

# Rognproduksjon hos berggylt

Ingrid Lein





Nofima er et næringsrettet forskningsinstitutt som driver forskning og utvikling for akvakulturnæringen, fiskerinæringen og matindustrien.

Nofima har om lag 350 ansatte.

Hovedkontoret er i Tromsø, og forskningsvirksomheten foregår på fem ulike steder: Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra og Tromsø

**Hovedkontor Tromsø:**

Muninbakken 9–13  
Postboks 6122 Langnes  
NO-9291 Tromsø

**Ås:**

Osloveien 1  
Postboks 210  
NO-1431 ÅS

**Stavanger:**

Måltidets hus, Richard Johnsensgate 4  
Postboks 8034  
NO-4068 Stavanger

**Bergen:**

Kjerreidviken 16  
Postboks 1425 Oasen  
NO-5844 Bergen

**Sunndalsøra:**

Sjølseng  
NO-6600 Sunndalsøra

**Felles kontaktinformasjon:**

Tlf: 02140  
E-post: [post@nofima.no](mailto:post@nofima.no)  
Internett: [www.nofima.no](http://www.nofima.no)

**Foretaksnr.:**

**NO 989 278 835 MVA**

# Rapport

ISBN: 978-82-8296-367-1 (trykt) ISBN: 978-82-8296-368-8 (pdf) ISSN 1890-579X	
<i>Tittel:</i> <b>Rognproduksjon hos berggylt</b>	<i>Rapportnr.:</i> <b>12/2016</b>
	<i>Tilgjengelighet:</i> <b>Åpen</b>
<i>Forfatter(e)/Prosjektleder:</i> Ingrid Lein	<i>Dato:</i> 4. mars 2016
<i>Avdeling:</i> Produksjonsbiologi	<i>Ant. sider og vedlegg:</i> 7
<i>Oppdragsgiver:</i> Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond (FHF)	<i>Oppdragsgivers ref.:</i> FHF # 900997
<i>Stikkord:</i> Berggylt, stamfisk, rognproduksjon, limlag, melke, GnRH	<i>Prosjektnr.:</i> 11023
<i>Sammendrag/anbefalinger:</i> Se kapittel 1 for sammendrag.	
<i>English summary/recommendation:</i> Se kapittel 1.	

## **Innhold**

<b>1</b>	<b>Sammendrag.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Innledning.....</b>	<b>2</b>
2.1	Faglig bakgrunn for at prosjektet ble igangsatt.....	2
2.2	Prosjektets omfang.....	2
2.3	Prosjektorganisering (roller/ansvar: prosjektgruppe, styringsgruppe, andre?).....	2
<b>3</b>	<b>Problemstilling og formål .....</b>	<b>3</b>
3.1	Effektmål .....	3
3.2	Resultatmål.....	3
<b>4</b>	<b>Prosjektgjennomføring.....</b>	<b>4</b>
4.1	Beskrivelse av metodikk, og hvorfor denne er valgt .....	4
4.2	Gjennomføring av prosjektet .....	5
<b>5</b>	<b>Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon .....</b>	<b>7</b>
<b>6</b>	<b>Leveranser .....</b>	<b>7</b>

# 1 Sammendrag

Prosjektet er en videreføring av aktiviteter på rognproduksjon av berggylt som ble startet i FHF-prosjektet LeppeProd (2011-2013). Målet med prosjektet som presenteres i denne rapporten var å bidra til en effektiv og forutsigbar produksjon av kvalitetsrogn. Vi ønsket å utvikle en metode for induksjon og synkronisering av gyting hos berggylt ved hormonbehandling (GnRH). Planen var at vi i prosjektet skulle ferdigstille en metode for å eliminere limlaget som danner seg rundt eggene i kontakt med sjøvann. Dette gir mer fleksible inkubering av rogn, og mer effektiv desinfisering. Vi skulle også klarlegge hvor mange spermier/egg som er nødvendig for å oppnå god befruktning hos berggylt, hvor lenge fortynnet melke kan kjølelagres før befruktningsevnen reduseres, og om melke fra berggylt er egnet for cryopreservering. Stamfisk fanget i 2011 ga dessverre rogn av dårlig kvalitet i 2014. Fisken ble slaktet høsten 2014, og ny stamfisk ble tatt inn i 2015. Fisken var fanget på samme sted og tid som i 2011, og transportert og behandling etter mottak foregikk også som i 2011. Til tross for dette var det liten eller ingen gyting hos hunfisken og hanfisken produserte små volum melke med lav tetthet av spermier. Vi antar dette skyldes at fisken modnet sent på grunn av uvanlig lave sjøtemperaturer. Vi vet fra andre arter at modning hos villfanget stamfisk kan stoppe opp på grunn av stress dersom fisken tas inn for tidlig, noe som kan ha skjedd i 2015. På grunn av disse problemene var det ikke mulig å gjennomføre de planlagte aktivitetene, og i enighet med FHF ble prosjektet avsluttet ved årsskiftet 2015/2016.

## *English summary:*

This project was a continuation of some of the activities on egg production in Ballan wrasse initiated in the FHF-project LeppeProd (2011-2013). The goal of the present project was to contribute to an efficient and predictable production of high quality Ballan wrasse eggs. We wanted to develop a method for induction and synchronization of spawning in Ballan wrasse using hormone injections (GnRH). The plan was also to finalize a method for elimination of the sticky layer developing on the egg surface in contact with seawater. Elimination of the sticky layer gives more flexibility with regard to incubation methods and, more efficient egg disinfection. The last task was to clarify how many sperms/egg are needed to obtain high fertilization rates in Ballan wrasse, how long can sperm be stored cold (3-4°C) without reduction in fertilization and, investigate if Ballan wrasse milt is suited for cryopreservation. Unfortunately, the brood stock caught in 2011 gave poor quality eggs when the project started in 2014. Therefore, the brood stock was slaughtered during autumn 2011, and new brood stock was brought in June 2015. The new stock was caught at the same location and time as in 2011 and, transport and treatment after arrival to Nofima was similar to what was done in 2011. However, during June 2015, only a few, or none, females spawned naturally and the males produced small volumes of milt with very low sperm densities. We assume this happened because the brood stock matured late due to extraordinary low seawater temperatures in 2015. From others we know that the maturation in wild caught brood stock can stop due to stress if the fish is caught too early. Due to these problems, we were not able to carry out the planned activities. Thus, in agreement with FHF we terminated the project at the end of 2015.

## **2 Innledning**

### **2.1 Faglig bakgrunn for at prosjektet ble igangsatt**

Rensefisk anses som et viktig middel for å kontrollere antall lakselus i merdene. Næringen har lenge benyttet seg av villfanget rensefisk, men bruk av oppdrettet rensefisk vil gi bedre smittekontroll, og tilgang til rensefisk av ønsket størrelse uavhengig av fangstrestriksjoner. I tillegg kan bruk av oppdrettet rensefisk være positivt for næringens omdømme fordi en unngår overfiske av villfisk. Oppdrett av berggylt som rensefisk startet i hos Marine Harvest i 2009. I FHF-prosjektet LeppeProd, som gikk i perioden 2011-2013, samarbeidet flere FoU-institusjoner for å få mer grunnleggende kunnskap om alle livsstadier hos berggylt. Forutsigbar tilgang på kvalitetsrogn, og eliminering av limlaget rundt rogn er viktige faktorer for en effektiv produksjon av berggylt. I regi av LeppeProd ble det gjort mye innledende arbeid på dette området, men det gjensto en del forsknings- og utviklingsarbeid før prosedyrene kan implementeres i kommersiell produksjon av berggylt. Prosjektet som presenteres i denne rapporten ble derfor igangsatt som en videreføring av arbeidet som ble startet i LeppeProd på gyting hos berggylt og eliminering av limlag på rogn.

### **2.2 Prosjektets omfang**

Prosjektet har hatt en ramme på 1 820 000 kroner.

Varigheten på prosjektet var i utgangspunktet fra juli 2014 til 31. desember 2014. Det ble imidlertid søkt om overføring av prosjektmidler (1 650 000 kroner) til 2015, noe som ble innvilget av FHF. Ny prosjektslutt ble satt til 31.12.2015.

### **2.3 Prosjektorganisering (roller/ansvar: prosjektgruppe, styringsgruppe, andre?)**

Nofima har vært prosjektleder, og prosjektet har hatt en styringsgruppe utnevnt av FHF.

#### *Prosjektgruppe:*

Seniorforsker Ingrid Lein, Nofima (prosjektleder)

Seniorforsker Helge Tveiten, Nofima

Seniorforsker Synnøve Helland, Nofima

FoU-koordinator Inger Synnøve Grevle, Cryogenetics as

Markedssjef Katarina Nortun Ruud, Cryogenetics as

#### *Styringsgruppe:*

Espen Grøtan, Marine Harvest

Ole Cristian Norvik, Marine Harvest, senere erstattet av Olav Breck

Halvard Hovland, Havlandet Marin Yngel

Lars Jørgen Ulvand, Nordland Rensefisk

### **3 Problemstilling og formål**

#### **3.1 Effektmål**

En effektiv og forutsigbar produksjon av kvalitetsrogn er en forutsetning for en lønnsom produksjon av berggylt. Prosjektets mål var å bidra til en forutsigbar gyting av kvalitetsrogn og –melke hos berggylt i oppdrett. Utvikling av denne type prosedyrer er tidkrevende, og derfor kostbar. Det var derfor planlagt å utvikle gode prosedyrer i FoU-skala og at resultatene skulle komme næringen til nytte fortløpende.

#### **3.2 Resultatmål**

Prosjektet hadde tre resultatmål:

- a) Utvikle metode for å bestemme modningsstatus hos hunnfisk, klarlegge optimal modningsstatus for behandling med GnRH, og klarlegge eventuelle effekter av GnRH-behandling på utvikling av egg og larver.
- b) Avklare om eliminering av limlaget påvirker utviklingen av egg og larver, klarlegge om det finnes enklere og billigere alternativer til proteasebehandling for eliminering av limlaget, og til sist etablere en protokoll som gir god befruktning og normal utvikling av egg og larver.
- c) Klarlegge hvor lenge fortynnet melke kan kjølelagres, klarlegge hvordan cryopreservering av melke påvirker befruktningsresultatet, og klarlegge hvor mange spermieceller som er nødvendig for å oppnå god befruktning.

## 4 Prosjektgjennomføring

### 4.1 Beskrivelse av metodikk, og hvorfor denne er valgt

#### *AP1 Induksjon og synkronisering av gyting ved bruk av sluttmodningshormon (GnRH)*

I LeppeProd klarte en relativt enkelt å stryke både rogn og melke fra noen individer av berggylt, men vi fant ingen regulære gyterytmene selv om dette er en porsjonsgyter. I tillegg slipper hannfiskene svært små volum melke. Hos stresset fisk kan sluttmodning av egg og melke påvirkes negativt. Villfanget stamfisk er ofte stresset, og det kan ta flere generasjoner før fisken er tilstrekkelig domestisert til at den gyter normalt. Stimulering og synkronisering av gyting kan derfor være nødvendig for å sikre god tilgang på rogn. Behandling med syntetisk GnRH benyttes med godt resultat til mange fiskearter. I LeppeProd ble det gjort innledende forsøk med behandling med GnRH som ga varierende resultat fra massiv spontan gyting til nesten ingen effekt i forhold til ubehandlet kontrollgruppe. Det var derfor behov for mer kunnskap om hva som er egnet tidspunkt for injisering med GnRH. Denne arbeidspakken hadde tre aktiviteter:

- a) Bestemmelse av modningsgrad ved bruk av biopsi, hvor en tar ut en prøve av oocytter, farger disse og studerer hvor stor andel av oocytene som er modne. Bestemmelsen er basert på tidligere arbeid med vill fisk av Muncaster\* (2008). Basert på biopsieresultater injiseres fisk med ulik modningsstatus med GnRH. Deretter følges fisken opp med forsøk på stryking av rogn og melke gjennom døgnet etter injeksjon. Kontrollgruppen injiseres med fysiologisk sjøvann.
- b) Effekten av GnRH-behandlingen på utvikling av egg og larver følges fram til klekking, og sammenlignes med utvikling av egg og larver fra kontrollgruppen.

#### *AP2 Eliminering av limlag på rogn*

Berggylt gyter rogn som synker og fester seg til underlaget og hverandre ved hjelp av et limlag som dannes på utsiden av rogn umiddelbart etter at den kommer i kontakt med sjøvann. I dag samles rogn på matter som legges i gytelarene. Mattene med rogn henges deretter vertikalt i klekkekare. Både matta og rogn er forurensset fra karet, og den vertikale plasseringen av mattene i klekkekarene hindrer optimal vannstrøm i karene. Det er også vanskelig å desinfisere rogn effektivt. Egg med limlag er kjent fra andre arter som steinbit i sjøvann og karpe i ferskvann.

I LeppeProd ble det gjort innledende forsøk med ulike metoder for enten å fjerne limlag fra befruktet rogn eller hindre utvikling av limlag før befruktning testet. Dette omfattet tilsetning av melkeprotein, leire og proteasebehandling. Best befruktningsresultat ble oppnådd ved proteasebehandling før befruktning, men en hadde ikke anledning til å gjennomføre klekkforsøk i dette prosjektet. Vi lyktes ikke med å fjerne limlaget etter befruktning og tilsetning av saltvann selv om dette er beskrevet fra Skottland.

Arbeidspakken hadde tre aktiviteter:

- a) Følge rogn som behandles med protease før befruktning gjennom klekking for å klarlegge om behandlingen påvirker klekkesultatet.
- b) Gjennomføre nye forsøk med alternative metoder som behandling med melkeprotein, ananasjuice eller leire for å klarlegge om enklere og billigere metoder for eliminering av limlaget kan erstatte behandling med protease.



- c) Utvikle en protokoll for fjerning av limlag basert på resultatene under a) og b).

#### *AP3 Kort og langtidslagring av melke*

Enkelte hannfisk av berggylt kan slippe større mengder melke, men de fleste slipper svært små volum, eller ingen melke. Melken ser imidlertid ut til å være svært effektiv, og vi har oppnådd befruktningsresultater opp mot 100 %. Det kan derfor være hensiktsmessig å fortynne melken, og enten lagre den ved kjølig eller cryopreservere melken. I LeppeProd ble det gjort forsøk som viste at 5 dager lagring ikke hadde negativ effekt på befruktningsresultatet. Det ble ikke tid til å teste kjølelagring i mer enn 5 dager, eller cryopreservering.

Arbeidspakken hadde tre aktiviteter:

- a) Fortynning og lagring av melke i opptil tre uker. Befruktning av rogn strøket på ulike tidspunkt gjennom denne perioden for å klarlegge hvor lenge melken kan lagres.
- b) Melke fra flere hanner fortynnes og cryopreserveres (flytende nitrogen). Melke høstes ved at hannfisk avlives, gonaden dissekteres ut, moses, siles og fortynnes med en fysiologisk løsning. Cryopreservering utføres i samarbeid med Cryogenetics as på Hamar. Cryopreservert melke testes i befruktningsforsøk med strøket rogn hos Nofima på Sunndalsøra.
- c) Behov for spermier/egg for å oppnå god befruktning skal testes ved å befrukte samme volum rogn med ulike fortynninger av melke. Antall spermier/volum bestemmes ved bruk av et fotometer. Befruktningsprosent benyttes som mål for suksess.

## **4.2 Gjennomføring av prosjektet**

Prosjektet ble startet sommeren 2014, og vi benyttet villfanget stamfisk som hadde stått hos Nofima siden juni 2011. Fisken gyttet normalt i perioden 2011-2013. Når dette prosjektet startet ga imidlertid fisken svært dårlig rogn ved forsøk på stryking sommeren 2014. Det var også få fisk som slapp rogn naturlig i stamfiskkarene sammenlignet med årene før. Vi konkluderte med at fisken trolig var «slitne» etter å ha vært håndtert mye de tre foregående årene. Sammenlignet med stamfisk som kun gyter naturlig i karene ble vår fisk håndtert relativt ofte. Det ble derfor søkt FHF om overføring av resterende midler til 2015, noe som ble innvilget. Stamfisken ble deretter avlivet.

I begynnelsen av juni 2015 ble det tatt inn 400 stk. ny villfanget stamfisk. Fisken var fisket i Flatanger i Nord-Trøndelag av de samme fiskerne som fanget stamfisk for oss i 2011. Fisken var også fanget i samme tidsperiode på våren som i 2011, og ble transportert med bil til Sunndalsøra. Ved mottak fulgte vi samme prosedyre som i 2011, dvs. at fisken ble behandlet med formalin mot ektoparasitter dagen etter ankomst. Deretter fikk den stå i ro en uke før den ble kjønnsbestemt, veid, målt, individmerket og behandlet med antibiotika og jod-løsning for garnskader. Ved denne gjennomgangen så fisken noe mer medtatt ut enn ved inntaket i 2011.

I 2011 begynte fisken å gyte naturlig ca. en uke etter ankomst Sunndalsøra, men i 2015 var det ikke antydning til gyting i karene på samme tidspunkt. En uke etter antibiotikabehandlingen gjorde vi forsøk på å stryke rogn fra hunnfisk, men fisken var langt fra moden. Vi fikk bare ut umodne oocytter, og hannene slapp ikke melke. Vi slaktet en del hanner, og dissekerte ut gonadene fra disse for frysing av melke hos Cryogenetics på Hamar. Gonadene viste seg å være nesten tørre, dvs. at fisken ikke var moden. Vi lot derfor fisken gå uten forstyrrelser i ytterligere 2 uker. I løpet av denne perioden slapp noen hunner rogn i løpet av en helg. De få andre hunnene som tilsynelatende var gytemodne ga mye

død rogn når vi gjorde forsøk på stryking. Hannene ga rennende melke på dette tidspunktet, men ved telling av spermietthet hos Cryogenetics viste det seg at det nesten ikke var spermceller i melken, dvs. nesten bare spermvæske.

Dette betydde at vi heller ikke i 2015 var i stand til å gjennomføre de planlagte forsøkene. Vi har diskutert problemet internt i Nofima, med andre forskningsmiljø og med fiskere som driver fiske av leppefisk. Våren 2015 var sjøtemperaturene i Midt-Norge (nord for Stadt) uvanlig lave. Johan Solgaard, som har fisket leppefisk i mange år, gjorde forsøk på å fiske stamfisk til oss med ruser i Romsdalsfjorden i første halvdel av juni, men fikk da bare småfisk, noe som er uvanlig på denne tiden. Han mente at kjønnsmoden fisk ennå ikke var kommet opp fra dypere vann. Vi ba også Thor Gunnar Oterlei, som fisker stamfisk av rognkjeks for oss på Averøy, om å gjøre forsøk på å fiske berggyllt til oss. Han fikk mye stor berggyllt i siste halvdel i mai, men deretter forsvant den igjen. I juni fikk han bare noen få fisk når han hadde garn ute, noe som også er uvanlig.

Fisken fra Flatanger ble fanget i andre halvdel av mai. En vet fra andre arter som f.eks. laks, at det er viktig at vill stamfisk tas inn akkurat i det de skal til å gyte. Dersom fisken blir tatt for tidlig stopper ofte modningen opp pga. stress. Det kan være dette som skjedde med vår stamfisk ettersom den ble tatt på samme tid som i 2011, men trolig har modnet senere på grunn av de lave sjøtemperaturene. Oterlei fortalte oss 2. august 2015 at han måtte kaste ut ca. 70 % av leppefisken fordi den fremdeles var i gyting, noe som viser at gyteperioden var ca. en måned forsinket.

Fordi vi ikke var i stand til å gjennomføre de planlagte forsøkene hos Nofima på Sunndalsøra ble det sett på muligheten for å gjøre noe av arbeidet hos Marine Harvest i Øygarden. Fordi de fikk problemer i eget anlegg ble dette ikke mulig å gjennomføre. Høsten 2015 fikk vi økt dødelighet på stamfisken hos Nofima pga. Atypisk furunkulose. All stamfisk ble derfor slaktet høsten 2015, og ble enige med FHF om å avslutte prosjektet ved årsskiftet.

## **5 Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon**

På grunn av problemene som er beskrevet under 4) har vi dessverre ingen konkrete resultater å rapportere.

## **6 Leveranser**

På grunn av problemene beskrevet under 4) har ikke prosjektet levert de planlagte leveransene.

