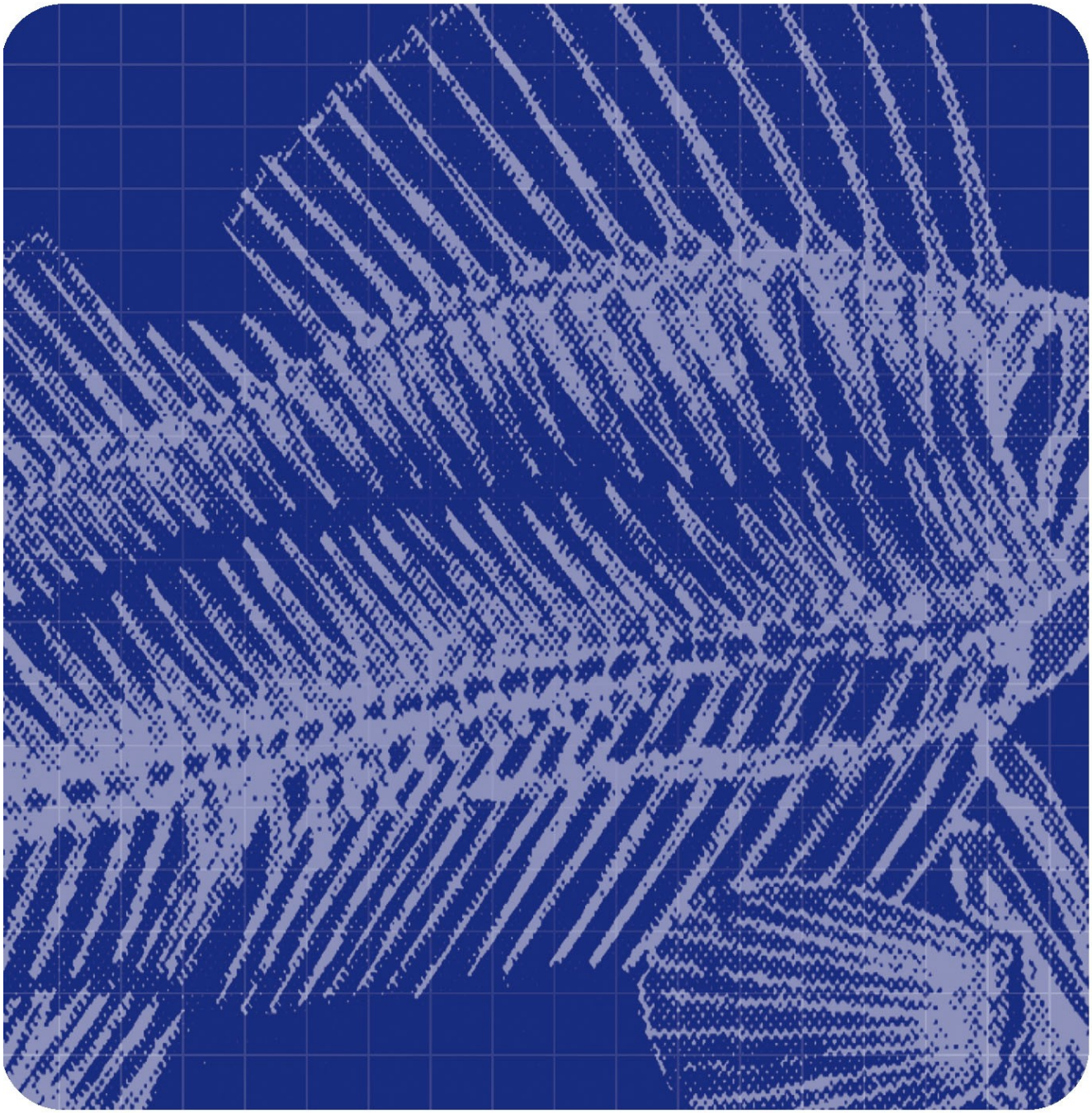
Fiskeriforskning

RAPPORT 14/2005 • Utgitt september 2005

Toleranse for temperaturfall hos torsk i settefiskfasen

Potensiell flaskehals i intensiv sesonguavhengig produksjon

Bjørn-Steinar Sæther



Norut

Norut Gruppen er et konsern for anvendt forskning og utvikling og består av morselskap og seks datterselskaper. Konsernet ble etablert i 1992 – fundamentert på daværende FORUTs fire avdelinger og Fiskeriforskning.

Konsernet består i dag av følgende selskaper:

Fiskeriforskning, Tromsø

Norut IT, Tromsø

Norut Samfunnsforskning, Tromsø

Norut Medisin og Helse, Tromsø

Norut Teknologi, Narvik

Norut NIBR Finnmark, Alta

Konsernet har til sammen vel 240 ansatte.

Fiskeriforskning

Fiskeriforskning (Norsk institutt for fiskeri- og havbruksforskning AS) utfører forskning og utvikling for fiskeri- og havbruksnæringen.

Gjennom strategisk næringsrettet forskning og utviklingsarbeid, i samarbeid med næringsaktører og det offentlige, skal Fiskeriforsknings arbeid bidra til utvikling av
- etterspurt sjømat
- aktuelle oppdrettsarter
- bioteknologiske produkter
- teknologiske løsninger
- konkurransedyktige foretak

Fiskeriforskning har ca. 170 ansatte fordelt på Tromsø (120) og Bergen (50). Fiskeriforskning har velutstyrte laboratorier og forsøksanlegg i Tromsø og Bergen. Norconserv i Stavanger med 30 ansatte er et datterselskap av Fiskeriforskning.

Hovedkontor Tromsø:
Muninbakken 9-13
Postboks 6122
N-9291 Tromsø
Telefon: 77 62 90 00
Telefaks: 77 62 91 00
E-post: post@fiskeriforskning.no

Avdelingskontor Bergen:
Kjerreidviken 16
N-5141 Fyllingsdalen
Telefon: 55 50 12 00
Telefaks: 55 50 12 99
E-post: office@fiskeriforskning.no

Internett: www.fiskeriforskning.no

Fiskeriforskning

Norsk institutt for fiskeri- og havbruksforskning AS
Hovedkontor: Postboks 6122, 9291 Tromsø
Besøksadresse: Muninbakken 9-13,
Tlf.: 77 62 90 00, faks: 77 62 91 00
E-post: post@fiskeriforskning.no

Avd. Bergen: Kjerreidviken 16, 5141 Fyllingsdalen
Tlf.: 55 50 12 00, faks: 55 50 12 99
E-post: office@fiskeriforskning.no

Internett: www.fiskeriforskning.no

Organisasjonsnr.: NO 964 441 898 MVA

RAPPORT

ISBN-13 978-82-7251-564-4
ISBN-10 82-7251-564-4

Rapportnr: 14/2005

Tilgjengelighet: **Åpen**

Tittel:
Toleranse for temperaturfall hos torsk i settefiskfasen

Potensiell flaskehals i intensiv sesonguavhengig produksjon

Dato: 20. september 2005

Antall sider og bilag: 24

Forskningssjef: Arne Mikal Arnesen

Forfatter(e): Bjørn-Steinar Sæther

Prosjektnr.: 6338

Oppdragsgiver: Innovasjon Norge

Oppdragsgivers ref.: ELK-2002/014948-871

3 stikkord:
Toleranse, temperatur, torsk

Sammendrag: (maks 200 ord)
Intensiv årstidsuavhengig produksjon av torsk innebærer produksjon ved høye temperaturer i landanlegg før overføring til merder i sjøen. Fisken vil bli utsatt for et fall i vanntemperatur ved overføring til sjø i den kaldeste perioden på vinteren. Innledende forsøk viste at settefisk (25 til 90 gram) har en relativt høy toleranse for temperaturfall fra området 8-16ºC til området 1-3ºC, målt 24 timer etter temperaturendringen. Forsøkene ble fulgt opp i en studie av effekter av lav temperatur over en periode på 4 måneder. Resultatene herfra viser at effektene observert i tidligere forsøk vedvarte over tid, men var begrenset til ca. 4 uker. Tilveksten i perioden like etter overføring til kaldt vann (3ºC) var påvirket av vanntemperaturen fisken gikk under i perioden forut for temperaturendringen, ved at gruppene som var tilvent høy temperatur vokste dårligere enn fisken som var tilvent lavere temperatur. Denne effekter var borte etter åtte uker, og vektforskjellene som oppstod under perioden med ulik temperatur var borte ved forsøksslutt. Overføring til 1ºC viste generelt samme resultater, men det tok lengre tid for gruppen akklimert til 14ºC å tilpasse seg den nye temperaturen. Langtidsstudiet bekrefter dermed resultatene fra studier av akutte effekter; Torsk i settefiskfasen har relativt høy toleranse for temperaturfall men tilveksten etterpå påvirkes midlertidig av akklimeringstemperaturen. Intensiv produksjon i tidlige livsstadier kan dermed føre til redusert tilvekst i en periode etter utsett i sjø.

English summary: (maks 100 ord)
Atlantic cod exposed to abrupt fall in temperature (8-16ºC to 1 or 3ºC) had limited acute stressrelated responses when transferred to 3ºC, but indications of severe stress appeared in fish transferred to 1ºC. The stressrelated responses escalated with increasing initial temperature, with reduced body water content and increased plasma chloride and osmilality at 12ºC or higher. Fish in these groups also had acute homeostasis problems and >50% of the fish was immobilised within 5 minutes after transfer. On longer term, all groups except the one transferred from 8 to 3ºC showed temporal reductions in growth.

INNHOLD

1 OPPSUMMERING 1

2 INNLEDNING 3
2.1 Problemstillinger 3
2.2 Mål 5

3 MATERIALE OG METODE 6
3.1 Toleranse for temperaturfall ved overføring fra høy til lav sjøtemperatur 6
3.2 Effekt av fiskestørrelse på fysiologiske responser ved overføring fra høy til lav sjøtemperatur 6
3.3 Effekter av temperaturfall på fôrinntak og tilvekst over tid 6
3.4 Statistisk behandling av data 8

4 RESULTATER 9
4.1 Toleranse for temperaturfall ved overføring fra høy til lav temperatur 9
4.2 Effekter av fiskestørrelse ved overføring fra høy til lav temperatur 11
4.3 Effekter av temperaturfall på fôrinntak og vekst over tid 12

5 DISKUSJON 18
5.1 Studier av akutte effekter av temperaturfall 18
5.2 Studier av langtidseffekter 20
5.3 Konklusjoner og anbefalinger 21

6 REFERANSER 23

1 OPPSUMMERING

Torsk (*Gadus morhua*) er i startgropen for kommersielt oppdrett. En aktuell produksjonsstrategi kan deles inn i tre faser: en yngelfase som innebærer startfôring og tilvenning til tørrfôr, en settefiskfase hvor yngelen fôres opp til en størrelse som er hensiktsmessig for overføring til merd i sjø, og til slutt en påfølgende påvekstfase frem til slakting. Mye taler for at yngel og settefiskfasen vil foregå i kar på land, og denne fasen bør fra en økonomisk synsvinkel gjøres så kort som mulig. Ved å kontrollere miljøbetingelsene vil man kunne holde en sesonguavhengig produksjon, med flere utsett av settefisk per år. Ved sesonguavhengig produksjon vil settefisken overføres om vinteren med lave sjøtemperaturer. Settetorsken vil da komme fra intensiv drift på land ved høye temperaturer til produksjon i merd i sjø med lavere temperatur. Slik behandling kan medføre betydelig stress for fisken. Stress gir seg ofte utslag i likevektsproblemer, ved at vannbalansen forstyrres, energi mobiliseres, veksten reduseres og fisken er mer utsatt for sykdom. Suksessen til et slikt konsept vil avhenge av at torsken takler en slik overgang med minimale negative konsekvenser for dens fremtidige produksjonsegenskaper.

Dette prosjektet tok for seg problemstillinger knyttet til et produksjonskonsept som beskrevet ovenfor. Den første problemstillingen tok for seg *settetorskens toleranse for raske temperaturfall*; et simulert utsett fra høy temperatur i kar på land til lav temperatur i sjø. Tilfeldig utvalgte grupper av torsk med gjennomsnittsvekt på ca. 70 g ble akklimert (tilvent) ulike temperaturer; 8, 10, 12, 14 og 15 ºC over en periode på en måned, før de ble direkte overført til lav temperatur (1 eller 3ºC). I forsøket ble kun kortsiktige effekter undersøkt, ved at en del utvalgte fysiologiske parametere ble fulgt opp 24 timer etter temperaturendringen. Resultatene tyder på at torsken er relativt tolerant for slike temperaturfall. Dødeligheten var svært liten, og ikke knyttet til temperaturen fisken var tilvent. Hovedforskjellene lå ikke på temperaturen torsken kom fra, men hva den kom til (1 eller 3ºC). Én grad Celsius var en betydelig større påkjenning sammenlignet med 3ºC, selv om temperaturdifferansen mellom akklimeringstemperatur og lav temperatur var den samme (8-1 vs 10-3, 10-1 vs 12-3). Fisken som kom fra temperaturer på 12ºC eller høyere, og ble overført til 1ºC viste i stor grad alvorlige likevektsproblemer i perioden like etter overføring. Fisken ble raskt liggende på karbunnen uten egenbevegelse, tilsynelatende død eller døende. Etter 24 timer var imidlertid fisken restituert og syntes å ha en god fysiologisk tilstand. I praktisk oppdrett med utsett i merd ville dette med stor sannsynlighet fått et annet utfall, ved at den immobiliserte fisken ville sunket til bunns og påført hverandre klemskader og oksygensvikt, med stor dødelighet som sannsynlig resultat. Fisk som ble satt ut på 3ºC viste ingen problemer ved temperaturfallet. Utsett ved svært lave temperaturer (under 3ºC) bør derfor i praktisk oppdrett unngås så langt det er mulig. I tilfeller hvor det likevel må foretas, utføres utsettet med stor forsiktighet og i så stor grad som mulig unngå at fisken synker og samles i bunnen av merden.

Fiskens størrelse må antas å ha betydning for evnen til å tåle store temperaturfall. I forsøk 2 ble *betydningen av fiskens størrelse for toleranse for temperaturfall undersøkt*. Fisk i ulike størrelsesgrupper (5, 12, 25, 40 og 60 g) ble akklimert til 16ºC over en periode på 4 uker, før de ble overført til 1 eller 3ºC og holdt på denne temperaturen i 24 timer. Igjen ble fisken avlivet etter 24 timer på lav temperatur og en serie fysiologiske parametere ble fulgt opp. Resultatene tyder på at torskens størrelse ved overføring fra høy til lav sjøtemperatur har liten betydning så lenge den er over en minimumsstørrelse. Unngår man å sette ut fisk under ca. 25 g synes overgangen fra høy til lav temperatur relativt uproblematisk med tanke på fiskens evne til å opprettholde likevekten på kort sikt. Igjen var temperaturen fisken kom til viktig (1

eller 3ºC), og hadde større betydning enn fiskens størrelse. Resultatene herfra tilsier at man bør unngå svært lave temperaturer, spesielt hvis torsken som settes ut er mindre enn 25g.

Vurdert ut i fra kortsiktige effekter er altså overføring til svært lav temperatur (eks. 1ºC) problematisk nær uavhengig av hvilken temperatur fisken kommer fra, men problemene er større hvis temperaturen har vært over 10ºC. Overføring til 3ºC synes relativt uproblematisk. Fiskens toleranse endres noe med størrelse, men selv fisk under 10 g hadde få likevekts problemer 24 timer etter overføring fra høy temperatur til 3ºC.

Det tredje forsøket belyste *mulige langsiktige konsekvenser av utsett ved lave sjøtemperaturer etter en intensiv periode med høye vanntemperaturer*. Det langsiktige forsøket viste at temperaturfall som gav små konsekvenser på kort sikt kan gi betydelige utslag på lengre sikt. Her ble torsk på ca. 20g akklimert til 8, 10, 12 eller 14ºC og overført til 1 eller 3ºC. Fiskens fôrinntak (appetitt), fôrutnyttelse og tilvekst ble fulgt opp i 12 uker etter overføring. Resultatene viste at høy temperatur i settefiskfasen påvirket tilvekst og fôrutnyttelse negativt i en periode etter overføring til lav sjøtemperatur. En temperaturendring fra 8 til 3ºC synes å ha liten betydning for tilveksten i forhold til forventet tilvekst ved 3ºC. En økning til 10ºC og overføring til 3ºC gir noe lavere tilvekst sammenlignet med 8-3ºC, men forskjellene blir signifikante først når akklimeringstemperaturen når 12ºC. Tolv og 14ºC gruppene taper vekst ved 3ºC i forhold til de andre to gruppene i en periode på ca 5 uker. Fisk overført fra 14 til 1ºC hadde redusert tilvekst i ca. 9 uker etter overføring sammenlignet med grupper overført fra 8 eller 14ºC til 3ºC. Fisk tilvent 8ºC og overført til 1ºC var ikke negativt påvirket sammenlignet med 8-3ºC/14-3ºC gruppene. Den praktiske betydningen av disse resultatene tilsier at man bør unngå utsett av fisk fra høye temperaturer til svært lav temperatur (eks. 1ºC). Den opparbeidede størrelsesforskjellen i løpet av akklimringsperioden var borte etter 5-9 uker i kaldt sjøvann, og basert på tilveksten alene er energikostnadene knyttet til den ekstra oppvarmingen av vann fra 8 til 14ºC bortkastet om vekstpotensialet ved høy temperatur ikke er utnyttet bedre enn i dette forsøket (32 dagers "vekstperiode").

Produksjonsmodellen beskrevet innledningsvis med yngel og settefiskproduksjonen intensivt i kar på land med utsett merder i sjø synes fra en fysiologisk synsvinkel ikke å skape uforholdsvis store problemer for fisken. Man bør unngå de høyeste vanntemperaturene i intensivperioden om man vet at fisken skal settes ut i merd ved svært lave sjøtemperaturer. Fisken overlever en temperaturdifferanse på 13ºC (14 til 1ºC) men vekst gevinsten generert ved oppvarming av vannet ble i dette stadiet betydelig redusert etter en slik overgang. I dette forsøket var den sågar helt borte etter bare 9 uker. Dette bør tas hensyn til ved produksjon av fisken ved at bruk av temperaturer over 10ºC i settefiskfasen unngås om man vet at fisken skal settes ut ved lave temperaturer i sjøen om vinteren.

2 INNLEDNING

Torsk (*Gadus morhua*) er i startgropen for kommersielt oppdrett, og arten forventes å bli bærende for mye av fremtidig produksjonsøkning i norsk havbruk. Så langt er produksjonen begrenset av tilgangen på yngel av god kvalitet, men lovende resultater tyder på at disse problemene vil være tilbakelagt innen få år. Det er derfor på tide å sette fokus på senere livsstadier i produksjonen. En aktuell produksjonsstrategi kan deles i tre faser: En yngelfase hvor fisken utvikles og startfôres, en settefiskfase hvor ferdig startfôret fisk fôres opp til en størrelse som er hensiktsmessig for overføring til merd i sjø, og en påfølgende matfiskfase hvor fisken fôres videre opp til slaktestørrelse. Mye taler for at settefiskfasen vil foregå i kar på land, noe som vil medføre økte produksjonskostnader. Fra et økonomisk perspektiv bør denne fasen derfor gjøres så kort og intensiv som mulig. Det er rimelig å anta at interessen vil være stor for etablering av en produksjonsmodell som er uavhengig av årstid. Det foreligger resultater som viser at det er mulig å manipulere med gytetidspunkt hos torsk, slik som for laks, og at det blir mulig å produsere yngel året rundt (Norberg *et al.*, 2004). Dette gir fordeler ved at produksjonskapasiteten ved oppdrettsanleggene kan utnyttes bedre, ved at yngel avdelingene er i kontinuerlig drift, samtidig som det gir mulighet for slakting av fisk av ønsket størrelse og kvalitet gjennom hele året.

Intensiv produksjon i kar på land innebærer bruk av oppvarmet vann i forhold til naturlig temperatur i sjø. Ved årstidsuavhengig produksjon vil derfor temperaturdifferansen mellom produksjonen på land og i sjø til tider på året være stor. Dette kan skape problemer ved overføring av settetorsk fra produksjonsanlegg på land til påvekstanlegg i merd i sjø. Hos fisk vil raske temperaturendringer bl.a. føre til respiratoriske endringer, forstyrre syre-base balansen, påvirke nervesystemet, og gi forandringer i vann-salt balansen. Akklimering til en gitt temperatur innebærer endringer som motvirker disse effektene (Crawshaw 1977; 1979). Dersom temperaturendringen går langsomt vil de fysiologiske endringene være mindre markerte og organismen vil kunne kompensere for endringene uten at nevnte effekter oppstår. Raske temperaturendringer vil representere en stressor som utløser generelle stressresponser i fisken. Typiske generelle stressresponser er bl.a. en økning i kortisol og glukosekonsentrasjon i blodet. Hos fisk er imidlertid det mest karakteristiske kjennetegnet ved stress en forstyrrelse i vann-saltbalansen (Wendelaar Bonga, 1997). Hvis belastningen ved overføringen er stor kan dette føre til at fisken dehydreres og at kroppens innhold av salter øker. Dette skyldes sannsynligvis at de fysiologiske prosessene som inngår i fiskens regulering av vann-saltbalansen hemmes i større grad av lav temperatur enn de passive fysiske prosessene (fluks av vann ut og ioner inn i fisken) som de skal motarbeide (Schwarzbaum *et al.* 1991; 1992). Forholdet kan i verste fall føre til så alvorlige forstyrrelser i vann-saltbalansen at fisken dør etter kort tid (Finstad *et al*., 1988; 1989; Finstad og Thommassen 1991). Tidligere forsøk med relativt stor torsk (800-2500g) som ble utsatt for en rask temperatursenking fra 8 til 1°C viste ingen dramatiske effekter på fiskens vann-saltbalanse. Behandlingen viste seg likevel å være meget stressende på fisken; målt ved økt kortisol- og glukosenivåer i blodplasma (Staurnes *et al*., 1994a). Dette var imidlertid relativt stor torsk, og hvordan torsk under 100 gram takler et slikt temperaturfall er fortsatt uavklart.

2.1 Problemstillinger

Prosjektet tar for seg problemstillinger relatert til modellen med tre faser i oppdrett. Fokus vil rettes mot en intensiv settefiskfase med påfølgende utsett av torsk i sjø. Det er nærliggende å

tro at denne fasen vil preges av oppdrett ved høy temperatur, for dermed å oppnå raskere tilvekst.

En årstidsuavhengig produksjon innebærer start av en ny produksjonssyklus flere ganger i året. Dette vil også medføre at settefisk skal overføres fra kar på land til merd i sjø flere ganger i året. Overføringen vil dermed representere en kritisk fase i produksjonen, særlig på de tider av året da sjøtemperaturen er på sitt laveste. Ved overføring til sjø vil fisken kunne utsettes for et temperaturfall fra 10-12°C til 1-3°C i løpet av kort tid. En produksjonsmodell med utsett gjennom hele året vil derfor avhenge av at torsken tåler en slik overgang, og *den første problemstillingen belyser settefiskens toleranse for raske temperaturfall*.

Sett isolert, vil utsett av fisk til merd ved minst mulig størrelse også bidra til optimalisering av settefiskfasen. Perioden med oppvarming av vann og bruk av kostbar infrastruktur på land kan reduseres per generasjon produsert, og turn-over raten i anlegget økes. Vi har i dag en meget begrenset kunnskap om hvilken toleranse torsk av ulik størrelse har for lav vanntemperatur og, ikke minst, temperaturfall. Fiskens kroppsmasse/overflate forhold tilsier at liten fisk kan oppleve større problemer ved overgang fra høy til lav temperatur enn stor fisk. Dette skyldes at fiskens overflate er større per gram kroppsmasse hos liten enn hos stor fisk, og er dermed mer utsatt for uttørking og vann-saltbalanse problemer. I tillegg vil metabolisme raten øke relativt til kroppsvekten med redusert kroppstørrelse (Jobling, 1994). Liten fisk er derfor avhengig av større oksygenopptak per gram kroppsvekt enn større fisk, og dette fører til øket risiko for transport av væske og ioner over gjellene. I settefisk produksjon av torsk vil en produksjonsoptimalisering innebære at fisken settes ut tidligst mulig, men det finnes liten kunnskap om hvilken toleranse torsk av ulik størrelse har for temperaturfall. Staurnes *et al.* (1994a) viste at torsk ned til 800 gram ikke hadde vann-saltbalanse problemer etter overføring fra 8 til 1°C, men de viste at den lave temperaturen likevel representerte en betydelig stress faktor. *Den andre problemstillingen som skal belyses i prosjektet er derfor hvilken effekt fiskestørrelse har på evnen til å takle utsett i sjø ved lave temperaturer.* Temperaturdifferansen som de ulike fiskestørrelsene skal testes ved, baseres på behandlingen som gav moderate problemer i første forsøk. Dette vil øke sjansene til å avsløre eventuell betydning av settefisk størrelse innenfor størrelsesområdet som er aktuelt for utsett, tentativt, 20-150g.

De to første forsøkene vil gi informasjon om torskens toleranse målt ved effekter over kort tid. En kan fortsatt ikke utelukke muligheten for øket dødelighet over tid, vekstreduksjon og/eller stagnasjon og en påfølgende svekket helsetilstand selv ved temperaturfall som ikke gir problemer på kort sikt. Det er derfor nødvendig å følge opp med et langtidsstudie av effekter ved temperaturfall. *Den tredje problemstillingen som tas opp er å undersøke eventuelle langtidseffekter av temperaturfall under forhold som i de to første forsøkene viser liten eller ingen effekter på kort sikt.* Dette forsøket gjennomføres under forhold som kan være realistiske produksjons regimer, med tanke på temperatur og fiskestørrelse, basert på resultatene fra de to første forsøkene.

2.2 Mål

Prosjektet har tre etterprøvbare mål.

- Finne akutt toleransegrense for temperaturfall hos settetorsk, målt ved overlevelse, osmotiske problemer, og stressresponser. Første hypotese er at settetorsk kan overføres fra høy til lav temperatur uten øket dødelighet, endringer i kroppens vannbalanse eller stessresponser (forsøk 1).
- Finne minimumsstørrelse på settetorsk som kan settes ut i sjø. Hypotesen er at overføring av settetorsk fra høy til lav sjøtemperatur kan foregå uavhengig av fiskestørrelse (forsøk 2).
- Finne toleransegrenser for temperaturfall hos settetorsk, målt ved langtidseffekter på fôrinntak og fôrutnyttelse. Hypotesen er at settetorsk kan produseres ved høy temperatur (basert på forsøk 1) i kar på land frem til en gitt størrelse (basert på forsøk 2) før utsett i sjø ved lav temperatur, uten at produksjonspotensialet reduseres over tid (forsøk 3).

3 MATERIALE OG METODE

Problemstillingene er belyst gjennom tre ulike forsøk. De to første fokuserte på akutte effekter, mens i det siste forsøket var effekter over lengre tid belyst. Alle tre forsøkene ble gjennomført ved Havbruksstasjonen i Tromsø, Kårvik i perioden april 2003 til desember 2004. Forsøkene ble gjennomført i henhold til beskrivelse i søknad, med unntak av tidsplanen for forsøk 3 som fikk forskjøvet oppstart fra første til tredje kvartal i 2004 grunnet ombygginger av vannkjøleanlegget ved Havbruksstasjonen. De praktiske aktivitetene ble likevel gjennomført innen utgangen av 2004. Oversikt over forsøksaktiviteten er gjengitt i figur 1.

3.1 Toleranse for temperaturfall ved overføring fra høy til lav sjøtemperatur

Seks duplikate grupper med 20 fisk per kar ble akklimert (tilvent) over en fireukers periode til henholdsvis: 7.8ºC (0.37); 9.9ºC (0.55); 12ºC (0.71); 13.9ºC (0.94); og 14.8ºC (0.98). I det følgende vil disse refereres til som 8, 10, 12, 14 og 15ºC gruppene. Fisken (gjennomsnittsvekt 72.3 g (Std avvik ±1.6g)) fikk fôr i overskudd hver dag (3mm DanaFeed EX1562) mellom kl. 09.00 og 11.00. I akklimeringsperioden ble fisken holdt på simulert naturlig daglengde for årstid og breddegrad: og daglengden økte fra 15 timer og 20 minutter til 20 timer og 40 minutter gjennom forsøket. Etter at torsken var akklimert til ulike temperaturer ble replikatene splittet i to like utvalg á 10 fisk og overført direkte til 1 (faktisk temperatur 0.9ºC) eller 3ºC (faktisk temperatur 2.9ºC). Etter 24 timer på lav temperatur ble andel dødelighet registrert, fisken avlivet og forsøket avsluttet. Helblodprøver fra overlevende fisk ble analysert for glukosekonsentrasjon ved hjelp av i-STAT Portable Clinical Analyzer i kombinasjon med $EC8^+$ kassetter (Foss *et al.*, 2004). Fra blodplasma ble osmolalitet (Fiske one-ten Osmometer, Fiske Associates Massachusetts, USA) og klorid (Corning 925, CIBA Corning Diagnostics, Essex, England) og kortisol (RIAA analyse, Olsen *et al.*, 1992). I tillegg til gjelleprøver for analyser av Na^+-K^+-ATPase aktivitet (McCormick, 1993; Schrock *et al.*, 1994) og muskelprøver for bestemmelse av vanninnhold (tørking til konstant vekt ved 105 ºC). Resultatene fra første forsøk vil gi en pekepinn på hvor store temperaturfall torsk i settefiskfasen er i stand til å tolerere, og hvilke fysiologiske utfordringer de utsettes for.

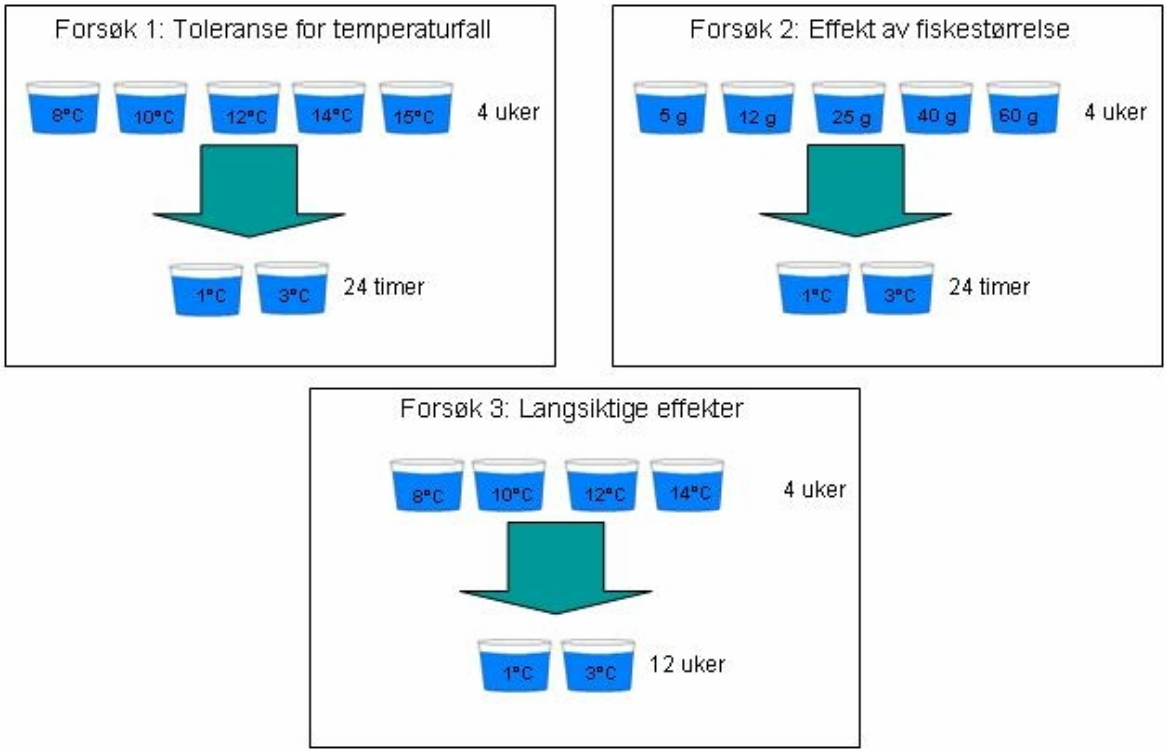
3.2 Effekt av fiskestørrelse på fysiologiske responser ved overføring fra høy til lav sjøtemperatur

I dette forsøket, som ble gjennomført i samme kar som forsøk 1, ble fem grupper settetorsk med ulik størrelse (5, 12, 25, 43 og 60; 20 stk per størrelse) akklimert til 15.7 ºC (st avvik ±0.03) over en periode på 3 uker, og deretter overført direkte til kaldt vann (1.3 eller 3°C) i 24 timer. Fôr og fôringsrutiner var som for første forsøk, og daglengden var simulert naturlig. Påfølgende prøvetaking ble gjennomført som ved forsøk 1.

3.3 Effekter av temperaturfall på fôrinntak og tilvekst over tid

Temperaturdifferanser som ikke kompromitterer overlevelse, eller gir umiddelbare problemer med vann-saltbalansen kan likevel skape problemer over tid. Slike problemer kan enten tilta

og ende opp med redusert overlevelse eller tilvekst, eller de kan være midlertidige ved at fisken kan kompensere for dem etter akklimering til den lave temperaturen. En kan ikke utelukke at økning i generelt stressnivå, som demonstert av Staurnes *et al.* (1994a), kan føre til redusert overlevelse, vekst eller svekket helsetilstand over tid. Langsiktige konsekvenser av en intensiv settefisk fase studeres ved å akklimere seks duplikate grupper settetorsk (75 stk per replikat/kar) til ulike temperaturer (8, 10, 12 og 14ºC) gjennom en periode på 32 dager. Fisken overføres til lav temperatur, alle gruppene til 3ºC i tillegg til at fisk fra 8 og 14ºC også overføres til 1ºC (tabell 1). Behandlingstemperaturer i dette forsøket ble valgt ut i fra resultatene i det første forsøket. Settefiskstørrelsen i dette forsøket ble valgt ut med bakgrunn i resultatene fra forsøk to, men også påvirket av begrenset tilgjengelighet til mindre fisk ved forsøksstart. Fra akklimeringsperioden starter til forsøket er avsluttet følges fiskens daglige fôrinntak opp på karnivå, basert på fôroppsamling (Bendiksen *et al.*, 2002). Fisken var individmerket (Trovan PIT tag, ID100), og individuell tilvekst ble fulgt over tid med veiing 5 ganger i hele forsøksperioden.



Figur 1. *Flytskjema over forsøkene i prosjektet. Forsøk 1 gav innformasjon om hvor store temperaturfall som er akseptable på kort sikt. Forsøk 2 gav informasjon betydningen av torskens størrelse for toleransen for temperaturfall, igjen på kort sikt. Forsøk 3 gikk videre med temperaturfall som gav moderate effekter i forsøk 1 ved en fiskestørrelse så nær minste kritiske størrelse som mulig, basert på resultatene i forsøk 2. I dette forsøket ble langsiktige konsekvenser for fôrinntak og vekst fulgt opp.*

Tabell 1. Temperaturer i akklimeringsperiode (5 uker) og påfølgende lavtemperaturperiode (12 uker) til torsk i settefiskfasen (Forsøk 3). Variasjon i temperatur er angitt som ± standardavvik i parentes.

Gruppe	Akklimeringstemperatur (ºC)	Lav temperaur (ºC)
8-1	8.1 (0.49)	1.2 (0.31)
8-3	8.2 (0.49)	2.9 (0.33)
10-3	10.0 (0.32)	2.8 (0.31)
12-3	11.8 (0.26)	2.9 (0.26)
14-1	13.8 (0.38)	1.2 (0.31)
14-3	13.9 (0.46)	2.8 (0.24)

3.4 Statistisk behandling av data

Alle individdata fra studier av akutte effekter (forsøk 1 og 2) er analysert ved bruk av variansanalyse (ANOVA). I presentasjonen av resultatene er alle verdier angitt som gjennomsnitt ± standardavvik. Der signifikante effekter er påvist ved bruk av ANOVA er nøyaktig lokalisering av disse foretatt med Tukey HSD (likt antall) eller Scheffé (ulikt antall) post-hoc tester. Resultater fra studier av effekter over tid (forsøk 3) er gjort på gjennomsnittsverdier fra replikater (n=2) med variansanalyse som tar hensyn til bruk av gjentatte målinger (repeated measurements ANOVA). Ved signifikante effekter er disse fulgt opp ved bruk av post-hoc prosedyren i SYSTAT, og nøyaktig lokalisering ved tukey post-hoc test. Data på overlevelse er analysert ved kji-kvadrat test på frekvensdata fra en kontingenstabell. Temperaturdata under forsøk 2 (identisk temperatur mellom ulike størrelsesgrupper) ble analysert med Kruskal-Wallis ikke-parametrisk variansanalyse. Forskjeller som fremkommer med en sannsynlighet på 5% eller mindre ansees som signifikante. Sammenhengen mellom akklimeringstemperatur og tilvekst ble i tredje forsøk korrelert med Spearman-Rank korrelasjon. Valg av analyser er gjort med bakgrunn i Zar (1984) og Kleinbaum *et al.*, (1988).

4 RESULTATER

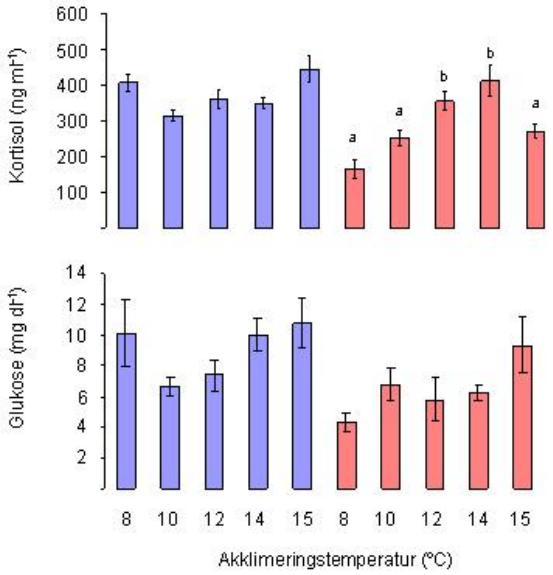
4.1 Toleranse for temperaturfall ved overføring fra høy til lav temperatur

Det var ingen forskjell i gjennomsnittlig individvekt mellom gruppene ved forsøksstart ($F_{4,5}$=1.0; P=0.479). Etter 32 dager ved ulike temperaturer hadde fisken vokst til 100.5 gram (± 5.2), fortsatt uten at det var signifikante forskjeller i vekt mellom gruppene ($F_{4,5}$=3.2; P=0.118; tabell 2). Akklimeringsperioden var relativt kort for at eventuelle temperaturforskjeller skulle manifestere seg i ulik sluttvekt, men gjennomsnittlig vekstrate var heller ikke forskjellig mellom gruppene i perioden (1.0 % per dag (stdav 0.2), $F_{4,5}$=1.4; P=0.343). Torsken som ble satt over i 3ºC vann var visuelt sett uanfektet uansett hvilken temperatur de kom i fra. Fisk som ble satt over i 1ºC vann viste alle mer eller mindre tegn til likevektsproblemer, ved at de hadde problemer med å svømme uten å legge seg over på siden, viste lav gjelleaktivitet, og generelt svært nedsatt motorisk aktivitet. Dette var spesielt uttalt hos fisk akklimert til temperatur på 12ºC eller høyere. Her ble rundt halvparten av fisken immobilisert innen 2 minutter etter overføringen og lå tilsynelatende livløse på karbunnen. Til tross for dette døde kun to fisk under testen, begge overført til 1ºC, én fra 12 og én fra 14ºC gruppen. Resterende fisk svømte relativt upåvirket rundt i karene før avslutningen av forsøket, om enn med redusert aktivitetsnivå.

Resultatene fra blod- og vevsprøver er gjengitt i tabell 2 og figur 2. Vanninnholdet i muskelen var ikke påvirket av akklimeringstemperaturen, men signifikant lavere hos gruppene overført til 1 sammenlignet med 3ºC ($F_{1,18}$=5.1; P=0.037). Det lavere vanninnholdet var fulgt av høyere osmolalitet i plasma ($F_{1,9}$=31.7;P<0.001). Her var det i tillegg lavere osmolalitet hos fisk akklimert til hhv 12 og 14ºC og overført til 3ºC sammenlignet med 1ºC (Tukey HSD). Resultatene fra kloridmålingene gjenspeiler i stor grad osmolaliteten. Fisk overført til 1ºC hadde høyere plasmakloridinnhold enn fisk overført til 3ºC ($F_{1,9}$=15.4; P=0.004), og ved 12ºC akklimeringstemperatur var det signifikant forskjell mellom fisken overført til 1 og 3ºC (Tukey HSD). Det var ingen forskjell i Na^+-K^+-ATPase aktivitet i gjellene mellom gruppene. Kortisolnivåene i plasma var høye i alle gruppene, og det fremkom ingen forskjell mellom akklimeringstemperaturer når fisken ble eksponert for 1ºC. Her hadde alle gruppene kortisolverdier over 300 ng ml^{-1} (figur 2). I gruppene som ble overført til 3ºC etter akklimering var bildet noe mer nyansert, men fortsatt var ingen grupper under 100 ng ml^{-1}. Her var det forskjeller mellom de ulike akklimeringstemperaturene, ved at 12 og 14ºC gruppen hadde signifikant høyere plasmakortisolnivå enn de andre (figur 2). Det var i tillegg signifikant lavere kortisolnivåer i denne gruppen som helhet, sammenlignet med gruppene overført til 1ºC ($F_{1,10}$=17.8; P=0.002), og en signifikant forskjell i kortisolnivå mellom 1 og 3ºC gruppene akklimert til 8ºC (Tukey HSD). Glukoseverdiene viste samme tendenser som kortisol, med signifikant effekt av hvilken temperatur fisken ble overført til **(**$F_{1,13}$=5.7; P=0.033). Glukoseresponsen var også nyansert ved at den økte med økende akklimeringstemperatur, men uten at det var forskjeller mellom 1 og 3ºC ved noen akklimeringstemperatur ($F_{4,13}$=4.2; P=0.021).

Tabell 2. *Gjennomsnittlige nivåer av utvalgte parametere 24 timer etter overføring av torsk fra ulike akklimeringstemperaturer til hhv. 1 eller 3ºC. Tall i parentes angir variasjon som standardavvik. Signifikante forskjeller mellom fisk overført til henholdsvis 1 og 3 ºC er indikert med * bak parameterbetegnelsen.*

	Akklimeringstemperatur									
	8	**10**	**12**	**14**	**15**	**8**	**10**	**12**	**14**	**15**
	Overført til 1ºC					**Overført til 3ºC**				
Vekt	95.8	101.8	100.9	95.6	104.1	97.8	110.7	93.6	99.4	105.4
(g)	(3.2)	(4.0)	(5.2)	(3.7)	(4.4)	(4.3)	(4.2)	(4.9)	(3.5)	(4.2)
Vanninnhold i muskel *	79.3	79.1	78.6	78.7	79.5	79.6	79.3	79.2	79.5	79.5
(%)	(0.1)	(0.1)	(0.2)	(0.2)	(0.1)	(0.1)	(0.1)	(0.1)	(0.1)	(0.1)
Osmolalitet *	353.33	350.21	365.15	366.83	347.66	344.30	344.83	343.15	342.20	335.58
(mOsm Kg^{-1})	(2.70)	(2.64)	(4.85)	(3.32)	(2.09)	(1.48)	(1.54)	(2.72)	(3.11)	(1.56)
Klorid *	153.20	151.52	165.06	165.06	151.45	151.25	148.71	151.05	148.30	146.29
(mmol l^{-1})	(1.55)	(1.37)	(3.26)	(2.13)	(2.30)	(1.19)	(1.78)	(1.72)	(1.83)	(1.48)
Na-K-ATPase	5.91	6.00	6.52	6.64	6.50	6.80	8.04	5.81	7.01	7.05
(µmol ADP mg^{-1} Prot t^{-1})	(0.30)	(0.31)	(0.44)	(0.49)	(0.30)	(0.40)	(0.65)	(0.44)	(0.34)	(0.35)



Figur 2. *Plasma kortisol og glukosenivå i blod hos torsk 24 timer etter overføring til hhv. 1 (blått) og 3ºC (rødt). Fisken var på forhånd akklimert til ulike temperaturer, hhv. 8, 10, 12, 14 og 15ºC. Ulik bokstav over søylene innad i hhv 1 og 3ºC grupperingene, indikerer signifikant forskjell på 5% nivå.*

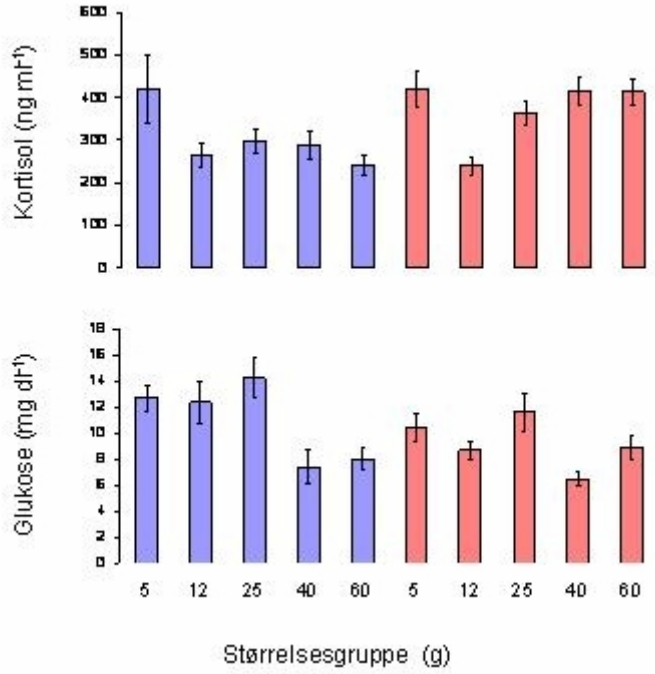
4.2 Effekter av fiskestørrelse ved overføring fra høy til lav temperatur

Fiskens vekt i de ulike gruppene var signifikant forskjellig ved forsøksslutt ($F_{4,15}$= 2189.8; P<0.001), med unntak av gruppene på 25 og 43 gram (tabell 3). Ingen fisk overført til 3ºC døde, mens totalt 4 fisk overført til 1ºC døde (2 stk i 5 g og 1 stk i hhv 25 og 43 g gruppene) uten at det var signifikant forskjell mellom gruppene (Kji-kvadrat=3.6, υ=4; P>0.05). Samlet for alle størrelsesgrupper utgjør dødeligheten 4% i 1ºC gruppen, noe som er signifikant høyere sammenlignet med gruppene overført til 3ºC (Kji-kvadrat=4.1; υ=1; P<0.05). Samlet sett er vanninnholdet i muskelen lavere hos fisk overført til 1 sammenlignet med 3ºC ($F_{1,14}$=54.4; P<0.001), men det fremkom ingen effekter av fiskestørrelse innen disse to temperaturgruppene. Slår man sammen 1 og 3ºC gruppene var det derimot effekter av fiskestørrelse ($F_{4,14}$= 22.0; P<0.001) ved at den minste fisken hadde signifikant lavere vanninnhold i muskulaturen sammenlignet med alle andre størrelsesgrupper. Forskjellen mellom 1 og 3ºC gruppene går igjen i osmolalitet ($F_{1,18}$= 15.0; P=0.001) og kloridkonsentrasjon ($F_{1,14}$= 23.6; P<0.001), ved at fisken overført til lavest temperatur har høyere plasmanivåer av begge parametere. Det var ikke alltid nok plasma tilgjengelig fra den minste fisken til å analysere både for klorid og osmolalitet, og i disse tilfellene fikk osmolalitetsanalysene prioritet. Det var ikke forskjell i Na^+-K^+-ATPase aktivitet mellom temperaturgruppene, men som for fiskestørrelsen fremkom det her forskjeller hvis man slår sammen 1 og 3ºC gruppene og ser på fiskevekt alene. Grovt sett kan det sies at det var en trend mot lavere enzymaktivitet med økende fiskevekt, men den eneste signifikante forskjellen som fremkom var mellom 12 og 60 grams gruppene.

Tabell 3. *Fysiologiske målinger på torsk av ulik størrelse 24 timer etter overføring til hhv. 1 eller 3ºC. Fisken var før overføring til kaldt sjøvann akklimert til 16ºC. Tall i parentes angir variasjon som standardavvik. Signifikante forskjeller mellom fisk overført til henholdsvis 1 og 3ºC er indikert med * bak parameterbetegnelse. Vekten angitt i tabellen er vekt etter akklimeringsperioden, og avviker dermed fra størrelsen indikert ved gruppeinndeling. Plasmamengden tilgjengelig fra den minste fisken var begrenset, og osmolalitetsmålingene fikk prioritet foran klorid.*

	Størrelsesgrupper									
	5	**12**	**25**	**40**	**60**	**5**	**12**	**25**	**40**	**60**
	Overført til 1ºC					**Overført til 3ºC**				
Vekt	9.4	24.8	46.3	46.5	70.7	10.4	26.1	43.0	51.4	71.4
(g)	(0.6)	(1.5)	(1.8)	(2.2)	(2.8)	(0.5)	(1.7)	(2.0)	(1.5)	(2.2)
Vanninnhold i muskel*	76.7	78.4	77.5	78.4	78.5	77.9	79.1	78.7	79.0	79.4
(%)	(0.3)	(0.2)	(0.2)	(0.2)	(0.2)	(0.1)	(0.1)	(0.1)	(0.2)	(0.1)
Osmolaritet*	394.33	366.02	402.08	403.33	374.98	340.75	344.44	345.53	354.11	352.36
(mOsm Kg-1)	(21.24)	(3.76)	(85.98)	(5.37)	(5.47)	(3.23)	(2.43)	(2.78)	(5.86)	(6.28)
Klorid*		155.94	171.33	173.81	165.20	137.00	139.88	140.93	155.43	151.58
(mmol L-1)		(2.81)	(4.17)	(3.99)	(2.99)		(2.80)	(1.66)	(2.89)	(2.81)
Na-K-ATPase	14.48	15.44	11.28	12.58	11.79	13.31	16.68	11.53	13.05	8.80
(µmol ADP mg-1 Protein time-1)	(0.97)	(1.02)	(0.78)	(0.74)	(0.67)	(1.35)	(1.76)	(0.79)	(1.05)	(0.50)

Kortisolnivåene var høye i alle størrelsesgruppene (figur 3); ingen av dem hadde gjennomsnittsnivå under 200 ng ml^{-1}. Nivåene tenderte til å endres med økende fiskestørrelse, men disse endringene var ikke konsistente. Den eneste signifikante effekten som fremkom var en følge av temperaturen fisken ble overført til; gruppene overført til 3ºC hadde samlet sett et høyere nivå enn gruppene overført til 1ºC ($F_{1,18}$= 4.7; P=0.043). Glukoseverdiene viste et litt mer nyansert bilde (figur 2), med generell reduksjon i plasmaglukose med økende fiskestørrelse ($F_{4,14}$= 10.2; P<0.001). Igjen var det forskjell mellom fisk overført til 1 og 3ºC ($F_{1,14}$= 5.5; P= 0.034), med lavest nivå hos fisken overført til høyeste temperatur.

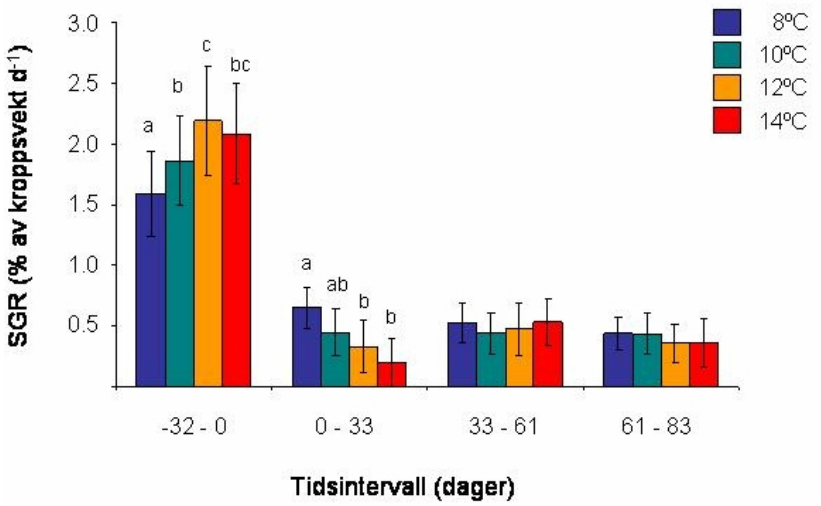


Figur 3. *Plasma kortisol og glukosenivå i blod hos ulike størrelsesgrupper av torsk i settefiskfasen eksponert for hhv. 1 (blått) og 3ºC (rødt) i 24 timer etter at de var akklimert til 16ºC. Merk: størrelsesgrupperingene er basert på størrelse ved forsøksstart, vekt ved testtidspunktet er gjengitt i tabell 3.*

4.3 Effekter av temperaturfall på fôrinntak og vekst over tid

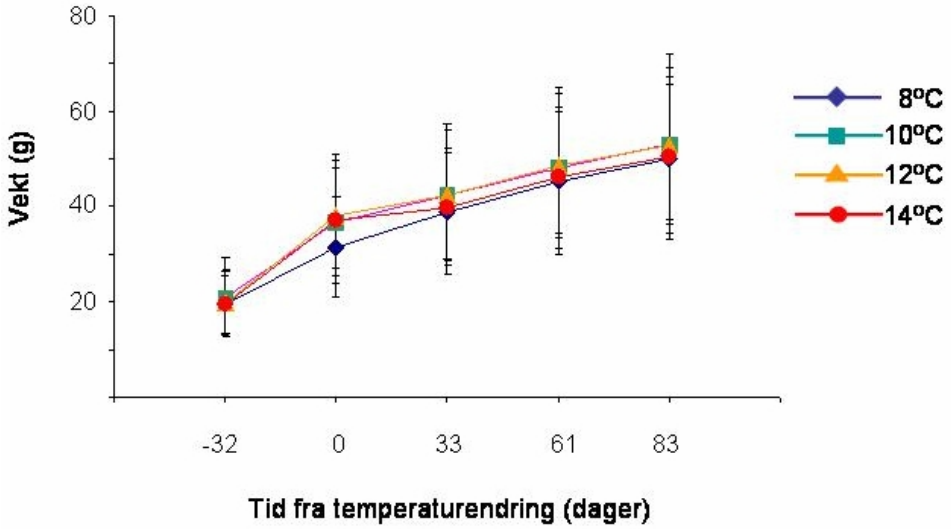
I perioden etter merking var det noen individer som falt fra, og overlevelsen gjennom forsøket samlet endte dermed på 95.4%. Det var ingen forskjell i overlevelse mellom noen av gruppene i forsøket (Kji-Kvadrat 2.3; υ=5). Resultater fra fisk som ble overført til 3ºC viser at tilveksten i akklimeringsperioden var påvirket av temperaturen den ble holdt ved (Spearman rank r=0.795; n=12; P<0.005; figur 4), med tilsynelatende best tilvekst ved 12ºC. Sammenligning av tilveksten i denne perioden mellom gruppene viste signifikante forskjeller i vekstrate ($F_{3,4}$=32.6; P=0.03). Som indikert i figur 4 var tilveksten ved 8ºC signifikant lavere enn ved de andre gruppene (Tukey HSD test). Ved 10ºC var tilveksten lavere enn hos 12ºC-gruppen, 14ºC-gruppen. Det var ingen signifikant forskjell mellom gruppene på 12 og 14ºC, men en tendens til at torsk holdt ved 12ºC hadde raskest tilvekst under akklimeringen. I perioden like etter overføring til lav temperatur (dag 0-33) endret dette bildet seg ved at vekstraten var negativt korrelert til akklimeringstemperatur (figur 4; Spearman rank r=0.976; n=8; P=0.001). Sammenligning av tilveksten mellom gruppene viste også signifikante forskjeller (Tukey HSD) ved at gruppen akklimert til 8ºC hadde signifikant bedre tilvekst

sammenlignet med fisk akklimert til 12 og 14ºC. I periodene mellom dag 33 og dag 83 var det ingen forskjeller i tilvekst mellom gruppene.



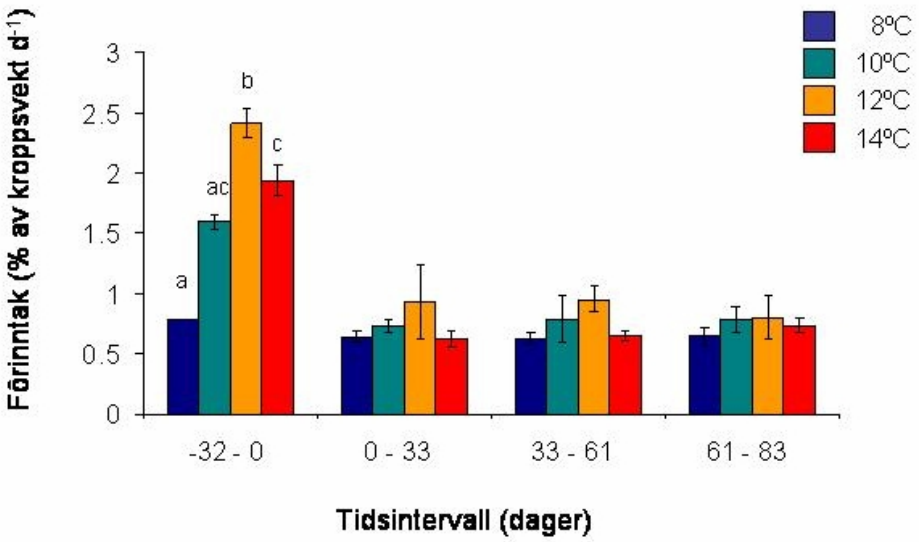
Figur 4. *Spesifikk vekstrate hos grupper av torsk akklimert til ulike temperaturer i 32 dager og overført til 3ºC for påfølgende studier i 83 dager. Temperaturendringen fant sted dag 0. Ulik bokstav over søylene indikerer signifikante forskjeller på 5% nivå.*

Det var ikke signifikante forskjeller i vekt mellom noen av gruppene overført til 3ºC på noe tidspunkt i forsøket ($F_{3,4}$=1.5; P=0.310; figur 5). Det var likevel en tendens til at fisken holdt ved 8ºC hadde noe lavere vekt enn gruppene holdt ved 10, 12 og 14ºC etter akklimeringsperioden.



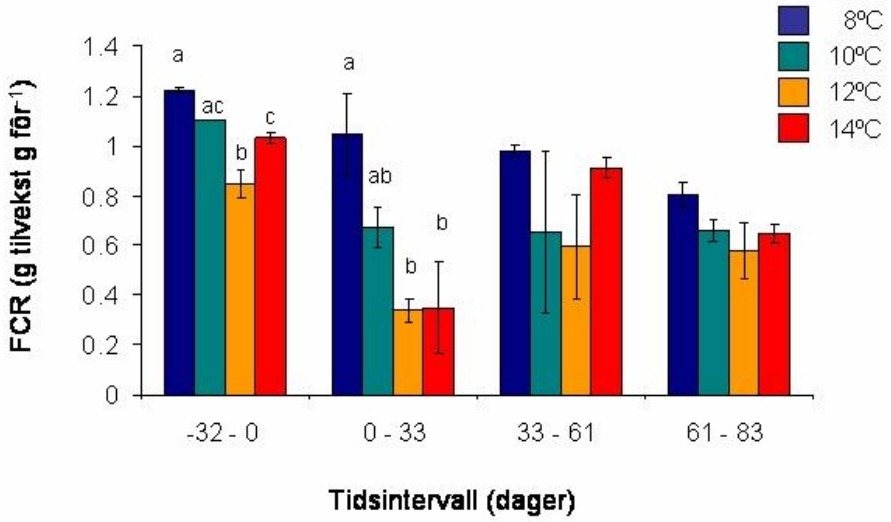
Figur 5. *Vektutvikling hos grupper av torsk akklimert til ulike temperaturer i 32 dager og overført til 3ºC for påfølgende studier i 83 dager. Temperaturendringen fant sted dag 0.*

Fôrinntak, målt som daglig fôrinntak per kar og regnet om til inntak per biomasse i de ulike gruppene, viser samme bilde som SGR under akklimeringen (figur 6). Fôrinntak øker med økende temperatur inntil 12ºC, med en reduksjon når temperaturen økes til 14ºC. Etter overføringen til 3ºC var det ikke lengre forskjell i fôrinntak mellom gruppene.



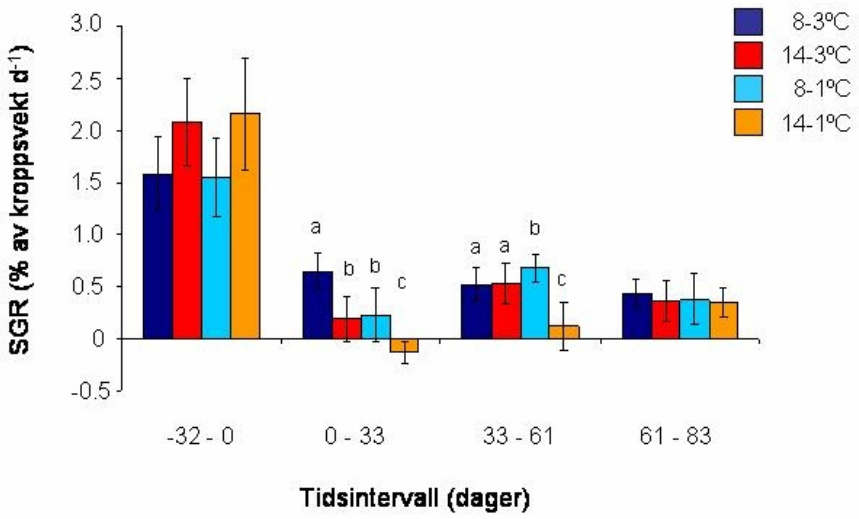
Figur 6. *Fôrinntak i prosent av kroppsvekt per dag hos grupper av torsk akklimert til ulike temperaturer i 32 dager og overført til 3ºC for påfølgende studier i 83 dager. Temperaturendringen fant sted dag 0. Ulik bokstav over søylene indikerer signifikante forskjeller på 5% nivå.*

Temperaturen under akklimeringen hadde signifikant effekt på fiskens evne til å omsette fôret i tilvekst (figur 7). Under akklimeringen var fôrutnyttelsen best (høyest FCR) hos torsken akklimert til lavest temperatur, og utnyttelsesgraden faller med økende temperatur opp til 12ºC. Utnyttelsesgraden forholder seg motsatt til temperatur sammenlignet med fôrinntaket (jfr. fig 6 samme periode). Etter overføringen til 3ºC faller forholdet til fôrinntaket bort, men fôrutnyttelsen synes falle med økende akklimeringstemperatur, med høyest FCR hos fisken som kom fra 8ºC og har opplevd lavest temperaturfall. Forskjellene i FCR mellom gruppene er ikke signifikante etter dag 33, og effekten synes gradvis å bortfalle. Fôrutnyttelsen hos torsk akklimert til 8ºC var hele tide god sett i forhold til de andre gruppene ved samme tidspunkt.



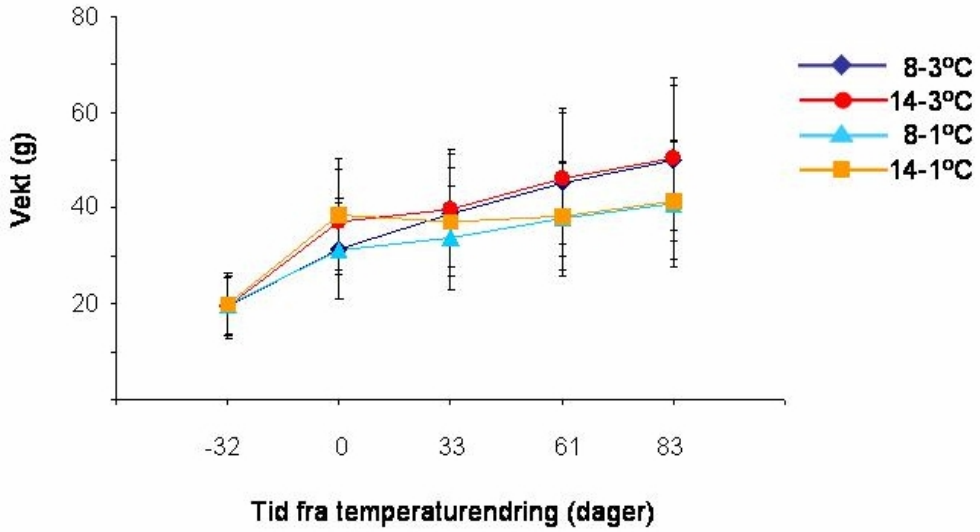
Figur 7. *Fôrkonverteringsrate (FCR) hos grupper av torsk akklimert til ulike temperaturer i 32 dager og overført til 3ºC for påfølgende studier i 83 dager. Temperaturendringen fant sted dag 0. Ulik bokstav over søylene indikerer signifikante forskjeller på 5% nivå.*

To grupper akklimert til 8 og 14ºC ble overført til 1ºC etter akklimeringen (hhv. 8-1ºC og 14-1ºC), og vekstraten hos disse er gjengitt i figur 8. 8-3ºC og 14-3ºC resultatene i figuren er de samme som 8 og 14ºC gruppene i figurene 4 og 5. I akklimeringsperioden vokste fisken på 14ºC bedre enn fisken på 8ºC ($F_{1,4}$=9.8; P=0.035; figur 8). Overføring til hhv. 1 eller 3ºC påvirker tilveksten uavhengig av akklimeringstemperatur. Fisken som ble overført fra 8 til 3ºC har signifikant bedre tilvekst enn de andre gruppene (Tukey HSD test) mellom dag 0 og dag 33. I samme periode var det ikke forskjell mellom gruppen overført fra 8 til 1ºC og gruppen overført fra 14 til 3ºC. Fisken som opplevde det største temperaturfallet (14-1ºC) skilte seg også ut som den som klarte seg dårligst i denne perioden ved at den tapte vekt og hadde signifikant lavere vekstrate enn alle de andre gruppene (Tukey HSD). I perioden fra 33 til 61 dager etter overføring til kaldt vann er det verd å merke seg at gruppen 14-1ºC fortsatt hadde signifikant lavere tilvekst enn de andre gruppene. Her var det gruppen 8-1ºC som vokste best, mens det ikke var forskjell mellom gruppene 8-3ºC og 14-3ºC (Tukey HSD). Ser man kun på akklimeringstemperaturen etter overføring til lav temperatur, vokste fisk akklimert til 8ºC bedre enn fisk akklimert til 14ºC i periodene dag 0-33 og dag 34-61 (hhv. $F_{1,4}$=78.2; P=0.01 og $F_{1,4}$=66.7; P=0.001). I den siste perioden, dag 61 til 83 etter overføring til lav temperatur, var det ikke lengre forskjell i vekstrate mellom noen av gruppen.



Figur 8. *Spesifikk vekstrate hos grupper av torsk akklimert til ulike temperaturer i 32 dager og overført til 1 eller 3ºC for påfølgende studier i 83 dager. Temperaturendringen fant sted dag 0. Ulik bokstav over søylene indikerer signifikante forskjeller på 5% nivå.*

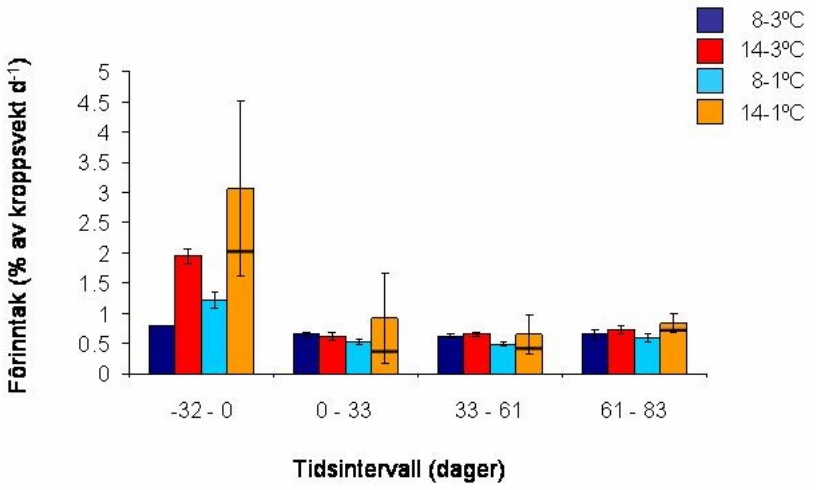
Fisken i gruppene på 14ºC hadde signifikant høyere vekt enn fisken på 8ºC etter akklimeringsperioden (dag 0; $F_{1,4}$=24.5; P=0.008), og dette var det eneste tidspunktet hvor akklimeringstemperaturen hadde signifikant betydning for fiskens vekt (figur 9). Begge gruppene som ble overført til 3ºC, samt 8-1ºC gruppen klarte å opprettholde en rimelig bra tilvekst, mens 14-1ºC gruppen tapte vekt fra dag 0 til 33. Fra dag 33 og ut forsøket var vekten mer avhengig av hvilken temperatur fisken kom til (1 vs 3ºC) enn akklimeringstemperaturen, og ved dag 61 var det signifikant forskjell i vekt mellom gruppene på 1 og 3ºC ($F_{1,4}$=25.6; P= 0.007). Ved dag 83 var denne forskjellen ikke lengre signifikant ($F_{1,4}$=6.6; P=0.062), men tendensen er fortsatt klar.



Figur 9. *Vektutvikling hos grupper av torsk akklimert til ulike temperaturer i 32 dager og overført til 1 eller 3ºC for påfølgende studier i 83 dager. Temperaturendringen fant sted dag 0.*

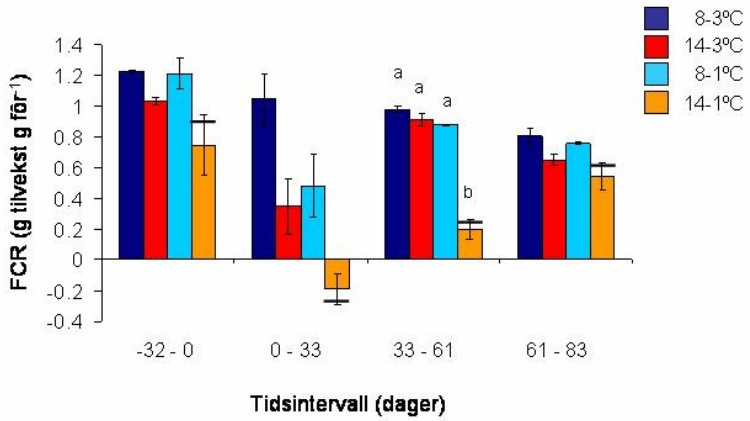
Fôrinntaket var nær signifikant forskjellig mellom torsk akklimert til 8 og 14ºC ($F_{1,4}$=6.2; P=0. 068) i akklimeringsperioden (figur 10). En av 14ºC gruppene (14-1ºC) hadde svært høyt fôrinntak i samme periode uten at dette var gjenspeilet i tilveksten. Dette forholdet vedvarte i redusert grad gjennom forsøket, noe som kan skyldes en metodisk feil ved målingene i et av karene som inngår i denne gruppen. Resultatene fra denne gruppen uten omtalte kar er gjengitt som en sort strek i figurene 10 og 11, da dette antas å gi et mer reelt bilde av gruppens prestasjoner.

Fôrutnyttelsen synes igjen å være best hos fisk akklimert til lavest temperatur i akklimeringsperioden, men her fremkom ingen signifikante forskjeller (figur 11).



Figur 10. *Fôrinntak i prosent av kroppsvekt per dag hos torsk akklimert til ulike temperaturer i 32 dager og overført til 1 eller 3ºC for påfølgende studier i 83 dager. Temperaturendringen fant sted dag 0.*

Fôrutnyttelsen i perioden etter overføring til lave temperaturer gjenspeilte i noen grad tilveksten i de ulike periodene (jfr. fig 8), med best fôrutnyttelse hos fisken som opplevde lavest temperaturfall. I perioden mellom dag 33 og 61 var fôrutnyttelsen i gruppen som opplevde størst temperaturfall (14-1ºC) signifikant lavere enn de andre gruppene.



Figur 11. *Fôrkonverteringsrate hos torsk akklimert til ulike temperaturer i 32 dager og overført til 1 eller 3ºC for påfølgende studier i 83 dager. Temperaturendringen fant sted dag 0. Ulik bokstav over søylene indikerer signifikante forskjeller på 5% nivå.*

5 DISKUSJON

5.1 Studier av akutte effekter av temperaturfall

Resultatene fra innledende forsøk med akutte effekter avslører ingen økt dødelighet som følge av ulik akklimeringstemperatur. Det fremkom imidlertid en moderat økning i andel død fisk hos grupper overført til 1ºC sammenlignet med 3ºC i forsøk 2. Observasjoner av immobilisert fisk i en periode like etter overføring fra 12ºC eller høyere til 1ºC gir grunn til å være varsom med å påføre fisken slike temperaturendringer. I tilfeller med overføring i kommersiell skala til merd i sjø er det grunn til å tro at utfallet hadde blitt annerledes, med ansamling av fisk på merdbunnen og klemskader, oksygensvikt og stor dødelighet som resultat. Overføring til 3ºC medførte ingen visuelle problemer med likevekt, og basert på observasjoner av fisken klarte den overgangen uten problemer. Ser man på resultatene fra parametre i helblod og plasma så bekrefter disse at hovedforskjellen synes å ligge mellom temperaturen fisken kommer til fremfor hvilken temperatur den kommer fra (tabell 2). For parameterne osmolalitet, klorid og kortisol innhold i plasma, samt vanninnhold i muskel, er det signifikante forskjeller mellom fisk overført til 1 og 3ºC. Parametere knyttet til vannbalanse viste at fisk på 3ºC lå på nivå som kan ansees som normale for arten (McWilliams, 1992; Staurnes *et al*. 1994a; 1994b). Fisk på 1ºC skilte seg ikke dramatisk fra normalverdier, men spesielt resultatene fra gruppene akklimert til 12 og 14ºC ga likevel signal om begynnende problemer ved at vannmengden i muskelen var lavere mens osmolalitet og kloridinnhold var forhøyet. Behandlingen må derfor antas å påføre fisken betydelig stress (Wendelaar Bonga, 1997). Aktiviteten i gjellenes Na-K-ATPase enzymer var ikke redusert i disse gruppene, noe som kan tyde på at endringene i vannbalansen skyldes økt lekkasje av vann over kroppsflater fremfor redusert evne til å fjerne ioner. Dette er i så fall ikke sammenfallende med resultater fra ferskvannsfisk, hvor temperaturfall synes å ha større påvirkning på aktive fremfor passive prosesser involvert i vann-salt balansen (Schwarzbaum *et al*., 1991; 1992). Vanninnhold i muskel og målte plasmaverdier er imidlertid en følge av hvordan fisken taklet lav temperatur over de siste 24 timer, mens enzymaktiviteten ble målt post mortem under standardiserte betingelser. Eventuelle forskjeller som fremkom her kan tenkes å være en følge av akklimeringen fremfor overgangen til lav temperatur. Torsk akklimert til høyeste temperatur synes ikke påvirket i samme grad, og viste nivåer mer på linje med fisk akklimert til 8 eller 10ºC. Akklimeringstemperaturen her var noe lavere enn planlagt (15 vs 16ºC), men fortsatt høyest i forsøket. Kortisolnivåene var høye i alle gruppene, og over nivåer en vanligvis finner hos ustresset fisk (>10 ng ml^{-1}; Sumpter, 1997; Wendelaar Bonga, 1997). Hos fisken som ble overført til 3ºC var det en sammenheng mellom akklimeringstemperatur og plasmakortisolnivå etter overføringen (figur 2). Fisk akklimert ved lavere temperatur hadde lavere kortisolnivåer sammenlignet med høyere temperaturer, dog med unntak av gruppen akklimert til høyeste temperatur. 8-1ºC gruppen hadde signifikant høyere kortisolnivå sammenlignet med 8-3ºC, men selv overføring fra 8 til 3ºC medførte forhøyede kortisolnivåer. Sett sammen med resultatene fra fiskens ione- og vannbalanse synes det å være en gradert respons til økende temperaturdifferanse, med økende kortisolnivå ettersom differansen blir større.

Kortisol settes ofte i sammenheng med stress, og er en vanlig indikator på individuelt stressnivå hos fisk (Sumpter, 1997; Wendelaar Bonga, 1997, Mommsen *et al.*, 1999). Kortisol er kjent som et "stresshormon" blant annet fordi det bidrar til å tilgjengeliggjøre energi til muskelaktivitet, samt øke blodsirkulasjonen til muskler, hos fisk som er utsatt for stress (Sumpter, 1997; Wendelaar Bonga, 1997; Mommsen *et al.*, 1999). Disse responsene antas å

bedre fiskens sjanse til å håndtere stresset og å overleve. Stress involverer energikrevende prosesser og glukose er en viktig energikilde for metabolismen; eksempelvis er vev som hjernen, hjerte, blodceller og gjeller primært basert på glukose (Mommsen *et al.*, 1999). Resultatene viser da også at glukoseverdiene øker med økende akklimeringstemperatur, og energimobiliseringen synes spesielt tydelig hos fisk overført til 1ºC (figur 1). Staurnes *et al.* (1994a) rapporterer at ustresset torsk holdt ved 8ºC har et plasmaglukosenivå på 3.8 mg dl^{-1}, og at dette har økt til 4.9 mg dl^{-1} hos torsk 17 dager etter overføring til 1ºC. Resultatene fra forsøk 1 viser at alle gruppene med unntak av fisk akklimert til 8ºC har glukosenivå over 4 mg dl^{-1} 24 timer etter at de var utsatt for temperaturfall (figur 1). Det er ingen nedgang i glukosenivå hos fisk akklimert til høyeste temperatur, noe man kanskje kunne forvente da kortisolnivået i plasma viser en klar nedgang. Dette kan tyde på at det lavere nivået av kortisol ved høyeste akklimeringstemperatur kan knyttes til andre av hormonets egenskaper enn de som har direkte sammengeng med håndtering av stress. Ser man på kortisol og glukoseverdier alene gir resultatene klart inntrykk av at overgang fra høy til lav temperatur er stressende for fisken, nærmest uavhengig av temperaturdifferanse. Fisk med kroppsvekt på rundt 100 gram synes likevel å håndtere overgang til 3ºC fra de studerte akklimeringstemperaturene uten vesentlige homeostatiske forandringer. Ved overføring fra 12 og 14 ºC til 1ºC viste imidlertid torsken begynnende problemer med vann og ionebalansen, og vedvarer dette over tid må det antas å få konsekvenser for fiskens velferd og produktivitet.

Torskens størrelse ved eksponering for temperaturfall synes å virke inn på evnen til å opprettholde homeostase (tabell 3, figur 3). De største forskjellene er likevel mellom temperaturen som fisken ble overført til, ved at overgang til 1ºC er langt mer dramatisk enn en overgang til 3ºC. Torsken på 1ºC tapte mer vann, og hadde økt plasma klorid og osmolalitet sammenlignet med torsken på 3ºC, uten at dette kan forklares med ulikt nivå på gjellenes ionepumpekapasitet. Her må man huske på at fisken var akklimert til samme temperatur, og eksponeringen til lav temperatur var over kort tid (24 timer). Det er dermed ikke usannsynlig at enzymaktiviteten var forskjellig ved 1 og 3ºC, uten at dette senere lar seg avsløre ved standardiserte målinger ved samme temperatur. Fisken på 1ºC hadde også høyere nivå av kortisol og glukose i plasma. Sammenhengen mellom fiskens størrelse og evne til å opprettholde homeostase kom klarest til uttrykk i muskelens vanninnhold, med størst vanntap hos den minste fisken (tabell 3). Likeledes viste kortisolkonsentrasjonen en tendens til forhøyet nivå hos den minste fisken overført til 1ºC. Fisk overført til 3ºC viste tilsvarende nivå, men her tenderte nivået å være forhøyet også i de tre største størrelsesgruppene. Man skal midlertid være klar over at alle gruppene hadde forhøyede kortisolverdier i forhold til forventet hos ustresset fisk (Sumpter *et al.*, 1997; Wendelaar Bonga, 1997), og basert på kortisolmålinger alene er all fisk å anse som stresset. Glukoseverdiene viser et litt annet bilde, ved at de tre minste størrelsesgruppene hadde høyere nivåer enn de to største størrelsesgruppene etter overføring til 1ºC (figur 3). Denne tendensen går i større grad igjen også hos fisken overført til 3ºC. Skillet mellom 25 og 40 grams gruppene på 1ºC har sannsynligvis en annen forklaring en størrelse alene, da disse to i praksis hadde samme vekt ved overføring til kaldt vann. Ved oppstart av akklimeringen hadde de imidlertid betydelig vektforskjell (25 vs 43 g), og gruppene har dermed forskjellig veksthistorie i perioden før temperaturfallet. Resultatene fra forsøket med fisk av ulik størrelse tyder på at torskens størrelse har betydning for toleransen for temperaturfall, men ingen klar minimumsstørrelse fremtrer. Den minste størrelsesgruppen viser imidlertid klarest tegn på stress (kortisol og glukose) uavhengig av hvilken temperatur den går til.

Forsøkene som omhandlet akutte effekter viser antydninger til hvor problemer kan oppstå. Overføring til svært lav temperatur, som f. eks. 1ºC, er problematisk nær uavhengig av akklimeringstemperatur, men tydeligst ved temperaturer over 10ºC. Overføring til 3ºC syntes

relativt uproblematisk. Resultatene tyder videre på at toleransen for temperaturfall endres noe med fiskens størrelse, men selv de minste størrelsesgruppene hadde få problemer med homeostasen 24 timer etter overføring.

5.2 Studier av langtidseffekter

Hos fisk akklimert til 8, 10, 12 og 14ºC før overføring til 3ºC ble de ikke observert signifikante forskjeller i individvekt mellom noen av gruppene (figur 5). Under akklimeringsperioden var fôrinntak og tilvekst korrelert til temperatur med en tilsynelatende topp ved 12ºC, men uten at det førte til vektforskjeller (figurene 4 og 6). Veksthastigheten på mellom 1.5 og 2% av kroppsvekten per dag er i rimelig overensstemmelse med vekstmodellen for torsk presentert av Björnsson & Steinarsson (2002), men ligger noe under modellverdier fra Jobling (1988). I første forsøk (akutte effekter) fremkom ingen statistisk signifikant forskjell i tilvekst mellom ulike temperaturgrupper, noe som sannsynligvis kan tilskrives redusert styrke i vekstberegningene da det første forsøket ble gjennomført uten individmerket fisk. Fôrutnyttelsen i akklimeringsperioden var best ved lav temperatur (figur 7), til tross for at tilveksten også var lavere. Torsken økte altså fôrinntak og vekst med temperatur opp til 12ºC men syntes ikke å være i stand til å opprettholde fôrutnyttelsen. Fôrutnyttelsen forventes å gå ned med økende måltidsstørrelse, men man forventer også en bedring av fôrutnyttelsen med økende temperatur opp mot nivå like i underkant av temperaturen for maksimal tilvekst (Jobling, 1994).

I perioden like etter overførsel til 3ºC var sammenhengen mellom akklimeringstemperatur og tilvekst omvendt korrelert, og fiskens evne til å vokse ble påvirket av temperaturhistorien. Tilgjengelige vekstmodeller basert på fiskestørrelse (30g) og temperatur (3ºC) gir vekstestimater på hhv. 0.67% per dag (Jobling, 1988) og 0.73% per dag (Björnsson & Steinarsson, 2002). Tilveksten i dette forsøket var til sammenligning 0.65% per dag i gruppen som vokste best i første periode på 3ºC (8-3ºC), noe som stemmer godt overens med forventet tilvekst. Dette kan tyde på at temperaturfallet i seg selv ikke førte til nedsatt tilvekst i perioden etter temperaturendringen, selv om torsk som oppleve slike endringer viste tegn til stress etter 24 timer (jfr. forsøk 1). Større temperaturdifferanse gav gradvis større avvik i forhold til forventning, og dette resulterte i tapt tilvekst sammenlignet med nevnte vekstmodeller i perioden etter temperaturendringen. Sammenlignet med vekstresultater fra havbruksstasjonen i Austevoll (Ørjan Karlsen, IMR) underestimerer Björnsson & Steinarssons modell tilveksten gjennom en produksjonssyklus på naturlig temperatur. Jobling's modell forutsier vektutviklingen svært godt. Sammenligner man modellene direkte ser man at underestimeringen i Björnsson & Steinarssons modell skyldes for lav predikert vekst ved temperaturer over ca. 7ºC. På lavere temperaturer gir modellene relativt lik tilvekst.

Tilveksten speiler vanligvis fôrinntaket, men i dette forsøket viser ikke disse samme utvikling. Fôrinntaket i perioden mellom dag 0 og 33 viser samme bilde som under akklimeringsperioden, men uten at det var signifikante forskjeller mellom gruppene. Fôrutnyttelsen ble beregnet ut i fra disse parameterne og viser følgelig forskjeller i mellom akklimeringstemperaturene. Fisken som opplevde lavest temperaturfall viste best evne til å nyttegjøre seg fôret den spiste like etter overgangen fra høy til lav temperatur, og hadde faktisk ikke endret fôrutnyttelsesgrad etter overgangen. Økende temperaturdifferanse førte til redusert FCR. Effektene på vekst og fôrutnyttelse var tydelig frem til 33 dager, men ble borte i perioden 34-61 dager etter temperaturfall. Effekten var med andre ord av tidsbegrenset varighet, og fisken tilpasset seg 3ºC uavhengig av akklimeringstemperatur innen relativt kort

tid. Størrelsesforskjellene som ble bygget opp under akklimeringen var borte etter 33 dager på 3ºC, og gevinsten ved å produsere intensivt i så korte perioder er dermed begrenset hvis fisken skal over i mer ekstensiv drift ved lave temperaturer etterpå.

Som ved de akutte effektene var det av betydning om fisken ble overført til 1 eller 3ºC også på lengre sikt. Behandlingene som gav ulik stressrespons etter 24 timer førte også til ulik tilvekst og vektutvikling (figurene 8 og 9). Fisk akklimert til 14ºC og overført til 1ºC viste signifikant lavere tilvekst enn de andre gruppene frem til dag 61, og var med andre ord negativt påvirket i 2 måneder etter temperaturfallet. Fisken som var akklimert til 8ºC og overført til 1ºC klarte seg noe bedre, da disse ikke hadde begrenset tilvekst som følge av temperaturfallet i perioden etter dag 33. I siste periode av forsøket var det ikke forskjell i SGR mellom gruppene, til tross for temperaturdifferansen på 2ºC. Vektforskjellene etablert under akklimeringen var borte allerede ved dag 33, og fisken synes å følge en felles vektutvikling avhengig av hvilken temperatur de kom til fremfor hvilken temperatur de kom fra (figur 9). Fôrinntaket i disse gruppene var til dels påvirket av akklimeringstemperaturen, uten at dette fremkom som signifikante forskjeller (figur 10). I dette tallmaterialet finnes resultater som også inngår i figur 6, og testen der viser signifikante effekter av akklimeringstemperatur. Denne selvmotsigelsen kan forklares med bakgrunn i to forhold. Ved analyse av data som ligger til grunn i figur 9 tas det hensyn til at gruppene overføres til ulik temperatur etter akklimering, ved å innføre en variabel for den "nye" temperaturen i den statistiske modellen og forutsetningene i testen forandres. I tillegg hadde et av karene på 14ºC som senere ble satt over på 1ºC uforklarlig høyt forinntak i denne perioden (dag -32 til 0), og viste også tendenser til forhøyet FI senere (dag 0 til 33). Denne forskjellen lar seg ikke forklare med økt tilvekst, og skyldes sannsynligvis en metodisk feil ved fôrinntaksmålingene i dette karet. Variasjonen mellom replikatene var normalisert i forhold til variasjonen i de andre gruppene etter dag 33, og påliteligheten til disse resultatene bedret. Tendensen i resultatene er likevel klar: overføring fra 14 til 1ºC gir relativt langvarig negative effekter på tilvekst og fôrutnyttelse.

5.3 Konklusjoner og anbefalinger

Torsk i settefiskfasen synes å være relativt robust ovenfor temperaturfall så lenge temperaturen fisken kommer til ikke er under 3ºC. Selv reduksjon i temperatur fra 15 til 3 grader, en temperaturdifferanse på 12ºC, gav bare moderate stressresponser hos torsken og medførte ikke problemer med opprettholdelse av vannbalanse. Dette forholdet var lite påvirket av fiskens størrelse, men fisk under 20-25 gram viste noe større stressrelaterte endringer i blodplasma og bør derfor om mulig behandles mer skånsomt i praktisk oppdrett. På lengre sikt hadde temperaturfall på 7ºC eller mer en forbigående negativ effekt på tilvekst og fôrutnyttelse, men denne var tidsbegrenset til en måned. Ved overføring til svært lav temperatur (1ºC) ble forholdene endret noe. Fisken viste tydelige tegn på stress og selv ved temperaturfall på 7ºC viste enkelte individer tegn til homeostaseproblemer. Ved temperaturfall over 9ºC gjaldt dette halvparten av fisken eller mer, og må antas å medføre betydelig tap i form av dødelighet under kommersielle forhold. Effektene på lengre sikt var også her forbigående, men større temperaturdifferanse gjorde de negative effektene mer dramatiske og de varte lengre. Intensiv produksjon ved høy temperatur synes dermed å ha negativ effekt på påfølgende tilvekst ved lavere temperatur, noe man bør ta hensyn til ved valg av produksjonsstrategi.

En produksjonsmodell med intensiv produksjon og høye temperaturer i kar på land før utsett til naturlige temperaturer i sjø, som beskrevet innledningsvis, antas ikke å kompromittere

fiskens velferd så lengde temperaturen i sjø ikke er lavere enn 3ºC. De negative effektene er forbigående, men kan likevel redusere produksjonen i sjø betydelig i den første perioden. Ved utsett når sjøtemperaturen er svært lav (ned mot 1ºC eller lavere) må man utøve stor varsomhet, og temperaturdifferanser på 10 grader eller mer er forbundet med stor risiko.

6 REFERANSER

Bendiksen, E.Å., Jobling, M. & Arnesen, A.M. (2002). Feed intake of Atlantic salmon parr *Salmo salar* L. in relation to temperature and feed composition. *Aquaculture Research*, 33, 525-532.

Björnsson, B. & Steinarsson, A. (2002). The food unlimited growth rate of Atlantic cod (*Gadus morhua*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 59, 494-502.

Crawshaw, L.I. (1977). Physiological and behavioural reactions of fishes to temperature change. J.Fish.Res. Board. Can. 34, 730-734.

Crawshaw, L.I. (1979). Responses to rapid temperature change in vertebrate ectotherms. Amer. Zool., 19, 225-237.

Finstad, B. & Thommassen, M.S. (1991). Does dietary lipid composition affect the osmoregulatory ability of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at high and low temperatures? Comp. Biochem. Physiol., 99A, 463-471.

Finstad, B., Nilssen, K.J. & Arnesen, A.M. (1989). Seasonal changes in the seawater tolerance of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). J. Comp. Physiol. B., 159, 371-378.

Finstad, B., Staurnes, M. & Reite, O.B. (1988). Effect of low temperature on the seawater tolerance in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Aquaculture, 72, 319-328.

Foss, A., Siikavuopio, S.I., Sæther, B.-S. & Evensen, T.H. (2004). Effect of Chronic ammonia exposure on growth in juvenile Atlantic cod. Aquaculture 237, 179-189.

Jobling, M. (1988). A review of th ephysiological and nutritional energetics of cod, *Gadus morhua* L., with particular reference to growth under farmed conditions. Aquaculture 70, 1-19.

Jobling, M. (1994). *Fish Bioenergetics*, pp 309, Chapman & Hall, London.

Kleinbaum D.G., Kupper L.L. & Muller K.E. (1988). *Applied regression analysis and other multivariable methods*. 2. ed. The University of North Carolina, Duxbury Press.

McCormick, S.D. (1993). Methods for non-lethal gill biopsy and measurement of Na^+, K^+ - ATPase activity. Can. J. Fish. Aqat. Sci. 50, 656-658.

McWilliams, P. (1992). Ioneregulering. *In*: Døving, K. & Reimers, E. (Eds.), *Fiskens Fysiologi.* John Grieg Forlag AS.

Mommsen, T.P., Vijayan, M.M. & Moon, T.W. (1999). Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. Reviews in Fish Biology and Fisheries 9, 211-268.

Norberg, B., Brown, C.L., Halldorsson, O., Stensland, K & Björnsson, B.T. (2004). Photoperiod regulates the timing of sexual maturation, spawning, sex steroid and thyroid hormone profile in the Atlantic cod (*Gadus morhua*). Aquaculture 229, 451-467.

Olsen, Y.A., Falk, K. & Reite, O.B. (1992). Cortisol and lactate levels of Atlantic salmon (*Salmo salar*) developing infectious anaemia (ISA). Dis. of Aquat. Org. 14, 99-104

Schrock, R.M., Beeman, J.W., Rondorf, D.W. & Haner, P.V. (1994). A microassay for gill sodium, potassium- activated ATPase in juvenile pasicic salmonids. Trans. Am. Fish. Soc. 123, 223-229.

Schwarzbaum, P.J., Wieser, W. & Cossins, A.R. (1992). Species-specific responses of membranes and the Na^++K^+ pump to temperature change in the kidney of two species of freshwater fish, roach (*Rutilus rutilus*) and Arctic char (*Salvelinus alpinus*). Physiol.Zool. 65, 17-34.

Schwarzbaum, P.J., Wieser, W. & Niederstätter, H. (1991). Contrasting effects of temperature acclimation on mechanisms of ionic regulation in an eurythermic and a stenothermic species of freshwater fish (*Rutilus rutilus* and *Salvelinus alpinus*). Comp. Biochem. Physiol. 98A, 483-489.

Staurnes, M., Rainuzzo, J.R., Sigholt, T. & Jørgensen, L. (1994a). Acclimation of Atlantic cod (*Gadus morhua*) to cold water: stress response, osmoregulation, gill lipid composition and gill Na-K-ATPase activity. Comp. Biochem. Physiol. 109A, 413-421.

Staurnes, M., Sigholt, T., Pedersen, H.P. & Rustad, T. (1994b). Physiological effets of simulated high-density transport of Atlantic cod (*Gadus morhua*). Aquaculture 119, 381-391.

Sumpter, J.P. (1997). The endocrinology of stress. *In*: Iwama, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P. & Sckreck, C.B. (Eds.), *Fish stress and health in aquaculture.* Society for Experimental Biology seminar series 62, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 95-118.

Wendelaar Bonga, S.E. (1997). The stress response in fish. Physiological Reviews 77, 591-625.

Zar J.H. 1984. Biostatistical analysis 2nd ed. Englewood Cliffs, NJ, Prentice-Hall, 718p

Fiskeriforskning

Hovedkontor Tromsø:
Muninbakken 9-13
Postboks 6122
N-9291 Tromsø
Telefon: 77 62 90 00
Telefaks: 77 62 91 00
E-post: post@fiskeriforskning.no

Avdelingskontor Bergen:
Kjerreidviken 16
N-5141 Fyllingsdalen
Telefon: 55 50 12 00
Telefaks: 55 50 12 99
E-post: office@fiskeriforskning.no

Internett: www.fiskeriforskning.no

ISBN-13 978 82-7251-564-4
ISBN-10 82-7251-564-4
ISSN 0806-6221