

## **Pumping og håndtering av smolt**

Åsa Maria Espmark, Jelena Kolarevic, Øyvind Aas-Hansen og Jonatan Nilsson





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 seks 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-5828 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**

# Rapport

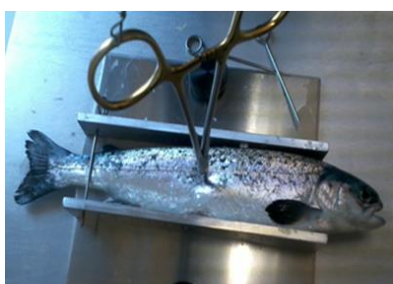
Rapport		ISBN: 978-82-8296-261-2 (trykt) ISBN: 978-82-8296-262-9 (pdf) ISSN 1890-579X
Tittel: Pumping og håndtering av smolt	Rapportnr.:	6/2015
	Tilgjengelighet:	Åpen
Forfatter(e)/Prosjektleder: Åsa Maria Espmark (prosjektleder), Jelena Kolarevic, Øyvind Aas-Hansen og Jonatan Nilsson	Dato:	24. februar 2015
Avdeling: Produksjonsbiologi	Ant. sider og vedlegg:	61+11
Oppdragsgiver: Fiskeri- og Havbruksnæringens Landsforening, Oslo	Oppdragsgivers ref:	FHF # 900660
Stikkord: Pumping, trenging, håndtering, stress, velferd, skinn, laks, smolt	Prosjektnr:	21298
Sammendrag/anbefalinger: <p>Hovedmålet for prosjektet «Pumping og håndtering av smolt» var å redusere skader og øke velferden hos smolt som blir pumpet og håndtert samt å forhindre at det oppstår senskader som følge av røff behandling tidligere i livet. I prosjektet er det gjennomført flere forsøk under kontrollerte forhold og vi har besøkt tre kommersielle settefiskanlegg og tatt prøver av fisk under utsett, sortering og vaksinerings. Av kontrollerte forsøk undersøke vi om det er mulig å kvantifisere festegraden av skjell til smolt med hjelp av «TA-HD texture analyser». Det ble konkludert med at skjellene på smolt er for små og løse til å feste til. Metoden er mer egnet på stor laks. Videre undersøkte vi hvordan kort (1t) versus lang (3t) trengetid påvirket ulike stressindikatorer og hvor lang restitusjonstiden ble. Forsøket viste at 3t trenging øker og forlenger varigheten av stress. Forsøket viste også at trenging i seg selv fører til skjelltap. I to langtidforsøk, der fisken ble gjentatt trengt/pumpet i ferskvannsfasen og ført over til sjøvann, enten i kontrollerte kar (STRESSPUMP 1) eller i merd (STRESSPUMP 2), ble det vist at håndtering (trenging og pumping) stresser fisken på kort og lang sikt. Håndteringen reduserer vekst og fiskens evne til hypo-osmotisk regulering. Fisken presterer dårligere etter sjøsetting, vist ved lavere vekt, økt dødelighet og redusert skinnhelse. Resultatene tyder likevel på at en viss håndtering gjør fisken i stand til å tilpasse seg behandlingen den får i forbindelse med overgangen til sjø. SP 2 viste at gjentatt sedering øker dødeligheten etter overgang til sjø. I MANIPUMP ble det vist at skjelltap økte med økede pumpehastighet (0,9&lt;1,4&lt;2,3 m/s), mens høyde ikke hadde noen effekt. Resultatene fra prosjektet tyder på at trenging er den håndteringsfaktoren som stresser fisken mest, mens trenging og pumping i tillegg fører til skjelltap og skinnproblematikk som kan påvirke fisken etter sjøutsett. Besøk hos tre kommersielle aktører viste at den håndtering fisken fikk her ikke resulterte i alvorlige skader eller stress.</p>		
English summary/recommendation: <p>In the project «Pumping and handling of smolt» the aim was to reduce injuries and increase welfare in smolt exposed to handling, and to prevent long term injuries caused by rough handling during early life stages. We conducted several controlled experiments and visited three commercial smolt farms where processes of sorting, vaccination and transfer to sea were studied. The controlled experiments showed that 1) It is difficult to quantify the attachment of scales to smolt because the scales are too small and loosely attached for the tested methodology. 2) Stress responses last longer and are in some occasions stronger when the fish are crowded for three hours compared to one hour. Single events of crowding also increase scale loss. 3) Long term experiments showed that crowding/pumping stress the fish, decrease the growth and impair osmoregulation while in fresh water and after sea transfer the mortality increase and end weight and skin health are impaired. Some handling, though, seems to adapt the fish to the transfer stress. Repeated sedation may increase mortality. 4) Pumping speed increase scale loss (0,9&lt;1,4&lt;2,3 m/s). In conclusion it appears that crowding is the handling that stress fish the most and also cause scale loss, and crowding and pumping additionally increase skin problems. Handling in commercial farms resulted in minimal injuries and stress</p>		

## Forord

Personer utenfor prosjektgruppa som har hatt stor betydning for gjennomføring av prosjektet må nevnes:

- Kjell Midling (Nofima) – ved prosjektplanlegging.
- Chris Noble (Nofima) – ved gjennomføring av MANIPUMP.
- Tor Evensen og Ronny Jakobsen (Nofima) for deltakelse i de fleste prøveuttak.
- Bjørn Gundersen (Nofima) – ved gjennomføring av festegrad hos skjell.
- Teknikere og andre ansatte ved Nofima Sunndalsøra, Havbruksstasjonen i Tromsø, Åsen settefisk, Sævareid fiskeanlegg, Smolten AS, laben på Nofima Ås og Sunndalsøra.

Bildene nedenfor er fra prosjektets aktiviteter. Fra øverst venstre: Kvantifisering av festegrad, trengetid og restitusjon, MANIPUMP, pumping i STRESSPUMP 1, prøveuttak STRESSPUMP 2, Åsen settefisk AS, Sævareid fiskeanlegg AS, Sluttuttak STRESSPUMP 2 Dønna, vaksinerer på Smolten AS.



# Innhold

<b>1</b>	<b>Innledning.....</b>	<b>1</b>
1.1	Prosjektorganisering.....	1
<b>2</b>	<b>Problemstilling og formål .....</b>	<b>3</b>
2.1	Hovedmål .....	3
2.1.1	Delmål.....	3
2.2	Nytteverdi for næringen.....	3
<b>3</b>	<b>Prosjektgjennomføring.....</b>	<b>4</b>
3.1	Prosjektet har bestått av følgende arbeidspakker: .....	4
3.1.1	Arbeidspakke 1: Kartlegging av problemet med pumping og håndtering i næringen .....	4
3.1.2	Arbeidspakke 2: Effekt av pumping og håndtering av smolt.....	4
3.1.3	Arbeidspakke 3: Utforming av protokoll med grenseverdier for pumping og håndtering av smolt .....	4
3.2	Gjennomførte aktiviteter med valgt metodikk .....	4
3.2.1	Arbeidspakke 1: Kartlegging av problemet med pumping og håndtering i næringen .....	4
3.2.2	Arbeidspakke 2: Effekt av pumping og håndtering av smolt.....	4
3.2.3	Arbeidspakke 3: Utforming av protokoll med grenseverdier for pumping og håndtering av smolt .....	5
3.2.4	Besøk på kommersielle anlegg .....	5
3.2.5	Foredrag og møter.....	5
<b>4</b>	<b>Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon .....</b>	<b>7</b>
4.1	Hovedresultater.....	7
4.2	Arbeidspakke 1: Kartlegging av problemet med pumping og håndtering i næringen .....	7
4.3	Arbeidspakke 2: Effekt av pumping og håndtering av smolt.....	11
4.3.1	Pilotforsøk for objektiv og kvantitativ måling av hvor hardt fiskeskjellene sitter (TA-HD texture analyzer) (Tromsø, mai 2012).....	11
4.3.2	Effekt av trengetid på ulike stressvariable og restitusjonstid hos Atlantisk laks smolt – kontrollert forsøk ved Nofima Sunndalsøra (30-31. mai 2012).....	13
4.3.3	STRESSPUMP 1: Gjentatt pumping og trenging, effekter etter sjøutsett (Sunndalsøra, januar – mai 2013).....	19
4.3.4	STRESSPUMP 2: Gjentatt pumping og trenging, effekter etter sjøutsett; samarbeid med ScanVacc (Sunndalsøra + HHS, mars – juli 2014) .....	25
4.3.5	MANIPUMP: manipulering av pumpehøyde og pumpehastighet (Tromsø, 21-22. mai 2013).....	33
4.4	Arbeidspakke 3: Utforming av protokoll med grenseverdier for pumping og håndtering av smolt.....	39
4.4.1	Litteraturverdier .....	39
4.4.2	Erfarte verdier .....	40
4.4.3	Anbefalinger .....	40
4.5	Kommersielle besøk .....	41
4.5.1	Åsen settefisk AS – mai 2012 (Åsa Maria Espmark, Tor Evensen, Ronny Jakobsen, Øyvind Aas-Hansen, Jonatan Nilsson) .....	41

4.5.2	Sævareid Fiskeanlegg AS - september og november 2013 (Åsa Maria Espmark, Jonatan Nilsson, Tor Evensen og Ronny Jakobsen).....	47
4.5.3	Smolten AS – juni 2014 (Åsa Maria Espmark, Jelena Kolarevic, Tor Evensen) .....	53
4.5.4	Konklusjon fra Åsen settefisk, Sævareid fiskeanlegg og Smolten .....	56
4.6	Vurdering av nytteverdi for næringen.....	56
<b>5</b>	<b>Leveranser .....</b>	<b>58</b>
<b>6</b>	<b>Konklusjon .....</b>	<b>59</b>
<b>7</b>	<b>Referanser .....</b>	<b>60</b>
	<b>Vedlegg .....</b>	<b>i</b>
	Vedlegg 1: Spørreundersøkelse til arbeidspakke 1 .....	i
	Vedlegg 2. FHF faktaark nr 1 «Trengetid påvirker smoltens velferd» Juli 2012.....	iii
	Vedlegg 3. Espmark Å, Aas-Hansen Ø, Kolarevic J, Midling K, Chris Noble, Nilsson J. Gode driftsrutiner reduserer tapet. Norsk Fiskeoppdrett nr 9, september 2013 .....	iv
	Vedlegg 4. Protokoll til arbeidspakke 3.....	ix

# 1 Innledning

Pumping og mye håndtering viser seg å være svært belastende for fisken i form av fysiske skader, fysiologisk stress og redusert velferd. Årlig rapporteres det om store tap av fisk både før og etter sjøsett. De registrerte tapene kommer i hovedsak fra sykdom, sår og skader som igjen kan føre til infeksjoner og soppangrep (Smith et al. 1999, Lee et al. 2004). Skader og skjelldrap som følge av pumping øker i tillegg faren for predasjon (Gadomski et al. 1994) og forårsaker osmoregulatoriske problemer etter sjøsett (Zydlewski et al. 2010). Nofima utførte i perioden 2009-2011 FHF prosjektet "Pumping av torsk og laks - faktorer som påvirker velferd og kvalitet". Dette prosjektet omfattet slakteferdig fisk. Det mest åpenbare som skiller smolt fra slaktefisk, hva angår pumping og håndtering, er at smolt skal vokse og leve forholdsvis lenge etter behandlingen og prestere i sjø. Lite skånsom pumping inkluderer vinkler og ventiler i røret som forårsaker skader på gjeller, finner og skinn, suboptimal akselerasjon og mangel på følelse av kontroll som fører til høye nivåer av fysiologisk stress målt i kortisol, glukose, laktat og lave pH-verdier. Alle disse stress- og velferdsutfordringene kan forårsake nedklassifisering av kvalitet. Med bakgrunn i det vi vet om skader av pumping og trenging på slaktefisk er det høyst sannsynlig at også tilsvarende behandling av smolt vil være uheldig. Ved å se på langtidseffekter av pumping og håndtering er det også mulig å se på effekter av gjentatt stress. Gjentatt håndtering kan føre til akkumulert stress i og med at fisken ikke får mulighet til å restituere seg tilstrekkelig mellom hver stressrespons (Iversen et al. 1998). Spesielt i forhold til sjøutsett vil fisken bli utsatt for gjentatt stress ved at den håves, trenges og pumpes inn i brønnbåt/bil, og likeså ut igjen før den havner i not. Alle disse håndteringene er stressende isolert fra hverandre og stressresponsen med de påfølgende skadene vil bli enda mer omfattende når fisken blir utsatt for flere av stressfaktorene fortløpende, uten at fiskene får mulighet til restitusjon. Dette kan i verste fall få konsekvenser på lang sikt, etter at fisken er satt i sjø.

I november 2010 ble det arrangert et arbeidsmøte i regi av FHF der blant annet flytting av smolt var tema for gruppearbeidet. Under gruppearbeidet ble følgende spørsmål stilt: "Hva er de største utfordringene hva angår pumping/flytting av smolt?"; "Hva er årsaken til de store tapstallene?"; og "Hvor er kunnskapsbehovet størst?". Diskusjonene var vidt omfattende og omhandlet utfordringer i hele ferskvannsfasen fra yngel til smolt, telling, sortering, forskjeller mellom parr og smolt og mellom høst- og vår smolt, ulike metoder å flytte fisken osv. I mai 2011 ble det gjennomført et nytt FHF møte der tanker rundt pumping og håndtering av smolt ble presentert på nytt. Konklusjonen fra diskusjonene i etterkant av dette møtet var at problemstillingene i ferskvann er mange og diverse. I ferskvannsfasen gjennomgår laksen store fysiologiske og morfologiske endringer og det er mye som tyder på at utfordringene endrer seg med laksens utvikling. Med bakgrunn i dette ble det bestemt at prosjektet «Pumping og håndtering av smolt» skulle avgrenses til å omhandle siste del av ferskvannsfasen mens laksen er under smoltifisering og første fase i sjø.

## 1.1 Prosjektorganisering

Prosjektet «Pumping og håndtering av smolt» har vært koordinert av Kristian Prytz i FHF.

Styringsgruppen for prosjektet har bestått av:

- Eirik Welde (Smolten)
- Morten Lund (Åsen settefisk)
- Gustav Folkestad (Sævareid fiskeanlegg)

- Philip van Dijk (Cermaq)
- Ørjan Tveiten (Marine Harvest). I 2014 ble Ørjan byttet ut med Tore Evjen etter eget initiativ.

Fagpersonale for prosjektet har vært:

- Prosjektleder: Åsa Maria Espmark (Nofima)
- Prosjektdeltakere: Øyvind Aas-Hansen og Jelena Kolarevic (Nofima), og Jonatan Nilsson (HI).



## 2 Problemstilling og formål

Teksten i følgende kapittel er tatt fra prosjektbeskrivelsen som ble skrevet i forkant av prosjektet. Nytteverdien av prosjektet for næringen er modifisert i løpet av prosjektet og blir presentert i kapittel 4.5. Prosjektet ønsket å belyse følgende spørsmål/områder:

1. Kan lite skånsom pumping og håndtering av smolt forårsake økt tap av fisk og/eller skader etter sjøutsett?
2. Er smolt mer eller mindre utsatt for pumpe- og håndteringsskader sammenliknet med slaktefisk?
3. Hvilke konsekvenser har pumping og håndtering på fisken både på kort og lang sikt?
4. Hva er langtidseffektene av gjentatt pumping og håndtering?
5. Isolere flaskehalsen og definere grenseverdier for pumping og håndtering
6. Er det mulig å håndtere smolten annerledes enn hva som gjøres i dag for å øke velferd, overlevelse og kvalitet uten å redusere individuell vekst?

### 2.1 Hovedmål

Hovedmål for prosjektet er å redusere skader og øke velferd hos smolt som blir pumpet og håndtert samt å forhindre at det oppstår senskader som følge av røff behandling tidligere i livet.

#### 2.1.1 Delmål

1. Kartlegging av problemet med pumping og håndtering i næringen.
2. Isolere pumpe- og håndteringsfaktorer som påvirker smoltkvalitet og –velferd, og reduserer prestasjonen etter sjøsett.
3. Vurdere alternativ driftsform.
4. Definere grenseverdier og lage protokoll for "best practice".

### 2.2 Nytteverdi for næringen

Den økonomiske nytteverdien næringen vil oppleve av å redusere tap og nedklassifisering av fisk grunnet redusert kvalitet og økt skade som pumping og håndtering kan medføre, kan grovt regnes ut til å omhandle flere 100 millioner NOK. I dette estimatet er det tatt hensyn til at man ikke vet hvor mye av det registrerte tapet på ca. 100 millioner fisk som skyldes pumping og/eller håndtering (om kun 1 % av tapet skyldes pumping/håndtering blir dette ca. 100 mill NOK beregnet ut fra dagens laksepris). Estimaten tar videre hensyn til at mye av det økonomiske tapet ikke bare omhandler død fisk, men også nedklassifisering på grunn av dårlig kvalitet.

En videre nytteverdi for næringen er det etiske hensynet. De siste årene har det vært mye negativ mediefokus for oppdrettsnæringen. Det har blitt påpekt store tapstall og spørsmål om hvor fisken blir av. Det har blitt viet mye oppmerksomhet på skadet fisk samtidig som bevisstheten omkring fiskevelferd øker blant folk flest. Det er nødvendig med forskning som viser at næringen tar slike utfordringer på alvor.

### **3 Prosjektgjennomføring**

#### **3.1 Prosjektet har bestått av følgende arbeidspakker:**

##### **3.1.1 Arbeidspakke 1: Kartlegging av problemet med pumping og håndtering i næringen**

###### Delmål for arbeidspakke 1:

1. Kartlegge problemområdene angående pumping/håndtering av smolt hos næringsaktører gjennom møter og intervjuer.

##### **3.1.2 Arbeidspakke 2: Effekt av pumping og håndtering av smolt**

###### Delmål for arbeidspakke 2:

1. Kvantifisere skjelltap.
2. Gjennomføre kontrollerte forsøk med effekter av trenging av smolt.
3. Se på korttidseffekter av isolerte pumpe- og håndteringsfaktorer (trenging, pumping, vakuum, trykk, akselerasjon).
4. Se på korttidseffekter av gjentatt pumping og trenging.
5. Se på langtidseffekter av eksponering for enkeltinsidenser og gjentatt pumping og trenging ved å følge fisken 3 måneder etter utsett i sjø.
6. Definerer av grenseverdier for punktene ovenfor.
7. Sammenlikne effekter av pumping og trenging hos ikke sedert fisk og fisk sedert med Aqui-S (6 ppm).

##### **3.1.3 Arbeidspakke 3: Utforming av protokoll med grenseverdier for pumping og håndtering av smolt**

###### Delmål for arbeidspakke 3:

1. Utforming av protokoll for "best practice" av smoltoppdrett med hensyn på pumping og håndtering.

#### **3.2 Gjennomførte aktiviteter med valgt metodikk**

##### **3.2.1 Arbeidspakke 1: Kartlegging av problemet med pumping og håndtering i næringen**

Pumping og håndtering innebærer mange risikomomenter for fisken og en kartlegging av utfordringene ut fra næringens ståsted ble ansett som et nødvendig startsted for prosjektet. Det ble sendt ut en skriftlig spørreundersøkelse til samtlige settefiskaktører (som er registrerte i fiskeridirektoratets sine registre). Intervjuer ble også gjennomført.

##### **3.2.2 Arbeidspakke 2: Effekt av pumping og håndtering av smolt**

I denne arbeidspakken ble standardiserte forsøk under kontrollerte forhold prioritert for å ha fullstendig kontroll på faktorene, samt å kunne isolere faktorer som var tenkt å forårsake skader og stress under pumping og håndtering.

1. Pilotforsøk for objektiv og kvantitativ måling av hvor hardt fiskeskjellene sitter (TA-HD texture analyzer) (Tromsø, mai 2012).
2. Effekt av trengetid på ulike stressvariable og restitusjonstid hos Atlantisk laks smolt – kontrollert forsøk ved Nofima Sunndalsøra (30-31. mai 2012).
3. MANIPUMP: manipulering av pumpehøyde og hastighet (Tromsø, 21-22. mai 2013).
4. STRESSPUMP 1: Gjentatt pumping og trenging, effekter etter sjøutsett (Sunndalsøra, januar – mai 2013).
5. STRESSPUMP 2: Gjentatt pumping og trenging, effekter etter sjøutsett; samarbeid med ScanVacc (Sunndalsøra + HHS, mars – juli 2014).

### **3.2.3 Arbeidspakke 3: Utforming av protokoll med grenseverdier for pumping og håndtering av smolt**

Protokollen er utarbeidet ved hjelp av litteraturverdier for Atlantisk laks smolt, verdier fra gjennomførte aktiviteter i prosjektet «Pumping og håndtering av smolt» og inneholder også anbefalinger for oppdretter.

### **3.2.4 Besøk på kommersielle anlegg**

Etter ønske fra prosjektkoordinator og styringsgruppe ble det etter oppstart av prosjektet bestemt at prosjektgruppa skulle besøke kommersielle anlegg og undersøke prosesser der håndtering er involvert. Dette resulterte i besøk hos tre av aktørene i styringsgruppen. Ved hvert besøk ble det tatt ut prøver av fisk ved forhåndsbestemte stasjoner i ulike håndteringsprosesser.

1. Åsen settefisk AS (mai 2012) – utsett av smolt til sjø som involverer trenging og pumping.
2. Sævareid Fiskeanlegg AS (september og november 2013) – sortering og vaksinerer.
3. Smolten AS (juni 2014) – sortering og vaksinerer.

### **3.2.5 Foredrag og møter**

Foredrag:

1. Espmark Å, Midling K, Humborstad OB. Pumping og håndtering av smolt. Færøyene, Havbrukskonferanse 23-25. februar 2012.
2. Espmark Å, Aas-Hansen Ø, Kolarevic J, Midling K, Nilsson J. Repeated crowding and pumping impair Atlantic smolt quality. Trondheim, EAS august 2013.
3. Espmark Å. Gode driftsrutiner reduserer tapet. Trondheim, AquaNor Nofima science day august 2013.
4. Espmark Å, Aas-Hansen Ø, Kolarevic J, Noble C, Nilsson J. Gjentatt trenging og pumping av smolt reduserer kvalitet og velferd. Tromsø, Havbruk mars 2014.
5. Espmark Å, Kolarevic J, Aas-Hansen Ø, Nilsson J. Performance in sea of Atlantic salmon exposed to crowding and pumping during presmolt phase. San Sebastian, EAS Oktober 2014.
  - a. Dette foredraget blir det en artikkel av i magasinet «Hatchery International», i januar 2015.
6. Diverse FHF møter:
  - a. Espmark Å, Midling K. Fiskevelferd som et virkemiddel til å sikre kvalitet ved transport av smolt og levende fisk ved slakting. Trondheim, FHF work-shop november 2010.
  - b. Espmark Å. Pumping og håndtering av laks. Trondheim april 2012.

- c. Espmark Å. Gode driftsrutiner reduserer tapet. Bergen, august 2013.
- d. Espmark Å. Pumping av smolt og overlevelse i sjøfasen. Værnes, oktober 2013.

Møter:

- 1. Kick-off møte Sævareid Fiskeanlegg (2011).
- 2. Styringsmøter.
  - a. Gardermoen, November 2012
  - b. Trondheim, August 2013
  - c. Lync, September 2014
- 3. Møte med ScanVacc, Gardermoen, november 2012.
- 4. Møte med ScanVacc og FHF, Ås + Lync, november 2014.

## 4 Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon

I det følgende vil hovedresultater bli gitt i stikkordsform, før en detaljert beskrivelse av forskningsaktivitetene i prosjektet bli gitt med fremgangsmåte, resultater og tolkning av disse.

### 4.1 Hovedresultater

- Både enkelttilfeller og gjentatt trenging stresser fisken. Smolt bør ikke trenes hardere enn at laktat nivåer ikke overskrider 5 mmol/l. Med enkle metoder kan oppdrettere selv måle blodverdier underveis i prosessen og justere trengingen slik at laktatnivåene holder seg lavere enn anbefalte verdi (eks med håndholdt apparat LactatePro).
- Trenging i tre timer stresser smolten i signifikant større grad enn trenging i en time.
- Gjentatt trenging og pumping (en gang per uke i fem uker) førte i to uavhengige forsøk (STRESSPUMP 1 og 2) til skinnskader som påvirket smoltens overlevelse og velferd også etter sjøutsett.
- Gjentatt trenging og pumping (en gang per uke i fem uker) førte i to uavhengige forsøk (STRESSPUMP 1 og 2) til avvikende osmoregulering uttrykt som plasma klorid og gjelle ATP-ase (kun målt i SP1).
- Resultater fra dette prosjekter foreslår at en viss grad av håndtering, men uten at dette fører til skader og unødvendig stress, kan gjøre fisken mer robust og tilpasningsdyktig til det røffe miljøet den møter etter sjøutsett.
- Overdreven gjentatt bruk av sedativer kan føre til økt dødelighet. Årsaken til dette er ennå ukjent, men to hypoteser er at overdreven sedasjon forstyrrer osmoregulering og/eller at utstrakt sedasjon før utsett gjør fisken mindre robust og lite tilvendt den røffe overgangen til et liv i sjø.
- Pumpehastighet øker grad av skjelltap ( $0,9 \text{ m/s} < 1,4 \text{ m/s} < 2,3 \text{ m/s}$ ). Det er ikke tilrådelig å pumpe smolt med en hastighet som overskrider 2,3 m/s.
- Måling av stress og skader utover håndteringsprosesser på tre kommersielle anlegg viste ingen tegn til alvorlige skader eller alvorlig stress, selv om forhøyede stressnivåer ble målt på noen av målingsstasjonene på noen av anleggene.

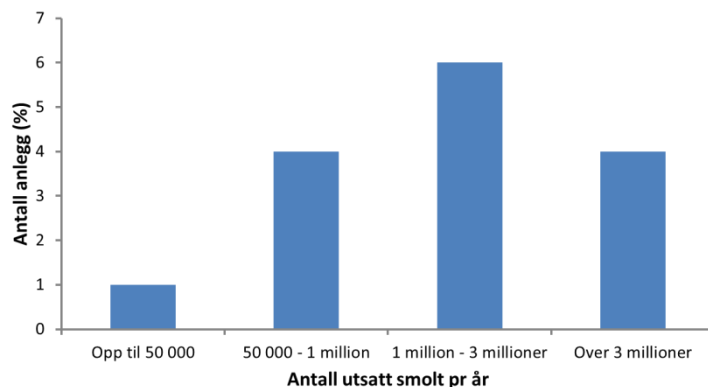
### 4.2 Arbeidspakke 1: Kartlegging av problemet med pumping og håndtering i næringen

Kartleggingen ble foretatt ved at det ble sendt ut spørreundersøkelse (vedlegg 1) til samtlige settefiskprodusenter som er registrerte i fiskeridirektoratets register. I tillegg ble det foretatt enkelte intervjuer. I det følgende vil spørsmålene fra spørreundersøkelsen med gitte svar bli gjengitt. Resultatene er basert på 8,3 % besvarelse. Til tross for den lave svarprosenten mener vi at resultatene er representative i og med at de stemmer overens med flere års erfaring hos prosjektgruppa og samtaler med næringsaktører. Både små og større oppdrettere er representert.

### Spørsmål 1: Bedriftens navn og lokalitet?

Bedriftene ble lovet anonymitet og vil ikke bli offentliggjort.

### Spørsmål 2: Antall smolt satt ut per år?



Figur 1 Antall utsatt smolt per år (N=13).

### Spørsmål 3: Hvilken fiskestamme blir brukt?

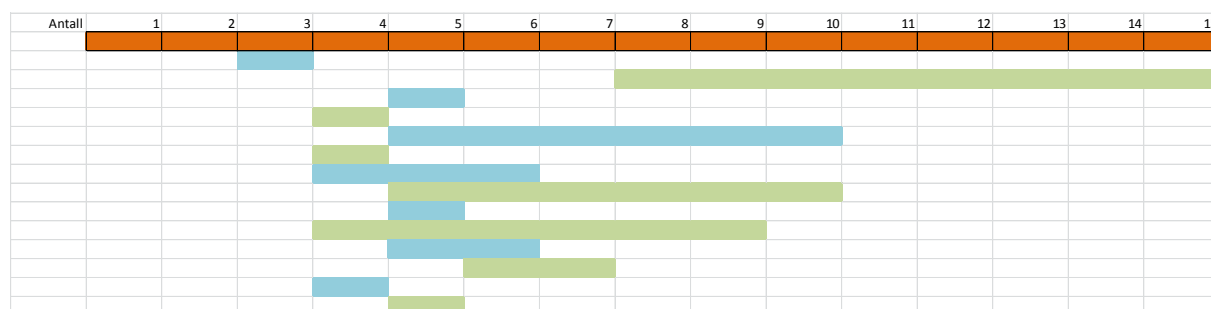
69,2 % av de som svarte bruker AquaGen, 23,1 % bruker SalmoBreed. Noen anlegg bruker ulike stammer. De som ble nevnt var Imsa, NLA og Rauma.

### Spørsmål 4: Har lokaliteten eget klekkeri? Ja/Nei (stryk det som ikke passer). Om Nei, hvor stor er fisken når den ankommer anlegget?

På dette spørsmålet svarte 84,6 % at de har eget klekkeri. De resterende får tilsendt yngel som er 0,5 – 3 gram.

### Spørsmål 5: Hvor mange ganger håndteres parr/smolt på lokaliteten (trenges, pumpes, håves, vaksineres, veies, sorteres) (etter startfôring, eller etter at fisken ankommer anlegget om dette er senere enn startfôring)?

Det er stor variasjon mellom anleggene på hvor ofte de håndterer fisken (Figur 2). De fleste håndterer fisken mellom 3 og 10 ganger, men antallet strekker seg mellom 2 og 15 rapporterte.



Figur 2 Antall ganger smolten håndteres. Blå og grønn representerer anleggene.

Spørsmål 6: Hvor ofte mottar ansatte opplæring av prosedyrer og utstyr (Aldri, en gang pr år, flere ganger pr år, ved behov)?

69 % av besvarelsene melder om at de gir opplæring «ved behov», mens de resterende melder om at de har opplæring av sine ansatte «flere ganger per år».

Spørsmål 7: Går smolten på fersk- eller sjøvann ved utsett?

På dette spørsmålet svarer 92 % at de holder smolten på ferskvann inntil de de setter den ut på sjø. Kun 8 % av de spurte sier at de setter smolten på sjøvann noen uker før utsett.

Spørsmål 8: Er skader og/eller stress hos fisken et problem i settefiskproduksjonen?

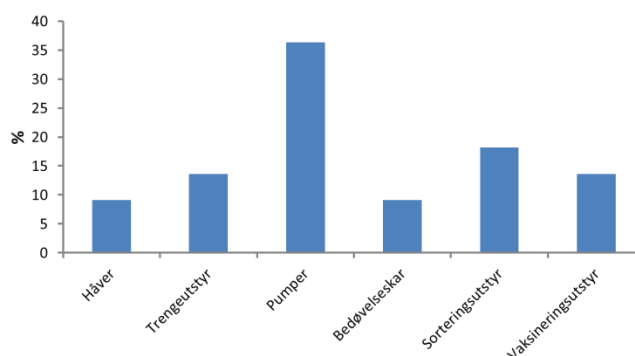
46 % mener at skader og/eller stress er et mindre problem i settefiskproduksjonen. Kun 31 % har problemer med skader og stress, mens 23 % er usikre på om skader/stress er et problem.

Spørsmål 9: Hvilke installasjoner forårsaker skader/stress?

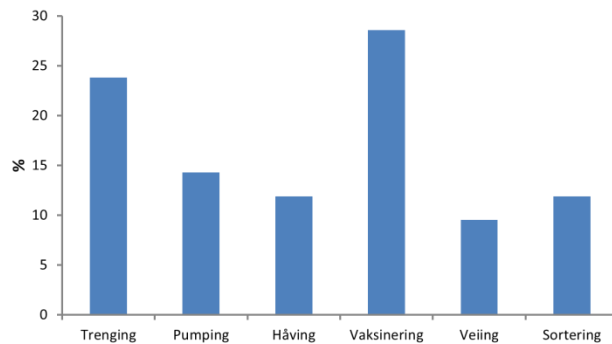
Som fremstilt i figur 3 rapporterer de spurte at pumper er den installasjonen som forårsaker mest skader og stress (36,4 %). På andreplass kommer sorteringsutstyr (18,2 %), mens 13,6 % mener at trenging- og vaksineringsutstyr forårsaker mest stress og skader.

Spørsmål 10: Hvilke håndteringar forårsaker skader/stress (trenging, pumping, håving, vaksinerer, veiing, sortering)?

Selv om de fleste spurte mener at pumper forårsaker mest skader/stress, mener de også at vaksinerer og trenging er de håndteringene som forårsaker flest tilfeller av skader/stress, henholdsvis 28,6 % og 23,8 % (Figur 4).



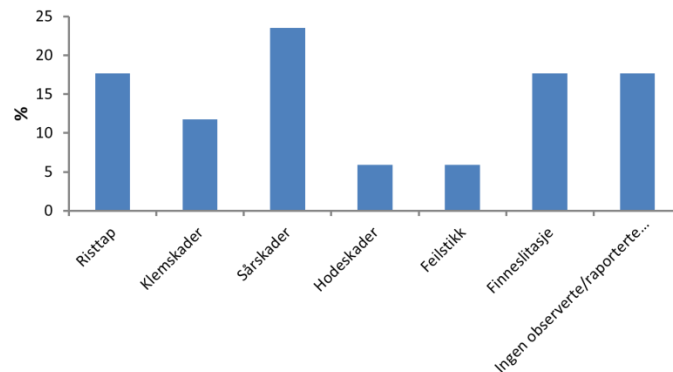
Figur 3 Oversikt over installasjoner som de spurte mener forårsaker skader og stress.



Figur 4 Oversikt over håndteringer som de spurte mener forårsaker skader og stress.

#### Spørsmål 11: Hvilke skader observeres, og hvor på fisken?

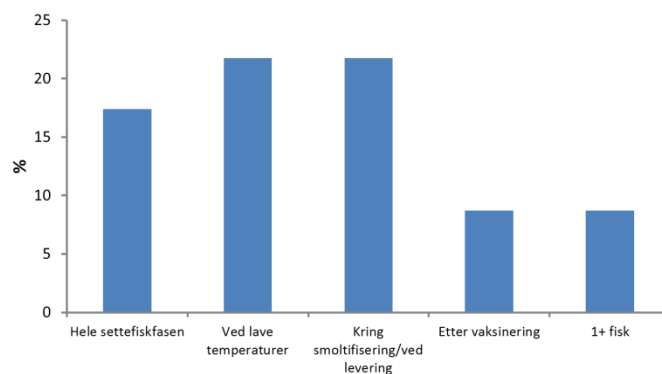
Mange av de spurte rapporterer om sårskader, risttap og finneslitasje (Figur 5). Men mange rapporterer at de ikke observerer skader. Dette kan ha sammenheng med at noen svarte at de mener skader i settefisknæringen er et lite problem (spørsmål 8).



Figur 5 Klassifisering av skader.

#### Spørsmål 12: Når oppstår skadene/stresset (fiskestørrelse, årstid, når i prosessen)?

Mange av de spurte melder at tiden rundt smoltifisering/levering og perioder med lave temperaturer er sårbare perioder for smolten med hensyn på skader, men mange rapporterer at hele settefiskfasen er sårbar (Figur 5).



Figur 6 Livsstadier der de spurte mener at fisken er sårbar for skader.

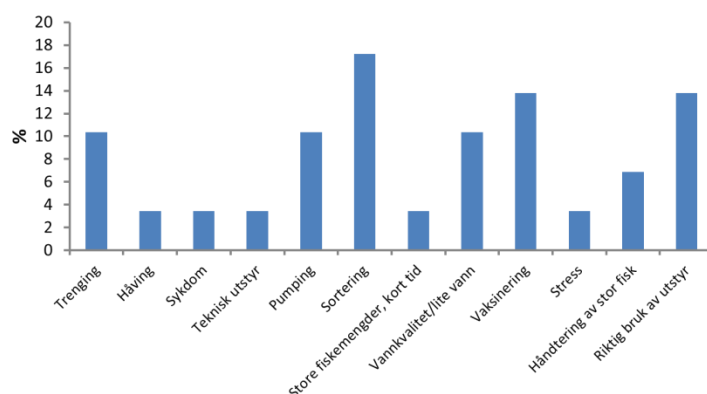


Spørsmål 13: Mener du/dere at de skader fisken får/stress fisken opplever i settefiskfasen påvirker overlevelse og prestasjon i sjøfasen?

54 % av de spurte mener at de skader fisken får og det stress den opplever i settefiskfasen påvirker overlevelse og prestasjon i sjø, mens 46 % svarer negativt på dette spørsmålet.

Spørsmål 14: Hva anser du/dere er de største utfordringene mhp håndtering av settefisk?

På spørsmålet om utfordringer med håndtering av smolt var det et stort utvalg svar (Figur 7). Blant utfordringer som ble gitt mest oppmerksomhet kan nevnes sortering, vaksinerings, riktig bruk av utstyr, pumping, trenging og vannkvalitet.



Figur 7 Utfordringer med håndtering av smolt.

Ved videre planlegging av forsøk og ved besøk hos kommersielle aktører ble svarene fra denne undersøkelsen tatt hensyn til i stor grad.

Konklusjon:

Resultatene fra spørreundersøkelsen viser at det er stor variasjon mellom anleggene hva angår hvor mange ganger de håndterer fisken. Et flertall av de spurte mener pumping skader fisken mest, mens trenging og vaksinerings stresser fisken. De mener videre at fisken er mest følsom for stress/skader ved lave temperaturer og rundt smoltifisering/levering. Ved spørsmål om hvilke utfordringer som de mener er av betydning ble trenging, sortering, pumping, vannkvalitet, vaksinerings, og riktig bruk av utstyr dratt fram som viktige faktorer. Litt over halvparten av de spurte mener at de skader og stress som fisken blir påført under settefiskfasen påvirker dem negativt også etter sjøutsett.

## 4.3 Arbeidspakke 2: Effekt av pumping og håndtering av smolt

### 4.3.1 Pilotforsøk for objektiv og kvantitativ måling av hvor hardt fiskeskjellene sitter (TA-HD texture analyzer) (Tromsø, mai 2012)

Bakgrunn:

Tap av fiskeskjell er ansett som en indikator for redusert smoltkvalitet, redusert robusthet og redusert fiskevelferd. Smolt er ulik «løs på rista» avhengig av livsstadium, og spesielt ved smoltifisering og ved levering er det kjent at håndtering er uønsket på grunn av at skjellene sitter løst. Ettersom skjellene

sitter ytterst på fiskeskinnet vil omfattende tap av skjell kunne være begynnelsen på mer alvorlige skinnskader.

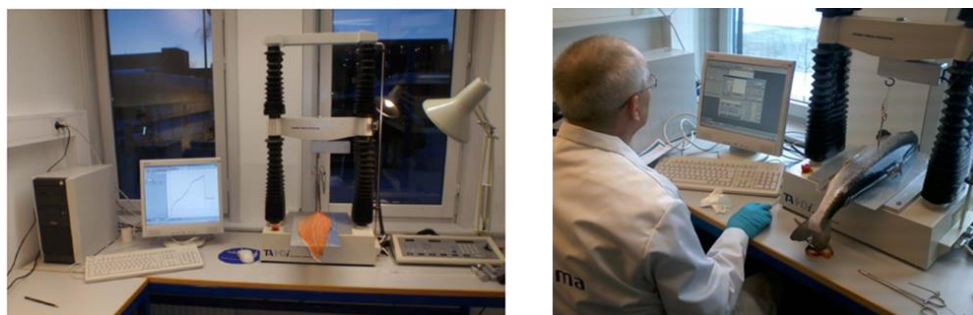
#### Mål:

Følgende pilotforsøk hadde som hovedmål å utvikle en objektiv og kvantitativ metode for å måle hvor hardt fiskeskjellene sitter. Metoden bør være validerbar, repeterbar, rask og operasjonell.

Delmålet med pilotforsøket var å vurdere om målemetoden «TA-HD texture analyser» (Akse et al. 2011) fungerer på smolt. Videre var det ønskelig å vurdere hvilke skjell og regioner av fisken som det er mulig å måle på, og å undersøke variasjon i festegrad mellom skjell i samme region og mellom ulike regioner på fisken.

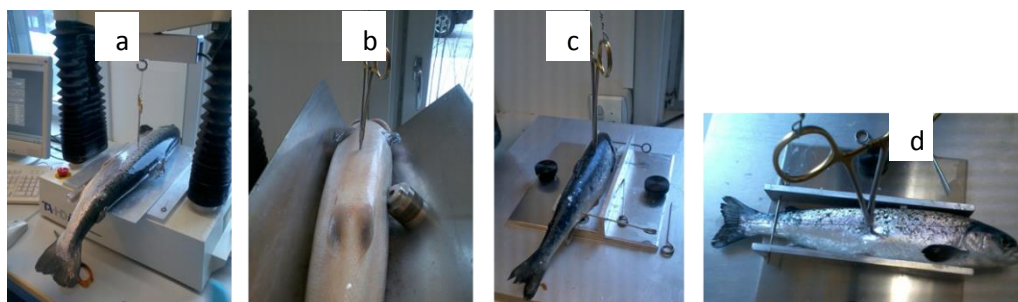
#### Metode:

Metoden med bruk av «TA-HD texture analyser» er tidligere beskrevet (Akse et al. 2002; 2011). Ved hjelp av en veicelle måles kraften det tar før skjellet løsner fra fisken. Trekkraft blir målt med et kjøreprogram utviklet av Nofima og modifisert fra tidligere forsøk der det ble målt trekkraft ved fjerning av tykkfiskbein i laks, torsk og sei (Akse et al. 2002; 2011) (Figur 8). Trekkraften registreres mens traversen med veicelle kjøres oppover og avleses som toppunktet av kurven som da fremkommer (Figur 8).



Figur 8 Måling av festegraden av skjell med TA-HD texture analyser.

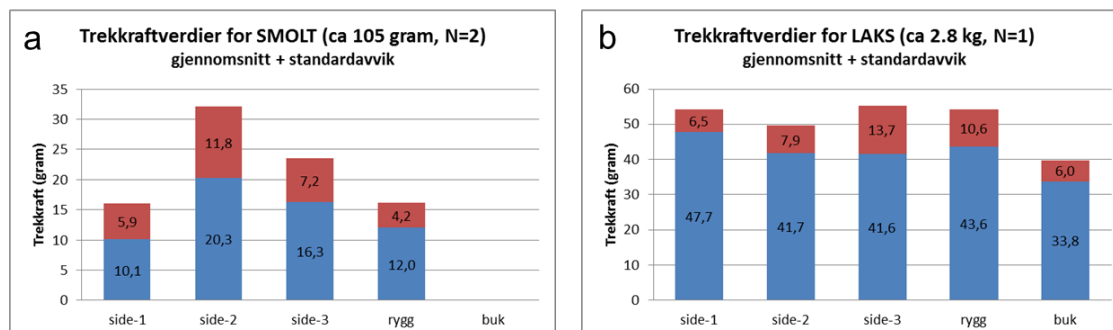
I dette pilotforsøket ble festegraden av skjell på 2 stk nylig avlivet smolt (ca 105 g) og 1 stk nylig avlivet stor laks (ca 2,8 kg) målt. Festegraden ble målt ved definerte steder; 3 plasseringer på side, rygg og buk (Figur 9).



Figur 9 Måling av skjelllets festegrad hos stor laks, både på venstre side og buk (a og b). Måling av skjelllets festegrad hos smolt sett fra rygg og side (c og d).

### Resultat og diskusjon:

Trekraften for smolt er vist i figur 10a. For smolt var variansen i festegraden (CV %) 35 - 58 %. Variansen var varierende mellom ulike målesteder. Tid per enkeltmåling var på 2,5 min. Andel usikre målinger var 60 %.



Figur 10 Trekkraften i skjell (gram) hos smolt (a) og stor laks (b). Blått viser gjennomsnitt og rød standardavvik.

Absoluttverdier var ca. 60 % lavere hos smolt enn hos laks og var varierende mellom målesteder. Det var ingen vellykkede målinger for buk.

Trekraften for stor laks er vist i figur 10b. For stor laks var variansen i festegraden (CV %) 13 - 33 %. Variansen var også her varierende mellom ulike målesteder. Andel usikre målinger var lavere enn hos smolt (7 %), men tid for enkeltmålinger var den samme, ca. 2,5 min. Absoluttverdiene var ganske lik for buk 1-3 og rygg, noe lavere for buk.

Utfordringer med bruk av «TA-HD texture analyser» på smolt er å få feste på enkelt skjell. Det er vanskelig å unngå at flere skjell blir festet samtidig, og at skjell og skinn blir festet samtidig. Dette kompliserer tolking av data ettersom det er en utfordring å se om det er flere skjell eller skjell og skinn som det måles trekkraft fra. Det er enklere å skille enkeltskjell på stor laks.

### Konklusjoner fra pilotforsøket:

1. Utfordringer og feilkilder med festemetodikk for små skjell gjør at gjeldende metode vurderes som uegnet for bruk på smolt, men synes lovende for bruk på stor laks.
2. Dersom man løser problemene med festegrad av små og løse skjell, ved å finne validerbar alternativ festemetodikk vurderes metoden som et svært aktuelt forskningsverktøy for objektiv måling av skjellenes festegrad også hos smolt.

#### **4.3.2 Effekt av trengetid på ulike stressvariable og restitusjonstid hos Atlantisk laks smolt – kontrollert forsøk ved Nofima Sunndalsøra (30-31. mai 2012)**

Fra dette forsøket ble det produsert et FHF faktaark (vedlegg 2).

### Bakgrunn:

I prosjektet «pumping og håndtering av smolt» skal effekter av trening av smolt undersøkes. På oppstartmøtet for prosjektet 8. desember 2011 ytret styringsgruppa et ønske om at prosjektet undersøker effekter av ulik trengetid, og hvordan dette påvirker restitusjon etter en stresspåvirkning.

Smolt trenges oftest når den skal vaksineres eller uttransporteres til sjø. Dette skjer da ved at vannivået i karene senkes og fisken tømmes ut. Næringen har selv et inntrykk av at lang trengetid stresser fisken, men også at trening ikke må bli så kort og intens at tettheten blir for stor. Denne antakelsen var ikke dokumentert og trenge nærmere undersøkelse. Næringen er også opptatt av å vite hvor lang tid etter en stresspåvirkning fisken har forhøyede nivåer av stressvariable i blodet. Også for forsøksuttak er det viktig å vite hvor lang tid det tar etter en stresspåvirkning før responsen kommer. Dersom formålet med prøveuttaket er å følge en prosess (slakting eller utsett) er det vesentlig å kjenne latenstiden før en respons inntreffer slik at det er kjent hva som faktisk blir målt. Restitusjonstid er også lite dokumentert, med unntak av Iversen et al. (2009) som har sett på utviklingen av flere stressvariable over tid etter kommersiell transport.

#### Mål:

Undersøke effekt av trening på stress og skjelltap og hvordan ulik trengetid påvirker stress og tiden det tar til restitusjon.

#### Metode:

Fisken som ble brukt i dette forsøket var fra AquaGen stammen. Gjennomsnittsstørrelsen ved prøveuttaket var  $177,7 \pm 20,3$  g.

Fisken ble flyttet til de aktuelle karene 24. mai, dvs en uke før oppstart av forsøket. Denne flyttingen innebar samtidig flytting fra fersk til salt vann. Fisken var satt på mørke (12:12) den 24. februar 2012, og på 24 timer kontinuerlig lys den 19. april. Ved flytting til salt vann utgjorde mørkebehandlingen 376 døgngrader (smoltvindu ligger på 360 – 420 døgngrader). Vanntemperaturen de to siste ukene før flytting var  $10,2 - 10,8$  °C, mens under forsøkene var vanntemperaturen stabil ( $8,2$  °C).

To-tusen-og-syttifem smolt ble fordelt på 20 kar (400 L). Før trening var tettheten i karene  $45 \pm 0,8$  kg/m<sup>3</sup>, mens etter trening var tettheten i karene  $311 \pm 5,8$  kg/m<sup>3</sup> (Figur 11).

Ved hver behandling ble det brukt duplikate kar. Fiskene i forsøket ble utsatt for kort (en time) eller lang (tre timer) trengetid, og prøvetaking av individer ble foretatt ved fire tidspunkt etter trening for å måle restitusjon. For å unngå repetitivt stress ble det kun tatt prøver en gang fra hvert kar. Prøveuttaksdesign er vist i tabell 1.



Figur 11      Forsøkskar før trening (til venstre,  $45 \pm 0,8$  kg/m<sup>3</sup>) og etter trening (til høyre,  $311 \pm 5,8$  kg/m<sup>3</sup>).

Tabell 1     *Prøveuttak design. Fra hvert av de 20 karene ble det tatt prøver av fisk kun en gang.*

Trengetid	Restitusjonstid (prøvetakingstid)	Gjentak (kar)	Kortnavn
Ingen	Rett før trengestart for T-kort	2	Kontroll
Kort (1 time)	Ved ferdig trenging, dvs 1 time etter trengestart	2	T1 kort
Kort (1 time)	To timer etter trengeslutt	2	T2 kort
Kort (1 time)	Seks timer etter trengeslutt	2	T3 kort
Kort (1 time)	Tyve timer etter trengeslutt	2	T4 kort
Ingen	Rett før trengestart for T-lang	2	Kontroll
Lang (3 timer)	Ved ferdig trenging, dvs 3 timer etter trengestart	2	T1 lang
Lang (3 timer)	To timer etter trengeslutt	2	T2 lang
Lang (3 timer)	Seks timer etter trengeslutt	2	T3 lang
Lang (3 timer)	Tyve timer etter trengeslutt	2	T4 lang

Trenging ble utført på mest mulig kommersiell lik måte, ved at vannet ble tappet fra karene. Tappingen foregikk med jevn hastighet, og trengetid ble målt etter at nedtappingen var fullført. Nedtapping fra 275 liter til ca. 40 liter tok ca. 2 minutter. I løpet av hele nedtappingsperioden og trengeperioden ble det tilført kontinuerlig vann for å sikre vannkvaliteten. Etter avsluttet trenging (1 eller 3 timer) ble vannet igjen hevet til 275 liter. Oksygennivåene i vann ble registrert før og 30 minutter etter start trenging.

#### *Prøveuttak:*

Ved prøvetaking til de definerte tidspunktene (Tabell 1) ble det tatt ut femten individer fra hvert av de 20 karene. Hvert individ ble håvet fra karet og umiddelbart avlivet med slag mot hodet. For hvert individ ble det tatt målinger av vekt og lengde. I tillegg ble surhetsgrad (pH) i muskel målt på fisken sin venstre side over laterallinjen med pH meter (WTW pH 330/SET-1) utstyrt med pH elektrode (Hamilton modell 238400/06) og temperatur probe (WTW TFK 325). Det ble også gjort følgende målinger i helblod: pH, partialtrykkene av oksygen og karbondioksid ( $p\text{CO}_2$  og  $p\text{O}_2$ ), bikarbonat ( $\text{HCO}_3$ ), total  $\text{CO}_2$  ( $\text{TCO}_2$ ),  $\text{O}_2$  metning og kalsiumkonsentrasjon ( $\text{Ca}^{2+}$ ) ved hjelp av i-STAT® transportable analysator (i-STAT, Abbott, Princeton, NY, USA) med CG8+ engangskassetter, ved 20 °C. Videre ble blod-glukose konsentrasjon målt med FreeStyle-måler utstyrt med FreeStyle-lite strips, og blod laktat (melkesyre) målt med Arkray LactatePro testmeter (Shiga, Japan) sammen med LactatePro strips. I tillegg ble blod sentrifugert ved 3000 omr/min i 10 minutter og plasma fryst ved -20 °C for senere kortisolanalyser. Kortisolanalyserne ble utført med Spectria® Cortisol RIA kit (Cat. No. 06119) (grensenivå = 2.0 ng/ml).

Blodprøver ble tatt fra haleregionen med sprøyte (22G x 1; 0.7 mm x 25 mm) rett etter avliving og umiddelbart overført til hepariniserte vakuumrør.

#### *Kvantifisering av skjelltap:*

For kvantifisering av skjelltap fra karene ble en håv plassert under avløp på hvert kar (Figur 12).



*Figur 12 Oppsamling av skjell fra hvert kar gjennom avløp.*

Håvene ble stående under utløp i trengekarene i en time etter trengestart (en time etter avsluttet nedtapping), mens for kontrollene ble håvene stående en time under utløp. Det var da ingen forskjell på oppsamlingstid mellom kort og lang trengetid. Resultatene viser kun forskjell på trengt og ikke trengt fisk.

Innholdet i håvene ble ført over til forhåndsveide gasskluter (20 x 20 cm). Gassklutene med innhold fikk så tørke over natten før de igjen ble veid. Veiing ble utført med analysevekt med 4 desimaler.

#### *Statistikk:*

All statistikk er testet med statistikkprogrammet StatsDirect, versjon 2.7.8 (2011). Alle data er testet med variansanalyse med påfølgende multippel sammenlikning (Tukey). ANOVA ble brukt for flere enn to utvalg, mens to-side t-test ble brukt for to utvalg (kontroll vs. trengt for kvantifisering av skjelltap).

#### Resultat og diskusjon:

##### *Fysiologisk stress:*

Resultatene for målingene av fysiologisk stress er presentert i Figur 13 og 14. Merk at det i denne rapporten kun er tatt med resultater for målevariabler der det ble påvist statistisk signifikante effekter. Merk også at det for I-STAT målingene mangler måleresultater for tidspunktene T3 og T4 for begge trengegruppene grunnet store problemer med å supplere i-STAT test kassetter.



**Figur 13** Blodnivåer av ulike fysiologiske stressvariabler før (kontroll) og på ulike tidspunkter (0, 2, 6 og 20 t etter trenge-slutt) etter kort (1 t) og lang (3 t) trening av smolt i kar. Ulike bokstaver over søylene viser statistisk signifikant ( $p < 0,05$ ) forskjell mellom grupper. Gjennomsnittene er gitt med standardavvik.

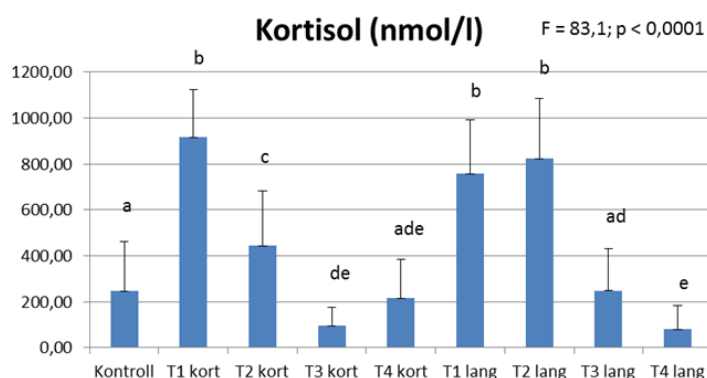
For gruppene utsatt for kort (1 t) trengetid var det ingen statistisk signifikante endringer i pCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub>, TCO<sub>2</sub>, pH, O<sub>2</sub>% og glukose, men det ble observert en nedgang i pO<sub>2</sub> og en økning i laktat- og kortisolnivå umiddelbart (0 t) etter trenge-slutt (T1-kort) samt økte nivåer av plasma kortisol også 2 t etter trenge-slutt (T2-kort).



Tilsvarende var det for gruppene utsatt for lang (3 t) trengetid en økning i  $p\text{CO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{TCO}_2$ , laktat og kortisol og en reduksjon i pH,  $p\text{O}_2$  og oksygenmetning umiddelbart (0 t) etter endt trenging (T1-lang). I tillegg var det økte nivåer av kortisol også 2 t (T2-lang) etter trengeslutt, samt økte nivåer av glukose 2 t og 6 t etter trengeslutt (T2-lang og T3-lang).

Endringene i måleparametere ovenfor viser at lengre trengetid medfører en stressindusert økning i blodglukose, økt anaerobt stoffskifte og en forsuring av blodet. Det økte anaerobe stoffskiftet skyldes nok en kombinasjon av økte oksygenbehov som følge av stress (igangsetting av energikrevende prosesser samt en eventuell økning i svømmeaktivitet) og en redusert tilgjengelighet av oksygen i vannet. Før trenging var oksygennivået i vannet  $90 \pm 2,6\%$ , mens 30 minutter etter trengestart var nivået  $83 \pm 4,2\%$ . Disse prosessene normaliseres innen 6 timer for fisk utsatt for kort trengetid mens dette skjer innen 20 timer for fisk utsatt for lang trengetid. Dette ser vi av blod glukose og plasma kortisol der lengre trengetid gir en mer vedvarende stressrespons og dermed en lengre restitueringstid (i.e. en signifikant nedgang i kortisolnivå fra T1-kort til T2-kort, mens dette er uforandret mellom T1-lang og T2-lang). Vi må i denne tolkninga huske på at en kompliserende faktor i forsøket er om vi sammenlikner tid fra trengestart eller trengeslutt. F.eks. er både T2-kort og T1-lang samlet identisk tid (3 t) etter trengestart, men siden kortisolverdier ved T1-lang er signifikant høyere enn ved T2-kort støtter dette påstanden om en mer langvarig kortisolrespons ved lang trengetid også når vi tar hensyn til dette.

Tilsvarende forsuring av blod grunnet økt tetthet er ikke grundig belyst i litteraturen, men lavere pH hos laks ble påvist av Veiseth et al. (2006). Forsuring ble også funnet i havabbor *Dicentrarchus labrax* ved økte tettheter (Sammouth et al. 2009).



Figur 14 Nivåer av plasma kortisol (nmol/l).

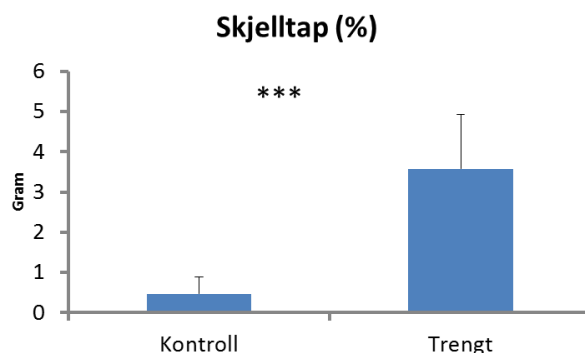
Tid til inntredelse av respons er dokumentert fra andre. Acerete et al. (2004) viste på abbor *Perca fluviatilis* at nivåer av kortisol økte signifikant 0,5 timer etter håndtering, mens både glukose og laktat økte men ikke signifikant, også etter 0,5 time. Laktat avtok etter 1 time mens glukose avtok etter 24 timer.

#### Kvantifisering av skjelltap:

Oppsamling av skjell fra hvert av karene viste en klar forskjell mellom kontrollfisk og trengt fisk (Figur 15) ( $t = 4,5$ ;  $p = 0,0003$ ). Det ble dessverre ikke gjort forskjell på kort og lang trengetid da håvene var plassert i utløp i en time etter avsluttet nedtapping, for alle kar. Det er dermed ukjent om det er



forskjell på skjelltap for fisk som er trengt lenge eller kort. Skjelltap forårsaket av trenging er også funnet hos sild (Olsen et al., 2012).



Figur 15 Oppsamling, tørking og veiing (gram) av skjell ble gjort fra hvert kar. Håvene var plassert under utløp i en time etter avsluttet nedtapping av vann.

#### Konklusjon:

Næringsaktører som har daglig direkte oppfølging av fisk vil etter hvert oppnå et subjektivt bilde av status og tilstand. Som regel er dette ikke vitenskapelig dokumentert. Effekter av lang vs. kort trenging og lang restitusjonstid er et eksempel på dette. I denne studien ble det påvist at både kort (1 t) og lang (3 t) trengetid utløste en tydelig stressrespons, men at denne responsen påvirker flere parametere og dermed er mer omfattende hos smolt som har vært trengt i 3 t. Resultatene viste også at lengre trengetid gir en lengre varighet av stressresponsen, og dermed en lengre restitusjonstid, der måleverdiene var statistisk tilbake til normalnivå i løpet av 6 timer for 1 t trenging mens 3 t ikke var normalisert før neste prøvetaking ved 20 t. Forsøket dokumenterte også en markant økning i skjelltap med trenging, men forsøksdesignet for dette gjorde at vi dessverre ikke kunne sammenlikne skjelltap mellom trengegruppene eller ved ulike tidspunkter etter trenging.

#### **4.3.3 STRESSPUMP 1: Gjentatt pumping og trenging, effekter etter sjøutsett (Sunnalsøra, januar – mai 2013)**

##### Bakgrunn:

I følge tall fra Fiskeridirektoratet går 15-20 % av den sjøsatte smolten tapt, før den når slakteferdig størrelse. Det rapporterte svinn har med all sannsynlighet bakgrunn i en multifaktoriell årsakssammenheng mellom faktorer som fisken blir eksponert ovenfor i settefiskfasen.

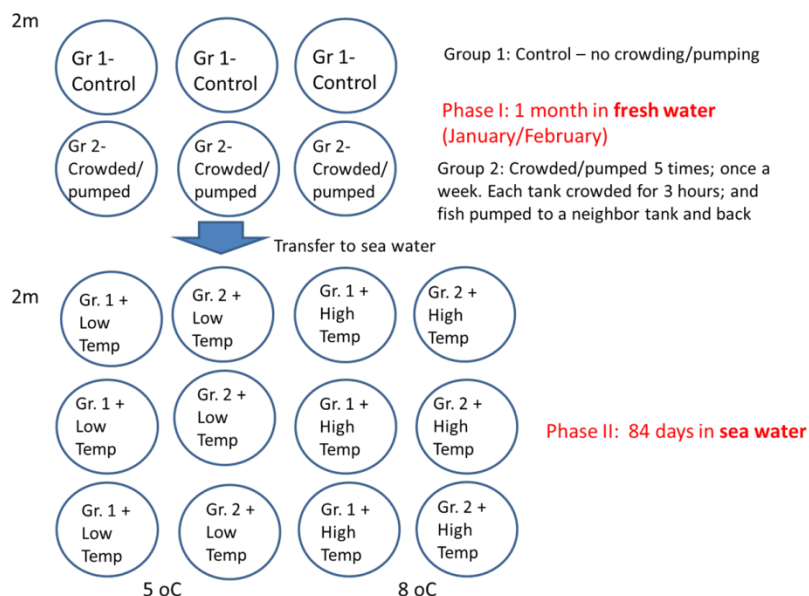
I løpet av ferskvannsfasen og før sjøsetting blir smolt utsatt for gjentatt behandling i form av trenging, pumping, vaksinerings, sortering og transport. En røff håndtering av smolt i settefiskfasen kan føre til en fisk som er lite robust og i liten grad tåler overføring til merd. Næringen har i flere tilfeller ytret bekymring for at håndtering er en utfordring for prestasjon etter sjøsett, og arbeidspakke 1 (spørreundersøkelsen i næringen) i denne rapporten konkluderer det samme. Årsak til dødelighet etter sjøutsett kan være knyttet til dårlig smoltifisering (eks Schreck et al 1985), økt mottakelighet overfor sykdommer og at fisken er lite robust.

### Mål:

Undersøke korttids og langtidseffekter av gjentatt håndtering, i form av trenging og pumping, i løpet av ferskvannsfasen og hvordan dette påvirker fisken sin prestasjon etter sjøutsett.

### Metode:

I STRESSPUMP 1 ble 3000 smolt fordelt mellom seks stk 3m<sup>3</sup> kar (500 individer per kar) og akklimatisert i fem uker. Ved forsøksstart var startvekt ca. 57,5g.



Figur 16 Forsøksoppsett STRESSPUMP 1.

Forsøket var delt inn i en fase 1 (ferskvannsfase) og en fase 2 (sjøvannsfase).

**Ferskvannsfase:** To grupper (triplikate kar) ble fulgt i fem uker. Gruppe 1 (kontroll) ble ikke behandlet i fase 1, mens gruppe 2 ble trengt og pumpet (Heathro impeller pumpe 6") en gang per uke i fem uker. Under trenging/pumping ble karvann senket til tettheten i karet nådde ca. 300kg/m<sup>3</sup>. Dette tok 13,9 ± 1,5 minutter. Etter dette ble fisken trengt i tre timer før de ble pumpet over til en tomt kar og så tilbake. Hver pumping tok 40,1 ± 7,3 minutter. Ved fire av de fem behandlingene ble det tatt prøver av 10 individer per kar (30 individer per behandling). Disse fiskene ble målt for vekt og lengde, tatt blodprøve av (i-stat helblod (for blodgasser ble verdiene korrigert for temperatur) + sentrifugering til plasma) og evaluert for velferd-skår. Glukose ble målt i helblod med FreeStyle måler, mens laktat ble målt i helblod med LactatePro måler. I tillegg ble O<sub>2</sub> i vann målt kontinuerlig, mens CO<sub>2</sub> ble målt ukentlig. Vannstrøm ble holdt konstant på 80 l/min under både fase 1 og 2. Temperatur i fase 1 var 5,5 ± 0,2°C; lys 24h.

**Sjøvannstest:** Før fisken ble overført til sjøvann gjennomgikk de sjøvannstest. Sjøvannstesten ble foretatt i 6 stk 0,5m<sup>3</sup> kar. Dag 1: hver kar ble fylt med saltvann (34,5 ‰). Ti fisk fra hvert fase 1 kar (totalt 60) ble overført til respektive 0,5m<sup>3</sup> kar. Saltvannet var avkjølt slik at temperatur under overgang ikke var for stor. Hvert kar var utstyrt med lufting. Dag 2 (etter 24 timer): Det ble tatt prøver fra alle 60 individer etter at det var målt O<sub>2</sub> og CO<sub>2</sub> i karene. All fisk ble målt for vekt og lengde. Blod ble analysert med i-stat og sentrifugert og pipettert (fryst -20 °C). Andre gjellebue ble lagt i SEI-buffer og på flytende N<sub>2</sub> og fryst i -80°C.

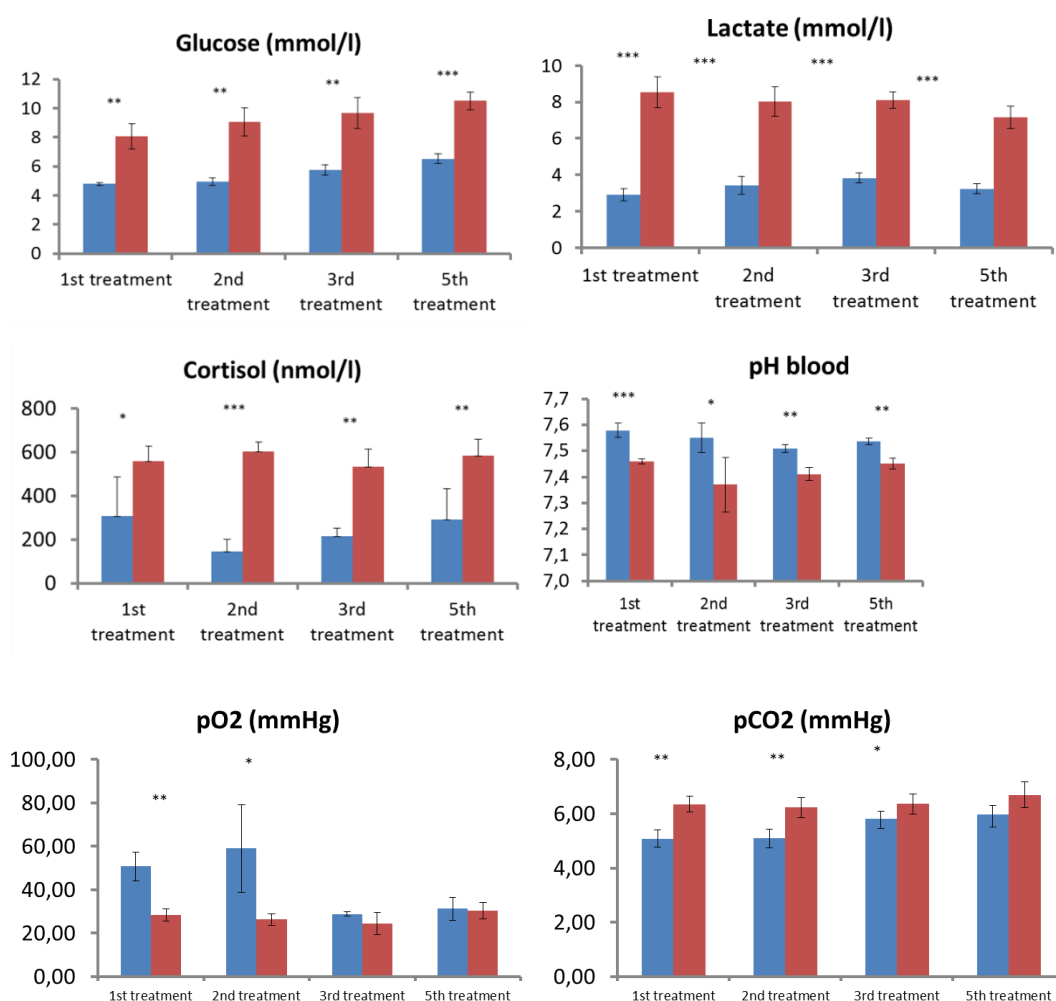
Sjøvannsfase: I STRESSPUMP 1 ble det valgt å overføre fisken på sjøvann i kontrollerte kar ettersom, etter ønske fra styringsgruppen, målet var å bruke to ulike sjøvannstemperaturer og ellers kunne kontrollere alle kontrollerbare faktorer. Fra fase 1 ble hvert kar delt i to og satt ut på sjøvann i to ulike temperaturer; 8 °C og 5°C (Figur 16) i triplikate kar (totalt 12 stk. 3m<sup>3</sup> kar; 224,1 ± 3,9 fisk per kar). Fase 2 gikk over 84 dager. 24h lys. Fisken mottok ingen behandling utover røkt i fase 2. Det ble foretatt fôroppsamling 7 dager per uke og all død fisk ble målt for vekt og lengde. Det ble tatt bilde av fisk med ytre tegn. Også i fase 2 ble O<sub>2</sub> i vann målt kontinuerlig, mens CO<sub>2</sub> ble målt ukentlig. Ved avslutning ble 10 fisk per kar (totalt 120 fisk) tatt prøve av (vekt/lengde, blod analysert for fysiologisk stress, gasser (korrigert for temperatur) og klor, velferdskår og skinn til histologi (er ikke analysert)).

#### Statistikk:

Alle grupper er sammenliknet med hverandre med ANOVA varians analyse, og forskjeller ble identifisert med en Tukey test. Grupper er statistisk forskjellig fra hverandre når p<0,05.

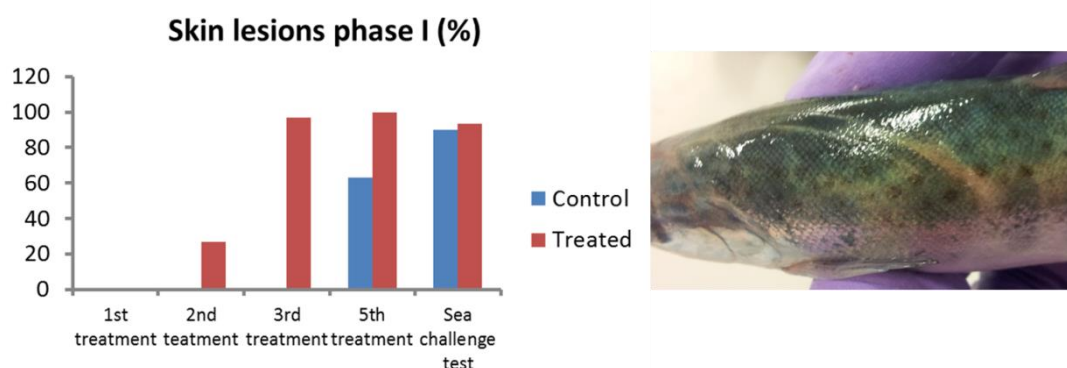
#### Resultat og diskusjon:

Ferskvannsfasen: Ingen fisk døde som følge av behandlingen i fase 1. Blodprøver fra alle de fire uttakene viste at trenging og pumping stresser fisken (Figur 17).



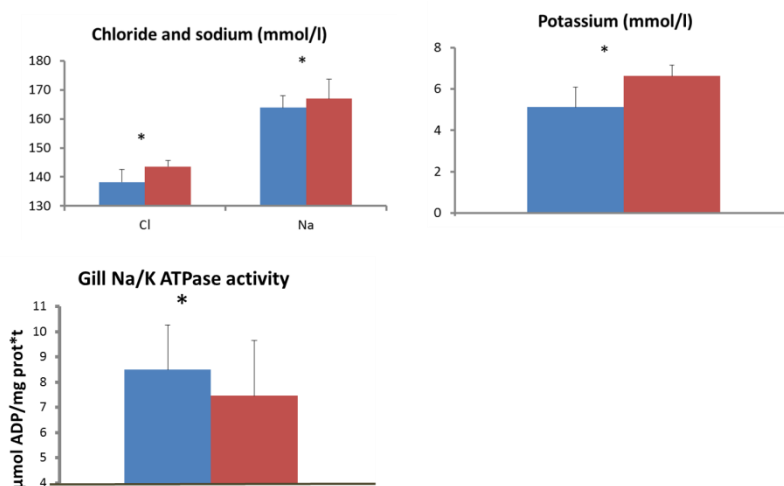
Figur 17 Blodanalyser i fase 1 viser at trenging og pumping (røde søyler) stresser fisken mer enn kontrollene (blå søyler).

Velferdskår ble kvantifisert etter en skala fra 0-2; der 0=ingen ytre tegn, 1=tilstedeværende ytre tegn, 2=tydelige ytre tegn. Det var tydelig at trenging og pumping forårsaket ytre skader og skjelltap på fisken (Figur 18), da behandlet fisk viste skader og skjelltap allerede etter andre behandling. Kontrollfisk viste ytre tegn mest i form av skjelltap når de nærmet seg utsett (Figur 18).



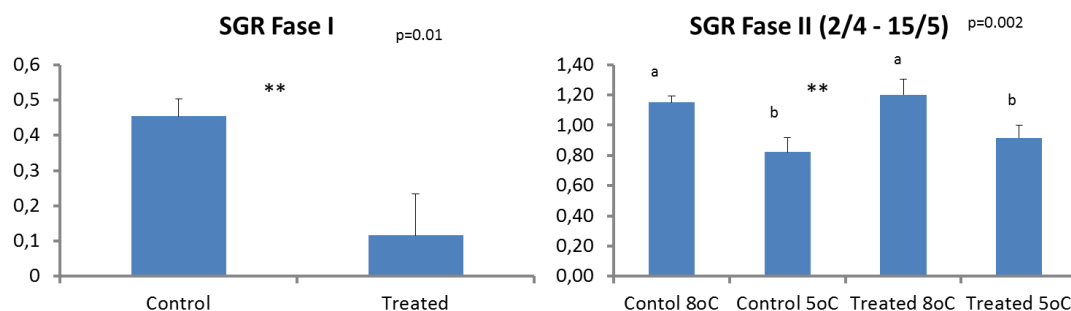
Figur 18 Skinnskader ble evaluert etter en skala fra 0-2; der 0=ingen ytre tegn, 1=tilstedeværende ytre tegn, 2=tydelige ytre tegn. Til høyre bilde av en fisk med tydelige pumpeskader.

Sjøvannstesten (Figur 19) viste at gjentatt trenging og pumping hemmet fisken sin evne til å smoltifisere, og disse fiskene er dårligere rustet til å føres over til sjø sammenlignet med kontrollene. Dårligere smoltifisering ble vist ved hjelp av målinger av klorid, kalium, natrium og Na/K aktivitet over gjellene (Figur 19).



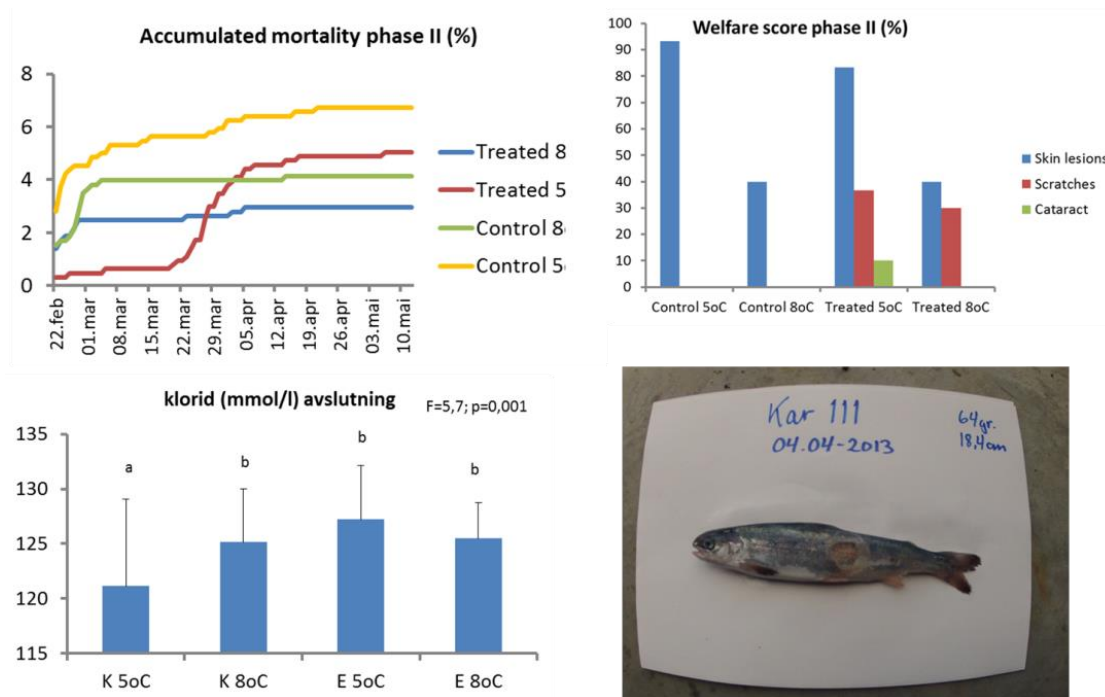
Figur 19 Høyere nivåer av klorid, natrium, kalium og lavere Na/K aktivitet over gjellene hos fisk som er gjentatt trengt og pumpet (rød) viser at disse er smoltifisert i mindre grad enn kontrollene (blå).

I løpet av ferskvannsfasen utviklet det seg en statistisk forskjell i vekstrate (SGR) mellom behandlede og kontrollfisk der de behandlede ble hengende etter kontrollene, men denne forskjellen forsvant i sjøfasen. I sjøfasen utviklet det seg kun en vekstforskjell på grunn av temperatur, der fisk som gikk på 5°C hadde lavere SGR enn fisk som gikk på 8°C (Figur 20).



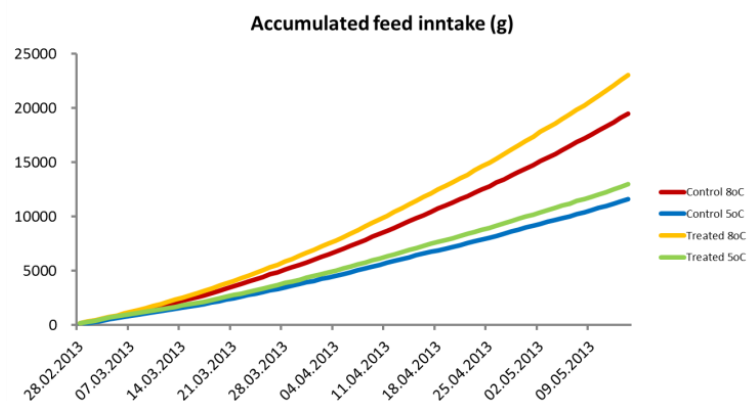
**Figur 20** SGR for behandlet og ikke behandlet fisk i fase 1 og 2. SGR ble regnet ut fra formelen:  $SGR = ((\ln W_2 - \ln W_1) * 100) / \text{dager}$ .

I fase 1 var det flere behandlede fisker som fikk skinnproblemer, spesielt var dette tydelig på sidene. For noen av individene, og da spesielt de behandlede som ble overført til lav vanntemperatur, utviklet hudproblemene seg til sår som forårsaket økt dødelighet. Dette viste seg også ved vurdering av velferdsskår ved avslutning av forsøket (fase 2), der flere trengte/pumpede fisker enn kontroller hadde utviklet sår (Figur 21). Dødeligheten hos de behandlede individene oppsto ca. 30 dager etter utsett på sjøvann (Figur 21). Veterinærundersøkelse av fisken fastslo at sårene ikke var forårsaket av bakterier, men av håndtering. Det var allikevel mest dødelighet hos kontrollfisk som ble satt ut på lav temperatur (Figur 21). Dette resultatet tyder på at en vis behandling av fisk i ferskvannsfasen er fordelaktig for utviklingen av en robust fisk. Behandlingen må allikevel ikke forårsake skader. Uttalelser fra næringsaktører støtter hypotesen om at fisk kan trenes til robusthet, og en studie av Esbaugh et al (2014) viser også at aerob svømming fremmer smoltifisering. I vår studie fant vi signifikante lavere nivåer av plasma klorid ved avslutning av forsøket i den samme gruppen som hadde økt dødelighet rett etter utsett (kontroll satt ut på 5°C). Dette kan tyde på at kontrollfisk som ble satt ut på lav vanntemperatur var dårligere smoltifisert enn de andre. Det er viktig å nevne at vanntemperaturen i fase 1 var 5,5 °C, så dødeligheten blant kontrollfisk satt ut på lav temperatur er ikke forårsaket av brå temperaturovergang. Selv om trengt/pumpet fisk var dårligere smoltifisert etter avsluttet fase 1, påvirket ikke dette overlevelse rett etter sjøutsett.



Figur 21 Øverst venstre: akkumulert dødelighet i fase 2. Nederst venstre: Konsentrasjoner av plasma klorid ved avslutning av forsøket. Øverst høyre: Velferd skår i fase 2. Nederst høyre bilde av en trengt/pumpet fisk der skinnproblemer fra fase 1 har utviklet seg til sår i fase 2.

Ved avslutning av forsøket (fase 2) var det ingen forskjeller mellom gruppene med hensyn på glukose og laktat. Vedrørende blodgasser (pH,  $pO_2$  g  $pCO_2$ ) var det en temperaureffekt, der fisk satt ut på lav temperatur (5°C) hadde lavere pH,  $pO_2$  og høyere  $pCO_2$  enn fisk satt ut på høyere temperatur (8°C). For akkumulert fôrintak (Figur 22) var det ingen effekt av behandling i ferskvannsfasen, det var heller ingen signifikant temperatureffekt.



Figur 22 Akkumulert fôrintak (gram) i fase 2. Fôroppsamling ble gjort 7 dager per uke.

### Konklusjon:

I dette forsøket ble det vist at gjentatt trenging og pumping av fisk fører til kortvarig stress. Langvarige effekter av behandlingen er skinnproblemer med utvikling av sår som igjen fører til økt dødelighet ca. 30 dager etter sjøutsett. Etter fem uker med gjentatt håndtering har behandlet fisk vokst mindre og de er noe dårligere smoltifisert enn kontrollfiskene. Det er allikevel ingenting som tyder på at dårligere smoltifisering fører til effekter på lang sikt. Tre måneder etter sjøutsett er veksten kompensert for. I dette forsøket ble fisken satt ut på sjø i kontrollerte kar. Utviklingen av sår åpner allikevel for spørsmål om disse fiskene hadde vært mer utsatt for smitte dersom de hadde vært satt ut på en reell sjølokalitet, på grunn av røffere miljøforhold. I dette forsøket ble det på den andre side vist at kontrollfisk som ble satt ut på lav temperatur (5°C) tålte overgangen dårligere enn de andre ved at de hadde økt dødelighet rett etter sjøutsett. Disse fiskene hadde også lavere kloridnivåer ved avslutning av forsøket, noe som kan tyde på at en viss håndtering, men uten at dette forårsaker skade på fisken kan gjøre fisken mer robust.

#### **4.3.4 STRESSPUMP 2: Gjentatt pumping og trenging, effekter etter sjøutsett; samarbeid med ScanVacc (Sunndalsøra + HHS, mars – juli 2014)**

##### Bakgrunn:

Bakgrunn for STRESSPUMP 2 (SP2) var resultatene fra SP1, der det ble vist at gjentatt trenging og pumping av smolt resulterer i skinnproblemer som etter utsett i saltvann, under kontrollerte forhold, utviklet seg til sår som forårsaket dødelighet.

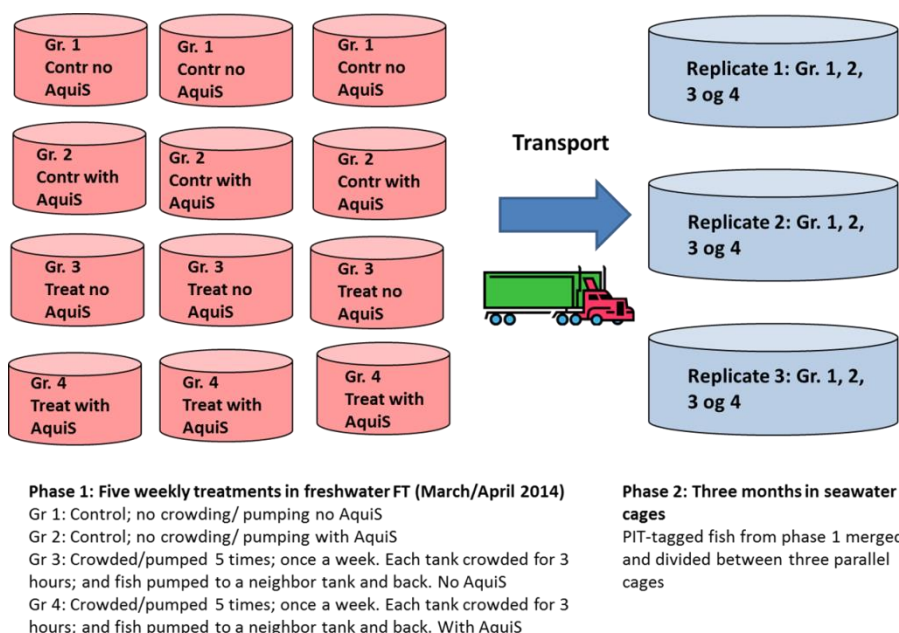
Et delmål til prosjektet er «Vurdere alternativ driftsform», og delmål 4 til arbeidspakke 2 er «Sammenlikne effekter av pumping og trenging hos ikke-sedert fisk og fisk sedert med Aqui-S (6 ppm)». Til dette forsøket ble det derfor etablert kontakt med Aqui-S distributør i Norge, ScanVacc, som var deltaker i forsøket. Det er tidligere dokumentert at Aqui-S har en fordelaktig effekt på smolt, spesielt under transport (Cooke et al. 2004, Iversen og Eliassen 2009, Iversen et al. 2009), men det er også beskrevet at Aqui-S kan forårsake en stressrespons hos fisken (Davis og Griffin 2004, Zahl et al. 2010). Det er imidlertid interessant å undersøke effekten av langvarig bruk av Aqui-S i settefiskfasen, ettersom Aqui-S nå er i kommersiell bruk og det kan forventes at smoltoppdrettere kan komme til å bruke det ved flere håndteringssituasjoner i løpet av ferskvannsfasen, så som under sortering og vaksinerings. Det er imidlertid ikke funnet dokumentasjon på effekter av langvarig bruk av Aqui-S.

##### Mål:

Undersøke effekter av gjentatt håndtering i settefiskfasen på smolt prestasjon etter sjøsetting i merd, og hvordan dette blir påvirket dersom fisken sederes med Aqui-S under håndtering.

##### Metode:

Forsøksoppsettet er vist i figur 23. Oppsettet i fase 1 er veldig likt som for SP1, bortsett fra at vi i SP2 hadde med to grupper som ble sedert ved hver behandling og under transport.



Figur 23 Forsøksoppsett for STRESSPUMP 2.

Forsøket var delt inn i en fase 1 (ferskvannsfase) og en fase 2 (sjøvannsfase). Før utsett til karene ble all fisk PIT-tag merket.

**Ferskvannsfase:** Fire grupper (triplikate kar) ble fulgt i fem uker. Gruppe 1 (kontroll uten Aquis) ble ikke behandlet i fase 1 og ble ikke gitt Aquis; Gruppe 2 (kontroll med Aquis) ble ikke behandlet i fase 1 men ble gitt Aquis en gang per uke i fem uker og under transport; Gruppe 3 (Behandlet uten Aquis) ble trengt og pumpet (Heathro impellerpumpe 6") en gang per uke i fem uker uten sedasjon; Gruppe 4 (Behandlet med Aquis) ble trengt og pumpet (Heathro impellerpumpe 6") en gang per uke i fem uker med sedasjon i fase 1 og under transport. Dette betyr at fisken ble sedert i forkant av hver behandling. Sedasjon ble utført etter protokoll fra ScanVacc (5 ml Aquis per m<sup>3</sup>). Protokollen inneholder også prosedyre for etterdosering ettersom vannflow i karene sørger for at Aquis blir skylt ut etter hvert. Under trenging/pumping ble karvann senket til tettheten i karet nådde en tetthet på 150-200kg/m<sup>3</sup>. Tid for nedtapping og pumping var det amme som for SP1. Fisken ble trengt i tre timer før de ble pumpet over til en tomt kar og så tilbake. Ved fire av de fem behandlingene ble det tatt prøver av 5 individer per kar (15 individer per behandling). Disse fiskene ble målt for vekt og lengde, tatt blodprøve av (glukose og laktat i helblod + plasma klorid) og evaluert for velferdskår. Vannstrøm ble holdt på 80 l/min før trenging; under trenging ble vannstrøm holdt på et minimum men uten at O<sub>2</sub> understeg 80 % i utløp. Temperatur i fase 1 var 6,2 ± 0,3°C; lys 24h.

**Sjøvannstest:** Før fisken ble overført til sjøvann gjennomgikk de to sjøvannstester. Sjøvannstestene ble foretatt i 2 stk. 0,5 m<sup>3</sup> kar. Det ble foretatt to 48 timers sjøvannstester i 34,5 ‰ med to dagers mellomrom; en fra drift og en i forbindelse med transport av fisken (avslutning av fase 1). Sjøvannstoleranse ble målt fra plasma klorid. Drift utførte testen med en fisk per kar (tre per behandling). Hensikten med sjøvannstesten ved transport var å ta ut 5 fisk per kar (15 per behandling), men en misforståelse gjorde at det også her kun ble tatt ut en fisk per kar. Datamaterialet for sjøvannstoleranse er derfor begrenset.



Transport: Transporten fra Sunndalsøra til HHS var på 630 km og tok ca. 9 timer. Fisken ble transportert i 4 tanker i bil; Gruppene 1+3 (uten Aqui-S) ble lastet i to tanker og ble ikke sedert under transporten mens Gruppene 2+4 (med Aqui-S) ble lastet i to tanker og ble sedert under transporten. Transportbilen hadde loggere slik at pH, O<sub>2</sub> og CO<sub>2</sub> ble logget under hele transporten. Ingen avvikende nivåer av noen av variablene ble notert. For å måle stressbelastning under transporten ble det tatt ut 30 fisker både før og etter transport (for hver gang: 15 sederte og 15 ikke-sederte). Fisken ble tatt ut mens de var i biltankene. Fra de totalt 60 fiskene ble det tatt blodprøve som ble målt for glukose og laktat (håndholdte måleapparater). Det ble også notert eventuelle sårskader.

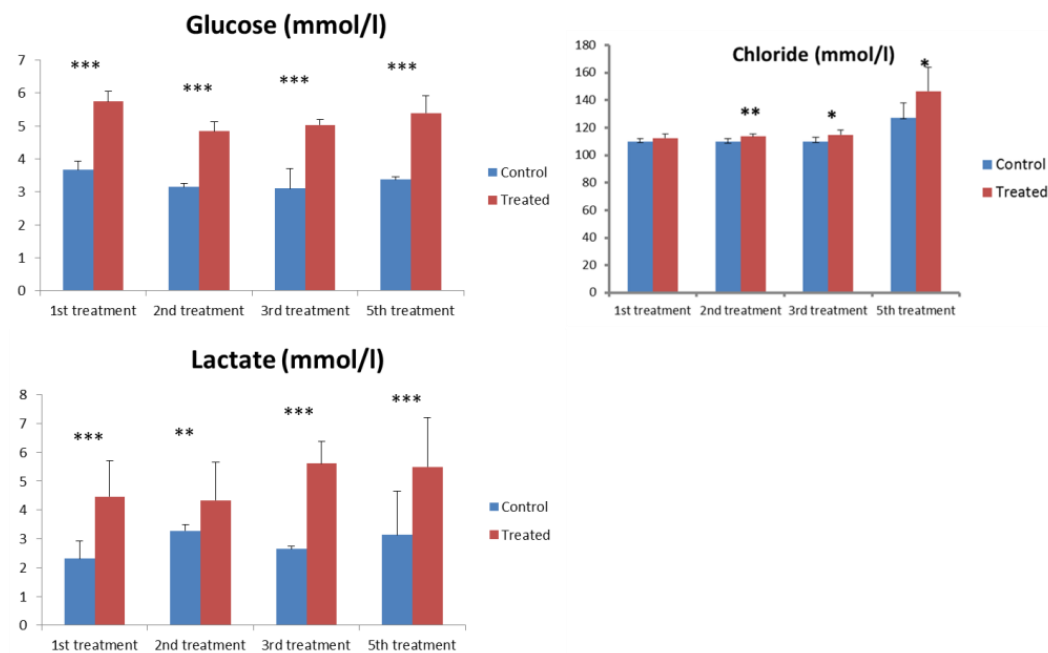
Sjøvannsfase: Av logistiske årsaker ble all fisk overført til en stor merd rett etter ankomst til HHS. Fisken gikk i en merd i ca. tre uker før de ble fordelt på tre 5x5m merder. Fase 2 gikk over 3 måneder. Fisken ble ikke gitt behandling utover røkt i fase 2. I løpet av hele sjøvannsfasen ble all dødfisk lest for PIT-tag og det ble notert PIT nummer og dato for død, vekt og lengde og om mulig dødsårsak.

Ved avslutning ble all restfisk lest for PIT-tag og målt for vekt og lengde. All restfisk ble også evaluert for ekstern velferdsskår (finne og skinn skader). 25 fisk fra hver av de 12 opprinnelige karene i fase 1 ble tatt ut til prøve; 20 til blodprøve (totalt 240) + 5 til skinnprøve (totalt 60 fisk). Gjeldende for disse individene var at de ble bedøvd med Metomidat ved kaikanten for å blokkere kortisolutskillelsen. Deretter ble de lest for PIT-tag, evaluert for velferdsskår, målt for vekt og lengde før de gikk til enten blodprøve eller skinnprøver til histologi og transkripsjonsanalyse (qPCR). Skinnprøvene er imidlertid ikke analysert. Skinnprøvene ble tatt rett bak ryggfinnen, venstre side, rett over lateral-linjen. Det ble tatt ut en 2x3cm bit av skinnen med ca. 0,5 cm muskel på undersiden og delt i to. Til histologi ble skinnbiten lagt i ferdigfylte glass med formalin. For transkripsjonsanalyse (qPCR) ble skinnbiten lagt i ferdigfylte glass med RNA-later. Blod ble sentrifugert og plasma fryst for videre analyse av kortisol.

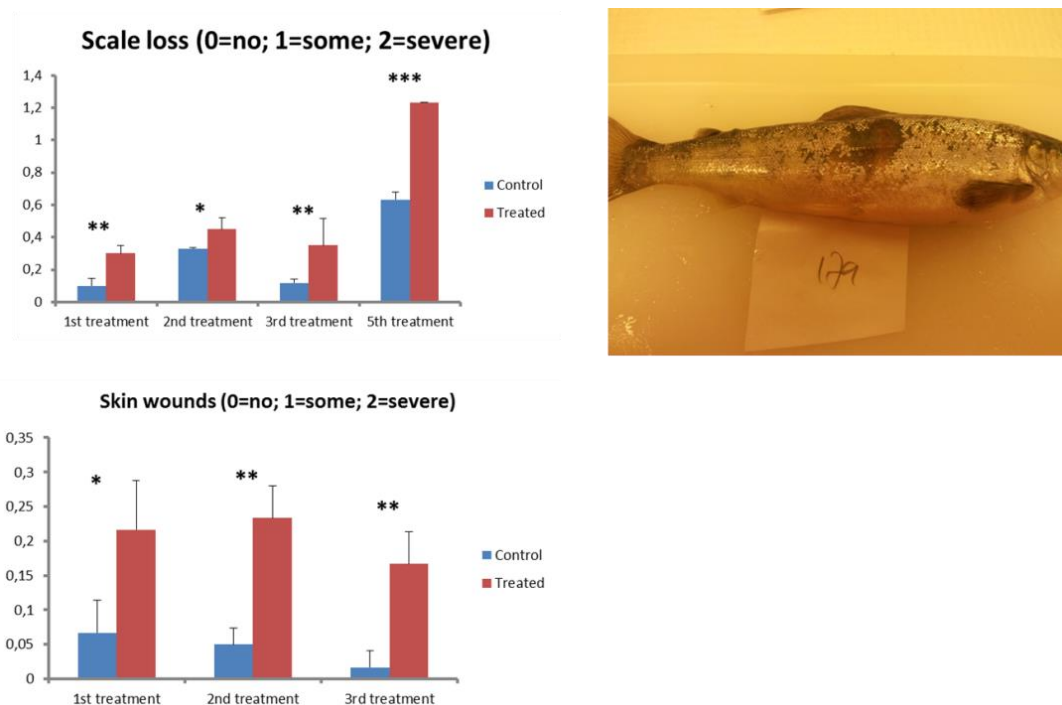
Statistikk: Alle grupper er sammenliknet med hverandre med ANOVA varians analyse, og der forskjeller ble påvist med en Tukey test. Grupper er statistisk forskjellig fra hverandre når  $p < 0,05$ .

#### Resultat og diskusjon:

I STRESSPUMP 2 var det mest fokus på fase 2 da fase 1 var en repetisjon av STRESSPUMP 1. Blodprøvene fra trenging/pumping ble analysert for glukose, laktat og klorid (Figur 24), og alle viser at trenging og pumping stresser fisken. Dette er i overensstemmelse med SP1. I likhet med SP1 ble det også her observert sårskader på fisken, spesielt på sidene (Figur 25). Dette er sannsynlig en direkte konsekvens av pumping ettersom tilsvarende sår i SP1 ble bedømt av veterinær til ikke å skyldes bakterie, men håndtering. Også visuell bedømming av velferdsskår viste at behandlet fisk hadde betydelig skjelltap og sårproblematikk i første fase (Figur 25).

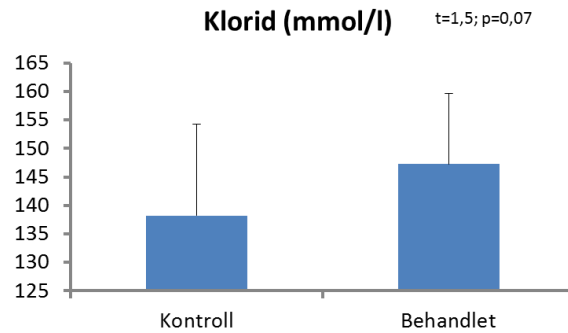


Figur 24 Måling av glukose og laktat i helblod og plasma klorid i fase 1.



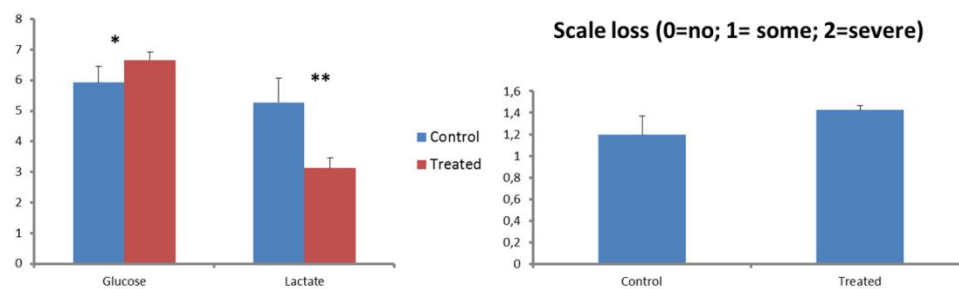
Figur 25 Visuell bedømming av velferdsskår i fase 1. Skår ble definert etter en skala fra 0 til 2, der 0 er ingen tegn og 2 er tydelige tegn. Bildet viser en fisk med typisk skade på siden.

Rett før utsett i sjø ble fisken testet for sjøvannstoleranse (Figur 26). Aqui-S hadde ingen innflytelse på kloridnivåene, så grupper med og uten Aqui-S ble slått sammen. Med en signifikans på  $p = 0,07$  var de behandlede fiskene mindre smoltifisert enn kontrollfiskene. I SP1 var tendensen den samme, men signifikant. Få individer og store standardavvik er sannsynlig årsaken til at resultatet ikke ble signifikant.



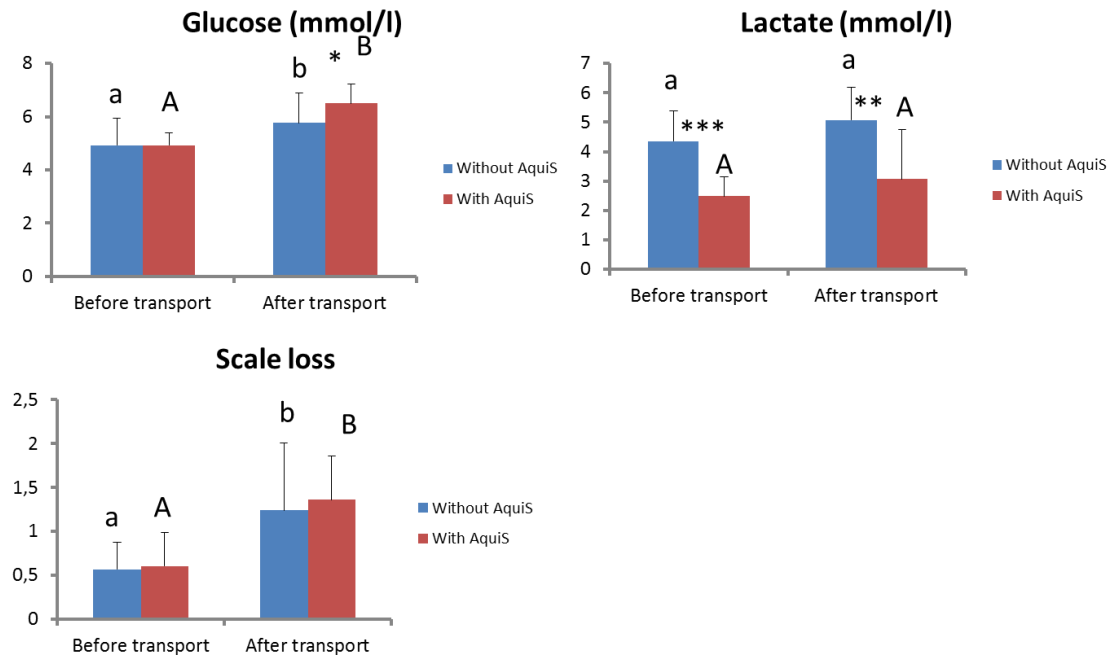
Figur 26 Måling av sjøvannstoleranse i forbindelse med utsett.

Før transporten var det ingen forskjeller mellom kontroller og behandlet fisk med hensyn på laktat og glukose. Etter transport var det imidlertid hos de behandlede fiskene høyere nivåer av glukose men lavere nivåer av laktat (Figur 27). Det lavere nivået av laktat hos trengt/pumpet fisk kan synes uventet men kan tyde på at trenging og pumping muligens adapterer fisken til transportstress. Tilsvarende kan også de økte glukoseverdiene hos håndtert fisk være en slik adaptasjon som over tid gjør fiskene bedre rustet til å takle gjentatt håndtering. Dette kan understøttes med resultatene fra STRESSPUMP 1, der en slik tendens kunne ses for både glukose- og laktatrespons i ferskvannsfasen (Figur 17). Transport påvirket ikke skjelltap ulikt hos kontroller og behandlet fisk (Figur 27).



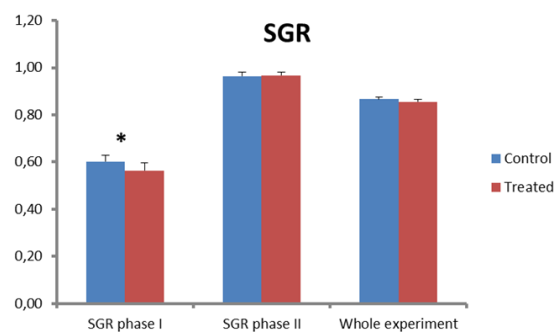
Figur 27 Nivåer av glukose og laktat, og graden av skjelltap etter transport.

Transporten av fisk til HHS forårsaket økning av glukosenivåene i all fisk, mens laktatnivåene var de samme før og etter transport (Figur 28). Fisken mistet også skjell som følge av transporten (Figur 28). Etter ankomsten til HHS var nivåene av glukose høyere hos Aqui-S sedert fisk mens nivåene av laktat var lavere hos sedert fisk både før og etter transport. Aqui-S hadde ingen innvirkning på skjelltap (Figur 28). Økte nivåer av glukose som resultat av Aqui-S er vist tidligere (Davis and Griffin 2004), mens redusert laktat som følge av sedering sannsynligvis kommer av at fiskene roes ned og i mindre grad bruker anaerob muskelaktivitet.

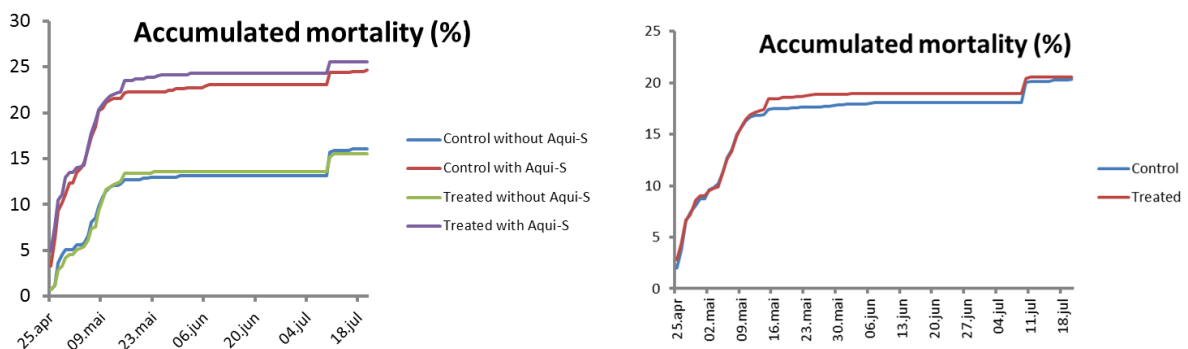


Figur 28 Effekt av Aquis-S på transportstress.

I likhet med SP1 forsøket var tilveksten av fisken redusert i fase 1 (SGR), som følge av trenging og pumping. Etter en viss tid i sjø forsvinner imidlertid vekstforskjellene (Figur 29).



Figur 29 Vekstrate vist som SGR i fase 1 og 2).  $SGR = ((\ln W2 - \ln W1) * 100) / \text{days}$ .



Figur 30 Akkumulert dødelighet (%) i fase 2. Til venstre: høy dødelighet rett etter ankomst. Til høyre: Liten men signifikant økt dødelighet blant trengt/pumpet fisk etter 15. mai.

Noen få dager etter ankomst til HHS, mens fisken fortsatt gikk i en merd økte dødeligheten betraktelig (Figur 30). Det var en stor overvekt Aqui-S behandlet fisk som døde, og forskjellen mellom sedert og ikke sedert fisk siste dag var signifikant ( $p=0,0067$ ). Trenging og pumping i ferskvannsfasen ga en liten økning i dødelighet etter at den allerede omtalte dødeligheten i figur 30 var over ( $p=0,001$ ). Vi har vært i jevnlig dialog med ScanVacc for å finne forklaring på dødeligheten blant Aqui-S behandlet fisk. Vannkvaliteten i transportbilen var tilfredsstillende med oksygenverdier på  $112,2 \pm 0,4$  % og pH  $6,7 \pm 0,3$ . Det var ingen forskjeller mellom tankene. En mulig forklaring baserer seg på at fisk kan vennes til håndtering, og reagere med mindre stress for hver gang den gjentas. Sedert fisk får muligens ikke en slik adaptasjon til gjentatt håndtering og dermed tåler stresset ved utsett dårligere. Stressadaptasjon ble sett i STRESSPUMP 1 - forsøket, der kontrollfisk som ikke var håndtert døde i større grad etter sjøutsett enn fisk som var håndtert. Manglende stressadaptasjon forklarer imidlertid ikke at kontrollfisk som bare var sedert gjentatte ganger i ferskvannsfasen hadde høyere dødelighet etter utsett enn urørt kontrollfisk.

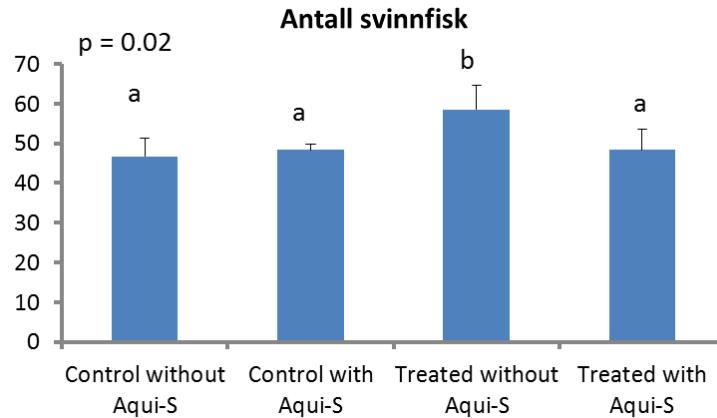
En annen mulighet er at sedasjon i seg selv utløser dødeligheten. Det er tenkelig at osmoreguleringen blir påvirket av sedasjon. Resultater fra SP1 og 2 viser at håndtering forstyrrer osmoreguleringen ved å gi økt plasmaklorid og nedsatt aktivitet av Na-/K-ATPase (SP 1). I SP2 var de økte nivåene av klorid blant behandlet fisk ved sjøvannstesten ikke signifikant, men som tidligere nevnt tror vi dette skyldes et lite antall fisk og store individuelle forskjeller.

Det er viktig å poengtere at vi ikke kjenner årsaken til dødelighet blant de sederte fiskene. Dette betyr at vi heller ikke kan utelukke metodiske årsaker, eks ved transport. Videre forskning på langtidseffekter av sedering er nødvendig for å konkludere om sedering har noen effekt på overlevelse etter sjøsetting.

Fra de 3000 individene som forsøket startet med var det et registrert frafall i fase 1 og 2, fram til avslutning på 903 individer. Dette inkluderer registrert dødfisk og prøvefisk. Ved avslutning 28. juli skulle det dermed ha vært igjen 2097 individer. Isteden ble det PIT-tag lest 1482 fisk ved avslutning (Tabell 2). Dette gir et svinn på 615 individer. Fra tabell 2 er det tydelig at det er spesielt not 101 som skiller seg ut med lite fisk. Vi vet ikke med sikkerhet hvor mange individer det var i hver not ved fordeling, men fisken ble jevnt fordelt. Etter mange undersøkelser og samtaler med HHS har det ikke lyktes oss å komme til klarhet i hva som har skjedd med svinnfisken, når de har forsvunnet eller hvor de er. Ettersom all fisk er PIT-tagget er det imidlertid mulig å identifisere svinnfisken (Figur 31). Blant all svinnfisk er det signifikant flere trengt/pumpede fisker som ikke ble sedert under forsøket som er borte (Figur 31).

Tabell 2 Registrert antall fisk ved avslutning av forsøket på HHS fordelt på kar i fase 1 og merd i fase 2.

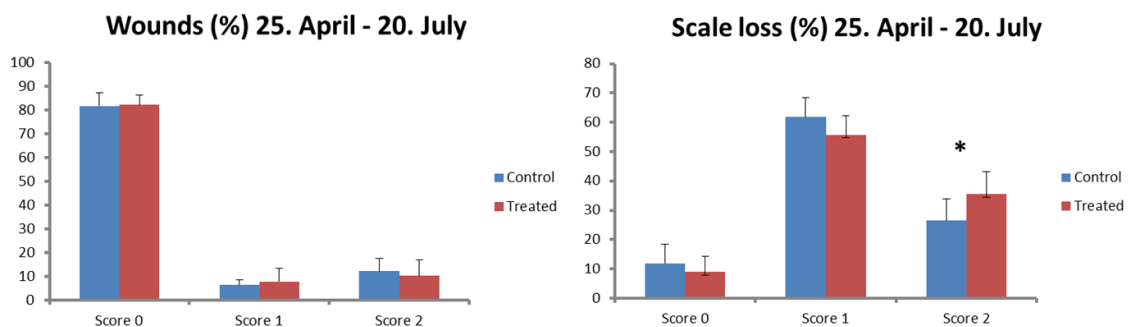
Antall av Unit Dønna	Unit Sunndalsøra												
Unit Dønna	101	102	103	104	105	106	110	111	112	113	114	115	Totalt
101	20	22	25	19	22	22	22	19	20	20	17	17	245
201	56	56	53	47	41	46	52	45	53	40	44	52	585
202	60	56	60	49	57	54	48	67	52	51	43	55	652
Totalt	136	134	138	115	120	122	122	131	125	111	104	124	1482



Figur 31 Identifisering av svinnfisk. Ettersom all fisk var PIT merket er det mulig å finne deres identitet.

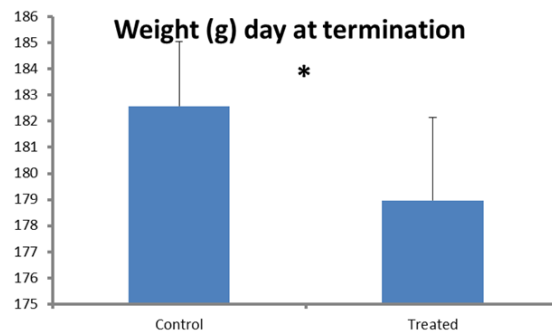
En rapport fra HHS oppgir utføringsprosent (SFR). SFR har en topp rundt 20. mai på 3,0-3,5, og en bunn 20. juni på ca. 0,5. I perioden 20. juni – 17. juli har merd 101 lavest SFR (0,5 – 0,7) etterfulgt av merd 201 (1,0 – 1,3) og merd 202 (0,7 – 1,8). SGR og TGC følger samme mønster som SFR, med lavest SGR for merd 101 i perioden 20. juni – 17. juli (SGR = 0,4 – 0,6), og lavest TGC for merd 101 i samme periode (TGC = 0,8 – 1,0).

I løpet av hele fase 2 ble all dødfisk evaluert eksternt for velferdsskår (Figur 32). Aqui-S hadde ingen effekt på velferdsskår slik at framstilling av disse resultater er forskjeller mellom behandlet og kontroll fisk. Det var generelt lite sår på fisken (Figur 32), men det ble registrert skjelltap. I hele fase 2 var det flere trengt/pumpede fisk med alvorlige tegn på skjelltap (score 2) (Figur 32). Med alvorlig skjelltap menes synlige områder på fisken der skjell er totalt fraværende.



Figur 32 Registrering av sår og skjelltap på dødfisk hele fase 2.

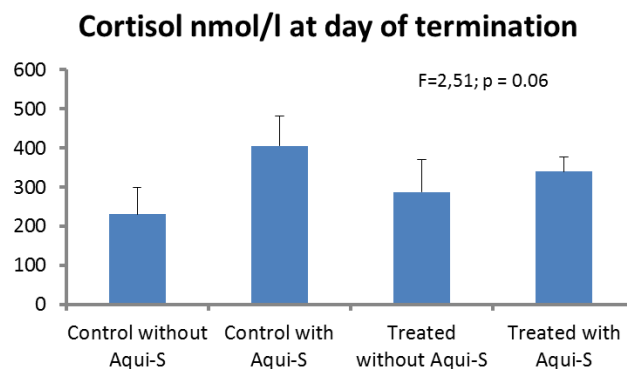
Den 28.-29. juli ble SP2 avsluttet. Vekten på totalt 1485 individer (769 kontroller + 716 trengt/pumpede) er vist i figur 33. Trengt/pumpet fisk var signifikant mindre enn kontrollfisk.



Figur 33 Vekt ved avslutning av SP2 (N kontroll = 769; N behandlet = 716).

Ved avslutning var det ingen forskjeller mellom gruppene med tanke på skjelltap/skader. Dette kan tyde på at alvorlig skjelltap kan være årsak til dødelighet (Figur 32), og at de fiskene som var igjen til slutt ikke hadde slike alvorlige skader og dermed var i fin fysisk form, selv om det også her ble registrert ca. 20 % mer alvorlige skjelltap.

Det ble også tatt ut blodprøver som er analysert for kortisol (Figur 34). Disse viser en interessant tendens ved at fisk som ble sedert under fase 1 og under transporten har høyere nivåer av kortisol tre måneder etter avsluttet behandling ( $p = 0,06$ ) (Figur 34).



Figur 34 Nivåer av plasma kortisol ved avslutning av SP2.

Det ble tatt ut skinnprøver til histologi og transkripsjonsanalyse. Disse er ikke analysert.

#### Konklusjon:

Gjentatt trenging og pumping av smolt resulterer i både korttids og langtids effekter i form at stress, økt dødelighet, redusert vekst og svekket skinnhelse.

De resultatene vi har registrert med tanke på Aqual-S (dødelighet + kortisol) var utgangspunktet for et oppfølgingsmøte 19.november (Nofima, ScanVacc + FHF), som resulterte i at vi 3. desember sendte en avviksrapport til FHF med ønske om å replisere forsøket i 2015 med hovedfokus på Aqual-S.

#### **4.3.5 MANIPUMP: manipulering av pumpehøyde og pumpehastighet (Tromsø, 21-22. mai 2013)**

Formålet med dette forsøket var å undersøke hvilke effekter ulik pumpepraksis har på stressrespons, skadeomfang på kort sikt og overlevelse på mellomlang (uker) sikt hos smolt. Smolt ble pumpet ved 3

forskjellige hastigheter og 2 forskjellige løftehøyder, og fysiologi og påførte skader ble registrert etter pumping og dødelighet undersøkt i 3 uker etter pumping.

Forsøket, og prosjektet for øvrig, hadde ikke til hensikt å sammenligne ulike pumper eller systemer.

### Metode

Forsøket ble utført 21.-22. mai 2013 ved Havbruksstasjonen i Tromsø sitt sjøanlegg. Været var begge dagene strålende sol, vindstille til lett bris og lufttemperaturen ca. 20 °C. Vanntemperaturen var rundt 7 °C.

Ca. 3200 smolt ( $51,5 \pm 8,9$  g,  $16,6 \pm 0,9$  cm) ble holdt i hver av 2 merder (5×5 m), hvor fisk fra den ene merden ble pumpet Dag 1 og den andre merden Dag 2 (replikater).

Før forsøksstart ble mesteparten av fisken i den merden som skulle pumpes forsiktig samlet inn i en avkastnot i merden for å underlette håving. For hver pumpesesjon ble ca. 500 individer håvet opp og overført til en annen avkastnot, fra hvilken de ble pumpet 30 min seinere. For u-pumpet kontroll ble ca. 100 fisk forsiktig samlet i avkastnot og håvet opp for prøvetaking etter 30 min.

Pumpen som ble brukt var en Vaki sneglehuspumpe. Slangen var 100 mm innerdiameter, og var 11 m lang på sugesiden og 20 m på trykksiden. Et kraftig bend (Figur 35) ble bevisst lagt inn på sugesiden, ellers ble bends unngått så langt som mulig.



Figur 35 Slangen ble bøyd 180 grader med 70 cm diameter på sugesiden for å skape et bend.

Pumping ble manipulert ved å endre pumpehastighet og pumpehøyde, med 3 forskjellige hastigheter og 2 høyder (Tabell 3). Hastigheten ( $\text{m s}^{-1}$ ) ble beregnet fra tiden det tok å fylle et kjent volum (220 L). Økt pumpehøyde ble oppnådd ved å løfte pumpen så langt det gikk med trucken (Figur 36). Pumpehøyde ble bare manipulert ved middels hastighet ( $1,4 \text{ m s}^{-1}$ ).

Siden tid i avkastnot (mild trenging) potensielt kunne føre til økt stress og skader ble kontrollfisk tatt ut både først (Kontrolluttak 1, kortest tid i not) og sist (Kontrolluttak 2, lengst tid i not) på dagen begge dagene, og rekkefølgen på pumpesesjonene var omvendt på dag 1 og 2. De forskjellige pumpe- og kontrollsjesjonene ble utført i følgende rekkefølge:



Dag 1: Kontrolluttak 1; 0,9 m s<sup>-1</sup> og 170 cm høyde; 1,4 m s<sup>-1</sup> og 170 cm høyde; 2,3 m s<sup>-1</sup> og 170 cm høyde; 1,4 m s<sup>-1</sup> og 490 cm høyde; kontrolluttak 2.

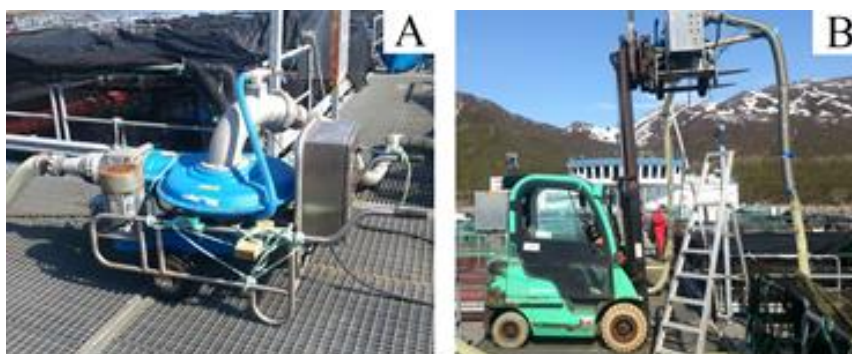
Dag 2: Kontrolluttak 1; 1,4 m s<sup>-1</sup> og 490 cm høyde; 2,3 m s<sup>-1</sup> og 170 cm høyde; 1,4 m s<sup>-1</sup> og 170 cm høyde; 0,9 m s<sup>-1</sup> og 170 cm høyde; kontrolluttak 2.

Under pumping ble innsuget på pumpen plassert ca. 50 cm under overflaten, og fisken rolig trengt mot pumpen (Figur 37a). Fisken ble pumpet over til en 2,5×5 m merd (en splittet 5×5 merd, Figur 37b). Tretti minutter etter endt pumping ble 90 individer håvet opp og raskt bedøvd. Blodprøve for analyse av laktat og kortisol ble tatt av 15 av disse, de resterende 75 ble undersøkt for skjelltap og skader på øye, munn, gjellelokk, finner og hud. De resterende fiskene ble holdt igjen i merdene i 19 dager for daglig registrering av dødelighet.

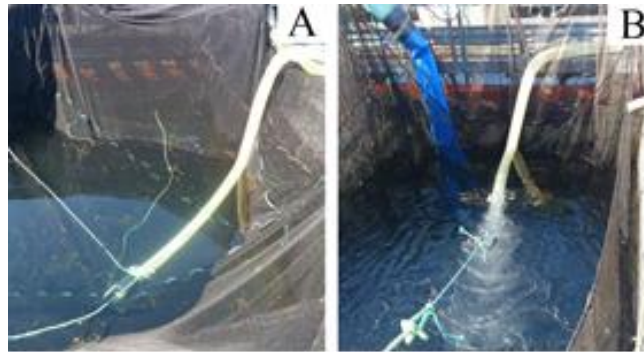
En stor andel av plasmaprøvene som ble analysert for kortisol var utsatt for hemolyse (plasma er rødlig og inneholder erytrocytter). Dette gjør kortisoldataene svært usikre og de er derfor ikke brukt videre.

*Tabell 3 Pumpehastighet og –høyde brukt. Høyde angir vertikal avstand fra vannoverflaten til høyeste punkt på inntaket til pumpen.*

Høyde (cm)	Hastighet (m s <sup>-1</sup> )		
	S1	S2	S3
170 (H1)	0,9	1,4	2,3
490 (H2)	----	1,4	----



*Figur 36 Pumpens plassering ved lav og høy pumpehøyde. Ved lav pumpehøyde var pumpen plassert på gulvet (A) med pumpeslangens høyeste punkt 170 cm over havoverflaten. Ved høy pumpehøyde ble pumpen løftet med trucken (B) slik at pumpeslangens høyeste punkt var 490 cm over havoverflaten.*

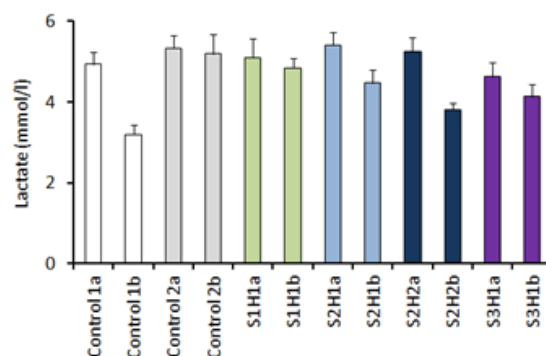


Figur 37 Avkastnot med smolt som skal inn i pumpen (A), og smolt som kommer ut av pumpen og inn i ny merd (B).

## Resultater

### Laktat

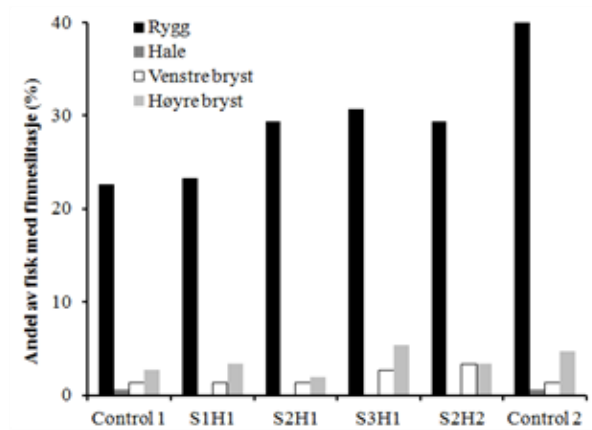
Laktatnivåene varierte til dels mye mellom dagene innen samme behandlingsgruppe, og replikatene var signifikant ( $p < 0,05$ , t-test) forskjellige i Kontrolluttak 1, S2H1, S2H2. Dette gjør sammenligninger mellom behandlingsgrupper usikkert, men nivåene var relativt lik for alle grupper (Figur 38) og verken pumpehastighet eller -høyde hadde noen synlig effekt på laktatnivået.



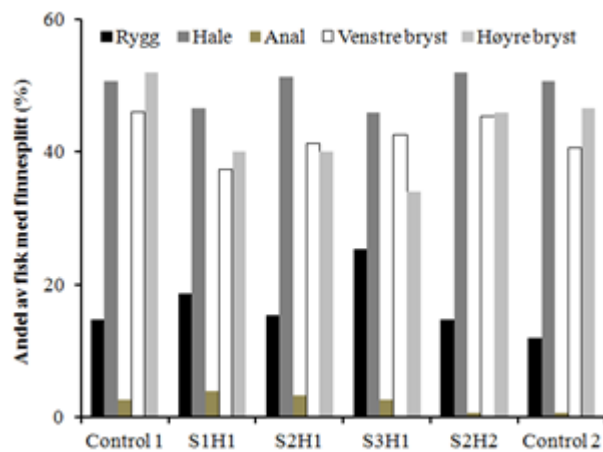
Figur 38 Konsentrasjon (gjennomsnitt  $\pm$  S.E.) av laktat i blodet hos smolt som ikke er pumpet og som er tatt ut først (Control 1) eller sist (Control 2) på dagen, eller pumpet med  $0,9 \text{ m s}^{-1}$  (S1),  $1,4 \text{ m s}^{-1}$  (S2) eller  $2,3 \text{ m s}^{-1}$  (S3), med 170 cm (H1) eller 490 cm (H2) pumpehøyde. Stapler med samme farge er replikater, a = Dag 1, b = Dag 2.

### Skader

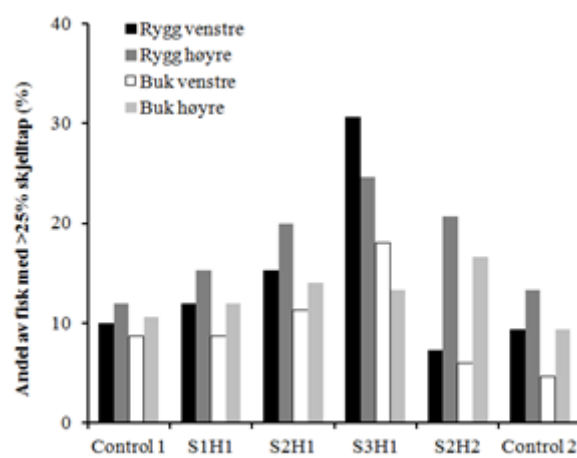
Skader på munn ble ikke observert på noen fisk, skade på øye på én fisk (katarakt) og skader på gjeller på et fåtall fisk (0-2 per uttak á 75 fisk, både kontroll og pumpet fisk). Finneskader ble hyppig observert. Finneslitasje forekom fremst på ryggfinnen, og andelen fisk med slitasje var relativt lik i alle behandlingsgrupper, inklusive kontrollgruppene (Figur 39). Finnesplitting ble hyppig observert, særlig i hale- og brystfinnene. Også for splitter var andelen fisk med skade relativt lik i alle grupper (Figur 40). Den eneste skaden hvor en klar effekt av pumping ble observert var skjelltap, hvor andelen fisk med betydelig ( $>25\%$ ) skjelltap på ryggen økte med økt pumpehastighet (Figur 41). Pumpehøyde hadde ikke noen påvirkning på andelen fisk med betydelig skjelltap.



Figur 39 Andel fisk med slitasje på rygg-, hale-, og brystfinner. Ingen fisk hadde slitasje på analfinnen. Gruppebenevninger som beskrevet over.



Figur 40 Andel fisk med finnesplitt. Gruppebenevninger som beskrevet over.



Figur 41 Andel fisk med >25% skjelltap på rygg og buk. Gruppebenevninger som beskrevet over.

### Akkumulert dødelighet

Dødeligheten i ukene etter pumping var lav i alle grupper, og akkumulert dødelighet etter 19 dager var under 1 % i alle behandlingsgrupper (Tabell 4). Det var ingen tendens til pumpehastighet eller -høyde hadde effekt på dødelighet.

Tabell 4 Total dødelighet 19 dager etter kontrollbehandling eller pumping ved 0,9 m s<sup>-1</sup> (S1), 1,4 m s<sup>-1</sup> (S2) eller 2,3 m s<sup>-1</sup> (S3), med 170 cm (H1) eller 490 cm (H2). Replikat a = Dag 1, b = Dag 2.

Behandlingsgruppe	Replikat	Total dødelighet (%)
Kontroll	a	0,3
	b	0,2
S1H1	a	0,2
	b	0,2
S2H1	a	0,2
	b	0,8
S3H1	a	0,8
	b	0,2
S2H2	a	0,4
	b	0,2

### Diskusjon

Laktatverdiene var relativt høy i alle grupper, inklusive kontrollgruppene som ikke var pumpet. Fisken i dette forsøket var dermed stresset allerede før pumping. Å gjøre pumpeforsøk hvor pumping er helt isolert fra annen stress er svært vanskelig da en viss grad av trenging er nødvendig for å få fisken inn i pumpen. I det aktuelle forsøket måtte fisken av praktiske årsaker (begrenset antall enheter å pumpe fra) i tillegg flyttes med håv mellom enheter ganske kort tid før pumping. Metoden å ha fisken gående i en avkastnot i opptil flere timer før forsøk, og å håve fisken fra denne avkastnoten til en annen 30 min før pumping eller kontrolluttak er sannsynligvis grunnen til disse høye kontrollverdiene. Eventuelle effekter på laktatverdier av pumping kan derfor antas å være maskert av de høye grunnnivåene. Verdiene for laktat varierte også mellom dag 1 og dag 2 for grupper med samme behandling (replikater), selv om prosedyren ble gjort så likt som mulig. Årsaken til denne variasjonen er ikke kjent.

Heller ikke for finneskader ble forskjeller mellom kontrollgruppene og pumpegruppene påvist, noe som tyder på at skadene var av eldre dato eller hovedsakelig ble påført ved håving.

For andel fisk med betydelig skjelltap ble det påvist en effekt av pumping, og også en "dose-respons"-effekt ved at andelen var høyere jo høyere pumpehastigheten var, særlig for 2,3 m s<sup>-1</sup>. Denne hastigheten er nok høyere enn hva som er vanlig i kommersielt bruk, men viser likevel at for høy pumpehastighet kan føre til skader. I det aktuelle forsøket ble bends med et unntak unngått så langt det lot seg gjøre, og fisken ble sluppet ut under vann i destinasjonsmerden slik at den ikke kunne få slag ved ankomst. Det er ikke kjent hvor i pumpesystemet fisken blir påført skjelltap. Noen effekt av pumpehøyde ble derimot ikke observert. Forskjellen i høyde mellom lav (170 cm) og høy (490 cm) var 320 cm. Det er mulig at en større forskjell ville gitt effekt, men dette var den laveste respektive høyeste høyden det var mulig å oppnå ute på sjøanlegget.

I de 19 dager etter forsøket hvor daglig dødelighet ble undersøkt var dødeligheten lav (maks 4 individer, <1 %) i alle grupper. Med så lav dødelighet i gruppestørrelser på ca. 500 individer er det ikke mulig å påvise statistisk pålitelige forskjeller, selv om forskjeller på 1 % kan utgjøre et stort antall individer i kommersiell skala. Forsøket peker likevel på at det ikke er noen stor effekt av pumping på dødelighet mellomlang tidsskala innen de pumpehastigheter og -høyder som her er undersøkt. Hvorvidt økt skjelltap med økt pumpehastighet også gir større andel fisk med problem med osmosebalanse (Zydlewski et al., 2010) og infeksjoner (Smith et al., 1999; Lee et al., 2004) og dermed lavere prestasjon og høyere dødelighet på lang sikt gir ikke dette forsøket svar på.

#### 4.4 Arbeidspakke 3: Utforming av protokoll med grenseverdier for pumping og håndtering av smolt

I Nofima rapport nr 6/2012 (Espmark et al. 2011) ble det laget en detaljert protokoll for stor laks.

Den nye protokollen for smolt er også basert på litteraturverdier på fysiologisk stress (tabell 5) i tillegg til erfarte verdier fra prosjektet (Tabell 6). Men her har vi kun med verdier for laksesmolt, og vi har konsentrert protokollen om variabler som vi mener er av størst betydning for praktisk oppdrett.

Protokollen er vist i vedlegg 4.

##### 4.4.1 Litteraturverdier

Litteratursøket var avgrenset til Atlantisk laks, smolt, håndtering og stress.

Tabell 5 Litteraturverdier fra laksesmolt og håndtering. Verdiene er maksimale verdier.

Referanse	Stressfaktor	Smoltstørrelse (gram)	Kortisol (nmol/l)	Laktat (mmol/l)	Glukose (mmol/l)
Iversen et al 1998	Transport	26-65	503	3,6	9
Iversen et al 2005	Transport	70-250	540	9	9
Iversen et al 2009	Transport	56,9 ± 12,8	840	7,6	
Iversen and Eliassen 2014	Stress + vaksinerings SW	178,2 ± 29,4	750		
Nomura et al. 2009	Transport	73-100	413,4	5,5	8
Carey and McCormic 1998	Akutt stress FW	Parr 9,3 - 18	34,98		5,9
Carey and McCormic 1998	Akutt stress FW	Smolt (38 - 82 gram)	423-772	3,5	7,7
Pankhurst et al 2008	Håving FW	Parr (50 gram)	95,4		5
Pankhurst et al 2008	Håving SW	Smolt (129 gram)	190,8		6
Pankhurst et al 2008	Håving SW	Post-smolt (211 gram)	572,4		6
Basrur et al., 2010	Gjentatt trenging FW	89,4 ± 1,7 gram	381,6	9,5	8
Sadler et al., 2000	Trenging FW	40-45 gram	174,9	4,5	
Sadler et al., 2000	Trenging SW	78-87 gram	461,1	4,5	
Espmark et al, 2011	Trenging SW	1040 ± 241 gram	550±172	8,7±1,3	5,1±0,7

Tabell 6 Målte verdier av kortisol, glukose og laktat i prosjektet «Pumping og håndtering av smolt».

Navn	Stressfaktor	Smoltstørrelse (gram)	Kortisol (nmol/l)	Laktat (mmol/l)	Glukose (mmol/l)
Trengetid/restitusjon	Trenging	177,7 ± 20,3	915 ± 39 (1 time etter 1 times trenging)	3,7 ± 0,7 (1 time etter 1 times trenging)	3,9 ± 0,8 (6 timer etter 3 timers trenging)
MANIPUMP	Pumping			5,0 ± 1,4 (0,9 m/s; 169 cm))	
STRESSPUMP 1	Gjentatt trenging + pumping (FW). 1 trenging/pumping	47 - 68	604 ± 41	8,5 ± 1,9	10,5 ± 0,6
STRESSPUMP 2	Gjentatt trenging + pumping (FW). 1 trenging/pumping	55 - 68		6,7 ± 1,7	6,0 ± 0,0
Åsen setterfisk AS	Kommersiell utsett	94 ± 22	974 ± 185 (i bil etter trenging/pumping)	3,4 ± 0,5 (i bil etter trenging/pumping)	6 ± 3,9 (trenging)
Sævareid fiskeanlegg	Kommersiell sortering og vaksinerings	114 - 22	332 ± 165 (før vaksinerings)	4,3 ± 1,3 (etter vaksinerings)	6,5 ± 1,8 (før vaksinerings)
Smolten AS	Kommersiell sortering og vaksinerings	49 - 8	200	4,8 ± 1,3 (etter vaksinerings)	3,7 ± 1,5 (24t restitusjon)

#### 4.4.2 Erfarte verdier

Tabell 6 oppsummerer verdier av kortisol, glukose og laktat som er rapportert i prosjektet «Pumping og håndtering av smolt». I tabellen er de fire første studiene fra kontrollerte forsøk mens de tre siste er fra kommersielle besøk.

Ut fra tabell 5 og 6 kan det fastslås at trenging er den stressoren som stresser fisken mest. Men også transport, og et helt forløp ved uttransportering og sortering/vaksinerings stresser fisken.

#### 4.4.3 Anbefalinger

Ut fra erfaring og resultater kan følgende anbefalinger gis:

- Trenging: Treng fisken skånsomt. Trenging over tre timer gir en stressrespons som varer lengre enn kortere trenging. Unngå at tetthetene under trenging blir så store at fisken kommer i så stor grad borti hverandre at det blir sårskader. Trenging gir fort tettheter på 300-400 kg/m<sup>3</sup> og dette er belastende for fisken. Gjentatt trenging gir tydelig skjelltap og skader som kan øke dødelighet etter sjøsett.
- Håving: I tillegg til stress vil også håving forårsake skinnskader som kan påvirke fisken negativt etter sjøutsett, avhengig av størrelse og vannkvalitet.
- Pumping: Med riktig pumpe og rør av rett dimensjon og konstruksjon stresser pumping vanligvis fisken mindre enn eks trenging. Men skader oppstår ved gjentatt pumping, bruk av pumper som er beregnet for fisk som er mindre enn de som pumpes og ved feilkonstruksjon med kanter, ventiler og krappe bøyninger på røret. Skader kan være eks sår på siden av fisken. Disse sårene er ofte dødelige avhengig av størrelse og vannkvalitet (eks smitte).



Figur 42 Pumpeskade

- Skjelltap øker med pumpehastighet ( $0,9 \text{ m/s} < 1,4 \text{ m/s} < 2,3 \text{ m/s}$ ).
- Bruk av sedasjon under håndtering gjør fisken mindre stresset og anbefales ved situasjoner der det er forventet mye stress. Gjentatt og langvarig bruk av sedasjon bør gjøres med forsiktighet.
- Smoltstørrelse har betydning for hvor mye fisken tåler. Sensitiviteten ser ut til å øke med størrelsen (parr → smolt → postsmolt).

## 4.5 Kommersielle besøk

I forbindelse med prosjektet var det ønskelig å besøke kommersielle settefiskanlegg for å følge prosesser som involverte håndtering av fisken. En annen målsetning var å danne et bilde av forholdene på anlegg og om mulig sammenligne ulike anlegg. I prosjektperioden ble det avlagt tre besøk på kommersielle anlegg (Åsen settefisk AS, Sævareid Fiskeanlegg AS, Smolten AS). Til Åsen settefisk og Sævareid Fiskeanlegg ble det levert arbeidsnotat og rapporteringen fra disse anleggene her er tatt direkte fra disse arbeidsdokumentene. Besøk til Smolten AS ble gjort i juni 2014, og arbeidsnotat er ikke skrevet.

### 4.5.1 Åsen settefisk AS – mai 2012 (Åsa Maria Espmark, Tor Evensen, Ronny Jakobsen, Øyvind Aas-Hansen, Jonatan Nilsson)

#### Bakgrunn:

Fisken blir trengt og pumpet ved flere håndteringsprosesser, og i mai 2012 besøkte prosjektgruppa Åsen settefisk AS for å overvåke og ta prøver av fisk ved utsett til sjø.

Følgende rapport oppsummerer fisken sin status ved to ulike trengetidspunkt samt ved transport til bil ut fra anlegget. Prøver ble også tatt før trenging og fra bil.

Vi benytter her muligheten til å rette et stort takk for at vi fikk komme til Åsen settefisk og ta prøver av fisk under utsett og samtidig få se hvordan anlegget fungerer. Et spesielt stort takk til daglig leder Morten Lund og driftsleder Georg Reinsås.

#### Metode:

Vi gjennomførte forsøk ved Åsen settefisk AS 8. mai 2012. Denne dagen ble det levert fisk fra 5 kar. Til uttaket beskrevet i denne rapporten ble fisk fra kar B1 brukt. Tabell 5 viser bakgrunnsdata for fisken som ble fulgt.

Karene er  $140 \text{ m}^3$  (6m i diameter x 5m dyp). Ved trenging senkes vannivå til ca. 1,5m før fisken slippes ut gjennom 6" rør. Denne dagen tok det ca. 45 minutter å senke vannet til nivået der fisken ble sluppet

ut. Det tok tre timer til siste fisk var ute. Under trenging tilfredsstilles oksygennivå via kontinuerlig vanntilførsel. Fra karet blir fisken tappet ut med falltrykk ut i raceway i golvet (ca. 1 m bred). Fra raceway blir fisken pumpet til tellebord og bil. Løftehøyde til tellemaskin og bil er ca. 4 meter (Figur 43).



*Figur 43      Prosess. Trenging av fisk ved å senke vannet (øverst til venstre). Legg merke til «kuøyet»; når vannet var ca. 10-15 cm under dette startet utfasingen av fisk. Fisken blir skjøvet nedover med skyveskott i raceway (nederst til venstre, øverst til høyre). Fisken blir pumpet opp til tellemaskin nå vei ut til bil (nederst til høyre)*

Fisken har gått i ferskvann hele tiden inne på settefiskanlegget og den transporteres også ut i ferskvann. På Åsen settefisk AS blir fisken først ført over til bil som kjører den ca 2-3 mil til brønnbåt som transporterer fisken videre til dit den skal.

*Tabell 7      Bakgrunnsdata for fisk fra kar B1, 8. mail 2012.*

Antall fisk i kar	65268
Gjennomsnittsvekt	112,85 g
Tetthet	52,61 kg/m <sup>3</sup>
Trengvarighet	Ca. 3 timer
Oksygenering	Nei
Historisk behandling	Vaksinering (nov. 2011), 1 formalinbehandling (soppforebyggende), 3 sorteringer

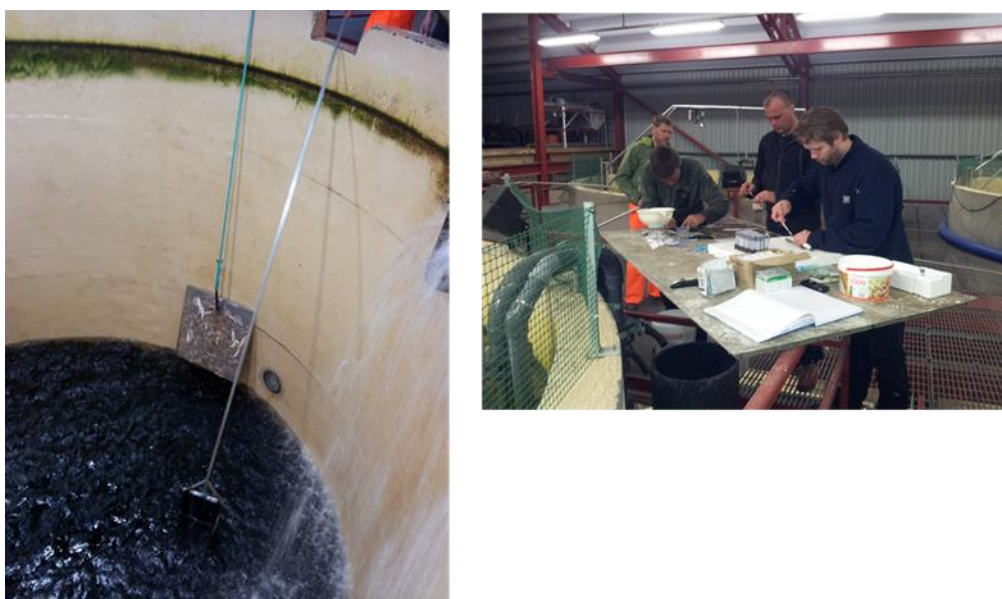


### Prøvetaking

Fisk ble tatt ut til blodprøve ved fem ulike stasjoner:

1. Kontrollfisk - kar B1 før trenging
  - a. 15 fisk til blodprøve
  - b. 8 fisk til saltvannstest
  - c. 30 fisk til fotografering og skaderegistrering
2. Trenging 1 – når vannivå er 10-15 cm under «kuøyet» (Fig. 1) og utkjøring av fisk fra karet starter
  - a. 15 fisk til blodprøve
  - b. 8 fisk til saltvannstest
3. Trenging 2 – mot slutten av trenging, når det er lite vann igjen
  - a. 15 fisk til blodprøve
  - b. 8 fisk til saltvannstest
4. Raceway – når fisken er ute fra karet men før pumping til tellemaskin og bil
  - a. 15 fisk til blodprøve
  - b. 8 fisk til saltvannstest
  - c. 30 fisk til fotografering og skaderegistrering
5. Bil – fisk håvet rett fra biltanken etter at fisken er pumpet og telt
  - a. 15 fisk til blodprøve
  - b. 8 fisk til saltvannstest
  - c. 30 fisk til fotografering og skaderegistrering

All prøvefisk ble håvet og avlivet umiddelbart med slag mot hodet. For å minimere tiden fra avliving til prøvetaking ble en og en fisk håvet. Blodprøve ble tatt på venstre side av haleregionen og analysert for pH, glukose, laktat,  $pO_2$ ,  $pCO_2$ ,  $HCO_3$  (bikarbonat),  $TCO_2$  (karbondioksid + karbonsyre + bikarbonat), og  $O_2$  % (Figur 44). Blodprøvene (helblod) ble analysert ved hjelp av i-STAT; laktat ble analysert med LaktatPro. I tillegg ble prøvene sentrifugert ved 6000 omr/min i 5 minutter, og plasma frosset ned for videre analyser for kortisol.



Figur 44    Prøvetaking. Håving av fisk fra kar B1 (til venstre), før blodprøvetaking (til høyre).

### Saltvannstest

Saltvannstest ble brukt som stresstest. Åtte fisk fra hver uttaksstasjon ble håvet og lagt i en bølge med saltvann (35 ‰) (Figur 45). Fiskene ble avlivet og tatt blodprøve av som beskrevet over tre timer etter uttaksstasjon.



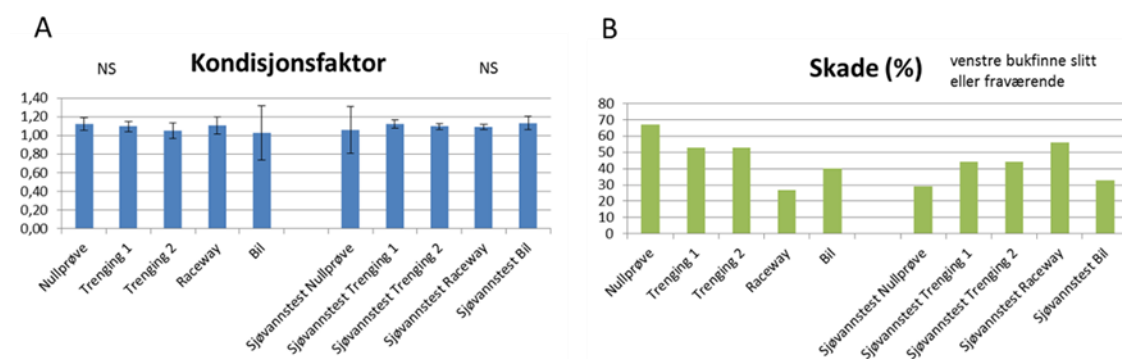
Figur 45 Preparering av saltvann og bølter til saltvannstesten.

Fra tre av uttaksstasjonene (kontroll, raceway og bil) ble 30 fisk håvet og avlivet med en overdose bedøvelse (bensocain). Hver fisk ble fotografert og analysert for skader.

### Resultat og diskusjon

Fisketetthet under trenging 1 var 193 kg/m<sup>3</sup>.

All fisk som ble brukt til dette uttaket ble bedømt til en smoltkvalitet på 3,5 – 4 (median). Dette er tatt fra en skala fra 1 til 4 der 1 er dårlig smoltifisert mens 4 er fullstendig smoltifisert. Dette samsvarer med anlegget sin egen bedømming. Kondisjonsfaktor var helt normal på ca. 1,0 (Figur 46a). Ingen alvorlige skader ble observert på fisken, men av de observerte skader var det et klart flertall med skadd eller fraværende venstre bukfinne (Figur 46b). Av de 30 individer som ble bedøvd til døde og fotografert ble kontrollfisk, fisk fra raceway og fisk fra bil observert med henholdsvis 67 %, 57 % og 57 % skadet venstre bukfinne. Disse finneslitasjene var "gamle", dvs. oppstått før 8. mai.



Figur 46 Kondisjonsfaktor (A) og skade på venstre bukfinne (B) hos fisk som ble brukt i uttaket. Til venstre i figurene er fisk som er tatt ut ved uttaksstasjonene, mens til høyre er fisk fra saltvannstesten.

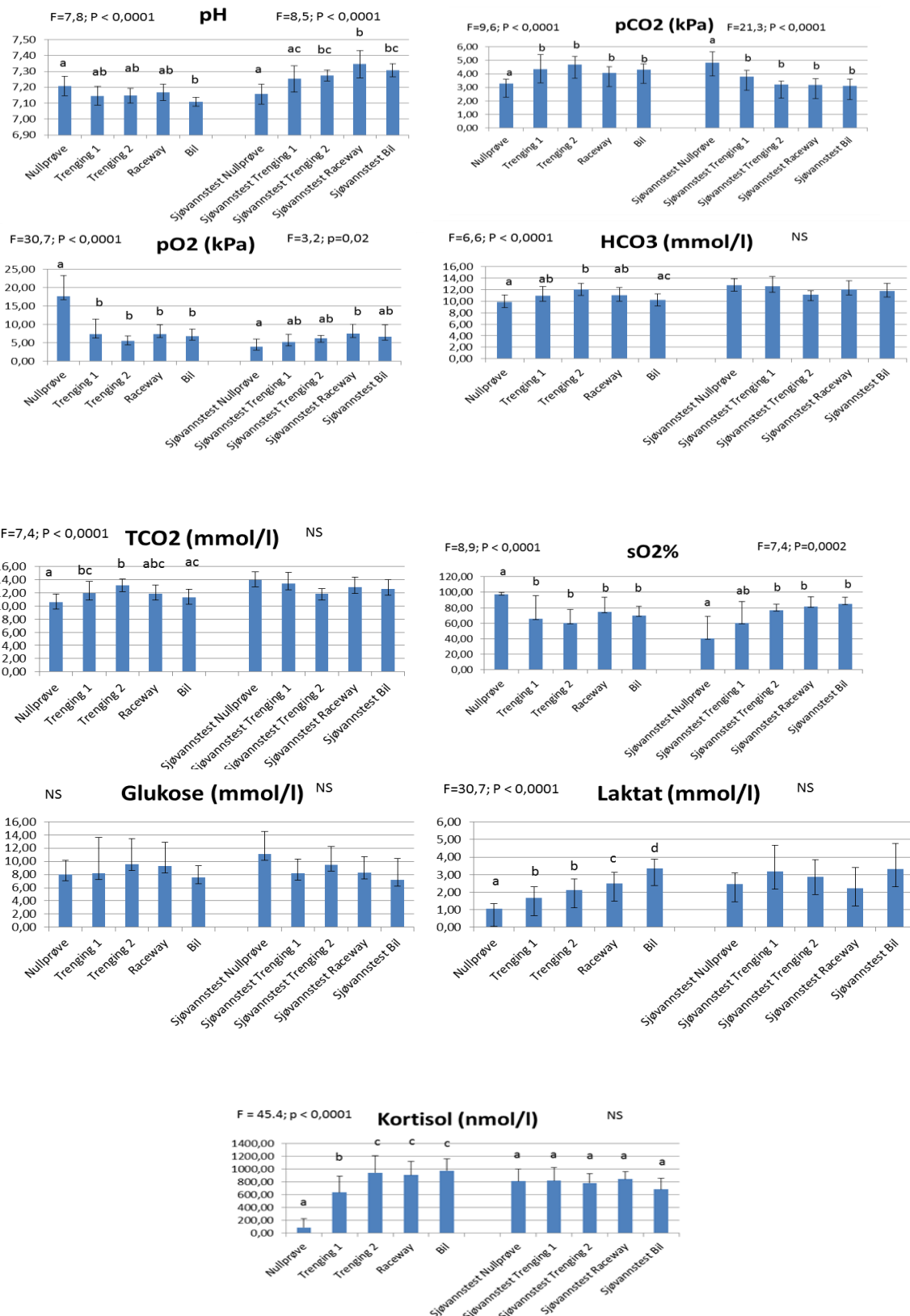
### *Fysiologisk stress*

I en trengesituasjon er det ventet at nivåer av CO<sub>2</sub> øker samtidig som O<sub>2</sub> avtar, både i vann og blod. Dette kommer av at vannmengden og dermed oksygen avtar, noe som øker produksjon av CO<sub>2</sub> (Fivelstad og Binde, 1994). Vanngjennomstrømningen klarer ikke å eliminere overflødig CO<sub>2</sub>. I dette uttaket var denne effekten spesielt tydelig for pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>, og O<sub>2</sub> %, men også synlig for HCO<sub>3</sub>, TCO<sub>2</sub> (karbondioksid + karbonsyre + bikarbonat) (Figur 47). Det ble ikke registrert noen systematisk forskjell mellom uttaksstasjonene. pH i blod var lavere enn kontrollen kun i transportbilen (Figur 47).

Det ble tatt ut fisk til saltvannstest som ble tatt blodprøve av tre timer etter de respektive uttaksstasjonene. Det var ikke mulig å se den samme økningen i CO<sub>2</sub> og nedgang i O<sub>2</sub> for disse individene, og det er mulig at effekten av blodgasser forsvinner etter en tid (Figur 47).

Den primære stressresponsen kortisol økte utover prosessen fra første del til andre del av trenging (Fig 4.46). Etter dette, gjennom raceway og bil, holdt seg nivåene stabilt høye. Gjennomsnittsverdier av kortisol på oppimot 1000 nmol/l er høyt (eks Iversen og Eliassen, 2009).

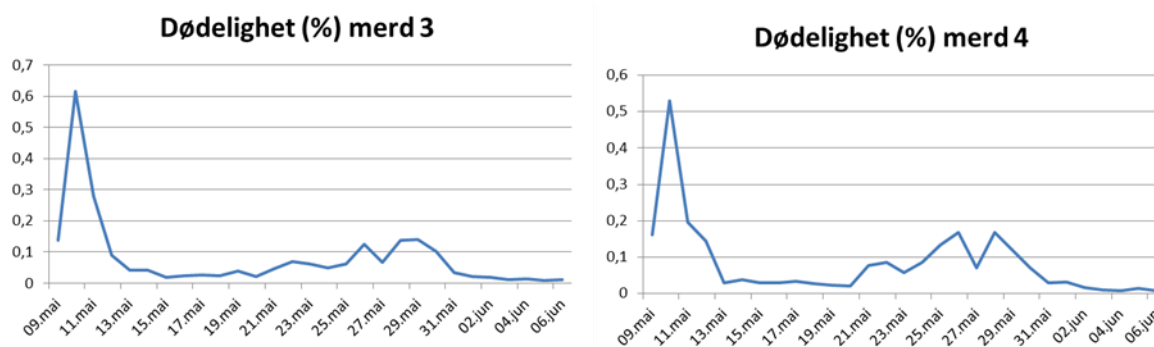
Glukose er et uttrykk for lengre vedvarende aerob muskelaktivitet. I dette uttaket var det ingen forskjeller mellom uttaksstasjonene, heller ikke for saltvannstesten (Figur 47), men glukosenivåene var generelt høye. Glukosenivåer over 6 mmol/l er ansett som høyt og er vanlig målt hos slakteferdig laks under trenging og transport (Espmark m.fl. 2011). Årsaken til de høye glukoseverdier i dette uttaket er ukjent, men må ha opprinnelse i lengre tids forhøyet aktivitet og stress. Laktat er et uttrykk for kortvarig anaerob muskelaktivitet. Laktatnivåene viste en gradvis signifikant økning med uttaksstasjonene (Figur 47). Laktatnivåene er imidlertid ikke høye sammenliknet med andre målte laktatverdier av stresset fisk (Espmark m.fl. 2011). Det er kun målingene fra fisk i bil som er i nærheten av liknende nivåer av stresset fisk.



Figur 47 Verdier av pH, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub>, TCO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> %, glukose målt i helblod ved hjelp av i-STAT, og laktat målt med LactatePro. Kortisol er analysert med RIA fra plasma. Til venstre i figurene er fisk som er tatt ut ved uttaksstasjonene, mens til høyre er fisk fra saltvannstesten.

### *Prestasjon etter sjøutsett (30 - dagers svinn)*

Fisken ble satt ut på Fjord Marin Cod AS i to merder; merd 3 = 145268 individer; merd 4 = 142178 individer. Dødelighet i løpet av de 30 første dagene etter utsett (Figur 48) hadde en topp et par dager etter utsett, men tok seg ned etter hvert.



Figur 48 30-dagers svinn for merd 3 og 4.

### Konklusjon

Fisken som ble satt ut fra Åsen settefisk AS til Fjord Marin Cod AS 8-9. mai 2012 var av god kvalitet. Den hadde oppnådd full smoltifisering før utsett. Selv om det ble registrert skader på venstre bukfinne og noen stressforskjeller mellom utrenget og trent fisk, ser det ikke ut til at dette påvirker overlevelse i sjø 30 dager etter utsett. En subjektiv bedømming av trening og prosess er at treningen hadde fin flyt og fisken fikk kontinuerlig rikelig med friskt vann under hele prosessen. Det ble allikevel registrert en økning av pCO<sub>2</sub> og en nedgang i pO<sub>2</sub> i blod. Veien ut til bilen kunne med fordel vært optimalisert noe, da løftehøyde til tellemaskin var bratt og høy.

### **4.5.2 Sævareid Fiskeanlegg AS - september og november 2013 (Åsa Maria Espmark, Jonatan Nilsson, Tor Evensen og Ronny Jakobsen)**

#### Bakgrunn:

Fisken blir trent og pumpet ved flere håndteringsprosesser, og i september og november 2013 besøkte prosjektgruppa Sævareid Fiskeanlegg AS for å ta prøver av fisk i prosessene rundt sortering og vaksinerings.

Følgende rapport oppsummerer i alt tre besøk ved anlegget. Ved besøk en og to ble det tatt ut prøver fra fisk under prosedyren, mens ved et siste besøk ble det tatt ut blodprøver etter 96 timers recovery.

Vi benytter her muligheten til å rette en stor takk for at vi fikk komme til Sævareid og ta prøver av fisk og samtidig få se hvordan anlegget fungerer. En spesielt stor takk til daglig leder Gustav Folkestad og produksjonsleder Steffen Günther.

#### Metode:

Prosedyren som denne rapporten omhandler er håndtering i forbindelse med sortering og vaksinerings. Anlegget produserer både høst og vårmolt, men denne rapporten omhandler vårmolt. Nofima besøkte anlegget ved tre anledninger:

- 3-4. september 2013
- 5-6. november 2013
- 11. november 2013 (96h restitusjon)

#### *Prøvetaking september 2013*

Her ble det skilt mellom sortering og vaksinerings. Formålet med besøket i september var å gjøre seg kjent med anlegget og forberede til senere besøk, men det ble allikevel tatt noen prøver.

Prøvetakingsstasjoner ble dermed:

1. Kontroll: Før nedtapping (dagen før sortering).
2. Buffertank: Ved ankomst bufferkum (innløp).
3. Trenging: Under trenging i opprinnelig kar når mesteparten av vannet var pumpet ut (ca. 1,5m vann igjen mot ca. 3,5m når det er fullt, fisken hadde stått på denne vannstanden i ca. 1 time).
4. Sortering: I det fisken ankom destinasjonstanken (dvs fisk som er pumpet opp i bufferkum, gått via skruen til sorteringsrist og runnet ned via slange til destinasjonskaret. Fisken tatt fra røret så de har ikke gått i selve destinasjonskaret).
5. Vaksinerings: Nyvaksinert, når fisken ankom destinasjonskaret ferdig vaksinert. Denne har da vært trengt dag 1 (innen det opprinnelige karet ble fylt igjen) og igjen dag 2 når de selv ble vaksinert.
6. Vaksinert recovery 24 timer: 1-2 døgn restitusjon, tatt dagen etter fra selve destinasjonskaret. Det er ukjent hvilke fisker som har gått 1 dag eller 2 dager siden vaksinerings.

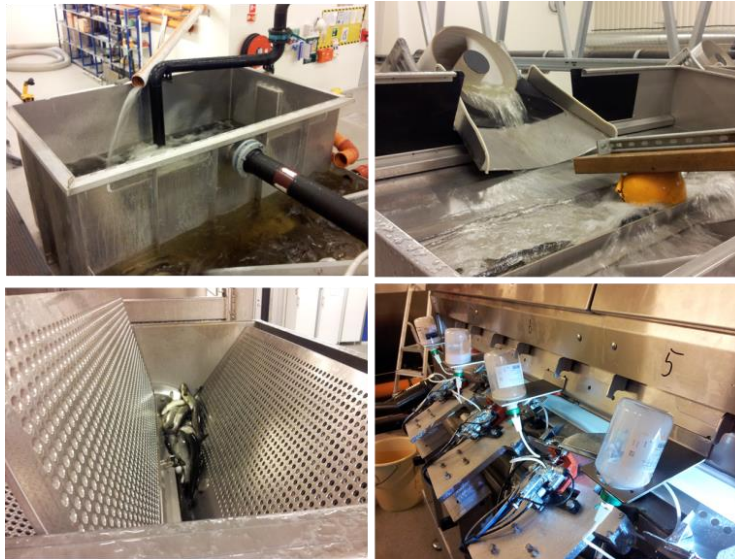
#### *Prøvetaking november 2013*

Under dette besøket ble fisken sortert i to størrelser og vaksinert. En del av vårfisken vaksineres på avdelingen Buo. Her benyttes en Iras 250 dobbeltvirkende vakuumpumpe. Pumpehøyde er ca. 6,5m. Fra oppholdskaret pumpes fisken opp i en buffertank. Ved tømning av oppholdskaret tømmes vannet ut, uten at fisken trenges nevneverdig. Antallet fisk i oppholdskaret er i utgangspunktet ca. 500 000 stk. Fra buffertanken skrus fisken opp i til en Tivolisorterer (faste rister). Under vårt besøk ble fisken sortert i to størrelser. Fra sortering går fisken til bedøvelse (metacain), før den blir transportert på bånd til vaksinerings. Vaksineringsen blir gjort med en Skala Maskon maskin med en kapasitet på 200 000 smolt per time. Ferdigvaksinert fisk blir ført tilbake til ulike oppholdskar, alt etter størrelse. Ved utløp til oppholdskar svømmer fisken motstrøms, noe som viser at den er oppvåknet fra bedøvelse.

Prøvetakingsstasjoner ble dermed:

1. Kontroll: Før nedtapping av kar.
2. 1. trenging: Etter trenging 1. dag (ca. 1 time etter start nedsenking vann).
3. 2. trenging: Etter trenging 2. dag (ca. 5 timer etter nedtappingstart). Sortering og vaksinerings av et kar tar mer enn en dag. Når arbeidsdagen er ferdig blir vannet i karet igjen fylt opp, og prosedyren gjentas neste dag til karet er tomt.
4. Buffertank: Ved ankomst bufferkum (innløp), etter pumping.
5. Sortert: Etter skruing og sortering, men før bedøvelse.
6. Før vaksinerings: Like før vaksinerings, etter bedøvelse (fisken blir liggende i luft ca. 20 sekunder).
7. Etter vaksinerings: Etter vaksinerings i utløp til oppholdskar.
8. 96t restitusjon: Etter 96 timer restitusjon i oppholdskar.



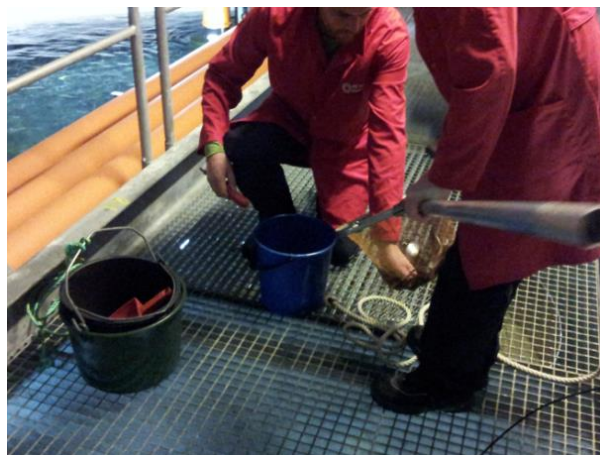


*Figur 49 Bilder fra sortering og vaksining ved Sævareid. Øverst venstre: Buffertank. Hit kommer fisken etter å ha blitt pumpet fra oppholdskaret. Øverst høyre: Fra buffertanken blir fisken skrudd opp til sortering. Nederst venstre: Bedøvelseskar før vaksining. Nederst høyre: Automatisk vaksining.*

#### *Prosedyre for prøvetaking*

Felles for begge uttakene (september og november):

- Fisken tatt ut med håv og avlivet med slag mot hodet, 15 fisk per prøvestasjon.
- Blodprøve tatt få sekunder etter avliving. Dette er viktig for at stressrespons variablene ikke skal fortsette å øke lang tid før analysering.
- Hver fisk målt for vekt (gram) og lengde (cm).



*Figur 50 Håving av fisk for prøvetaking. Fisken ble avlivet med slag.*

September:

- Blodprøve tatt med engangssprøyte i haleregionen.
- Laktat målt med måleapparat Lactate Pro med LactatPro strips fra helblod.
- Helblod ble sentrifugert i eppendorfrør (1300 OMR i 3 min) og plasma pipettert ut for klorid og kortisolanalyser.
- Plasma fryst ned ved -20°C

November:

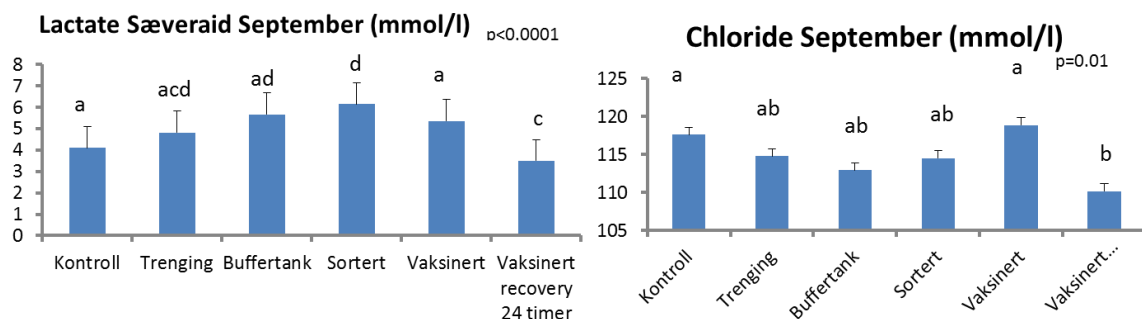
- Blodprøve tas fra caudal blodåre rett under lateral linje og fettfinne.
- Blodprøve tas med vacutainere m/Li-heparin og vacuetter (22G x 1").
  - Blodprøveanalyse:
    - Laktat fra helblod: LactatPro måler med LactatPro strips.
    - Glukose fra helblod: FreeStyle lite måler med strips.
    - Resten av blodet sentrifugeres i eppendorfrør (1300 OMR i 5 min) og plasma pipettert ut for klorid og kortisolanalyser.
    - Plasma fryst ned ved -20°C.
- Etter vekt/lengde måling og blodprøvetaking ble fisken bedømt for ekstern velferdsskår med ekstra fokus på skjelltap pga eventuelle pumpeskader. Den siden av fisken som ikke ble brukt til blodprøve ble vurdert.

I november var vanntemperaturen 7,9°C; fisken var sultet i 4 dager før sortering og vaksinerings.

### Resultater og diskusjon:

#### *September 2013*

Ettersom besøket i september først og fremst var ment som en tur for å gjøre oss kjent med anlegget og forberede senere besøk ble ikke prøvetakingen komplett. Det ble allikevel tatt blodprøver som ble analysert for laktat og klorid (Figur 51). Gjennomsnittsvekt for prøvefiskene var  $79,5 \pm 16,8$  gram med en gjennomsnitt K-faktor på  $1,2 \pm 0,2$ .



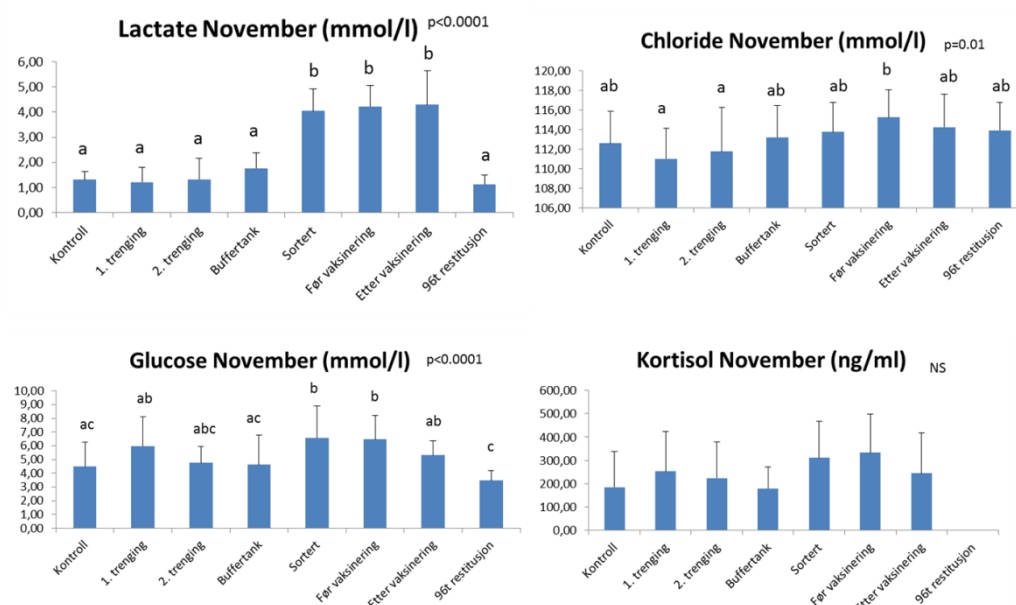
Figur 51 Laktat målt i helblod (venstre) og plasma klorid (høyre).

Fra trenging i oppholdskaret til sortering ble det registrert en økning i laktat med en påfølgende nedgang. Dette er som forventet da laktat måler anaerob aktivitet. De målte verdiene er imidlertid ikke ansett som høye. Etter 24 timers restitusjon er nivåene lavere enn under prosessene, endog ikke signifikant for alle prosesser. Kloridnivåene er noe høyere under prosessene enn etter 24 timers restitusjon.

#### *November 2013*

I november 2013 var prøvefiskene  $114,3 \pm 21,7$  gram med k-faktor  $1,2 \pm 0,1$ . Figur 52 viser resultatene fra målinger av laktat, klorid, glukose og kortisol på anlegget i løpet av prosessen rundt sortering og vaksinerings i november 2013.

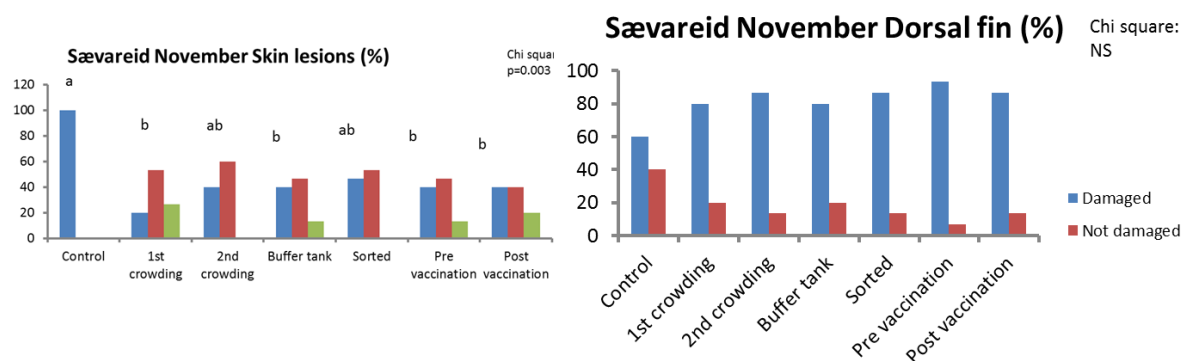




Figur 52 Nivåer av laktat, klorid, glukose og kortisol målt i november.

Varken klorid eller glukose nivåene viser noen klare tendenser. Laktat derimot viser høyere nivåer i området der fisken oppholder seg i vaksinasjonsstasjonen. Plasma kortisol viser ingen signifikante forskjeller mellom stasjonene selv om trenden er den samme som for laktat, med noe høyere nivåer ved sortering og før vaksinerings. Det var veldig stor variasjon i kortisoldata, og dette kan forklare hvorfor forskjellene ikke er signifikante.

Ved å sammenligne september og november er det å merke at både laktat og klorid nivåene er noe høyere i september enn i november. Ettersom det ikke ble foretatt noen sammenligning av fisken eller prosedyrene på disse to tidspunktene er det ikke mulig i denne rapporten å si hva som er årsaken til denne forskjellen. Men forskjellen viser at ulike fiskegrupper presterer ulikt og viser ulikt stressnivå, selv om prosedyrene er like. Det er også mulig at samme prosedyrer utføres ulikt uten at operatørene er bevisst på dette. Lavere kloridnivåer i november stemmer godt overens med at fisken er større og sannsynligvis nærmere smoltifisering sammenlignet med september. Ved besøket i november ble alle prøvefisker i tillegg undersøkt for ekstern velferdsevaluering. Her ble det foretatt en subjektiv bedømming der skjelltap, sår og ryggfinne var i fokus (Figur 53).



**Figur 53** Ekstern velferdsvurdering av skinnstatus (venstre) og ryggfinnestatus (høyre). Skinnstatus: No (blå) = ingen bemerkning; Score 1 (rød) = skalltap registrert; Score 2 (grønn) = mye skalltap og evt sår. Bokstaver viser forskjeller mellom uttaksstasjonenes skår gjennomsnitt. Ryggfinnestatus: «Damaged» = betydelig finnesplitt/skade; «Not damaged» = ingen eller minimal finnesplitt/skade.

På grunn av at skinn- og finne status er oppgitt som frekvenser er data testet med en Chi-square frekvens test, og tester forskjeller i fordeling mellom prøvestasjonene. Den manglende signifikansen i finnestatus betyr ikke at det ikke er forskjell mellom «Damaged» og «Not damaged», men derimot at forholdet mellom de to gruppene ikke varierer mellom stasjonene. Til venstre på figur 54 vises en fisk med betegnelsen «Damaged».



**Figur 54** Skadet ryggfinne (venstre) og skalltap (høyre oppe og nede).

Evalueringen av skinnstatus (Figur 53) viser få signifikante forskjeller mellom prøvestasjonene, men det er verdt å merke at 100 % av kontrollene var uten skader mens ved de andre uttaksstasjonene var det flere med skinnskader. Kontrollene er tatt rett fra oppholdskaret før trenging, pumping, sortering og vaksinerings. Resultatene viser at hele denne prosessen påvirker fisken sin skinnstatus.

### Konklusjon:

I november ser vi at stressnivået er noe høyere ved sortering, samt før og etter vaksinerings. Ingen av nivåene er imidlertid spesielt høye sammenliknet med tidligere rapporterte nivåer for stresset fisk. Også i september var sortering den stasjonen med mest stress, selv om nivåene ikke heller her er høye.

### **4.5.3 Smolten AS – juni 2014 (Åsa Maria Espmark, Jelena Kolarevic, Tor Evensen)**

#### Bakgrunn:

Deler av prosjektgruppa besøkte Smolten AS 24-25. juni 2014. Formålet med dette besøket var å følge produksjonen i forbindelse med sortering og vaksinerings på et kommersielt anlegg, med fokus på eventuell stress og skader hos smolt under pumping og trenging.

Hos Smolten har de et 12m kar der de samler all fisk som skal vaksineres, dette karet tilføres kontinuerlig ny fisk slik at det ikke er fisk fra kun et kar (inneholder 70 000 – 100 000 fisk). Dermed er det ikke mulig å vite hvor lenge hver enkelt fisk har oppholdt seg i dette karet (men ikke mer enn et døgn). Fra 12m karet blir fisken overført til en buffertank før vaksinerings. På Smolten vaksineres fisken manuelt (Figur 55).



*Figur 55 Bilder fra sortering og vaksinerings ved Smolten og uttaksstasjoner for vårt besøk. Øverst venstre: O-prøve ble tatt i 12m kar; Øverst høyre: vannavskiller; Nederst venstre: sortering; Nederst høyre: manuell vaksinerings*

#### Metode:

I midten av mai 2014 ble en gruppe 0-åringer satt på mørke og sortert, disse fiskene ble vaksinert i siste uke i juni. Fiskene tatt ut til prøve var da  $48,8 \pm 8,3$  gram.

#### Uttaksstasjoner:

1. O - prøve: Kar 12-8: påvekstkar.
2. 12-10: (0,5 promille). Hit kommer fisken fra påvekstkar og danner 1. stopp før den går til vaksinerings.
3. Vannavskiller før sortering.

4. Fra sortering
  1. av små fisk mellom buffertank og bedøving
  2. av stor fisk mellom buffertank og bedøving
5. Etter bedøving, fra vaksinasjonsbordet.
6. I utløp til ut-karet (10-12 promille).
7. Fra ut-kar, restitusjon (ca. 15 timer).

#### *Prøvetaking*

Tjue fisk fra hver stasjon (totalt 160 fisk) ble håvet og avlivet med slag. Ved Smolten tok vi blodprøver som ble analysert for laktat og glukose i helblod med bruk av de henholdsvis håndholdte apparatene LaktatPro og Freestyle (Figur 56). Blod ble deretter sentrifugert og plasma fryst for senere analyse av kortisol. For å få tilstrekkelig plasma til kortisol ble fem og fem fisk fra hver gruppe slått sammen (4 prøver per gruppe).

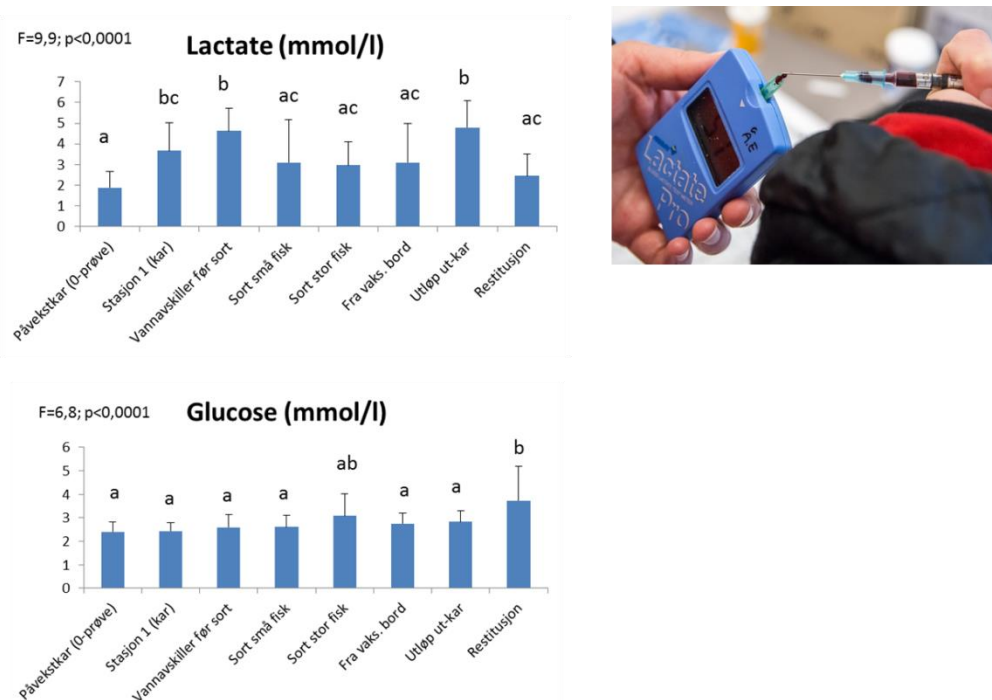


*Figur 56 Bilder fra prøvetaking. Øverst venstre: blod ble tatt med vakutainers i haleregionen; Øverst høyre: Evaluering av ekstern velferdsskår; Nederst: Måling av glukose med Freestyle og laktat med LaktatPro i belblod.*

All prøvefisk ble også vurdert for ekstern velferdsskår (Figur 56) der en skala fra 0 til 2 ble brukt (0 = ingen bemerkninger, 2 = alvorlige skinnskader).

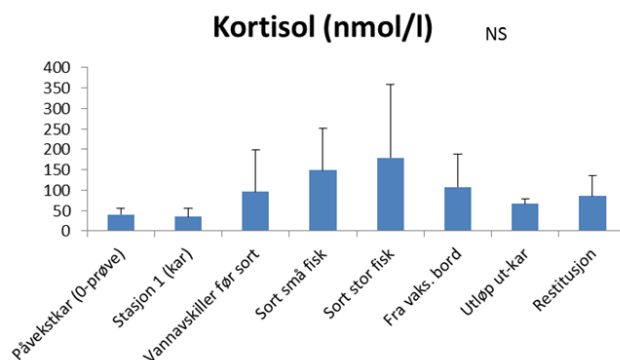
#### Resultater og diskusjon:

Ingen av nivåene for glukose eller laktat er særlig høye (Figur 57). Dersom vi allikevel skal si noe om forløp tyder resultatene på at det skjer en form for akkumulering av stress. Laktat viser til anaerob stress som responderer raskt på muskelaktivitet. Fra figur 57 kan ses at laktat øker fra 0-prøven til vannavskiller før sortering, for så å avta til en ny tipp kommer idet fisken er ferdigvaksinert og går ut i ut-karet. Glukose viser til aerob aktivitet og responderer noe etter stressor. Dette er årsaken til at vi får høyere nivåer av glukose i restitusjonskarene ca. 15 timer etter vaksinerings (Figur 57). Selv om forhøyede glukosenivåer er normalt i restitusjonsfaser, ble det på Smolten rapportert om hegreangrep etter utsett i restitusjonskarene. Dette kan være med på å forhøye stressnivåene.



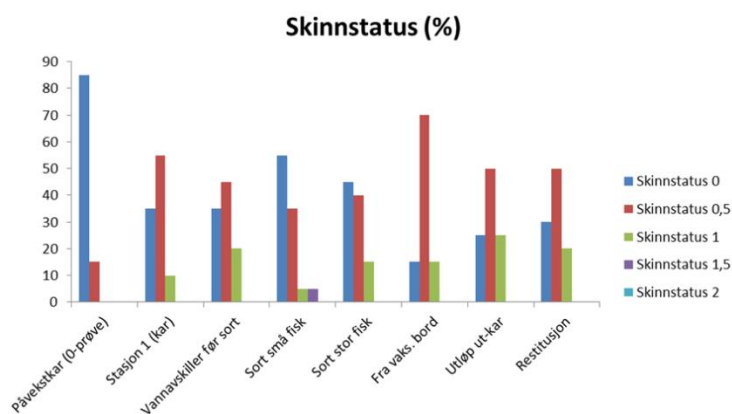
Figur 57 Nivåer av laktat og glukose (mmol/l) (N = 20). Bildet viser applisering av blod i LaktatPro.

Kortisol (Figur 58) viser ingen signifikante forskjeller mellom uttaksstasjonene. Det er allikevel et klart mønster der cortisol øker til sortering for så å avta. Det antas at lite antall (4 plasmaprøver per stasjon) og store standardavvik gjør at forskjellene ikke er signifikante.



Figur 58 Måling av cortisol (nmol/l).

Skinstatus (Figur 59) var jevnt over veldig bra for denne fisken. 45 % av all fisk havnet på en gjennomsnittsskår på 0,5. Dette betyr at de fleste er uten skinnlyter, men at det allikevel er noen få som viser tegn som gjør at de ikke er helt perfekt. 40 % har fått skåren 0, mens ingen hadde skår 2 som er alvorlige skinnskader. I påvekstskaret (0-prøven) er det 80 % med skår 0, mens utover prosessen er det flere fisk med skår 0,5 – 1,5.



Figur 59 Skinstatus (%) ble gitt en skår mellom 0 (ingen synlige skinnproblemer) og 2 (alvorlige skinnskader). Fisken på Smolten var jevnt over veldig fin.

#### 4.5.4 Konklusjon fra Åsen settefisk, Sævareid fiskeanlegg og Smolten

Det er gjennomgående for alle de tre anleggene at disse er velfungerende og ryddige. Det ble målt 30-dagers prestasjon for fisken vi fulgte på Åsen settefisk. Selv om uttaksfisken på Åsen var de med høyest målte fysiologisk stress var prestasjonen for disse 30 dager etter utsett god. Det er allikevel viktig å poengtere at god velferd i settefiskfasen går langt utover overlevelse i sjø, og på generelt grunnlag ønsker vi å vektlegge at det alltid er et mål å behandle fisken skånsomt under prosesser som sortering, vaksinerings og utsett slik at akkumulering av stress unngås. Det kan tyde på at trenging er den faktor som stresser mest.

#### 4.6 Vurdering av nytteverdi for næringen

Tilbakemeldinger fra prosjektets styringsgruppe og vurdering opp mot nytteverdien som ble skissert i forkant av prosjektet (Kap. 2.2) kan oppsummeres i følgende punkter:

- Prosjektet gjennomførte flere kontrollerte forsøk som ikke er standard operasjonell prosedyre på de fleste anlegg. Forsøkene ble utført for å selekttere enkelt parametere av trenging og pumping og se på effekten av disse, samt å skape ekstremverdier for å se på effekter. Styringsgruppa mener denne fremgangsmåten gir en nyttig innsikt i hva enkelt faktorer kan bety for prestasjon og velferd, og å øke bevisstheten.
- Styringsgruppa mener også at blandingen av å kjøre kontrollerte forsøk samtidig med å overvåke prosesser på reelle anlegg var nyttig. De tre anlegg som ble testet i dette prosjektet håndterte fisken uten alvorlige skader. Uhell og uvørenhet kan imidlertid forekomme, og prosjektet viser hva slike insidenser kan resultere i.
- Styringsgruppa er til dels enig i prosjektgruppas tanker om at de kommersielle besøkene utført i prosjektet viser at det er nyttig å følge prosesser ved anleggene og ta prøver av fisk underveis for å få en oversikt over prosessene og eventuelt hvor det er flaskehals og forbedringspotensial. Analysemetodene, spesielt av laktat og glukose, kan utføres på særdeles enkle måter, og kan godt gjøres av anleggene selv. Tolkning av enkelte resultater og utførelse av andre analyser, eks av kortisol kan med fordel gjøres i samråd med forskningsmiljøer.



- Det skisserte svinntapet i kapittel 2.2 var kalkulert fra beregnet tapt slakteverdi på svinnfisken i tillegg til nedklassifisering ved slakt. Informasjon fra styringsgruppa klargjorde imidlertid at det er mer riktig å beregne svinntapet fra reell produksjonskostnad, det vil si at det økonomiske tapet blir den kostnad man har hatt av å drive fisken fra inkubering til død. Dersom fisken dør tidlig i livssyklusen er tapt økonomi begrenset, og biomassen tas igjen i sjø slik at MTB allikevel nås. En annen konsekvens av denne praksisen er at mange kalkulerer med et svinn på eks 5-10%, og kjøper dermed tilsvarende mer yngel. Denne praksisen setter igjen spørsmålstegn ved det etiske. Ved å tillate svinn ettersom man ikke anser det økonomiske tapet som stort nok tar man ikke svinn på grunn av håndtering og dårlig velferd på alvor, og man tillater unødig stressbelastning. Dette er i kontrast til den økte bevisstheten blant forbrukerne og deres krav om at næringen må sette fokus på flere problemstillinger i oppdrett, deriblant svinn. Det må poengteres på det sterkeste at denne praksis ikke applauderes av styringsgruppen, men at det er en konsekvent av dagens lovverk.
- I forsøk utført i prosjektet har vi vist at stressbelastningen øker med økt trengetid, og at gjentatt håndtering har negative effekter både på kort og lang sikt. Disse resultatene er med på å bekrefte og kvantifisere næringens egne betraktninger (arbeidspakke 1), om at pumping skader mens trenging stresser mer, og at både trenging og pumping er noen av flere håndteringsfaktorer som de mener er store utfordringer for settefiskproduksjonen.
- Styringsgruppa mener at man bør undersøke problematikken med sedering ytterligere, og inkludere brønnbåttransport. De ønsker ikke en gjentakelse av STRESSPUMP 2, men resultatene fra dette forsøket tilsier at man bør undersøke hvorvidt en utstrakt bruk av sedasjon er uheldig for fiskens prestasjon. Istedenfor å bedrive overdreven sedasjon er det bedre å sette mer fokus på skånsom håndtering.

## 5 Leveranser

Fra kontrakten for prosjektet er det avtalt følgende leveranser:

1. 15. juni 2012: Presentasjon på samling.
  - a. Espmark Å. Pumping og håndtering av laks. Trondheim april 2012.
2. 1. juli 2012: Faktaark arbeidspakke 2.
  - a. Se vedlegg 2.
3. 15. Juni 2013: Presentasjon på samling.
  - a. Espmark Å. Pumping av smolt og overlevelse i sjøfasen. Værnes, oktober 2013.
4. 1. juli 2013: Faktaark nr 2.
  - a. Norsk Fiskeoppdrett, se vedlegg 3.
5. 31. Desember 2013: Faktainformasjon arbeidspakke 3.
  - a. I samråd med FHF koordinator ble det bestemt å utsette denne til sluttrapport. Se kapittel 4.3 og vedlegg 4.
6. 31. mai 2014: Sluttrapport.
  - a. På grunn av senere oppstart av prosjektet ble det i samråd med FHF koordinator bestemt å utsette denne til 31. desember 2014.
7. 15. juni 2014: Presentasjon samling.
  - a. Ettersom prosjektets tematikk ikke passet til denne samling ble det i samråd med FHF koordinator bestemt at denne presentasjonen kunne erstattes av presentasjon holdt under EAS konferansen i San Sebastian:
    - i. Espmark Å, Kolarevic J, Aas-Hansen Ø, Nilsson J. Performance in sea of Atlantic salmon exposed to crowding and pumping during presmolt phase. San Sebastian, EAS October 2014.



## 6 Konklusjon

Prosjektet "Pumping og håndtering av smolt" består av en blanding av kontrollerte forsøk, og uttak fra prosesser der håndtering er involvert ved kommersielle anlegg. De kontrollerte forsøkene var designet til å selekttere enkeltfaktorer med håndtering og undersøke effekten av disse. Fra de kontrollerte forsøkene kan noen sentrale resultater trekkes fram. Vi har vist at skjelltap øker proporsjonalt med økende pumpehastighet ( $0,9 \text{ m/s} < 1,4 \text{ m/s} < 2,3 \text{ m/s}$ ). Vi har også vist at fisken ble stresset av trengingen de ble utsatt for i forsøkene og at denne trenging i tillegg førte til skjelltap. Smolten skal leve lenge og prestere også etter trenging, så den stressituasjonen og de skinnproblemene fisken opplever kan få følger for fisken lenge etter påvirkningen. Trenging bør være skånsom, men samtidig effektiv. Resultatene fra dette prosjektet belyser også at trengetid betyr noe, og at man bør finne en god balanse mellom det å trenge lenge med lavere tetthet og kort med større tetthet.

På anleggene er det vanlig at man håndterer fisken flere ganger i løpet av eks en vaksinasjonsprosess. Det var dette som var bakgrunnen for STRESSPUMP 1 og 2. I disse forsøkene ble fisken utsatt for grader av håndtering som ikke ofte forekommer på anlegg. Men de belyser ekstremtilfeller og hva disse kan føre til. Disse forsøkene viser at både enkelttilfeller og gjentatt håndtering stresser fisken, både på kort og lang sikt. Også gjentatt trenging og pumping gir skinnskader som i dette tilfellet førte til økt dødelighet. Behandlingen som fisken fikk i SP 1 og 2 førte til dårligere osmoregulering, og dette påvirket fisken senere i livet etter sjøutsett. I SP2 førte gjentatt sedering med Aqui-S til en betydelig økt dødelighet. Videre undersøkelser må til for å stadfeste om denne dødeligheten kan skyldes at sedering hemmer osmoreguleringen eller gjør at fisken blir dårligere rustet til videre håndtering. Dette resultatet tilsammen med resultat fra SP1 der kontrollfisk også døde i stor grad, kan tyde på at en viss håndtering, men uten at dette skader fisken, fører til en mer robust fisk som i større grad tolererer den håndtering den blir utsatt for ved overføring til sjø.

Vi ønsker å poengtere at ved evaluering av effekter av håndteringsstress bør det ikke ensides fokuseres på dødelighet. Stressrespons og skinnproblematikk vil ha stor negativ betydning for fiskens velferd og prestasjon utover dødelighet og må tas på alvor. Vi foreslår at skinnproblematikk forårsaket av håndtering blir et videre satsningsområde i FHF slik at man får en dypere forståelse for konsekvenser og årsaksfaktorer. Det er i alles interesse at omdømmet til oppdrettsnæringen blant forbrukerne øker. Svinproblematikk og fisk som ser syk og skadet ut er ikke med på å forbedre omdømmet.

De tre kommersielle anleggene vi besøkte og tok prøver fra viste at den håndtering som fiskene her ble utsatt for ikke resulterte i alvorlige skader eller alvorlig og skadelig stress. Ved å følge prosessene ved anlegg får man viktig informasjon om fiskens velferdsstatus og hvor det eventuelt finnes flaskehalser og forbedringspotensialer.

Dette prosjektet har konsentrert sine aktiviteter på gjennomstrømsanlegg og presmolt. Mye tyder på at RAS og lukkede/semilukkede anlegg vil dominere settefiskproduksjonen i fremtiden, og at oppdrett av stor smolt i kar blir vanlig. Det er lite som tyder på at det blir mindre håndtering i de nye anleggene og stor smolt kan være like eller mer følsom for håndtering enn mindre smolt. Det er også mulig at de grenseverdiene vi har presentert i arbeidspakke 3 vil se annerledes ut under andre produksjonsmetoder.

## 7 Referanser

- Acerete L., Balach J.C., Espinosa E., Josa A., Tort L. 2004. Physiological responses in Eurasian perch *Perca fluviatilis* L. subjected to stress by transport and handling. *Aquaculture* 237, 167-178.
- Akse L., Tobiassen T., Halsebakke H. 2002. Tykkfiskbein i torskefilet, antall, plassering, dimensjoner, trekraft og bruddstykke. Fiskeriforskningsrapport nr 15/2002.
- Akse L., Tobiassen T., Martinsen G. 2011. Pre-rigor injeksjonssalting av laksefilet- Krymping avhengig av tid *post mortem* før filetering og salting. Trekkraft for å løsne tykkfiskbein før og etter salting pre-rigor. Nofima rapport nr 8/2011.
- Basrur T.V., Longland R., Wilkinson R.J. 2010. Effects of repeated crowding on the stress response and growth performance in Atlantic salmon *Salmo salar*. *Fish Physiology and Biochemistry* 36, 445 – 450.
- Carey J.B., McCormick S.D. 1998. Atlantic salmon smolt are more responsive to an acute handling and confinement stress than parr. *Aquaculture* 168, 237 – 253.
- Cooke S.J., Suski C.D., Ostrand K.G., Tufts B.L., Wahl D.H. 2004. Behavioural and physiological assessment of low concentrations of clove oil anesthetic for handling and transporting largemouth bass *Micropterus salmoides*. *Aquaculture* 239, 509-529.
- Davis K.B., Griffin B.R. 2004. Physiological responses of hybrid striped bass under sedation by several anesthetics. *Aquaculture* 233, 531-548
- Esbaugh AJ, Kristensen T, Takle H, Grosell M. 2014. The effects of sustained aerobic swimming on osmoregulatory pathways in Atlantic salmon *Salmo salar* smolts. *Journal of fish biology* 85, 1355-1368.
- Espmark Å., Humborstad O.B., Midling K. 2011. Pumping av torsk og laks, faktorer som påvirker velferd og kvalitet. Nofima rapport 6/2012.
- Fivelatd S. and Binde M. 1994. Effects of reduces waterflow (increased loading) in soft water on Atlantic salmon smolts *Salmo salar* L. while maintaining oxygen at constant level by oxygenation of the inlet water. *Aquatic engineering* 13, 211 – 218, doi: 10.1016/0144-8609(94)90004-3.
- Gadomski A.D., Mesa M.G., Olson T.M. 1994. Vulnerability to predations and physiological stress responses of experimentally descaled juvenile Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. *Environmental Biology of Fishes* 39, 191-199
- Iversen M., Eliassen R.A. 2009. The effect of Aquil-S sedation on primary, secondary, and tertiary stress responses during salmon smolt *Salmo salar* L., transport and transfer to sea. *Journal of the World Aquaculture Society* 40, 216-225
- Iversen M., Eliassen R.A. 2014. The effect of allostatic load on hypothalamic-pituitary-interrenal (HPI) axis before and after secondary vaccination in Atlantic salmon postsmolts *Salmo salar* L. *Fish Physiology and Biochemistry* 40, 527 – 530.
- Iversen M., Eliassen R.A., Finstad B. 2009. Potential benefit of clove oil sedation on animal welfare during salmon smolt, *Salmo salar* L. transport and transfer to sea. *Aquaculture Research* 40, 233-241.
- Iversen M., Finstad B., McKinley R.S., Eliassen R.A., Carlsen K.T., Evjen T. 2005. Stress responses in Atlantic salmon *Salmo salar* smolts during commercial well boat transport, and effects on survival after transfer to sea. *Aquaculture* 243, 373-382.
- Iversen M., Finstad B., Nilssen, K.J. 1998. Recovery from loading and transport stress in Atlantic salmon *Salmo salar* smolts. *Aquaculture* 168, 387-394.

- Lee S.J., Yokoyama H., Ogawa K. 2004. Modes of transmission of *Glugea plecoglossi* (Microspora) via the skin and digestive tract in an experimental infection model using rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases* 27, 435-444
- Nomura M., Sloman K.A., von Keyserlingk M.A.G., Farrell A.P. 2009. Physiology and behavior of Atlantic salmon *Salmo salar* smolt during commercial land and sea transport. *Physiology and Behaviour* 96, 233-243.
- Olsen R.E., Oppedal F., Tenningen M., Vold A. 2012. Physiological response and mortality caused by scale loss in Atlantic herring. *Fisheries Research* 129, 21-27.
- Pankhurst N.W., Ludke S.L., King H.R., Peter R.E. 2008. The relationship between acute stress, food intake, endocrine status and life history stage in juvenile farmed Atlantic salmon *Salmo salar*. *Aquaculture* 275, 311 – 318.
- Sammouth S., d'Orbcastel M.R., Gasset E., Lamarie G., Breuil G., Marino G., Coeurdacier J., Fivelstad S., Blancheton J. 2009. The effect of density on sea bass *Dicentrarchus labrax* performance in a tank-based recirculating system. *Aquaculture Engineering* 40, 72-78.
- Sadler J., Pankhurst N.W., Pankhurst P.M., King H. 2000. Physiological stress responses to confinement in diploid and triploid Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology* 56, 506 – 518.
- Schreck C.B., Patino R., Pring C.K., Winton J.R., Holway J.E. 1985. Effect of rearing density on indices of smoltification and performance of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Aquaculture* 45: 345-358.
- Smith P.A., Pizarro P., Ojeda P., Contreras J., Oyanedel S., Larensas J. 1999. Routes of entry of *Piscirickettsia* salmonids in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Diseases of Aquatic Organisms* 37, 165-172.
- Veiseth E., Fjæra S.O., Bjerkeng B., Skjervold P.O., 2006. Accelerated recovery of Atlantic salmon *Salmo salar* from effects of crowding by swimming. *Comparative Biochemistry and Physiology*, B. 144, 351-358.
- Zahl I.H., Kiessling A., Samuelsen O.B., Olsen R.E. 2010. Anesthesia induces stress in Atlantic salmon *Salmo salar*, Atlantic cod *Gadus morhua* and Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. *Fish Physiology and Biochemistry* 36, 719-730
- Zydlewski J., Zydlewski G., Danner G.R. 2010. Descaling injury impairs osmoregulatory ability of Atlantic salmon smolt entering seawater. *Transactions of the American Fisheries Society* 139, 129-136

## Vedlegg

### Vedlegg 1: Spørreundersøkelse til arbeidspakke 1



Til  
Rette vedkommende

#### **Invitasjon til å delta på spørreundersøkelse – Kartlegging av utfordringer med pumping og annen håndtering av laksesmolt**

I forbindelse med FHF prosjektet "Pumping og håndtering av smolt" gjennomfører Nofima en spørreundersøkelse blant settefiskprodusenter i hele Norge. Prosjektet har følgende hovedmål:

Redusere skader og øke velferd hos smolt som blir pumpet og håndtert samt å forhindre at det oppstår senskader som følge av røff behandling tidligere i livet.

Hensikten med spørreundersøkelsen er å kartlegge settefiskprodusenter sine oppfatninger av omfang, årsaker til og konsekvenser av pumping og håndtering av smolt, og hvordan dette kan påvirke fisken sine prestasjoner etter sjøutsett. Vi ønsker å poengtere at de svarene du/dere gir ikke trenger å være fra egen bedrift, men at vi her er ute etter hva du/dere mener på generelt grunnlag.

Vedlagte spørreskjema består av to deler, der første del spør etter basisinformasjon om bedriften din/deres. Andre del tar for seg selve spørreundersøkelsen. Vi forsikrer om at informasjonen om bedriften kun er til statistisk bruk for prosjektet og vil ikke offentliggjøres. Alle skjema blir destruert etter prosjektavslutning.

Eventuelle spørsmål kan rettes til Åsa Espmark (se kontaktinformasjon nedenfor)

Utfylt spørreskjema sendes tilbake til prosjektleder:  
Åsa Maria Espmark  
Nofima  
6600 Sunndalsøra

Takk for deltakelsen!

Med vennlig hilsen  
Åsa Maria Espmark  
Tlf: 93 41 78 82 e-post: [asa.espmark@nofima.no](mailto:asa.espmark@nofima.no)

## SPØRRESKJEMA

### Bakgrunnsinformasjon om bedriften:

Bedriftens navn og lokalitet: \_\_\_\_\_

Antall smolt satt ut per år (ca): \_\_\_\_\_

Fiskestamme brukt: \_\_\_\_\_

Har lokaliteten eget klekkeri? **Ja/Nei** (stryk det som ikke passer). Om **Nei**, hvor stor er fisken når den ankommer anlegget? \_\_\_\_\_

Hvor mange ganger håndteres parr/smolt på lokaliteten (trenges, pumpes, håves, vaksineres, veies, sorteres) (etter startfôring, eller etter at fisken ankommer anlegget om dette er senere enn startfôring)? \_\_\_\_\_

Hvor ofte mottar ansatte opplæring av prosedyrer og utstyr (Aldri, en gang pr år, flere ganger pr år, ved behov)? \_\_\_\_\_  
Går smolten på fersk- eller sjøvann ved utsett? \_\_\_\_\_

### Pumping og håndtering – dine/deres meninger om følgende spørsmål:

Spørsmål:	Svar:
Er skader og/eller stress hos fisken et problem i settefiskproduksjonen?	
Hvilke installasjoner forårsaker skader/stress?	
Hvilke håndtering forårsaker skader/stress (trenging, pumping, håving, vaksinerer, veiing, sortering)?	
Hvilke skader observeres, og hvor på fisken?	
Når oppstår skadene/stresset (fiskestørrelse, årstid, når i prosessen)?	
Mener du/dere at de skader fisken får/stress fisken opplever i settefiskfasen påvirker overlevelse og prestasjon i sjøfasen?	
Hva anser du/dere er de største utfordringene mhp håndtering av settefisk?	

## Vedlegg 2. FHF faktaark nr 1 «Trengetid påvirker smoltens velferd» Juli 2012

(Finnes på nett. Følg linken: <http://www.fhf.no/prosjektdetaljer/?projectNumber=900660>)


**KONTAKTPERSONER VED NORFIMA AS**

**Åsa Maria Espmark**  
Forsker  
E-mail: asa.espmark@norfima.no

**KONTAKTPERSON VED FHF**

**Kristian Prytz**  
Faglig leder  
Industriutrustning, Helsebruk  
Telefon: (+47) 99 58 53 87  
E-mail: kristian.prytz@fhf.no  
[www.fhf.no](http://www.fhf.no)

For mer informasjon, se [www.fhf.no](http://www.fhf.no),  
prosjekt nummer 900660.



### Trengetid påvirker smoltens velferd

I prosjektet «pumping og håndtering av smolt» har et forsker ved Norfima sin forskningsstasjon på Sunndalsøra vist at trening av smolt påfører fisken stress. Forsøket viste videre at trengetid på tre timer stresser smolten mer enn trengetid på en time.


Hensikten med forsøket var å simulere en kommersiell treningsituasjon, der fisk under standardiserte forhold ble trent i en eller tre timer. Trening ble gjennomført ved å senke vannnivå i karene (Fig. 1). Etter endt trening ble vannnivået hevet igjen. Kontinuerlig vannstrøm sikret oksygen under trening. Under maksimal trening var tetthet i karene 311±5,7 kg/m<sup>3</sup>. Et annet mål var å se på progresjon av målevariablene over tid. Det ble derfor benyttet separate kar for lang og kort trengetid; og uttak av blodprøver rett etter treningsstopp (T1), to timer etter endt trening (T2), seks timer etter endt trening (T3), og 20 timer etter endt trening (T4). Hensikten med å benytte separate kar for T1-T4 var å unngå repeterende stress på fisk.




**FHF**

Fisken og havbruksnærings forskningsfond (FHF) er nærings og velstand for næringsskuttet i Norge. Organisasjonen er et sivilrettet lag som har til formål å støtte og hjelpe til med forskning og utvikling i havbruksnæringen og Norge som verdens ledende sjømatnæring.

Fiskerit og havbruksnærings forskningsfond (FHF)  
Universitetsgata 10  
Postboks 4071 St. Olavs plass  
0106 Oslo

TE: 23 89 64 00  
E-post: [Post@fhf.no](mailto:Post@fhf.no)  
[www.fhf.no](http://www.fhf.no)



I forsøket var det ønskelig å kvantifisere skjelltap som følge av trening. Dette ble gjort ved å plassere hører i utløp (Fig. 2). Hørene samlet opp skjell i en time etter treningsstopp, det er dermed ingen forskjell på lang og kort trening. Innholdet i hørene ble tørt over på forhåndsveide gasbrennstoff. Alt overflødig vann ble fjernet før duken på nytt ble veid.

Fra hvert kar ble det tatt ut 15 fisk som ble avlivet med slag og tatt blodprøve av. Hæblod ble analysert for blodgasser, pH, glukose og laktat.



Figure 1. Forsøket ble utført med et utløp i tanken i utløp.



Figure 2. Oppsamling av skjell med et fiske i utløp.

### Resultat og diskusjon

Det var en klar effekt av trening på mengde skjelltap (Fig. 3). Alle 4 kontrollkarene hadde langt lavere skjelltap enn noen av de trenge karene. Dette tyder på at trening i seg selv, uten at fisken berøres, forårsaker tap av fisk.

### Skjelltap (g)

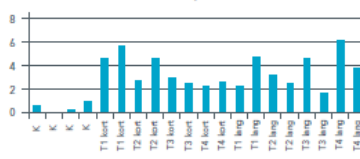


Figure 4 viser blodverdier fra hælblod. Verdierne fra pCO<sub>2</sub>, TCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub> og pH viser effekt av trengetid. Lang trengetid har forårsaket økning i pCO<sub>2</sub>, TCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub> og pH verdier av pH ved T1 lang (prøve tatt umiddelbart etter tre timers treningsstopp). Dette tyder på forsøket blod. Verdierne har imidlertid returnert til kontrollverdier to timer etter treningsstopp. For kort trengetid (en time) ser en ikke dette forløpet.

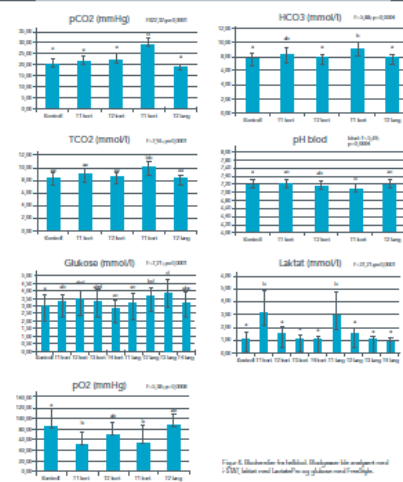


Figure 4. Blodverdier fra hælblod. Blodprøve ble analysert med i 2001. Blodet ble analysert for pH og glukose og laktat.

### **Vedlegg 3. Espmark Å, Aas-Hansen Ø, Kolarevic J, Midling K, Chris Noble, Nilsson J. Gode driftsrutiner reduserer tapet. Norsk Fiskeoppdrett nr 9, september 2013**

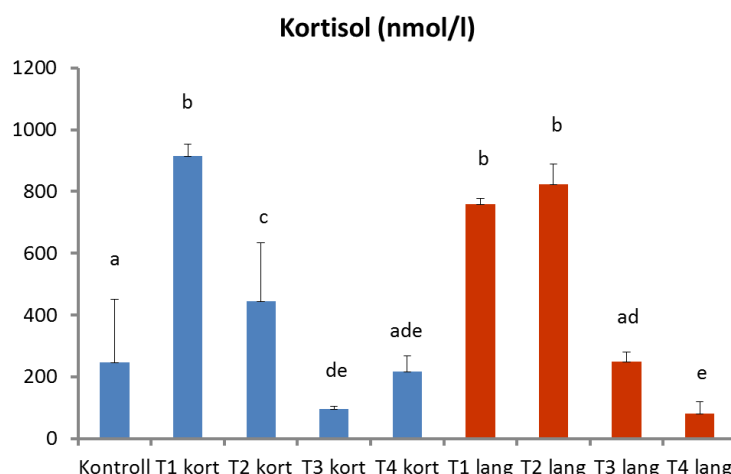
#### **Gode driftsrutiner reduserer tapet**

Åsa Maria Espmark, Øyvind Aas-Hansen, Jelena Kolarevic, Kjell Midling, Chris Noble (Nofima), og Jonatan Nilsson (HI)

**Forsøk ved Nofima med håndtering av smolt viser at håndtering øker graden av stress, reduserer grad av smoltifisering og øker faren for skjelltap og skader med de negative følgene dette har etter sjøutsett. Men tallene tyder også på at en viss grad av skånsom håndtering kan virke positivt på smolten ved at den vennes til håndtering og dermed takler overføring til sjø bedre.**

En stor andel sjøsatt smolt går tapt før den når slakteferdig størrelse. Myndighetene har meldt fra om at dagens rapporterte tall over svinn ikke er bærekraftig, og dermed uakseptabelt over tid. Utfordringen for forskerne blir å finne årsaken til svinn slik at vi sammen med næringen kan forbedre tallene. Ved Nofima jobber vi utfra hypotesen om at mye av svinn skyldes multifaktorielle årsakssammenhenger mellom faktorer som fisken blir eksponert ovenfor i settefiskfasen. I løpet av ferskvannsfasen blir smolt utsatt for gjentatt håndtering i form av trenging, pumping, sortering, vaksinerings, transport etc. Denne gjentatte og røffe behandlingen av sensitiv smolt kan føre til mindre robust fisk som er lite motstandsdyktig ovenfor infeksjoner og sykdom senere i livet.

Ved Nofima jobber vi med en systematisk undersøkelse av noen håndteringsfaktorer som kan ha innvirkning på fisken sin prestasjon i sjøfasen. Vi ser i hovedsak på trenging og pumping, isolerte trengfaktorer og pumpefaktorer, gjentatt håndtering samt langtids og korttidseffekter av disse. I kartleggingen av svinn i næringen er det store sprik i tallene; mens noen rapporterer store tapstall er det andre som nesten ikke opplever problemet. Vi har besøkt anlegg der vi har målt fysiologisk stress hos fisk hele veien fra før trenging til uttak bra båt/bil før uttransportering til sjø. Vi ser ofte økende nivåer av stressvariable (eks kortisol, laktat og glukose) utover denne prosessen, men tall så langt kan tyde på at et høyt stressnivå i seg selv ikke er nok til å utløse seneffekter etter sjøutsett som økt dødelighet.

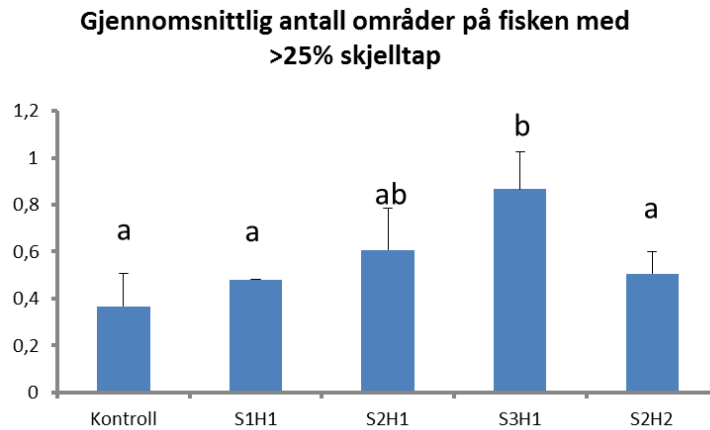


**Figur 1** Utvikling av kortisol etter trening i 1 time (kort) og etter trening i 3 timer (lang). Blodprøver for kortisolanalyser ble tatt ut rett etter trening (T1), to timer etter trening (T2), seks timer etter trening (T3), og 20 timer etter trening (T4). Ulike bokstaver over stolpene betyr at de er statistisk forskjellig fra hverandre. Kontrollgruppen er ikke trengt og fungerer som kontroll både for lang og kort trening.

Ved Nofima sin forskningsstasjon på Sunndalsøra har vi utført flere kontrollerte forsøk med trening. Formålet med disse forsøkene har vært å se på effekter av ulike faktorer med trening som ulike trengetettheter og ulike trengetider. I et forsøk ønsket vi å se på effekten av ulik trengetid på utvikling av stressrespons og skjelltap. Formålet var å studere sammenhengen mellom trening ( $300 \text{ kg/m}^3$ ), stress og skjelltap, noe som kan ha en langtidseffekt på prestasjon. Vi brukte kort trengetid (=1 time) og lang trengetid (= 3 timer). Vi ønsket også å se på utviklingen av de målte variablene over tid. Målinger av kortisol (Fig. 1) og glukose bekreftet at stressresponsen holder seg høy over lengre tid ved 3 timer trening i motsetning til 1 time. I samme forsøk samlet vi opp skjelltapet i håv under avløpet på karene. Vi tørket innholdet i håvene over natt og veide innholdet dagen etter. Resultatet viste at trening alene førte til 87% mer skjelltap sammenliknet med de gruppene som ikke var trengt. Dette forteller oss at skjelltapet kan være stort ved trening ved tettheter opp mot  $300 \text{ kg/m}^3$  som er vanlig praksis, og dette uten at fisken er håndtert på noen annen måte.

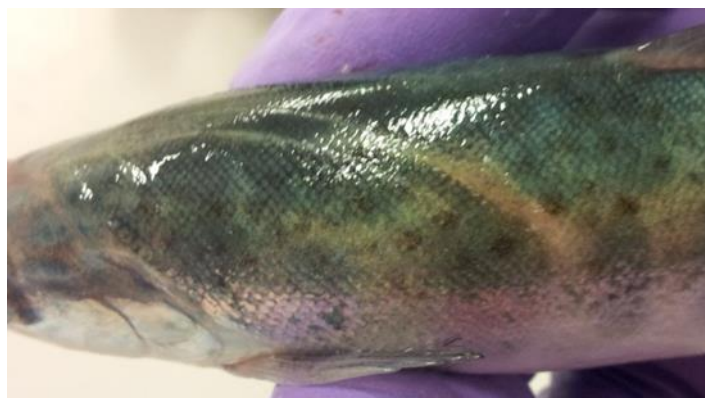
Som nevnt innledningsvis har vi også ansett pumping som en mulig utfordrende faktor i forhold til velferd og kvalitet. Vi har manipulert med en rekke pumpefaktorer som vakuum, pumpehøyde og pumpehastighet. I et nylig avsluttet eksperiment ved Havbruksstasjonen i Tromsø testet vi ut effekten av tre ulike pumpehastigheter (0,9 m/s, 1,4 m/s og 2,2 m/s), og to ulike pumpehøyder (169 cm og 487 cm). I likhet med et tidligere forsøk med ulike pumpehøyder kunne vi også her konkludere med at pumpehøyde, innenfor rimelighetens grenser, og slik det praktiseres i dag, sannsynligvis ikke medfører økt stress eller skade hos fisken. Det vi derimot så var at økt pumpehastighet medførte signifikant større skjelltap (Fig. 2), mulig på grunn av at økt pumpehastighet medfører mer fysisk kontakt mellom fisk og/eller mellom fisk og installasjon. Så langt ser det ikke ut til at stress alene forårsaker skjelltapet, men det gjenstår noen analyser før vi kan fastslå dette.





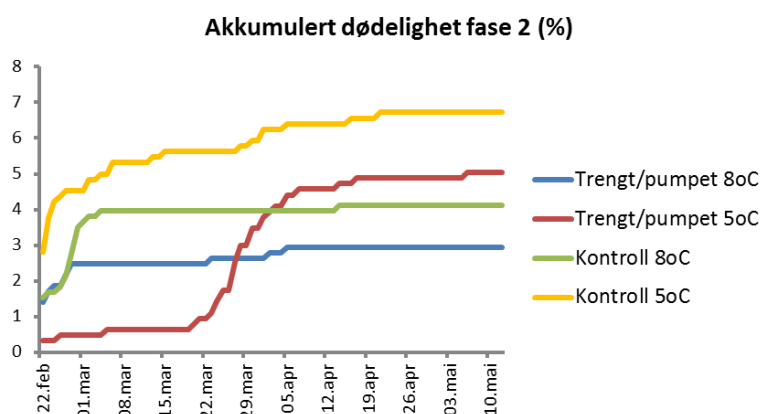
**Figur 2** Gjennomsnittlig antall områder på smolten med mer enn 25 % skjelltap. Smolten ble pumpet med en impeller- pumpe. Kontrollene ble ikke pumpet, S1H1 = hastighet 0,9 m/s + 169 cm høyde; S2H1 = hastighet 1,4 m/s + 169 cm høyde; S3H1 = hastighet 2,2 m/s + 169 cm høyde; S2H2 = hastighet 1,4 m/s + 487 cm høyde. Ulike bokstaver over stolpene betyr at de er statistisk forskjellig fra hverandre.

Så langt har vi sett på korttidseffekter av trenging og pumping, og sett at dette fører til økt stress og/eller skjelltap. Vil dette påvirke fisken på lengre sikt, etter sjøutsett, og eventuelt hvordan vil dette utvikle seg? For å få svar på noe av dette gjennomførte vi et langtidsforsøk der vi trengte og pumpet smolt en gang i uken over fem uker i ferskvannsfasen (fase 1), før de ble overført til saltvann i kontrollerte kar (fase 2). Metoden med gjentatt trenging og pumping ble valgt som en kontrollert modell for gjentatt håndtering. I saltvannsfasen som gikk over 84 dager ble alle gruppene fra ferskvannsfasen (fase 1) splittet i to og satt på to ulike temperaturer, 5°C og 8°C. Temperaturen i fase 1 (ferskvann) var 5,5°C. Før overgangen fra ferskvann til sjøvann utførte vi en sjøvanstest for å se på graden av smoltifisering. I ferskvannsfasen (fase 1) ble trenging gjennomført ved å senke vannivået, men ikke lengre ned enn at fisken kunne svømme fritt. Trengingen pågikk i tre timer før fisken ble pumpet over til et nabokar og så tilbake; en operasjon som tok ca 40 minutter. Fisken fikk synlige pumpemerker (Fig. 3). En gang per uke, etter hver trenging/pumping tok vi ut blodprøver av fisken og målte velferdsskår (skjelltap, sår, finneslitasje, katarakt, unormal farging). Analyser av kortisol, laktat og glukose bekreftet at fisken var stresset etter hver behandling. Også i dette forsøket er det velferdsskårene som gir de interessante resultatene. I ferskvannsfasen påvises skjelltap hos den trengte/pumpede fisken allerede etter andre uke, og frekvensen av fisker med skjelltap øker etter som trenging/pumping gjentas. Kontrollfisken opplevde skjelltap kun helt mot slutten av de fem ukene som fase 1 varte. Etter nesten tre måneder på sjøvann er det fortsatt skjelltap på både kontroll og trengt/pumpet fisk, men hos den trengte/pumpede fisken er det nå oppstått sår, og noen fisk satt ut på lav temperatur (5°C) er angrepet av katarakt.



Figur 3 Bildet viser en typisk pumpeskade på ryggsiden av smolten. Fisken ble pumpet med en impellerpumpe 6" (Foto. Åsa Espmark).

Analyser av plasma klorid og  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase aktivitet over gjellene etter sjøvannstesten viste også at trengt/pumpet fisk var dårligere smoltifisert enn kontrollene. Tall over akkumulert dødelighet viser tilnærmet ingen dødelighet i fase 1, noe som tyder på at fisken tålte trengingen og pumpingen i denne fasen. Selv om stressnivået var høyt i fase 1 så førte ikke dette til dødelighet på kort sikt. I saltvannsfase (fase 2) var dødeligheten derimot noe høyere (Fig. 4).



Figur 4 Akkumulert dødelighet i fase 2 (sjøvann). Fase 2 startet 22. februar og gikk i ca tre måneder. I fase 2 ble trengt/pumpet fisk og kontrollene fra fase 1 satt på to ulike temperaturer; 8°C og 5°C. Fisken ble ikke behandlet i fase 2.

Figur 4 viser at fisken som var trengt og pumpet en gang per uke over fem uker i ferskvann, og videre satt ut på sjøvann på 5°C opplevde en brå økning i dødelighet ca en måned etter sjøutsett. All død fisk ble fotograferert, og det viste seg at den døde fisken fra denne gruppa hadde store sår på ryggsiden. Vi ser sammenhengen mellom økt skjelltap hos den trengte/pumpede fisken i fersvannsfasen og utviklingen av sår i sjøvannsfasen. En videre systematisk undersøkelse av denne sammenhengen er påkrevd ettersom det er sannsynlig at disse sårene kan forårsake infeksjoner og dødelighet. Vi ønsker å minne om at vi utførte dette forsøket i kontrollerte kar og at en eventuell sjøsetting i merder kanskje ville medføre enda økt dødelighet på grunn av infeksjoner i sjøvann. En annen interessant observasjon fra figur 4 er at kontrollene som ble satt ut på 5°C i sjøvann viser økt dødelighet rett etter utsett. Disse kontrollene viser liten toleranse ved sjøsetting, selv om de i større grad var smoltifisert og dermed skulle være bedre tilpasset sjøvann. Det kan virke som om noe behandling, men uten at det forårsaker skader kan være fordelaktig og fungere som tilvenning før håndtering ved sjøutsett.

For å oppsummere så har vi påvist skjelltap på grunn av trenging alene, pumpehastighet og gjentatt trenging og pumping. Disse resultatene er delaktige i vår hypotesegiving om at skader i større grad enn stress alene påvirker fisken sin prestasjon på lang sikt, og at skader oppstår som et resultat av skjelltap og/eller slagskader. Stress vil allikevel påvirke fisken sin velferd negativt, og vi ønsker å presisere at vi her har jobbet med kortvarig stress og ikke kronisk stress. Vi har derimot påvist at kortvarig men gjentatt stress påvirker smoltifiseringsgraden negativt. Alle resultater omtalt i denne artikkelen kommer fra det FHF finansierte prosjektet «Pumping og håndtering av smolt».

## Vedlegg 4. Protokoll til arbeidspakke 3

*Tabell Grenseverdier for håndtering av smolt. Verdiene er anbefalte maksimum verdier og bør ikke overskrides selv under gjentatt håndtering.*

Stressfaktorer	Kortisol (nmol/l)	Laktat (mmol/l)	Glukose (mmol/l)
Trenging	300	5	5
Håving	300	5	5
Pumping	300	5	5
Transport	300	4	6
Sortering	300	4	5
Vaksinering	300	5	5

Prøvetaking og analyse:

1. Blodprøve kan tas på ulike måter:
    - a. Blod kan tas fra gjelle eller fra haleregionen rett ved sidelinjeorganet, under fettfinnen, rett etter avliving av fisken. Fisken kan også avlives med overdose av bedøvelsesmiddel (men merk at enkelte midler påvirker verdiene. Metomidat blokkerer kortisol). Verdiene vil avhenge noe av hvor på fisken blodet tas, slik at man bør være konsekvent. Ved prøvetaking på halen kan man fortrinnsvis bruke vakuutainere og hepariniserte rør. Da kan blodet stå lengre dersom man trenger flere analyser. Dersom man ønsker å analysere på plasma sentrifugeres blodet på 3000 omdreininger i 10 minutter. Plasma kan fryses på -20°C. Alle blodprøver bør tas rett etter avliving og ikke lengre enn 10 min etter død.
  2. Analyser av kortisol må gjøres fra plasma og må sendes til et laboratorium eller gjøres av personell som er autorisert for slike analyser.
  3. Laktat (melkesyre) kan måles med måleinstrumentene i-stat og LaktatPro fra helblod.
    - a. I-stat: Det finnes mange aktuelle kassetter, velg en som måler laktat. Merk at holdbarhetsdatoen på kassetten er kort, så dette er ikke lagringsvare. Ta en dråpe blod på kassetten, som forevist og les av. Dette tar ca 1 minutt.
- Bruerveiledning: <http://www.medinor.no/medinor7/frontend/mediabank/2/28422/NY-i-STAT1-short-user-guide-714254-01E-norsk.pdf>
- b. LaktatPro: Dette måleinstrumentet krever LaktatPro teststrips. En dråpe blod dryppes på teststrippen og avlesingen tar 1 minutt.
- Informasjon: <http://www.medinor.no/diagnostikk-reagenser/immunologi/reagens-aut-instr-immunologi/lactate-pro-laktatmatate-1>
4. Glukose kan måles med måleinstrumentet i-stat eller Freestyle fra helblod
    - a. I-stat: Det finnes mange aktuelle kassetter (eks CG8+), velg en som måler glukose. Merk at holdbarhetsdatoen på kassetten er kort, så dette er ikke lagringsvare. Ta en dråpe blod på kassetten, som forevist og les av. Dette tar ca 1 minutt.

- b. FreeStyle gir et mindre nøyaktig svar enn mer sofistikerte metoder, men for sammenlikning av fiskegrupper eller måling over tid gir dette enn rimelig pekepinn. Freestyle eller liknende finnes på apotek. Apparatet krever strips. Drypp en dråpe blod på stripsen og avlesingen tar få sekunder.



Figurer Prøvetaking med vakuutainers i haleregionen (øverst venstre). Applisering av blod i en LaktatPro (øverst høyre), FreeStyle til glukosemålinger og LaktatPro til laktat målinger

#### Anbefalinger:

1. Trenging: Treng fisker skånsomt. Trenging over tre timer gir en stressrespons som varer lengre enn kortere trenging. Unngå at tetthetene under trenging blir så store at fisken kommer i så stor grad borti hverandre at det blir sårskader. Trenging gir fort tettheter på 300-400 kg/m<sup>3</sup> og dette er belastende for fisken. Gjentatt trenging gir tydelig skjelltap og skader som kan øke dødelighet etter sjøsett.
2. Håving: I tillegg til stress vil også håving forårsake skinnskader som kan påvirke fisken negativt etter sjøutsett, avhengig av sårstørrelse og vannkvalitet
3. Pumping: Med riktig pumpe og rør av rett dimensjon og konstruksjon stresser pumping vanligvis fisken mindre enn eks trenging. Men skader oppstår ved gjentatt pumping, bruk av pumper som er beregnet for fisk som er mindre enn de som pumpes og ved feilkonstruksjon med kanter, ventiler og krappe bøyninger på røret. Skader kan være eks sår på siden av fisken. Disse sårene er ofte dødelige avhengig av sårstørrelse og vannkvalitet (eks smitte).



Figur Pumpeskade

4. Skjelltap øker med pumpehastighet ( $0,9 \text{ m/s} < 1,4 \text{ m/s} < 2,3 \text{ m/s}$ ).
5. Bruk av sedasjon under håndtering gjør fisken mindre stresset og anbefales ved situasjoner der det er forventet mye stress. Gjentatt og langvarig bruk av sedasjon bør gjøres med forsiktighet.

