroll. De absolutte måleverdiene er oppgitt i tabeller under de grafiske fremstillingene.

I den følgende presentasjonen beskrives først resultatene fra forsøkene med eksponering på eggstadiet, og deretter resultatene fra eksponering på larvestadiet.

Testgrupper torskeegg.

T1-92

Egg av torsk ble eksponert til olje dagen før klekking. Eggene ble eksponert i 1 og 6 timer til 90 ppb WSF av Veslefrikk råolje. Etter eksponering ble eggene overført til rent sjøvann hvor de ble klekket. Oksygenopptaket ble så målt på larver 17 og 22 dager etter befruktning (1 og 6 dager etter klekking). Det ble ikke observert reduksjon i oksygenopptaket som følge av oljeeksponering (fig 4).

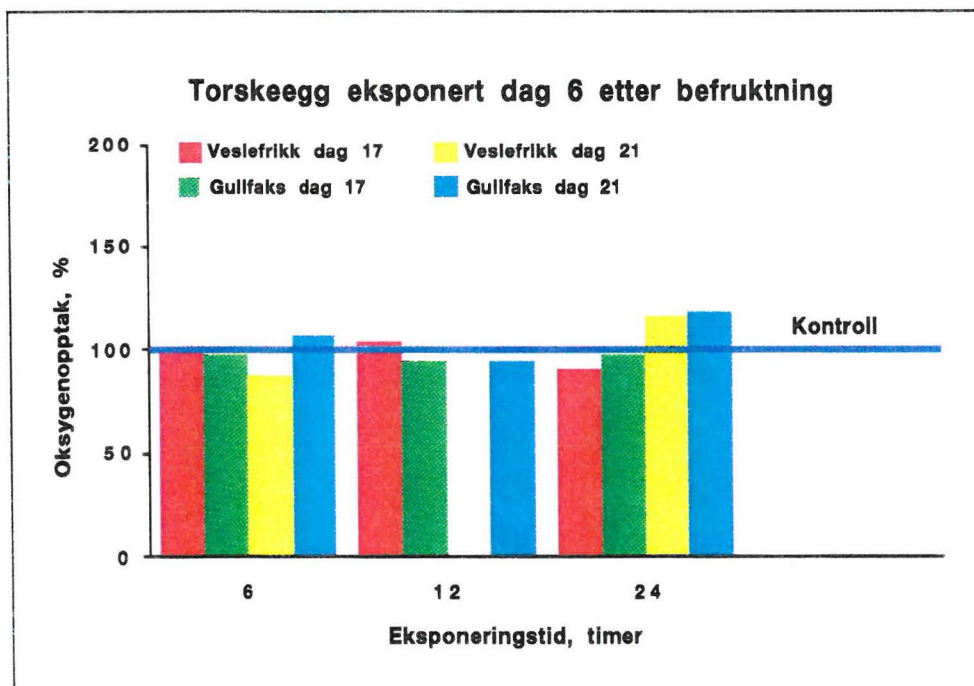


Figur 4. Figuren viser relativt oksygenopptak hos oljeeksponerte grupper i forhold til kontroll ved 5°C i 34‰ sjøvann. Kontroll er satt til 100%.

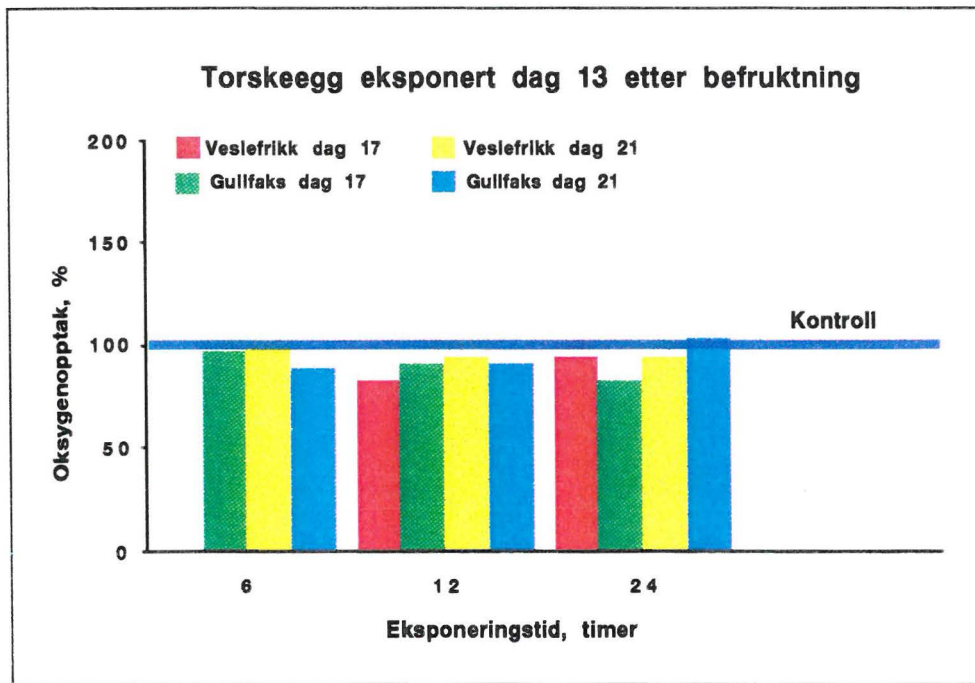
Tabell 2. Oversikt over måleverdier av oksygenopptak (nl O₂/larve/time) hos kontroll- og oljeeksponerte larver som er eksponert på eggstadiet. n=ant. respirasjonskamre. Hvert resp.kammer inneholdt 1-3 larver.

Dager etter befruktning	Dag for eksponering	Kontroll	Veslefrikk, 1t	Veslefrikk, 6t
17	15	95 ± 5 (n=4)	105 ± 6 (n=2)	117 ± 6 (n=4)
22	15	100 ± 9 (n=4)	116 ± 4 (n=2)	109 ± 12 (n=4)

Egg av torsk ble eksponert i 6, 12 og 24 timer på 2 forskjellige stadier. 6 dager etter befruktning ble eggene eksponert til 40 ppb WSF av Veslefrikkolje og 50 ppb WSF av Gullfaksolje. 13 dager etter befruktning ble eggene eksponert til 40 ppb WSF av Veslefrikkolje og 70 ppb WSF av Gullfaksolje. Deretter ble oksygenopptaket målt i alle gruppene 17 og 21 dager etter befruktning (1 og 5 dager etter klekking). Det ble ikke observert signifikante effekter av hverken Gullfaksolje eller Veslefrikkolje (fig. 5 og 6).



Figur 5. Figuren viser relativt oksygenopptak hos oljeeksponerte grupper i forhold til kontroll ved 5°C i 34% sjøvann. Kontroll er satt til 100%.



Figur 6. Figuren viser relativt oksygenopptak hos oljeeksponerte grupper i forhold til kontroll ved 5°C i 34‰ sjøvann. Kontroll er satt til 100%.

Tabell 3. Oversikt over måleverdier av oksygenopptak (nl O₂/larve/time) hos kontroll- og oljeeksponerte larver som er eksponert i 6 timer dag 6 og dag 13 etter befruktning. n=ant. respirasjonskamre. Hvert resp.kammer inneholdt 1-3 larver.

Dager etter befruktning	Dag for eksponering	Kontroll	Veslefrikk	Gullfaks
17	6	91 ± 5 (n=4)	93 ± 9 (n=2)	89 (n=1)
17	13	108 ± 7 (n=4)		106 ± 2 (n=4)
21	6	118 ± 10 (n=4)	104 ± 4 (n=3)	127 ± 10 (n=3)
21	13	131 ± 7 (n=4)	130 ± 20 (n=4)	118 ± 14 (n=4)

Tabell 4. Oversikt over måleverdier av oksygenopptak (nl O₂/larve/time) hos kontroll- og oljeeksponerte larver som er eksponert i 12 timer dag 6 og dag 13 etter befruktning. n=ant. respirasjonskamre. Hvert resp.kammer inneholdt 1-3 larver.

Dager etter befruktning	Dag for eksponering	Kontroll	Veslefrikk	Gullfaks
17	6	112 ± 15 (n=4)	116 ± 6 (n=3)	106 ± 8 (n=4)
17	13	119 ± 13 (n=3)	99 ± 4 (n=3)	108 ± 20 (n=4)
21	6	118 ± 10 (n=4)		143 ± 17 (n=4)
21	13	131 ± 7 (n=4)	125 ± 18 (n=4)	119 ± 8 (n=4)

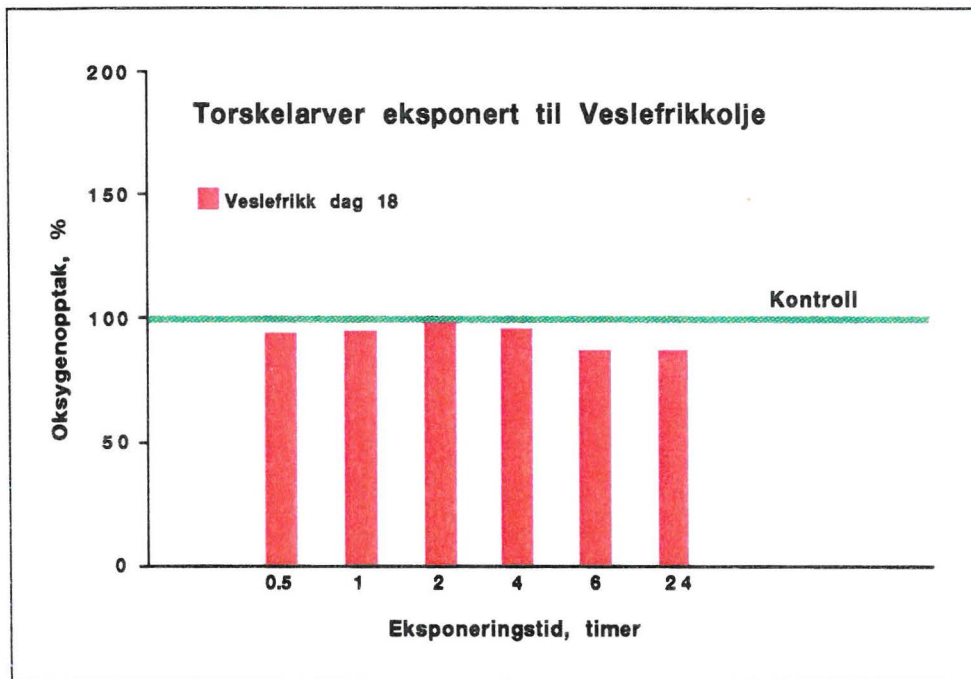
Tabell 5. Oversikt over måleverdier av oksygenopptak (nl O₂/larve/time) hos kontroll- og oljeeksponerte larver som er eksponert i 24 timer dag 6 og dag 13 etter befruktning. n=ant. respirasjonskamre. Hvert resp.kammer inneholdt 1-3 larver.

Dager etter befruktning	Dag for eksponering	Kontroll	Veslefrikk	Gullfaks
17	6	124 ± 12 (n=4)	113 ± 16 (n=3)	122 ± 18 (n=4)
17	13	108 ± 7 (n=4)	101 ± 5 (n=4)	90 ± 8 (n=2)
21	6	118 ± 10 (n=4)	138 ± 5 (n=4)	141 ± 5 (n=3)
21	13	131 ± 7 (n=4)	125 ± 9 (n=4)	136 ± 9 (n=3)

Testgrupper torskelarver.

T1-92

Larver av torsk ble eksponert dag 17 etter befruktning (dag 1 etter klekking) til 85 ppb WSF av Veslefrikkolje i henholdsvis 0,5, 1, 2, 4 og 6 timer, og deretter overført til rent sjøvann i respirasjonskammeret. Oksygenopptaket ble målt dagen etter. Larver som ble eksponert i 24 timer ble målt direkte etter eksponering i 24 timer. Det ble observert ca. 10 % reduksjon i oksygenopptak i forhold til kontroll hos larver som ble eksponert i 6 og 24 timer (fig. 7).

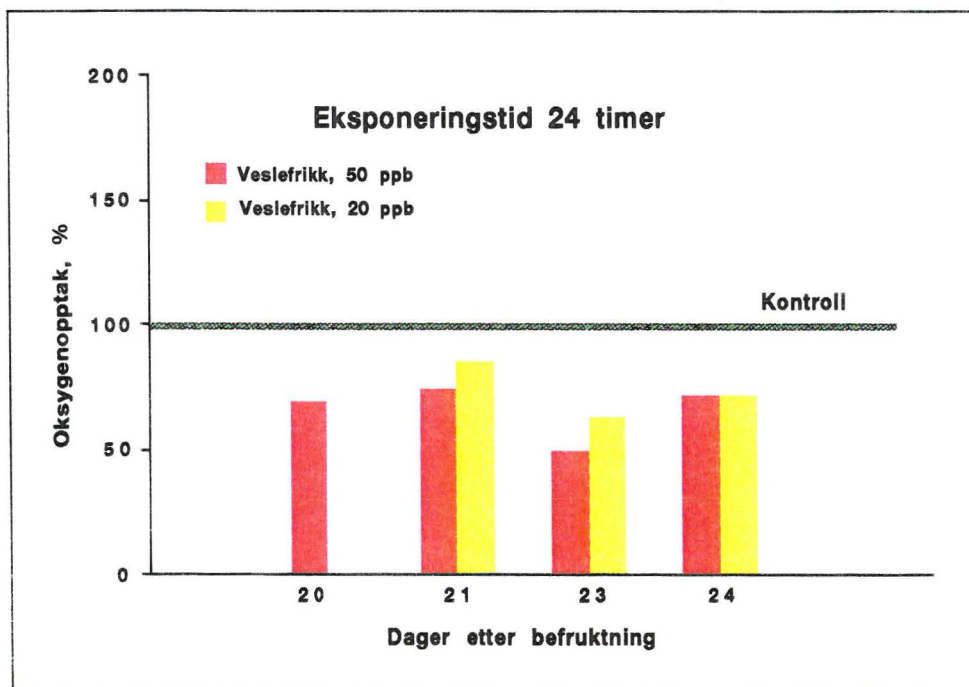


Figur 7. Figuren viser relativt oksygenopptak hos oljeeksponerte grupper i forhold til kontroll ved 5°C i 34‰ sjøvann. Kontroll er satt til 100%.

Tabell 6. Oversikt over måleverdier av oksygenopptak (nl O₂/larve/time) hos kontroll- og oljeeksponerte larver som er eksponert dag 17 etter befruktning. n=ant. respirasjonskamre. Hvert resp.kammer inneholdt 1-3 larver.

Eksp. tid	Kontroll	Veslefrikk
1/2 time	97 ± 5 (n=4)	91 (n=1)
1 time	97 ± 10 (n=4)	92 ± 4 (n=4)
2 timer	97 ± 5 (n=4)	96 ± 5 (n=4)
4 timer	82 ± 9 (n=4)	79 ± 5 (n=4)
6 timer	101 ± 18 (n=3)	89 ± 5 (n=4)
24 timer	101 ± 18 (n=3)	88 ± 4 (n=4)

Larver av torsk ble eksponert i 24 timer til 20 og 50 ppb WSF Veslefrikkolje på dagene 20, 21, 23 og 24 etter befruktning (dag 5, 6, 8 og 9 etter klekking), på dag 20 bare til 50 ppb WSF Veslefrikkolje. Ved å eksponere larver til forskjellige konsentrasjoner av råoljen i 24 timer, ville vi prøve å finne den nedre grense der larvene viser nedsatt metabolsk rate etter oljeeksponering. Larvene eksponert til 50 ppb på dag 20 etter befruktning viste en reduksjon i oksygenopptak på ca. 30% i forhold til kontroll. Larvene som ble eksponert til 50 ppb WSF Veslefrikkolje på dag 21 etter befruktning og larvene som ble eksponert på dag 23 etter befruktning viste 20% større reduksjon i oksygenforbruket enn de som ble eksponert til 20 ppb av samme olje på de samme dagene. Ved dag 24 etter befruktning, hvor plommesekken er brukt opp, var redusjonen i oksygenforbruket hos de eksponerte larvene lik (fig. 8).

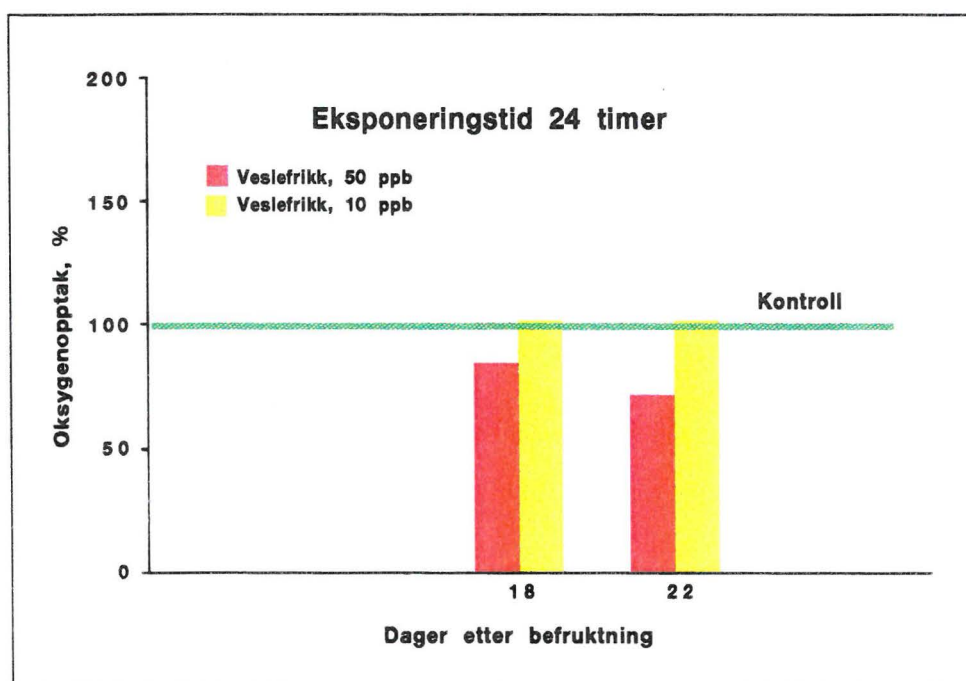


Figur 8. Figuren viser relativt oksygenopptak hos oljeeksponerte grupper i forhold til kontroll ved 5°C i 34‰ sjøvann. Kontroll er satt til 100%. Eksponeringstid 24 timer.

Tabell 7. Oversikt over måleverdier av oksygenopptak (nmol O₂/larve/time) hos kontroll- og oljeeksponerte larver som er eksponert til 20 og 50 ppb WSF Veslefrikkolje i 24 timer.

Dager etter befruktning	Kontroll	Veslefrikk, 20ppb	Veslefrikk, 50 ppb
20	6.04 ± 0.26		4.18 ± 0.40
21	10.57 ± 1.77	9.08 ± 0.68	7.98 ± 1.12
23	7.43 ± 1.19	4.78 ± 0.42	3.72 ± 0.48
24	6.20 ± 0.64	4.49 ± 0.62	4.49 ± 0.62

Det ble utført forsøk for å kartlegge effekter av meget lave oljekonsentrasjoner. Larver av torsk ble eksponert til 10 og 50 ppb WSF i 24 timer. Larver som ble eksponert til 50 ppb WSF på dagene 18 og 22 etter befruktning viste reduksjon i oksygenopptaket, mens larver som ble eksponert til 10 ppb WSF av samme olje på de samme dagene ikke viste noen reduksjon i oksygenforbruket (fig. 9).



Figur 9. Figuren viser relativt oksygenopptak hos oljeeksponerte grupper i forhold til kontroll ved 5°C i 34‰ sjøvann. Kontroll er satt til 100%. Eksponeringstid 24 timer.

Tabell 8. Oversikt over måleverdier av oksygenopptak (nmol O₂/larve/time) hos kontroll- og oljeeksponerte larver som er eksponert til 10 og 50 ppb WSF Veslefrikkolje i 24 timer.

Dager etter befruktning	Kontroll	Veslefrikk, 10ppb	Veslefrikk, 50 ppb
18	5.25 ± 0.29	5.33 ± 0.58	4.46 ± 0.02
22	7.77 ± 0.56	7.95 ± 1.43	5.62 ± 0.67

T3-92

For å undersøke eksponeringstidens betydning og også oljetypens eventuelle betydning, har vi gjort følgende forsøk:

Larver av torsk ble eksponert på dag 17, 19 og 22 etter befruktning (dag 1, 3 og 6 etter klekking) til 10 ppb (dag 17) og 30 ppb (dag 19 og 22) WSF av Veslefrikkolje. Gullfaksolje, WSF, ble benyttet på dag 18 (70 ppb) og dag 21 (ca. 60 ppb) etter befruktning (dag 2 og 5 etter klekking). Det er ikke tatt oljeprøve fra Gullfakskaret dag 5 etter klekking, men med utgangspunkt i oljekonsentrasjonene som er funnet gjennom testperioden er konsentrasjonen beregnet til mellom 50 og 60 ppb.

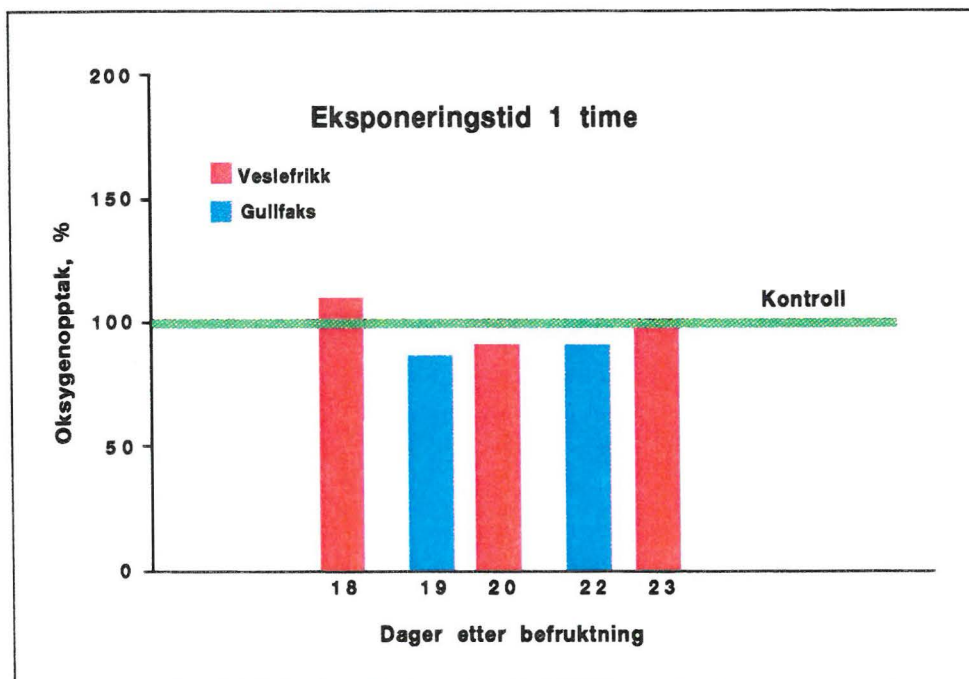
Etter eksponering ble larvene overført til rent sjøvann i respirasjonskammeret og oksygenforbruket ble målt dagen etter. Dette gjaldt for eksponering i 1, 2, 4 og 6 timer.

Ved 24 timers eksponering ble larvene først eksponert i 6 timer i testakvariet, og deretter i 18 timer i respirasjonskammeret med oljeforurenset vann. Samme prosedyre ble fulgt for kontrollgruppene.

I tabellene og figurene har vi derfor benyttet den alder larvene hadde ved måling, altså eksponeringsdag + 1.

1 times eksponering

Det ble observert ca. 10% reduksjon i oksygenopptaket hos oljeeksponerte grupper i forhold til kontroll på dagene 19, 20 og 22. På dagene 18 og 23 ble det ikke observert signifikant reduksjon i oksygenopptaket hos oljeeksponerte grupper i forhold til kontroll (fig.10).



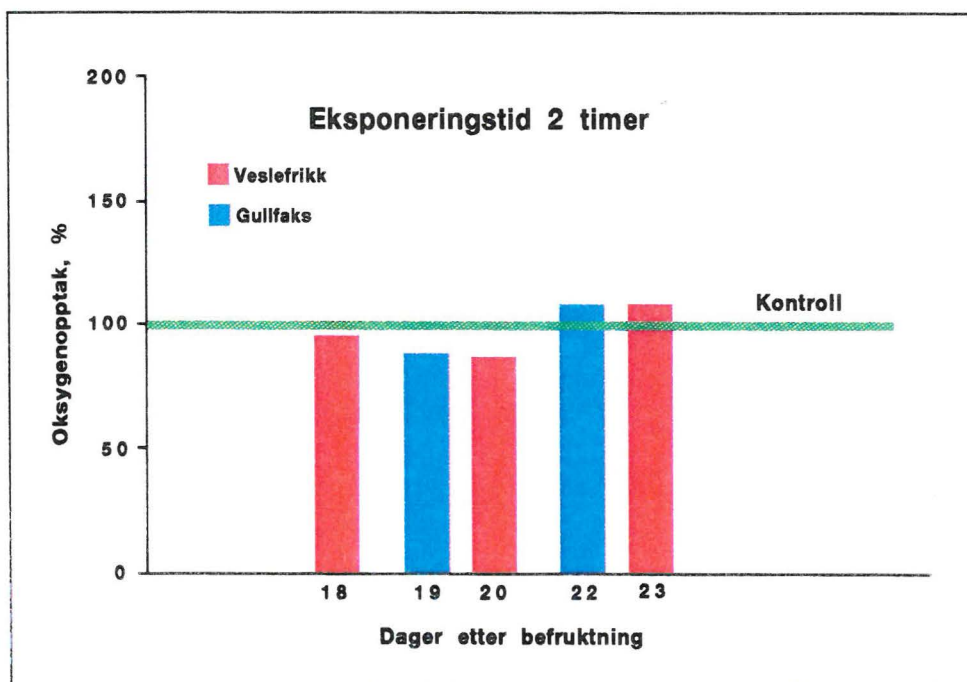
Figur 10. Figuren viser relativt oksygenopptak hos oljeeksponerte grupper i forhold til kontroll ved 5°C i 34% sjøvann. Kontroll er satt til 100%. Eksponeringstid 1 time.

Tabell 9. Oversikt over måleverdier av oksygenopptak (nl O₂/larve/time) hos kontroll- og oljeeksponerte larver. Eksponeringstid 1 time. n=ant. respirasjonskamre. Hvert resp.kammer inneholdt 1-3 larver.

Dager etter befruktning	Kontroll	Veslefrikk	Gullfaks
18	90 ± 12 (n=4)	99 ± 5 (n=3)	
19	99 ± 6 (n=4)		86 ± 12 (n=4)
20	106 ± 7 (n=3)	96 ± 5 (n=4)	
22	132 ± 2 (n=4)		120 ± 22 (n=4)
23	129 ± 2 (n=3)	130 ± 6 (n=4)	

2 timers eksponering

Det ble observert ca. 10% reduksjon i oksygenopptak hos oljeeksponerte grupper i forhold til kontroll på dagene 19 og 20 ved 2 timers eksponering. På dagene 18, 22 og 23 ble det ikke observert signifikant reduksjon i oksygenopptaket hos oljeeksponerte grupper i forhold til kontroll (fig.11).



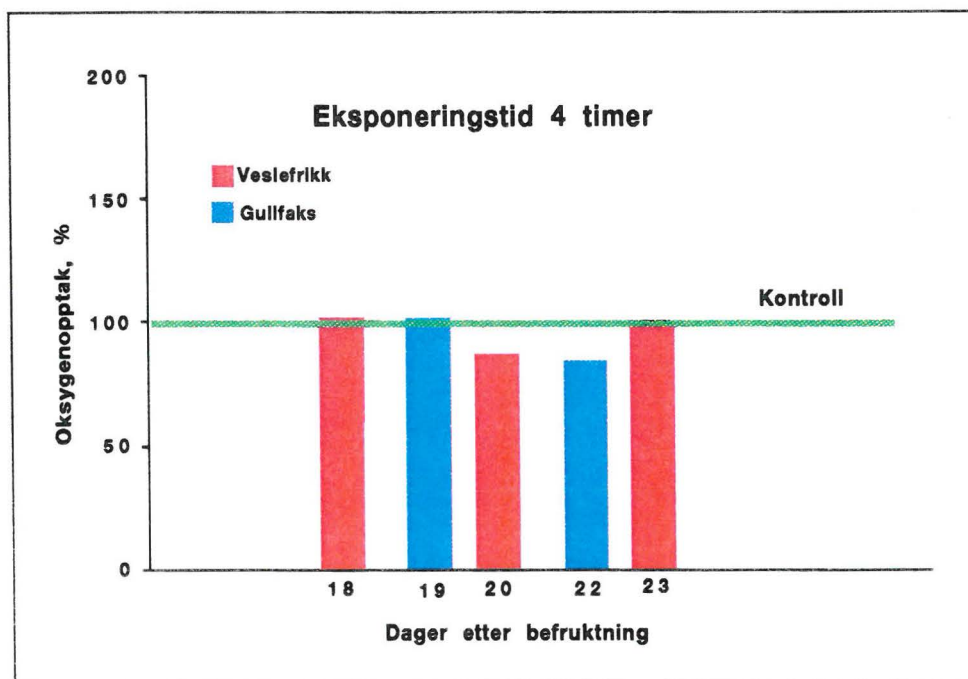
Figur 11. Figuren viser relativt oksygenopptak hos oljeeksponerte grupper i forhold til kontroll ved 50C i 34‰ sjøvann. Kontroll er satt til 100%. Eksponeringstid 2 timer.

Tabell 10. Oversikt over måleverdier av oksygenopptak (nl O₂/larve/time) hos kontroll- og oljeeksponerte larver. Eksponeringstid 2 timer. n=ant. respirasjonskamre. Hvert resp.kammer inneholdt 1-3 larver.

Dager etter befruktning	Kontroll	Veslefrikk	Gullfaks
18	113 ± 3 (n=3)	108 ± 10 (n=4)	
19	106 ± 20 (n=4)		94 ± 15 (n=4)
20	107 ± 3 (n=3)	93 ± 4 (n=3)	
22	125 ± 9 (n=4)		135 ± 19 (n=4)
23	120 ± 4 (n=4)	129 ± 13 (n=4)	

4 timers eksponering

Det ble observert ca. 10% reduksjon i oksygenopptak hos oljeeksponerte grupper i forhold til kontroll på dagene 20 og 22 ved 4 timers eksponering. På dagene 18, 19 og 23 ble det ikke observert reduksjon i oksygenopptaket hos oljeeksponerte grupper i forhold til kontroll (fig.12).



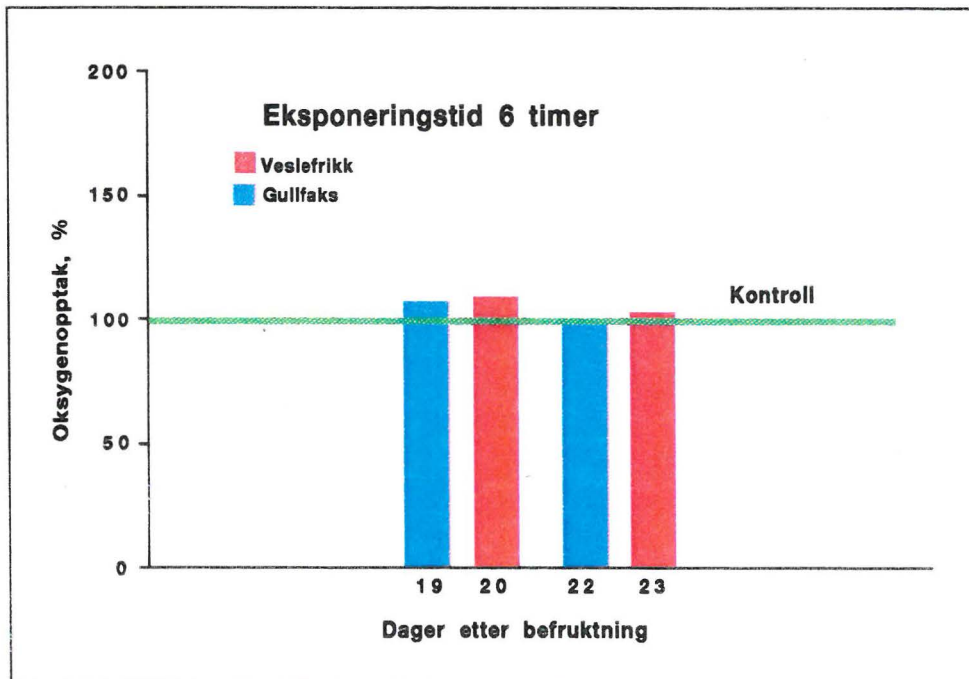
Figur 12. Figuren viser relativt oksygenopptak hos oljeeksponerte grupper i forhold til kontroll ved 5°C i 34% sjøvann. Kontroll er satt til 100%. Eksponeringstid 4 timer.

Tabell 11. Oversikt over måleverdier av oksygenopptak (nl O₂/larve/time) hos kontroll- og oljeeksponerte larver. Eksponeringstid 4 timer. n=ant. respirasjonskamre. Hvert resp.kammer inneholdt 1-3 larver.

Dager etter befruktning	Kontroll	Veslefrikk	Gullfaks
18	100 ± 8 (n=4)	102 ± 3 (n=4)	
19	105 ± 4 (n=4)		107 ± 6 (n=4)
20	122 ± 3 (n=4)	107 ± 4 (n=3)	
22	124 ± 6 (n=4)		106 ± 7 (n=3)
23	118 ± 7 (n=4)	116 ± 8 (n=4)	

6 timers eksponering

Det ble ikke observert reduksjon i oksygenopptaket hos larver eksponert i 6 timer til 60-70 ppb WSF Gullfaksolje. Det ble heller ikke observert reduksjon i oksygenopptaket hos larver eksponert i 6 timer til 30 ppb Veslefrikkolje (fig. 13).



Figur 13. Figuren viser relativt oksygenopptak hos oljeeksponerte grupper i forhold til kontroll ved 5°C i 34% sjøvann. Kontroll er satt til 100%. Eksponeringstid 6 timer.

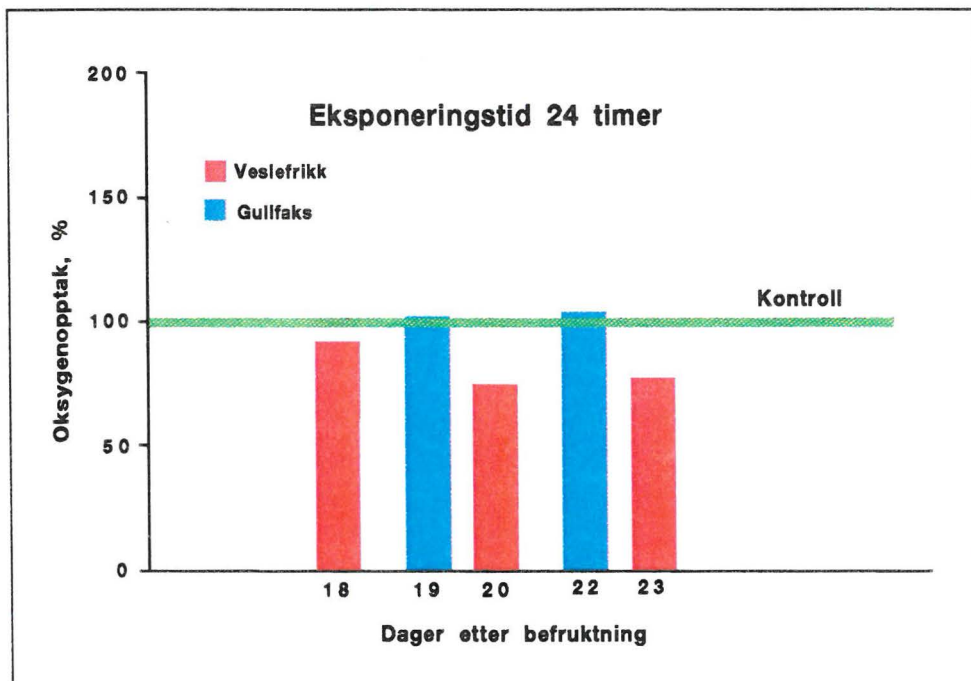
Tabell 12. Oversikt over måleverdier av oksygenopptak (nl O₂/larve/time) hos kontroll- og oljeeksponerte larver. Eksponeringstid 6 timer. n=ant. respirasjonskamre. Hvert resp.kammer inneholdt 1-3 larver.

Dager etter befruktning	Kontroll	Veslefrikk	Gullfaks
19	100 ± 3 (n=3)		108 ± 9 (n=4)
20	121 (n=1)	133 ± 7 (n=2)	
22	114 ± 2 (n=3)		113 ± 11 (n=4)
23	133 ± 10 (n=4)	137 ± 3 (n=3)	

24 timers eksponering

Det ble ikke observert reduksjon i oksygenopptaket hos larver eksponert til 60-70 ppb WSF Gullfaksolje i 24 timer (fig 14).

Hos larver som var eksponert til 30 ppb Veslefrikkolje ble det observert ca. 25-30% reduksjon i oksygenopptaket i forhold til kontrollgruppene (fig 14). Dag 20 etter befruktning oppstod det problemer med respirasjonskamrene for kontrollgruppene, og det er derfor vanskelig å sammenligne kontroll- og oljeeksponerte grupper direkte. Ved å sammenligne verdiene for oksygenopptak i kontrollgruppene i årets forsøk (tabell 13) med tidligere observert forløp av oksygenopptak i forhold til utvikling (fig. 4), er det rimelig å beregne oksygenforbruket på dag 20 i kontrollgruppen til ca. 105 nlO₂/larve/time. Dette gir en reduksjon i oksygenopptaket hos de oljeeksponerte gruppene i forhold til kontroll på ca. 25%.



Figur 14. Figuren viser relativt oksygenopptak hos oljeeksponerte grupper i forhold til kontroll ved 5°C i 34% sjøvann. Kontroll er satt til 100%. Eksponeringstid 24 timer.

Tabell 13. Oversikt over måleverdier av oksygenopptak (nl O₂/larve/time) hos kontroll- og oljeeksponerte larver. Eksponeringstid 24 timer. n=ant. respirasjonskamre. Hvert resp.kammer inneholdt 1-3 larver.

Dager etter befruktning	Kontroll	Veslefrikk	Gullfaks
18	91 ± 4 (n=4)	84 ± 21 (n=4)	
19	100 ± 3 (n=3)		102 ± 15 (n=3)
20	121 (n=1)	75 ± 10 (n=4)	
22	114 ± 2 (n=3)		119 ± 2 (n=4)
23	133 ± 10 (n=4)	103 ± 12 (n=3)	

DISKUSJON

Hensikten med forsøkene har vært å følge opp forrige års undersøkelser, rapportert til Statoil (Serigstad 1991), og vi har derfor i denne rapporten kun konsentrert oss om å gi en kort presentasjon av dataene.

Utgangspunktet for våre undersøkelser har vært å nytte graden av oksygenopptak på de forskjellige utviklingsstadier i oljeeksponerte grupper i forhold til kontrollgrupper som uttrykk for forandret metabolisme og dermed antatt skade som følge av oljeeksponering (Serigstad 1987).

Det er gjennomført to typer forsøk:

a) Eksponering av torskeegg på forskjellige utviklingsstadier til forskjellige oljekonsentrasjoner og forskjellig eksponeringstid.

Etter oljeeksponering er eggene overført til rent sjøvann og oksygenopptaket er målt på larvene etter at eggene er klekket. Disse forsøkene vil tilnærmet kunne betraktes som et antatt hendelsesforløp i virkeligheten, hvor fiskeeggene vil ha begrenset oppholdstid i en vannmasse med en signifikant oljekonsentrasjon.

Ingen av forsøkene (fig. 4, 5 og 6 og tabell 2, 3, 4 og 5) har vist signifikant reduksjon i oksygenopptaket. Selv ikke 24 timers eksponering ved 2 forskjellige utviklingsstadier, 6 dager og 13 dager etter befruktning, til 40 ppb WSF Veslefrikkolje og henholdsvis 50 og 70 ppb WSF Gullfaksolje ga signifikant reduksjon i oksygenopptaket. Solbakken et al. (1984) har beskrevet forsøk med opptak og utskilling av bl.a. naphthalene og phenanthrene fra torskeegg. De rapporterer en relativt stor konsentrering etter 24 timers eksponering, men deretter skilles komponentene forholdsvis raskt ut igjen. Selv om det ikke er de samme hydrokarboner vi har nyttet i våre forsøk, er det grunn til å tro at BTX-komponentene også "vaskes" ut når de eksponerte eggene får oppholde seg i rent sjøvann.

b) Eksponering av torskelarver på forskjellige utviklingsstadier til forskjellige oljekonsentrasjoner og forskjellig eksponeringstid.

Rett etter klekking er torskelarvens aktivitet lav, og oksygenforbruket er derfor lavt. Dette vil også reflekteres i størrelsen på en eventuell reduksjon i oksygenopptaket som følge av en oljeeksponering. Dette forholdet kan forklare at vi finner en relativt liten reduksjon i oksygenopptaket hos larver som eksponeres like etter klekking (fig 7 og tabell 6). Først ved 6 og 24 timers eksponering til 85 ppb WSF Veslefrikkolje observerer vi en viss reduksjon (ca. 10%) i forhold til kontrollgruppene.

Testgruppe RT-T2-92, fig. 8 og tabell 7, er eksponert på et noe senere tidspunkt etter klekking, og her finner vi klare reduksjoner i oksygenopptaket etter 24 timers eksponering til både 20 og 50 ppb WSF Veslefrikkolje. Forsøkene med

testgruppe T2-92, fig.9 og tabell 8, viser imidlertid at med en så lav konsentrasjon som 10 ppb WSF Veslefrikkolje finner vi ikke noen reduksjon i oksygenopptaket.

I forsøksserien testgruppe T3-92, med eksponeringstider på 1 time, 2 timer, 4 timer, 6 timer og 24 timer viser de korte eksponeringstidene fram til og med 6 timer usignifikante variasjoner i oksygenopptaket i forhold til kontrollgruppene. Først ved 24 timers eksponering observerer vi signifikante variasjoner. Fra fig. 14 og tabell 13 går det klart fram at noe eldre larver (20-23 dager etter befruktning) viser signifikant respons på Veslefrikkolje, men ikke på Gullfaksolje. Dette er også spesielt idet larvene ble eksponert til 60-70 ppb WSF Gullfaksolje, mens konsentrasjonen av Veslefrikkolje var 10-30 ppb WSF. I fig. 2 er det presentert diagrammer for BTX-komponentenes prosentvise andel av de to råoljetyperne Gullfaks- og Veslefrikkolje. BTX-komponentene utgjør ca. 90% av den vannløselige fraksjonen, WSF, av råoljen. Som det fremgår synes mengde og sammensetning av BTX-komponentene å være omtrent lik i de to råoljene. Forklaringen på den signifikante reduksjonen i oksygenopptak hos torskelarver eksponert til 30 ppb WSF Veslefrikkolje sammenlignet med torskelarver eksponert til 60-70 ppb WSF Gullfaksolje må søkes i at det finnes komponenter i Veslefrikkoljen som vi ikke finner i Gullfaksoljen, og at disse eller denne komponenten har en klar negativ effekt på torskelarvens metabolisme uttrykt som reduksjon i oksygenopptaket.

For konklusjonen er det også viktig å merke seg at oljekonsentrasjonene vi har nyttet har ligget innenfor de konsentrasjoner vi kan forvente å finne i nærheten av et oljeutslipp.

KONKLUSJON

Torskeegg eksponert til varierende oljekonsentrasjoner i inntil 24 timer, og deretter overført til rent sjøvann, hvor de har utviklet seg til larver, og så er målt, viser ingen reduksjon i oksygenopptaket.

Torskelarver eksponert til 20 og 50 ppb WSF Veslefrikkolje viser signifikant reduksjon i oksygenopptaket, mens eksponering til 10 ppb WSF Veslefrikkolje ikke gjør det.

Forsøkene viser også at en eksponering til 60-70 ppb WSF Gullfaksolje ikke viser signifikant reduksjon i oksygenopptaket.

REFERANSER

Klungesøyr,J., Wilhelmsen,S., Westrheim,K., Saetvedt,E. & Palmork,K.H. (1988). The GEEP Workshop: organic chemical analyses. Mar. Ecol. Prog. Ser., 46:19-26.

Serigstad,B. (1987). Respiratory studies on cod (Gadus morhua L.) with special reference to effects og oil exposure on eggs and larvae. - Dr. scient. thesis, University of Bergen, Norway.

Serigstad,B. (1991). Effekter på fiskeegg og larver av Gullfaks og Veslefrikk råoljer. - Statoil rapport. ISBN 82-7461-031-8.

Serigstad,B., Ellingsen,T. & Føyn,L. (1991). Marine Organisms susceptibility to pollution. Effect studies in an ecological context. Presented at Clean Seas'91-Conference, Valetta, Malta 19-22 November. Mimeo p.p. 17.

Solbakken,J.E., Tilseth,S. & Palmork, K.H. (1984). Uptake and elimination of aromatic hydrocarbons and a chlorinated biphenyl in eggs and larvae of cod (Gadus morhua). - Mar. Ecol. Prog. Ser., 16:297:301.

Tilseth,S., Solberg,T., & Westrheim,K. (1984). Sublethal effects of the water-soluble fraction of Ekofisk crude oil on the early larval stage of cod (Gadus morhua L.). -Mar. Env. Res., 11:1-16.