

Nytt S-CCS konsept for oppdrett av laks - Postsmoltproduksjon i FishGLOBE

Åsa Maria Espmark, Kevin Stiller, Khurram Shahzad, Britt Kristin Reiten, Yuriy Marchenko, Jascha Gerwins, Filip Strand Radonjic, Bernhard Eckel, Carlo Lazado og Arne Berge





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

Nofima har om lag 390 ansatte.

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

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9–13
Postboks 6122 Langnes
NO-9291 Tromsø

Ås:

Osloveien 1
Postboks 210
NO-1433 ÅS

Stavanger:

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

Bergen:

Kjerreidviken 16
Postboks 1425 Oasen
NO-5844 Bergen

Sunndalsøra:

Sjølsengvegen 22
NO-6600 Sunndalsøra

Alta:

Kunnskapsparken, Markedsgata 3
NO-9510 Alta

Felles kontaktinformasjon:

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

Foretaksnr.:

NO 989 278 835 MVA



Creative commons gjelder når ikke annet er oppgitt

Rapport

<p><i>Tittel:</i> Nytt S-CCS konsept for oppdrett av laks - Postsmoltproduksjon i FishGLOBE</p>	<p>ISBN 978-82-8296-659-7 (pdf) ISSN 1890-579X</p>
<p><i>Title:</i> FishGLOBE – a new S-CCS concept for farming salmon</p>	<p><i>Rapportnr.:</i> 42/2020</p> <p><i>Tilgjengelighet:</i> Åpen</p>
<p><i>Forfatter(e)/Prosjektleder:</i> Åsa Maria Espmark , Kevin Stiller, Khurram Shahzad, Britt Kristin Reiten, Yuriy Marchenko, Jascha Gerwins, Filip Strand Radonjic, Bernhard Eckel, Carlo Lazado og Arne Berge (FishGLOBE)</p>	<p><i>Dato:</i> 30.november 2020</p>
<p><i>Avdeling:</i> Produksjonsbiologi</p>	<p><i>Ant. sider og vedlegg:</i> 35</p>
<p><i>Oppdragsgiver:</i> Regionale forskningsfond Nord-Norge, RFFNORD</p>	<p><i>Oppdragsgivers ref.:</i> RFF 259057</p>
<p><i>Stikkord:</i> FishGLOBE, semilukket oppdrettsystem, CFD modellering, vannkvalitet, fiskevelferd, ytelse</p>	<p><i>Prosjektnr.:</i> 11845</p>
<p><i>Sammendrag/anbefalinger:</i></p> <p>Denne rapporten beskriver vannkvalitet og ytelse og velferd hos post-smolt som har gått i det semilukkede anlegget FishGLOBE. I tillegg har FishGLOBE V3 og V5 blitt modellert med CFD modellering. Fire ulike caser ble modellert i V5. Modelleringen viste at det originale designet uten vannavdelere ga best vannhastighet og fordeling. En fiskegruppe på 200 000 post-smolt ble fulgt fra RAS anlegg, så fire måneder i FishGLOBE, og tre måneder etter sjøutsett i åpen not. Vannkvalitetsvariable ble målt rett etter innsett i globen, mens biologiske målinger av fisk ble utført ved alle fire tidspunktene. Vannkvaliteten i FishGLOBE var innenfor det anbefalte. Dødeligheten var 1,4 % i globen og 4,9 % i sjøfasen. Veksten i FishGLOBE viste TGC på 4,0 og SGR på 1,3. Fisken hadde litt forhøyede nivåer av Mg i FishGLOBE, noe som kan bety at den var i osmotisk ubalanse og stresset. Det var økt ekspresjon av <i>hsp90</i> og Mucin hos fisk i globen, noe som kan tyde på stress. Mucin-nivået kan også øke når skinnen styrkes. Histologisnitt av skinn og gjelle viste en bedring hos fisken i globen. Bedring i gjellestatus kan forklares med god vannkvalitet, lav turbiditet og TSS. Det ble registrert en stor andel av øyeskader hos fisken i FishGLOBE. Det er ukjent hva dette skyldes.</p>	
<p><i>English summary/recommendation:</i></p> <p>Two-hundred-thousand post-smolts were followed from RAS, to four months in FishGLOBE, and three months after transfer to sea cage. Water quality in FishGLOBE was as recommended. Mortality in the globe was 1.4 % and 4.9 % in sea cage. The growth; TGC = 4.0 and SGR = 1.3. The fish had slightly elevated levels of Mg in FishGLOBE and increased expression of <i>hsp90</i> and mucin. Histology showed that skin and gills status improved in the globe. A large proportion of eye injuries were registered in FishGLOBE. It is unknown what caused this.</p>	

Forord

Denne rapporten oppsummerer arbeidspakke 1 («Postsmoltproduksjon i FishGLOBE») fra prosjektet «FishGLOBE – Nytt konsept for oppdrett og transport av laks og for ferskvannsbehandling mot AGD og lus», finansiert av Regionalt Forskningsfond (prosjektnummer RFF 259057).

Forfatterne bak denne rapporten har stått for CFD modellering, innsamling av vannkvalitetsdata og biologiske prøver, analysering og skriving. For deler av den biologiske prøvetakingen, ble Nofima sine ansatte hindret i å reise til FishGLOBE og også til Tallaksholmen grunnet Covid-19 restriksjonene. Disse to prøveuttakene kunne ikke vært gjennomført uten verdifull hjelp av fiskehelsebiologene Siri Giskegerde og Stine Kolstø ved Fomas. I tillegg vil vi rette et stort takk til Atle Jøsang ved Grieg Seafood sitt RAS-anlegg i Trosnavåg og til ansatte ved FishGLOBE for bistand under prøvetaking i FishGLOBE.

Innhold

1	Bakgrunn	1
2	Metode	3
2.1	FishGLOBE V5	3
2.2	Postsmoltproduksjon i FishGLOBE	3
2.3	Dimensjonering og hydrodynamikk	4
2.4	Vannkvalitet og sensorikk under postsmoltproduksjon.....	7
2.5	Fiskens ytelse og velferd under postsmoltproduksjon.....	8
3	Resultat og diskusjon	11
3.1	Dimensjonering og hydrodynamikk	11
3.2	Vannkvalitet og sensorikk under postsmoltproduksjon.....	15
3.3	Fiskens ytelse og velferd under postsmoltproduksjon.....	20
3.3.1	Akkumulert dødelighet.....	20
3.3.2	Tilvekst.....	20
3.3.3	Velferd og stress	23
3.3.4	Morfologi – indeks av lever, hjerte og gonader	26
3.3.5	Histologi - gjelle og skinn	26
3.3.6	Genekspresjon skinn	29
4	Konklusjon	33
5	Referanser	34
6	Formidling.....	35

1 Bakgrunn

Flytende semilukkede anlegg i sjø baserer seg på en fysisk barriere i form av en solid beholder eller fleksibel duk slik at fisk skal holdes adskilt fra lus og ikke skal ha mulighet til å rømme.. Vann blir pumpet inn gjennom innløp som ligger dypt ned i vannet, og fortrinnsvis under lusesjiktet.

Riktig systemdesign er viktig for å optimalisere selvreising i karet og for å få en jevn fordeling av gasser, fôr og fisk. For å få dette til har det blitt fokusert mye på riktig plassering av innløp og riktig vinkel på innløpsdysene. For å få best mulig karhydraulikk har CFD (Computational fluid dynamics (Norsk: numerisk fluiddynamikk)) modellering blitt brukt (Gorle *et al.*, 2018, Shahzad *et al.*, 2019). I tillegg brukes empiriske data av vannkvalitet som viser hvordan ulik design resulterer i fordeling av eksempelvis vannstrøm og oksygen (Gorle *et al.*, 2018, Shahzad *et al.*, 2019).

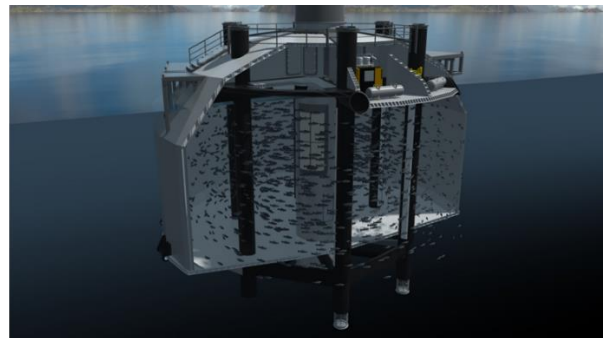
Dokumentasjon av fiskens helse og velferd ved introduksjon og bruk ny teknologi er lovpålagt, og må gjennomføres for hver enkelt teknologi. I en nylig MSc avhandling viste Tarald Kleppa Øvrebø at post-smolt fra to typer semilukkede anlegg hadde bedre vekst, lavere FCR (fôrfaktor) og lavere nivå av kortisol sammenlignet med fisk som hadde gått i åpne nøter (Øvrebø, 2020). Det ble også vist at luspåslaget var mindre etter at post-smolten var overført til åpen not fra S-CCS sammenlignet med fisken som gikk i åpen not hele tiden (Øvrebø, 2020).

Dette prosjektets mål er å videreutvikle det lukkede oppdrettsanlegget FishGLOBE. FishGLOBE er et oppdrettsanlegg, som sammen med brukere (RyFish og Grieg Seafood) og FoU-institusjoner (Nofima og Norce), skal utvikles, testes og dokumenteres for bruk til 1) oppdrett av postsmolt og 2) lus- og AGD-behandling (Amoebic gill disease). Ved å kombinere FishGLOBE-teknologien med vanlig oppdrett i åpen merd, bidrar dette til å løse noen av de største miljøutfordringene lakseoppdretterne har i dag som lus og rømning. Løsningen kan gi bedre lønnsomhet for oppdretterne, men teknologien må utvikles og dokumenteres for å sikre dette. FishGLOBE er unik ved å være fullstendig lukket. Den kan derfor ved hjelp av patentsøkt løsning for bruk av over- og undertrykk, skånsomt transportere fisk inn og ut og erstatte bruk av dyre brønnbåter til transport og ferskvannsbehandling mot AGD og lus. FishGLOBE gir også et mer beskyttet miljø til oppdrett av postsmolt. Den er utstyrt med en nyutviklet oksygeneringsmetode i tilførselsrør, og har mulighet for CO₂-fjerning basert på ejetektor i avløp slik at vannkvaliteten og fiskevelferden ivaretas når den i perioder er fullstendig lukket. Flyte/oppdriftstankene er plassert inne i toppen, slik at bølgene skyller fint over globen. Utformingen gjør at den takler både bølger (HS 2.25) og strøm veldig godt. Flyte-tankene brukes også som tekniske rom, der en har nødstrøm og oksygentank i reserve. I tilfelle «navlestrengen» til land skulle ryke, så kan globen greie seg selv for en periode. Flyte-tankene/tekniske-rom har også utstyr for filtrering og håndtering av avfallspartikler og dødfisk, samt egnt fôrlager. Bruk av lukkede anlegg i akvakultur er avhengig av sikker, kontrollerbar og optimal drift. Det er laget en prototype av FishGLOBE som en del av et forprosjekt (251253), dette prosjektet vil utvikle en fullskala modell som vil være sentral i videre forskning. Dette forskningsprosjektet skal gjennomføre en fullskala uttesting av FishGLOBE. Forskingen vil omhandle optimalisering av vannkvaliteten, effektivisering av drift og prøvetakning, samt fiskens helse og velferd.

Det er flere typer lukkede anlegg under uttesting, og det er nødvendig å bruke en not eller rist inne i tanken for å få ut fiskene etter at vekstfasen er over. Logistikk (håndtering, tømning mm.) er den 4. viktigste teknologiutfordringen (Tekset 2015). Dette er arbeidskrevende og tungvint, og kan skape problemer med å få ut all fisken. FishGLOBE er unik på dette området. Ved å skape et overtrykk eller undertrykk inne i globen kan fisk transporteres gjennom store slanger uten skovler. Hele tanken kan

tømmes på ca. 4 timer, og tanken kan holde over 250 tonn med fisk. Denne unike egenskapen kan eventuelt også brukes til rask og skånsom transport av fisk ved lus/AGD-behandling. Fisk fra vanlige merder kan behandles for lakselus og AGD inne i et kjent volum med god kontroll på miljøet. Laksen kan behandles med bademidler inne i det lukkede systemet, eller med ferskvann. Ved behandling i ferskvann skilles fisk og transportvann på vei inn for å unngå sjøvannsinnblanding og beholde ferskvannseffekten. Rensefisk tåler ikke ferskvannsbehandling over tid særlig godt. For å ta vare på denne er det designet en egen vannavskiller med stillbare rister slik at leppefisk skånsomt blir sortert ut og ikke havner sammen med laksen ved behandling. FishGLOBE sin løsning med oksygenering og CO₂-fjerning gjør at fisken kan holdes inne i globen over lengre tid, noe som har vist seg å øke effekten av ferskvannsbehandlingen. FishGLOBE kan også brukes for transport av smolt (ikke over lange avstander). Smolt kan hentes ved settefiskanlegget og føres lukket til lokalitet for påvekst. Det er kjent at mye av dødeligheten skjer i denne sårbare fasen. På samme måte kan postsmolt (ca. 1 kg) transporteres lukket til lokalitet for videre oppdrett i merd. FishGLOBE kan derfor endre og forbedre flere faser i tradisjonell merdoppdrett og transport av fisk, og er derfor en unik løsning for laksenæringen.

Hovedmålet med prosjektet er å teste og utvikle FishGLOBE slik at den kan fungere optimalt for produksjon av postsmolt og for lus/AGD-behandling av laks. Prosjektet skal utvikle protokoll som gir effektiv produksjon av postsmolt i FishGLOBE med god tilvekst, fiskevelferd og høy overlevelse. Videre skal det gjennomføres en evaluering som kan bidra til å videreutvikle FishGLOBE som behandlingsenhet mot lakselus og amøbisk gjellesykdom (AGD).



Figur 1 FishGLOBE V5 (3500m³).

2 Metode

2.1 FishGLOBE V5

FishGLOBE er en lukket tank der alt vannet pumpes inn fra ca. 14 meters dyp. Det er god kapasitet på pumpene, hver gir ca. 1000 l/s. Normalt kjøres tre pumper med en pumpe i reserve. Tankens volum er på 3500 m³, og da skiftes vannet ut hvert 20 minutt. Dette er en svært høy utskiftning med de fordeler og ulemper det har. Det opprettholdes lavt CO₂-nivå og en får god strøm for fisken, og god sekundær strøm til å transportere ut partiklene i vannet. Dette gir grunnlag for god fiskevelferd. Siden en tilsetter oksygen og styrer dette til å ligge på 90 % metning, så kan en del av dette tilsatte oksygenet gå direkte ut i fjorden uten at fisken får nyttiggjort seg av det.

Avløpet er i senter, midt mellom bunn- og overflate. Den plasseringen bidrar til gode strømforhold inne i tanken. Den gode avstanden til bunnen sikrer også at partiklene, som sedimenterer og blir dratt av strømmen inn mot sentrum, ikke kommer ut i avløpet. Disse partiklene blir i stedet pumpet med en delstrøm opp til et filter der partiklene blir skilt fra vannstrømmen. Partiklene bli så pumpet over til en flytende lagertank for slam.

I produksjonen av fisk starter en med levering av smolt fra brønnbåt og inn igjennom en luke i taket. Når fisken er over i globen føres den ved at fôr fra fôrtanken skrus ut og fordeles på hele diagonalen. En har mulighet til å følge med på fiskens appetitt med vanlig neddykket videokamera, eller fra videokamera fra filteret. Fra video kan man se etter fôrspill, og justere utfôringen etter fiskens behov.

Når fisken, etter 5-6 måneder, har nådd postsmoltstørrelse på over 800 gram, så overføres den til brønnbåt via en fisketappeslange i bunnen av globen. Siden globen er lukket, så skalkes alle luker og en kan starte en kompressor/blåser som i løpet av 4 timer skyver alt vannet og fisken ut av tanken.

Alt er konstruert for å holde en fisketetthet på 75 kg/m³. Da kan en ved levering ha over 250 tonn fisk i tanken. Med maksimal utnyttelse kan det oppnås en leveranse på ca. 750 tonn per år.

Lyset kan styres i henhold til ønsket lysstyringsregime, men det brukes vanligvis 24 timer lys.

2.2 Postsmoltproduksjon i FishGLOBE

Den fiskepopulasjonen som det ble jobbet med i dette prosjektet kom fra Grieg Seafood sitt RAS-anlegg i Trosnavåg. Uttak av prøver fra fisk og til vannkvalitet ble gjort på ulike tider gjennom forsøket (tabell 1).

Tabell 1 Tidsplan for uttak av fisk og til vannkvalitetsmålinger.

Aktivitet	Lokalitet	Dato for uttak av fisk	Dato for uttak for vannkvalitet
S0 - nullprøve	Grieg Seafood Trosnavåg (RAS)	20.11.2019	
S1 – første fase i FishGLOBE	FishGLOBE – tre uker etter overføring fra RAS	09.01.2020	09.01.2020 – 10.01.2020
S2 – siste fase i FishGLOBE	FishGLOBE – 14 dager før overføring til åpen not	25.03.2020	10.09.2020 – Dette prøveuttaket ble gjort med en ny fiskegruppe og når det var maksimal tetthet
S3 – tre måneder etter sjøutsett	Grieg Seafood åpen merd (Tallaksholmen) – tre måneder etter overføring fra FishGLOBE	07.07.2020	

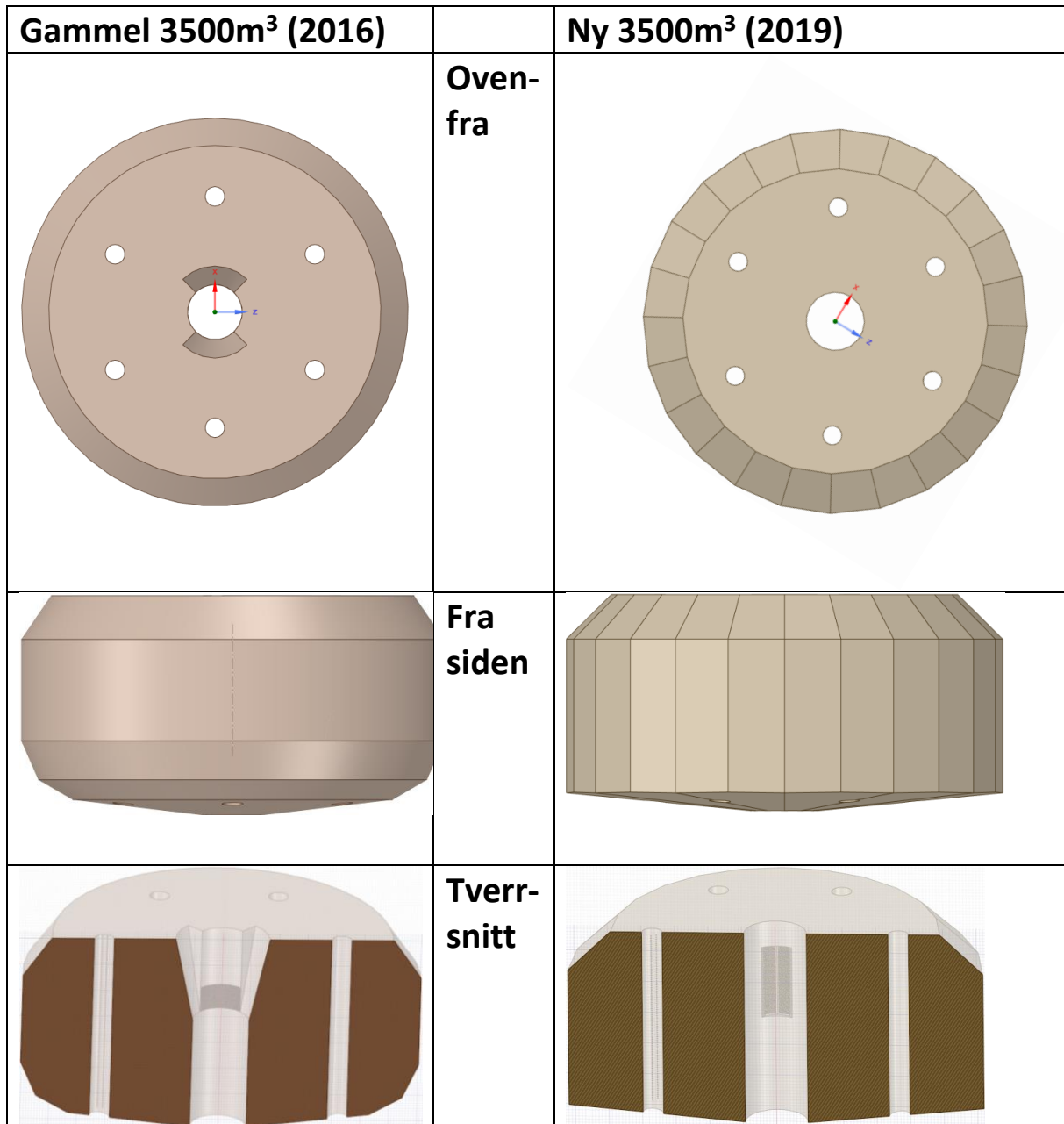
2.3 Dimensjonering og hydrodynamikk

RFF-prosjektet som skal rapporteres her ble forsinket med 3 år pga. forsinkelser i byggingen av FishGLOBE-konstruksjonen, som igjen har bakgrunn i forsinkede avklarings- og godkjenningsprosesser. Opprinnelig start etter innvilgelsen av prosjektet var siste kvartal 2016. Imidlertid kunne vi modellere V3 (74 m³) og V5 (3500 m³) i 2017. Dette arbeidet har også blitt publisert før prøveuttak av fisk og vann i V5, som danner grunnlag for denne rapporten, ble igangsatt. Vi vil ikke her rapportere fra publikasjonen skrevet av Gorle *et al.*, 2018, men henviser til denne.

Etter modelleringen, som ble presentert av Gorle *at al.* (2018), og fram til den virkelige produksjonen av FishGLOBE V5, endret designet seg noe grunnet justeringer hos produsent (Tabell 2 og figur 2).

Tabell 2 Utforminger av FishGLOBE V3 og V5, modellert av Gorle et al., 2018 og ny design, med vannavledere utført av Khurram Shahzad i RFF-prosjektet.

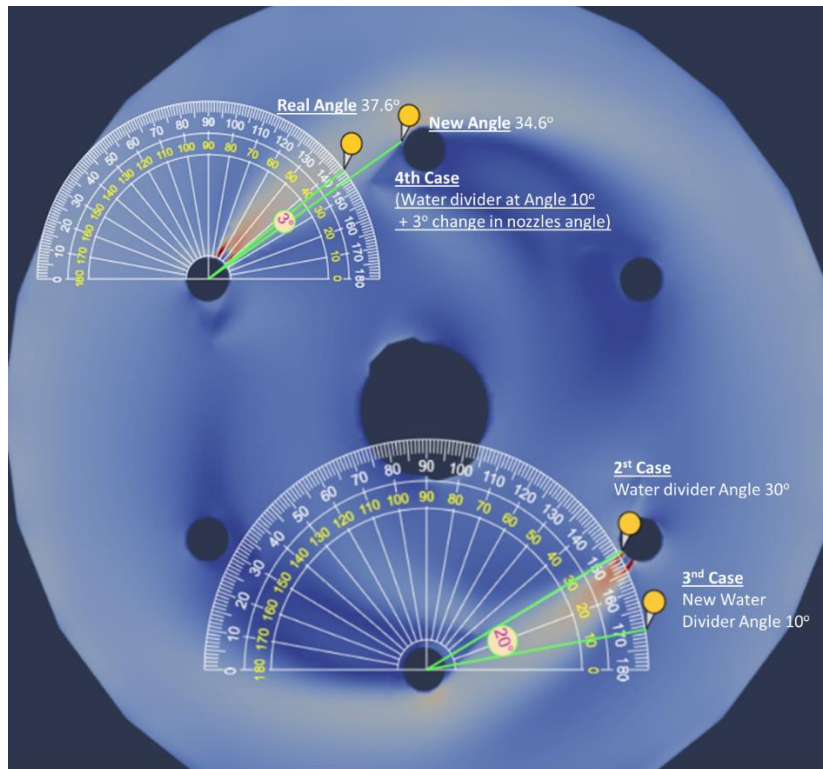
	FishGLOBE V3	FishGLOBE V5	FishGLOBE V5 (Gorle et al., 2018)
Volum (m ³)	74	3500	3500
Antall innløp	3	Totalt 6 (2 av 6 var operative under prøvetaking)	Totalt 6 (2 av 6 brukt for CFD modellering)
Antall avløp	2 opphøyde avløp i sentrum	2 opphøyde avløp i sentrum	2 opphøyde avløp i sentrum av konisk utforming
Areal avløp	Liten	Forstørret lengde og bredde (nytt design)	Lengde og bredde økt sammenlignet med 74 m ³ tanken
Design innløp	Enkel rekke med line dyser	V-formet dobbel rekke dyser	i) Standard dyserekke, enkel ii) V-formet dyserekke, dobbel
Antall dyser på hver innløpskolonne	65 enkeltrekke format	160 dobbelrekke format	i). 40 dyser I en rekke ii). 160 dyser I to rekker
Side vegger	Konet form	Ny design rette vegger	Rette vegger
Nederst hellende overflate	> 6°	5,70°	6.75°



Figur 2 Endret design på FishGLOBE V5: Gammel til venstre (Gorle et al., 2018) og ny fra RFF-prosjekt til høyre.

Det nye V5 designet ble gjort med fire CFD-simuleringer (Figur 3):

- Case 1: Original design, ingen vannavdelere, 30° vinkel mellom vandysene i V-form
- Case 2: Vannavdeler ved 30° vinkel
- Case 3: Vannavdeler ved 10° vinkel
- Case 4: Vannavdeler ved 10° vinkel + 3° endring i dyse vinkel



Figur 3 CFD Case 1-4 oppsett.

2.4 Vannkvalitet og sensorikk under postsmoltproduksjon

Etter planen skulle vannkvalitet måles samtidig med prøveuttak av fisk i FishGLOBE (S1 og S3, tabell 1). S1 ble gjennomført som planlagt, men S2 sammenfalt med Covid-19 pandemien og strenge restriksjoner, noen som førte til at Nofima ikke kunne sende sine medarbeidere til FishGLOBE for å gjennomføre målingene. Av hensyn til hva som er av størst interesse og nytte for FishGLOBE, ble den andre målingen bestemt gjennomført ved maksimal fisketetthet, dvs. når belastningen på systemet er størst. Dette ble gjort med en fiskegruppe som ble satt inn i FishGLOBE etter at vårt prosjekt var ferdig og er dermed utført med en annen fiskegruppe enn den som er rapportert her.

S1: 09 – 10. januar 2020:

Empiriske data ble målt på 1, 3, 6 og 9 meters dyp og 2,25m og 4,25m fra senterveggen. Resultatene er presentert som gjennomsnitt fra fire dyp for henholdsvis 2,25m og 4,25m fra senterveggen.

Vannhastighet (m/s) ble målt med akustisk Doppler vannhastighetssensor (Nortek Vector med ExploreV software). Temperatur (°C), pH, ledningsevne (mS/cm), salinitet (ppt), O₂ (% metning), CO₂ (mg/l), alkalinitet (mg/l), TSS (mg/l) og turbiditet (NTU), TAN (mg/l), nitritt (mg/l) og nitrat (mg/L) ble målt med utstyr som vist i tabell 3.

Fisketettheten ved oppstart var ca. 13,2 kg/m³.

S2: 10. september 2020:

Empiriske data ble målt på 1, 3, 6 og 9 meters dyp og 2,25m, 3,25m og 4,25m fra senterveggen. Resultatene er presentert som gjennomsnitt fra fire dyp for henholdsvis 2,25m, 3,25m og 4,25m fra senterveggen.

Vannhastighet (m/s) ble målt med akustisk Doppler vannhastighetssensor (Nortek Vector med ExploreV software). Temperatur (°C), pH, ledningsevne (mS/cm), salinitet (ppt), O₂ (% metning), alkalinitet (mg/l), TSS (mg/l) og turbiditet (NTU), TAN (mg/l) og nitritt (mg/l) ble målt med utstyr som vist i tabell 3.

Fisketettheten var 62,2 kg/m³.

Tabell 3 Metode for måling av vannkvalitet i FishGLOBE V5.

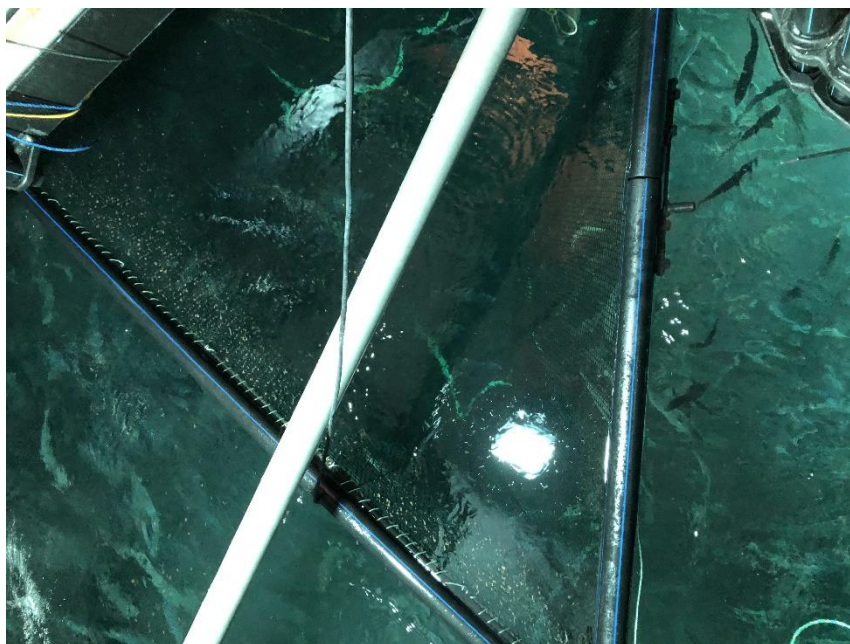
Vannkvalitetsparameter	Navn på måleutstyr eller produsent
Temperatur (°C)	Instrument: Wtw Multi 3620 Probe: Wtw SenTix 980
pH	Instrument: Wtw Multi 3620 Probe: Wtw SenTix 980
Ledningsevne (mS/cm)	Instrument: Wtw Multi 3620 Probe: Wtw TetraCon 925
Salinitet (ppt)	Instrument: Wtw Multi 3620 Probe: Wtw TetraCon 925
O ₂ (%)	Oxyguard Handy Polaris
CO ₂ (mg/l)	Franatech
Alkalinitet (mg/l)	Merck MColorTest Alkalinity Test 1.11109.0001
Totalt oppløst stoff (TSS) (mg/l)	Filtrering. Tørking på Lab, Sunndalsøra
Turbiditet (NTU)	Eutech Instruments Turbidimeter TN-100
Totalt ammoniakk nitrogen (TAN) (mg/l)	Autoanalyser lab Sunndalsøra
Nitritt (mg/l)	Autoanalyser lab Sunndalsøra
Nitrat (mg/L)	Autoanalyser lab Sunndalsøra

2.5 Fiskens ytelse og velferd under postsmoltproduksjon

I uke 45 (2019) ble det satt ut en fiskegruppe på 20 000 fisk i FishGLOBE. I uke 51 (2019) ble det satt ut ytterligere 177 855 fisk. All post-smolt ble transportert fra Grieg Seafood sitt RAS-anlegg i Trosnavåg til FishGLOBE (Lysefjorden) med brønnbåt.

Det ble tatt prøver av fisk ved fire uttak (Tabell 1). Null-prøven (S0) ble tatt på RAS-anlegget rett før fisken ble transportert til FishGLOBE. Etter tre uker akklimatisering i tanken ble det første prøveuttaket i tanken tatt (S1). Etter litt mindre enn to måneder i tanken og like før fisken ble satt ut i åpen not, ble det siste prøveuttaket i tanken tatt (S2). Dette prøveuttaket gir dermed informasjon om hvordan fisken har prestert i tanken. Det siste prøveuttaket (S3) av fisk ble tatt tre måneder etter at fisken ble satt ut i åpen not (Grieg Seafood sitt anlegg på Tallaksholmen i Bokn kommune).

Ved uttak av fisk fra FishGLOBE (S1 og S2) ble det brukt en egen liten not (2,5 - 3m per side, ca. 2 m dyp) (Figur 4). Noten ble satt ut i FishGLOBE dagen før uttaket, og fisk som hadde hoppet inn i noten ble håvet ut og brukt som prøvefisk. Noten var et forsøk fra prosjekteier å få et representativt utvalg fra populasjonen og å unngå at prøvetakingen fra en FishGLOBE på 3500 m³ skulle stresse fisken altfor mye. Prøvetaking fra RAS anlegget (S0) og åpen not (S3) ble gjort med håv. Rett etter håving ble fisken umiddelbart ført over til et kar med overdose Fiquel for avlaving før den blir prøvetatt (Tabell 4).



Figur 4 Prøvetaking av fisk i FishGLOBE med not.

Tabell 4 Målinger og beregninger av prøvefisk fra S0 – S3.

Parameter	Formel/Metode
Vekt (g)	
Lengde (cm)	Gaffellengde
TGC (thermal growth coefficient)	$TGC = \frac{\sqrt[3]{end\ weight} - \sqrt[3]{start\ weight}}{sum\ of\ degree\ days} \cdot 1000$
SGR (specific growth rate)	$SGR = ((\ln W2 - \ln W1) \cdot 100) / \text{dager}$
Akkumulert dødelighet	
CV (variasjonskoeffisient)	CV = Standardavvik/gjennomsnittsverdi
Kondisjonsfaktor	$KF = 100 \cdot \text{vekt (g)} / \text{lengde}^3$
Somatisk indeks	Hjerte, lever, gonader (hannlige og hunnlige) $SI = (100 \cdot \text{organvekt}) / \text{kroppsvekt}$
Histologi	Gjelle og skinn. Bit av andre gjellebue på venstre side og bit av skinn (1x1 cm fra venstre side rett under ryggfinne), ble lagt i formalin og satt på kjøll (på 4°C) for senere analyse.
Genekspresjon	Bit av andre gjellebue på venstre side og bit av skinn (1x1 cm fra venstre side rett under ryggfinne) ble lagt i RNA later og fryst etter 24 timer på -20°C.
Ekstern velferdsskår	Finner, skinn, skinnfarge (0-3) og katarakt (0-5); der alvorsgraden er økende fra 0.
Nefrokalsinose	Skala fra 0 – 4, der 0 er ikke tegn til nefrokalsinose
Blodplasma	Glukose og magnesium analysert på Pentra C400. Blodprøve med vakuutainer, sentrifugering og pipettering før frysing av plasma på -20°C for senere analyse.

Histologi

Gjelle- og vevsprøvene ble støpt inn i parafin etter en 11-timers lang behandlingsprosedyre med PBS, 50 %, 70 %, 96 % og 3x 100 % etanol, 3x xylene og 2x parafin (Leica TP1020, Tyskland), kuttet i 5 µm biter ved hjelp av et roterende mikrotom (Leica RM2165, Tyskland), og farget med Periodic Acid Schiff-Alcian Blue (AB-PAS) i en automatisert fargeprosess (ST5010, Tyskland). Bildene ble digitalisert i Aperio CS2 digital lysbildeskanner (USA).

Kvantitativ histologisk evaluering av gjellene ble utført etter en tidligere beskrevet metode (Lazado et al., 2021). Kort fortalt ble 8 felt i hele gjellebueseksjonen tilfeldig valgt, der hvert felt inneholdt 40 lameller. Essensielle histopatologiske gjelleendringer som ble identifisert inkluderte lamellær klubbing, epitel løfting, hyperplasi, hypertrofi, lamellær fusjon, aneurisme, ødem, hyperemi og nekrose. En lamell som ikke viste tegn på skade eller lesjon ble definert som "frisk". Hyppigheten av lesjonen ble uttrykt i forhold til totalt antall evaluerte lameller.

For skinn ble det gjennomført en semikvantitativ evaluering i 3 tilfeldig utvalgte regioner på rundt 500 µm i avstanden per område. Mikroskopisk helsestatus ble skåret ved blind evaluering ved bruk av to nøkkeltrekk - generelt utseende av epidermis og kvaliteten på epiteloverflaten. Det ble benyttet et 3-punktsskåresystem for skinnhelse (Lazado et al., 2021).

Genekspresjon ved qPCR

Genekspresjon ble kun utført i skinn da histologi i gjelle ikke viste alvorlige endringer.

Totalt RNA ble isolert fra skinn ved hjelp av Quick-RNA™ Microprep Kit (Zymo Research, USA). Komplementært DNA (cDNA) ble syntetisert ved bruk av Taqman Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, USA) i en 20 µL reaksjonsblanding inneholdende 9,6 µL 500 ng templat RNA, 2 µL 10X RT-buffer, 1,4 µL 25 mM MgCl₂, 4 µL 10 mM dNTP-blanding, 1 µL RNase-hemmer, 1 µL MultiScribe™ Revers Transkriptase og 1 µL Random Hexamers. Thermocycling ble utført i en Veriti™ 96-brønns Termisk Cykler (Applied Biosystems, USA) etter denne protokollen: 25°C i 10 minutter, 37°C i 30 minutter og 95°C i 5 minutter.

Transkripsjonsnivåene av utvalgte gener som påvirket epitelintegritet, stressrespons, mucin og antibakterielt forsvar ble kvantifisert ved Real-time kvantitativ polymerasekjedereaksjon (RT-qPCR) i QuantStudio™ 5 Real-time PCR-system (Applied Biosystems, USA). Reaksjonsblandingen inneholdt 5 µL PowerUp™ SYBR™ Green Master Mix (Applied Biosystems, USA), 0,5 µL 10 µM av hver frem/tilbake primer (Invitrogen, USA) og 4 µL 1:10 cDNA. Sykluser for parametrene var: pre-inkubasjon ved 95°C i 20 sekunder, forsterkning med 40 sykluser ved 95°C i 1 sekund og 60°C i 20 sekunder, og et dissosiasjonstrinn på 95°C i 1 sekund, 60°C i 20 sekunder og 95°C i 1 sekund. En fem-trinns standardkurve med to ganger fortyningsserier ble fremstilt fra sammenslått cDNA for å bestemme forsterkningseffektivitetene. Genuttrykk ble normalisert av det geometriske gjennomsnittet av tre referansegener (*Elongation factor alpha-1*, *Acidic ribosomal phosphoprotein* and *β-actin*), som beskrevet tidligere (Nagasawa et al., 2012).

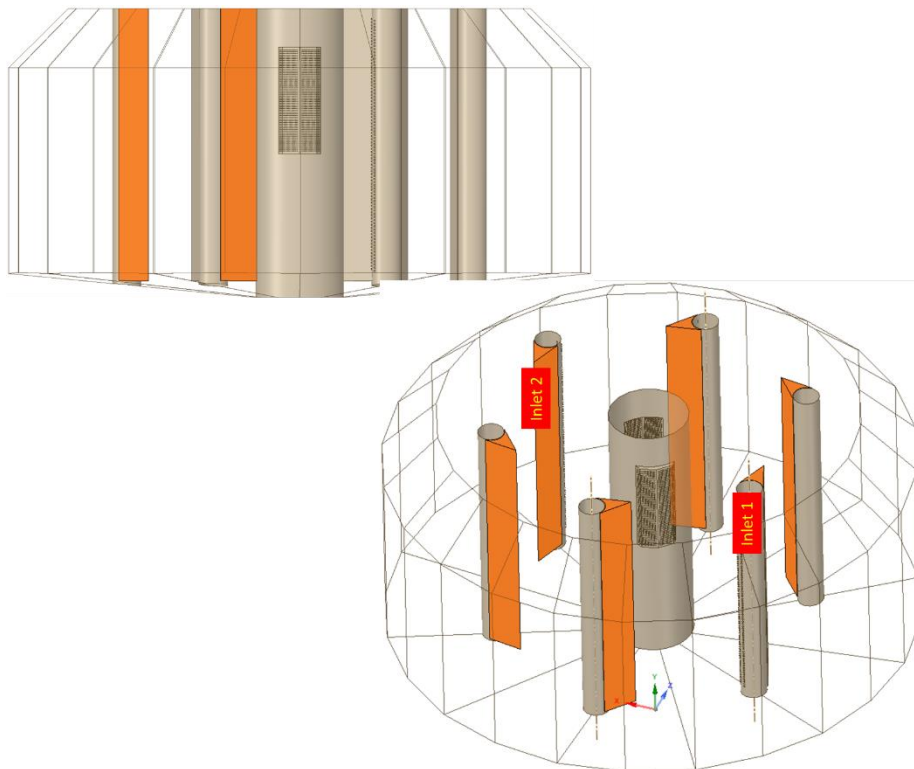
3 Resultat og diskusjon

3.1 Dimensjonering og hydrodynamikk

Nofima har utført fire CFD-simuleringer for nye V5 (Figur 2):

- Case 1: Original design, ingen vannavdelere, 30° vinkel mellom vandysene i V-form
- Case 2: Vannavdeler ved 30° vinkel
- Case 3: Vannavdeler ved 10° vinkel
- Case 4: Vannavdeler ved 10° vinkel + 3° endring i dyse vinkel

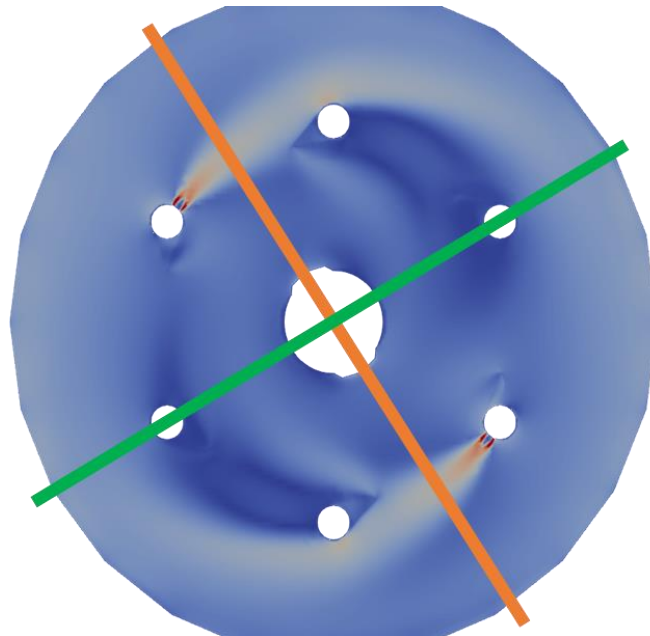
I det nye designet ble det foreslått å sette inn vannavdelere (Figur 5). I CFD-modellen ble det dermed inkludert tre caser (case 2-4), der vannavdelerne med henholdsvis 30° vinkel, 10° vinkel og 10° vinkel + 3° endring i dyse vinkel, ble modellert.



Figur 5 FishGLOBE nye V5 CFD. De oransje vinklene på innløpene illustrerer vannavdelerne i case 2 – 4.

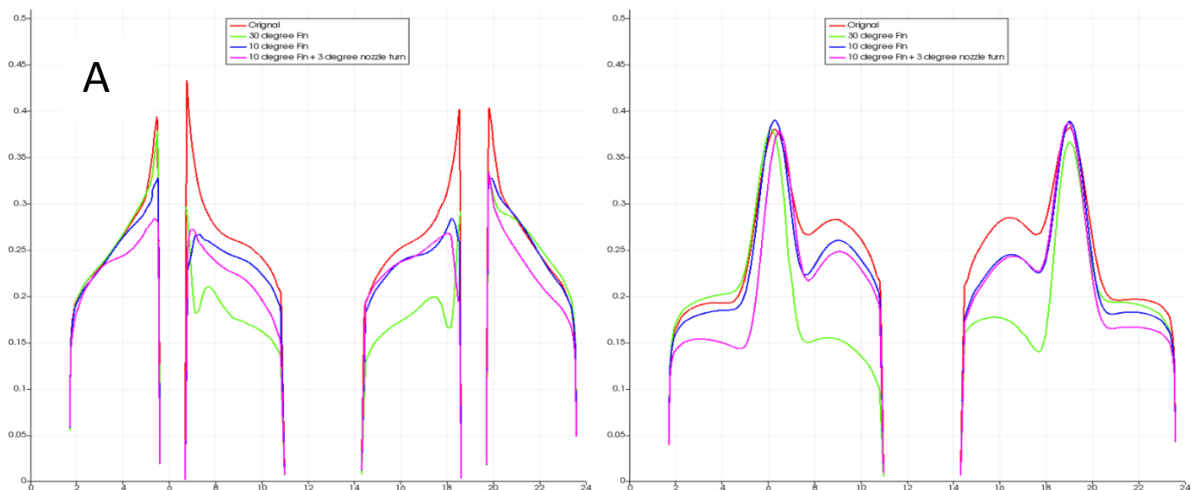
Vannhastighet og fordeling

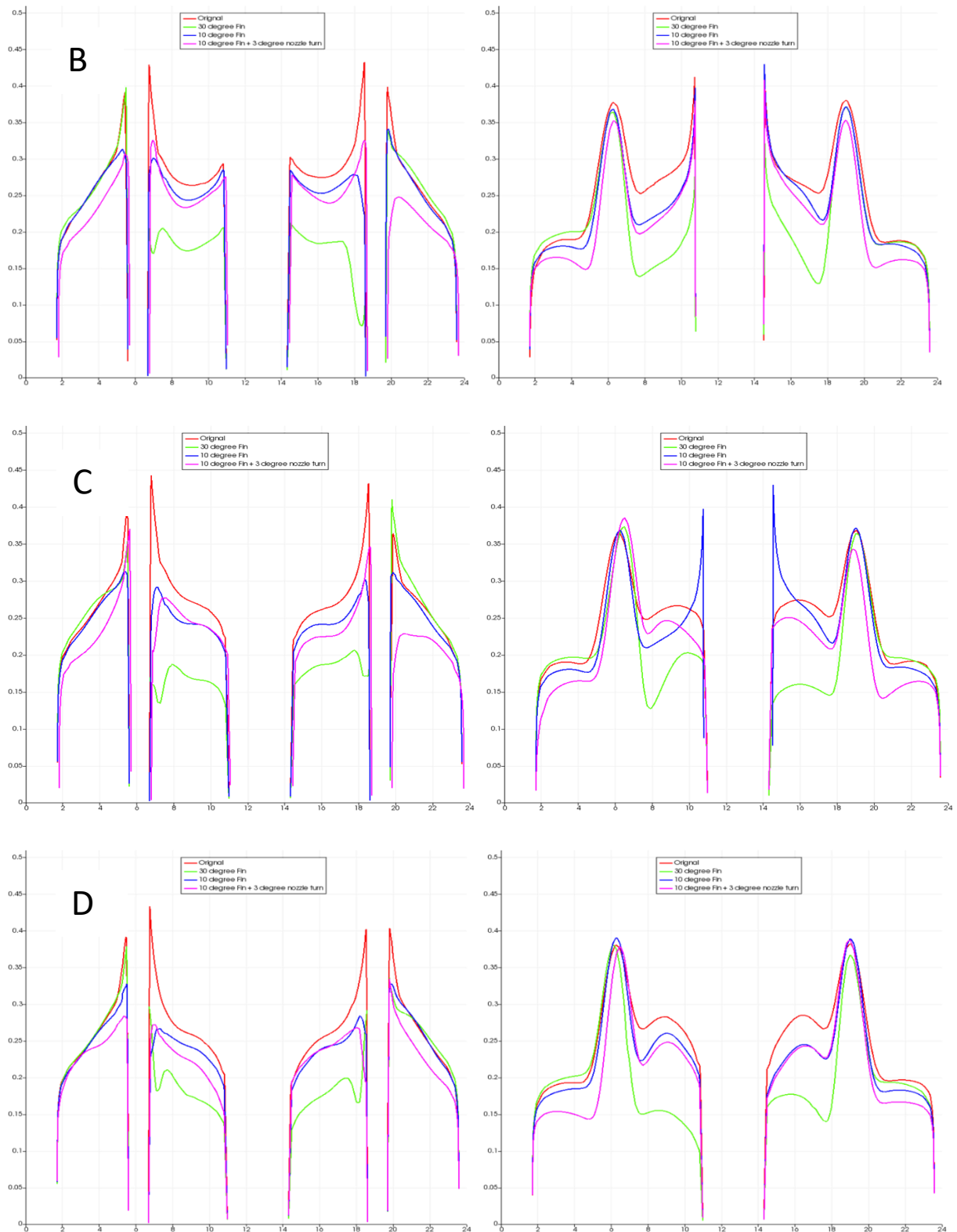
Vannhastighet og fordeling ble modellert ved å dele FishGLOBE sett ovenfra i to tverrsnitt (Figur 6).



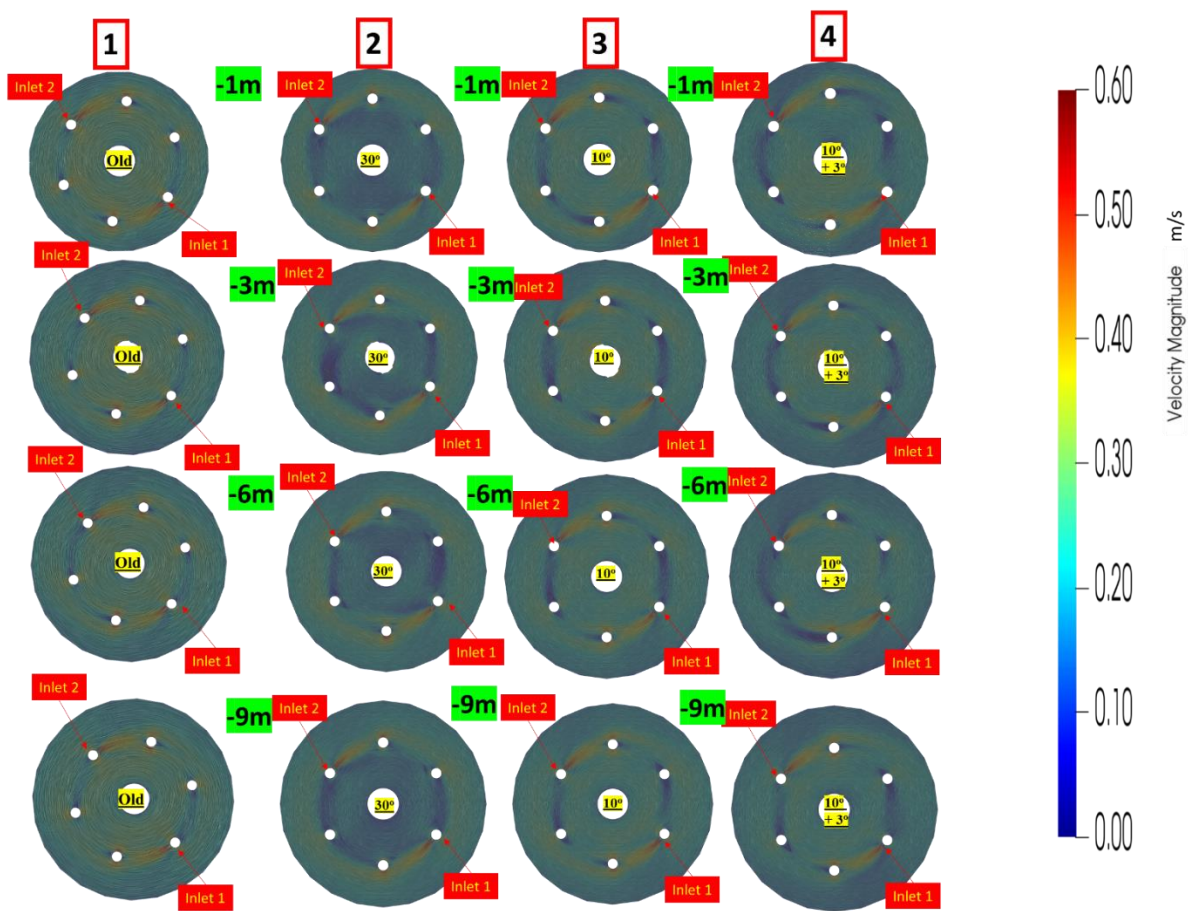
Figur 6 FishGLOBE sett ovenfra der tanken er delt med to tverrsnitt; Grønn linje = tverrsnitt 1; oransje linje = tverrsnitt 2.

CFD-modelleringen viser at case 1 (original design uten vannavdelere) gir best vannstrøm og best vannfordeling i karet sammenlignet med case 2 – 4 (Figur 7 - 9). Det var ingen variasjon i hastighet mellom ulike dybder i tanken (Figur 7). Bruk av vannavdelere (Case 2 - 4) og deres ulike vinkelretning resulterte ikke i merkbare endringer i vannstrøm eller fordeling. For flere av designene med vannavledere viser modelleringen liten hastighet ved siden av innløpet (Figur 8 og 9).

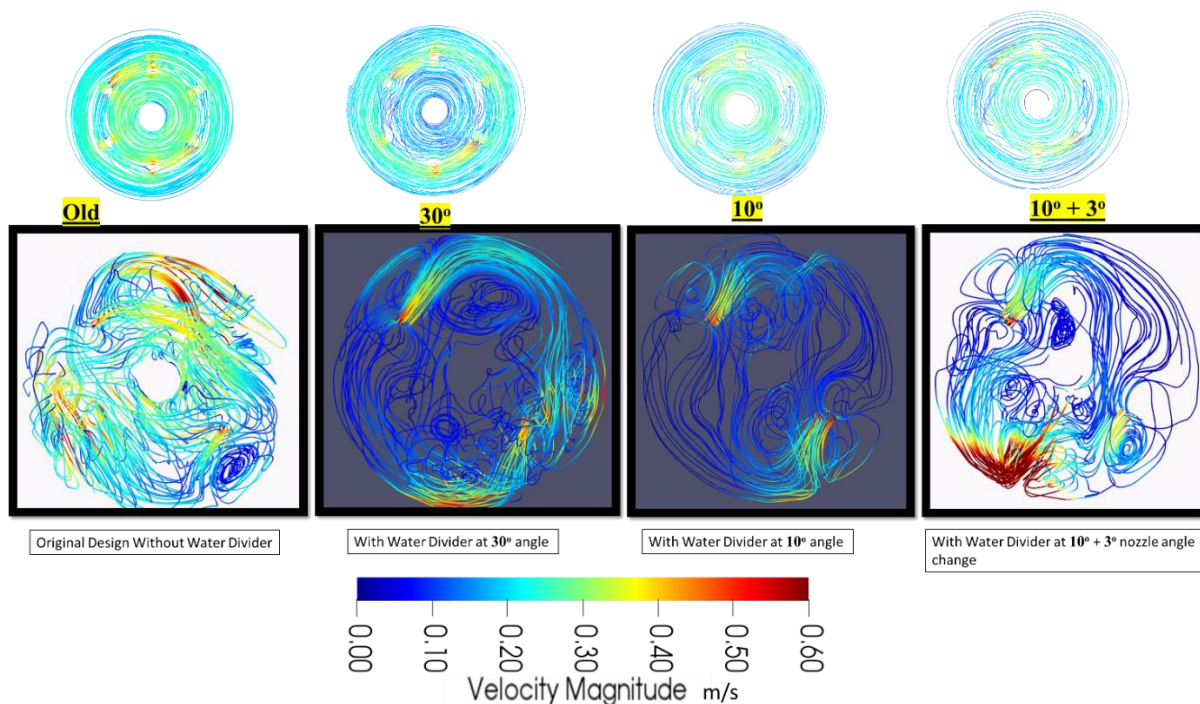




Figur 7 Modellert vannhastighet (m/s) (Y-akse) i FishGLOBE på dyp 1m (A), 3m (B), 6m (C) og 9m (D) for case 1 (rød), case 2 (grønn), case 3 (blå) og case 4 (rosa). X-aksen viser hele bredden i tanken der sentrum i tanken er mellom 12 og 13. For A – D er de to grafene til venstre tverrsnitt 1 mens grafene til høyre er tverrsnitt 2 (Figur 7).



Figur 8 Modellert vannhastighet og fordeling for case 1 – 4, ved dyp 1, 3, 6 og 9. Til høyre i figuren vises skala for vannhastighet der blå er minst og rød er størst (0,6 m/s).



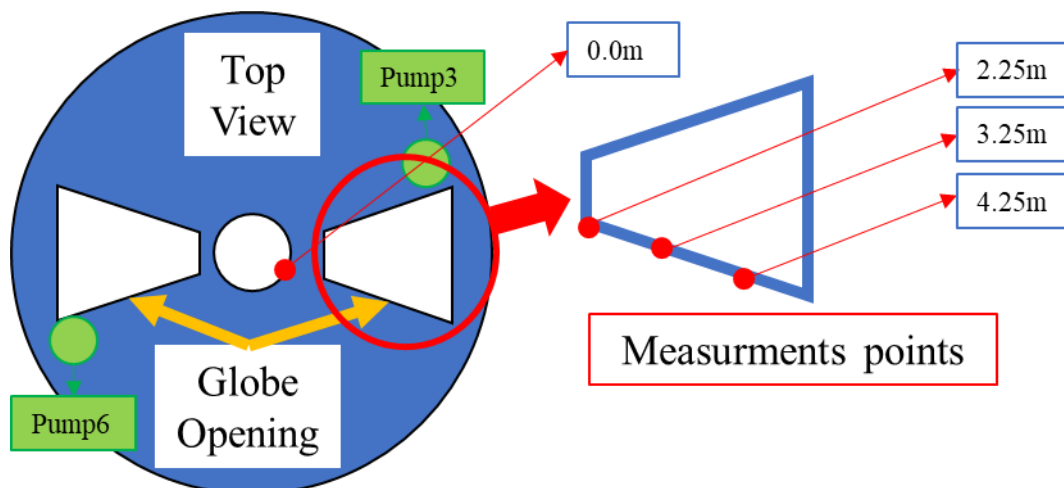
Figur 9 Modellert vannhastighet og fordeling for case 1 – 4, ved dyp 1, 3, 6 og 9. Nederst i figuren vises skala for vannhastighet, der blå er minst og rød er størst (0,6 m/s).

3.2 Vannkvalitet og sensorikk under postsmoltproduksjon

S1: 09 – 10. januar 2020

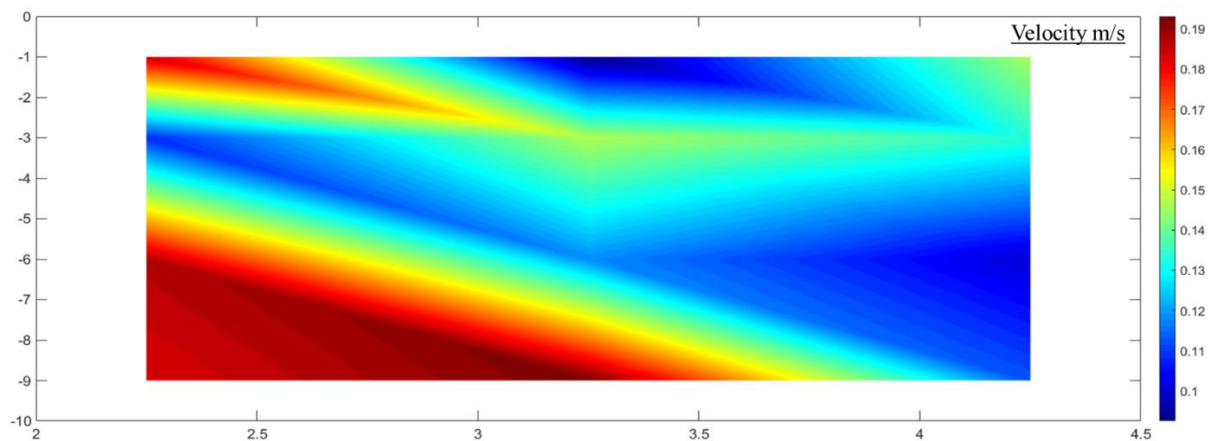
Fisketettheten på tidspunktet for empirisk måling var $13,2 \text{ kg/m}^3$.

Målingspunkter for vannkvalitet var 2,25, 3,25 og 4,25 meter fra senterveggen og ved dybder på 1, 3, 6 og 9 meter (Figur 10). Pumpehastigheten ble også målt. CFD-modelleringen (seksjon 3.1.1) ble gjort under forutsetningene at pumpehastigheten var $3600 \text{ m}^3/\text{h}$. Den reelle pumpehastigheten var imidlertid på $3218 \text{ m}^3/\text{h}$ og $3060 \text{ m}^3/\text{h}$ for henholdsvis pumpe 3 og 6 (Figur 10).



Figur 10 Målepunkt for vannkvalitet i FishGLOBE for tidspunktet S1 var 2,25, 3,25 og 4,25 meter fra senterveggen og ved dybder på 1, 3, 6 og 9 meter (ikke illustrert her). Vann ble pumpet inn gjennom pumpe 3 og 6. De empiriske vannkvalitetsmålingene ble tatt ved pumpe 3.

Ved målinger av vannhastighet i FishGLOBE V5 var vannhastighet høyest ved målingspunktet 2,25m fra senterveggen og ved lavere dyp (5 – 9m), og lavest ved ytterveggen (4,25m fra senterveggen) (Figur 11). Observasjoner av svømmeatferd viste at mesteparten av fisken svømte med strømmen ved ytterveggen der hastigheten var lav, mens de svømte mot strømmen i nært sentrum av tanken der hastigheten var størst.



Figur 11 Målt vannhastighet i FishGLOBE for tidspunktet S1. Målingspunkter var 2,25, 3,25 og 4,25 meter fra senterveggen og ved dybder på 1, 3, 6 og 9 meter (Y-akse) (se figur 11). Vannhastighetskalaen er fra laveste hastighet (blå) til høyeste hastighet (rød).

Målte vannkvalitetsvariable er gitt for 2,25 og 4,25 meter fra senterveggen (Tabell 5). Det var ingen forskjeller mellom de ulike dyp, så tallene i tabell 5 er gitt som gjennomsnitt for alle dyp (1, 3, 6, og 9 meter). Det var signifikant høyere nivå av nitrat nærmere ytterveggen sammenlignet med sentrum av tanken, men nivåene av nitrat er langt unna grenseverdien på 100 mg/l. Alle vannkvalitetsvariablene vist i tabell 5 ligger godt innenfor det anbefalte.

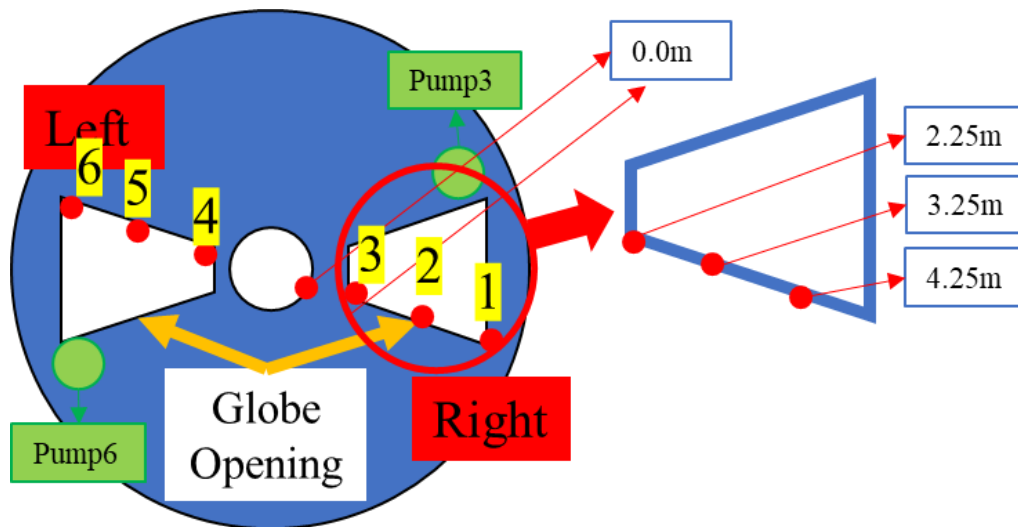
Tabell 5 Empirisk måling av vannkvalitet i FishGLOBE tanken for tidspunktet S1. Forskjellene er testet med Student t-test.

Vannkvalitetsvariabel (gjennomsnitt ± standardavvik)	2,25 meter fra senterveggen	4,25 meter fra senterveggen	Statistikk
Temperatur (°C)	8,55 ± 0,06	8,55 ± 0,06	NS
pH	7,97 ± 0,03	7,95 ± 0,03	NS
Ledningsevne (mS/cm)	48,65 ± 0,19	48,60 ± 0,08	NS
Salinitet (ppt)	30,75 ± 0,13	30,78 ± 0,13	NS
O ₂ (% metning)	94,00 ± 1,63	93,00 ± 3,16	NS
CO ₂ (mg/l)	1,43 ± 0,17	1,50 ± 0,17	NS
Alkalinitet (mg/l)	122,60 ± 5,00	122,60 ± 8,67	NS
TSS (mg/l)	2,34 ± 0,01	2,37 ± 0,02	NS
Turbiditet (NTU)	0,22 ± 0,06	0,37 ± 0,18	NS
TAN (mg/L)	0,31 ± 0,06	0,32 ± 0,02	NS
Nitrat (mg/L)	0,18 ± 0,01	0,22 ± 0,01	P < 0.05
Nitritt (mg/L)	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,01	NS

S2: 10. september 2020

Fisketettheten på tidspunktet for empirisk måling var 62,2 kg/m³.

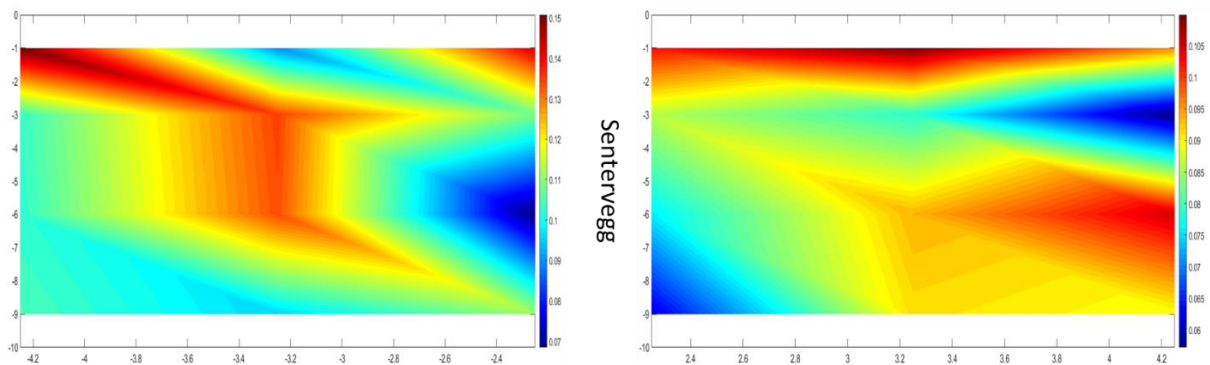
Målingspunkter for vannkvalitet var 2,25, 3,25 og 4,25 meter fra venstre og høyre sentervegg (totalt 6 målepunkter horisontalt) og ved dybder på 1, 3, 6 og 9 meter (Figur 12).



Figur 12 Målepunkt for vannkvalitet i FishGLOBE for tidspunktet S2 var 2,25, 3,25 og 4,25 meter fra venstre og høyre sentervegg (merket gul 1 – 6), og ved dybder på 1, 3, 6 og 9 meter (ikke illustrert her). Vann ble pumpet inn gjennom pumpe 3 og 6.

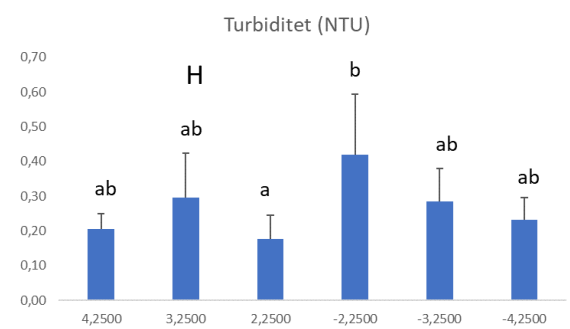
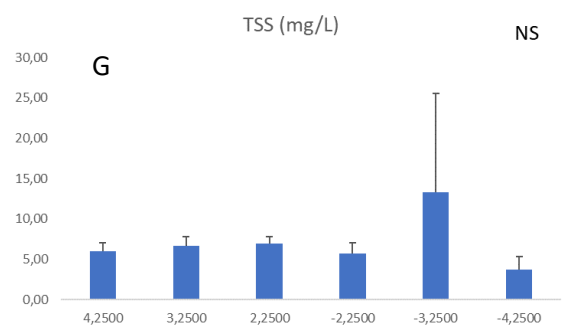
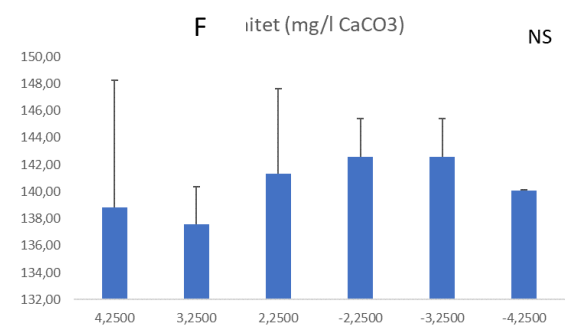
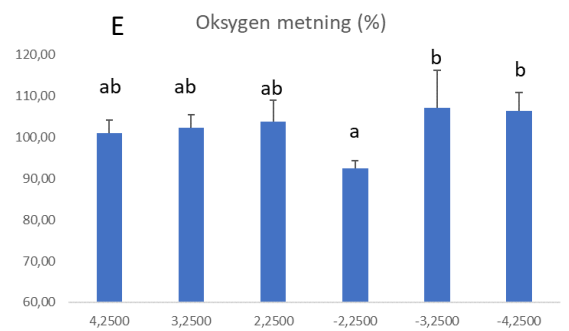
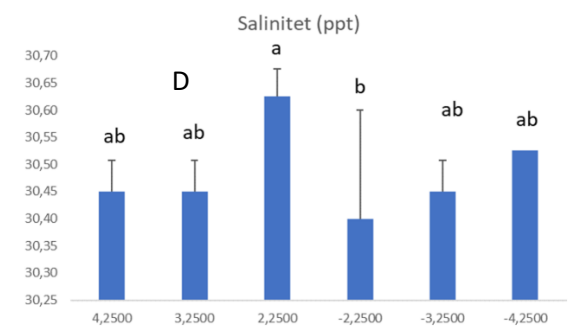
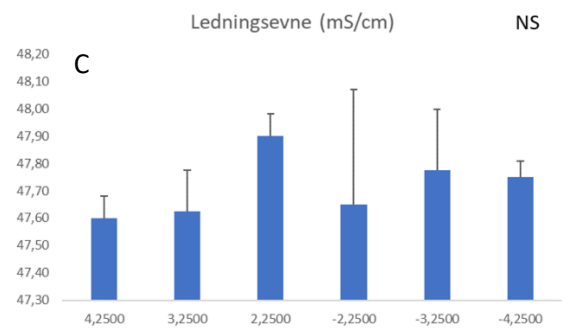
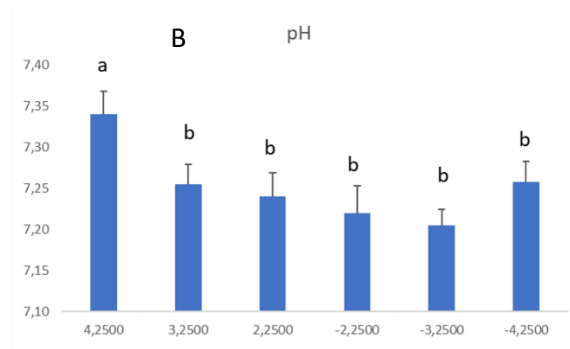
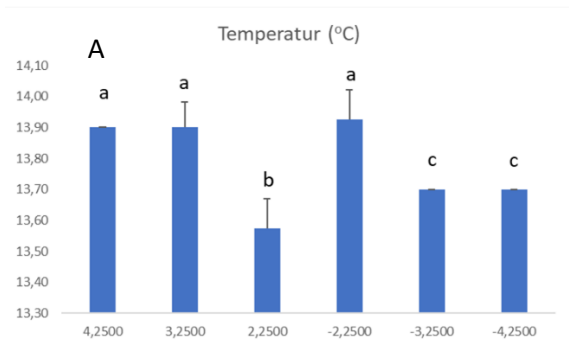
Vannhastighet lå mellom 0,05 – 0,16 m/s. Vannhastighet og fordeling varierte noe mellom dyp og også fra høyre til venstre side av tanken (Figur 13). Variasjonen i hastighet er noe høyere på venstre side av tanken. Høyeste hastighet ble funnet i de øverste vannmassene, ca. 1 meter fra overflaten (Figur 13). Variasjonen i vannhastighet mellom dyp og side av tanken kan komme av den relative høye fisketettheten. Gjennomsnittlig vannhastighet for måletidspunktet S1: 9 – 10. januar 2020 lå noe høyere

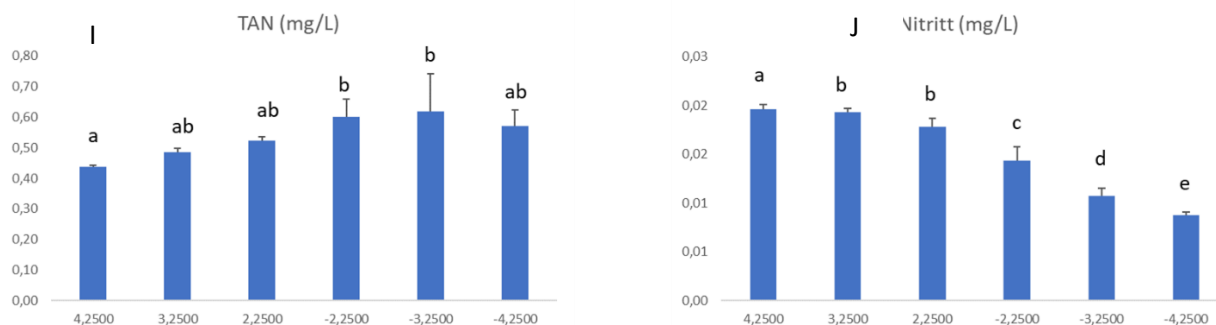
enn for S2 måletidspunktet (0,1 – 0,19 m/s for S1 vs. 0,05 – 0,16 m/s for S2), noe som også sannsynlig skyldes ulikheten i tetthet (13,2 kg/m³ i S1 vs. 62,2 kg/m³ i S2).



Figur 13 Målt vannhastighet i FishGLOBE for tidspunktet S2. Målingspunkter var 2,25, 3,25 og 4,25 meter fra venstre og høyre sentervegg og ved dybder på 1, 3, 6 og 9 meter (Y-akse) (se figur 13). Vannhastighetsskalaen er fra laveste hastighet (blå) til høyeste hastighet (rød). Mellom høyre og venstre side av tanket er senterveggen.

Målte vannkvalitetsvariabler er gitt for 2,25, 3,25 og 4,25 meter fra venstre og høyre sentervegg (Figur 14). Det var ingen forskjeller mellom de ulike dypene, så tallene i tabell 6 er gitt som gjennomsnitt for alle dyp (1, 3, 6, og 9 meter). For alle vannkvalitetsvariablene, bortsett fra ledningsevne, alkalinitet og TSS, var det signifikante forskjeller mellom de ulike prøvetakingspunktene (Figur 14 A-J). Ut fra de reelle verdiene vil imidlertid forskjellene ikke ha noen reell innvirkning på systemet eller fisken. Det som er verdt å merke er forskjellene fra S1, da også fisketettheten var atskillig lavere. I september (S2) var temperaturen i FishGLOBE 5 – 6 °C høyere enn i januar (S1). Ettersom FishGLOBE tar inn vann fra Lysefjorden vil temperaturen i tanken styres av vanntemperaturen i fjorden. Oksygenmetningen var også høyere ved S2-prøvetakingen sammenlignet med S1. Mens oksygenet under S1 lå på 93 – 94 % metning, viste enkeltmålinger ved S2 verdier på 115 % metning, og med unntak av for ett målingspunkt, lå alle målingene over 100 % metning. Fisken tåler fortsatt disse nivåene godt, men det anbefales å følge godt med på fisken i tilfelle oksygen tilsettes og når nivåer over 100 % metning. Vi har dessverre ikke prøveuttak av fiskegruppen som gikk i tanken ved S2 og vi kan dermed ikke konkludere hvordan fisken håndterte temperaturen eller oksygenivåene. Ved S2 ble det målt lavere pH, høyere TSS og TAN i vannet sammenlignet med S1. Dette skyldes sannsynligvis den større tettheten ved S2 sammenlignet med S1.



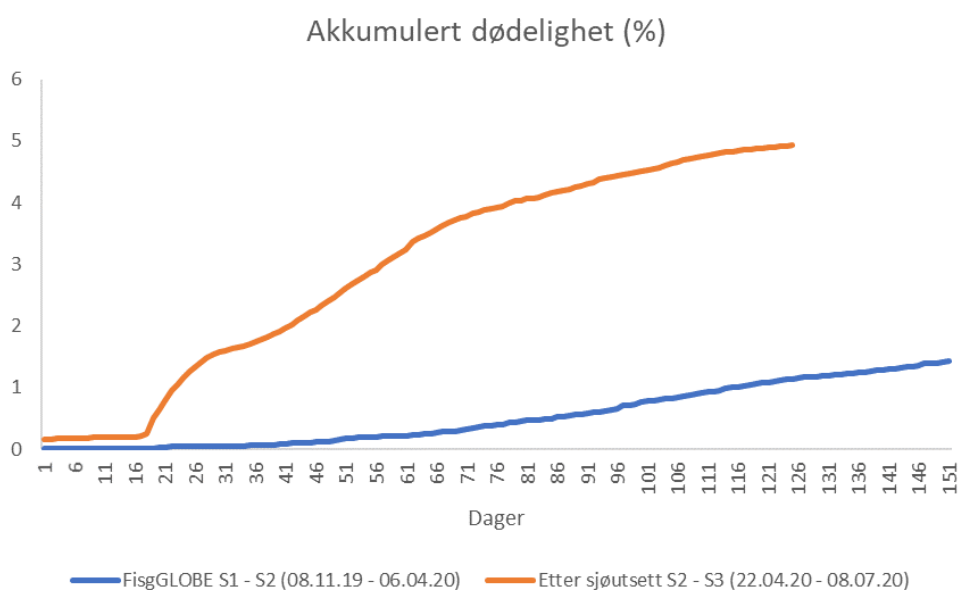


Figur 14 Empirisk måling av vannkvalitet i FishGLOBE-tanken ved tidspunkt S2. Forskjellene er testet med Anova en-veis variansanalyse med Tukey post-hoc analyse. Små bokstaver indikerer signifikante forskjeller ved $p < 0.05$. Posisjonene er: 4,25 meter fra høyre sentervegg; 3,25m fra høyre sentervegg; 2,25m fra høyre sentervegg; 2,25m fra venstre sentervegg; 3,25m fra venstre sentervegg; 4,25m fra venstre sentervegg (se også Figur 12).

3.3 Fiskens ytelse og velferd under postsmoltproduksjon

3.3.1 Akkumulert dødelighet

Akkumulert dødelighet i FishGLOBE endte på 1,4 % før fisken ble satt ut i åpen not. Totalt registrert dødfisk i merd var 4,9 % (Figur 15).

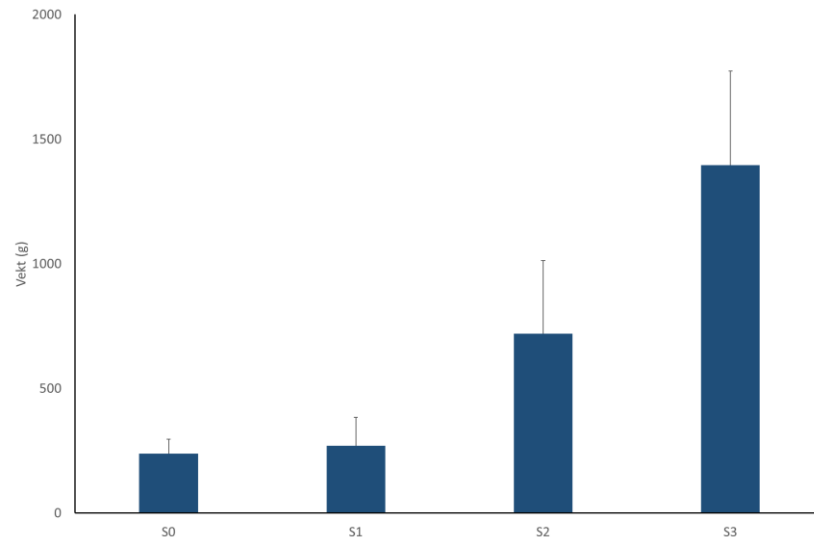


Figur 15 Akkumulert dødelighet i FishGLOBE (blå linje) og tre måneder etter utsett i åpen not (oransje linje). Registreringer av dødfisk fortsatte etter at S3-prøveuttaket ble gjennomført i juli.

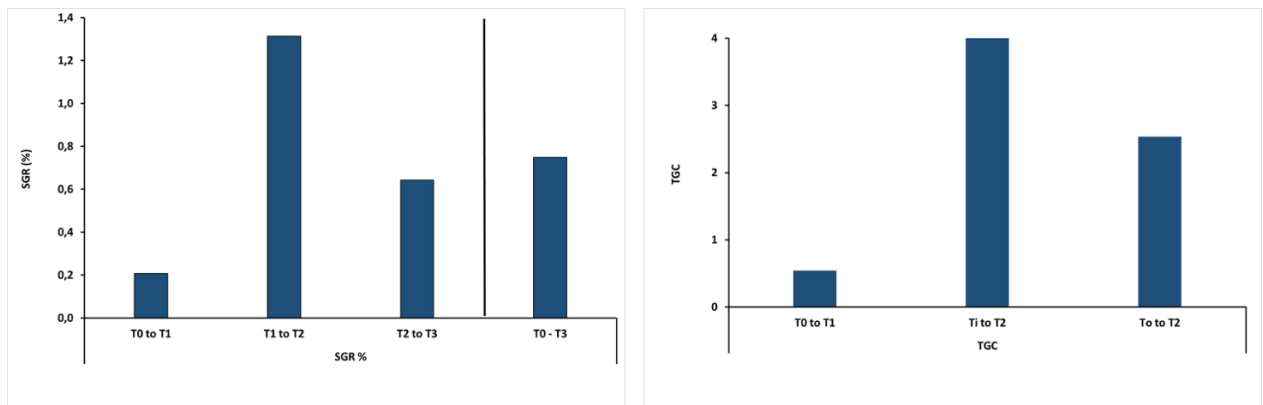
3.3.2 Tilvekst

Fra nulluttaket i RAS-anlegget (november 2019) til tre måneder etter sjøutsett i åpen not (juli 2020), vokste fisken fra 238 gram til ca. 1,4 kg (Figur 16). Uttrykt som SGR og TGC (Figur 17) var den beste vekstperioden tiden fisken ble holdt i FishGLOBE (S1 – S2). Mellom 9. januar 2020 (S1) og 25. mars

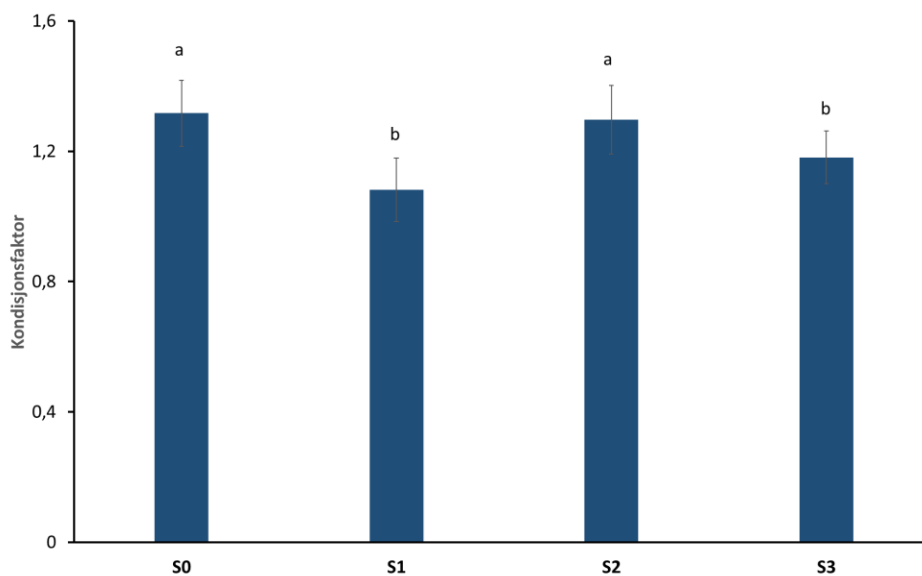
2020 (S2) var SGR 1,3 mens TGC var 4,0 (Figur 17). For hele vekstperioden, fra nulluttaket til uttaket i åpen not (S0 – S3) var SGR og TGC på henholdsvis 0,7 og 2,5 (Figur 17).



Figur 16 Start og sluttvekt. S0 = nullprøve, S1 = første fase i FishGLOBE, S2 = siste fase i FishGLOBE, S3 = tre måneder etter sjøutsett i åpen not (se også tabell 1).



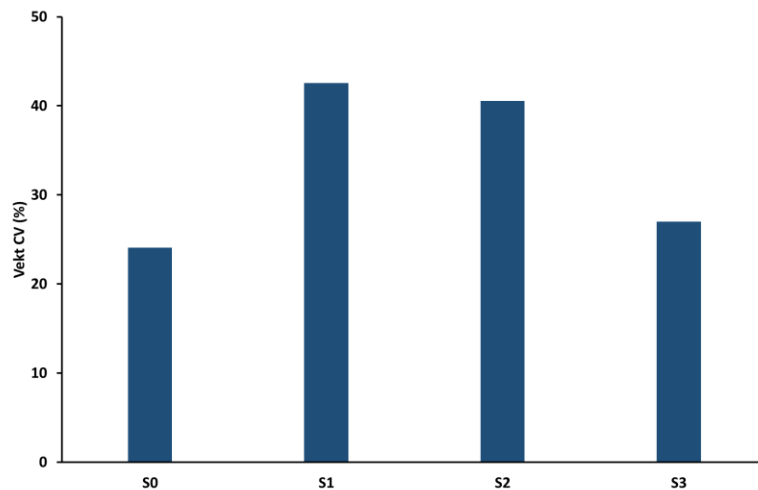
Figur 17 SGR (venstre) og TGC (høyre) for prøvetakingene S0 til S3. S0 = nullprøve, S1 = første fase i FishGLOBE, S2 = siste fase i FishGLOBE, S3 = tre måneder etter sjøutsett i åpen not (se også tabell 1).



Figur 18 Kondisjonsfaktor. S0 = nullprøve, S1 = første fase i FishGLOBE, S2 = siste fase i FishGLOBE, S3 = tre måneder etter sjøutsett i åpen not (se også tabell 1). Forskjellene er testet med Anova en-veis variansanalyse med Tukey post-hoc analyse. Små bokstaver indikerer signifikante forskjeller ved $p < 0.05$.

Fiskens kondisjonsfaktor (Figur 18) lå over 1,0 ved alle prøveuttakene, men var likevel minst i første fase av tiden i FishGLOBE (S1), og signifikant mindre både for S1 og S3 (tre måneder etter sjøutsett) uttaket. Både S1 og S3 er tidspunkt relativt kort etter overflytting fra henholdsvis RAS-anlegget og FishGLOBE, og flytting medfører ofte etterfølgende perioder der fisken spiser mindre og dermed vokser dårligere.

Variasjonskoeffisienten (CV) for vekt (Figur 19) var ganske høy, spesielt for perioden i FishGLOBE (S1 til S2). CV er her regnet ut fra fisken som ble tatt ut til prøve, og ikke fra hele populasjonen. Det kan tenkes at den prøvetakingsmetoden som ble benyttet kan ha innvirket på CV-resultatene (Den høye) Variasjonskoeffisienten viser at det var stor størrelsesvariasjon på fisken som ble tatt til prøvefisk.

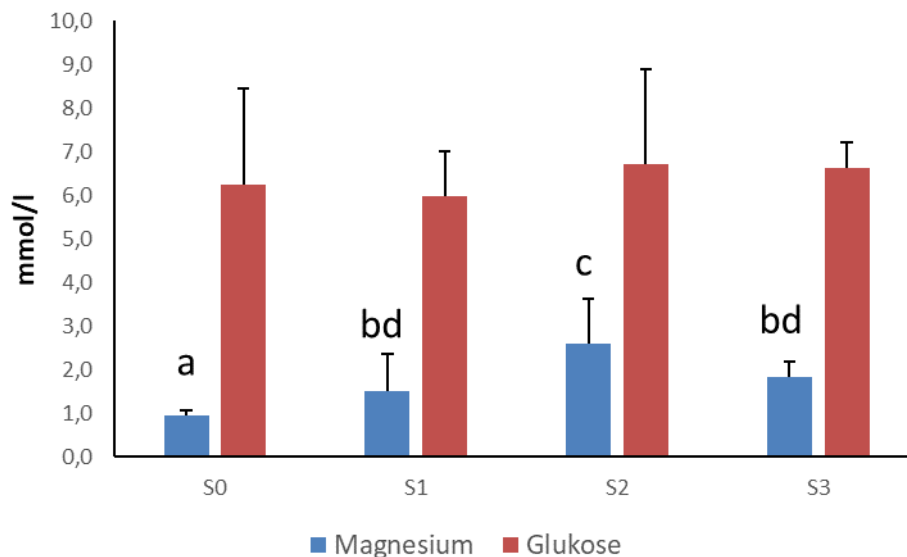


Figur 19 Vektvariasjonskoeffisient (%). S0 = nullprøve, S1 = første fase i FishGLOBE, S2 = siste fase i FishGLOBE, S3 = tre måneder etter sjøutsett i åpen not (se også tabell 1).

3.3.3 Velferd og stress

Plasmamagnesium ligger i normale tilfeller mellom 1-2 mmol/l. Avvikende nivåer fra dette indikerer ofte stress og dårlig evne til osmoregulering (Iversen og Eliassen, 2009). Plasmamagnesium økte fra S0 (1,0 mmol/l) til S2 (2,6 mmol/l), før det gikk ned igjen til 1,8 etter sjøutsett (S3). Nivåene var litt over det anbefalte mot slutten i FishGLOBE og dette kan tyde på litt svekket sjøvannstilpasning.

For plasmaglukose var det ingen forskjeller mellom prøvetakingstidspunktene (Figur 20). Likevel tyder nivåene av plasmaglukose over 6 mmol/l på at fisken er utsatt for mildt stress.

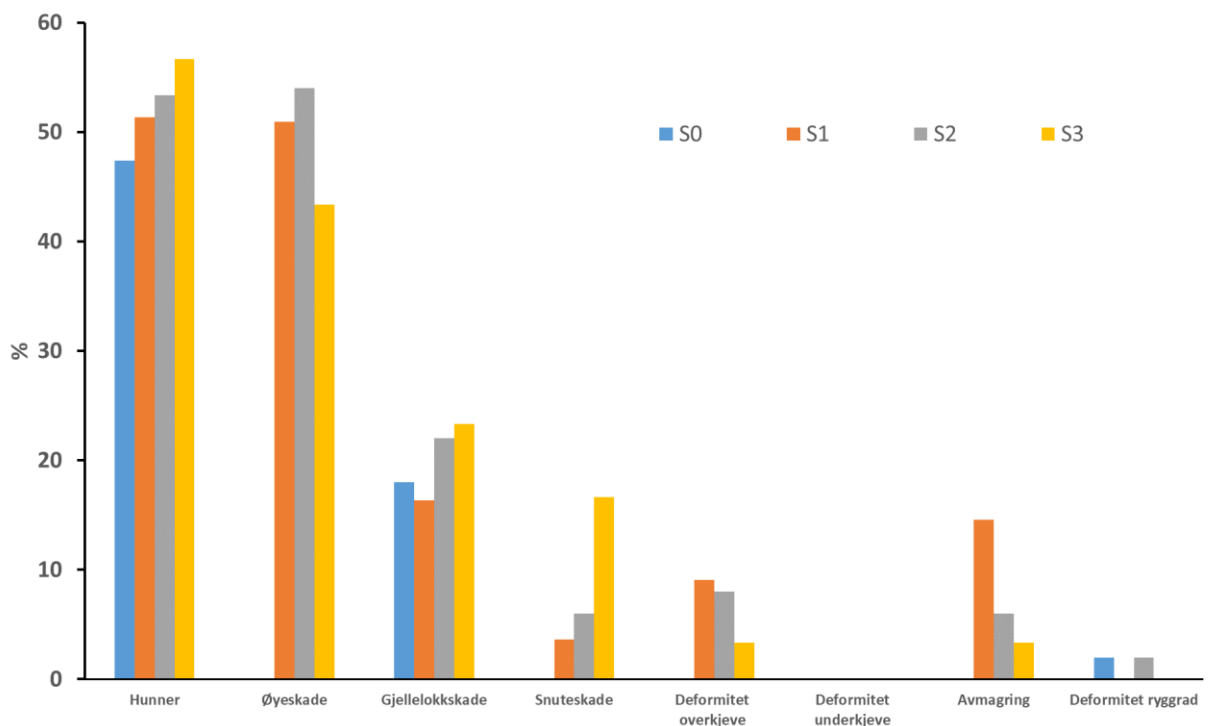


Figur 20 Plasmamagnesium og -glukose (mmol/L). S0 = nullprøve, S1 = første fase i FishGLOBE, S2 = siste fase i FishGLOBE, S3 = tre måneder etter sjøutsett i åpen not (se også tabell 1). Forskjellene er testet med Anova en-veis variansanalyse med Tukey post-hoc analyse. Små bokstaver indikerer signifikante forskjeller ved $p < 0.05$.

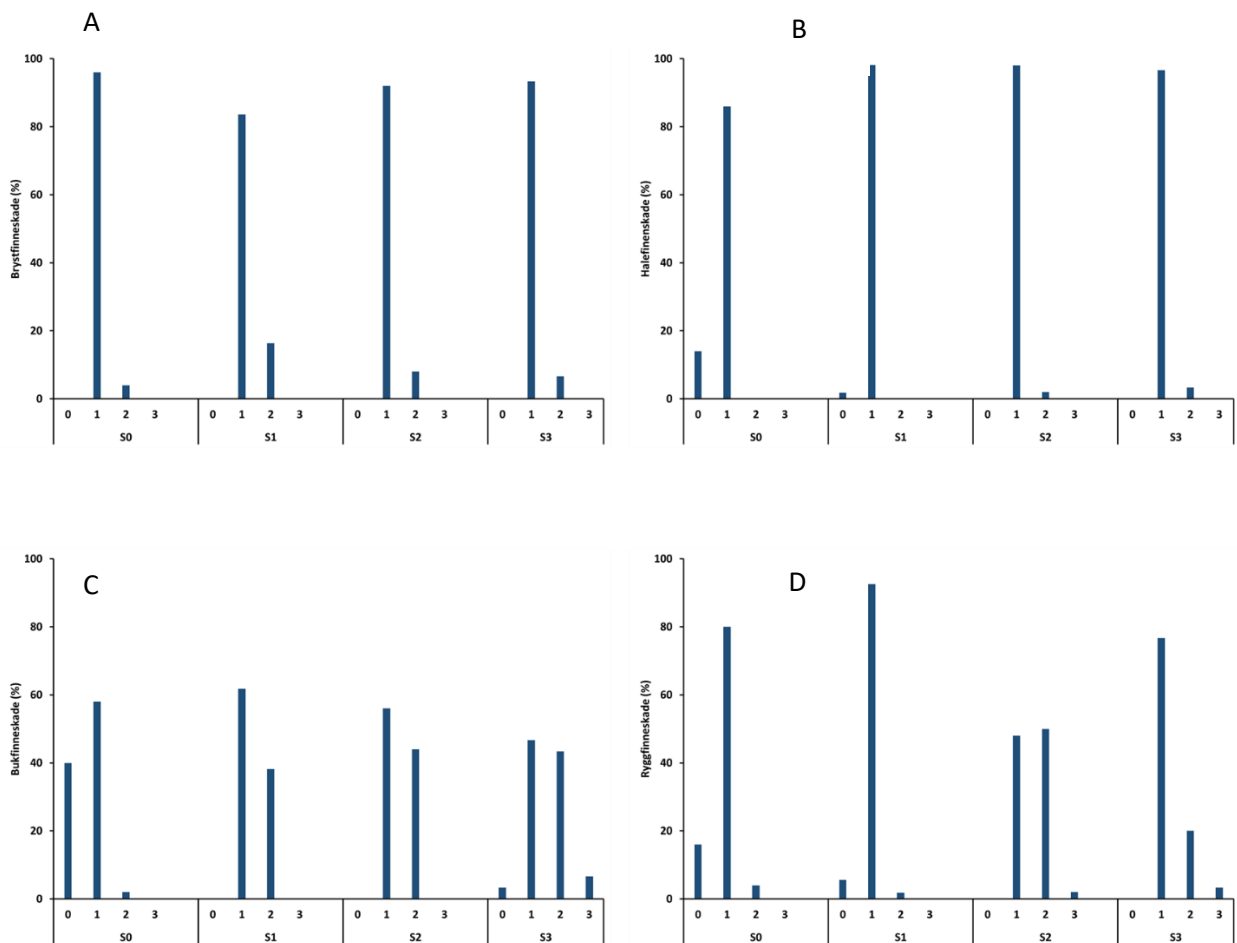
Ytre tegn på velferdsutfordringer ble målt på øyeskade, gjellelokkskade, snuteskade, deformiteter på over og underkjeve, samt ryggrad, og tegn til avmagring (Figur 21). Det var ganske høy grad av øyeskader (katarakt) (43 – 54 %), men andelen var avtakende over tiden. Det var også en betydelig andel gjellelokkforkortelser (16 – 23 %), og dette var svakt økende over tid. Katarakt har mange ulike årsaksforhold, for eksempel genetiske forhold, mangel på histidin i fôr og vanntemperatur (Sambraus *et al.*, 2017). Andel snuteskader var økende, mens avmagring var avtakende fra den første tiden i FishGLOBE til tre måneder etter sjøutsett. 17 % snuteskader ble observert etter sjøutsett mot 6 % fra perioden i FishGLOBE (Figur 21). Årsaken til denne økningen er ikke kjent, men en tenkelig årsak kan være skade i forbindelse med transport.

Brystfinne (Figur 22A) har opptil 96 % tilfeller med svak skade (1 på skala) ved alle uttakene. Andelen med mer alvorlige brystfineskader er liten. Også for halefinne (Figur 22B) er andelen svak skade stor (opptil 98 %), og her er andel alvorligere skader enda mindre enn for brystfinne. For bukfinneskade (Figur 22C) er alvorsgraden mer varierende og opptil 44% av fisken har alvorsgrad 2 fra perioden S1 til S3. Det er ikke uvanlig å se slitte bukfinner hos fisk som svømmer mesteparten av tiden i en retning i kar eller merd og figur 22C viser også at andelen fisk med bukfinneskade alvorsgrad 3 øker når fisken blir overført til åpen not. Også for ryggfineskade (Figur 22D) øker alvorsgraden når fisken blir større, da det er flere fisk med alvorsgrad 3 ved henholdsvis S2 og S3.

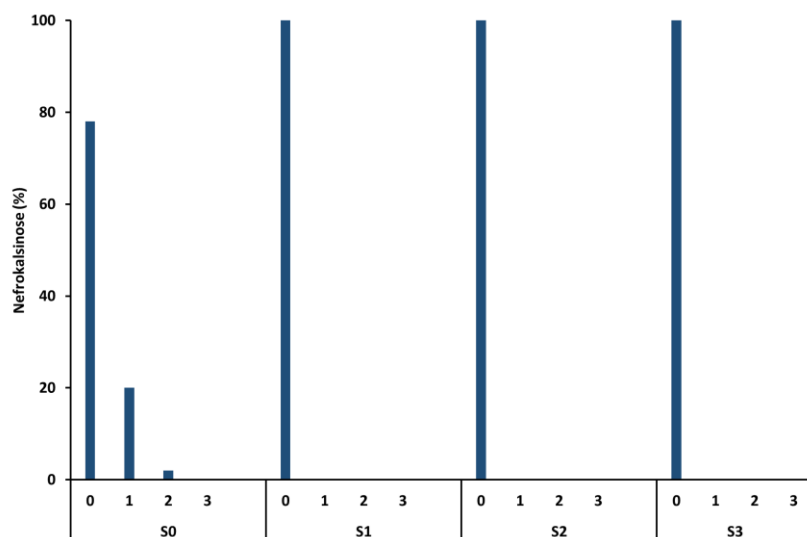
Det ble ikke observert nefrokalsinose hos noen fisk i S1, S2 eller S3. I RAS-anlegget (S0) ble det imidlertid observert 20 % fisk med nefrokalsinose alvorsgrad 1 og 2 % med alvorsgrad 1 (Figur 23).



Figur 21 Ytre velferdsskår. Skade er angitt i prosent tilstedeværelse. S0 = nullprøve, S1 = første fase i FishGLOBE, S2 = siste fase i FishGLOBE, S3 = tre måneder etter sjøutsett i åpen not (se også tabell 1).



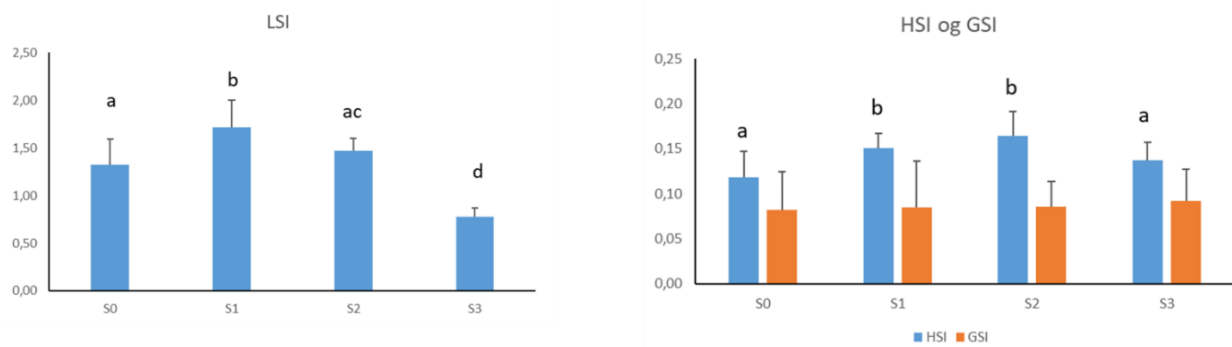
Figur 22 Fineskader målt fra en skala fra 0 (ingen) til 3 (mye). A = Brystfineskade; B = Halefineskade; C = Bukfineskade; D = Ryggfineskade. Skade er angitt i prosent tilstedeværelse. S0 = nullprøve, S1 = første fase i FishGLOBE, S2 = siste fase i FishGLOBE, S3 = tre måneder etter sjøutsett i åpen not (se også tabell 1).



Figur 23 Nefrokalsinose målt fra en skala fra 0 (ingen) til 3 (mye). S0 = nullprøve, S1 = første fase i FishGLOBE, S2 = siste fase i FishGLOBE, S3 = tre måneder etter sjøutsett i åpen not (se også tabell 1).

3.3.4 Morfologi – indeks av lever, hjerte og gonader

Fiskens leverindeks økte fra perioden i RAS-anlegget til første tiden i FishGLOBE, men avtok deretter (figur 24). Nedgangen fra S1 til S3 er sannsynligvis en effekt av at fisken blir større og at den relative størrelsen av lever mot fiskestørrelse avtar. Hjereteindeks viser større hjerter hos fisk som ble holdt i FishGLOBE sammenlignet med fisk i RAS-anlegget og i åpen not. Det er tidligere vist at trening bidrar til bedre ytelse hos fisken og at den får større hjerter (Takle og Castro, 2013). Våre resultater kan tyde på at FishGLOBE har gunstig vannhastighet som førte til trening av fisken og dermed større hjerter. Det var ingen forskjeller mellom prøvetakingene hva angår gonadeindeks (hannlige og hunnlige), og indeks mindre enn 1,0 er for lav til å indikere tidlig kjønnsmodning.

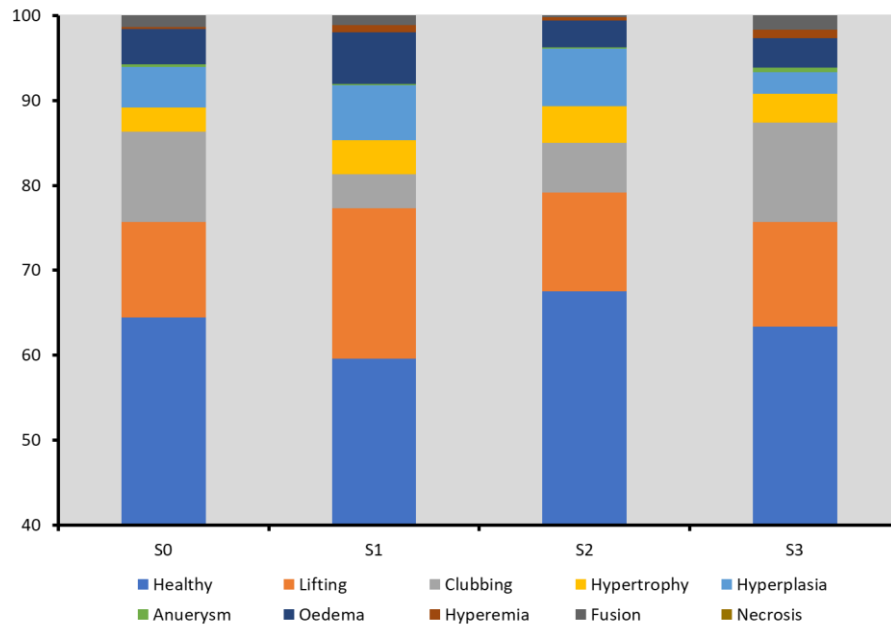


Figur 24 Somatisk indeks for lever (LSI) (venstre), hjerte (HSI) og gonader (høyre). S0 = nullprøve, S1 = første fase i FishGLOBE, S2 = siste fase i FishGLOBE, S3 = tre måneder etter sjøutsett i åpen not (se også tabell 1). Forskjellene er testet med Anova en-veis variansanalyse med Tukey post-hoc analyse. Små bokstaver indikerer signifikante forskjeller ved $p < 0,05$.

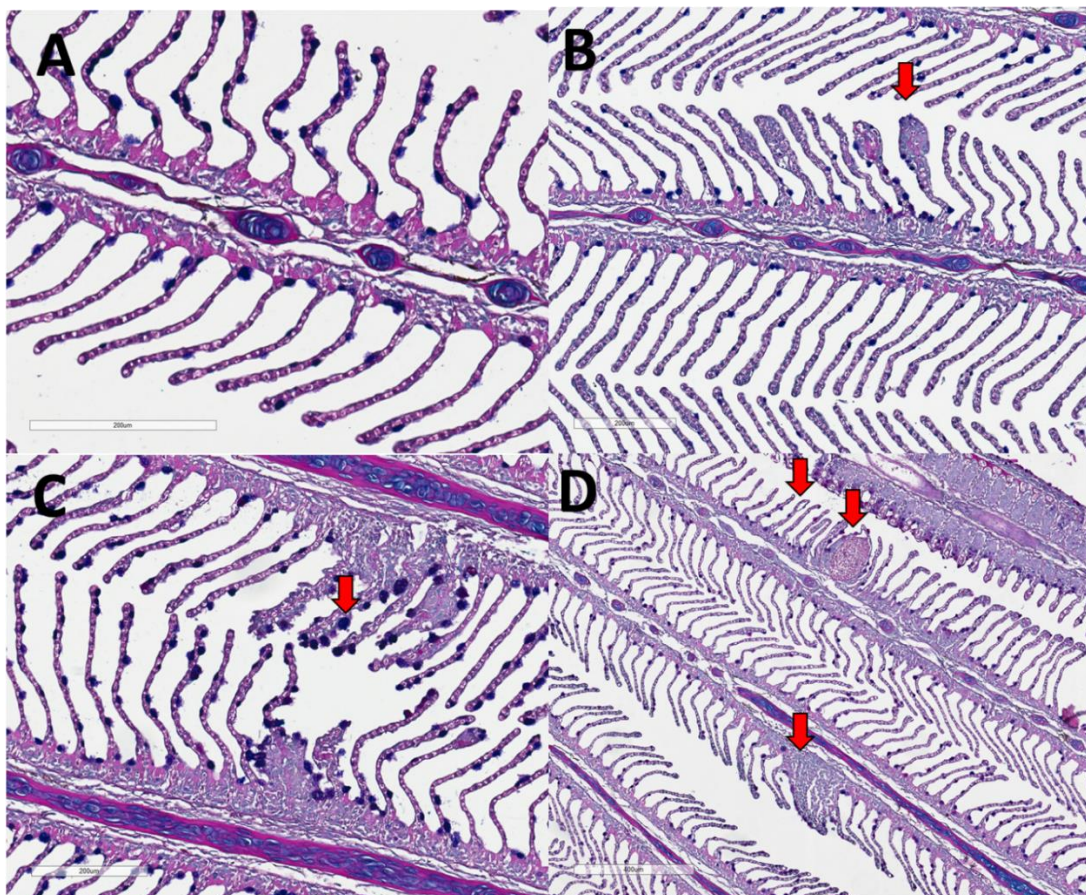
3.3.5 Histologi - gjelle og skinn

Evaluering av gjellehelse basert på histologi (Figur 25) ble utført på seks tilfeldige områder på gjelleprøven, der hvert område besto av 40 filamenter (totalt 240 filamenter per fisk).

Generelt var gjellehelsen god og de de patologiske tilfellene som ble funnet, ble vurdert til å være lite alvorlige og reverserbare. Tilstandene løfting, klubbing, hypertrofi og hyperplasi var de mest hyppige (Figur 25 og 26), og utgjorde 30 % av vurderingene. Disse tilstandene blir ofte funnet hos friske individer og medfører liten skade. Mer enn 50 % av alle evaluerte gjeller fra alle prøvetakingstidspunktene ble klassifisert som friske. Det var ingen statistiske forskjeller mellom S0 – S3 for de ulike gjelletilstandene. Ved S1, rett etter overføring fra RAS-anlegget til FishGLOBE, ble det registrert færrest friske gjeller sammenlignet med de andre prøvetidspunktene. Det ble også funnet en høyere andel gjeller med tilstanden «løfting» som er en tilstand som kan observeres når fisk blir utsatt for håndtering, for eksempel transport i dette tilfellet. Det er sannsynlig at tilfellene av økt løfting og ødem i S1 er reversible ettersom disse ikke ble registrert i like stor grad i S2 og S3. Aneurisme og nekrose, som er de mest alvorlige gjelleskadene, ble kun observert i noen få individer (Figur 25).

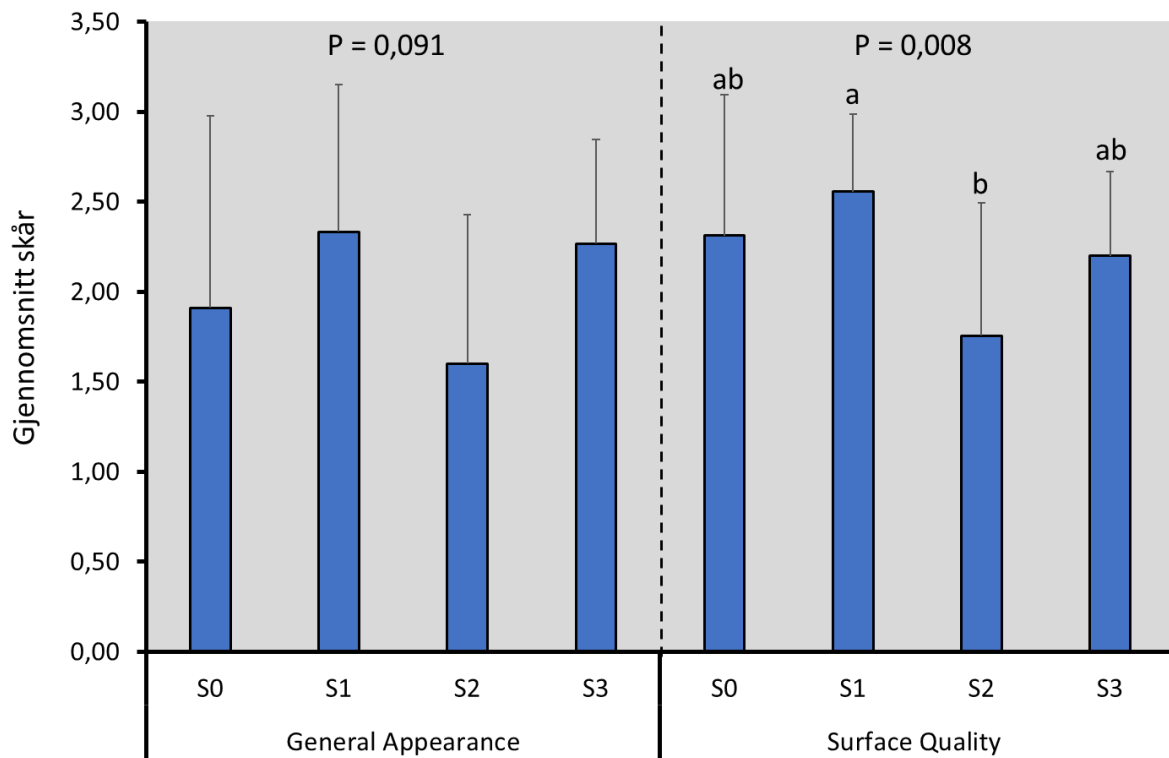


Figur 25 Andel gjelleskader fra histologi.

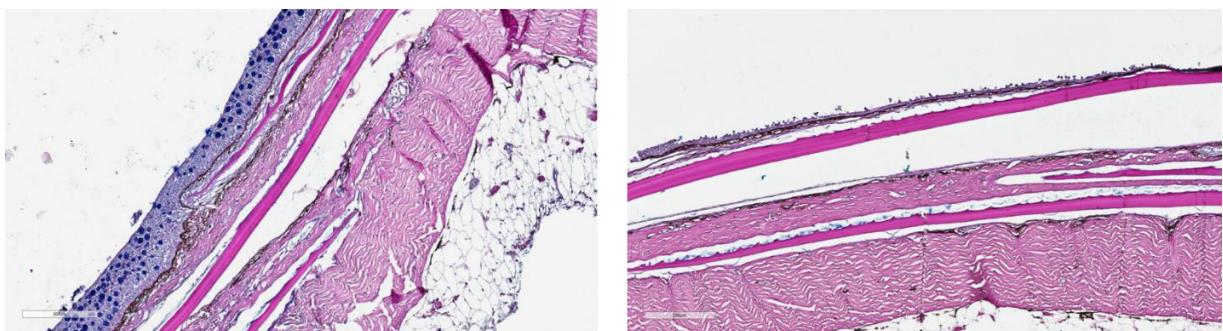


Figur 26 Histologi av gjelletilstandene A) Friske gjellefilamenter med klart definert struktur. Mukusceller (blå) er synlige. B) Gjellefilamenter med ulike utforminger av klubbing. C) Gjellefilamenter med hypertrofi av mukusceller. D) Piler viser løfting av epitel i umiddelbar nærhet av hyperemi. Hyperplasi og lamellefusjon er vist nederst på bildet.

Histologisnitt av skinn (Figur 27) ble vurdert for «generelt utseende» og «kvalitet på overflateepitel» (Figur 27). Begge disse er subjektive bedømmelser, men bedømmer kjente ikke på forhånd til identiteten til prøvene. Figur 28 viser eksempler på epidemis som er av god og dårlig kvalitet. Resultatene viser at overflatekvaliteten på skinn bedret seg signifikant i tiden der fisken oppholdt seg i FishGLOBE (S1 til S2) (Figur 27). Dette tyder på at vannkvalitet og forhold i tanken har vært gunstig for fiskens skinnhelse.



Figur 27 Gjennomsnitt skinnskår der 0 = best og 4 = dårligst. S0 = nullprøve, S1 = første fase i FishGLOBE, S2 = siste fase i FishGLOBE, S3 = tre måneder etter sjøutsett i åpen not (se også tabell 1). Forskjellene er testet med Anova en-veis variansanalyse med Tukey post-hoc analyse. Små bokstaver indikerer signifikante forskjeller ved $p < 0.05$.



Figur 28 Histologisnitt av skinnepitel. Til venstre skinn med intakt og glatt overflateepitel. Til høyre skinn med degenerert overflateepitel, der det meste av epitelet er borte og overflaten er ru.

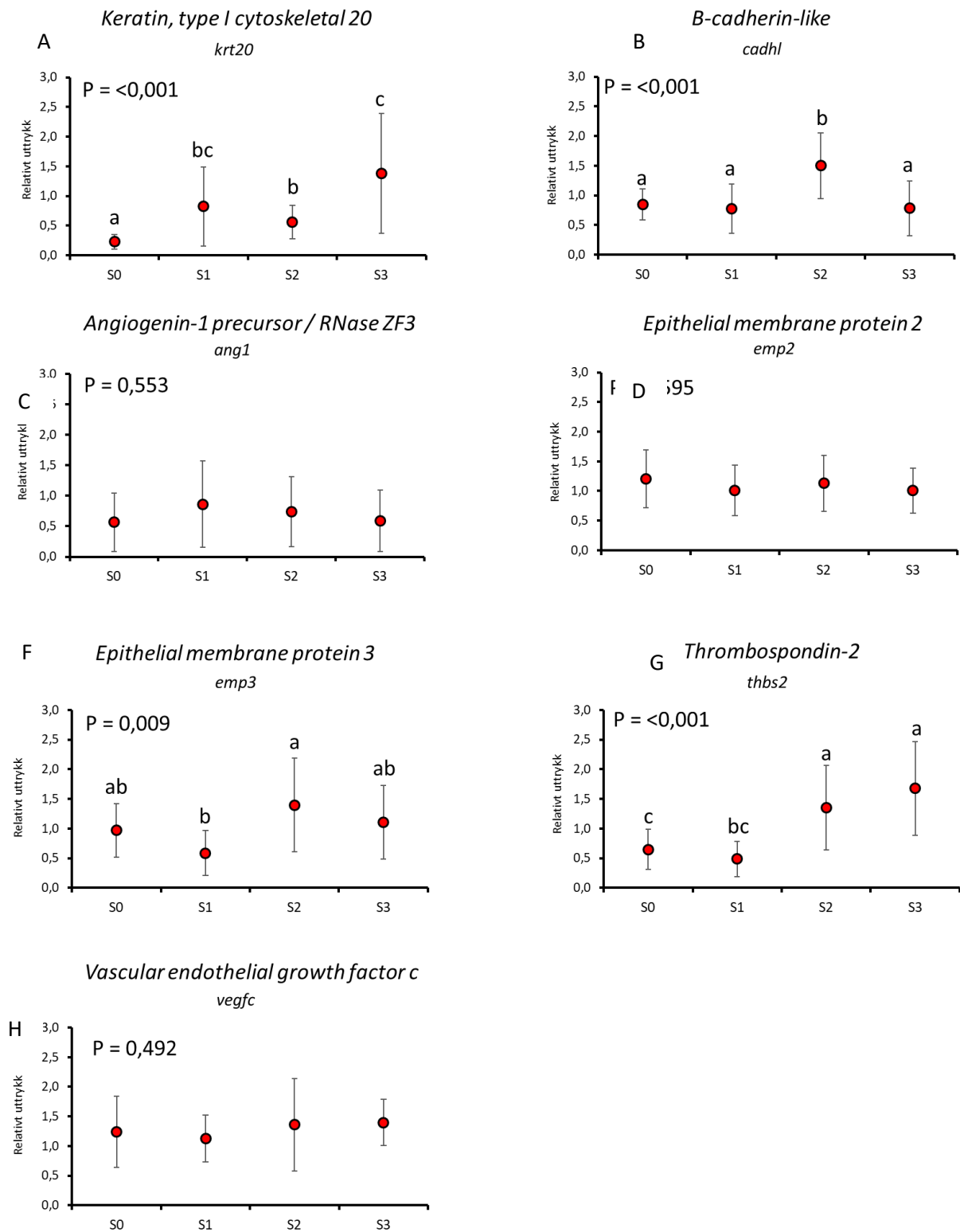
3.3.6 Genekspresjon skinn

Ettersom skinnhelse var mer påvirket av oppdrettsforhold enn gjellehelse, ble det bestemt å kun gå videre med genekspresjon i skinn (Figur 29 – 32). I alt syv gener for skinnstyrke ble analysert (Figur 29). Av disse kunne *cadhl*, *emp3* og *thbs2* bekrefte funnet fra histologi om styrket skinnhelse fra S1 til S2, mens *krt20*, *ang1*, *emp2* og *vegfc* ikke beviste dette statistisk.

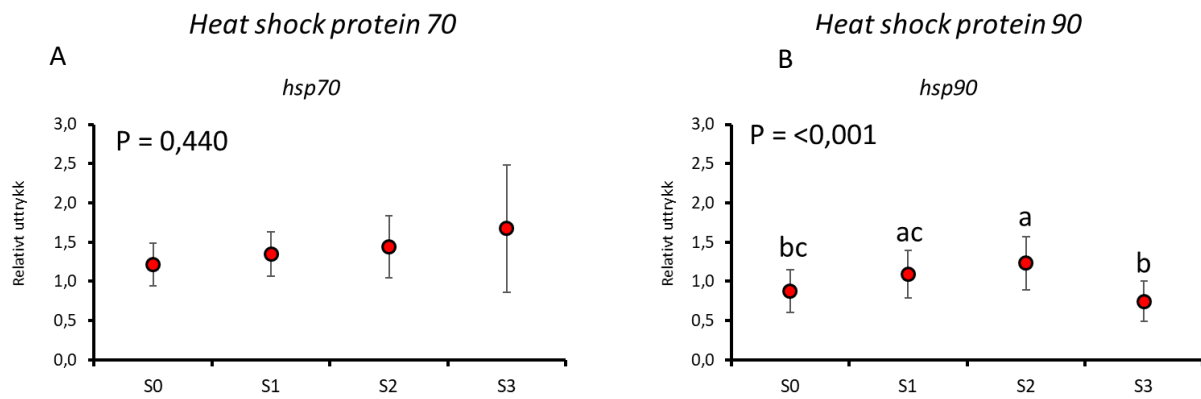
Dette prøvematerialet ble også vurdert for de stress relaterte genene *hsp70* og *hsp90* (Figur 30). Her viste *hsp90* en økt stressrespons fra S0 til S2, mens den reduserte igjen fra S2 til S3.

Mucin er en gruppe gener som uttrykkes ved mukusproduksjon, strukturelle endringer i skinn og stress (Sveen et al. 2016). I denne fiskegruppen var det en reduksjon fra S0 til S1 som var signifikant for *muc5ac* og *muc5b* (Figur 31), og en økning fra S1 til S2 som var signifikant for *muc5b* og *muc2*. Den økte utskillelsen av mucin kan tyde på økt mukusproduksjon ved stress hos fisken, men kan også være relatert til endringer i epitel som tidligere nevnt. *muc5b* og *muc2* reduseres i S3 (Figur 31).

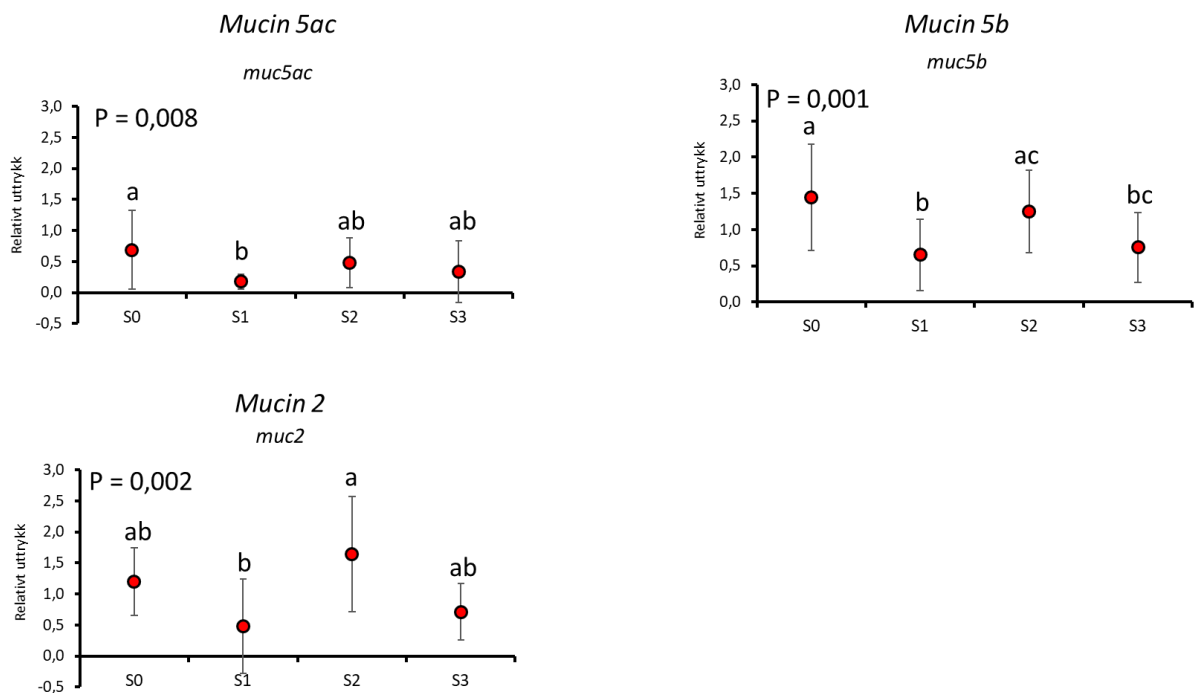
Den siste gruppen av gener som ble analysert var antibakterielle proteiner (Figur 32). Av de tre som ble analysert var det kun *def* som ble signifikant redusert fra S0 til S2. Dette kan tyde på suppresjon av bakterielt forsvar, men kan også bety at miljøet er så fordelaktig at antibakterielt forsvar ikke er nødvendig.



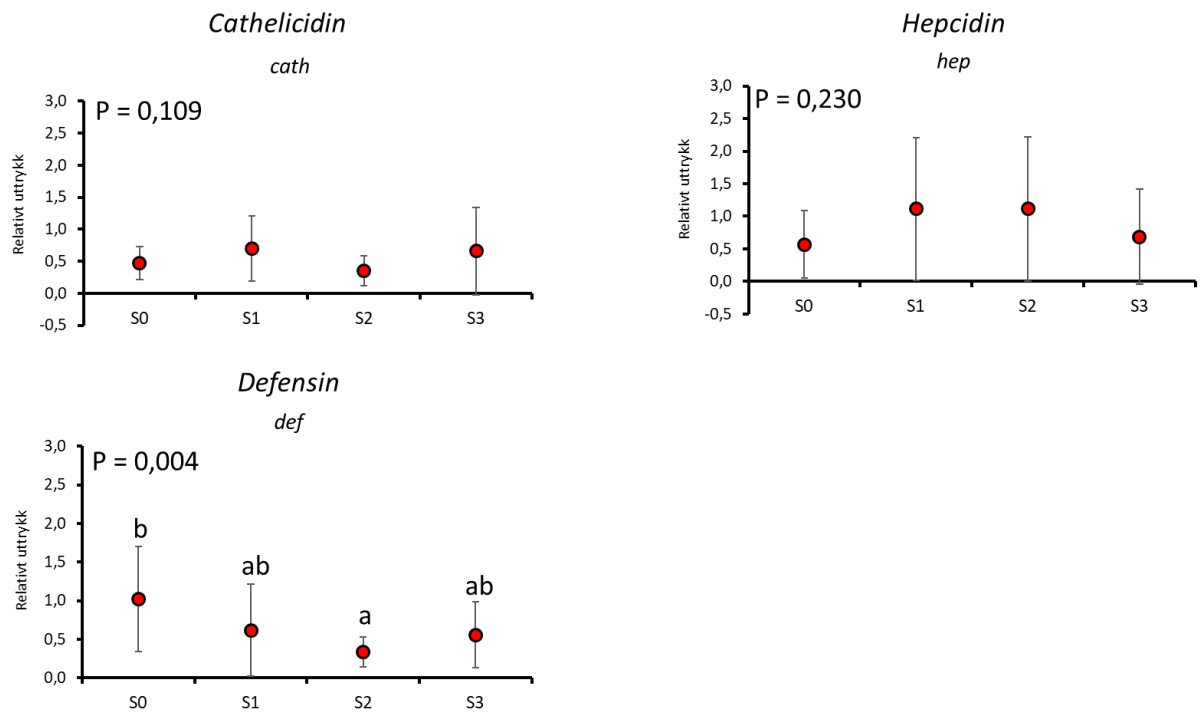
Figur 29 Genespresjon for epitelstyrke. S0 = nullprøve, S1 = første fase i FishGLOBE, S2 = siste fase i FishGLOBE, S3 = tre måneder etter sjøutsett i åpen not (se også tabell 1). Forskjellene er testet med Anova en-veis variansanalyse med Tukey post-hoc analyse. Små bokstaver indikerer signifikante forskjeller ved $p < 0.05$.



Figur 30 Genekspresjon for stress. S0 = nullprøve, S1 = første fase i FishGLOBE, S2 = siste fase i FishGLOBE, S3 = tre måneder etter sjøutsett i åpen not (se også tabell 1). Forskjellene er testet med Anova en-veis variansanalyse med Tukey post-hoc analyse. Små bokstaver indikerer signifikante forskjeller ved $p < 0.05$.



Figur 31 Genekspresjon Muciner. S0 = nullprøve, S1 = første fase i FishGLOBE, S2 = siste fase i FishGLOBE, S3 = tre måneder etter sjøutsett i åpen not (se også tabell 1). Forskjellene er testet med Anova en-veis variansanalyse med Tukey post-hoc analyse. Små bokstaver indikerer signifikante forskjeller ved $p < 0.05$.



Figur 32 Genespresjon for antibakterielt forsvar. S0 = nullprøve, S1 = første fase i FishGLOBE, S2 = siste fase i FishGLOBE, S3 = tre måneder etter sjøutsett i åpen not (se også tabell 1). Forskjellene er testet med Anova en-veis variansanalyse med Tukey post-hoc analyse. Små bokstaver indikerer signifikante forskjeller ved $p < 0.05$.

4 Konklusjon

I perioden fra november 2019 til juli 2020 ble en fiskegruppe på ca. 200 000 laks fulgt fra settefiskfasen i et RAS-anlegg (S0 til S1) via en postsmoltfase i FishGLOBE (S1 til S2) til tre måneder etter sjøutsett i åpen not (S2 til S3). Prøver av vann og fisk ble tatt ved to tilfeller, ca. tre uker etter innsett (S1) og rett før overføring til not (S2). Vannkvalitetsvariable ble målt ved S1, men grunnet Covid-19 kunne vi ikke gjennomføre empiriske vannkvalitetsmålinger fra S2. Biologiske målinger av fisk ble utført ved alle de fire tidspunktene.

Prosjektaktiviteter som ble utført uavhengig av fiskegruppen, var CFD-modellering av FishGLOBE V3 (74 m³) og V5 (3500 m³). Det ble også foretatt empiriske målinger av vannkvalitet mens en annen fiskegruppe gikk i FishGLOBE (mars 2020), for å oppnå en måling ved maksimal fisketetthet.

Generelt for perioden mellom S1 og S2, så var vannkvaliteten i FishGLOBE god, og ingen av de målte verdiene var utenfor området som anses som anbefalt. Dødeligheten var lav og endte på 1,4 % før fisken ble overført på sjø. Dødeligheten i sjøfasen var på 4,9 %.

Fisken vekst i FishGLOBE var også god, og både TGC og SGR var høyere i FishGLOBE enn både før innsett og etter utsett, på henholdsvis 4,0 og 1,3.

Velferdsmålingene viste at fisken hadde litt forhøyede nivåer av Mg i FishGLOBE, noe som kan tyde på osmotisk ubalanse og stress hos fisken. Dette ble ytterligere styrket av økt ekspresjon av *hsp90* i perioden S0 – S2. Også *Mucin* økte i S1 – S2, noe som igjen kan tyde på stress. Men *Mucin* kan også økes når skinnen styrkes. Dette ble nemlig vist i histologisnittene, da både skinnkvaliteten og til dels gjellelamellene bedret seg fra S1 til S2. Også noen gener fra epitelprøvene viste styrket skinnhelse fra S1 til S2.

Bedring av gjellene kan forklares ut fra den gode vannkvaliteten og lav turbiditet og TSS i FishGLOBE. Fisken kom fra RAS-anlegg, der turbiditet og TSS normalt kan ha vært høyere, men dette har vi ikke noen informasjon om.

Det ble registrert stor andel av øyeskader (katarakt) hos fisken i FishGLOBE. Det er ukjent hva dette skyldes, men det anbefales å følge med på denne utviklingen.

FishGLOBE V5 ble også modellert med hensyn på optimal vannhastighet og vannfordeling. Det ble modellert fire ulike caser, der den første var det originale designet uten vannavdelere, mens de andre tre casene var alternative design med vannavdelere med ulike vinkler. Modelleringen viste at det originale designet ga mest optimal vannhastighet og fordeling. Optimal vannhastighet er bra for trening av fisken, som igjen forbedrer ytelsen og hjertestørrelsen. Ved S1 og S2 var HSI større enn ved S0 og S3.

5 Referanser

- Gorle J.M.R., Terjesen B.F., Holan A.B., Berge A., Summerfelt S.T. 2018. Qualifying the design of a floating closed containment fish farm using computational fluid dynamics. *Biosystem Engineering* 175, 63-81.
- Iversen M., Eliassen R.A. 2009. The effect of Aquil-S sedation on primary, secondary, and tertiary stress responses during salmon smolt *Salmo salar* L., transport and transfer to sea. *Journal of the World Aquaculture Society* 40, 216-225.
- Lazado C.C, Sveen L.R., Soleng M., Pedersen L-F., Timmerhaus G. (2021). Crowding reshapes the mucosal but not the systemic response repertoires of Atlantic salmon to peracetic acid *Aquaculture* 531, 735830.
- Nagasawa K., Lazado C., Fernandes J.M. (2012). Validation of endogenous reference genes for qPCR quantification of muscle transcripts in Atlantic cod subjected to different photoperiod regimes, *Aquaculture*, IntechOpen.
- Sambraus F., Fjellidal P. G., Remø S.C., Hevrøy E. M., Nilsen T. O., Thorsen A., Hansen T.J., Waagbø R. 2017. Water temperature and dietary histidine affect cataract formation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) diploid and triploid yearling smolt. *Journal of Fish Diseases*, 40, 1195–1212.
- Shahzad K., Takle H., Ottem K.F., Stendal M., Stiller K.T., Marchenko Y-, Kolarevic J. 2019. CFD modeling of semi-closed containment floating system with flexible walls: effect of inlet orientation angle on the flow field hydrodynamics. Abstract, EAS conference Berlin 2019.
- Sveen L.R., Timmerhaus, G., Torgersen J.S., Ytteborg E., Jørgensen S.M., Handeland S., Stefansson S.O., Nilsen T. O., Calabrese S., Ebbesson L., Terjesen B.F., Takle H. 2016. Impact of fish density and specific water flow on skin properties in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) post-smolts. *Aquaculture* 464, 629-637.
- Takle H., Castro V. 2013. Molecular adaptive mechanisms in the cardiac muscle of exercised fish. In: *Swimming Physiology of Fish* (ed. by A. Palstra & J. Planas). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.
- Øvrebø T.K. 2020. Growth performance and welfare of post-smolt (*Salmo salar* L.) reared in semi closed containment systems (S-CCS) – a comparative study. Master thesis, University of Bergen, 144pp.

6 Formidling

De biologiske registreringene ble ferdiganalysert i forkant av denne rapporten. Vi planlegger derfor å formidle disse resultatene i tiden som kommer.

Berge A. (2018). FishGLOBE Closed postsmolt technology made in polyethylene. CtrlAQUA årsmøte 2018.

Espmark Å. (2019). Closed containment aquaculture – full throttle with break on. Nofima seminar. AquaNor 2019.

Espmark Å. (2020). Presentasjon av CtrlAQUA prosjekter for CtrlAQUA styre, 17. november 2020.

Shahzad K. (2020). Hydrodynamikk i semi-lukkede akvakulturanlegg. Fremtidens smoltproduksjon 21. oktober 2020.

