

# 4.4

## Langtidsvirkninger av produsert vann på torsk

Økt dødelighet, redusert vekt og feminisering er noen av effektene på torsk når egg og yngel eksponeres for høye konsentrasjoner av produksjonsvann fra oljeindustrien. I realistiske konsentrasjoner er effektene imidlertid ubetydelige. Disse resultatene fra langtidstudiene utført ved Havforskningsinstituttet siden 2001, kan bidra til å bedre risikovurderinger og etablere grenseverdier for framtidige utslipp.

Sonnich Meier

sonnich.meier@imr.no

Bjørn Einar Grøsvik

bjoern.einar.groesvik@imr.no

I 2005 ble det sluppet ut 150 millioner kubikkmeter produsert vann fra norsk sektor i Nordsjøen. Til sammen inneholdt dette vannet 3000 kubikkmeter olje, i tillegg til mange kjemikalier. Alkylfenoler (C4+) og PAH, som er de komponentene det har vært mest fokus på når det gjelder langtidseffekter på fisk, utgjorde henholdsvis 14 og 5 tonn i 2005. Fram mot 2012 er det ventet av produksjonsvannutslippene vil øke til 200 millioner kubikkmeter, for så å bli redusert til under 150 millioner kubikkmeter mot 2017. Det er viktig å studere om fisk som lever i Nordsjøen, blir utsatt for kronisk lavdose-eksponering fra disse utslippene og om mulige langtidseffekter kan påvises.

De tidlige livsstadiene til fisk kan være spesielt utsatte for produksjonsvann, fordi egg og larver driver passivt med havstrømmene og dermed ikke kan unngå forurenset vann. I tillegg er de tidligste livsstadiene også mer sårbare for oljeforurensning enn voksne fisk.

### Forstyrret kjønnsutvikling

Siden midten av 1990-tallet har hormonforstyrrende stoffer i miljøet fått stor oppmerksomhet. Det er påvist at en lang rekke kjemiske forbindelser kan etterligne hormoner eller på annen måte påvirke hormonbalansen slik at levende organismers reproduksjon blir forstyrret. Bekymringen har først og fremst gjeldt kjemikalier med østrogenhermende effekter, dvs. at

stoffene kan etterligne det kvinnelige kjønnsormonet. Kjønnsutvikling i fisk er genetisk bestemt, men prosessen styres i høy grad av kjønnsormoner. Det finnes "vinduer" i de tidlige livsstadiene der fisken er mer følsom for hormonell påvirkning, og eksponering for lave konsentrasjoner for hormonhermende stoffer kan få uopprettelige konsekvenser.

De første funnene av østrogenlignende stoffer i miljøet ble gjort i elveutløp i Storbritannia der man oppdaget hannfisk med gonader som inneholdt både sperm og egg. I tillegg hadde hannfisken svært høye nivåer av vitellogenin (VTG) i blodet, et protein som er spesifikt for hunnfisk og som blir brukt som opplagsnæring i eggene. Studier viste at hovedårsaken til denne hormonhermingen var utslipp av p-pillehormon fra kloakken sammen med østrogenlignende stoffer som nonylphenol fra industrien. Det foreligger også rapporter om tvekjønnethet i fisk fra åpent hav, som sverdfisk fra Middelhavet og sandflyndre fra Nordsjøen.

### Forsøk med torsk

Havforskningsinstituttet har siden 2001 gjennomført en rekke eksponeringsforsøk for å undersøke om tidlige livsstadier, dvs. egg, plommeseckklarver, larver og tidlig yngelfase hos torsk, har spesielle sårbare "vinduer" for eksponering for produsert vann. Et mål har vært å studere om hormonlignende stoff fra produksjonsvann kunne påvirke kjønnsdifferensieringen hos torsk.

I 2004 ble det utført to langtidforsøk. Det første innebar 90 dagers eksponering fra eggstadiet til tidlig larvestadium. Figur

**Figur 4.4.1**  
Torskelarve fire uker etter klekking ved temperatur på 5–6 °C.  
Four-week-old cod larva kept at a temperature of 5–6 °C.



Foto: Jon Vidar Helvik

**Figur 4.4.2**

Torskelarver 14 dager etter klekking. Larven i bilde (A) er fra kontrollgruppen, mens larven i bilde (B) er eksponert for 1 % produksjonsvann. Larvene eksponert for 1 % produksjonsvann hadde ikke mat i tarmene.

*Cod larva 14 days after hatching. The larva in panel A is from the (unexposed) control group, while the larva in panel B was exposed to 1 % produced water. The larvae exposed to 1 % produced water had no food in their gut.*



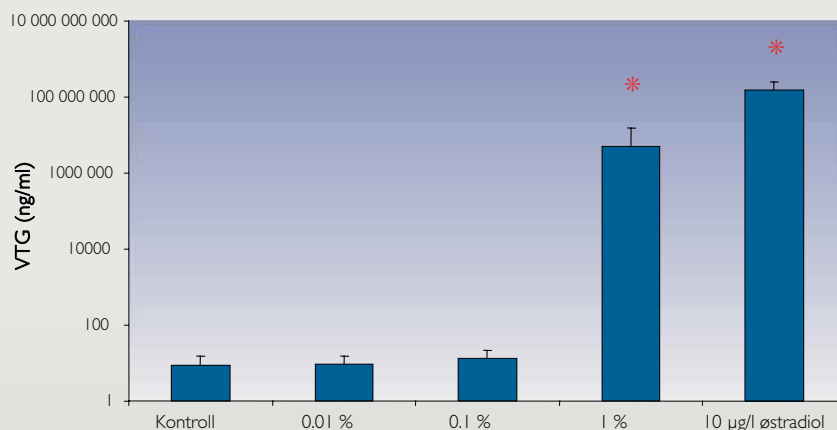
Foto: Gunnar Nyhammer

4.4.1 viser torskelarver fra dette stadiet. Det andre forsøket eksponerte torsken i 78 dager, fra tidlig larvestadium til yngelstadiet. En gruppe ble også eksponert for østrogen for å sammenligne responsen. Etter eksponeringene ble fisken overført til rent sjøvann og fulgt i to år fram til kjønnsmodning og gyting. En gruppe fisk fra hver behandling ble så brukt i gyteforsøk for å fange opp eventuelle effekter på neste generasjon.

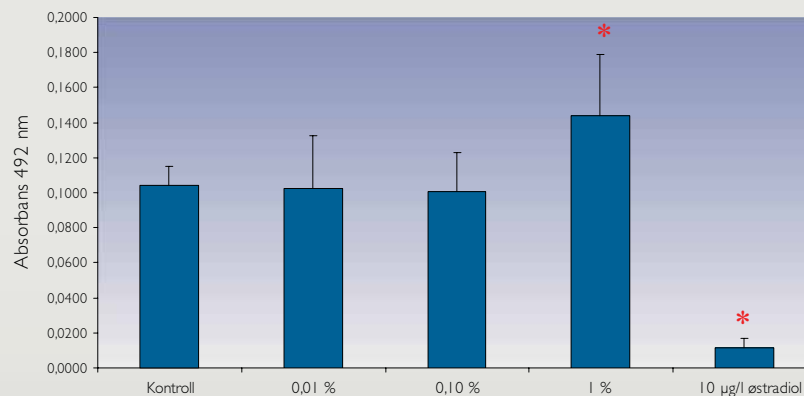
Resultatene viste at plommeseckklarvene var de mest følsomme for eksponeringene. Når torskelarver ble eksponert for produsert vann som var fortynnet 100 ganger, klarte de ikke å gjennomgå startføring, og alle larvene døde. Undersøkelser viste at tarmene deres var helt tomme (Figur 4.4.2). Når produksjonsvannet ble fortynnet til mer realistiske konsentrasjoner, 1000 eller 10 000 ganger, ble det ikke observert endringer i klekking, vekst eller overleving.

78 dagers eksponering fra larve- til yngelstadiet ga ingen økning i dødelighet eller forskjeller i vekst for noen av fortyningene (0,01–1 %). Vi fant imidlertid at nivået av VTG-proteinet i blodet økte kraftig etter eksponering til produksjonsvann fortynnet 100 ganger. Nivåene var likevel mindre enn etter eksponering for 10 µg/l østrogen (Figur 4.4.3). VTG er en følsom indikator på østrogenhermende forbindelser i fisk og andre vertebrater, og er mye brukt som mål på slik påvirkning. I leverprøver fra torskeyngel registrerte vi avgiftningenszymet CYP1A, som kroppen produserer for å kvitte seg med PAH og lignende forbindelser. Nivåene av CYP1A økte signifikant etter eksponering for 100 ganger fortynnet produksjonsvann, mens det minket etter østrogeneksponering. Vi fant ikke effekter på nivå av CYP1A når produksjonsvannet var fortynnet 1000 eller 10 000 ganger (Figur 4.4.4).

Etter eksponeringen ble fisken fulgt i to år fram til kjønnsmodning. Da ble det meste av fisken slaktet og gonadene undersøkt. Vi fant ingen tegn til feilutvikling på kjønnsorganene, testis eller ovarie, fra noen av

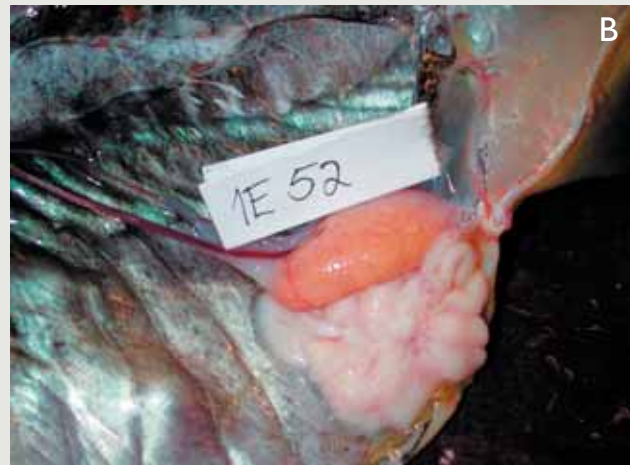
**Figur 4.4.3**

Målinger av VTG-nivå i torskeyngel viser signifikante forskjeller fra kontrollgruppen. VTG levels in cod larvae (exposed to 1 % produced water) are significantly higher than in the control group.

**Figur 4.4.4**

Nivå av avgiftningenszymet CYP1A i lever fra torskeyngel viser signifikante forskjeller fra kontrollgruppen. Levels of the detoxifying enzyme CYP1A in the livers of cod larvae (exposed to 1 % produced water) are significantly higher than in the control group.

Figur: Karen Anita A., UiB



**Figur 4.4.5**

A: Testis fra gyteklar hannfisk. B: Eksempel på hermafrodit. Den ene gonadeloben er ovarium med gyteklare egg, den andre loben er testis med rennende sperm. Fisken ble eksponert for 10 mg/l østrogen fra egg til tidlig yngelfase. C: Eksempel på testis karakterisert som tvekjønnet. Ovarieev ligger sammen med testisvev. Fisken ble eksponert for 10 mg/l østrogen fra larve- til yngelfasen.

A: Testis from male fish ready to spawn. B: Example of a hermaphrodite. One gonad lobe is actually an ovary with mature eggs, while the other lobe is a testis with mature sperm. The fish were exposed to 10 mg/l estrogen from eggs until the early larval stage. C: Example of testis from a fish characterized as intersex. Ovary tissue and testis tissue are found together. The fish were exposed to 10 mg/l estrogen from larval stage until early fry stage.

gruppene. Fra gyteforsøkene ble det registrert en svak nedgang i antall gytte egg på 7–19 % fra fisk eksponert for høyest dose produksjonsvann. Det ble imidlertid ikke funnet påvirkning på befruktningsprosent eller embryoutvikling.

Eksponering for 10 µg/l av det kvinnelige kjønnshormonet østradiol resulterte i unormal utvikling av testis, og vi observerte flere forskjellige morfologiske tegn på tvekjønnethet (Figur 4.4.5). 10 µg/l er en høy dose som skal vise oss hvordan kroppen reagerer på hormonforstyrrelser, og er ikke relatert til doser i naturen. Gonadosomatisk indeks (GSI), som er vekt av gonade i forhold til kroppsvekt, ble sterkt redusert i østrogeneksponert hannfisk. Effektene var sterkere når eksponeringen skjedde fra larve- til yngelstadiet enn fra egg- til larvestadiet. Gyteforsøkene viste at ingen egg ble befruktet fra den gruppen som ble eksponert for østrogen på yngelstadiet, og gruppen som ble eksponert for østrogen fra egg- til larvestadiet, hadde en 35 % nedgang i antall befruktete egg.

#### Bedre risikovurdering

Disse forsøkene viser altså at eksponering for realistiske konsentrasjoner (1:1000 og 1:10 000) av produksjonsvann i løpet av de tidlige livsstadier ikke påvirker overlevelse, vekst eller kjønnsdifferensiering hos torsk. Høye konsentrasjoner (1:100) fører til dødelighet på larvestadiet og gir østrogenhermende effekter ved yngelstadiet, i tillegg til å aktivere fiskens avgiftningsrespons med enzymet CYP1A. Eksponering for høye doser østrogen fører til redusert vekst og feminisering. Effektene etter østrogeneksponering ga sterkest utslag når de skjedde i perioden larve- til yngelstadiet.

Disse resultatene kan gi bedre grunnlag for risikovurdering av produksjonsvannsutslipp fordi de etablerer hvilke grenseverdier som gir en effekt. Per i dag brukes det hovedsakelig resultater fra studier av akutt forgiftning, mens langtidsstudier gir et langt sikrere datagrunnlag for modelleringsarbeid.

#### Long-term effects of produced water on cod

Increased mortality, reduced weight and feminisation are some of the effects seen when cod eggs and larvae are exposed to high concentrations of produced water from the oil industry. The effects are, however, insignificant at realistic concentrations. These results, from long-term studies conducted by the Institute of Marine Research since 2001, can help to improve risk assessment and to establish acceptable safe levels for future pollution.