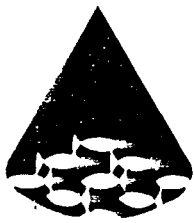


Af Foreløpig rapport

Dato: 30. november 1987

Rapport/Notat Nr. BKO 8706



HAVFORSKNINGSINSTITUTTET

Nordnesparken 2, Postboks 1870, 5011 Bergen. Tlf. 05 327760

Rapportens Tittel:

AKUP DOKUMENT nr.: 03-04-01

FISKEJARVENS FØLSOMHET FOR OLJE SOM FUNKSJON AV ALDER

Foreløpig rapport pr. 01.12. 1987

Forfatter/Saksbehandler:
Bjørn Serigstad
Lars Føyn
Torunn Ellingsen

Avdeling:

Prosjekt Nr:

AKUP 3.4

Oppdragsgiver ref:

Ansvarlig:

Sammendrag:

Formålet med dette prosjektet er å finne den størrelsen på fiskelarven hvor olje ikke lenger anses som skadelig for den. Torskeegg og plommeseekklarver tar skade av oljeforurensning. Allerede etter 24 timer i vann med oljekonsentrasjon på 50 mikrogram liter av den vannløselige fraksjonen av Nordsjø olje er skaden oppstått. Når larven har nådd en størrelse på 2-3 cm ser den ikke ut til å være så følsom for olje lenger, og den vil også ha en bedre mulighet til å svømme vekk fra et eventuelt oljesøl. Foreløpige undersøkelser med sildeegg og larver viser at disse ikke påvirkes av olje i samme grad som torsken.

Stikkord:

Eksperimentelle
undersøkelser
olje/fisk

Sendt til:

OED

FISKEJARVENS FØLSOMHET FOR OLJE SOM FUNKSJON AV ALDER.

Foreløbig rapport pr 1.12-1987.

BJØRN SERIGSTAD, LARS FØYN OG TORUNN ELLINGSEN
HAVFORSKNINGSINSTITUTTET

Sammendrag.

Formålet med dette prosjektet er å finne den størrelsen på fiskelarven hvor olje ikke lenger anses som skadelig for den. Torskeegg og plommeseekklarver tar skade av oljeforurensning. Allerede etter 24 timer i vann med oljekonsentrasjon på 50 mikrogram pr. liter av den vannløselige fraksjonen av Norsjø olje er skaden oppstått. Når larven har nådd en størrelse på 2-3 cm ser den ikke ut til å være så følsom for olje lenger, og den vil også ha en bedre mulighet til å svømme vekk fra et eventuelt oljesøl. Foreløpige undersøkelser med sildeegg og larver viser at disse ikke påvirkes av olje i samme grad som torsken.

INNHOOLD

SAMMENDRAG.....	1
INNLEDNING.....	3
MATERIALE OG METODER.....	5
RESULTATER.....	8
Torsk.....	8
Sild.....	15
KONKLUSJON.....	17
VIDERE ARBEID.....	18
REFERANSER.....	19
VEDLEGG 1.....	22

VEDLEGG: Age dependent sensitivity of oil on fish larvae, used in assessment of potential oil pollution damages on fish resources. 16 sider.

INNLEDNING

Den norske kontinentalsokkelen nord for 62°N er spesielt viktig som gyteområde for mange av de mest verdifulle fiskeressursene i den nord-østre delen av Atlanterhavet. Karakteristisk for området er den nordlig rettede norske kyststrømmen som møter en strøm med næringsrikt atlantehavsvann. Dette skaper ideelle forhold for oppvekst av de tidligste stadier av fisk. Fiskeegg og larver blir transportert med denne strømmen nordover til oppvekstområdene i Barentshavet. På sin vei nordover kan forekomsten av egg og larver være svært konsentrert, og under denne transporten er de meget sårbare både for naturlig forekommende endringer i miljøet, og for ulike typer forurensning. Oljeleting, med fare for uhell og oljesøl kan være en alvorlig trussel for fiskeegg og larver. I tiden mens larvene driver nordover går utviklingen sin gang, og på et stadium i utviklingen vil de få mulighet for en egenbevegelse stor nok til å unnsnippe en lokal oljeforurensning.

Vi har ved hjelp av eksperimenter prøvd å finne den størrelsen/alderen hvor olje ikke lenger ansees som skadelig for fiskelarven. Ved å sammenholde denne størrelsen med fordelingen av de forskjellige størrelsesgrupper av larver som observeres, vil det være mulig å trekke grenser for de områder hvor et oljeuhell kan føre til reduksjoner i larvepopulasjonen, eller hvor skader neppe vil oppstå. Eksempel på en slik grensetrekkning er gitt i VEDLEGG 1.

Det er gjennomført et betydelig antall studier av oljens innvirkningen på disse yngste stadiene av fisk.

På Havforskningsinstituttet har tidligere eksperimenter hovedsakelig blitt gjennomført på egg og larver av torsk. Effektene av olje er forsøkt beskrevet som redusert lengdevekst, redusert foropptak, morfologiske deformiteter i hoderegionen og øket oppdrift (Tilseth *et al.* 1984; Solberg & Tilseth 1986). De målte parametrene har vist seg å variere sterkt mellom de forskjellige forsøksseriene, og resultatene har vært vanskelig å reproducere.

Under et samarbeidsprosjekt mellom Havforskningsinstituttet og Zoologisk Laboratorium ved universitetet i Bergen ble det utført en del forsøk med oljeeksponering av torskkegg og larver til sjøvann med en konsentrasjon på 50-260 ppb av den vannløselige fraksjonen av Norsjø olje (WSF). Det ble ikke funnet noen effekter på vann og salt balanse torskkegg eller larver etter lang tids eksponering til olje (Mangor-Jensen 1986;1987). Anatomiske studier med bruk av scanning og transmisjons elektron mikroskopi var også negative med hensyn til olje effekter (Adoff 1986). Det ble heller ikke funnet noen forskjell i protein eller ammonium innhold i egg og larver, og det er ingen signifikant forskjell i innholdet av frie aminosyrer (Fyhn et al.1986; 1987; Fyhn & Serigstad 1987). De eneste klare effekter av olje som ble funnet den gang var redusert oksygen opptak hos plommesecklarver.

Forsøkene som er gjennomført i dette prosjektet baserer effektregistreringen ved oljeforurensning på oksygenopptaket hos fisk under utvikling fra egg til voksen. Målinger av oksygen opptaket har vist seg å være meget reproducerbar, og den gir et godt bilde av fiskens allmenntilstand.

Fiskeegg og larver er avhengig av tilstrekkelig tilgang på oksygen fra omgivelsene til mitokondriene i cellene. Det er der den aerobe energiproduksjonen til syntese reguleringsprosesser og bevegelsesaktivitet foregår. Oksygenopptaket er derfor et direkte mål for fiskelarvens aerobe energiproduksjon og derved også et uttrykk for hvor raskt den vil bruke opp sine energireserver. Vi antar at det normale energiforbruket hos en fiskelarve er optimalisert for dens vekst og utvikling, og at et hvert avvik fra disse normale forhold vil ha en negativ innvirkning på dyrets evne til å overleve. Metabolsk sett har fiskelarven en meget kraftig vekst og en høy synteseaktivitet. Energi både til forbrenning og oppbygging av kroppen er lagret i eggets plommemasse. Dette lageret må være tilstrekkelig til å føre larven gjennom eggstadiet, klekkingen og frem til den selv kan skaffe seg føde.

En kort oversikt over forsknings resultater fra effekter studier av oljeforurensning på metabolisme og oksygentransport er gitt av Serigstad (1987a).

De fysiologiske mekanismene som kan være påvirket i forbindelse med oljeeksponering av torskkegg, larver og større torsk er også diskutert av Serigstad (1987a).

MATERIALE OG METODER

Torsken som ble brukt i disse studiene kom delvis fra Akvakultur stasjonen på Austevoll, og delvis fra A/S Hordafisk i Bergen. Egg og melke ble strøket fra en han- og en hunfisk slik at vi kunne være sikre på å få homogene egg grupper og arbeide med når kontroll og oljeeksponerte egg og larver skulle sammenlignes. Eggene ble kunstig befruktet og holdt i 6 liters glassakvarier ved $5 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ i 34‰ sjøvann inntil oljeeksponeringen begynte. Hver 3 time ble døde egg fjernet fra bunnen av akvariene, og vannet ble skiftet. Eggene ble forøvrig behandlet som beskrevet av Solberg & Tilseth 1984; 1986. Det har blitt utført 8 parallelle forsøk med oljeeksponering av torskkegg og larver, i perioden 1981-1987

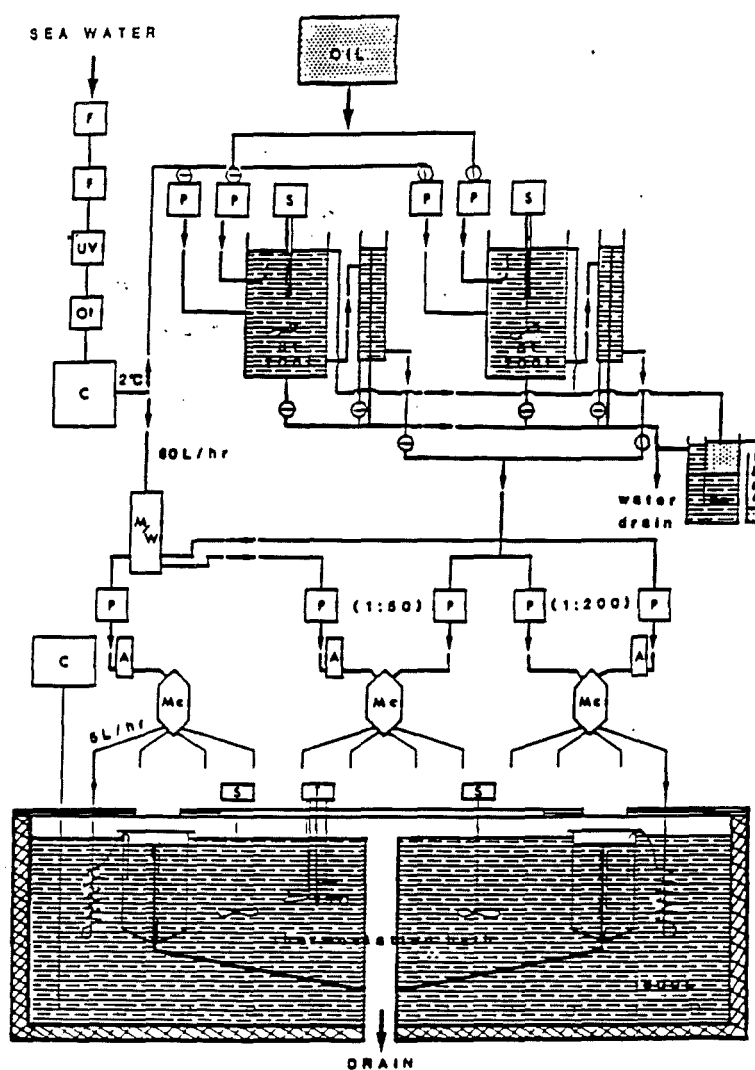
Postlarver ble også holdt i 34‰ sjøvann ved 5°C . 0-gruppe torsk og større torsk som ble brukt i forsøk med akutt eksponering til olje var aklimert til en temperatur på 10°C og en saltholdighet på 34‰, forsøkene ble derfor utført ved disse forsøksbetingelsene.

Kjønnsmoden gyteklar sild ble tatt med sildegarn i Skogsvågen på Sotra nær Bergen. Silda ble fisket av Ingemund Sangolt ved Akvariet i Bergen. De enkelte forsøksgruppene bestod av egg strøket fra en enkelt hun og befruktet med melke fra en enkelt han. Melken ble blandet med sjøvann i 30 liters plast kar hvor bunnen var dekket med objektglass. Eggene ble strøket direkte opp i karet hvor eggene ble befruktet, og festet seg til objektglassene. Eggene ble vasket med reint sjøvann før de ble

overført til biotest anlegget for oljeeksponering. det er utført 3 parallelle forsøk med sild i 1987.

Oppdrett av torskkegg og larver samt oljeeksponering og oljeanalyser ble utført som beskrevet av Solberg & Tilseth 1986; Westrheim & Palmork 1986.

Skjematisk tegning av biotestanlegget for kontinuerlig oljeeksponering er vist i FIGUR 1. Anlegget beskrevet i detalj av Fyhn *et al.* 1986.

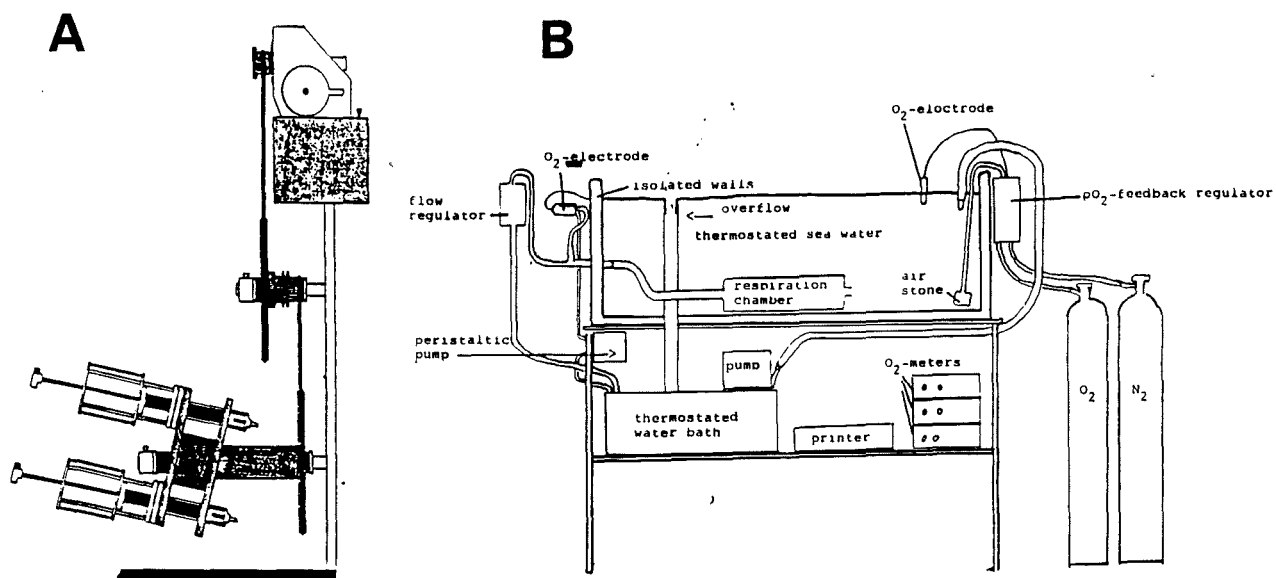


FIGUR 1. Skjematisk fremstilling av biotestanlegget. A = luftfelle, C = kjølemaskin, F = filter, Mc = blandekammer, Ot = reservoar for rensset sjøvann, P = pumpe, S = røreverk, Se = olje-vann separator, St = stamløsningstank, T = termostat, UV = UV-sterilisator.

Det ble brukt 2 forskjellige prinsipper for måling av oksygenopptaket:

- 1: Lukket respirometri med gasstette glassprøyter som respirasjonskammer (egg/larver). (Fig. 2A).
- 2: Åpen respirometri med resirkulert vann og akryl rør som respirasjonskammer (0-gruppe/ung torsk). (Fig. 2B).

Begge metodene er basert på registrering av O_2 med en Radiometer polarografisk O_2 -elektrode (E-5046) og en Radiometer PHM 73 måle enhet (Serigstad 1987a; 1987b).



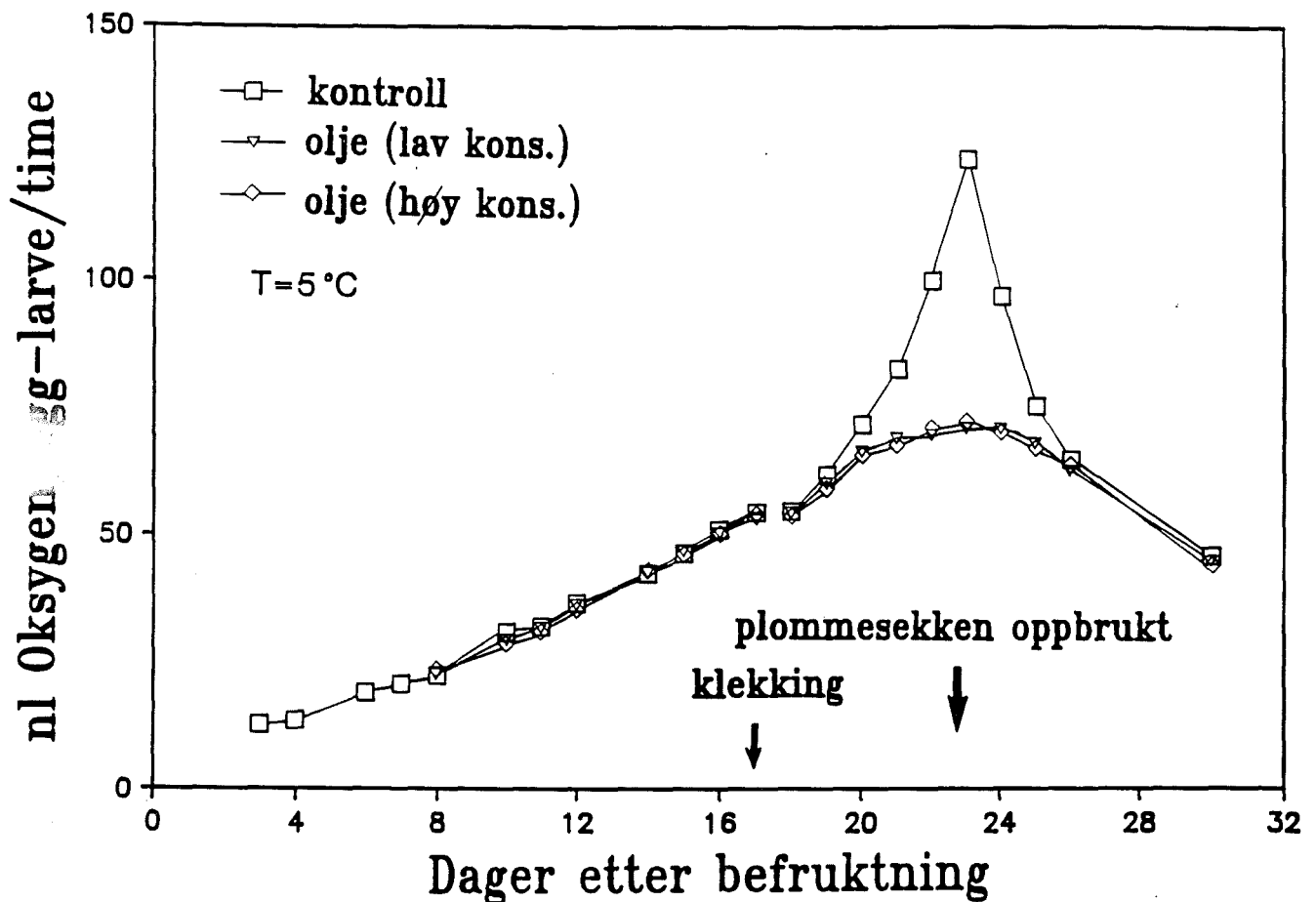
FIGUR 2A og B. Oppsett for måling av O_2 -opptak. A: LUKKET RESPIROMETRI. Glassprøyter som respirasjonskammer. Kammerene er montert i et røreverk, og nedsenket i et termostatert vannbad. B: ÅPEN RESPIROMETRI. O_2 -innholdet i vannet registreres ved innløp og utløp av respirasjonskammeret. Vannet er termostatert.

RESULTATER

Torsk.

Oksygenopptaket stiger jevnt fram til klekking, og det er ingen forskjell mellom kontroll og oljeeksponert gruppe. Etter klekking stiger oksygenopptaket hos kontrollarvene raskt, med en topp etter 6-8 dager (Fig. 3).

OKSYGENOPPTAK



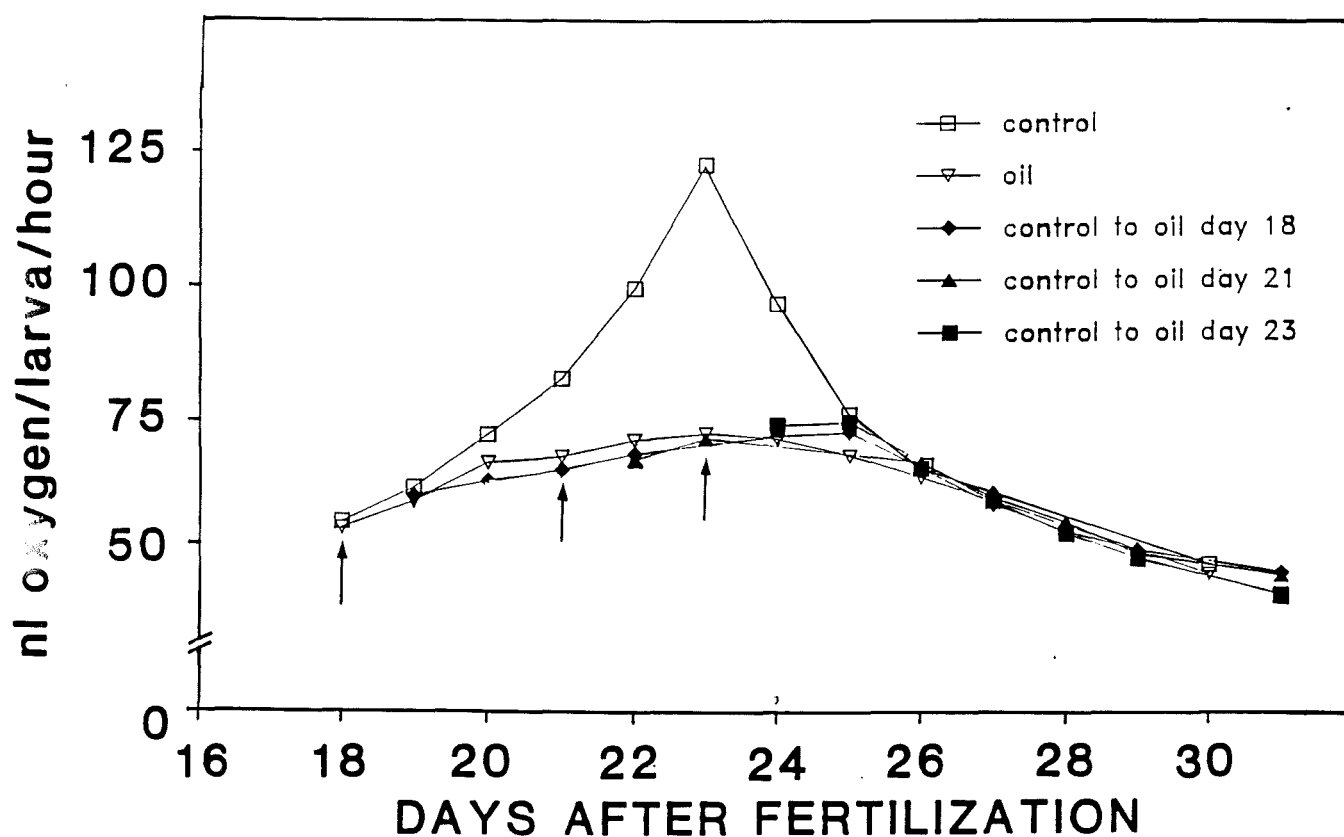
FIGUR 3. Oksygenopptaket hos kontroll og oljeeksponerte torskelarver. Hvert punkt representerer gjennomsnittet av 4 parallelle respirasjonskammer med 10 egg/5 larver i hvert. T = 5°C. Saltholdighet = 34 o/oo.

Denne toppen faller sammen med tidspunktet når plommesekken er oppbrukt (Fossum 1986). De oljeeksponerte larvene viser ingen slik topp, og oksygenopptaket er redusert med ca 50% i forhold til kontrollarvene. Effekten av olje er den samme uavhengig av oljekonsentrasjon i området 50-260 ppb WSF. I dette forsøket startet oljeeksponeringen ved dag 7 etter befruktning, og larvene har vært kontinuerlig eksponert ut resten av forsøksperioden. Denne effekten er vist i 8 forskjellige forsøksserier over en periode på 6 år (Serigstad 1986; 1987c; Solberg et al. 1987).

For å se nærmere på følsomheten for olje på oksygenopptaket hos torskelarvene ble følgende eksperimenter utført:

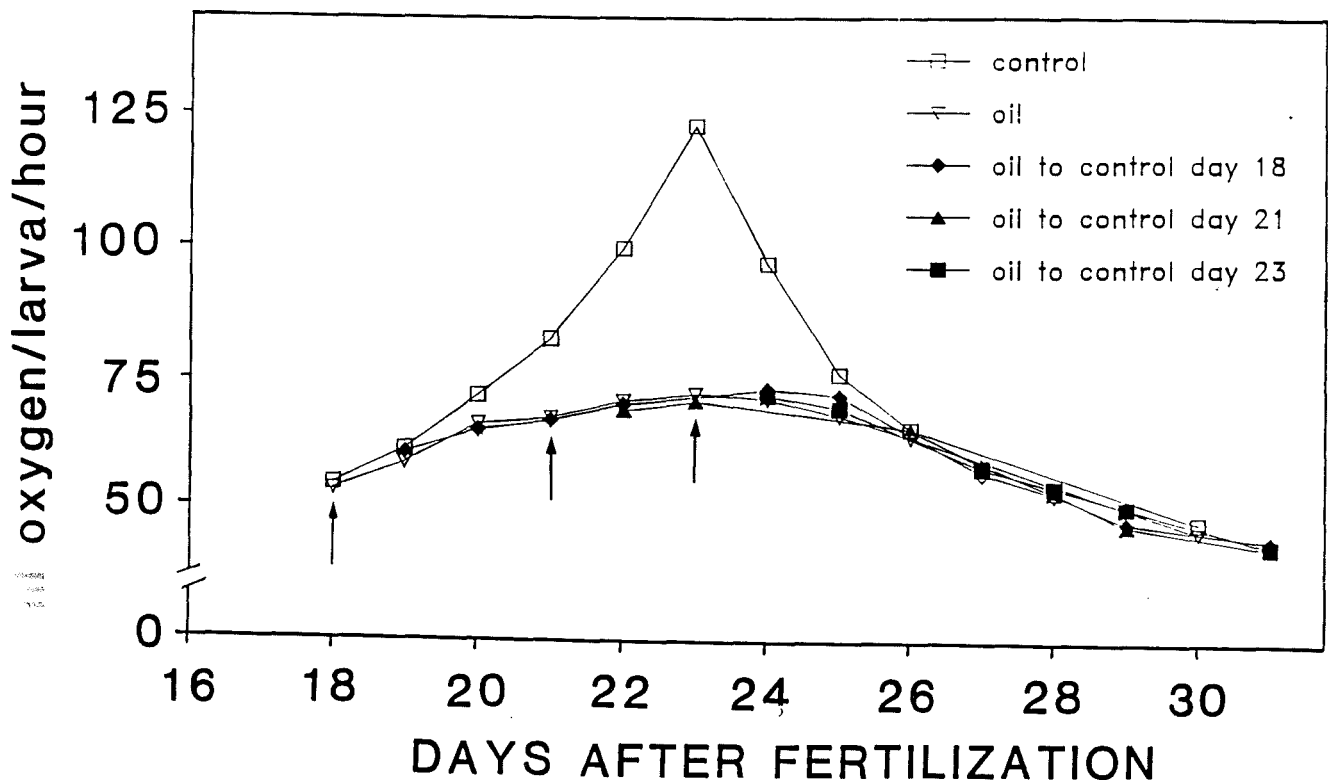
- Overføring av kontrollarver til oljevann, og deretter daglige målinger av oksygenopptaket. (Korttids eksperimenter).
- Overføring av oljeeksponerte torskelarver til reint sjøvann, og deretter daglige målinger av oksygenopptaket. (Recovery eksperimenter).

I korttids forsøkene ble kontroll larver overført til oljevann (50 ± 20 ppb WSF), den første dagen etter klekking og ved dag 4 og 6 etter klekking. Målinger på kontroll og langtidseksponerte larver (230 ± 50 ppb WSF) ble utført parallelt. Resultatene viser at oksygenopptaket hos korttids eksponerte larver er redusert like mye som hos de langtidseksponerte larvene (Fig. 4). Allerede etter 24 timers eksponering til oljevann (50 ppb) var oksygenopptaket sterkt redusert i forhold til kontrollarvene. Ingen videre reduksjon er observert etter flere dager i oljevann.



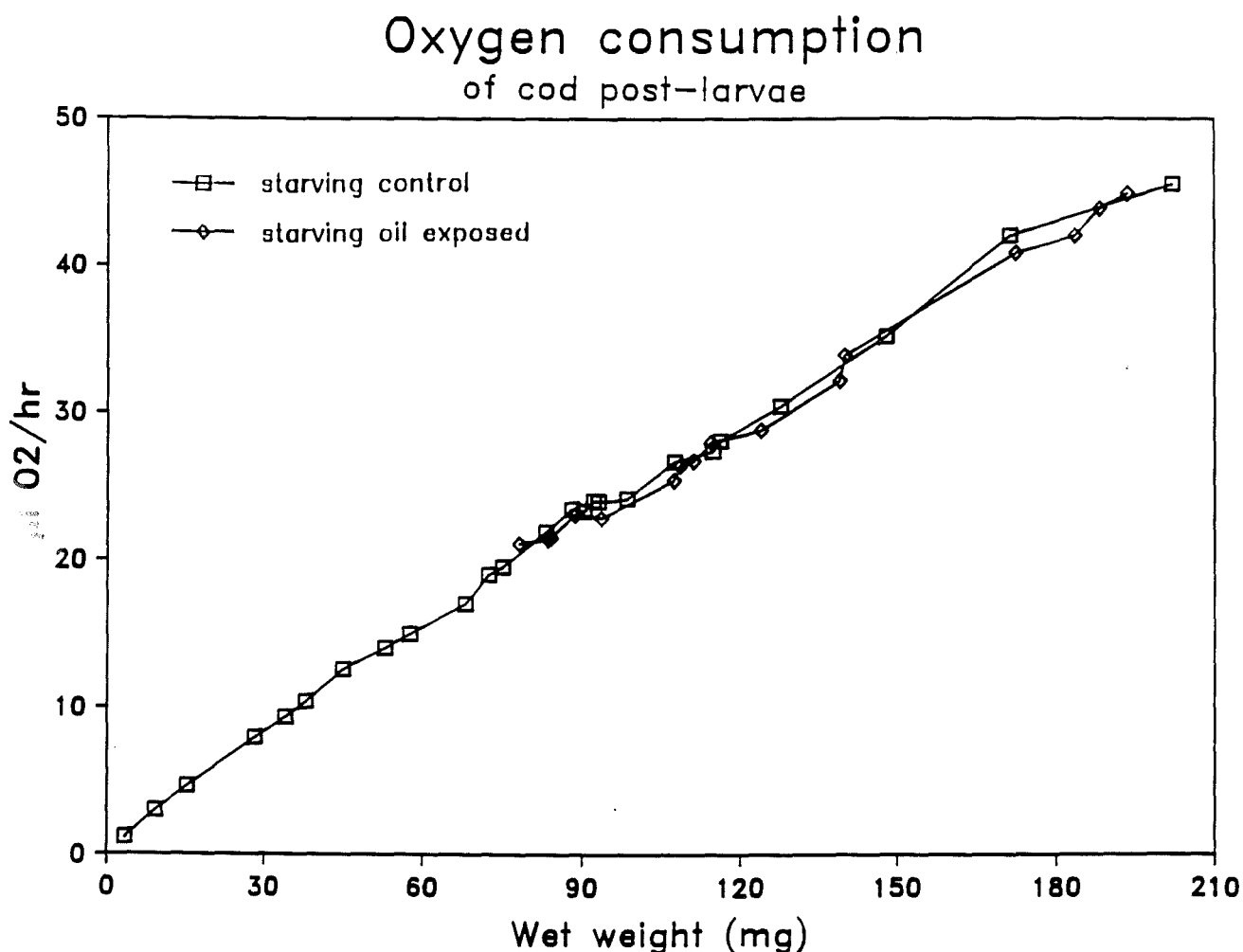
FIGUR 4. Oksygenopptaket hos torskelarver ved korttids oljeeksponering. Kontrollarver ble overført til oljevann (50 ppb WSF) den første dagen etter klekking (dag 18), og ved dag 4 og 6 etter klekking (se piler). Oksygenopptaket ble målt 24 timer etter klekking, og daglig gjennom resten av forsøket. Hvert punkt representerer 4 parallelle målinger på grupper a 5 larver. T = 5°C. Saltholdighet = 34 o/oo.

I recovery forsøkene ble oljeeksponerte torskelarver (230 ± 50 ppb WSF i 10 dager før klekking) overført til reint sjøvann den første dagen etter klekking og ved dag 4 og 6 etter klekking. Oksygenopptaket ble målt daglig under kontroll betingelser. Det var ingen tegn til recovery hos disse larvene (Fig. 5). Seks dager i reint sjøvann er ikke nok til å fjerne effekten som fører til redusert oksygenopptak hos torskelarver som har vært utsatt for oljevann (230 ± 50 ppb WSF).



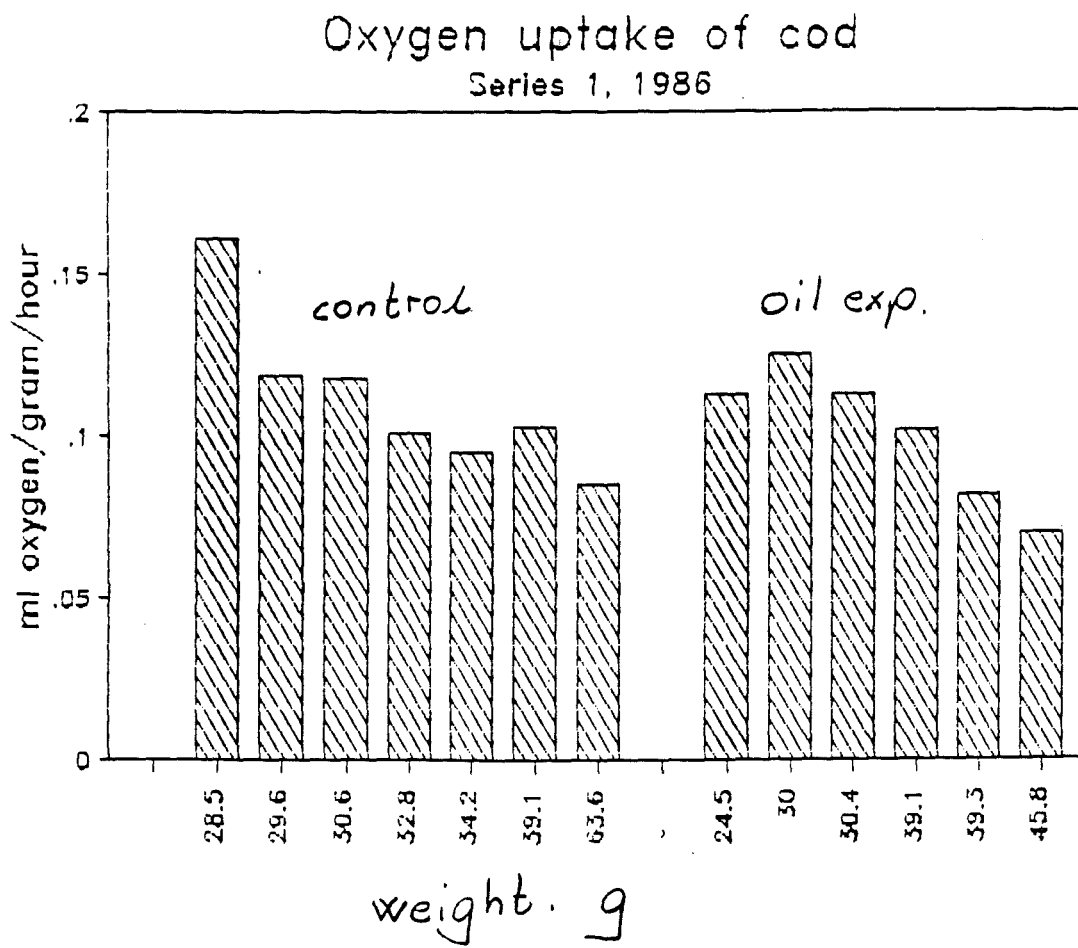
FIGUR 5. Oksygenopptaket hos torskelarver under "recovery" forsøk i reint sjøvann. Olje eksponerte larver (230 ppb WSF) ble overført til kontrollvann den første dagen etter klekking, og ved dag 4 og 6 etter klekking (se piler). Oksygenopptaket ble målt 24 timer etter overføring til reint sjøvann, og daglig gjennom resten av forsøket. Hvert punkt representerer 4 parallelle målinger med grupper a 5 larver. $T=5^{\circ}\text{C}$. Saltholdighet = 34o/oo.

Det ble målt oksygenopptak på torskelarver fra Hyltropolen på Austevoll. Disse larvene hadde begynt å ta til seg føde og hadde en våtvekt på mellom 6 og 210 mg (Folkvord et al 1985). Det ble gjort målinger både på kontrollgruppe og oljeeksponert gruppe (50±20 ppb WSF). Larvene ble ikke føret de 3 siste dagene før måling av oksygenopptaket. Det var ingen forskjell i oksygenopptaket mellom kontroll og oljeeksponerte larver (Fig. 6).



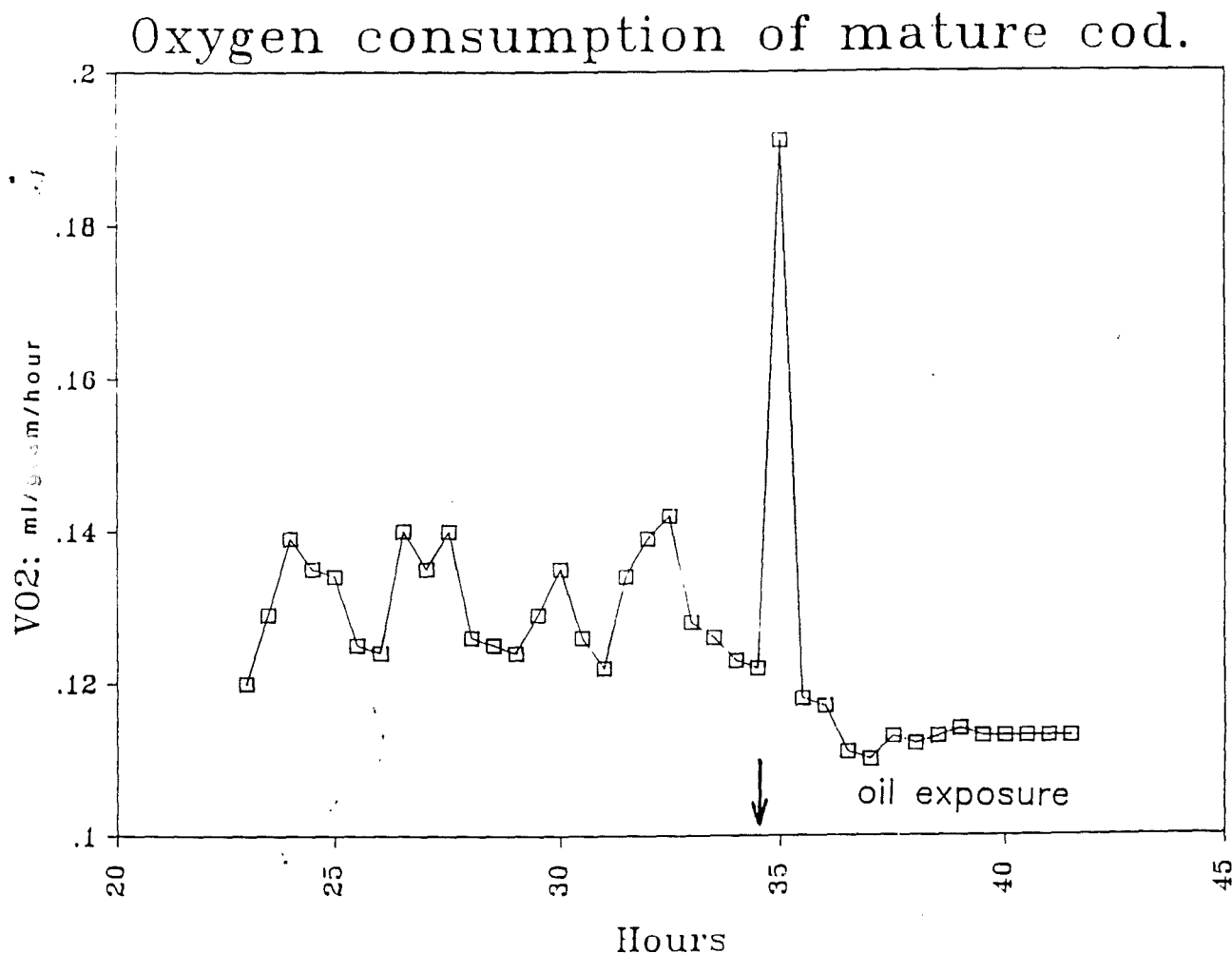
FIGUR 6. Oksygenopptak hos kontroll og oljeeksponerte (50 ppb WSF i 3-6 dager) postlarver av torsk som funksjon av våtvekt. Larvene ble ikke føret de 3 siste dagene før måling av oksygenopptak. Hvert punkt representerer 1 larve. T = 5°C. Saltholdighet = 34 o/oo.

Oksygenopptaket ble målt hos kontroll og oljeeksponert (100 ppb WSF i 7 uker) 0-gruppe torsk. Det er ingen signifikant forskjell i oksygenopptaket mellom de to gruppene (Fig. 7).



FIGUR 7. Oksygenopptaket hos 0-gruppe torsk (20-65 gram), kontroll og oljeeksponerte (100 ppb WSF i 7 uker), som funksjon av våtvekt. T = 10 C. Saltholdighet = 34 o/oo.

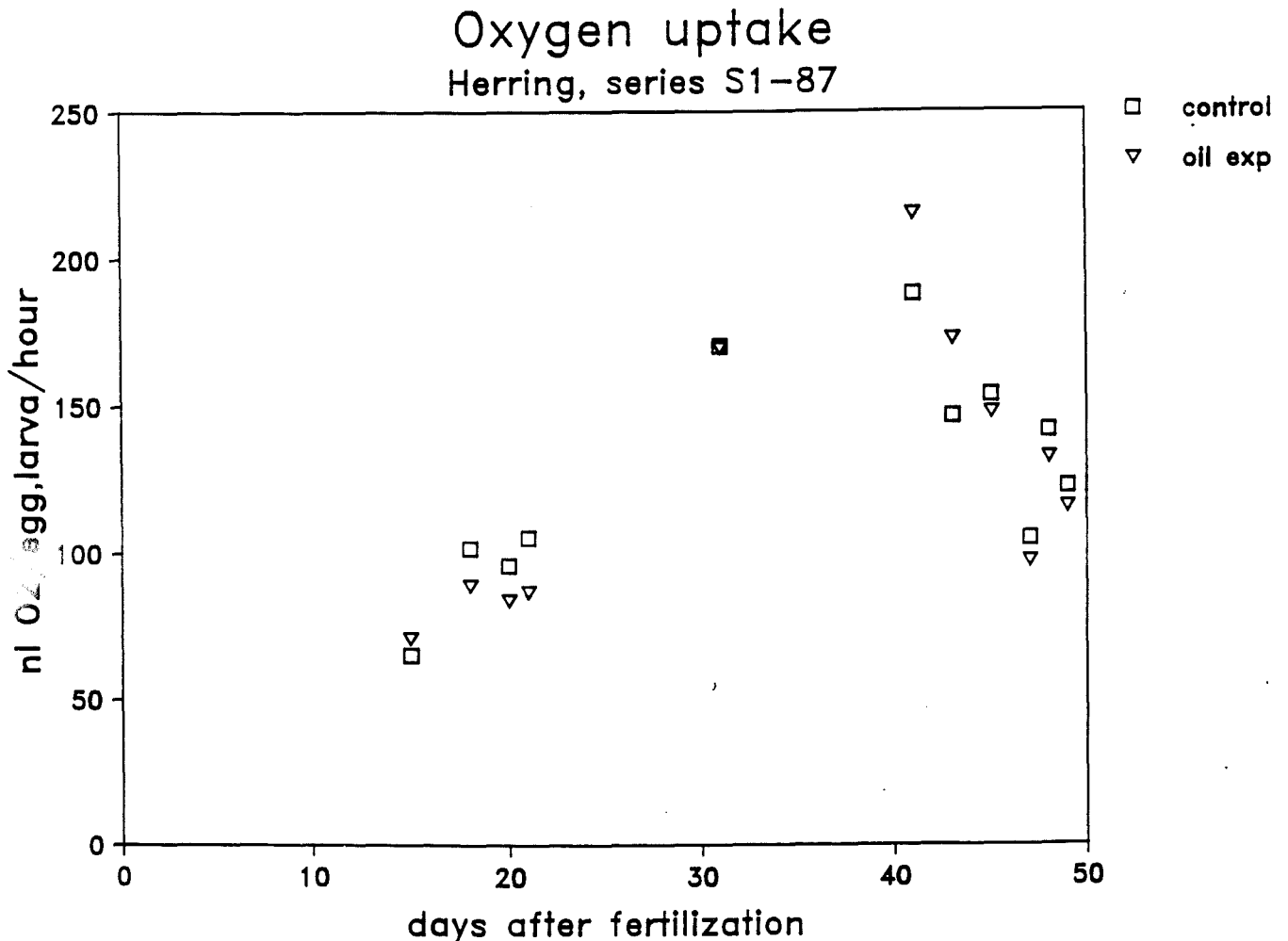
Forsøk med ung torsk viser at de reagerer med en kraftig økning i oksygenopptaket med det samme olje (100 ppb WSF) tilsettes i vannet. Etter ca 1/2 time er oksygenopptaket nede på et normalt nivå igjen, selv om oljekonsentrasjonen fortsatt er 100 ppb WSF (Fig. 8). En tilsvarende reaksjon ble observert hos oppdrettslaks ved Sandøy fiskefarm på Bulandet etter at et oljeflak i desember 1986 drev inn i anlegget. Fisken prøvde og unslippe oljevannet, og en del fisk skadet seg ved kollisjon med notvegg og annen fisk.



FIGUR 8. Oksygenopptak hos torsk (0.5 kg). $T=10^{\circ}\text{C}$. Saltholdighet = 34 o/oo. Ved tilsetning av olje til en konsentrasjon på 100 ppb WSF i vannet (etter 34,5 timer) økte oksygen opptaket plutselig med ca 80% . Etter ca 1/2 time falt det igjen selv om oljen fortsatt var tilstede.

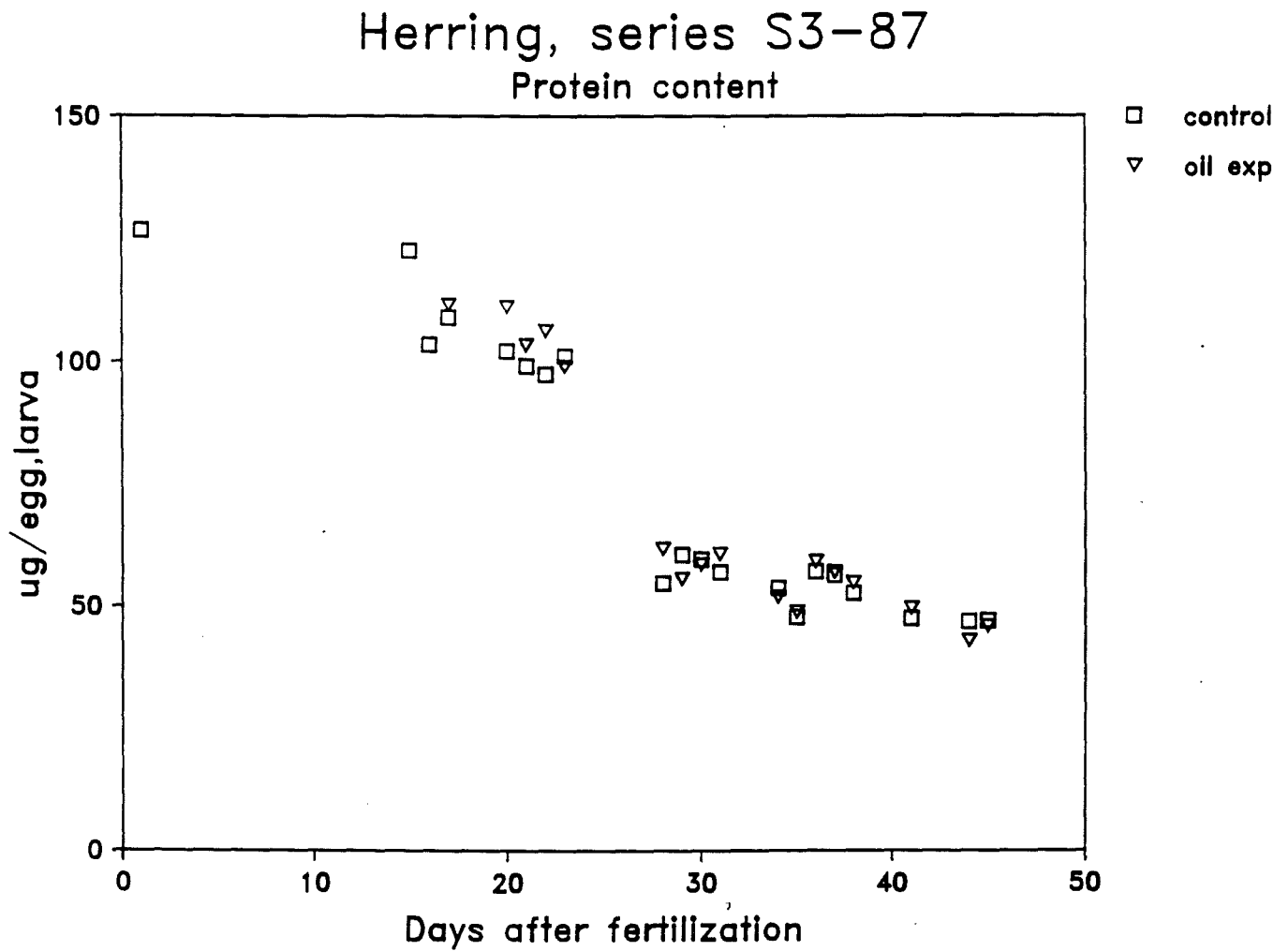
Sild.

Figur 9 viser at vi hos sild på samme måte som hos torsk har en økningen i oksygenopptaket fram til plommesekken er oppbrukt. Utviklingen av sildeegget går noe langsommere en hos torskeegget ved samme temperatur. Plommesekken hos sild er oppbrukt ved ca dag 35 etter befruktning ved 5°C. Etter at plommesekken er oppbrukt får vi et fall i oksygenopptaket hos de sultende larvene både i kontroll og oljeeksponerte grupper. De tre forskjellige gruppene av sildeegg ble utsatt for olje i konsentrasjoner fra 80-150 ppb WSF.



FIGUR 9. Oksygenopptak hos sildeegg og larver, kontroll og oljeeksponert gruppe (150 ppb WSF), som funksjon av tid etter befruktning. Hvert punkt representerer gjennomsnittet av 4 parallelle målinger med 10 egg eller 5 larver i hver. T = 5°C, Saltholdighet = 34‰.

Det ble ikke funnet noen forskjeller i protein innhold mellom kontroll og oljeeksponert grupper av sildeegg og larver (Figur 10).



FIGUR 10. Protein innhold (ug/egg-larve) i sildeegg og larver som funksjon av dager etter befruktning, hos kontroll og olje eksponert gruppe (150 ppb WSF).

Det er tatt ut prøver for amminosyreanalyser og fettanalyser av sildeegg og larver fra kontroll og oljeeksponert gruppe. Disse prøvene er ennå ikke ferdig opparbeidet.

Det ble ikke funnet noen morfologiske forskjeller i i tarm, muskel, lever eller gjeller hos 0-gruppe torsk etter 7 uker i oljevann (100 ppb WSF). Undersøkelsene ble utført vha. elektronmikroskop ved Zoologisk laboratorium Universitetet i Bergen.

KONKLUSJON

- Hvis torskeegg og plommesekklarver utsettes for olje, ser vi en kraftig reduksjon i oksygenopptaket i tiden like etter klekking. På de siste dagene av plommesekkstadiet er oksygenopptaket hos de oljeeksponerte larvene redusert med ca 50% i forhold til kontroll larvene. Denne reduksjonen er den samme enten egg og larver har vært eksponert til 50 eller 260 ppb WSF av oljen.
- Larver som er eksponert til 50 ppb WSF i bare 24 timer viser også den samme reduksjonen i oksygenopptaket.
- Det er ikke registrert noen "recovery" hos oljeeksponerte larver etter overføring til reint vann.
- Det er ikke registrert noen effekt av olje på oksygenopptaket hos postlarver og 0-gruppe av torsk, etter langtids oljeeksponering til 100 ppb WSF.
- Voksen torsk reagerer med en kraftig økning i oksygenopptaket ved akutt eksponering til 100 ppb WSF. Etter ca 1/2 time er oksygenopptaket nede på et normalt nivå igjen. Dette tolkes som en flukt reaksjon.
- Foreløpige undersøkelser viser ingen effekt av oljeeksponering på oksygenopptaket hos sildeegg og larver etter kontinuerlig eksponering til oljekonsentrasjoner på 80-150 ppb WSF fra tidlig på eggstadiet.

VIDERE ARBEID

Hittil har forsøkene i vesentlig grad vært konsentrert om torsk. I Barentshavet er det imidlertid også andre arter som har larvestadier og det er nødvendig å gjennomføre lignende undersøkelser på hyse, sei og lodde. Dette vil bli gjort i 1988. De forsøkene som er gjennomført på sild må også repeteres. Resultatene skiller seg sterk fra det vi finner hos torsk. Torsken er studert inngående gjennom en årrekke med hensyn til effekter av olje. Det samme kan vi ikke si om sild, der bygger vi på resultater fra kun en sesong. Vi vil derfor gjenta forsøkene med sild for å kunne trekke en sikrere konklusjon om oljens innvirkning på denne arten.

De store dyreplankton artene kan framstå som kritiske komponenter i ressurskade sammenheng, og det vil derfor i 1988 bli gjort forsøk med oljeeksponering av dyreplankton.

I forbindelse med mulig forandring i vandringsmønsteret for voksen fisk som følge av en oljeforurensning, er det ønskelig å benytte de eksperimentelle mulighetene til også å se på hvilke oljekonsentrasjoner som kan gi slike effekter.

REFERANSER

- Adoff, G.R. (1986). Anatomical studies of developing eggs and larvae of the cod (Gadus morhua L.). - Pp 51-115 in: Fyhn, H.J. (ed). Fish larval physiology and anatomy. Basic research and effects of oil. Final report, Project no. 83-524, University of Bergen, Norway. 328 pp.
- Folkvord, A., Kvenseth, P.G., Petersen, T., and Øiestad, V. (1985). Mass production of juvenile Atlantic cod (Gadus morhua L.) in a pond: results and new approaches in 1985. C.M. 1985/F:63/ref. Mariculture Committee.
- Fyhn, H.J., Salhus, H. & Barnung, T.N. (1986). A new biotest system for long term effect-studies of oil on marine fish eggs and larvae. Design, component description and functional tests. - Pp 265-288 in: Fyhn, H.J. (ed). Fish larval physiology and anatomy. Basic research and effects of oil. Final report, Project no. 83-524, University of Bergen, Norway. 328 pp.
- Fyhn, H.J., Mangor-Jensen, A. / Serigstad, B. (1986). Free amino acids in developing eggs and larvae of the cod (Gadus morhua L.). Basic studies and effects of oil. - Pp 167-201 in: Fyhn, H.J. (ed). Fish larval physiology and anatomy. Basic research and effects of oil. Final report, Project no. 83-524, University of Bergen, Norway. 328 pp.
- Fyhn, H.J., Serigstad, B. & Mangor-Jensen, A. (1987). Free amino acids as energy substrates in developing eggs and yolksac larvae of the cod, Gadus morhua L. - Sarsia, 72: (in press).
- Fyhn, H.J. & Serigstad, B. (1987). Free amino acids as energy substrate in developing eggs and larvae of cod, Gadus morhua L. - Marine Biology, (in press).
- Fossum, P. (1986). A staging system for larval cod (Gadus morhua L.). - FiskDir. Skr. Ser. HavUnders., 18: 69-76.

- Mangor-Jensen, A. (1986) Osmoregulation in eggs and larvae of the cod (Gadus morhua L.). Basic studies and effects of oil. - Pp 117-166 in: Fyhn, H.J. (ed). Fish larval physiology and anatomy. Basic research and effects of oil. Final report, Project no. 83-524, University of Bergen, Norway. 328 pp.
- Mangor-Jensen, A. (1987). Osmoregulation in eggs and larvae of the cod (Gadus morhua L.). Basic Studies and effects of oil exposure. Dr. scient. thesis, University of Bergen, Norway.
- Serigstad, B. (1986). The effect of oil exposure on the oxygen uptake of eggs and larvae of cod (Gadus morhua L.). - Pp 203-251 in: Fyhn, H.J. (ed). Fish larval physiology and anatomy. Basic research and effects of oil. Final report, project 83-524. University of Bergen, Norway. 328 pp.
- Serigstad, B. (1987a). Respiratory studies on cod (Gadus morhua L.) with special reference to effects of oil exposure on eggs and larvae. - Dr. scient. thesis, University of Bergen, Norway.
- Serigstad, B. (1987b). Oxygen uptake of developing fish eggs and larvae. - Sarsia, 72: (in press).
- Serigstad, B. (1987c). Effects of oil exposure on the oxygen uptake of cod (Gadus morhua L.) eggs and larvae. - Sarsia, 72: (in press).
- Solberg, T.S. & Tilseth, S. (1984). Growth, energy consumption and prey density requirements in first feeding larvae of cod (Gadus morhua L.). - Flødevigen rapportser., 1:145-166.
- Solberg, T.S. & Tilseth, S. (1986). Biotest exposure system and effect studies on the cod eggs and larvae. - Pp 25-50 in: Fyhn, H.J. (ed). Fish larval physiology and anatomy. Basic research and effects of oil. Final report project 83-524. University of Bergen, Norway. 328 pp.

Solberg, T.S., Serigstad, B., Tilseth, S., Westrheim, K. & Klungsøyr, J. (1987). Effects of different fractions of North Sea crude oils on eggs and larvae of cod (Gadus morhua L.). - Sendt til Marine environmental research for publisering.

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

Westrheim, K. & Palmork, K.H. (1986). Chemical analyses. - Pp 289-328 in: Fyhn, H.J. (ed). Fish larval physiology and anatomy. Basic research and effects of oil. Final report, project no. 83-524. University of Bergen, Norway. 328 pp.

VEDLEGG

International Council for
the Exploration of the Sea

C.M 1987/E:12
Marine Environmental
Quality Committee

AGE DEPENDENT SENSITIVITY OF OIL ON FISH LARVAE,USED IN
ASSESSMENT OF POTENTIAL OIL POLLUTION DAMAGES ON FISH RESOURCES.

BY

Lars Føyn and Bjørn Serigstad

INSTITUTE OF MARINE RESEARCH
P.O. Box 1870, N-5024 Bergen,
Norway

ABSTRACT

Oil exploration in norwegian waters will probably be extended further north into the Barents Sea. The Barents Sea is the nursery ground for important fish stocks spawning outside the norwegian coast, north of 62°N. Fish eggs and larvae are transported with the current systems northwards ending up as 0-group fish no longer dependent of the transportation provided by the currents.

Some place between the egg/larval stage and mature fish, the fish is not longer vulnerable for oil pollution. This paper discuss the thoughts behind and the use of experiments to establish borderlines for the areas where oil pollution are likely to damage fish resources.

INTRODUCTION.

The continental shelf off Norway, north of 62° N, is of special importance as spawning area for many of the most valuable fish stocks of the North East Atlantic. The environmental conditions composed by the north flowing norwegian coastal current and the intruding nutrient rich Atlantic water are ideal for supporting the early life stages of fish. Fish eggs and larvae are transported northwards, to the nursery area in the Barents Sea, fairly concentrated and in this process they are vulnerable to both naturally occurring events as to man made influence. Of the latter, the search for oil with possible oil pollution, may be a threat to the fish eggs and larvae. Drifting northwards the larvae are developing, and at some stage in the development they will be able to avoid an oil pollution. We have tried experimentally to establish the size/age of the fish larvae of different species on which oil pollution no longer will be hazardous to the larvae. By combining this found size with the distribution of the various sizes of the different fish species we will be able to draw border lines beyond which oil pollution will be of only minor concern for the year class of fish in question.

Norwegian law require a consequence analysis before an area can be opened for oil exploration. The experiments presented here are part of an extensive study initiated by the Ministry of Oil and Energy in the process leading up to an opening of the norwegian part of the Barents Sea, south of 74° 30'N, for oil exploration.

Great efforts has been made to reveal possible effects of crude oil and its constituents on fish development. A short review of the part of the research dealing with metabolism and oxygen transport is given by Serigstad (1986). No effects of oil exposure are found on the ion transport or osmo-regulation in cod eggs/larvae after long term oil exposure to concentrations from 50-280 ppb WSF of Statfjord Crude Oil (Mangor-Jensen 1986). Anatomical studies on the same larvae, using scanning- and transmission- electron microscopy was also negative according to

oil effects (Adoff 1986). No difference was found in protein content or ammonia content of cod eggs or larvae, and no clear effect was found on the free amino acid content (Fyhn et al 1986; 1987). The only clear negative oil effect found on cod, were reduced oxygen uptake of the yolk sac larvae (Serigstad 1986; 1987b; Serigstad & Adoff 1985). The oxygen uptake and thus the metabolic activity of a fish larvae depends on a sufficient oxygen supply from the ambient sea water to the mitochondria in the cells where the aerobic energy production for synthesis, regulatory processes and locomotory activities take place. An impact of oil on the oxygen uptake of yolk sac larvae may therefor have a severe negative effect in the sensitive developmental stage where the larvae are changing from endogenous to exogenous food uptake.

Cod (Gadus morhua L.) is in toxicity tests with different oils and oil products shown to be the most sensitive among several different fish species from the North Sea (Falk-Pettersen & Kjørsvik 1987).

MATERIAL AND METHODS.

Cod (Gadus morhua L.) used in this study were obtained from the institute's aquaculture station at Austevoll, or from the fish market in Bergen. Eggs and sperm were stripped from single male and female fishes to ensure homogeneity of the groups. The cod eggs were incubated as described by Solberg & Tilseth (1986).

Ripe herring caught by net at Sotra near Bergen, were supplied by Sangolt at Bergen Aquarium. Single male and female herring were stripped for sperm and eggs. The sperm were mixed with seawater in 30 liters plastic beakers with the bottom covered with object glasses. The eggs were stripped directly in to the beaker, were fertilized and stuck to the glass plates. The eggs were washed with clean seawater.

Eggs larvae and postlarvae of both cod and herring were transferred to the biotest exposure systems for continuous exposure to 50-280 ppb WSF of Statfjord crude oil. The oil analyses is described by Westrheim & Palmork (1986)

Juvenile cod, fish larvae and eggs were all kept in 34 o/oo sea water at 5°C.

The biotest system used in the experiments on cod (Gadus morhua) eggs and larvae is previously described by Johannessen 1983; Tilseth et al 1984. Modifications of the system are described by Solberg & Tilseth 1986; Solberg et al 1987. In the studies on herring (Clupea harrengus) eggs and larvae, a new biotest system based upon the flow-through system, but in design, scaling, materials and construction it has chosen completely new solutions (Fyhn et al 1986). Although designed for long term studies of oil (WSF) on marine fish eggs and larvae, the new biotest system has, with minor modifications, the potential for effect-studies of most any water soluble toxicant on a variety of aquatic organisms within a range from less than 1 mg to a few kilos.

Oxygen uptake measurements. Two different principles (Closed and open respirometry) and three different experimental designs were used to fit the different size of the animals, ranging from 450 ug to 600 gram wet weight (Serigstad 1986; 1987a). All the oxygen measurements were performed using a polarographic oxygen electrode (Radiometer E-5046) connected to a meter (Radiometer PHM 73).

RESULTS:

Cod.

Eggs: No effects of oil exposure (50-280 ppb WSF) has been found on the oxygen uptake rate of the cod eggs after continuously exposure from day 2 after fertilization (7 series); (Serigstad 1986). A typical set of data is given in fig.1.

Larvae: The oxygen uptake of long term oil exposed larvae is effected by oil exposure (fig. 1). The exposure started between day 2 and 7 for the 7 different groups. The oxygen uptake is markedly suppressed compared to the controls. The control larvae have a peak value in the oxygen uptake at the time of final yolk absorbtion (day 6-8 post hatching, Fossum 1986). A slight increase but no peak value is observed in the oxygen consumption of the cod larvae during the yolk sac stage. The oil effect on the oxygen uptake is independent of oil concentrations in the range 50-280 ppb of the WSF of Statfjord crude oil (fig. 1.).

OXYGEN UPTAKE RATE

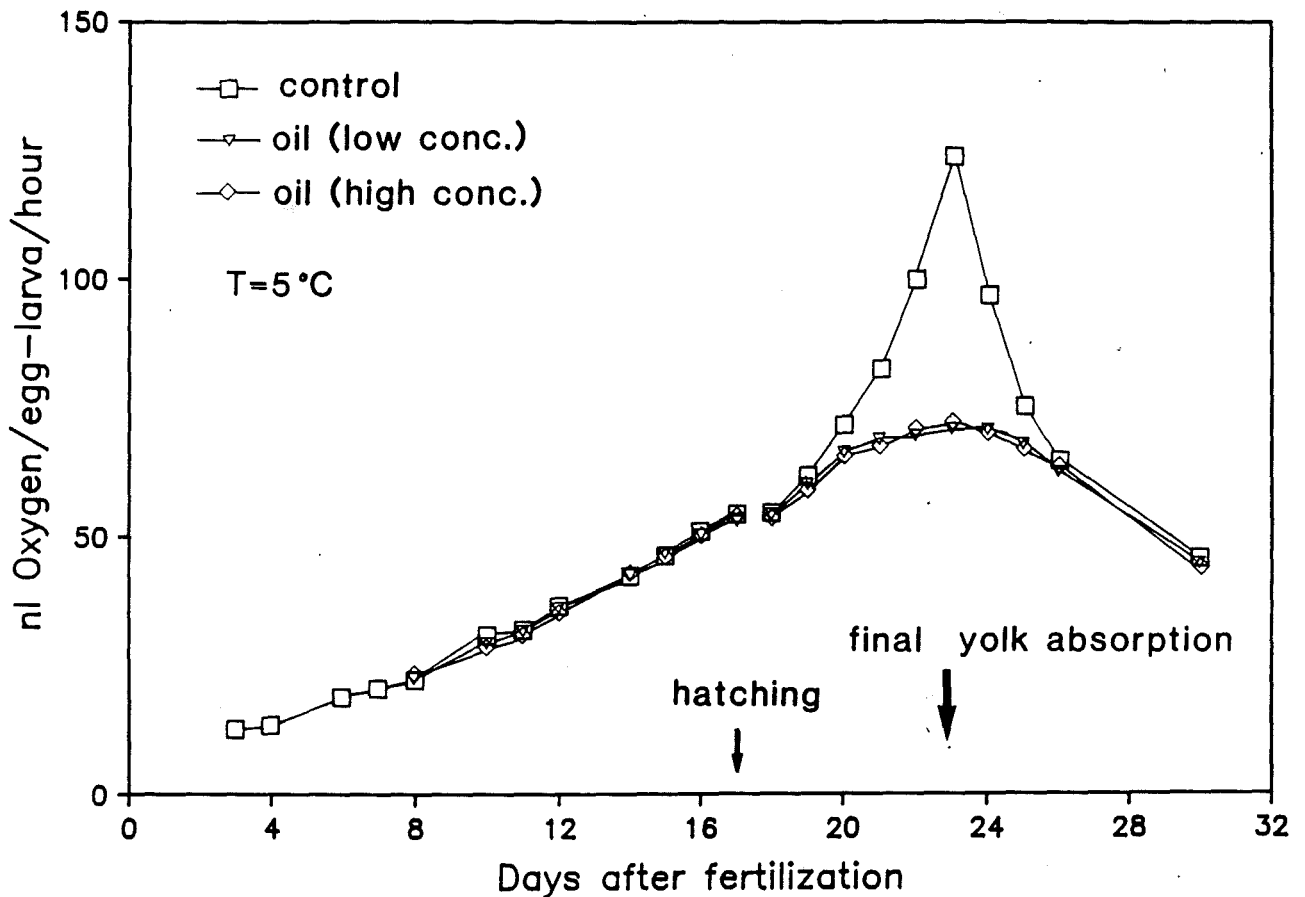


FIGURE 1. Oxygen uptake of control and oil exposed cod eggs/larvae. Oil exposure at low concentration: 50 ± 20 ppb WSF and high concentration: 230 ± 110 ppb WSF). Each point represent the mean of 4 parallels wit 10 eggs or 5 larvae each. (SD is less then 5% for all the means). T = 5°C, Salinity = 34o/oo.

In short term exposure experiments, control larvae of cod were transferred to oil contaminated water (50 ± 20 ppb WSF), on the first day after hatching and on day 4 and 6 post hatching. Measurements on long term oil exposed larvae (230 ± 110 ppb WSF) and control larvae were included in the test. The results show that the oxygen uptake of the short term oil exposed larvae is suppressed to the same extent as that of the long term oil exposed larvae (fig 2).

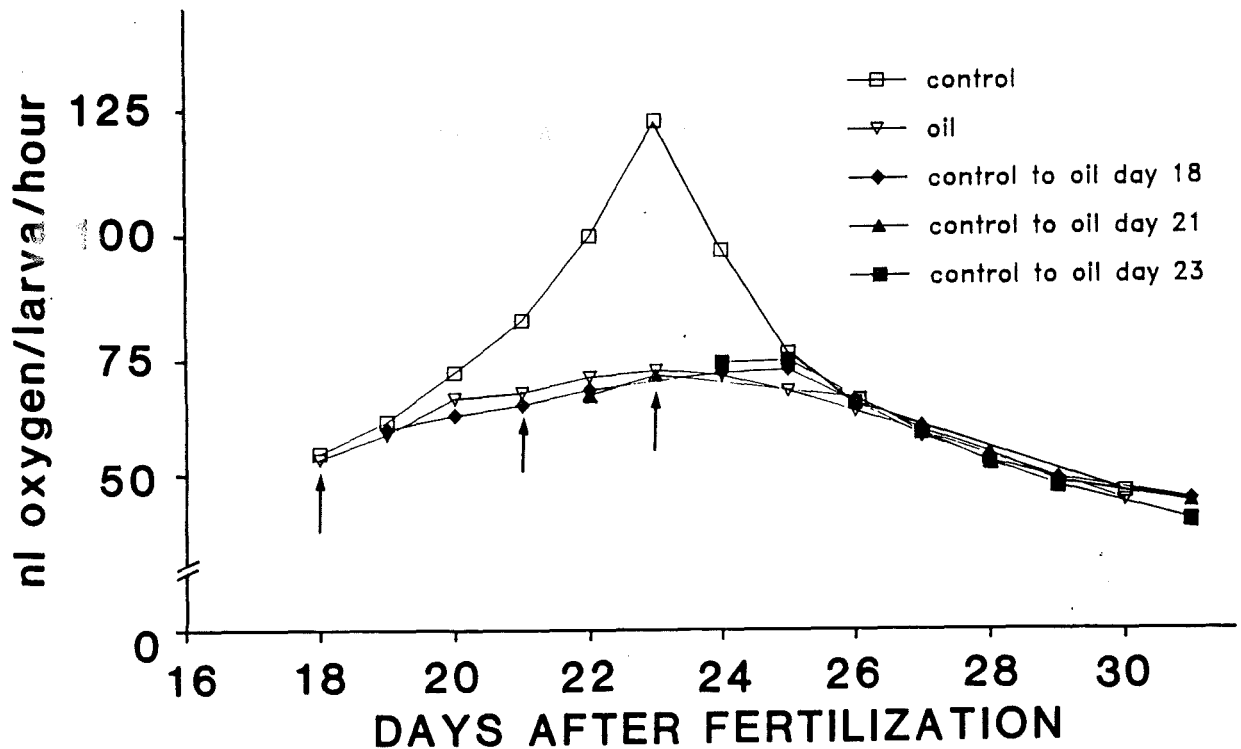


FIGURE 2. Oxygen uptake of cod larvae during short term exposure experiments. Control and oil exposed (50 ± 20 ppb WSF). Control larvae were transferred to oil water the first day after hatching (day 18), and 4 and 6 days post hatching (arrows). Oxygen uptake was measured 24 hours after transfer and then daily throughout the experiments. Each point represent 4 parallel groups of 5 larvae. (Sd is less than 5% for all the means). T = 5°C , Salinity = 34 o/oo.

Already within 24 hours of exposure to oil (50 ppb WSF) the oxygen uptake of the exposed larvae is strongly reduced compared to the control larvae. No further reduction occurred over the next days in oil contaminated seawater.

In recovery experiments oil exposed cod larvae (exposed to 230 ± 110 ppb WSF for 10 days before hatching) were transferred

from the oil water to control water in the biotest setup at the first day after hatching and at day 4 and 6 post hatching. Daily measurements of the oxygen uptake were performed under control conditions. No signs of recovery of the oil exposed cod larvae were found (fig. 3). Apparently even 6 days in clean seawater is not enough to remove the suppressive effect of the oil exposure on the oxygen uptake of the cod larvae.

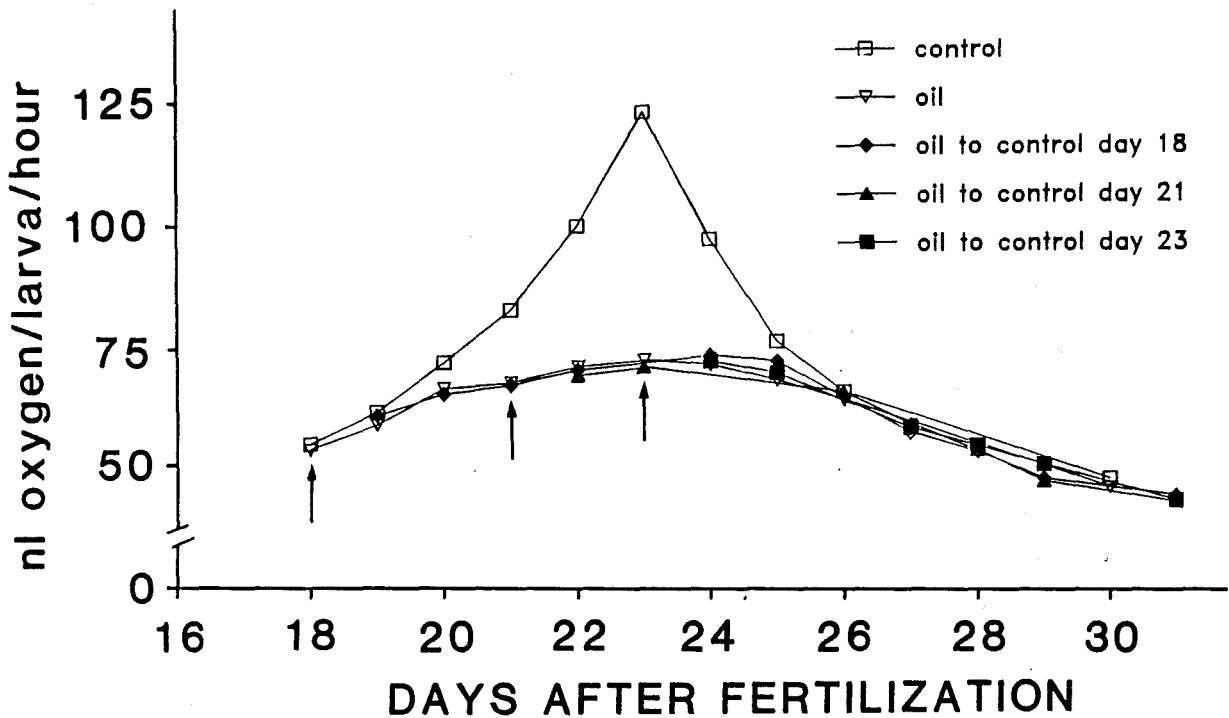


FIGURE 3. Oxygen uptake of oil exposed cod larvae during recovery experiments in clean sea water. Oil exposed larvae (230 ± 20 ppb WSF) were transferred to control water the first day after hatching (day 18), and at 4 and 6 days post hatching (arrows). Oxygen uptake was measured 24 hours after transfer, and daily throughout the experiment. Each point represent 4 parallel groups of 5 larvae. (SD is less than 5% for all the means). $T = 5^{\circ}\text{C}$, Salinity = 34 o/oo.

Postlarvae: The oxygen uptake of growing larvae raised under semi-natural conditions in Hyltropolten, Austevoll (Folkvord *et al* 1985) has been measured both under control conditions and after oil exposure. Measurements have been done on larvae with a body wet weight ranging from 6 - 1350 mg. A 30 mm long larvae has a body wet weight of about 270 mg. The postlarvae were oil exposed from 3 to 6 days in the biotest system, to an oil concentration of 50 ± 20 ppb WSF (Serigstad 1986). No difference in the oxygen uptake was found between control and oil exposed larvae (fig. 4).

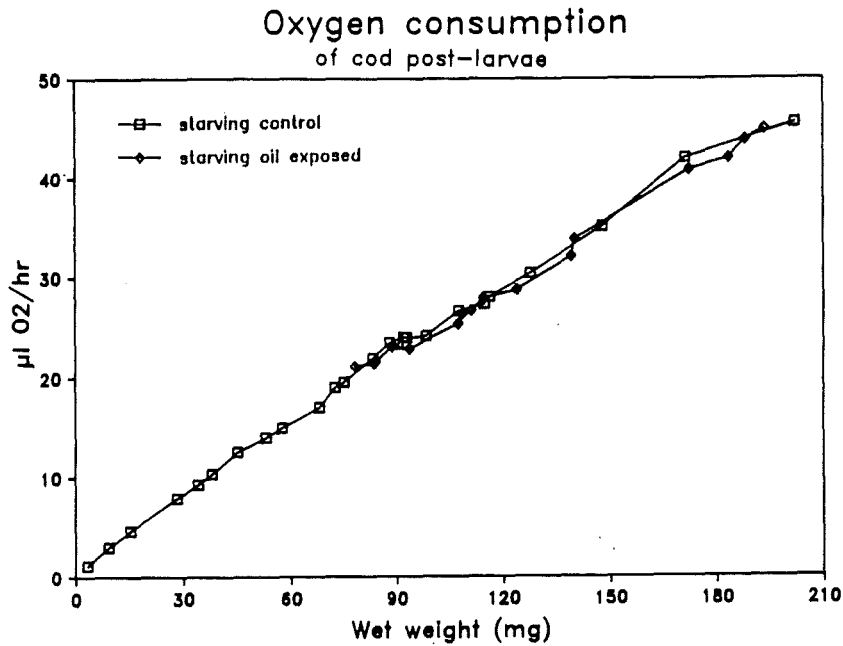


FIGURE 4. Oxygen uptake of control and oil exposed (50±20 ppb WSF) post-larvae of cod as function of body wet weight. the larvae were not fed during the last 3 days before measurements (6 days for some oil exposed larvae). Each point represent an individual larva. T = 5°C, Salinity = 34 o/oo.

O-group cod. There were no significant difference in the oxygen uptake of O-group cod exposed to Statfjord crude oil extract (100 ppb WSF for one week), (fig. 5); (Serigstad & Ellingsen 1987). The fish ranged in weight from 24-63 gram.

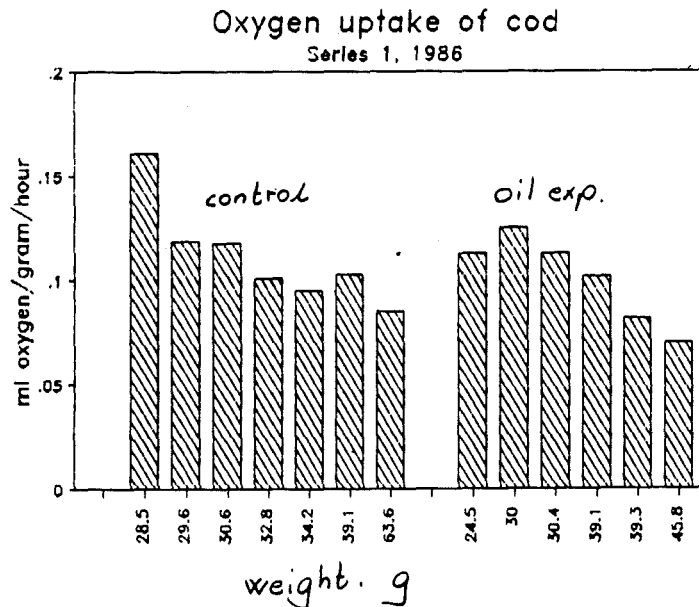


FIGURE 5. Oxygen uptake of O-group cod (25-65 gram), control and oil exposed (100 ppb WSF for 7 weeks), as function of body wet weight. T=10°C, Salinity = 34 o/oo.

Experiments with juvenile cod (body weight of about 0.5 kg) showed that upon an abrupt exposure to oil contaminated sea water (100 ppb WSF) they react immediately with a pulse of increased oxygen uptake, followed by a stabilized level below the average oxygen uptake before oil exposure took place (fig. 6).

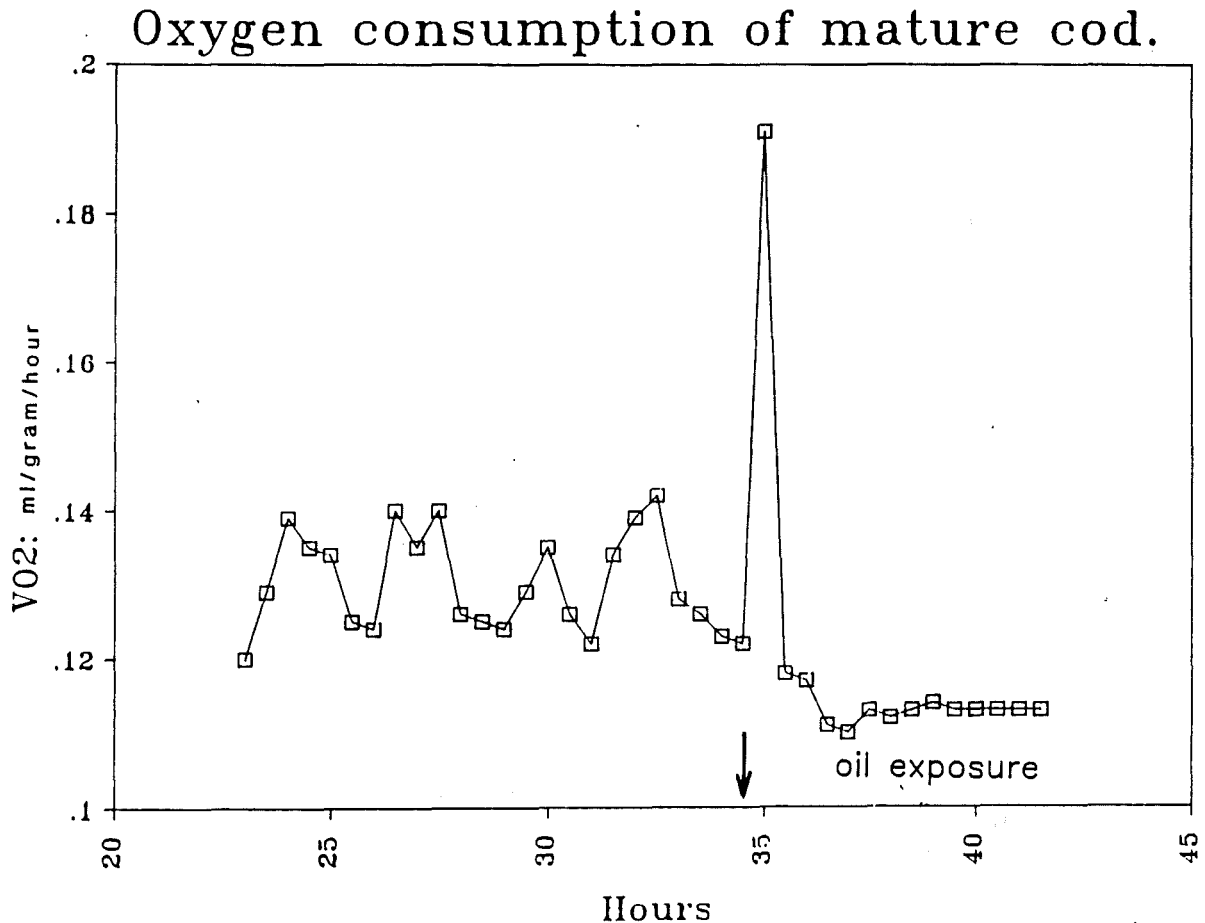


FIGURE 6. Oxygen uptake of juvenile cod (0.5 kg) before and after introduction of oil contaminated sea water (100 ppb WSF) to the respirometer system at 34.5 hours of incubation. T = 10°C, Salinity = 34 o/oo.

Herring.

No negative oil effects are shown on herring eggs or yolk sac larvae from 3 different series studied during the spring 1987.

Figure 7 show that we have an increase in the oxygen uptake from fertilization until the yolk is absorbed, then we have a decrease in the O₂ uptake of the starving larvae, both control and oil exposed groups. The three groups were exposed to oil concentrations ranging from 80 to 150 ppb WSF for the different series.

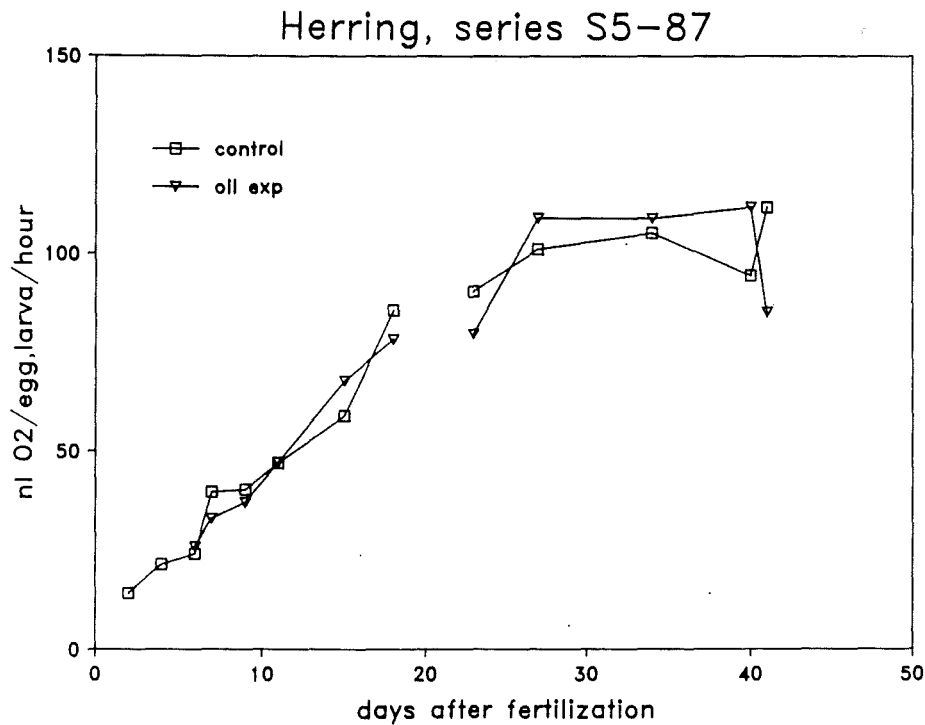


FIGURE 7. Oxygen uptake of control and oil exposed (150 ppb WSF) herring eggs/larvae as function of time after fertilization. Each point represent the mean of 4 parallels with 10 eggs or 5 larvae each. T = 5°C, Salinity = 34 o/oo.

DISCUSSION AND CONCLUSION.

The conclusion of the above presented experiments on cod and herring is, cod eggs and larvae of a size < 30 mm may be harmed by oil concentrations as low as 50 ppb, herring eggs and larvae seems not at all to be effected.

While the conclusion about effects on cod is based on extensive studies over a period of 6 years (Serigstad 1986; Serigstad & Ellingsen 1987) the herring conclusion is based on one seasons experiments and will be followed by further biotests.

In connection with the ongoing consequence study before opening for oil exploration in the Barents Sea it is important to give advises to the authorities. Figure 8 and 9 shows the distribution of cod larvae < 30 mm for July 1986 and July 1987 (Bjørke 1987 pers. com.).

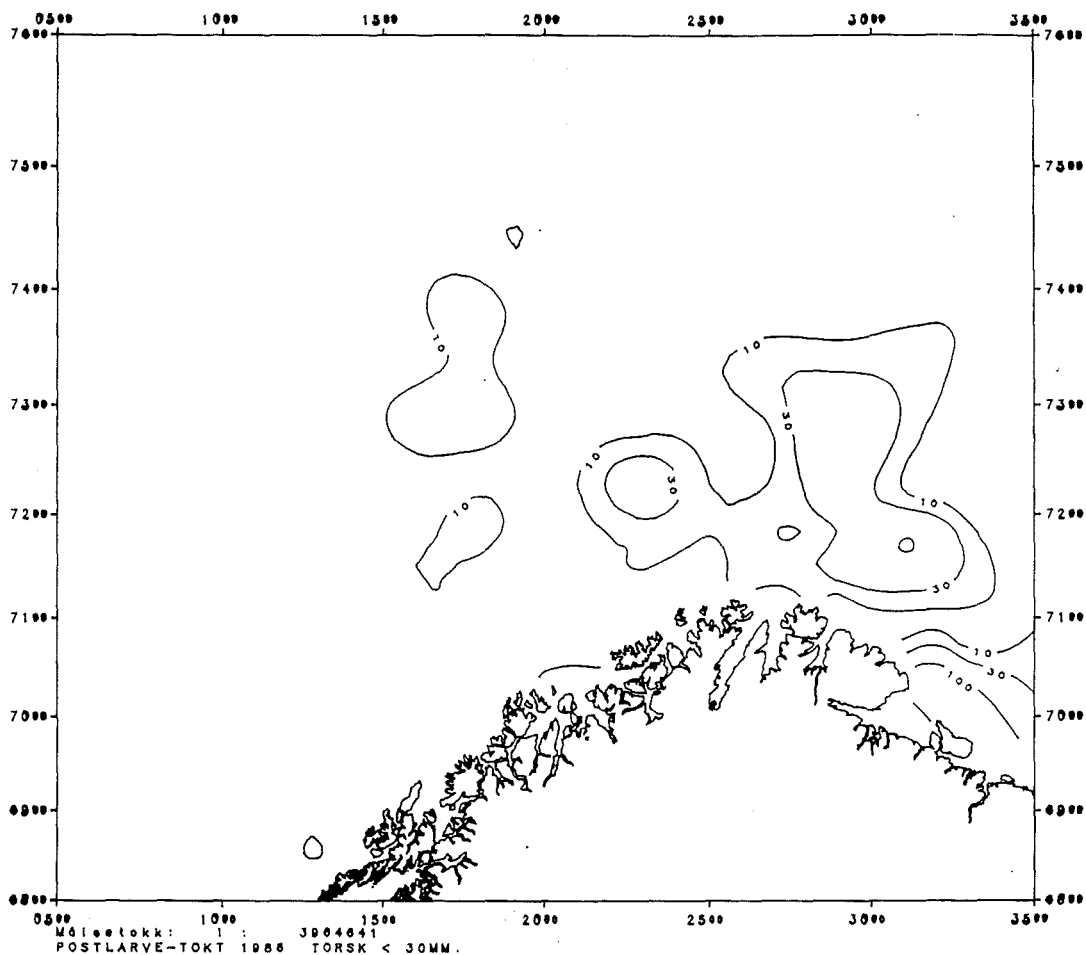


FIGURE 8. Distribution of cod larvae < 30 mm in July 1986, number pr. trawlhout, after Bjørke pers. com. (1987).

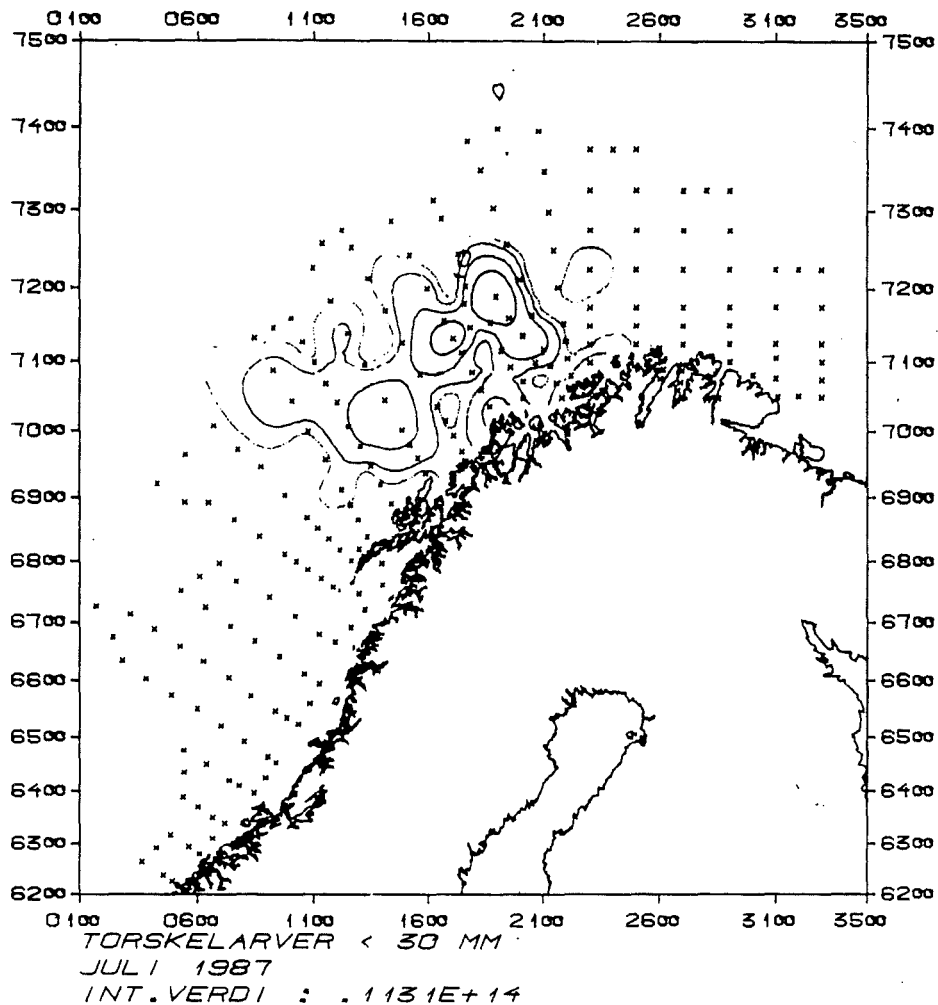


FIGURE 9. Distribution of cod larvae < 30 mm in July 1987, number pr. trawlhour, after Bjørke pers. com. (1987).

The distribution represents two extremes compared to the combined data of cod larvae < 30 mm from 1977 - 1987 (Bjørke 1987 pers. com.). By using the combined data set (fig. 10) it is possible to draw a line between Bear Island and the North Cape, north and east of which cod larvae < 30 mm is not found. This means that an oil pollution north and east of this borderline is not likely to have any effects on the cod as such. When the cod larvae are moving further east into the Barents Sea they have grown beyond the stage where they may be harmed by an oil pollution.

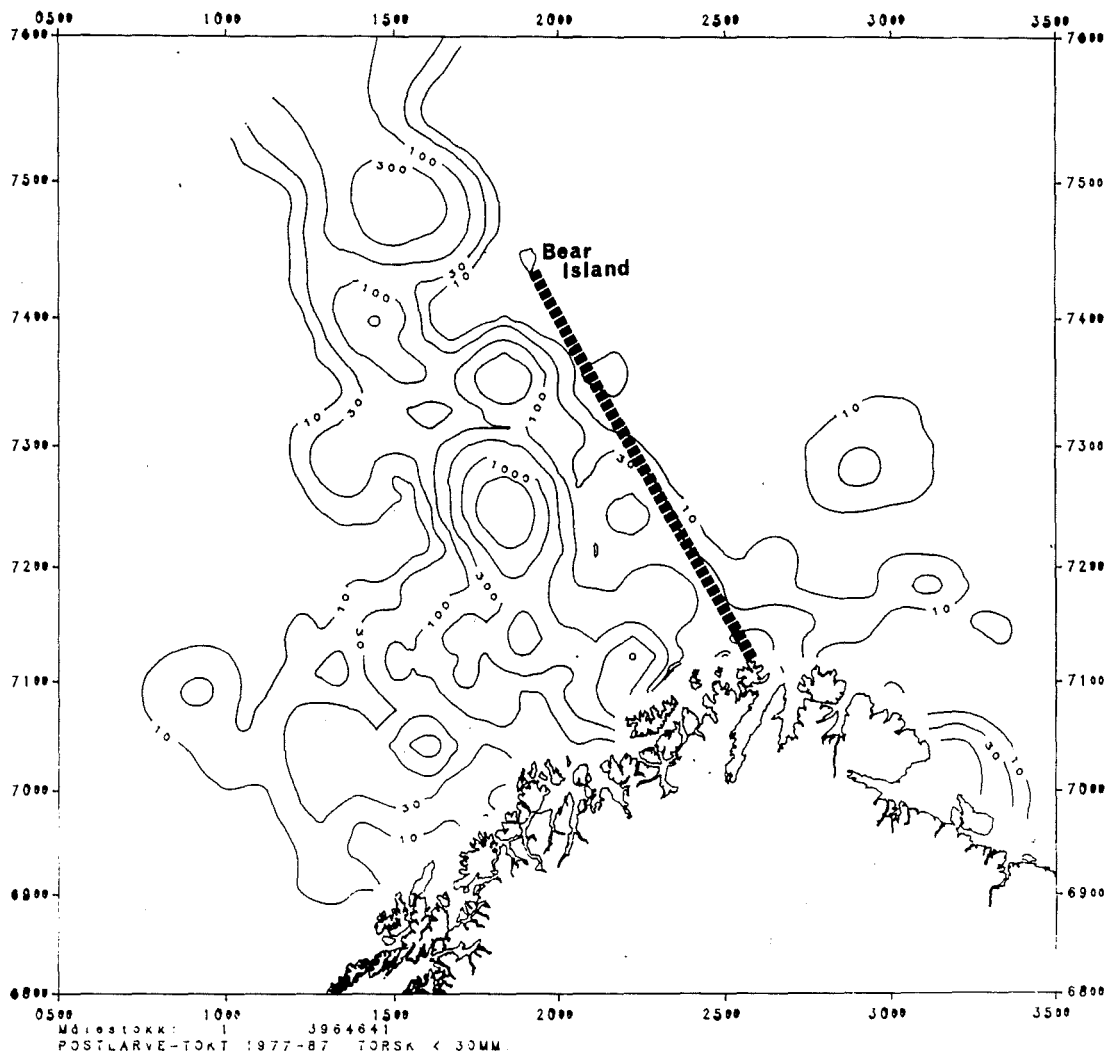


FIGURE 10. Distribution of cod larvae < 30 mm from the years 1977 to 1987, number pr. trawlhour, Bjørke pers. com. (1987).

We feel, however, a need to underline that this boarder is drawn only based on effects on the cod larvae as such. We have not considered possible food shortage caused by possible oil effects on the zooplankton in the Barents Sea.

REFERENCES.

Adoff, G.R. 1986. Anatomical studies of developing eggs and larvae of the cod (Gadus morhua L.). -Pp.51-115 in: Fyhn, H.J. (ed.). Fish larval physiology and anatomy. Basic studies and effects of oil. Final report, project no 83:524. University of Bergen, Bergen.

Falk-Pettersen, I.B. and Kjørsvik, E. 1987. Acute toxicity tests of the effects of oils and dispersants on marine fish embryos and larvae. Sarsia 72, in press.

Folkvord, A., Kvenseth, P.G., Petersen, T. and Øiestad, V. 1985. Mass production of juvenile atlantic cod (Gadus morhua L.) in a pond: results and new approaches in 1985. ICES C.M.1985/F:63/Ref.G Mariculture Committee.

Fossum, P. 1986. A staging system for larval cod (Gadus morhua L.). FiskDir. Skr. Ser. HavUnders., 18, 69-76.

Fyhn, H.J., Salhus, H. and Barnung, T.N. 1986. A new biotest system for long term effect-studies of oil on marine fish eggs and larvae. Design, component description and functional tests. -Pp. 265-288 in: Fyhn, H.J. (ed.). Fish larval physiology and anatomy. Basic studies and effects of oil. Final report, project no 83:524. University of Bergen, Bergen.

Fyhn, H.J., Mangor-Jensen, A and Serigstad, B. 1986. Free amino acids in developing eggs and larvae of the cod. Basic studies and effects of oil. -Pp. 167-201 in Fyhn, H.J. (ed.). Fish larval physiology and anatomy. Basic studies and effects of oil. Final report, project no 83:524. University of Bergen , Bergen.

Fyhn, H.J. Serigstad, B. and Mangor-Jensen, A. 1987. Free amino acids as energy substrate in developing eggs and larvae of the cod (Gadus morhua). Sarsia 72, in press.

Johannessen, K.I. 1983. A flow-through extraction and dosage system for long-term bioassay with water-soluble oil hydrocarbons. Mar. Environm. Res. 9, 123-129.

Mangor-Jensen, A. 1986. Osmoregulation in eggs and larvae of the cod (Gadus morhua L.). Basic studies and effects of oil exposure. -Pp. 117-168 in: Fyhn, H.J. (ed.). Fish larval physiology and anatomy. Basic studies and effects of oil. Final report, project no 83:524. University of Bergen, Bergen.

Serigstad, B. and Adoff, G.R. 1985. Effects of oil exposure on oxygen consumption of cod eggs and larvae. Mar. Environm. Res. 17, 266-268.

Serigstad, B. 1986. The effect of oil exposure on the oxygen uptake of eggs and larvae of the cod (Gadus morhua L.). -Pp 203-251 in: Fyhn, H.J. (ed.). Fish larval physiology and anatomy. Basic research and effects of oil. Final report, project no. 83:524. University of Bergen, Bergen.

Serigstad, B. 1987a. Oxygen uptake of developing fish eggs and larvae. Sarsia 72, in press.

Serigstad, B. 1987b. Effect of oil exposure on the oxygen uptake of cod (Gadus morhua) eggs and larvae. Sarsia 72, in press.

Serigstad,B and Ellingsen,T. 1987. Torskens følsomhet for olje, under utvikling fra egg til voksen fisk. Symposium om olje-Naturmiljø. SINTEF avd. Teknisk Kjemi. Trondheim 17-18 februar 1987.

Solberg,T.S. and Tilseth,S. 1986. Biotest exposure system and effect studies on cod eggs and larvae. -Pp 25-50 in: Fyhn,H.J. (ed.). Fish larval physiology and anatomy. Basic studies and effects of oil. Final report, project no 83:524. University of Bergen, Bergen.

Solberg,T.S., Serigstad,B., Tilseth,S., Westrheim,K. and Klungsøyr,J. 1987. Effects of different fractions of North Sea crude oils on eggs and yolk-sac larvae of cod (Gadus morhua L.). In prep.

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

Westrheim,K. and Palmork,K.H. 1986. Chemical analyses. -Pp. 289-328 in: Fyhn,H.J. (Ed.). Fish larval physiology and anatomy. Basic research and effects of oil. Final report, project no. 83:524. University of Bergen, Bergen.