Rapport 7/2015 • Utgitt mars 2015

# Kan nivå av EPA og DHA i fôr i tidlige livsfaser påvirke laksens helse og sammensetning i seinere livsfaser?

FHF-prosjekt 900770 – delrapport 1

Bente Ruyter, Tone-Kari Østbye, Marte Avranden Kjær, Anna Sonesson, Turid Mørkøre og Gerd Marit Berge

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

**Felles kontaktinformasjon:**
Tlf: 02140
E-post: post@nofima.no
Internett: www.nofima.no

**Foretaksnr.:**
**NO 989 278 835**

**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-5828 Bergen

**Sunndalsøra:**
Sjølseng
NO-6600 Sunndalsøra

# Rapport

ISBN: 978-82-8296-265-0 (trykt)
ISBN: 978-82-8296-266-7 (pdf)
ISSN 1890-579X

| | |
|---|---|
| *Tittel:*<br>**Kan nivå av EPA og DHA i fôr i tidlige livsfaser påvirke laksens helse og sammensetning i seinere livsfaser?** | *Rapportnr.:*<br>7/2015<br>*Tilgjengelighet:*<br>**Åpen** |
| *Forfatter(e)/Prosjektleder:*<br>Bente Ruyter, Tone-Kari Østbye, Marte Avranden Kjær, Anna Sonesson, Turid Mørkøre og Gerd Marit Berge | *Dato:*<br>16. mars 2015 |
| *Avdeling:*<br>Ernæring og forteknologi | *Ant. sider og vedlegg:*<br>36+1 |
| *Oppdragsgiver:*<br>Fiskeri- og Havbruksnæringens Landsforening, Oslo | *Oppdragsgivers ref.:*<br>FHF # 900770 |
| *Stikkord:*<br>Tidlig programmering, genetikk, fôring, omega-3 | *Prosjektnr.:*<br>10109 |
| *Sammendrag/anbefalinger:*<br>Se neste side. | |
| ***English summary/recommendation:*** | |

## Sammendrag

Et viktig mål i dette prosjektet var å studere potensialet for å påvirke EPA og DHA nivået i muskel i slaktefisk ved fôring med ulike nivåer av EPA og DHA i tidlige livsfaser; henholdsvis før smoltifisering og rett etter smoltifisering. Hypotesen er at ernæringsmessig programmering i tidlige livsfaser kan påvirke fiskens lipidmetabolisme i seinere livsfaser.

Startfôringsperioden (fram til 40 gram fiskestørrelse) gav ikke signifikant utslag på fettsyresammensetningen av laksefilet ved 4 kg. Fôring i perioden fra smoltifisering og opp til 400 gram derimot, hadde signifikant betydning for innhold av EPA og DHA i filet etter 13 måneder i sjø og 3,5 kg økning i kroppsvekt.

To andre viktige mål i dette prosjektet var å identifisere eventuelle langtidseffekter mellom Høy og Lav desaturase familier på fettdeponering, EPA og DHA nivå i filet, kvalitet og utvalgte helsemarkører.

Våre data viser at genetisk bakgrunn hadde betydning for fettfordelingen i fiskekroppen, med spesielt stor betydning for utvikling av fettlever og fordeling mellom innvollsfett og muskelfett. Høy desaturase gruppen viste høyere kapasitet til EPA og DHA syntese i tidlige livsfaser, lavere forekomst av fettlever og mer fett fordelt til muskel sammenlignet med Lav desaturasegruppen. Den genetiske pre-disponeringen til høyere kapasitet til EPA og DHA syntese i Høy desaturase familien sammenlignet med Lavdesaturasefamilien i tidlig livsfase, synes å forsvinne når dietter med høyt nivå av planteolje ble benyttet i vekstfasen i sjø. Dette resulterte i ingen forskjell i prosent EPA + DHA i filet til fisk på 4 Kg mellom de genetiske gruppene, men på grunn av det høyere fettnivået i muskel i Høydesaturase gruppen var nivået av EPA + DHA i gram per 100 gram muskel signifikant høyere i denne gruppen. I tillegg til betydelige effekter på hele kroppens lipid metabolisme, fant vi også helseforskjeller mellom Høy og Lavdesaturasegruppene som muligens kan være relatert til forskjeller i fettmetabolisme. Høydesaturasegruppen hadde bl.a. signifikant lavere dødelighet etter sjøvannsoverføring. Det var ingen forskjeller i muskelkvalitet mellom de genetiske gruppene i slaktefisk.

## English summary

An important goal of this project was to study the potential to influence EPA and DHA levels in muscle in harvest size fish by feeding different levels of EPA and DHA in early life stages; before smoltification and after smoltification respectively. The hypothesis is that nutritional programming in early life stages may affect lipid metabolism in later stages of life.

Our study showed that the start feeding period (up to 40 grams) did not give significant effect on fatty acid composition of salmon fillets when the fish reached 4 kg. Feeding during the period from smoltification to 400 grams, however, had a significant effect on the levels of EPA and DHA in fillets after 13 months at sea and 3.5 kg increase in fish body weight.

Two other goals was to identify any long-term effects between High and Low desaturase families on fat deposition, EPA and DHA levels in fillets, quality and selected health markers. Our data shows that genetic background of the fish had significant effect on fat distribution in fish body, with particular importance for the development of fatty liver and distribution of fat between internal organs and muscle. High desaturase group showed higher capacity to EPA and DHA synthesis in early life stages, lower incidence of fatty liver and more fat distributed to muscle compared with Low desaturase group.

The genetic pre-disposition to higher capacity to EPA and DHA synthesis in High desaturase family compared with Low desaturase family, seems to disappear when diets with high levels of plant oil was used in the growth phase in the sea. Due to the higher fat level in muscle in High desaturase group, the level of EPA + DHA in grams per 100 grams of muscle was significantly higher in this group than in Low desaturase group. The High desaturase group had significantly lower mortality after seawater transfer. There were no differences in muscle quality between the genetic groups in harvest size fish.

# Innhold


**1 Innledning ... 1**

1.1 Bakgrunn for prosjektet ... 1
1.2 Organisering ... 2

**2 Målsetting ... 4**

**3 Material og metode ... 5**

3.1 Forsøksfisk og fôringsforsøk ... 5
3.2 Fôrsammensetning i ulike livsfaser ... 6
3.3 Analyser ... 11

3.3.1 Genuttrykk ... 11
3.3.2 Analyse av kjemisk sammensetning i fisk ... 11
3.3.3 Kvalitetsanalyser ... 11
3.3.4 Statistikk ... 11

**4 Resultat og diskusjon ... 12**

4.1 Startforing ... 12

4.1.1 Vekst ... 12
4.1.2 Fettsyresammensetning i helkropp startfôringsforsøk ... 13
4.1.3 Genuttrykk i helkropp ved ulike tidspunkt i løpet av startfôringsforsøk ... 14
4.1.4 Genuttrykk i helkropp som effekt av fôring ... 17
4.1.5 Effekt av genetikk på fettsyresammensetning i helkropp ... 18
4.1.6 Effekt av genetikk på genutrykk av desaturaser ... 19

4.2 Mellomfôringsperiode fra 40 gram til ca 400 gram ... 21

4.2.1 Overlevelse i sjø ... 21
4.2.2 Vekst, kondisjonsfaktor, organindeks ... 22
4.2.3 Fett og fettsyresammensetning ved slutt, effekt av tidlig fôring ... 25
4.2.4 Fett og fettsyresammensetning ved slutt, effekt av genetikk ... 26
4.2.5 Fettdeponering i lever og innvollsfett, effekt av genetikk og fôr ... 28
4.2.6 Kvalitet, effekt av tidlig fôring ... 29

**5 Konklusjon ... 30**

5.1 Effekt av forskjellig EPA og DHA nivå i fôr i startfôringsfasen ... 30
5.2 Effekt av forskjellig EPA og DHA nivå i fôr i startfôringsfasen på genuttrykk ... 30
5.3 Effekt av forskjellig EPA og DHA nivå i fôr i tidlige livsfaser på fettsyresammensetning av fisk på 4 kg. ... 30
5.4 Genetiske forskjeller og effekter på fettsyresammensetning og helse ... 30

**6 Nytteverdi ... 32**

**7 Referanser ... 33**

**8 Leveranser ... 35**

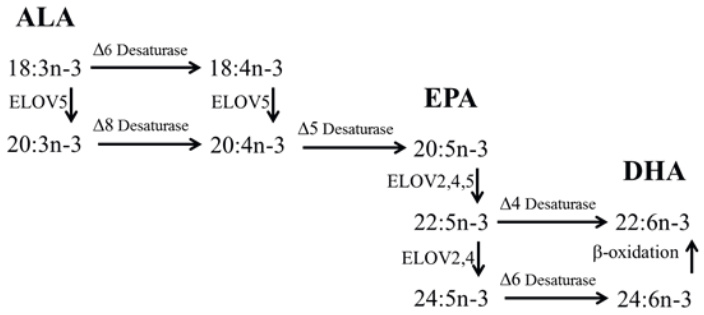
# 1 Innledning

## 1.1 Bakgrunn for prosjektet

Atlantisk laks er en viktig kilde til de langkjeda omega-3-fettsyrene i human ernæring. For at laksen skal fortsette å være en god kilde til omega-3, må den få tilført en del av disse fettsyrene i fôret. Den viktigste kilden til omega-3 i fiskefôr er marine oljer. Etterspørselen etter marine oljer med høyt innhold av omega-3 har økt kraftig på verdensmarkedet de siste årene, både til kosttilskudd og til bruk i fiskefôr. Produksjonen av fiskeolje har vært relativt stabil siden 1970-tallet, og det er ikke ventet at produksjonen skal kunne økes innen bærekraftige rammer. Oppdrettsnæringen står overfor en stor utfordring når mengden fiskeolje er begrenset og etterspørselen øker. I dag blir en stadig større andel av fiskeolje i fôr til laks erstattet med planteoljer, noe som har ført til redusert innhold av omega-3-fettsyrene EPA og DHA i laksefilet.

Det er av interesse å forstå og maksimere den iboende evnen laksen har til å syntetisere de langkjedede n-3 fettsyrene EPA og DHA fra 18:3 n-3 (α-linolensyre, ALA), både for å sikre/optimalisere omega-3 fettsyrenivået i laksemuskelen i forhold til humant konsum og videre å skaffe kunnskap om hvordan man best mulig kan utnytte marine fôrressurser. Atlantisk laks er i stand til å produsere EPA og DHA fra ALA i vegetabilske oljer (Bell, M. V., Dick, J. R., & Porter, A. E. A. 2001;Ruyter, B., Rosjo, C., Einen, O., & Thomassen, M. S. 2000;Ruyter, B., Rosjo, C., Grisdale-Helland, B., Rosenlund, G., Obach, A., & Thomassen, M. S. 2003;Ruyter, B. & Thomassen, M. S. 1999;Tocher, D. R., Bell, J. G., Dick, J. R., Henderson, R. J., McGhee, F., Michell, D. et al. 2000), men er ikke spesielt god til det.

Omega-3 fettsyremetabolismen (figur 1) ble først beskrevet for pattedyr (Sprecher, H. 1981), og senere for laks (Buzzi, M., Henderson, R. J., & Sargent, J. R. 1997;Monroig, O., Tocher, D. R., & Navarro, J. C. 2013). Omega -3 fettsyrer er viktige i en rekke biologiske funksjoner i kroppen, som essensielle komponenter i alle cellemembraner og som forløpere til bioaktive molekyler som er involvert i reguleringen av kroppens homeostase og helse (Montero, D. & Izquierdo, M. 2015;Torstensen, B. E., Ruyter, B., Sissener, N., Østbye, T., Waagbø, R., Jørgensen, S. M. et al. 2013).




*Figur 1 Omega-3 fettsyremetabolisme.*

Laksens evne til å syntetisere EPA og DHA fra ALA er avhengig av aktive desaturase og elongase enzymer i tillegg til et trinn med kjedeforkorting av 24:6 n- 3 via peroksisomal β - oksidasjon (figur 1). De relative aktiviteter av enzymer i omega-3 syntesen bestemmer de relative mengder av EPA og DHA som dannes (Monroig, O. et al. 2013;Ruyter, B., Rosjo, C., Einen, O., & Thomassen, M. S. 2000;Ruyter, B. et al. 2000). En rekke faktorer er vist å påvirke aktiviteten til de ulike enzymene; som ernæring

(oljekilder), genetikk, miljø (temperatur, lys og saltholdighet i vann), hormonelle og fysiologiske faktorer (smoltifisering). For eksempel har flere studier vist at høye nivåer av fiskeolje i fôret hemmer enzymer i omega-3 fettsyre omdanningen, noe som kan resultere i redusert kapasitet for produksjon av EPA og DHA (Kjaer, M. A., Todorcevic, M., Torstensen, B. E., Vegusdal, A., & Ruyter, B. 2008;Sanden, M., Stubhaug, I., Berntssen, M. H. G., Lie, O., & Torstensen, B. E. 2011;Thomassen, M. S., Rein, D., Berge, G. M., Østbye, T.-K., & Ruyter, B. 2012). EPA og DHA innholdet i muskelen er ikke bare avhengig av laksens evne til å syntetisere EPA og DHA fra ALA, men også av transport, -deponering, mobilisering og oksydasjon av fettsyrer i ulike vev og organer.

Det er et viktig mål i dette prosjektet å studere potensialet for å påvirke EPA og DHA nivået i muskel i slaktefisk ved fôring med ulike nivåer av EPA og DHA i tidlige livsfaser; henholdsvis før smoltifisering (0-40 gram) og rett etter smoltifisering ca 40 til 400 gram. Deretter følges fisken fra 400gram fram til 4 kg på et fôr med lavt omega-3 nivå, 1 % EPA og DHA. Hypotesen er at ernæringsmessig programmering i tidlige livsfaser kan påvirke fiskens lipidmetabolisme i seinere livsfaser. Til dags dato har det ikke vært noen studier som undersøker rollen til epigenetikk i reguleringen av metabolske prosesser som er relevante for den ernæringsmessige kvaliteten av Atlantisk laks. Siden epigenetiske mekanismer kan påvirkes av ernæring, spesielt i tidlige livsstadier, og kan vedvare i hele livsløpet, kan man forvente at DNA metylering vil spille en sentral rolle i reguleringen av omega-3 fettsyremetabolismen. I menneske og rotte er det vist at både Δ5 og Δ6 desaturaser og elongaser kan reguleres ved metylering (Devlin, A. M., Singh, R., Wade, R. E., Innis, S. M., Bottiglieri, T., & Lentz, S. R. 2007). Hos rotter ble det funnet ulik metylering av Δ6 desaturase med EPA, DHA og olivenolje i fôret. Dette kan indikere at epigenetisk regulering av desaturaser og elongaser kan bidra til kort- og langsiktig regulering av omega - 3 fettsyresyntese (Xu, H. G., Dong, X. J., Ai, Q. H., Mai, K. S., Xu, W., Zhang, Y. J. et al. 2014).

I NFR-prosjektet «Towards a sustainable salmonid aquaculture – Salmon as a net producer of n-3 fatty acids» har vi produsert laksefamilier der foreldre er valgt ut fra familier med høyt eller lavt uttrykk av Δ-6-desaturase, ut fra hypotesen om at høyere utrykk av dette genet vil ha en positiv sammenheng med kapasiteten til å produsere EPA og DHA. Fisk fra Høy og Lav desaturase familier følges i dette delprosjektet gjennom ulike livsfaser for å se om det foreligger samspillseffekter mellom fôr og genetikk spesielt i forhold til tidlig programmering.

## 1.2 Organisering

**Styringsgruppe, oppnevnt av FHF, har bestått av følgende medlemmer:**

| | |
|---|---|
| Arne Schei | Lerøy Seafood Group |
| Eldar Bendiksen | Salmar |
| Øyvind Oaland | Marine Harvest |
| Tommy Hansen | Nordlaks |
| Kjell Maroni | FHF (observatør/kontaktperson FHF) |

**Prosjektgruppa har bestått av følgende personer:**

| | |
|---|---|
| Gerd Marit Berge (prosjektleder) | Nofima |
| Bente Ruyter | Nofima |

| | |
|---|---|
| Tone-Kari Østby | Nofima |
| Marte Avranden Kjær | Nofima |
| Anna Sonesson | Nofima |
| Trygve Sigholt | BioMar |
| Håvard Bakke | SalmoBreed |
| Bente Torstensen | NIFES |
| Ninni Sissener | NIFES |
| Rune Waagbø | NIFES |

# 2 Målsetting

Det overordnede målet er å bidra til økt kunnskap om hvordan tidlig ernæringsprogrammering og ulik genetisk bakgrunn kan påvirke laksens medfødte evne til å produsere og deponere EPA og DHA gjennom ulike livsfaser.

- ***Delmål 1***: Bestemme fettsyresammensetning og genuttrykksprofil i laks fôret med ulike nivåer av EPA og DHA i fôr i tidlige livsfaser fra startfôring til 40 gram.
- ***Delmål 2***: Identifisere effekt av tidlig ernæringsmessig programmering på nivå av EPA og DHA i laks ved slaktestørrelse på 4 Kg
- ***Delmål 3***: Identifisere n-6/n-3 ratio i som gir best omdanning av 18:3 n-3 til EPA og DHA.
- ***Delmål 4***: Identifisere familieforskjeller i kapasitet til å omdanne 18:3 n-3 til EPA og DHA.

***Effektmål:*** For oppdrettsnæringen er det grunnleggende viktig å finne de mest effektive måtene å utnytte den begrensede resursen marine oljer. Det er mange faktorer som kan påvirke laksens innhold av de marine fettsyrene EPA og DHA i filet, og det er viktig å vite hvor i livssyklus man skal sette inn ressursene for å få mest mulig EPA og DHA igjen i fisken. Er det faser i fiskens liv som er viktigere enn andre med tanke på forsyning og utnyttelse av EPA og DHA? Og er det samspill med fiskens genetiske egenskaper som gir grunnlag for genetisk seleksjon?

Ny kunnskap rundt disse spørsmålene kan ha verdi for næringen på flere ulike måter. Bærekraft og ressursutnyttelse er viktig i seg selv, og et grunnlag for godt omdømme. Økonomisk verdi er vanskelig å fastsette, men hvis man kan produsere mer fisk av samme kvalitet uten høyere forbruk av begrensede ressurser, vil det ha et klart positivt økonomisk potensial. Det er viktig å sikre god dyrevelferd, og all ny kunnskap om samspill mellom fôr og ernæring i ulike livsfaser som bidrar til bedret fiskehelse, vil dette være positivt.

Med bakgrunn i dette delprosjektet er det levert et faktaark med tittel: «Kan vi gjennom avl og ernæring påvirke laksens kapasitet til å produsere omega-3 fettsyrene EPA og DHA?», og resultater fra prosjektet er presentert ved konferanser nasjonalt og internasjonalt.

# 3 Material og metode

## 3.1 Forsøksfisk og fôringsforsøk

***Startfôring:*** Fullsøskengrupper av Atlantisk laks ble produsert fra familier av foreldrefisk med Høyt eller Lavt uttrykk av genet Δ6-desaturase som koder for et nøkkelenzym i omdanningen fra 18:3 n-3 (ALA) til EPA og DHA. Til startfôringsforsøket (delprosjekt 1) ble startfôringsklar Høy- og Lav-desaturase fullsøskengrupper fra to familier (en Høy-desaturase familie og en Lav-desaturasefamilie) fordelt i 5 kar per familie, med 150 individer pr kar. Starfôringskarene var sirkulære med diameter 0,5 m og konisk bunn. Fôr med lineært økende innhold av rapsolje (RO) og synkende innhold av fiskeolje (FO) ble produsert. Fem fôrtyper totalt, ble gitt til to kar med fisk, ett kar fra hver familie per diett. Gjennom forsøksperioden ble det benyttet fôr med økende pelletstørrelse og fettnivå (Tabell 1). Tabell 2 viser innhold av EPA og DHA, og n-3/n-6-ratio, i alle fôr. Fiskegruppene ble holdt i forsøkskarene fra startfôring og fram til gjennomsnittlig sluttvekt på 40 gram, hvor startfôringsforsøket ble avsluttet. Prøver til helkroppsanalyser ble tatt av alle grupper ved start på dag 0, etter 28, 57, 91, 118 og 182 dager. Prøvene av hel fisk fra hvert tidspunkt ble analysert for fettsyrer og genuttrykk.

***Mellomfôring:*** Etter avslutning av startfôringsdelen av forsøket, ble fisken individuelt merket med PIT-tags (Passive Integrated Transponder) og holdt videre på et kommersielt fôr fram til ca 80 gram størrelse. I løpet av denne periode ble kortdagsbehandling (12 timer lys–12 timer mørke) kjørt for å indusere smoltifisering. Fisken ble vaksinert med Alpha Ject 6-2 (Pharmaq) i løpet av denne perioden. Fisken var klar for overføring til saltvann ved en vekt på ca 80 gram. På dette tidspunktet ble fisken fordelt i fire kar, der alle 10 «Før»-kar var representert med like mange fisk i hvert av de fire nye karene. To kar fikk et fôr med lavt (1,7 %) innhold av EPA og DHA (10 % FO+90 % RO), og to kar fikk fôr med høyt (5,4 %) innhold av EPA og DHA (75 % FO og 25 % RO), fram til fisken nådde en snittvekt på ca 400 gram. Tabell 3 viser kjemisk sammensetning av mellomfôrene og tabell 4 viser fettsyresammensetning av mellomfôrene.

***Sluttfôring*:** Laks på ca 400g med ulik genetisk bakgrunn og fôringshistorikk ble så overført fra kar på land til en samlemerd i sjø. Fisken i denne fasen i sjø ble fôret med kun 1 % EPA og DHA fram til slaktestørrelse på ca. 4 Kg. Tabell 5 viser kjemisk sammensetning og tabell 6 viser fettsyresammensetning av sluttfôret.

## 3.2 Fôrsammensetning i ulike livsfaser

*Tabell 1 Startfôring: Kjemisk innhold, EPA + DHA (g/100g), n-3/n-6 ratio i fôr med forskjellige pelletstørrelse fram til fisken var 40 gram.*

| Dato fôrbatch | Pellet størrelse | FO | RO | Lipid | Protein | Tørrstoff | EPA+DHA | n-3/n-6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Prod. 1, Februar** | 0,5mm | 100 | 0 | - | 56,16 | 87,99 | 2,56 | 3,41 |
| | 0,5mm | 75 | 25 | 20,7 | 55,14 | 93,62 | 3,32 | 2,78 |
| | 0,5mm | 50 | 50 | 18,6 | 56,16 | 93,57 | 2,52 | 1,89 |
| | 0,5mm | 25 | 75 | 19,2 | 55,74 | 93,74 | 2,04 | 1,35 |
| | 0,5mm | 0 | 100 | 19,4 | 56,03 | 93,65 | 1,54 | 0,97 |
| | | | | | | | | |
| **Prod. 2, Mars** | 0,5mm | 100 | 0 | 20,8 | 55,02 | 95,27 | 3,62 | 2,93 |
| | 0,5mm | 75 | 25 | 20,6 | 55,08 | 95,33 | 3,39 | 2,53 |
| | 0,5mm | 50 | 50 | 20,5 | 54,45 | 95,30 | 3,20 | 2,24 |
| | 0,5mm | 25 | 75 | 20,4 | 55,30 | 95,14 | 2,98 | 1,99 |
| | 0,5mm | 0 | 100 | 20,1 | 54,76 | 95,20 | 2,74 | 1,80 |
| | | | | | | | | |
| **Prod. 3, April** | 0,8mm | 100 | 0 | 19,9 | 53,61 | 95,16 | 3,71 | 3,41 |
| | 0,8mm | 75 | 25 | 19,5 | 53,81 | 95,09 | 3,37 | 2,87 |
| | 0,8mm | 50 | 50 | 21,1 | 54,11 | 95,24 | 3,40 | 2,44 |
| | 0,8mm | 25 | 75 | 21,2 | 54,23 | 95,13 | 3,14 | 2,06 |
| | 0,8mm | 0 | 100 | 21,2 | 54,04 | 95,12 | 2,90 | 1,78 |
| | | | | | | | | |
| **Prod. 4, May** | 1,1mm | 100 | 0 | 21,2 | 53,16 | 93,72 | 3,89 | 3,72 |
| | 1,1mm | 75 | 25 | 20,6 | 53,41 | 93,35 | 3,36 | 2,74 |
| | 1,1mm | 50 | 50 | 20,4 | 53,06 | 93,64 | 2,92 | 2,09 |
| | 1,1mm | 25 | 75 | 20,4 | 53,01 | 93,73 | 2,47 | 1,64 |
| | 1,1mm | 0 | 100 | 20,7 | 53,32 | 93,80 | 2,13 | 1,29 |
| | | | | | | | | |
| **Prod. 5, Juni** | 1,5mm | 100 | 0 | 19,8 | 52,78 | 93,90 | 3,64 | 3,43 |
| | 1,5mm | 75 | 25 | 19,9 | 53,51 | 94,12 | 3,25 | 2,56 |
| | 1,5mm | 50 | 50 | 20,3 | 53,28 | 94,30 | 2,91 | 1,97 |
| | 1,5mm | 25 | 75 | 19,3 | 53,53 | 94,74 | 2,33 | 1,56 |
| | 1,5mm | 0 | 100 | 19,4 | 53,14 | 94,47 | 2,00 | 1,24 |
| | | | | | | | | |
| **Prod. 6, Juli** | 2,0mm | 100 | 0 | 21,6 | 46,32 | 92,97 | 4,03 | 4,22 |
| | 2,0mm | 75 | 25 | 22,2 | 46,14 | 93,46 | 3,73 | 2,92 |
| | 2,0mm | 50 | 50 | 21,9 | 46,60 | 93,34 | 3,18 | 2,17 |
| | 2,0mm | 25 | 75 | 21,7 | 45,91 | 92,59 | 2,69 | 1,67 |
| | 2,0mm | 0 | 100 | 21,1 | 46,10 | 92,97 | 2,19 | 1,34 |

*Tabell 2 Startfôr: Fettsyreprofil (% av totale fettsyrer). Gjennomsnitt av 6 ulike produksjoner. FO er fiskeolje, RO er rapsolje.*

| **Fôr** | **FO 100** | **FO 75 /RO25** | **FO 50 /RO50** | **FO 25 /RO75** | **RO 100** |
|---|---|---|---|---|---|
| **% EPA og DHA i fôr** | **3,8** | **3,4** | **3,0** | **2,6** | **2,2** |
| % av totale fettsyrer | | | | | |
| 14:0 | 4,8 | 3,9 | 3,6 | 2,9 | 2,4 |
| 16:0 | 13,9 | 11,5 | 11,3 | 10,4 | 9,8 |
| 18:0 | 1,9 | 1,9 | 1,8 | 1,8 | 1,8 |
| 20:0 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,3 | 0,4 |
| 22:0 | 0,8 | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| 24:0 | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,1 |
| **Sum SFA[1]** | **22,5** | **18,3** | **18,2** | **16,6** | **15,2** |
| 16:1 n-7 | 7,2 | 6,9 | 5,1 | 3,8 | 2,8 |
| 18:1 n-11 | 1,0 | 0,9 | 0,6 | 0,3 | 0,0 |
| 18:1 n-9 | 12,5 | 20,1 | 25,5 | 32,3 | 38,1 |
| 18:1 n-7 | 3,3 | 3,6 | 3,3 | 3,2 | 3,0 |
| 20:1 n-11 | 2,0 | 1,8 | 1,5 | 1,1 | 0,8 |
| 20:1 n-9 | 8,2 | 7,7 | 6,4 | 5,2 | 4,1 |
| 20:1 n-7 | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| 22:1 n-11 | 7,6 | 5,9 | 5,5 | 4,5 | 3,8 |
| 22:1 n-9 | 0,7 | 0,6 | 0,6 | 0,5 | 0,5 |
| 24:1 n-9 | 0,6 | 0,5 | 0,5 | 0,4 | 0,4 |
| **Sum MUFA[2]** | **44,7** | **49,4** | **50,1** | **52,5** | **54,2** |
| 18:2 n-6 | 5,5 | 6,6 | 9,1 | 11,6 | 13,8 |
| 18:3 n-6 | 0,1 | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| 18:3 n-4 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| 18:3 n-3 | 1,1 | 2,1 | 3,0 | 4,0 | 4,9 |
| 20:2 n-6 | 0,2 | 0,0 | 0,2 | 0,1 | 0,2 |
| 20:4 n-6 | 0,4 | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,2 |
| 20:5 n-3 | 7,9 | 7,0 | 5,8 | 4,5 | 3,3 |
| 22:5 n-3 | 0,9 | 0,8 | 0,6 | 0,5 | 0,3 |
| 22:6 n-3 | 12,6 | 10,8 | 9,2 | 7,3 | 5,5 |
| **Sum PUFA[3]** | **31,1** | **30,0** | **30,3** | **29,9** | **29,7** |

[1] Inkluderer 15:0, 17:0,

[2] Inkluderer 14:1n-5, 15:1, 16:1n-5, 16:1n-9, 22:1n-7,

[3] Inkluderer 16:2n-6, C16:3n-4, 18:4n-3, 20:3n-3, 20:4n-3, 20:3n-6, 20:3n-3, 22:4n-6

*Tabell 3 Mellomfôr: Kjemisk innhold, EPA + DHA (g/100g) og n-3/n-6 ratio i fôr fra ca 40 gram fram til ca 400 gram fiskestørrelse.*

| | Pelletstørrelse | FO | RO | Lipid | Protein | Tørrstoff | EPA+DHA | n-3/n-6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| November-12 | 4 mm | 75 | 25 | 27,1 | 43,9 | 93,0 | 5,4 | 3,2 |
| | 4 mm | 10 | 90 | 27,6 | 43,3 | 92,9 | 1,7 | 0,8 |

*Tabell 4 Mellomfôr: Fettsyresammensetning (% av total fettsyre) av fôr brukt i forsøk fra 40 til 400 gram. FO er fiskeolje, RO er rapsolje.*

| Diet | FO-75 | FO-10 |
|---|---|---|
| 14:0 | 5,7 | 1,5 |
| 16:0 | 14,1 | 7,3 |
| 18:0 | 3,1 | 2,6 |
| 20:0 | 0,4 | 0,5 |
| 22:0 | 0,2 | 0,3 |
| 24:0 | 0,2 | 0,1 |
| Sum SFA[1] | 24,5 | 12,7 |
| 16:1 n-7 | 6,9 | 1,8 |
| 17:1 n-7 | 1,1 | 0,3 |
| 18:1 n-11 | 1,6 | |
| 18:1 n-9 | 19,7 | 45,9 |
| 18:1 n-7 | 2,9 | 2,3 |
| 20:1 n-11 | 1,8 | 0,5 |
| 20:1 n-9 | 1,4 | 1,9 |
| 20:1 n-7 | 0,3 | 0,1 |
| 22:1 n-11 | 0,7 | 0,1 |
| 24:1 n-9 | 0,4 | 0,2 |
| Sum MUFA[2] | 37,5 | 53,4 |
| 18:2 n-6 | 7,1 | 17,3 |
| 18:3 n-6 | 0,2 | 0,1 |
| 18:3 n-4 | 0,1 | 0,1 |
| 18:3 n-3 | 2,8 | 7,5 |
| 18:4 n-3 | 0,1 | 0,0 |
| 20:3 n-6 | 0,1 | 0,0 |
| 20:4 n-3 | 0,2 | 0,0 |
| 20:4 n-6 | 0,8 | 0,2 |
| 20:5 n-3 | 12,9 | 4,2 |
| 22:5 n-3 | 1,5 | 0,4 |
| 22:6 n-3 | 9,2 | 2,7 |
| Sum PUFA[3] | 35,3 | 32,7 |
| Sum EPA og DHA | 22,1 | 6,9 |
| n-3/n-6 ratio | 3,2 | 0,8 |

[1] Inkluderer 15:0, 17:0,

[2] 14:1n-5,15:1,16:1n-9,16:1n-5,16:3n-4,

[3] 16:2n-6,16:2n-3.

*Tabell 5 Sluttfôr: Kjemisk innhold, EPA + DHA (g/100g), n-3/n-6 ratio i fôr fra ca 400 gram fram til 4Kg fiskestørrelse.*

| | Pelletstørrelse | FO | RO | Lipid | Protein | Tørrstoff | EPA+DHA | N3/n6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Jan - mars | 5mm | 10 | 90 | 24,1 | 41,8 | 92,6 | 1,0 | 0,65 |
| Mars - juni | 7mm | 10 | 90 | 29 | 40 | 94 | 1,0 | 0,46 |
| Juni - Sept | 9mm | 10 | 64* | 32,2 | 35,5 | 92,5 | 1,8 | 0,86 |
| Sept - febr | 10mm | 18 | 80* | 35,2 | 34,8 | 92,6 | 1,1 | 0,60 |

*Også brukt noe palmeolje

*Tabell 6 Sluttfôr: Fettsyresammensetning (% av total fettsyre) av fôr, forskjellige pelletstørrelser, brukt i sjø, fra 500 -4000 gram.*

| **Diett**<br>**% av totale fettsyrer** | **5 mm** | **7 mm** | **9 mm** | **10 mm** | **10 mm** |
|---|---|---|---|---|---|
| 12:0 | nd | nd | 7,2 | 8,2 | 8,5 |
| 14:0 | 1,1 | 1,0 | 3,6 | 4,0 | 3,9 |
| 16:0 | 7,0 | 6,8 | 8,7 | 7,5 | 8,1 |
| 18:0 | 2,1 | 2,1 | 2,3 | 2,4 | 2,7 |
| 20:0 | 0,4 | 0,4 | 0,5 | 0,6 | 0,5 |
| 22:0 | 0,2 | 0,2 | 0,4 | 0,7 | 0,2 |
| 24:0 | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,1 |
| Sum SFA[1] | 11,4 | 11 | 19,9 | 24,1 | 24,3 |
| 16:1 n-7 | 1,3 | 1,2 | 2,3 | 1,4 | 1,3 |
| 17:1 n-7 | 0,1 | 0,1 | 0,4 | 0,1 | 0,1 |
| 18:1 n-11 | 0,4 | 0,1 | | nd | nd |
| 18:1 n-9 | 46,7 | 48,4 | 38,8 | 44,1 | 43,4 |
| 18:1 n-7 | 2,2 | 2,0 | 1,3 | 0,2 | 1,4 |
| 20:1 n-11 | 0,4 | 0,4 | 0,7 | 0,4 | 0,4 |
| 20:1 n-9 | 2,1 | 2,1 | 2,5 | 1,4 | 1,3 |
| 20:1 n-7 | 0,1 | 0,1 | 0,3 | 0,1 | 0,1 |
| 22:1 n-11 | 0,2 | 0,1 | 2,3 | 0,6 | 0,5 |
| 22:1 n-9 | 0,6 | 0,6 | 0,5 | 0,2 | 0,3 |
| 24:1 n-9 | 0,3 | 0,2 | 0,3 | 0,2 | 0,2 |
| Sum MUFA[2] | 54,6 | 55,5 | 45,8 | 48,9 | 49,2 |
| 18:2 n-6 | 19,4 | 20 | 15,0 | 15,4 | 15,6 |
| 18:3 n-6 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| 18:3 n-4 | 0,1 | 0,1 | | nd | 0,0 |
| 18:3 n-3 | 8,3 | 5,7 | 6,1 | 6,4 | 6,3 |
| 20:2 n-6 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,1 |
| 20:4 n-6 | 0,1 | 0,1 | 0,3 | 0,1 | 0,1 |
| 20:5 n-3 | 2,3 | 2,0 | 3,4 | 1,8 | 1,7 |
| 22:5 n-3 | 0,3 | 0,3 | 0,5 | 0,2 | 0,2 |
| 22:6 n-3 | 1,8 | 1,3 | 2,9 | 1,6 | 1,5 |
| Sum PUFA[3] | 33 | 30,1 | 29,1 | 26,2 | 26,0 |
| Sum EPA/DHA | 4,0 | 3,3 | 6,2 | 3,3 | 3,2 |
| n-3/n-6 ratio | 0,65 | 0,46 | 0,8 | 0,6 | 0,6 |

[1] Inkluderer 13:0, 15:0,17:0,

[2] Inkluderer 14:1n-5, 15:1,16:1n-5, 22:1n-7,

[3]Inkluderer 16:2n-6, 16:2n-3, 16:3n-4, 18:4n-3, 20:3n-3, 22:2n-6

## 3.3 Analyser

Fettsyresammensetning
Total lipid ble ekstrahert ved hjelp av en metode beskrevet av Folch et al. (Folch, J., Lees, M., & Stanley, G. H. S. 1957). Kloroformfasen dampes inn til tørrhet under nitrogengass og lipidet reløses i kloroform. Methyl estere av fettsyrene dannes etter en metode beskrevet av Mason og Waller (Mason, M. E. & Waller, G. R. 1964) og av Hoshi et al. (Hoshi, M., Williams, M., & KISHIMOT.Y 1973). De ulike fettsyrene separeres i en GC (Hewlett Packard 6890) med en splitt injektor, SGE BPX70 kapillær kolonne (lengde 60 m, indre diameter 0,25 mm og en tykkelse på film på 0.25 μm), flammeionisasjonsdetektor og HP ChemStation programvare. Helium ble brukt som bæregass, og injektor- og detektortemperatur var begge 280°C. Temperaturen ble hevet fra 50 til 180°C med en hastighet på 10°C min-1, og deretter hevet til 240°C med en hastighet på 0,7°C min-1. Den relative mengden av hver FA ble bestemt ut i fra arealet under toppen.

### 3.3.1 Genuttrykk

RNA ble isolert ved bruk av PureLinkTM Pro 96 RNA Purification Kit med On-column DNase Digestion (Invitrogen, Carlsbad, USA). Konsentrasjon og renhet av RNA ble vurdert med NanoDrop 1000 Spectrophotometer (NanoDrop Technologies, USA). AffinityScript QPCR cDNA Synthesis Kit (Agilent Technologies, CA, USA) ble benyttet for å syntetisere cDNA. Kvantitativ PCR ble utført med SYBR Green-I Master (Roche Applied Science, Germany). En standard kurve ble inkludert for hvert primerpar for å evaluere primer effektivitet. PCR reaksjonen ble kjørt på LightCycler480 (Roche Diagnostics Gmbh, Germany). Relativt genuttrykk ble beregnet ved hjelp av ΔΔCt metoden (Pfaffl, M. W. 2004).

### 3.3.2 Analyse av kjemisk sammensetning i fisk

Ved bestemmelse av tørrstoff tørkes prøven til konstant vekt ved 105° C, for fisk/muskel 16 - 18 timer og for fôr ca 3 timer. Total mengde nitrogen ble bestemt ved hjelp av Kjeltech Auto System (Tecator, Höganäs, Sweden), og råprotein i fôr ble beregnet som total N * 6,25.

### 3.3.3 Kvalitetsanalyser

Pre-rigor laksefileter ble pakket på is og sendt til Ås der kvalitetsanalyser ble utført 7 dager etter slakting. Lengde og vekt på filet ble registrert. Grad av filetspalting (gaping) ble vurdert etter en skala fra 0 til 5, der 0 er ingen gaping og 5 er mye gaping (Andersen, U. B., Strømsnes, A. N., Steinsholt, K., & Thomassen, M. 1994). Vannbindingsevne ble målt som væsketap ved tining av en muskelbit fra ryggdelen av fileten. Muskelbiten ble frosset inn ved -25°C og tint ved 20°C Fasthet ble målt instrumentelt (Texture Analyzer TA-XT2) som beskrevet av Mørkøre og Einen (Morkore, T. & Einen, O. 2003) Fettinnhold og pigmentinnhold i filet ble målt ved hjelp av PhotoFish (Folkestad, A., Wold, J. P., Rorvik, K. A., Tschudi, J., Haugholt, K. H., Kolstad, K. et al. 2008). Melanin (mørke flekker) i buk og rygg er presentert som en enten/eller-egenskap, 1 hvis melanin ble observert, 0 hvis melanin ikke ble observert.

### 3.3.4 Statistikk

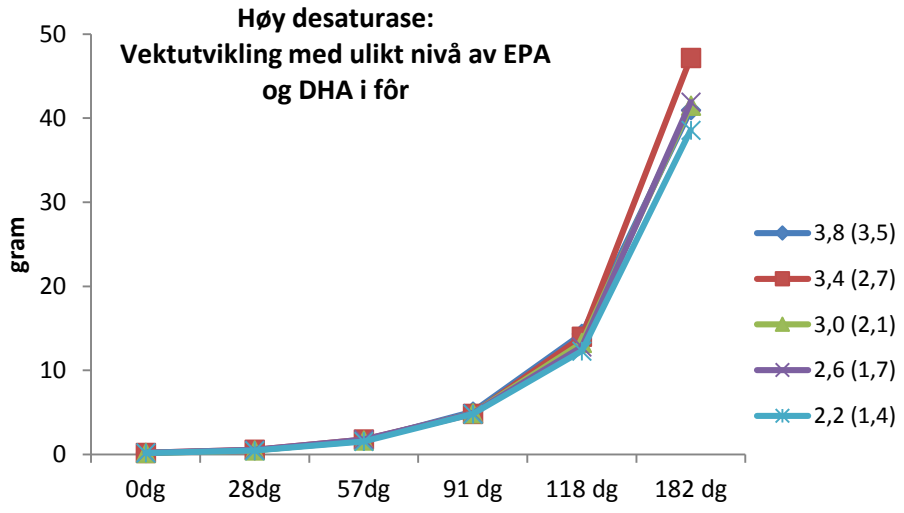
Variansanalyse ble brukt for å undersøke effekter av familie, av forskjellig fôr i startfôr og fôr i mellomperiode. For enkelte parametre ble det kjørt regresjonsanalyse for å undersøke effekten av gradvis endring av fettsyreprofil i fôr.

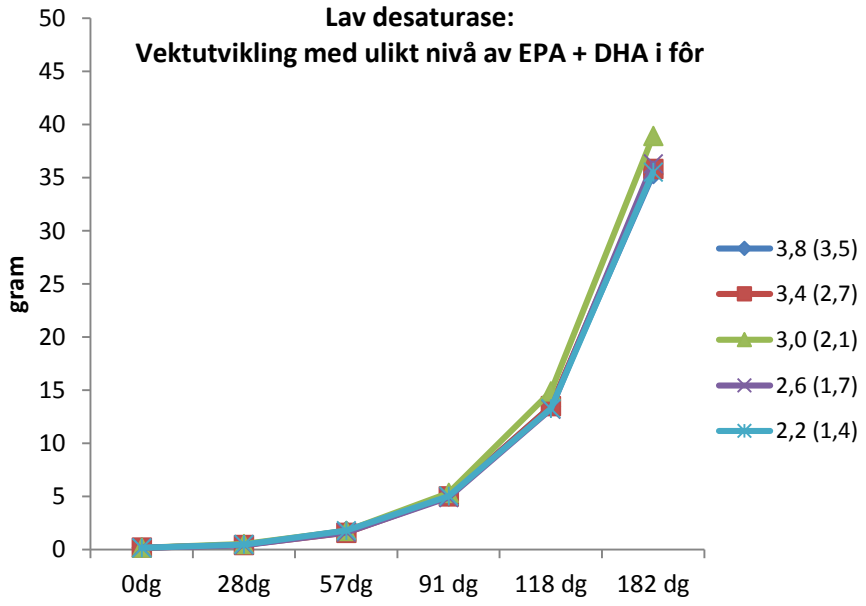
# 4 Resultat og diskusjon

## 4.1 Startforing

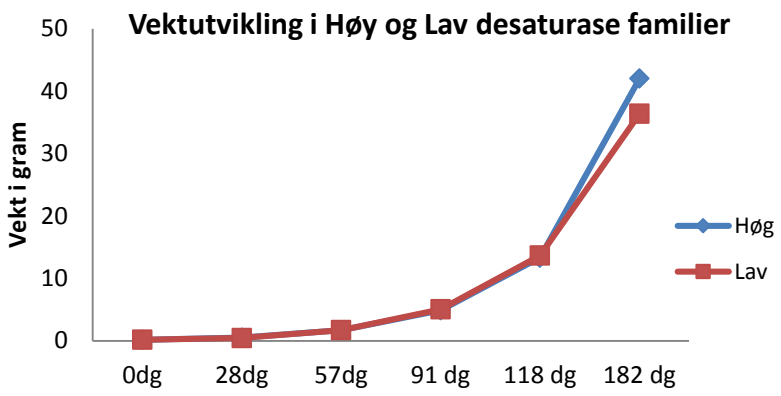
### 4.1.1 Vekst

Figur 2 viser vektutviklingen i Lav- og Høy-desaturase familiene i de 5 ulike fôrgruppene. Det var ingen signifikante forskjeller i vekst mellom de ulike fôrgruppene. Det var lavere tilvekst i Lav-desaturase gruppen enn i Høy-desaturase gruppen i siste periode, selv om sluttvekt ikke var signifikant forskjellig (Figur 3).



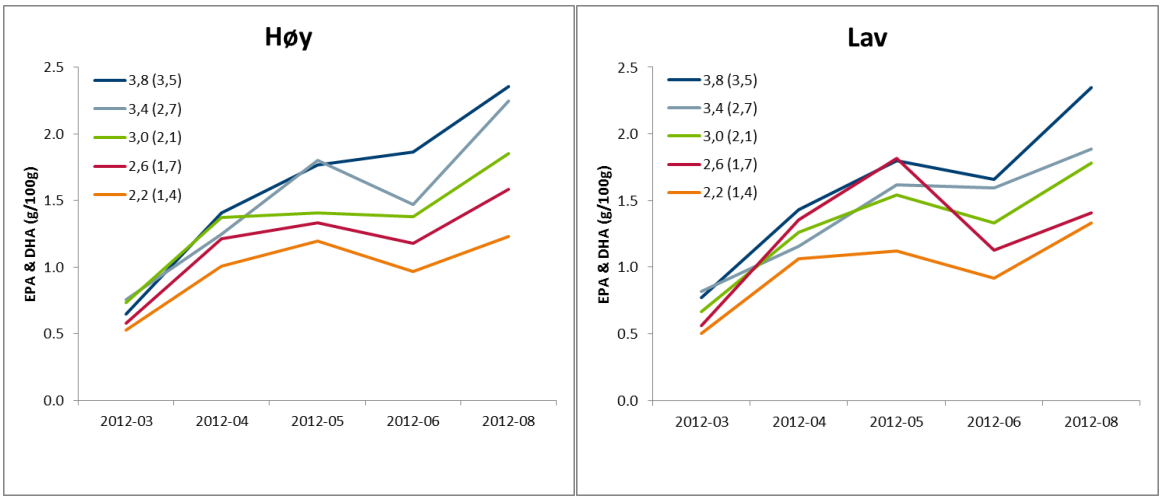

*Figur 2* *Vektutvikling i Lav- og Høy desaturase gruppene ved 5 ulike tidspunkt fra oppstart av startfôring med 5 ulike dietter og til avslutning når fisken har nådd en vekt på 40 gram. De ulike linjefargene viser EPA +DHA nivå i fôr (g/100g) og n-3/n-6 fettsyre ratio i parentes.*




*Figur 3* *Gjennomsnittlig vektutvikling i Høy- og Lav desaturase gruppene ved 6 ulike tidspunkt fra oppstart av startfôring og til avslutning når fisken har nådd en vekt på ca 40 gram.*

### 4.1.2 Fettsyresammensetning i helkropp startfôringsforsøk

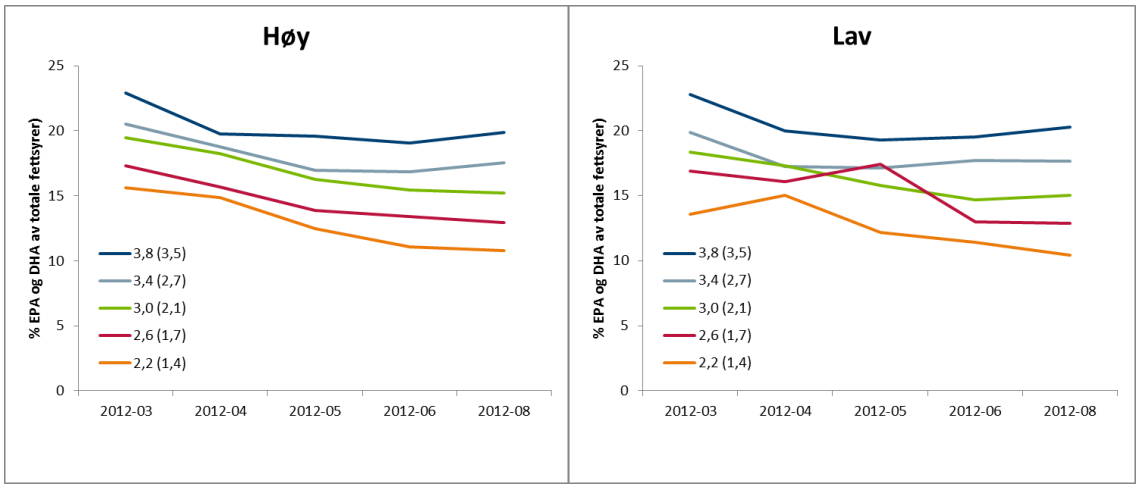
Fettsyresammensetning i helkropp ble bestemt etter henholdsvis 28 dager (mars), 57 dager (april), 91 dager (mai), 118 dager (juni) og 182 dager (august) etter oppstart av fôringsforsøket. Figur 4 viser at EPA og DHA innholdet i gram per 100 gram helkropp øker jevnt fra mars til mai. Deretter skjer det en utflating eller dropp i EPA og DHA innholdet fra mai til juni for så å øke igjen fram til sluttuttaket i august. Det samme mønsteret var tydelig i alle fôrgrupper og i Høy og Lav desaturase gruppene. EPA og DHA innholdet i laksen var mest et speilbilde av hva som fantes i fôret.




*Figur 4* *Gjennomsnittlig EPA+DHA (g/100g) innhold i helkropp (snitt av 5 individanalyser per tidspunkt). 2012-03 = uttak 28 dager, 2012-04 = uttak 57 dager, 2012-05 er uttak 91 dager, 2012-06 er uttak 118 dager og 2012-08 er uttak 182 dager etter start av fôring med ulike dietter). Ulike linjefarger representerer de ulike diettene med EPA og DHA nivå i for fra 3,8 til 2,2% og n-3/n-6 fettsyre ratioer i parentes fra 3,5 til 1,4.*

Fettsyresammensetningen i helkropp ved de ulike tidspunktene ble også bestemt som prosent av totale fettsyrer (Figur 5). Prosent EPA og DHA av totale fettsyrer i helkropp var i stor grad et speilbilde av fettsyresammensetningen i fôret. Det var ikke mulig med fôroppsamling og retensjonsanalyser i startfôringsforsøk med liten pelletstørrelse, men dataene tyder ikke på betydelig økt utnyttelse/deponering av EPA og DHA ved de lavere nivåene av EPA og DHA og lave n3/n-6

fettsyreratio i fôret. I behovsforsøk, har vi vist en betydelig økt retensjon (høyere enn 100 %) av EPA og DHA når nivået av disse i fôret er lavere enn 1 % (noe som tyder på økt omdanning av ALA til EPA og DHA). I dette startfôringsforsøket var nivået av EPA og DHA høyere enn 2 % selv i gruppen hvor det kun var benyttet 100 % rapsolje som oljekilde i fôret. Dette skyldes det høye nivået av fiskemel som ble benyttet i startfôrene. Forsøket tyder på at ved så høye nivåer av EPA og DHA i fôret (over 2 %), så påvirker ikke reduksjonen av EPA og DHA nivå i fôret fra 3,8 % til 2,2 % nevneverdig fiskens egen kapasitet til å omdanne ALA til EPA og DHA under startfôringen.

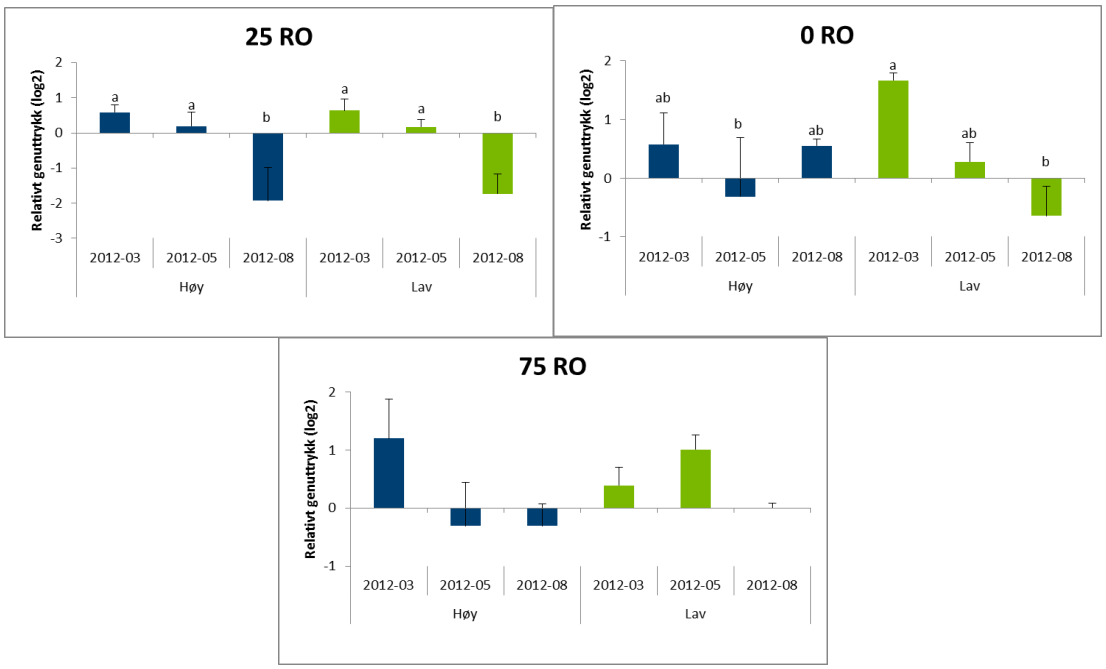



*Figur 5* *Gjennomsnittlig prosent EPA+DHA (% av total fettsyre) i helkropp (snitt av 10 individanalyser per tidspunkt. 2012-03 = uttak 28 dager, 2012-04 = uttak 57 dager, 2012-05 er uttak 91 dager, 2012-06 er uttak 118 dager og 2012-08 er uttak 182 dager etter start av fôring med ulike dietter). Ulike linjefarger representerer de ulike diettene med EPA og DHA nivå i for fra 3,8 til 2,2% og n-3/n-6 fettsyre ratioer i parentes fra 3,5 til 1,4.*

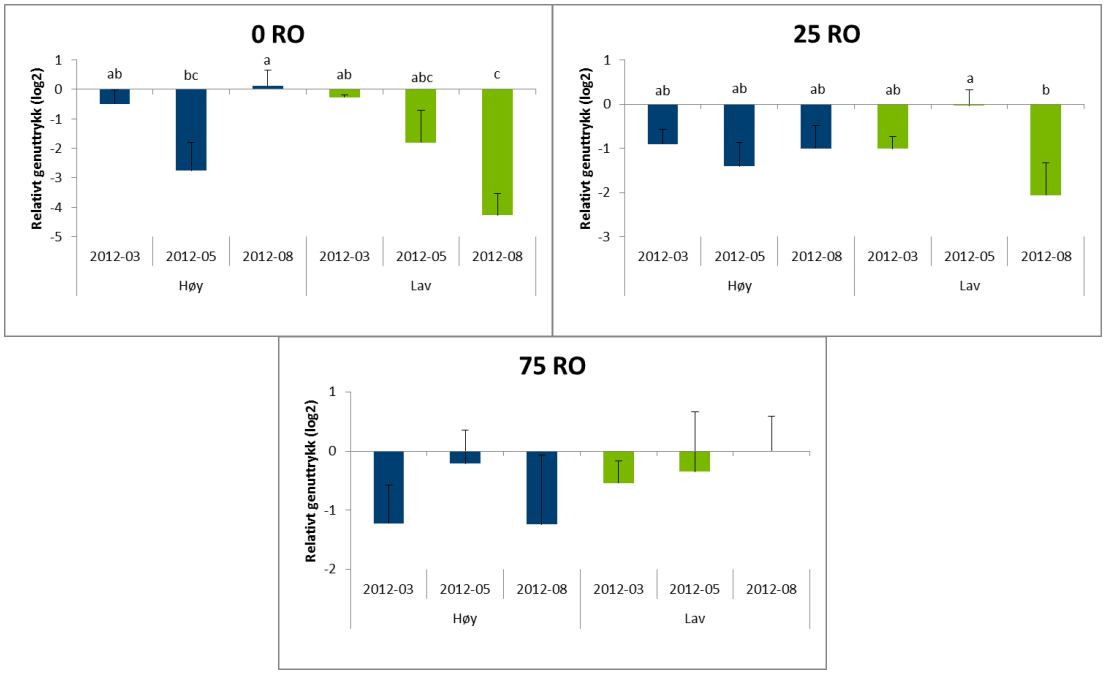
### 4.1.3 Genuttrykk i helkropp ved ulike tidspunkt i løpet av startfôringsforsøk

Utrykk av Δ-5 desaturase, som er involvert i omdanningen av 20:4 n-3 til EPA, og to varianter av Δ-6 desaturase som er involvert i omdanningen fra ALA til 18:4 n-3 og EPA til DHA ble bestemt etter henholdsvis 28 dager (mars), 57 dager (april), 91 dager (mai), 118 dager (juni) og 182 dager (august) etter oppstart av fôringsforsøket. Figurene 6 til 8 viser uttrykk av desaturase genene i Høy og Lav desaturasefamilene i tre utvalgte fôringsgrupper (100 % FO, 75 % FO+25 % RO og 25 % FO+75 % RO).

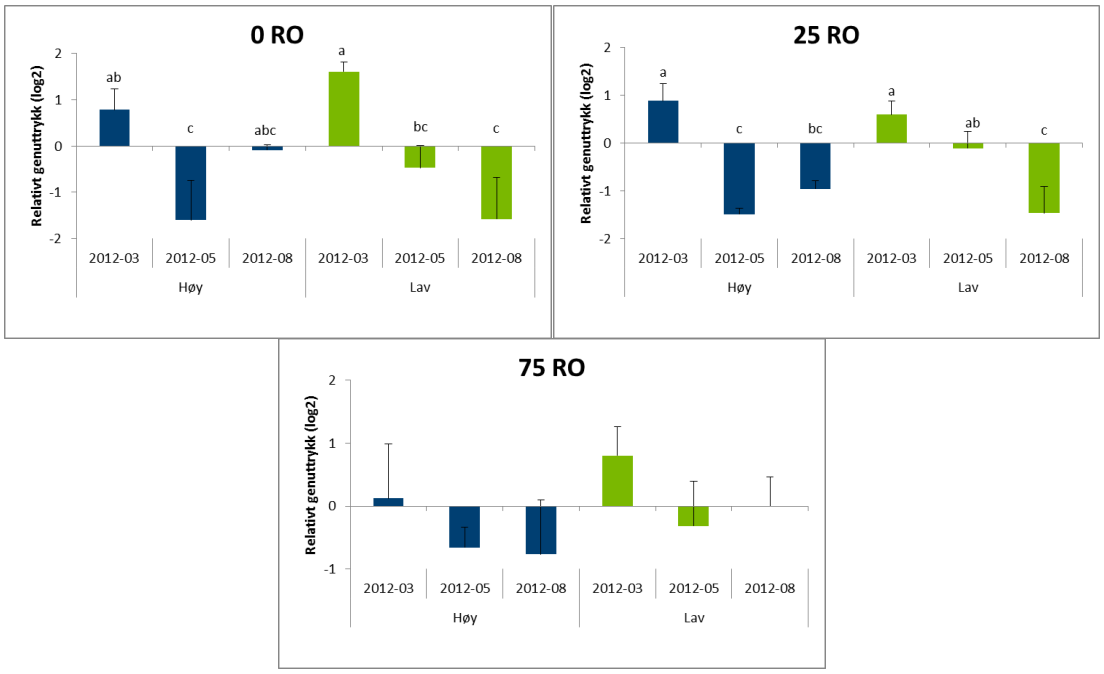
Alle figurer viser et tydelig mønster med at alle tre geners uttrykk reduseres med økende alder på fisken når fisken er fôret med lavt nivå av rapsolje i fôret (0 % og 25 %). Det er tidligere kjent at pre-smolt har høyere uttrykk av desaturaser før smoltifisering enn etter smoltifisering (Bell, M. V. et al. 2001) men man har hittil trodd at nedregulering først skjer pga smoltifisering (Ackman, R. G. & Takeuchi, T. 1986). Våre data kan tyde på at nedregulering av genene med økende alder i ferskvannsfasen skyldes økende innhold av EPA og DHA i kroppen som vist i figur 4. Det er tidligere kjent at økende EPA og DHA nivå i laks kan hemme desaturaser i sjøvannsperioden (Kjaer, M. A. et al. 2008;Sanden, M. et al. 2011). Når det derimot er lavt nivå av fiskeolje og høyt nivå av rapsolje i fôret i de tidligste livsfasene, så finner vi ikke signifikant effekt på uttrykk av de ulike genene over tid. Figur 9 viser at økende nivå av planteolje i fôret fører til signifikant økt uttrykk av både Δ-5 og Δ-6b desaturasene, noe som dermed tyder på at man motvirker nedgangen i genuttrykk ved økende alder i grupper fôret med høyt nivå av planteolje i fôret under startfôringsperioden.




*Figur 6* *Uttrykk av Δ-6b desaturase i helkropp til Høy og Lav-desaturase gruppene ved ulike tidspunkt og i tre ulike diettgrupper. 2012-03 = uttak 28 dager, 2012-04 = uttak 57 dager, 2012-05 er uttak 91 dager, 2012-06 er uttak 118 dager og 2012-08 er uttak 182 dager etter start av fôring med ulike dietter.*



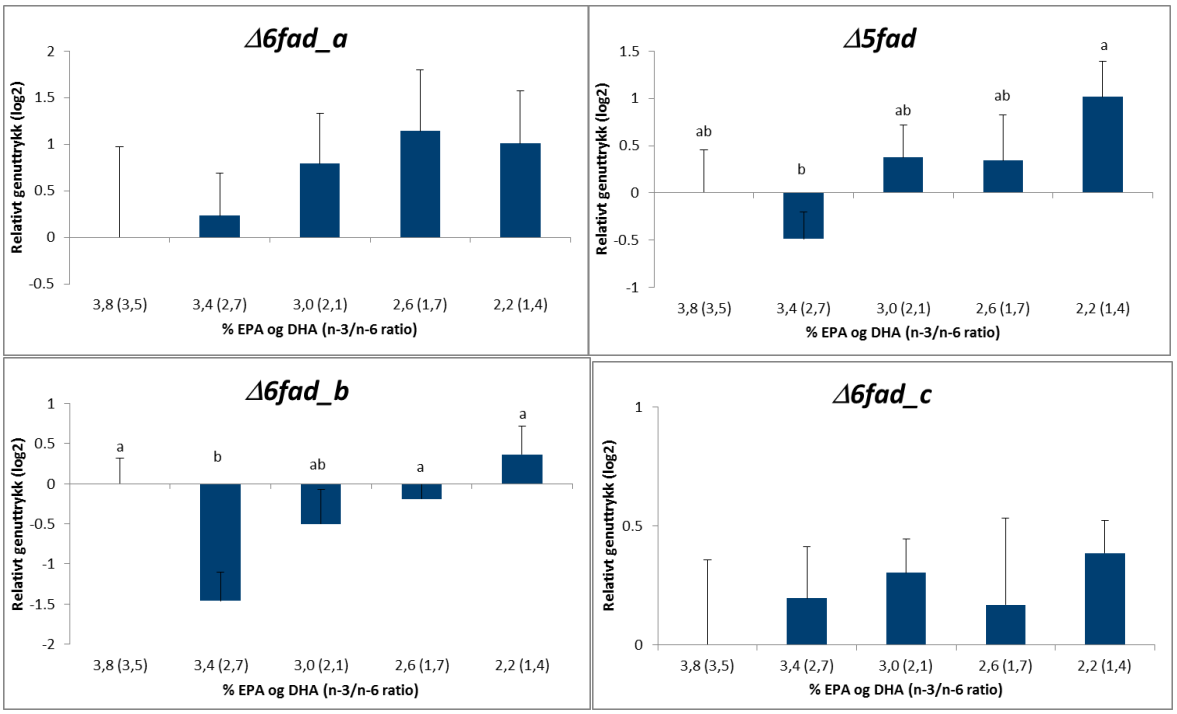

*Figur 7* *Uttrykk av Δ-6a desaturase i helkropp til Høy og Lav-desaturase gruppene ved ulike tidspunkt og i tre ulike diettgrupper. 2012-03 = uttak 28 dager, 2012-04 = uttak 57 dager, 2012-05 er uttak 91 dager, 2012-06 er uttak 118 dager og 2012-08 er uttak 182 dager etter start av fôring med ulike dietter.*



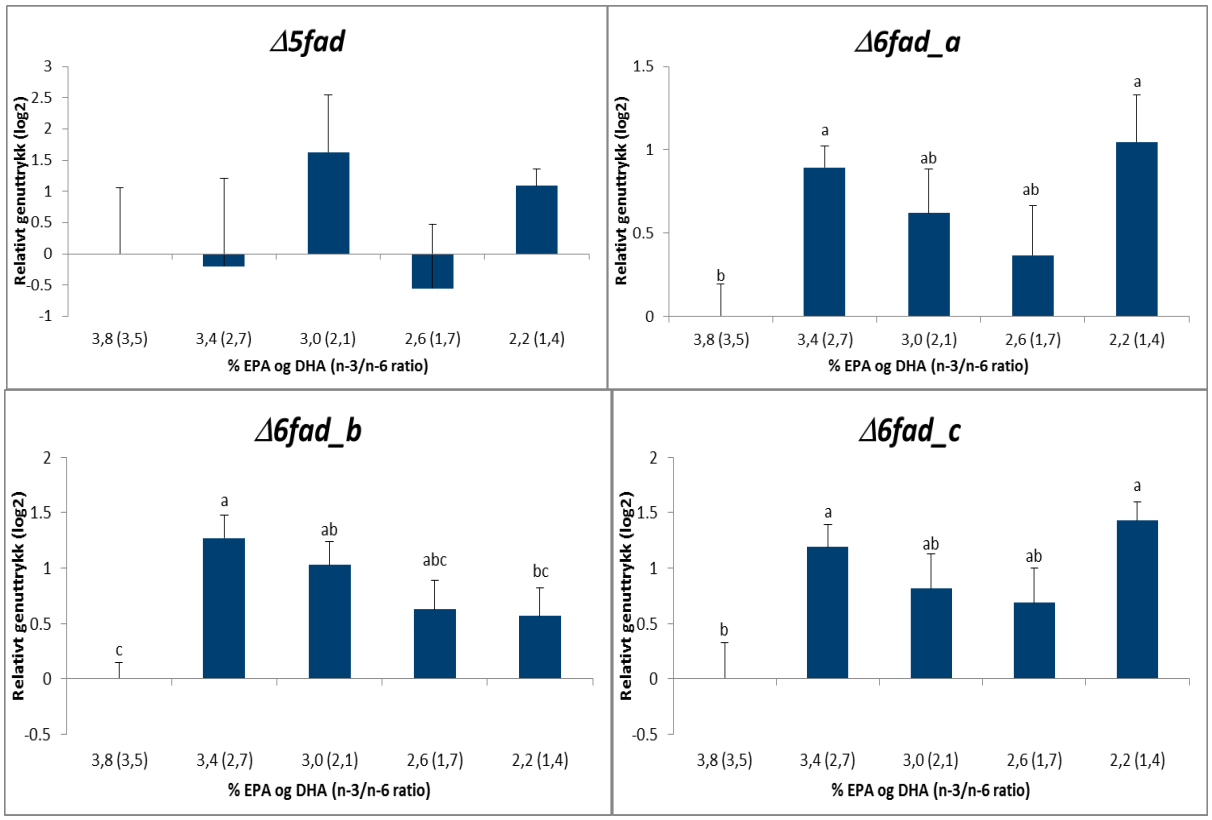

*Figur 8* *Uttrykk av Δ-5 desaturase i helkropp til Høy og Lav-desaturase gruppene ved ulike tidspunkt og i tre ulike diettgrupper. 2012-03 = uttak 28 dager, 2012-04 = uttak 57 dager, 2012-05 er uttak 91 dager, 2012-06 er uttak 118 dager og 2012-08 er uttak 182 dager etter start av fôring med ulike dietter.*

### 4.1.4 Genuttrykk i helkropp som effekt av fôring

Figur 9 og 10 viser at økende nivå av planteolje i fôret fører til signifikant økt uttrykk av både Δ-5 og Δ-6b desaturasene i helkropp. Dette er i overensstemmelse med tidligere studier som viste at planteolje i fôret fører til økt uttrykk at desaturaser i ferskvannsfasen (Thomassen, M. S. et al. 2012) som også vist for sjøvannsfasen (Kjaer, M. A. et al. 2008;Sanden, M. et al. 2011).



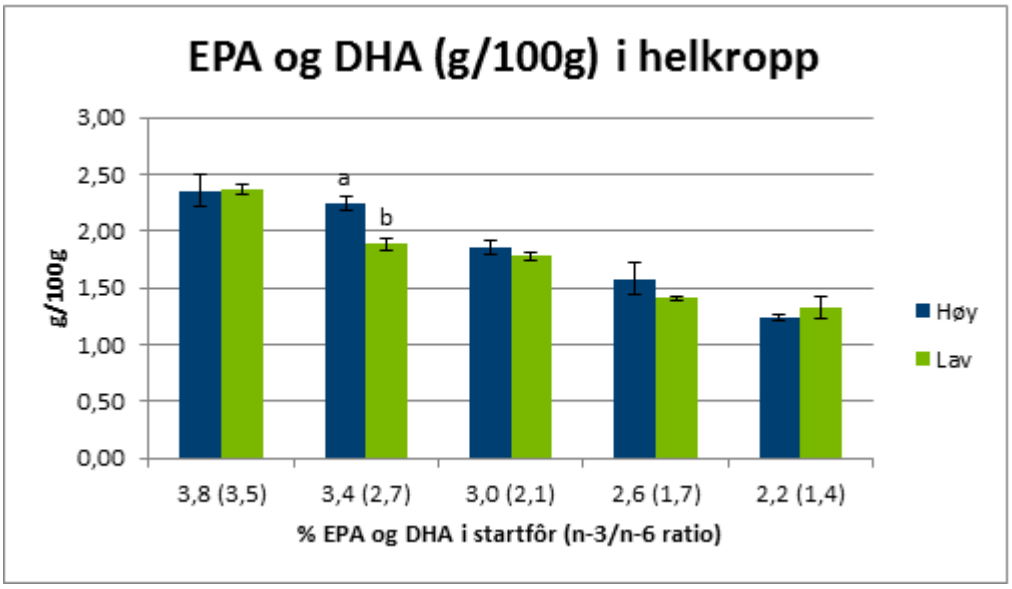

*Figur 9* *Uttrykk av Δ-5 desaturase og tre varianter av Δ-6 desaturase (a,b,c) i helkropp ved sluttuttaket av startfôringsforsøket. Stolpene viser gjennomsnittlig genuttrykk av Høy og Lav familien fôret med forskjellig EPA og DHA innhold i fôr.*



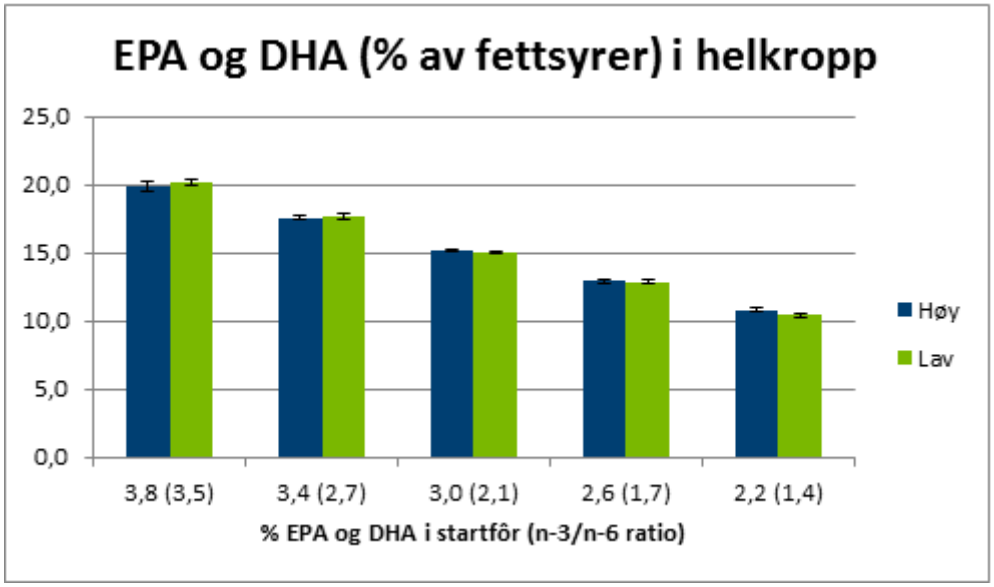

*Figur 10* *Uttrykk av Δ-5 desaturase og tre varianter av Δ-6 desaturase (a,b,c) i lever i sluttuttaket av startfôringsforsøket. Stolpene viser gjennsomsnittlig genuttryk av Høy og Lav familien fôret med forskjellig EPA og DHA innhold i fôr.*

### 4.1.5 Effekt av genetikk på fettsyresammensetning i helkropp

Figur 11 viser at det er signifikant mer EPA og DHA i Høy-desaturase gruppen enn i Lav-desaturase gruppen når laksen er fôret med 3,4 % EPA + DHA i fôret (25 % RO) og samme tendens på de moderate innblandingsnivåene av rapsolje ved 3,0 % og 2,6 % EPA + DHA i fôret. Det var ingen eller motsatt trend i ekstrem-fôrgruppene med bare fiskeolje eller bare rapsolje i fôret. Figur 12 viser ingen signifikante effekter på EPA og DHA i prosent av total fettsyre mellom de to ulike genetiske gruppene.



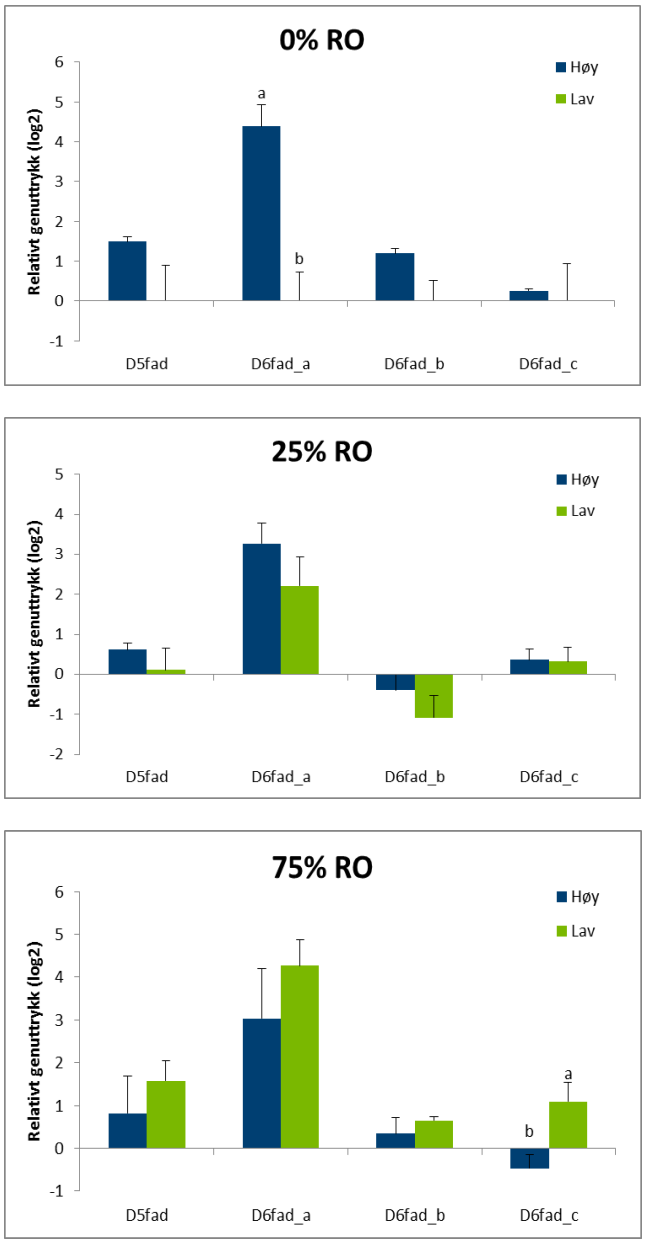

*Figur 11* *Gjennomsnittlig EPA+DHA (g/100g) innhold i helkropp ved avslutning av starfôringsforsøket. Ulike stolpefarger representerer Høy (blå) og Lav (grønn) desaturase familiene i de ulike fôrgruppene.*




*Figur 12* *Gjennomsnittlig EPA+DHA (5 av totale fettsyrer) i helkropp ved avslutning av starfôringsforsøket. Ulike stolpefarger representerer Høy- desaturase (blå) og Lav (grønn) desaturase familiene i de ulike fôrgruppene.*

### 4.1.6 Effekt av genetikk på genutrykk av desaturaser

Figur 13 viser sammenligning av genuttrykk av ulike desaturaser mellom Høy desaturase og Lav desaturase familiene i tre fôringsgrupper. Det er få signifikante forskjeller mellom familiene, men det er en tendens til at de ulike desaturasene har høyere genuttrykk i Høy desaturase familien enn i Lav-desaturase familien når det er lavt eller moderat innhold av rapsolje i fôret. Ved høye nivå av rapsolje i fôret er det ikke forskjeller eller omvendt trend. Dette kan indikere ulik respons i de to familiene ved økende innblanding av rapsolje i fôret. Dette gjenspeiles også i fettsyresammensetningen i figur 11.




*Figur 13* *Sammenligning av uttrykk av Δ-5 desaturase og tre varianter av Δ-6 desaturase (a,b,c) i helkropp til Høy og Lav-desaturase gruppene i tre ulike diettgrupper.*

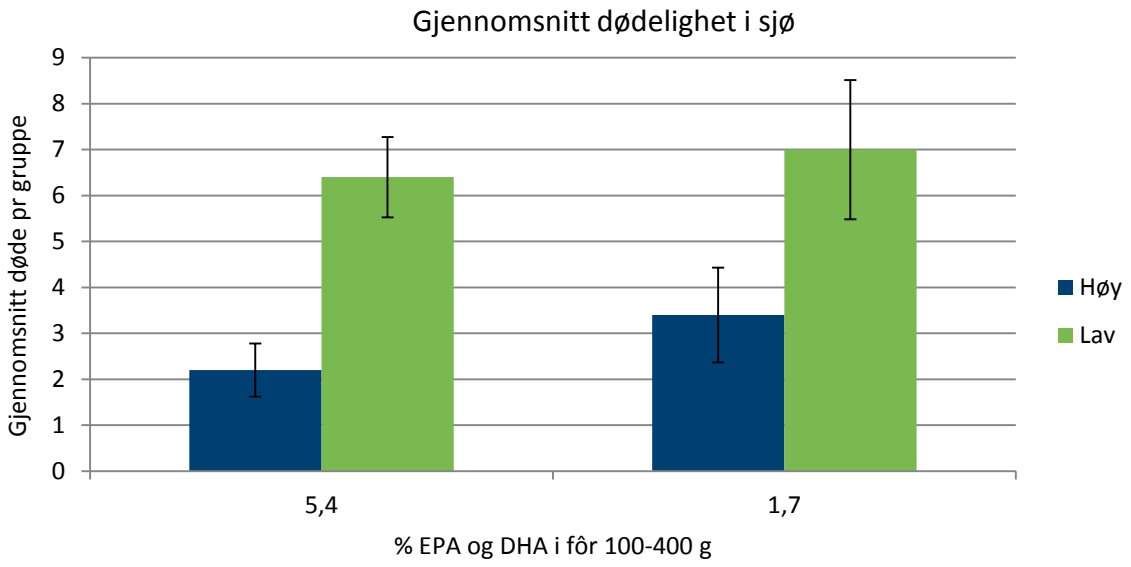
## 4.2 Mellomfôringsperiode fra 40 gram til ca 400 gram

Fisk fra alle fem diettgrupper fra startfôringsforsøket ble etter de var ferdig smoltifisert ved ca 80 gram, fordelt i nye kar hvor de ble fôret med to ulike nivåer av omega-3 i fôret, henholdsvis 1,7 % EPA + DHA og 5,4 % EPA + DHA i fôret, fra 80 gram og fram til en gjennomsnittsvekt på ca 400 gram. Det var ingen signifikant vektforskjell mellom gruppene. Fisk fôret på 1,7 % hadde en sluttvekt i mellomfasen på 368 gram og fisk fôret med 5,4 % EPA og DHA i mellomfasen hadde en sluttvekt på 363 gram. Det var totalt 144 fisk i Lav-desaturase gruppen og 142 fisk i Høy-desaturasegruppen. Etter at fisken nådde snittvekten på 365 gram ble den overført til en samlemerd i sjø på Averøy 10.april 2013. Det ble ikke foretatt analyser av fiskens sammensetning før utsett i sjø, på grunn av lite antall fisk pr gruppe (familie og fôrtype i startfôring).

### 4.2.1 Overlevelse i sjø

Når laksen ble satt i sjø 10, april, var det fortsatt lav vanntemperatur (figur 14), men den økte raskt de påfølgende ukene, Av totalt 408 fisk som ble satt ut, døde 82 fisk i løpet av de første 3 ukene, Videre i forsøksperioden døde ytterligere 16 fisk, Total dødelighet i løpet av 10 måneder var 24 %, Figur 15 viser antall døde i løpet av hele forsøksperioden. Det var konsekvent høyere dødelighet i familien med Lav-desaturase bakgrunn enn i familien med Høy-desaturasebakgrunn.

*Figur 14 Temperatur for perioden i merder i sjø (2013-2014).*

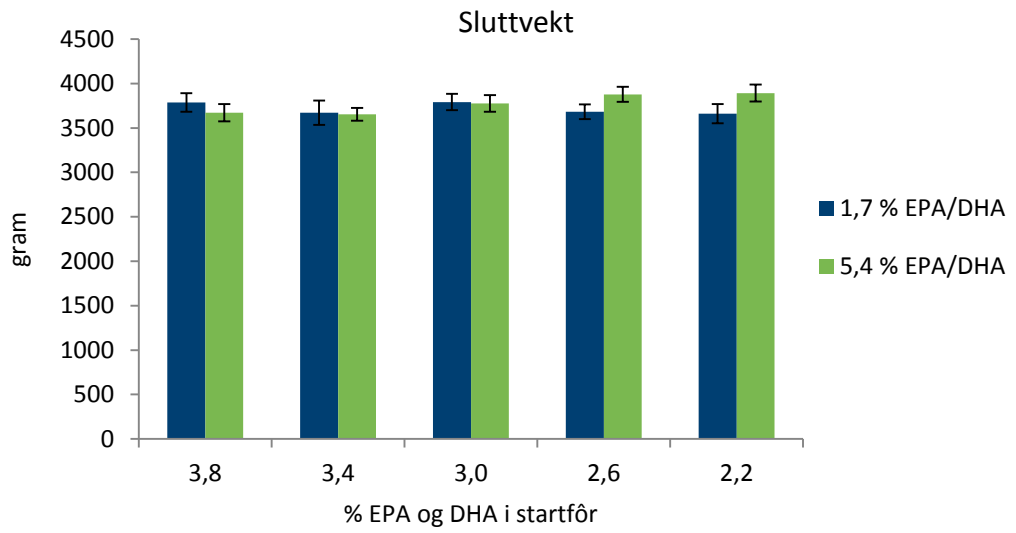



*Figur 15 Dødelighet etter 10 måneder i sjø, gjennomsnittlig antall døde pr forsøksgruppe, Fisken er gruppert etter nivå av EPA og DHA i mellomfôrfasen (x-akse, startfôringsfasen gav ikke utslag på forskjeller i dødelighet) og etter genetisk bakgrunn (Høy/Lav desaturase). Sluttfôringsfase fram til 4 Kg.*

### 4.2.2 Vekst, kondisjonsfaktor, organindeks

Det var ingen signifikant effekt av fôring i tidligere livsfaser på sluttvekt eller vekstrate. Sluttvekt ved uttak etter 11 måneder i merd i sjø er vist i Figur 16. Tabell 7 viser vekt og K-faktor ved start og slutt av 11 måneder i sjø, samt vekstrate for all fisk i merden. Siden det bare var brukt to familier, en «Høy»-desaturase og en «Lav»-desaturase, er det vanskelig å vurdere familie som en faktor i analysen av andre data. Forskjeller i tilvekst kan like gjerne være en normal variasjon mellom familier uavhengig av desaturaseuttrykk. Derfor velger vi å vurdere data fra de to familiene samlet, se på effekt av fôring i to forskjellige perioder, først i mellomperioden fra 40 til 400 gram og deretter i sluttperioden fram til 4 kg.

Kroppsform og K-faktor varierte en del, men i gjennomsnitt ved start av sjøfasen (mars 2013) hadde laksen høyest K-faktor som hadde fått fôr med lavest innhold av EPA og DHA. Etter 11 måneder i sjø var det ingen systematisk forskjell (Tabell 7). Tabell 8 viser ingen signifikante forskjeller i slakteutbytte, leverindeks eller hjerteindeks mellom de ulike gruppene.




*Figur 16* *Sluttvekt i fiskegrupper gruppert etter mengde EPA og DHA i startfôr (x-akse), og etter mengde EPA og DHA i fôr i mellomperiode (40-365 gram).*

*Tabell 7 Vekt (gram) og K-faktor ved start (mars 2013) og slutt (februar 2014) og tilvekst (SGR og TGC) for all fisk i forsøket.*

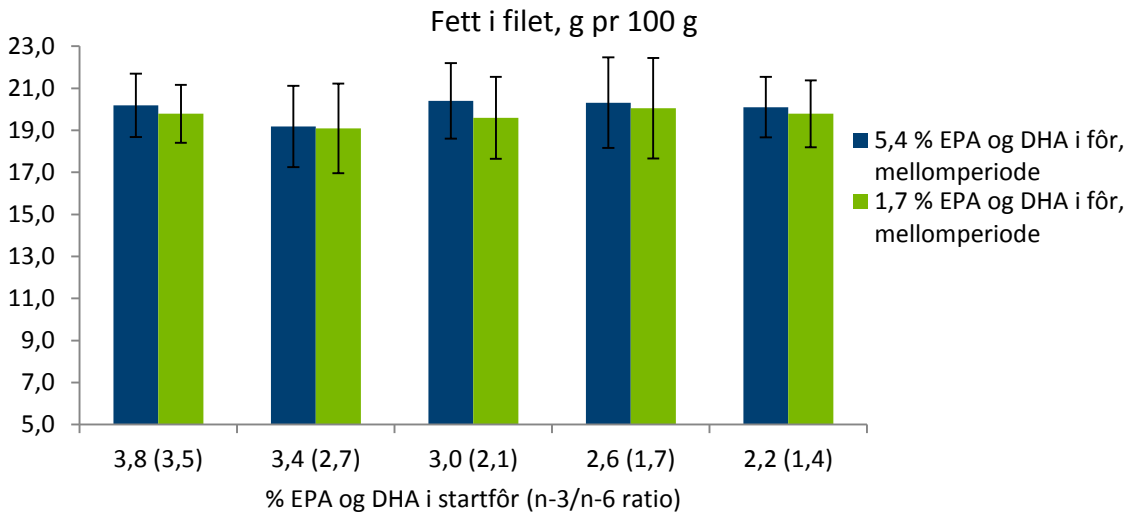
| % EPA og DHA i fôr i startfôr imellomperiode | 3,8 % EPA + DHA | | 3,4 % EPA + DHA | | 3 % EPA + DHA | | 2,6 % EPA + DHA | | 2,2 % EPA + DHA | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1,7 % | 5,4 % | 1,7 % | 5,4 % | 1,7 % | 5,4 % | 1,7 % | 5,4 % | 1,7 % | 5,4 % |
| | | | | | | | | | | |
| **Vekt 03-2013** | 357,7±10,9 | 368,7±10,6 | 368,4±10,7 | 362,3±12,0 | 372,1±11,4 | 359,6±11,6 | 372,4±13,4 | 368,2±13,8 | 360,2±10,9 | 360,2±15,4 |
| **Vekt 02- 2014** | 3661±108,0 | 3892±94,8 | 3683±83,5 | 3878±84,6 | 3792±93,1 | 3777±93,1 | 3671±137,6 | 3655±72,5 | 3787±106 | 3673±96,4 |
| **K-faktor 13** | 1,47±0,01 | 1,42±0,02 | 1,47±0,02 | 1,42±0,01 | 1,47±0,01 | 1,41±0,01 | 1,46±0,02 | 1,41±0,02 | 1,44±0,01 | 1,45±0,02 |
| **K-faktor 14** | 1,46±0,02 | 1,49±0,01 | 1,48±0,02 | 1,47±0,02 | 1,50±0,02 | 1,44±0,02 | 1,47±0,03 | 1,41±0,02 | 1,43±0,02 | 1,48±0,03 |
| **SGR** | 0,68±0,01 | 0,69±0,01 | 0,67±0,01 | 0,69±0,01 | 0,68±0,01 | 0,69±0,01 | 0,67±0,01 | 0,67±0,01 | 0,68±0,01 | 0,68±0,01 |
| **TGC** | 2,73±0,05 | 2,81±0,05 | 2,72±0,04 | 2,82±0,03 | 2,76±0,04 | 2,70±0,04 | 2,70±0,06 | 2,71±0,03 | 2,78±0,04 | 2,74±0,04 |

*Tabell 8 Slakteutbytte, leverindeks og kardiosomatisk indeks for all fisk i forsøket.*

| Innhold i startfôr % EPA og DHA i fôr i mellomperiode | 3,8 % EPA+ DHA | | 3,4 % EPA + DHA | | 3 % EPA + DHA | | 2,6 % EPA og DHA | | 2,2 % EPA + DHA | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1,7 % | 5,4 % | 1,7 % | 5,4 % | 1,7 % | 5,4 % | 1,7 % | 5,4 % | 1,7 % | 5,4 % |
| **Slakteutbytte** | 86,4±0,3 | 87,4±0,4 | 87,4±0,3 | 86,9±0,4 | 86,9±0,3 | 87,5±0,2 | 87,4±0,3 | 86,0±0,3 | 86,6±0,4 | 86,2±0,4 |
| **HSI** | 1,04±0,03 | 1,04±0,03 | 1,04±0,04 | 0,99±0,03 | 1,07±0,05 | 1,00±0,02 | 1,04±0,03 | 1,04±0,02 | 1,03±0,04 | 1,04±0,03 |
| **CSI** | 0,14±0,01 | 0,14±0,00 | 0,14±0,01 | 0,15±0,01 | 0,14±0,01 | 0,15±0,01 | 0,15±0,00 | 0,14±0,01 | 0,15±0,01 | 0,14±0,00 |

### 4.2.3 Fett og fettsyresammensetning ved slutt, effekt av tidlig fôring

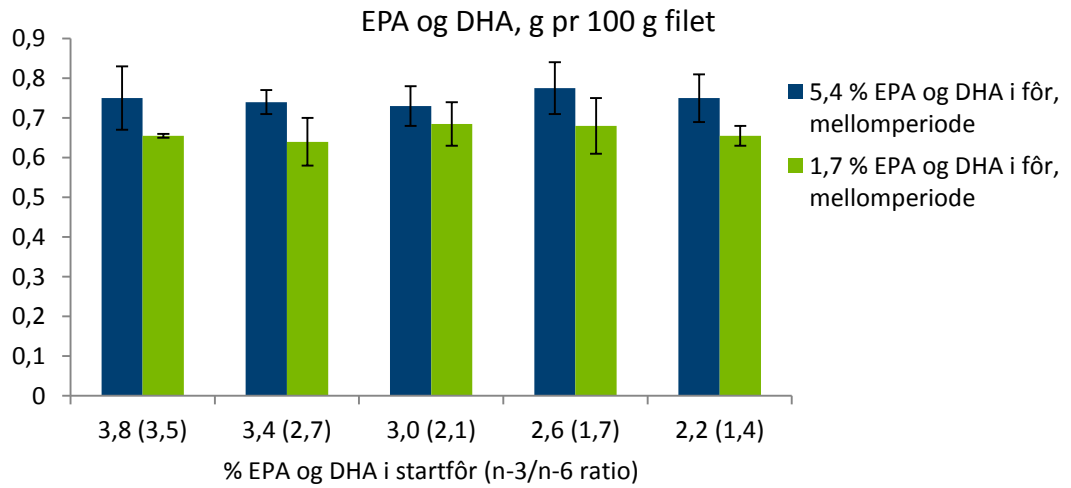
Figur 17 viser ingen signifikante forskjeller i fettnivået i muskel ved 4 kg fiskestørrelse som effekt av EPA + DHA nivå i startfôr eller mellomfor i tidlige livsfaser.



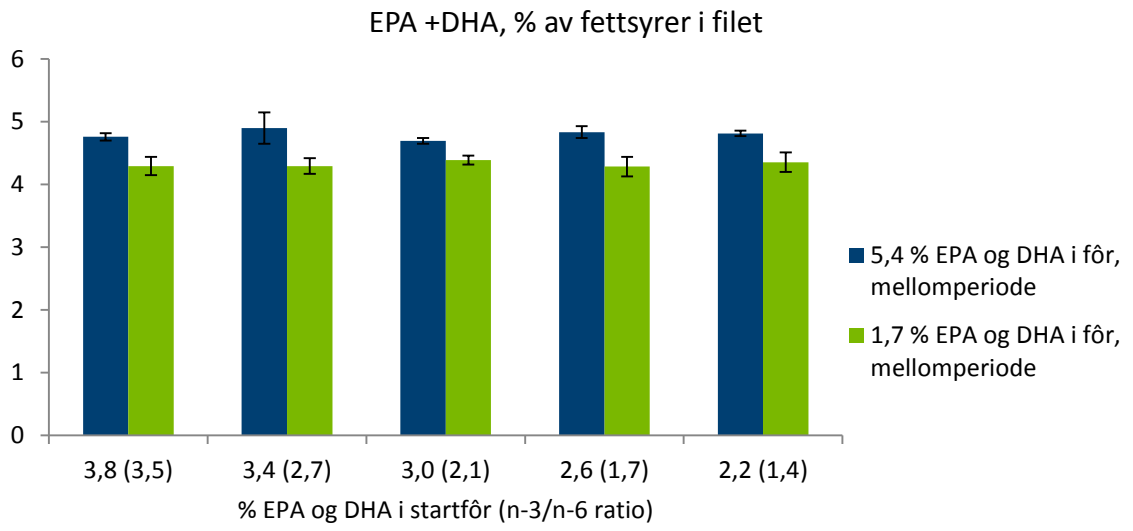

*Figur 17 Viser fettnivået i filet (gram fett/100 gram filet) som effekt av både startfôring (X akse) og mellomfôring (5,4 % blå stolpe, 1,7 % grønn stolpe).*

Figur 18 viser EPA + DHA nivået i filet (g/100g filet) i muskel ved 4 kg fiskestørrelse som effekt av EPA + DHA nivå startfôr eller mellomfor i tidlige livsfaser. EPA+DHA nivået i filet var signifikant høyere i fisk fôret med det høyeste nivået av EPA og DHA i fôret i perioden fra 40 gram til 400 gram. Fôring av ulike nivåer EPA + DHA fra startfôring og opp til 40 gram hadde derimot ingen signifikant effekt på nivået av disse fettsyrene i filet når laksen var 4 kg.

Det samme resultatet finner man i figuren som viser % EPA og DHA av totale fettsyrer i filet (Fig. 19). Nivået av EPA og DHA i fôret i perioden fra smoltifisering og til 350 gram fiskestørrelse ser ut til å ha betydning for fettsyresammensetningen av muskel ved 4 kg fiskestørrelse.



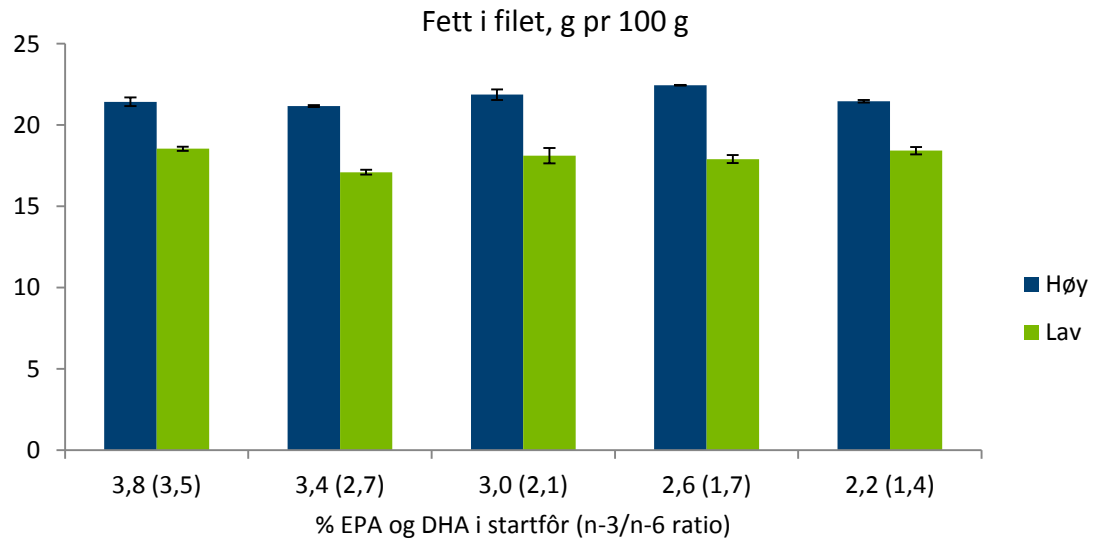

*Figur 18 Viser EPA + DHA som gram EPA+DHA per 100 gram filet og som effekt av startfôring (X akse) og mellomfôring (5,4% blå stolpe, 1,7% grønn stolpe). Effekt av mellomfôring, p=0,03.*




*Figur 19 Viser EPA + DHA i prosent av totale fettsyrer i filet og som effekt av startfôring (X akse) og mellomfôring (5,4 % blå stolpe, 1,7 % grønn stolpe). Effekt av mellomfôring, p<0,0001.*

### 4.2.4 Fett og fettsyresammensetning ved slutt, effekt av genetikk

Figur 20 viser at fettnivået i filet er signifikant høyere i Høy desaturase gruppen enn i Lav- desaturase gruppen i de ulike startfôringsgruppene. Det var ingen signifikant effekt av nivå av EPA + DHA i startfôr på fettnivå i muskel når fisken var 4 kg.

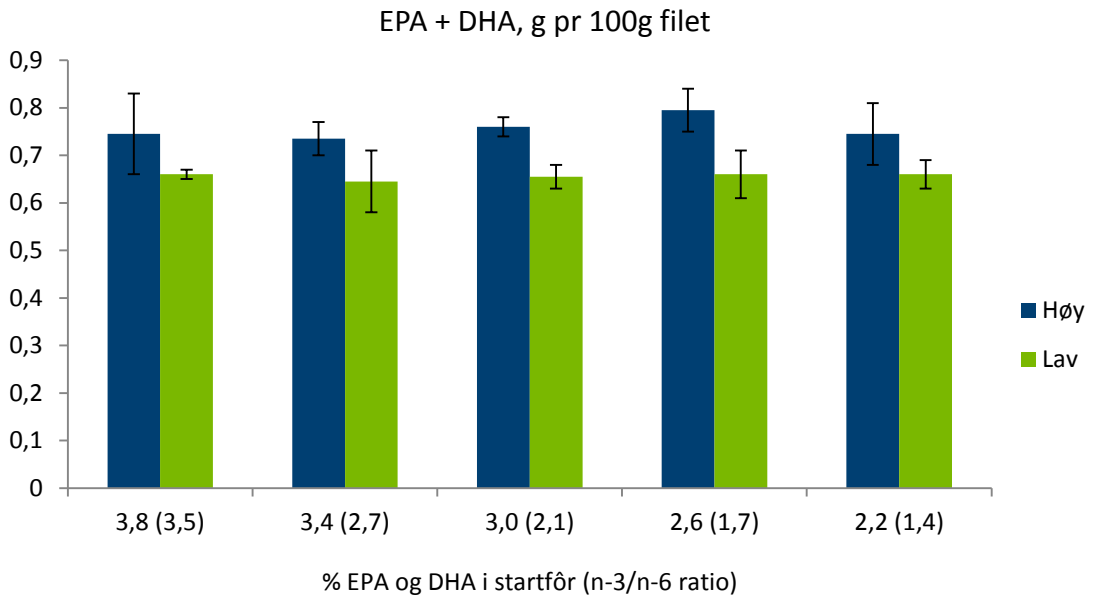



*Figur 20 Viser fettnivået i filet (gram fett/100 gram filet) mellom Høy- (blå) og Lav (grønn) desaturasefamiliene i fisk på 4 kg fôret med ulike EPA+ DHA nivåer i startfôringsfasen. Effekt av desaturase, <0,0001.*

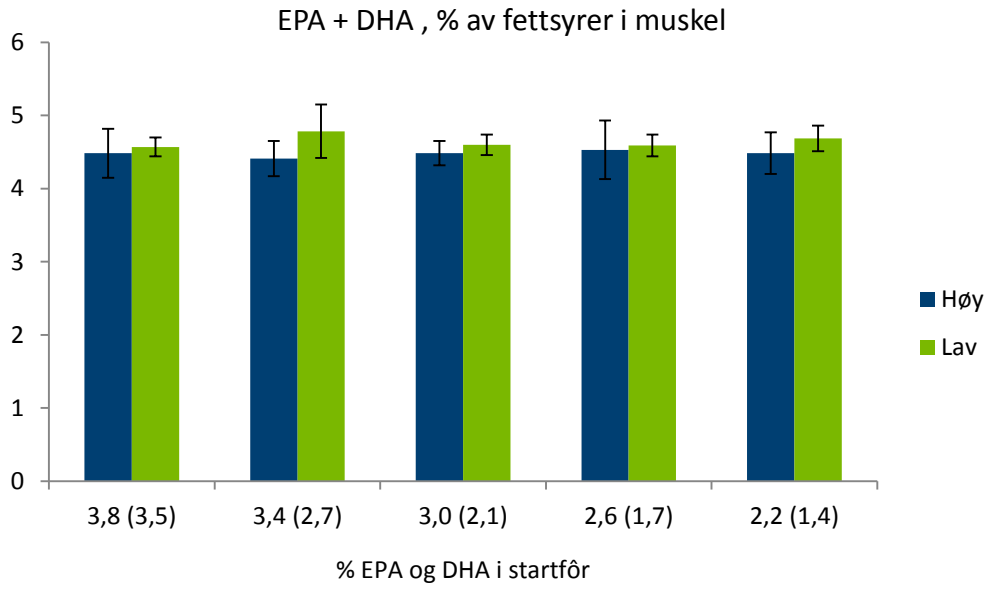
Figur 21 viser EPA + DHA nivået i filet (g/100g filet) i muskel ved 4 kg fiskestørrelse i de to genetiske gruppene som effekt av EPA + DHA nivå startfôr. EPA+DHA nivået i gram per 100 gram filet var signifikant høyere i Høy-desaturase enn i Lav-desaturase familien, noe som gjenspeiler det høyere fettnivået i denne gruppen sammenlignet med Lav-desaturasefamilien. Fôring av ulike nivåer EPA +

DHA fra startfôring og opp til 40 gram hadde derimot ingen signifikant effekt på nivået av disse fettsyrene i filet når laksen var 4 kg.

I figur 22 ser man at % EPA og DHA av totale fettsyrer i filet ikke viste signifikante forskjeller mellom de to genetiske gruppene.



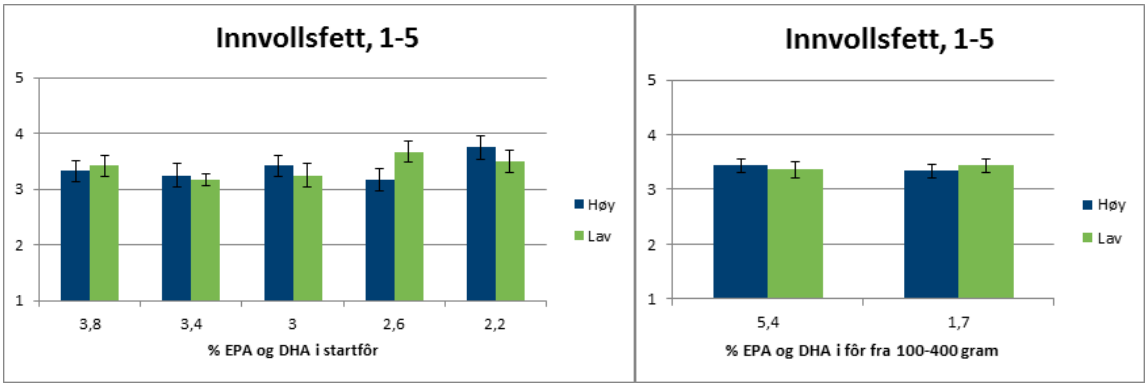

*Figur 21* *Viser EPA + DHA som gram EPA+DHA per 100 gram filet mellom Høy- (blå) og Lav (grønn) desaturasefamiliene i fisk på 4 kg fôret med ulike EPA+ DHA nivåer i startfôringsfasen. Effekt av desaturase, p=0,009.*




*Figur 22* *Viser EPA + DHA i % av totale fettsyrer i filet mellom Høy- (blå) og Lav (grønn) desaturasefamiliene i fisk på 4 kg fôret med ulike EPA+ DHA nivåer i startfôringsfasen.*

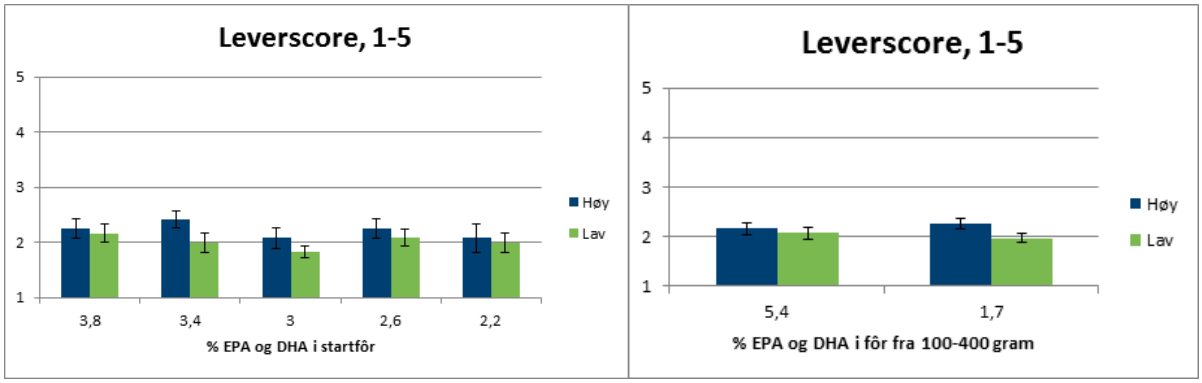
### 4.2.5 Fettdeponering i lever og innvollsfett, effekt av genetikk og fôr

Figur 23 viser ingen signifikante forskjeller mellom de ulike genetiske gruppene når det gjelder mengde innvollsfett, men i lavdesaturasegruppen ser det ut til at diettene med lavest nivå av EPA+DHA i startfôr gir en tendens til litt høyere mengde innvollsfett (2,6 og 2,2 %). Det var ingen tydelig effekt av mellomfôr.




*Figur 23 Viser score av innvollsfett mellom Høy- (blå) og Lav (grønn) desaturasefamiliene i fisk på 4 kg fôret med ulike EPA+ DHA nivåer i startfôringsfasen (figur til venstre) og i mellomfasen (figur til høyre).*

Figur 24 viser at Høy-desaturase familien har signifikant høyere leverscore enn Lav-desaturasefamilien. Lavest leverscore (fettnivå) ser vi i gruppen fôret med moderat EPA og DHA nivå i startfôr (3 %). Når det gjelder mellomfôrperioden, så ser det ut til at forskjellen mellom Høy og Lav desaturase familien kun er tydelig ved det laveste nivået av EPA og DHA i mellomfôrperioden (nesten signifikant mot startfôr (p=0,08) og mellomperiode-fôr (p=0,07).




*Figur 24 Viser score av leverscore mellom Høy- (blå) og Lav (grønn) desaturasefamiliene i fisk på 4 kg fôret med ulike EPA+ DHA nivåer i startfôringsfasen (figur til venstre) og i mellomfasen (figur til høyre).*

### 4.2.6 Kvalitet, effekt av tidlig fôring

*Tabell 9 Viser ingen effekt av tidlig fôring på kvalitetsparameterne.*

| Startfôr % EPA og DHA i fôrmellomperiode | 3,8 % EPA + DHA | | 3,4 % EPA + DHA | | 3 % EPA + DHA | | 2,6 % EPA + DHA | | 2,2 % EPA + DHA | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1,70 % | 5,40 % | 1,70 % | 5,40 % | 1,70 % | 5,40 % | 1,70 % | 5,40 % | 1,70 % | 5,40 % |
| | | | | | | | | | | |
| Totalfett, % | 18,3±0,3 | 18,8±0,4 | 18,7±0,5 | 17,7±0,3 | 18,9±0,3 | 18,8±0,4 | 19,1±0,4 | 19,0±0,2 | 18,7±0,3 | 18,8±0,3 |
| Pigment, mg/kg | 6,18±0,23 | 6,13±0,20 | 5,96±0,21 | 6,10±0,15 | 6,01±0,26 | 6,18±0,24 | 5,91±0,25 | 6,28±0,20 | 6,13±0,23 | 5,83±0,18 |
| Fasthet | 10,3±0,5 | 10,4±0,3 | 10,7±0,3 | 10,8±0,4 | 11,2±0,6 | 11,1±0,3 | 10,5±0,4 | 11,0±0,5 | 10,7±0,4 | 10,4±0,4 |
| Filetspalting | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,17±0,11 | 0,17±,11 | 0,50±0,23 | 0,00±0,00 | 0,17±0,17 | 0,17±0,17 |
| Melanin buk | 0,17±0,11 | 0,08±0,08 | 0,00±0,00 | 0,17±0,11 | 0,08±0,08 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,08±0,08 | 0,00±0,00 | 0,17±0,11 |
| Melanin rygg | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,17±0,11 | 0,00±0,00 | 0,17±0,11 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |
| Vannbindingsevne | 5,87±0,67 | 5,58±0,63 | 4,82±0,71 | 6,41±0,66 | 5,37±0,70 | 4,87±0,27 | 7,33±0,76 | 7,33±0,84 | 6,56±0,59 | 5,20±0,66 |

# 5 Konklusjon

## 5.1 Effekt av forskjellig EPA og DHA nivå i fôr i startfôringsfasen

Fettsyresammensetningen i helkropp ved de ulike tidspunktene fra startfôring og fram til 40 gram var i stor grad et speilbilde av fettsyresammensetningen i fôret. Dataene tyder ikke på betydelig økt utnyttelse/deponering av EPA og DHA ved de lavere nivåene av EPA og DHA og lave n3/n-6 fettsyreratio i fôret. I behovsforsøk, har vi vist en betydelig økt retensjon (høyere enn 100 %) av EPA og DHA når nivået av disse i fôret er lavere enn 1 % (noe som tyder på økt omdanning av ALA til EPA og DHA). I dette startfôringsforsøket var nivået av EPA og DHA høyere enn 2 % selv i gruppen hvor det kun var benyttet 100 % rapsolje som oljekilde i fôret. Dette skyldes det høye nivået av fiskemel som ble benyttet i startfôrene. Forsøket tyder på at ved så høye nivåer av EPA og DHA i fôret (over 2 %), så påvirker ikke reduksjonen av EPA og DHA nivå i fôret fra 3,8 % til 2,2 % nevneverdig fiskens egen kapasitet til å omdanne ALA til EPA og DHA under startfôringen.

## 5.2 Effekt av forskjellig EPA og DHA nivå i fôr i startfôringsfasen på genuttrykk

Både uttrykk av Δ-5 og 3 varianter av Δ-6 (a,b,c) desaturase viser et tydelig mønster med at alle tre geners uttrykk reduseres med økende alder på fisken når fisken er fôret med lavt nivå av rapsolje i fôret (0 % og 25 %). Det er tidligere kjent at pre-smolt har høyere uttrykk av desaturaser før smoltifisering enn etter smoltifisering (Bell, M. V. et al. 2001) men man har hittil trodd at nedregulering er forårsaket av smoltifisering (Ackman, R. G. et al. 1986). Våre data kan tyde på at nedregulering av genene med økende alder i ferskvannsfasen til en viss grad er forårsaket av økende innhold av EPA og DHA i kroppen med økende alder. Det er tidligere kjent at økende EPA og DHA nivå i laks kan hemme desaturaser i sjøvannsperioden (Kjaer, M. A. et al. 2008;Sanden, M. et al. 2011). Når det derimot er lavt nivå av fiskeolje og høyt nivå av rapsolje i fôret i de tidligste livsfasene, så finner vi ikke signifikant effekt på uttrykk av de ulike genene over tid. Økende nivå av planteolje i fôret fører til signifikant økt uttrykk av både Δ-5 og Δ-6b desaturasene, noe som dermed tyder på at man motvirker nedgangen i genuttrykk ved økende alder i grupper fôret med høyt nivå av planteolje i fôret under startfôringsperioden.

## 5.3 Effekt av forskjellig EPA og DHA nivå i fôr i tidlige livsfaser på fettsyresammensetning av fisk på 4 kg.

EPA+DHA nivået i filet i 4 kg laks var signifikant høyere i fisk fôret med det høyeste nivået av EPA og DHA i fôret i perioden fra 40 gram til 400 gram, noe som viser at tidlig fôring har betydning for fettsyresammensetningen i fisken på slaktestørrelse. Fôring av ulike nivåer EPA + DHA fra startfôring og opp til 40 gram hadde derimot ingen signifikant effekt på nivået av disse fettsyrene i filet når laksen var 4 kg.

## 5.4 Genetiske forskjeller og effekter på fettsyresammensetning og helse

To laksefamilier selektert for høy og lav kapasitet til å produsere EPA og DHA basert på uttrykk av Δ-6 desaturase genet ble fulgt fra startfôring og fram til slaktestørrelse på 4 kg. Disse to gruppene av fisk viste noen fysiologiske forskjeller. Det var ingen signifikant forskjell i vekt mellom de to gruppene, men Høy desaturase gruppen hadde signifikant høyere fettnivå i muskel og dermed også signifikant høyere

EPA og DHA nivå (gram/100 gram filet) og signifikant lavere grad av fettlever enn lav desaturase gruppen. I delrapport 2 hvor vi fulgte 3 andre Lav- desaturase familier og 3 Høy desaturasefamilier fant vi også endret fettfordeling i fisken mellom de genetiske gruppene. I motsetning til de to familiene i denne delrapporten var det ingen signifikante forskjeller i fettnivået i muskel (og dermed heller ingen signifikante forskjeller i EPA og DHA nivå i gram/100 gram filet) mellom Høy og Lav desaturase familiene, men derimot signifikant lavere fettnivå i innvollsfett i Høy desaturase familiene. Men i samsvar med de to familiene i denne rapporten var signifikant lavere grad av fettlever i Høy desaturase enn i Lavdesaturase familiene. Våre to delrapportstudier viser dermed forskjeller i fettfordeling både innen ulike Høy desaturasefamiler og også mellom Lav og Høy desaturasefamilier. Tilsvarende resultater er tidligere funnet i regnbueørret selektert for egenskapen mager eller feit (Kolditz, C., Borthaire, M., Richard, N., Corraze, G., Panserat, S., Vachot, C. et al. 2008;Kolditz, C. I., Paboeuf, G., Borthaire, M., Esquerre, D., SanCristobal, M., Lefevre, F. et al. 2008), selv om det i vår studie med laks, ble selektert familier på basis av uttrykk av Δ-6 desaturase genet. I regnbueørret studien fant man det samme totale fettinnholdet i kroppen i de ulike genetiske familiegruppene, men fettet fordelte seg forskjellig i kroppen mellom muskel, innvoller og lever. I både regnbueørret studien og i våre laksefamilier fant man forskjellig kapasitet til å produsere EPA og DHA mellom de genetiske gruppene. I begge studiene ble omega-3 synteseveien stimulert ved et moderat nivå av planteolje i fôret, uavhengig av den genetiske bakgrunnen til fisken. Den genetiske pre-disponeringen til høyere EPA og DHA syntese i ørretfamilier synes å forsvinne når dietter med høyt nivå av planteolje ble benyttet (Kamalam, B. S., Medale, F., Larroquet, L., Corraze, G., & Panserat, S. 2013). Tilsvarende som for ørretstudien, fant vi høyere EPA og DHA produksjon i Høy desaturase gruppen enn i lavdesaturase gruppen når laks ble fôret med moderate nivåer av planteoljer i tidligere livsfase. I vår studie, hvor et meget høyt nivå av planteolje i fôret ble benyttet gjennom hele vekstperioden i sjø fra 400 gram til 4 Kg (kun 1 % EPA og DHA i fôret), forsvant forskjellen i prosent EPA + DHA mellom de genetiske gruppene.

I tillegg til betydelige effekter på hele kroppens lipid metabolisme, fant vi også helseforskjeller mellom Høy og Lavdesaturasegruppene, som muligens kan være relatert til forskjeller i fettmetabolisme. Høydesaturasegruppen hadde signifikant lavere dødelighet etter sjøvannsoverføring. Tilsvarende funn fant vi også mellom de genetiske gruppene i delprosjekt 2. I delprosjekt to ble det utført en del helsemarkøranalyser i fisken før overføring til sjø som allerede da viste vesentlig lavere forekomst av fettlever og lavere plasmanivåer av inflammatoriske markører (sannsynligvis på grunn av lavere forekomst av fettlever og overflødig visceralt fett) i tillegg til høyere kapasitet til EPA og DHA produksjon i Høydesaturasefamiliene. Lipidmetabolisme og helse har komplekse interaksjoner. I pattedyr kan fedme f,eks føre til en kronisk betennelsestilstand siden fettvev skiller ut flere pro-innflammatoriske cytokiner, inkludertnumornekrosefaktor alfa (TNFa) (Rocha, V. Z. & Libby, P. 2009). I Atlantisk laks, er det tidligere vist at endring EPA og DHA nivået i fisken kan redusere betennelsesresponser og hjerte lesjoner forårsaket av virusinfeksjoner (Martinez-Rubio, L., Evensen, O., Krasnov, A., Jorgensen, S. M., Wadsworth, S., Ruohonen, K. et al. 2014).

# 6 Nytteverdi

Både i delprosjekt 1 og 2 har vi vist at fôring i perioden fra smoltstørrelse og opp til 4-500 gram, har signifikant betydning for innhold av EPA og DHA i filet etter påfølgende 13 måneder med lavt innhold av omega-3 i fôr og 3,5 kg økning i kroppsvekt. Disse resultatene kan tyde på at det bør undersøkes mer grundig om det kan være ressursøkonomisk gunstig å benytte høye nivåer av EPA og DHA i visse livsfaser fremfor andre.

Startfôringsperioden (fram til 40 gram) derimot så ikke ut til å gi signifikant utslag på fettsyre-sammensetningen av laksefilet på 4 kg. I vårt forsøk ble det kun benyttet fra 2,2 % EPA og DHA i fôret og oppover, og det kan være at vi med dette høye nivået i fôret (grunnet fiskemel), ikke vil kunne detektere evt. overføring av økt kapasitetet til EPA og DHA syntese (forårsaket av lave nivå av fiskeolje i fôret). Dette støttes av genuttrykksdataene målt over tid gjennom startfôringsforsøket, som viste at uttrykket av alle desaturasene ble redusert i tidsperioden fra start av fôring og frem til 40 gram fiskestørrelse. Når laksen i denne fasen ble fôret med 75 % rapsolje i fôret (ca 2,7 % EPA og DHA i fôret), fant man ikke tilsvarende reduksjon i uttrykk av desaturaser over tid, uttrykket ble mer opprettholdt. Det vil være interessant for videre studier hvorvidt man vil oppnå større effekter av startfôringsfasen for seinere livsstadier, dersom man i denne fasen benytter lavere nivåer (≤ 1% av EPA og DHA i fôret).

Vi har vist at omega-3 fettsyremetabolismen er en kompleks egenskap. Når vi har selektert for egenskapen Δ-6 desaturase for økt kapasitet til EPA og DHA produksjon, så følger flere andre egenskaper med på lasset. Våre data viser at genetisk bakgrunn, i tillegg til egenskapen vi selekterte for, kapasitet til EPA og DHA syntese, hadde betydning for fettfordelingen i fiskekroppen (spesielt stor betydning for utvikling av fettlever og fordeling mellom innvollsfett og muskelfett), og flere parametere relatert til fiskehelse, inkludert overlevelse i sjø. Videre viser våre data at ulike familier responderer ulikt på de ovennevnte egenskapene når nivået av planteoljer i fôret økes. Resultater fra transcriptom analyser av de ulike familiene i våre studier viste at et høyt antall gener er forskjellig uttrykt i Høy- og Lav-desaturase-familier. Mange av disse genene er relatert til fettsyremetabolisme, men også gener relatert til immunforsvar og inflammasjon. Våre studier viser relativt stor variasjon mellom ulike laksefamilier når det gjelder egenskapene nevnt over, inkludert respons på økende nivå av planteoljer i fôret, noe som kan tyde på potensiale for genetisk seleksjon.

# 7 Referanser


Ackman, R. G. & Takeuchi, T. 1986. Comparison of Fatty-Acids and Lipids of Smolting Hatchery-Fed and Wild Atlantic Salmon Salmo-Salar. ***Lipids***, 21(2): 117-120.

Andersen, U. B., Strømsnes, A. N., Steinsholt, K., & Thomassen, M. 1994. Fillet gaping in farmed Atlantic salmon (Salmo salar). ***Norwegian Journal of Agricultural Sciences***, 8: 165-179.

Bell, M. V., Dick, J. R., & Porter, A. E. A. 2001. Biosynthesis and tissue deposition of docosahexaenoic acid (22 : 6n-3) in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). ***Lipids***, 36(10): 1153-1159.

Buzzi, M., Henderson, R. J., & Sargent, J. R. 1997. Biosynthesis of docosahexaenoic acid in trout hepatocytes proceeds via 24-carbon intermediates. ***Comp Biochem.Physiol B Biochem.Mol.Biol.***, 116(2): 263-267.

Devlin, A. M., Singh, R., Wade, R. E., Innis, S. M., Bottiglieri, T., & Lentz, S. R. 2007. Hypermethylation of Fads2 and altered hepatic fatty acid and phospholipid metabolism in mice with hyperhomocysteinemia. ***Journal of Biological Chemistry***, 282(51): 37082-37090.

Folch, J., Lees, M., & Stanley, G. H. S. 1957. A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipides from Animal Tissues. ***Journal of Biological Chemistry***, 226(1): 497-509.

Folkestad, A., Wold, J. P., Rorvik, K. A., Tschudi, J., Haugholt, K. H., Kolstad, K., & Morkore, T. 2008. Rapid and non-invasive measurements of fat and pigment concentrations in live and slaughtered Atlantic salmon (Salmo salar L.). ***Aquaculture***, 280(1-4): 129-135.

Hoshi, M., Williams, M., & KISHIMOT.Y 1973. Esterification of Fatty-Acids at Room-Temperature by Chloroform-Methanolic Hcl-Cupric Acetate. ***Journal of Lipid Research***, 14(5): 599-601.

Kamalam, B. S., Medale, F., Larroquet, L., Corraze, G., & Panserat, S. 2013. Metabolism and Fatty Acid Profile in Fat and Lean Rainbow Trout Lines Fed with Vegetable Oil: Effect of Carbohydrates. ***Plos One***, 8(10).

Kjaer, M. A., Todorcevic, M., Torstensen, B. E., Vegusdal, A., & Ruyter, B. 2008. Dietary n-3 HUFA affects mitochondrial fatty acid beta-oxidation capacity and susceptibility to oxidative stress in Atlantic salmon. ***Lipids***, 43(9): 813-827.

Kolditz, C., Borthaire, M., Richard, N., Corraze, G., Panserat, S., Vachot, C., Lefevre, F., & Medale, F. 2008. Liver and muscle metabolic changes induced by dietary energy content and genetic selection in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). ***American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology***, 294(4): R1154-R1164.

Kolditz, C. I., Paboeuf, G., Borthaire, M., Esquerre, D., SanCristobal, M., Lefevre, F., & Medale, F. 2008. Changes induced by dietary energy intake and divergent selection for muscle fat content in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss), assessed by transcriptome and proteome analysis of the liver. ***Bmc Genomics***, 9.

Martinez-Rubio, L., Evensen, O., Krasnov, A., Jorgensen, S. M., Wadsworth, S., Ruohonen, K., Vecino, J. L. G., & Tocher, D. R. 2014. Effects of functional feeds on the lipid composition, transcriptomic responses and pathology in heart of Atlantic salmon (Salmo salar L.) before and after experimental challenge with Piscine Myocarditis Virus (PMCV). ***Bmc Genomics***, 15.

Mason, M. E. & Waller, G. R. 1964. Dimethoxypropane Induced Transesterification of Fats + Oils in Preparation of Methyl Esters for Gas Chromatographic Analysis. ***Analytical Chemistry***, 36(3): 583-&.

Monroig, O., Tocher, D. R., & Navarro, J. C. 2013. Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in marine invertebrates: recent advances in molecular mechanisms. ***Mar.Drugs***, 11(10): 3998-4018.

Montero, D. & Izquierdo, M. 2015. Welfare and health of fish fed vegetable oils as alternative lipid sources to fish oil. In G. Turchini, W.-K. Ng, & D. R. Tocher (Eds.), *Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds*: 439-487. CRC press.

Morkore, T. & Einen, O. 2003. Relating sensory and instrumental texture analyses of Atlantic salmon. ***Journal of Food Science***, 68(4): 1492-1497.

Pfaffl, M. W. Quantification strategies in real-time PCR. Bustin, S. A. A–Z of Quantitative PCR. IUL Biotechnology Series, 87-120. 2004. La Jolla, CA, International University Line.

Ref Type: Generic

Rocha, V. Z. & Libby, P. 2009. Obesity, inflammation, and atherosclerosis. ***Nature Reviews Cardiology***, 6(6): 399-409.

Ruyter, B., Rosjo, C., Einen, O., & Thomassen, M. S. 2000. Essential fatty acids in Atlantic salmon: effects of increasing dietary doses of n-6 and n-3 fatty acids on growth, survival and fatty acid composition of liver, blood and carcass. ***Aquaculture Nutrition***, 6(2): 119-127.

Ruyter, B., Rosjo, C., Einen, O., & Thomassen, M. S. 2000. Essential fatty acids in Atlantic salmon: time course of changes in fatty acid composition of liver, blood and carcass induced by a diet deficient in n-3 and n-6 fatty acids. ***Aquaculture Nutrition***, 6(2): 109-117.

Ruyter, B., Rosjo, C., Grisdale-Helland, B., Rosenlund, G., Obach, A., & Thomassen, M. S. 2003. Influence of temperature and high dietary linoleic acid content on esterification, elongation, and desaturation of PUFA in Atlantic salmon hepatocytes. ***Lipids***, 38(8): 833-840.

Ruyter, B. & Thomassen, M. S. 1999. Metabolism of n-3 and n-6 fatty acids in Atlantic salmon liver: Stimulation by essential fatty acid deficiency. ***Lipids***, 34(11): 1167-1176.

Sanden, M., Stubhaug, I., Berntssen, M. H. G., Lie, O., & Torstensen, B. E. 2011. Atlantic Salmon (Salmo salar L.) as a Net Producer of Long-Chain Marine omega-3 Fatty Acids. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***, 59(23): 12697-12706.

Sprecher, H. 1981. Biochemistry of essential fatty acids. ***Prog.Lipid Res.***, 20: 13-22.

Thomassen, M. S., Rein, D., Berge, G. M., Østbye, T.-K, and Ruyter, B. High dietary EPA does not inhibit delta 5 and delta 6 desaturases in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed rapeseed oil diets. Aquaculture 360-361, 78-85. 2012.

Ref Type: Generic

Tocher, D. R., Bell, J. G., Dick, J. R., Henderson, R. J., McGhee, F., Michell, D., & Morris, P. C. 2000. Polyunsaturated fatty acid metabolism in Atlantic salmon (Salmo salar) undergoing parr-smolt transformation and the effects of dietary linseed and rapeseed oils. ***Fish Physiology and Biochemistry***, 23(1): 59-73.

Torstensen, B. E., Ruyter, B., Sissener, N, Østbye, T., Waagbø, R, Jørgensen, S. M, Ytteborg, E., Rud, I., Liland, N., Mørkøre, T., and Dessen, J. E. Fett for fiskehelse. 2013. FHF-rapport.

Ref Type: Report

Xu, H. G., Dong, X. J., Ai, Q. H., Mai, K. S., Xu, W., Zhang, Y. J., & Zuo, R. T. 2014. Regulation of Tissue LC-PUFA Contents, D6 Fatty Acyl Desaturase (FADS2) Gene Expression and the Methylation of the Putative FADS2 Gene Promoter by Different Dietary Fatty Acid Profiles in Japanese Seabass (Lateolabrax japonicus). ***Plos One***, 9(1).

# 8 Leveranser

I løpet av perioden har prosjektet gitt følgende leveranser:

| | |
|---|---|
| 01.01.2012 | Møte med styringsgruppen |
| 31.12.2012 | Faktaark: «Kan vi gjennom avl og ernæring påvirke laksens kapasitet til å produsere omega-3 fettsyrene EPA og DHA?» |
| 31.12.2012 | Framdriftsrapport pr 2012 |
| 07.03.2013 | Møte med styringsgruppen (telefonmøte) |
| 05.06.2014 | Møte med styringsgruppen |
| 22.10.2013 | Presentasjon på FHF-samling Verdikjede havbruk 21.-22.oktober |
| 31.12.2013 | Faktaark: «Kan størrelse ved overgang til sjøvann påvirke laksens kapasitet til å produsere omega-3 fettsyrene EPA og DHA?» |
| 31.12.2013 | Framdriftsrapport pr 2013 |
| 15.05.2014 | Presentasjon på FHF-samling, dialogmøte med Nifes og industri, 15.05.2014 |
| 10.12.2014 | Faktaark; «Genetisk bakgrunn er av betydning for laksens evne til å opprettholde god helse ved lave nivåer av EPA og DHA i fôret» |
| 21.01.2015 | Presentasjon på FHF-samling, dialogmøte med Nifes og industri |

Under bearbeiding:

- Artikkel til fagpresse

Prosjektet har også fått omtale her:

18.09.2012
http://www.forskning.no/artikler/2012/september/333809
http://www.intrafish.no/norsk/nyheter/article1355968.ece
http://www.kyst.no/?page_id=120&article_id=95814
20.09.2012
http://www.fishnewseu.com/index.php?option=com_content&view=article&id=8983:genes-effect-omega-3-conversion&catid=46:world&Itemid=56

31.03.2014
http://www.kyst.no/nyhet/?article_id=104723

10.04.2014
http://www.kyst.no/nyhet/?article_id=104959

13.05.2014
http://nofima.no/nyhet/2014/05/stor-laksesmolt-produserer-mer-sunt-fett/
http://www.sysla.no/2014/05/13/pressemelding/stor-laksesmolt-produserer-mer-sunt-fett/
http://www.intrafish.no/gratis_nyheter/article1390358.ece
http://www.fishupdate.com/larger-salmon-smolts-produce-healthier-fat-fishupdate-com/
http://www.dagligvarehandelen.no/oppdrettslaks-kan-produsere-mer-marint-omega-3/

23.05.2014
http://www.kystmagasinet.no/nyheter/2014/stor-laksesmolt-produserer-mer-sunt-fett/

16.06.2014
Nationen (papirutgave) Gjør laksen enda sunnere (om stor smolt og omega-3)
http://forskning.no/fisk-oppdrett-mat/2014/05/laksen-skal-lage-mer-av-det-sunne-omega-3-fettet
http://www.kyst.no/nyhet/?article_id=106126
http://www.sysla.no/2014/06/16/havbruk/slik-skal-oppdrettslaksen-bli-sunnere/
http://www.nord24.no/sjomat/article7422026.ece

## Vedlegg

Tabell 1

| Innhold i startfôr | 3,8 % EPA + DHA | | 3,4 % EPA +DHA | | 3 % EPA + DHA | | 2,6 % EPA + DHA | | 2,2 % EPA + DHA | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| % EPA og DHA i fôr i mellom-periode | 1,70 % | 5,40 % | 1,70 % | 5,40 % | 1,70 % | 5,40 % | 1,70 % | 5,40 % | 1,70 % | 5,40 % |
| Total fett | 19,8±1,4 | 20,2±1,5 | 19,1±2,1 | 19,2±1,9 | 19,6±2,0 | 20,4±1,8 | 20,1±2,4 | 20,3±2,2 | 19,8±1,6 | 20,1±1,4 |
| 18:1 n-9 | 47,6±0,05 | 46,8±0,16 | 47,6±0,04 | 46,7±0,25 | 47,5±0,04 | 46,9±0,11 | 47,5±0,16 | 46,8±0,31 | 47,4±0,05 | 46,9±0,17 |
| 18:2 n-6 | 15,8±0,06 | 15,6±0,32 | 16,0±0,20 | 15,6±0,09 | 15,9±0,18 | 15,7±0,16 | 15,9±0,15 | 15,5±0,29 | 15,8±0,15 | 15,6±0,18 |
| 18:3 n-3 | 5,3±0,01 | 5,2±0,16 | 5,3±0,12 | 5,2±0,06 | 5,3±0,10 | 5,3±0,07 | 5,3±0,11 | 5,2±0,14 | 5,3±0,08 | 5,2±0,11 |
| 20:5 n-3 | 1,7±0,14 | 1,9±0,04 | 1,7±0,07 | 1,9±0,15 | 1,7±0,05 | 1,8±0,10 | 1,7±0,10 | 1,9±0,04 | 1,7±0,08 | 1,9±0,06 |
| 22:5 n-3 | 0,7±0,04 | 0,8±0,02 | 0,7±0,01 | 0,8±0,05 | 0,7±0,01 | 0,7±0,01 | 0,7±0,03 | 0,8±0,02 | 0,7±0,02 | 0,8±0,03 |
| 22:6 n-3 | 2,6±0,01 | 2,9±0,10 | 2,6±0,06 | 3,0±0,10 | 2,7±0,02 | 2,9±0,05 | 2,6±0,06 | 3,0±0,13 | 2,7±0,08 | 2,9±0,01 |
| SFA | 14,9±0,05 | 15,2±0,16 | 14,7±0,05 | 15,1±0,08 | 14,8±0,03 | 15,1±0,01 | 14,6±0,09 | 15,1±0,18 | 14,8±0,04 | 15,1±0,24 |
| MUFA | 53,6±0,18 | 53,0±0,05 | 53,6±0,19 | 52,9±0,33 | 53,6±0,13 | 53,1±0,09 | 53,6±0,26 | 53,0±0,16 | 53,5±0,21 | 53,1±0,05 |
| PUFA | 29,1±0,19 | 29,3±0,33 | 29,3±0,32 | 29,5±0,38 | 29,2±0,26 | 29,4±0,19 | 29,3±0,38 | 29,3±0,23 | 29,3±0,24 | 29,4±0,28 |

ISBN 978-82-8296-265-0 (trykt)
ISBN 978-82-8296-266-7 (pdf)
ISSN 1890-579X