



INSTITUTE OF MARINE RESEARCH
HAVFORSKNINGSINSTITUTTET



Konsekvenser av oljesøl på marine organismer med fokus på fiskelarver

Bjørn Einar Grøsvik og Erik Olsen



INSTITUTE OF MARINE RESEARCH
HAVFORSKNINGSINSTITUTTET

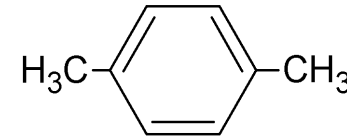
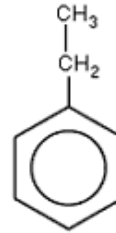
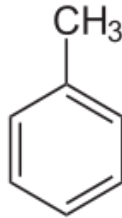
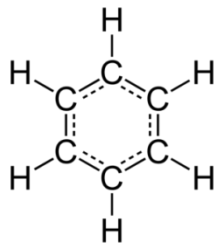
Olje

- En svært kompleks blanding av organiske forbindelser
- Ulike oljetyper kan ha variasjon i sammensetning
- Et oljeutslipp til naturen vil endre sammensetning over tid dvs at oljen forvitrer pga fysiske, kjemiske og biologiske prosesser.
- De lavmolekylære flyktige forbindelsene fordamper først, mens de større molekylene som større PAH er mer bestandige.
- Giftigheten av oljen vil derfor også forandre seg over tid.

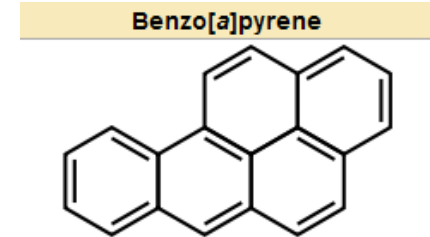
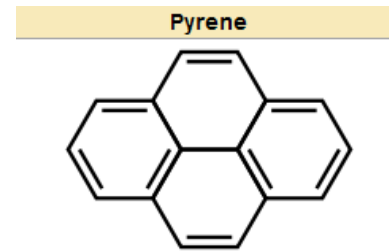
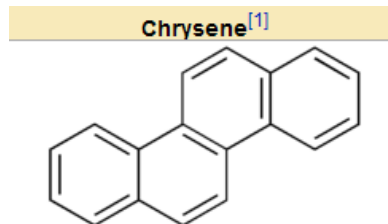
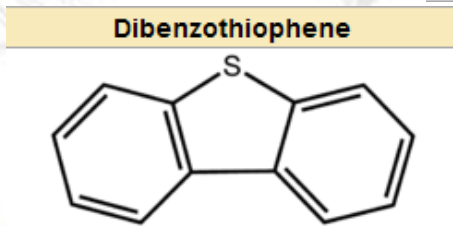
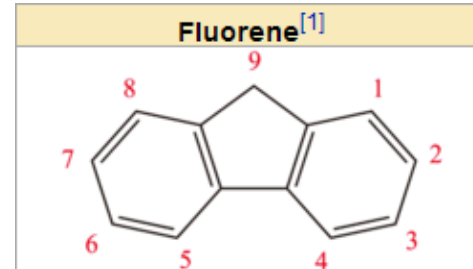
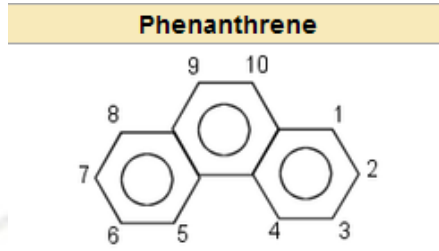
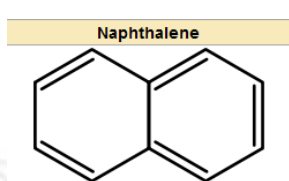


Giftige forbindelser i olje

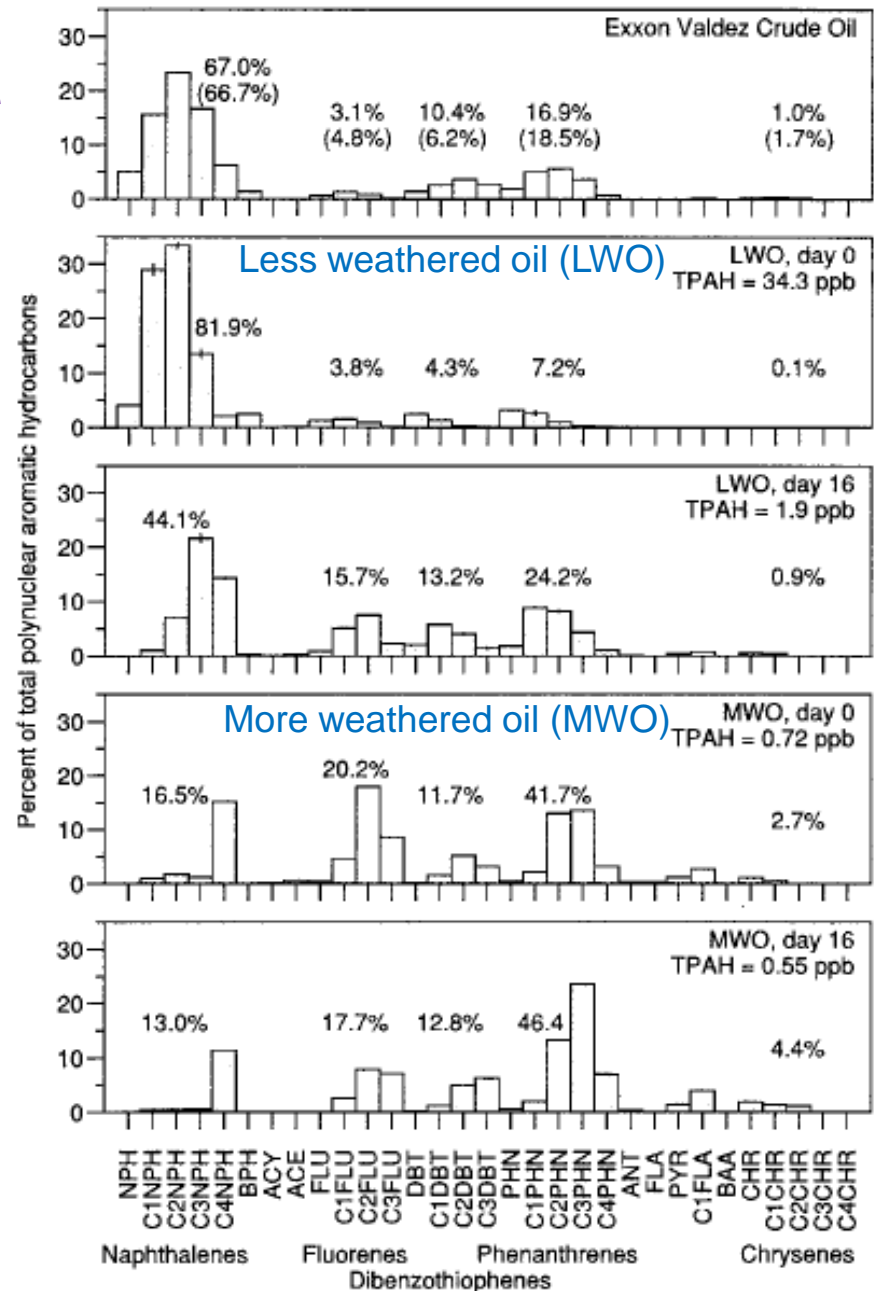
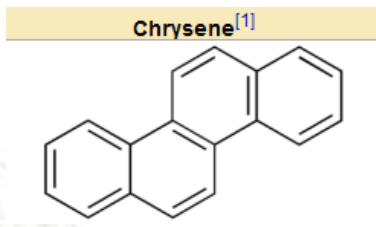
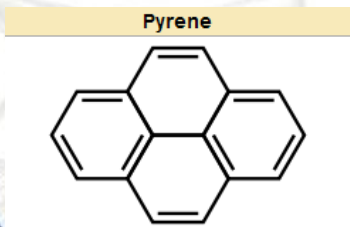
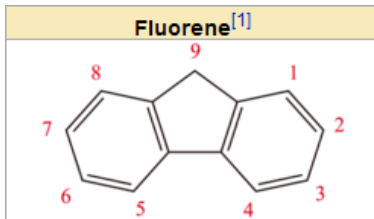
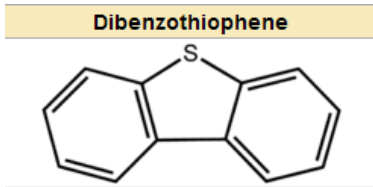
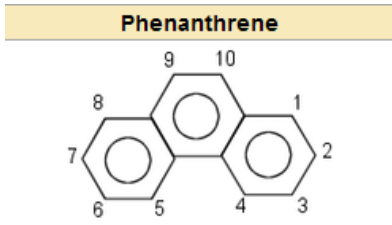
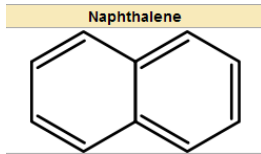
- Flyktige forbindelser som benzen, toluene, etylbenzene og xylen (BTEX)

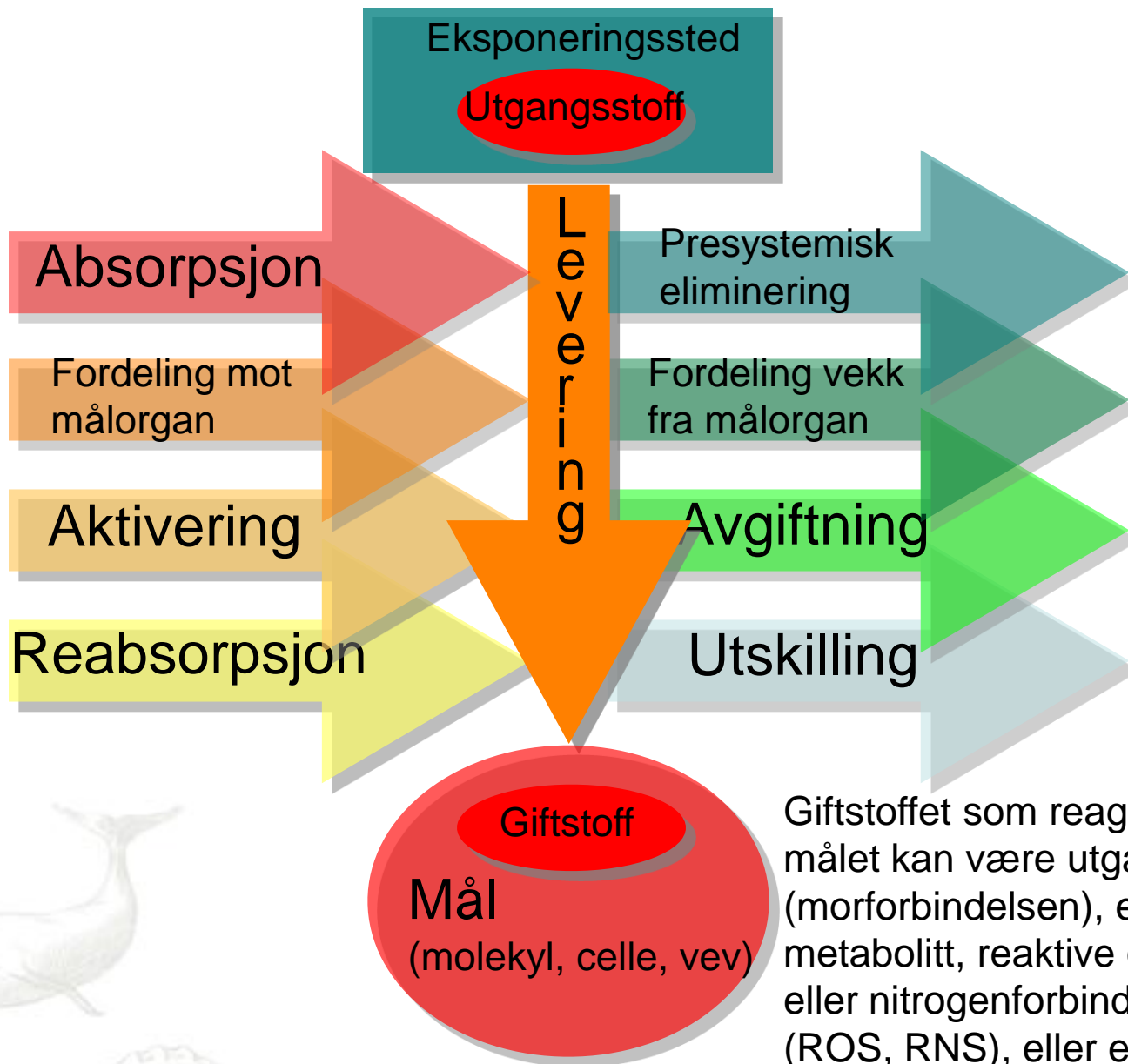


- Polysykliske aromatiske hydrokarboner (PAH) som naftalen, fenantren, dibenzothiofen, fluoren og krysen og alkyl-homologer av disse. Pyren og benzo(a)pyren.



Oljesammensetning og forvitring viktige for giftighet





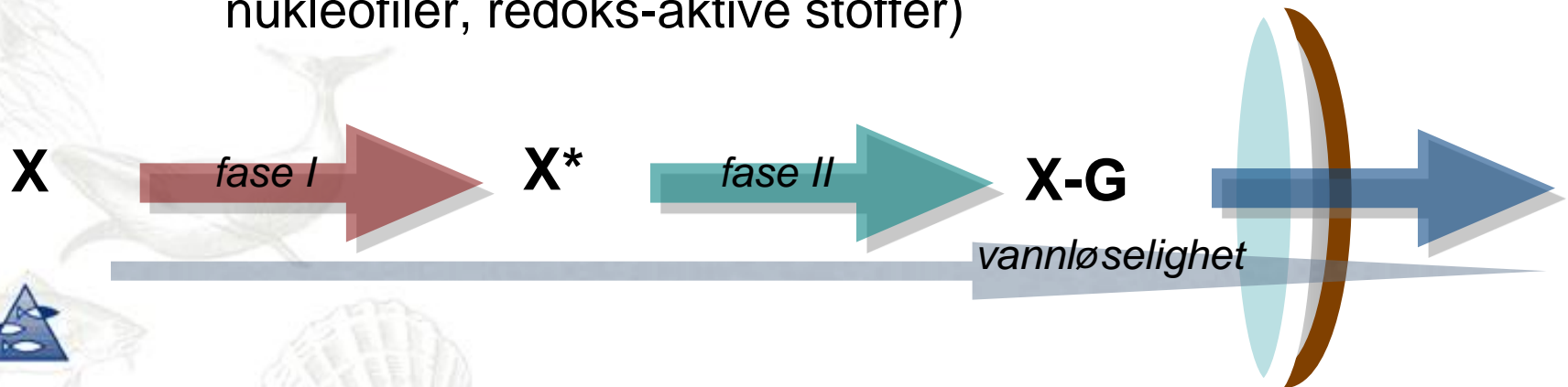
Giftstoffet som reagerer med målet kan være utgangsstoffet (morforbindelsen), en metabolitt, reaktive oksygen- eller nitrogenforbindelser (ROS, RNS), eller en endogen forbindelse

Figur: Anders Goksøyr



Avgiftning vs. aktivering

- Biotransformasjon kan gi både mindre giftige og mer reaktive metabolitter
- avgiftning/detoksifisering:
 - innføring av funksjonelle grupper (fase I)
 - + konjugering m/endogene molekyler (fase II)
 - = økt polaritet og vannløselighet
 - + transport ut av cellen (fase III)
- aktivering/toksifisering:
 - omdanning til reaktive molekyler (elektrofiler, radikaler, nukleofiler, redoks-aktive stoffer)



Etablering av effektgrenser

- Akutte giftighetstester med varighet fra 48-96 timer (OECD guidelines).
- Bruker LC_{50} verdier, dvs hvilken dose som gir 50 % dødelighet etter en viss tid (oftest 96 timer).
- For risikovurderinger må en bruke en sikkerhetsfaktor for å ta høyde for manglende kunnskap om effektgrensene inkluderer de mest følsomme artene, stadiene og langtidseffekter.
- Langtidseffekter eller forsinka effekter lite studert, men viktig for å forstå effekter i et økosystem.



Dagens grenseverdier brukt i konsekvensvurderinger er basert på data fra CONCAWE

Arter	Parameter	Resultat (mg/l)
Fisk (forskjellige)	LL50, 96 t	3700-80000 (6 studier)
Fisk (Salmo gaidrneri)	LL50, 96 t	258,291
Reke (Crangon crangon)	LL50, 96 t	27-119 (19 studier)
Evertebrat (Mysidopsis bahia)	LL50, 96 t	618
Evertebrat (Holmesimysis costata)	LL50, 96 t	39,5
Evertebrat (Palemonetes pugio)	TLm, 48 t	200-6000
Evertebrat (Mysidopsis almyra)	TLm, 48 t	37,5-63
Alge (Anabaena doliolum)	IL50, 15 dager	5,7

CONCAWE, 2001 (<http://www.concawe.be/>)

CONCAWE: The oil companies European association for environment, health and safety in refining and distribution

For fisk er testene utført på juvenil eller voksen fisk og ikke på larvestadiet.

 Noe som fører til at olje er tilsynelatende svært lite giftig for fisk.

Effekter på tidlig utvikling i sildelarver (Stillehavssild)

Ser effekter på:

- ødem i plommesekk
- ødem rundt hjerte
- kjevedeformiteter
- defekter i ryggvirvler
- svømmeevne

Effekten observert i det lave ppb området av total PAH dvs $\mu\text{g/l}$

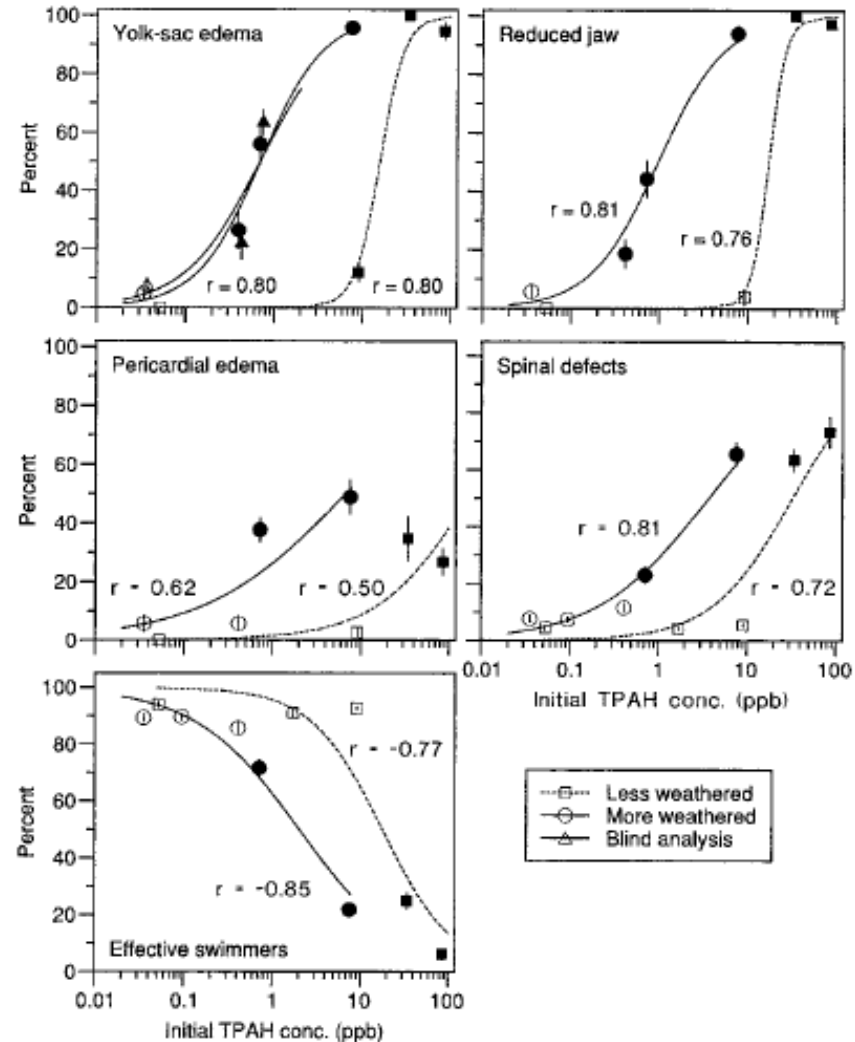
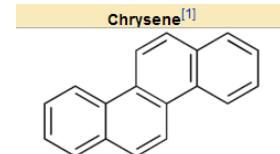
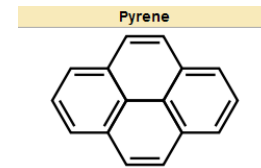
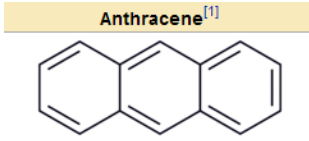
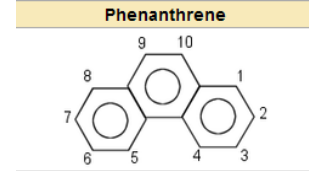
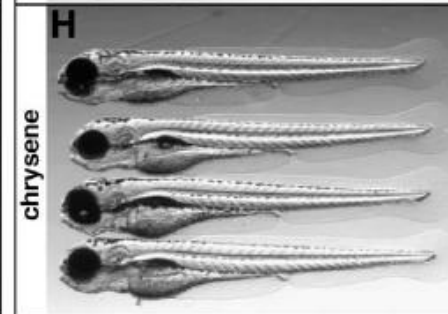
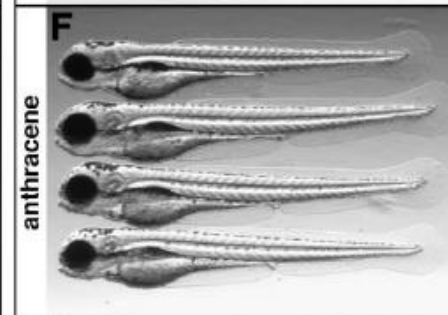
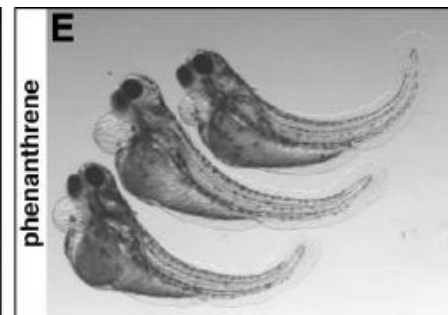
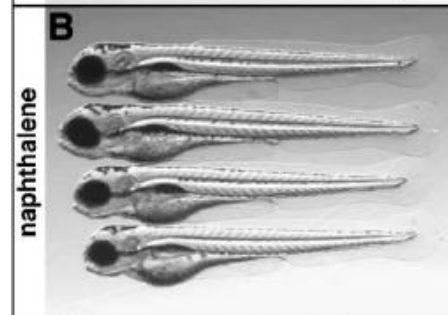
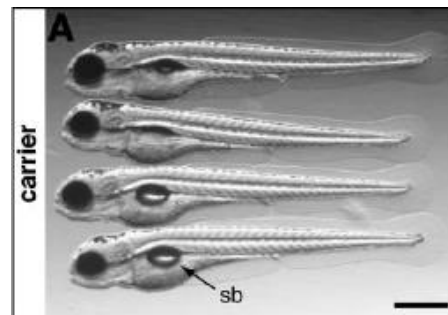
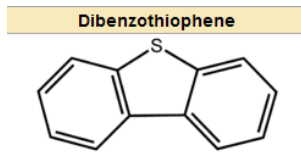
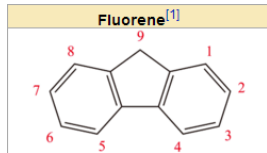
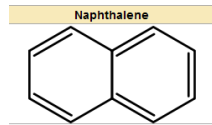


Fig. 5. Incidence of abnormalities and swimming ability as functions of initial total polynuclear aromatic hydrocarbon (TPAH) concentration. Incidence of yolk sac edema was verified by blind assessment in the more weathered experiment. Curve fits were estimated with logistic regression. Data displayed are means \pm SE; r equals estimated correlation coefficients. Solid symbols indicate significant differences from controls.

Effekter av ikke-alkylerte PAH på sebrafisk utvikling



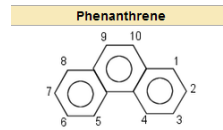
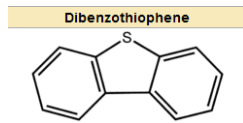
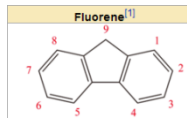
Incardona et al., Toxicol Appl Pharmacol 2004



Fig. 2. Effects of individual non-alkylated PAHs on zebrafish development. Shown are 4 dpf larva after exposure to (A) 0.2% DMSO, (B) 78 μ M naphthalene, (C) 60 μ M fluorene, (D) 54 μ M dibenzothiophene, (E) 56 μ M phenanthrene, (F) 56 μ M anthracene, (G) 5 μ M pyrene, and (H) 8.8 μ M chrysene. Swim bladder (*sb*) is indicated in A. Scale bar is 0.5 mm. Larvae shown are representative of at least three replicative experiments and approximately 25–100 treated embryos.

Giftig for utvikling av hjertet

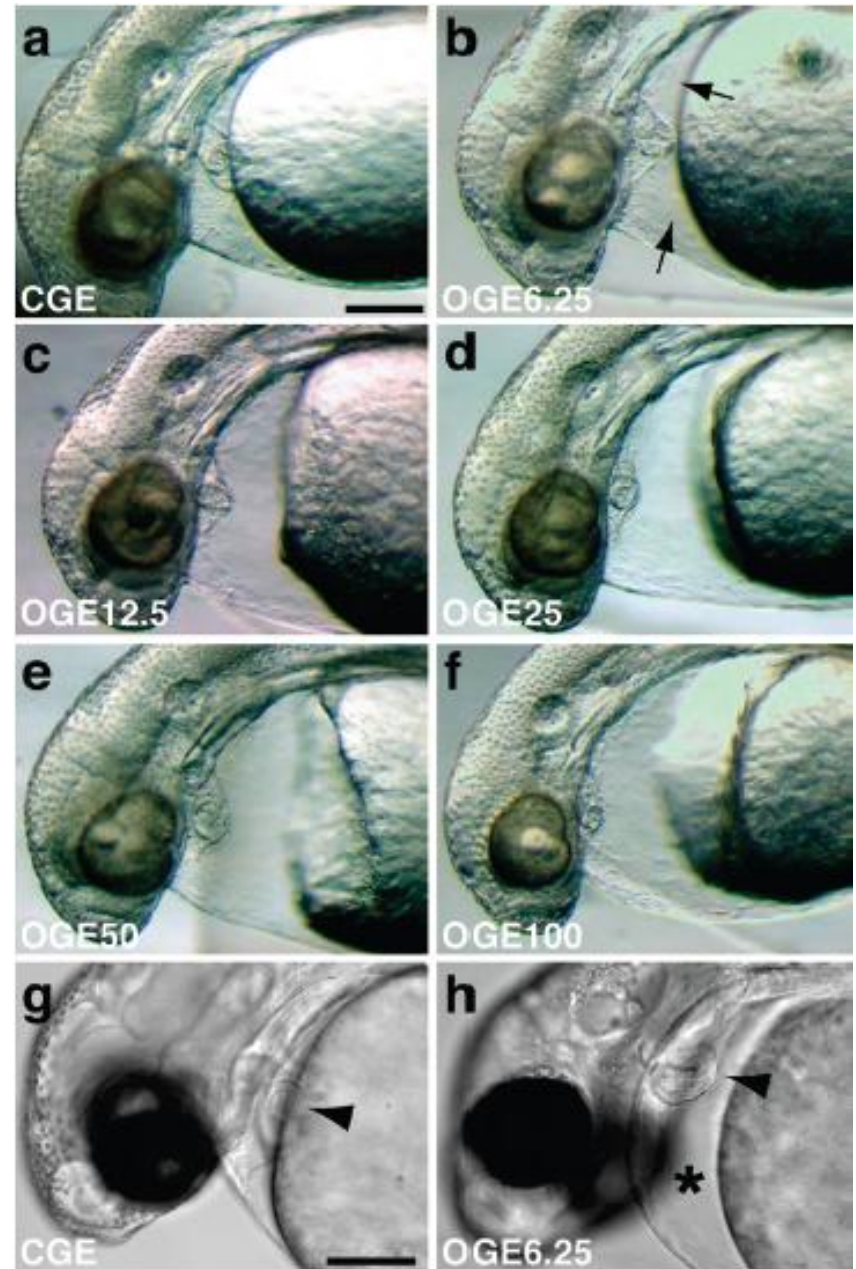
Noen av de forbindelsene det er mest av i forvitret råolje som de trisykliske PAH (fluoren, dibenzothiolen og fenantren) forstyrrer normal hjerteutvikling.



De mest følsomme indikatorene for eksponering av fiskeembryo til råolje

FIGURE 3. Pericardial edema in herring embryos exposed to oiled (OGE) or control (CGE) gravel effluent. Each image is representative of ~1000 embryos for each dose. (a–f) Dose-dependent pericardial edema after 6 days exposure (7 dpf). Arrows in (b) indicate increased pericardial space in embryo exposed to lowest OGE dose. Scale bar is 200 μ m. (g) and (h) Embryos after 10 days exposure (11 dpf) exposed to CGE or the lowest OGE dose. Hearts are indicated by arrows and pericardial edema is indicated by the asterisk. Scale bar is 200 μ m.

Incardona et al., EST 2009.



Effekter på tidlig utvikling i sildelarver (Stillehavssild): Giftigheten endrer seg over tid med forvitningsgrad

LOEC og EC50 verdier av TPAH i mindre og mer forvitret olje

Mindre forvitret olje Mer forvitret olje

Respons	LOEC	EC50	LOEC	EC50
Egg	34,3	53,3	7,61	i.u.
Larver	34,3	i.u.	0,72	i.u.
Skjelett			0,72	0,27
Ryggrad	34,3	33,5	0,72	3,60
Plommesekkødem	9,1	19,6	0,41	0,77
Pericardialt ødem	34,3	i.u.	0,72	3,53
Liten kjeve	34,3	22,3	0,41	1,00
Svømmeevne	34,3	18,4	0,72	2,44



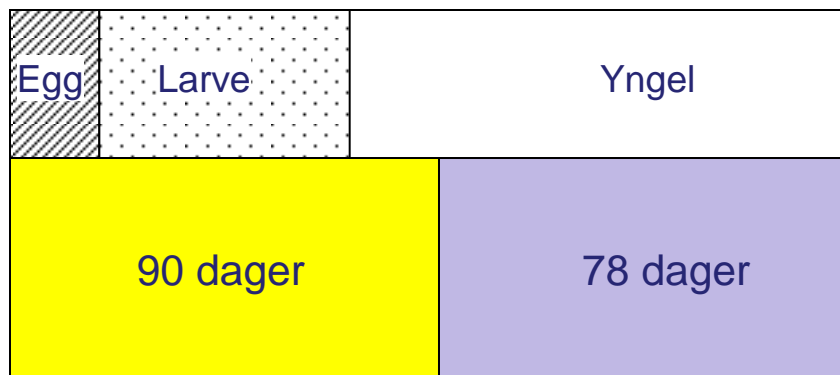
Torsk eksponert for produsert vann fra egg til larve- stadiet i 90 dager og gjennom tidlig yngelstadium (78 dager)



Torskelarve, 1 måned gammel



Yngel, 6 måneder gammel



Nord øst arktisk torsk (skrei)

Lys og temperatur som i Bergen

Etter eksponering ble fisken fulgt fram til gyting (2006)

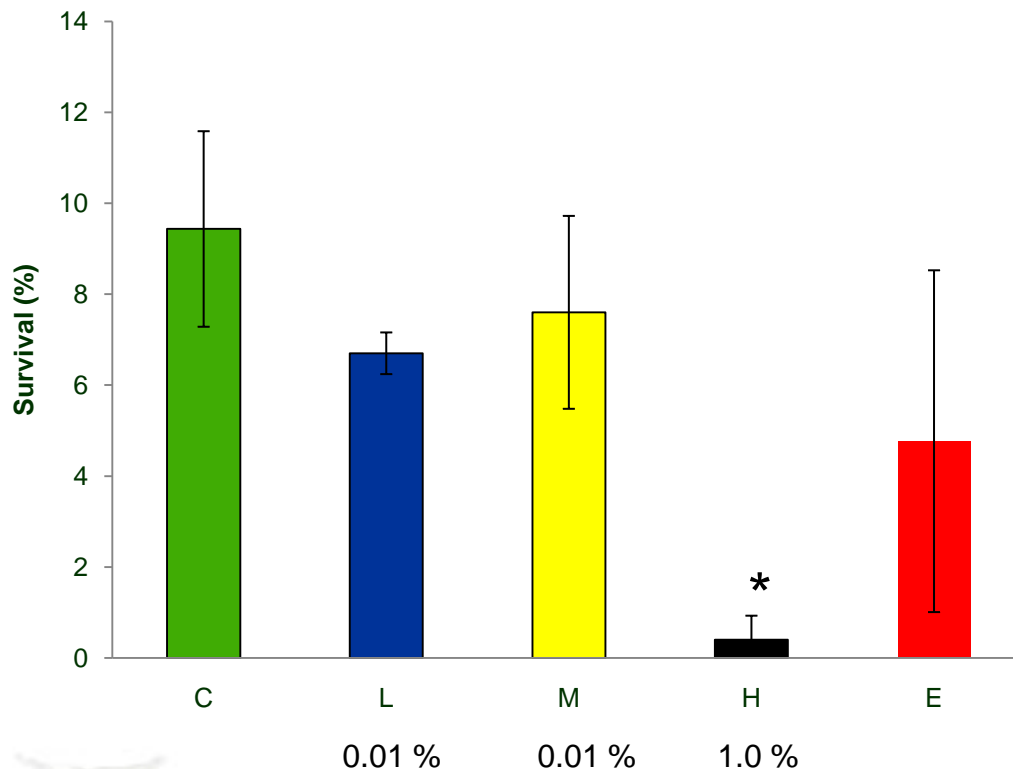


Oppsett for produsert vanns eksponering

Behandling	Fortynningsfaktor	Estimert avstand fra platform (m)
Høg (H)	1:100 (1 %)	0-50
Medium (M)	1:1000 (0.1 %)	50-1000
Lav (L)	1:10000 (0.01 %)	> 2000
17 β -østradiol	10 $\mu\text{g/l}$ 17 (10 ppb)	-
kontroll (C)	-	-

$\mu\text{g/l}$	PW	H	M	L
Phenol	4563	19	6,4	4,4
Σ Cresol	6969	27	4,3	1,3
Σ C2-Phenol	638	5,37	0,57	0,11
Σ C3-Phenol	206	2,33	0,25	0,05
Σ C4-Phenol	57	0,39	0,05	0,02
$\Sigma \geq$ C5-Phenol	6	0,09	0,04	0,01

Overlevelse etter eksponering til produsert vann fra egg til larvestadiet (90 dager)



Nesten 100 % dødelighet i gruppene som ble eksponert for 1 % produsert vann (H). Larvene overlevde ikke startforingsstadiet.

1 % produsert vann inneholdt: 2-6 ppb Σ PAH og 14 ppb C1-C6 alkylfenol.

Torskelarve 4 dager etter klekking

- Mangler pigmentering

Kontroll



1 % produsert vann



Torskelarve 14 dager etter klekking

- Tom mage i larver fra høyeste eksponeringsgruppe (1 % PW)
- Kjevedeformiteter

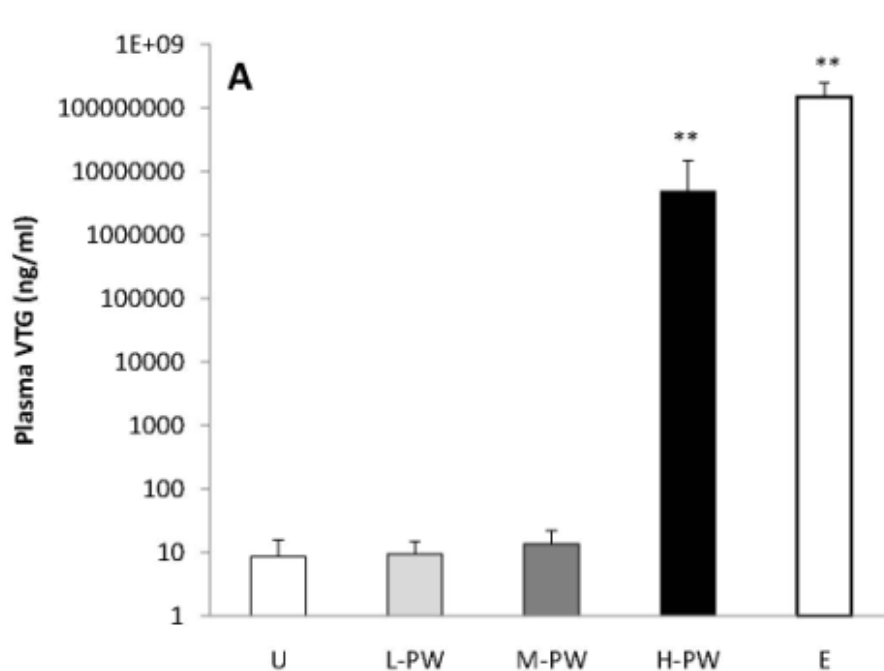
A Kontroll



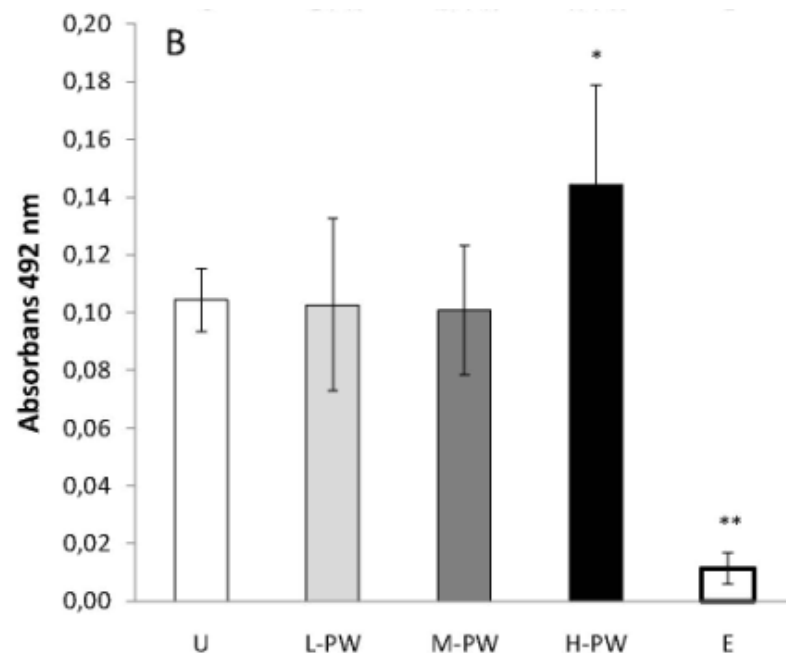
B 1 % produsert vann



Målinger av biomarkører for østrogene forbindelser (vitellogenin) og for plane PAH forbindelser (CYP1A) i yngel etter 78 dagers eksponering for produsert vann og estradiol



Vitellogenin nivå i plasma

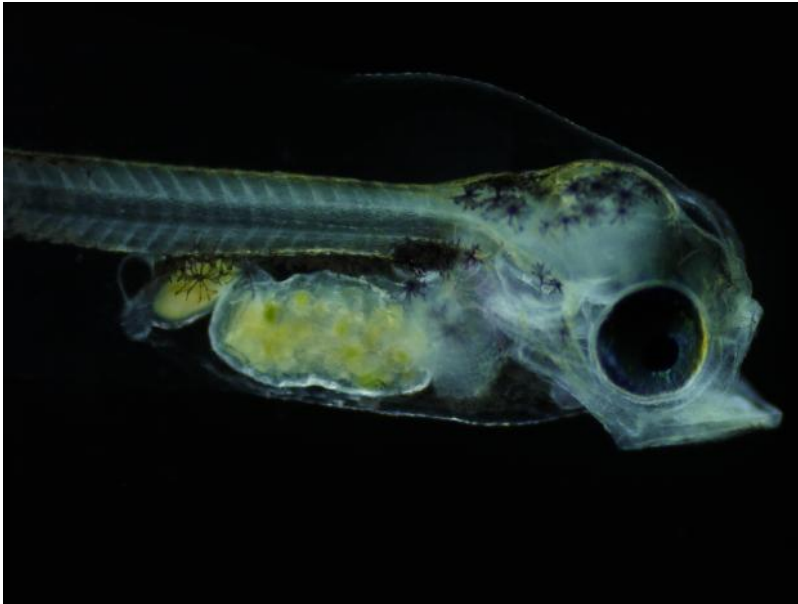


CYP1A nivå i lever

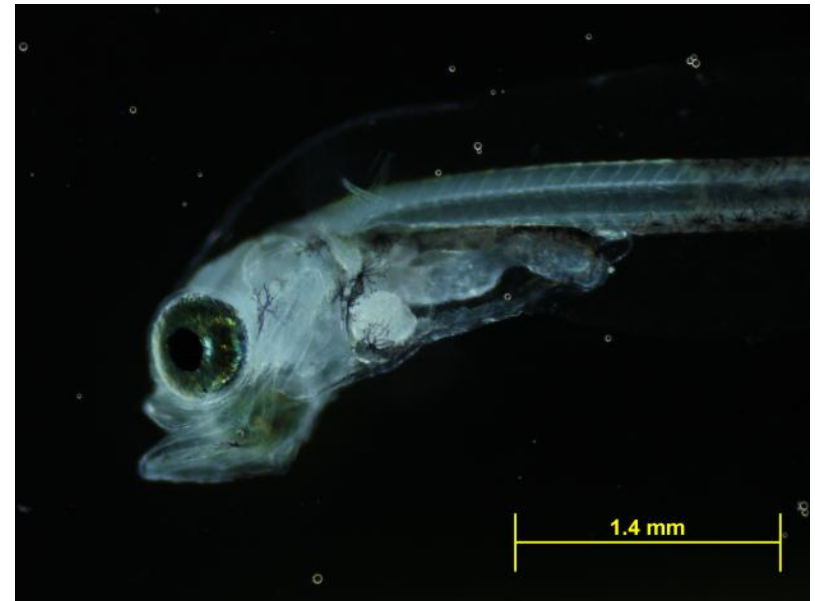


Torskelarver eksponert til olje (WAF med oljedråper), 4 dagers eksponering

Dag 10



Kontroll



1 ppm olje (8 ppb TPAH)

Larvene eksponert for 1 ppm olje klarte ikke å gjennomgå startforing.

Samarbeid mellom Sintef og HI



Konklusjon

- Effekter av oljekomponenter gir størst effekter på tidlige livsfaser av fiskelarver.
- Normal utvikling av fiskelarver er følsom for eksponering for 3-rings PAH (fluoren, dibenzothiofen og fenantren)
- Viss en bare bruker data fra akutte dødelighetstester kan en miste kunnskap om forsinkete effekter, som f. eks. det å gjennomgå kritiske faser som startforing.
- Viktig å inkludere mest mulig relevante data til bruk i risikovurderinger

