

Tilsetningsstoffer i fôr til laks og regnbueørret

Sluttrapport FoU tillatelser SF HØ 25 og H B 46



Illustrasjon: Nofima

Nofima er et ledende matforskningsinstitutt som driver med forskning og utvikling for akvakulturnæringen, fiskerinæringen og matindustrien. Vi leverer internasjonal anerkjent forskning og løsninger som gir næringslivet konkurransefortrinn langs hele verdikjeden.

«Bærekraftig mat til alle» er vår visjon.

Kontaktinformasjon

Telefon: 77 62 90 00

post@nofima.no

www.nofima.no

NO 989 278 835 MVA



Hovedkontor Tromsø

Muninbakken 9–13

Postboks 6122

NO-9291 Tromsø



Stavanger

Måltidets hus

Richard Johnsenegate 4

Postboks 8034

NO-4068 Stavanger



Sunndalsøra

Sjølsengvegen 22

NO-6600 Sunndalsøra



Ås

Osloveien 1

Postboks 210

NO-1433 ÅS



Bergen

Kjerreidviken 16

Postboks 1425 Oasen

NO-5844 Bergen

Rapport

<i>Rapportnummer:</i> 6/2023	<i>ISBN:</i> 978-82-8296-741-9	<i>ISSN:</i> 1890-579X
<i>Dato:</i> 10. mars 2023	<i>Antall sider + sider vedlegg:</i> 19 + 0	<i>Prosjektnummer:</i> 12653
<i>Tittel:</i> Tilsetningsstoffer i fôr til laks og regnbueørret - Sluttrapport FoU tillatelser SF HØ 25 og H B 46		
<i>Title:</i> Additives i feed to Atlantic salmon and rainbow trout – Final report R&D licenses SF HØ 25 and H B 46		
<i>Forfatter(e):</i> André S Bogevik, Thomas Larsson og Bjarne Hatlen		
<i>Avdeling:</i> Ernæring og Fôrteknologi		
<i>Oppdragsgiver:</i> Aller Aqua AS		
<i>Eksternt prosjektnummer/Oppdragsgivers ref.:</i> FoU tillatelsene SF HØ 25 og H B 46		
<i>Stikkord:</i> Atlantisk laks; regnbueørret; tilsetningsstoffer; lakselus		
<i>Sammendrag:</i> Nofima har vært faglig ansvarlig for FoU tillatelsene SF HØ 25 og H B 46 til Aller Aqua. Målet til FoU tillatelsene har vært å teste tilsetningsstoffer i fôr for å styrke vekst og helse i laks og regnbueørret, og for å redusere påslag av lakselus. Mineralingrediensen Biofeed Forte og to planteekstrakter er testet. Forsøk på regnbueørret tildelt Biofeed Forte viste lavere lusetall, og gav grunnlag for å teste dette på laks også. I perioden 2017-2018 ble det gjennomført forsøk med laks der en sammenlignet Salmon Group fôr med Aller Aqua fôr tilsatt Biofeed Forte, samt forsøk i 2019 der en sammenlignet Aller Aqua fôr med og uten Biofeed Forte. Det ble ikke observert lavere lusetall hos fisk tildelt fôr fra Aller Aqua. Det kan skyldes at fôrbehandlingstiden ikke var tilstrekkelig. I tillegg, ulik fiskestørrelse i diettgruppene gjorde sammenligning mellom gruppene krevende. Videre har Aller Aqua testet to ulike planteekstrakter i fôr til laks, derav en fermentert ingrediens testet både i laks og regnbueørret. Forsøk på regnbueørret i 2021-2022 ble gjennomført i merder med laser og rensefisk som holdt lusetallene nede store deler av produksjonen, og ingen forskjeller i lusetall ble observert mellom diettgruppene. Forsøk med de to planteekstraktene i fôr til laks viste ingen effekter på lusetall. Forsøkene viser at ved lave lusetall pga. andre lusebehandlingstiltak som rensefisk, laser, avlusning skaper variasjon i data som gjør det krevende å isolere effekt av tilsetningsstoff i fôr mot lusepåslag på laks og ørret. En løsning for fremtidige forsøk kan være multifaktorielt design for å ta hensyn til alle lusebehandlingstiltak i et kontrollert og komplekst design. Alternativt tillatelse til å overskride lusegrense i periode for å teste fôr. Begge disse var utenfor mulighetsrommet i denne FoU-tillatelsen.		
<i>English summary:</i> Nofima have been involved in the research at R&D licenses SF HØ 25 og H B 46 own by Aller Aqua. The aim for the licenses has been to test additives in feeds for improved growth, health, and decrease sea lice level, in Atlantic salmon and rainbow trout. The mineral ingredient Biofeed Forte and 2 plant extracts have been tested. Trials with rainbow trout given feeds with Biofeed Forte showed reduced lice numbers compared to fish given a control diet. The ingredient was therefore further tested in feeds to Atlantic salmon. Trials were performed with Atlantic salmon comparing feeds with and without Biofeed Forte. Uneven fish sizes in the trials and limited access to the test feed was challenging for the trials. However, no differences in lice numbers were observed between the dietary group. Aller Aqua have furthermore tested two plant extract in feeds for Atlantic salmon, including a fermented product tested both in salmon and rainbow trout. Laser and cleaner fish were used in the cages with rainbow trout to maintain low lice numbers, and no dietary differences in lice numbers were observed. Furthermore, trials with Atlantic salmon given plant extracts have not shown effects on the lice numbers compared to control. Trials in the project have shown that variables should be limited and shorter trials without delousing and handling of the fish will give better evaluation of the effects of feeds on sea lice infestation level.		

Innhold

1	Innledning	1
2	Forsøk med regnbueørret FoU tillatelse SF HØ 25	2
2.1	Forsøk med Biofeed Forte (BF) i fôr til regnbueørret	2
2.2	Forsøk med planteekstrakter i fôr til regnbueørret	4
3	Forsøk med Atlantisk laks ved FoU tillatelsen H F 46	9
3.1	Forsøk med Atlantisk laks tildelt fôr med Biofeed Forte	9
3.2	Forsøk med Atlantisk laks tildelt fôr med planteekstrakt	13
4	Oppsummering	18
5	Referanser	19

1 Innledning

Nofima har vært faglig samarbeidspartner for Aller Aqua sine FoU-tillatelser fra 2013 og formelt faglig ansvarlig fra 2015, da med innføring av detaljerte forsøksplaner. Forsøk med fisk av ulik størrelse og opphav, samt bruk av ulike tiltak og behandlinger mot lus som har vært nødvendig for å overholde regelverk på lus, gjør at det er krevende å isolere og kvantifisere effekt av fôrbehandlingen i enkelte forsøk. Avvik fra forsøksprotokoll, særlig ved oppstart av samarbeidet, ift. kontrollgrupper og antall replikate merder per fôrbehandling fra utsett til slakt har innført usikkerhet i tolking av data i enkelte av forsøkene underveis i FoU tillatelsenes periode. Eksempel på vellykket tiltak som ble innført i løpet av FoU-tillatelsens periode var direkte dialog mellom oppdretter og faglig ansvarlig for å sikre daglig oppfølging av aktivitet og registreringer på anlegget i henhold til avtalt protokoll. Dette sikret fortløpende innsamling av registrerte data på dødelighet, vekter og lusetall hos faglig ansvarlig. I tillegg til rollen som faglig ansvarlig i FoU-tillatelsen har Nofima bearbeidet mottatt forsøksdata fra Aller Aqua og oppdretter, planlagt og gjennomført uttak i samarbeid med Aller Aqua og oppdretter og gjennomført kjemiske og statistiske analyser. Tabeller og figurer i denne sluttrapporten viser sentrale resultater fra de enkelte forsøkene som er gjennomført under FoU tillatelsene og tidligere publisert i Nofima rapporter fra de enkelte forsøkene.

Aller Aqua har i perioden 2017-2022 testet ulike tilsetningsstoffer i fôr til Atlantisk laks og regnbueørret under FoU tillatelsene H F 46 og SF HØ 25. Hovedfokuset har vært å studere effekter av tilsetningsstoffene i fôr på fiskens vekst, helse og lusesmitte. I perioden 2015-2020 har Aller Aqua Norge testet ut en ingrediens levert fra Biofeed. Dette er en kompleks mineralingrediens produsert av Pharmatech (Rolvøy, Norge). Kjemisk sammensetning er ikke kjent for Aller Aqua eller Nofima. Ingrediensleverandøren har utviklet ulike varianter av mineralingrediensen. Valg av mineralingrediens brukt kommersielt er valgt basert på dokumentert effekt fra forsøk ved Ilab (Bergen, Norge), der en har testet overlevelse i paralleller med 2 hannlus og 3 hunnlus i sjøvann med og uten 4 % Biofeed Forte. Forsøk har vist dødelighet på over 80 % av lusen ved bruk av varianter av Biofeed Forte brukt i kommersielle fôr. Ingrediensen er også testet i fôr til laks og regnbueørret i karforsøk med lusesmittet (Sveen m.fl. 2021). Denne ingrediensen ble brukt i to fôr med høyt innslag av marine ingredienser, basert på kommersielle formuleringer fra Aller Aqua. Det ene av disse fôrene hadde et forhøyet innhold av animalske ingredienser fra landdyr. I tillegg har Aller Aqua i perioden 2020-2022 testet to planteekstrakter i fôr til laks og ett i et forsøk med regnbueørret.

2 Forsøk med regnbueørret FoU tillatelse SF HØ 25

Det er gjennomført 2 forsøk med regnbueørret der en har fulgt fisk fra utsett til slakt og med replikate merder. Disse er presentert i Nofima rapportene K74/17 og K30/18 for forsøk ved Seamatech sitt anlegg ved Floteneset (Vadheim, Sogn og Fjordane) i 2017 og K53/22 for forsøk ved Engesund sitt anlegg ved Langøy (Solund, Sogn og Fjordane) i 2021-2022. I forsøket ved Engesund fiskeoppdrett ble kommersielle tillatelser brukt i tillegg til FoU-tillatelsen, for å dekke biomassebehovet i forsøket (Tabell 1).

Tabell 1 Forsøksoversikt SF HØ 25 2017 – 2022 med biomassetall (tonn), basert på snittvektmålinger av 100 fisk/merd

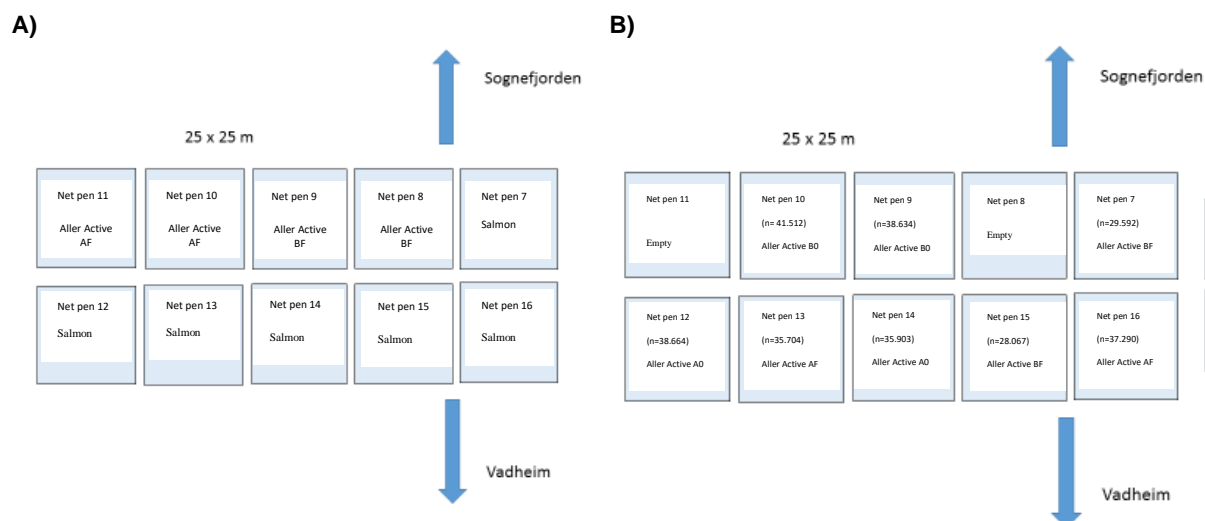
År	Lokalitet	Jan	Feb	Mar	Apr	Mai	Juni	Juli	Aug	Sept	Okt	Nov	Des
2017	Floteneset ¹	92	132	165	218	261	368	471	629	780			
2021	Langøy ²						373		831	1189		1305	1134
2022	Langøy ²	944	660	432	191								

¹⁾ 4 merder jan-mai 2017, deretter 8 merder. Dietter A0, AF, B0 og BF til duplikate merder

²⁾ 6 merder juni-des – fortsatte også inn i 2022. Dietter NP og NPM til duplikate merder

2.1 Forsøk med Biofeed Forte (BF) i fôr til regnbueørret

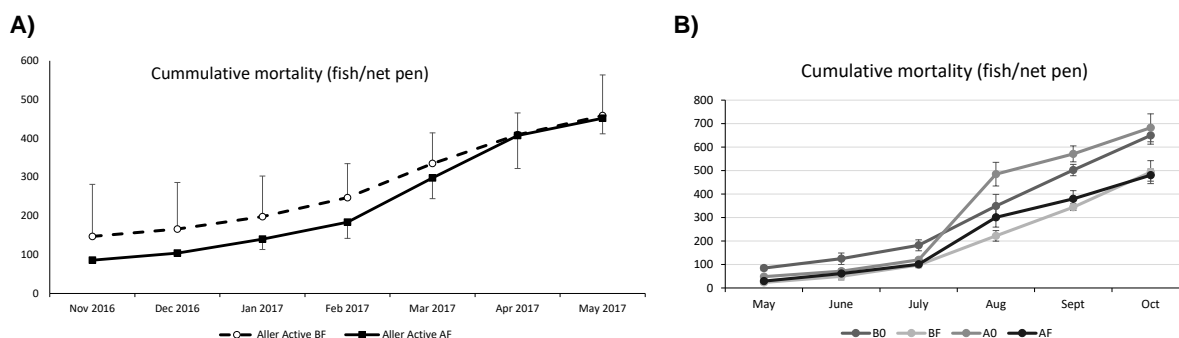
Regnbueørret ble satt ut i 4 merder (å 70.000) november 2016 ved Floteneset. De ble tildelt dietter med og uten Biofeed Forte og med og uten animalsk protein til duplikate merder, i perioden frem til mai 2017 (Figur 1A). Det var på dette tidspunktet også laks i anlegget som ble slaktet ut april 2017. Merdene med regnbueørret ble dermed fordelt i total 8 merder mai 2017. Disse ble tildelt dietter med en 2-faktoriell innblanding av enten Biofeed Forte (F) eller animalsk protein (A); i) Aller Active B0; kontrollfôr uten disse ingrediensene, ii) Aller Active BF; kontrollfôr med Biofeed Forte, iii) Aller Active A0; test-fôr med animalske protein, og iv) Aller Active AF; test-fôr med animalske protein og Biofeed Forte (Figur 1B).



Figur 1 Eksperimentelt design Floteneset 2016-2017

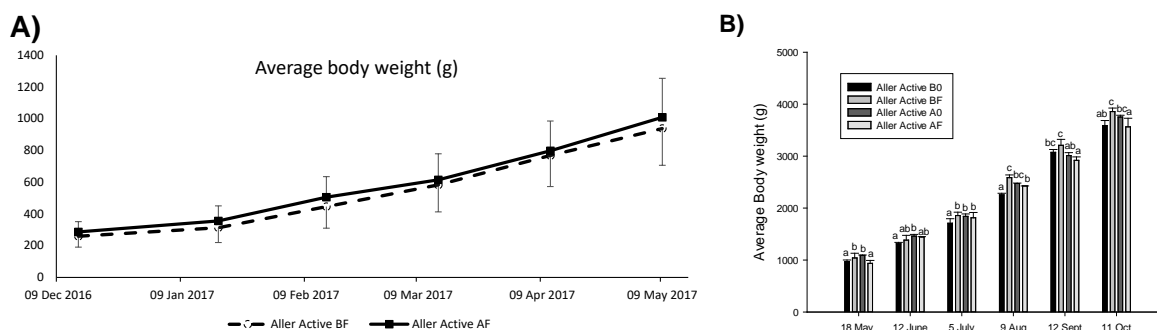
Det ble observert høy dødelighet like etter utsett i den ene av de to merdene tildelt Aller Active BF. Noe høyere dødelighet mars og april 2017 i merdene tildelt Aller Active AF førte til like dødelighetstall ved forsøkslutt av del 1, mai 2017 (Figur 2A). I perioden mai til oktober ble det observert generelt sett flere døde fisk i merdene tildelt kontrollfôr uten Biofeed Forte. Merdene tildelt animalsk protein viste høyere dødelighet juli-august 2017, særlig regnbueørret tildelt testfôr med animalske protein og uten Biofeed

Forte. Det kumulative antall døde fisk var signifikant høyere i merdene tildelt fôr uten Biofeed Forte mai-oktober 2017 (Figur 2B). Men dette kan forklares med forskjeller i antall fisk satt inn i hver merd (Figur 1). Dødelighet i prosent var ikke signifikant forskjellig mellom diettgruppene (snitt på 1,6 %) i forsøksperioden.



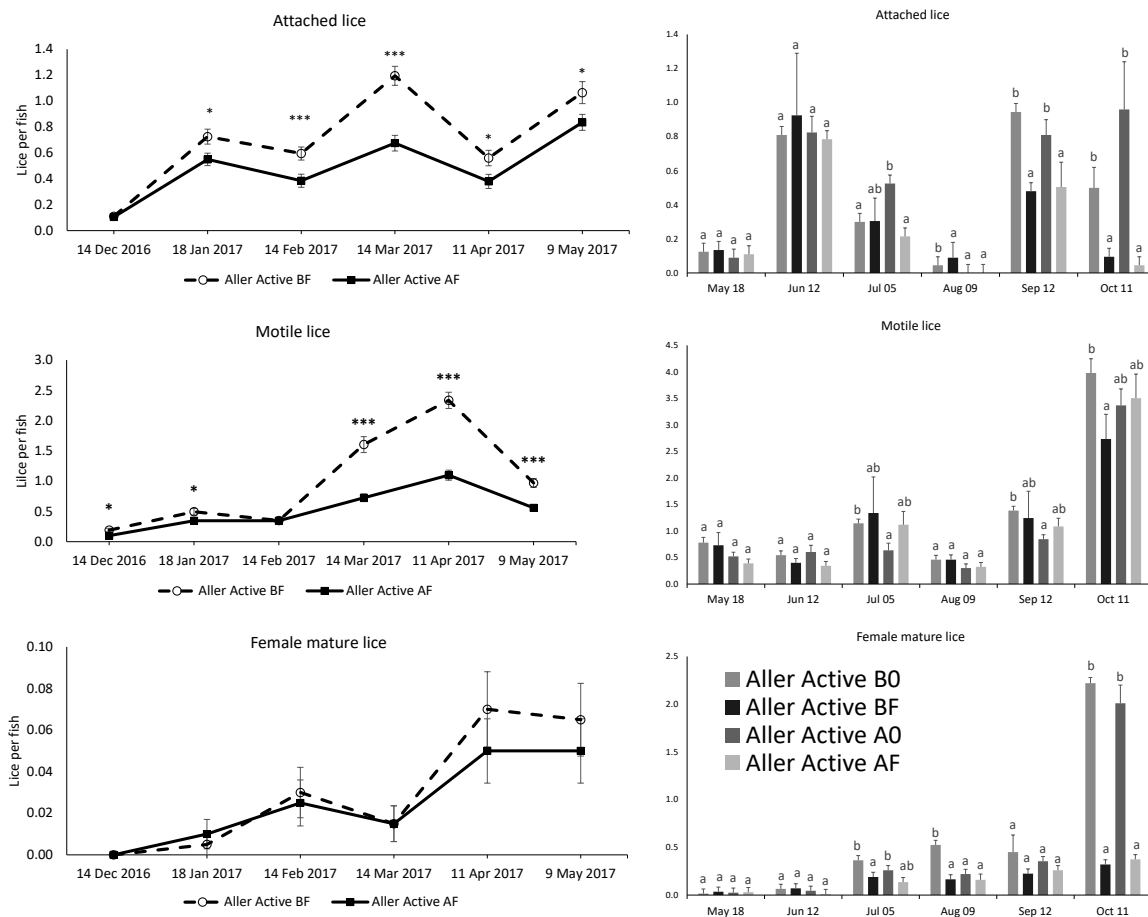
Figur 2 Kumulativ dødelighet under forsøksperiode november 2016 – oktober 2017

Regnbueørreten vokste fra i underkant av 300 g i desember 2016, til 1000 g mai 2017, med ingen signifikante forskjeller mellom diettene (Figur 3A). I den andre forsøksperioden, mai 2017, startet forsøket med høyere individvekt hos fisk tildelt kontroll fôr med Biofeed Forte (BF) og fôr med animalske protein uten Biofeed Forte (A0) sammenlignet med de andre diettgruppene. Oktober 2017 var individvekt på fisk tildelt BF fortsatt signifikant større sammenlignet med fisk tildelt kontrollfôr uten Biofeed Forte (B0) eller fôr med animalske protein og Biofeed Forte (AF), mens A0-gruppen hadde en individvekt i sjiktet mellom disse gruppene (Figur 3B). Dette kan skyldes forskjeller i basis dietten med (A0) eller uten (BF) animalsk proteiner fra landdyr.



Figur 3 Gjennomsnittlig individvekt forsøksperiode november 2016 – oktober 2017

Telling av lus den første delen av forsøket viste i perioder lavere lusetall av fastsittende og bevegelige lus på regnbueørret tildelt fôr med animalsk protein og Biofeed Forte sammenlignet med kontrollfôr med Biofeed Forte. I siste del av forsøket ble det vist i perioder lavere lusetall av alle stadiene på fisk tildelt fôr med Biofeed Forte. Det var lavere lusetall hos regnbueørret tildelt kontrollfôr med Biofeed Forte (BF) sammenlignet med det samme fôret uten Biofeed Forte (B0) juli, august og oktober 2017 for telling av voksne hunnlus (Figur 4). Ved avslutning i oktober hadde fisken som hadde fått begge de to fôrene med Biofeed Forte (BF og AF) betydelig mindre av både fastsittende lus og voksne hunnlus enn fisk som hadde fått de to fôrene uten Biofeed Forte (B0 og A0).



Figur 4 Gjennomsnittlig antall lus per fisk. Tallgrunnlag fra 100 fisk per merd per telling. Statistikk ved 1-veis ANOVA per uttakstidspunkt. Signifikante forskjeller ($P < 0,05$, enveis ANOVA) innen tidspunkt er vist med stjerner (*: $P < 0,05$, **: $P < 0,001$, ***: $P < 0,0001$). Ulike bokstaver^{ab} angir hvilke grupper som er forskjellige. ().

Ved sluttuttak oktober 2017 ble det tatt prøver av skinn til genuttryksanalyser (Microarray), immunologiske analyser (ELISA) og histologiske undersøkelser. Fettsyrer og mineraler ble analysert i filetprøver fra NKS-området (Norsk kvalitetsnett; NS 9401, NS 9402), mineraler i helfiskprøver, og det ble gjennomført analyser av slaktekvalitet på sløyd fisk. Det var få forskjeller i kjemisk sammensetning og slaktekvalitet mellom diettgruppene. Quantidoc undersøkte tetthet og størrelse på slimceller i skinn, gjeller og baktarm, med generelt sett få observerte diettforskjeller (Quantidoc rapport, 2018). Microarray analysene viste en rekke gener som var regulert i skinnen hos fisk tildelt Biofeed Forte, mest synlig med nedregulering av en rekke gener knyttet til slimproduksjon og immunitet. Både redusert slimproduksjon og nedsatt immunitet i skinnen vil i utgangspunktet antas å være ugunstig i forhold til resistens mot lus. Lavere lusetal hos regnbueørret tildelt Biofeed Forte kan dermed ikke forklares ut fra de analysene som ble utført her.

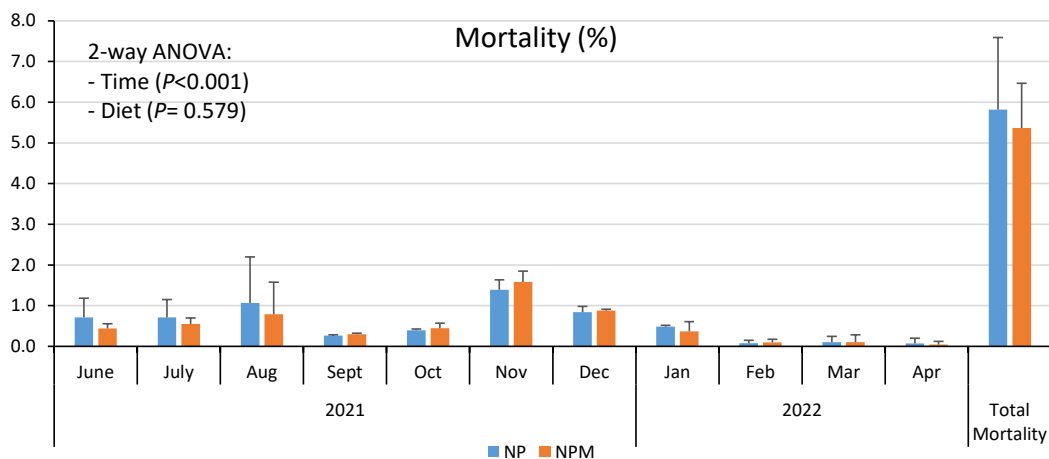
2.2 Forsøk med planteekstrakter i fôr til regnbueørret

Regnbueørret ble satt ut i 6 merder ved Langøy (70.000-100.000 fisk pr merd) i februar 2021. Alle merdene ble tildelt samme fôr fra februar til juni 2021. Deretter ble fôrene Aller Aqua Nordic Proof (NP; kontroll) tildelt merd 1, 3 og 5, og Nordic Proof Macro (NPM; med fermentert planteekstrakt) tildelt merd 2, 4 og 6, frem til slakt (Figur 5).



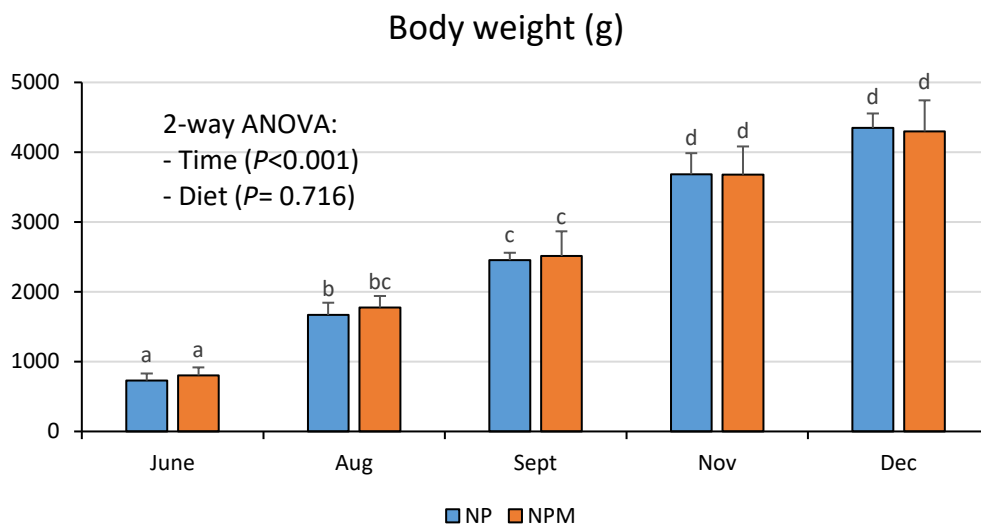
Figur 5 Merd lokalitet Langøy

I forsøksperioden juni 2021 – april 2022 ble det observert en total dødelighet på 5,6 % av populasjonen i merdene. I den første perioden frem til august 2021 var det meste av dødfisken «tapere» som ikke tok til seg føret, mens det i november 2021 var en stor dødelighet grunnet hjertesprekk (CMS). Det ble ikke observert forskjeller i dødelighet mellom diettgruppene (Figur 6).



Figur 6 Månedlig dødelighet av regnbueørret tildelt NP eller NPM fôr. Tallgrunnlag fra gjennomsnitt av 3 merder. Statistikk ved 1-veis ANOVA viste ingen signifikante forskjeller ($P=0,724$).

Individvekt og lusetall ble registrert månedlig på 100 fisk per merd i perioden juni til desember 2021. Fisken vokste i denne perioden fra 768 til 4324 g, og det var ingen signifikante forskjeller mellom diettgruppene (Figur 7).



Figur 7 Registrert vekt på individ av regnbueørret tildelt NP eller NPM før, basert på snittveiting av 100 fisk per merd (gjennomsnitt \pm s.d., $N = 3$ merder/før)

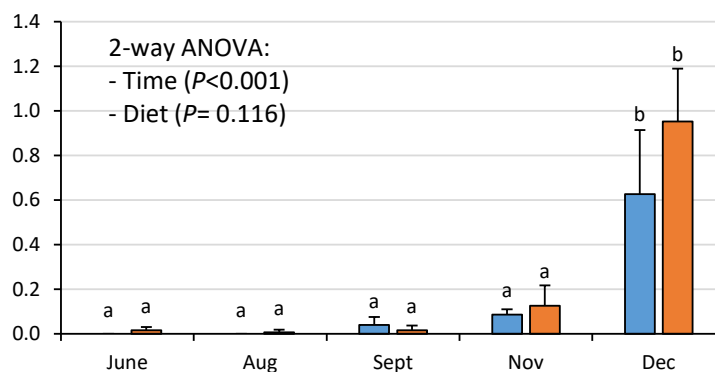
Lusetallene var lave, under 0,5 voksne lus per fisk, utenom desember 2021 da det var høyt antall av lus i alle livsløpsstadier. Ingen diettforskjeller var observert i antall lus av ulike stadier i perioden juni til desember 2021 (Figur 8). Engesund Fiskeoppdrett bruker laser (Stingray Marine Solutions AS, Oslo, Norway) for å bekjempe lakselus ved lokaliteten Langøy. Laseren kan skyte opptil 5 ganger i sekundet og tar bilder før og etter skuddet for å verifisere at lusen på fisken er truffet. Merdene var også tilført rensefisk juli 2021 (10 % av fiskepopulasjonen, mest 93 % grønnngylt og resterende 7 % berggylt). Laseraktivitet i forsøksperioden viser lav aktivitet sommer 2021 som kan tyde på at rensefisken hold lusetallene nede, mens det var økt laseraktivitet mot slutten av forsøksperioden med stigende lusetall (Figur 9).

Det ble tatt prøver av fisken i november 2021, før utslakt av fisken. Fiskens velferd, fettdeponering i lever og innvoller, og kjemiske analyser av fiskens filet (NKS) ble utført. Det var ingen signifikante forskjeller mellom diettgruppene.

I perioden november 2021 til april 2022 ble 439 323 regnbueørret slaktet fra anlegget. I gjennomsnitt ble det slaktet 20.000 fisk per uke, derav 90 % klassifisert som superior og 69 % med en vekt på 3-5 kg.

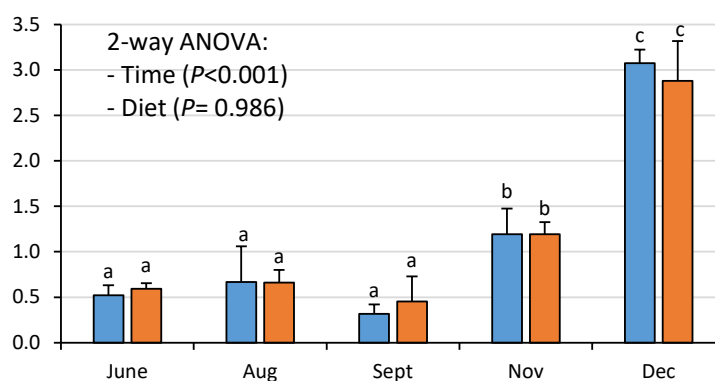
A)

Attached lice per fish (counts n=100)



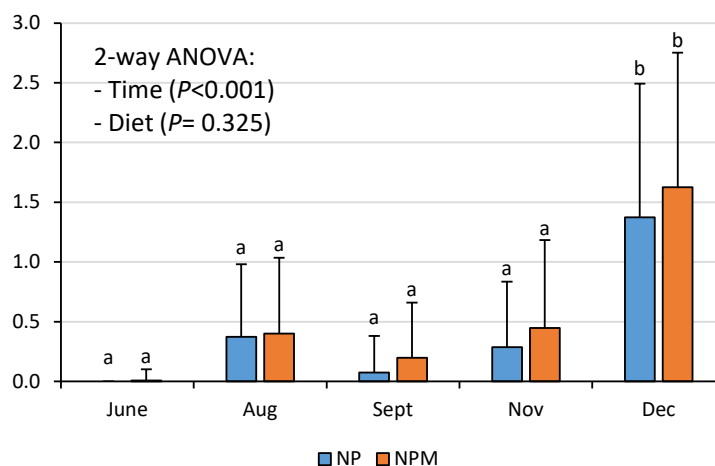
B)

Motile lice per fish (counts n=100)

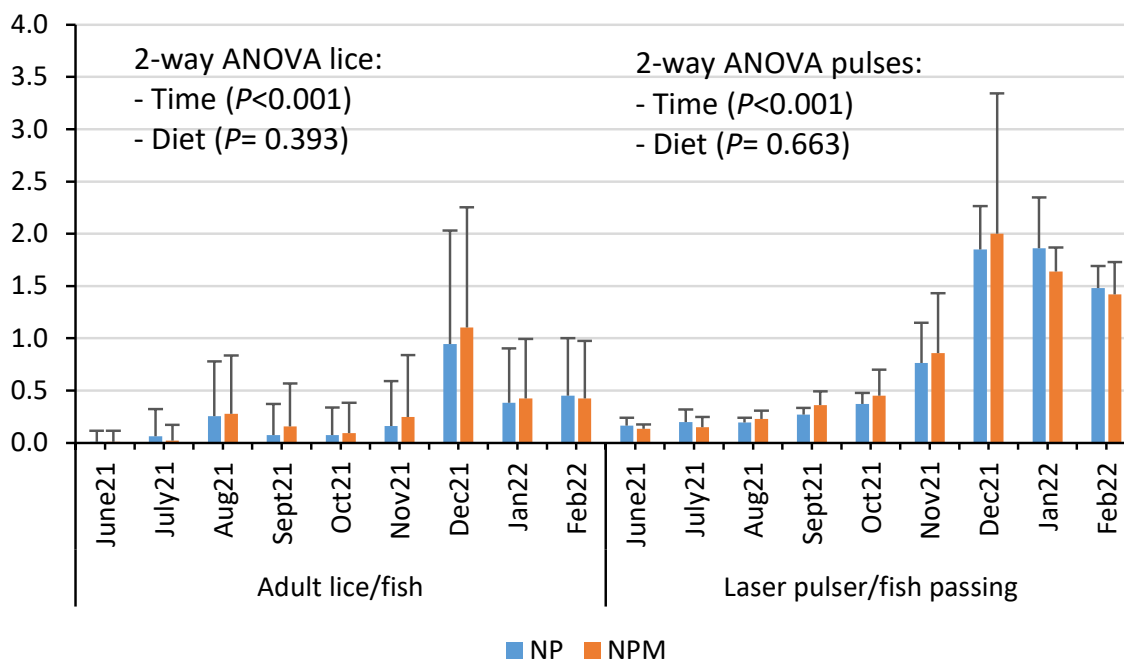


C)

Adult lice per fish (counts n=100)



Figur 8 Gjennomsnittlig antall lus per fisk tildelt NP eller NPM fôr. Tallgrunnlag ut fra gjennomsnitt av 3 merder. Statistikk med 2-veis ANOVA effekt av tid og diet, etterfulgt av post hoc test. Ulike bokstaver beskriver signifikante forskjeller ($P < 0,05$) mellom grupper.



Figur 9 Månedlige gjennomsnittstall på antall voksne lakselus per fisk og laserpulser registrert per fisk ved bruk av Stingray laser. Statistikk med 2-veis ANOVA effekt av tid og diet viste ingen signifikante forskjeller ($P > 0,05$).

3 Forsøk med Atlantisk laks ved FoU tillatelsen H F 46

Det er gjennomført 3 forsøk med fôr tilsatt Biofeed Forte med Atlantisk laks hos Fylkesnes AS. Forsøkene ble utført ved lokalitetene Lelandsholmen (Nofima rapporter K64/2018 og K11/2020) og Soløy (Nofima rapporter K17/2019). I tillegg har det blitt gjennomført forsøk ved Floteneset med Atlantisk laks for å teste ulike varianter av Biofeed Forte, men dette har vært i 25 m x 25 m merder uten kontrollgruppe og brukt for å sammenligne vekst og lusetall til forsøk som har pågått i 5 m x 5 m forsøksbur ved de samme lokalitetene. Videre er det gjennomført 2 forsøk der ulike planteekstrakt har blitt testet i fôr til laks ved Floteneset (Nofima rapport K15/2021 og K20/2023).

Tabell 2 Forsøksoversikt H F 46 2018 – 2022 med biomassetall (tonn) beregnet ut fra snittvekt av 100 fisk. Biomassetall mangler for Fylkenes Fisk (Leland og Soløy).

År	Lokalitet	Jan	Feb	Mar	Apr	Mai	Juni	Juli	Aug	Sept	Okt	Nov	Des
2017	Leland ¹												
2018	Soløy ²												
2019	Leland ³												
2020	Floteneset ⁴			56	233	265	434	626	887	1149			
2021	Floteneset ⁵	1.2	1.1	1.0	0.9	0.8	0	0	0.0	0.0	82.3	148.1	232.0
2022	Floteneset ⁶	320	373	397	489	535	709	895	1171	1437	1651		

¹⁾ 4 merder, Salmon Group fôr og Aller Aqua fôr med BF til duplikate merder

²⁾ 3 merder tildelt Salmon Group fôr og 2 merder tildelt fôr fra Aller Aqua med A F

³⁾ 2 merder tildelt B0 (Aller Aqua fôr uten BF) og 2 merder tildelt Aller Aqua fôr med BF

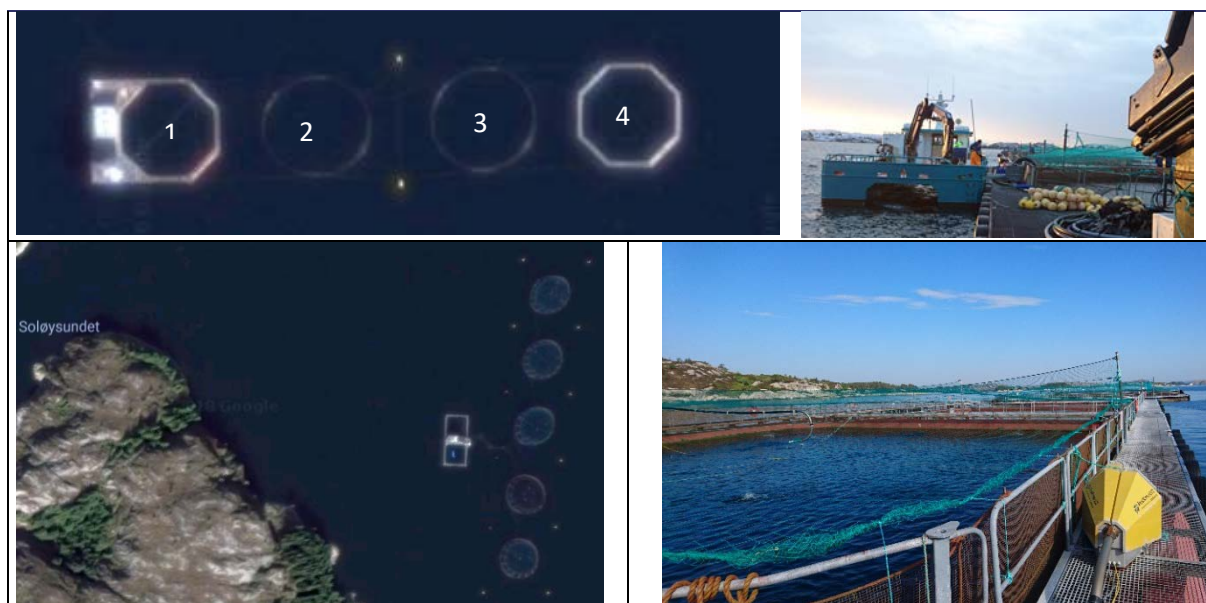
⁴⁾ 2 merder Mowi laks fôret BF, 8 merder AquaGen laks fôret NP eller NPM til kvadruple merder

⁵⁾ Forsøk i 5 x 5 merder jan-mai 2021

⁶⁾ 8 merder fôret A-diett eller AG-diett til kvadruple merder (2021-2022)

3.1 Forsøk med Atlantisk laks tildelt fôr med Biofeed Forte

Fylkesnes Fisk er med i Salmon group og det ble derfor gjennomført 2 forsøk ved sammenligning av Salmon group fôr med Aller Aqua fôr tilsatt Biofeed Forte i duplikate merder per diett ved lokaliteten Lelandsholmen i 2017, og henholdsvis 3 og 2 merder per diett ved lokaliteten Soløy 2018. I 2019 ble det gjennomført forsøk ved Lelandsholmen der en sammenlignet fôr med og uten Biofeed Forte i duplikate merder per diett. Det var 80.000 – 100.000 laks per merd ved de ulike lokalitetene (Figur 10).

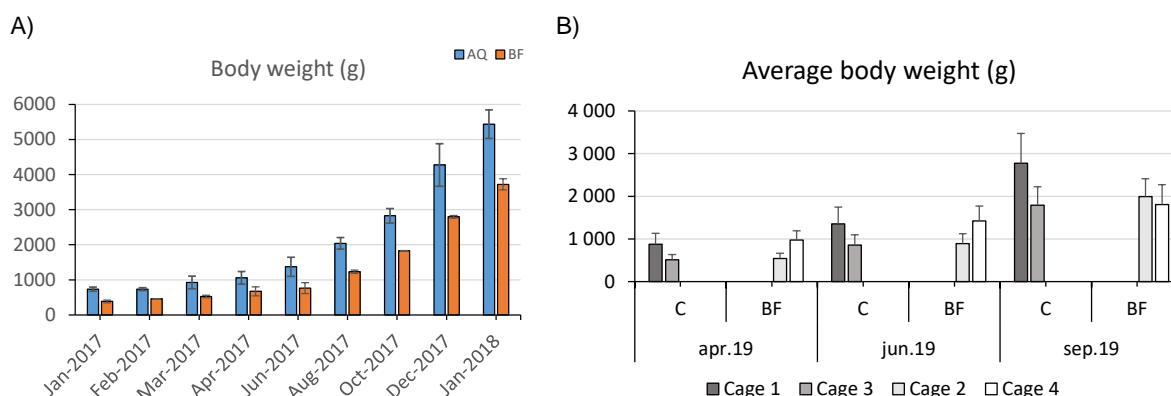


Figur 10 Merdanleggene til Fylkenes Fisk ved lokalitetene Lelandsholmen og Soløy

Forsøkene ble gjennomført kun i deler av produksjonen grunnet mangel av forsøksfôr fra Aller Aqua. Forsøket ved Lelandsholmen i 2017 ble gjennomført fra januar 2017, 3-4 måneder etter smoltutsett. Fylkesnes Fisk avgjorde at fôret fra Salmon Group skulle tildeles merd 1 og 3 som ble satt ut september 2016 (735 g januar 2017) og at fôret fra Aller Aqua skulle tildeles merd 2 og 4 satt ut oktober 2017 (387 g januar 2017). Størrelsesforskjellen mellom gruppene ble opprettholdt gjennom forsøket, med en gjennomsnittsvekt på 5434 og 3722 g januar 2018 for henholdsvis laks tildelt fôr fra Salmon Group og Aller Aqua (Figur 11A). Laksen hadde en daglig tilvekst på 0,57 % og 0,64 % for de to fôrene i forsøksperioden, med ingen signifikante forskjeller mellom gruppene.

I forsøket ved lokaliteten Soløy i 2018 ble det ikke gjennomført regelmessige vektregistreringer. Forsøket pågikk fra mai til september 2018, men hadde utfordringer med leveranse av forsøksfôr fra Aller Aqua. Nofima gjennomførte uttak mai og september 2018, med en gjennomsnittsvekt på henholdsvis 1870 og 3360 g, med ingen signifikante forskjeller i vekt mellom diettgruppene.

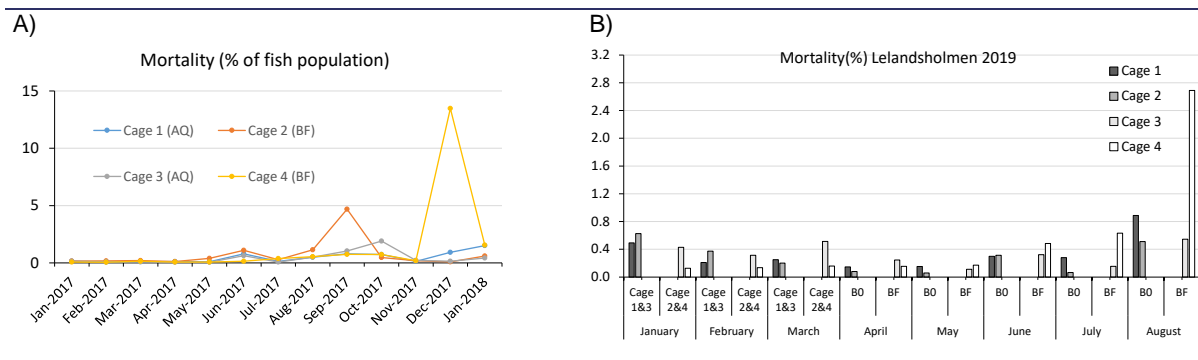
Ved Lelandsholmen i 2019 ble det gjennomført forsøk med kontrollfôr og fôr tilsatt Biofeed Forte fra april 2019, 5 måneder etter utsett. Også her brukte Fylkenes Fisk laks fra ulike settefiskanlegg, ulike tidspunkt for utsett og dermed forskjellig størrelse på fisk ved oppstart av forsøk april 2019. Laksen hadde da en gjennomsnittsvekt på 530 g i to merder og 900 g i to merder. Begge fôrene ble tildelt til merder med laks fra tidlig og sent utsett. Størrelsesforskjellen mellom tidlig og sent utsett vedvarte over sommeren 2019, men grunnet sykdom i merden med laks satt ut tidlig og tildelt Biofeed Forte høst 2019 ble det registrert lavere vekst i denne gruppen (Figur 11B).



Figur 11 Individvekt av laks i forsøk ved Lelandsholmen 2017 (A) og 2019 (B). Salmon Group fôr med Aquate (AQ), Aller Aqua fôr med Biofeed Forte (BF), og kontrollfôr (C).

Nofima har kun dødelighetstall fra forsøkene ved Lelandsholmen. Forsøket i 2017 viste høyere dødelighet i merdene tildelt Aller Aqua fôr med Biofeed Forte, enn i merdene med Salmon Group fôr. Disse merdene viste høy dødelighet innenfor et kort tidspunkt, merd 2 hadde 5 % dødelighet september 2017 og merd 4 hadde 13,5 % dødelighet desember 2017 (Figur 12A). Dette kan være relatert til stress og sykdom, og lusebehandling. Merd 2 hadde ingen lusebehandlinger i forsøksperioden, men hadde en større innblanding av rensefisk (20 %) sammenlignet med de andre merdene (10 %). Merd 1 tildelt Salmon Group fôr hadde flest lusebehandlinger (6 ganger) etterfulgt av merd 4 tildelt BF-fôr (4 ganger). Merd 4 hadde kun rognkjeks som rensefisk, mens de andre hadde berggyllt fra august. Høy dødelighet av rognkjeks resulterte i at merd 4 fikk påfyll av berggyllt september 2017 (Tabell 3). Med så mange varierende faktorer som kan være avgjørende for lusetall, lusebehandlinger og dødelighet, måtte effekten av fôr ha vært svært stor for å kunne detekteres med sikkerhet.

I forsøket ved Lelandsholmen 2019 var det lav dødelighet frem til august da det kom sykdom på fisken, og særlig laks i merd 4 tildelt Aller Aqua fôr viste høy dødelighet (Figur 12B). Det var imidlertid ingen systematisk effekt av fôr. Det var en rekke avlusninger med Thermolicer i forsøksperioden (Tabell 3).



Figur 12 Månedlig dødelighet (% av populasjon) Atlantic laks føret A) Salmon Group med Aquate (AQ) eller Aller Aqua med Biofeed Forte (BF) 2017, og B) kontroll (C) og BF-fôr 2019.

Tabell 3 Avlusningsbehandlinger Lelandsholmen 2017

Merd	AQ-1	BF-2	AQ-3	BF-4	Treatment
15-25-Dec-2016	x	X	x	x	Slice feed 10days
11-Jun-2017	x		x		Termolicer ¹
7-Jul-2017				x	Termolicer
28-aug-2017	x		x		Optilicer ²
Aug-2017	WW ^{4a}	WW ^{4b}	WW ^{4a}	FLF ⁵	Cleaner fish
7-Sept-2017				x	Hydrolicer ³
15-Sept-2017	x				Termolicer
25-Sept-2017			x		Termolicer
End Sept 2017				WW ^{4b}	Cleaner fish
5-Oct-2017	x				Optilicer
26-Oct 2017	x			x	Optilicer
4-Des 2017	x			x	Termolicer
Lice treatments (#)	6	0	3	4	

¹Treated with water 33 °C á 30 sec per fish

²Treated with water 34 °C á 30 sec per fish

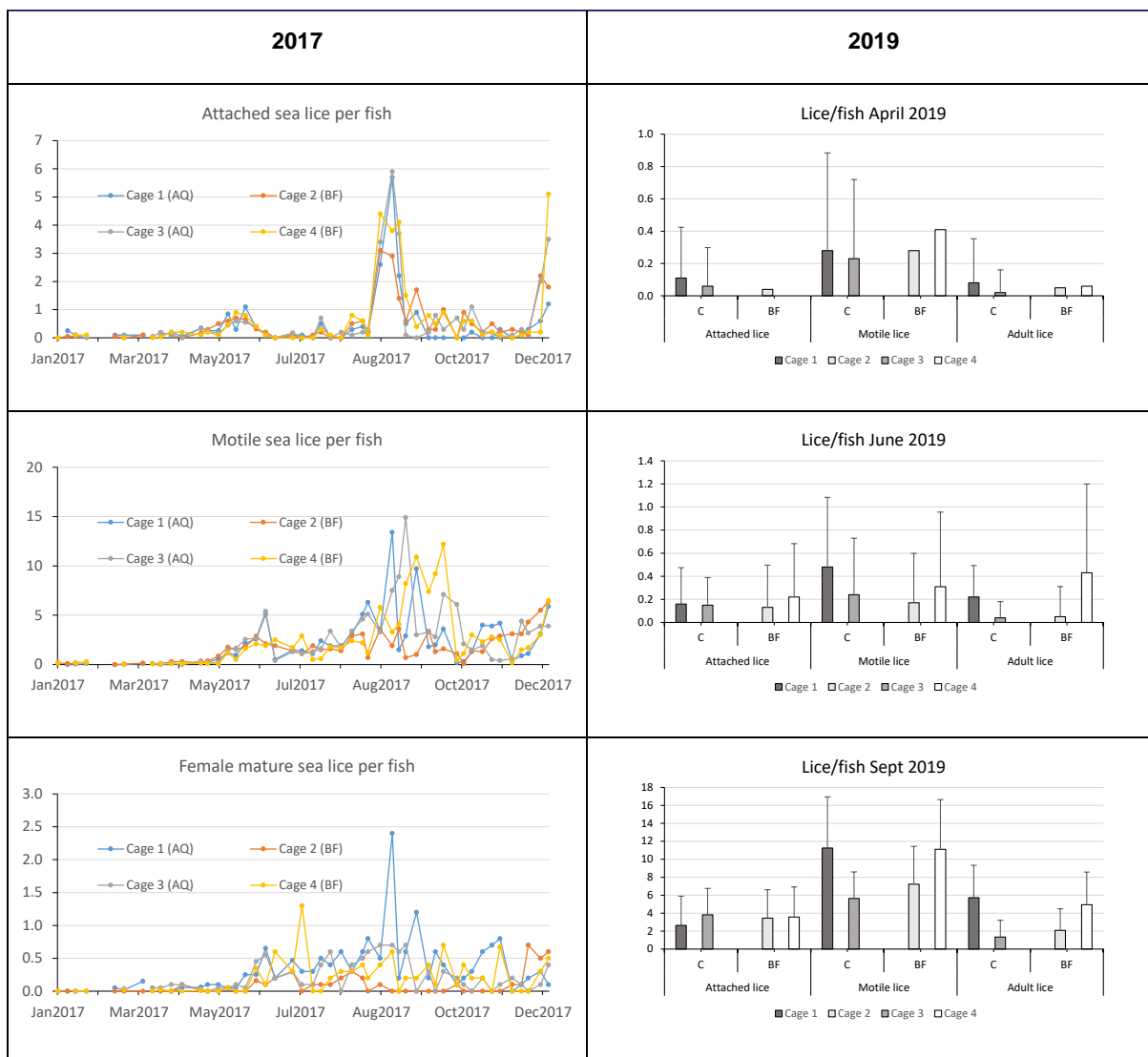
³Treated with 0.6 bar water pressure

^{4a}Inclusion 10 % wild caught wrasse (WW) of the salmon population; ^{4b}Inclusion 20 % wild caught wrasse (WW) of the salmon population

⁵Inclusion 20 % farmed lumpfish (FLP) of the salmon population

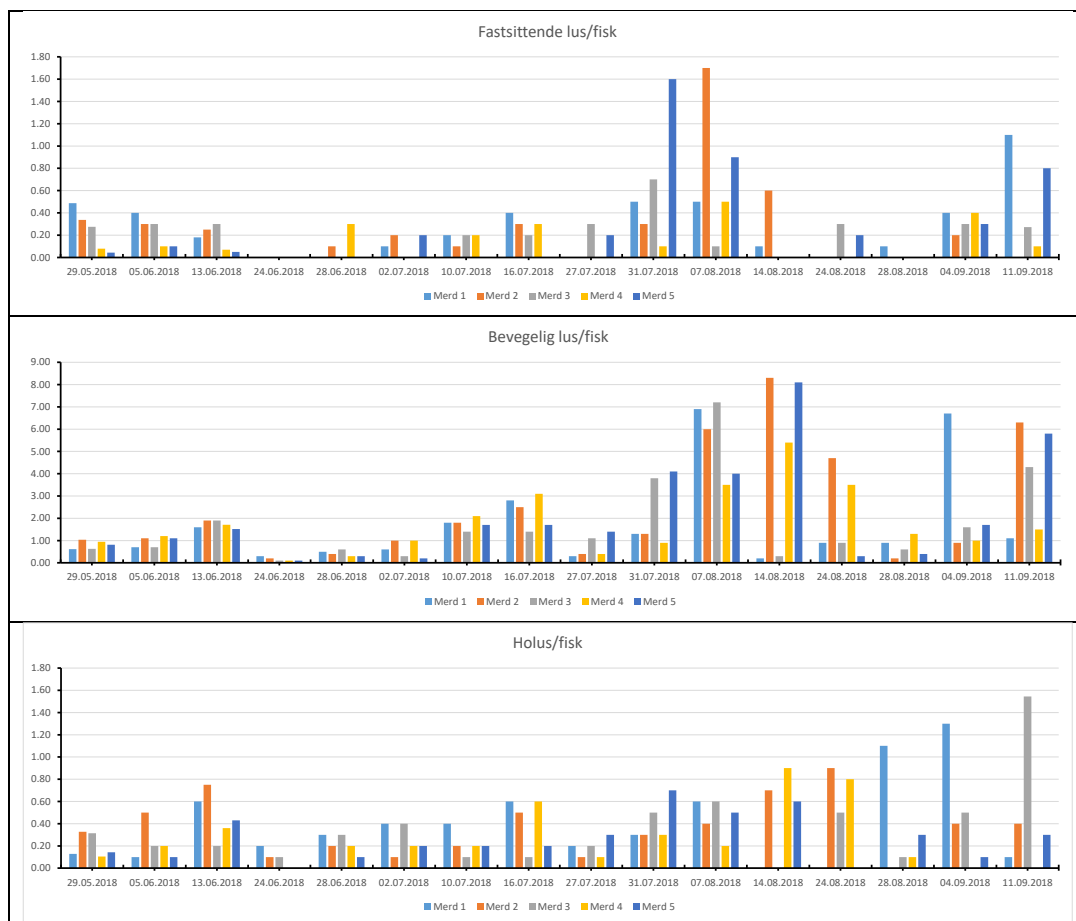
Lusetall fra forsøk ved Lelandsholmen 2017 viste høye tall av voksne lus fra mai til desember 2017. Særlig utpreget for merd 1 og 3 tildelt Salmon Group fôr, men også i perioder for merd 4 tildelt Aller Aqua fôr. Høye lusetall var særlig utpreget for merd 1, som også hadde flest avlusninger. Merd 2 hadde kun problematiske lusetall mot slutten av forsøksperioden (Figur 13). Kvalitet på fisk, antall rensefisk og lokalisering av merd ser ut til å ha hatt større betydning på lusetallene enn fôrene i dette forsøket.

Tall på lus fra forsøket i 2019 ved Lelandsholmen er kun vist ved registreringer på 100 fisk/merd, men tall fra oppdretter er å finne i Nofima rapport K11/20. Disse viser lave lusetall frem til august-september, med problematisk høye tall på voksen lus september 2019. Særlig for stor fisk i merd 1 og syk fisk i merd 4 (Figur 13), samsvarende med økt behandling mot lus og dødelighet. Grunnet størrelsesforskjell på fisken, og dødelighet og lusetall knytt til dette, er det ikke grunnlag for å konkludere at føret hadde noen effekt på fiskens helse og motstand mot lus.



Figur 13 Lusettall på fastsittende, bevegelige og voksne lus på laks tildelt Salmon Group fôr med Aquate (AQ) og Aller Aqua fôr med Biofeed Forte (BF) 2017, og laks tildelt kontrollfôr og fôr med Biofeed Forte (BF) 2019.

I forsøket ved Soløy 2019 kan en i denne produksjonen ikke konkludere om fôret hadde effekt på lusettall grunnet vekslende tilgang på forsøksfôr fra Aller Aqua og at merdene ikke har blitt behandlet likt gjennom forsøksperioden mai – september 2018. I tillegg til at forsøksmerd 4 og 5 fikk i perioder Salmon Group fôr, hadde disse merdene også en høyere innblanding av rensefisk. Merd 5 hadde kun leppefisk (25.248), mens merd 4 hadde den høyeste innblanding av rensefisk, med både leppefisk (21.983) og oppdrettet rognkjeks (20.000). Til sammenligning hadde merdene fôret med Salmon Group fôr i hovedsak innblanding av rognkjeks (20.000) og mindre mengder med leppefisk (Tabell 4). Gjennomsnittlig lusettall i periode mai til september 2018 for fastsittende, bevegelige og hunnlus var ikke signifikant forskjellig mellom fôrgruppene (Figur 14). Antall avlusninger i merd 4 og 5 var lavere enn merd 1-3, som kan samsvare med den ulike innblanding av rensefisk i merdene.



Figur 14 Telling av lus 20 fisk per merd i perioden mai – september 2018. Samt gjennomsnittlig antall lus per fisk gjennom hele perioden.

Tabell 4 Avlusninger og bruk av rensefisk ved lokaliteten Soløy mai – september 2018

Avlusninger	Merd 1	Merd 2	Merd 3	Merd 4	Merd 5	Metode
Desember 2018	1	1	1	1	1	Slice, 14 dager
Januar 2018	1	1	1	1	1	H ₂ O ₂
April-Mai 2018	1	1	1	1	1	Ferskvann
Mai-Juni 2018	1	1	2	1	1	Themolicer
Juli 2018		1		1		Optilicer
Juli-aug 2018	2	1	1			Themolicer
Sept-Okt 2018	3	2	2	1	1	Optilicer
November 2018	1	1	1			Optilicer
Sum	10	9	9	6	5	

Antall rensefisk					
Leppefisk	5239	4765	12.281	21.983	25.248
Rognkjeks	20.000	20.000	20.000	20.000	0

3.2 Forsøk med Atlantisk laks tildelt fôr med planteekstrakt

Det er gjennomført 2 forsøk ved lokaliteten Floteneset der en har testet to ulike planteekstrakter. I 2020 ble det testet et fermentert produkt sammenlignet med et kontrollfôr uten tilsetning av produktet, til

kvadruple merder (tidligere presentert i Nofima rapport K15/2021). Fisk fra AquaGen var fordelt i 8 merder (å 30.-40.000 per merd) i april 2020. Det ble fôret med Aller Aqua Nordic Proof (NP; kontroll) i merd 3, 5, 6 og 9, og Nordic Proof Macro (NPM; med fermentert planteekstrakt) i merd 2, 4, 8 og 10. I tillegg hadde anlegget to merder (1 og 7) med laks frå Mowi tildelt Aller Aqua fôr med Biofeed Forte, men fiskegruppe og fôr er ikke sammenlignbart til forsøker med fisk fra AquaGen (Figur 15A).

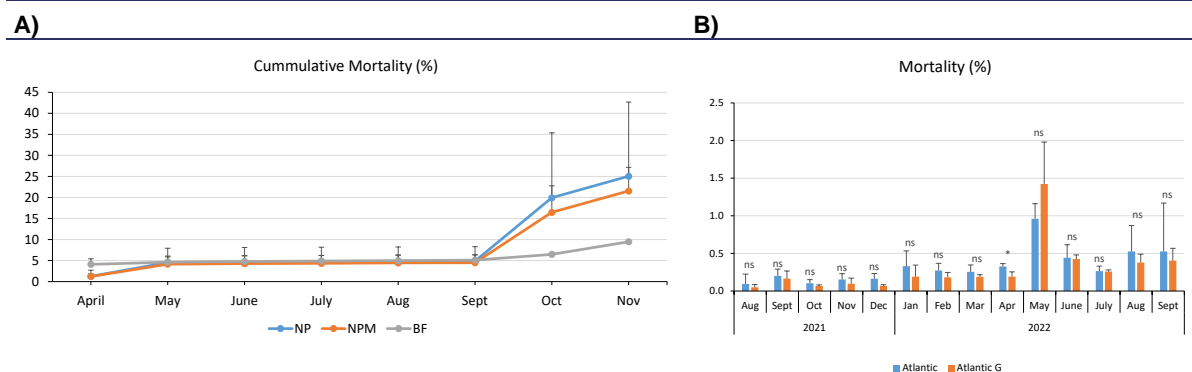
I august-september 2021 ble fisk fra Frøfisk AS (95 g) fordelt til 8 merder (Figur 15B). Fisken ble så fôret med kontrollfôret Atlantic (merd 3, 5, 7 og 9) og testfôret Atlantic G (merd 1, 2, 4 og 8).

A) Floteneset 2020					B) Floteneset 2021-2022				
Cage 5 – G2 AquaGen breed Aller NP	Cage 4 – G3 AquaGen breed Aller NPM	Cage 3 – G2 AquaGen breed Aller NP	Cage 2 – G3 AquaGen breed Aller NPM	Cage 1 – G1 Mowi breed AllerActive BF	Cage 5 Atlantic	Cage 4 Atlantic G	Cage 3 Atlantic	Cage 2 Atlantic G	Cage 1 Atlantic G
Cage 10 – G3 AquaGen breed Aller NPM	Cage 9 – G2 AquaGen breed Aller NP	Cage 8 – G3 AquaGen breed Aller NPM	Cage 7 – G1 Mowi breed AllerActive BF	Cage 6 – G2 AquaGen breed Aller NP	Cage 10	Cage 9 Atlantic	Cage 8 Atlantic G	Cage 7 Atlantic	Cage 6

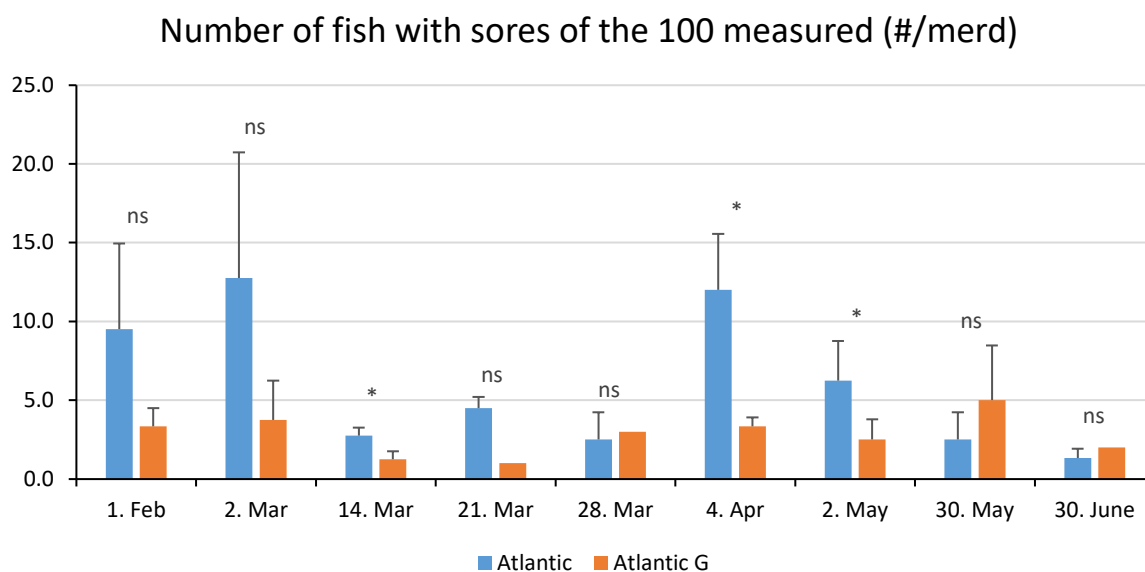


Figur 15 Merdoppsett med laks Floteneset 2020-2022

Laks i forsøk 2020 hadde en total dødelighet på 4,8 % frem til september 2020, men i oktober oppsto det akutt dødelighet av et stort antall fisk. Total dødelighet var over 20 % for noen av merdene gjennom forsøksperioden (Figur 16A). Laks i forsøk 2021-2022 hadde en total dødelighet på 4,4 %. Her var dødeligheten høyest våren 2022 i forbindelse med høy andel fisk med vintersår (Figur 16B). Månedlige tellinger av lus på 100 fisk viste at 10-15 % av fisken som fikk kontrollfôret Atlantic hadde vintersår, mens i underkant 5 % av fisken tildelt forsøksfôret Atlantic G hadde vintersår (Figur 17). Forskjellen i vintersår var signifikant ved tre av de ni måletidspunktene. I perioder var det tendenser til at dødeligheten var lavere i gruppen tildelt forsøksfôr, men totalt sett gjennom forsøksperioden viste ingen av forsøkene signifikante forskjeller i dødelighet mellom gruppene av laks som fikk ulike fôr.

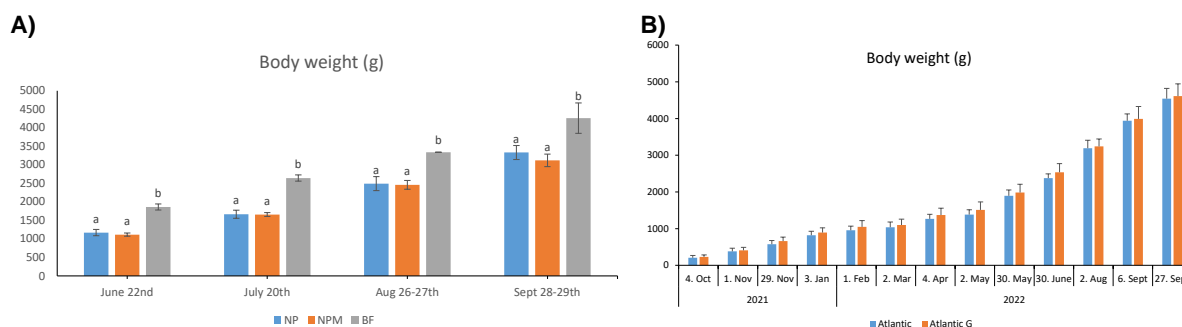


Figur 16 Dødelighet av laks ved Floteneset 2020-2022



Figur 17 Antall fisk med vintersår av 100 per merd der vekt og antall lus ble registrert 1 februar, 2 mars, 4 april, 2 mai, 30 mai og 30 juni. Datoene 14, 21 og 28 mars ble det kun gjennomført registreringer av antall lus på 20 fisk per merd. Statistikk ved 1-veis ANOVA per dato, * signifikante forskjeller ved $P < 0,05$, ns=ikke signifikante forskjeller mellom diettgruppene.

Vekt og antall lus på 100 laks per merd tildelt Aller Aqua NP eller NPM ble registret 4 ganger i periode mai til september 2020. Her var det også inkludert de to merdene tildelt Biofeed Forte med laks fra en annen stamme, og satt i sjø tidligere. Disse var bortimot 1 kg større enn NP/NPM fisken, og økte i vekt fra 1,9 kg i juni til 4,3 kg i september. Laks tildelt Aller Aqua NP eller NPM økte i vekt fra 1,1 kg i juni til 3,1 – 3,3 kg i september, med ingen signifikante forskjeller mellom diettgruppene i kvadruple merder (Figur 18A). Laks tildelt Atlantic og Atlantic G 2021-2022 økte i vekt fra 95 g august 2021 til 4578 g september 2022. Veksten var lavest i perioden oktober 2021 (218 g) til April 2022 (1319 g), men økte med økende temperatur gjennom sommeren. Ingen forskjeller mellom diettgruppene ble register ved de månedlige vektmålinger av 100 fisk per merd (Figur 18B).

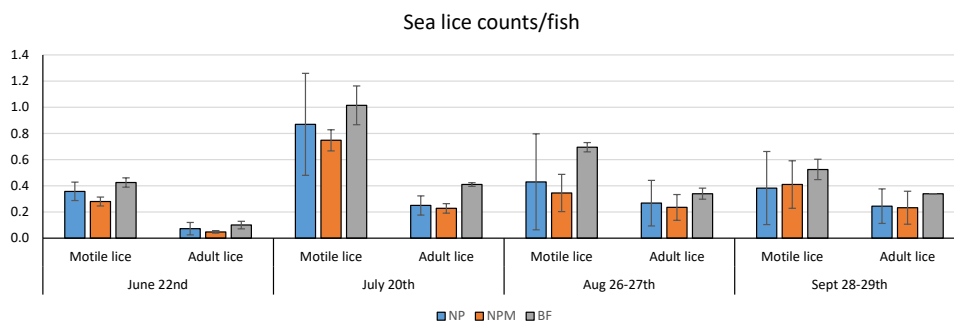


Figur 18 Individvekt registret på 100 fisk per merd ved Floteneset ved forsøk 2020 (A) og 2021-2022 (B)

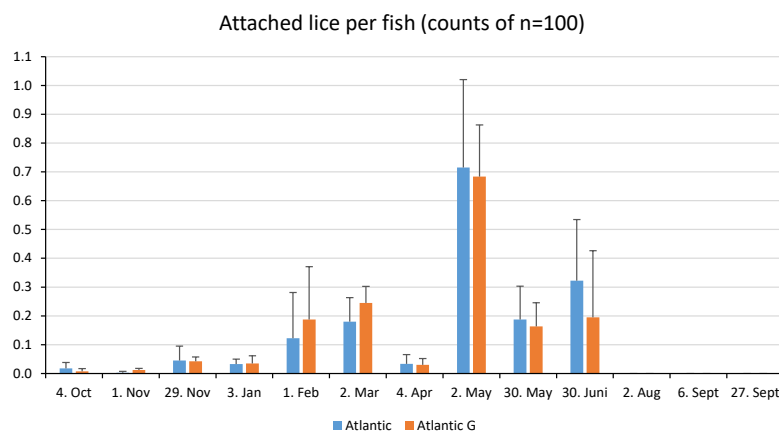
Månedlig registrering av antall lus på 100 fisk per merd juni - september 2020 viste ingen diettforskjeller i antall bevegelige og voksne lus per fisk (Figur 19A). Antall voksne lus var lav gjennom forsøksperioden, og ingen behandlinger mot lus ble gjennomført ved Floteneset i 2020. På laks tildelt Atlantic and Atlantic G fór var det registrert lave lusetall frem til våren 2022, da det ble videre observert perioder med høy lusetall april, mai-juni og august. Dette resulterte i krav om avlusning i mars (AlphaMax), april (Optilicer) juni og august (Thermolicer med ferskvann). Avlusning sent i april resulterte i økt antall fastsittende lus på laksen 3 dager senere, 2. mai (Figur 19B). Dette resulterte videre i høye tall på bevegelige og voksne lus i slutten av mai (Figur 19CD), og ny runder med avlusning. Tilsvarende, ble de høyeste lusetallene observert etter notvask august 2022, som også resulterte i krav om avlusning. Det ble ikke observert signifikante diettforskjeller i antall lus, med unntak av et litt lavere antall voksne lus på fisk tildelt Atlantic G sammenlignet med Atlantic, ved sluttuttaket i september 2022 (Figur 19D).

Det ble i disse to forsøkene gjennomført analyser av fisk tatt ut ved sluttuttak oktober 2020 og september 2022. Vev av skinn, gjeller og tarm ble tatt ut for histologisk kvantifisering av slimcelle antall og tetthet hos Quantidoc. Lever, muskel og skinn ble analysert for fett og mineraler, og sløyd fisk tatt ut for kvalitetsanalyser ved Nofima. Disse analysene har ikke avdekket klare diettforskjeller mellom gruppene av laks tildelt Aller Aqua NP eller NPM i 2020, eller laks tildelt Atlantic eller Atlantic G 2021-2022.

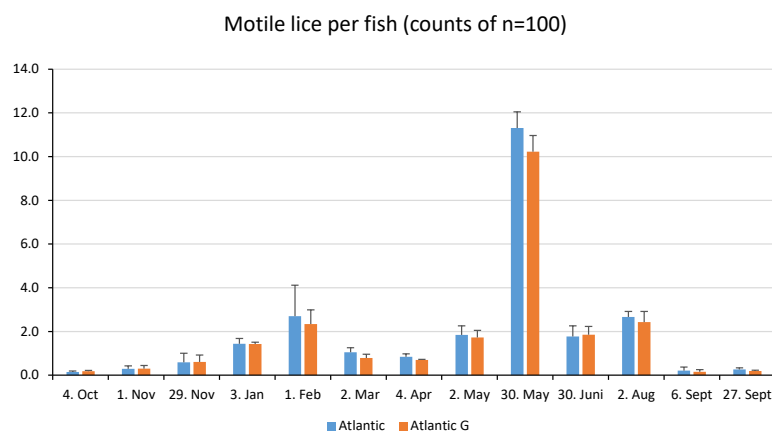
A)



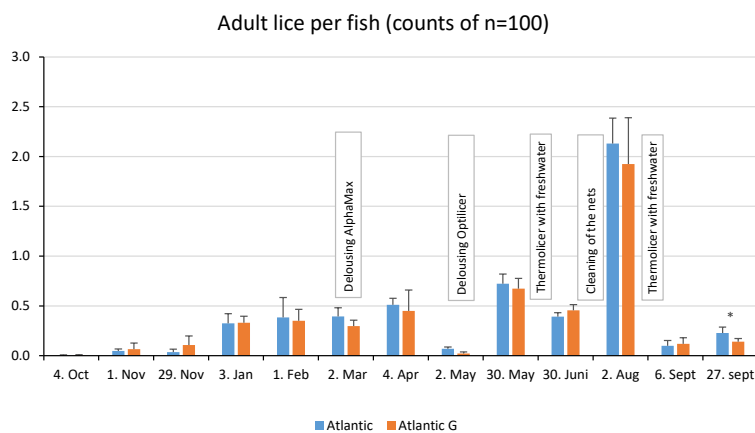
B)



C)



D)



Figur 19 Månedlig telling av lus på 100 fisk per merd; A) forsøk 2020 og B-D) forsøk 2021-2022

4 Oppsummering

Nofima har vært forskningsfagligansvarlig for FoU tillatelsene SF HØ 25 og H B 46 til Aller Aqua i perioden 2017-2022. Nofima har utformet forsøksplaner, fulgt opp gjennomføring og utført analyser og resultatbehandling. Men, tilgang på merder, fisk og gjennomføring har vært etter premissene til oppdretter og Aller Aqua som eier av lisensene. Det er gjennomført 2 forsøk med regnbueørret planlagt av Nofima sammen med Aller Aqua ved Seamatech sitt anlegg Floteneset (Vadheim, Sogn og Fjordane) i 2017 (Nofima rapportene K74/17 og K30/18) og ved Engesund Fiskeoppdrett sitt anlegg ved Langøy (Solund, Sogn og Fjordane) i 2021-2022 (Nofima rapport K53/22). Forsøket ved Floteneset 2017 var videreføring av et samarbeid Aller Aqua hadde med Biofeed AS i å teste mineralingrediensen Biofeed Forte mot lakselus. Forsøk på regnbueørret 2017 viste lavere lusetall hos fisk tildelt Biofeed Forte, og gav grunnlag for å teste dette på laks også. Forsøk ble gjennomført ved Fylkesnes Fisk AS i perioden 2017-2019 med laks der en sammenlignet Salmon Group fôr med Aller Aqua fôr tilsatt Biofeed Forte ved Lelandsholmen (Nofima rapport K64/2018) og Soløy (Nofima rapporter K17/2019), samt forsøk i 2019 der en sammenlignet Aller Aqua fôr med og uten Biofeed Forte (Nofima rapport K11/2020). Ulik fiskstørrelser i forsøk og tilgang på forsøksfôr til de store forsøksmerkene (å 100 000 fisk per merd) gav utfordringer, og det ble ikke observert lavere lusetall hos fisk tildelt fôr fra Aller Aqua. Det ble observert ulike antall lusebehandlinger mellom de ulike merkene, men forskjellene kan også forklares med ulik innblanding av rensefisk i merkene og ikke en dietteffekt. Videre har Aller Aqua testet to ulike planteekstrakter i laks, derav en fermentert ingrediens testet både i laks og regnbueørret. Forsøk på regnbueørret ved Engesund Fiskeoppdrett i 2021-2022 ble gjennomført i merder med laser og rensefisk som holdt lusetallene nede store deler av produksjonen, og ingen forskjeller i lusetall ble observert mellom diettgruppene. Heller ikke forsøk med laks viste noen effekt av de to planteekstraktene på lusetall (Nofima rapport K15/2021 og K20/2023).

Forsøk i prosjektperioden 2017 – 2022 viser at det er mange faktorer som påvirker lusetall på laks og regnbueørret, og at det er utfordrende å gjøre slike forsøk i storskala i sjø, med mange variabler (som rensefisk, laserbehandling og avlusning). En løsning for fremtidige forsøk kan være multifaktorielt design for å ta hensyn til alle lusebehandlingstiltak i et kontrollert og komplekst design. Alternativt tillatelse til å overskride lusegrense i periode for å teste fôr. Begge disse var utenfor mulighetsrommet i denne FoU-tillatelsen. I forsøkene som er gjennomført er det kun det første forsøket med regnbueørret som viste at Biofeed Forte hadde en effekt på antall voksen lus. Videre forsøk med laks viste ikke samme effekt. Dette kan bla forklares med ulik skinnstyrke og slimcelletetthet i skinnen hos laks og regnbueørret (Nofima rapport 18/2016; Quantidoc 2016). Ut fra de forsøkene som er gjennomført er det ikke klare ernæringsmessige tilpasninger eller tilsetninger som har en effekt på antall lus eller reduserer antall behandlinger mot lus på laks og regnbueørret.

5 Referanser

- André S Bogevik, Aleksei Krasnov og Bjarne Hatlen (2016) Fôr med Biofeed Forte til ørret for redusert lusepåslag - FoU konsesjon Vadheim. Konfidensiell Nofima rapport K-81. 25pp.
- André S Bogevik, Thomas Larsson and Bjarne Hatlen (2017) Vadheim 2016 – 2017: Feed with inclusion of Biofeed Forte with and without blood meal. Confidential Nofima Report K-74. 19pp.
- André S Bogevik, Aleksei Krasnov, Turid Mørkøre, Carlo Lazado, Bjarne Hatlen and Thomas Larsson (2018) Vadheim May – October 2017: Trout feed with inclusion of blood meal and Biofeed Forte. Confidential Nofima Report K-30. 35pp.
- André S Bogevik, Lene Sveen, Elisabeth Ytteborg, Christian René Karlsen, Carlo Lazado, Aleksei Krasnov, Gerrit Timmerhaus, Linda Andersen, Steffen H Blindheim, Ole Myre, Grigory Merkin, Mearge Okubamichael og Karin Pittman (2019) Forebyggende ernæring mot lus på laks: Forsøk og dokumentasjon på betydning av samvirkning mellom aktive tilsetninger og grunnfôr. Nofima rapport #30/2019. 39pp.
- André S. Bogevik (2020) Experiments at Aller Aqua R&D licenses 2019. Confidential Report K-11. 40pp.
- André S Bogevik, Thomas Larsson, Arnaud Lefrancois, Mearge A Okubamichael and Karin Pittman (2021) R&D license Aller Aqua 2020 – Vadheim. Confidential Report K-15. 24pp.
- André Sture Bogevik and Lars Thoresen (2022) Aller Aqua R&D licenses: Rainbow trout Langøy 2021-2022 Confidential Report K-53. 17pp.
- Karin Pittman, Grigory Merkin and Mearge Okubamichael (2018) 4 Diets Vadheim 2018. Quantidoc Confidential report 9pp
- Karin Pittman (2016) Aller Aqua-for med Forte forbedrer slimlaget hos laks og ørret. Quantidoc Confidential report 6pp
- Sveen, L., Krasnov, A., Timmerhaus, G., Bogevik, A.S., 2021. Responses to Mineral Supplementation and Salmon Lice (*Lepeophtheirus salmonis*) Infestation in Skin Layers of Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). *Genes*. 12, 602